

Justus-Liebig-Universität Gießen
Aus dem Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I

**Untersuchungen zur züchterischen Verbesserung und Kultivierung von
Borretsch (*Borago officinalis* L.)**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades im Fachbereich
Agrarwissenschaften, Ökotoxikologie und Umweltmanagement
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Gerhard Weinbrenner
aus Weilmünster
Gießen 2014

<u>1</u>	<u>EINLEITUNG UND ZIELSTELLUNG</u>	<u>1</u>
<u>2</u>	<u>LITERATURÜBERSICHT</u>	<u>3</u>
2.1	BOTANIK	3
2.1.1	Taxonomie	3
2.1.2	Morphologie	4
2.2	INHALTSSTOFFE UND QUALITÄT	5
2.2.1	Borretschkraut	5
2.2.2	Borretschsamen	5
2.2.3	Pyrrrolizidinalkaloide	6
2.3	ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGISCHE WIRKUNGEN DER GAMMA-LINOLENSÄURE	7
2.4	STAND DER ZÜCHTERISCHEN BEARBEITUNG	8
2.5	STAND DER PFLANZENBAULICHEN FORSCHUNG	10
2.5.1	Aussaat und Pflege	10
2.5.2	Ernte	11
2.6	IN-VITRO-KULTUR	11
2.6.1	Kalluskultur	12
2.6.2	Differenzierung	12
<u>3</u>	<u>MATERIAL UND METHODEN</u>	<u>13</u>
3.1	KEIMUNGSVERSUCHE	13
3.1.1	Einfluss von Licht, Temperatur und Humidität	13
3.1.2	Einfluss der Nährböden	13
3.1.3	Einfluss von Natriumhypochlorid und Ethanol	13
3.1.4	Einfluss von Wasserstoffperoxid	14
3.2	UNTERSUCHUNGEN ZUR WIRKUNG VON MUTAGENZIEN	14
3.2.1	Versuche mit Ethylmethansulfonat	14
3.2.2	Versuche mit Gamma-Strahlen	16
3.2.3	Versuche mit Neutronen-Strahlen	18
3.3	MAßNAHMEN ZUR VERBESSERUNG DES GLS-GEHALTES	19
3.3.1	Verwandtschaftsanalyse ausgewählter Akzessionen	19
3.3.2	Verbesserung des Gamma-Linolensäure-Gehaltes	22
3.4	ZELL- UND GEWEBEKULTUR	23
3.4.1	Sterilisierung der verwendeten Geräte und Materialien	23
3.4.2	Herstellung des Nährmediums	23
3.4.3	Untersuchungen des Kalluswachstums am Auxophyton	24
3.4.4	Fettgehalt und Trockenmasse von Kallussen	24
3.4.5	Kalluskultur, Organogenese und Embryogenese	25

3.5	LABORANALYSEN	25
3.6	PFLANZENBAULICHE UNTERSUCHUNGEN	27
3.6.1	Versuch zur Bestandesdichte und Reihenweite	27
3.6.2	Vergleich verschiedener Erntemethoden	27
3.6.3	Messung von Ausfallverlusten	30
3.6.4	Stickstoff-Düngungsversuch	30
3.6.5	Sikkationsversuch	30
3.7	STANDORTBEDINGUNGEN	31
3.8	STATISTISCHE AUSWERTUNG	37
4	<u>ERGEBNISSE</u>	38
4.1	UNTERSUCHUNGEN ZUR KEIMFÄHIGKEIT UND DEKONTAMINATION VON BORRETSCH-SAMEN	38
4.1.1	Einfluss von Licht und Temperatur	38
4.1.2	Einfluss von Nährmedien und Dekontaminationsmitteln	39
4.1.3	Einfluss des Sterilisationsmediums H ₂ O ₂	42
4.2	ZÜCHTUNGSVERSUCHE	43
4.2.1	Ergebnisse der Behandlung mit 1 % EMS-Lösung	43
4.2.2	Behandlung der Samen mit Gammastrahlen	50
4.2.3	Behandlung der Samen mit Neutronenstrahlen	56
4.2.4	Selektionsversuche zur Verbesserung der GLS-Gehalte	69
4.3	ZELL- UND GEWEBEKULTUR	82
4.3.1	Dekontamination	82
4.3.2	Entwicklung der Fettgehalte in Borretsch-Kallussen	84
4.3.3	Einfluss von Phytohormonen auf das Kalluswachstum	84
4.3.4	Die Wirkung von Phytohormonen auf die Differenzierung von Borretsch-Kallussen	89
4.4	PFLANZENBAULICHE UNTERSUCHUNGEN	92
4.4.1	Wirkung unterschiedlicher Standraumzumessung	92
4.4.2	Prüfung von Erntemethoden	93
4.4.3	Einfluss der Erntemethode "Folienernte" auf den Kornertrag von Borretsch	94
4.4.4	Wirkung der N-Düngung auf den Kraut- und Kornertrag	95
4.4.5	Einfluss der Sikkation	95
5	<u>DISKUSSION</u>	97
5.1	UNTERSUCHUNGEN ZUR KEIMFÄHIGKEIT UND DEKONTAMINATION	97
5.1.1	Einfluss von Licht und Temperatur auf die Keimung von Borretsch	97
5.1.2	Einfluss der Nährböden	99
5.1.3	Einfluss der Desinfektionsmittel NaOCl und Ethanol	99
5.1.4	Einfluss des Sterilisationsmediums H ₂ O ₂	100

5.2	BIOSYNTHESE DER GLS	101
5.3	BEEINFLUSSENDE FAKTOREN DES GLS-GEHALTES	102
5.3.1	Temperatur	102
5.3.2	N-Düngung	103
5.4	ZÜCHTUNGSVERSUCHE	103
5.4.1	Borretsch Gefäßversuch mit 1 %iger EMS-Lösung	103
5.4.2	EMS-Feldversuch 2000	104
5.4.3	Behandlung mit Gammastrahlen	105
5.4.4	Behandlung mit Neutronenstrahlung	106
5.4.5	Selektionsversuche zur Optimierung der GLS- und ES-Gehalte	108
5.4.6	Krankheiten und Schädlingsbefall	110
5.5	ZELL- UND GEWEBEKULTUR	111
5.5.1	Organogenese - indirekte Regeneration	111
5.5.2	Embryogenese	115
5.6	PFLANZENBAULICHE UNTERSUCHUNGEN	115
5.6.1	Auswirkung unterschiedlicher Standraumzumessung	115
5.6.2	Prüfung von Erntemethoden	116
5.6.3	Wirkung der N-Düngung	116
5.6.4	Einfluss der Sikkation	117
<u>6</u>	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	<u>118</u>
<u>7</u>	<u>SUMMARY</u>	<u>120</u>
<u>8</u>	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	<u>122</u>
<u>9</u>	<u>ANHANG</u>	<u>131</u>

Abkürzungsverzeichnis

2,4 D	2,4-Dichlorphenoxyessigsäure
ADHS	Aufmerksamkeits-Defizit/Hyperaktivitäts-Störung
Ägy	Herkunft Ägypten
APG	Angiosperm Phylogeny Group
AS	Abscisinsäure
BAP	Benzylaminopurin
B-b	Herkunft Bauerngarten (blau blühend)
BD	Bestandesdichte
B-m	Herkunft Bauerngarten (mischfarben blühend)
Bon	Herkunft Bonn (botanischer Garten)
Bot	Herkunft Fa. Bornträger
BP	Basenpaare
B-w	Herkunft Bauerngarten (weiß blühend)
c.E.	cum Ethanol
CCI	Chlorophyll-Content-Index
C.n.	<i>Cocos nucifera</i> L.
d	Tag(e)
DAC	Deutscher Arzneimittel Codex
E.ES1	Erhaltung Gruppe ES1 (Erucasäure)
EG	Ertragsgruppe
E.GLS1	Erhaltung Gruppe GLS1 (Gamma-Linolensäure)
EMS	Ethylmethansulfonat
ER	endoplasmatisches Reticulum
ES	Erucasäure
Frey	Herkunft Fa. Frey
GD	Grenzdifferenz
gFG	Gramm Frischgewicht
GFS	Gesamtfettsäure
GC	Gaschromatographie
GG	Versuchsstandort Groß-Gerau
GI	Versuchsstandort Gießen
GS	Gibberellinsäure
Gy	Gray
HK-Analyse	Halbkornanalyse
I1	1. Züchtungsgeneration Borretsch
IAA	indole-3-acetic acid
IBA	indole-3-butyric acid
IBS	Indolbuttersäure
i.d.R.	in der Regel
IES	Indol(y)essigsäure
KF	Keimfähigkeit
Kö	Körner
KR	Kreuzungen
KR F1	1. Kreuzungsgeneration Borretsch
krad	Kilorad (=10 Gy)
Ktr.	Kontrolle
kW	Kilowatt

LG	Leistungsgruppe
LSD	Least Significant Difference – Test (post-hoc)
M1	Mutation 1
MW	Mittelwert
NAA	naphtylacetic acid
NES	Naphtylessigsäure
NL	Niederlande
PA	Pyrrolizidinalkaloide
PCR	Polymerase Chain Reaction
PCV	packed cell volume
Pfl.	Pflanze(n)
PG	Prüfglieder
PVP	Polyvinyl-Pyrrolidon
PZ	Pharmazeutische Zeitung
q.s.	quantum satis – so viel wie nötig
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RH	Versuchsstandort / Herkunft Rauischholzhausen
rpm	rounds per minute
RW	Reihenweite
s.E.	sine Ethanol
σ	(Sigma) Standardabweichung
TBE	TRIS-Borat-EDTA(-Puffer)
Tbl.	Tablette
TDZ	Tridiazuron
Temp.	Temperatur
TKG	Tausendkorngewicht
TM	Trockenmasse
TS	Trockensubstanz
Tüb	Herkunft Tübingen (botanischer Garten)
UG 1	Untergruppe 1
UK	United Kingdom
unbeh.	unbehandelt
Ung	Herkunft Ungarn
Wdh.	Wiederholung
WG	Versuchsstandort Weilburger Grenze

Verzeichnis der Abbildungen

Abb. 1	Borretsch Chromosomen: Metaphase (a, c) und Prometaphase (b, d) SNOWDON (2001)	9
Abb. 2	Reihe 1-4 Lambda DNS, Reihe 5-8 Borretsch-DNS versch. Herkünfte	21
Abb. 3	Prototyp (Nr.1) für ein Gerät zur Samenernte von Borretsch	28
Abb. 4	Erntegerät (Prototyp 2) – Gesamtansicht von vorne	29
Abb. 5	Erntegerät (Prototyp 3) – Schüttelmechanismus und Rüttelketten	30
Abb. 6	Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort RH 1999	31
Abb. 7	Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort RH 2000	32
Abb. 8	Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort RH 2005	32
Abb. 9	Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort RH 2006	33
Abb. 10	Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort RH 2007	33
Abb. 11	Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort GI 2000	34
Abb. 12	Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort GI 2001	34
Abb. 13	Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort GI 2002	35
Abb. 14	Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort GI 2003	35
Abb. 15	Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort GG 2005	36
Abb. 16	Einfluss der Gammabestrahlung auf die Keimfähigkeit von Borretsch	51
Abb. 17	Dendrogramm der untersuchten Borretsch-Akzessionen 2001	69
Abb. 18	Fettgehalte (in %) von Borretsch-Kallussen	84
Abb. 19	Einfluss von Thidiazuron auf die Konsistenz und Farbe von Kalluskulturen (Bonitur)	86
Abb. 20	Folienernte - Feststellung des Gesamternteertrages	95
Abb.A 1	Borago Blüte und reifender Fruchtstand	131
Abb.A 2	Neutronen-Mutationsversuch: fester Kornansatz, Gi 6.8.03	131
Abb.A 3	Vegetative Vermehrung Borago Wurzelbildung	132
Abb.A 4	Vegetative Vermehrung – nach Wurzelbildung getopft	132
Abb.A 5	Spross-Bewurzelung nach vegetativer Vermehrung Blatt	133
Abb.A 6	Keimender Borretsch in Sand	133
Abb.A 7	Keimlinge in Chinosollösung vom Keimmedium Sand befreit	134
Abb.A 8	HK-Methode: Borago Keimling von Samenschale befreit	134

Abb.A 9	Keimling mit entnommenem (Teil)-Keimblatt zur GC-Analyse	135
Abb.A 10	Trocknen (Exsikkator) und Homogenisieren von Keimblättern	135
Abb.A 11	Aufbereitete Proben zur GC-Untersuchung	136
Abb.A 12	Keimlinge auf mit Filterpapier ausgelegtem feuchten Sandbett	136
Abb.A 13	Borago-Kallus auf MS-Medium + IES 5,0 ppm	137
Abb.A 14	Borago-Kallus Differenzierung - Embryogenese	137

Verzeichnis der Tabellen

Tab. 1:	Akzessionen für die Verwandtschaftsanalyse	19
Tab. 2:	Anteil gekeimter Borretschsamen (%) in Abhängigkeit von Licht und Temperatur (Humidität 65 %, jeweils n=400)	38
Tab. 3:	Einfluss verschiedener Keimmedien sowie von NaOCl und Ethanol auf die Keimfähigkeit von Borretsch-Samen (Angaben in %; jeweils n=30)	40
Tab. 4:	Einfluss von steigender Konzentration an NaOCl und Ethanol auf Keimfähigkeit und Kontamination von Borretsch-Samen (jeweils n=30)	41
Tab. 5:	Wirkung von H ₂ O ₂ auf das Keimverhalten und den Sterilisationsgrad von Borretschsamen (jeweils n=30)	42
Tab. 6:	Einfluss einer 1 %igen EMS-Behandlung von Borretsch-Samen (12, 18, 24 h) auf ausgewählte Merkmale der Borretsch-Pflanzen (jeweils n=40)	43
Tab. 7:	Wirkung einer 1 %igen EMS-Lösung auf die Morphologie von Borretsch (jeweils n=40)	45
Tab. 8:	Wirkung einer 1 %igen EMS-Lösung (16 h) auf die Entwicklung von Borretsch; Feldversuch M1, Rauischholzhausen 2000 (n=1345)	46
Tab. 9:	Ausprägung morphologischer Merkmale von Borretschpflanzen nach 1 %iger EMS-Behandlung (M1 und M2), Feldversuch Rauischholzhausen 2000	48
Tab. 10:	Ausprägung morphologischer Merkmale von Borretschpflanzen (in %), Gefäßversuch EMS M2, Rauischholzhausen 2001 (n=48)	49
Tab. 11:	Morphologische Veränderungen von Borretschpflanzen durch Gammabestahlung, Freilandversuch Rauischholzhausen 1999 (12 ≤ n ≤ 18)	50
Tab. 12:	Morphologische Veränderungen durch Gammabestahlung, Feldversuch Gießen 2001 (jeweils n = 48)	51
Tab. 13:	Einfluss der Gammastrahlen auf die CCl*-Werte und den Kornertrag von Borretsch, Feldversuch Gießen 2001 (jeweils n=12)	52
Tab. 14:	Kornertrag (kg/ha), Reifestadien und TKG (g) von Borretsch nach Gammabestahlung, Feldversuch Gießen 2001 (jeweils n=12)	53
Tab. 15:	Einfluss der Gammastrahlen auf die Vitalität von Borretschpflanzen, Gefäßversuch Gießen 2001 (Vorversuch) (jeweils n=2)	54
Tab. 16:	Einfluss von Gamma-Strahlen auf das Wachstum von Borretsch-Pflanzen (je n=8, Ktr. n=7), Gefäßversuch GI 2001 (Folgeversuch)	55
Tab. 17:	Einfluss der Neutronenstrahlen auf die Keimfähigkeit bei 100 kW, Rauischholzhausen 2001 (jeweils n=50)	56
Tab. 18:	Einfluss der Neutronenstrahlen auf die Keimfähigkeit und Vitalität von Borretsch, Strahlendosis 30 kW, Rauischholzhausen 2001 (jeweils n=60)	56
Tab. 19:	Keimfähigkeit und Vitalität von Borretsch in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit, Strahlendosis 10 kW, Rauischholzhausen 2001 (jeweils n=50)	57

Tab. 20:	Einfluss von Neutronenstrahlung auf morphologische Merkmale von Borretsch (Folgeversuch), Rauischholzhausen 2001	58
Tab. 21:	Bonitur der Blüteninsertion von Borretsch nach Neutronen-Bestrahlung, Gießen 2003	59
Tab. 22:	Einfluss der Neutronenstrahlung auf Blütensegmente und Kornansatz von Borretsch, Gießen 2003 (n=67)	60
Tab. 23:	Stammbaum der Neutronengruppen M1 – M3	61
Tab. 24:	Geerntete Körner der in den Versuch „fester Kornansatz“ eingestellten Pflanzen	61
Tab. 25:	Verhältnis fester und loser Kornansatz im Neutronenversuch M1, Gießen 2003 (n=15)	62
Tab. 26:	Die Gamma-Linolen- und Erucasäure-Gehalte von Borretsch-Samenöl der Gruppen M1/1 und M1/0 (%)	62
Tab. 27:	Leistungseigenschaften der männlichen Borretsch-Pflanzen aus M1 zur Bestäubung	63
Tab. 28:	Kornertrag und Ertragsstruktur von Borretsch in der Generation M2	63
Tab. 29:	Ertragsstruktur von Auswahlpflanzen aus M1/1 (n=10,9,11)	64
Tab. 30:	Ertragsstruktur von Auswahlpflanzen aus M1/0 (n=31+36+31)	65
Tab. 31:	GLS- und ES-Gehalte des Samenöls von Borretsch der Gruppen M2/11 und M2/01 (n=91+86)	65
Tab. 32:	Die GLS- und ES-Gehalte des Samenöls von Borretsch in den Generationen M1 und M2- (Angaben in %)	66
Tab. 33:	Kornertrag und –ansatz von Borretsch der Neutronengruppen M3, GG 2005 (n=40+44)	66
Tab. 34:	Die GLS- und ES-Gehalte der Gruppen M3/111 und M3/011	67
Tab. 35:	Die GLS- und ES-Gehalte der M4 (n=31)	67
Tab. 36:	Die Entwicklung der GLS- und ES-Gehalte von Borretsch der Generationen M1 – M5 (in %)	68
Tab. 37:	Anteile an Gamma-Linolensäure und Erucasäure der untersuchten Akzessionen, RH 2001 (in %)	71
Tab. 38:	Gamma-Linolen- und Erucasäure-Gehalte sowie Kornzahl der Kreuzungen	72
Tab. 39:	Leistungseigenschaften der Basispopulation	73
Tab. 40:	Das Fettsäuremuster der Pflanzen 1.9.1 – 1.9.5 (I2) im Jahr 1999	73
Tab. 41:	GLS- und ES-Gehalte der Samenöle von Borretsch aus der Ernte 2003 (KR F1)	75
Tab. 42:	Fettsäuremuster der Samenöle von Borretsch 2004 (KR F2)	76
Tab. 43:	GLS und ES-Gehalte der Samenöle von Borretsch 2004 (KR F2)	76
Tab. 44:	Kornertrag der Populationen 2005 (KR F3)	77
Tab. 45:	GLS- und ES-Gehalte von Borretsch-Samen der Gruppen Vermehrung GG und RH 2005 (KR F3)	78
Tab. 46:	Leistungsmerkmale von Borretsch der Gruppen Erhaltung 1 und 2, 2005	78
Tab. 47:	Leistungseigenschaften der Gruppen Erhaltung 1 (1.9.1) und 2 (1.9.2) (KR F4)	79

Tab. 48:	Leistungseigenschaften der Gruppe Vermehrung, GG und RH 2006	79
Tab. 49:	GLS- und ES-Gehalte von Borretsch-Samen der Selektion aus den Gruppen Erhaltung 2006 (KR F4)	80
Tab. 50:	GLS- und ES-Gehalte sowie Kornerträge von Borretsch der Gruppen Erhaltung 2007 (KR F5)	80
Tab. 51:	GLS- und ES-Gehalte von Borretsch der Selektion aus den Gruppen Vermehrung 2006 (KR F4)	81
Tab. 52:	Kornerträge, GLS- und ES-Gehalte der Gruppen Vermehrung 2007 (KR F5)	81
Tab. 53:	Dekontamination von Borretsch-Hypokotylen nach Samensterilisierung (jeweils n=100)	82
Tab. 54:	Dekontamination von Organexplantaten mit der Kombination NaOCl (2 %) und Ethanol (70 %) (jeweils n=50)	83
Tab. 55:	Einfluss des Sterilisationsmediums H ₂ O ₂ auf die Hypokotylkultur von Borretsch auf MS Nährmedium (jeweils n=15)	83
Tab. 56:	Einfluss von BAP und Kinetin auf das Kallus-Wachstum am Auxophyton in % PCV (pressed cell volume) (n=12)	85
Tab. 57:	Einfluss von Thidiazuron (ppm) auf das Kallus-Wachstum (Zuwachs gFG / Kallus in 36 d; n=20)	85
Tab. 58:	Einfluss von 2,4-D auf das Kallus-Wachstum (Zuwachs gFG/Kallus in 32 d; n=50)	87
Tab. 59:	Einfluss von IES, BAP und Kinetin auf das Kalluswachstum (gFG in 44 d; Wdh.:3; n=12)	88
Tab. 60:	Einfluss der Kombination von NES und BAP auf das Kallus-Wachstum (gFG in 41 d; Wdh: 4; n=12)	88
Tab. 61:	Kallusgewichte bei verschiedenen Konzentrationen von NES und BAP (n=5)	89
Tab. 62:	Einfluss von IES 5,0 ppm und NES 5,0 ppm auf die Embryogenese von Sprosskallussen	90
Tab. 63:	Einfluss von IES 2,5 ppm und NES 2,5 ppm auf die Embryogenese von Sprossexplantaten	91
Tab. 64:	Einfluss von Bestandesdichte und Reihenweite auf Kornertrag und Pflanzenlänge, RH 1999 (jeweils 4 Teilstücke à 10m ²)	92
Tab. 65:	Vergleich verschiedener Erntemethoden I beim Borretsch zur Körnernutzung, Feldversuch RH 1999	93
Tab. 66:	Vergleich verschiedener Erntemethoden II – Geräteernte – Schwadablage 2002 (jeweils n=4)	94
Tab. 67:	Einfluss der N-Düngung auf den Kraut- und Kornertrag von Borretsch, Ringanlage RH 1999	95
Tab. 68:	Einfluß der Sikkation auf Ertrag, Kornzahl, TKG, TM-Gehalt und Chlorophyll-Index von Borretsch, Feldversuch GI 2001 (n=4)	96
Tab. 69:	Zusammensetzung des modifizierten MS-Mediums und der Stammlösungen	138

1 Einleitung und Zielstellung

Der Borretsch (*Borago officinalis* L.) besitzt eine vielseitige Verwendung und lange Tradition als Gemüse- und Medizinalpflanze. Dies kommt auch in der unterschiedlichen Namensgebung des Borretsch zum Ausdruck. Die im deutschen Sprachraum übliche Bezeichnung „Gurkenkraut“ deutet auf seinen Gurkengeschmack und die Nutzung im Haushalt hin. Synonyme wie Herzblüte, Herzfreude, Wohlgemutsblume beziehen sich auf seine Verwendung in der Volksheilkunde (FISCHER et al., 1947). Der englische Name „borage“ leitet sich nach JOHNSON et al. (1947), zit. in FELL et al. (1968) aus dem Lateinischen von *cor* (Herz) und *ago* (helfen) ab. Andere Autoren interpretieren die Herkunft von *Borago* als *borra* (Gewebe aus rauher Wolle, starres, struppiges Haar). Nach der Interpretation von NUEZ et al. (1998) soll die Herkunft des Wortes im arabischen Sprachraum mit *abu-rach*, „Vater des Schweißes“ liegen und auf die schweißtreibenden Eigenschaften der Pflanze hinweisen.

Im Mittelalter wurde der Borretsch gegen Skorbut, Wassersucht, Schwindsucht, Gelbsucht, bei Fieber und zur Blutreinigung eingesetzt (FELL et al., 1968; HÖHN, 1995). Die pharmakologische Wirkung wird mit harntreibend, schleimlösend, kühlend und entzündungshemmend beschrieben (HANNIG 1950). Verwendung findet er außerdem bei nervöser Herzschwäche und nervösem Herzklopfen (FISCHER et al., 1947).

Neben der Anwendung als Medizinalpflanze wurde der Borretsch auch im Haushalt als Lebensmittel eingesetzt. Das Borretschkraut diente wegen seines gurkenartigen Geschmacks als Salatbeigabe und als Gemüse. Heute wird Borretsch nur sporadisch im Haushalt gebraucht, während er im Norden Spaniens verbreitet als Gemüse in der menschlichen Ernährung dient.

Es ist nicht genau bekannt, wann die Inkulturnahme des Borretsch begann. Eine medizinische Verwendung von *Borago officinalis* L. bei Griechen und Römern ist nicht überliefert (NUEZ et al., 1998; HANNIG, 1950). Sie kannten aber den Borretsch unter dem Namen Euprosine („Frohsinn“) (PARKINSON, 1640, zit. in FELL et al., 1968). Bei Albertus Magnus wird die Pflanze ausführlich beschrieben. In den Klostergärten wurde sie als Heil- und Gewürzpflanze kultiviert und gelangte von dort in die Bauerngärten. Heute ist sie als Gewürz- und Heilpflanze in ganz Europa verbreitet (SCHUSTER, 1992).

In der jüngsten Vergangenheit hat der Borretsch zunehmend an Bedeutung gewonnen. Neben der Verwendung im Haushalt erfolgte eine stärkere Nutzung dieser Pflanze in der Medizin, wo die medizinischen Eigenschaften der im

Borretschöl vorhandenen Gamma-Linolensäure (GLS) zur Behandlung des atopischen Ekzems genutzt werden. Doch auch zur Behandlung einer ganzen Reihe weiterer Krankheiten und Beschwerden werden Borretschöle zunehmend eingesetzt: Diabetes, Sjögren Syndrom, Osteoporose, menopausale Symptome, prämenstruelles Syndrom (PMS), allergische Rhinitis, rheumatische Arthritis, Aufmerksamkeits-Defizit/Hyperaktivitäts-Störung (ADS/ADHS), Karzinom, Alkoholismus, Gewichtsverlust, Hypertonie, Herzkrankheiten und Ulzera (GOUD et al., 2007). Diese Entwicklung führte generell zu einer verstärkten Nachfrage nach pflanzlichen Produkten, die GLS enthalten. Die veränderte Nachfragesituation, verbunden mit höheren Qualitätsnormen, erfordert stärkere Aktivitäten, um die Eigenschaften dieser Pflanze sowohl durch züchterische als auch pflanzenbauliche Maßnahmen den Erfordernissen anzupassen.

Der Borretsch ist geprägt durch typische Wildpflanzeigenschaften wie lockerer Kornsitze, indeterminiertes Wachstum, lange Blüte- und Reifezeit. Der ackerbaulich nicht positiv zu beurteilende Blatttyp ist als dominierende Wuchsform anzusehen. Die Nachfragesituation in Verbindung mit einem ökonomisch nutzbringenden Anbau erfordern höhere GLS-Gehalte, sowie möglichst niedrige Gehalte an Erucasäure (ES), welche ernährungsphysiologisch problematisch ist.

Daraus ergeben sich unmittelbar die beiden Arbeitsschwerpunkte **Pflanzenzüchtung** und **Pflanzenbau** dieser Arbeit, mit denen sich die folgenden Zielsetzungen verbinden:

1. Pflanzenzüchtung

Optimierung der Qualitätsmerkmale des Borretsch im Hinblick auf die pharmakologische Nutzung und die ackerbaulichen Eigenschaften:

- Erreichung eines festen Kornansatzes
- Erhöhung des GLS- und Reduzierung des ES-Gehaltes
- Gewinnung (Etablierung) eines Stängeltyps
- Untersuchung der Eignung des Borretsch für die Gewebekultur

2. Pflanzenbau

- Klärung des Einflusses unterschiedlicher Reihenweiten und Bestandesdichten auf den Kornertrag
- Evaluierung herkömmlicher und alternativer Erntemethoden zur Gewinnung der Samenkörner

2 Literaturübersicht

2.1 Botanik

2.1.1 Taxonomie

Nach CRONQUIST (1981) ist der Borretsch in die Ordnung *Lamiales* einzugliedern, zu der die Familien *Lennoaceae*, *Boraginaceae*, *Verbenaceae* und *Lamiaceae* gehören.

Wegen ungeklärter phylogenetischer Eigenschaften wurde der Borretsch in jüngster Zeit entweder keiner Ordnung oder aber verschiedenen Ordnungen, z.B. *Lamiales* (CRONQUIST, 1981) eingegliedert. *Boraginaceae* bilden eine Familie von Kräutern, Sträuchern und Bäumen mit einer kosmopolitischen Verbreitung.

Überwiegend wird die Taxonomie nach CRONQUIST (1981) sowohl in Original- als auch in adaptierter Form gebraucht. Viele Botaniker haben jedoch die Klassifikation der *Angiosperm Phylogeny Group* angenommen. Dabei handelt es sich um ein integriertes System der Klassifikation von Blütenpflanzen mit 321 Familien und 64 Ordnungen.

Die neueste Klassifikation (COLE & HILGER, 2010), die an der FU Berlin erstellt wurde, umfasst annähernd 450 Familien. In diesem System wurde die Familie *Boraginaceae* der Ordnung *Boraginales* und der Unterklasse *Euasteridae 1* zugeordnet. Diese Familie mit weltweit etwa 100 Genera und 2000 Spezies (GOTTSCHLING et al., 2001) ist in die vier Subfamilien *Boraginoideae*, *Heliotropioideae*, *Cordioideae* und *Ehretioideae* gegliedert. Im Unterschied zu dieser Systematik umfasst nach MABBERELY (1997), zit. in LANGSTRÖM et al. (2002) die Familie *Boraginaceae* ca. 130 Genera und 2300 Species.

Der Borretsch ist in den Tribus *Borageae* eingebunden (CRONQUIST, 1981). Dieser besteht aus den Genera *Anchusell*, *Borago*, *Brunnera*, *Cynoglottis*, *Gastrocotyle*, *Hormuzakia*, *Nonea*, *Pulmonaria* und *Symphytum* mit je einer bis mehreren monophyletischen Spezies (HILGER et al., 2004).

Der Genus *Borago* gliedert sich in die Subgenera *Buglossites* und *Borago*. Zum Subgenus *Buglossites* gehören der auf Sardinien endemisch vorkommende diploide *B. Morisiana* ($2n=18$) und *B. pygmaea*, der in drei allopatrisch vorkommenden Arten und zwar in Sardinien ($2n=30$), in Südkorsika ($2n=32$), Zentral- und Nordkorsika und Capraia ($2n=48$) auftritt. Der Subgenus *Borago* umfasst den in Marokko endemisch auftretenden *B. trabutii* ($2n=12$) und den weit verbreiteten *B. officinalis* ($2n=16$) (SELVI et al., 2006).

2.1.2 Morphologie

2.1.2.1 Phänotypische Eigenschaften

Die Wurzel der Borretschpflanze ist stark verzweigt mit deutlicher Hauptwurzel (SCHUSTER, 1992). Der aufrechte, einfache oder ästige, fleischige Stängel wird nach HEEGER (1989) bis 80 cm lang und ist oft sehr sperrig. SCHUSTER (1992) gibt die Höhe des heranwachsenden Sprosses mit 30 bis 150 cm, und seinen Durchmesser mit 0,5 – 1 cm an.

Die unteren gestielten Blätter sind rosettenartig gehäuft, eiförmig, die oberen oft nur mit einem Stielansatz versehen oder ungestielt (HEEGER, 1989). HAGER (1972) bezeichnet die Blätter als ganzrandig, etwas ausgebuchtet, oberseits dunkelgrün, unterseits blasser, oft wellig und etwas runzlig, fieder- und netznervig und beidseits behaart. Nach SCHUSTER (1992) besitzen die unteren Blätter einen 2 – 8 cm langen Stiel, dagegen sind die oberen nur kurz gestielt.

Die Blüten sind gestielt (0,5 – 2 cm), nickend, und stehen in zu Doldenrispen zusammengestellten Wickeln. Der Kelch ist fast bis zum Grund in lineare, spitze, rauhaarige Zipfel geteilt. Zur Blütezeit sind sie ausgebreitet und etwa 1,5 cm breit. Nach dem Abfallen der Krone schließen sie sich und wachsen bis zu 2 cm Länge heran (HAGER, 1972). Die Korolla ist leuchtend blau, blau-violett, pink oder weiß (JANICK et al., 1989). Der Stylus mit Stamen sitzt auf einem flachen Polster. Die Staubblätter tragen schwarz-violette Antheren von ca. 6 mm Länge (SCHUSTER, 1992). Der Blütenstand ist hypogyn. Die Blüte ist protandrisch, d.h. der Pollenausfall erfolgt am ersten Tag der Blüte, gefolgt von einer Vergrößerung der Narbe während des zweiten Tages (JANICK et al., 1989, zit. in MONTANER et al., 2001). Das unvollständige Selbstinkompatibilitätssystem wird nach NUEZ et al. (1998) und CROWE (1971), zit. in MONTANER et al. (2001), durch zahlreiche Gene kontrolliert. Die beim Borretsch übliche Bestäubung erfolgt über Geitonogamie, da die Insekten auf der gleichen Pflanze verschiedene Blüten besuchen und damit die Selbstbestäubungsrate erhöhen (MONTANER, 2001). Die Blütezeit reicht von Juni bis September (HÖHN, 1995).

Die zwei Fächer des oberständigen, coenocarpen Fruchtknotens werden durch eine falsche Scheidewand in vier Klausen geteilt, in denen die vier Teilfrüchte sitzen (HESS, 1983). Die 4 – 6 mm langen und 3,5 mm breiten Nüsschen sitzen locker in den Fruchtkelchen und fallen bei der Reife leicht aus (SCHUSTER, 1992). Sie sind am Grund zu einem Ringwulst erweitert und haben an der Ansatzstelle der Nüsschen eine fettreiche Pseudostrophiole (Eleiosom). Die Früchte sind schwach gerippt und warzig rauh und von hellbrauner bis schwarzgrauer Farbe (HEEGER, 1989). 1 Liter Samen wiegt 430 g. Die Keimfähigkeit beträgt 80 bis 99 % und bleibt 8 bis 10 Jahre erhalten (NUEZ et al. 1998).

2.2 Inhaltsstoffe und Qualität

2.2.1 Borretschkraut

Zur Prüfung der Eignung als Nahrungsmittel wurden in verschiedenen Untersuchungen die essbaren Pflanzenteile wie Stängel, Blatt und Blattstiel auf ihre Nährstoffgehalte untersucht. Nach RIO-CELESTINO DEL et al. (2008) zeigten die Blätter mit einem Fettgehalt von 2,7 % einen höheren Wert als Blattstiele und Stängel mit 1,1 % und 1,4 %. Die am häufigsten vorkommenden Fettsäuren in den Blättern waren Palmitin-, Linol-, α -Linolen- und Stearinsäure mit etwa 75 % der Gesamtfettsäuren. Die Pflanze enthielt Spuren ätherischen Öls. Das aus den Blättern gewonnene Öl hatte GLS-Gehalte von 27 - 43 mg/g. Der Fettsäuregehalt ist abhängig von den Entwicklungsstadien und Umweltfaktoren. Er ist zu Beginn der Wachstumsphase am niedrigsten und im Spätsommer und Herbst am höchsten (SEWON & TYYSTJÄRVI, 1993). Das Borretschkraut enthält Pyrrolizidinalkaloide. Diese Alkaloide zeichnen sich durch einen hohen Toxizitätsgrad aus, sodass bei unsachgemäßer Anwendung als Nahrungs- oder Arzneimittel gesundheitliche Schäden auftreten können.

2.2.2 Borretschsamen

Der Samen von *Borago officinalis* L. enthält nach SIMON et al. (1990), zit. in GILBERTSON et al. (2007), 29 – 38 % Gesamtfett mit einem GLS-Gehalt des Fettes von 17 – 25 %. Die Kotyledonen sind die größte Fettsäurequelle, 32,7 % der Fettsäuren befinden sich im Hypokotyl und 1 % im Exokarp (JANICK et al., 1989). Gemäß dem DAC (1999) wird Borretschöl als klares, gelbes, fettes Öl mit schwachem Geruch, mildem Geschmack und einer Verseifungszahl von 184 – 194 beschrieben. Es ist nahezu unlöslich in Wasser und Ethanol (96 %) und mischbar mit Ether und Petrolether.

Die Gamma-Linolensäure (GLS) (cis-6, 9, 12-Octadecatriensäure) ist eine essenzielle Fettsäure, die bei Nutzpflanzen sehr selten vorkommt. Sie ist im Samenöl von *Oenothera biennis* L. (8 - 12 %), *Ribes nigrum* L. (13 - 17 %), *Borago officinalis* L. (18 - 26 %) und einigen Pilzen wie z.B. *Phygomycetes* (23 - 26 %) enthalten (GOUD et al., 2007). Die Synthese der GLS in der Pflanze erfolgt zunächst durch Desaturierung der Ölsäure mittels Δ 12-Desaturase zu Linolsäure und im folgenden Schritt durch die Bildung von Linolensäure, die durch Delta-6-Desaturase katalysiert wird (GALLE et al., 1993; HESS, 1999).

Aufgrund der ungünstigen ernährungsphysiologischen Eigenschaften der Erucasäure (ES) sollten möglichst niedrige Werte im Fettsäuremuster angestrebt werden. KNIPP et al. (2002) verwiesen auf die Notwendigkeit der Selektion von hohen GLS- und niedrigen ES-Gehalten.

2.2.3 Pyrrolizidinalkaloide

Wie andere Arten der Familie *Boraginaceae* enthält auch der Borretsch Pyrrolizidinalkaloide. NAGHDI et al. (2008) fanden 7,8 ppm Gesamtalkaloide in der blühenden Pflanze. Nach DHARMANANDA (2009) beträgt der Gesamtalkaloidgehalt des Borretsch <0,001 % der TM. In Blättern, Blüten und Samen wurden sieben Pyrrolizidinalkaloide identifiziert. Das saturierte Pyrrolizidinalkaloid Thesinin ist das Hauptalkaloid, während die übrigen nur einen geringen Teil ausmachen.

1,2-Dehydropyrrolizidinerster-Alkaloide und ihre Carboxylgruppen zeigen hepatotoxische, pneumotoxische, karzinogene und mutagene Effekte (RÖDER, 1999). Die Biosynthese der Pyrrolizidinalkaloide erfolgt in drei Schritten. Im ersten Metabolisierungsschritt werden die N-Oxide gebildet oder in α -Stellung zum Stickstoff eine Hydroxylgruppe eingeführt. Im zweiten Schritt erfolgt der Umbau zu einem Pyrrolderivat und im letzten Schritt die Abspaltung der Säuren, die zur Bildung toxischer Verbindungen führt. Diese Metabolisierung erfolgt in der Leber. Die Krankheitsbilder infolge einer Intoxikation mit Pyrrolizidinalkaloiden sind Nekrose, chronische Megalozytose und Fibrosen. Außerdem werden Lunge, Niere, Pankreas und der Gastrointestinaltrakt geschädigt (WIEDENFELD et al., 1984).

Die Voraussetzung für die *Zulassung* und das Inverkehrbringen von Borretschöl ist ein von Pyrrolizidinalkaloiden freies Öl. Die Qualität, d.h. der Grad der Verunreinigung und der Anteil an Pyrrolizidinalkaloiden im Öl ist abhängig vom Herstellungsverfahren. Durch die Kaltpressung gewinnt man Öl in bester Qualität, d.h. das Öl ist praktisch frei von Pyrrolizidinalkaloiden. Das Pressverfahren bei erhöhter Temperatur bringt eine höhere Ausbeute, jedoch bei geringerer Qualität. Neben dem Pressverfahren werden verschiedene Extraktionsmethoden zur Ölgewinnung eingesetzt. Eines dieser chemischen Verfahren ist die Extraktion mit Hexan, die bei mehr oder minder hohen Temperaturen erfolgt. In diesem Fall muss das Öl nachgereinigt werden, wozu verdünnte Natriumcarbonatlösung verwendet wird (KARLESKIND et al., 1996, zit. in ROEDER et al., 2001). Bei einer zweiten Extraktionsmethode wird flüssiges (überkritisches) Kohlendioxid verwendet. Dabei werden in jedem Fall gleichzeitig Pyrrolizidinalkaloide mit extrahiert (SCHAEFFER et al., 1989, zit. in ROEDER et al. 2001). Die Untersuchungen zeigten, dass das Öl lediglich bei Kaltpressung frei von Pyrrolizidinalkaloiden ist (ROEDER et al., 2001). Drogen, die Pyrrolizidinalkaloide mit 1,2-ungesättigtem Necin-Gerüst enthalten, dürfen aufgrund des negativ beurteilten Nutzen/Risiko-Verhältnisses nicht mehr abgegeben werden. Dazu zählen auch die aus Borretschöl hergestellten Produkte. In einem Gutachten wird die Aufnahme von 1 $\mu\text{g}/\text{Tag}$ für den Menschen als vertretbar angesehen (BANZ, 1992).

2.3 Ernährungsphysiologische Wirkungen der Gamma-Linolensäure

Die Heilwirkung der GLS wurde u.a. von GOOL et al. (2003) in klinischen Studien erforscht. Sie berichten in einer randomisierten Doppelblindstudie von einer Risikogruppe, die mütterlicherseits mit atopischem Ekzem belastet war. Die Säuglinge (n=118) erhielten zusätzlich Borretschöl mit 100 mg GLS, während die Placebogruppe Sonnenblumenöl erhielt. Es wurde festgestellt, dass eine frühe Zufuhr von GLS bei Kindern mit einem hohen familiären Risiko den Ausbruch der atopischen Dermatitis zwar nicht verhindert, dass der Schweregrad der Krankheit in der späteren Kindheit jedoch wesentlich herabgesetzt wird.

Nach RACHEL et al. (2010) ist die Nahrungsergänzung mit omega-6 essenziellen Fettsäuren (cis-6, 9, 12 Octadecatriensäure) von potentiell Interesse bei der Behandlung der atopischen Dermatitis. Essenzielle Fettsäuren spielen eine vitale Rolle in der Hautstruktur und Physiologie. Der Mangel an essenziellen Fettsäuren verstärkt die Symptome der atopischen Dermatitis. Bei Patienten mit dieser Krankheit wird von einer Imbalance des essenziellen Fettsäurelevels berichtet. In 12 klinischen Versuchen wurde die Aktivität der Delta-6 Desaturase untersucht mit dem Ergebnis, dass die GLS den Ausbruch der atopischen Dermatitis bei Neugeborenen nicht verhindern kann. Die Mehrzahl der Versuche zeigte jedoch positive Effekte. Danach ist es sinnvoll, die Behandlung einer weniger stark ausgeprägten atopischen Dermatitis bei Patienten durchzuführen, die eine alternative Behandlung suchen (RACHEL et al., 2010). In der Kernaussage decken sich damit die beiden Versuche.

Ein therapeutischer Einsatz von Borretschsamenöl als begleitende Maßnahme, z. B. bei Neurodermitis, rheumatischer Arthritis und prämenstruellem Syndrom (PMS), ist daher möglich. Derzeit sind Nachtkerzensamenöl-Präparate für das atopische Ekzem als Arzneimittel zugelassen. Borretschsamenöl-Präparate werden als Nahrungsergänzungsmittel in den Verkehr gebracht.

Zur Behandlung der Hypertonie wurden verschiedene Präparate von Borretschöl im Vergleich mit Angiotensin II und Norepinephrin geprüft. Der Versuch, der über 3, 5 und 6 Wochen dauerte, zeigte einen niedrigeren Blutdruck gegenüber Norepinephrin und Angiotensin II. Die maximale Kontraktionskraft in aortalen Segmenten war bei mit Borretschöl behandelten Patienten signifikant niedriger (ENGLER, 1992).

In einem Placebo-kontrollierten Versuch mit Nachtkerzenöl (8 - 12 % GLS) bei 30 Frauen, die an einem ausgeprägten prämenstruellen Syndrom (PMS) litten, wurde eine Reduzierung der Symptome der PMS sowie eine Reduktion der Depression festgestellt (KHOO et. al., 1990).

Nach der Barker-Hypothese (fetale Entwicklungs-Hypothese) setzen die Umweltbedingungen während der fetalen Entwicklung das Limit für die metabolische Kapazität von GLS (BARKER et al., 1993). Wenn diese Kapazität im späteren Leben

erschöpft ist, sind die Voraussetzungen für Krankheiten gegeben. Ergänzend zu dieser Theorie ist der Effekt eines fetalen Ernährungsmangels merklich stärker als ein während des späteren Lebens einsetzender Mangel und Ursache zur Prädisposition vieler chronischer Krankheiten wie Herzkrankheiten, Diabetes, metabolischer Syndrome etc. (LAMONT et al., 1998; JACKSON et al., 2003). In Ergänzung zu dieser Hypothese wurde beobachtet, dass Kinder, die bei der Geburt einen höheren GLS-Level in Plasma-Phospholipiden der Nabelschnur hatten, keine Insulinresistenz im siebten Lebensjahr entwickelten, während solche mit niedrigem GLS-Level eine erhöhte Insulinresistenz sowie erhöhte Körperfett-, Insulin-, Proinsulin- und Leptin-Konzentrationen zeigten (RUMP et al., 2002).

2.4 Stand der züchterischen Bearbeitung

Gattung *Borago*

Die Chromosomenzahl der einzelnen Arten des Genus *Borago* beträgt zwischen 12 und 48 Chromosomen. Der Chromosomensatz von Borretsch (*Borago officinalis* L., s. Abb. 1) besteht aus 16 Chromosomen (SNOWDON, 2001 pers. Mitteilung).

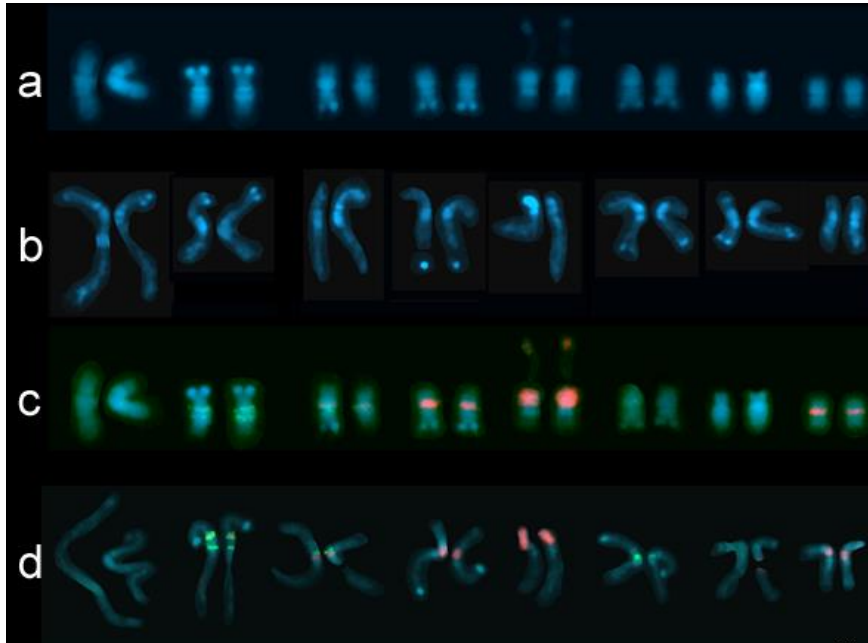


Abb. 1 Borretsch Chromosomen: Metaphase (a, c) und Prometaphase (b, d) SNOWDON (2001)

Ziel der züchterischen Maßnahmen ist die Erstellung eines marktfähigen Erntegutes. Das bedeutet, dass die Ware den üblichen Qualitätsanforderungen entspricht. Bei Borretsch liegen die geforderten Eigenschaften in einem möglichst hohen Kornertrag mit einer gleichzeitig hohen Ausbeute an Öl und GLS. Die vom Handel geforderten Mindestgehalte an GLS liegen bei 22 %. Verkaufsfähige Ware mit einem GLS-Gehalt >24 % ist in Zeiten des Überangebots leichter zu verkaufen. Bei in Chile durchgeführten Versuchen wird über GLS-Gehalte von 22,4 bis 23,0 % bei einem Ölgehalt von 30,2 bis 31,2 % und einem Ölertrag von 50 bis 72 kg/ha berichtet (BERTI et al., 2010). Die in der Black Soil Zone in Kanada erfolgten Versuche zeigten GLS-Gehalte von circa 22 bis 26 % bei früher Aussaat und früher Ernte, circa 24 bis 28 % bei früher Aussaat und später Ernte, 24 bis 28 % bei später Aussaat und früher Ernte sowie circa 27 bis 29 % bei später Aussaat und später Ernte (HAFID et al., 2002).

In Australien wurden im Borretschöl GLS-Gehalte von 19 – 25 % erreicht (FRANCIS et al., 2003). Die Öl- und GLS-Gehalte und die daraus resultierenden absoluten Erträge sind jedoch sehr stark temperaturabhängig. CERGEL et al. (2003) stellten bei höherer Lufttemperatur signifikant niedrigere Öl- und GLS-Gehalte bei Borretsch fest.

In Chile durchgeführte Versuche bestätigten diese Ergebnisse. Sie zeigten, dass die Lufttemperatur während der Samenentwicklung einen wesentlichen Einfluss auf die Fettsäurezusammensetzung des Borretschöls hat. In dem wärmeren Norden des Landes wurden GLS-Gehalte von 18,4 % und im kühleren Süden solche von 26,4 % festgestellt (BERTI et al., 2002).

Kornerträge

Die Kornerträge sind neben dem jeweiligen züchterischen Stand weitgehend abhängig von Umweltbedingungen wie Niederschläge, Trockenheit und den jeweils herrschenden Erntebedingungen während der Reifezeit. Aufgrund dessen können die Erträge sehr stark variieren. So konnten in Chile in einem N-Steigerungsversuch von 0, 100, 200 und 300 kg N/ha Samenerträge von 243, 224, 224 und 274 kg/ha erzielt werden. Die entsprechend der steigenden N-Düngermenge nicht signifikanten Kornerträge erklären die Autoren als Folge des indeterminierten Wachstums und des starken Kornausfalls bei Borretsch. Das Tausendkorngewicht (TKG) ging von 16,4 g bei 0 kg N/ha auf 12,3 g bei 300 kg N/ha zurück (BERTI et al., 2010).

Bei Versuchen in North Dakota (USA) wurden Erträge von 208 bis 241 kg/ha erreicht (GILBERTSON et al., 2007). In der Schwarzerdezone von Alberta (Kanada) wird über Ernteerträge von ca. 540-590 kg/ha bei früher und 390-440 kg/ha bei später Aussaat berichtet (HAFID et al., 2002). In Spanien konnten Erträge von 544 kg/ha erzielt werden (Gálvez et al., 2002).

In einem Gefäßversuch wurde dagegen mit steigender N-Gabe von 0 bis 0,8 g/Gefäß eine kontinuierliche Zunahme des Kornertrages von 1,2 auf 2,9 g/Gefäß erreicht. Bei einer weiteren Steigerung der N-Gabe bis 1,2 g/Gefäß ging der Ertrag auf 1,7 g/Gefäß zurück (Cergel u. Honermeier, 2003).

2.5 Stand der pflanzenbaulichen Forschung

2.5.1 Aussaat und Pflege

Zur Verringerung der Produktionskosten sollten die erforderlichen Pflegemaßnahmen mit einem möglichst niedrigen Aufwand an Handarbeit durchgeführt werden. Bei Pflanzen, die zu Arznei- oder Nahrungsergänzungsmitteln verarbeitet werden, ist aufgrund der zunehmenden Sensibilität der Verbraucher anzuraten, auf den Einsatz von Herbiziden zu verzichten. Hier ist dringend erforderlich, die Vorgaben der abnehmenden Hand, wie Handel und/oder weiterverarbeitendes Gewerbe, zu beachten und vor dem Anbau ausreichend Informationen einzuholen. Je nach Maschineneinsatz sind zur Durchführung mechanischer Pflegemaßnahmen Reihenabstände von 62,5 cm bzw. 75,0 cm erforderlich. Unter diesen Voraussetzungen sind geringere Ernteerträge zu erwarten. In den bei BERTI et al. (2010) dokumentierten Versuchen wurde mit Reihenabständen von 17,5 cm und 20 cm gearbeitet, während bei GILBERTSON et al. (2007) ein Reihenabstand von 30 cm gewählt wurde.

2.5.2 Ernte

Die allgemein übliche Erntemethode bei Borretsch ist die Schwadablage. Sowohl BERTI et al. (2010) als auch GILBERTSON et al. (2007) wählten diese Methode, die jedoch mit hohen Ernteverlusten verbunden ist.

Eine voll technisierte Erntemethode, wie sie zum Beispiel in den Niederlanden auf der Insel Texel (de Witt) durchgeführt wird, ist an bestimmte Bodenverhältnisse gebunden. Bei diesem Verfahren wird nach der Abreife der Samen das Kraut gemäht und abgefahren. Die ausgefallenen Körner werden oberflächlich mit einer schräg stehenden rotierenden Bürste zu Dämmen zusammengetragen. Die Dämme werden von einem Erntegerät aufgenommen und die darin enthaltenen Borretschsamen von dem Boden getrennt und in Säcken zum Abtransport und zur weiteren Verarbeitung gesammelt. Diese Methode ist nur dort anwendbar, wo steinfreier und siebfähiger Sandboden vorhanden ist. Diese Bedingungen sind jedoch nur in bestimmten, lokal begrenzten Regionen anzutreffen.

2.6 In-vitro-Kultur

Pflanzenversuche in der herkömmlichen Form erfolgen i.d.R. im Rahmen von Gefäß- oder Feldversuchen. Das Ausgangsmaterial dieser Versuche wird aus dem Samen der Mutterpflanzen erstellt. Diese Versuchsform hat jedoch den Nachteil, dass sie infolge der Vegetationsabhängigkeit einer zeitlichen Begrenzung unterliegt und wie bei Feldversuchen nur einmal im Jahr durchgeführt werden kann.

Die In-vitro-Kultur bietet dagegen die Möglichkeit der zeitunabhängigen Versuchstätigkeit und ermöglicht die Verwendung anderer Pflanzenteile neben dem Samen, wie Wurzel, Spross, Blattstiel, Blatt und Hypokotyl. Dabei werden deren Explantate außerhalb des intakten pflanzlichen Organismus auf einem geeigneten Nährmedium kultiviert. Dieses Nährmedium übernimmt dabei die Funktion der ursprünglich in der Pflanze benachbart liegenden Zellen und Leitbündel (NEUMANN, 1995).

Vorraussetzung für eine erfolgreiche Kultivierung ist eine kontaminationsfreie Zellbank (Kaiser et al., 2003). Eine Kultur in vitro erfordert jedoch geeignete Bedingungen, d.h. die verwendeten Nährmedien und Bedingungen müssen den jeweiligen Anforderungen der bearbeiteten Pflanzenart bezüglich Zellteilung und Differenzierung entsprechen. Wie unter natürlichen Bedingungen benötigen pflanzliche Zellen in vitro für Teilung und Wachstum wenigstens die notwendigen anorganischen Makro- und Mikroelemente sowie eine Kohlenstoffquelle. Neben den genannten Elementen kommt den Phytohormonen (Auxine und Zytokinine) in der Zell- und Gewebekultur eine besondere Bedeutung zu (FRIEDT & ORDON, 2000).

Über die Induktion der Organogenese soll die In-vitro-Kultur einen wesentlichen Beitrag in der Zucht von *Borago officinalis* L. und dessen Nutzung als Medizinal-

pflanze leisten. Bei der Phytohormonbehandlung wurden die Phytohormone Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D), Benzylaminopurin (BAP), Naphtylessigsäure (NES) und Indolbuttersäure (IBS) angewendet (KNIPP et al., 2002).

2.6.1 Kalluskultur

Kultiviert man frisch isoliertes Gewebematerial unter wachstumsfördernden Bedingungen, so kommt es an der durch den Schnitt geschaffenen Oberfläche zu einer der Wundheilung dienenden Auslösung der Zellteilung (NEUMANN, 1995).

Ausgehend von der Einzelzelle oder einem Zellverband sorgen abhängig von dem Pflanzenteil, dem das Explantat entstammt, sowie der Pflanzenart bestimmte Konzentrationen an Auxinen und Zytokinen im Nährmedium zunächst für eine fortgesetzte Zellteilung. Diese fortgesetzte Teilung führt i.d.R. – wenn keine direkte Organogenese auftritt – zur Entwicklung einer undifferenzierten Zellmasse, dem Kallus (ORDON, 1998). Ein Kallus ist also ein aus undifferenzierten, relativ großen und stark vakuolisierten Zellen bestehender Zellhaufen.

Eine Kallusinitiation erfolgt innerhalb von 3 bis 8 Wochen. Wenn nach acht Wochen kein Kalluswachstum erkennbar ist, kann davon ausgegangen werden, dass der Versuch, Kalluswachstum zu induzieren, erfolglos war (COLLIN, 1998).

2.6.2 Differenzierung

Die Differenzierung von Kalluskulturen wird durch ein komplexes Zusammenspiel von Auxinen und Zytokinen gefördert. Deren Wirkung in den Pflanzen ist vielfältig und funktionell hochgradig unspezifisch (ODENBACH, 1997).

Durch Verschieben der Hormonverhältnisse im Nährmedium zugunsten des Zytokinins treten im Kallusgewebe Differenzierungen auf, welche schließlich zur Bildung von Sprossen (Organogenese) oder Embryoiden (Embryogenese) führen. Nach Abnahme der Sprosse vom Kallusgewebe und Überführung auf ein Medium mit höherer Auxinkonzentration lässt sich an ihnen Wurzelbildung induzieren. So entstehen wieder intakte Pflanzen, die anschließend in Erde überführt werden können (FRIEDT & ORDON, 2000).

Die Kultivierung von Kallussen bietet die Möglichkeit, eine Pflanze mit gewünschten Eigenschaften schnell und von Vegetationsperioden unabhängig zu vermehren.

3 Material und Methoden

3.1 Keimungsversuche

3.1.1 Einfluss von Licht, Temperatur und Humidität

Für diesen Versuch wurden Keimschalen von der Größe 20 x 9,5 x 6,5 cm verwendet, die mit Sand aus der Sandgrube in Rauischholzhausen gefüllt wurden. Jede Keimschale wurde mit 100 Saatkörnern bei vier Wiederholungen je Versuchsstufe belegt. Das verwendete Saatgut mit einer Keimfähigkeit von 88 bis 90 % wurde von der Firma de Witt, Niederlande bezogen. Die fertigen Keimkästen wurden in den Klimaschrank (Rubarth Apparate GmbH) überführt und der Keimprozess bei einer Humidität von 65 % in Abhängigkeit von Belichtungszeit und Temperatur untersucht. Die Belichtung wurde auf 24, 16, 8, und 0 h festgelegt, die Temperaturstufen betragen 5, 10, 15 und 20°C. Nach 6, 8, 10, 12, 14, 16 und 18 Tagen wurde das Ergebnis in den einzelnen Stufen dokumentiert.

3.1.2 Einfluss der Nährböden

Für die Halbkornanalyse wurden die Nährböden Filterpapier und Sand auf ihre Eignung zur Keimung von Borretschsamen untersucht.

Verwendet wurden Petrischalen mit einem Durchmesser von 10 cm, die mit Filterpapier belegt beziehungsweise mit Sand befüllt wurden. Jedes Gefäß wurde mit 10 Samen (Firma de Witt) bestückt und nach ausreichender Befeuchtung in dem Klimaschrank (Rubarth Apparate GmbH) bei 25°C und einer Luftfeuchte von 65 % zum Keimen gebracht. Der Versuch hatte sechs Wiederholungen.

Die folgenden Versuche wurden mit Keimschalen, wie unter 3.1.1 beschrieben, durchgeführt. In der Gewebekultur wurden Nährböden nach *Murashige* und *Skoog* (siehe

Tab. 69) verwendet.

3.1.3 Einfluss von Natriumhypochlorid und Ethanol

In diesem Versuch wurde das Keimverhalten von Borretsch nach Behandlung mit Natriumhypochlorid (NaOCl) und Ethanol untersucht, und zwar auf sterilem und unsterilem Boden, Filterpapier und MS-Medium.

Für alle sterilen Arbeiten wurden die verwendeten Geräte und Instrumente aus Metall in einem Trockenschrank (WTB-Binder, Tuttlingen) 3 h bei 180°C sterilisiert. Entmineralisiertes Wasser sowie die Kulturmedien wurden im Autoklaven (Tuttnauer 3870 EL, Systec) sterilisiert. Die Arbeiten mit den sterilisierten Kulturen erfolgten in einer mit 70 %igem Ethanol desinfizierten Querstrombank (Gelaire HF 48), wo die

desinfizierten Samen ausgelegt wurden. Während der Arbeiten wurden die verwendeten Instrumente mehrmals in 90 %iges Ethanol getaucht und anschließend abgeflammt. Vor dem Verschließen mit Parafilm wurden die Gefäße ebenfalls abgeflammt. Die zum Abdecken verwendete Alufolie wurde am Gefäßrand dicht mit Parafilm verschlossen.

Die Samen wurden mit NaOCl bzw. mit einer Kombination aus NaOCl und Ethanol behandelt. Dazu wurde ein Teil des Saatguts 1 min mit 70 %igem Ethanol vorbehandelt. Alle Samen wurden unter Umrühren 10 min in die vorbereitete NaOCl-Lösung der Konzentrationen 2, 4 bzw. 6 % mit einem Zusatz von 1-2 Tropfen Tween 80 gebracht. Mit Tween 80 soll eine bessere Benetzung des Saatgutes erreicht werden. Danach wurden die Samen 4 – 5 mal mit sterilem, entionisiertem Wasser in Bechergläsern gewaschen und auf die vorbereiteten Medien ausgelegt.

3.1.4 Einfluss von Wasserstoffperoxid

In diesem Versuch wurden das Keimverhalten und der Sterilisationsgrad nach einer jeweils 30-minütigen Behandlungsdauer mit verschiedenen Wasserstoffperoxid-Konzentrationen (10, 15 bzw. 20 %) untersucht.

Die vorbereitenden Arbeiten entsprachen den in Kapitel 3.1.3 beschriebenen Methoden. Danach wurden die einzelnen Medien auf den jeweiligen Gehalt an Wasserstoffperoxid (H_2O_2) mit sterilem, entionisiertem Wasser eingestellt. Die Samen wurden anschließend ebenfalls 4 - 5 mal mit sterilem, entionisiertem Wasser gewaschen und in sterilen, autoklavierten und angefeuchteten Sand ausgelegt.

3.2 Untersuchungen zur Wirkung von Mutagenzien

3.2.1 Versuche mit Ethylmethansulfonat

Bei Ethylmethansulfonat (EMS) handelt es sich um ein chemisches Mutagens. Die mutagenen Eigenschaften werden von den Alkylgruppen geprägt. Sie reagieren sowohl mit den Phosphat-Gruppen der DNS als auch mit den Purin- und Pyrimidinbasen, wobei Alkylreste ($-CH_3-CH_2-CH_3$) angelagert werden (ODENBACH, 1997).

Gefäßversuch mit 1 %iger EMS-Lösung

Für die vier Versuchsglieder 0 h (Kontrolle), 12 h, 18 h und 24 h wurden je 60 Borretschsamen mit einer 1 %igen EMS-Lösung behandelt und danach ca. 1 h gründlich in fließendem Wasser gewaschen. Nach einer anschließenden Trocknung bei 28°C wurden die Samen in Keimschalen zum Keimen gebracht und nach ca. 1 Woche in Quickpots pikiert. Bei ausreichender Durchwurzelung wurden sie in Mitscherlich-Gefäße ausgepflanzt, die mit einem Erde-Sand-Gemisch im Verhältnis

1:1 gefüllt waren. Erde und Sand stammten aus der Versuchsstation Rauschholzhausen (Sandgrube bei Rauschholzhausen).

Düngung: Folgende Düngermenge wurde je Mitscherlich-Gefäß appliziert: Stickstoff (N) 0,3 g (bei Bedarf wurde bis 0,5 g nachgedüngt), Phosphor (P) 0,4 g, Kalium (K) 1,6 g, Magnesium (Mg) 0,2 g.

Die einzelnen morphologischen Merkmale wurden nach 55 und 114 Tagen, Knospenbildung und Blühbeginn nach ihrem Auftreten dokumentiert. Nach der Ernte wurde das Fettsäuremuster der Samen mittels Gaschromatographie ermittelt.

EMS-Feldversuch

Die Versuchsfläche des Feldversuchs betrug ca. 2500 m². Das Saatgut wurde 16 h in 1 %iger EMS-Lösung behandelt, da im Vorversuch negative Einflüsse der EMS-Behandlung auf die Fertilität bei einer Behandlungsdauer von über 18 h festgestellt wurden. Die Aussaat erfolgte nach vorbereitenden Arbeiten mit der Parzellen-Drillmaschine Hege 80 mit 1,25 m Saatbreite. Die Aussaatstärke betrug 16 g/10m² bei einer angestrebten Bestandesdichte von 15 Pfl./m². Es wurde eine Bestandesdichte von 8 Pfl./m² bei einem Reihenabstand von 62,5 cm erreicht. Zur Grunddüngung wurden 30 kg N/ha appliziert. Die Pflegemaßnahmen bestanden in zweimaligem Handhacken in den Reihen und zweimaligem maschinellen Jäten zwischen den Reihen.

Die Bonitierung wurde in der Blütezeit durchgeführt und erfolgte an 1345 Pflanzen. Je Reihe wurden ca. 40 - 45 Pflanzen, jeweils in der folgenden Reihe fortlaufend, bonitiert. Die einzelnen Ausprägungen und die Stärke ihrer Differenzierung wurden in Prozent sowie in absoluten Zahlen protokolliert. Die Ernte erfolgte in Form der Schwadablage.

Mutagen veränderte Pflanze

Im Rahmen dieses Feldversuchs zeigte die Pflanze 30/34 (Reihe Nr.30/Pflanze Nr.34) starke mutagen bedingte phänotypische Veränderungen. Die Pflanze wurde mit Crisp Pac isoliert und von Hand bestäubt. Dabei wurden von Blüten des normal entwickelten Pflanzenteils Pollen entnommen und damit sowohl Blüten des normal entwickelten als auch des veränderten Pflanzenteils bestäubt. Von dem normal entwickelten Pflanzenteil der Pflanze wurden sechs Seitentriebe entnommen und vegetativ vermehrt. Der Versuch erfolgte als Topfversuch im Phytotron der Versuchsstation Rauschholzhausen. Die Seitentriebe wurden an der Schnittstelle mit Wurzel-fix behandelt und in Pflanztöpfen (ø 9 cm) herangezogen. Nach Durchwurzelung erfolgte die Umpflanzung in Mitscherlich-Gefäße mit einem Boden-Sand-Gemisch von je 50 %. Je Gefäß wurden 0,5 g N, 0,4 g P, 1,6 g K, und 0,12 g Mg

appliziert. Die Belichtung erfolgte in einem Tag/Nacht Intervall von 16/8 Stunden. Die Temperatur betrug 25°C.

3.2.2 Versuche mit Gamma-Strahlen

Da keine ausreichenden Erfahrungswerte über die Wirkung von Gammastrahlen bei Borretsch vorlagen, wurde ein Vorversuch in einem verhältnismäßig breiten Strahlenspektrum vorgenommen. Die Bestrahlung der Samen erfolgte am Strahlencentrum der Universität Gießen in einer Kobalt 60-Bestrahlungsanlage mit einer Aktivität von $8,493 \times 10^{13}$ Becquerel (Bq) zum Zeitpunkt der Bestrahlung. Die Dosisleistung betrug in einem Abstand von 95 cm 37,14 Gray pro Stunde (Gy/h). Die Aussaat erfolgte in Keimschalen. Bei Erreichen einer Größe von ca. 4 cm wurden die Pflanzen pikiert und nach ausreichender Durchwurzelung in die Versuchsparzelle ausgepflanzt. Pflegemaßnahmen wurden per Handhacke durchgeführt. Jedes Prüfglied hatte drei Wiederholungen mit je sechs Pflanzen. Die Bonitur erfolgte 53 Tage nach der Aussaat.

3.2.2.1 Einfluss der Gammastrahlung auf die Keimfähigkeit

Das benutzte Saatgut (Fa. de Witt, NL) hatte ein TKG von 18,6 g. Es wurde mit einer Aktivität von $6,527 \times 10^{13}$ Bq und einer Dosisleistung von 28,44 Gy/h bestrahlt. Die Bestrahlungsdauer der einzelnen Energiedosen von 300 – 700 Gy betrug 10,54 h, 14,06 h, 17,58 h, 21,09 h bzw. 24,61 h.

Zur Keimung wurden je Variante vier Keimschalen von der Größe 20 x 9,5 x 6,5 cm mit Sand befüllt und mit je 100 Saatkörnern belegt, angefeuchtet und im Trockenschrank bei 25°C zum Keimen abgestellt.

3.2.2.2 Einfluss der Gammastrahlung auf die morphologische Entwicklung

Untersucht wurde der Einfluss der Gammastrahlung auf die morphologische Entwicklung der Borretschpflanzen bei Strahlendosen von 300 – 700 Gray in einer randomisierten Blockanlage mit vierfacher Wiederholung am Standort Gießen, Versuchsstation Weilburger Grenze. Die Düngergabe betrug je ha 30 kg N, 30 kg P, 30 kg K in Form eines Volldüngers (15:15:15). Der verhältnismäßig geringe Düngeraufwand von P und K erklärt sich aus der Anwendung dieses Volldüngers und der erforderlichen Limitierung des N-Aufwandes von 30 kg N/ha. Die Bestandesdichte betrug etwa 12 Pflanzen/m². Mit dem Beginn der Blüte wurden die morphologischen Merkmale festgestellt. Variable Merkmale wie z.B. Blühbeginn wurden jeden 3. Tag aufgenommen. Die Ernte erfolgte mit einem seitlich am Traktor angebrachten Mähbalken. Das Erntegut der einzelnen Teilstücke wurde auf Folien zur Nach Trocknung bei ca. 20°C und späteren Aufarbeitung gebracht.

Der Einfluss der Gammastrahlung auf den Chlorophyllgehalt wurde über den Chlorophyll Content Index (CCI) untersucht. Das Saatgut wurde mit einer Strahlendosis von 300 – 700 Gray behandelt. Der Versuch erfolgte in einer Blockanlage mit vier Wiederholungen. In jedem Teilstück standen 12 Pflanzen, von denen die Pflanzen 1, 3, 6 und 12 untersucht wurden. Von jeder Pflanze wurden ein Blatt im mittleren und zwei Blätter im Terminalbereich gemessen.

Die Messung erfolgte mit einem Chlorophyllmessgerät (CCM 200). Die Werte werden auf Grundlage der vom Blatt bei zwei Wellenlängenbereichen transmittierten Lichtmenge berechnet, in denen die Lichtabsorption von Chlorophyll verschieden ist. Chlorophyll absorbiert am stärksten im roten und blauen Bereich, eine geringe Absorption findet im grünen Bereich statt, und nahezu keine Absorption im infraroten. Darum liegen die Wellenlängenbereiche, die für die Messung des Chlorophyllgehaltes gewählt wurden, im roten, wo Chlorophyll stark absorbiert und der Einfluss von Karotinoiden gering ist, und im infraroten Bereich, wo die Absorption nahezu Null ist.

Zwei LEDs im Belichtungssystem emittieren rotes (etwa 650 nm) und infrarotes (etwa 940 nm) Licht, wenn der Messkopf geschlossen wird. Dieses Licht gelangt durch die Blattprobe zum Rezeptor (Photodioden), wo das transmittierte Licht in ein analoges elektrisches Signal konvertiert wird. Das analoge Signal wird verstärkt und durch einen A/D Wandler in ein digitales Signal konvertiert. Aus dem digitalen Signal wird durch einen Mikroprozessor der Chlorophyll Content Index (CCI) berechnet. Der CCI-Wert erscheint auf dem Display und ist aus dem Speicher abrufbar.

Zur Berechnung des CCI-Wertes: Während der Kalibrierung des Gerätes emittieren die beiden LEDs Licht, ohne dass sich eine Blattprobe im Lichtweg befindet. Das ankommende Licht wird in elektrische Signale konvertiert und das Verhältnis der beiden Intensitäten berechnet. Der gleiche Prozess findet mit einer eingespannten Blattprobe statt. Wieder wird das Verhältnis der beiden Lichtintensitäten kalkuliert. Aus den in Schritt 1 und 2 gewonnenen Werten werden CCI-Werte berechnet, die als Indikator für die Chlorophyll-Gehalte der Blätter betrachtet werden.

3.2.2.3 Letalitätsversuch

In diesem Versuch wurde die Wirkung unterschiedlicher Energiedosen bei lebenden Borretschpflanzen mit dem Ziel untersucht, die Letaldosis und damit einen angemessenen Dosisbereich für Mutationsversuche zu finden. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in Mitscherlich-Gefäßen. Die Düngergabe betrug je Mitscherlich-Gefäß 0,3 g N (bei Bedarf wurde etwas nachgedüngt), 0,4 g P, 1,6 g K, 0,2 g Mg.

Die Bestrahlung der Pflanzen erfolgte nach den gleichen Kriterien wie in den vorgenannten Versuchen am 47.Tag nach der Aussaat. Die Dosisenergie wurde auf

10, 30, 50, 60 und 70 Gy festgelegt und erfolgte im Vorblütestadium. Während der weiteren Pflanzenentwicklung wurden morphologische Eigenschaften wie Blühverhalten und Pflanzenlänge ermittelt sowie die Letalität untersucht. Die Pflanzenlänge wurde nach 73 bzw. 101 d, die Letalität nach 101 d, Knospenbildung und Blühbeginn mit Eintritt des Ereignisses dokumentiert.

3.2.3 Versuche mit Neutronen-Strahlen

Das für den Versuch erforderliche Saatgut (Fa. de Witt, NI.) wurde im Forschungsreaktor vom Typ TRIGA Mark II am Institut für Kernchemie der Universität Mainz einer Neutronenstrahlung ausgesetzt. Der thermische Neutronenfluss betrug 4×10^{12} n/cm/s.

Versuche zur Findung der optimalen Strahlendosis

Die Bestrahlungsdauer wurde im ersten Versuch aufgrund fehlender Erfahrungswerte auf 100 kW und 4, 8, 16 und 32 min festgelegt. Aufgrund der Letalität des ausgesäten Saatgutes wurde im zweiten Versuch die Leistung von 30 kW und Bestrahlungszeiten von 102 s, 137 s, 172 s und 207 s gewählt. Da auch hier die Letalitätsrate sehr hoch war, wurde im dritten Versuch die Dosisleistung auf 10 kW bei der gleichen Bestrahlungszeit wie im Vorversuch festgelegt.

Einfluss der Neutronenstrahlung auf die Keimfähigkeit

Zu diesem Gefäßversuch wurden je Bestrahlungszeit 50 Samen zum Keimen ausgelegt, bei entsprechender Größe pikiert und nach Durchwurzelung des Pflanzgefäßes in ein Mitscherlich-Gefäß transferiert. Die Befüllung mit Pflanzerde und die Düngung wurden nach den gleichen Kriterien wie in den vorausgegangenen Versuchen durchgeführt.

Prüfung morphologischer Veränderungen nach Neutronenstrahlung

In diesem Versuch wurden die Einflüsse der Neutronenstrahlung verschiedener Intensität auf morphologische Veränderungen bei Borretsch untersucht. Die Bonitierung der entsprechenden Merkmale erfolgte nach 41 d und 65 d. Die Daten zum Spross- und Blühbeginn erfassen den Zeitraum von der Aussaat bis zum jeweiligen Eintreten des Ereignisses. Nach Blühbeginn wurden Blattzahl und Pflanzenlänge protokolliert sowie nekrotische und chlorotische Veränderungen bonitiert. Zudem wurde eine Messung des Chlorophyllgehaltes der Blätter mit einem CCI-Messgerät vorgenommen. Dabei wurden von jeder Pflanze ein Basisblatt und drei Blätter im Terminalbereich untersucht.

Neutronen Feldversuch

Der für die Dauer von 207 s mit 10 kW bestrahlte Samen wurde auf einer Versuchsfläche von ca. 2500 m² ausgesät. Die Aussaatmenge betrug 11,7 kg bei einer

Reihenweite von 75 cm. Nach der P-K-Grunddüngung (Phosphor und Kalium) wurde eine N-Gabe von 30 kg N/ha appliziert. In den Reihen 2, 5 und 7 wurde zur Bonitierung je 1 m² mit einem Pflanzenbestand von 17, 20 und 30 Pflanzen/m² festgelegt. Bonitiert wurden Wuchstyp, Insertionen und Blütenstand, Anzahl und Form der Blüten, Blattform und fester Kornansatz. Nach der Ernte wurde das Fettsäuremuster der Samen mittels GC bestimmt. In den Folgegenerationen wurden vor allem der feste Kornansatz sowie die Veränderungen der GLS- und ES-Gehalte geprüft.

3.3 Maßnahmen zur Verbesserung des GLS-Gehaltes

3.3.1 Verwandtschaftsanalyse ausgewählter Akzessionen

Die genetische Verwandtschaft des bisher in den Versuchen verwendeten Pflanzenmaterials wurde mit der RAPD-Methode untersucht.

Tab. 1: Akzessionen für die Verwandtschaftsanalyse

Lfd Nr.	Bezeichnung	Herkunft	Land (Abk.)
1	Flor blanca, weißblühend	Spanien	ES
2	Flor azul	Spanien	ES
3	H2001/5	Neuseeland	NZ
4	H2000/23, weißblühend	Spanien	ES
5	De Witt	Niederlande	NL
6	H 2001/7	Bot. Garten Oxford	GB
7	B 5/2/9	Bauerngarten	D
8	W 9/2/4, weißblühend	Bauerngarten	D
9	MF 2/9/6	Bauerngarten	D
10	H2000/25, weißblühend, Gemüses Selektion	Spanien	ES
11*	Ägypten	Ägypten	ET
12*	Bonn, bot. Garten	Bonn	D
13*	Tübingen, bot. Garten	Tübingen	D
14*	Wien, bot. Garten	Wien	D

*über bot. Garten Bonn bezogen

Die DNS des Pflanzenmaterials wurde mit Hilfe eines DNS-Extraktionskits von Qiagen, Deutschland (DNeasy Plant Mini Kit) gewonnen.

Von jeder Herkunft wurden 6 Samen im Gewächshaus bei 25°C und einem Tag/Nacht-Intervall von 16/8 Stunden zum Keimen ausgelegt. Im 4-Blattstadium

wurde von der Blattspitze des ersten Blattes das für die Extraktion vorgesehene Pflanzenmaterial entnommen.

Davon wurden 150 mg organische Substanz eingewogen, in flüssigem Stickstoff schockgefroren und nach Zugabe einer Spatelspitze autoklaviertem Meersand in einem sterilen, bei -20°C vorgekühlten Mörser homogenisiert.

Von dem Homogenat wurden 100 mg in eine sterile 1,5 ml Eppendorf Tube überführt und 400 µl Extraktionspuffer AP1, auf 65°C vorgewärmt, und 5 µl Rnase A (Stammlösung: 20 mg/ml) zugegeben und gemischt.

Die Inkubation des Materials erfolgte nach kräftiger Durchmischung im Wasserbad (10 min) bei 65°C. Während der Inkubationszeit wurde das Homogenat erneut 2-3 mal leicht durchmischt.

Anschließend wurden 130 µl Lysierungspuffer AP2 zugegeben, leicht gemischt und anschließend 5 min auf Eis inkubiert. Die Probe wurde dann bei 13.000 rpm 2 min zentrifugiert und der Überstand in die QiAshredder spin-Säule überführt, durch deren Membran Zellrestbestandteile von der DNS abgetrennt wurden.

Das Lysat wurde in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß überführt und bei 13.000 rpm 2 min zentrifugiert. Danach erfolgte bei einem Substratvolumen von 400 µl die Zugabe von 600 µl AP 3-Puffer (AP 3-Puffer = 1,5 fache der Substratmenge) sowie die Überführung in eine DNeasy mini spin-Säule, um die Bindung der DNS an die Membran zu erreichen. Der AP 3-Puffer wurde vorher mit Ethanol (96-100 %) gemischt (v/v 1:1).

Nach Zentrifugation bei 8000 rpm (1 min) wurden 500 µl Waschpuffer zu der membran-gebundenen DNS zugegeben und nochmals 2 min zentrifugiert. Nach Zugabe von 100 µl vorgewärmtem (65°C) Elutionspuffer wurde die DNS eluiert, indem 5 min nach Auftragen des Puffers bei 8000 rpm zentrifugiert wurde.

Bestimmung der isolierten DNS-Konzentration mittels Elektrophorese

Die Gelelektrophorese diente der Trennung und der Untersuchung von DNS-Fragmenten nach einer Aufschließung mit Restriktionsenzymen. Hierzu wurde 1 % (w/v) Agarose in TBE-Puffer (1x) pH 8,0¹ durch Erwärmen gelöst. Zur Sichtbarmachung der DNS wurde der auf ca. 50°C abgekühlten Agaroselösung Ethidiumbromid in einer Endkonzentration von 0,5 ng/ml zugefügt.

¹ Tris-Base: 100 mmol, Borsäure: 100 mmol, EDTA: 2,5 mmol. Der pH-Wert wurde mit HCl und NaOH auf 8,0 eingestellt.

Die Agaroselösung wurde in eine Flachgelkammer gegossen und die Taschen mittels eines Gelkammes frei gehalten. Für die Elektrophorese wurde eine Apparatur der Firma Keutz verwendet.

Die Elektrophoresekammer wurde mit 500 ml TBE-Puffer aufgefüllt. Nachdem das Gel auspolymerisiert war, wurde die Flachgelkammer nach Entfernung des Isolierbandes waagrecht in die Elektrophoresekammer eingesetzt und das Agarosegel mit TBE-Puffer überschichtet. Anschließend wurde der Gelkamm vorsichtig entfernt.

Zu den aufzutrennenden DNS-Proben wurde 1/5 Volumen Blaumarker (Sigma, G2526) gegeben. Die Proben wurden bei einer Spannung von 120 V/cm und 70 mA aufgetrennt. Die Verteilung des im Gel befindlichen Ethidiumbromids, welches mit der DNS interkalierte, wurde mit der Biometra-Geldokumentationseinheit (Biometra Gel documentation unit) festgehalten und mit der Software BioDocAnalyse (BDA) analysiert. Die Konzentration der Ethidiumbromid-Stammlösung betrug 10 mg/ml.

Die Prüfung der DNS-Konzentration der Borretsch-Herkünfte erfolgte anhand des linearen, doppelsträngigen DNS-Genoms des Lambda_Phagen.

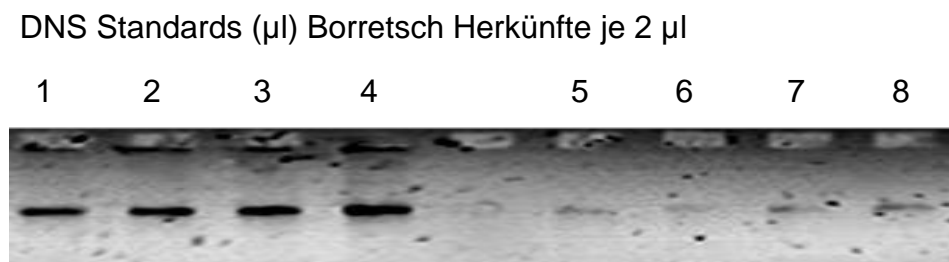


Abb. 2 Reihe 1-4 Lambda DNS, Reihe 5-8 Borretsch-DNS versch. Herkünfte

Bild:	1 = 10 ng	5 = Ägy geschätzt ca. 8 ng/µl
	2 = 20 ng	6 = Bon geschätzt ca. 8 ng/µl
	3 = 30 ng	7 = Tüb geschätzt ca. 8 ng/µl
	4 = 50 ng	8 = Wien geschätzt ca. 8 ng/µl

Zur Gewinnung der genomischen DNS für die weiteren Fingerprintanalysen wurde der Aufarbeitungskit „DNeasy™ Plant Mini Kit“ der Firma Qiagen eingesetzt.

Ein RAPD-Fingerprint kann immer dann entstehen, wenn unter geeigneten Reaktionsbedingungen (Puffer, dATP, dGTP, dCTP und dTTP, thermostabile Polymerase) der eingesetzte 10-Oligonukleotid-Primer an komplementäre Sequenz-Loci der Template-DNS binden kann. Um eine hohe Ausbeute amplifizierter

Fragmente zu erhalten, lässt man das Reaktionsgemisch eine standardisierte Polymerase-Kettenreaktion (PCR) durchlaufen (WILLIAMS et al., 1993).

Die von MULLIS (1990) entwickelte Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction = PCR) ermöglicht die Vervielfältigung von Nukleinsäure-Sequenzen. Dabei beruht das Prinzip auf dem in Zellen natürlicherweise vorkommenden Prozess der Replikation. Als Startpunkt für die Amplifikation nutzt die eingesetzte DNS-Polymerase ein künstlich synthetisiertes Nukleinsäuremolekül (Primer), das mit der Ziel-DNS hybridisieren kann. Zur Erstellung von RAPD-Fingerprints kamen die 10-Oligonukleotid-Primer P1-P16 (Laborbezeichnung) zur Anwendung.

Als Größenmarker diente eine Leiter-DNS (100 Bp, 200 Bp, 300 Bp, 400 Bp, 500 Bp, 600 Bp, 700 Bp, 800 Bp, 900 Bp, 1031 Bp, 1200 Bp, 1500 Bp, 2000 Bp, 3000 Bp [100 Bp DNS-Leiter Plus / peQLab]).

Binden zwei Primer nach Denaturierung des DNS-Doppelstranges in amplifizierbarer Distanz an je eine der beiden entstehenden Matrizenmoleküle, kann die Vervielfältigung eines bestimmten DNS-Abschnittes erfolgen. Die gesamte Reaktion beruht auf drei Teilschritten mit unterschiedlicher Temperatur, die 35-45 mal hintereinander wiederholt werden.

Dabei entstehen im ersten Reaktionszyklus amplifizierte DNS-Moleküle, die dadurch gekennzeichnet sind, dass sie durch die Primerbindung eindeutig definiert sind. Da die Anzahl der Ausgangsmatrizen vorgegeben ist, nimmt die Zahl der Moleküle mit definiertem 5'-Ende und unbestimmtem 3'-Ende linear zu. Im zweiten Reaktionsschritt dienen die 4 möglichen DNS-Einzelstränge wiederum als Matrize. Durch beidseitige Begrenzung der gesuchten Ziel-DNS entstehen neben den oben beschriebenen Molekülen Fragmente klar definierter Länge, deren Anzahl exponentiell mit der Zykluszahl zunimmt.

Das zur elektrophoretischen RAPD-Trennung auf ein 1,5 %iges Agarosegel aufgetragene Reaktionsvolumen betrug 25 µl (8 µl PCR-Produkt, 5 µl Brom-Phenol-Blau, 12 µl Aqua dest.) das vor der Applikation von Hand vorsichtig gemischt und anschließend kurz abzentrifugiert wurde.

Die Auftrennung der Proben erfolgte in TBE-Puffer (1x) pH 8,0 bei 120 Volt für mindestens drei Stunden. Zur besseren Handhabung wurden 48-slot-Gele nach Abschluss der Elektrophorese in gleichgroße Stücke geschnitten und für 35 min mit Ethidiumbromid gefärbt. Nach einem 15 minütigen Waschschrift in Aqua dest. konnten die Gele mittels Video-Densitometer ausgewertet werden. Dabei ermöglicht

das RFLP-Anwendungsprogramm² nach Zuordnung der Marker-Bandengröße als Standardwert eine Größenbestimmung der detektierten Fragmente.

3.3.2 Verbesserung des Gamma-Linolensäure-Gehaltes

Das Basismaterial für eine Zuchtpopulation wurde in der Kontrollgruppe des EMS-Versuchs gefunden. Es wurde eine Population aufgebaut, die sich durch hohe GLS- und niedrige ES-Gehalte auszeichnete und über gezielte Kreuzungen in ihrer Leistung verbessert wurde.

Die Bestäubungen wurden vorzugsweise manuell durchgeführt. Bei besonders kleinen Populationen wurde in Erwartung eines höheren Bestäubungseffektes eine Bienenbestäubung vorgenommen.

Nach der Ernte wurden die Kornerträge ermittelt. Die Feststellung der GLS- und ES-Gehalte erfolgte über die Halbkornmethode und die GC-Analyse. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde die Zuchtauswahl von Pollenspendern getroffen, um das Leistungsniveau der Population zu verbessern.

3.4 Zell- und Gewebekultur

Das Versuchssystem pflanzliche Zell- und Gewebekultur ist dadurch gekennzeichnet, dass isolierte Pflanzenteile, sogenannte Explantate, außerhalb des intakten pflanzlichen Organismus auf oder in einem geeigneten Nährmedium kultiviert werden (NEUMANN, 1995).

3.4.1 Sterilisierung der verwendeten Geräte und Materialien

Die erforderlichen Arbeiten zur Sterilisierung der verwendeten Geräte wurden unter 3.1.3 beschrieben. Die Kultivierung erfolgte in Gläsern mit Schraubdeckel (220g) und Weckgläsern (200 ml), deren Rand und Deckel vor dem Verschließen abgeflammt und anschließend mit Parafilm verschlossen wurden.

Das Pflanzenmaterial – wie Explantate und Samen – wurden vor der Sterilisierung unter fließendem Wasser gewaschen, danach etwa 1 min in Ethanol (70 %) getaucht und anschließend unter vorsichtigem Rühren 10 min in eine NaOCl-Lösung mit Zusatz von Tween 80 gegeben. Anschließend erfolgte in der Querstrombank ein 4-5 maliges Waschen des Materials unter sterilen Bedingungen mit sterilisiertem, entmineralisiertem Wasser. Die Schnittstellen wurden frisch angeschnitten und die etwa 1 cm großen Explantate auf den entsprechenden Medien ausgelegt. Die Samen wurden ebenfalls nach der Sterilisierung auf den vorbereiteten Medien ausgelegt.

² RFLP = Restriction Fragment Length Polymorphism

Zur Prüfung der Desinfektionseigenschaften, der Wirkung auf das Pflanzenmaterial und des Keimverhaltens wurden steigende Konzentrationen von 2 %, 4 % und 6 % NaOCl bzw. 10 %, 15 % und 20 % H₂O₂ untersucht. Ethanol wurde in einer Konzentration von 70 % eingesetzt.

3.4.2 Herstellung des Nährmediums

Bei dem In-vitro-Kulturmedium handelte es sich um ein modifiziertes Medium nach MURASHIGE und SKOOG (1962). Die Mineralstoffe und Vitamine wurden Stammlösungen entnommen, die bei -20°C bevorratet wurden. Die erforderliche Menge wurde in einen Messkolben pipettiert, Saccharose und Kaseinhydrolysat abgewogen und zugegeben. Je nach Zielsetzung des Versuchs wurden 5 % bis 10 % Kokosnussmilch bzw. 0,05 % Polyvinylpyrrolidon (PVP) zugesetzt. Die Phytohormone wurden je nach Art und Menge dem Nährmedium beigefügt und der pH-Wert auf 5,7 eingestellt. Nach Zugabe von Gelrite zur Gelbildung des Nährmediums wurde der Messkolben bis zur Marke mit entmineralisiertem Wasser aufgefüllt und das Nährmedium auf dem Magnetrührer vermischt. Die vorbereiteten Gläser wurden unter stetigem Rühren mit 30 ml (Gläser mit Schraubdeckel) bzw. 50 ml (Weckgläser) Medium beschickt. Die Babygläser wurden mit doppelter Alufolie verschlossen, die Weckgläser mit Deckel abgedeckt und anschließend autoklaviert. Zur Zusammensetzung der Stammlösungen und des Nährmediums s. Anhang (Tab. 69).

Herstellung der Kokosnussmilch

Zur Gewinnung des flüssigen Endosperms der Kokosnuss wurden zwei der drei Mikropyle angebohrt und die Kokosnussmilch zur Vorreinigung durch ein Seihtuch koliert und anschließend zur Fällung störender Proteine autoklaviert. Nach der Filtration durch einen Papierfilter wurde das Präparat portionsweise in Plastiktüten bei -20°C eingefroren.

3.4.3 Untersuchungen des Kalluswachstums am Auxophyton

Die zur Untersuchung bestimmten Gefäße (Kolben) haben ein Fassungsvermögen von 70 ml und einen inneren Durchmesser von 3 cm. Die maximale Beschickung mit Nährlösung beträgt 15 ml. Zur Beschickung und Aufrechterhaltung des Gasaustausches ist eine seitliche Öffnung mit einem Durchmesser von circa 1,5 cm angebracht. Der Schaft dreht sich mit einer Umdrehung pro Minute. Durch das seitliche Herabfließen der Nährlösung an der Gefäßwand wird diese gemischt und durchlüftet. Der Nährlösungsfilm hält die Explantate meist an der Gefäßwand fest. Sie werden somit abwechselnd der Luft und der Nährlösung ausgesetzt (NEUMANN, 1995). Die Gefäße wurden vor der Beschickung 3 h bei 180°C sterilisiert und anschließend nach Erkalten in der Querstrombank mit der vorbereiteten Nährlösung und den Explantaten beschickt. Die Öffnung wurde

abgeflammt und mit einer ebenfalls vorher abgeflamten Alufolie verschlossen. Danach wurden sie an der Klammer des Auxophytens befestigt und das Gerät in Bewegung gesetzt.

3.4.4 Fettgehalt und Trockenmasse von Kallussen

Ca. 1-2 g Borretsch-Kallusse wurden bei fünf Wiederholungen in ein verschließbares und vorher gewogenes Wägegläschen gebracht und drei Stunden bei 105°C getrocknet. Danach wurde das Gläschen verschlossen, zum Abkühlen in einen Exsikkator gestellt, anschließend gewogen und die TM ermittelt.

Zur Bestimmung des Fettgehaltes wurden ca. 1-2 g Kallussubstanz in eine fettfreie Papierhülse eingewogen, mit Watte bedeckt und danach zwei Stunden bei 95°C getrocknet. Die Extraktion mit Ethyläther erfolgte in einem Extraktionsapparat nach Soxhlet mit Normalschliff. Die Kolben wurden vorher im Trockenschrank getrocknet und nach Erkalten im Exsikkator gewogen. Die Extraktion dauerte sechs Stunden. Danach wurde der Kolben eine Stunde bei 100°C getrocknet, im Exsikkator abgekühlt und gewogen.

3.4.5 Kalluskultur, Organogenese und Embryogenese

Die für die Kalluskultur vorgesehenen Explantate der Organe Hypokotyl, Spross und Petiole wurden in NaOCl (2 %) und Ethanol (70 %) desinfiziert. Nach Desinfektion und Überführung in die Querstrombank wurden ca. 1 bis 2 cm lange Explantate geschnitten und mit der Schnittfläche auf MS-Medium mit 0,1 ppm 2,4-D aufgebracht. Nach vier Subkulturen mit einer Dauer von je 28 Tagen stand genügend Kallusmaterial für weitere Versuche zur Verfügung.

Untersucht wurde der Einfluss der Phytohormone 6-Benzylaminopurin (BAP 1 ppm), Kinetin (1 bzw. 2 ppm), Tridiazuron (TDZ 0,01-1 ppm), Indolylessigsäure (IES 2,0 ppm) sowie Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D 0,01 ppm) auf das Kalluswachstum. Außerdem wurden Hormonkombinationen von IES (2,0 ppm) + BAP (0,1 ppm), IES (2,0 ppm) + Kinetin (0,1 ppm), Naphtylessigsäure (NES 0,01 ppm) + BAP (0,01 ppm) und NES (0,1 ppm) + BAP (0,1 ppm), sowie weitere Kombinationen von NES und BAP, jeweils mit den Konzentrationen 0,01 ppm, 0,1 ppm bzw. 0,5 ppm in ihrer Wirkung auf das Kalluswachstum geprüft.

Zur Prüfung der Sprossdifferenzierung wurden Indolbuttersäure (IBS 1 ppm) und NES (0,01 ppm) + BAP (0,5 ppm) untersucht. Die Kulturen erfolgten auf MS-Medium.

Zur Initiierung der Embryogenese wurden die Hormone IES (2,5 bzw. 5,0 ppm) und NES (2,5 bzw. 5,0 ppm) untersucht. Die Kulturen erfolgten auf MS-Medium.

3.5 Laboranalysen

Halbkornmethode

Die Anwendung der Halbkornmethode bei dicotylen Pflanzen setzt voraus, dass das Fettsäuremuster eines Samens dem des äußeren Kotyledons entspricht oder aus den gefundenen Werten berechnet werden kann (THIES, 1978) und dass die in den Keimblättern vorkommenden Fette gleichmäßig auf beide Keimblätter verteilt sind (Malco, 1998).

Zur Vorbereitung der Keimung wurden Keimkästen (20 x 9,5 x 6,5 cm) bis ca. 2 cm unterhalb des Randes mit Sand befüllt und danach die Samen eingelegt, der Sand angefeuchtet und die Samen bei 27°C angekeimt. Nach Aufplatzen der Samenschale und Austreten des Keimblattes und der Keimwurzel wurde zunächst der Sand in einer Chinosol-Lösung (1 Tbl./l) abgewaschen und die Samenschale vorsichtig entfernt. Etwa 1/2 - 2/3 eines Keimblattes wurden zur Analyse abgetrennt. Der Restembryo wuchs auf einem mit Filterpapier ausgelegten angefeuchteten Sandbett unter Glas heran und konnte nach ca. einer Woche in Quickpots pikiert werden. Die weitere Kultivierung der Pflanzen erfolgte nach Vorliegen der Analyseergebnisse mit den gewünschten Fettsäuremustern.

Zur gaschromatographischen Untersuchung wurde das entnommene Keimblatt in kleinen Reagenzgläsern über Nacht im Exsikkator getrocknet, um eine hydrolytische Spaltung der Fettsäuren zu verhindern. Die Homogenisierung des Keimblattes erfolgte nach Zugabe von 0,2 ml eines iso-Octan / Isopropanol-Gemisches (9+1) am folgenden Tag mit einem rotierenden Glasstab. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels im Exsikkator unter Vakuum wurden die Fettsäuren mit 0,6 ml Natriummethylat³ verestert. Durch Zugabe von 0,5 ml iso-Octan und vorsichtiges Umschütteln konnten die Fettsäuremethylester in die iso-Octan-Phase überführt werden. Nach klarer Phasentrennung (mindestens 30 min im Kühlschrank) wurden 0,2 ml der iso-Octan-Phase abgenommen und in GC - Fläschchen pipettiert.

Gaschromatographische Analyse

Die Kennzeichnung und technischen Daten des gaschromatographischen Systems:

Gerätetyp: Carlo Erba Instruments, Vega Series

Injektor: Spit/Spittless Temp.: 250°C

Detektor: Flammenionisationsdetektor FID, Temp.: 280°C

Säule: BPX70 (DB 23) 30m x 0,52 ID/0,5 µm SD Firma SGEDeutschland GmbH

Ofentemperaturprogramm:

³ 5 g Natriummethylat in 800 ml Methanol bei ca. 50°C gelöst, nach Abkühlen mit iso-Octan ad 1000 ml aufgefüllt

160 – 200°C mit 10°C/min,

200 – 230°C mit 5°C/min

Trägergas: Helium, 30 kPa, 8 ml/min

Autosampler: AS-200S, Einspritzmenge 0,3 µl Probe, 0,5 µl Luft

Integrator: Spectra Physics SP 4400

Die Auswertung des Chromatogramms erfolgte mittels Vergleich der angegebenen Retentionszeiten der jeweiligen Peaks mit denen bekannter Fettsäuremethylester. Das Borretschöl enthält die folgenden Fettsäuren: Palmitinsäure (C 16:0), Stearinsäure (C 18:0), Ölsäure (C 18:1), Linolsäure (C 18:2), Gamma-Linolensäure (C 18:3), Eicosensäure (C 20:1), Erucasäure (C 22:1) und Nervensäure (C 24:1). Die in kleinen Mengen vorkommenden übrigen Fettsäuren werden als Rest zusammengefasst. Der Integrator arbeitet nach der 100 % - Methode. Danach werden die jeweiligen Anteile der Peakflächen in Prozent angegeben.

3.6 Pflanzenbauliche Untersuchungen

Der Ernteertrag ist unter anderem abhängig von der Bestandesdichte und der Reihenweite, der Nährstoffversorgung der Pflanzen sowie den Erntebedingungen. Darum wurde die Auswirkung unterschiedlicher Bestandesdichten bzw. Reihenweiten, der Einfluss verschiedener Nährstoffgaben (N), die Auswirkung von Sikkationsmaßnahmen sowie unterschiedlicher Erntemethoden untersucht.

3.6.1 Versuch zur Bestandesdichte und Reihenweite

Der Versuch zu den Auswirkungen der Bestandesdichte und der Reihenweite erfolgte in einer zweifaktoriellen Blockanlage mit vier Wiederholungen am Standort Rauschholzhausen. Die Größe der Teilstücke betrug dabei ca. 10 m². Die Unkrautbekämpfung wurde mit Maschinen- und Handhacke durchgeführt. Das Saatgut mit einer Keimfähigkeit von 90 % und einem TKG von 19,8 g lieferte die Firma Borntäger. Aufgrund der Drillmaschinenbreite von 1,25 m wurden die Reihenweiten auf 15,625 cm, 31,25 cm bzw. 41,7 cm bei einer Reihenzahl von acht, vier bzw. drei Reihen festgelegt.

Bei Bestandesdichten von 7, 13, 20 bzw. 33 Pflanzen pro Quadratmeter wurden die Merkmale Kornertrag, Wuchshöhe sowie Qualität des Phänotyps der Pflanze erfasst. Dabei wurden auf der Grundlage des Erscheinungsbildes Wuchsform, Vitalität und Gesundheitszustand der Pflanzen auf einer Skala von 1 bis 9 bonitiert.

3.6.2 Vergleich verschiedener Erntemethoden

Untersucht wurden zunächst die konventionellen Erntemethoden Schwadablage und Mähdrusch, jeweils mit und ohne Sikkation, sowie mit einem frühen und einem späten Erntetermin. Neben diesem Versuch wurde die Schwadablage mit einer

alternativen Erntemethode verglichen. Dieser Versuch hatte drei Versuchsglieder mit vier Wiederholungen.

Um in einer Vegetationsperiode alle heranwachsenden reifen Samen zu gewinnen, wurde im Rahmen dieser Arbeit ein Erntegerät entwickelt, das dieser Zielsetzung unter den hiesigen Klima- und Bodenverhältnissen weitgehend gerecht wird. Die Bedingungen, die im Hinblick auf den lockeren Samensitz erfüllt werden müssen, sind eine relativ schonende Behandlung der Pflanze vor der Ablösung, eine leichte Vibration zur Lösung des Samens und eine Wiederholung des Ernteganges in einem Abstand von ca. 2-3 Tagen. Eine weitere Forderung an diese Methode ist ein Technisierungsgrad, der es ermöglicht, mit einem Minimum an Aufwand von Arbeitskraft eine möglichst hohe Effizienz des Erntevorganges zu erreichen (vgl. Abb. 3).



Abb. 3 Prototyp (Nr.1) für ein Gerät zur Samenernte von Borretsch

Der Rahmen des Gerätes wurde aus leichtem Alu-Vierkantrohr 30x30 mm sowie Alu-Winkeln von ebenfalls 30 mm Breite erstellt. Dieses leichte Material bietet die Möglichkeit der bequemeren Handhabung. Eine Samensammelwanne aus Alublech mit einer Stärke von 2 mm wird zwischen zwei Reihen geführt. Rahmen und Wanne sind an einem Agria Einachsgerät montiert.

Die beiden Grundrahmen vorne und hinten überspannen zwei Pflanzenreihen. Diese Querstreben sind mit Hilfe von Alu-Vierkantrohren 30x30 mm mit einer Länge von 1,20 m verbunden. Hinten ist das unterste Vierkantrohr bei 42 cm Bodenabstand angebracht. Insgesamt befinden sich an jeder Seite vier Vierkantrohre, die vorne bei

einem Bodenabstand von 23, 44, 61 und 77 cm und hinten bei 42, 62, 76 und 88 cm befestigt sind.

Die vordere Rahmenbreite beträgt unten in der Höhe des ersten Vierkantrohres bei 23 cm Bodenabstand 1,26 m und oben 1,16 m. Der Rahmen verjüngt sich nach hinten auf 95 cm (unten) bzw. 44 cm (oben).

Die Sammelwanne hat eine Länge von 1,40 m und eine Breite von unten 50 und oben 61 cm. Zur besseren Anpassung und geringeren Beschädigung der Pflanzen läuft sie vorne schiffchenförmig zu. Die seitliche Wannenhöhe ist 15 cm.

Die Räder des Antriebsgeräts wurden zur Schonung des Pflanzenbestandes auf einen sehr engen Abstand gestellt. Die durch diesen engen Radstand bei Bodenunebenheiten verursachte seitliche Kippneigung des Gerätes und des Rahmens wird durch beidseits am Rahmen angebrachte Kufen eingeschränkt.

Arbeitsweise

Die Rahmenkonstruktion war so ausgelegt, dass sie zwei Pflanzenreihen überspannt. Durch die Verengung der Rahmenform nach hinten werden der obere blüten- bzw. samentragende Teil der Borretschpflanzen mit der Vorwärtsbewegung über die am Gerät montierte, nahe am Boden unter den Pflanzen mitgeführte Sammelwanne geführt. Mit sechs hängenden Ketten (vgl. Abb. 5 von etwa 50 cm Länge wurde in der Erstversion der Maschine in der Vorwärtsbewegung durch Streifen der Ketten über die Pflanzen leichte Rüttelbewegungen verursacht, die dadurch den Kornausfall auslösten.

Technische Verbesserungen

Diese Methode war in ihrer Wirksamkeit nicht befriedigend und führte darüber hinaus zu Pflanzenbeschädigungen, die auch durch die Querstreben des Rahmens verursacht wurden. Darum wurde zunächst die seitliche Rahmenbegrenzung des Prototyps 1 in der überarbeiteten Version des Geräts mit einem Alublech verkleidet, um eine sanfte Pflanzenführung zu ermöglichen und vorzeitigen Samenausfall zu verhindern (vgl. Abb. 4).

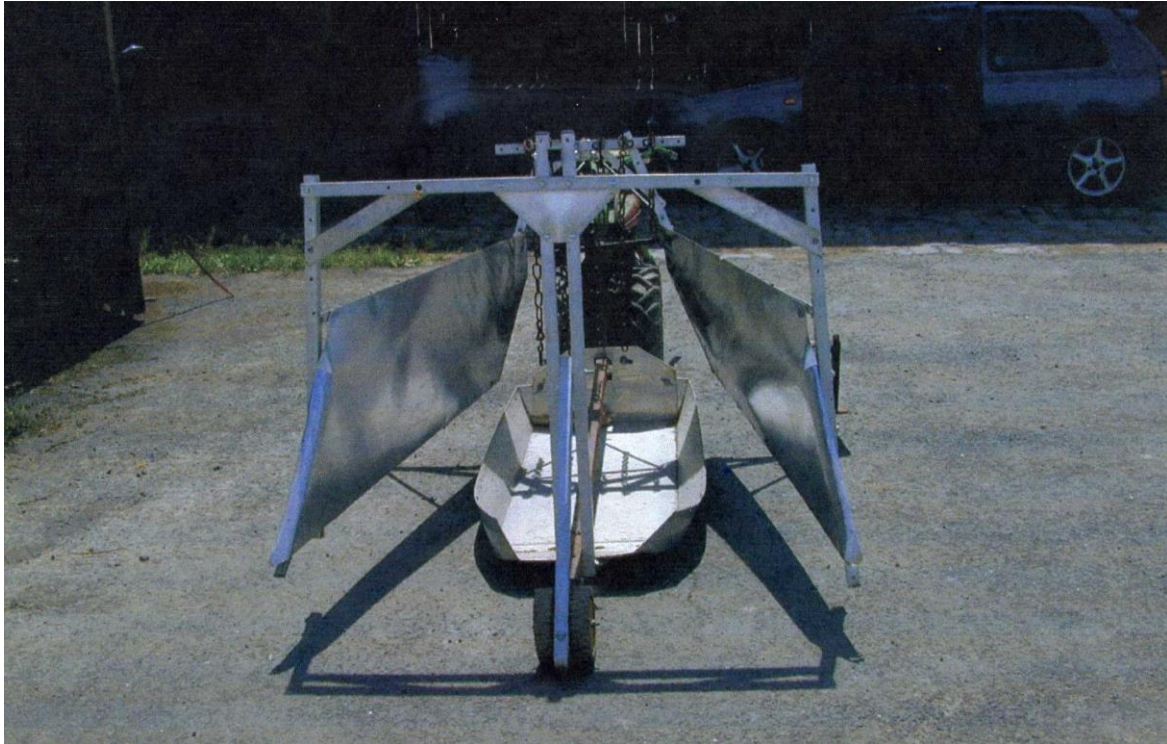


Abb. 4 Erntegerät (Prototyp 2) – Gesamtansicht von vorne

Außerdem wurde die Rüttelvorrichtung in Form von Ketten durch einen Schüttelmechanismus (vgl. Abb. 5) ersetzt, der vom Antriebsrad des Einachsgerätes angetrieben wurde. In dieser Abbildung vom verbesserten Prototyp sind die Rüttelketten noch zu sehen.



Abb. 5 Erntegerät (Prototyp 3) – Schüttelmechanismus und Rüttelketten

3.6.3 Messung von Ausfallverlusten

Zur Feststellung des gesamten Ernteertrages wurde in beliebigen Abständen in der Versuchsfläche 4x1 m² ausgemessen. An der Pflanzenbasis wurde eine Folie angebracht, die beiderseits des Pflanzenbestandes hochgezogen und die Enden an Pflöcken befestigt wurden. Alle ausfallenden Samen konnten somit direkt von der Folie geerntet werden.

3.6.4 Stickstoff-Düngungsversuch

In diesem Versuch wurde der Einfluss einer unterschiedlichen N-Düngung auf den Grünmasse- und Kornertrag untersucht. Der Versuch wurde auf 28 ringförmigen Beeten mit einer Fläche von je 0,875 m² (Ringanlage) der Versuchsstation Rauischholzhausen durchgeführt. Die einzelnen Ringe waren mit dem in Rauischholzhausen anstehenden Lösslehm befüllt. Die Kontrolle hatte vier, die N-Varianten je sechs Wiederholungen. In fünf Versuchsgliedern wurde die Wirkung von 0, 30, 60, 90 und 120 kg N/ha untersucht. Von dem Volldünger (13x13x21) wurden entsprechend je Versuchsfläche von 0,875 m² 20, 40, 60 bzw. 80 g appliziert, die je zur Hälfte bei der Aussaat und nach vier Wochen gegeben wurden.

3.6.5 Sikkationsversuch

Der Versuch wurde in der Versuchsstation Weilburger Grenze durchgeführt und erfolgte in einer randomisierten Blockanlage mit vier Wiederholungen. Neben der Kontrolle wurden folgende Medien auf ihren Sikkationseffekt geprüft: KCl 5 %, KCl 10 % und Reglone (3 l/ha), die mit der Rückenspritze bei einer Aufwandmenge Wasser von ca. 600 l/ha für alle Versuchsglieder appliziert wurden. Vor der Applikation wurde die photosynthetische Aktivität mit dem CCM-Messgerät untersucht. Dieser Vorgang wurde nach sieben Tagen wiederholt. Nach der Ernte wurden Kornertrag und Trockensubstanz des Krautes festgestellt.

3.7 Standortbedingungen

Versuchsstandort Rauischholzhausen (RH)

Rauischholzhausen liegt im Amöneburger Becken und gehört zu der Gemeinde Ebsdorfergrund. Die Oberflächengestaltung ist schwach hügelig mit einer Höhenlage von 220 m über NN. Die für diese Arbeit relevanten Klimadaten der Jahre 1999, 2000, 2005, 2006 und 2007 sind in Abb. 6 bis Abb. 10 dargestellt.

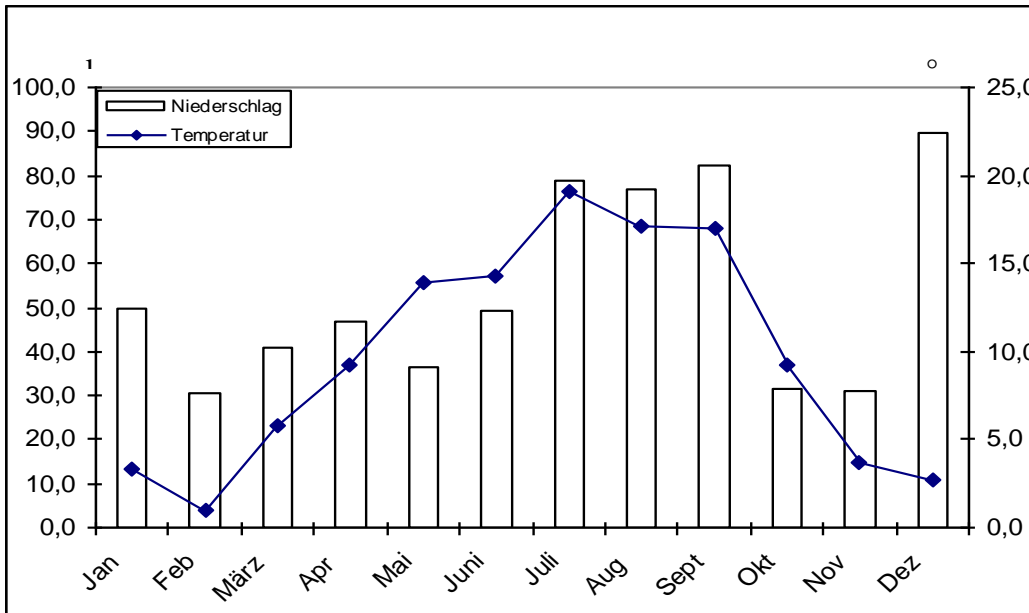


Abb. 6 Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort RH 1999

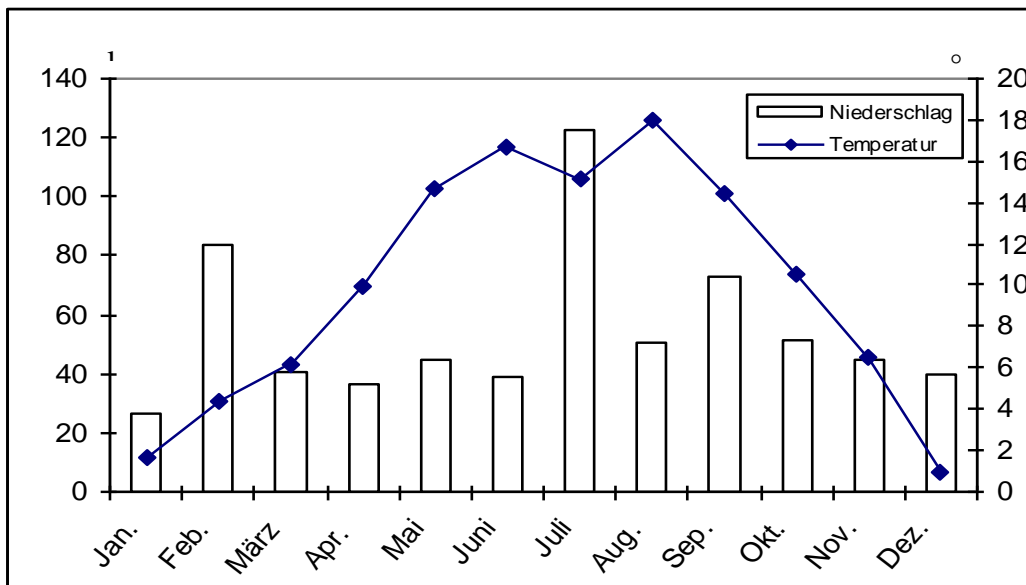


Abb. 7 Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort RH 2000

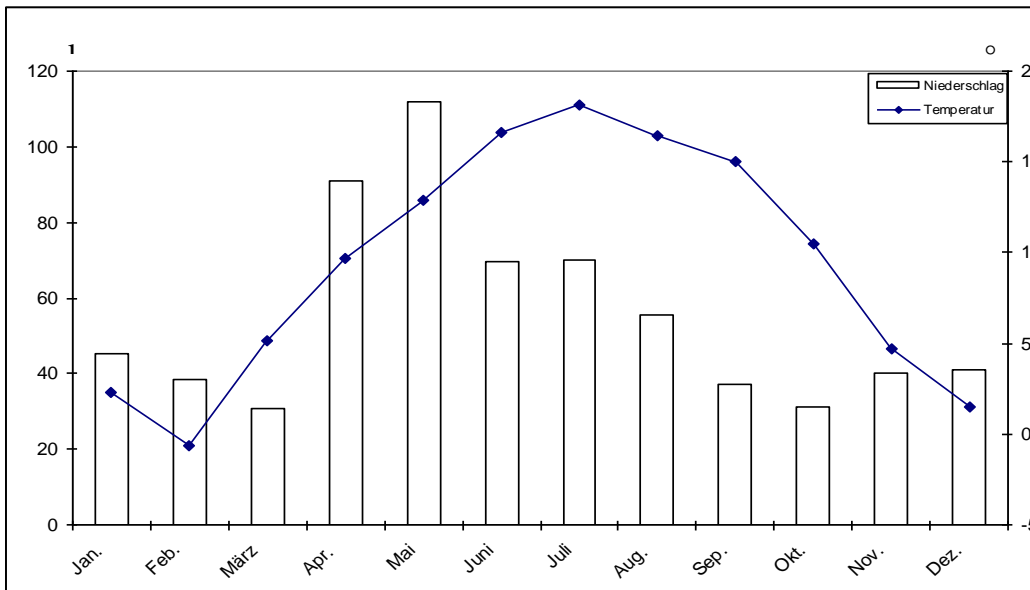


Abb. 8 Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort RH 2005

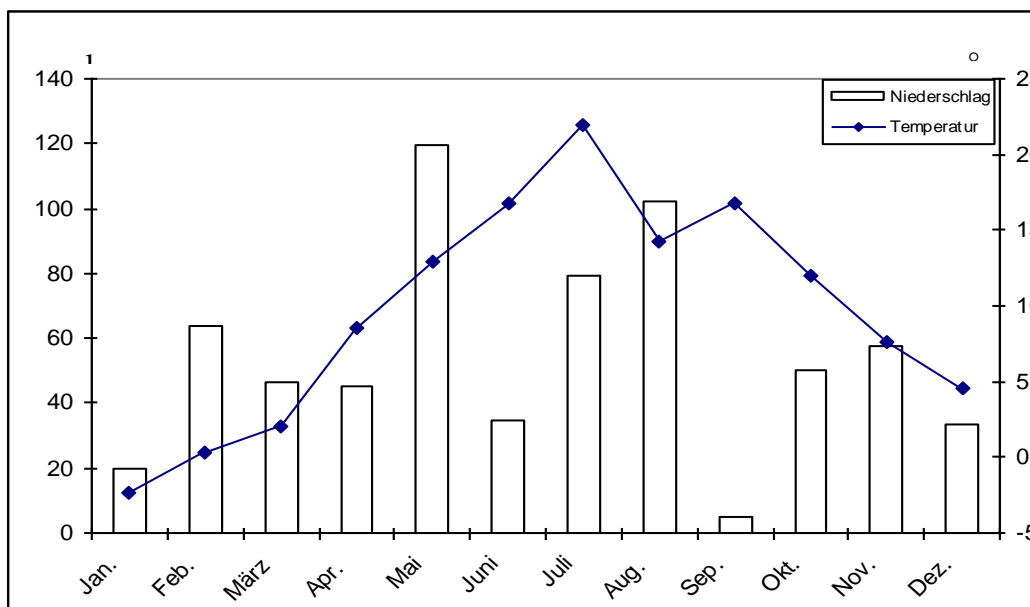


Abb. 9 Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort RH 2006

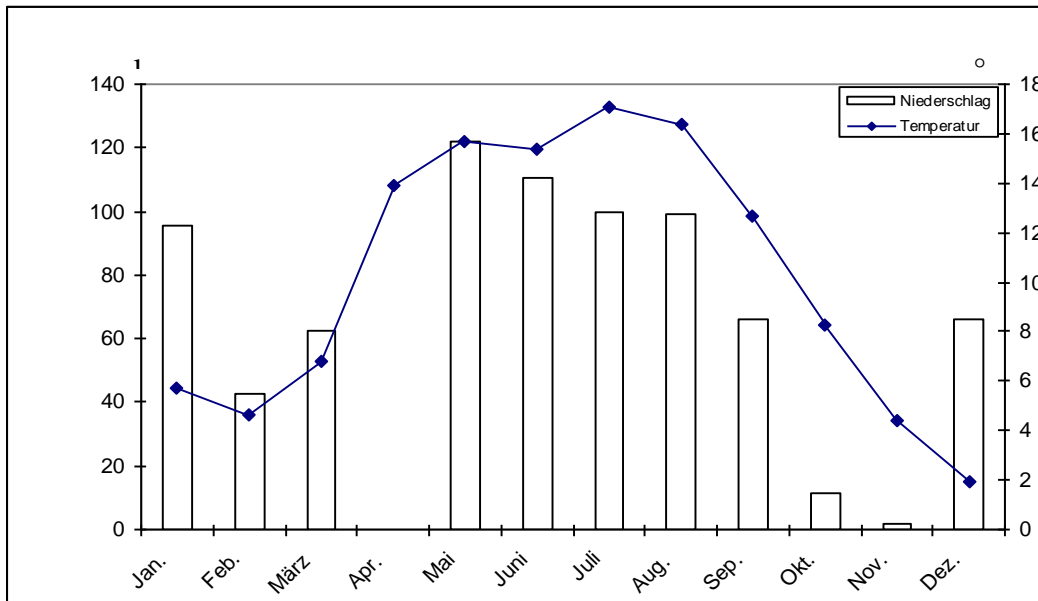


Abb. 10 Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort RH 2007

Versuchsstandort Gießen (GI)

Die Versuchsstation Weilburger Grenze liegt im Lahntal am Rande der Hardt in einer Höhenlage von 150 m über NN. Der Boden besteht aus braunem Aueboden mit einer Ackerzahl von 65. Das langjährige Temperaturmittel beträgt 9°C und die langjährigen Niederschlags-Mittelwerte 650 mm. Die für diese Arbeit relevanten Klimadaten der Jahre 2000 bis 2003 sind im Folgenden (Abb. 11 bis Abb. 14) dargestellt.

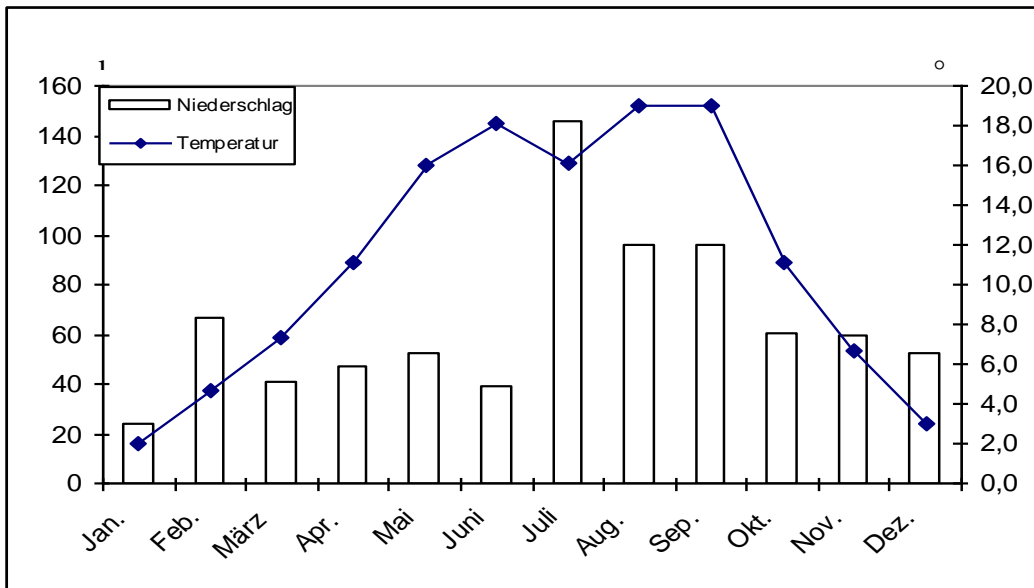


Abb. 11 Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort GI 2000

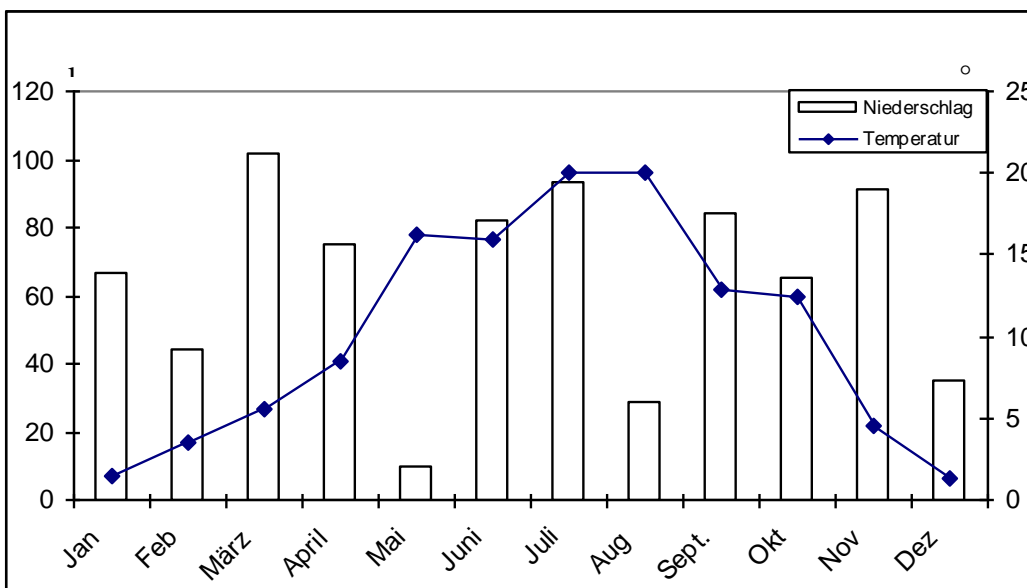


Abb. 12 Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort GI 2001

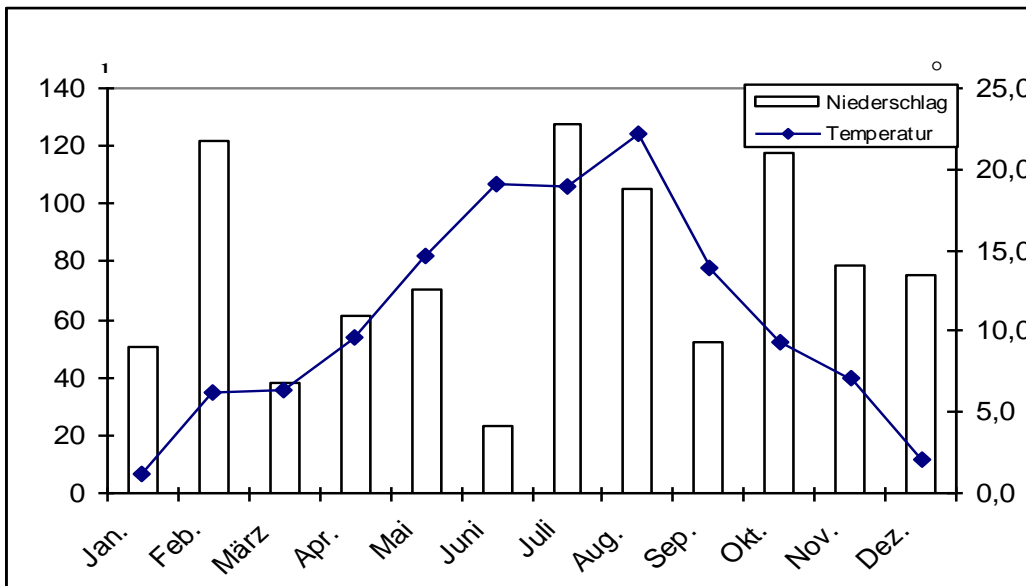


Abb. 13 Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort GI 2002

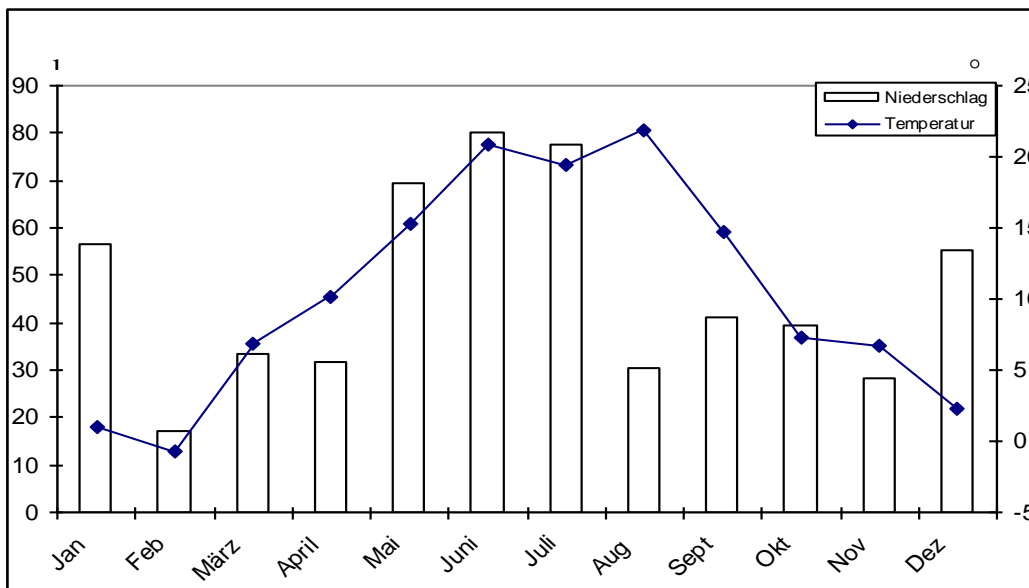


Abb. 14 Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort GI 2003

Versuchsstandort Groß-Gerau (GG)

Die Versuchsstation Groß-Gerau liegt südwestlich von Frankfurt auf einer Höhe von 90,7 m. Der anlehmgige Sandboden hat eine Ackerzahl von 25 – 30. Die Temperaturen liegen im langjährigen Mittel bei 9,6°C und die Niederschläge bei 591 mm. Entsprechend der Niederschlagsneigung und –verteilung ist aufgrund der Bodenverhältnisse eine Beregnung erforderlich. Die für diese Arbeit relevanten Klimadaten des Jahres 2005 sind in Abb. 15 dargestellt.

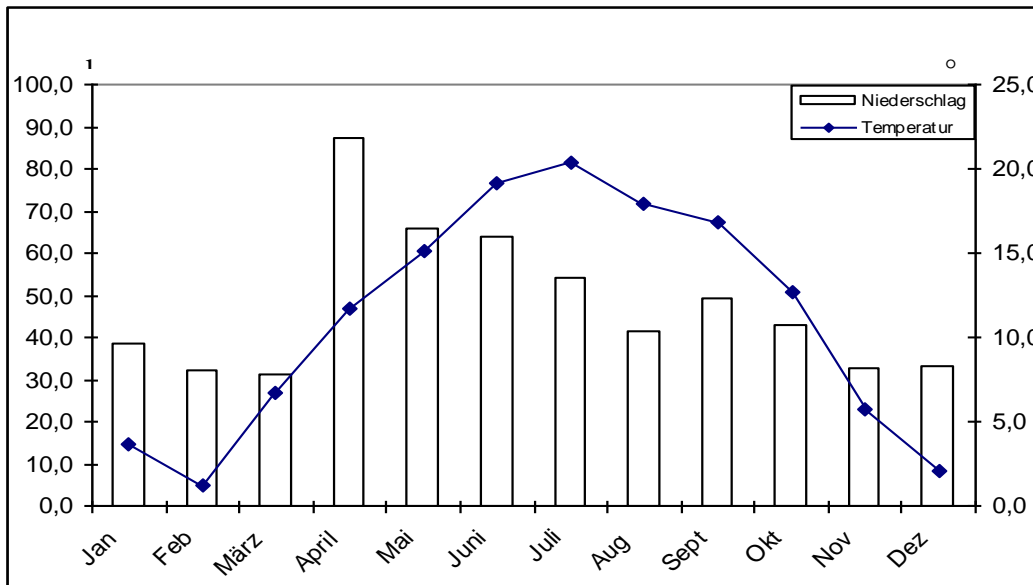


Abb. 15 Niederschläge (Summe pro Monat) und Lufttemperatur (Mittel pro Monat) am Versuchsstandort GG 2005

3.8 Statistische Auswertung

Um bei intervallskalierten Datenreihen zu prüfen, ob die Voraussetzungen für eine Varianzanalyse erfüllt sind, wurden die Residuen auf Normalverteilung (Shapiro-Wilk- und Kolmogoroff-Smirnoff-Test) und Varianzhomogenität (Levene) getestet, jeweils auf dem Signifikanzniveau von 5 %. Wenn im Fall von balanzierten Stichproben eine Varianzanalyse trotz leicht signifikanter Inhomogenität der Varianzen möglich erschien, so wurde sie durchgeführt.

Die in den Ergebnis-Tabellen angegebenen Signifikanz-Werte (p-Werte) beziehen sich auf die Ergebnisse der Varianzanalyse. Die Angabe $p = 0,000$ bedeutet dabei $p < 0,0005$.

Sofern weitere Ergebnisse aus den Post-hoc-Analysen von Interesse sind, werden sie ergänzend mitgeteilt. Dabei wurde bei homogenen Varianzen der verschiedenen Faktorstufen der Tukey-HSD-Test bzw. Dunnett-T (Vergleich mit Kontrolle), bei fehlender Varianzhomogenität und balanziertem Versuchsdesign Games-Howell verwendet. Ein unbalanziertes Design lag in dieser Arbeit bei Verteilungen mit inhomogenen Varianzen nicht vor. Die in einzelnen Untersuchungen angegebene Grenzdifferenz (kurz: GD) bezieht sich auf den Least Significant Difference – Test (LSD). In Untersuchungen, bei denen keine Varianzgleichheit angenommen werden kann, bezieht sich der Wert der angegebenen Grenzdifferenz auf den zugrunde liegenden post-hoc-Test. Hier werden die Grenzdifferenzen im paarweisen Vergleich mit der Kontrolle angegeben (z.B. Tab. 66).

Im Falle einer signifikanten Verletzung der Voraussetzungen für parametrische Verfahren wurde in der Regel die einfaktorielle Rang-Varianzanalyse nach Kruskal-Wallis durchgeführt. Falls jedoch die Anforderung der Ähnlichkeit der Verteilungsform verletzt war, wurde alternativ der Mediantest verwendet.

Untersuchungsergebnisse zu nominal skalierten Variablen liegen in Form von absoluten oder relativen Häufigkeiten vor. Hier wurde in der Regel der Chi-Quadrat-Test bzw. beim paarweisen Vergleich der exakte Test von Fisher verwendet. In den Ergebnistabellen wird dies jeweils vermerkt.

Um Missverständnisse zu vermeiden wurde beim absoluten Vergleich zweier Prozentwerte deren Differenz in % (nicht in Prozentpunkten) angegeben.

Die Auswertung der Versuchsergebnisse erfolgte mit den Programmen Microsoft Excel Version 9 und 10,0 sowie PASW Statistics 18.

4 Ergebnisse

4.1 Untersuchungen zur Keimfähigkeit und Dekontamination von Borretsch-Samen

4.1.1 Einfluss von Licht und Temperatur

Die Keimfähigkeit der Samen ist abhängig von den Umweltfaktoren Licht, Temperatur und Wasser. Nach HEEGER (1989) ist Borretsch ein Dunkelkeimer. Danach hat der Faktor Licht einen geringen Einfluss auf die Keimbereitschaft dieser Pflanze. Vor diesem Hintergrund wurde der Einfluss von Licht und Temperatur bei einer Humidität von 65 % auf die Keimfähigkeit von Borretsch untersucht (Tab. 2).

Tab. 2: Anteil gekeimter Borretschsamen (%) in Abhängigkeit von Licht und Temperatur (Humidität 65 %, jeweils n=400)

Belichtungszeit h	Temperatur °C	Keimung nach						
		6d	8d	10d	12d	14d	16d	18d
24	5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
24	10	0,0	0,0	4,3	8,8	16,8	58,8	63,3
24	15	0,0	16,3	36,5	49,8	75,5	75,5	75,5
24	20	14,5	42,3	74,0	82,5	83,5	83,5	83,5
16	5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
16	10	0,0	0,0	0,0	0,0	13,5	20,0	25,0
16	15	0,0	7,5	32,3	73,0	79,8	82,0	82,5
16	20	0,0	29,0	76,5	86,0	88,8	88,8	89,0
8	5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
8	10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,8	8,5
8	15	0,0	0,0	3,3	6,3	10,0	15,5	18,8
8	20	0,5	17,0	69,0	81,0	85,5	90,5	91,0
0	5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0	10	0,0	0,0	0,0	0,0	13,5	16,8	21,5
0	15	0,0	4,0	32,3	39,3	44,3	47,0	48,3
0	20	0,0	29,3	61,0	68,0	74,0	78,8	78,8
		p-Werte (χ^2) nach 18 d			10°C		0,000	
					15°C		0,000	
					20°C		0,000	
					10-20°C		0,000	

Bei einer Temperatur von 5°C kam in keiner Belichtungsvariante der Borretsch zum Keimen. Auf der Stufe 10°C wurde im Vergleich der Belichtungszeiten 24, 16 bzw. 8 Stunden der dominierende Einfluss der Belichtung auf die Keimung festgestellt, die von 63,3 % auf 8,5 % sank. In der Belichtungsstufe Null kam hier der Faktor Dunkelkeimung mit einer auf 21,5 % ansteigenden Keimrate zum Tragen.

Auf der 15°C-Stufe wirkte sich die Belichtungszeit von 16 Stunden im Vergleich zu 24 Stunden positiv auf die Keimung aus. Bei 8 Stunden sank sie auf 18,8 %, um bei 0 Stunden wieder auf 48,3 % anzusteigen. Auf dieser Temperaturebene ist der Faktor Dunkelkeimung relativ stark ausgeprägt.

Die besten Ergebnisse wurden bei einer Belichtung von acht Stunden und einer Temperatur von 20°C erzielt. Auf dieser Stufe dominiert über alle Belichtungszeiten die Temperatur den Keimprozeß.

Abschließend kann gesagt werden, dass bei Temperaturen bis 15°C die Keimrate bei sinkenden Belichtungszeiten von 24 bis 8 Stunden abnimmt um bei Belichtungszeit Null wieder anzusteigen. In diesem Bereich ist der Faktor Dunkelkeimung ausgeprägt. Für jede Belichtungsstufe zeigen sich mit steigender Temperatur in allen Zeitabschnitten steigende Keimraten.

4.1.2 Einfluss von Nährmedien und Dekontaminationsmitteln

Die Keimung von Borretschsaatgut für die Halbkornanalyse erfolgte bisher auf Filterpapier bei einer sehr niedrigen Keimrate. In einem Vergleich mit 6 Wiederholungen zur Prüfung der Keimfähigkeit auf Filterpapier bzw. Sand betrug die auf Filterpapier 20,0 % und die auf Sand dagegen 71,6 %. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde die Anzucht zur Halbkornanalyse auf Sand durchgeführt.

In dem folgenden Versuch (Tab. 3) wurden verschiedene Konzentrationen NaOCl mit und ohne Ethanol in ihrer Wirkung auf die Keimfähigkeit und ihre desinfizierende Wirkung auf sterilem und nicht sterilem Boden, sowie auf Filterpapier und MS-Medium untersucht. Zudem wurde geprüft, inwieweit eine anschließende Weiterbehandlung der Explantate der einzelnen Prüfglieder in der In-vitro-Kultur erforderlich ist (vgl. 4.3.1).

Tab. 3: Einfluss verschiedener Keimmedien sowie von NaOCl und Ethanol auf die Keimfähigkeit von Borretsch-Samen (Angaben in %; jeweils n=30)

	Kontrolle	2 % NaOCl s.E.	4 % NaOCl s.E.	6 % NaOCl s.E.	2 % NaOCl c.E.	4 % NaOCl c.E.	6 % NaOCl c.E.
Boden unsteril	90,0	56,7	46,7	50,0	13,3	6,7	0,0
p-Wert (χ^2)	alle Gruppen: 0,000; Ethanol*: 0,000 (<i>Fisher</i>); NaOCl*: 0,000						
Boden steril	83,3	50,0	36,7	33,3	16,7	6,7	0,0
p-Wert (χ^2)	alle Gruppen: 0,000; Ethanol*: 0,000 (<i>Fisher</i>); NaOCl*: 0,000						
Filterpapier	33,3	16,7	20,0	3,3	0,0	0,0	0,0
p-Wert (χ^2)	alle Gruppen: 0,000; Ethanol*: 0,000 (<i>Fisher</i>); NaOCl*: 0,000						
MS Medium	30,0	26,7	20,0	0,0	0,0	0,0	0,0
p-Wert (χ^2)	alle Gruppen: 0,000; Ethanol*: 0,000 (<i>Fisher</i>); NaOCl*: 0,000						
p-Wert Keimmedium (χ^2): 0,000							

Anm.: s.E. = sine Ethanol; c.E. = cum Ethanol;

* Die Gruppen „Ethanol“ bzw. „NaOCl“ beinhalten jeweils die Kontrollgruppe

Die Ergebnisse der Kontrolle zeigen, dass die Keimraten durch das Medium beeinflusst werden ($p=0,000$).

Unter der Wirkung von NaOCl sine Ethanol ist eine unterschiedlich starke Reduzierung der Keimfähigkeit festzustellen, die sich in der Gruppe NaOCl cum Ethanol verstärkt und bei einer NaOCl-Konzentration von 6 % der Gruppen Boden steril und unsteril auf Null zurückgeht. Zudem entspricht hier die Abnahme der Keimfähigkeit der Erhöhung der NaOCl-Konzentration. Nach diesen Ergebnissen wird der Desinfektionseffekt von NaOCl durch Ethanol verstärkt.

Auch die Ergebnisse der Keimung auf Filterpapier und MS-Medium lassen auf eine negative Wirkung von NaOCl auf die Keimbereitschaft schließen. Die Ergebnisse zeigen, dass in allen Konzentrationsstufen cum Ethanol auf Filterpapier und MS-Medium – die durch Umwelteinflüsse weniger beeinflusst sind – keine Keimung erfolgte.

Aufgrund der hohen Keimfähigkeit des Borretschsamens auf sterilem und unsterilem Boden wurde auf diesen Medien nun gezielt der Einfluss von NaOCl und Ethanol verschiedener Konzentrationen auf die Keimfähigkeit sowie der Kontaminationsgrad untersucht (Tab. 4).

Tab. 4: Einfluss von steigender Konzentration an NaOCl und Ethanol auf Keimfähigkeit und Kontamination von Borretsch-Samen (jeweils n=30)

	Ktr.	2 % NaOCl s. E	4 % NaOCl s. E	6 % NaOCl s.E.	2 % NaOCl c. E	4 % NaOCl c. E	6 % NaOCl c. E
Boden unsteril Keimrate (%)	86,7	60,0	43,3	56,7	16,7	10,0	13,3
p-Wert (χ^2)	alle Gruppen: 0,000; Ethanol: 0,000 (<i>Fisher</i>); NaOCl*: 0,000						
Boden steril Keimrate (%)	83,3	60,0	60,0	43,3	20,0	16,7	13,3
p-Wert (χ^2)	alle Gruppen: 0,000; Ethanol: 0,000 (<i>Fisher</i>); NaOCl*: 0,000						
Boden unsteril Kontamination (%)	34,6	11,1	7,7	0,0	20,0	0,0	0,0
p-Wert (χ^2)	alle Gruppen: 0,045; Ethanol: 0,683 (<i>Fisher</i>); NaOCl*: 0,006						
Boden steril Kontamination (%)	32,0	16,7	11,1	0,0	0,0	0,0	0,0
p-Wert (χ^2)	alle Gruppen: 0,086; Ethanol: 0,114 (<i>Fisher</i>); NaOCl*: 0,021						
p-Werte Boden							
Keimrate: 0,853; Kontamination: 1,000							

Anm.: s.E. = sine Ethanol; c.E. = cum Ethanol

* Die Gruppen „Ethanol“ bzw. „NaOCl“ beinhalten jeweils die Kontrollgruppe

Es sei angemerkt, dass die sinkenden Keimraten bei höheren Dekontaminationsmittel-Konzentrationen gleichzeitig die Aussagekraft der Werte der statistischen Analyse zur Kontamination etwas schmälern, da insbesondere bei den mit Ethanol behandelten Samen die Stichprobengröße deutlich abnahm.

Unterschiedliche Keimraten auf unsterilem bzw. sterilem Boden waren in diesem Versuch nicht festzustellen ($p=0,853$). Beide Varianten liegen auf einem vergleichbaren, hohen Niveau. Auch auf den Kontaminationsgrad hatte die Sterilität des Bodens keinen Einfluss ($p=1,000$).

In beiden Keimmedien lassen die steigenden NaOCl-Konzentrationsstufen (ohne Kontrolle) keine entsprechend negative Wirkung auf die Keimrate erkennen (Erde unsteril: $p=0,377$; Erde steril: $p=0,353$). Allerdings ist auch in Bezug auf die Kontamination kein nennenswerter Effekt durch die Konzentrationssteigerung zu verzeichnen (Erde unsteril: $p=0,222$; Erde steril: $p=0,333$).

Bemerkenswert ist, dass auch unter Ausschluss der Werte der mit Ethanol behandelten Samen ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und den verschiedenen Behandlungsstufen von NaOCl besteht (Keimrate: $p=0,006$; Kontamination: $p=0,016$).

In der Gruppe NaOCl cum Ethanol führte Ethanol in allen Versuchsgliedern zu einer weiteren, signifikanten Senkung der Keimrate. Die Kontamination konnte mit Ausnahme der 2 %-Variante auf unsterilem Boden auf null zurückgeführt werden.

Nach diesen Ergebnissen haben die Konzentrationen 4 % NaOCl cum Ethanol und 6 % NaOCl cum Ethanol sowie 6 % NaOCl sine Ethanol einen hohen Desinfektionsgrad. Dabei wird die Keimfähigkeit bei NaOCl cum Ethanol zunehmend geringer.

Aufgrund dessen wurde die Frage untersucht, ob die Explantate aus diesen Samen ohne eine zusätzliche Behandlung in die Gewebekultur übernommen werden können. Die Ergebnisse sind im Kapitel 4.3 Zell- und Gewebekultur dokumentiert.

4.1.3 Einfluss des Sterilisationsmediums H₂O₂

Neben NaOCl und Ethanol wurde H₂O₂ auf seine Eignung zur Dekontamination von Borretsch geprüft (Tab. 5). Ziel der Versuche war die Findung einer H₂O₂-Konzentration mit ausreichender Pathogenfreiheit der behandelten Explantate und Samen ohne Beeinträchtigung der Keimfähigkeit.

Tab. 5: Wirkung von H₂O₂ auf das Keimverhalten und den Sterilisationsgrad von Borretschsamen (jeweils n=30)

	Kon- trolle	H ₂ O ₂ 10 %	H ₂ O ₂ 15 %	H ₂ O ₂ 20 %
Keimrate (%)	86,7	96,7	73,3	50,0
p-Werte (χ^2)	0,000			
(Fisher)		0,353	0,333	0,005
Kontamination (%)	80,8	75,9	63,6	53,3
p-Werte (χ^2)	0,226			
(Fisher)		0,751	0,210	0,083

Das Ergebnis zeigt in Bezug auf die Keimrate lediglich bei einer Konzentration von 20 % H₂O₂ eine signifikante Reduzierung der Keimung auf 50 % im Vergleich zur Kontrolle.

Der Grad der Kontamination sinkt zwar kontinuierlich mit steigender H₂O₂-Konzentration, doch selbst bei der Variante 20 % H₂O₂ zeigt der direkte Vergleich mit der Kontrolle lediglich eine schwache Signifikanz. Insbesondere ist ein Anteil von 53,3 % kontaminierter Pflanzen unbefriedigend. Die Verwendbarkeit als Desinfektionsmittel für Borretschsamen ist nach diesem Ergebnis nicht gegeben.

4.2 Züchtungsversuche

Mit der Auslösung von Mutationen soll versucht werden, die Ertragsleistung des Borretsch zu verbessern und gleichzeitig die negativen Auswirkungen der Wildpflanzeigenschaften zu minimieren. Dazu wurden die drei Mutagenzien Ethylmethansulfonat (EMS), Gammastrahlen und Neutronenstrahlen untersucht.

Primäres Versuchsziel war dabei ein epigyner Blütenstand, der die Möglichkeit bietet, den Samen in der Fruchtkapsel bis zur Ernte zu halten oder aber beim jetzigen Blütenstand einen festen Kornsitze zu erzielen, bei dem die spontane Ausfallneigung auf nahezu null reduziert ist.

4.2.1 Ergebnisse der Behandlung mit 1 % EMS-Lösung

Die angestrebte Mutationsauslösung sollte mit der Behandlung der Borretschsamen mit einer 1 %igen EMS-Lösung erreicht und der Einfluss von EMS auf die Gesamtentwicklung der Pflanzen untersucht werden (Tab. 6 und Tab. 7). Neben der Kontrolle wurden drei Gruppen über 12, 18 und 24 Stunden einer Behandlung mit dieser Konzentration unterzogen.

Tab. 6: Einfluss einer 1 %igen EMS-Behandlung von Borretsch-Samen (12, 18, 24 h) auf ausgewählte Merkmale der Borretsch-Pflanzen (jeweils n=40)

	Wachstumsphase	Kontrolle	12 h	18 h	24 h
Blattzahl/Pfl.	55 d	13,1	12,1	11,6	13,7
	114 d	40,2	43,7	48,0	48,5
p-Wert (114 d)	0,074				
Chlorosen (Bon.1-9)	55 d	2,1	2,5	2,8	2,9
	114 d	1,1	1,5	1,7	1,8
Nekrosen Bef.Blätter/Pfl. (%)	55 d	6,9 %	9,9 %	4,3 %	8,8 %
	114 d	4,2 %	7,1 %	5,0 %	9,1 %
Kornzahl/Pfl.		17,5	0,7	0,0	0,0
p-Wert	<i>(Kruskal-Wallis) 0,000</i>				

Während in der ersten Wachstumsphase die Blattzahl in den einzelnen Behandlungsstufen weitgehend ausgeglichen war, wurden nach 114 Tagen mit steigender Behandlungsintensität höhere Blattzahlen mit jedoch nur schwacher Signifikanz festgestellt. In beiden Wachstumsphasen stieg mit zunehmender Behandlungsdauer die Zahl chlorotischer Blätter. Der Anteil der Blätter mit Chlorose-Symptomen war in der ersten Behandlungsphase mit 16,0 % bis 24,1 % hoch, ging jedoch nach 114 Tagen mit steigender Blattzahl auf 2,7 % bis 4,2 % zurück. Das bedeutet, dass der

Gesundheitszustand der Pflanzen stabil gehalten werden konnte. Die Anzahl nekrotischer Blätter hatte zwischen der niedrigsten und höchsten Behandlungsstufe eine steigende Tendenz mit unterschiedlich starker Ausprägung in den Zwischenstufen. Der prozentuale Anteil nekrotischer Blätter stieg in der zweiten Wachstumsphase in den beiden hohen Behandlungsstufen an. Die festgestellte Entwicklung von Nekrosen und Chlorosen stellt insgesamt keine übermäßige Einschränkung der Vitalität der Borretsch-Pflanzen dar.

Der Kornertrag betrug in der Kontrolle 17,5 Körner/Pflanze und in der 12 h Variante 0,7 Körner/Pflanze. Pflanzen, die aus Samen mit 18- bzw. 24-stündiger Behandlung hervorgingen, brachten keinen Kornertrag. Die Ernteergebnisse zeigten einen hoch signifikanten Einfluss ($p=0,000$) der EMS-Behandlung auf die Fertilität bei Borretsch.

Neben den Eigenschaften Vitalität und Ertrag wurde auch der Einfluss einer 1%igen EMS-Lösung auf morphologische Eigenschaften des Borretsch untersucht (Tab. 7).

Im Beobachtungszeitraum wurde in den behandelten Gruppen ein hoher Anteil von Pflanzen mit einem geringeren Längenwachstum ($p=0,000$) im Vergleich zur Kontrolle festgestellt. Diese deutlichen Unterschiede lassen sich bereits beim direkten Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und der Behandlungsdauer 12 h nachweisen.

Die Schossbereitschaft war bei der Gruppe 24 h mit 60 % am stärksten ausgeprägt. Bemerkenswert ist der geringe Einfluss der Behandlung bei der 18 h-Variante.

Die steigende Intensität der EMS-Behandlung förderte mutagene Effekte und beeinflusste den Grad der Blattveränderung, der bei der Gruppe 24 h am stärksten ausgeprägt war. Der Blühbeginn war in allen Behandlungsstufen verzögert, in der 24 h-Behandlung jedoch am stärksten. Die behandelten Varianten zeigten hoch signifikante Unterschiede der Blütenform im Vergleich zur Kontrolle. Die Seitentriebe hatten in den Behandlungsgruppen im Vergleich zur Kontrolle eine niedrigere Ansatzhöhe, die von einem geringeren Längenwachstum beeinflusst sein kann. Im Übrigen wurden in diesem Versuch keine wesentlichen, dem Zuchtziel dienenden mutagenen Veränderungen festgestellt.

Tab. 7: Wirkung einer 1 %igen EMS-Lösung auf die Morphologie von Borretsch (jeweils n=40)

	Wachstumsphase	Ktr.	12 h	18 h	24 h
Pflanzenlänge (in cm)	55 d	32,6	29	27,3	15
	78 d	48,8	43,3	37,8	31,7
	114 d	68,1	56,3	52,3	42,6
p-Wert 114 d	0,000				
Schossbeginn (%)	65d	30,0	42,5	32,5	60,0
	70d	80,0	87,5	62,5	75,0
	79d	100,0	100,0	100,0	100,0
Blattform verändert / Pflanze	55d	0,0	2,1 (17,4 %)	1,7 (14,7 %)	4,2 (30,7 %)
	114d	0,0	3,2 (7,3 %)	3,1 (6,5 %)	4,9 (10,1 %)
p-Wert	<i>(Mediantest)</i> 0,000				
Blühbeginn (d nach Aussaat)		122,3	131,8	132,3	145,0
p-Wert	<i>(Kruskal-Wallis)</i> 0,000				
Blütenform 1=hypogyn 5=epigyn	55d	1,0	1,1	1,1	1,2
	114d	1,0	1,3	1,5	1,5
p-Wert	<i>(Kruskal-Wallis)</i> 0,000				
Seitentrieb Ansatzhöhe (cm)	55d	17,2	8,0	9,8	6,7
p-Wert	<i>(Kruskal-Wallis)</i> 0,000				

4.2.1.1 EMS-Feldversuch Rauschholzhausen 2000

Ziel des Versuchs war die Induktion von Mutationen durch eine 1 %ige EMS-Lösung in einem größeren Pflanzenbestand. Diese Maßnahme war erforderlich, da nach ODENBACH (1997) die spontane Mutationshäufigkeit pro Gen und Generation 10^{-2} betragen könnte, würde sie nicht durch Reparatur bis auf 10^{-9} herabgesetzt.

Für den Feldversuch wurde auf Grund der Ergebnisse des vorangegangenen Versuchs eine Behandlungsdauer von 16 h gewählt. Diese lag nahe der Fertilitätsgrenze von 18 Stunden, um die Wahrscheinlichkeit für Mutationen zu erhöhen.

Tab. 8: Wirkung einer 1 %igen EMS-Lösung (16 h) auf die Entwicklung von Borretsch; Feldversuch M1, Rauschholzhausen 2000 (n=1345)

Prüfmerkmal	Ausprägung	Anteil in %	n
Wuchstyp	Blatt	95,3	1282
	Stängel	4,7	63
Verzweigung	schwach	2,2	29
	mittel	31,4	423
	stark	66,4	893
Blütenfarbe	blau	38,2	515
	weiß	0	0
	rot	12	160
	mischfarben	49,8	670
Blütenform	normal	3,3	45
	verändert	96,7	1300
Kelchblatt	normal	5,8	78
	Verändert	94,2	1267
Fruchtknoten	normal	99,6	1340
	verändert	0,4	5
Blattform	normal	3,9	53
	verändert	96,1	1292

Im Ergebnis der EMS-Behandlung wurde festgestellt, dass 95,3 % der Pflanzen als Blatttyp eingestuft werden konnten. Die EMS-Behandlung hat in dieser Beziehung keine Veränderung des Wuchstyps bewirkt.

Verzweigung

Der hohe Anteil von Pflanzen mit starker und mittlerer Verzweigung ist überwiegend dem Blatttyp zuzurechnen, der deutlich geringere Anteil schwacher Verzweigung meist dem Stängeltyp. Die unterschiedlichen Zahlenwerte von Stängeltyp und geringer Verzweigung erklären sich dadurch, dass bei dem Stängeltyp auch bei etwas stärkerer Seitenverzweigung der hohe Ansatz der Seitentriebe berücksichtigt wurde.

Blütenfarbe

In normalen Borretschbeständen dominiert im Allgemeinen die blaue Blütenfarbe. Bemerkenswert ist in diesem Versuch der verhältnismäßig hohe Anteil mischfarbener Blüten, der charakterisiert ist durch die Farben blau und rot. Diese Farbvariation ist mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die EMS-Behandlung zurückzuführen. Dabei

befanden sich blaue und rote Blüten in der Regel an der gleichen Pflanze. Weiße Blüten wurden nicht festgestellt.

Blütenform

Bei dem hohen Anteil veränderter Blüten wurde das äußere Erscheinungsbild der Gesamtblüte beurteilt, wobei in diesen Wert Form und Erscheinungsbild der Korolla mit Antheren und Fruchtknoten eingingen. Die Sepalen waren in hohem Maß formverändert. Blüten- und Kelchblätter zeigten leicht gekrümmte Formen und waren in der Entwicklung retardiert.

Die Stellung des Fruchtknotens zur Korolla wurde durch die EMS-Behandlung nicht wesentlich beeinflusst. So konnten nur bei 0,4 % der Pflanzen leichte Abweichungen festgestellt werden. Eindeutig ausgeprägte epigyne Blütenstände wurden nicht beobachtet.

Blattform

Die Wirkung von EMS kommt in dem hohen Anteil von 96,1 % veränderter Blattformen zum Ausdruck. Die Blätter waren in der Regel kleiner und schmaler, die Blattspitze seitlich abgebogen.

Kornernte

Zur Prüfung des Kornertrags wurden vor der Ernte der Gesamtfläche von jeder Reihe ca. fünf Pflanzen geerntet, die einen Ertrag von 878 Körnern erbrachten.

Die Ernte der Gesamtfläche erfolgte in einer länger andauernden Regenperiode. Das Pflanzenmaterial wurde nachgetrocknet. Der vollständige Körnerverlust erfolgte wohl schon auf dem Feld durch Wenden sowie durch das Aufladen und Transportieren zur Trocknung.

Mutationen

Ausgeprägte mutagene Veränderungen (Chimäre) zeigte die Pflanze 30/34 (Reihe 30/Pflanze 34) mit einer Wuchshöhe von 65 cm. Der mutagen veränderte Seitentrieb entwickelte sich aus einer Blattachsel in 10 cm Höhe. Er zeigte sechs Seitentriebe mit stark deformierten Blättern. Der Blütenstand war stark deformiert und kugelig zusammengezogen. Die Korolla war in Ansätzen erkennbar und die Antheren schwach entwickelt und infertil. Das Gynoceum hatte 1/3 der normalen Größe.

Die Mutterpflanze zeigte geringfügige Veränderungen der Blattform und an einigen Blüten geringfügige Formveränderungen der Korolla. Die erfolgte Bestäubung der isolierten Pflanze führte zu keiner Kornbildung.

Die im Phytotron kultivierten sechs Klone brachten 13 Samen, die klein und morphologisch verändert waren. Die Pseudostrophiole war nicht oder nur

unvollständig ausgebildet. Von diesen Samen keimten nur drei, die in der Jugendphase infolge schwacher Entwicklung und Botrytisbefall eingingen.

4.2.1.2 Nachbau aus dem Feldversuch 2000

In einem Feldversuch (Rauschholzhausen, 2000) wurde die Nachhaltigkeit der 1 %igen EMS-Behandlung auf morphologische Veränderungen bei *Borago officinalis* L. im Vergleich von M1 und M2 untersucht (Tab. 9).

Tab. 9: Ausprägung morphologischer Merkmale von Borretschpflanzen nach 1 %iger EMS-Behandlung (M1 und M2), Feldversuch Rauschholzhausen 2000

Prüfmerkmal (%)	M1 (n=1345)	M2 (n=336)	p-Wert (χ^2)
Pflanzen des Blatttyps	95,3	100,0	0,000
Pflanzen des Stängeltyps	4,7	0,0	
Pfl. mit blauen Blüten	38,2	76,8	0,000*
Pfl. mit weißen Blüten	0,0	0,0	
Pfl. mit roten Blüten	12,0	0,0	
Pfl. mit mischfarbenen Blüten	49,8	23,2	
Pfl. mit normaler Blütenform	3,3	15,2	0,000
Pfl. mit veränderter Blütenform	96,7	84,8	
Kelchblatt normal	5,8	9,1	0,023
Kelchblatt verändert	94,2	90,9	
Fruchtknoten normal	99,6	98,0	0,001
Fruchtknoten verändert	0,4	2,0	
Blattform normal	3,9	6,1	0,091
Blattform verändert	96,1	93,9	

* Die weißen Blüten gehen nicht in die Teststatistik ein.

Beim Wuchstyp wurde wiederum eine deutliche Tendenz zum Blatttyp festgestellt. Nachdem in der M1 4,7 % der Pflanzen dem Stängeltyp zugeordnet wurden, war der Blatttyp in der M2 zu 100 % dominant.

Bei der Blütenfarbe ist blau hoch signifikant vorherrschend. Der um 46,6 % zurückgegangene Anteil von Pflanzen mit mischfarbenen Blüten und das Fehlen roter Blüten in der M2 lassen den Schluss zu, dass die hohen Anteile dieser Farben in der M1 mit hoher Wahrscheinlichkeit durch die EMS-Behandlung initiiert wurden, da die Pflanze bestrebt ist, die durch die EMS-Behandlung verursachten Schäden zu „reparieren“ (ODENBACH, 1997).

Der gleiche Effekt war bei der Blütenform, dem Kelchblatt, und der Blattform zu beobachten. In der veränderten Fruchtknotenstellung wurde eine leichte Zunahme beobachtet.

Unter den 878 Körnern des EMS-Feldversuches befanden sich ca. 60 formveränderte Samen. Es wurde untersucht, ob eine durch EMS-Behandlung verursachte veränderte Samenform auch ihre Ausprägung in morphologischen Veränderungen bei der folgenden Pflanze findet (Tab. 10). Als Vergleich dienten die Ergebnisse des Nachbaus M2 aus dem Feldversuch.

Tab. 10: Ausprägung morphologischer Merkmale von Borretschpflanzen (in %), Gefäßversuch EMS M2, Rauschholzhausen 2001 (n=48)

Ausprägung	M2
Blatttyp	100,0
Stängeltyp	0,0
normale Blütenform (hypogyn)	93,8
veränderte Blütenform (jedoch nicht epigyn)	6,2
blaue Blüten	71,0
weiße Blüten	0,0
rote Blüte	6,0
mischfarbene Blüten	23,0
normale Fruchtknoten	100,0
veränderte Fruchtknoten	0,0
normale Blattform	93,3
veränderte Blattform	6,7

Die untersuchten Merkmale zeigten keine ausgeprägten mutagenen Veränderungen. Der Blatttyp dominierte wie im Nachbau mit 100 %. Auffallend war der noch relativ hohe Anteil von Pflanzen mit roten Blüten (6%), während der Anteil an Pflanzen mit mischfarbenen Blüten nahezu gleich blieb (Tab. 10). Bei diesen Pflanzen war der Reparatureffekt offensichtlich nicht so stark ausgeprägt und infolgedessen die blaue Blütenfarbe im Vergleich zum Nachbau-Feldversuch nicht so stark vertreten. Die veränderte Blattform ging entgegen dem Nachbau-Feldversuch im vorliegenden Versuch auf 6,7 % zurück. Die Veränderungen des Fruchtknotensitzes (epigyn) im Nachbau-Feldversuch wurden im vorliegenden Versuch relativiert.

Ein Bezug zwischen einer durch EMS-Behandlung induzierten Formveränderung des Samens und morphologischer Veränderungen der daraus entstehenden Pflanze lässt sich nach diesem Versuch allenfalls bei der Blütenfarbe ableiten.

4.2.2 Behandlung der Samen mit Gammastrahlen

In den folgenden Versuchen wurde die Wirkung der Gammastrahlung auf morphologische Veränderungen des Borretsch untersucht. Da keine Erfahrungswerte vorlagen, wurde der Strahlendosisbereich zunächst auf 50 – 300 Gy festgelegt (Tab. 11).

Tab. 11: Morphologische Veränderungen von Borretschpflanzen durch Gammabestrahlung, Freilandversuch Rauschholzhausen 1999 (12 ≤ n ≤ 18)

	Ktr.	50 Gy	100 Gy	150 Gy	200 Gy	300 Gy
n	18	12	17	18	15	14
Basaltriebe	2	2	2	0	1	0
Seitentriebe	4	3	4	5	6	4
Pfl.-länge (cm)	48	44	49	48	43	20
Blattzahl pro Pfl.	40	35	38	39	42	27
Blatt verändert	0	0	0	0	3	1
Nekrose	0	1	0	0	0	1
Chlorose	0	5	4	0	0	2
Blühbeginn (d)	58	59	61	61	63	64
Blüte verändert	0	0	0	0	0	0

Das Versuchsergebnis zeigte in einzelnen Bereichen geringe morphologische Veränderungen. Die Bestrahlungsstufen bis 200 Gy hatten offensichtlich keinen Einfluss auf das Längenwachstum der Pflanzen, das aber in der 300 Gy-Stufe um circa 50 % reduziert wurde. Ebenfalls wurden keine nennenswerten Auswirkungen auf die Blattzahl in den Gruppen von 50-200 Gy im Verhältnis zur Kontrolle festgestellt. Die 300 Gy-Stufe erreichte dagegen im Vergleich zur Kontrolle nur 27 Blätter/Pflanze (= 67,5 %).

Bei einer Strahlendosis ab 200 Gy führte die Behandlung zudem zu einer veränderten Blattform. Die in den einzelnen Prüfgliedern festgestellte Nekrose und Chlorose wurde offensichtlich nicht durch die Gammastrahlung verursacht. Der Blühbeginn wurde mit steigender Dosierung verzögert. Veränderte Blütenformen konnten in keiner Behandlungsstufe festgestellt werden.

4.2.2.1 Einfluss der Gammabestrahlung auf die Keimfähigkeit

Da keine Erkenntnisse über den Einfluss der Gammastrahlung auf die Keimfähigkeit von Borretsch vorlagen, wurde ein entsprechender Keimversuch mit einer Strahlenbehandlung von 300 bis 700 Gy angesetzt (Abb. 16).

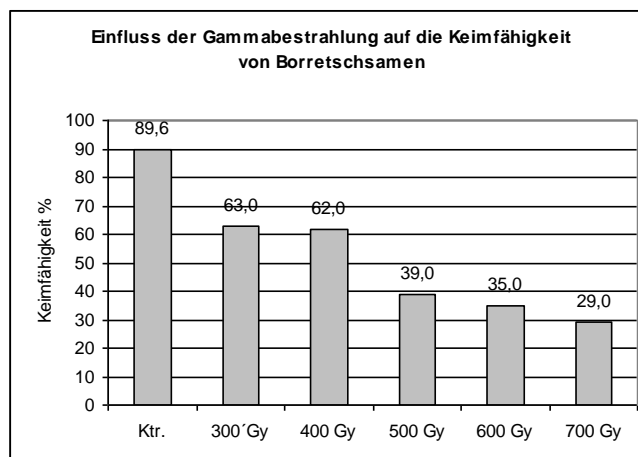


Abb. 16 Einfluss der Gammabestrahlung auf die Keimfähigkeit von Borretsch

Der Keimtest zeigte mit steigender Bestrahlungsintensität eine Reduktion der Keimfähigkeit. Die Werte der Faktorstufen 300 Gy und 400 Gy sowie der drei Stufen 500 Gy bis 700 Gy sind dabei aber statistisch gleich bzw. fast gleich zu bewerten. Die Keimfähigkeit betrug bei der Gruppe 700 Gy 29 % gegenüber der Kontrolle mit 89,6 %.

4.2.2.2 Mutationsversuch mit Gammastrahlen

Zur Prüfung des Einflusses der Gammastrahlung auf die Ausprägung morphologischer Merkmale sowie auf die Initiierung mutagener Veränderungen bei Borretsch wurde eine Strahlendosis zwischen 300 Gy und 700 Gy gewählt.

Tab. 12: Morphologische Veränderungen durch Gammabestrahlung, Feldversuch Gießen 2001 (jeweils n = 48)

	Ktr.	300 Gy	400 Gy	500 Gy	600 Gy	700 Gy	p-Wert*
Blattzahl pro Pfl.	87,4	59,9	54,8	33,8	41,7	38,7	0,000
Seitentriebe pro Pfl.	6,4	5,4	4,3	1,8	2,0	2,4	0,000
Pfl.-Länge (cm)	58,8	41,5	39,0	25,2	24,7	25,3	0,000
Blühbeginn (d)	59,1	58,6	59,9	65,9	69,2	66,2	0,000
Kornertrag (dt/ha)	2,07	1,19	1,16	1,07	0,97	1,13	0,045

* jeweils nach Kruskal Wallis

Alle die Morphologie der Pflanze betreffenden Daten waren bereits in der ersten Bestrahlungsstufe (300 Gy) im paarweisen Vergleich mit der Kontrolle niedriger ausgeprägt als die Kontrolle (Tab. 12). So waren die Blattzahl/Pflanze, die Zahl der Seitentriebe, die Pflanzenlänge und der Kornertrag bereits bei 300 Gy deutlich

vermindert. Der Versuch zeigt zudem eine zunehmend negative Wirkung auf die morphologischen Eigenschaften des Borretsch bis zu einer Bestrahlungsdosis von 500 bzw. 600 Gy.

Mit steigender Dosierung wird die Blattzahl signifikant verringert. Unterschiedlich stark ausgeprägt ist die gleiche Entwicklung bei der Anzahl der Seitentriebe. Auch die Pflanzenlänge wird mit zunehmender Dosierung von 58,8 auf 24,7 cm verringert. Der Blühbeginn wird mit höherer Dosierung der Gammastrahlung innerhalb der Behandlungsgruppen um 10,6 Tage signifikant verzögert. Der Kornertrag wird in allen Behandlungsstufen durch die Gammastrahlung negativ beeinflusst.

Eine ausreichende Wasser- und Nährstoffversorgung sowie optimale Wärmezufuhr bei ausreichender Sonneneinstrahlung sind die Voraussetzungen für eine optimale Photosyntheseaktivität zur Bildung organischer Substanz. Zur Prüfung des Einflusses der Gammastrahlung auf den Chlorophyll-Gehalt und den Ertrag von Borretsch wurde die Wirkung der Strahlendosen von 300-700 Gy untersucht (Tab. 13).

Tab. 13: Einfluss der Gammastrahlen auf die CCI*-Werte und den Kornertrag von Borretsch, Feldversuch Gießen 2001 (jeweils n=12)

	Ktr.	300 Gy	400 Gy	500 Gy	600 Gy	700 Gy
Kornertrag g/Pfl.	4,0	1,6	1,3	1,3	2,0	1,7
dt/ha (12Pfl./m²)	4,8	1,9	1,6	1,6	2,4	2,04
p-Wert	0,000					
<i>Dunnnett-T</i>		0,000	0,000	0,000	0,003	0,000
Messwerte CCI	18,8	15,8	17,3	14,9	17,0	15,4
p-Wert	0,004					
<i>Dunnnett-T</i>		0,031	0,526	0,002	0,363	0,008

* CCI=Chlorophyll-Content-Index

Der Kornertrag wurde durch die steigende Strahlungsintensität negativ beeinflusst mit den niedrigsten Erträgen in der 400- und 500 Gy-Stufe.

Weniger eindeutig ist die Datenlage bei den Messwerten des Chlorophyllgehalts. Die beiden Bestrahlungsgruppen 400 Gy und 600 Gy zeigen im paarweisen Vergleich mit der Kontrolle keine signifikanten Mittelwertunterschiede. Die behandelten Gruppen erreichten im Mittel nur 87,1 % im Vergleich zur Kontrolle.

Einfluss der Gamma-Strahlen-Behandlung auf den Reifeverlauf der Samen

Mit dem üblichen Ernteverfahren, der Schwadablage, wurden alle Reifestadien geerntet. In diesem Versuch (Tab. 14) sollte der Anteil reifen Erntegutes als

wirtschaftlich nutzbarer Teil ermittelt werden, wobei zwischen reif (schwarz), halbreif (braun) und unreif (grün) unterschieden wurde.

Tab. 14: Kornertrag (kg/ha), Reifestadien und TKG (g) von Borretsch nach Gammabestahlung, Feldversuch Gießen 2001 (jeweils n=12)

	Ktr.	300 Gy	400 Gy	500 Gy	600 Gy	700 Gy
Ertrag grüner Samen (kg/ha)	36,1	20,9	28,7	35,9	20,8	23,6
Ertrag brauner Samen (kg/ha)	92,9	49,0	41,9	33,7	40,3	44,6
Ertrag schwarzer Samen (kg/ha)	77,6	49,0	45,6	37,6	38,5	44,6
Ertrag Samen Gesamt (kg/ha)	206,6	119,9	116,2	102,7	99,6	112,8
p-Wert Ertrag (ges.)	0,001					
<i>Games-Howell</i>		0,283	0,202	0,022	0,031	0,062
Grüner Samen (TKG/g)	11,0	11,7	13,5	13,7	10,8	12,3
Brauner Samen (TKG/g)	11,9	9,2	10,4	14,2	14,3	12,9
Schwarzer Samen (TKG/g)	16,4	16,2	15,2	16,1	17,9	16,1
Anteil grüner Samen (%)	17,5	18,2	24,6	33,5	20,9	20,9
Anteil brauner Samen (%)	45,0	40,9	36,1	31,4	40,5	39,6
Anteil schwarzer Samen (%)	37,5	40,9	39,3	35,1	38,6	39,5

Die Gammabestahlung hatte – über alle Faktorstufen betrachtet – einen signifikanten Einfluss auf den Samengesamtertrag ($p=0,001$). Dabei sind nach dem post hoc-Test signifikante Mittelwert-Unterschiede erst in den Bereichen 500 und 600 Gy, sowie mit einer schwachen Signifikanz in der 700 Gy-Stufe festzustellen.

Mit steigender Strahlendosis bis 600 Gy erfolgte eine kontinuierlich verlaufende Reduzierung des Ertrags auf 99,6 kg/ha gegenüber der Kontrolle, bei 700 Gy wiederum eine leichte Steigerung. Bei den im ersten Reifestadium befindlichen Samen ist kein Einfluss der steigenden Strahlendosis erkennbar. Bei den braunen und schwarzen Samen erfolgte eine negative Ertragsentwicklung mit der Dosiserhöhung bis 500 Gy auf 33,7 bzw. 37,6 kg/ha gegenüber der Kontrolle. Eine weitere Dosiserhöhung ging dagegen mit einem erhöhten Ertrag einher.

Das TKG zeigt in allen Reifestadien und Strahlendosen ein uneinheitliches Bild. Ein Einfluss der Gammabestahlung ist nicht erkennbar. Höheres TKG schwarzer Samen zeigt die Kornfüllung (Fetteinlagerung) an.

Interessant ist der für die wirtschaftliche Nutzung wichtige Anteil schwarzer (reifer) Samen, dessen Anteile am Gesamt-Samenertrag zwischen 35,1 und 40,9 % liegt. Ein Einfluss der Bestrahlung ist hier nicht erkennbar.

4.2.2.3 Letalitätsversuch

Das Versuchsziel war, die Letaldosis sowie die für Versuche an lebenden Borretschpflanzen erforderliche Gamma-Strahlendosis zu finden, die für weitere Versuche als Maßstab gelten könnte (Tab. 15). Dabei sollten bei einer möglichst hohen Strahlendosis Mutationen ausgelöst werden, ohne das Pflanzenwachstum nachhaltig zu stören. Die Strahlendosis wurde etwa um den Faktor 10 gegenüber der Samenbestrahlung reduziert.

Tab. 15: Einfluss der Gammastrahlen auf die Vitalität von Borretschpflanzen, Gefäßversuch Gießen 2001 (Vorversuch) (jeweils n=2)

	10 Gy	30 Gy	50 Gy	60 Gy	70 Gy
Pfl.-Länge (cm) 73 d 101 d	12,0 53,0	11,8 21,0	12,5 0	13,0 0	13,3 0
Beginn der Knospenbildung nach (d) (16.7.)	73	76	0	59	59
Blühbeginn nach (d) (29.7.)	86	93	-	-	-
Pflanzenzahl letal (101d)	-	-	2	2	2

Das Längenwachstum war nach 73 Tagen bei der Variante 30 Gy mit 11,8 cm am niedrigsten und stieg dann bis zur 70 Gy-Variante auf 13,3 cm an. Die Varianten 60 Gy und 70 Gy zeigten schon nach 59 Tagen Knospenbildung, bildeten aber keine Blüten mehr aus. Bei den Pflanzen der Gruppe 50 Gy kam es trotz normaler Entwicklung nicht zur Knospenbildung. Die Gruppen 10 und 30 Gy bildeten nach 73 und 76 Tagen Blütenknospen. Der Blühbeginn erfolgte nach 86 und 93 Tagen.

Aufgrund der Ergebnisse des Vorversuchs wurden im Folgeversuch (Tab. 16) weitere Eigenschaften untersucht, wobei die Strahlendosen auf 10 bis 40 Gy festgelegt wurden.

Tab. 16: Einfluss von Gamma-Strahlen auf das Wachstum von Borretsch-Pflanzen (je n=8, Ktr. n=7), Gefäßversuch GI 2001 (Folgeversuch)

	Ktr.	10 Gy	20 Gy	30 Gy	40 Gy
Blattzahl	13,3	13,3	16,4	17,5	15,8
p-Wert*		0,981	0,048	0,008	0,111
Pfl.-Länge (cm) (87 d)	40,6	38,0	31,8	22,6	18,3
p-Wert*		0,381	0,004	0,000	0,000
Knospenbildung (%) Beginn nach d	71 % 71 d	25 % 81 d	-	-	-
Blütenbildung (%) Beginn nach d	71 % 84 d	25 % 92 d	-	-	-
Chlorose (Blätter / Pfl.)	0,4	0,3	0,3	0	0
p-Wert*		0,588	0,760	0,006	0,000
Nekrose (Blätter / Pfl.)	0,7	1,0	0,9	2,3	3,1
p-Wert*		0,588	0,760	0,006	0,000
Blatt verändert (Blätter / Pfl.)	0	0,1	2,6	5,8	4,8
p-Wert*		0,876	0,002	0,000	0,000
Pflanzen letal (101 d)	0	0	0	0	0

* *Dunnnett-T*

Die Blattzahl pro Pflanze variierte in diesem Versuch von 13,3 bis 17,5 Blätter/Pflanze (Tab. 16).

Mit der Erhöhung der Strahlendosis wurde das Längenwachstum reduziert. Die Variante 40 Gy erreichte 44,8 % des Kontrollwertes. Die Knospenbildung war bei der Variante 10 Gy auf 25 % reduziert und erfolgte zehn Tage später. Dementsprechend war auch der Blühbeginn verzögert. Ob die nicht erfolgte Knospenbildung in den Varianten 20 Gy - 40 Gy auf die Gammastrahlung zurückzuführen ist, müsste weiter untersucht werden, da im vorigen Versuch zwar eine Knospenbildung in höheren Strahlendosen erfolgte, diese aber nicht zur Blütenbildung führte. Chlorotische Veränderungen nahmen mit höherer Strahlendosis ab, während nekrotische zunahmen. Mit höherer Strahlendosis stieg auch die Anzahl formveränderter Blätter von 0,1 (10 Gy) auf 5,8 Blätter/Pflanze (30 Gy). Dieser Wert fiel bei 40 Gy auf 4,8 veränderte Blätter/Pflanze. In dem Bereich 0 bis 40 Gy wurden keine letalen Pflanzen festgestellt.

4.2.3 Behandlung der Samen mit Neutronenstrahlen

Ziel der Behandlung der Samen mit Neutronenstrahlung war die Initiierung von Mutationen, die einen epigynen Blütenstand bzw. festen Kornansatz aufweisen. Die Pflanzen wurden anschließend über mehrere Generationen selektiert und kultiviert.

4.2.3.1 Vorversuche zur Strahlendosis

Da keine Erfahrungswerte hinsichtlich der optimalen Strahlendosis vorlagen, wurden zunächst Keimversuche bei unterschiedlicher Strahlendosis durchgeführt. Der erste Versuch erfolgte mit einer Leistung von 100 kW über 4, 8, 12 und 16 min (Tab. 17).

Tab. 17: Einfluss der Neutronenstrahlen auf die Keimfähigkeit bei 100 kW, Rauschholzhausen 2001 (jeweils n=50)

	4 min	8 min	12 min	16 min
Samen gekeimt	22	26	11	0
Keimfähigkeit (%)	44	52	22	0
Pfl.-Länge nach 16 d (cm)	2	2	0 (letal)	0 (letal)
Pfl. nach 4 Wochen	letal	letal	-	-

Samen, die einer Bestrahlung von 4 und 8 min ausgesetzt wurden, zeigten eine Sprossentwicklung bis zu einer Größe von 2 cm. Es kam jedoch nicht zur Wurzelbildung. Die Pflanzen gingen nach etwa 4 Wochen ein.

Bei der Variante 12 min kam es bei 22 % zu einem Keimansatz mit z. T. beginnendem Durchstoßen der Bodenoberfläche. Die restlichen Samen dieser Variante zeigten keine Keimreaktion. Die Bestrahlungszeit von 16 min führte zu einer vollständigen Letalität der Samen. Um eine höhere Überlebensrate der zu behandelnden Pflanzen zu erreichen, wurde die Bestrahlungsleistung auf 30 kW und die Behandlungsdauer auf 102 s, 137 s, 172 s bzw. 207 s reduziert (Tab. 18).

Tab. 18: Einfluss der Neutronenstrahlen auf die Keimfähigkeit und Vitalität von Borretsch, Strahlendosis 30 kW, Rauschholzhausen 2001 (jeweils n=60)

Strahlungsdauer	102 s	137 s	172 s	207 s
Samen gekeimt	33	26	6	0
Keimfähigkeit (%)	55	43	10	0
Pflanzenlänge n.16 d (cm)	2	2	1	0
Vitalität n. 40 d (%)	0	1,7	1,7	0
Vitalität n. 50 d (%)	0	0	0	0

Die Bestrahlungsgruppe 207 s zeigte keine Keimreaktion. Bei den Gruppen 172 s, 137 s und 102 s wurde eine Keimfähigkeit von 10 %, 48 % bzw. 55 % festgestellt. Nach 16 Tagen erreichten diese Pflanzen eine Länge von 1 bzw. 2 cm. Nach 40 Tagen waren von den Gruppen 172 s und 137 s nur noch je eine Pflanze vital. Nach 50 Tagen betrug auch bei diesen beiden Gruppen die Letalitätsrate 100 %.

4.2.3.2 Einfluss der Neutronenstrahlung auf die Keimfähigkeit

Aufgrund der hohen Letalitätsrate wurde die Bestrahlungsintensität von 30 kW auf 10 kW reduziert (Tab. 19). Die Bestrahlungsdauer blieb dabei unverändert.

Tab. 19: Keimfähigkeit und Vitalität von Borretsch in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit, Strahlendosis 10 kW, Rauschholzhausen 2001 (jeweils n=50)

Strahlungsdauer	102 s	137 s	172 s	207 s
Samen gekeimt	50 (100 %)	45 (90 %)	41 (82 %)	43 (86 %)
p-Wert (χ^2)	0,023			
Vitalität nach 41 d	42 (84 %) 84,0*	36 (72 %) 80,0*	35 (70 %) 85,4*	19 (38 %) 44,2*
Vitalität nach 65 d	38 (76 %) 76,0*	24 (48 %) 53,3*	16 (32 %) 39,0*	4 (8,0 %) 9,3*
p-Wert 65 d (χ^2)	0,000			

* Die zweite Zahl (% - Angabe) bezieht sich auf den Anteil an den in dieser Behandlungsstufe gekeimten Samen. Auf diese Angabe bezieht sich auch der Signifikanzwert.

Es zeigt sich in der Tendenz ein negativer Einfluss der Neutronenstrahlung auf die Keimfähigkeit von Borretsch, die bei einer Bestrahlungsdauer von 102 s 100 % und bei einer Bestrahlungsdauer von 172 s 82 % betrug. Weitaus deutlicher ist aber die durch die Behandlung erfolgte Einschränkung der Vitalität der gekeimten Pflanzen, die nach 41 Tagen von 84,0 % (Bestrahlungsdauer 102 s) auf 44,2% (Bestrahlungsdauer 207 s) sank. Nach 65 Tagen sank die Vitalität von 76,0 % auf 9,3 %.

Damit wurde der für weitere Versuche erforderliche Dosisbereich gefunden, in dem einerseits eine noch ausreichende Vitalität sowie andererseits die Möglichkeit zur Initiierung von Mutationen gegeben ist.

4.2.3.3 Einfluss der Neutronenstrahlung auf morphologische Merkmale

Zur Prüfung der phänotypischen und qualitativen Eigenschaften wurden diese Pflanzen in einem Gefäßversuch weiter kultiviert und wichtige Merkmale bonitiert (Tab. 20).

Tab. 20: Einfluss von Neutronenstrahlung auf morphologische Merkmale von Borretsch (Folgeversuch), Rauischholzhausen 2001

	102 s	137 s	172 s	207 s
n	33	22	13	3
Blattzahl / Pflanze	47,8	46,6	52,1	44,3
p-Wert	0,692			
Pfl.-Länge (cm)	52,7	51,2	58,2	42,5
p-Wert	0,821*			
Nekrose (Blätter / Pflanze)	8,53	7,96	11,42	6,27
p-Wert	0,229			
Chlorose (Blätter / Pflanze)	3,64	3,32	4,31	5,67
p-Wert	0,522*			
Beginn Schossen (d)	57,6	60,6	63,1	67,7
p-Wert	0,030*			
Beginn Blüte (d)	98,6	101,5	104,1	108,7
p-Wert	0,032*			
Blätter verformt	0,97	1,09	0,85	0,33
p-Wert	0,895*			
Seitensprosse	1,67	1,86	1,69	1,33
p-Wert	0,406*			
Basaltriebe	1,55	1,86	1,69	1,00
p-Wert	0,201*			
Messwerte CCI	25,9	26,2	29,6	23,1
p-Wert	0,319*			

* *Kruskal-Wallis*

Die Neutronenstrahlung führte zu einer Verzögerung des Entwicklungsverlaufs von Schoss- und Blühbeginn. In der höchsten Bestrahlungsstufe setzte der Schossbeginn 9,6 d und der Blühbeginn 10,7 d später ein als in der niedrigsten.

Mit Ausnahme dieser beiden Merkmale gibt es keine signifikanten Hinweise darauf, dass die Neutronenstrahlung bei diesen Dosen die Morphologie der Pflanzen negativ beeinflusst.

4.2.3.4 Ergebnisse des Mutationsversuchs Gießen 2003

Das für den Versuch vorgesehene Saatgut der Fa. de Witt, Niederlande, wurde auf seine wertbestimmenden Inhaltsstoffe Gamma-Linolensäure und Erucasäure untersucht. Die GLS-Gehalte lagen mit 23,3 % in dem vom Handel geforderten Bereich, der zwischen 22 % und 25 % liegt. Die ES-Gehalte lagen mit 2,7 % weit unter dem zulässigen Höchstgehalt von 5 %, jedoch über dem angestrebten Zuchtziel von < 2,5 %. Ein besonderes Ziel dieser Behandlung war das Erreichen eines epigynen Blütenstandes bzw. eines festen Kornansatzes. Das für den Versuch vorgesehene Saatgut wurde im Strahlencentrum der Uni Mainz über einen Zeitraum von 207 s einer Neutronenbestrahlung von 10 kW unterzogen.

Der Versuch wurde auf einer Versuchsfläche von ca. 0,5 ha der Versuchsstation Weilburger Grenze in Gießen durchgeführt. Auf der Versuchsfläche verteilt wurden drei mal 1 m² mit je 17, 20 und 30 Pflanzen für den Versuch festgelegt. Diese Pflanzen wurden auf Wuchstyp und morphologische Veränderungen untersucht und bonitiert. Nach der Bonitierung konnten 63 Pflanzen dem Blatttyp und vier dem Stängeltyp zugeordnet werden (Tab. 21).

Die Pflanzen wurden auf die Zahl der Blüteninsertionen und den jeweiligen Blütenstand untersucht.

Tab. 21: Bonitur der Blüteninsertion von Borretsch nach Neutronen-Bestrahlung, Gießen 2003

Merkmal	Gesamt	MW	Min	Max	σ	Median
Blüteninsertion	18479	276,0	0	1229	259,9	185,0
davon abgeblüht (steril)	6964	103,9	0	522	110	67
abgeblüht (normal)	9362	139,7	0	652	148,9	89
abgeblüht (verändert)	1652	24,7	0	136	31,5	12
Vollblüte	501	7,5	0	91	12,6	4

Alle 67 Pflanzen zeigten morphologische Veränderungen. Die Blüten wurden in die Kategorien normal, steril oder formverändert gegliedert. Die bonitierten 67 Pflanzen hatten insgesamt 18479 Blüteninsertionen. Das entsprach im Mittel 276 Insertionen je Pflanze, bei einem Maximalwert von 1229. Der Anteil der Blüten mit einem normalen Fruchtansatz betrug 50,7 %. Bei den sterilen Blüten waren entweder das Androzeum, das Gynozäum oder beide Organe degeneriert. Die Beurteilung der abgeblühten veränderten Blüten bezog sich auf das Erscheinungsbild der Blüte nach Form und Veränderungen der Kelch- und Blütenblätter.

In der Vollblüte standen 501 Blüten. Das entsprach 2,7 % der gesamten Blüteninsertionen. Die Bonitierung von Blütenstand, Blütenstadien, Anzahl geernteter Körner aller untersuchten Pflanzen und den sich daraus ergebenden Werten der Einzelpflanze wird in Tab. 22 dargestellt.

Tab. 22: Einfluss der Neutronenstrahlung auf Blütensegmente und Kornansatz von Borretsch, Gießen 2003 (n=67)

Merkmale		gesamt	MW / Pfl.	Min	Max	σ	Median
Anzahl Blüten in Vollblüte		501	7,5	0	91	12,6	4,0
davon	normal	156	2,3	0	46	5,8	1,0
	verändert	345	5,2	0	45	7,8	2,0
Androceum	normal	250	3,7	0	69	8,9	1,0
	verändert	251	3,8	0	23	5,1	2,0
Gynoceum	normal	360	5,9	0	86	11,3	2,0
	verändert	141	1,9	0	26	3,7	1,0
Knospen	normal	4228	63,1	0	274	64,2	46,0
	verändert	828	12,4	0	95	20,1	3,0
Samenernte ges.	mit festem Ansatz	411	6,1	0	39	8,0	4,0

Beurteilt wurde das äußere Erscheinungsbild hinsichtlich Form und Aussehen der Blüten- und Kelchblätter der 501 zum Zeitpunkt der Bonitierung offenen Blüten. Der Anteil der phänotypisch veränderten Blüten betrug 68,9 %. Bezogen auf die Einzelpflanze standen damit im Mittel 7,5 Blüten je Pflanze in der Vollblüte. Davon wurden 5,2 als verändert eingestuft. Die Formveränderungen des Androceums lagen bei etwa 50,2 % und die des Gynoceums bei 28,1 % der in der Vollblüte stehenden Blüten.

Bemerkenswert ist der auf dem Feld bei 67 Pflanzen festgestellte feste Kornansatz von 411 Körnern. Dabei handelt es sich um Körner, die nach einer leichten Rüttelbewegung noch mit der Pflanze verbunden waren. Bei einer unbehandelten Borretschpflanze hätten sich alle Körner von der Pflanze gelöst.

Von den untersuchten Pflanzen mit teilweise festem Kornansatz wurden 15 Pflanzen in Crisp Pac - Tüten isoliert, um alle heranreifenden Samen zu erfassen (Tab. 24).

Sie wurden – um die Systematik zu vereinfachen – zusammen mit den geernteten Samenkörnern der Generationsstufe M1 zugeordnet und bildeten die erste Generation eines über mehrere Generationen angelegten Züchtungsversuchs, dessen Stammbaum in Tab. 23 dargestellt wird.

Tab. 23: Stammbaum der Neutronengruppen M1 – M3

M1							
„fest“ M1/1				„lose“ M1/0			
M2							
„fest“ M2/11		„lose“ M2/10		„fest“ M2/01		„lose“ M2/00	
M3							
„fest“ M3/111	„lose“ M3/110	„fest“ M3/101	„lose“ M3/100	„fest“ M3/011	„lose“ M3/010	„fest“ M3/001	„lose“ M3/000

Die Kategorien „fest“ bzw. „lose“ beziehen sich stets auf die einzelnen Samenkörner. Das Bezeichnungsprinzip („fest“ = 1, „lose“ = 0) ermöglicht durch Reihung die Erfassung der Qualität des aktuellen Kornansatzes sowie der Eigenschaften der Körner aus vorangegangenen Generationen. So lässt sich beispielsweise aus der Bezeichnung M4/0110 die Ansatzqualität jeder der 4 Generationen ablesen, nämlich lose-fest-fest-lose.

Die Ergebnisse für die 1.Generation werden in Tab. 24 und Tab. 25 erfasst.

Tab. 24: Geerntete Körner der in den Versuch „fester Kornansatz“ eingestellten Pflanzen

Pfl.-Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
fest	2	4	5	3	16	0	7	24	10	0	1	9	11	0	0
lose	5	23	41	96	121	0	119	100	50	3	2	95	95	2	14
gesamt	7	27	46	99	137	0	126	124	60	3	3	104	106	2	14

Es zeigen sich sehr hohe Ertragsschwankungen zwischen den einzelnen Pflanzen, die von null bis 137 Körner / Pflanze reichen.

Tab. 25: Verhältnis fester und loser Kornansatz im Neutronenversuch M1, Gießen 2003 (n=15)

M1	Kornzahl	Anteil %	Körner/Pfl.
Gesamt	858		61
„lose“	766	89,3	55
„fest“	92	10,7	6

Von den geernteten 858 Körnern der M1 lösten sich während des Transport- und Trocknungsprozesses 766 von den Mutterpflanzen. Die übrigen 92 Körner (=10,7 %) hatten nach dem Trocknungsprozess einen festen Ansatz.

4.2.3.5 Einfluss der Bestrahlung auf Gamma-Linolen- und Erucasäure-Gehalte sowie auf den Kornansatz

Die fest und lose sitzenden Körner der M1 wurden getrennt auf ihre Leistungseigenschaften untersucht (Tab. 26).

Tab. 26: Die Gamma-Linolen- und Erucasäure-Gehalte von Borretsch-Samenöl der Gruppen M1/1 und M1/0 (%)

		MW %	Min %	Max %	σ	Median %	n
Gamma-Linolen-säure	M1 gesamt	17,5	6,8	41,0	4,5	16,8	312
	„fest“ M1/1	19,4	10,9	27,9	4,8	19,4	61
	„lose“ M1/0	17,1	6,8	41,0	4,3	16,4	249
Erucasäure	M1 gesamt	4,2	2,5	7,0	0,8	4,2	310
	„fest“ M1/1	4,6	3,0	7,0	0,80	4,6	61
	„lose“ M1/0	4,1	2,5	6,4	0,7	4,2	249

Von 92 Körnern der Gruppe „fest“ wurden 61 und von 766 der Gruppe „lose“ wurden 249 Körner auf die Fettsäuren-Zusammensetzung untersucht. Nach der Neutronenbehandlung war eine negative Veränderung der wesentlichen Inhaltsstoffe von Borretsch festzustellen. Die Mittelwerte der Einzeluntersuchungen lagen bei 17,5 % GLS bzw. 4,2 % ES und damit 5,8 % unter bzw. 1,5 % über den Werten der in den Versuch eingebrachten Handelsware.

Zur Verbesserung der Zuchteigenschaften wurden aus der Population leistungsfähige männliche Pflanzen als Pollenspender mit den in Tab. 27 beschriebenen Eigenschaften selektiert.

Tab. 27: Leistungseigenschaften der männlichen Borretsch-Pflanzen aus M1 zur Bestäubung

	MW %	Min %	Max %	σ	Varianz	Median %	n
GLS fest	20,9	20,1	21,7	0,7	0,5	20,8	6
ES fest	3,6	3,1	4,4	0,5	0,2	3,5	6
GLS lose	22,8	20,0	24,7	1,4	2,0	22,8	12
ES lose	4,2	2,6	5,2	0,7	0,5	4,4	12

Die Leistungen der männlichen Pflanzen waren im Vergleich zur Handelsware aufgrund der durch die Neutronenbestrahlung verursachten niedrigeren Gamma-Linolen- und höheren Erucasäure-Gehalte ungünstig zu beurteilen. Es wurden jedoch als Pollenspender die Pflanzen mit dem höchsten GLS-Gehalt und nach Möglichkeit gleichzeitig niedrigem ES-Gehalt ausgewählt.

Von den 61 untersuchten Körnern der Gruppe „fest“ wurden 55 und von 249 Körnern der Gruppe „lose“ 235 Pflanzen herangezogen (Tab. 28). Es wurde untersucht, inwieweit der Faktor "fester Kornansatz" in der Population (M2/11+ M2/01) fixiert war.

Tab. 28: Kornertrag und Ertragsstruktur von Borretsch in der Generation M2

Gruppen	Körner ges.	Körner/Pfl.	Körner „fest“	fest %	Körner fest/Pfl.	Körner lose	lose %	Korn lose/Pfl.	n
M2/11	1138	21,5	174 (M2/11)	15,3	3,2	964 (M2/10)	84,7	17,9	55
M2/01	3196	13,6	357 M2/01	11,2	1,5	2839 (M2/00)	88,8	12,1	235

Der Anteil Körner mit festem Ansatz stieg bei dieser Gruppe von 10,7 % in der M1 auf 15,3 % in der M2. In der Gruppe „lose“ zeigten von 3196 geernteten Körnern 357 (11,2 %) einen festen Kornansatz. Damit hat die Gruppe „fest“ in der M2 eine stärkere Ausprägung des festen Kornansatzes. Dieses Ergebnis legt die Schlussfolgerung nahe, dass dieser Effekt durch die Neutronenstrahlung induziert wurde.

4.2.3.6 Ertragsstruktur der Borretsch-Pflanzen in den Generationen M1 u. M2

Vorrangiges Zuchtziel war ein möglichst hoher Kornertrag bei einem möglichst hohen Grad festen Kornansatzes. In dieser Untersuchung wurden nur diejenigen Pflanzen der M1 berücksichtigt, die einen teilweise festen Kornansatz aufwiesen.

Leistungskriterien für die M2 waren aufgrund der Erfahrungswerte in der M1 die geerntete Kornzahl/Pflanze und der Anteil der Körner mit festem Kornansatz. Um die Selektion auf höheren Kornertrag und höheren Anteil festen Kornansatzes zu intensivieren, wurden 30 Versuchspflanzen, die aus Körnern der Generation M1/1 (1=Gruppe fest) herangewachsen waren, in drei Ertragsgruppen (EG) gegliedert, die sowohl Kornzahl/Pflanze als auch den relativen Anteil der Pflanzen mit festem Kornansatz berücksichtigten (Tab. 29).

Tab. 29: Ertragsstruktur von Auswahlpflanzen aus M1/1 (n=10,9,11)

Ertrags- gruppe (EG) aus M1/1		Kö. ges	Kö./ Pfl MW	Min	Max	St.- abw	Me- dian	Kö. fest	Kö. fest %	Kö. fest/ Pfl.
M2	Ges.	772	25,7	4,0	65,0	16,4	27,5	151	19,6	5,0
M2/EG1	> 20 > 20	325	32,5	20,0	56,0	11,2	31,0	105	32,3	3,9
M2/EG2	< 20 > 20	62	6,9	4,0	9,0	1,8	6,0	18	29,0	5,2
M2/EG3	> 20 < 20	385	35,0	20,0	65,0	14,2	30,0	33	8,6	3,0

Anm.: K.= Körner;

M1/1= Gruppe fest (/1) der M1

*Spalte 2, Zeilen 3-5: obere Zahl = Kornzahl/Pfl.,

untere Zahl = %-Anteil fester Kornansatz

In der in Tab. 29 dargestellten Auswahlgruppe von Pflanzen betrug der durchschnittliche Anteil festen Kornansatzes 19,6 %. Die Steigerung betrug damit im Vergleich zur M1 8,9 % (M1 = 10,7 %). In der Ertragsgruppe eins lag der Anteil des festen Kornansatzes um 21,6 %, in der Ertragsgruppe zwei um 18,3 % höher. Der Anteil in der Ertragsgruppe drei lag um 2,1 % niedriger.

Die gleichen Eigenschaften wurden bei den Pflanzen der Gruppe M1/0 (0=lose) untersucht, also bei den Pflanzen, die aus losen Körnern der 1. Generation hervorgegangen sind (Tab. 30).

Tab. 30: Ertragsstruktur von Auswahlpflanzen aus M1/0 (n=31+36+31)

Ertrags- gruppe (EG aus M1/0)	Ergeb- nis*	Kö. Ges	Kö./ Pfl (MW)	Min	Max	St.- abw	Me- dian	Korn fest	Kö. fest %	K. fest /Pfl.
M2	ges.	1852	18,9	3,0	51,0	10,6	21,0	384	20,7	3,9
M2/EG1	> 20 > 20	812	26,2	20,0	51,0	7,3	22,0	205	25,2	6,6
M2/EG2	< 20 > 20	278	7,7	10,0	19,0	4,3	7,0	82	29,5	3,1
M2/EG3	> 20 < 20	762	24,6	20,0	49,0	7,3	23,0	69	9,1	2,2

Anm.: K.= Körner;

M1/0 = Gruppe lose (/0) der M1

*Spalte 2, Zeilen 3-5: obere Zahl = Kornzahl/Pfl.,

untere Zahl = %-Anteil fester Kornansatz

Der Anteil festen Kornansatzes der in Tab. 30 dargestellten Pflanzen lag im Vergleich zur M1 (10,7 %) um 10,0 % höher und damit sogar knapp über dem Anteil der Gruppe „fest“ (19,6 %, s.Tab.29). In der Ertragsgruppe 1 (>20 Körner und >20 % fest) lag der Wert um 14,5 %, in der Ertragsgruppe zwei um 18,8 % höher, in Gruppe drei um 1,6 % niedriger.

Neben dem festen Kornansatz wurden zur Beurteilung des jeweiligen Leistungsstandards aus der EG1, welche die besten Ertragswerte aufwies, 91 Proben der M2/11 und 86 Proben der M2/01 auf ihre GLS- und ES-Gehalte untersucht (Tab. 31).

Tab. 31: GLS- und ES-Gehalte des Samenöls von Borretsch der Gruppen M2/11 und M2/01 (n=91+86)

		MW %	Min %	Max %	σ	Median %	n
GLS	EG1 ges.	19,4	11,1	30,9	3,01	19,3	177
	M2/11	19,3	13,9	27,0	2,2	19,5	91
	M2/01	19,5	11,1	30,9	3,7	19,0	86
ES	EG1 ges.	3,1	1,9	5,0	0,6	3,1	177
	M2/11	3,0	2,2	4,8	0,5	3,0	91
	M2/01	3,2	1,9	5,0	0,6	3,2	86

In der Gruppe „lose“ lagen sowohl die GLS- als auch die ES-Gehalte um 0,2 % höher.

Die Entwicklung der GLS- und ES-Gehalte von M1 zur M2 ist in Tab. 32 dargestellt.

Tab. 32: Die GLS- und ES-Gehalte des Samenöls von Borretsch in den Generationen M1 und M2- (Angaben in %)

	Gesamt M1 %	Gesamt M2 %	M1/1 %	M2/11 %	M1/0 %	M2/01 %
GLS	17,5	19,4	19,4	19,3	17,1	19,5
ES	4,2	3,1	4,6	3,0	4,1	3,2

Die GLS-Gehalte konnten in den Gesamtgruppen M2 um 1,9 % verbessert werden, was möglicherweise auch durch eine gezielte Bestäubung mit leistungsfähigen Vaterpflanzen erreicht wurde. In der Nachfolgegeneration M2/11 sanken die GLS-Gehalte von M1/1 um 0,1 %. Die Gruppe M2/01 zeigte eine Verbesserung der Werte um 2,4 % gegenüber der Gruppe M1/0. Die ES-Gehalte zeigten in beiden Untergruppen eine deutliche Verbesserung. Sie sanken im Vergleich der Gesamtgruppen von M1 auf M2 um 1,1 %, wobei der Wert bei der Nachfolgegeneration M2/11 mit 1,6 % deutlicher abnahm als bei der Nachfolgegeneration M2/01 (0,9 %).

4.2.3.7 Ertragsstruktur von Borretschpflanzen in der Generation M3 (2005)

Die Generation M3 wurde aus Körnern der Gruppen M2/11 und M2/10 herangezogen. Die entsprechenden Pflanzen wurden auf ihre Leistungseigenschaften untersucht. Pflanzen ohne festen Kornansatz wurden in der M2 ausgesondert.

In den einzelnen Gruppen wurde folgender Kornertrag (g) erzielt (Tab. 33).

Tab. 33: Kornertrag und –ansatz von Borretsch der Neutronengruppen M3, GG 2005 (n=40+44)

Gruppen	Kornertrag ges. (g)	Kornertrag ges. fest (g)	Kornertrag ges. lose (g)	Kö fest %	Ertrag (g/Pfl.)	n (Pflanzen)
M3/111	101,9	1,2	100,7	1,2	2,5	40
M3/010	259,5	2,3	257,2	0,9	5,9	44

Der mit den Auswahlpflanzen der Generation M2 (Tab. 29 u. Tab. 30, jeweils Zeile 3) erzielte Mindestertrag von 20 Körnern / Pflanze wurde in der M3 ebenfalls erreicht. Bemerkenswert ist dennoch der starke Rückgang des festen Kornansatzes im Vergleich zur M2.

Von den geernteten Gruppen wurden über die Halbkornmethode die Fettsäuren bestimmt (Tab. 34). Die untersuchten Körner wurden dem festen Kornanteil der jeweiligen Gruppe (s. Tab. 33, Spalte 3) entnommen.

Tab. 34: Die GLS- und ES-Gehalte der Gruppen M3/111 und M3/011

		MW %	Min %	Max %	σ	Median %	n
GLS	M3/111	20,3	13,1	28,4	3,1	20,4	80
	M3/011	21,3	12,2	29,7	3,9	21,6	73
ES	M3/111	2,6	1,2	3,5	0,5	2,6	80
	M3/011	2,7	1,5	4,7	0,6	2,7	73

Neben der Gesamtgruppe wurden die Untergruppen auf ihre Leistungen untersucht. Die Ergebnisse zeigten eine Steigerung der GLS-Gehalte von 19,3 % bzw. 19,5 % (Tab. 31) auf 20,3 % und 21,3 % (Tab. 34). Die Variationsbreite der Gruppen M3/111 und M3/011 von 15,3 % und 17,5 % ist als hoch anzusehen und sollte auf ein engeres Maß begrenzt werden. Die ES-Gehalte konnten von 3,0 % bzw. 3,2 % auf 2,6 % und 2,7 % vermindert und damit an die obere Grenze des Zuchtziels zurückgeführt werden.

Das Ergebnis der in der M4 durchgeführten Bestimmungen der GLS- und ES-Gehalte ist in Tab. 35 dargestellt.

Tab. 35: Die GLS- und ES-Gehalte der M4 (n=31)

		MW %	Min %	Max %	σ	Median %
GLS	M4	24,1	16,2	31,4	3,5	23,5
ES	M4	2,9	2,1	3,8	0,4	3,0

In der M4 konnte ein Kornertrag von 257 g mit einem Anteil von 205 g losem und 52 g festem Kornansatz erzielt werden, was einem Anteil von 20,2 % und einem Ertrag/Pflanze von 14 g entsprach. Die GLS-Gehalte konnten auf 24,1 % verbessert werden, während die ES-Gehalte mit 2,9 % ein negatives Ergebnis brachten.

4.2.3.8 Ertragsstruktur von Borretschpflanzen der Generationen M1 - M5 (2007)

Die Entwicklung der GLS- und ES-Gehalte von der M1 bis zur M5 wird in Tab. 36 dargestellt.

Tab. 36: Die Entwicklung der GLS- und ES-Gehalte von Borretsch der Generationen M1 – M5 (in %)

		MW %	Min %	Max %	σ	Median %	n
Gamma-Linolen-säure	M1	17,5	4,9	41,0	4,6	16,8	312
	M2	19,4	11,1	30,9	3,0	19,3	177
	M3	20,8	10,7	33,3	3,5	20,8	299
	M4	24,1	18,0	30,3	3,2	23,5	28
	M5	24,5	22,1	30,0	2,6	24,2	17
Eruca-säure	M1	4,2	2,5	7,0	0,8	4,2	312
	M2	3,1	1,9	5,0	0,6	3,1	177
	M3	2,6	1,2	4,7	0,5	2,6	299
	M4	2,9	2,2	3,7	0,3	3,0	28
	M5	3,6	2,6	4,9	0,7	3,7	17

Die GLS-Gehalte konnten kontinuierlich von der M1 zur M5 von 17,5 % auf 24,5 % gesteigert werden. Damit bewegten sich die Gehalte im oberen Bereich der für Handelsware geforderten Werte. Der anfängliche Trend der ES-Gehalte zum erstrebten Zuchtziel von < 2,5 % in der M3 kehrte sich dagegen um – die Werte von 2,9 % bzw. 3,6 % lagen unerwünscht hoch.

Der Gesamtkornertrag in der M5 - Generation von 405 Körnern zeigte mit 295 Körnern einen hohen Anteil mit festem Kornansatz – dies entspricht 72,8 % – und einen verhältnismäßig geringen Anteil von 110 losen Körnern.

4.2.4 Selektionsversuche zur Verbesserung der GLS-Gehalte

4.2.4.1 Verwandtschaftsanalyse ausgewählter Akzessionen

Bisher wurde mit Borretsch-Herkünften aus Ägypten, Ungarn, Spanien, Neuseeland, Großbritannien, Bonn, Gatersleben und aus einem Bauerngarten in Niederwalgern gearbeitet. Dieses Material sollte die Grundlage zur Entwicklung einer leistungsfähigen Population bilden. Dazu wurde zunächst eine Verwandtschaftsanalyse durchgeführt, um die genetische Ähnlichkeit dieser Herkünfte zu beurteilen (Abb. 17).

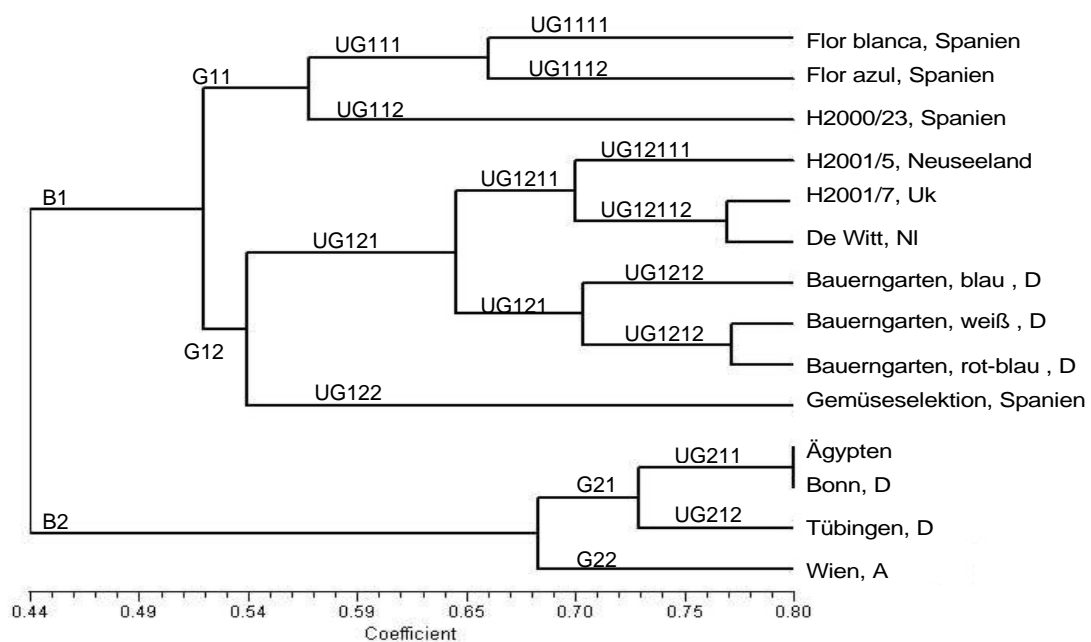


Abb. 17 Dendrogramm der untersuchten Borretsch-Akzessionen 2001

Die genetischen Unterschiede wurden in einem Cluster dargestellt. Zum besseren Verständnis wurde zwischen Blöcken (B), Gruppen (G) sowie Untergruppen verschiedener Hierarchiestufen (UG) unterschieden. Die durchgeführten Untersuchungen zeigen, dass sich die 4 Varianten des Blockes 2 genetisch beträchtlich von Block 1 unterscheiden (Ähnlichkeitskoeffizient 0,43). Eine geringe genetische Ähnlichkeit von 0,52 zeigen die beiden Gruppen G11 und G12 aus Block 1.

Obwohl es sich bei allen Varianten der UG 111 und UG 112 um spanische Herkünfte handelte, war der Koeffizient überraschend niedrig (0,57). Dies galt auch für die Untergruppen UG 1111 und UG 1112 (0,66). Diese Werte lassen auf ein endemisches Vorkommen der einzelnen Arten in ihren Herkunftsländern schließen.

Eine geringe Ähnlichkeit besteht zwischen den UG 121 und 122 mit einem Koeffizienten von 0,54. Die Gruppen 1211 und 1212 zeigen einen Koeffizienten von 0,65, ihre Untergruppen 12111 und 12112 von 0,69. Bei den Untergruppen 12121

und 12122 liegt der Ähnlichkeitskoeffizient bei 0,70. Innerhalb der UG 12122 weisen die Varianten „weiß“ und „rot-blau“ eine besonders hohe Ähnlichkeit auf (0,77). Die hohe genetische Ähnlichkeit der Akzessionen innerhalb der Gruppe 1211 ist mit hoher Wahrscheinlichkeit die Folge enger wirtschaftlicher Beziehungen der Fa. de Witt NI. insbesondere zu dem Vereinigten Königreich als auch zu Neuseeland. Die Fa. de Witt bezieht in größerem Umfang Borretsch-Samen aus diesen Ländern. Hohe genetische Ähnlichkeitskoeffizienten zeigen die Gruppen G21 und G22 mit 0,68 und die von UG 211 und UG 212 mit 0,73. Der hohe Koeffizient der Varianten von UG 211 (0,8) ergibt sich nach Aussage von Mitarbeitern des Botanischen Gartens Bonn aus der Tatsache, dass die Herkunft Bonn ursprünglich aus Ägypten bezogen wurde.

Betrachtet man die Gruppenunterschiede innerhalb der beiden Blöcke, so zeigt sich bei den Gruppen des Blockes 2 ein stärkerer genetischer Austausch als bei den Gruppen des Blockes 1. Diese Untersuchung zeigt, dass bei *Borago officinalis* L. eine hohe genetische Variabilität vorliegt.

4.2.4.2 GLS- und ES-Gehalte einzelner Akzessionen

Die Untersuchung einzelner Akzessionen auf ihre GLS- und ES-Gehalte erfolgte nach der Halbkornmethode (Tab. 37). Die Pflanzen wurden aufgrund ihres Fettsäuremusters selektiert.

Tab. 37: Anteile an Gamma-Linolensäure und Erucasäure der untersuchten Akzessionen, RH 2001 (in %)

	Gamma-Linolensäure				Erucasäure				
	MW %	Min %	Max %	σ	MW %	Min %	Max %	σ	n
B-b	20,3	13,7	29,5	2,9	3,3	1,7	8,0	0,8	100
B w	20,3	14,1	27,8	2,7	2,9	1,4	4,3	0,7	46
B-m	20,5	9,8	24,6	3,2	4,4	2,4	14,6	2,7	51
Bon	19,2	9,2	27,2	3,5	2,8	0,9	5,0	0,8	70
Wien	20,9	15,6	42,9	10,8	2,6	2,1	3,2	0,4	6
Bot	22,7	15,2	36,7	4,8	3,3	2,1	5,2	0,8	23
Frey	19,2	14,5	24,3	3,9	2,9	2,4	3,5	0,4	6
Tüb	22,6	19,4	24,3	2,8	2,7	2,2	3,2	0,5	3
RH	19,6	16,5	22,0	1,8	3,8	2,2	5,3	1,0	4
Ägy	22,9	16,5	25,1	1,2	2,7	2,2	3,5	0,3	15
Ung	21,1	16,5	30,0	4,3	2,8	1,8	6,9	1,3	18
ges.	20,1	9,2	27,8	3,3	2,9	2,2	5,3	0,5	

Der Mittelwert der einzelnen Gruppen erreichte nicht das für die GLS-Versuche festgelegte Zuchtziel von >25 % GLS und <2,5 % ES. Demzufolge wurden danach getrennt Pflanzen mit hohen GLS- und niedrigen ES-Gehalten ausgewählt und miteinander gekreuzt.

4.2.4.3 Kreuzungsergebnisse

Die Anzahl der Pflanzen je Kreuzungsgruppe betrug n = 5 (Tab. 38). Die Versuche, die nach der Stammbaummethode angelegt waren, wurden mit vier Wiederholungen durchgeführt, soweit die Pflanzenzahl dies ermöglichte.

Tab. 38: Gamma-Linolen- und Erucasäure-Gehalte sowie Kornzahl der Kreuzungen

Kreuzung	Gamma-linolensäure %	Erucasäure %	Anzahl Körner der Herkünfte
B-b5-2 x Bon5-1	14,0	2,3	10
B-b10-4 x B-b3-5	10,5	2,9	1
B-b10-4 x B-b7-4	14,9	2,3	2
B-b17-3	0	0	0
B-w1-1	0	0	0
B-b5-1	0	0	0
B-b3-5 x B-b5-2	14,0	4,6	12
B-b7-4 x B-b5-1	0	0	2
Bon5-1 x B-b10-4	0	0	1
B-w9-2 x B-b17-3	9,6	2,4	2
B-w9-4 x B-b5-1	14,7	4,1	11
B-w9-4 x B-b5-2	0	0	6
Mittelwert	13,0	3,1	5,2

Die bei den Kreuzungen ermittelten GLS-Gehalte lagen mit 13,0 % (MW) auf einem sehr niedrigen Niveau. Die ES-Gehalte zeigten bei einem Mittelwert von 3,1 % einige Werte, die dem Zuchtziel von <2,5 % entsprachen. Von den samentragenden Pflanzen wurden im Mittel 5,2 Samen/Pflanze geerntet. Bei den Kreuzungen, in denen die Hoch-GLS-Pflanzen als Pollenspender eingesetzt wurden, kam es bei drei Pflanzen nicht zur Fruchtbildung. Ein im Verhältnis gutes Ergebnis zeigte die pollenspendende Pflanze B 10-4 mit den blau blühenden Varianten B 7-4 sowie die pollenspendende Pflanze 5-2 mit Bon 5-1 als Kreuzungspartner.

Insgesamt waren die Leistungen dieser Pflanzen nicht zufriedenstellend, sodass das ursprüngliche Vorhaben der Selektion geeigneter Akzessionen zu Gunsten eines alternativen Züchtungsexperiments fallen gelassen wurde: Aus der Kontrollgruppe eines gleichzeitig verfolgten EMS-Mutationsversuchs ging eine Population mit vielversprechenden Leistungseigenschaften hervor, die infolgedessen weiter kultiviert wurde.

4.2.4.4 Selektion GLS-reicher und ES-armer Varianten

I1 (1998)

Das Zuchtziel GLS-reicher und ES-armer Populationen wurde auch über den EMS-Versuch (siehe 4.2.1) angestrebt. Das Saatgut wurde dabei von der Fa. de Witt, NI

bezogen. Zur Prüfung der Leistungseigenschaften als Voraussetzung zur Selektion wurde die nicht EMS-behandelte Kontrollgruppe I1 auf ihre GLS- und ES-Gehalte untersucht.

In der Basispopulation (I1) hatte die Pflanze 1.9. den höchsten GLS-Gehalt von 29,1 % (γ C18:3) bei gleichzeitig sehr guten ES-Gehalten von 2,0 % (C 22:1). Von dieser Mutterpflanze wurden fünf Pflanzen herangezogen und jeweils als eigene Linien weitergeführt.

I2 (1999)

Die Gruppe I2 war die Basis der neuen Zuchtpopulation (Tab. 39).

Tab. 39: Leistungseigenschaften der Basispopulation

	MW %	Min %	Max %	σ	Median %	n
GLS (I1)	25,5	19,1	30,1	2,5	25,6	34
	(I2)	28,3	25,2	30,7	2,1	29,1
ES (I1)	2,4	1,9	2,9	0,4	2,4	34
	(I2)	2,4	2,2	2,6	0,2	2,3

Die GLS- und ES-Gehalte der I2 entsprachen mit 28,3 % und 2,4 % dem angestrebten Zuchtziel von >25,0 % GLS bzw. <2,5 % ES. Das Fettsäuremuster dieser Gruppe ist in Tab. 40 dargestellt.

Tab. 40: Das Fettsäuremuster der Pflanzen 1.9.1 – 1.9.5 (I2) im Jahr 1999

Pflanze	C 18:0 %	C 18:1 %	C 18:2 %	C γ 18:3 %	C 22:1 %	C 24:1 %	Generation
1.9.1	5,8	15,1	37,1	29,1	2,3	1,3	I2
1.9.2	3,2	9,7	37,1	30,7	2,4	1,8	I2
1.9.3	4,3	12,9	37,6	29,4	2,6	1,5	I2
1.9.4	3,9	11,1	37,3	25,2	2,2	1,6	I2
1.9.5	2,4	14,1	37,5	27,3	2,3	1,6	I2

Die erzielten GLS- und ES-Gehalte lagen alle im Bereich des angestrebten Zuchtziels und boten eine gute Basis zum Aufbau einer leistungsfähigen Population. Diese Linien wurden in den Jahren 2000 (I3) und 2001 (I4) im Freiland geselbstet

I3 (2000)

Im Jahr 2000 wurden von der Pflanze 1.9.1 12 Nachkommen zur Prüfung der Fettsäuren untersucht. Die GLS-Gehalte betragen 32,5 % bei einer Variationsbreite von 10,5 %. Die ES-Gehalte lagen auf einem ungewöhnlich niedrigen Niveau von 0,3 %, das den bei Borretsch üblichen Werten und den bisherigen Feststellungen in

unseren Versuchen nicht entsprach. In diesem Stadium wurde die gesamte Population einschließlich der Linie 1.9.1 für Untersuchungen, die im Rahmen einer gleichzeitig laufenden Dissertation erfolgen sollten, übergeben. Die bisher durchgeführten Isolationen und Selbstungen wurden dort in gleicher Weise weitergeführt. Der Fettgehalt des Samens betrug 34,6 %.

I5 (2002)

Um den GLS-Versuch weiterführen zu können, wurde im Jahr 2002 von jeder Linie fünf Pflanzen in den GLS-Versuch wieder übernommen. Zur Minimierung des Risikos und zur Erzielung eines positiven Bestäubungseffektes wurde aufgrund der geringen Pflanzenzahl die Bienenbestäubung vorgenommen. Außerdem konnte, da bisher ausschließlich Selbstungen durchgeführt wurden, eine Inzuchtdepression nicht ausgeschlossen werden. Jede Pflanzengruppe wurde gesondert in einem Käfig von einem Bienenvolk bestäubt. Da hiermit der Züchtungsgang Selbstung verbunden mit Isolation der Einzelpflanzen abgeschlossen war, erfolgte nach der I5 eine Umbenennung in KR F1 (KR = Kreuzung; F1 = 1. Generation).

Die Pflanzengruppen KR1.9.1 F1 bis KR1.9.5 F1 brachten im Jahr 2002 einen Kornertrag von 160, 180, 0, 151 und 71 Körnern. Die Gruppe 1.9.2 hatte mit 180 Körnern den höchsten Ertrag, den niedrigsten die Gruppe 1.9.5 mit 71 Körnern. Die Gruppe 1.9.3 ist eingegangen.

KR F1 (2003)

Im Jahr 2003 wurden in der Versuchsstation Rauschholzhausen von den Pflanzengruppen 1.9.1 und 1.9.2 jeweils 130, von 1.9.4. 120 und von 1.9.5 50 Samen ausgesät.

Im Jugendstadium war die gesamte Population von einem massiven Botrytisbefall betroffen. Durch intensive Behandlung gelang es, einige Pflanzen zu retten. Der positive Ansatz in der I5 zur Vergrößerung der Population konnte nicht realisiert werden. Von den ausgesäten 430 Körnern wurden aus diesem Grund nur noch 11 Pflanzen in diesem Versuch weitergeführt. Die Bestäubung erfolgte nach vorheriger Kastration von Hand, wobei die leistungsfähigsten Pflanzen der Gruppe 1.9.1 als Pollenspender für die Gruppe 1.9.2 und desgleichen die leistungsfähigsten Pflanzen der Gruppe 1.9.2 als Pollenspender für die Gruppe 1.9.1 genommen wurden.

Im Versuchsjahr 2003 wurden von der Gruppe 1.9.1 vier Pflanzen, von der Gruppe 1.9.2 sechs Pflanzen und von der Gruppe 1.9.4 eine Pflanze in den Versuch eingestellt. Die Gruppen erbrachten im Jahr 2003 ein Ernteergebnis von 36 (1.9.1), 19 (1.9.2) bzw. 27 (1.9.4) Körnern. Die Pflanze der Gruppe 1.9.4 war in der Entwicklung stark retardiert und im Blühverlauf nicht synchron zu den beiden anderen Gruppen. Die Pflanze 1.9.5 ging während der Vegetationsperiode ein. Es

konnten nur die Pflanzen der Gruppen 1.9.1 und 1.9.2 in die Kreuzungsgruppe aufgenommen werden, deren Leistungseigenschaften in der Tab. 41 aufgelistet sind.

Tab. 41: GLS- und ES-Gehalte der Samenöle von Borretsch aus der Ernte 2003 (KR F1)

	MW %	Min %	Max %	σ	Median %	n
GLS 1.9.1	27,9	25,4	30,3	1,4	28,3	12
1.9.2	29,6	26,8	31,5	2,1	30,1	4
1.9.4	32,0	29,0	33,6	1,9	32,3	6
ES 1.9.1	2,1	1,9	2,2	0,1	2,1	12
1.9.2	1,8	1,6	2,0	0,2	1,8	4
1.9.4	2,2	1,9	2,5	0,3	2,1	6

In der 6. Generation stabilisierten sich die GLS-Gehalte mit 27,9 %, 29,6 % und 32,0 % und die ES-Gehalte mit 2,1 %, 1,8 % und 2,2 % auf einem sehr zufriedenstellenden Niveau. Die Variationsbreite der GLS lag bei 4,9 %, 4,7 % und 4,6 %, die der ES bei 0,3 %, 0,4 % und 0,6 %. Damit war eine breite Basis für eine Vergrößerung der Population gegeben. Die für die folgende Generation zur Bestäubung vorgesehenen Pflanzen der Gruppe 1.9.1 hatten eine Leistung von 30,3 % (GLS) bzw. 2,1 % (ES) und diejenige der Gruppe 1.9.2 von 31,5 % (GLS) bzw. 1,6 % (ES).

KR F2 (2004)

Im Versuchsjahr 2004 wurden von der Gruppe 1.9.1 insgesamt 12 Pflanzen, von der Gruppe 1.9.2 vier Pflanzen und von der Gruppe 1.9.4 fünf Pflanzen in den Versuch eingestellt. Die handbestäubten Pflanzengruppen der KR F2 brachten im Jahr 2004 ein Ernteergebnis von 475 (1.9.1), 679 (1.9.2) bzw. 16 (1.9.4) Körnern.

Die Gruppe 1.9.1 war in der Vegetationsperiode einem verhältnismäßig starken Krankheitsdruck ausgesetzt. Ein Teil der Pflanzen kam aus diesem Grunde nicht zum vollen Samenertrag. Sechs Pflanzen zeigten keine Krankheitserscheinungen.

Obwohl in der Gruppe 1.9.2 wegen Pilzbefalls 12 Pflanzen ausfielen, erbrachten die restlichen vier Pflanzen den Ertrag von 679 Körnern. Phänotyp und Blühverhalten ergaben keinen Hinweis auf einen zu erwartenden geringeren Ertrag der Gruppe 1.9.1 gegenüber der Gruppe 1.9.2.

Die Pflanze 1.9.4 konnte wegen Spätentwicklung nicht mehr in diese Versuchsgruppe aufgenommen werden. Sie wurden getrennt weitergeführt und geselbstet. Von dieser Pflanze konnten wegen einer hohen Ausfallquote nur fünf Pflanzen weitergeführt werden. Fettsäuremuster und Leistungseigenschaften der einzelnen Gruppen sind in Tab. 42 und Tab. 43 dargestellt.

Tab. 42: Fettsäuremuster der Samenöle von Borretsch 2004 (KR F2)

	C 18:0 %	C 18:1 %	C 18:2 %	C γ18:3 %	C 18:3 %	C 20:0 %	C 20:1 %	C 22:1 %	n
1.9.1	9,0	27,6	25,5	19,1	3,7	0,0	1,7	2,5	3
1.9.2	5,1	20,4	31,2	20,2	1,9	0,3	4,4	2,6	20
1.9.4	4,6	19,6	28,3	19,3	1,9	0,0	4,0	2,5	5

Tab. 43: GLS und ES-Gehalte der Samenöle von Borretsch 2004 (KR F2)

	MW %	Min %	Max %	σ	Median %	n
GLS 1.9.1	19,1	18,1	19,8	0,9	19,4	3
1.9.2	20,2	15,9	28,4	3,4	20,0	20
1.9.4	19,3	16,8	23,3	2,5	19,2	5
ES 1.9.1	2,5	2,0	2,9	0,4	2,5	3
1.9.2	2,6	2,0	3,7	0,5	2,5	20
1.9.4	2,5	2,0	3,1	0,4	2,6	5

Das bisherige hohe Niveau der GLS-Gehalte konnte in der 7. Generation nicht gehalten werden. Obwohl eine Bestäubung mit hoch leistungsfähigen Vaterpflanzen vorgegeben war, sanken die GLS-Gehalte auf ein sehr niedriges Niveau ab. Die ES-Gehalte bewegten sich noch in einem vergleichsweise günstigen Bereich von 2,5 % bis 2,6 %. Die Maximalwerte erreichten jedoch ein hohes Niveau. Die Variationsbreite der GLS betrug bei der Gruppe 1.9.1 aufgrund der geringen Pflanzenzahl 1,7 %, bei den Gruppen 1.9.2 und 1.9.4 12,5 bzw. 6,5 %. Bei den ES-Gehalten betragen die entsprechenden Werte 0,9, 1,7 bzw. 1,1 %. Der Versuchsverlauf bis zur 6. Generation (KR F1) zeigt GLS-Gehalte > 25 % und ES-Gehalte von < 2,5 %. Trotz der hohen Leistung der für die Bestäubung eingesetzten männlichen Pflanzen erreichten die Werte ein Niveau, das dem der Neutronengruppe entsprach, die im gleichen Gewächshaus stand. Da beide Gruppen durch Crisp Pac isoliert waren, ist davon auszugehen, dass bei der durch Hand erfolgten Bestäubung ein Fremdeintrag erfolgte. Eine zufällig auftretende genetisch bedingte Ursache für die veränderten ungünstigen Werte, kann nach dem bisherigen Versuchsverlauf bis zur KR F1 weitgehend ausgeschlossen werden.

KR F3 (2005)

Aufgrund des vorhandenen Zuchtmaterials wurde trotz der ungünstigen Ergebnisse die weitere Arbeit sowohl auf die Erhaltung und Verbesserung des Basis-

zuchtmaterials als auch auf die Vermehrung zur Durchführung von Feldversuchen ausgerichtet. Dazu wurde eine Gruppe Erhaltung und eine Gruppe Vermehrung gebildet.

KR F3 (2005) – Vermehrung

Ziel des Versuchs war die Vermehrung der Population, um ausreichendes Zuchtmaterial zur Durchführung von Feldversuchen zu erhalten, sobald die Voraussetzungen dazu gegeben waren.

Die Population wurde an verschiedenen Standorten (GG und RH) mit jeweils einer Wiederholung untersucht. Dabei wurden mit den Gruppen 1.9.1 und 1.9.2 eine Mischpopulation mit dem Ziel erstellt, die Leistung der Population auf die Vorgaben des Zuchtziels anzuheben und zu stabilisieren (Hardy-Weinberg-Gleichgewicht). Die für die vorgesehene Pflanzenzahl erforderliche Parzellengröße war an beiden Standorten nicht ausreichend. Die Gruppen wurden getrennt und an zwei Standorten mit je einer Wiederholung geführt. Die Versuche brachten das in Tab. 44 dargestellte Ergebnis.

Tab. 44: Kornertrag der Populationen 2005 (KR F3)

	Kornertrag ges. (g)	Anzahl Pflanzen	Kornertrag g/Pfl.
V.GG(1) *	320,6	357	0,9
V.GG(2)	19,4	110	0,2
V.RH(1)	670,0	281	2,4
V.RH(2)	347,0	188	1,8

* V = Vermehrung Groß-Gerau

Die beiden Gruppen der Vermehrung Rauschholzhausen erreichten den höchsten Ertrag sowohl in der Gruppe als auch der Einzelpflanze. Die beiden Populationen in Groß-Gerau nahmen eine unterschiedliche Entwicklung. Während sich die Gruppe V.GG(1) normal entwickelte, hatten die Pflanzen der Parzelle V.GG(2) nach der Aussaat eine langsame Entwicklung. Die Mehrzahl der Pflanzen zeigte Kandelaberwuchs und vermehrt rötlich verfärbte, infertile Blüten. Diese Wuchsform äußert sich in der Stauchung der Sprossachse, der Stauchung der Seitentriebe und kleineren Blättern. Der geringe Ertrag dieser Gruppe ist auf Botrytis- und starken Schädlingsbefall sowie einen hohen Anteil infertiler Blüten zurückzuführen.

Die Untersuchungen, die zur Klärung der Ursachen für das vorhandene Schadbild beitragen sollten, wurden vom Pflanzenschutzdienst Hessen durchgeführt. Die einzelnen Versuche wurden mit einem Netz überspannt. Sie brachten in der Laboruntersuchung folgendes Ergebnis (Tab. 45).

Tab. 45: GLS- und ES-Gehalte von Borretsch-Samen der Gruppen Vermehrung GG und RH 2005 (KR F3)

	MW %	Min %	Max %	σ	Median %	n
GLS V.GG(1)	18,7	5,9	26,1	4,1	18,4	108
V.GG(2)	18,4	6,1	24,7	4,6	18,4	53
V.RH(1)	22,7	15,6	31,3	3,0	22,9	90
V.RH(2)	22,3	8,1	31,6	4,2	22,3	58
ES V.GG(1)	3,0	1,0	5,3	0,8	2,7	108
V.GG(2)	2,4	0,3	4,6	1,1	2,7	53
V.RH(1)	2,7	1,9	4,6	0,5	2,6	90
V.RH(2)	2,9	2,0	4,2	0,6	2,9	58

Die niedrigen GLS-Gehalte insbesondere der Gruppe V.GG(2) stehen offensichtlich in Zusammenhang mit dem auf dieser Parzelle aufgetretenen Schädlingsbefall. Die in unmittelbarer Nachbarschaft stehende Versuchsgruppe zeigte visuell keine Anzeichen von Schädlingsbefall. Der niedrige GLS-Gehalt lässt auf einen negativen Standorteinfluss schließen. Die GLS-Gehalte lagen um rund 4 % niedriger als bei den beiden Gruppen in Rauschholzhausen. Die Variationsbreite der GLS war sowohl in der Versuchsgruppe Groß-Gerau mit 20,2 bzw. 18,6 % als auch in Rauschholzhausen mit 15,7 bzw. 23,5 % sehr hoch.

In Bezug auf die ES-Gehalte lagen diese Werte bei 4,3 % (Groß-Gerau) und 2,7 bzw. 2,2 % (Rauschholzhausen).

KR F3 (2005) – Erhaltung

Die Gruppe E1 (aus Linie 1.9.1) erzielte einen Kornenertrag von 470 g und die Gruppe E2 (aus Linie 1.9.2) von nur 94 Körnern. Die Bestäubung erfolgte durch Bienen.

Tab. 46: Leistungsmerkmale von Borretsch der Gruppen Erhaltung 1 und 2, 2005

	MW %	Min %	Max %	σ	Median %	n
GLS E1	20,8	13,9	29,3	3,6	20,6	59
E2	19,6	12,8	24,6	3,7	20,3	12
ES E1	3,0	2,0	3,8	0,5	2,9	59
E2	2,8	1,4	3,7	0,8	2,9	12

In der Gruppe E1 konnten die GLS-Gehalte im Vergleich zum Vorjahr um 1,7 % verbessert werden, während bei der Gruppe E2 ein Rückgang von 0,6 % zu verzeichnen war (Tab. 46). Die ES-Gehalte stiegen um 0,5 und 0,2 %. Die GLS-

Gehalte beider Gruppen lagen weit unter, die ES-Gehalte über dem gewünschten Zuchtziel. Die Variationsbreiten betragen bei den GLS-Werten 15,4 und 11,8 %, bei den ES-Werten 1,8 und 2,3 %.

KR F4 (2006) – Erhaltung

Die Gruppen Erhaltung wurden im Jahr 2006 fortgeführt und erzielten die in Tab. 47 aufgeführten Ergebnisse.

Tab. 47: Leistungseigenschaften der Gruppen Erhaltung 1 (1.9.1) und 2 (1.9.2) (KR F4)

	MW %	Min %	Max %	σ	Median %	Ertrag ges. g	Kornertrag g/Pfl.	n
GLS E1	26,0	18,8	36,9	4,1	25,6	274	6,9	40
E2	25,5	18,4	33,9	4,0	24,9	142	4,3	33
ES E1	3,0	2,4	3,8	0,3	3,0	274	6,9	40
E2	2,7	1,8	3,4	0,5	2,8	142	4,3	33

Die GLS-Gehalte der Gruppe E1 konnten sich im Vergleich zum Vorjahr um 5,2 % auf 26,0 % verbessern. In der Gruppe E2 (25,5 %) betrug die Steigerung 5,9 %. Es wurden ES-Gehalte von 3,0 % bzw. 2,7 % festgestellt. Die ES-Gehalte der Gruppe E1 blieben im Vergleich zum Vorjahr unverändert, während die der Gruppe 2 sich um 0,1 % verbesserten. Beide ES-Werte lagen damit – im Unterschied zu den günstigen GLS-Gehalten – außerhalb des gewünschten Zuchtziels. Die Variationsbreiten der GLS-Werte waren in der Gruppe E1 mit 18,1 %, in der Gruppe E2 mit 15,5 % stark ausgeprägt. Gleiches galt für die Variationsbreiten der ES-Werte (E1: 1,4 %, E2: 1,6 %). In E1 wurde ein Kornertrag von 274 g, in E2 von 142 g erzielt.

KR F4 (2006) – Vermehrung

Der Vermehrungsversuch (KR F4) wurde im Jahr 2006 fortgeführt und führte zu dem in Tab. 48 dargestellten Ergebnis.

Tab. 48: Leistungseigenschaften der Gruppe Vermehrung, GG und RH 2006

	MW %	Min %	Max %	σ	Median %	Ertrag (g)	n
GLS V.GG	28,0	19,6	42,1	4,9	27,4	274	56
V.RH	25,5	18,2	42,2	4,5	25,0	94	39
ES V.GG	3,0	1,9	4,7	0,6	2,9	274	56
V.RH	2,5	1,5	3,4	0,5	2,5	94	39

Die GLS-Gehalte der Gruppe GG verbesserten sich im Vergleich zum Vorjahr um 9,3 % auf 28,0 % und die der Gruppe RH um 2,8 % auf 25,5 %. Unverändert blieben

die ES-Gehalte von GG. In der Gruppe RH (2,5 %) erreichten die Werte das gewünschte Zuchtziel.

Die Variationsbreite der GLS-Gehalte lag mit 22,5 % (GG) bzw. 24,0 % (RH) auf Grund der insgesamt höheren Werte deutlich über den Zahlen des Vorjahres. Die Variationsbreite der ES-Gehalte konnte dagegen von 4,3 auf 2,8 % (GG) und von 2,8 auf 1,9 % (RH) gesenkt werden.

Um die Leistungen weiter zu stabilisieren und zu verbessern, sollte die Variationsbreite verringert, die Minimalwerte der GLS erhöht und gleichzeitig die Maximalwerte der ES gesenkt werden.

KR F5 (2007) – Erhaltung

Im Jahr 2007 standen bei den Gruppen Erhaltung Mutterpflanzen mit den in Tab. 49 dokumentierten Leistungen im Versuch. Die Bestäubung dieser Gruppe erfolgte durch Bienen.

Tab. 49: GLS- und ES-Gehalte von Borretsch-Samen der Selektion aus den Gruppen Erhaltung 2006 (KR F4)

	MW %	Min %	Max %	σ	Median %	n
GLS E1	28,8	25,3	36,9	3,3	27,8	22
E2	28,8	25,1	33,9	2,7	28,1	16
ES E1	2,9	2,0	3,7	0,5	3,0	22
E2	2,7	1,9	3,3	0,6	2,4	16

Die Variationsbreite der GLS-Werte der im Versuch stehenden Gruppen E1 und E2 betrug 11,6 bzw. 8,8 %, die der ES-Werte 1,7 bzw. 1,4 %.

Die GLS- und ES-Gehalte sowie Kornerträge der Gruppen Erhaltung des Jahres 2007 sind in Tab. 50 dargestellt (jeweils n=9).

Tab. 50: GLS- und ES-Gehalte sowie Kornerträge von Borretsch der Gruppen Erhaltung 2007 (KR F5)

	MW %	Min %	Max %	σ	Median %	Kornzahl
GLS E1	23,9	21,2	29,2	2,3	23,4	649
E2	23,5	19,4	28,2	2,2	23,0	747
ES E1	2,9	1,7	3,6	0,5	2,9	649
E2	2,5	1,7	3,1	0,4	2,5	747

Bemerkenswert ist das Absinken der GLS-Gehalte dieser Gruppen um 4,9 % bzw. 5,3 % trotz hoher Leistung der Mutterpflanzen. Die GLS-Gehalte der beiden Gruppen erreichten mit Variationsbreiten von 8,0 % und 8,8 % nach wie vor zu hohe Werte.

Die Variationsbreiten der ES-Gehalte betragen 1,9 % und 1,4 %. Die Gruppen E1 und E2 hatten von je neun Pflanzen einen Kornertrag von 649 bzw. 757 Körnern, was einem Kornertrag je Pflanze von 72 bzw. 84 Körnern entsprach.

KR F5 (2007) – Vermehrung

Die Gruppen Vermehrung GG und RH wurden im Jahr 2007 weitergeführt. Die für den Vermehrungsversuch selektierten Mutterpflanzen hatten die in Tab. 51 aufgeführten Leistungseigenschaften.

Tab. 51: GLS- und ES-Gehalte von Borretsch der Selektion aus den Gruppen Vermehrung 2006 (KR F4)

	MW %	Min %	Max %	σ	Median %	n
GLS V.GG	29,5	25,3	42,1	4,2	29,2	37
V.RH	28,8	25,0	42,2	3,9	27,8	19
ES V.GG	3,0	1,9	4,7	0,7	2,9	37
V.RH	2,5	1,5	3,2	0,5	2,6	19

Von den Gruppen Vermehrung 2007 wurden folgende GLS- und ES-Gehalte und Kornerträge erzielt (Tab. 52).

Tab. 52: Kornerträge, GLS- und ES-Gehalte der Gruppen Vermehrung 2007 (KR F5)

	MW %	Min %	Max %	σ	Median %	Kornzahl ges.	n
GLS V.GG	25,2	21,9	27,1	2	25,6	351	3
V.RH	25,5	21,0	27,4	2,5	25,5	295	8
ES V.GG	2,4	2,1	2,7	0,5	2,4	351	3
V.RH	2,4	2,0	2,4	0,2	2,3	295	8

In beiden Gruppen wurde das gewünschte Zuchtziel bezüglich der ES-Gehalte erreicht. Die Variationsbreite betrug bei der Gruppe GLS V GG 5,2 % und bei der Gruppe V RH 6,4 % gegenüber dem Vorjahr mit 22,5 % und 24,0 % (Tab. 48). Die Variationsbreite der ES betrug 0,6 bzw. 0,4 % gegenüber 2,8 bzw. 1,9 % des Vorjahres. Insgesamt wurden 351 bzw. 295 Körner von 3 bzw. 8 Pflanzen geerntet, was einem Kornertrag von 117 bzw. 37 Körnern je Pflanze entsprach.

4.3 Zell- und Gewebekultur

Mit der Zell- und Gewebekultur besteht die Möglichkeit, unter Umgehung der natürlichen Vegetationsperiode die Reproduktion von Pflanzen in kürzerer Zeit zu ermöglichen.

Das Versuchssystem pflanzliche Zell- und Gewebekulturen ist dadurch gekennzeichnet, dass isolierte Pflanzenteile, sogenannte Explantate, außerhalb des intakten pflanzlichen Organismus auf oder in einem geeigneten Nährmedium kultiviert werden. Dieses Nährmedium übernimmt dabei die Funktion der ursprünglich in der Pflanze benachbart liegenden Zellen, Gewebe und Leitbündel.

In der Gewebekultur ist steriles Arbeiten unbedingte Voraussetzung. Dabei ist die Verträglichkeit der bei der behandelten Pflanzenart eingesetzten Konzentration des Desinfektionsmediums ausschlaggebend. In dieser Arbeit wurden verschiedene Desinfektionsmedien in jeweils verschiedenen Konzentrationen auf ihre Wirkung untersucht.

Ein weiterer Schwerpunkt in der Zell- und Gewebekultur ist die Untersuchung der Wirkung von Phytohormonen unterschiedlicher Konzentration auf Blatt-, Spross oder Wurzelexplantate und deren Differenzierung. Eine besondere Bedeutung hat dabei die Untersuchung von Kallussen.

4.3.1 Dekontamination

Nach den Ergebnissen zur Samensterilisierung (vgl. Tab. 3 und Tab. 4) zeigten die Konzentrationen 2 %, 4 % und 6 % NaOCl cum Ethanol einen hohen Desinfektionsgrad bei einer Keimfähigkeit, die mit steigender Konzentration abnahm. Von jeder Gruppe wurden von gesund erscheinenden Pflanzen die Hypokotyle auf MS-Medium weiter kultiviert (Tab. 53) und in der gleichen Weise desinfiziert (NaOCl 2 % (10 min) + Ethanol 70 % (1 min)). Die Kontamination wurde aufgrund des Auftretens von Pilzmycel an den Samen bzw. Explantaten gemessen.

Tab. 53: Dekontamination von Borretsch-Hypokotylen nach Samensterilisierung (jeweils n=100)

	Ktr.	NaOCL 2 %	NaOCL + Eth.	Ethanol 70 %
Kontamination (%)	100	71	28	97
p-Werte (χ^2)	0,000			
(Fisher)		0,000	0,000	0,246

Das höchst signifikante Ergebnis zeigt, dass mit der Kombination NaOCl 2 % (10 min) und Ethanol 70 % (1 min) der Kontaminationsgrad auf 28 % gesenkt werden konnte. Die mit NaOCl 2 % behandelten Samen wiesen noch eine Kontamination

von 71 % auf, die Samen der Gruppe Ethanol erreichten dagegen einen Wert von 97 %. Das Ergebnis zeigt trotz der zuvor erfolgten Samensterilisierung insgesamt noch eine relativ hohe Kontamination. Dies könnte in der Morphologie des Borretsch-Samens seinen Grund haben, da die raue Schale zum einen die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln einschränken kann und zum anderen ein Eindringen von Keimen und somit eine endogene Kontamination möglich erscheinen lässt.

Eine Bestätigung und Differenzierung der vorangegangenen Ergebnisse lieferte der nächste Versuch, bei dem verschiedene Organexplantate auf ihren Kontaminationsgrad nach einer Behandlung mit NaOCl 2 % (10 min) + Ethanol 70 % (1 min) untersucht wurden. Dahinter stand die Fragestellung, welche Organexplantate aufgrund ihrer Dekontaminationseignung für eine Kalluskultivierung geeignet sind. Zum Vergleich diente eine Kontrollgruppe aus 50 Explantaten. Dabei wurden von 10 Basispflanzen jeweils 5 Spross-, Blatt- bzw. Hypokotylteile entnommen (Tab. 54).

Tab. 54: Dekontamination von Organexplantaten mit der Kombination NaOCl (2 %) und Ethanol (70 %) (jeweils n=50)

	Ktr. (unbeh.)	Hypokotyl	Petiole	Spross
Kontamination %	100	18	46	70
p-Werte (Fisher)		0,000	0,000	0,000

Dieser Versuch zeigte ungeachtet der bezüglich aller Explantate hoch signifikanten Wirksamkeit der Desinfektionsmaßnahme eine hohe Kontaminationsrate. Damit bestätigt dieser Versuch die für Zell- und Gewebekulturen typische Problematik. In Bezug auf die Eignung für die Kallusbildung zeigen die Hypokotyle das beste Resultat. Das belegt auch der direkte Vergleich mit den Petiolen ($p=0,005$, Fisher).

Untersucht wurde auch die Wirkung des Desinfektionsmediums H_2O_2 (Tab. 55).

Tab. 55: Einfluss des Sterilisationsmediums H_2O_2 auf die Hypokotylkultur von Borretsch auf MS Nährmedium (jeweils n=15)

Prüfglieder	Kontamination %
Kontrolle	93,3
H_2O_2 (5 %)	66,7
H_2O_2 (10 %)	46,7
H_2O_2 (15 %)	26,7

Die Ergebnisse zeigten selbst nach der Behandlung mit 15 %igem H_2O_2 nach fünf Tagen einen Kontaminationsgrad von 26,7 %.

4.3.2 Entwicklung der Fettgehalte in Borretsch-Kallussen

Die Fettgehalte der auf Festmedium und in Suspension kultivierten Kallusse wurden nach 28 und 56 d untersucht (Abb. 18).

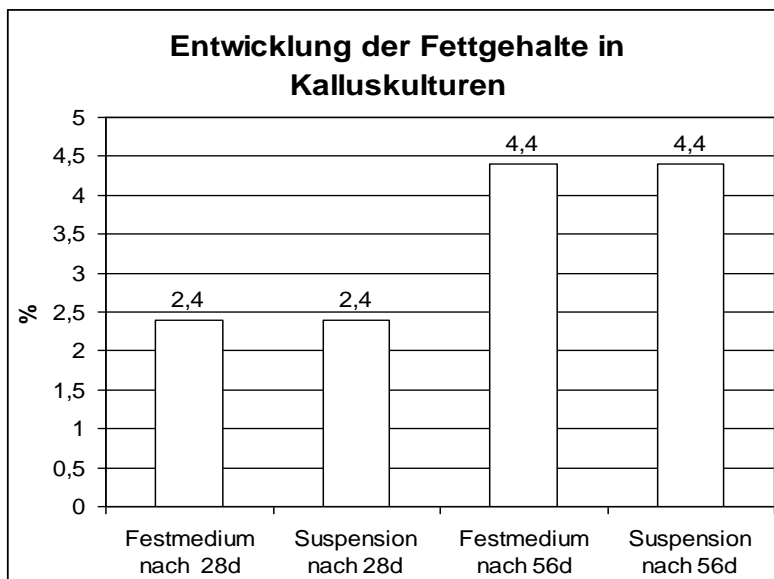


Abb. 18 Fettgehalte (in %) von Borretsch-Kallussen

Die Fettgehalte der beiden Varianten waren identisch. Sie zeigten eine steigende Tendenz von 2,4 % der TM nach 28 d auf 4,4 % nach 56 d. Die Borretsch-Kallusse zeigten nach 28 d sehr niedrige TM-Gehalte von 4,5 % im Festmedium und 1,9 % in der Suspensionskultur.

4.3.3 Einfluss von Phytohormonen auf das Kalluswachstum

Benzylaminopurin und Kinetin

Bei den Phytohormonen 6-Benzylaminopurin (BAP) und Kinetin handelt es sich um synthetische Zytokinine. Sie haben im Verhältnis zu natürlichen Phytohormonen eine relativ hohe Stabilität. Kinetin zeichnet sich durch zelltoxische Eigenschaften aus.

Die Wirkung der Phytohormone 6-Benzylaminopurin und Kinetin und ihr Einfluss auf das Zellwachstum von *Borago officinalis* L. wurde am Auxophyten untersucht. Zur Prüfung des Einflusses dieser Phytohormone auf das Wachstum von Borretsch-Zellkulturen wurden Konzentrationen von 1 ppm bzw. 2 ppm angewendet. Die Wachstumsleistung der Kultur wurde über das *packed-cell-volume* festgestellt (Tab. 56).

Tab. 56: Einfluss von BAP und Kinetin auf das Kallus-Wachstum am Auxophyton in % PCV (pressed cell volume) (n=12)

Hormone	0 Tage %	7 Tage %	14 Tage %	21 Tage %	28 Tage %
Kontrolle	100	270	210	410	470
BAP (1 ppm)	100	200	230	200	400
Kinetin (1 ppm)	100	130	240	290	240
Kinetin (2 ppm)	100	130	130	200	230

Die Ergebnisse zeigten das höchste Zellwachstum bei der Kontrolle. Interessant ist das geringere Wachstum unter dem Einfluss von Kinetin, das etwa 50 % des Kontrollwertes erreichte, wobei die unterschiedlichen Konzentrationen keinen wesentlichen Einfluss auf das Ergebnis hatten. Gegenüber der Kontrolle zeigte BAP erst nach 28 d eine deutliche Zuwachssteigerung. Insgesamt zeigten die Ergebnisse der Hormonvarianten ab der zweiten Woche deutlich niedrigere Wachstumsraten als die Kontrolle.

Thidiazuron

Es wurden verschiedene Konzentrationen dieses Phytohormons und ihr Einfluss auf das Zellwachstum bei Borretsch-Kallussen untersucht (Tab. 57).

Tab. 57: Einfluss von Thidiazuron (ppm) auf das Kallus-Wachstum (Zuwachs gFG / Kallus in 36 d; n=20)

	MW	Min	Max	σ	Median	p-Wert	Games-Howell
Ktr.	2,1	0,5	4,4	1,7	1,7	0,056	
TDZ 0,01	17,4	2,0	27,6	11,5	20,0		0,254
TDZ 0,1	11,9	3,6	18,8	6,5	12,6		0,194
TDZ 0,5	8,8	1,0	19,2	8,8	6,1		0,691
TDZ 1,0	4,4	3,5	5,2	0,8	4,4		0,238

* gFG = Gramm Frischgewicht

Es fallen die deutlichen Mittelwertunterschiede auf, die die Vermutung einer besonders starken Wachstumsförderung bei geringen TDZ-Konzentrationen nahelegen. Diese Mittelwertunterschiede werden jedoch nur mit einer schwachen Signifikanz von 0,056 dokumentiert. Die nicht signifikanten Werte des post-hoc-Vergleichs überraschen, da sie deutlich über dem p-Wert der Varianzanalyse liegen und zudem nicht zwangsläufig mit sinkenden Mittelwertunterschieden im Vergleich zur Kontrolle ansteigen. Der Grund liegt in den stark unterschiedlichen Streuungswerten (Abweichungen vom Mittelwert) der Behandlungsstufen.

Die Veränderung von Konsistenz und Farbe der Borretsch-Kallusse bei unterschiedlichen Thidiazuron-Konzentrationen erfolgte nach dem international verwendeten Boniturschema 1-9 mit keiner bzw. geringfügiger bis sehr starker Ausprägung des Merkmals (Abb. 19).

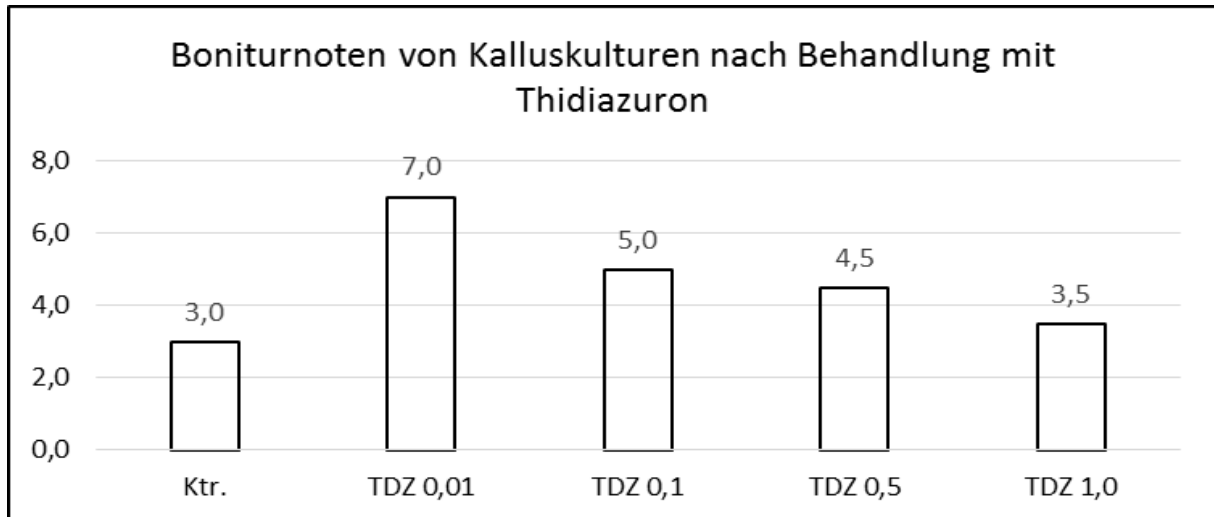


Abb. 19 Einfluss von Thidiazuron auf die Konsistenz und Farbe von Kalluskulturen (Bonitur)

Die wesentlichen Kriterien für die äußere Beurteilung der Kallusse waren neben der Konsistenz die Farbabstufungen von grün über braun bis schwarz. Der starke Zuwachs der Kallusse wirkte sich negativ auf Konsistenz und Farbe aus. In der Bewertung hatte die leistungsfähigste Gruppe (0,01 ppm) die stärkste Veränderung in Konsistenz und Farbe mit der Note 7,0. Die höheren Konzentrationen (0,5 und 1,0 ppm TDZ) mit geringerem Wachstum lagen bei 4,5 und 3,5.

Das bedeutet, dass ein vitales Aussehen in Form von grüner Farbe und stabiler Konsistenz kein Ausdruck für leistungsfähige Kallusse ist. Für die Erhaltung der Kalluskultur ist nach diesem Ergebnis die Kontrolle mit niedrigerem Wachstum und gesunden, konsistenten Kallussen geeignet. Für die Nutzung ist ein starkes Wachstum mit einer hohen Differenzierung erwünscht. Dieser zweiten Forderung entspricht die Variante TDZ 0,01 ppm.

Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D)

Im folgenden Versuch wurde die Wirkung von 2,4-D 0,01 ppm auf das Wachstum und die Differenzierung von Borretsch-Kallussen untersucht. Bonitiert wurde der Gesamteindruck (Konsistenz und Farbe) (Tab. 58).

**Tab. 58: Einfluss von 2,4-D auf das Kallus-Wachstum
(Zuwachs gFG/Kallus in 32 d; n=50)**

Vers. Glieder	MW	Min	Max	σ	Median
Zuwachs (g/Glas)	8,9	6,2	12,7	1,7	8,6
Zuwachs (g/Kallus)	1,8	1,2	2,5	0,3	1,7
Zuwachs (g/d)	0,06	0,04	0,08	0,01	0,05
Boniturnote (1-9)	5,0	2,7	8,1	1,7	5,4

Der Zuwachs betrug im Versuchszeitraum je Kallus 1,8 g bei der Anwendung von 0,01 ppm Dichlorphenoxyessigsäure 2,4-D bei einer Variationsbreite von 1,4 g. Die Boniturnoten lagen nach dem Bewertungsrahmen zwischen 3,0 und 5,0.

Hormonkombination IES, BAP und Kinetin

Im folgenden Versuch wurde die Wirkung verschiedener Phytohormone auf das Pflanzenwachstum untersucht. Dabei soll die Wirkung des Auxins IES sowohl als Einzelhormon als auch in Kombination mit den Zytokinen BAP und Kinetin auf das Wachstum von Borretsch-Kallussen untersucht werden. Konkret wurden dazu die Kombinationen IES 2,0 ppm + BAP 0,1 ppm und IES 2,0 ppm + Kinetin 0,1 ppm geprüft (Tab. 59).

Tab. 59: Einfluss von IES, BAP und Kinetin auf das Kalluswachstum (gFG in 44 d; Wdh.:3; n=12)

	MW	Min	Max	σ	Median	p-Wert	Games-Howell
Ktr	0,35	0,22	0,44	0,11	0,4	0,028	
IES 2,0	0,82	0,80	0,84	0,02	0,8		0,042
IES 2,0 + BAP 0,1	0,95	0,71	1,19	0,24	1		0,091
IES 2,0 + Kinetin 0,1	1,19	0,65	1,51	0,47	1,4		0,204

Den geringsten Zuwachs hatte die Kontrolle mit 0,35 g/Kallus in 44 d. Die IES-Variante erreichte ein im Vergleich zur Kontrolle signifikant erhöhtes Ergebnis von 0,8 g ($p=0,042$). Durch die Zugabe einer geringen Dosis der Zytokinine BAP und Kinetin zu dem Auxin IES wurde eine wesentliche Steigerung des Kalluswachstums erreicht. Die Kombination von IES (2,0 ppm) + Kinetin (0,1 ppm) erreichte einen Zuwachs von 1,19 g ($p=0,204$) und die Kombination von IES (2,0 ppm) + BAP (0,1 ppm) einen Zuwachs von 0,95 g ($p=0,091$). Erneut ist die unterschiedliche Streuung um den Mittelwert bei den verschiedenen Behandlungsstufen für die nicht signifikanten Ergebnisse des post-hoc Tests verantwortlich.

Kombination NES und BAP

Im weiteren Versuchsablauf wurde das Wachstumsverhalten der Kallusse im Auxin-Zytokinin-Gleichgewicht untersucht. Dabei kamen die Phytohormone NES und BAP in den Konzentrationen 0,01 ppm und 0,1 ppm zur Anwendung (Tab. 60).

Tab. 60: Einfluss der Kombination von NES und BAP auf das Kalluswachstum (gFG in 41 d; Wdh: 4; n=12)

	MW	Min	Max	Median	σ	p-Wert
Ktr.	2,75	2,2	3,5	2,7	0,58	0,213
NES 0,01+BAP 0,01	3,53	2,9	4,1	3,6	0,51	
NES 0,1+BAP 0,1	3,43	2,7	4,4	3,3	0,75	

Die Kontrolle erreichte einen Zuwachs von 2,8 g in 41 d. Sowohl die Variante 0,01 ppm als auch die Variante 0,1 ppm lagen im Vergleich zur Kontrolle 0,8 g bzw. 0,7 g höher, ohne dass diese Unterschiede aber statistisch signifikant waren. Die um den Faktor 10 höhere Konzentration der Gruppe 0,1 ppm zeigte im Vergleich zur Konzentration 0,01 ppm keine wesentlichen Auswirkungen auf das Wachstum.

In einem verfeinerten Versuchsaufbau wurden den Kalluskulturen verschiedene Kombinationen von NES und BAP in Konzentrationen von 0,01 ppm, 0,1 ppm und 0,5 ppm zugegeben. Nach 42 d wurde das Kallusgewicht ermittelt und die einzelnen Gruppen bonitiert (Tab. 61).

Tab. 61: Kallusgewichte bei verschiedenen Konzentrationen von NES und BAP (n=5)

ppm	NES 0,01	NES 0,1	NES 0,5
BAP 0,01	2,7 / 3,0	3,4 / 2,1	3,6 / 2,2
BAP 0,1	4,3 / 3,3	4,5 / 1,8	9,0 / 0,9
BAP 0,5	7,9 / 2,3	4,5 / 1,1	2,7 / 0,3

Anmerkung: erste Zahl = Bonitur 1-9 / zweite Zahl = gFG

Die Gruppen zeigten mit Ausnahme von NES 0,01 + BAP 0,1 ppm sinkende Werte für das Kallusgewicht bei steigender Konzentration. Mit steigender NES-Konzentration sanken die Werte geringfügig in der Verbindung mit BAP 0,01 ppm von 3,0 auf 2,2 g/Kallus. In der Stufe BAP 0,5 ppm sank das Gewicht von 2,3 über 1,1 auf 0,3 g ab. Damit ging der stärkste negative Einfluss auf das Kalluswachstum von der Kombination NES 0,5 ppm und BAP 0,5 ppm aus.

In den Stufen NES stehen steigende BAP-Konzentrationen mit sinkenden Werten des Kallusgewichts (von 3,0 auf 2,3, von 2,1 auf 1,1 bzw. von 2,2 auf 0,3 g/Kallus) in Verbindung. Die entsprechenden Differenzen betragen also 0,7 g, 1,0 g bzw. 1,9 g.

Sowohl in der NES- als auch in der BAP-Gruppe nahmen die Kallusgewichte bei steigenden Konzentrationen in der jeweiligen Stufe ab.

Mit Ausnahme der Gruppe NES 0,5 + BAP 0,5 zeigt die Boniturnote einen entgegengesetzten Trend zum Wachstum. Das starke Zellwachstum wirkt sich damit negativ auf die Merkmale Konsistenz und Farbe der Kallusse aus.

4.3.4 Die Wirkung von Phytohormonen auf die Differenzierung von Borretsch-Kallussen

Der Differenzierung von Pflanzen-Explantaten kommt im Rahmen der Zell- und Gewebekultur in Bezug auf die Vermehrung von Zuchtmaterial eine besondere Bedeutung zu. Dabei ist die Findung der für die einzelnen Pflanzenarten erforderlichen Phytohormonkombination wichtig.

Sprossdifferenzierung unter der Kombination NES 0,01 ppm + BAP 0,5 ppm

In einem ersten Vorversuch wurde eine Kombination von 0,01 ppm NES und 0,5 ppm BAP verwendet, um generell die Möglichkeit einer Initiierung der Embryogenese zu untersuchen. Dabei wurden 39 Kallusse mit der o.a. Phyto-

hormonkombination behandelt. Bei 24 Kallussen wurde eine Differenzierung beobachtet, wobei sich insgesamt 27 Sprosse entwickelten. Dies entspricht einem Mittel von 0,7 Sprossen pro Kallus.

Sprossdifferenzierung unter Indol-Buttersäure (IBS 1 ppm)

In einem weiteren Versuch wurde die Eignung des Phytohormons Indol-Buttersäure (IBS 1 ppm) zur Auslösung einer Differenzierung untersucht. Zur Anwendung kamen Hypokotyl-Kallusse auf MS-Medium. Die Kultivierung erfolgte in Gläsern mit Schraubdeckel, die mit je 3 Explantaten beschickt wurden.

Die 27 Kallusse bildeten 51 Sprosse aus (ca. 1,9 Sprosse / Kallus). Zusätzlich erfolgte in 10 Fällen eine Wurzelentwicklung. Bis zum 35. Tag erfolgte keine weitere Wurzelbildung. Die Explantate wurden demzufolge auf MS-Medium mit einem 10 %igen Anteil von Kokoswasser (Endosperm von *Cocos nucifera* L.) transferiert. Nach 10 Tagen war bei zehn Explantaten neben der bisher erfolgten Spross- eine beginnende Wurzelbildung erkennbar. Damit bestätigte sich der in der Züchtungsforschung bereits bekannte positive Effekt dieses Mediums auf die Wurzelbildung bei Sprossen. Bei den folgenden Versuchen wurde deshalb eine entsprechende Behandlung der Sprosse durchgeführt.

Embryogenese

Viele Pflanzen oder Pflanzenexplantate reagieren in Abhängigkeit von Zeitpunkt und Konzentration unterschiedlich auf die Wirkung von Phytohormonen. Aus diesem Grund ist es das Bestreben, in der Zell- und Gewebekultur einen möglichst hohen Grad der Initiierung zur Embryogenese zu erreichen, wobei nach den bisherigen Erkenntnissen eine der jeweiligen Pflanzenart angepasste Phytohormonkonzentration erforderlich ist (Tab. 62 und Tab. 63).

Tab. 62: Einfluss von IES 5,0 ppm und NES 5,0 ppm auf die Embryogenese von Sprosskallussen

	Spross- bildende Kallusse	Erfolgte Spross- Diff.	davon Embryo genese	Embryo genese (%)	Bewurzelung mit Cocos n. (nach 10d)	n
IES 5,0 ppm	9	19	11 (n.42d)	57,9	8	12
NES 5,0 ppm	14	33	20 (n.58d)	60,6	13	15

Anmerkung: C.n. = Nährmedium *Cocos nucifera* L. 10 %, Diff. = Differenzierung,

In diesem Versuch wurden 12 bzw. 15 Kallusse einer Phytohormonbehandlung unterzogen. Sprosse, bei denen nach 42 bzw. 58 Tagen keine Wurzelbildung stattgefunden hatte, wurden auf *Cocos-nucifera*-Nährmedium überführt. Es erfolgte auf 9 bzw. 14 Kallussen eine Differenzierung. Dabei ergab sich eine relative Häufigkeit von 2,1 bzw. 2,4 Differenzierungen je Kallus. Der Anteil der Embryogenese bei

beiden Behandlungsarten lag bei ca. 60 %. Die übrigen 40 % (8 bzw. 13 Sprosse) bildeten auf *Cocos-nucifera*-Medium nach weiteren 10 Tagen zu fast 100 % ebenfalls Wurzeln aus.

Der gleiche Versuch wurde mit veränderten Hormonkonzentrationen durchgeführt.

Tab. 63: Einfluss von IES 2,5 ppm und NES 2,5 ppm auf die Embryogenese von Sprosexplantaten

	Spross- bildende Kallusse	Erfolgte Spross- diff.	Davon Embryo- genese	Embryo- genese %	Bewurz. m. Cocos n. (n. 10 d)	n
IES 2,5 ppm	7	16	8 (n.52 d)	50	8	12
NES 2,5 ppm	10	20	8 (n.56 d)	40	12	10

Anmerkung: C.n. = Nährmedium *Cocos nucifera* L. 10 %; Diff. = Differenzierung; EG = Embryogenese

Auf 7 bzw. 10 Kallussen erfolgte eine Differenzierung. Dabei ergab sich eine relative Häufigkeit von 2,3 bzw. 2 Differenzierungen je Kallus. Der Anteil der Embryogenese bei beiden Behandlungsarten lag bei ca. 50 % bzw. 40 %. Alle übrigen Sprosse bildeten auf *Cocos-nucifera*-Medium nach weiteren 10 Tagen ebenfalls Wurzeln aus.

Bemerkenswert ist zudem, dass die NES 0,5 ppm-Variante bei allen im Versuch stehenden 10 Kallussen Differenzierungen zeigte.

4.4 Pflanzenbauliche Untersuchungen

4.4.1 Wirkung unterschiedlicher Standraumzumessung

Der Einfluss von Bestandesdichte und Reihenweite auf den Kornertrag und die Pflanzenlänge wird in Tab. 64 dargestellt.

Tab. 64: Einfluss von Bestandesdichte und Reihenweite auf Kornertrag und Pflanzenlänge, RH 1999 (jeweils 4 Teilstücke à 10m²)

Prüfglied	Pfl./m ²	Reihenweite (cm)	Kornertrag (dt/ha)	Pflanzenlänge (cm)
1 1	7	15,6	1,2050	63,5
1 2	13		1,5174	63,8
1 3	20		1,4029	66,3
1 4	33		1,1457	72,8
MW			1,3177	66,6
2 1	7	31,3	1,4328	75,8
2 2	13		1,3979	67,8
2 3	20		1,7063	73,5
2 4	33		1,4609	79,3
MW			1,4995	74,1
3 1	7	41,6	1,4476	71,3
3 2	13		1,4080	71,3
3 3	20		1,3751	70,3
3 4	33		1,4267	76,8
MW			1,4143	72,4
Reihenweiten gesamt		15,6	1,3177	66,6
		31,3	1,4995	74,1
		41,6	1,4143	72,4
Bestandesdichten gesamt		7	1,3618	70,2
		13	1,4411	67,6
		20	1,4947	70,0
		33	1,3445	76,3
p-Wert	BD		0,731	0,230
	RW		0,390	0,117
GD	BD		0,31	8,63 (11,47*)
	RW		0,27	7,5 (9,0*)

* nach Tukey (man beachte die MW-Differenzen bei der Pflanzenlänge)

Die Untersuchung des Kornertrags zeigt bei einer Bestandesdichte von 20 Pfl./m² und einer Reihenweite von 31,3 cm den höchsten Ertrag. Die Ertragsunterschiede waren weder in Bezug auf die Bestandesdichten noch auf die Reihenweiten signifikant. Die größte Pflanzenlänge wurde bei einer Bestandesdichte von 33 Pfl./m²

und einer Reihenweite von 31,3 cm erreicht. Die nicht signifikanten Unterschiede der Effekte der Faktorstufen Bestandesdichte und Reihenweite auf Kornertrag und Pflanzenlänge werden durch die höheren Werte der Grenzdifferenz bestätigt.

Die Gruppe RW 31,3 weist sowohl den höchsten Ertrag als auch die größte Pflanzenlänge auf. Diese Reihenweite hätte jedoch den Nachteil einer eingeschränkten Pflege- und Bearbeitungsmöglichkeit.

4.4.2 Prüfung von Erntemethoden

Die Erntemethode sollte der jeweiligen Pflanzenart angepasst sein und eine weitgehend verlustfreie Bergung des reifen Korns ermöglichen. Die Schwadablage als einzige unter den üblichen Bedingungen allgemein praktizierte Erntemethode der Körnerernte von Borretsch hat während des Ernteverfahrens hohe Verluste durch Kornausfall zur Folge. Aus diesem Grund wurden verschiedene Erntemethoden mit dem Ziel geprüft, den Ernteertrag zu verbessern (Tab. 65).

Tab. 65: Vergleich verschiedener Erntemethoden I beim Borretsch zur Körnernutzung, Feldversuch RH 1999

Erntemethode		Kornertrag
Schwadablage	früh	79,2 kg/ha
Mähdrusch ohne Sikkation		161,0 kg/ha
Mähdrusch mit Sikkation		105,5 kg/ha
Schwadablage	spät	152,7 kg/ha
Mähdrusch ohne Sikkation		142,8 kg/ha
Mähdrusch mit Sikkation		114,7 kg/ha
Erntezeitpunkte (Erntemethoden zusammengefasst)	früh	115,2 kg/ha
	spät	136,7 kg/ha
Erntemethoden (Erntezeitpunkte zusammengefasst)	Schwad	116,0 kg/ha
	ohne Sikk.	151,9 kg/ha
	mit Sikk.	110,1 kg/ha
p-Werte	Methode	0,010
	Zeitpunkt	0,058
GD 5%	Methode	27,34 kg/ha
	Zeitpunkt	22,32 kg/ha

Die Ergebnisse bringen zum Ausdruck, dass der Mähdrusch ohne Sikkation gegenüber den Vergleichsvarianten überlegen ist.

Die späte Ernte mit Sikkation war der frühen Ernte überlegen. Vergleicht man Mähdrusch mit Sikkation mit dem Mähdrusch ohne Sikkation bei früher Ernte, so ist die Variante ohne Sikkation überlegen. Abgesehen von den höheren Erträgen der Schwadablage bei später Ernte gegenüber dem Mähdrusch, muss berücksichtigt werden, dass beim Borretsch der Prozess der Sikkation so langwierig ist, dass der größte Teil der Körner ausfällt, bevor die Pflanze ein mähdruschfähiges Stadium erreicht.

Auch die Schwadablage ermöglicht nur die Ernte eines Teils des genetisch fixierten Potentials. Aus diesem Grund wurde im Rahmen dieser Arbeit ein Erntegerät entwickelt, das die Möglichkeit bietet, über den gesamten Erntezeitraum die reifenden Körner zu ernten (Tab. 66).

Tab. 66: Vergleich verschiedener Erntemethoden II – Geräteernte – Schwadablage 2002 (jeweils n=4)

	Kontrolle	Schwadablage	Erntegerät
Kornertrag	0,9568 dt/ha	1,0078 dt/ha	1,7380 dt/ha
p-Wert	0,000		
<i>Games-Howell</i>		0,946*	0,013*
GD 5%		0,5003 dt/ha	0,5057 dt/ha

* Vergleich mit der Kontrolle

Durch den Einsatz des Erntegerätes konnte der Ertrag signifikant auf 1,74 dt/ha gegenüber der Kontrolle (0,96 dt/ha) und der Schwadablage (1,01 dt/ha) gesteigert werden.

Die Veränderung der TM von Borretschkraut bei Schwadablage

Der Trocknungsverlauf von Borretschkraut bei natürlicher Trocknung und Schwadablage wurde im Hinblick auf die folgende Weiterverarbeitung (Dreschen) untersucht. Bei der Mahd wurden bei den untersuchten Gruppen Kontrolle und Schwad 13,1 % TM festgestellt. Bei einer überwiegenden Schönwetterlage erreichten nach 11 Tagen die TM-Gehalte von Kontrolle und Schwadablage 61,7 % und 66 %. Der erforderliche TM-Gehalt für einen problemlosen Dreschvorgang wurde in diesem Zeitraum nicht erreicht.

4.4.3 Einfluss der Erntemethode "Folienernte" auf den Kornertrag von Borretsch

Der Durchschnittsertrag (vier Wiederholungen) lag bei 3,18 dt/ha bei einem Höchstertrag von 5,93 dt/ha und einem Minimum von 1,82 dt/ha. Dabei ist zu berücksichtigen, dass möglicherweise ein Teil der Ernte durch Mäusefraß verloren ging (Abb. 20).



Abb. 20 Folienernernte - Feststellung des Gesamternteertrages

4.4.4 Wirkung der N-Düngung auf den Kraut- und Kornertrag

Tab. 67: Einfluss der N-Düngung auf den Kraut- und Kornertrag von Borretsch, Ringanlage RH 1999

kg N / ha	Korn- ertrag	σ	Kraut- ertrag dt/ha	σ
0	1,74 dt/ha	0,59	19,77 dt/ha	0,63
30	1,61 dt/ha	0,36	24,48 dt/ha	2,70
60	1,63 dt/ha	0,39	25,42 dt/ha	1,02
90	0,99 dt/ha	0,17	27,80 dt/ha	3,51
120	1,29 dt/ha	0,29	30,14 dt/ha	3,38
p-Wert	0,013		0,000	
GD 5%	0,48 dt/ha		3,5 dt/ha	

Die Erträge weisen signifikante Unterschiede auf ($p=0,013$ bzw. $p=0,000$). Der höchste Kornertrag lag mit 1,74 dt/ha in der Kontrollgruppe vor. Steigende N-Gaben bis 90 kg N/ha führten zu einer Verringerung des Kornertrags. Bei einer Gabe von 120 kg N/ha wurde wieder ein höherer Ertrag von 1,29 dt/ha gemessen. Der Kraut-ertrag nahm dagegen kontinuierlich mit steigenden N-Gaben zu.

4.4.5 Einfluss der Sikkation

Die Borretschernte erfolgt in einem Stadium, in dem die Pflanze noch in vollem Wachstum steht. Der hohe Wassergehalt von Stängel und Blättern lässt eine Ernte mit Mähdrusch nicht zu. Die Minderung des Wassergehaltes auf ein Niveau, welches diesen ermöglicht, wäre unbedingte Voraussetzung. Dazu wurden KCl und Reglone auf ihre Sikkationswirkung untersucht (Tab. 68).

Tab. 68: Einfluß der Sikkation auf Ertrag, Kornzahl, TKG, TM-Gehalt und Chlorophyll-Index von Borretsch, Feldversuch GI 2001 (n=4)

	Korn- ertrag dt/ha	Korn- zahl je m ²	TKG (g)	TM Kraut %	Chloro- phyll 27. Sept.	Chloro- phyll 4. Okt.
Ktr	2,553	206	12,4	12,6	24,12	16,64
KCI5	1,475	119	12,4	13,2	28,35	20,00
KCI10	2,242	181	12,4	14,7	22,23	10,35
Reglone	2,232	182	12,3	18,0	25,41	4,65
p-Wert	0,089			0,000	0,564	0,038
GD	0,854 (1,163*)	869,5 (940,1*)		1,781 (2,426*)	9,40 (12,86*)	10,66 (14,52*)

**nach Tukey (man beachte die MW-Differenzen der jeweiligen Faktorstufen)*

Untersucht wurde der Wirkungsgrad des ätzend und hygroskopisch wirkenden KCI 5 %, KCI 10 % sowie des in die Photosynthese eingreifenden Breitbandherbizids Reglone. Bei den KCI-Varianten ist gegenüber der Kontrolle eine Steigerung der TM-Gehalte festzustellen, die wiederum bei der KCI-Konzentration von 10 % stärker ausgeprägt war. Der stärkste Sikkationseffekt wurde bei Reglone festgestellt. Ein mähdruschfähiges Niveau wurde aber nicht erreicht.

Vergleicht man die Entwicklung der Chlorophyllwerte nach sieben Tagen, so wurden diese bei Reglone im Vergleich zum Ausgangswert 25,41 auf 4,65 reduziert – das entspricht 18,3 %. Der Zeitraum von 7 Tagen reicht jedoch nicht aus, um einen entsprechenden Trocknungsprozess in der Pflanze einzuleiten. Das TKG zeigte nur bei Reglone geringe Abweichungen. Beurteilt man den Sikkationseffekt nach den CCI-Messwerten, dann ist Reglone den anderen Methoden überlegen, weil es tiefgreifende Wachstumsstörungen durch die Unterbindung der Photosynthese verursacht.

5 Diskussion

5.1 Untersuchungen zur Keimfähigkeit und Dekontamination

5.1.1 Einfluss von Licht und Temperatur auf die Keimung von Borretsch

Nach den von GHADERI et al. (2008) durchgeführten Versuchen zeigte der Borretsch eine verhältnismäßig hohe Keimbereitschaft bei Dunkelheit von 70 % bis 84 % in dem Temperaturbereich von 16,8°C - 29,8°C. Das Auftreten der ersten Keimung erfolgte schon nach ca. 110 h bei einer Temperatur von 25°C, gefolgt von den Keimtemperaturen von 20°C und 30°C nach ca. 150 h. Die Keimrate lag in den beiden Temperaturbereichen bei 70 % und 80 %. Überraschend war die bei 20°C schon nach ca. 150 h erreichte Keimrate von etwa 70 %, während die im Rahmen dieser Arbeit erreichte höchste Keimrate von 78,8% erst nach 16 Tagen (Tab. 2) unter den gleichen Vorgaben (Temperatur, Belichtung) erreicht wurde. Während GHADERI et al. (2008) Küchenpapier (Küchenrolle) als Keimunterlage verwendeten, wurde in dieser Arbeit Filterpapier eingesetzt. Da Küchenpapier eine wesentlich stärkere Saugkraft besitzt als Filterpapier, haben sich die dadurch erreichten verbesserten Umweltbedingungen positiv auf die Keimbereitschaft ausgewirkt. Die geringe Saugkraft des Filterpapiers führte zu einem relativ hohen Anteil freien Wassers, auf das der Borretsch mit einer Keimrate von 20,0 % (siehe 4.1.2) ungünstig reagierte. Das Keimlimit dürfte mit 5°C angesetzt werden können, da bei beiden Versuchen unterhalb 5°C keine Keimung festgestellt wurde. Die verhältnismäßig hohe Keimrate des Borretsch bei Dunkelheit wurde damit auch in diesem Versuch bestätigt. Jedoch muss die bisher gültige Meinung revidiert werden, der Borretsch sei ausschließlich ein Dunkelkeimer (HEEGER, 1955).

Zur Erzielung einer möglichst hohen Keimrate sind für die jeweilige Pflanzenart optimale Temperatur-, Licht- und Wasserverhältnisse essenzielle Voraussetzung. Darüber hinaus untersuchten TORABI et al. (2012) den Einfluss von Silizium auf die Keimung von Borretsch. Der Versuch erfolgte im Keimschrank bei 27°C in Petrischalen auf Filterpapier. Der Versuch hatte sieben Faktorstufen. Zu Belichtungsintensität und -intervall wurden keine Angaben gemacht. Das Keimmedium bestand aus destilliertem Wasser mit null, 0,2, 0,5, 0,7, 1,0, 1,5 und 2 mmol Silizium (Na_2SiO_3). Die höchste Keimrate wurde mit 62,5 % bei 1,5 mmol Na_2SiO_3 erzielt, die der Kontrolle betrug 31,25 %. Das Hypokotyl erreichte nach 14 Tagen bei der Konzentration 1,5 mmol eine Länge von 11,75 cm im Vergleich zur Kontrolle mit 6,31 cm. Die mittlere Wurzellänge von 11,13 cm wurde ebenfalls bei der Konzentration von 1,5 mmol Na_2SiO_3 erreicht gegenüber der Kontrolle mit 4,63 cm. Vergleicht man diese Keimergebnisse mit den im gleichen Temperaturbereich erzielten

Ergebnissen des Versuchs von GHADERI et al. (2008) mit ca. 95%, so sind die bei dem Versuch von TORABI et al. (2012) erreichten niedrigeren Werte von 62,5% wohl zum Teil auf das hier verwendete Filterpapier als Unterlage zurückzuführen, zumal bei der Kontrolle eine Keimrate von 31,25 % erzielt wurde. Damit nähert sich dieses Ergebnis der in dieser Arbeit erreichten Keimrate von 20 % auf Filterpapier (siehe 4.1.2).

Neben den natürlichen Faktoren sind es vor allem die Phytohormone Gibberellin- und Abscisinsäure, welche die Keimung beeinflussen. Nach KRISHNAMOORTHY (1975) beruht die Wirkung von Gibberellin- und Abscisinsäure auf einer Induktion. Für eine ausreichende Effizienz müssen die Hormone stets ausreichend vorhanden sein. Die Wirkung der Gibberellinsäure ist danach abhängig von der Interaktion Embryo und Aleuronschicht und der damit verbundenen Freisetzung von Hydrolasen. Die Samenschale hat damit eine zentrale Stellung im Keimprozess.

Licht ist mit den entsprechenden Phytochromen ein wichtiger Faktor zur Initiierung des Keimprozesses. Die in Frage kommenden Phytochrome haben ein Absorptionsmaximum von 660 nm P_r (r = hellrot) und 730 nm P_{fr} (fr = dunkelrot). Goodwin bestrahlte Achänen von *Lactuca sativa* L. mit hellrot und überführte damit die inaktive Zustandsform hellrot (660 nm P_r) in die aktive Zustandsform 730 nm P_{fr} (GOODWIN, 1965, zitiert in HEß, 1999). Mit Bestrahlung der Zustandsform 730 nm P_{fr} mit dunkelrot wurde die inaktive Ausgangsform 660 nm wieder erreicht. Es wurde gezeigt, dass die zuletzt angewandte Bestrahlungsform entscheidend für die Keimungsaktivität war. Die Bestrahlung mit hellrot führte zur Keimung, die mit dunkelrot blockierte die Keimung. Dieses Ergebnis wurde in anderen Studien bestätigt (BEWLEY und BLACK, 1997). Achänen, die nach einem Wechsel hellrot / dunkelrot zuletzt mit hellrot bestrahlt wurden, erreichten eine Keimung von 95 % bis 98 %, solche, die zuletzt mit dunkelrot bestrahlt wurden, eine Keimung von null bis 3 %.

Analog zu diesen Ergebnissen reagiert der Borretsch im niederen Temperaturbereich und bei kürzerer Lichteinwirkung mit einer niedrigeren Keimrate, weist jedoch bei Dunkelheit wieder eine höhere Keimrate auf. Das zeigt, dass unter Lichteinwirkung die Keimbereitschaft des Borretsch von der aktiven Wellenlänge des Lichts von 730 nm beeinflusst wird, bei Dunkelheit aber der genetisch bedingte Faktor Dunkelkeimung wirksam wird.

Das Keimverhalten des Borretsch entspricht im Hinblick auf die Aktivität der Gibberellinsäure und die Interaktion Embryo-Aleuronschicht unter Lichteinwirkung den von Heß (1999) beschriebenen für alle Pflanzen typischen Keimprozessen. Es wäre denkbar, dass der Borretsch aufgrund seiner hohen Keimrate bei Dunkelheit in der Lage ist, die Gibberellinsäure in diesem Stadium zu aktivieren und über die

Freisetzung von Hydrolasen dem Keimling die entsprechenden Energien für den Keimprozess zur Verfügung zu stellen.

5.1.2 Einfluss der Nährböden

Die sehr niedrige Keimrate auf Filterpapier und MS Medium könnte in erster Linie mit einem Überangebot von Wasser zusammenhängen, da unter diesen Voraussetzungen der Borretsch negativ reagiert. Das für die Keimung erforderliche optimale Verhältnis zwischen Wasser, Sauerstoff und Wärme kann demnach auf diesen Medien nicht hergestellt werden.

In einem weiteren Versuch, der unter den gleichen Temperatur- und Lichtbedingungen durchgeführt wurde (KNIPP, 2000), konnten die Ergebnisse weitgehend bestätigt werden. Die Keimraten betragen auf Filterpapier 24,3 %, auf sterilem Boden 89,6 % und auf unsterilem Boden 90,0 %. Diese Ergebnisse entsprechen weitgehend den im Rahmen dieser Arbeit beobachteten Werten von 20 % Keimung auf Filterpapier bzw. 71,6 % auf Sand. Die Ergebnisse auf Boden und Sand sind zwar nicht direkt vergleichbar, zeigten aber ein verhältnismäßig hohes Niveau, während die Keimfähigkeit auf Filterpapier deutlich darunter lag.

Die Verwendung von Küchenpapier (GHADERI et al., 2008) brachte eine deutlich höhere Keimrate (vgl. 5.1.1).

5.1.3 Einfluss der Desinfektionsmittel NaOCl und Ethanol

Die Effizienz der Sterilisierung des Borretschsamens hängt davon ab, ob neben einer erfolgreichen Dekontamination auch eine Erhaltung der hohen Keimfähigkeit erreicht wird. Der hohe Dekontaminationsgrad der Kombinationen NaOCl + Ethanol sowie NaOCl 6 % (Tab. 4) führte jedoch zu einer starken Beeinträchtigung der Keimfähigkeit. Dies ist mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die zelltoxischen Eigenschaften der Desinfektionsmittel zurückzuführen. MOHR und SCHOPFER (zitiert in BORGSMANN, 1978) sehen die Ursache der abnehmenden Keimfähigkeit bei steigender Konzentration von NaOCl in einer Störung der enzymatischen Prozesse, die von der Gibberellinsäure in der Aleuronschicht gesteuert werden. Durch einen Zusatz von Ethanol wurde diese Wirkung deutlich verstärkt.

Die Sprosse der einzelnen Prüfglieder zeigten bei der Weiterführung in der Gewebekultur einen hohen Kontaminationsgrad. Das lässt darauf schließen, dass die Kontamination von Borretsch vorwiegend samenbürtig ist und die Explantate einer besonderen desinfizierenden Behandlung unterzogen werden müssen.

Berichte über den negativen Einfluss von NaOCl auf die Keimfähigkeit werden auch von KNIPP (2000) bestätigt, wo von einem Rückgang auf 12,5 % bis 39,6 % und von einem stärkeren Absinken bei einer NaOCl 4 % - Konzentration berichtet wird.

Gegenüber einer berichteten Keimfähigkeit von 26,7 % bei NaOCl sine Ethanol und 0 % von NaOCl cum Ethanol auf MS-Medium stellte KNIPP (2000) eine Keimfähigkeit von 7,7 % nach einer NaOCl-Behandlung fest. Die Reduzierung der Keimfähigkeit bei Salatsamen wurde nach BEWLEY et al. (1994) auf die Behandlung mit Chlor erzeugenden Verbindungen zurückgeführt, die das Durchbrechen des Endosperms verhindern.

5.1.4 Einfluss des Sterilisationsmediums H₂O₂

H₂O₂ wurde im Jahr 1818 von dem französischen Chemiker Louis-Jaques Thenard entdeckt. Seitdem wird es in vielen Bereichen der Wirtschaft, Wissenschaft und Medizin als Desinfektionsmittel eingesetzt. Seine Wirkung ist bakterizid, sporozid, fungizid und viruzid (Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz 46(1), 2003, S. 72–95). In der Medizin ist die 3 %ige H₂O₂-Lösung die gebräuchlichste Form der Desinfektion. Höhere Konzentrationen haben eine stark ätzende Wirkung. CHEESEMAN (2006) untersuchte die zelltoxischen Eigenschaften von H₂O₂ an den folgenden Pflanzen: *Aesculus glabra* Willd., *Glechoma hederacea* L., *Plantago major* L., und *Viola soraria* Willd. Danach besteht in Pflanzenblättern eine natürliche H₂O₂-Konzentration, die von Pflanzenart, Temperatur, Tageszeit und Jahreszeit abhängig ist. Bei den untersuchten Pflanzen wurde die höchste H₂O₂-Konzentration in den Sommermonaten und am Mittag, also unter starker Sonneneinstrahlung festgestellt.

Nach AVERVANOV et al. (2007) hat die Applikation von H₂O₂ bei der Behandlung pathogener Bakterien und Pilze (*Cladosporium cucumerinum* und *Pyricularia oryzae*) bei bestimmten Konzentrationen eine befriedigende Desinfektionswirkung erzielt. Dies hat seine Ursache in der direkten Wirkung von H₂O₂ auf die pathogenen Erreger. Untersucht wurde die Wirkung von H₂O₂ auf die Inhibition der Sporenkeimung der o. a. Erreger. Die weniger zufrieden stellende Desinfektionswirkung von H₂O₂ beim Borretsch ist wohl auf die sehr raue Samenschale sowie eine starke interne Kontamination zurückzuführen.

Obwohl es bisher extern zur Eliminierung pathogener Bakterien und Pilze eingesetzt wurde, hat H₂O₂ darüber hinaus intern eine wichtige Stellung bei einer Reihe biologischer Prozesse wie z.B. als Elicitor oder in der Bildung von Phytoalexinen.

Bis vor kurzem wurde H₂O₂ als toxischer Zellularmetabolit angesehen (PENGTAO WANG, 2008). Es wird auf verschiedene Weise während des normalen Metabolismus gebildet. So entsteht z.B. O₂ in den Chloroplasten, wenn bei hoher Lichtintensität die CO₂-Assimilation erschöpft ist. Chlorophyll-Moleküle in dem Photosystem II interagieren mit Sauerstoff zur Bildung von 1 O₂ (FRYER et al., 2002; HIDEG et al., 2002, zitiert in PENGTAO WANG and CHUN-PENG SONG, 2008). Zur gleichen Zeit regt das Photosystem II die direkte Reduktion von O₂ im Photosystem I

an, mit der daraus folgenden Bildung von Superoxid-Anionen (H_2O_2) und dem Hydroxylradical (OH) (Foyer & Noctor, 2003; Pfannschmidt, 2003, zitiert in PENGTAO WANG and CHUN-PENG SONG, 2008).

Es wurde geprüft, ob die dargestellten desinfizierenden externen und internen Eigenschaften auch beim Borretsch wirksam sind und demzufolge H_2O_2 in der Gewebekultur eingesetzt werden kann.

Die Abnahme der Keimfähigkeit auf 50 % in der 20 %igen H_2O_2 -Konzentration zeigt, dass sich höhere Konzentrationen negativ auf die Keimfähigkeit und das meristematische Gewebe auswirken. Trotz steigender H_2O_2 -Konzentrationen lag der Kontaminationsgrad noch bei 53,3 % (Tab. 5). Die für eine Hemmung der Sporenkeimung erforderliche Konzentration ist offensichtlich nicht ausreichend. In der Gewebekultur würde die Verwendung von H_2O_2 als Desinfektionsmittel nach diesen Ergebnissen zu unbefriedigenden Resultaten führen.

5.2 Biosynthese der GLS

Arteigene Biosynthese der GLS

Dreifach ungesättigte Fettsäuren liegen im Pflanzensamen überwiegend als α -Linolensäure C18:3 cis 9,12,15 Octadecatriensäure vor. In dem Samenöl von Borretsch (*Borago officinalis* L.), Nachtkerze (*Oenothera biennis* L.) und schwarzer Johannisbeere (*Ribes nigrum* L.) ist die Gamma-Linolensäure C18:3 cis 6,9,12 Octadecatriensäure mit ca. 23,5 % (22 - 25 %), 9 % bzw. 18 % der Gesamtfettsäuren vertreten.

Die de-novo-Synthese der Fettsäuren erfolgt bis zur Ölsäure im Stroma des Chloroplasten. Die äußere Membran des Endothelialen Reticulums (ER) ist der Ort, an dem die danach folgenden Modifikationen in der Form der Elongation und Desaturation ablaufen. Die erforderliche Verlängerung erfolgt über Elongasen.

Desaturierungen finden an Ölsäuren statt, die sich im Verbund eines Phosphatidylcholin befinden. Bei diesem Vorgang handelt es sich um das Einbringen weiterer Doppelbindungen in die Ölsäure und damit die Bildung von Linol- und Linolensäure, die von Desaturasen katalysiert wird (HEß, 1999).

In einem von GALLE (1993) durchgeführten In-vitro-Versuch wurde die Bildung der GLS bei Borretsch untersucht. Hier wurde ebenfalls wie bei HEß (1999) die In vitro-Aktivität der Delta-6-Desaturase hauptsächlich in Phosphatidylcholin in Verbindung mit angereicherten ER-Membranen von Embryos geprüft. Im ER der Samenschale und bei Setzlingen wurde keine Aktivität beobachtet. Die höchste Aktivität der Delta-6-Desaturase erfolgte nach GALLE (1993) 14-16 Tage nach der Bestäubung.

Nach SAYANOVA (1999) hat das Hämoprotein Cytochrom (Cyt) eine zentrale Stellung in der Biosynthese der Delta-6-Desaturase. Danach waren in einem Versuch bei einer transgenen Pflanze von *Arabidopsis* die Hämbindungen getrennt und die Pflanze war nicht in der Lage, Delta-6-Desaturase zu synthetisieren.

Transgene Biosynthese der GLS

Die Erforschung der GLS, ihr Vorkommen in verschiedenen Pflanzenarten sowie gentechnische Manipulationen mit dem Ziel der GLS-Erzeugung haben sich zu einem breiten Betätigungsfeld entwickelt. Man fand GLS in Algen und Cyanobakterien, Pilzen und Protozoen. GALLE et al. (1993) und JEENOR et al. (2007) untersuchten die Effizienz einer Inoculation zur Erhöhung der GLS-Gehalte bei *Mucor ruxii*. Die Kulturen erfolgten auf YPG-Agar und MES-Agar (2 % Glukose, 0-1 % Bacto-Pepton, 2 % Malzextrakt und 2 % Agar) sowie poliertem, feuchtem poliertem und unpoliertem Reis. Das geerntete Sporentrockengewicht betrug 0,5, 1,1, 30,7, 12,3 bzw. 23,9 g je Kilogramm Substrat, in welchem die Gesamtfettsäuren im Verhältnis zum Gesamt-Trockengewicht mit 7,7 %, 4,4 %, 2,4 %, 2,9 % und 3,4 % vertreten waren. Die GLS-Gehalte erreichten 26,2 %, 36,7 %, 33,6 %, 30,9 % und 25,9 % der Gesamtfettsäure.

Brassica juncea L. ist eine wichtige Öl produzierende Pflanze, die nicht in der Lage ist, GLS direkt oder in einer für deren Biosynthese erforderlichen Vorstufe herzustellen. Durch die Transformation des Gens d6D des Cyanobakteriums in *Brassica juncea* L. wurde die Biosynthese von Linolsäure C18:2 cis 9,12 Octadecadiensäure, deren Elongation und Desaturation und damit die Biosynthese von GLS C18:3 cis 6,9,12 Octadecatriensäure und C18:4 cis 6,9,12,15 Octadecatetraensäure möglich (DAS, B. et al., 2006).

Ebenso gelang es HONG (2002) in *Pythium irregulare* die neue cDNS a459 zu identifizieren. Durch Einschleusen in *Brassica juncea* L. und Codierung einer Delta-6-Desaturase erfolgte die Bildung einer C18:3 -6,9,12 und C18:4 -6,9,12,15 Fettsäure. Der Anteil der GLS an der Gesamtfettsäure betrug 40 % (HONG, 2002).

5.3 Beeinflussende Faktoren des GLS-Gehaltes

5.3.1 Temperatur

Der Ölgehalt und -ertrag von Samen der Nachtkerze (*Oenothera lamarckiana* L.) sanken unter kontrollierten Wachstumsbedingungen signifikant bei hohen Temperaturen (32°C) im Vergleich zu niedrigeren Temperaturen (25°C und weniger). Außerdem wurde die Fettsäurezusammensetzung des Samenöls durch die Temperatur beeinflusst. Höhere Ölsäuregehalte und niedrigere Linol- und GLS-gehalte waren charakteristisch bei höheren Temperaturen. Berti et al. (2002) (zit. in Berti et al., 2010) berichten über steigende GLS-Gehalte bei Borretsch von 18,4 %

im Norden Chiles auf 26,4 % im kühleren Süden. Ursache dafür ist v.a. die sich bei hohen Temperaturen ($>25^{\circ}\text{C}$) schließenden Spaltöffnungen und die dadurch ausgelöste verminderte Transpiration, die zu einer Einschränkung der normalen biologischen Prozesse führt. Außerdem dürften sich die bei höheren Temperaturen auftretenden höheren Gehalte von H_2O_2 und deren zelltoxische Eigenschaften negativ auswirken.

Diese Beobachtungen wurden auch in Feldversuchen bestätigt: Bei Herbstsaat (klimatisch begünstigte Regionen) waren die Ölsäuregehalte niedriger und die Linol- und GLS-Gehalte höher als bei Frühljahrsaussaat (YANIV, 1989).

5.3.2 N-Düngung

Eine Erhöhung der N-Düngung führte zu einer Verringerung des harvest index von Borretsch (EL HAFID, 2002). Diese Aussage deckt sich mit den Ergebnissen dieser Arbeit, in der mit steigender N-Gabe eine Reduktion des harvest index zu verzeichnen war. Wie schon beschrieben, liegt die Ursache mit hoher Wahrscheinlichkeit in dem stärkeren vegetativen Sink im Reifestadium.

5.4 Züchtungsversuche

5.4.1 Borretsch Gefäßversuch mit 1 %iger EMS-Lösung

Die EMS-Lösung 1 % hatte einen starken Einfluss auf wichtige phänotypische und genetische Eigenschaften. Das Längenwachstum nahm mit zunehmender Behandlungsdauer ab. Die Blattzahl erhöhte sich von 40,2 auf 48,5 Blätter/Pflanze. Die Pflanze versuchte offensichtlich, das durch die EMS-Behandlung verursachte geringere Längenwachstum über eine höhere Blattzahl verbunden mit einer stärkeren Photosyntheserate auszugleichen.

Die Beobachtungen zum Schossbeginn lassen keinen Einfluss der EMS-Behandlung auf den Zeitpunkt des Schossbeginns erkennen. Nach 79 Tagen waren alle Pflanzen geschosst.

Nach längerer EMS-Behandlung war ein zunehmend chlorotisches Erscheinungsbild der Pflanzen erkennbar. Auch die Nekrose zeigt mit längerer Behandlungsdauer eine steigende Tendenz von 4,2 % - 9,1 %. Damit wird eine negative Auswirkung der EMS-Behandlung auf die Vitalität der Pflanzen erkennbar.

Mutationsauslösende Wirkungen waren in zunehmend veränderter Blattform (Tab. 7) und Verringerung bis zum Verlust der Fertilität (Tab. 6) schon nach 18 Behandlungsstunden erkennbar. Danach kann die Fertilitätsgrenze für eine Behandlung mit 1 %iger EMS-Lösung bei ca. 16 h Behandlungsdauer angesetzt werden.

5.4.2 EMS-Feldversuch 2000

In dem zur Erreichung eines epigynen Blütenstandes durchgeführten Feldversuch konnte von ca. 20000 Pflanzen (davon 1345 Pflanzen bonitiert) nur eine einzige mutagen veränderte festgestellt werden. Dieses Verhältnis zeigt den hohen Aufwand, der bei diesem Verfahren für die Initiierung von Mutationen erforderlich ist.

Der Bestand machte insgesamt einen positiven Eindruck. Die Bonitierung zeigte jedoch, dass sich die EMS-Behandlung sehr stark auf eine veränderte Blattform einschließlich Korolla und Sepalen auswirkte. Sie führte weder zu einer grundlegenden Änderung des Wuchstyps, in dem mit 95,3 % der Blatttyp vertreten war, noch zu dem als Zuchtziel gewünschten epigynen Blütenstand. Der Blatttyp manifestiert sich auch in den bei diesem Typ starken bis mittleren Verzweigungen mit 97,8 %, während der Stängeltyp als erwünschtes Zuchtziel nur mit 4,7 % vertreten war und die für den Stängeltyp schwache Verzweigung nur bei 2,2 % der Pflanzen festgestellt wurde. Unter den bonitierten Pflanzen war keine Mutation, die mit Aussicht auf Erfolg züchterisch hätte weiter bearbeitet werden können. Eine höhere EMS-Konzentration könnte ggf. einen größeren Mutationseffekt erzielen, würde aber nach den Ergebnissen des Vorversuchs zur Infertilität führen, die bei 18 Stunden Behandlungszeit festgestellt wurde.

Die generative Vermehrung der mutierten Pflanze im Feldversuch brachte nach Isolation und Bestäubung keinen Kornansatz. Die im Phytotron vegetativ vermehrten sechs Klone brachten 13 Samen. Dies zeigt, dass diese Methode trotz der äußerst geringen Mutationsrate in der Praxis durchführbar ist und genutzt werden kann, um das angestrebte Zuchtziel zu erreichen.

Während der Stängeltyp im Feldversuch (M1) einen Anteil von 4,7 % hatte, verschwand er im Nachbau zum Feldversuch (M2) völlig (Tab. 9). Auch die Blütenfarbe veränderte sich in der M2, wo nur noch blaue und mischfarbene Blüten mit 76,8 % und 23,2 % vertreten waren, wobei die Blütenfarbe blau stärker vertreten war als in der M1. Die phänotypischen Eigenschaften Blütenform, Kelchblatt, Fruchtknoten und Blattform zeigten eine Tendenz zu normalen Formen und bestätigten die von ODENBACH (1997) formulierte Feststellung, dass die Pflanze bestrebt ist, die durch mutationsauslösende Behandlung entstandene Störung wieder zu reparieren.

Mit der Ernte M1 wurde eine größere Zahl formveränderter Samen festgestellt. Bei den aus diesen Samen herangezogenen Pflanzen konnte keine Formveränderung des Habitus der Gesamtpflanze oder bestimmter Pflanzenteile beobachtet werden (Tab. 10).

SAIKAT et al. (2007) prüften die Wirkung von EMS in einem Konzentrationsbereich von 10-300 mmol und einer Behandlungsdauer von 2 – 24 h bei *Trigonella foenum graecum*. Danach ging die Überlebensrate in der M1 mit steigender Konzentration

auf bis zu 7,8 % zurück. In der M2 und der M3 verbesserten sich die Überlebensraten bei der höchsten Konzentrationsstufe auf 49,5 % bzw. 90,9 %. Der Blühbeginn und die Reifezeit waren im Bereich 10 - 50 mmol verzögert, zwischen 100 und 200 mmol wurden keine Veränderungen gegenüber der Kontrolle festgestellt, während bei einer Konzentration von 300 mmol die Reife eine Woche früher einsetzte. Die höchste Letalität und phänotypische Veränderungen wurden bei einer Konzentration von 300 mmol EMS und einer Behandlungszeit von 24 h festgestellt. Das bedeutet, dass die Pflanzen zunächst einen Selektionsprozess durchlaufen müssen, bevor mutagene Veränderungen züchterisch genutzt werden können.

Den Blühbeginn betreffend zeigt der Vergleich mit Borretsch bei einer 1 %igen Solution und 24 h Behandlungszeit eine Verzögerung des Blühbeginns um 23 Tage (Tab. 7) und damit auch eine Verzögerung der Reife.

Bei Raps (*Brassica napus* L.) wurde dagegen bei einer EMS-induzierten Mutation festgestellt, dass die Blüte 59 d früher einsetzte als die der Elternlinie (THURLING und DEPITTAYANAN, 1992).

Bei *Arabidopsis thaliana* zeigten in der 2. Generation (im Gegensatz zu Borretsch) 20-30 % der Pflanzen ontogenetische oder physiologische Veränderungen wie ein allgemein kränkliches Aussehen, vorzeitiges oder verspätetes Blühen, Sterilität oder Zwergwuchs und Chlorose (Reiter et al., 1997).

5.4.3 Behandlung mit Gammastrahlen

5.4.3.1 Einfluss auf morphologische Merkmale und Keimfähigkeit

Wie stark sich die Wirkung der Gammastrahlung auf die morphologischen Eigenschaften der Pflanzen auswirkt, lässt sich aufgrund der Ergebnisse hier nicht abschließend beurteilen. Die Ursache für die nur geringen Unterschiede der Werte im Strahlenbereich 500 Gy bis 700 Gy wäre in diesem Zusammenhang zu klären. So wäre zu prüfen, ob ein Einfluss der Strahlendosis auf die Wirkung von Phytohormonen bei Borretsch vorliegt.

5.4.3.2 Untersuchungen zu Photosyntheseaktivität und Ertrag

Der starke Einfluss der Gamma-Strahlung auf den Chlorophyllgehalt und den Kornertrag gibt einen Hinweis auf die durch die Strahlung gestörte Biosynthese des Chlorophylls (Tab. 13). Eine mögliche Ursache könnte die Störung der Phytolbindung am Pyrrolring sein, was zu einer Verringerung des Chlorophyllgehaltes und einer Zunahme der Cytochrome führen würde. In vorliegendem Fall würde das besonders auf die signifikanten Unterschiede der Varianten 300, 500 und 700 Gy zutreffen. Die Kornerträge je Pflanze lagen in allen behandelten Gruppen niedriger als die Kontrolle und zeigten einen insgesamt signifikant ungünstigen Einfluss der Gamma-

bestrahlung. Eine Verringerung der Photosyntheserate wird beobachtet, wenn „source“ und „sink“ nicht aufeinander abgestimmt sind (ODENBACH, 1997). Es ist demnach wichtig, die photosynthetisch gewonnenen Stoffe zur Erhöhung der Erträge primär in das generative source zu leiten.

Photosynthat-Angebot und Phytohormone, insbesondere Zytokinine in Interaktion mit dem Stickstoffangebot kontrollieren die Aktivität der Photosynthesegene sowie die Entwicklung der Stickstoffverteilung in den Blättern und der ganzen Pflanze, welches die dominante Basis der Sink-Regulation der Photosynthese darstellt (MATTHEW et al., 2001).

Damit bekommen Umwelteinflüsse eine stärkere Bedeutung. In Trockenperioden kann es wegen ungenügender Umsetzungsprozesse zu einem mangelnden N-Angebot in der Pflanze und damit zu Störungen der Photosynthese kommen.

Die Absorption der UV-Strahlung kann je nach Witterungslage zu Gunsten von UV-A verschoben werden. UV-A hat einen direkten photosynthetischen Effekt, wobei eine Minderung des effektiven Elektronentransportes in Photosystem II und eine Vermehrung von Radikalen beobachtet wurden (WHITE und JAHNKE, 2002).

5.4.3.3 Letalitätsversuch

Da im Versuchszeitraum im Vergleich zum Vorversuch keine Letalität der Versuchspflanzen vorlag, kann unterstellt werden, dass die Letalitätsgrenze für Gammastrahlen bei lebenden Borretschpflanzen zwischen 40 und 50 Gy angesetzt werden kann. Für die praktischen Zuchtarbeiten ist unter diesen Voraussetzungen in Bezug auf die Initiierung von Mutationen in der Blüten- und Samenanlage ein Strahlungsbereich von ca. 30-35 Gy zu empfehlen.

5.4.4 Behandlung mit Neutronenstrahlung

5.4.4.1 Einfluss der Neutronenbehandlung auf Keimfähigkeit und Letalität

Die ersten Behandlungen mit 100 kW und 30 kW (Tab. 17, Tab. 18) bei einer Behandlungszeit von 102 s bis 207 s führten zur Letalität aller Versuchspflanzen. Die für den Borretsch geeignete Dosis/Zeit-Kombination wurde mit 10 kW und 102 bis 207 s gefunden. Auf dieser Basis konnten weitere Versuche im Sinne des Zuchtziels durchgeführt werden. Die zunehmende Behandlungsdauer zeigte einen negativen Einfluss der Neutronenstrahlen auf morphologische Eigenschaften der Pflanzen. Neben einer zunehmenden Wachstumsdepression wurde eine stärkere Chlorose als Hinweis für eine verminderte Vitalität festgestellt. Dieses Ergebnis wird weitgehend von SANAMYAN (2007) bestätigt, der nach Neutronenbestrahlung von *Gossypium hirsutum* L. von „vielen biomorphologisch abnormalen Pflanzen, einschließlich steriler und chimärer“ berichtet.

Nach AWAN et. al. (1979) wurden unterschiedliche Wirkungen von Gamma- und Neutronenstrahlen bei Reis festgestellt. Reiskörner wurden einer Gammastrahlung von 15 bis 30 krad (150 bis 300 Gy) und einer Neutronenstrahlung von 1 bis 2,5 krad (10 bis 25 Gy) ausgesetzt. In beiden Fällen ging in der M1 die Fertilität mit zunehmender Dosierung zurück. Zunehmende Chlorophyllmutationen wurden in der M2 bei einer Dosierung bis zu 2 krad (20 Gy) Neutronenstrahlung und 25 krad (250 Gy) Gammastrahlen beobachtet

Für den Neutronen-Feldversuch im Rahmen dieser Arbeit wurde die Strahlendosis von 10 kW und 207 s gewählt, weil auf diesem Niveau unter Berücksichtigung der Keimfähigkeit trotz der geringen Vitalität im Versuch (Tab. 19) eine höhere Wahrscheinlichkeit für mutagene Veränderungen bestand.

Ein positives Ergebnis im Sinne des Zuchtziels war der Anteil relativ fest sitzender Körner/Pflanze. Ein „fester Kornansatz“ liegt dann vor, wenn der reife Samen sich nach Bewegung und Transport noch an der Pflanze befindet. Dieser Effekt konnte durch die Neutronenstrahlung bei einem Teil der behandelten Pflanzen erreicht werden. Die Eigenschaft eines teilweise festen Kornansatzes zeigten 11 von 15 Pflanzen (Tab. 24). Dabei wiesen 10 % der insgesamt geernteten Körner einen festen Kornansatz auf (Tab. 25). Auf dieser Basis erfolgten weitere züchterische Maßnahmen.

Durch die Neutronenstrahlung kam es zu einer starken negativen Veränderung der Fettsäuren (Tab. 26). Die Ursache dürfte mit hoher Wahrscheinlichkeit in der Störung der Biosynthese der Delta-6-Desaturase liegen, welche die Desaturation der C18:2 zur C18:3 katalysiert. Da der Transport zu den ungesättigten Fettsäuren unterbunden ist, erfolgt die Weiterleitung über die C20:1 zu C22:1 (Erucasäure), die durch Elongasen katalysiert wird (HESS, 1999).

5.4.4.2 Ertragsstruktur

Der natürliche Kornausfall wird durch das Öffnen der Kelchblätter während des Reifeprozesses ermöglicht. Durch die Neutronenstrahlung mutierte geschlossene Kelchblätter mit reifen Samen im Endstadium des Reifeprozesses konnten nicht beobachtet werden. Der in der M1 verbreitete relativ feste Kornansatz reifer Körner bei geöffneten Kelchblättern (Abb.A 2) war bedingt durch ein stärkeres Haftungsvermögen der Pseudostrophiole am Kelchboden und ließ erwarten, dass dieses Merkmal sich stabilisieren würde.

Die Eigenschaft eines festen Kornansatzes wurde tatsächlich in allen fünf Generationen des Mutationsversuchs festgestellt. Während die Generationen M2 und M4 die Möglichkeit einer Stabilisierung bei einem Anteil von ca. 20% vermuten ließen, wichen die Ergebnisse in der M3 (ca. 1% fester Kornansatz) und in der M5

(ca. 73 %) deutlich von diesen Werten ab. Der hohe Anteil mit festem Kornansatz in der M5 muß mit aller Vorsicht bewertet werden. Er ist mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Folge ungünstiger Witterungsbedingungen und der dadurch bedingten hohen Verlustquote.

Eine Ursache für den geringen Anteil festen Kornansatzes in der M3 konnte nicht ermittelt werden. Es muss davon ausgegangen werden, dass die erreichte Mutation nicht ausreichend genetisch fixiert ist. Aufgrund der Ergebnisse lässt sich außerdem vermuten, dass der Anteil nicht wesentlich über 20 % verbessert werden kann.

5.4.4.3 Entwicklung der Gamma-Linolen- und Erucasäure-Gehalte

Die GLS- und ES-Gehalte wichen in der M2 zwischen den Gruppen „fest“ und „lose“ nur gering voneinander ab. Interessant ist die positive Entwicklung der GLS- und ES-Gehalte von der M1 zur M2, wobei eine Steigerung der GLS-Gehalte und eine Senkung der ES-Gehalte zu verzeichnen waren (Tab. 32). Damit ist eine Entwicklung zum Gehaltsniveau normaler Handelsware und zur Minimierung der durch die Neutronenstrahlung verursachten negativen Wirkungen zu erkennen.

Dieser Trend setzte sich in der M3 bis M5 mit einer weiteren Erhöhung der GLS-Gehalte fort. Inwieweit der Anteil der „selbstheilenden Kräfte“ der Pflanze (ODENBACH, 1997), also die Minderung des negativen Einflusses der Neutronenstrahlen auf die Inhaltsstoffe zum Tragen kamen, lässt sich hier nicht abschließend beurteilen.

Nach einer anfänglich positiven Entwicklung der ES-Gehalte nahmen diese ab der M4 wieder etwas ungünstigere Werte an. Zu dieser Entwicklung hat mit einer hohen Wahrscheinlichkeit der späte Erntezeitpunkt beigetragen.

5.4.5 Selektionsversuche zur Optimierung der GLS- und ES-Gehalte

5.4.5.1 Fettsäuregehalte ausgewählter Akzessionen

In dieser Arbeit wurden verschiedene Populationen zunächst auf ihre Herkunft und genetische Ähnlichkeit untersucht und in einem Dendrogramm (Abb. 17) erfasst. In einem zweiten Schritt wurden die GLS- und ES-Gehalte verschiedener Herkünfte analysiert (Tab. 37). Nach der Ermittlung der genetischen Ähnlichkeit sollten über gezielte Kreuzungen leistungsfähige Populationen aufgebaut werden.

Die Schwierigkeiten des Versuchs zur Verbesserung der Leistungseigenschaften von Borretsch bestanden darin, dass von niedrigen GLS- und hohen ES-Gehalten ausgegangen werden musste. Dazu kam, dass selten in der gleichen Pflanze sowohl der GLS- als auch der ES-Gehalt günstige Werte zeigte. Die hier gefundenen GLS-Gehalte von 20,1 % (9,2 % - 27,8 %) und ES-Gehalte von 2,9 % (2,2 % - 5,3 %) lagen im Mittel etwa auf der gleichen Ebene wie die von MALCO (1998) gefundenen

Werte. Es wird über GLS-Gehalte zwischen 11,3 % und 22,0 % und ES-Gehalte zwischen 1,8 % und 4,0 % berichtet. BAETZEL (1996) fand bei selektierten Halbkörnern und deren Nachkommenschaft GLS-Gehalte von 20,0 % bzw. 15,6 % und ES-Gehalte von 4,6 % bzw. 3,6 %. Diese Untersuchungen beziehen sich weitgehend auf die gleichen Herkünfte, jedoch in einem zeitlichen Abstand von 2 bzw. 4 Jahren.

KNIPP et al. (2002) berichten über dominierende Linolsäuregehalte (32,4 % - 35,6 %), Gamma-Linolensäuregehalte (17,3 % - 25,5 %) und Ölsäure (15,9 % - 21,5 %). Nur geringe Anteile wurden von der Eicosensäure (4,4 % - 4,8 %), der Erucasäure (1,2 % - 1,8 %) und der Nervensäure (1,2 % - 1,8 %) festgestellt. Die Gehalte an gesättigten Fettsäuren (Palmitin- und Stearinsäure) lagen im Mittel bei 15 %. Die Werte für Gamma-Linolensäure lagen damit auch hier im Bereich der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuche, jedoch mit einer geringeren Variationsbreite. Zudem wurden niedrigere - also günstigere - Erucasäuregehalte festgestellt.

Neben den bereits zuvor angeführten nicht zufrieden stellenden Analyseergebnissen war die Population dieses Versuchs durch den Verlust mehrerer Pflanzen und den geringen Ertrag von einem bzw. zwei Körnern je Pflanze gekennzeichnet. Damit wurde die Basis für eine ausreichende Selektionsmöglichkeit zu schmal. Außerdem hätte der niedrige Leistungsstand eine Züchtungsarbeit über mehrere Generationen erfordert. Aus diesem Grund wurde dieser Versuch nicht fortgeführt.

5.4.5.2 Züchtung einer leistungsfähigen Population

Aus der Kontrollgruppe eines im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten EMS-Versuchs wurden leistungsfähige Pflanzen selektiert und geselbstet. Nach fünf Generationen Selbstung war ein Inzuchtkoeffizient von $F = 0,875$ erreicht. In diesem Stadium wurde auf die Kreuzungsmethode umgestellt. Die Fortführung der Selbstung wäre mit dem Risiko der Inzuchtdepression sowie eines verstärkten Krankheits- und Insektenbefalls verbunden gewesen. Dieses Risiko wog aufgrund der geringen Pflanzenzahl besonders stark, obwohl ein höherer Homozygotiegrad für die züchterische Arbeit erstrebenswert gewesen wäre.

Vergleicht man die Entwicklung der GLS- und ES-Gehalte in dem Zeitraum von 1998 bis 2003, dann zeigt sich, dass die bisher durchgeführten Zuchtmethoden dieses Versuchs zu einer Stabilisierung der positiven Werte der ersten Generationen auf einem Niveau, welches dem Zuchtziel entsprach, führten. Die im Jahr 2003 erzielten GLS-Gehalte von durchschnittlich 29,8 % (bei minimal 25,4 % und maximal 33,6 %) und 2,0 % ES (bei minimal 1,8 % und maximal 2,2 %) zeigt das erreichte hohe Niveau.

Sehr überraschend war der starke Leistungseinbruch mit der Ernte des Jahres 2004 (KR F2). Die GLS- und ES-Gehalte lagen auf einem sehr ungünstigen Niveau (Tab. 43). Es gab keine Hinweise auf mögliche Ursachen, da die Pflanzen isoliert waren und die Bestäubung mit Pollen von Vaterpflanzen mit Leistungen von 30,3 % und 31,5 % GLS sowie 2,1 % und 1,6 % ES erfolgen sollte. Sehr hohe Temperaturen, die als auslösend für niedrige GLS-Gehalte besprochen wurden, traten in diesem Zeitraum nicht auf. Unzureichende Lichtverhältnisse scheiden mit hoher Wahrscheinlichkeit aus, da die Versuche im Sommer durchgeführt wurden und die Lichtverhältnisse am entsprechenden Standort als normal bezeichnet werden konnten. Am Standort der Mutterpopulation des Vorjahres waren alle Risiken zum Fremdeintrag von Pollen weitgehend ausgeschlossen. Die Pflanzen waren isoliert und die Bestäubung erfolgte von Hand. Insektenflug im Gewächshaus war auszuschließen, da regelmäßig eine Insektizidbehandlung durchgeführt wurde. Fremdpollenübertragung durch Wind bei geöffneten Jalousien an fliegendichten Seitenwänden sind bei Borretsch nahezu ausgeschlossen. Ein Eintrag von Pollen anderer Boraginaceae mit der gleichen Chromosomenzahl wie z. B. der Ochsenzunge *Anchusa officinalis* L. mit 16 Chromosomen (TISCHLER, 1950) konnte angesichts der Isolation der Einzelpflanzen weitgehend ausgeschlossen werden. Wie nachträglich festgestellt wurde, ist der Leistungseinbruch auf einen versehentlichen Fremdeintrag von Pollen zurückzuführen.

Die Züchtungsbemühungen wurden in den folgenden Jahren fortgesetzt, sodass mit den Leistungen der Mutterpflanzen, die im Jahr 2007 aus der Ernte 2006 im Versuch standen, erneut eine gute Ausgangsbasis gegeben war. Aus diesem Grund waren die niedrigen GLS-Gehalte unerwartet. Dies kann verschiedene Ursachen haben. Die HK-Untersuchung der Mutterpflanzen 2007 konnte erst in der zweiten Hälfte des Monats Juli durchgeführt werden. Damit verschob sich die Blüte- und Reifezeit in die Herbstmonate bei verminderter Sonneneinstrahlung und zusätzlich starken und lang anhaltenden Regenfällen. Verkürzte Tageszeiten und eine ungünstige Witterungslage bedingten eine geringere photosynthetische Aktivität. Folglich konnte das aus der Photosynthese stammende Dihydroxyacetonphosphat als Basissubstanz für die Biosynthese der Glycerolipide (HEß, 1999) nicht in ausreichender Menge gebildet werden.

Eine weitere Ursache des ungünstigen Fettsäuremusters könnte in der verzögerten Untersuchung mit der Folge von niedrigeren GLS-Gehalten bei zunehmendem Alter liegen, da die HK-Untersuchung erst im Monat Juli 2009 erfolgen konnte.

5.4.6 Krankheiten und Schädlingsbefall

Ein besonderes Schadbild zeigte sich bei einer Borretsch-Population auf einer begrenzten Fläche in der Versuchstation Groß-Gerau. Die Pflanzen waren

kleinwüchsig und hatten einen gestauchten Stängelwuchs. Die Wuchsform wurde mit hoher Wahrscheinlichkeit mit beeinflusst durch den starken Befall mit Wurzelnematoden der Gattung *Paratylenchus*. Der auffallend geringe Anteil an Feinwurzeln wurde mit hoher Wahrscheinlichkeit durch sie verursacht und wirkte sich negativ auf die Gesamtentwicklung der Pflanzen aus.

Die schwarze Bohnenblattlaus (*Aphis fabae*), die durch ihre Saugtätigkeit im Bereich der Blüten und jungen Blätter sowie an den Stängeln die Pflanze stark schädigt, war unterschiedlich stark in der Population vertreten. Die Saugtätigkeit dieses Schädlings führt je nach Intensitätsgrad des Befalls zu entsprechenden Ertragsminderungen.

Darüber hinaus wurde eine größere Anzahl Natterkopfnetzwanzen (*Dictyla echi*) nachgewiesen, die auf Boraginaceae spezialisiert sind. Deren Einstiche und Saugwirkung führen an den Blüten- und Samenanlagen zu Gewebsveränderungen, einem gestörten Längenwachstum und niedrigeren Kornerträgen, wie auch das Ernteergebnis zeigte.

Auch ein Befall mit Blattläusen und Thripsnymphen wurde festgestellt.

Pilze der Gattungen *Pythium*, *Rhizoctonia* und *Thiellaviopsis* verstärkten das Schadbild der tierischen Erreger.

5.5 Zell- und Gewebekultur

5.5.1 Organogenese - indirekte Regeneration

Mit der Etablierung der Organogenese bei Borretsch sollte eine züchterische Verbesserung dieser Heilpflanze erreicht werden.

5.5.1.1 Untersuchungen der TM- und Fettgehalte von Borretsch-Kallussen

Unabhängig von der bisher üblichen Nutzung der Kallusse zur Regeneration sollte geprüft werden, ob eine Ölgewinnung über Kalluskulturen möglich und wirtschaftlich sinnvoll ist. Positive Ansätze dazu zeigt die erfolgte Zunahme des Fettgehaltes von 2,4 % auf 4,4 % vom 28. bis zum 56.Tag. Die weitere Entwicklung müsste näher untersucht werden um den günstigsten (Ernte-) Nutzungszeitpunkt festzustellen. Außerdem müssen die Inhaltsstoffe – hohe GLS- und niedrige ES-Gehalte – den Anforderungen entsprechen. Unter Beachtung der geringen TM-Gehalte von 4,5 % im Festmedium und 1,9 % in der Suspensionskultur sind zur Erzeugung der gleichen Menge Borretschöl aus Kallussen eine gegenüber Borretschsamen mehrfache Menge Kallussubstanz erforderlich. Die Gewinnerwartung müsste unter Berücksichtigung des Ertragsniveaus und der erforderlichen Investitionen untersucht werden.

5.5.1.2 Sterilisierung von Borretsch-Explantaten

Die erste Stufe in der Gewebekultur ist die Gewinnung sterilen Pflanzenmaterials aus kontaminiertem Samen. H_2O_2 scheidet aufgrund der geringen Wirkung, die in den Versuchen festgestellt wurde, als Desinfektionsmittel aus (Tab. 5). Ähnliche Ergebnisse wurden in der Desinfektionswirkung von H_2O_2 bei Borretsch-Hypokotylen festgestellt (Tab. 55), so dass H_2O_2 auch hier nicht zufriedenstellend eingesetzt werden kann. Bei Borretsch-Hypokotylen, die mit NaOCl 2 % 10 min behandelt wurden, erreichte der Kontaminationsgrad 71 %. Eine zusätzliche Behandlung mit Ethanol (70 %) 1 min führte zu einer Reduzierung der Kontamination auf 28 % (Tab. 53). KNIPP (2000) berichtet unter der gleichen Behandlung von einem Kontaminationsgrad von 20,4 % nach 14 d. Der höhere Wert von 28 % ist wohl auf spätere Kontaminationen zurückzuführen. KNIPP (2002) berichtet von Spätkontaminationen noch nach 34 Tagen. Nach PAUL (1980) sind Kulturen erst frei, wenn sie in einem zusammenhängenden Zeitraum von 14 Tagen nach Ansetzen der Kultur keine Kontamination aufweisen, falls keine Antibiotika verwendet wurden.

Ethanol als alleiniges Desinfizienz brachte nur einen Sterilisierungsgrad von 3 %. Die einzelnen Organexplantate reagierten unterschiedlich auf eine kombinierte Behandlung mit NaOCl (2 %, 10 min) + Ethanol (70 %, 1 min). Die Reduzierung der Kontamination bei Sprossexplantaten auf 70 %, der Petiole auf 46 % und der Hypokotyle bei diesem Versuch auf 18 % (Tab. 53) wurden in der Tendenz von KNIPP (2002), mit Ergebnissen von 74,1 %, 40,8 % und 20,4 % bestätigt.

Eine Verbesserung der Desinfektionsergebnisse durch eine längere Behandlung mit NaOCl und Ethanol ist kritisch zu beurteilen, da sowohl bei den Samen Keimschäden als auch bei den Explantaten schadhafte Veränderungen beobachtet wurden. Obwohl die Desinfektionsergebnisse nicht ganz zufriedenstellend sind, ist unter diesen Voraussetzungen die Behandlungsdauer von 10 min NaOCl (2 %) und 1 min Ethanol (70 %) für Borretsch zu empfehlen.

5.5.1.3 Wachstumsversuche mit Einzelhormonen

Die Untersuchung mit BAP und Kinetin, deren Ergebnisse in % PCV dargestellt werden, erfolgte am Auxophyton. Gegenüber der Kontrolle zeigte die BAP-Variante ein etwas geringeres Wachstum (Tab. 56). Interessant ist das geringere Wachstum von Kinetin 1 ppm nach 21 d und nach 28 d, wo ca. 50 % des Wachstums der Kontrolle erreicht wurden. Kinetin 2 ppm zeigte im gesamten Zeitraum ein geringeres Wachstum als Kinetin 1 ppm. Für die Erzielung eines optimalen Gewebewachstums ist nach ORDON et al. (1998) ein optimales Auxin/Zytokinin-Verhältnis erforderlich. Das stärkere Wachstum der Kontrolle ist wohl darauf zurückzuführen, dass eine unveränderte natürliche Relation Auxin/Zytokinin gegeben war, und im Versuch die Hormonvarianten einseitig verändert wurden. In der Faktorstufe Kinetin 2 ppm wurde

gegenüber der niedrigeren Kinetinkonzentration eine verzögerte Zuwachssteigerung festgestellt, jedoch nach 28 d mit 230 % das Niveau der Variante 1 ppm nahezu erreicht.

Unter der Einschränkung, dass die Untersuchung in einem anderen Konzentrationsbereich erfolgte, zeigte sich bei TDZ ein noch stärker ausgeprägter negativer Einfluss einer steigenden Konzentration auf das Zellwachstum als bei Kinetin (Tab. 57). TDZ hatte vor allem in der niedrigen Dosierung eine offensichtlich positivere Gesamtwirkung auf das Zellwachstum als BAP und Kinetin, da das Ergebnis der Konzentration 0,01 ppm mehr als achtmal so hoch lag wie das der Kontrolle. Dagegen lagen die Werte bei der Variante TDZ 1,0 ppm nur noch bei dem 2,1-fachen der Kontrolle. Mit zunehmender Konzentration des Zytokinins TDZ wurde offensichtlich das Auxin/Zytokinin-Verhältnis negativ verändert und die Wachstumsreduktion verursacht. Nach MURTHY et al. (1998) ist eine weitere Ursache des Wirkprinzips von TDZ die Induktion einer Reihe von Ereignissen, die von der Induktion von Kallus bis zur somatischen Embryogenese reichen. Danach hat TDZ die besondere Eigenschaft, in einer Nachahmung sowohl von Auxin- als auch Zytokinineffekten auf Wachstum und Differenzierung von Kulturexplantaten zu wirken. Es unterscheidet sich auch strukturell sowohl von Auxinen als auch von purin-basierten Zytokinen. Eine Reihe von physiologischen und biochemischen Abläufen in den Zellen sind wahrscheinlich von TDZ beeinflusst, die möglicherweise direkt mit der Induktion morphogenetischer Ereignisse zusammenhängen.

Wie die Boniturnoten (Abb. 19) zeigen, wirkte sich das starke Wachstum der Variante TDZ 0,01 ppm negativ auf die Qualität (Farbe und Konsistenz) der Pflanzen aus. Die bei TDZ vorhandenen Auxin- und Zytokinineffekte haben bei Borretsch-Kallussen in Bezug auf das Kallus-Wachstum ihr Optimum bei 0,01 ppm. Die bei steigender Konzentration zurückgehende Zellteilungsaktivität hatte keinen Einfluss auf die Differenzierung. Inwieweit bei diesem Zytokinin die Inhibition der Zellteilung bei steigender Konzentration durch eine Veränderung der Auxin-Zytokinineffekte oder durch zelltoxische Wirkungen verursacht wird, müsste näher untersucht werden.

5.5.1.4 Die Wirkung von Hormonkombinationen auf das Zellwachstum

Schon bei niedriger Zytokininkonzentration konnte eine merkliche Zunahme des Wachstums erreicht werden, obwohl das Auxin-Zytokinine-Gleichgewicht nicht gegeben war. IES zeigte, vermutlich bedingt durch die höhere Konzentration in diesem Versuch, einen stärkeren Einfluss auf das Zellwachstum als die Zytokine. Ob in den Kombinationsvarianten der von SALMINEN (1997) bei Verwendung von BAP beobachtete deutliche Anstieg der endogenen IES zum Tragen kam, müsste näher untersucht werden.

Der unter den Kriterien des Auxin-Zytokinin-Gleichgewichts durchgeführte Versuch mit den Phytohormonen NES und BAP (Tab. 60) brachte in der 10-fach höheren Konzentration keine weitere Zunahme des Zellwachstums. Nach ODENBACH (1997) induzieren hohe Auxinkonzentrationen je nach der gleichzeitig angebotenen Zytokininkonzentration undifferenziertes Gewebewachstum oder Wurzelbildung, hohe Zytokinin-Konzentrationen induzieren Sprossbildung. Danach wäre ein stärkeres Zellwachstum zu erwarten gewesen.

Eine weitere Steigerung der Konzentration führte im Wesentlichen zu einer Verschlechterung der Ergebnisse (Tab. 61). Dies entspricht der Aussage von ODENBACH (1997), dass die Zunahme des Zellwachstums bei gleichzeitig angebotener Zytokinin-Gabe für Borretsch auf den Bereich 0,01 bis 0,1 ppm begrenzt ist.

Bezüglich der Bonitierung wurde wie in vorangegangenen Versuchen festgestellt, dass starke Zuwachsraten die Qualität der Kallusse negativ beeinflussen.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass in den Versuchen die größten Zuwachsraten im Vergleich zur Kontrolle bei Kalluskulturen mit TDZ (Tab. 57) und bei der Kombination IES 2,0 ppm + Kinetin 0,1 ppm (Tab. 59) erreicht wurden.

Differenzierungsversuche mit Phytohormonen

Die Kombination von NES 0,01 ppm und BAP 0,5 ppm wurde auf ihre Wirkung zur Sprossbildung untersucht (4.3.4). Die Ergebnisse waren in der Tendenz mit den von KNIPP (2000) durchgeführten Versuchen vergleichbar, in denen pro Kallus 0 bis 1,5 Sprosse gebildet wurden. Verschiedentlich wurden, wie auch von KNIPP (2000) berichtet, auf BAP-Medium „fingerförmige“ chlorophyllhaltige Auswüchse - nicht Wurzel, nicht Spross - an den Kallussen beobachtet, deren Enden z.T. zu Wurzeln ausdifferenzierten.

Nach SENGBUSCH (2003) induzieren Auxine in hoher Konzentration ebenfalls Sprossbildung. Entgegen dieser Aussage konnte bei Borretsch schon mit einer Konzentration von IBS 1 ppm Sprossbildung induziert werden. Diese Konzentration führte jedoch nur zur Organogenese (Sprossbildung), nicht aber zur Embryogenese, wozu eine weitere Behandlung mit *Cocos nucifera* L. erforderlich wurde.

Die Wurzelbildung der Gruppe IBS 1 ppm konnte erst nach Transfer am 35.Tag auf MS-Medium mit einem 10 %igen Anteil von Kokoswasser (Endosperm von *Cocos nucifera* L.) induziert werden. Zellwachstum und Differenzierung werden durch Kokosnussmilch stark gefördert, so dass nach 10 Tagen bei zehn Explantaten neben der bisher erfolgten Spross- eine beginnende Wurzelbildung erkennbar war.

5.5.2 Embryogenese

Nach SENGBUSCH (2003) führt eine hohe Auxin-Konzentration von (10^{-4} bis 10^{-3} g/l) zu Sprossbildung, eine Konzentration von 10^{-6} g/l zu Knospenbildung und eine Konzentration von 10^{-8} g/l zum Wurzelwachstum. Diese Feststellung wird jedoch von ODENBACH (1997) differenziert. Demnach muss die optimale Hormonkonzentration für jede Pflanzenspezies gesondert empirisch ermittelt werden. In diesem Zusammenhang ist vor allem die Induktion der Embryogenese von Bedeutung. Diese konnte bei einer Konzentration von 2,5 ppm IES bzw. 2,5 ppm NES induziert werden. Mit der Konzentration 5,0 ppm IES sowie 5,0 ppm NES erfolgte im Vergleich zu der geringeren Dosierung eine etwas stärkere Induktion. Dieses Ergebnis zeigt, dass mit hoher Wahrscheinlichkeit der hier gewählte Konzentrationsbereich dieser beiden Phytohormone für den Borretsch geeignet ist.

In vergleichbarer Weise zeigt ein Versuch von REUTHER (1975) bei *Asparagus off. L.*, dass IES eine wichtige Funktion bei der Induktion der Embryogenese hat. Diese wurde mit einer Konzentration von 0,5 ppm IES erreicht.

5.6 Pflanzenbauliche Untersuchungen

5.6.1 Auswirkung unterschiedlicher Standraumzumessung

In diesem Versuch wurde der Einfluss der Faktoren Bestandesdichte und Reihenweite auf den Kornertrag von Borretsch untersucht.

Eine geringe Pflanzendichte von 7 Pflanzen je m^2 führte zu niedrigen Erträgen. Bei Pflanzendichten von 13 bzw. 20 Pflanzen je m^2 konnte ein höherer Ertrag und bei 33 Pflanzen je m^2 ein Ertragsrückgang festgestellt werden. In der Gruppe 1.1 ist der niedrige Kornertrag auf die geringe Pflanzenzahl zurückzuführen. Die Pflanzendichte von 33 Pflanzen je m^2 bei einer verhältnismäßig engen Reihenweite von 15,6 cm verursacht einen starken Konkurrenzdruck, der in der Zunahme des Längenwachstums erkennbar wird. Ein dichter Pflanzenbestand führt zudem zu einer Veränderung des Kleinklimas und zu höherer Luftfeuchtigkeit. Verbunden mit höheren Temperaturen wirkt sich dies fördernd auf das Pilzwachstum aus. Die Bestandsentwicklung und die Vitalität der Pflanzen kann so beeinträchtigt werden.

Dieser negative Effekt wird bei größeren Reihenweiten von 31,3 cm und 42,6 cm durch verbesserte Lichtverhältnisse und eine stärkere Photosyntheseaktivität weitgehend aufgehoben. Bei einer Reihenweite von 31,3 cm wurden die besten Kornerträge erzielt. Eine Bestandesdichte von 20 Pflanzen je m^2 wirkte sich positiv auf den Ertrag aus. Der mit Abstand höchste Ertrag konnte mit einer Kombination dieser beiden Bedingungen erzielt werden. Hier lagen offenbar – durch ausreichende photosynthetische Aktivität und eine hohe Zahl blüten- und fruchttragender Seitenäste – optimale Wachstumsbedingungen vor. BERTI (2002) berichtet über

maximale Kornerträge bei 17,2 Pflanzen je m² und einer Reihenweite von 60 cm bzw. 20,5 Pflanzen je m² und einer Reihenweite von 40 cm.

Die relativ engen Reihenabstände, die einer hohen Ertragsleistung zuträglich sind, ergeben andererseits hinsichtlich der Pflege- und Erntemaßnahmen entsprechende Schwierigkeiten. Spätere Pflegemaßnahmen führen bei starker Seitenverzweigung zu Beschädigungen der Pflanzen und damit zu Ernteaufgängen. Mechanisierte Pflege- oder Erntemaßnahmen erfordern größere Reihenabstände, um diese Nachteile zu verhindern. Für die Praxis sind aus diesem Grund Reihenabstände von mindestens 62,5 cm bis 75 cm empfehlenswert. Darüber hinaus ist in diesem Zusammenhang in der Züchtung dem Stängeltyp besondere Beachtung zu schenken, bei dem diese Nachteile weniger stark wirken. Die hier untersuchten Reihenabstände wurden auf die Sämaschinenbreite von 1,25 m ausgelegt.

5.6.2 Prüfung von Erntemethoden

Der Anteil des bei der Schwadablage geernteten reifen, verkaufsfähigen Saatguts des Borretsch liegt bei ca. 38 % (Tab. 14). Dieses Ergebnis zeigt den hohen Ernteverzicht, der mit der Schwadablage verbunden ist. Die Erntemenge spiegelt nur die zum Erntezeitpunkt bestehende Situation wider. Sie beinhaltet nicht die Samenmenge, die vorher schon ausgefallen ist, sowie die noch nicht entwickelten Samen.

Die Ernte konnte mit dem im Rahmen dieser Arbeit konstruierten Erntegerät auf den gesamten Reifezeitraum (Tab. 66) ausgedehnt werden. Damit war es möglich, den größten Teil der reifenden Körner zu erfassen. Schwierigkeiten bereitet diese Methode, wenn durch eine starke N-Düngung die Seitenäste stark ausgebildet werden und die Reihen weitgehend schließen. Unter diesen Voraussetzungen wird ein Teil der Seitentriebe beschädigt, was mit Ernteaufgängen verbunden ist. Bessere Erntebedingungen bietet der Stängeltyp, dessen Infloreszenzen im oberen Drittel der Pflanzen ausgebildet sind. Gleichzeitig sollte diese Pflanze einen festen Kornansatz haben. An beiden Eigenschaften wird züchterisch gearbeitet.

5.6.3 Wirkung der N-Düngung

Vergleicht man die Kornerträge in den einzelnen N-Stufen (Tab. 67), so ist eine Tendenz zu niedrigeren Erträgen bei steigender N-Gabe erkennbar.

Der Borretsch ist aufgrund seiner langen Blüte- und Reifezeit in die Gruppe der nicht determinierten Arten einzustufen. Im Nachblütstadium werden bei diesem Typ die Assimilate sowohl in die vegetativen als auch generativen Bereiche geleitet. Unter dem Einfluss einer verstärkten N-Düngung erfolgt beim Borretsch die Assimilateinlagerung verstärkt als vegetativer sink (ODENBACH, 1997). Vor diesem Hintergrund ist der höhere Kornertrag der Kontrolle und ein vergleichsweise hoher harvest index von 0,1 gegenüber den N-Varianten zu sehen. Nach HAFID (2002)

wurden die höchsten Kornerträge bei einer Applikation von 20–40 kg N/ha erzielt. Eine weitere Steigerung der N-Düngung führte zu einer stärkeren Krautbildung und einem signifikant sinkenden relativen und absoluten Kornertrag.

In einem Gefäßversuch stellten CERGEL et al. (2003) bei steigenden Gaben bis 0,8 g N steigende Kornerträge bis 2,9 g/Gefäß fest, die bei einer weiter steigenden N-Zufuhr bis zu 1,2 g N auf 1,7 g sanken. Der zunächst steigende Kornertrag ist wohl damit zu erklären, dass der generative source bis zu der N-Gabe von 0,8 g aufnahmefähig war, höhere N-Gaben jedoch das vegetative Wachstum förderten.

5.6.4 Einfluss der Sikkation

Um einen problemlosen Mähdrusch zu gewährleisten, sollte der TM-Gehalt etwa 20–25 % betragen. Das ist jedoch bei stehendem Borretschbestand auch nach einer Sikkationsbehandlung unter den vorliegenden klimatischen Bedingungen nicht zu erreichen. Die hier durchgeführte Schwad Trocknung von 11 d war für den Mähdrusch nicht ausreichend. Der Borretsch hat aufgrund seines hohen, stark wasserführenden Stängelanteils ungünstige Trocknungseigenschaften. Zur Erreichung eines druschfähigen Erntegutes wären bei den vorliegenden Witterungsverhältnissen verhältnismäßig lange Trocknungszeiten erforderlich, was zwangsläufig Ernteverluste (z.B. Kornausfall und Mäusefraß) zur Folge hätte.

Die geringeren Kornerträge in den Behandlungsgruppen (Tab. 68) lassen darauf schließen, dass durch die Sikkationsmedien der vorzeitige Kornausfall verstärkt wurde. Die höhere Konzentration der 10 %igen KCl-Lösung führte zu einer stärkeren Nekrosebildung. Den stärksten Sikkationsgrad erreichte Reglone. Die CCI-Messwerte verringerten sich mit steigender KCl-Lösung nach sieben Tagen von 58,3 auf 46,8 % und bei Reglone auf 18,5 % des Ausgangswertes. Damit ist das in die Photosynthese eingreifende Reglone sowohl in den Sikkationseigenschaften als auch hinsichtlich des Kornertrages den KCl-Varianten mit ihrer ätzenden und hygroskopischen Wirkung überlegen. Die Wirkung von KCl wäre durch eine Erhöhung der Konzentration bis zur Löslichkeitsgrenze von 347 g/l bei 20°C (MERCK, 2012) zu erhöhen. Der Einfluss dieser Konzentration auf den Chlorophyllgehalt und den Kornertrag müsste geprüft werden.

6 Zusammenfassung

Das Hauptinteresse dieser Arbeit galt der Untersuchung von Möglichkeiten, die Nutzung des Borretsch als Medizinalpflanze zu verbessern.

Die im Borretsch enthaltene Gamma-Linolensäure (GLS) ist ein wichtiger pharmazeutischer Wirkstoff. Somit bildeten **züchterische Maßnahmen** zur Erhöhung des Anteils der GLS am Gesamtfettgehalt in Verbindung mit einer Senkung des Eruca-säureanteils einen Tätigkeitsschwerpunkt dieser Arbeit.

Die GLS-Gehalte konnten bis zur I6 auf ein Niveau von 27,9 % - 32,0 % verbessert werden, die ES – Gehalte erreichten Werte von 1,8 % - 2,2 %. Damit war das Zuchtziel erreicht.

Durch **Mutationsversuche** sollten die Eigenschaften fester Kornansatz und Stängeltyp verbessert werden. Unter der EMS-Behandlung ausgelöste Mutationen, die einem Stängeltyp entsprachen, verschwanden – vermutlich durch Reparatureffekte – in der folgenden Generation wieder. Zudem konnte dieses Experiment durch Botrytisbefall nicht mehr weitergeführt werden. Die in diesem Versuch erzielten Mutationen als auch Mutationsergebnisse, über die andere Autoren berichten, lassen es möglich erscheinen, dass das angestrebte Zuchtziel auf diesem Weg erreicht wird. Darüber hinaus zeigten weder der EMS-Feld- noch der Gammastrahlenversuch den gewünschten epigynen Blütenstand.

Mit der Neutronenstrahlung von 10 kW bei 207 s konnte in der M1 ein relativ fester Kornansatz bei geöffneten Kelchblättern erzielt werden. Eine Mutation mit reifen Samen bei geschlossenen Kelchblättern wurde nicht festgestellt. Der feste Kornansatz konnte von der M1 zur M4 von 10,7 % auf 20,2 % verbessert werden. Eine weitere Steigerung und Stabilisierung der Werte wurde in diesem Zeitraum trotz Selektion der Pflanzen mit festem Kornansatz nicht erreicht. Dennoch lässt die positive Reaktion des Borretsch auf die Neutronenbestrahlung weitere Mutationsversuche als aussichtsreich erscheinen.

Zur Intensivierung der Borretschzucht wurde untersucht, ob über die **Zell- und Gewebekultur** die Kultivierung leistungsfähiger Pflanzen möglich ist. Grundbedingung hierfür ist die weitgehende Dekontamination des Pflanzenmaterials. Die besten Resultate wurden mit der Kombination NaOCl cum Ethanol erzielt, wobei der Kontaminationsgrad nach der Behandlung 18 % bzw. 28 % betrug. Für die erfolgreiche Kultivierung birgt dieser relativ hohe Anteil ein Risiko. Auch die Ergebnisse der Desinfektionsversuche mit H₂O₂ sind nicht zufriedenstellend, da der Kontaminationsgrad mit 26,7 % verhältnismäßig hoch war.

Verschiedene Phytohormone wurden in ihrer Wirkung auf das Wachstum von Zellkulturen und Pflanzen-Explantaten untersucht. Die Etablierung der Kalluskultur

erfolgte aus Explantaten von Hypokotyl, Spross und Petiolen. Nach Applizierung des Auxins IES konnte ein verstärktes Zellwachstum gegenüber der Kontrolle beobachtet werden. Der negative Einfluss von Zytokinen wird erkennbar in einem deutlich geringeren Zellwachstum auf Medien mit BAP und Kinetin im Vergleich zur Kontrolle. Dieser negative Einfluss wurde durch eine Erhöhung des ab einer bestimmten Konzentration toxisch wirkenden Kinetin verstärkt.

Bei Hypokotyl-Explantaten wurde sowohl über das Auxin Naphtylelessigsäure (NES) 0,1 ppm als auch das Zytokinin 6-Benzylaminopurin (BAP) 0,1 ppm Sprossbildung induziert. Die aktive Phase zur Sprossinduzierung reicht bei Borretsch-Kallussen von der zweiten bis fünften Subkultur. Mit einer Kombination von NES 0,01 ppm + BAP 0,5 ppm konnten bei 24 Kallussen 27 Sprossdifferenzierungen induziert werden. In einem weiteren Versuch mit Indol-Buttersäure (IBS) 1 ppm konnte ebenfalls Sprossdifferenzierung erreicht werden. Mit einer hohen Konzentration von IES 5 ppm als auch mit NES 5 ppm wurde die Embryogenese induziert.

Angesichts der erfolgreichen Induzierung der Organogenese und der Embryogenese kann die Zell- und Gewebekultur in den Dienst der Borretschzüchtung gestellt werden. Eine züchterische Bearbeitung leistungsfähiger Pflanzen unabhängig von natürlichen Vegetationsperioden ist somit möglich.

Um Ansätze zu einer Optimierung der **ackerbaulichen Nutzung** zu geben, wurde im Rahmen dieser Arbeit ein Erntegerät zur Verbesserung des Ernteertrages konstruiert, mit dem das Ernteergebnis im Vergleich zur Schwadablage um 74 % verbessert wurde.

Der Mähdrusch ist als Erntemethode für den Borretsch nicht zu empfehlen, da ein ausreichender Trocknungszustand trotz Sikkation nicht erreicht wird. Die für ein dreschfähiges trockenes Erntegut erforderliche lange Trocknungszeit führt zwangsläufig zu einem erheblichen bis totalen Ausfall der Samenkörner.

Die im **Pflanzenbau** durchgeführten Untersuchungen hatten das Ziel, eine optimale Bestandesdichte zur Verbesserung des Kornertrags zu finden. Bei einer Reihenweite von 31,3 cm und einer Bestandesdichte von 20 Pflanzen/m² konnte der höchste Ertrag von 1,7 dt/ha erzielt werden. Die zwischen den einzelnen Faktorstufen festgestellten Unterschiede waren jedoch statistisch nicht signifikant.

7 Summary

The main interest of this dissertation is the investigation of possibilities to improve the utilisation of borage as a medical plant.

Gamma-Linolenic Acid, which is contained in the borage seed, is an important pharmaceutical agent. Thus the focus of this work consists of various **measures of cultivation** in order to increase the proportion of Gamma-Linolenic Acid (GLA) in the total fat content and simultaneously to decrease the proportion of Eruca Acid (EA).

Up to generation I6, the contents of GLA could be improved up to 27,9 % or 32,0 % respectively, the contents of EA could be reduced to a level of 1,8 % - 2,2 %. With these results the objective was achieved.

By way of genetic mutation experiments certain characteristics of the plant were to be improved, like an epigynous inflorescence and a "stalk-type" with reduced leaf growth. Stalk-type mutations were initiated by ethylmethanesulphonate, but they disappeared in the subsequent generation – presumably by repair effects. Unfortunately this experiment could not be continued due to botrytis infestation. The mutations achieved in these experiments – as in experiments reported by other authors – indicate the possibility, that a stalk-type growth of the borage plant might be achieved by these measures. Apart from these effects neither the treatment with ethylmethanesulphonate nor with gamma-rays showed the intended result of an epigynous inflorescence.

By a treatment of the seed with neutron radiation of 10 kW for 207 s a rather firm hold of the seed in the blossom could be achieved. A mutation with mature seed in connection with closed sepals could not be observed. The proportion of seed with a firm hold in the blossom could be improved from 10,7 % to a level of 20,2 %. A further increase of the results could not be achieved in spite of continued selection of the appropriate plants. Nonetheless due to the positive effect of neutron radiation on borage further experiments appear to be promising.

In order to find a means to intensify borage cultivation a survey was performed to examine, if cultivation by cell- and tissue culture facilitates the cultivation of high-performance borage plants. As a prerequisite the plants have to be decontaminated as thoroughly as possible. With NaOCl cum ethyl alcohol the best results could be achieved, but the contamination level after the treatment was still 18 % or 28 % respectively. This rather high level of contamination involves a risk to successful cultivation. Likewise the disinfection experiments with H₂O₂ were unsatisfactory since the contamination level of 26,7 % was rather high.

Several phytohormones were examined with regard to their effect on the growth of **cell cultures and explants**. The callus culture was prepared from hypocotyl, sprout and

petioles. After the application of the auxin indole acetic acid (IAA) an intensified cell growth in comparison with the control group could be observed. The inhibiting influence of cytokines is made evident by the considerably lesser cell growth on media treated with 6-benzylaminopurin (BAP) and Kinetin in comparison with the control group. This influence is enhanced by the increase of the level of Kinetin, which in larger doses has a toxic effect.

In the hypocotyl explants the development of sprouts could be induced both by the application of the auxin naphthylacetic acid (NAA) 0,1 ppm and of the cytokine 6-benzylaminopurin 0,1 ppm. The active period for the inducement of sprouts stretches from the second to the fifth subculture. By way of a combination of NAA 0,01 ppm and BAP 0,5 ppm a number of 27 differentiations of sprouts could be induced in 24 calluses. In another experiment with indole-3-butyric acid 1 ppm (IBA) the differentiation of sprouts could also be achieved. Employing a high concentration of IAA 5 ppm or NAA 5 ppm respectively resulted in embryogenesis in both cases.

Considering the successful inducement of organogenesis and embryogenesis the cell- and tissue culture can be put into service for borage cultivation. Therefore a cultivation of highly productive plants independent of vegetation periods is possible.

To provide an initial step towards an optimization of **agricultural cultivation** of borage, a harvesting machine was constructed in the course of this dissertation to improve the yield of borage seed. In this way the crop was increased by 74 %.

The use of combine harvesters for borage is not to be recommended, because an appropriate state of dryness cannot be achieved in spite of desiccation. Extending the desiccation process long enough to gain the required state of dryness would mean a total loss of the seed.

The experiments in **crop farming** pursued the objective of finding optimal density of stand with respect to an increase of the yield of borage seed. The highest yield (1,7 dt/ha) could be achieved with a row distance of 31,3 cm and a density of stand of 20 plants/m².

8 Literaturverzeichnis

- AVERVANOV, A.A.; LAPIKOVA, V.P.; PASECHNIK, T.D.; KUZNETSOV, V.V.;
BAKER, C.J. (2007): Suppression of early stages of fungus development by hydrogen peroxide at low, Plant pathology journal PPJ. 6(3), S. 242-247
- AWAN, M.A.; BARI, G. (1979): Mutagenic effects of fast neutrons and gamma rays in rice. Nucleus, Pakistan. 16. ½, 33 – 38 . 24 ref.
- BAETZEL, R. (1996): Untersuchungen zu Variation der Fettsäureanteile in Borretschsamen (*Borago officinalis*), Diplomarbeit, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Universität Gießen
- BARKER, D.J.P.; GODFREY, K.M.; GLUCKMAN, P.D.; HARDING, J.E; OWENS, J.A.; ROBINSON, J.S. (1993): Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life, The Lancet, Volume 341, Issue 8850, S. 938-941
- BASU, S. K., ACHARYA, S. N.; THOMAS, J. E. (2007): Genetic Improvement of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) through EMS induced Mutation Breeding for higher Seed Yield under western Canada Prairie Conditions, Euphytica, Volume 160, Issue 2, pp. 249-258
- BEESE, G. (2010): Ertragsleistung, Standorteignung und Qualitätseigenschaften von Sareptasenf (*Brassica juncea* L. Czern.) Bundessortenamt Journal of Agronomy and Crop Science Volume 166, Issue 3, S. 120
- BERGER, F. (1954): Handbuch der Drogenkunde, Band 4, Verlag Wilhelm Maudrich, Wien
- BERTI, M.; WILCKENS, R.; FISCHER, S.; ARAOS, R. (2002): Borage: A new crop for Southern Chile. In: J. Janick and A. Whipkey (eds.), Trends in new crops and new uses. ASHS Press, Alexandria, VA., S. 501–505
- BERTI, M.; FISCHER, S.U.; WILCKENS, R.L.; HEVIA, M.F.; JOHNSON, B.L. (2010): Borage (*Borago officinalis*) Response to N, P, K and S Fertilisation in South Central Chile, Chilean Journal of Agricultural Research 70 (2), S. 228-236
- BEWLEY und BLACK (1994), zit in ODENBACH (1997): Biologische Grundlagen der Pflanzenzüchtung Parey Buchverlag Berlin, S.37
- BEWLEY, J.D., BLACK, M. (1994) Seeds – Physiology of Development and Germination, Plenum Press, New York, London
- BORGMANN, Friedhelm, (1978): Lehrbuch des Pflanzenbaus

- BUNDESGESUNDHEITSBLATT Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz
(2003): 46(1), S. 72–95
- BUNDESVEREINIGUNG DEUTSCHER APOTHEKERVERBÄNDE (1999) Deutscher
Arzneimittel-Codex (DAC)
- CERGEL, S.; HONERMEIER, B. (2003): Untersuchungen zum Einfluss der
Lufttemperatur und N-Ernährung auf Kornbildung, Ölgehalt und
Fettsäurezusammensetzung der Samen von Borretsch (*Borago officinalis* L.),
Mitt. Ges. Pflanzenbauwiss. 15, S. 215-218
- CHEESEMAN, John M. (2006): Hydrogen peroxide concentrations in leaves under
natural conditions, Journal of experimental botany. July. 57(10), S. 2435-2444
- COHEN, Z.; HEIMER, Y.M. (1990): delta 6 desaturase inhibition. A novel mode of
action of norflurazone, Plant physiology. May. 93(1), S. 347-349
- COLE, T.C.H.; HILGER, H.H. (2010): Angiosperm Phylogeny Flowering Plant
Systematics, Biologie, FU-Berlin
- COLLIN, H.A.; EDWARDS, S. (1998): Plant Cell Culture, BIOS Scientific Publishers,
Oxford
- CRONQUIST, A. (1981): Cronquist, Arthur. An integrated system of classification of
flowering plants - New York: Columbia Univ. Press&Guildford, Surrey
- CROWE, L.K. (1971): The polygenic control of outbreeding in *Borago officinalis*,
Heredity 27, S.111–118
- DAC (1999): Der Deutsche Arzneimittel-Codex 99, ABDA - Bundesvereinigung
Deutscher Apothekerverbände, Berlin
- DAS, B.; GOSWAMI, L; RAY, S; GHOSH, S.; BHATTACHARYYA, S; DAS, S;
MAJUMDER, A.L. (2006): Agrobacterium - mediated Transformation of brassica
juncea with a Cyanobacteria (Synecocystis PCC6803) Delta-6 Desaturase
Gene leads to Production of γ -linolenic Acid Plant cell, tissue and organ culture.
Aug. 86/2, S. 219-231
- DHARMANANDA, S. (2009): SAFETY ISSUES AFFECTING HERBS:
PYRROLIZIDINE ALKALOIDS, Institute for Traditional Medicine, Portland,
Oregon <http://www.itmonline.org/arts/pas.htm>
- ENGLER, M.M., ENGLER, M.B.; PAUL, S.M. (1992): Effects of dietary borage oil rich
in gamma-linolenic acid on blood pressure and vasculare reactivity, Nutrition
research, Apr./Mai, 12(4-5), S. 519-528

- FELL, K.R.; PECK, J.M. (1968): The Anatomy of the Leaf and Flower of *Borago officinalis* L., *Planta Medica* 16: S. 29-42
- FISCHER, G.; KRUG, E. (1947): Heilkräuter und Arzneipflanzen, 6. Auflage, Haug Verlag, Heidelberg
- FOSTER, R. H.; HARDY, G.; ALANY, R. G. (2010): Borago Oil in the treatment of atopic Dermatitis, *Nutrition*, Volume 26, Issues 7-8 July-August 2010, S. 708-718
- FRANCIS, C.M. ; CAMPBEET, M. C. (2003): New high quality oil seed crops for temperate and tropical Australia, RIRDC Publication No 03/045
- FRIEDT, W.; ORDON, F. (2000): Pflanzenzüchtung – Klassische und moderne Methoden, in Lehrbuch des Pflanzenbaus, Verlag Th. Mann Gelsenkirchen
- GALLE, A.M., JOSEPH, M.; DEMANDRE, C., GUERCHE, P., DUBACQ, J. P.; OURSEL, A.; MAZLIAK, P.; PELLETIER, G., KADER, J. C. (1993): Biosynthesis of γ -linolenic acid in developing seeds of borage (*Borago officinalis* L.) *Biochimica et Biophysica Acta*, International journal of biochemistry and biophysics, Aug. 20, 1158 (1) S. 52-58
- GÁLVEZ, C.; HARO, A. de (2002): First Field Trials of Borage (*Borago officinalis* L.) in Andalusia (Southern Spain) as a Source of “Biological” Gamma Linolenic Acid, *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, Volume 9, Issue 2 & 3, S. 89–93
- GHADERI, F. A.; SOLTANI, A.; SADEGHIPOUR, H. R.: (2008): Cardinal Temperatures of Germination in Medicinal Pumpkin (*Cucurbita pepo* convar. *pepo* var. *styriaca*), Borage (*Borago officinalis* L.) and Black Cumin (*Nigella sativa* L.), *Asian journal of Plant Sciences* 7 (6), S. 574-578, 2008
- GILBERTSON, P.K.; JOHNSON, B. L. ; BERTI, M. T. ; HALVORSON, M. A. (2007). Seeding Date and Performance of Specialty Oilseeds in North Dakota, ASHS Press, Alexandria, VA
- GOOL, VAN C.J.; THIJS, C.; HENQUET, C.J.M.; HOUWELINGEN, A.C.VAN; DAGNELIE, P.C.; SCHRANDER, J. MENHEERE, P.P.C.A.; BRANDT, P.A.VAN DEN (2003): γ -linolenic Acid Supplementation for Prophylaxis of atopic Dermatitis – a randomized controlled Trial in Infants at high familial risk *American journal of clinical nutrition*, Apr. 77(4) S. 943-951
- GOTTSCHLING, M.; Hilger, H. H.; Wolf, M.; DIANE, M. (2001): Secondary Structure of the ITS1 Transcript and its Application in a Reconstruction of the Phylogeny of Boraginales, *Plant Biology*, Volume 3, Issue 6, S. 629–636

- GOUD, N.R., NEOGI, U.; SAUMYA, R. (2007): Fungal Production of Omega-6 Fatty Acid: Gamma-Linolenic Acid, International Journal of Biological Chemistry, Vol. 1, no. 2, S.127-130
- HAGER (1972): Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis, Springer Verlag, Berlin
- HAFID, R. EI.; BLADE, S.F.; HOYANO, Y. (2002): Seeding date and nitrogen fertilization effects on the performance of borage (*Borago officinalis* L.), Industrial crops and products. Nov. 16(3), S.193-199.
- HANNIG, E. (1950): *Borago officinalis* als Heil- und Gewürzpflanze in kritischer experimenteller Betrachtung, Pharmazie 5: S. 35-49
- HEEGER, E.F. (1955): Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenbaus, Deutscher Bauernverlag
- HEEGER, E.F. (1989): Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenbaus, Neuauflage, Harri Deutsch Verlag, Frankfurt/Main.
- HEGI, G. (1927): Illustrierte Flora von Mitteleuropa, Band V, Teil 3, J.F.Lehmann Verlag, München
- HEß, Dieter (1983): Die Blüte. Eine Einführung in Struktur und Funktion, Ökologie und Evolution der Blüten, Eugen Ulmer, Stuttgart
- HEß, Dieter (1999): Pflanzenphysiologie, Verlag Ulmer, Stuttgart
- HILGER, H.H.; SELVI, F.; PAPINI, A.; BIGAZZI, M. (2004): Molecular Systematics of Boraginaceae Tribe Boragineae based on ITS1 and trnL sequences, with special reference to *Anchusa* s.l. Annals of botany. Aug. 94 (2), S. 201–212
- HÖHN, R. (1995): Borretsch, Deutsches Bienen-Journal, 4, S. 49
- HONG, H.; DATLA, N.; REED, D.W.; COVELLO, P.S.; MACKENZIE, S.L.; QIU, X. (2002): High-level Production of γ -linolenic Acid in *Brassica juncea* using a Delta6 Desaturase from *pythium irregulare*, Plant physiology, May. 129(1), S. 354-362
- JACKSON, K.; TERNESTEDT, B.-M.; SCHOLLIN, J. (2003): From alienation to familiarity: experiences of mothers and fathers of preterm infants, Journal of Advanced Nursing, Volume 43, Issue 2, pages 120–129
- JANICK, J; SIMON, JE; Quinn, J.; Beaubaire, N. (1989); Borage: A Source of Gamma Linolenic Acid. In: Craker LE, Simon JE (e d s) Herbs, spices, and medicinal plants. Recent Advances in Botany Horticulture and Pharmacology, vol 4. Oryx Press. Phoenix, USA. pp. 145-68

- JEENNOR, S.; LAOTENG, K.; TANTICHAROEN, M.; CHEEVADHANARAK, S. (2008): Evaluation of inoculum performance for enhancing gamma-linolenic acid production from *Mucor rouxii*, *Applied Microbiology*, Volume 46, Issue 4, pp. 421–427
- KAISER, K.; Karau, A. (2003): Technik biologischer Prozesse, *Chemie Ingenieur Technik* 2003, 75, No. 11
- KAPOOR R.; NAIR, H. (2005): *Gamma Linolenic Acid Oils*, Bioriginal Food & Science Corporation, Saskatoon, Saskatchewan, Canada, Copyright John Wiley & Sons, Inc.
- KHOO, S.K; MUNROE, C.; BATTISTUTTA, D. (1990): Evening primrose oil and treatment of premenstrual syndrome. *Med. J. Aust.* 153(4), S. 189-192
- KNIPP, G. (2000): Untersuchungen zur In-Vitro-Kultur und Mutationseignung von *Borago officinalis* L. Diplomarbeit im Fachbereich Agrarwissenschaften, Ökotoxologie und Umweltschutz JLU Gießen
- KNIPP; G.; MALKO, A.; MARQUARD, R.A.; HONERMEIER, B (2002): Variabilität des Fettsäuremusters bei *Borago officinalis* L. als Grundlagen zur Verbesserung der Ölqualität, *Pflanzenbauwissenschaften*, 6 (2), Verlag Eugen Ulmer GmbH & Co., Stuttgart, S. 72-77
- KNIPP; G.; HONERMEIER, B. (2002): Untersuchungen zur Etablierung der Organogenese als In-vitro-Kultur bei Borretsch (*Borago officinalis* L., *Arznei- und Gewürzpflanzen* 7. Jg.: S.324-328. Agrimedia GmbH, Bergen
- KRISHNAMOORTHY, H.N. (1975): *Gibberilins and Plant Growth*, Wiley eastern Limited New Delhi, S. 91-99
- KUREPIN, L.V.; WALTON, L.J.; REID, D.M.; PHARIS, R.P.; CHINNAPPA, C.C. (2005): Growth and Ethylene Evolution by Shade and Sun Ecotypes of *Stellaris Longipes*, *Plant, Cell & Environment* Volume 29, Issue 4, Calgary, Copyright Blackwell Publishing Ltd., S. 647-652
- LAMONT, D., PARKER, L.; COHEN, M.; WHITE, M.; BENNETT, S.; UNWIN, N.; CRAFT, A.; ALBERTI, K. (1998): Early life and later determinants of adult disease: a 50 year follow-up study of the Newcastle Thousand Families cohort. *Public Health* 112, 85–93.
- LANGSTRÖM, E.; CHASE, M.W. (2002): Tribes of Boraginoideae (Boraginaceae) and placement of *Antiphytum*, *Echiochilon*, *Ogastemma* and *Sericostoma*: A phylogenetic Analysis based on atpB plastid DNA sequence data. *Plant Systematics and Evolution*, Volume 234, Issue 1-4, pp 137-153 Springer Verlag

- KUREPIN, L.V.; WALTON, L.J.; REID, D.M.; PHARIS, R.P.; CHINNAPPA, C.C. (2005): Growth and Ethylene Evolution by Shade and Sun Ecotypes of *Stellaris Longipes*, Plant, Cell & Environment Volume 29, Issue 4, Calgary, Copyright Blackwell Publishing Ltd., S. 647-652
- LINDL, T.; BAUER, J. (1994): Zell-und Gewebekultur, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York
- LONG, S.P.; ZHU, X.G.; NAIDU, S.L.; ORT, D.R. (2006): Can Improvement in Photosynthesis increase Crop Yields? Plant, Cell & Environment
- LÓPEZ-MARTÍNEZ, J.C.; CAMPA-MADRID, P.; GUIL-GUERRERO, J.L. (2004): "γ-Linolenic Acid Enrichment from *Borago officinalis* and *Echium fastuosum* Seed Oils and Fatty Acids by Low Temperature Crystallization". J. BIOSCI. BIOENG., Vol. 97, S. 294-298
- MALCO, A. (1998): Selektionsversuche bei *Borago officinalis* zur Verbesserung der Ölqualität, Diplomarbeit Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I der JLU-Gießen
- MATTHEW, J.P., FOYER, C.H. (2001): Sink Regulation of Photosynthesis, Biochemistry and Physiology Department, IACR Rothamsted, Harpenden, Herts AL5 2JQ, UK
- MERCK (2012): Sicherheitsdatenblatt, Merck KGaA, Darmstadt
- MOMIYAMA, M.; KOSHIBA, T; FURUKAWA, K.; KAMIYA, M.; SATO, M. (1998): Effects of g-Irradiation on Elongation and Indole-3-acetic Acid Level of Maize (*ZES mays*) Coleoptiles, Department of Biology, Tokyo Metropolitan University
- MONTANER, C.; FLORIS, E.; ALVAREZ, J. M. (2001): Geitonogamy: a Mechanism responsible for high Selfing Rates in Borage (*Borago officinalis* L.), Theoretical and applied genetics, 102(2-3), S. 375-378
- MURTHY, B.N.S.; MURCH, S.J.; SAXENA, P.K. (1998): Thidiazuron: A potent Regulator of *in vitro* Plant Morphogenesis, In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant, Vol.34, No.4, S. 267-275
- NAGHDI BADI, H.; SOROSHZADEH, A.; REZAZADEH, SH.; SHARIFI, M.; GHALAVAND, A.; REZAI, A. (2008): Evaluation of Phytochemical and Production Potential of Borage (*Borago officinalis* L.) During the Growth Cycle, Journal of Medicinal Plants, Volume 7, Supplement No. 4
- NEUMANN, K.H. (1995): Pflanzliche Zell- und Gewebekulturen, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart

- NUEZ, H.P.; BERMEJO, J.E.H. (1998): Borage
<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/1492/neglected.html> (08.01.2000)
- ODENBACH, W. (1997): Biologische Grundlagen der Pflanzenzüchtung, Parey
Buchverlag Berlin
- ORDON, F. & . FRIEDT, W. (1998): Von Mendel zum Gentransfer, Verlag Th. Mann,
Gelsenkirchen
- OTTE, A. (2008): Die Temperaturansprüche von Ackerwildkräutern bei der Keimung
- auch eine Ursache für den Wandel im harten Spektrum auf Äckern. Giessener
Elektronische Bibliothek
- PENGTAO WANG and CHUN-PENG SONG (2008): Guard-cell Signalling for
Hydrogenperoxide and abscisic Acid, *New phytologist*, June, 178(4), S. 703-
718, ISSN0028-646X, Laboratory of Plant Stress Biology, Department of
Biology, Henan University, Kaifeng 475001, China
- QUINN, J.; SIMON, J.E.; JANICK, J. (1989): Recovery of γ -Linolenic Acid from
somatic Embryos of Borage, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 114 (3), S. 511-515
- REITER, W-D.; CHAPPLE, C.; SOMERVILLE, C.R. (1997): Mutants of *Arabidopsis*
thaliana with altered Cell Wall Polysaccharide Composition. *Plant J.* 12, S.335-
345; zitiert in: Experimentelle Mutagenese bei *Arabidopsis*,
http://www.wolfganglindemann.net/html/sij_6html
- RIO-CELESTINO DEL, M.; FONT, R.; DE HARO-BAILÓN, A. (2008): Distribution of
fatty Acids in edible Organs and Seed Fractions of Borage (*Borago officinalis*
L.), *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Volume 88, Issue 2, S. 175–
361
- RÖDER, E. (1999): Analysis of Pyrrolizidine Alkaloids, *Current Organic Chemistry*,
Vol.3 No.6
- RÖDER, E.; EDGAR, J. (2001): Linolensäurehaltige Öle aus Boraginaceen,
Deutsche Apotheker Zeitung 141, 554
- RUMP, P.; POPP-SNIJDERS, C.; HEINE, R. J.; HORNSTRA, G. (2002):
Components of the insulin resistance syndrome in seven-year-old children:
relations with birth weight and the polyunsaturated fatty acid content of umbilical
cord plasma phospholipids, *Diabetologia*, 45(3), S. 349-355
- SALMINEN, L. (1997): Biochemische Untersuchungen über die Wirkung endogener
Phytohormone auf Differenzierungsprozesse bei der Mikrovermehrung von
Fragaria x ananassa cv. Ostara als Reaktion auf die in-vitro-Behandlung mit
pflanzlichen Wachstumsregulatoren, Langer GmbH, Eltville

- SANAMYAN, M.F.; RAKHMATULLINA, E.M.; SANAMYAN, M.F. (2007): Estimation of the efficiency of seed irradiation by thermal neutrons for inducing chromosomal aberrations in M1 of cotton *Gossypium hirsutum* L., Russian Journal of Genetics. 43(4), S. 396-403
- SAYANOVA, O., SHEWRY, P.R.; NAPIER, J.A. (1999): Histidine-41 of the cytochrome b5 Domain of the Borage Delta 6 fatty Acid Desaturase is essential for Enzyme Activity, Plant physiology, Oct. 121(2), S. 641-646
- SCHUSTER, W. (1992): Ölpflanzen in Europa, DLG-Verlag, Frankfurt, S. 156-158
- SCHÜTZ, S. (2005): Zoologische Diagnostik 27.07. und 25.08, Untersuchungsergebnis: Pflanzenschutzdienst Hessen
- SELVI, F.; COPPI, A.; BIGAZZI, M. (2006): Karyotype Variation, Evolution and Phylogeny in *Borago* (Boraginaceae), with Emphasis on Subgenus *Buglossites* in the Corso-Sadinian System, Annals of Botany, Oct. 98(4), S. 857-868
- SENGBUSCH, P.v. (2003): Botanik online: Phytohormone - Auxine, www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/d31/31b.htm
- SEWON, P & TYYSTJÄRVI, E. (1993): Stearidonic and γ -linolenic acid Contents of common Borage Leaves, Phytochemistry 1993, Volume 33, Issue 5, S. 1029-1032
- SIMON, J. E.; BEAUBAIRE, N.; WELLER, S. C.; JANICK, J. (1990): Borage: A Source of gamma linolenic acid, zit. in Janick et al. Advances in new crops. Timber Press, Portland, Oregon, S. 528
- SIMON, J.E. et al. (1990): Borage: A Source of gamma linolenic Acid zit. in Gilbertson et al. (2007) Seeding Date and Performance of Specialty Oilseeds in North Dakota, New Crops and new Uses. 2007, Timber Press, Portland, Oregon
- THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP (2009): APG III System Botanical Journal of the Linnean Society 161(2), LONDON, S. 105-21
- THURLING N. and DEPITTAYANAN, V. (1992): EMS Induction of early Flowering Mutants in Spring Rape (*Brassica napus*), Plant Breeding 108, Paul Parey Scientific Publishers, Berlin and Hamburg, S. 177-184
- TORABI, F.; MAJD, A.; ENTESHARI, S. (2012): Effekt of exogenous silicon on germination and seedling establishment in *Borago officinalis* L., Journal of Medicinal Plants Research Vol. 6(10), pp. 1896-1901, 16 March 2012.

- WHITE, A.L. und JAHNKE, L.S. (2002): Contrasting Effects of UV-A and UV-B on Photosynthesis and Photoprotection of β -carotene in two *Dunaliella* spp, Plant and Cell Physiology, Vol. 43, No. 8, S. 877-884
- WIEDENFELD, H.; Röder, E. (1984): Pyrrolizidinalkaloide Struktur und Toxizität, Deutsche Apotheker Zeitung, 124: (43): 2116-2122
- YANIV, Z.; RANEN, C.; LEVY, A.; PALEVITCH, D. (1989): Effect of Temperature on the fatty Acid Composition and Yield of Evening Primrose (*Oenothera lamarckiana*) Seeds, Journal of experimental botany (1989), May. 40 (214), S. 609-613

9 Anhang



Abb.A 1 Borago Blüte und reifender Fruchtstand



Abb.A 2 Neutronen-Mutationsversuch: fester Kornansatz, Gi 6.8.03



Abb.A 3 Vegetative Vermehrung Borago Wurzelbildung



Abb.A 4 Vegetative Vermehrung – nach Wurzelbildung getopft



Abb.A 5 Spross-Bewurzelung nach vegetativer Vermehrung Blatt

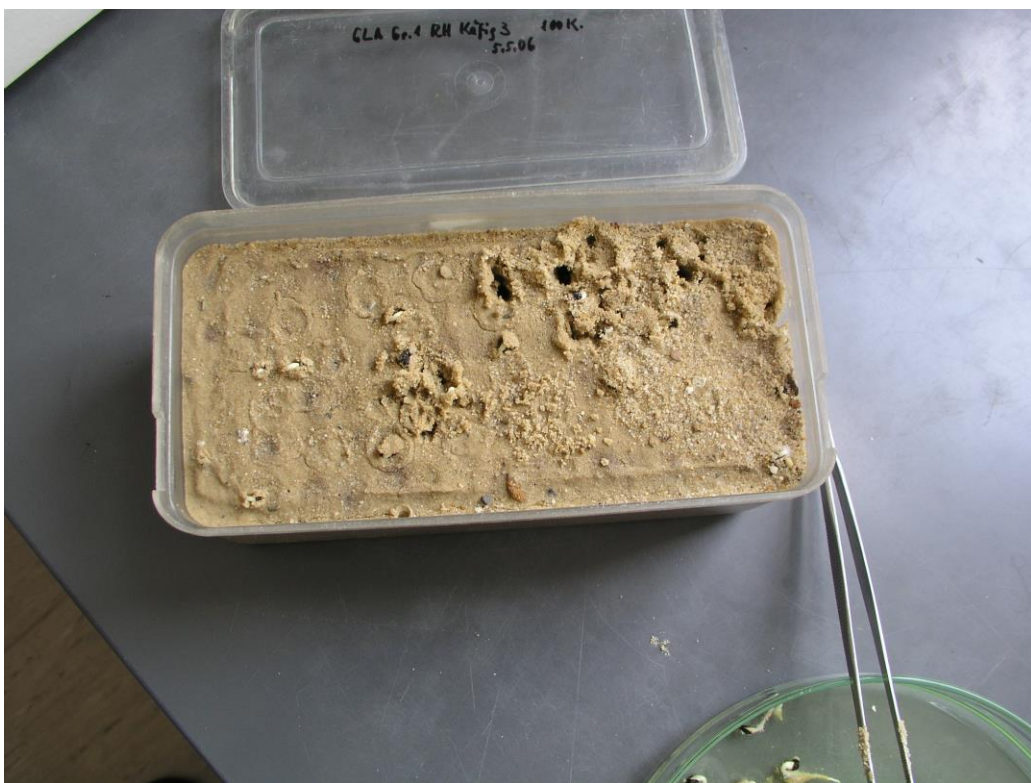


Abb.A 6 Keimender Borretsch in Sand



Abb.A 7 Keimlinge in Chinosollösung vom Keimmedium Sand befreit

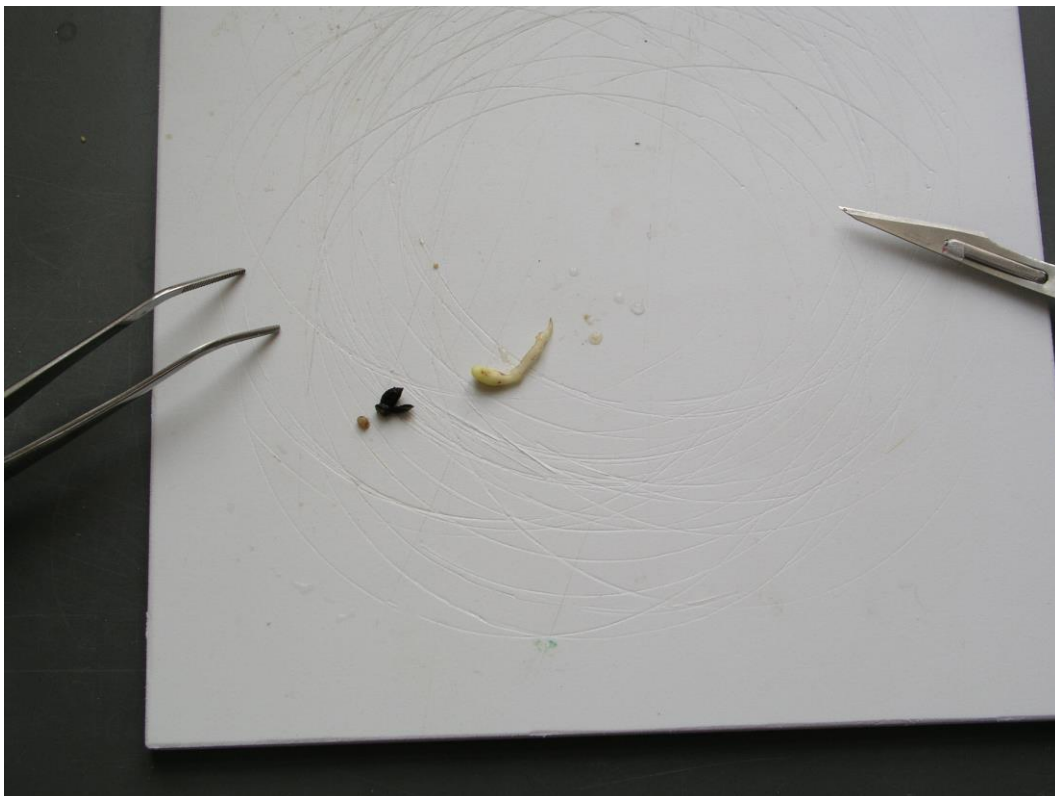


Abb.A 8 HK-Methode: Borago Keimling von Samenschale befreit



Abb.A 9 Keimling mit entnommenem (Teil)-Keimblatt zur GC-Analyse

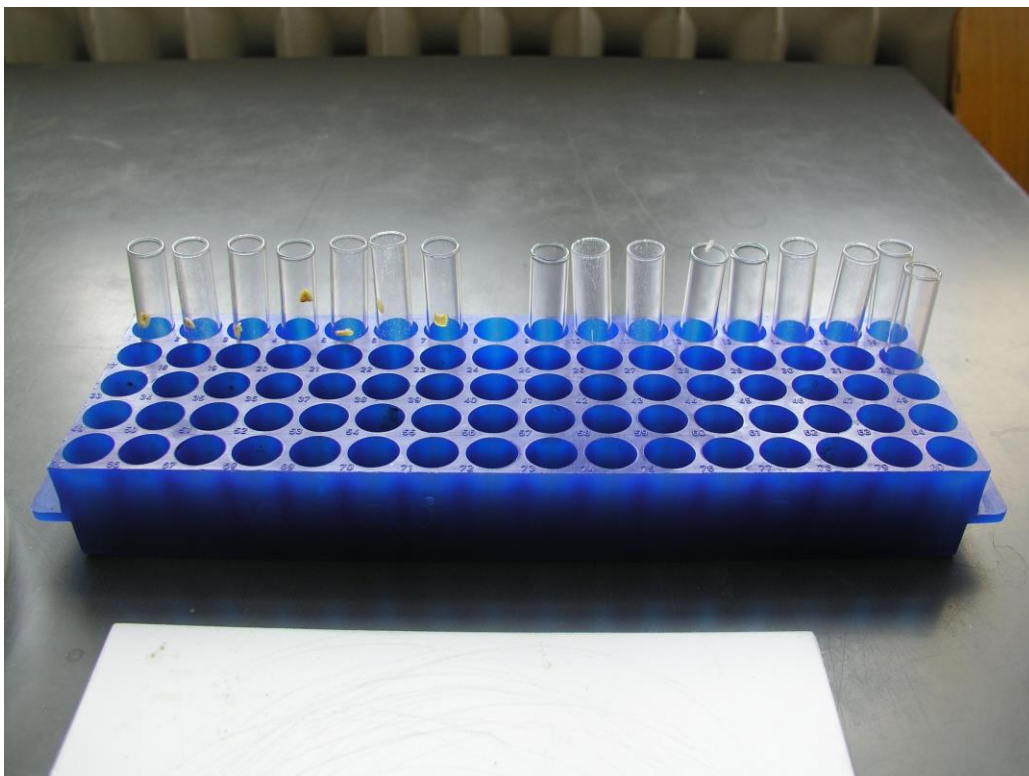


Abb.A 10 Trocknen (Exsikkator) und Homogenisieren von Keimblättern



Abb.A 11 Aufbereitete Proben zur GC-Untersuchung



Abb.A 12 Keimlinge auf mit Filterpapier ausgelegtem feuchten Sandbett



Abb.A 13 Borago-Kallus auf MS-Medium + IES 5,0 ppm

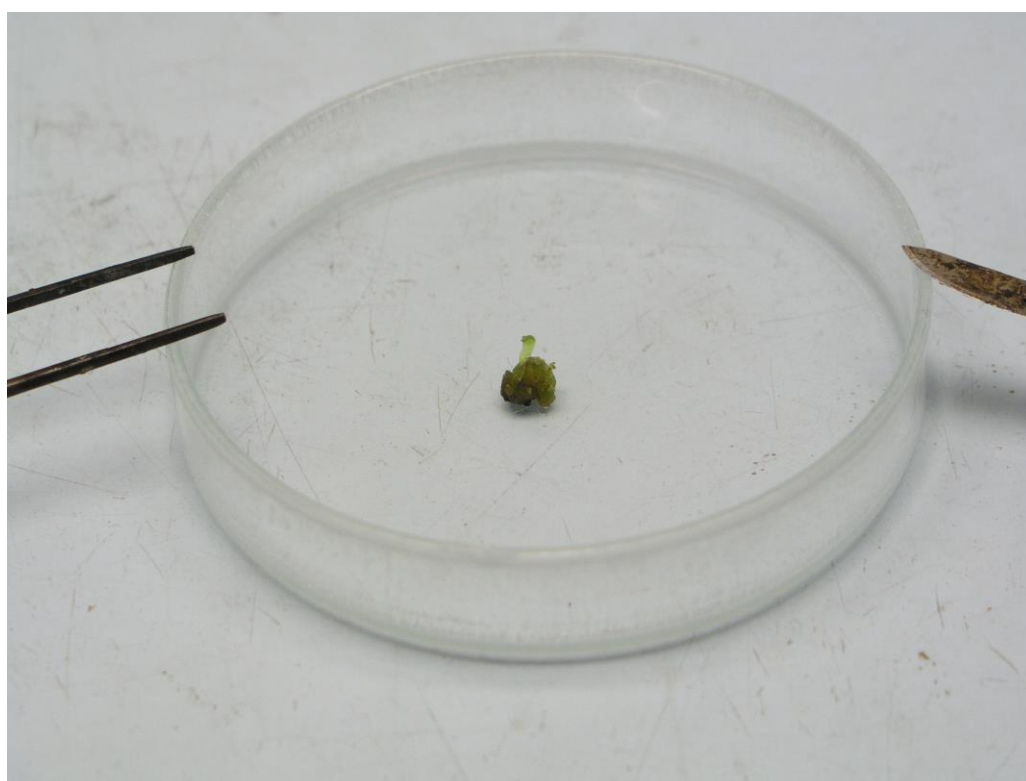


Abb.A 14 Borago-Kallus Differenzierung - Embryogenese

Tab. 69: Zusammensetzung des modifizierten MS-Mediums und der Stammlösungen

Stammlösung	Komponenten	Endkonzentration des MS-Mediums in mg/l	Konzentration der Stammlösung in g/l	Volumen der Stammlösung in ml für 1 l Medium
A	NH ₄ NO ₃	1650	82,5	20
B	KNO ₃	1900	95,0	20
C	KH ₂ PO ₄	170	34,0	5
	KJ	0,83	0,166	
	Na ₂ MoO ₄ x2H ₂ O	0,25	0,05	
	H ₃ Bo ₃	6,2	1,24	
	CoCl ₂ x6H ₂ O	0,025	0,005	
D	CaCl ₂ x2H ₂ O	440	88,0	5
	oder CaCl ₂	332	66,4	
E	MgSO ₄ x7H ₂ O	370	74,0	5
	MnSO ₄ x4H ₂ O	22,3	4,46	
	ZnSO ₄ x7H ₂ O	8,6	1,72	
	CuSO ₄ x57H ₂ O	0,025	0,005	
F	Na ₂ -EDTA	37,3	3,73	10
	FeSO ₄ x7H ₂ O	27,8	2,7	
V	Nicotinsäure	0,5	0,05*	1
	Pyridoxin-HCl	0,5	0,05*	
	Thiamin-HCl	0,1	0,01*	
	Glycin	2,0	0,20*	
weitere Komponenten				
	Myo-Inosit	100		
	Saccharose	15000 - 30000		
	Caseinhydrolysat	100 - 1000		
	Gelrite	3000 - 3500		
	Kokoswasser	5 – 20 %		
Phytohormone				
	BAP	q.s.	q.s.	q.s.
	2,4D	q.s.	q.s.	q.s.
	IBS	q.s.	q.s.	q.s.
	NES	q.s.	q.s.	q.s.
pH-Wert		5,8 (5,0 – 6,5)		

Anmerkung: * = mg/100ml