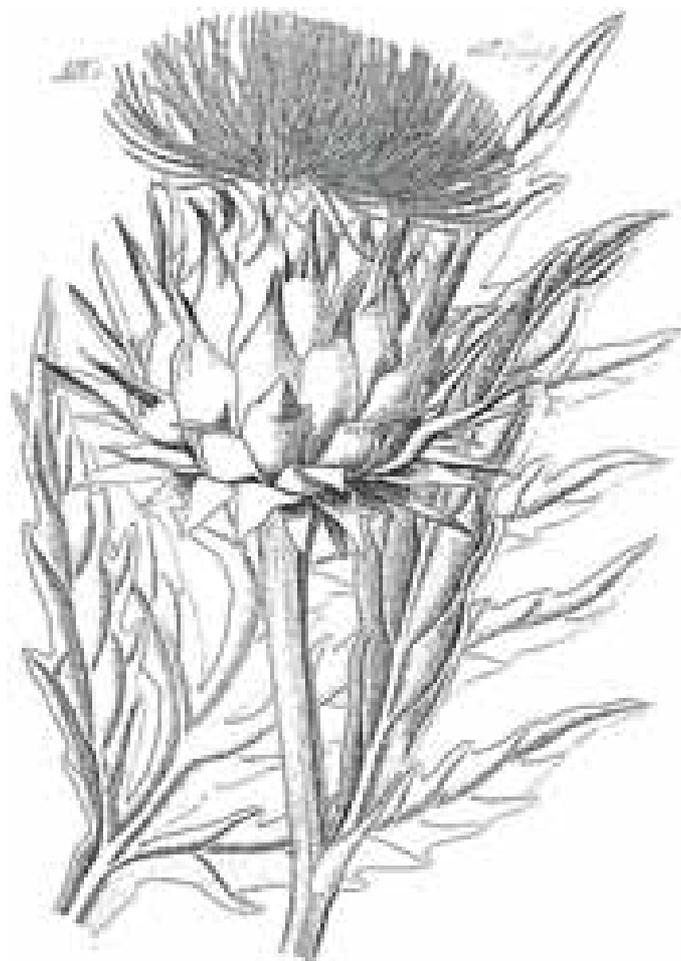


Biologische und pflanzenbauliche Untersuchungen an der Arzneipflanze Artischocke (*Cynara spec. L.*)

Christian Baier



Cuvillier Verlag Göttingen

**Biologische und pflanzenbauliche
Untersuchungen an der Arzneipflanze
Artischocke (*Cynara spec. L.*)**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum agriculturalarum
(Dr. rer. agr.)

eingereicht an der
Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät der
Humboldt-Universität zu Berlin

von
Christian Baier

Bibliografische Information Der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

1. Aufl. - Göttingen : Cuvillier, 2003

Zugl.: Berlin, Univ., Diss., 2002

ISBN 3-89873-722-5

Präsident der

Humboldt-Universität zu Berlin

Prof. Dr. Jürgen Mlynek

Dekan der

Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät

Prof. Dr. U. J. Nagel

Gutachter: 1. Prof. Dr. F. Pohlheim

2. Prof. Dr. F. Kaufmann

Tag der mündlichen Prüfung: 13.12.2002

⊕ CUVILLIER VERLAG, Göttingen 2003

Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen

Telefon: 0551-54724-0

Telefax: 0551-54724-21

www.cuvillier.de

Alle Rechte vorbehalten. Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es nicht gestattet, das Buch oder Teile daraus auf fotomechanischem Weg (Fotokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.

1. Auflage, 2003

Gedruckt auf säurefreiem Papier

ISBN 3-89873-722-5

Für Xenia, Keya, Lara, Irina und Barbara

Die Pflanze gleicht dem eigensinnigen Menschen,
von dem man alles haben kann,
wenn man sie nach ihrer Art behandelt.

JOHANN WOLFGANG VON GOETHE, Die Wahlverwandtschaften

Inhaltsverzeichnis

TABELLENVERZEICHNIS	3
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	4
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	6
1 EINLEITUNG UND ZIELSTELLUNG	7
2 LITERATURÜBERSICHT	9
2.1 Geschichte und Bedeutung der Artischocke	9
2.2 Biologie	11
2.2.1 TAXONOMIE	11
2.2.2 MORPHOLOGIE	12
2.2.3 VERBREITUNG UND STANDORT	13
2.2.4 DOMESTIKATION	14
2.2.5 ENTWICKLUNGSZYKLUS UND REPRODUKTION	15
2.3 Nutzung von <i>Cynara</i>	17
2.3.1 GEMÜSE	17
2.3.2 PHARMAZIE	17
2.3.3 SONSTIGE NUTZUNGSARTEN	18
2.4 Anbauverfahren	19
2.4.1 GEMÜSE	19
2.4.2 BLATTDROGE	21
2.5 Züchtung	23
2.6 Vorgaben zur Qualität der Droge	26
2.7 Pharmazeutisch relevante Inhaltsstoffe und Wirkungsspektrum	27
2.7.1 INHALTSSTOFFE	27
2.7.2 WIRKUNGEN UND WIRKSAMKEIT	29
3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN	31
3.1 Antheren, Ovula und Ovarienkultur mit <i>Cynara spec.</i>	31
3.1.1 MATERIAL UND METHODEN	31
3.1.1.1 Pflanzenmaterial	31
3.1.1.2 Kultivierung der Donorpflanzen	31
3.1.1.3 Nährmedien für die In-vitro-Kultur	32
3.1.1.4 Sterilisation der Blütenstände und Präparation der Explantate	32
3.1.1.5 Bestimmung des Entwicklungsstadiums der Blütenorgane	34
3.1.1.6 Kulturbedingungen und Versuchsvarianten	35
3.1.1.7 Auswertung	36
3.1.2 ERGEBNISSE	37
3.1.3 DISKUSSION	39
3.2 Verhalten pharmazeutisch relevanter Inhaltsstoffe der Artischocke während des Rosettenstadiums	43
3.2.1 MATERIAL UND METHODEN	43
3.2.1.1 Standort, Pflanzenmaterial und -entwicklung	43

3.2.1.2	Blattauswahl und Probenahme	43
3.2.1.3	HPLC-Bestimmung der Inhaltsstoffe	45
3.2.2	ERGEBNISSE	46
3.2.2.1	Pflanzenentwicklung und Blattproben	46
3.2.2.2	CCS-Gehalt	47
3.2.2.3	Flavonoidgehalt	49
3.2.2.4	Vorkommen bestimmter Flavonoide	50
3.2.3	DISKUSSION	52
3.2.3.1	Blattentwicklung	52
3.2.3.2	Inhaltsstoffe	53
3.2.3.3	Chemotypen	56
3.3	Einfluss der Stickstoffdüngung auf Ertrag und Qualität von Artischockenblattdroge	58
3.3.1	MATERIAL UND METHODEN	58
3.3.1.1	Versuchsstandorte	58
3.3.1.2	Versuchsanlage und Versuchsablauf	58
3.3.1.3	Probengewinnung	60
3.3.1.4	Erfassung der Pflanzenentwicklung	61
3.3.1.5	Nach der Ernte ermittelte Daten	61
3.3.1.6	Statistische Auswertung	62
3.3.2	ERGEBNISSE	62
3.3.2.1	Pflanzenentwicklung	62
3.3.2.2	Ertrag und TS-Gehalt	66
3.3.2.3	CCS- und Flavonoidgehalt	69
3.3.2.4	N- und Nitratgehalt	71
3.3.2.5	Nährstoffentzug und N_{\min} -Werte nach der Ernte	73
3.3.3	DISKUSSION	78
3.3.3.1	Pflanzenentwicklung und Ertrag	78
3.3.3.2	Inhaltsstoffe	79
3.3.3.3	Verbleib des Stickstoffs und Nährstoffbedarf	82
4	SCHLUSSFOLGERUNGEN UND AUSBLICK	85
5	ZUSAMMENFASSUNG	91
6	SUMMARY	93
7	LITERATUR	95
	ERKLÄRUNG	109
	DANKSAGUNG	110
	LEBENS LAUF	111

Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Historisch beschriebene Wirkungen der Artischocke (nach ERNST, 1995, geändert und ergänzt)	10
Tab. 2:	<i>Cynara</i> herkünfte für Haploidenversuche	31
Tab. 3:	Versuchsglieder für die Haploidenversuche	35
Tab. 4:	Wachstumsregulatoren für Antheren- und Ovulakultur	36
Tab. 5:	Nährböden für die Kalluskultivierung (K-Medien)	37
Tab. 6:	Anzahl der auf den verschiedenen Nährböden gebildeten Kalli insgesamt und auf die Explantatform bezogen.	38
Tab. 7:	Für die ontogenetischen Untersuchungen verwendetes Pflanzenmaterial	43
Tab. 8:	Übersicht zur Untersuchung der Inhaltsstoffe in unterschiedlich entwickelten Blättern	45
Tab. 9:	Flavonoidvorkommen in den untersuchten Herkünften	50
Tab. 10:	Daten der Standorte für den N-Düngungsversuch	59
Tab. 11:	Daten zur N-Düngung	60
Tab. 12:	Trockensubstanzgehalt (%) der Artischockenblätter aus dem N-Düngungsversuch	67
Tab. 13:	Mittelwerte für den Blattdrogenertrag (t/ha) in Abhängigkeit von Standort und Schnitt.	69
Tab. 14:	Mittelwerte der CCS-Gehalte in der Blattdroge der beiden Schnitte und Standorte.	70
Tab. 15:	Mittelwerte für den Gesamtstickstoffgehalt (%) in der Blattdroge in Abhängigkeit von Standort und Schnitt.	71
Tab. 16:	Mittelwerte für den Nitratgehalt (%) in der Blattdroge in Abhängigkeit von Standort und Schnitt.	72
Tab. 17:	Nährstoffgehalte (%) und Entzugszahlen (kg/ha) von Artischockenblattdroge (n=4/Standort)	77

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Kultivierung der Donorpflanzen (links) und Blütenstand einer Artischocke im für die Explantatentnahme geeigneten Entwicklungsstadium (rechts)	34
Abb. 2:	Ovarien mit Kallusbildung (links) und grüne Ovarien von <i>C. humilis</i> (rechts) jeweils sechs Wochen nach Kulturbeginn (Durchmesser der Petrischale 60 mm)	38
Abb. 3:	Entwicklung der Pflanzen zum Beginn (20.06.97, links) und zum Ende (11.11.97, rechts) des Probenahmezeitraums am Beispiel des Klons A7-2	44
Abb. 4:	Längenentwicklung der Blätter der 3 Probenserien	47
Abb. 5:	Verlauf des CCS-Gehalts der beprobten Blätter	48
Abb. 6:	Quotient aus dem Gehalt von CS und 1,3-DiCCS	49
Abb. 7:	Verlauf des Flavonoidgehalts in den fünf untersuchten Herkunftsn	50
Abb. 8:	Beispiel für Chemotyp I: Flavonoidmuster und -gehalt von Klon A7-2	51
Abb. 9:	Beispiel für Chemotyp II: Flavonoidmuster und -gehalt von Herkunft C104	51
Abb. 10:	Beispiel für Chemotyp IV: Flavonoidmuster und -gehalt von Klon A3-12	52
Abb. 11:	Beziehung zwischen Blattlänge und Frischmasse sowie Trockenmasse der Probenblätter	53
Abb. 12:	Entwicklung der Mittelwerte von CS, 1,3-DiCCS und Gesamt-CCS in den fünf untersuchten Herkunftsn	54
Abb. 13:	Verlauf der Mittelwerte für CCS- und Flavonoidgehalt (n=5/Termin, ab 15.09. n=8/Termin)	55
Abb. 14:	Pflanzenentwicklung am Standort Artern am Beispiel von Stufe a5 (Block 1)	63
Abb. 15:	Abhängigkeit zwischen Blattindex (21.08. und 15.10.) und Frischmasseertrag des 1. und des 2. Aufwuchses (für beide Koeffizienten $\alpha=0,01$)	64
Abb. 16:	Entwicklung des BI in den verschiedenen Behandlungen im 1. und im 2. Aufwuchs am Standort Artern	65
Abb. 17:	Zusammenhang zwischen der Anzahl der Blätter pro Pflanze und dem Blattindex am 21.08. ($\alpha=0,1\%$).	65
Abb. 18:	Frischmasseertrag der 1. und 2. Ernte in Artern und Hohenfinow in Abhängigkeit von der applizierten N-Düngung (n=4)	66

Abb. 19:	Mittelwerte der FM-Erträge von Artischockenblättern aus zwei Ernten an zwei Standorten mit sieben N-Düngungsstufen (n=16, unterschiedliche Buchstaben zeigen Signifikanz bei $\alpha=5\%$).	67
Abb. 20:	Blattdrogenertrag (10 % Restfeuchte) der 1. und 2. Ernte in Artern und Hohenfinow in Abhängigkeit von der applizierten N-Düngung (n=4)	68
Abb. 21:	Mittelwerte der Gesamterträge an Artischockenblattdroge aus zwei Ernten an zwei Standorten mit 7 N-Düngungsstufen (n=8, unterschiedliche Buchstaben zeigen Signifikanz bei $\alpha=5\%$).	68
Abb. 22:	CCS-Gehalt der Blattdroge vom 1. und 2. Schnitt der beiden Standorte (n=4)	69
Abb. 23:	Flavonoidgehalt der Blattdroge in Abhängigkeit von der Stickstoffdüngung (n=4)	70
Abb. 24:	Mittelwerte der CCS- und Flavonoidgehalte in der Blattdroge in Abhängigkeit von der Düngungsstufe (n=16, unterschiedliche Buchstaben zeigen Signifikanz bei $\alpha=5\%$)	71
Abb. 25:	Gesamtstickstoff- und Nitratgehalt in der Blattdroge in Abhängigkeit von der Düngungsstufe (n=16, unterschiedliche Buchstaben zeigen Signifikanz bei $\alpha=5\%$)	72
Abb. 26:	Nitratgehalt (%) in der Blattdroge in Abhängigkeit von Schnitt, Standort und Düngungsstufe (n=4)	73
Abb. 27:	Stickstoffentzug in Abhängigkeit von der Düngungsstufe, getrennt nach Aufwuchs und Standort (n=4)	73
Abb. 28:	Gesamtstickstoffentzug in Abhängigkeit von der Düngungsstufe (n=16, unterschiedliche Buchstaben zeigen Signifikanz bei $\alpha=5\%$)	74
Abb. 29:	Korrelation zwischen Stickstoffdüngung und gesamtem N-Entzug ($\alpha=0,001$)	75
Abb. 30:	Stickstoffentzug und -bilanz an beiden Standorten in Abhängigkeit von der Düngungsstufe	76
Abb. 31:	N_{\min} -Gehalte (0-60 cm) im Boden nach der 2. Ernte im Herbst (Probenahme 11.11.98)	77
Abb. 32:	CCS- und Flavonoidertrag (kg/ha) in Abhängigkeit von Düngung und Erntetermin	80

Abkürzungsverzeichnis

α	Irrtumswahrscheinlichkeit
1,3-DiCCS	1,3-Di-Caffeoylchinasäure
1,5-DiCCS	1,5-Di-Caffeoylchinasäure
2,4-D	2,4-Dichlorphenoxyessigsäure
2iP	N ⁶ -(Δ^2 -isopentenylamino)purin
BAP	Benzylaminopurin
BI	Blattindex
CCS	Caffeoylchinasäure
CS	Chlorogensäure
CW	Kokoswasser
dt	Dezitonne
FM	Frischmasse
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IAA	Indolessigsäure
KIN	Kinetin
L7G	Luteolin-7-O- β -glucuronid
LTM	Lufttrockenmasse = Droge
MW	arithmetischer Mittelwert
N	Stickstoff
N _{min}	mineralisierter Stickstoff
NAA	α -Naphtylelessigsäure
R ²	Bestimmtheitsmaß
spec.	Spezies
subsp.	Subspezies
TDZ	Thidiazuron
TS	Trockensubstanz
ZEA	Zeatin

1 Einleitung und Zielstellung

Extrakte aus Artischockenblättern haben in den letzten Jahren stetig an therapeutischer Bedeutung gewonnen, da sie mittels klinischer und pharmakologischer Untersuchungen in ihrer Wirkung bei Verdauungs- und Fettstoffwechselstörungen abgesichert sind (KIRCHHOFF et al., 1993; FINTELMANN, 1996; GEBHARDT, 1996; KRAFT, 1997; ENGLISCH et al., 2000). Die hohe wissenschaftliche Akzeptanz hat ein zunehmendes Interesse an der Vermarktung geweckt und die Zahl der Präparate deutlich ansteigen lassen. Allein im Jahr 1999 wurden 12 Neuzulassungen veröffentlicht, was die Zahl der zugelassenen Präparate etwa verdoppelte (BRAND, 1999). Eine große Bedeutung hat die Artischocke mit ca. 290 Präparaten beispielsweise auch auf dem brasilianischen Markt (GONZALES ORTEGA et al., 1989). Dort ist die Pflanze seit langem offizinell (CÓDIGO PHARMACÊUTICO BRASILEIRO, 1959). Der mittlerweile in Deutschland erreichte Jahresumsatz von derzeit ca. 73 Mio. € (Zwölfmonatswert zu Endverbraucherpreisen 11/2001; NIELSEN, 2001) in Apotheken, Drogerien und Lebensmitteleinzelhandel spiegelt die enorme Bedeutung von Artischockenpräparaten hierzulande wider. Die Apotheken haben mit etwa 71 % den größten Marktanteil.

Für die Erzeugung hochwertiger Arzneiextrakte werden als Rohstoff große, möglichst homogene Drogenchargen definierter Qualität benötigt. Die Droge für Artischockenpräparate mit einem hohen Qualitätsanspruch wird zunehmend durch einen kontrollierten Anbau von Artischockenblattkulturen vor allem in Deutschland bereitgestellt. Wichtige Voraussetzung für den erfolgreichen Anbau ist ein einheitliches Ausgangsmaterial. Qualitätsmerkmale (z.B. Morphologie und Inhaltsstoffspektrum) sind primär durch die Auswahl und die Vermehrung der eingesetzten Herkünfte bzw. Sorten definiert. Dies gilt ganz besonders für die Erzeugung von Artischockenblattdroge, da die verfügbaren Sorten deutliche Unterschiede sowohl im qualitativen als auch im quantitativen Inhaltsstoffprofil aufweisen (LATTANZIO et al., 1975; DAMATO und BIANCO, 1981; WAGENBRETH, 1996; WAGENBRETH und EICH, 1996; WAGENBRETH et al., 1996).

Der Anbau von Artischocken speziell zur Erzeugung getrockneter Artischockenblätter für die pharmazeutische Verwendung wurde erst in den letzten Jahren in Deutschland etabliert (WAGENBRETH et al., 1996; BAIER und HANNIG, 1998; BRAND, 1999). Nach der Prüfung verschiedener Sorten und Herkünfte hinsichtlich ihrer Eignung für diesen Anbau und dem Aufbau einer Samenvermehrung für das ausgewählte Pflanzenmaterial sind weitere Untersuchungen notwendig, um die Drogenqualität weiter zu verbessern. Außerdem brauchen die Anbauer Empfehlungen für eine umweltgerechte und qualitätssichernde Düngung. Nicht

zuletzt müssen Grundlagen erarbeitet werden, wie kurzfristig durch Anbaumaßnahmen und längerfristig z.B. durch Züchtung auf mögliche neue Qualitätsanforderungen an die Artischockenblattdroge durch neue Erkenntnisse in der Pharmakologie reagiert werden kann. Mit der vorliegenden Arbeit werden einige dieser Themen aufgegriffen.

Ziele der Arbeit:

Über die Erzeugung von Artischockenblattdroge ist bislang nur wenig Literatur vorhanden. Mit den hier beschriebenen Versuchen sollen einige grundlegende Lücken geschlossen und Voraussetzungen für die Planung vertiefender Untersuchungen gelegt werden.

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war zu prüfen, ob mit Techniken der In-vitro-Kultur haploide bzw. dihaploide Artischockenpflanzen erzeugt werden können. Mit einem entsprechenden Verfahren kann im Vergleich zur konventionellen Züchtung schnell homozygotes Pflanzenmaterial erzeugt werden. Dieses bildet auch nach generativer Vermehrung homogene Nachkommenschaften, die Voraussetzung für eine einheitliche Artischockenblattdroge aus einjährigem Anbau auf der Basis von Saatgut sind. Ein großes Spektrum unterschiedlicher Genotypen sollte geprüft werden, weil von anderen Pflanzenspezies bekannt ist, dass große Unterschiede in der Eignung einzelner Genotypen für die Erzeugung haploider Individuen bestehen können.

Die weiteren Untersuchungen sollten zeigen, wie sich CCS- und Flavonoidgehalte während des Wachstums der Pflanzen im Rosettenstadium verhalten. Daraus können Grundlagen für die Optimierung des Erntezeitpunkts und für die vergleichende Beurteilung der pharmazeutischen Qualität verschiedener Sorten und Herkünfte abgeleitet werden. Außerdem sollte geprüft werden, ob die Kriterien für eine Einteilung in verschiedene Chemotypen bzw. die dafür herangezogenen Parameter, wie sie von anderen Autoren beschrieben worden sind, unabhängig von der Pflanzenentwicklung sind.

Einen entscheidenden Einfluss auf die Qualität der Droge hat bei den meisten Arzneipflanzen das Angebot an verschiedenen Nährstoffen, insbesondere von Stickstoff. Der Einfluss des Stickstoffangebots im Anbau von Artischocken zur Erzeugung von Blattdroge sollte anhand verschiedener Parameter wie z.B. Ertrag und Inhaltsstoffe erfasst und quantifiziert werden. Die Ergebnisse können zur Optimierung der Drogenerzeugung und zur Verbesserung des Gehalts an pharmazeutisch relevanten Inhaltsstoffen beitragen. Außerdem ist eine bedarfsgerechte Stickstoffversorgung ein wichtiger Bestandteil eines umweltverträglichen Anbauverfahrens.

2 Literaturübersicht

Aus der Gattung *Cynara* können sowohl Herkünfte der Artischocke und der morphologisch und taxonomisch nicht eindeutig abgegrenzten Kardone (auch Cardy) pharmazeutisch genutzt werden (BRAND, 1999), weshalb in den weiteren Ausführungen beide Kulturformen berücksichtigt werden.

2.1 Geschichte und Bedeutung der Artischocke

Einen kulturgeschichtlichen Überblick zur Artischocke hat REINHARDT (1911) zusammengestellt. Demnach wurde bereits bei den Ägyptern die Artischocke auf Opfertischen und Frucht-tabulets abgebildet. Aus dem 8. Jahrhundert v. Chr. ist der erste Nachweis aus Griechenland bekannt. Von Theophrast (371 v. Chr.) stammt eine der ersten ausführlichen Beschreibungen der Pflanze. Bei den Römern war sie als Speise der Reichen beliebt. Der griechisch-römische Arzt Galenos empfiehlt den Verzehr bereits im 2. Jahrhundert nach Christus. Erste Anleitungen zur Kultivierung haben die Römer Columella (*De Rei Rusticae*) im 1. Jahrhundert n. Chr. und Palladius um 380 n. Chr. verfasst. Bereits zu dieser Zeit waren mehrere Sorten bekannt (TITTEL, 1986). Im Mittelalter geriet der Gebrauch der Pflanze wieder in Vergessenheit (BECKER-DILLINGEN, 1924). Zu Anfang des 15. Jahrhunderts drang die Pflanze nach Frankreich und später auch nach England vor. In Deutschland waren Artischocke und Kardone mit Sicherheit im 17. Jahrhundert bekannt. ELBHOLTZ (1648) beschreibt die Kultivierung im Garten und die Zubereitung in der Küche sowohl für „Artschocken“ als auch für „Cardonen“. Die Bedeutung der Kultur bleibt dabei aber ungewiss. Die Artischockenforschung begann nach dem 2. Weltkrieg mit Untersuchungen zur Verbesserung der Anbautechnik (BASNIZKY, 1985). Eine Grundlage für die weitere Entwicklung stellen die Untersuchungen zur Blütenbiologie von FOURY (1967 und 1969) in den 60er Jahren dar.

HALTER et al. (2000a) konstatieren der Artischocke in Deutschland durch die intensive Untersuchung und Veröffentlichung medizinischer Studien in den letzten Jahren einen steigenden Bekanntheitsgrad und somit zunehmenden Bedarf auch als Gemüse. Erste Untersuchungsergebnisse zeigten die Möglichkeit, den Markt in Deutschland in einem gewissen zeitlichen Umfang aus eigenem Anbau zu bedienen und die klimabedingte niedrige Versorgung im Sommer aus den traditionellen Anbaugebieten auszugleichen (HALTER und SCHNITZLER, 2000; HALTER et al., 2000b).

Als Gemüse werden Teile der unreifen Blütenstände der Artischocke frisch, eingelegt oder tiefgefroren genutzt. Die FAO-Statistik (FAO, 2002) weist für 2001 eine Anbaufläche von 122.500 ha weltweit mit einem Gesamtertrag von 1,37 Mio. t aus. Italien (50.000 ha), Spanien

(19.000 ha) und Frankreich (12.500 ha) sind mit Abstand die Länder mit der größten Produktion.

Von der sehr eng verwandten Kardone werden die gebleichten fleischigen Blattstiele als Gemüse verzehrt. Hauptanbauländer sind auch hier Italien, Spanien und Frankreich wobei die Gesamtproduktion wesentlich geringer ist als bei Artischocken (VOGEL, 1996). So nennt QUINTERO (1986) beispielsweise für Spanien eine Anbaufläche von 1.350 ha.

Einen Überblick über die geschichtliche Entwicklung der Artischocke als Heilpflanze haben MAYR und FRÖHLICH (1965) sowie ERNST (1995) zusammengestellt (Tab. 1).

Tab. 1: Historisch beschriebene Wirkungen der Artischocke (nach ERNST, 1995, geändert und ergänzt)

antirheumatisch, galletreibend und harntreibend	Antike
Magenstärkung, Gebärmutterwirkung	100
„verstopfte Lebern und Nieren“	1667
harntreibend, Aperitivum	1714
Gelbsucht und Leberinsuffizienz	1716
Gelbsucht, Gelbsucht und Leberinsuffizienz, Blutandrang an der Niere	1751
akuter Gelenkrheumatismus	1823, 1833
Gelbsucht und Leberinsuffizienz	1835, 1837, 1842
akuter Gelenkrheumatismus	1843
Diureseförderung	1848
Gelbsucht	1850
Gelbsucht und Leberinsuffizienz	1851
harntreibend	1929
Cholereuse	1930
Verhinderung der Arsen-bedingten Fettdegeneration der Leber (Tier)	1930
Isolierung von Cynarin, Behandlung der Hypercholesterinämie	1934
Verbesserung der Leberwerte	1935
Atherosklerose, Steigerung der Cholesterolyse	1942
Aufklärung der chem. Struktur des Cynarin (Dicaffeoylchinasäure)	1954
Cholereuse	1957
dyspeptische Beschwerden (Monographie der Kommission E)	1988
Cholereuse (Doppelblindstudie)	1993
Zellprotektive Wirkungen an isolierten primären Hepatozyten	1995
Antioxidative Wirkung	1995
Hemmung der Cholesterinbiosynthese (¹⁴ C-Acetat-Einbau)	1995
antidyspeptisch und lipidsenkend	1996
antioxidativ und hepatoprotektiv	1997
Hemmung Cholesterin-Biosynthese und LDL-Oxidation	1997
cholesterinsenkend	2000

Bereits sehr früh beruhte die arzneiliche Anwendung der Artischocke auf der Nutzung ihrer Blätter. Die Araber nutzten die Kenntnisse der Römer über die verdauungsfördernde Wirkung weiter und führten den Saft der Blätter, Kinkarzac genannt, medizinischen Zwecken zu. Auch Hieronymus Bock (1630) beschrieb die Kraft und die Wirkung des Extrakts aus den Blättern. Einen Überblick über die wissenschaftlichen Aktivitäten zwischen den Jahren 1990 und 1999, die von einem ausgeprägten Interesse an der Artischocke aller für Phytopharmaka relevanten Teildisziplinen gekennzeichnet waren, hat BRAND (1999) zusammengestellt.

2.2 Biologie

2.2.1 Taxonomie

Die Gattung *Cynara* L. gehört zur Familie der Asteraceae, Tribus Cardueae, und umfasst folgende acht Arten: *C. humilis*, *C. cyrenaica*, *C. algarbiensis*, *C. cornigera*, *C. baetica*, *C. syriaca*, *C. auranitica* und *C. cardunculus*. WIKLUND (1992) hat eine taxonomische Revision dieser Gattung durchgeführt. Diese Untersuchungen führten unter anderem zu dem Ergebnis, dass es sich bei Kardone und Artischocke nicht um eigenständige Arten handelt, sondern um Kulturformen, die zum Taxon *Cynara cardunculus* L. subsp. *flavescens* Wikl. zu rechnen sind. Die Kulturformen Artischocke und Kardone teilen zwei Merkmale mit der wilden *C. cardunculus*: das Vorkommen von Sekretgängen im Stängel und die Abwesenheit von peitschenförmigen Haaren. Die Subspecies *flavescens* weist als Unterscheidungsmerkmal im oberen Teil der mittleren Bracteen (Deckblätter) einen deutlichen 0,5-1,0 mm breiten gelblichen Rand auf.

Untersuchungen anderer Autoren bestätigen die Aussage, dass die früheren Bezeichnungen *C. scolymus* und *C. cardunculus* für Artischocke bzw. Kardone nicht gerechtfertigt sind, da es sich nicht um eigenständige Arten handelt. Dies haben bereits ZOHARY und BASNIZKY (1975) nach ihren Kreuzungsversuchen zwischen *C. cardunculus* und kultivierten Artischocken, die fertile Nachkommen erzeugten, konstatiert. TUCCI und MAGGINI (1986) und MAGGINI et al. (1988) konnten bei ihren vergleichenden Untersuchungen der ribosomalen RNA von Artischocke und Kardone (hier bezeichnet mit *C. cardunculus* subsp. *scolymus* und *C. cardunculus* subsp. *cardunculus*) keine Unterschiede feststellen. Weitere Kreuzungsarbeiten und Isoenzymanalysen (ROTTENBERG und ZOHARY, 1995; ROTTENBERG et al., 1995) haben bestätigt, dass Artischocke und Kardone lediglich unterschiedliche Kulturformen und keine eigenständigen Arten darstellen. Diese Autoren bezeichneten die Artischocke als *C. cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori und die Kardone als *C. cardunculus* L. var. *atilis* DC.

Die derzeitige taxonomische Eingruppierung der Artischocke wurde auf dem IV. International Congress on Artichoke in Bari/Italien im Oktober 2000 eingehend diskutiert und auch in Frage gestellt. Die anwesenden Fachleute, die sich teilweise seit Jahrzehnten mit der Gattung *Cynara* beschäftigen, kamen zu keinem einheitlichen Ergebnis. ROTTENBERG und ZOHARY (2000) bezeichnen die Kulturform Artischocke als *C. cardunculus* subsp. *scolymus* und die Kardone als *C. cardunculus* subsp. *sylvestris*. Sie weichen damit von ihrer früher gewählten Bezeichnung (ROTTENBERG und ZOHARY, 1995; ROTTENBERG et al., 1995) und von der von WIKLUND (1992) festgelegten ab.

Aus der oben beschriebenen Revision der Taxonomie ergeben sich Konsequenzen für die pharmazeutische Biologie. Als Stammpflanze für Artischockenblätter ist in Zukunft in den Arzneibüchern *Cynara cardunculus* L. subsp. *flavescens* Wikl. anzugeben. Nach BRAND (1999) ist dies lediglich als redaktionelle Änderung anzusehen ohne Auswirkungen auf die derzeitigen Inhalte der Aufbereitung. Weitere taxonomische Angaben sind nicht sinnvoll, da nach ELIA und MICCOLIS (1996) die Kultivare und ihre Diversifikation nicht genau definiert werden können.

2.2.2 Morphologie

Die folgende Beschreibung bezieht sich auf beide Kulturformen und damit prinzipiell auch auf die Wildform, da es zwischen Artischocken und Kardonen und der Wildform eine kontinuierliche Spanne morphologischer Variation gibt (WIKLUND, 1992; BASNIZKY und ZOHARY, 1994). Die Kulturformen erreichen in der Regel größere Ausmaße als die Wildform, dies gilt vor allem für die Größe der Blütenstände und der Blätter. Eine sehr ausführliche Beschreibung morphologischer Merkmale findet sich bei WIKLUND (1992).

C. cardunculus ist eine ausdauernde Pflanze deren Stängel bis zu 2 m hoch wird. Die fleischige Pfahlwurzel erreicht eine Tiefe von 90 bis 120 cm und dient als Speicherorgan (MARRAS, 1969).

Die Laubblätter haben eine sehr variable Form. Sie sind ganzrandig, gelappt oder ein- bis zweifach fiederschnittig und werden bis zu 160 cm lang und 50 cm breit. Die Lappen oder Fiederabschnitte sind unbedornt oder bedornt, oberseits unbehaart, unterseits graufilzig behaart. Die Dornen erreichen eine Länge bis 30 mm und treten teilweise auch am Blattstiel und an der Rachis in Gruppen auf. Die Blätter sind am Stängel anfangs gestielt, später sitzend. Je höher der Blattansatz am Stängel, umso kürzer und schmaler werden die Blätter (WIKLUND, 1992; BRAND, 1992).

Der Stängel besitzt Sekretkanäle und ist gerippt (WIKLUND, 1992). Der Hauptstängel trägt Verzweigungen mit jeweils Blütenständen 1., 2. und 3. Ordnung. Der Hauptblütenstand zeigt

immer die größten Ausmaße; die anderen Köpfe werden mit steigender Ordnung kleiner (BASNIZKY, 1985). Der Hüllkelch ist zylindrisch bis konisch oder eiförmig bis kugelig. Die Hüllkelchblätter sind grünlich oder purpurfarben, mehr oder weniger fleischig, zu einem abgeflachten Zipfel auslaufend. Der Zipfel ist abgerundet bis dreieckig, stumpf oder spitz mit einem Dorn. Der Blütenboden ist konvex bis flach, 6-14 mm dick und mit 16-49 mm langen Borsten besetzt (WIKLUND, 1992). Der Blütenstand von *C. cardunculus* ist ein für die Astera-ceae typisches Körbchen, das 80-240 (WIKLUND, 1992) bzw. bei den Kulturformen 600 bis 1500 (BASNIZKY, 1985) Röhrenblüten enthält (Unterfamilie Asteroideae = Tubuliflorae) (VON DENFFER et al., 1983). Alle Einzelblüten sind zwittrig, fünfzählig mit lila bis blauen, selten auch weißlichen Kronblättern. Der lilafarbene bis weißliche Griffel ist 35-66 mm, die Griffeläste 12-16 mm lang. Die Antheren sind apikal abgerundet und 8-11 mm lang (WIKLUND, 1992).

Die Frucht ist eine 3,5–7 mm lange und 2-5 mm breite, verkehrteiförmige, abaxial etwas bucklige und im Querschnitt elliptische Achäne von hell- bis dunkelbrauner Färbung mit teilweise schwarzer Sprenkelung und länglichen Linien. Der einfache Pappus ist in 6- bis 5-zähligen Schrägzeilen angeordnet, strohfarben und setzt sich aus relativ steifen, am Rande gefiederten, gleichlangen Borsten mit 20-35 mm Länge zusammen. Er wird durch einen Ring aus Perikarpgewebe zusammengehalten (DITTRICH, 1970). FOURY (1989a) hat in seinen Untersuchungen eine von der Sorte und den Bestäubungsbedingungen abhängige, z.T. beträchtliche Anzahl nicht vollständig entwickelter Samen neben normal entwickelten Achänen beobachtet.

Artischockensorten werden untereinander vor allem anhand der Kopffarbe (violett oder grün), der Kopfform und der Bedornung unterschieden (PORCEDDU et al., 1976; PÉCAUT und MARTIN, 1989). Eine umfangreiche Übersicht mit Unterscheidungsmerkmalen und eine Sortenbeschreibung haben DELLACECCA et al. (1973) zusammengestellt.

2.2.3 Verbreitung und Standort

Die Gattung *Cynara* gehört zur Mittelmeerflora (WIKLUND, 1992). Die Verbreitung ist der des Olivenbaumes (*Olea europea*) sehr ähnlich, dessen Verbreitung häufig zur Definition des Mittelmeerraumes verwendet wird. Auch die Steineiche (*Quercus ilex*) ist ein Taxon mit einem ähnlichen Verbreitungsgebiet. Das Vorkommen von *C. cardunculus* in Südamerika, das auch schon von SCHLECHTENDAL et al. (1887) erwähnt wird, sowie die Vorkommen in Kalifornien und Australien hält WIKLUND (1992) für Einbürgerungen, die aus Aufspaltungen von Kultursorten entstanden sind (THOMSEN et al., 1986).

Die am weitesten verbreitete Art aus der Gattung *Cynara* ist *Cynara cardunculus*, die im

nördlichen und südwestlichen Mittelmeergebiet sowie in Makaronesien beheimatet ist (WIKLUND, 1992). Die Subspezies *flavescens* findet sich in Makaronesien, Portugal und im nordwestlichen Mittelmeerraum, dagegen ist subsp. *cardunculus* hauptsächlich im zentralen und nordöstlichen Mittelmeerraum verbreitet.

THOMSEN et al. (1986) beschreiben die Probleme, die mit der aggressiven Ausbreitung bedornter Formen auf Weideland verbunden sind, die nach freiem Abblühen von vegetativ vermehrten Gemüseartischocken entstehen. In Kalifornien wird seit vielen Jahren intensiv an der Verringerung derartiger Bestände gearbeitet, da sie die Weidewirtschaft stark beeinträchtigen können. Auch HEGI (1954) berichtet, dass diese Pflanzen in Chile zu einem lästigen Unkraut geworden sind.

Cynara cardunculus kommt von Meeresniveau bis in eine Höhe von 900 m vor. WIKLUND (1992) berichtet über ein Exemplar, das in Mexiko auf einer Höhe von 2160 m gesammelt wurde. Die Art wächst auf Feldern, Weiden, Brachland und an Straßenrändern. Sie wird häufig auf kalkhaltigen Substraten angetroffen. Die Verbreitung der Art wird auch durch ihre Frostempfindlichkeit eingeschränkt. Länger anhaltende Temperaturen unter -10 °C übersteht der fleischige Wurzelstock nicht (FOURY, 1976; WELBAUM und WARFIELD, 1992) und bereits ab einer Temperatur von 0 °C für einige Stunden löst sich die Epidermis der Bracteen ab.

Die Plastizität der ökologischen Grenzen der Wildpflanzen spiegelt sich in den kultivierten Formen in der Anpassung an verschiedene Umweltbedingungen wider (BASNIZKY, 1985). So ist beispielsweise ein normales Wachstum und damit ein Anbau auf Sizilien und in der Bretagne möglich und auf allen Kontinenten existiert ein kommerzieller Anbau (RYDER et al., 1983).

2.2.4 Domestikation

Das Ursprungsgebiet der Artischocke liegt im Mittelmeerraum. FOURY (1989) vermutet, dass die Domestikation in Tunesien oder in Spanien stattgefunden hat. Dies würde auch im beschriebenen Verbreitungsgebiet von *C. cardunculus* subsp. *flavescens* liegen (Anm. des Autors). Die Ergebnisse der Kreuzungsversuche und Isoenzymanalysen von ROTTENBERG und ZOHARY (1995) und von ROTTENBERG et al. (1995) bestätigen die Wildform *C. cardunculus* als genetischen Ursprung der Kulturform.

Die Domestikation folgte grundsätzlich zwei Richtungen. Die Vergrößerung der Blütenstände führte zur Kulturform Artischocke und die Vergrößerung der Blattstiele zur kultivierten Kardone (PÉCAUT, 1993). Über die nachfolgende Diversifikation in die einzelnen Artischockensorten ist noch nicht viel bekannt (ELIA und MICCOLIS, 1996). Auch für die Kardone liegen hierzu noch keine Erkenntnisse vor (DELLACECCA und DE PALMA, 1981). In der Genbank von

Bari existiert eine Sammlung von über 100 Artischockensorten und -herkünften (PORCEDDU, 1979; ELIA und MICCOLIS, 1996). Die Namensgebung für einzelne Sorten ist z.T. sehr vielfältig und von der Region abhängig (BASNIZKY und ZOHARY, 1994). So sind zum Beispiel für die italienische Sorte „Catanese“ 14 Synonyme bekannt (BIANCO, 1990). Die in den USA am häufigsten angebaute, aus zahlreichen phänotypisch ähnlichen Klonen zusammengesetzte Sorte „Green Globe“ ist nicht direkt genetisch verwandt mit saatzgutvermehrten Sorten mit der gleichen Bezeichnung (DE VOS, 1992).

2.2.5 Entwicklungzyklus und Reproduktion

Kultivierte und wilde Artischocken sind hemicyptophytische Rosettenpflanzen. Unter trockenen Sommerbedingungen, wie sie für den Mittelmeerraum typisch sind, vertrocknen die oberirdischen Pflanzenteile nach der Bildung der Samen. Der kurze unterirdische Spross befindet sich in einer Ruhephase. Im gemäßigten Klima wächst die Pflanze weiter, blüht aber nur einmal im Jahr (BASNIZKY, 1985). Der natürliche Entwicklungszyklus von Artischocken und Kardonen reicht vom Herbst bis zum darauffolgenden Sommer. Ein kompletter Wachstumszyklus vom Samen bis zum Samen beträgt 12 Monate (PÉCAUT, 1993). Im natürlichen Verbreitungsgebiet keimen die Samen Anfang Herbst bzw. beginnen Axillarknospen auszutreiben sobald im Boden ausreichend Feuchtigkeit vorhanden ist und kühlere Temperaturen als im Sommer vorherrschen. Bis zum Winter wird eine kräftige Rosette gebildet, deren Blätter im Winter teilweise absterben. Mit steigenden Temperaturen beginnt erneut das Wachstum. Bald erscheint der Stängel mit den Blütenständen. Nach der Blüte stirbt die Rosette ab. Die Wurzeln und der unterirdische Spross bilden ein fleischiges Speicherorgan. Der neue Zyklus beginnt mit dem Einsetzen der Niederschläge nach dem Sommer (BASNIZKY, 1985; PÉCAUT, 1993). Um die alte Pflanze bildet sich eine Gruppe neuer Rosetten.

Ein Anbau mit Pflanzung im August entspricht dem natürlichen Zyklus im Mittelmeerraum. Durch verschiedene agrotechnische Maßnahmen wie Beregnung oder Applikation von Gibberellinsäure (GA_3) oder einem Anbau in anderen Regionen (z.B. Bretagne) wird der Entwicklungszyklus verändert und somit die Erntezeiträume verlängert (PÉCAUT und FOURY, 1992). Unter mitteleuropäischen Klimaverhältnissen und bei Jungpflanzenanzucht im Gewächshaus im zeitigen Frühjahr bildet Artischocke bereits im 1. Jahr Blütenstände (VOGEL, 1996; BAIER, 1997).

Der Neuaustrieb von axillären Knospen nach der Ruhephase im Sommer dient der vegetativen Vermehrung der Pflanze. Nach SNYDER (1981) verfügt eine gut entwickelte, reife Pflanze über z. T. mehr als 50 Axillarknospen, von denen normalerweise aber nur fünf oder sechs ihre Ruhephase beenden und neue Triebe entwickeln. Der Umfang der Seitentriebentwicklung ist

auch von der Sorte abhängig (WAGENBRETH et al., 1996).

Der Übergang von der vegetativen zur generativen Phase (Blühinduktion) wird durch eine vorübergehende Kälteperiode (Vernalisation) ausgelöst. Im natürlichen Entwicklungszyklus sind die dafür notwendigen Temperaturbedingungen im mediterranen Winter gegeben (FOURY, 1987). Maßgeblich ist eine Temperatur von weniger als 7°C über einen minimalen Zeitraum von ca. 250 h. Sollen Jungpflanzen vernalisiert werden, so dürfen die Pflanzen in dieser Phase keinen Temperaturen über 20 °C ausgesetzt sein, weil der Effekt dadurch rückgängig gemacht wird. Grundsätzlich ist der Kältebedarf der Pflanzen unter Kurztagsbedingungen niedriger. Die Vernalisation von Saatgut bzw. Keimlingen ist ebenfalls möglich, jedoch nicht so effektiv wie die der Jungpflanzen (GERAKIS et al., 1969). Bezüglich des erforderlichen Kältereizes existieren genotypische Unterschiede (FOURY und PÉCAUT, 1988), die in der Züchtung berücksichtigt werden müssen.

FOURY (1967 und 1969) hat die Blütenbiologie der Artischocke eingehend untersucht. Die Blüte beginnt an den äußeren Blütchen und endet bei optimalen warmen Witterungsbedingungen ca. vier bis fünf Tage später im Zentrum. In jeder Blüte reifen zuerst die Antheren. Erst fünf bis sechs Tage nachdem der wachsende Griffel den Pollen aus der Kronröhre heraus transportiert hat, werden die beiden Narbenoberflächen aufnahmefähig. Da zu diesem Zeitpunkt der Pollen nicht mehr lebensfähig ist, wird eine Selbstbestäubung der Einzelblüten unmöglich. Die Allogamie der Artischocke beruht somit nicht auf Selbstinkompatibilität, sondern auf ausgeprägter Protandrie, d.h. auf einer späteren Reifung der Narbe im Vergleich zu den Staubblättern (FOURY, 1967, 1969).

Die Nektarabsonderung und der Bienenbesuch beginnt mit dem Aufplatzen der Antheren und endet mit dem Welken des Griffels. Unter natürlichen Bedingungen erfolgt die Bestäubung der Blüten durch Insekten. Der Hauptbestäuber im Mittelmeerraum ist die Honigbiene *Apis mellifera*. Auch Solitärbiene und Hummeln besuchen die Blüten (PINZAUTI et al., 1981). Unter Feldbedingungen bleibt der Pollen zwei bis drei Tage lebensfähig (FOURY, 1967). Pollensammlungen können bei 2-4 °C acht bis zehn Tage am Leben erhalten und somit für weitere Bestäubungen genutzt werden.

Bei den meisten Artischockensorten enthalten gut entwickelte Köpfe 600 bis 1500 Blütchen. Allerdings beobachteten FOURY et al. (1978) etwa 35 % Blütenstände ohne jeglichen Samenanatz. Innerhalb der Blütenstände betrug der Samenanatz nie über 60 % (FOURY und PÉCAUT, 1988). Dennoch ist die Vermehrungsrate um ein vielfaches höher als bei der vegetativen Vermehrung.

Nach der Befruchtung benötigen die Achänen ca. sechs Wochen für die Ausreifung. Die

ausgereiften Samen benötigen keine Ruhepause, sondern sind sofort keimfähig (BASNIZKY, 1985). Das Saatgut keimt in einem Bereich von 3-35 °C (FOURY, 1989a). Optimal sind Temperaturen zwischen 10 und 25 °C. Nach BASNIZKY und MAYER (1985) behindern höhere Temperaturen die Keimung. Licht unterdrückt die Keimung. Die verschiedenen Kultivare unterscheiden sich jedoch in ihrer Lichtempfindlichkeit (BASNIZKY und MAYER, 1985; FOURY, 1987). Bei Anzuchten für die In-vitro-Kultur keimten die Samen auch bei einer hell : dunkel Periode von 16 : 8 Stunden im Klimaraum normal (BAIER et al., 1997). Saatgut, das bei Raumtemperatur in geschlossenen Behältern gelagert wurde, behielt seine Keimfähigkeit vier bis fünf Jahre lang (BASNIZKY und MAYER, 1985).

2.3 Nutzung von *Cynara*

2.3.1 Gemüse

Das essbare Organ der Artischocke ist der junge Blütenstand, der in einem Stadium schnellen Wachstums geerntet wird (PÉCAUT, 1993). Der vergrößerte Blütenboden und die zarte verdickte Basis der Bracteen werden gegessen. Wenn der Blütenstand in einem sehr frühen Stadium geerntet wird, kann nach dem Entfernen der äußeren Bracteen das ganze „Herz“ verzehrt werden: Blütenboden, untere Teile der inneren Bracteen und die noch schwach entwickelten Blütchen mit Borsten und Pappus (RYDER, 1983). Auch der Teil des Stängels direkt unterhalb des jungen Kopfes ist essbar. Je nach Sorte und Zeitpunkt der Ernte variiert das Kopfgewicht zwischen 150 und 600 g. Der Anteil der essbaren Teile am gesamten Kopfgewicht beträgt für den Boden 10-15 % und für die Artischockenherzen etwa 40 % (PÉCAUT, 1993).

Von den Kardonen (auch Cardy genannt) werden die fleischigen Blattstiele als Gemüse oder als Salat verwendet (QUINTERO, 1986; VOGEL, 1996). Vor der Ernte werden sie 25-30 Tage gebleicht, wodurch sie ihren bitteren Geschmack weitgehend verlieren (SCHNEIDER und THIELE, 1974). Dieser Schritt ist notwendig, um ein marktfähiges Produkt zu erhalten (QUINTERO, 1986).

2.3.2 Pharmazie

Die Aufbereitungsmonographie (ANONYM, 1990) der Kommission E nennt als „Bestandteile des Arzneimittels: Artischockenblätter bestehend aus den frischen oder getrockneten Laubblättern von *Cynara scolymus* LINNÉ“. Der bis zum Beginn der 90er Jahre geringe Bedarf an Artischockenblättern stammte bis dahin noch aus Gemüsekulturen der traditionellen Anbaugebiete. Bedingt durch die Entstehung dieses Materials, das nach der Ernte der Blütenknospen

gewonnen wurde, handelt es sich um eine stängelreiche Herba-Droge mit minderwertiger Qualität (DAMIANI et al., 1975), die wegen ihres niedrigen Preises aber nach wie vor auf den Markt drängt (BRAND, 1999). Ein kontrollierter Anbau von rein pharmazeutisch ausgerichteten Blattkulturen entspricht mittlerweile dem Stand der Technik (WAGENBRETH et al., 1996; BAIER und HANNIG, 1998). Einen solchen Anbau hatten bereits NICHIFORESCO (1966) sowie PARIS und HÉRISSET (1969) empfohlen. Geerntet werden ausschließlich die Blätter des Rosettenstadiums.

Nach der Ernte werden die Blätter getrocknet und daraus ein wässriger Trockenextrakt hergestellt. Dies ist die seit den 50er Jahren meistverwendete Extraktzubereitung (BRAND, 1997). Darüber hinaus wird die Droge noch zur Herstellung von Tees verwendet (PAHLOW, 1999; SCHNEIDER et al, 2001). Eine weitere Form der Verarbeitung ist die Herstellung von Presssaft aus frischen Pflanzen, der entweder ethanolisch stabilisiert (GAEDKE und STEINHOFF, 2000) oder getrocknet (Trockenpresssaft) wird. Obwohl zahlreiche ältere Studien mit wässrigen Zubereitungen aus frischen Artischockenblättern durchgeführt wurden (BRAND, 1999), hat diese Form der Herstellung zugunsten der Verwendung von Droge stark an Bedeutung verloren. Selten ist auch die Verwendung von Artischockenknospen für die Presssaftherstellung (SCHILCHER und HAGELS, 1999).

2.3.3 Sonstige Nutzungsarten

FERNANDEZ und MANZANARES (1990) und BRIESE (1995) berichten über die Gewinnung von Cellulose aus *Cynara cardunculus*, die für die Produktion von Papier geringerer Qualität geeignet ist. Dabei lag der Cellulosegehalt der Fasern bei über 60 %. Außerdem kann die Biomasse in Heizkraftwerken eingesetzt werden.

FARAG et al. (1980) beobachteten bei Kreuzungsprodukten aus Kardone und Artischocke einen höheren Samenertrag als bei den Eltern und eine mit Baumwollsaat- oder Maisöl vergleichbare Ölqualität. Der Ölgehalt von Artischockensamen liegt etwa bei 20 % und ist damit vergleichbar mit dem von Sojabohnen oder Baumwollsaat (MICELI und DE LEO, 1996). Das Öl enthält bis zu 90 % ungesättigte Fettsäuren und verfügt deshalb über einen hohen diätetischen Wert (CHOUDHARY und KAUL, 1992).

In Portugal und Spanien werden getrocknete Blütenstände von *Cynara cardunculus* für die Gewinnung eines Milchgerinnungsmittels für die Käseproduktion verwendet (FIGUEIREDO et al., 1987). Dazu werden entweder die trockenen Griffel mit Salz vermahlen oder mit lauwarmem Wasser extrahiert und dies dann der Milch beigegeben (CORDEIRO et al., 1998). Bereits bei BROTERO (1804) und MATHEWS (1830) wurde über diese Art der Nutzung berichtet. HEIMGARTNER et al. (1990) und FARO et al. (1992) haben aus getrockneten wie auch aus

frischen Blütenständen die für die Milchgerinnung verantwortlichen Enzyme Cyprosin sowie Cardosin A und B isoliert und charakterisiert.

In unterschiedlichen Formen können Artischocken auch als Tierfutter genutzt werden. BONOMI und PATERLINI (1966) berichten über die Verwendung getrockneter, pulverisierter Artischockenblätter als Ersatz von Luzerne im Hühnerfutter. Bei verschiedenen Tierarten verbesserte die Fütterung des Blattmehls die Leistung und reduzierte die Kosten im Vergleich zu Luzerne (BONOMI, 1989). Im vegetativen Stadium geerntet, lässt sich aus *Cynara cardunculus* eine sehr gute Silage herstellen mit einer sehr hohen Verdaulichkeit und einem hohen Energiegehalt (CAJARVILLE et al., 1999). Nach RUIPÉREZ et al. (1992) sind sonnengetrocknete Blätter als Futtermittel einer Ganzpflanzensilage aufgrund der höheren Verdaulichkeit vorzuziehen. Allerdings wurden beide Formen wegen des bitteren Geschmacks gleichermaßen gut von den Tieren aufgenommen.

FERNANDEZ et al. (2000) entwickelten für die Nutzung von nicht berechnungsfähigen Flächen in Spanien eine Dauerkultur mit *C. cardunculus*. Die im Herbst gebildeten Blätter erreichen einen Trockenmasseertrag von ca. 6 t/ha und können als Futtermittel mit einem Rohprotein-gehalt von 15 % verwendet werden. Von der Biomasse, die bis zum nächsten Sommer heranwächst, werden die Samen zur Ölproduktion genutzt. Das restliche Pflanzenmaterial kann entweder für Heizzwecke oder zur Papierherstellung genutzt werden. Die Wurzeln stellen eine potentielle Quelle für die Gewinnung von Inulin dar, das am Gesamtzucker-gehalt von ca. 45 % einen Anteil von durchschnittlich 84 % aufweist (RACCUIA et al., 2000).

Obwohl in der Literatur meist nur beiläufig erwähnt, werden Artischocken auch als Zierpflanzen oder in der Floristik wegen ihrer attraktiven violetten Blütenstände genutzt (HALTER und SCHNITZLER, 2000). In diesem Zusammenhang beschreiben bereits SCHLECHTENDAL et al. (1887) *Cynara scolymus* L. als dekorative Blattpflanze, nach BECKER-DILLINGEN (1924) stellt sie eine schöne Gartenzierpflanze dar und nach HEGI (1954) wird sie „gelegentlich als auffällige Schmuckpflanze gezogen“.

Aus bitteren Artischockenauszügen werden vor allem in Spanien und Italien appetitanregende Likörweine hergestellt (BRAND, 1992).

2.4 Anbauverfahren

2.4.1 Gemüse

Detaillierte Anbaubeschreibungen liegen von mehreren Autoren vor (z.B. CIETTO, 1973; FOURY, 1976; BRAVO und ARIAS, 1983; RYDER et al., 1983; BIANCO, 1990; DE VOS, 1992). Im folgenden werden nur einige Aspekte des Gemüseanbaus vorgestellt, die zum besseren

Verständnis der Unterschiede zum Blattanbau dienen sollen.

Seit Beginn der Kultivierung von Artischocken im 1. bis 2. Jahrhundert v. Chr. werden diese sowohl vegetativ als auch über Saatgut vermehrt (PÉCAUT, 1993; BASNIZKY und ZOHARY, 1994). Die später überwiegend praktizierte vegetative Vermehrung führte zum Anbau von Klonen mit unterschiedlicher Morphologie und physiologischen Eigenschaften, wie sie auch bei Wildformen zu finden sind (BASNIZKY, 1981). Seit dem 17. Jahrhundert wird die Artischocke fast ausschließlich vegetativ vermehrt (FOURY, 1989a). Die Anbauer betreiben die Kultur vor allem aus Kostengründen über einen Zeitraum von 3 bis 5 (PORTENEUVE et al., 1990) oder auch 5 bis 10 Jahren (RYDER et al., 1983), wenn auch nach wenigen Jahren bereits der Ertrag stark abnimmt. Als ein weiterer Nachteil gilt die Weitergabe von Krankheiten und Infektionen an den neu etablierten Bestand (ANCORA und SACCARDO, 1987). Für die vegetative Vermehrung wird in den verschiedenen Anbauregionen unterschiedliches Vermehrungsmaterial verwendet (LA MALFA und FOURY, 1971; RYDER et al., 1983; MAUROMICALE und COPANI, 1990). Außerdem wurde die In-vitro-Vermehrung von Artischocken etabliert (Übersicht bei ANCORA, 1986), vor allem um die Weitergabe von Virose durch die normale vegetative Vermehrung unterbrechen zu können (PEÑA-IGLESIAS und AYUSO, 1982; PÉCAUT et al., 1983; PÉCAUT et al., 1985; MIGLIORI et al., 1993).

Um neue Anbauregionen erschließen und die phytosanitären Probleme (z.B. MARTELLI et al., 1981) des mehrjährigen Anbaus lösen zu können, gibt es schon seit langer Zeit Bestrebungen, einen einjährigen Anbau aus Saatgut zu etablieren (z.B. HARWOOD und MARKARIAN, 1968; FOURY und MARTIN, 1973; BAGGETT et al., 1982; WELBAUM, 1994; HUSAIN und STEWART, 1996). Probleme bereitete dabei vor allem die Heterozygotie der vegetativ vermehrten Sorten (FOURY, 1969a; FOURY und MARTIN, 1973; BASNIZKY und ZOHARY, 1994) und erst seit wenigen Jahren ist eine gewisse Anzahl saattgutvermehrter Sorten aus offener Bestäubung oder Hybridsorten auf dem Markt (BASNIZKY und ZOHARY, 1994; CALABRESE et al., 1994; CALABRESE et al., 2000).

Die Bestandesdichten im Gemüseanbau müssen sowohl für Artischocken als auch für Kardonen eine gute Entwicklung der Einzelpflanze ermöglichen. Die Pflanzdichten schwanken zwischen 2.400 Pfl./ha in Kalifornien (RYDER et al., 1983), 10.000 Pfl./ha in Italien und Frankreich und 12.000 Pfl./ha in Spanien (PÉCAUT, 1993). Die Bestandesdichte für Kardonen wird mit 10.000 Pfl./ha angegeben (QUINTERO, 1986).

Kardonen werden über Saatgut vermehrt und zeigen gegenüber den vegetativ vermehrten Artischocken eine hohe genetische Homogenität (DELLACECCA, 1990; PÉCAUT, 1993). Dieser Aspekt macht sie für den pharmazeutischen Anbau interessant. Allerdings dürften die als

Gemüse genutzten, besonders fleischigen Blattstiele bei der Erzeugung von Blattdroge einen enormen Trocknungsaufwand verursachen.

2.4.2 Blattdroge

Der Anbau zur Blatterzeugung wurde erst in den 90er Jahren etabliert und teilweise optimiert (BRAND, 1999). Über das Anbauverfahren zur Erzeugung von Blattdroge existiert bisher wenig Literatur. Einen Überblick dazu bieten MARQUARD und KROTH (2001). Zur Erzeugung einer hochwertigen Blattdroge sollte die Kultur nur für diesen Zweck angelegt werden (PARIS und HÉRISSET, 1969). Aus Gründen der Qualität sollten Artischockenblätter für eine pharmazeutische Verwendung nur von Pflanzen im Rosettenstadium geerntet werden (WAGENBRETH et al., 1996). Ein Anbau in Mitteleuropa ist hierfür gut geeignet, da gemäßigte Temperaturen bis 20 °C das vegetative Wachstum fördern (VESCHAMBRE et al., 1985). Unter den dort herrschenden Bedingungen ist eine sichere Überwinterung der Pflanzen im großflächigen Anbau nicht möglich. Außerdem würden die Pflanzen im 2. Jahr Stängel und Blütenstände bilden, die die Droge nicht enthalten soll. Die Konsequenz ist der Anbau mit jährlicher Neuanlage der Bestände (WAGENBRETH et al., 1996).

Sorten und Saatgut

Im Gegensatz zum einjährigen Gemüseanbau werden für die Blattproduktion spätblühende Artischockensorten benötigt (WAGENBRETH et al., 1996; BAIER et al., 1997). UNGUREANU (1996) berichtet über den Vergleich von zwei Artischockensorten aus Rumänien, die für eine Blattproduktion verwendet werden, aber nicht frei zugänglich sind. Dasselbe gilt für die Sorte, die SCHNEIDER et al. (2001) beschreiben. Sie wurde für den pharmazeutischen Anbau gezüchtet und ist mittlerweile vom Bundessortenamt zugelassen worden (BSA, 2002). Das im Handel erhältliche Saatgut stammt aus dem Gemüseanbau und ist auf dessen Bedürfnisse ausgerichtet. Es weist häufig nicht die gewünschte Homogenität und Keimfähigkeit auf (WAGENBRETH et al., 1996). Für den Vertragsanbau kommen zum Teil firmeneigene Selektionen zum Einsatz. Das Tausendkorngewicht von Artischockensamen beträgt zwischen 35 und 70 g (BAIER et al., 1997) oder bis zu 80 g (VOGEL, 1996).

Bestandesetablierung

Begonnen wurde die Artischockenblatterzeugung mit der Pflanzkultur, die aber sehr bald durch die Direktsaat ersetzt wurde. Die Pflanzung mit Anzucht aus Handelssaatgut ermöglicht einen früheren Erntebeginn und in der Regel kann ein Schnitt mehr geerntet werden. Die Direktsaat benötigt mehr Saatgut, ist aber dennoch kostengünstiger als die Pflanzung und

führt ebenfalls zu gleichmäßigen Beständen. Sowohl die Pflanzung als auch die Aussaat sollten wegen der Frostgefahr nicht vor Anfang Mai erfolgen. Mit etwa 8 Pfl./m² werden deutlich höhere Bestandesdichten als im Gemüseanbau angestrebt (BAIER und HANNIG, 1998). SCHNEIDER et al. (2001) berichten über Anbau in Chile. Dort werden 5 bis 6 Pfl./m² gepflanzt bzw. mit Saatstärken von 9 bis 12 kg/ha 25 bis 30 Pfl./m² erreicht. Diese hohe Pflanzendichte dient vor allem der Verminderung des Unkrautdrucks.

Düngung

Durch die Düngung muss eine gute Qualität in Verbindung mit einem ausreichenden Blattertrag gewährleistet werden (WAGENBRETH et al., 1996). Untersuchungen zur Düngung für die Artischockenblattproduktion liegen bisher nicht vor. Aus dem Gemüseanbau lässt sich ein eher niedriger Phosphat- und hoher Kalibedarf ableiten (z.B. MAGNIFICO und LATTANZIO, 1976; MOULINIER, 1980; RYDER et al., 1983). Für den Stickstoffbedarf von Blattkulturen lassen sich daraus kaum Zahlen ableiten (WAGENBRETH et al., 1996), weil mit den Köpfen nur etwa 20 % der oberirdischen Biomasse vom Feld entfernt wird (FOURY, 1976). Ausgehend davon, dass unter günstigen Bedingungen in Blattkulturen sehr viel Biomasse gebildet wird, ist auch eine entsprechende Stickstoffzufuhr notwendig (BAIER und HANNIG, 1998).

Pflegemaßnahmen und Pflanzenschutz

Durch die langsame Jugendentwicklung und die Notwendigkeit eines unkrautfreien Erntehorizonts für die Blattdrogenproduktion benötigt die Artischocke eine sehr sorgfältige Unkrautregulierung. Die Anwendung von Herbiziden in Artischockenblattkulturen ist seit dem 01.07.2001 durch das Inkrafttreten des Pflanzenschutzgesetzes vom 14.05.1998 (PFLSCHG, 1998) nicht mehr zulässig, da nur noch ein Einsatz in ausgewiesenen Anwendungsgebieten (Indikationszulassung) gestattet ist. Zulassungen für den Artischockenblattanbau gibt es derzeit noch nicht (BBA, 2002). Damit ist die Unkrautregulierung auf nicht chemische Maßnahmen beschränkt. Zum Einsatz kommen verschiedene Hackgeräte, Reihenfräsen sowie die Handhacke (WAGENBRETH et al., 1996; BAIER und HANNIG, 1998).

Bislang wurden in den Blattkulturen kaum Krankheiten und Schädlinge beobachtet. Gelegentlich traten Blattläuse und Mehltau sowie Wurzelfäulen auf, jedoch ohne wirtschaftliche Bedeutung. Bei einer Ausweitung des Anbaus könnte sich dies ändern (BAIER und HANNIG, 1998).

Ernte und Erträge

Der Zeitpunkt für den ersten Ernteschnitt ist in jedem Fall erreicht, wenn die Bildung von

Blütentrieben einsetzt. Verbleibt der Bestand im Rosettenstadium, wird ab dem Schließen des Bestandes geerntet. Der 1. Schnitt erfolgt etwa Mitte August, der 2. je nach Wasserangebot und Witterung ca. 5 Wochen später. Bei warmer Herbstwitterung und spät einsetzenden Frösten ist ein 3. Schnitt möglich (BAIER und HANNIG, 1998). Unter den günstigeren klimatischen Bedingungen in Chile sind bis zu 4 Schnitte möglich (SCHNEIDER et al., 2001). Eine Schnitthöhe von mindestens 10-15 cm gewährleistet ein sauberes Erntegut und den Ausschluss abgestorbener Blätter. Ein höherer Schnitt verringert den Anteil an Blattstielen und verkürzt somit die Trocknungsdauer. An Frischmasse werden 15 bis 40 t geerntet, was einem Drogenertrag zwischen 1,5 und 4 t entspricht (BAIER und HANNIG, 1998). SCHNEIDER et al. (2001) berichten über Frischmasseerträge von 40-50 t nach Pflanzung und 55-60 t nach Direktsaat im ökologischen Anbau in Chile.

Trocknung

Artischockenblätter stellen hohe Anforderungen an die Trocknung. Sie besitzen ein mit 10:1 sehr ungünstiges Eintrocknungsverhältnis und die pharmazeutisch relevanten CCS-Verbindungen sind sehr thermolabil (NICHIFORESCO, 1967; PARIS und HÉRISSET, 1969). HANNIG und EICH (2000) stellten bei einer Steigerung der Trocknungstemperatur um 5 °C im Temperaturbereich von 40 °C bis 50 °C eine Reduktion des zu erwartenden CCS-Gehalts um bis zu 50 % fest. Dagegen sind die Flavonoide in Artischockenblättern thermostabiler. Selbst bei einer Trocknungstemperatur von 105 °C bleiben 60 % des Ausgangsgehalts erhalten. Bei den CCS-Verbindungen waren es nur 5 % bis 7 % (WAGENBRETH, 1995). Die Blätter können ganz oder zerkleinert getrocknet werden. Letzteres verkürzt die Trocknungszeit (WAGENBRETH et al., 1996). Getrocknet wird bis auf eine Restfeuchte von max. 10 % (BAIER und HANNIG, 1998).

2.5 Züchtung

Derzeit sind für die pharmazeutische Blattproduktion praktisch keine Artischockensorten verfügbar. Züchtungsarbeiten sind notwendig, um aus dem vorhandenen Genpool saatgutvermehrte Sorten zu entwickeln, die optimal an die Anforderungen der Blattkultur angepasst sind und ein in Teilen noch zu definierendes Profil an Inhaltsstoffen mit einem entsprechenden Gehalt aufweisen. Die dafür vorhandene Basis sind die Kenntnisse aus der Züchtung von Gemüseartischocken, die hier kurz vorgestellt werden.

Die Artischockenzüchtung hat nur eine kurze Geschichte. Umfassende Erkenntnisse über die Blütenbiologie der Pflanze wurden erst vor ca. 35 Jahren gewonnen (FOURY, 1967 und 1969).

Sie bildeten die Grundlage für die Entwicklung saattgutvermehrter Sorten. Die Züchtung von Artischocken ist ein langwieriger Prozess. Für einen Entwicklungszyklus vom Samenkorn bis zum neuen Samenkorn sind ungefähr 12 Monate nötig, für eine Zuchtgeneration in der Regel mindestens zwei Jahre (PÉCAUT, 1993). Die In-vitro-Technik kann die Züchtung durch schnelle Vermehrung einzelner Pflanzen unterstützen. Außerdem können Klone durch In-vitro-Lagerung effektiv vor Virusinfektionen und ungünstigen klimatischen Bedingungen wie z.B. Frost geschützt werden (DUMAS DE VAULX und DORE, 1985). Der weltweite Umfang der Züchtung ist klein und es wurden nur wenige Studien über die Vererbung der wichtigsten Eigenschaften durchgeführt (BASNIZKY und ZOHARY, 1994). Das Potential des Genreservoirs von Kardone und Wildarten wurde noch nicht untersucht (PÉCAUT, 1993; ZOHARY, 2000; BIANCO, 2000).

Die Fremdbefruchtung wird nicht durch Selbstinkompatibilität verursacht sondern durch Protandrie gefördert. Eine Selbstung ist prinzipiell möglich. Ein Verfahren für die Selbstbefruchtung wurde von PERRINO und PACUCCI (1974) beschrieben. Die Selbstung von vegetativ vermehrten Artischockensorten führt in der Regel zu einer weiten morphologischen Aufspaltung und wiederholte Selbstung führt zu einer starken Inzuchtdepression. So entsprachen bei drei Klonen in der ersten Inzuchtgeneration jeweils nur zwischen 2 % und 8 % den elterlichen Pflanzen (FOURY, 1979). PÉCAUT et al. (1981) und FOURY (1979) berichten, dass die Vitalität der Pflanzen mit zunehmender Homozygotie abnimmt und Inzucht die Blattfläche, die Stielhöhe, die Anzahl und die Größe der vermarktungsfähigen Köpfe, die Qualität und Quantität des Pollen und die Anzahl der lebensfähigen Samen verringert. Die Versuche von BASNIZKY und ZOHARY (1994) zeigten einen ähnlichen Verlust an Vitalität. Häufig war die Inzuchtdepression schon in der zweiten Inzuchtgeneration (I_2) zu sehen. In einigen Fällen waren die Auswirkungen der Inzucht so stark, dass es nicht möglich war, die Selbstung jenseits der I_3 oder I_4 fortzuführen und die Inzuchtlinien mussten verworfen werden. PÉCAUT (1993) zog den Schluss, dass normalerweise die I_4 oder I_5 Generationen einen praktikablen Kompromiss zwischen Vitalität, Saatgutproduktion und Homogenität darstellen.

PRINCIPE (1984) berichtete als erster über männliche Sterilität bei Artischocken, gesteuert über ein einzelnes rezessives Gen. Cytoplasmatische männliche Sterilität wurde bisher noch nicht entdeckt. BASNIZKY und ZOHARY (1994) fanden zwei nichtallelische rezessive männliche Sterilitätsgene, die sie für ihre Züchtungsarbeiten nutzten.

Kreuzungen zwischen Artischockenklonsorten führen häufig zu Heterosis (ausgedrückt in Pflanzenbiomasse und Ertrag). PÉCAUT und FOURY (1992) untersuchten 21 Kreuzkombinationen zwischen I_3 oder I_4 Elternlinien, die aus sieben vegetativ vermehrten Sorten ausgelesen

wurden und fanden heraus, dass der durchschnittliche Gesamtertrag der F₁ Hybriden 81 % höher lag als bei den Eltern. BASNIZKY und ZOHARY (1994) berichten über ähnliche Ergebnisse aus Israel. Außerdem wurde eine eindrucksvolle Vitalität bei den Hybriden festgestellt, wenn kultivierte *scolymus*-Linien mit der wilden *Cynara cardunculus* oder mit der wilden *C. syriaca* gekreuzt wurden. FARAG et al. (1980) stellten bei Hybriden aus Artischocke und Kardonen einen deutlich höheren Samenertrag der Kreuzungsprodukte gegenüber den elterlichen Artischocken fest. Einige Klone übertrafen sogar den Ertrag der Kardonen. Für Züchtung und Saatgutgewinnung sind diese von besonderem Interesse.

Nach ANCORA (1986) sollten mit Hilfe der Erzeugung haploider Pflanzen homozygote Linien etabliert werden. DUMAS DE VAULX et al. (1993) erhielten nach der Befruchtung mit bestrahltem Pollen und anschließender In-vitro-Anzucht eine haploide Pflanze. Die Wiederholung dieses Experimentes in den beiden darauffolgenden Jahren schlug aber fehl. MOTZO und DEIDDA (1993) untersuchten die Möglichkeit, über die In-vitro-Kultivierung von Antheren und Ovula haploide Artischocken zu erhalten. Aus dem dabei erzeugten Kallus konnten keine Pflanzen regeneriert werden. Über die Kultivierung isolierter Artischockenmikrosporen berichten CHATELET et al. (2000). Eine Entwicklung der Mikrosporen über zwei Zellteilungen hinaus ist noch nicht gelungen.

TIVANG et al. (1994 und 1996) etablierten molekularbiologische Methoden für die Untersuchung von Artischocken-DNS. Mit Hilfe von RAPD's (Randomly Amplified Polymorphic DNA) charakterisierten sie die Heterogenität innerhalb und zwischen Sorten und Zuchtlinien von Artischocken.

Die Unterschiede im Anbauverfahren und bezüglich der verwendeten Pflanzenteile von Artischockengemüse und -blattkulturen führen zu unterschiedlichen, z.T. konträren Zuchtzielen. Die folgenden Eigenschaften sind für Züchter von Gemüseartischocken von großer Bedeutung (BASNIZKY und ZOHARY, 1994):

1. Erntetermin — von frühen bis hin zu späten Typen
2. Kopfgröße, Farbe und Fleischigkeit
3. Kopfform — von kugelig über konisch bis zylindrisch
4. Relative Pflanzengröße — von klein bis groß
5. Bedornung der Blütenhüllblätter — von bedornt (wie beim Wildtyp) bis dornlos

Für die pharmazeutische Nutzung lassen sich folgende Zuchtziele definieren (WAGENBRETH et al., 1996; BAIER und HANNIG, 1998; SCHNEIDER et al., 2001):

1. Hoher Gehalt an pharmazeutisch relevanten Inhaltsstoffen
2. Geringe Neigung zur Blütentriebbildung im 1. Anbaujahr
3. Homogenität und genetische Konstanz bei generativer Vermehrung
4. Hohe Blattmassebildung
5. Schnelles Regenerationsvermögen nach Schnitt
6. Keine Bedornung, wenig Behaarung

Die von SCHNEIDER et al. (2001) zusätzlich geforderte Frostresistenz resultiert aus dem Anspruch, dass das Pflanzenmaterial für einen mehrjährigen Anbau geeignet sein soll. Für einen einjährigen Anbau hat sie kaum eine Bedeutung (WAGENBRETH et al., 1996).

Die Kältesumme für die Induktion der Blüte sollte für pharmazeutisch genutzte Sorten besonders hoch sein, damit es auch nach einer frühen Aussaat nicht zur Blütentriebbildung kommt. Verschiedene Untersuchungen an vegetativ und generativ vermehrten Sorten zeigten Unterschiede in den Temperaturbedingungen, die für die Blühinduktion notwendig sind (FOURY und PÉCAUT, 1988; BASNIZKY, 2000). Diese können für Selektionen von Arzneiartischocken genutzt werden (WAGENBRETH et al., 1996).

2.6 Vorgaben zur Qualität der Droge

Die Monographie *Cynarae folium* (ANONYM, 1990) definiert als Bestandteile des Arzneimittels die frischen oder getrockneten Laubblätter. Ohne Gehaltsangabe wird in der Droge das Vorkommen von Kaffeoylchinasäurederivaten wie Cynarin sowie von Bitterstoffen gefordert. Nach BRAND (1990) ist die Artischocke in folgenden Arzneibüchern enthalten: Französisches Arzneibuch, 10. Ausgabe; Brasilianisches Arzneibuch, 3. Ausgabe, Rumänisches Arzneibuch, 9. Ausgabe. Gehaltsangaben für Inhaltsstoffe finden sich in der brasilianischen Pharmacopoe mit 0,7-1,5 % Cynarin und in der rumänischen Pharmacopoe mit mindestens 0,2 % Flavonoide berechnet als Luteolin und mindestens 1,0 % Polyphenole vom Kaffeesäuretyp berechnet als Cynarin. Darüber hinaus gibt es unterschiedliche Anforderungen bezüglich Trocknungsverlust, fremder Bestandteile, Extraktivstoff-, Asche- und Schwermetallgehalt. Das französische Arzneibuch (PHARMACOPÉE FRANÇAISE, 1986) fordert die Verwendung der getrockneten, ganzen oder zerkleinerten Rosettenblätter („feuille radicale“).

BAIER und HANNIG (1998) formulierten unter Berücksichtigung der vorhandenen Arzneibuchmonographien folgende Mindestanforderungen, die an Artischockendroge gestellt werden:

- Die Droge darf ausschließlich Blattspreiten und Blattrippen enthalten; generative Pflanzenteile müssen vor der Ernte oder bei der weiteren Verarbeitung entfernt werden.
- Die natürliche Farbe der Blätter sollte weitgehend erhalten bleiben; die Ernte muss abgestorbene Blätter ausschließen, Aufbereitung und Trocknung müssen ohne mechanische Belastung und unter Ausschluss von Fermentation erfolgen.
- In der Droge sind max. 2 % fremde Bestandteile erlaubt; zum Zeitpunkt der Ernte darf möglichst kein Beikraut in den Schnitthorizont ragen.
- Die Droge darf max. 13 % Gesamtasche enthalten; die Schnitthöhe muss so gewählt werden, dass keine verschmutzten Blätter erfasst werden.
- Die Restfeuchte der Droge darf einen Wert von 10 % nicht übersteigen; auch die langsam trocknenden Blattstiele und –rippen müssen ausreichend trocken sein.

Das Ziel ist eine homogene, qualitativ hochwertige Droge. Sie ist die Grundlage für die Standardisierung der daraus hergestellten Fertigpräparate und die Sicherung einer reproduzierbaren therapeutischen Wertigkeit.

2.7 Pharmazeutisch relevante Inhaltsstoffe und Wirkungsspektrum

2.7.1 Inhaltsstoffe

Pharmazeutisch relevant sind Inhaltsstoffe, „die im isolierten Zustand nicht den gleichen oder ähnlichen therapeutischen Effekt ergeben wie der Gesamtextrakt. Sie sind jedoch nach heutigem Erkenntnisstand für die Gesamtwirkung des Extrakts mitverantwortlich (wirksamkeitsmitbestimmend)“ (GAEDKE und STEINHOFF, 2000).

Artischockenblattdroge enthält die aus pharmazeutischer Sicht interessanten Inhaltsstoffgruppen der Caffeoylchinasäuren (CCS), Flavonoide und Sesquiterpenlacton-Bitterstoffe. Die Nummerierung der DiCCS folgt zum besseren Verständnis der Literatur und nicht den Regeln der IUPAC (1976).

CCS-Verbindungen

Die Caffeoylchinasäuren der Artischocke sind Pepside aus einem Molekül Chinasäure und einem (Mono-CCS) oder zwei (Di-CCS) Molekülen Kaffeesäure. Die Droge enthält bis zu 2,5 % (LATTANZIO et al., 1975; BRAND, 1997) oder bis zu 6 % CCS (WAGENBRETH et al., 1996). WAGENBRETH und EICH (2001) fanden bei ihren Untersuchungen in einigen Herkünften Gehalte über 8 %. Wichtigste Vertreter sind Chlorogensäure (CS) und 1,3-Di-

Caffeoylchinasäure (1,3-DiCCS). Cynarin (1,5-DiCCS) entsteht artifiziell bei der Weiterverarbeitung der Frischpflanzen zu Droge bzw. Extrakt. Es ist genuin nur in Spuren vorhanden (NICHIFORESCO, 1970; ADZET und PUIGMACIA, 1985) und wird erst durch Umesterung aus 1,3-DiCCS gebildet (PANIZZI und SCARPATI, 1965; IGLESIAS et al., 1985).

Flavonoide

Die wichtigsten Flavonoide in Artischockenblättern leiten sich vom Aglykon Luteolin ab. Es sind die Glykoside Cynarosid, Scolymosid und Cynarotriosid neben wenig freiem Luteolin (ADZET und PUIGMACIA, 1985). Für die Blüten wird noch eine ganze Reihe weiterer Flavonoide aus den Aglyka Apigenin und Naringenin beschrieben (EL-NEGOUY et al., 1987). EICH et al. (2001) identifizierten in Artischockenblättern Luteolin-7-O- β -glucuronid (L7G) als weitere Flavonoidkomponente. WAGENBRETH und EICH (2001) fanden für L7G Gehalte von bis zu 0,37 % und einen Anteil am Gesamtflavonoidgehalt von bis zu 40 %. CONSTANTINESCU et al. (1967) ermittelten in Blättern rumänischer Kulturen durchschnittlich 0,5 % Flavonoide. WAGENBRETH et al. (1996) geben bis zu 0,75 % an.

Bitterstoffe

Die Sesquiterpenlactone sind vom Guajanolid-Typ und haben Bitterstoffcharakter. Cynaropikrin mit einem Bitterwert von 400.000 ist mit 47 bis 83 % die Hauptkomponente (BERNHARD, 1982). Die Bitterstoffe sind nur in den grünen Pflanzenteilen lokalisiert; sie werden von den Drüsenhaaren auf der Blattoberfläche sezerniert und somit durch Regen leicht ausgewaschen (SCHNEIDER und THIELE, 1974). Als weitere Bitterstoffe sind noch Grosheimin, Cynatriol und Dehydrocynaropicrin zu nennen (BERNHARD et al., 1979; BERNHARD, 1982). THIELE und SCHNEIDER (1971) fanden bei ihren Untersuchungen zwischen 0 und 4 % Cynaropikrin in der Droge.

Die beschriebenen Inhaltsstoffgruppen kommen sowohl in Artischocken als auch in Kardonen vor (BERNHARD, 1982; GRANČAI et al., 1994; WAGENBRETH, 1996; SLANINA et al., 1999; WAGENBRETH und EICH, 2001). Dies ist ein weiterer Aspekt, der die taxonomische Revision stützt und die pharmazeutische Verwendung beider Kulturformen rechtfertigt.

Verschiedene Autoren berichten über die Veränderungen des CCS-Gehalts während des Vegetationszyklus. In der Wachstumsphase der Rosette nimmt der Gehalt zu; sobald die vegetative Phase der Pflanze beginnt, sinken die Werte (NICHIFORESCO, 1966; PARIS und HÉRISSET, 1969). CONSTANTINESCU et al. (1967) fanden dagegen keine Gesetzmäßigkeit für die Veränderungen des Phenolgehalts. Die Konzentrationen von CCS und Flavonoiden korre-

lieren positiv (NICHIFORESCO, 1970a). Die CCS-Gehalte unterliegen tageszeitlichen Schwankungen. Nachts war ein Rückgang von etwa 30 % festzustellen (WAGENBRETH, 1995). Junge, wachsende Blätter enthalten mehr CCS als ältere (LATTANZIO und MORONE, 1978) und nach LATTANZIO und MORONE (1979) sowie WAGENBRETH (1995) nimmt der Gesamt-CCS-Gehalt wachsender Blätter bei Rosettenpflanzen basipetal ab. Innerhalb der Blätter erreicht die Mittelrippe nur etwa 20 % des Gehalts der Blattspreite. Innerhalb der Blattspreite ist die Verteilung sehr gleichmäßig (NICHIFORESCO und COUCOU, 1966). Keimende Artischockensamen weisen einen Gehalt an Polyphenolen auf, der mit dem ausgewachsener Blätter vergleichbar ist. Die Samen der untersuchten Linien unterschieden sich sehr deutlich im Gehalt und können anhand dieses Kriteriums für Züchtungszwecke selektiert werden (BEN-HOD et al., 1992). WAGENBRETH (1996) sowie WAGENBRETH und EICH (2001) leiteten aus ihren Untersuchungen verschiedener Herkünfte eine Klassifizierung ihres untersuchten Sortiments in vier Chemotypen mittels unterschiedlicher Inhaltsstoffmuster ab. Diese ergeben sich aus der An- bzw. Abwesenheit der drei Flavonoide Scolymosid, Cynarosid und L7G und dem Quotienten aus dem Gehalt an Chlorogensäure (3-CCS) und 1,3-DiCCS.

2.7.2 Wirkungen und Wirksamkeit

Nach der Isolierung und Strukturaufklärung des Cynarins ging man davon aus, dass dies der arzneilich relevante Bestandteil der Artischocke sei (EDGARD-ROSA, 1934; PANIZZI und SCARPATI, 1954). Obwohl bereits kurze Zeit später der Nachweis erbracht wurde, dass der cynarinhaltige Extrakt wirksamer ist als reines, synthetisches Cynarin (KIENEL, 1959), wurden noch zahlreiche positive Studien mit dieser Substanz durchgeführt. Eine bewertende Übersicht dazu findet sich beispielsweise bei WEGENER und SCHMIDT (1995). Als Fazit aus dieser Studienanalyse werden die pharmakologischen Effekte des Gesamtextrakts aus Artischockenblättern deutlich höher bewertet als die Effekte einer Therapie mit isolierten Reinstoffen wie z.B. Cynarin.

Die Monographie „Cynarae folium“ der Kommission E (ANONYM, 1990) bescheinigt für Zubereitungen aus Artischockenblättern aufgrund ihrer choloretischen Wirkung therapeutische Wirksamkeit bei dyspeptischen Beschwerden. Darüber hinaus wurden durch zahlreiche Studien weitere Wirkungen von Artischockenextrakten untersucht. Diese pharmakologischen und klinischen Studien wurden mehrfach in Übersichtsarbeiten zusammengestellt und bewertet (z.B. SCHILCHER und HEIL, 1992; KRAFT, 1997; BRAND, 1999). Eine klinische Studie, die eine cholesterinsenkende Wirkung (ENGLISCH et al., 2000), sowie eine Studie, die den Schutz vor Mykotoxinen (STOEV et al., 2000) durch Artischockenblätterextrakt belegen, sind dort noch nicht enthalten. Aus den genannten Zusammenstellungen lässt sich folgendes Wirkungs-

spektrum ableiten:

- choloretisch / antidyspeptisch
- (leber)zell-protektiv
- antioxidativ
- hepatoprotektiv
- cholesterinsenkend

RAVINA (1934) und KIENEL (1959) berichten auch über eine diuretische Wirkung von Artischockenextrakten.

Die Bitterstoffe der Artischocke können beim Kontakt mit der Pflanze eine allergische Reaktion auslösen, die auch als Berufskrankheit der Artischockenpflücker bekannt ist (GOUGEROT und SERINGE, 1936; MEDING, 1983; HAUSEN, 1988). Obwohl bei oraler Anwendung bislang keine Probleme beobachtet wurden (z.B. FINTELMANN und MENßEN, 1996), gilt eine bekannte Allergie gegen Compositen als Kontraindikation (KRAFT, 1997).

Aus der Aufbereitung der vorliegenden Studien leiten KRAFT (1997) und BRAND (1999) eine sehr gute Verträglichkeit für Artischockenblätterextrakte ab. Sie haben einen bedeutenden Einfluss auf die Cholerese und die Normalisierung der Leberfunktion. Dies wird auch als Grundlage für die mittlerweile belegte cholesterinsenkende Wirkung angesehen.

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Antheren, Ovula und Ovarienkultur mit *Cynara spec.*

Ein Verfahren zur Erzeugung haploider bzw. dihaploider Artischockenpflanzen würde einen wichtigen Schritt für die Neuentwicklung generativ vermehrter Sorten dieser Art bedeuten. Der Zeitbedarf für die Entwicklung hochgradig homozygoter Linien, wie sie auch für eine Hybridzüchtung benötigt werden, könnte deutlich verkürzt werden. Wie im Abschnitt 2.5 geschildert, sind bisher wenige Untersuchungen zu dieser Thematik publiziert worden. Im Folgenden werden Versuche zur Haploidenerzeugung und deren Ergebnisse dargestellt.

3.1.1 Material und Methoden

3.1.1.1 Pflanzenmaterial

Für die Untersuchungen stand ein umfangreiches Sortiment verschiedener Saatgut- und Pflanzgutherkünfte zur Verfügung, das die beiden Kulturtypen Gemüseartischocke und Kardone beinhaltete. Ziel war es, ein großes Spektrum verschiedener Genotypen in den Untersuchungen zu erfassen, da KELLER und KORZUN (1996) sowie SOPORY und MUNSHI (1996) im Genotyp der Donorpflanzen einen der wichtigsten Faktoren für die erfolgreiche Erzeugung von haploiden Pflanzen sehen. Die Codierung sowie die Ursprungsländer der 25 verwendeten Herkünfte sind in Tab. 2 aufgelistet. Die Herkunft C101 gehörte zur Art *Cynara humilis* L.

Tab. 2: *Cynara*herkünfte für Haploidenversuche

Code	Ursprung	Code	Ursprung	Code	Ursprung
A3-12	Portugal	A113	Brasilien	A147	Rumänien
A7-2	Griechenland	A115	Italien	A148	Frankreich
A100	Frankreich	A117	Rußland	C4/13	Italien
A102	USA	A121	Portugal	C66	Italien
A105	USA	A125	Rußland	C102	Spanien
A106	USA	A134	Italien	C104	Italien
A108	Italien	A145	Griechenland	L1	USA
A109	Italien	A146	Rumänien	C101	Portugal
A110	Italien				

3.1.1.2 Kultivierung der Donorpflanzen

Das Saatgut der verschiedenen Herkünfte wurde im Gewächshaus ausgesät. Bis die Pflanzen 4-6 normale Blätter entwickelt hatten, wurden sie weiter im Gewächshaus kultiviert. Über eine Periode von mindestens drei Wochen wurden die Pflanzen vor dem Gewächshaus in

geschützter Lage an Freilandbedingungen angepasst. Diese Anpassung fand im April statt, so dass die Pflanzen ausreichend lange kühlen Temperaturen zur Induktion der Blüte (Vernalisation) ausgesetzt waren. Die Pflanzung auf das Feld erfolgte erst in der 2. Maihälfte, um das Frostrisiko auf ein Minimum zu reduzieren. Für das zweite Versuchsjahr wurden Wurzelstöcke im Spätherbst ausgegraben und in einer Miete überwintert. Diese Pflanzen hatten den Vorteil, dass sie nach einer Pflanzung im April 6-8 Wochen früher Blütenstände bildeten als die aus Samen angezogenen und vernalisierten Pflanzen. Gepflanzt wurde mit einem Abstand von 1x1 m, damit sich die einzelnen Pflanzen optimal entwickeln konnten und die Fläche für die Entnahme der Blütenstände begehbar blieb. Abbildung 1 (links) zeigt die Kultivierung der Donorpflanzen.

3.1.1.3 Nährmedien für die In-vitro-Kultur

Das Grundmedium wurde mit den Makro- und Mikroelementen nach NITSCH und NITSCH (1969) aus selbst hergestellten Stocklösungen gemischt (GAMBORG und PHILLIPS, 1995). Als Kohlenhydratquelle enthielt das Medium 45 g/l Saccharose, weil durch erhöhte Konzentrationen positive Effekte bei vielen Pflanzenarten erzielt wurden (NITZSCHE und WENZEL, 1977). Mit den Vitaminkomponenten wurde eine 100fach konzentrierte Stocklösung hergestellt und im Kühlschrank gelagert. Hormone wurden ebenfalls in Form von Stocklösungen vorbereitet, kühl gelagert und bei der Herstellung nach Bedarf zugesetzt. Zur Verfestigung des Mediums wurde Gelrite® in einer Konzentration von 3 g/l verwendet (CALLEBERG und JOHANSSON, 1996). Der pH-Wert wurde vor dem Autoklavieren entweder mit KOH oder HCl auf 5,8 eingestellt. Das Nährmedium wurde bei 121 °C und 1 bar Überdruck für 20 min in Erlenmeyerkolben sterilisiert. Hormone, Vitamine und Kokoswasser (CW) wurden dem teilweise abgekühlten Nährmedium nach dem Autoklavieren durch einen Sterilfilter vor dem Ausgießen zugegeben. Der noch flüssige Nährboden wurde in Plastikpetrischalen mit einem Durchmesser von 6 cm verteilt. Die Petrischalen wurden mit Parafilm verschlossen und bis zum Belegen mit Explantaten kühl und dunkel gelagert. Auch nach dem Belegen mit Explantaten wurden die Petrischalen als Schutz vor Austrocknung mit Parafilm verschlossen.

3.1.1.4 Sterilisation der Blütenstände und Präparation der Explantate

Nach der Ernte wurde der Stiel direkt am Blütenboden abgeschnitten und die äußeren Bracteen mit verdickter Basis entfernt. Mit Leitungswasser wurden Staub und Sand abgewaschen. Für die eigentliche Sterilisation wurden zwei Verfahren getestet:

- a) Sterilisation der geschlossenen Blütchen nach dem Abnehmen vom Blütenboden oder
- b) Sterilisation des gesamten Blütenstandes mit den noch geschlossenen inneren Bracteen

Da die zweite Variante ebenfalls zu sterilen Explantaten führte, wurde dieses Verfahren wegen der leichteren Handhabung und des geringeren Zeitbedarfs angewendet. Außerdem besteht bei der Sterilisation der Einzelblüten die Gefahr, dass Sterilisationslösung z.B. direkt an die Antheren gelangt und dort Gewebe schädigt. Die Sterilisation der Blütenstände erfolgte in 2 Schritten:

1. Tauchen in 70 % Ethanol für 1 min
2. Tauchen in Natriumhypochlorid mit 3 % Chlor für 5 min

Die Sterilisationslösung wurde nicht von den Blütenständen abgewaschen, weil vor der Präparation der einzelnen Blütchen die restlichen Bracteen entfernt wurden. Blütenstände, in die durch Öffnung der Deckblätter Sterilisationslösung eindrang, wurden verworfen. Um dies zu vermeiden, dürfen vor der Sterilisation nur die Bracteen mit der verdickten Basis entfernt werden, ohne dass die verbleibenden inneren Deckblätter geöffnet werden.

Für Artischocken liegen keine Erkenntnisse vor, welche Blütenorgane sich für die Erzeugung haploider Pflanzen eignen. Häufig wurden entsprechende Untersuchungen mit der Kultivierung von Antheren begonnen, da sie auf einer größeren Anzahl gut präparierbarer Explantate beruht und z.B. mit der Antherenkultur von Tabak sehr gute Erfolge erzielt wurden (YANG und ZHOU, 1982; SAN und GELEBART, 1986). Da sich einige Pflanzenarten wie z.B. *Beta vulgaris*, *Allium cepa* und *Gerbera jamesonii* nicht für eine Androgenese eignen (KELLER und KORZUN, 1996), wurden sowohl Antheren als auch Ovula und Ovarien untersucht.

Für die Präparation der einzelnen Blütenorgane wurden die einzelnen Blütchen mit einer Pinzette an der Spitze der Kronröhre erfasst und durch seitlichen Zug vom Blütenboden getrennt. Die Antheren wurden anschließend durch Abzupfen der Kronblätter freigelegt und mit einem Skalpell vom Fruchtknoten getrennt. Vor der Überführung auf das Nährmedium wurde dann noch der Griffel aus der Mitte der Antheren entfernt. Fruchtknoten wurden nach dem Ablösen der Blütchen vom Blütenboden durch Abschneiden von Kronröhre, Antheren und Griffel gewonnen. Für die Präparation von Ovula wurden die Fruchtknoten mit einem Skalpell angeschnitten und mit einer Pinzette geöffnet. Anschließend wurde der Funiculus mit der Pinzette durchtrennt und das Ovulum auf den Nährboden überführt. Die gesamte Präparation erfolgte unter dem Binokular. Beschädigte Explantate wurden verworfen.

3.1.1.5 Bestimmung des Entwicklungsstadiums der Blütenorgane

Zunächst wurden Blütenstände mehrerer Herkünfte geerntet, von diesen aus mehreren Regionen Antheren gewonnen und mikroskopisch untersucht. Auf diesem Weg wurde das für die spätere Verwendung notwendige äußerlich sichtbare Entwicklungsstadium der Blütenstände eingegrenzt und die Gewinnung nicht verwendungsfähiger Blütenstände auf ein Minimum reduziert. Wenn sich die äußeren Bracteen abspreizen (Abb. 1 rechts), sind die Pollen in den Blütchen im Zentrum etwa im Tetradenstadium und in den Antheren der äußersten Blütchen bilden die Pollen erste Wandstrukturen. Diese Beziehung zwischen äußerlich sichtbarer Entwicklung und der Entwicklung der Blütenorgane war praktisch für alle Herkünfte gültig. Größere Unterschiede traten dagegen zwischen den Blütenständen 1. Ordnung und den übrigen Blütenständen auf. Bei letzteren waren die Bracteen zum gesuchten inneren Entwicklungsstand bereits weiter geöffnet.



Abb. 1: Kultivierung der Donorpflanzen (links) und Blütenstand einer Artischocke im für die Explantatentnahme geeigneten Entwicklungsstadium (rechts)

Aus jedem Blütenstand wurden nach dem Entfernen der inneren Bracteen einige Antheren entnommen, um die vorhandenen Entwicklungsstadien mikroskopisch exakt bestimmen und innerhalb des Blütenkopfes lokalisieren zu können. Für die In-vitro-Kultur wurden Antheren in der Entwicklungsspanne zwischen Ende des Tetradenstadiums und beginnender Pollen-

wandentwicklung verwendet. Die Entwicklungsspanne wurde so weit gewählt, weil (a) der optimale Zeitpunkt für die Antherenkultur von Artischocken nicht bekannt ist und (b) die Bereiche mit Blütchen einer eng definierten Entwicklungsstufe weder scharf begrenzt noch von außen bestimmbar sind.

Um das optimale Entwicklungsstadium des weiblichen Gametophyten zu bestimmen, ist nach KELLER und KORZUN (1996) eine indirekte Beurteilung nach leichter beobachtbaren Eigenschaften wie z.B. dem Stadium der Pollenentwicklung notwendig. FOURY (1967) hat die Entwicklung beider Gametophyten für Artischocken beschrieben und in einen zeitlichen Zusammenhang gebracht. Für die Kultivierung von Ovula und Ovarien wurde nicht nur, wie bei MOTZO und DEIDDA (1993) beschrieben, das von FOURY (1967) definierte Stadium „D“ verwendet. Die Pollen befinden sich zum Beginn dieses Stadiums noch in der Tetrade, in der Megasporenmutterzelle finden am Ende dieses Stadiums die meiotischen Kernteilungen statt. Der Entwicklungsbereich wurde weiter gewählt und anhand der Pollenentwicklung bestimmt.

3.1.1.6 Kulturbedingungen und Versuchsvarianten

Die Explantate wurden in einem Kulturraum bei Temperaturen von 22-24 °C und einer Photoperiode (2000 Lux) von 16:8 h hell:dunkel kultiviert. Teilweise wurde eine mehrtägige Kältebehandlung der Blütenstände mit Temperaturen von 4-5 °C vorgeschaltet, die bei einigen Arten positive Effekte gezeigt hat (SOPORY und MUNSHI, 1996; KELLER und KORZUN, 1996). Die Explantate wurden nach 4 Wochen auf frisches Medium gleicher Zusammensetzung überführt. Kallus wurde je nach Entwicklung 4, 6 oder 8 Wochen nach Kulturbeginn auf ein eigenes Nährmedium umgesetzt.

In Tabelle 3 sind die Faktoren aufgelistet, die in den Versuchen zur Erzeugung haploider Artischockenpflanzen variiert wurden. Die verwendeten Phytohormonzusätze sind in Tabelle 4 aufgelistet. Sie wurden aus verschiedenen Publikationen u.a. auch über erfolgreiche Kalluserzeugung ausgewählt. Das Kokosnusswasser (CW) wurde aus reifen Früchten gewonnen und nach GAMBORG und PHILLIPS (1995) aufbereitet und gelagert.

Tab. 3: Versuchsglieder für die Haplidenversuche

Faktoren	Varianten
Genotyp	25 Herkünfte (siehe Tab. 2)
Explantat	Antheren, Ovula, Ovarien
Entwicklungsstadium	Tetraden bis Beginn der Pollenwandentwicklung Ovula zwischen 200 und 1.500 µm
Kältebehandlung	ohne, 3, 5 od. 7 Tage bei +4 °C
Phytohormone	10 Varianten (siehe Tab. 4)
Belichtung	dunkel oder 16:8 h (hell:dunkel)

Durch mehrfache Verwendung einzelner Genotypen ergaben sich 39 einzelne Versuche. Davon wurden einige noch in mehrere Varianten durch verschiedene Explantatformen aus demselben Blütenstand und die Kultivierung bei Licht bzw. bei Dunkelheit unterteilt. Für die Dunkelkultur wurden die Petrischalen in Alufolie eingewickelt und ebenfalls im Kulturraum aufbewahrt.

Tab. 4: Wachstumsregulatoren für Antheren- und Ovulakultur

Nr.	Phytohormone	Konzentration	
1	2,4-D	2,00	mg/l
2	TDZ	0,05	mg/l
	NAA	0,50	mg/l
3	ZEA	5,00	mg/l
4	KIN	1,00	mg/l
	NAA	0,05	mg/l
5	CW	15,00	% (V/V)
	NAA	0,50	mg/l
6	KIN	2,00	mg/l
	NAA	0,50	mg/l
7	2iP	5,00	mg/l
	NAA	0,50	mg/l
8	BAP	2,00	mg/l
	NAA	0,50	mg/l
9	KIN	2,00	mg/l
	IAA	1,00	mg/l
10	CW	15,00	% (V/V)
	2,4-D	0,20	mg/l

Nach CAPPADOCIA et al., 1988; MOTZO und DEIDDA, 1993; TOPONI und GAUTHERET, 1960; KANAKIS und DEMETRIOU, 1993)

Für die Kultivierung von Kallus wurden die Ausgangsnährböden bzw. das Medium nach MURASHIGE und SKOOG (1962) verwendet und mit den in Tabelle 5 genannten Phytohormonzusätzen ergänzt. Kallus wurde alle 21 Tage auf frisches Medium derselben Zusammensetzung überführt.

3.1.1.7 Auswertung

Die Explantate in den einzelnen Versuchen wurden auf Verfärbungen und sonstige Veränderungen hin beobachtet. Die Rate der Kallusbildung wurde nach vier, sechs, acht und zehn Wochen ausgezählt. Bei der Umsetzung auf die in Tabelle 5 aufgelisteten Nährböden wurde der Kallus unter dem Binokular auf Anzeichen von Sprossbildung hin untersucht und die Konsistenz der Kalli bestimmt. Ovarien wurden nach vier oder nach acht Wochen geöffnet und die Weiterentwicklung des Ovulums geprüft. Ovula, ohne oder mit Ovarium kultiviert,

die deutlich an Größe gewonnen hatten, wurden auf die Bildung von Kallus hin untersucht. Darüber hinaus wurde sowohl bei den Antheren als auch bei den Ovula der Ort der Kallusbildung bestimmt.

Tab. 5: Nährböden für die Kalluskultivierung (K-Medien)

Bez.	Phytohormone	Konzentration	
K a	BAP	5,00	mg/l
	NAA	0,50	mg/l
K b	BAP	2,00	mg/l
	NAA	5,00	mg/l
K c	KIN	5,00	mg/l
	IAA	0,50	mg/l
K d	KIN	2,00	mg/l
	IAA	1,00	mg/l
K f	CW	15,00	% (V/V)

H 1-10 Ausgangsnährboden (siehe Tab.4)

K-Medien modifiziert nach ORDAS et al. (1990) sowie TOPONI und GAUTHERET (1960).

3.1.2 Ergebnisse

Die Angaben zur Kallusbildung beziehen sich auf die Auswertungen nach zehn Wochen.

Aus den 25 verschiedenen Genotypen wurden insgesamt 7000 Antheren, 1900 Ovula und 3500 Ovarien kultiviert. Die Farbentwicklung der Explantate verlief sehr unterschiedlich. Die Antheren veränderten ihre Farbe von weiß nach bräunlich bis anthocyanfarben. Ovula verhielten sich ähnlich wie Ovarien. Sie behielten ihre weiße Farbe oder färbten sich entweder braun oder grün (letzteres nur bei Beleuchtung). Die ersten Kalli wurden zwei Wochen nach Beginn der In-vitro-Kultivierung beobachtet. Von 0,41 % aller Explantate wurde nach zehn Wochen Kulturdauer ein Kallus gebildet, was einer Gesamtzahl von 51 Kalli entspricht. Direkte Embryogenese wurde in keinem Fall beobachtet. Die Anzahl der auf den einzelnen Nährbodenvarianten gebildeten Kalli ist in Tabelle 6 dargestellt. Auf dem Nährboden H9 konnte in keinem Fall eine Kallusentwicklung beobachtet werden. Auch die Varianten H2 und H10 eigneten sich mit jeweils einem erzeugten Kallus nicht für die Kallusinduktion. Das beste Ergebnis wurde mit elf Kalli auf H5 erreicht.

Von den 25 untersuchten Genotypen zeigten folgende elf auch nach acht Wochen keine Anzeichen von Kallusbildung und die Explantate starben ab: A3-12, A100, A105, A108, A109, A113, A146, A148, C66, C101, C102. Mit einer Rate von 6,7 % war A125 der Genotyp mit der höchsten Resonanz. Hier bildeten sich an zehn Ovarien ausschließlich auf dem Medium H5 Kalli. Dieses Ergebnis konnte in einem zweiten Versuchsansatz nicht wiederholt werden.

C4/13 (Ovula) und A102 (Ovarien) waren mit 3 % (auf H3) bzw. 2,7 % (auf H8) weitere Herkünfte mit höheren Raten.

Sieben kultivierte Antheren bildeten Kallusgewebe, was für diese Explantatform einem Anteil von 0,1 % entspricht. An Ovula wurde mit einer Rate von 0,89 % (n=17) am häufigsten Kalluswachstum festgestellt, bei Ovarienkultur war die Rate mit 0,76 % (n=27) etwas geringer.

Nach der Kältebehandlung wurde nur an einer Anthere Kallus erzeugt und weder bei Ovarien noch bei Ovula kam es zu einer Bildung von Kallusgewebe. Diese Versuchsvariante erwies sich somit für die Kallusbildung als nicht geeignet. Unter Lichteinfluss war die Kallusbildung unter Berücksichtigung aller Varianten etwa doppelt so hoch wie ohne Licht.

Tab. 6: Anzahl der auf den verschiedenen Nährböden gebildeten Kalli insgesamt und auf die Explantatform bezogen.

Nährboden	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	Σ	%
Anzahl Kalli	5	1	6	7	11	8	7	5	0	1	51	0,41
davon aus												
-Antheren	3	0	0	0	1	2	1	0	0	0	7	0,1
-Ovula	2	1	5	1	0	3	3	1	0	1	17	0,89
-Ovarien	0	0	1	6	10	3	3	4	0	0	27	0,76

Die von Genotyp C101 (*Cynara humilis*) kultivierten Ovarien färbten sich etwa zwei Wochen nach dem Start der Kultur grün und entwickelten sich etwa bis zum fünffachen ihrer ursprünglichen Größe (Abb. 2). Sie wuchsen stärker als alle Ovarien der Artischocken- und Kardonenherkünfte. Dieses Wachstum war aber nicht auf eine Kallusbildung im Inneren zurückzuführen.

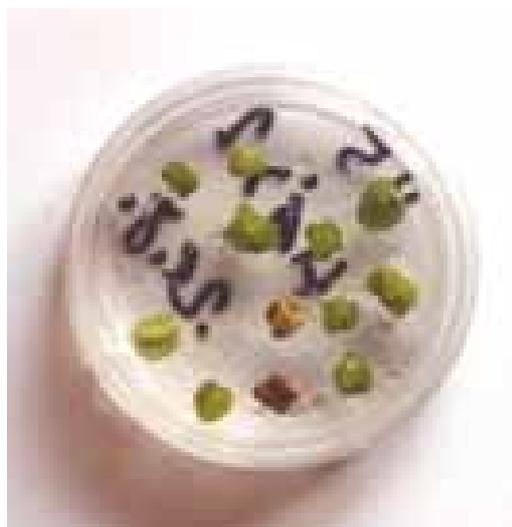


Abb. 2: Ovarien mit Kallusbildung (links) und grüne Ovarien von *C. humilis* (rechts) jeweils sechs Wochen nach Kulturbeginn (Durchmesser der Petrischale 60 mm)

Die Kalli der Antheren entstanden entweder an der Filamentbruchstelle oder entlang der Anthere. Im ersten Fall (5x) waren sie weißlich und von lockerer Konsistenz und im zweiten Fall (2x) braun und kompakt. Nur die kompakten Kalli bekamen bei der Kultur auf den K-Medien eine grüne Farbe. Die kultivierten Ovula variierten in der Größe zwischen 350 µm und 1700 µm. An zehn Ovula-Explantaten bildete sich Kallus am durchtrennten Funiculus und bei sieben Exemplaren im Inneren. Letzterer führte zu einer deutlichen Größenzunahme und schließlich zum Aufbrechen des Ovulums. Beide Kallustypen waren von kompakter Konsistenz und weißlich bis hellbraun. Der größere Anteil (18 von 27) der an den Ovarien gebildeten Kalli entstand an der ehemaligen Verwachsungsstelle mit dem Blütenboden. Die restlichen neun Kalli bildeten sich aus den Ovula und führten zu einem Anschwellen der explantierten Samenanlagen. Der äußerlich gebildete Kallus war weißlich bis braun und locker. Der Ovulakallus war kompakt und von bräunlicher Farbe. Aufgrund der insgesamt geringen Resonanz der Explantate wurden keine weiteren Auswertungen z.B. bezüglich der Größe der kultivierten Ovula vorgenommen.

Die Kalli wurden wie beschrieben auf unterschiedlichen Nährböden weiterkultiviert. Auf dem Nährboden Kf (mit Kokoswasser) war kaum weiteres Wachstum sichtbar. Das stärkste Wachstum konnte auf den Medien mit hohen Hormonkonzentrationen (Ka und Kb) beobachtet werden. Nach Umsetzung auf die Ausgangsnährböden (H-Reihe) wuchsen die Kalli nur mäßig. Kompakter Kallus nahm schneller an Größe zu als lockerer. Die Kalli konnten über einen Zeitraum von max. 12 Wochen (3-4 Subkulturen) kultiviert werden bevor sie verbräunten und abstarben. Die Untersuchungen unter dem Binokular bei den Umsetzungen auf frisches Nährmedium zeigten unabhängig vom ursprünglichen Explantat, von Kalluskonsistenz und -farbe keine Strukturen, die auf eine Sprossbildung hindeuteten.

3.1.3 Diskussion

Über alle Versuchsvarianten betrachtet, war die Rate der Kallusbildung äußerst gering. MOTZO und DEIDDA (1993) erreichten in ihren Versuchen mit Antherenkulturen in Abhängigkeit von der Sorte eine Rate zwischen 0,1 % und 2,6 %. Zwei der fünf von diesen Autoren untersuchten Artischockensorten bildeten keinen Kallus in der Antherenkultur. Für elf der 25 für die vorliegende Arbeit untersuchten Genotypen waren entweder die gewählten Kulturbedingungen (Nährbodenzusammensetzung etc.), das gewählte Entwicklungsstadium und/oder der Genotyp nicht für die In-vitro-Kultivierung geeignet und es konnte auch zehn Wochen nach Beginn der Kultur keinerlei Entwicklungsfortschritt beobachtet werden. Für die kultivierten Ovula geben MOTZO und DEIDDA (1993) keinen Prozentsatz für die Kallusbildung an,

so dass ein direkter Vergleich mit den hier gefundenen Ergebnissen nicht möglich ist.

Aus den erzeugten Kalli konnten keine Sprosse regeneriert werden. Diese Erfahrung deckt sich mit den Ergebnissen von MOTZO und DEIDDA (1993). Aus dem Kallus anderer Artischockengewebe wie z.B. Bracteen konnten dagegen erfolgreich Sprosse regeneriert werden (ORDAS et al., 1990). Der Entstehungsort des Kallus kann über den weiteren Erfolg der Kultivierung entscheiden. SITBON (1981) beobachtete bei der In-vitro-Kultur unbefruchteter Ovula von *Gerbera jamesonii* zwei Typen von Kallus, von denen nur derjenige Sprosse produzierte, der im inneren des Ovulums entstanden war.

Die erfolgreiche Erzeugung haploider bzw. dihaploider Pflanzen durch In-vitro-Kultur von Antheren und Ovula ist von sehr unterschiedlichen Faktoren abhängig (z.B. SAN und GELEBART, 1986; KELLER und KORZUN, 1996; SANGWAN und SANGWAN-NOREEL, 1996). So zeigten z.B. die Untersuchungen von THENGANE et al. (1994) an Sonnenblumen die sehr unterschiedliche Eignung verschiedener Genotypen für die Antherenkultur. In den hier beschriebenen Versuchen an *Cynara* wurde mit 25 verschiedenen Herkünften möglicherweise der Faktor Genotyp der Donorpflanzen überbewertet.

Der physiologische Zustand der Donorpflanzen hat ebenfalls einen wesentlichen Einfluss auf die weitere Entwicklung der Explantate. Gezielt beeinflusste Kulturbedingungen haben bei einigen Arten die Resonanz deutlich verbessert (z.B. SOPORY und MUNSHI, 1996; DUNWELL, 1996). Möglicherweise waren die Bedingungen der hier verwendeten Pflanzen nicht optimal, da die Art an das Mittelmeerklima angepasst ist. Das von den Pflanzen gezeigte Wachstum und das Blühverhalten nicht genutzter Blütenstände bis hin zum Ansatz von Samen sind allerdings deutliche Anzeichen für eine normale Entwicklung der Donorpflanzen.

Das Entwicklungsstadium entscheidet über die Fähigkeit von Pollen und Ovula zur Kallusbildung und/oder Embryogenese. Bei Pollen gilt das Einkernstadium für viele Arten als optimal für den Start der Antherenkultur. Doch auch mit früheren (Tetraden) und späteren (Zweikernstadium) Stadien wurden erfolgreich Haploide erzeugt (Übersicht bei SOPORY und MUNSHI, 1996). Die Dauer des geeigneten Entwicklungsstandes kann sehr kurz sein. PECHAN und KELLER (1988) beobachteten für *Brassica napus* ein Zeitfenster von nur acht Stunden, in dem die Mikrosporen zur Embryogenese fähig sind. Über das optimale Stadium des Gametophyten für die Gynogenese liegen nur wenige Untersuchungen vor (KELLER und KORZUN, 1996). Für einige Arten sind alle Kerne des Embryosacks (Eizelle, Synergiden, Polkerne und Antipoden) teilungsfähig und können Embryonen oder Kallus bilden. In den hier vorgestellten Antherenkulturversuchen wurden Stadien von der Tetrade bis zum Zweikernstadium berücksichtigt. Für die Ovula- und Ovarienkultur wurden basierend auf den Untersuchungen von FOURY

(1967) Ovula aus Blütchen gewonnen, deren Mikrosporen sich zwischen dem Tetradenstadium und der Bildung von Pollenwandstrukturen befanden. Zum jetzigen Zeitpunkt kann keine Aussage über ein besonders geeignetes Entwicklungsstadium der Gametophyten getroffen werden.

Unter den verschiedenen Möglichkeiten der Vorbehandlung wird die Kältebehandlung am häufigsten genutzt (SOPORY und MUNSHI, 1996) und es existieren zahlreiche Protokolle mit unterschiedlichsten Angaben. SUNDERLAND und ROBERTS (1979) zeigten, dass bereits eine geringfügige Differenzierung der Kältebehandlung bezüglich Temperatur oder Dauer die Erfolgsrate z.B. bei der Kultur von Tabakantheren deutlich erhöhen konnte. KELLER und ARMSTRONG (1979) steigerten durch eine Vorbehandlung mit erhöhten Temperaturen die Embryogenese bei *Brassica campestris* deutlich. Bei Sonnenblumen konnten JONARD und MEZZAROBBA (1990) ebenfalls durch eine Wärmebehandlung die besten Ergebnisse erzielen. In weiteren Untersuchungen an *Cynara* sollten deshalb auch Behandlungen mit hohen Temperaturen einbezogen werden.

Die In-vitro-Kulturbedingungen sind wie die vorher genannten Faktoren entscheidend für den Erfolg von Antheren- und Ovulakulturen. Die Zusammensetzung der Makro- und Mikroelemente des Nährmediums, die Vitaminkomponenten und die Konsistenz (fest oder flüssig) sind nur einige von vielen vorhandenen Variationsmöglichkeiten. Häufig zeigen bei sonst unveränderten Parametern bereits sehr feine Abstufungen z.B. der im Medium verwendeten Hormonkonzentrationen sehr deutliche Unterschiede in der Resonanz der Explantate (SITBON, 1981; BOHOROVA et al., 1985) oder sind für verschiedene Stadien grundlegend unterschiedliche Medien erforderlich (MEYNET und SIBI, 1984). Nach den hier vorgestellten Beobachtungen wird empfohlen, mit weniger Genotypen andere Nährböden mit feiner abgestuften Konzentrationen verschiedener Phytohormone zu testen.

Die Ergebnisse von MOTZO und DEIDDA (1993) und die oben vorgestellten Ergebnisse konnten nicht zeigen, ob Artischocken zur Androgenese oder zur Gynogenese fähig sind. Hierzu sind weitergehende Untersuchungen notwendig. Eine alternative Methode für die Erzeugung haploider Artischockenpflanzen könnte die Bestäubung mit bestrahlten Pollen sein. So wurden z.B. bei Kakao, Apfel, Melone und Petunien nur mit dieser Technik Haploide erzeugt (SESTILI und FICCADENTI, 1996). Dafür ist eine Isolierung der Pflanzen sowie eine saubere Abnahme der Pollen notwendig. Unter unseren Klimaverhältnissen sind die dafür optimalen Bedingungen (hohe Temperatur, niedrige Luftfeuchte) nur selten vorhanden, weil Artischockenpollen zum Verkleben neigen (FOURY, 1987). DUMAS DE VAULX et al. (1993) konnten mit bestrahlten Artischockenpollen eine haploide Pflanze erzeugen, dieses positive Ergebnis

aber in weiteren Versuchen nicht wiederholen. Die Kultivierung von isolierten Mikrosporen ist eine Alternative zur Antherenkultur und ihr Erfolg unterliegt sehr ähnlichen genetischen und physiologischen Faktoren (DUNWELL, 1996). Für HEBERLE-BORS et al. (1991) hat die Pollenkultur gegenüber der Antherenkultur, letztere ist in der züchterischen Praxis vorzuziehen, mehrere Vorteile wie z.B. Wegfall der Einflüsse der Antherenwand und gleichmäßiger Zugang der Mikrosporen zu den Nährstoffen des Kulturmediums. CHATELET et al. (2000) berichten über erste Versuche zur Mikrosporenkultur von Artischocken. Die Regeneration haploider Artischockenpflanzen mit dieser Methode steht noch aus. Über Versuche zur Elimination eines Chromosomensatzes durch interspezifische Kreuzungen (KHUSH und VIRMANI, 1996), wie sie z.B. die Bulbosum-Methode bei Gerste darstellt, liegen zur Artischocke bislang keine Berichte vor.

3.2 Verhalten pharmazeutisch relevanter Inhaltsstoffe der Artischocke während des Rosettenstadiums

Artischockenblattdroge wird idealerweise ausschließlich von Pflanzen im Rosettenstadium gewonnen. Auch in dieser Phase der Pflanzenentwicklung können die sekundären Pflanzeninhaltsstoffe Schwankungen unterliegen, die aus der unterschiedlichen Entwicklung der einzelnen Blätter und für vergleichbar entwickelte Blätter durch jahreszeitliche Einflüsse entstehen. Untersuchungen zum Umfang dieser Schwankungen werden im folgenden vorgestellt.

3.2.1 Material und Methoden

3.2.1.1 Standort, Pflanzenmaterial und -entwicklung

Die Pflanzen für diese Untersuchungen wurden auf dem unter 3.3.1 ausführlich beschriebenen Standort der Pharmaplant GmbH in Artern kultiviert. Vor der Pflanzung wurden 60 kg/ha N und 90 kg/ha K₂O gedüngt. Das Pflanzenmaterial (Tab. 7) setzte sich aus drei Saatgutherkünften und zwei selbstvermehrten In-vitro-Klonen zusammen (BAIER et al., 1997). Die Zuordnung zu den von WAGENBRETH (1996) erstmals beschriebenen Chemotypen erfolgte nach Ergebnissen früherer Untersuchungen der Herkünfte (BAIER und EICH, unveröff.). Je 22 Pflanzen von den Herkünften C104, A115 und A111 wurden aus Samen im Gewächshaus vorkultiviert und am 6. Juni 1997 im Freiland ausgepflanzt. A7-2 und A3-12 sind In-vitro-Klone, von denen je 11 Pflanzen am 13. Juni 1997 gepflanzt wurden. Der Pflanzabstand betrug 1 m in der Reihe und 1,5 m zwischen den Reihen. Die Entwicklung der Pflanzen wurde ab dem 18. Juni durch Blattlängenmessungen und Zählung der Blätter erfasst.

Tab. 7: Für die ontogenetischen Untersuchungen verwendetes Pflanzenmaterial

Code-Nr.	Ursprung	Chemotyp	Pflanzenzahl
C104	Italien	II	22
A115	Italien	III	22
A111	Italien	I	22
A7-2	Griechenland	III	11
A3-12	Portugal	III	11

3.2.1.2 Blattauswahl und Probenahme

Im Zeitraum vom 20. Juni bis zum 11. Nov. 1997 (Frostbeginn) wurden Blattproben in drei Serien von allen fünf Herkünften genommen. Die Pflanzenentwicklung zum Beginn und zum Ende der Probenahme zeigt Abb. 3. Am 18. Juni und am 23. Juli 1997 wurde das kleinste sichtbare Blatt jeder Pflanze gemessen und markiert. Der Start der ersten Serie war in der

Regel das fünfte Blatt (das älteste Blatt entsprach Position 1) und der zweiten Serie das 13. Blatt. Für die Auswahl der Probenblätter der Serien 1 und 2 wurde nach der Messung der Mittelwert der Länge aller markierten Blätter derselben Herkunft berechnet. Für die Probe wurde dann ein markiertes Blatt ausgewählt, dessen Länge dem Mittelwert entsprach und das gesund und unbeschädigt war. Die Anzahl der Einzelwerte für die Mittelwertberechnung verringerte sich mit jedem Termin um einen Wert. An jedem Probentermin wurden fünf Blätter geerntet, jeweils 1 Blatt pro Herkunft. Die Proben wurden im Abstand von 3-7 Tagen geerntet. In der Anfangsphase wurden kürzere Intervalle gewählt als gegen Ende, um im Zeitraum der schnellen Längenzunahme die Entwicklung präziser erfassen zu können.



Abb. 3: Entwicklung der Pflanzen zum Beginn (20.06.97, links) und zum Ende (11.11.97, rechts) des Probenahmezeitraums am Beispiel des Klons A7-2

Die Probenahme für Serie 3 erstreckte sich vom 15.09. bis zum 11.11.1997 und umfasste 8 Termine im Wochenabstand, an denen von jeder Herkunft je eine Pflanze beprobt wurde. Eine Ausnahme bildete C104 mit vier Proben pro Termin. Im Unterschied zu Serie 1 und 2, hier wurden unterschiedlich entwickelte Blätter verwendet, wurden für die 3. Serie an jedem Termin jeweils das längste Blatt der beprobten Pflanzen entnommen. Die Längenmessung erfolgte jeweils an vier zufällig ausgewählten Pflanzen, die nicht mit denen der drei vorherigen Termine dieser Probenserie identisch waren. Für die 3. Serie stand der jahreszeitliche Einfluss

im Vordergrund der Untersuchung. Eine Übersicht über die Anzahl der Termine und die Summe der untersuchten Proben zeigt Tabelle 8.

Tab. 8: Übersicht zur Untersuchung der Inhaltsstoffe in unterschiedlich entwickelten Blättern

	Serie 1	Serie 2	Serie 3
Zeitraum	20.6. – 24.7.97	24.7. – 1.9.97	15.9. – 11.11.97
Termine	7	10	8
Pflanzen/Termin	1/Herkunft	1/Herkunft	1/Herkunft, 4 für C104
Blattposition	5	13	variabel, jeweils längstes Blatt
Σ Proben untersucht	35	50	64

Nach der Ernte wurden die Blätter gewogen, zur Beschleunigung der Trocknung entlang der Mittelrippe halbiert und mehrfach quer geschnitten. Getrocknet wurde im Trockenschrank bei max. 40 °C für ca. 48 h. Danach wurde das Trockengewicht bestimmt und das Eintrocknungsverhältnis berechnet. Für die weiteren Untersuchungen wurden die Blätter mit einer Hochgeschwindigkeitsmühle (Fritsch Pulverisette) mit einem 0,5 mm Sieb pulverisiert.

3.2.1.3 HPLC-Bestimmung der Inhaltsstoffe

Die Proben wurden nach folgender Methode, modifiziert nach ADZET und PUIGMACIA (1985) und SCHILCHER (1995), untersucht:

- Probenvorbereitung: 100 mg des pulverisierten Blattmaterials werden mit neun ml Methanol 80 % (v/v) für 30 min im Ultraschallbad extrahiert. Zwei ml des methanolischen Extrakts, vorher mit 80 % Methanol (v/v) auf zehn ml aufgefüllt, werden mit 10.000 g zentrifugiert. Ein Teil des Überstandes wird mit der gleichen Menge Wasser gemischt. 20 µl dieser Lösung werden in das HPLC-System eingespritzt.
- Chromatographisches System: Waters HPLC-System (Pumpe 600 E, Autosampler 717, Säulenheizung, Photodioden-Array Detektor 996) verbunden mit einem Computer mit Millennium 2.15 Software.
- Säule: Supelcosil LC-18, 150 × 4,6 mm (5 µm) mit integrierter Vorsäule 20 × 4,6 mm (5 µm).
- Gradienten-Lösungssystem: A: Acetonitril; B: 1000 ml Wasser + 5 ml Phosphorsäure (85 %).
- Gradient: min 0-1 mit 8 % A, min 1-6 Anstieg auf 12 % A, min 6-8 Anstieg auf 18 % A, min 8-18 mit 18 % A, min 19-29 Anstieg auf 32 % A, min 30-35 mit 100 % A, min 36-50

mit 8 % A. Die Trennung ist nach 30 min abgeschlossen. Die letzten beiden Schritte dienen der Reinigung der Säule und der Konditionierung für die nächste Probe.

- Durchfluß: 1,0 ml/min.
- Säulentemperatur: 40 °C.
- Wellenlänge für die Detektion: 200 bis 400 nm.
- Wellenlänge für die Integration: 330 nm.
- Quantitative Analyse: CCS und Flavonoide werden durch das Photodioden-Spektrum identifiziert und als Chlorogensäure bzw. als Cynarosid (Luteolin-7-O-glucosid) berechnet.
- Retentionszeiten in min: CS 9,7; Scolymosid 17,7; Cynarosid 18,3; L7G 18,7; 1,3-DiCCS 20,9.

Alle Inhaltsstoffuntersuchungen wurden im Labor der Sertürner Arzneimittel GmbH unter der Leitung von Herrn Dr. Eich durchgeführt.

Aus den Werten für CS und 1,3-DiCCS wurde wie bei WAGENBRETH (1996) ein Quotient berechnet, der innerhalb des Gesamt-CCS-Gehalts Aufschluss über das Verhältnis dieser beiden Hauptkomponenten zueinander gibt.

3.2.2 Ergebnisse

Die folgenden Datumsangaben beziehen sich auf das Jahr 1997.

3.2.2.1 Pflanzenentwicklung und Blattproben

In Abbildung 4 ist die Längenentwicklung der beprobten Blätter dargestellt. Bei Blattposition 5 (1. Serie) erreichten die Blätter im Mittel der Herkünfte maximale Längen zwischen 25 cm (A3-12) und 39 cm (C104). Für Blattposition 13 (2. Serie) wurden Werte von 53 cm (A111) bis 96 cm (C104) ermittelt. Die Herkunft C104 erreichte in jeder Serie die höchsten Werte, am 21.10. im Mittel von vier Blättern eine Länge von 138 cm mit einem Spitzenwert von 157 cm. A111 hatte in der 3. wie auch in der 2. Serie die kürzesten Blätter. Obwohl sich die maximalen Blattlängen der einzelnen Herkünfte deutlich unterscheiden, verläuft die Längenentwicklung nahezu identisch. Die eigentliche Längenwachstumsperiode der Blätter dauert etwa 20 Tage, danach ist nur noch eine minimale Längenzunahme festzustellen. Bei den Klonpflanzen von A3-12 wurde in der 3. Serie im Vergleich zu den anderen Herkünften eine sehr geringe Schwankungsbreite festgestellt. Die hier gemessenen Werte für die längsten Blätter lagen zwischen 90 und 100 cm. Dagegen waren bei den Klonpflanzen von A7-2 die Schwan-

kungen in der ersten Hälfte der Serie sehr groß.

Folgende Blattgewichte wurden ermittelt (Angabe frisch/trocken): Die Blätter der 1. Serie erreichten zu Beginn Werte zwischen 0,6/0,1 g (A7-2) und 0,9/0,17 g (C104) und zum Ende zwischen 10/1,7 g (A3-12) und 30/5 g (C104). In der 2. Serie hatten die Blätter zum Anfang eine Masse von 4/0,6 g (A3-12) bis 6/0,9 g (A115) und zum Ende von 109/14 g (A111) bis 225/29 g (C104). Die ausgewachsenen Blätter wogen zwischen 74/14 g (A7-2) und 285/47 g (C104).

Die Blätter der 1. und 2. Serie zeigten ein Eintrocknungsverhältnis von 5-9:1. In der 1. Serie war mit zunehmendem Blattalter eine fallende Tendenz feststellbar (Daten nicht gezeigt), die Proben der 2. und 3. Serie ließen keinen Trend erkennen. Die ausgewachsenen Blätter zeigten mit Werten von 5,5-7,5:1 eine kleinere Schwankungsbreite und im Durchschnitt niedrigere Werte.

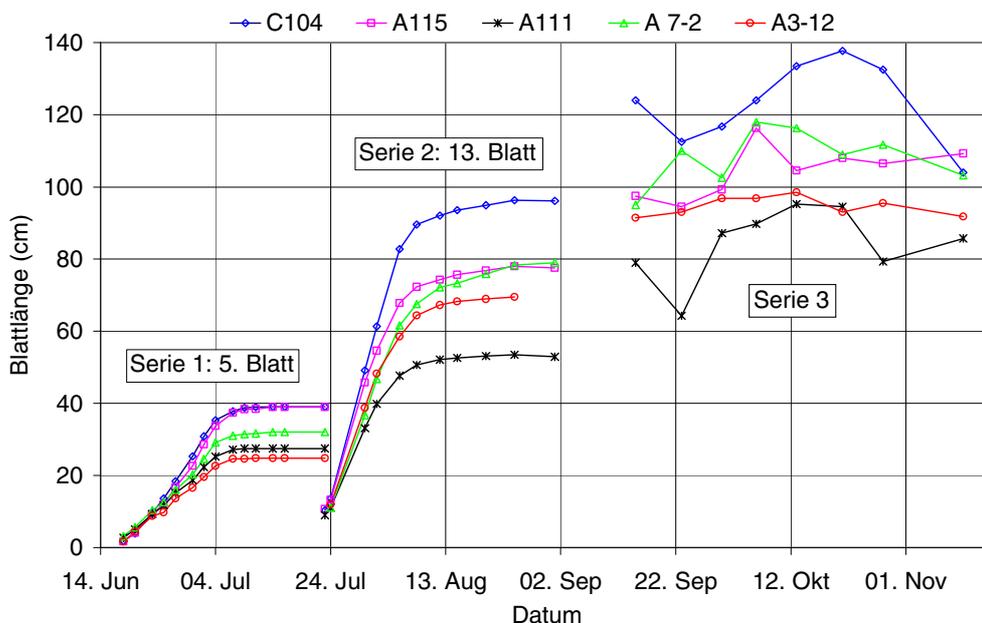


Abb. 4: Längenentwicklung der Blätter der 3 Probenserien

3.2.2.2 CCS-Gehalt

Der Gesamtgehalt an CCS (% in der LTM) in den Blättern während verschiedener Entwicklungsstadien ist in Abbildung 5 dargestellt. Mit zunehmendem Blattalter ist eine Abnahme der Gehalte bei der 5. und der 13. Blattposition für alle Herkünfte erkennbar, wobei dieser Trend bei den einzelnen Herkünften nicht stetig verläuft und der Rückgang unterschiedlich hoch ausfällt. Der höchste CCS-Gehalt (11,5 %) wurde in der 1. Probe von A111, der niedrigste Wert (1,43 %) in A7-2 vom 6.10. gemessen. In den ausgewachsenen Blättern (3. Serie) von A115 und A3-12 wurden höhere Werte ermittelt als in den anderen 3 Herkünften, wobei sich

die Werte zum letzten Probenstermin (12.11.) annähern. Ein allgemeiner Trend ist für diese Serie nicht erkennbar.

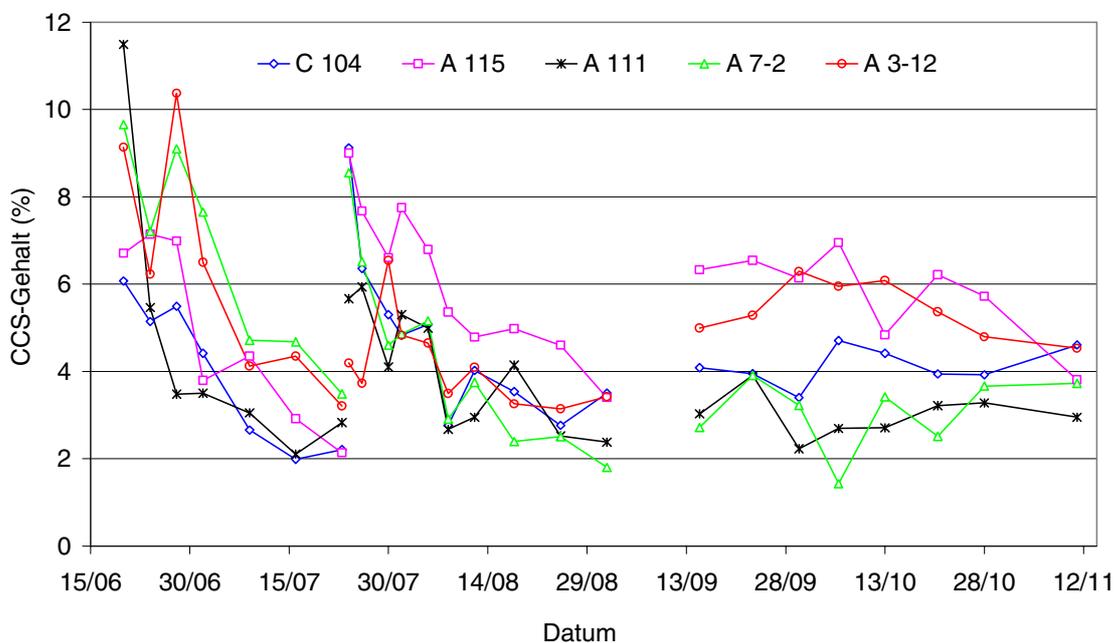


Abb. 5: Verlauf des CCS-Gehalts der beprobten Blätter

Der aus dem Gehalt an CS und 1,3-DiCCS berechnete Quotient zeigt keine deutlichen Unterschiede in Bezug auf das Blattalter für vier Herkünfte (Abb. 6). Bei Klon A7-2 wurden höhere Werte als bei den anderen Herkünften für nahezu jeden Probenahmetermin ermittelt. In diesem Klon überwiegt das Vorkommen von Chlorogensäure gegenüber 1,3-DiCCS in den meisten Fällen deutlich. Für die Blattposition fünf wurde eine sinkende und für Position 13 eine steigende Tendenz mit einem deutlichen Abfall für die letzten beiden Termine der 2. Serie gefunden. Vor allem in der 3. Serie unterliegt der Quotient bei A7-2 ganz erheblichen Schwankungen mit Werten zwischen 1,5 und 6,4. Die anderen Herkünfte zeigen mit Ausnahme der Probe vom 1.9. von Herkunft A111 bei der 2. Serie wenig Unterschiede. Die ausgewachsenen Blätter im Herbst weisen höhere Werte auf und zeigen zu den letzten Terminen eine steigende Tendenz, A7-2 zum Endtermin jedoch nicht.

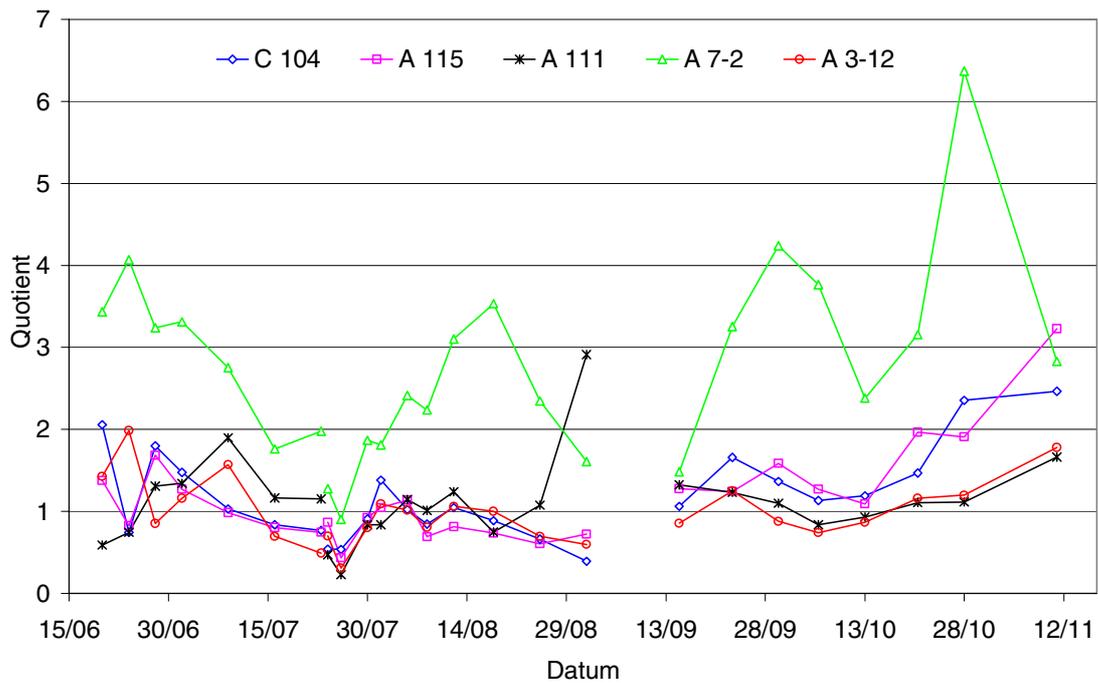


Abb. 6: Quotient aus dem Gehalt von CS und 1,3-DiCCS

3.2.2.3 Flavonoidgehalt

Der Flavonoidgehalt in jungen Blättern erreichte ein Maximum zum 2. Probenahmetermin für das 5. Blatt beziehungsweise zum 3. Probenahmetermin für das 13. Blatt (Abb. 7). Die dargestellten Daten zeigen nach den Maximalwerten einen abnehmenden Trend für jede Herkunft. Der Klon A7-2 verfügt zu allen Terminen der ersten beiden Serien über den höchsten Flavonoidgehalt mit einem Maximalwert von 2,4 % zum 2. Termin. Auch in den ausgewachsenen Blättern der Serie 3 zeigt A7-2 immer einen überdurchschnittlichen Flavonoidgehalt. In jedem Fall lagen die Anfangswerte für die Blätter von Position 13 weit unter den Werten der Blätter von Position 5. Die sehr jungen Blätter enthielten nur sehr wenig Flavonoide. Während der Blattentwicklung zeigte der Flavonoidgehalt weniger Schwankungen als der CCS-Gehalt.

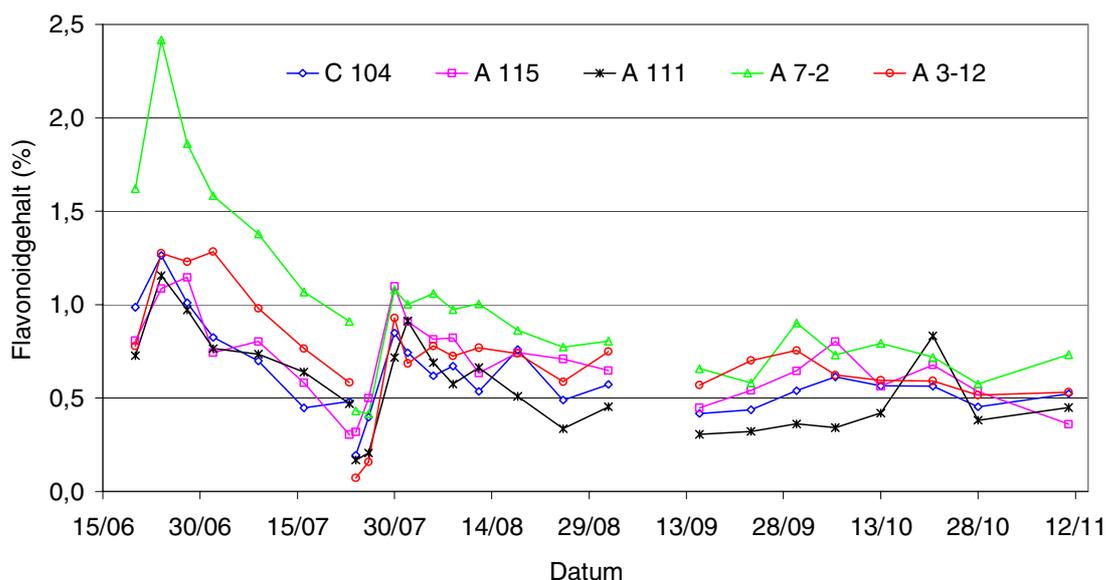


Abb. 7: Verlauf des Flavonoidgehalts in den fünf untersuchten Herkünften

3.2.2.4 Vorkommen bestimmter Flavonoide

Mit der HPLC-Analyse der Artischockenblätter wurden Scolymosid, Cynarosid und L7G bestimmt. Cynarosid wurde in allen Proben gefunden. Mit Ausnahme der Proben des 1. und 2. Termins bei Blattposition 13 mit einem sehr niedrigen Flavonoidgehalt, zeigten die Analysen aller Proben drei typische Flavonoidmuster (Tab. 9). Typ I zeigt Scolymosid und Cynarosid (kein L7G), Typ II Cynarosid und L7G (kein Scolymosid) und in Typ IV wurde nur Cynarosid gefunden. Diese letzte Typ-Nummerierung wurde gewählt, weil Herkünfte, die nur Cynarosid enthalten bis zu diesen Untersuchungen noch nicht beschrieben wurden.

Tab. 9: Flavonoidvorkommen in den untersuchten Herkünften

	C104	A115	A111	A7-2	A3-12
Chemotyp	II	IV	I	I	IV
Scolymosid	-	-	+	+	-
Cynarosid	+	+	+	+	+
L7G	+	-	-	-	-

Keine der untersuchten Herkünfte enthielt alle drei Flavonoide (Chemotyp III) gleichzeitig. Es wird angenommen, dass das Vorkommen bestimmter Flavonoide für die untersuchten Herkünfte typisch und praktisch unabhängig von der Pflanzenentwicklung während des Rosettenstadiums ist. Die Abb. 8, 9 und 10 zeigen dies am Beispiel der Herkünfte A7-2, C104 und A3-12, wobei jede Säule einen Probenahmetermin darstellt.

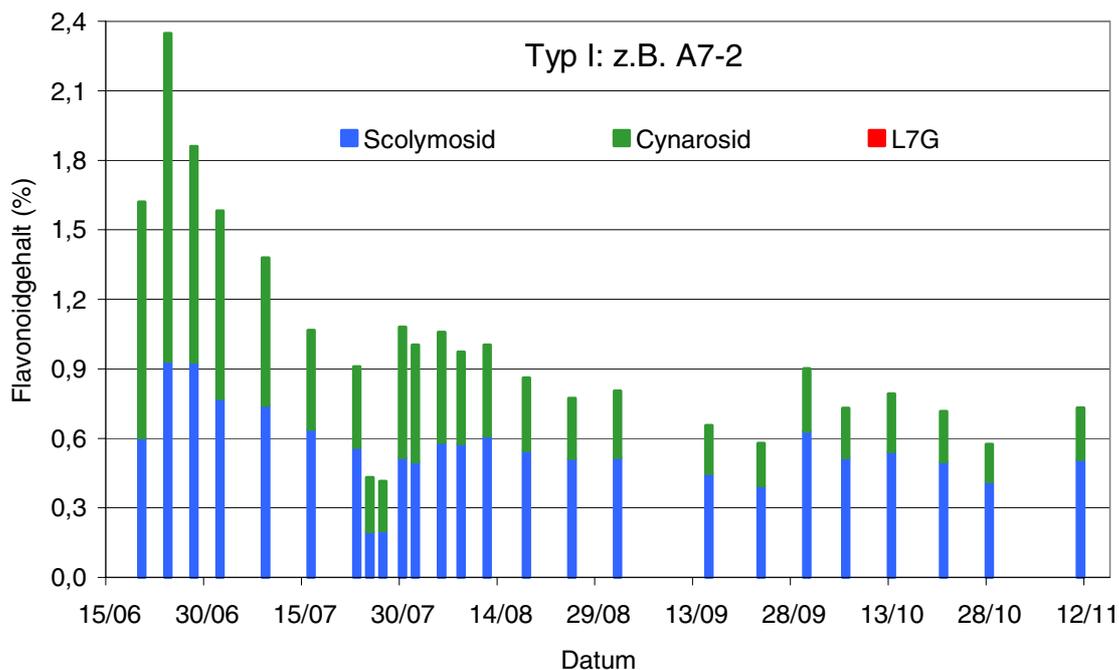


Abb. 8: Beispiel für Chemotyp I: Flavonoidmuster und -gehalt von Klon A7-2

Abbildung 8 zeigt als Beispiel für den Chemotyp I die in den Proben des Klons A7-2 bestimmten Werte für Scolymosid und Cynarosid. Die Schwankungen im Gesamtgehalt der Herbstserie (ab 15.09.) resultieren vorwiegend aus dem Scolymosidgehalt, während die Cynarosidwerte relativ konstant bleiben. Vor allem in Blattposition 5 wurden sehr hohe Flavonoidwerte gefunden.

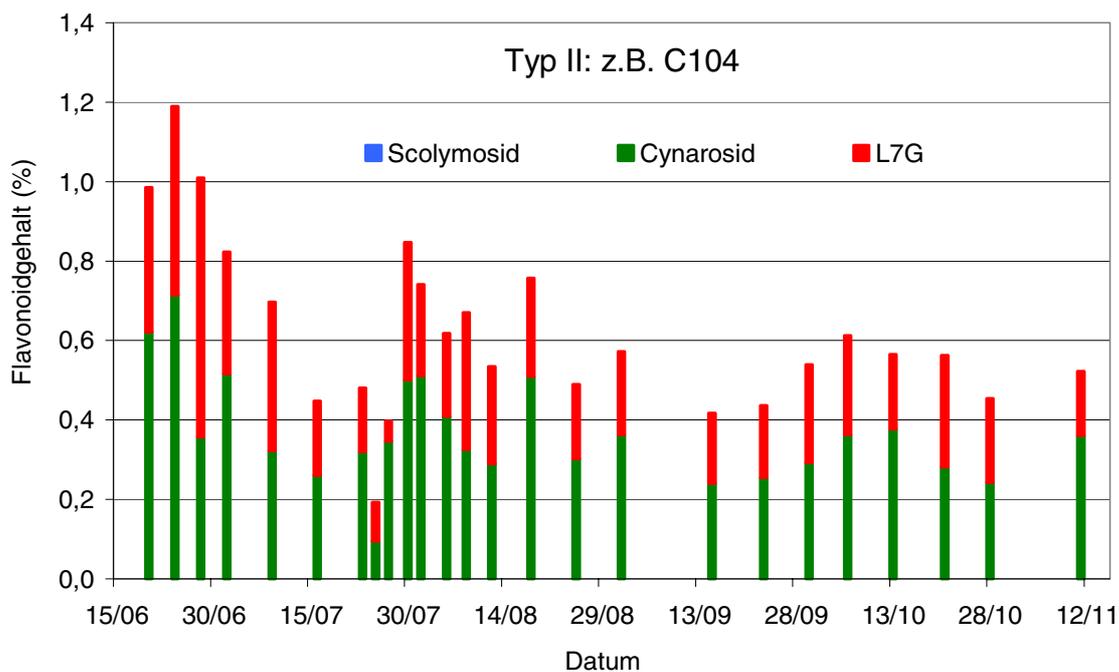


Abb. 9: Beispiel für Chemotyp II: Flavonoidmuster und -gehalt von Herkunft C104

Ein Beispiel für Chemotyp II ist in Abbildung 9 mit der Herkunft C104 dargestellt. Die Schwankungen im Gesamtgehalt sind hier vorwiegend durch den Cynarosidanteil verursacht. In der Herbstserie ab 15.09. sind alle 22 Pflanzen (jeweils 4 verschiedene pro Termin) in die Untersuchungen einbezogen worden. Das Flavonoidmuster gilt für alle untersuchten Pflanzen dieser Herkunft.

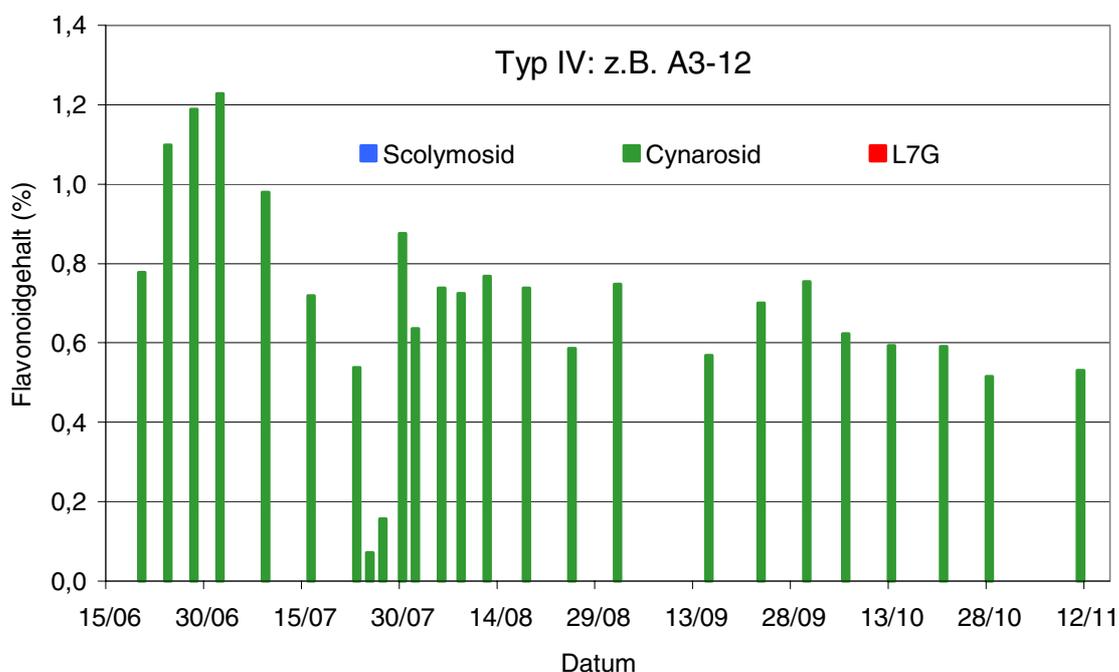


Abb. 10: Beispiel für Chemotyp IV: Flavonoidmuster und –gehalt von Klon A3-12

In Abbildung 10 sind als Beispiel für Chemotyp IV die Flavonoidgehalte von A3-12 dargestellt. Die Gehalte der ersten beiden Termine der 2. Serie waren hier besonders niedrig.

3.2.3 Diskussion

3.2.3.1 Blattentwicklung

In der Längenwachstumsphase der Blattposition 5 erreichte A3-12 mit einem Zuwachs von $1,2 (\pm 0,21)$ cm/d den geringsten, C104 mit $1,8 (\pm 0,44)$ cm/d den größten Zuwachs. Bei Blattposition 13 hatte A111 mit $2,1 (\pm 0,49)$ cm/d den niedrigsten Zuwachs und C104 erreichte mit $4,2 (\pm 0,76)$ cm/d den doppelten Wert. Die anderen Herkünfte lagen mit einem Wert von 3,1-3,3 cm/d dazwischen.

Aus den Messergebnissen der Herbstserie lässt sich kein allgemeiner Trend für die Entwicklung der maximalen Blattlänge ablesen. Die z.T. starken Schwankungen sind sicherlich auch

durch den geringen Stichprobenumfang (n=4/Termin und Herkunft) bedingt, verbunden mit einer unterschiedlichen Entwicklung der Einzelpflanzen. Hier wäre eine Messung der längsten Blätter an allen Pflanzen sinnvoll gewesen. Zwischen dem Beginn der 1. und der 2. Serie liegt ein Zeitraum von 35 Tagen, d.h. an den Pflanzen erschien im Abstand von etwa 4,5 Tagen jeweils ein neues Blatt.

Der Zusammenhang zwischen Blattlänge und Frischmasse sowie Trockenmasse aller Probenblätter lässt sich mit den in Abbildung 11 gezeigten Potenzfunktionen mit einer hohen Bestimmtheit beschreiben. Mit zunehmender Blattlänge wird die Abweichung der Einzelwerte von der Funktion größer. Hier nimmt der Einfluss der Blattmorphologie (z.B. Blattfiederung) und der Blattgeometrie (Verhältnis Länge/Breite) zu. In der Blattmorphologie wiesen die fünf untersuchten Herkünfte große Unterschiede auf. Da vor allem bei stark gefiederten Blättern wie z.B. bei Klon A7-2 die Bestimmung der Blattbreite schwierig ist, wurde die Breite der Blätter nicht gemessen. Aus diesem Grund ist über das Längen/Breiten-Verhältnis keine Aussage möglich. Die enge Beziehung zwischen Länge und Masse legt den Schluss nahe, dass die Blätter aller untersuchten Herkünfte ähnliche Verhältnisse aufweisen.

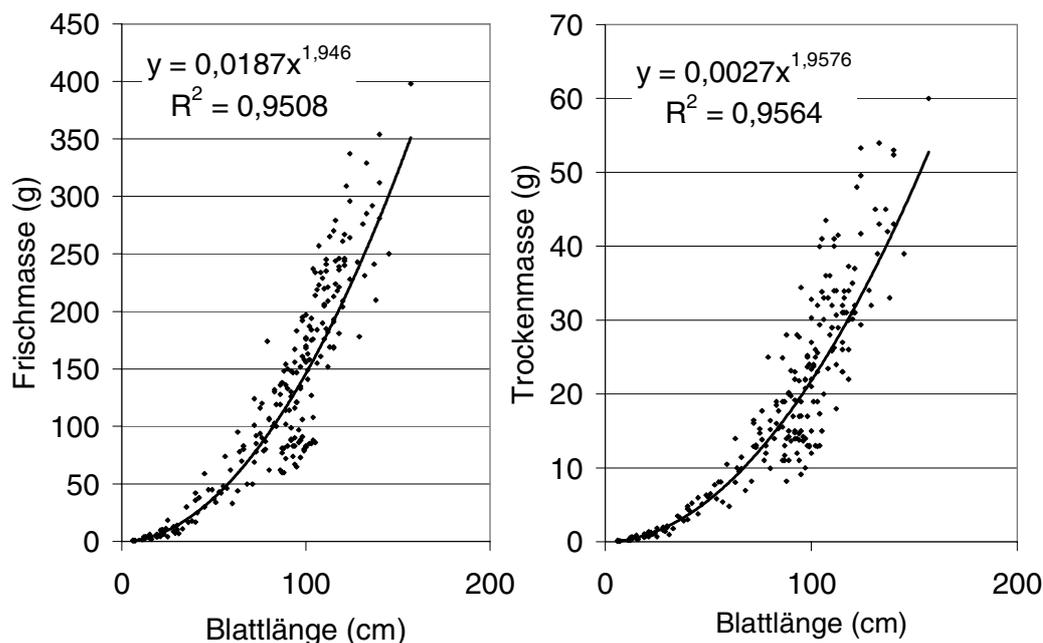


Abb. 11: Beziehung zwischen Blattlänge und Frischmasse sowie Trockenmasse der Probenblätter

3.2.3.2 Inhaltsstoffe

Der Maximalwert von 11,5 % CCS stimmt mit dem von WAGENBRETH und EICH (1996) angegebenen Höchstwert überein. Für die Herkunft A111 ist dies ein außergewöhnlich hoher Gehalt. Dieselbe Pflanze wurde im Laufe der zweiten Serie erneut untersucht (08.08.) und zeigte zu diesem Zeitpunkt mit 2,7 den niedrigsten Wert für alle Herkünfte. In dem Startwert

sind 7 % 1,3-DiCCS und 4 % CS enthalten. Der in der 1. Probenserie beobachtete Rückgang des Gesamt-CCS-Gehalts resultiert aus einem überproportionalen Rückgang der 1,3-DiCCS Werte. Dies ist für die ersten fünf Termine auch aus der Entwicklung des Quotienten zu erkennen (Abb. 6).

Bis auf A7-2 steigt bei allen Herkünften der Quotient aus CS und 1,3-DiCCS in den ausgewachsenen Blättern im Spätherbst an. Dies ist bei vergleichsweise stabilen CS-Gehalten auf einen Rückgang von 1,3-DiCCS zurückzuführen. A7-2 zeichnet sich sowohl in Serie 2 als auch in Serie 3 durch einen niedrigen 1,3-DiCCS-Gehalt aus. Sowohl in Blattposition 5 als auch in Position 13 wurden für CS und 1,3-DiCCS im Mittel nahezu gleiche Werte erreicht (Abb. 12). Der Verlauf der Entwicklungskurve für den Mittelwert des Gesamt-CCS-Gehalts wird in allen drei Serien ganz maßgeblich von der Entwicklung des CS-Gehalts bestimmt. Die CS-Mittelwerte liegen in Serie 1 und Serie 3 immer über den Werten von 1,3-DiCCS, in der 2. Serie zumindest für die ersten beiden Termine deutlich darunter.

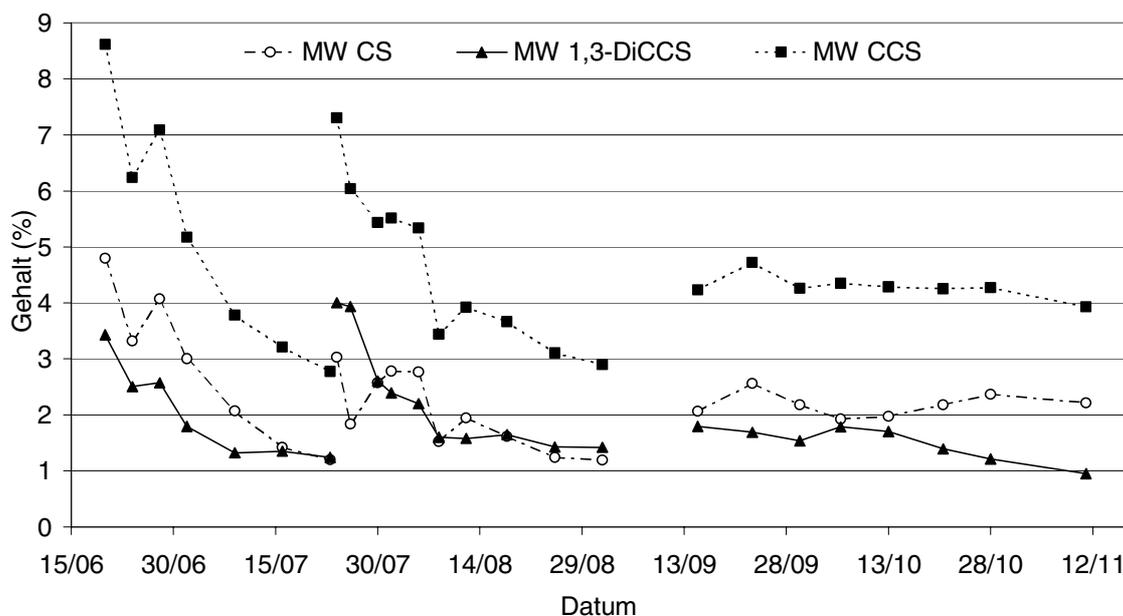


Abb. 12: Entwicklung der Mittelwerte von CS, 1,3-DiCCS und Gesamt-CCS in den fünf untersuchten Herkünften

Abbildung 13 zeigt die Mittelwerte der CCS- und Flavonoidgehalte für alle fünf Herkünfte für die jeweiligen Probenstermine. Der hohe Wert für den Flavonoidgehalt zwischen dem 13. und 28.10. wird allein durch den sehr hohen Wert für die Herkunft A111 verursacht. Das untersuchte Blatt (Probenahmetermin 21.10.) weist bezüglich Länge, Frischmasse oder Trockenmasse im Vergleich zu den übrigen Blättern dieses Termins keine Besonderheiten auf. Von dieser Pflanze wurde kein weiteres Blatt beprobt, so dass nicht festgestellt werden kann, ob es sich innerhalb einer vergleichsweise heterogenen Herkunft um einen Genotyp mit besonders

hohem Flavonoidgehalt handelt. Nach einem sehr schnellen Anstieg von einem mittleren Niveau fallen die Flavonoidwerte in Blattposition 5 deutlich unter den Anfangswert. In Blattposition 13 liegen die Anfangs- und Maximalwerte weiter auseinander und der Rückgang bis hin zu den ausgewachsenen Blättern dieser Serie fällt deutlich geringer aus, so dass ein Endniveau ähnlich wie bei Position 5 und auch ähnlich dem in den Blättern der 3. Serie erreicht wird. Wachsendes Blattmaterial weist hier im Gegensatz zur Aussage von WAGENBRETH (1995) einen höheren Flavonoidgehalt auf als ältere Blätter.

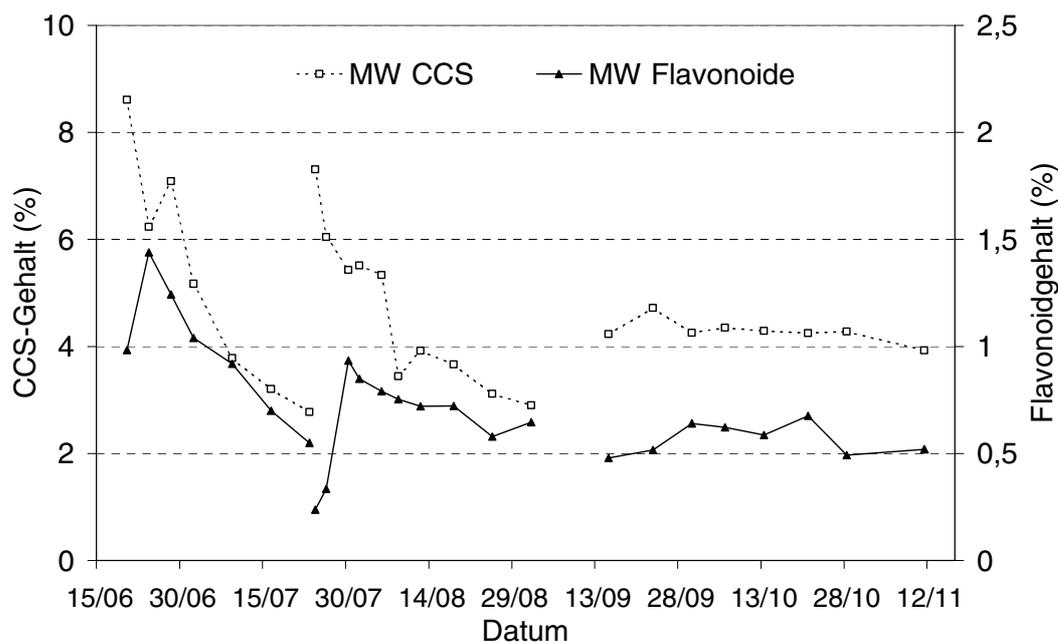


Abb. 13: Verlauf der Mittelwerte für CCS- und Flavonoidgehalt (n=5/Termin, ab 15.09. n=8/Termin)

Die CCS-Werte fallen mit Fortschreiten der Blattentwicklung sehr deutlich und fast kontinuierlich ab. Die ausgewachsenen Blätter weisen über einen Zeitraum von 8 Wochen einen CCS-Gehalt über dem ausgewachsener Blätter in Position 5 und 13 auf. Obwohl ab dem 15.09. von Termin zu Termin auch die beprobte Blattposition steigt und ausgewachsene Blätter verwendet wurden, bleibt der Gehalt nahezu gleich. Dagegen stiegen die Werte bei NICHIFORESCO (1966) von August bis Oktober deutlich an.

Jüngere Blätter zeigen für beide Stoffgruppen innerhalb der Blattposition höhere Gehalte als ausgewachsene Blätter. Für die Optimierung der Inhaltsstoffgehalte scheint es sinnvoll, möglichst viele Blätter noch im Stadium des Wachstums zu ernten. Dies bedeutet für den praktischen Anbau insgesamt früh mit der Beerntung der Bestände zu beginnen und sofern Wasserangebot und Temperaturen es zulassen, auch häufig zu schneiden, um im Durchschnitt der Blätter eines Bestandes mehr junges Material zu ernten. Die Auswirkungen dieser Maßnahme

auf den Ertrag sind noch zu untersuchen. Eine Verlegung des Erntezeitpunkts verändert die Mengenverhältnisse zwischen jungem und ausgewachsenem Blattmaterial in der Droge und bewirkt eine Verschiebung der Anteile einzelner Inhaltsstoffe. Dies ist zu berücksichtigen, sofern in Zukunft bestimmte Wirkungen einzelnen Inhaltsstoffen zuzuordnen sind.

3.2.3.3 Chemotypen

WAGENBRETH et al. (1996) ermittelten in ihrem Sortiment Werte zwischen 0,7 und 4,5 für den Quotient aus CS/1,3-DiCCS, was mit Ausnahme von A7-2 auch in etwa den hier gefundenen Werten entspricht. Aus diesen Ergebnissen ist zu erkennen, dass der bereits von WAGENBRETH (1996) für die Klassifizierung von Artischockenherkünften vorgeschlagene Quotient CS/1,3-DiCCS von individuellen entwicklungsbedingten Schwankungen und/oder äußerlichen Einflüssen abhängig ist und darüber hinaus von der Gewebeposition (WAGENBRETH et al., 1996) beeinflusst wird. Dieser Parameter ist für die generelle Charakterisierung von verschiedenen Artischockenherkünften nicht geeignet. Er kann nur dann zur Beurteilung herangezogen werden, wenn die zugrundeliegenden Proben zum gleichen Zeitpunkt und aus vergleichbar entwickeltem Pflanzenmaterial am selben Standort (Klimabedingungen) gewonnen wurden.

Dagegen lassen sich die hier untersuchten Herkünfte durch ihr Flavonoidspektrum eindeutig bestimmten Mustern zuordnen, weil deren Vorkommen nicht vom Entwicklungsstadium der Pflanzen beeinflusst wird. Die frühere Einordnung der Herkünfte A111 und C104 als Chemotyp I (Scolymosid [+], Cynarosid [+], L7G [-]) und II (Scolymosid [-], Cynarosid [+], L7G [+]) (nach der Definition von WAGENBRETH, 1996) wurde durch die hier erhaltenen Ergebnisse bezüglich des Vorkommens der Flavonoide bestätigt. Ein weiterer Chemotyp IV (Scolymosid [-], Cynarosid [+], L7G [-]), der mit der Herkunft A115 und dem Klon A3-12 gefunden wurde, war bis zu diesem Zeitpunkt unbekannt (EICH et al., 1997). Er wurde in den Untersuchungen von WAGENBRETH und EICH (2001) ebenfalls bei zwei weiteren Herkünften nachgewiesen und somit bestätigt. In eigenen Untersuchungen von 40 verschiedenen Herkünften wurde das Inhaltsstoffmuster von Chemotyp III viermal und von Typ IV fünfmal gefunden (BAIER und EICH, unveröff.).

Der früher für die Herkünfte A115 und A7 (letztere war das Ausgangsmaterial für den Klon A7-2) bestimmte Chemotyp III (Scolymosid [+], Cynarosid [+], L7G [+]) wurde bei diesen Untersuchungen nicht gefunden. Möglicherweise basierten die Voruntersuchungen, die zu dieser Zuordnung geführt haben, auf einem Pflanzenmaterial, das aus inhomogenem Saatgut stammte und die hier bei A115 untersuchte Stichprobe mit 22 Individuen enthielt diesen Typ nicht. So zeigten die Untersuchungen eines weiteren Klons aus der Herkunft A7 (Klon A7/4)

das Muster von Chemotyp III mit allen drei Flavonoiden. Aus einem isolierten Bestand von A7-2 erhaltene sexuelle Nachkommen zeigten alle das gleiche Flavonoidmuster wie die Elterngeneration. Es hat keine Aufspaltung in die beiden Chemotypen stattgefunden.

Eine weitere interessante Beobachtung soll hier kurz vorgestellt werden. Der Klon A7/4 aus der Herkunft A7 wurde *in vitro* vermehrt. Erst mit dem Sichtbarwerden der Blütenstände wurden nach einer vegetativen Phase mit sehr einheitlichem Pflanzenmaterial zwei unterschiedliche Typen mit grünen und violetten Blütenständen festgestellt. Die Untersuchung der Inhaltsstoffe ergab, dass der rote Typ Scolymosid und Cynarosid enthält, also dem Muster von Klon A7-2 entspricht, der aber grüne Blütenstände bildet. Der grüne Typ von A7/4 enthielt alle drei Flavonoide und entsprach somit dem für die Herkunft A7 bestimmten Chemotypen. Aus dieser Beobachtung lässt sich der vorläufige Schluss ziehen, dass die Merkmale Färbung der Blütenhüllblätter und Vorkommen von L7G nicht miteinander gekoppelt sind. Bei A7/4 sind die beiden Typen möglicherweise durch somaklonale Variation in der *In-vitro*-Vermehrung entstanden. Die Färbung der Blütenstände wird nach bisherigen Erkenntnissen durch ein oder zwei Hauptgene gesteuert und ist z.T. auch noch temperaturabhängig (BASNIZKY und ZOHARY, 1994).

3.3 Einfluss der Stickstoffdüngung auf Ertrag und Qualität von Artischockenblattdroge

Hohe Qualität und gute Erträge erfordern gerade bei Arzneipflanzen, die aufgrund ihrer sekundären Inhaltsstoffe angebaut werden, eine auf den spezifischen Bedarf ausgerichtete gezielte Düngung (BOMME und NAST, 1998). Welchen Einfluss das Stickstoffangebot auf die pharmazeutisch relevanten Inhaltsstoffe der Artischockenblätter, die stickstofffreie Verbindungen sind, haben kann, soll im folgenden Abschnitt erläutert werden.

3.3.1 Material und Methoden

3.3.1.1 Versuchsstandorte

Die Versuche wurden 1998 in Thüringen auf dem Versuchsgelände der Pharmaplant GmbH in Artern und in Brandenburg auf der Versuchsstation Hohenfinow durchgeführt. Die Standortbedingungen sind in Tab. 10 dargestellt. Allgemeine Standortdaten wurden für Artern von PLESCHER (1998) und für Hohenfinow vom WAGENBRETH (1998) zur Verfügung gestellt. Die Bodenanalysen wurden für beide Standorte von der Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft (TLL, 1998) durchgeführt.

Der in Artern im Herbst gedrückte Roggen hatte sich bis zum Umbruch im Frühjahr nur sehr spärlich entwickelt und lieferte deshalb keine nennenswerte Biomasse. Durch den Abbau dieser organischen Substanz wurde nur eine unbedeutende N-Mineralisierung erwartet. Die Vorfrucht Goldrute wurde nicht mit N gedüngt (Saatgutvermehrung) und der gesamte Aufwuchs wurde vom Feld abgefahren. Auch in Hohenfinow wurde der Aufwuchs der Vorfrucht Buchweizen weitgehend abgefahren.

3.3.1.2 Versuchsanlage und Versuchsablauf

In einer randomisierten Blockanlage mit vier Wiederholungen (BÄTZ et al., 1987) wurden sieben N-Düngemengen geprüft (0 – 240 kg/ha), die gesplittet je zur Hälfte zur Aussaat und zum 5-6 Blattstadium ausgebracht wurden. Nach der 1. Ernte wurde mit Ausnahme der Nullparzellen eine konstante weitere Gabe von 50 kg/ha N für alle Stufen appliziert. Die Verteilung und die insgesamt ausgebrachten N-Mengen zeigt Tab. 11. Als N-Dünger wurde Kaliumammonsalpeter mit 27 % N verwendet.

Die Parzellengröße betrug 25 m² (10x2,5 m, 5 Reihen, 200 Pflanzen), wovon 12 m² (8x1,5 m, 3 Reihen, 96 Pflanzen) im Zentrum geerntet wurden. Das Saatgut der Herkunft C104 stammte aus einer Auftragsvermehrung der Firmen Sertürner Arzneimittel GmbH, Berlin und Martin Bauer GmbH, Vestenbergsgreuth. Es wurde direkt auf dem Feld ausgesät. Beim Vereinzeln

wurde eine Bestandesdichte von 8 Pfl./m² angestrebt mit einem Abstand von 25 cm in der Reihe und 50 cm zwischen den Reihen.

Tab. 10: Daten der Standorte für den N-Düngungsversuch

Standorte		Artern	Hohenfinow
Geographische Lage		51°22' N 11°15' O	52°50' N 13°47' O
Höhe über NN	m	184	55
Jahresdurchschnittstemperatur	°C	8,5	8,2
Jahresniederschlag (30jähriges Mittel)	mm	450	547
Niederschlag Vegetationsperiode 1998	mm	390	329
Bodenform		Berglöß-Rendzina	Bändersand- Braunerde
Substrattyp		Sandiger Lehm	Lehmiger Sand
Ackerzahl		78	38
Korngrößenverteilung:			
Ton (< 0,002 mm)	%	15,1	6,6
Schluff (0,002-0,02 mm)	%	22,8	16,0
Sand (> 0,02 mm)	%	62,2	77,4
pH-Wert (CaCl ₂)		7,2	6,4
Gesamtstickstoff N _t	%	0,14	0,08
Gesamtkohlenstoff C _t	%	1,5	0,8
Verfügbare Nährstoffe (07.05.98)			
N _{min} 0-30 / 30-60 cm	kg/ha	66 / 17	43 / 17
P (Ca-acetat)	mg/100 g	19,2	12,7
K (Ca-acetat)	mg/100 g	12,0	9,0
Mg (CaCl ₂)	mg/100 g	8,8	6,0
Vorfrucht		Goldrute	Buchweizen
Zwischenfrucht		Roggen	-
Grunddüngung in kg/ha P/K/Mg (11.05.1998 vor der Saatbeetbereitung)		15/141/10	36/108/15

Die Aussaat erfolgte an beiden Standorten am 15. Mai 1998 mit einer Einreihenhanddrillmaschine. Der Termin für die Aussaat wurde spät gewählt, um eine Vernalisation der Pflanzen und damit den Übergang zur generativen Phase zu vermeiden. Unmittelbar nach der Aussaat wurde die 1. N-Düngung per Hand ausgebracht. Wegen anhaltender Trockenheit wurde der Versuch in Artern eine Woche nach der Aussaat mit ca. 15 mm Wasser beregnet. Die Drillsaat machte eine Vereinzlung der Pflanzen nach dem Auflaufen notwendig. Auflaufendes Unkraut wurde in 3 Durchgängen durch Handhacke bekämpft. Die 2. Hälfte der verschiedenen N-Mengen wurde am 2. Juli ausgebracht.

Tab. 11: Daten zur N-Düngung

Gabe Nr.	Ausbringung		N-Menge (kg/ha)						
	Stadium	Datum	a1	a2	a3	a4	a5	a6	a7
1.1	zur Aussaat	15.05.	0	20	40	60	80	100	120
1.2	5-6 Blätter	02.07.	0	20	40	60	80	100	120
1			0	40	80	120	160	200	240
2	nach 1. Ernte	01.09.	0	50	50	50	50	50	50
Σ			0	90	130	170	210	250	290

Die 1. Ernte fand blockweise zwischen dem 25. und 28. August statt, nachdem alle Ränder geerntet worden waren. Zur Ernte war in allen Parzellen der Bestand vollständig geschlossen. Die Blätter wurden per Hand mit einer Sichel ca. 15 cm über dem Boden abgeschnitten. Bereits auf dem Boden liegende Blätter wurden nicht erfasst. Am 1. September wurde die konstante N-Gabe (50 kg/ha) ausgebracht und durch die mechanische Unkrautbekämpfung flach eingearbeitet. Zwischen dem 27. Oktober und dem 2. November wurde der 2. Aufwuchs geerntet.

3.3.1.3 Probengewinnung

Die Blätter wurden bei der Ernte in Säcke gefüllt. Um die gesamte Frischmasse der Parzelle möglichst genau zu erfassen, wurde unmittelbar nach dem Schneiden gewogen. Mit einem Laborhäcksler wurde die gesamte Erntemenge der Parzellen auf eine Länge von etwa 2 cm geschnitten. Auf einer Folie wurde das gehäckselte Blattmaterial durchmischt, von jeder Parzelle eine Menge von 9 kg Frischmasse abgewogen und in zwei Horden verteilt. Getrocknet wurde bei 40 °C für ca. 48 h, wobei nach 24 h das Material aufgelockert und die beiden Teilmengen jeder Parzelle vereinigt wurden. Nach der Trocknung wurde die Droge rückgewogen.

Für die weiteren Analysen wurde das Drogenmaterial weiter zerkleinert. Jeweils ein 500 g Aliquot der Drogenpartie wurde in einer Schneidmühle mit einer Siebgröße von 6 mm vorzerkleinert. Im Anschluss daran wurde mit dreifacher Wiederholung an je 10 g durch Trocknung bei 105 °C für drei Stunden der TS-Gehalt bestimmt. Die Restfeuchte des Drogenmaterials lag zwischen 7 und 9 %. Die Blattdrogenerträge (LTM) wurden ausgehend von der 9 kg Teilmenge mit einem Wassergehalt von 10 % berechnet. Die CCS-, Flavonoid-, Stickstoff- und Nitratgehalte der Blattdroge wurden ebenfalls auf diesen Restwassergehalt bezogen berechnet.

Das vorzerkleinerte Material wurde auch für die Bestimmung von N- und Nitratgehalt verwendet. 50 g davon wurden in einer Hochgeschwindigkeitsmühle mit einer Siebweite von 0,5 mm für die HPLC-Untersuchungen pulverisiert.

3.3.1.4 Erfassung der Pflanzenentwicklung

Am Standort Artern wurden zwischen dem 10.07. und 21.08. an sieben Terminen Messungen zur Bestimmung eines Blattindex durchgeführt. In jeder Parzelle von Block 3 und Block 4 wurde an je 3 zufällig ausgewählten Pflanzen pro Erntereihe (9 Pflanzen pro Parzelle) die maximale Länge und maximale Breite jedes Blattes gemessen. Zur Beurteilung der Entwicklung des zweiten Aufwuchses wurden zwischen dem 10.09. und dem 15.10. an fünf Terminen Messungen durchgeführt, allerdings mit einer reduzierten Pflanzenanzahl. Die Messungen wurden ebenfalls in den Blöcken 3 und 4 durchgeführt, aber immer an denselben 3 markierten Pflanzen pro Parzelle. Der Index wurde wie folgt berechnet:

$$BI = (MWL \times MWB) / 100$$

dabei bedeutet:

BI: Blattindex

MWL: Mittelwert aller für eine Düngungsstufe gemessenen Blattlängen

MWB: Mittelwert aller für eine Düngungsstufe gemessenen Blattbreiten

Mit der Division durch den Faktor 100 wird lediglich die spätere Darstellung vereinfacht. Der hier ermittelte Index wurde gewählt, weil dadurch einerseits die Pflanzenentwicklung viel präziser beschrieben werden kann als durch die Messung der Pflanzen- oder Bestandeshöhe und andererseits durch die sehr variable Blattform nur näherungsweise oder nur mit einem ungleich höheren Aufwand die tatsächliche Blattfläche ermittelt werden kann. Eine Aussage über das Verhältnis zwischen Blattfläche und Bodenoberfläche ist mit diesem Index nicht möglich.

3.3.1.5 Nach der Ernte ermittelte Daten

Nach der 1. und 2. Ernte wurden für jede Parzelle folgende Daten ermittelt:

- Gesamter Blattfrischmasseertrag.
- Drogenertrag; ausgehend von einer Teilmenge von 9 kg frischen Blättern pro Parzelle, berechnet mit einer Restfeuchte von 10 %.
- TS-Gehalt der Frischmasse.
- CCS- und Flavonoid-Gehalt der Droge; Bestimmung wie unter 3.2.1.3 beschrieben.
- Protein-N- und NO₃-Gehalt in der Droge; Bestimmung nach Kjeldahl bzw. potentiometrisch mit ionensensitiver Elektrode (VDLUFA, 1976, Bd. III, 4.1.1).
- N-Entzug getrennt für 1. und 2. Aufwuchs sowie kumuliert.

- N_{\min} -Gehalt des Bodens; photometrische Bestimmung von NO_3-N und NH_4-N nach VDLUFA (1991, Bd. I, A 6.2.1.1).
- P, K, Mg, Ca, Na und S-Gehalt der Droge (8 Proben); Bestimmung nach Mikrowellendruckaufschluss mit Salpetersäure (VDLUFA, 1996, Bd. VI, 2.1.1) mit induktiv gekoppelter Plasma-Atom-Emissionsspektrometrie (DIN EN ISO 11885).

Die Bodenuntersuchungen und die Untersuchungen der Nährelementgehalte wurden bei der Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft (TLL) in Jena durchgeführt. Da die N-Bestimmung nach Kjeldahl (Protein-N) den Nitratstickstoff in der Probe nicht berücksichtigt, wurde zur Ermittlung des Gesamtstickstoffgehalts auch der Nitratgehalt des Probenmaterials bestimmt. Die Nitratwerte wurden mit einem Faktor von 0,226 (N-Gehalt in NO_3) zum Protein-N addiert, um den Gesamt-N-Wert zu erhalten.

3.3.1.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung (Varianzanalyse) erfolgte mit Hilfe des SAS Systems (SAS Institute Inc., Version 6.12). Der paarweise Mittelwertsvergleich wurde bei einem Signifikanzniveau von 5 % mit dem LSD Test (least significant difference) durchgeführt, wenn der F-Test für den Behandlungseffekt signifikant war (RENNER, 1981; GOMEZ und GOMEZ, 1984).

3.3.2 **Ergebnisse**

Die Darstellungen zur Pflanzenentwicklung basieren auf zwei Wiederholungen (Block 3 und 4). Diese Messungen erfolgten ausschließlich am Standort Artern. Für die Säulendiagramme ist jeweils die Anzahl n der Werte, die den dargestellten Mittelwerten zugrunde liegen, angegeben. Alle Datumsangaben beziehen sich auf das Jahr 1998.

3.3.2.1 Pflanzenentwicklung

Die späte Aussaat und die Auswahl einer spätblühenden Herkunft verhinderte die Bildung von Blütenständen. Die Entwicklung der Pflanzen ist in Abbildung 14 am Beispiel der Behandlung a5 (160+50 kg/ha N) in Block 1 am Standort Artern dargestellt. Außerdem zeigt die Abbildung (unten rechts) einen Ausschnitt von Block 4 vor der zweiten Ernte, in dem die Unterschiede in Farbe und Höhe des Bestandes von Behandlung a7, a1 und a4 (v.l.n.r.) zu erkennen sind.

1. Aufwuchs



03.06.98 (2 Wochen nach Aussaat)



01.07.98 (6 Wochen nach Aussaat)



28.07.98 (10 Wochen nach Aussaat)



13.08.98 (13 Wochen nach Aussaat)

2. Aufwuchs



17.09.98 (3 Wochen nach 1. Schnitt)



30.09.98 (5 Wochen nach 1. Schnitt)



14.10.98 (7 Wochen nach 1. Schnitt)



19.10.98 Block 4; a7, a1, und a4 (v.l.n.r.)

Abb. 14: Pflanzenentwicklung am Standort Artern am Beispiel von Stufe a5 (Block 1)

Zu beiden Schnittterminen liegt eine sehr enge Korrelation der am Standort Artern ermittelten Blattindices mit dem erzielten Frischmasseertrag vor (Abb. 15). Der am 21.08. gemessene Wert steht mit $R^2=0,85$ ($\alpha=0,01$) mit dem Ertrag in Verbindung und der Wert vom 15.10. mit $R^2=0,87$ ($\alpha=0,01$).

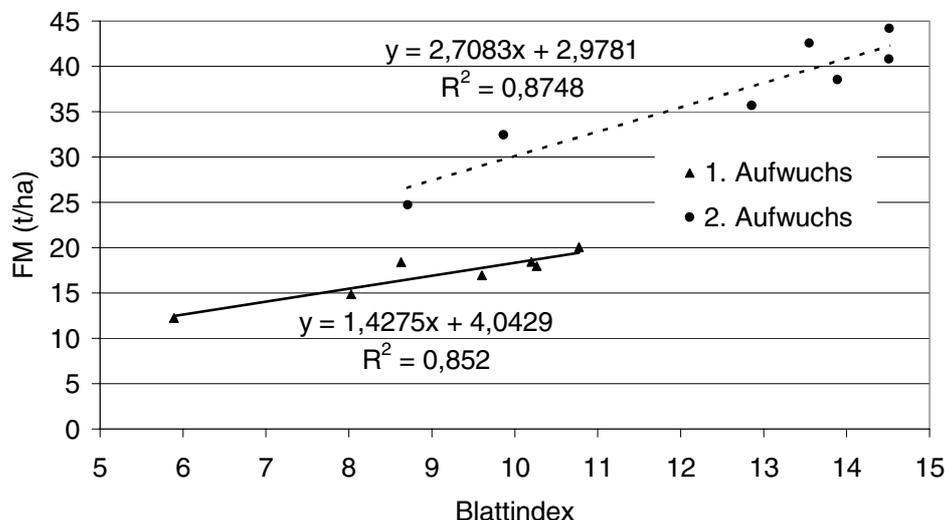


Abb. 15: Abhängigkeit zwischen Blattindex (21.08. und 15.10.) und Frischmasseertrag des 1. und des 2. Aufwuchses (für beide Koeffizienten $\alpha=0,01$)

Dieser Zusammenhang rechtfertigt die Betrachtung der vorherigen Messungen (Abb. 16). In den ersten Wochen verlief die Entwicklung der Pflanzen relativ unabhängig von der N-Versorgung sehr langsam. Erst mit der 30. Kalenderwoche (ab 20.07.) beginnen die Pflanzen der verschieden behandelten Parzellen unterschiedlich schnell zu wachsen. Die geringer versorgten Varianten erreichen dann tendenziell früher ihr Ertragsoptimum als die höher versorgten. Die signifikante Zunahme der BI-Werte ist im ersten Aufwuchs zwischen 31.07. und 07.08. zu Ende, während im zweiten Aufwuchs noch signifikante Unterschiede zwischen Behandlungen des vorletzten und letzten Boniturtermins vorliegen (Abb. 16). Für jede Variante wurden am 15.10. jeweils höhere Werte ermittelt als zum 21.08., was bedeutet, dass die Pflanzen im Herbst größere Blätter hatten als im Sommer. Sowohl im ersten als auch im zweiten Aufwuchs erreichen die Nullparzelle und die niedrigste Düngungsstufe deutlich niedrigere BI-Werte als alle anderen Behandlungen und vor allem im zweiten Aufwuchs sind die Unterschiede zwischen den übrigen Behandlungen gering.

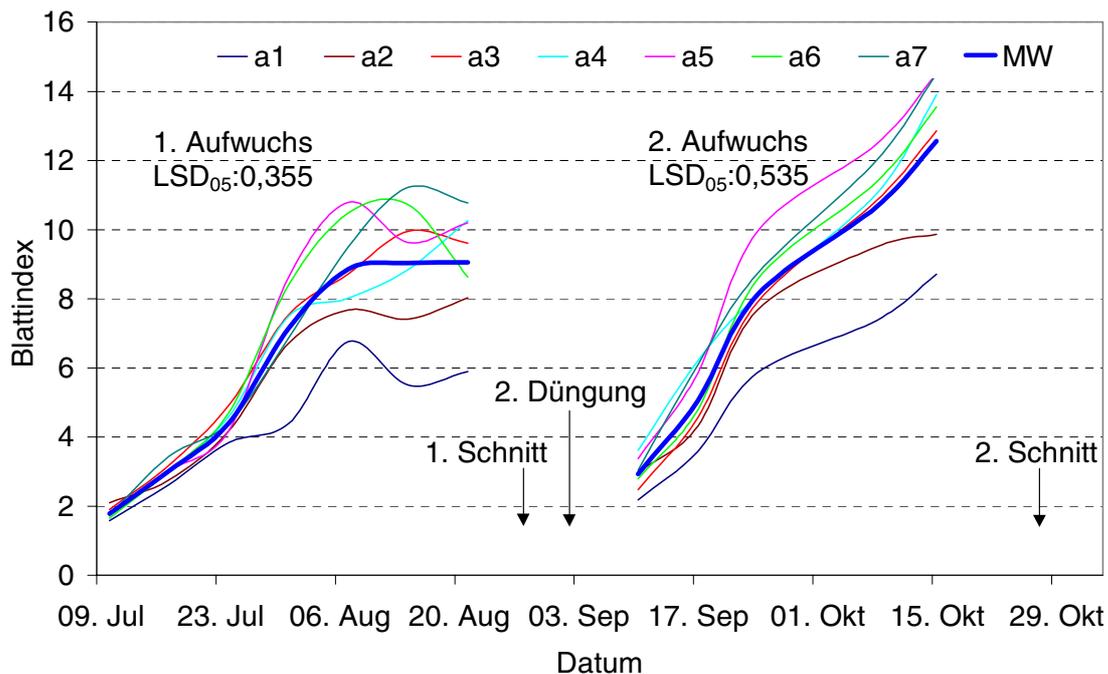


Abb. 16: Entwicklung des BI in den verschiedenen Behandlungen im 1. und im 2. Aufwuchs am Standort Artern

Zwischen der Anzahl der Blätter pro Pflanze und dem BI (21.08.) besteht mit $R^2=0,91$ ($\alpha=0,1\%$) ebenfalls ein sehr enger Zusammenhang (Abb. 17). Für den letzten Boniturtermin (15.10.) vor dem 2. Schnitt besteht dieser Zusammenhang nicht.

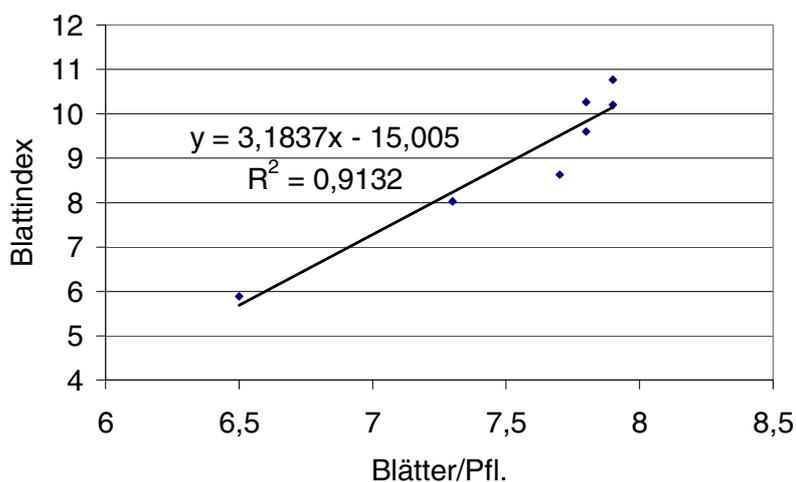


Abb. 17: Zusammenhang zwischen der Anzahl der Blätter pro Pflanze und dem Blattindex am 21.08. ($\alpha=0,1\%$).

3.3.2.2 Ertrag und TS-Gehalt

Zwischen den Frischmasseerträgen der beiden Versuchsstandorte Artern und Hohenfinow existiert kein statistisch sicherbarer Unterschied. Dagegen gibt es sowohl zwischen den beiden Schnitten als auch im Einfluss des N-Angebots signifikante Unterschiede. Wie Abbildung 18 zeigt, hatte die zur Aussaat und 6 Wochen danach applizierte N-Düngermenge Einfluss auf den FM-Ertrag sowohl der 1. als auch der 2. Ernte. Bei der 1. Blatternte wurden Frischmasseerträge zwischen 11,6 und 20,9 t/ha erzielt. Diese lagen für jede Behandlung deutlich unter denen der 2. Ernte mit 24,0 bis 44,2 t/ha. In Artern führte die zunehmende Stickstoffversorgung im 1. Schnitt bis 160 kg/ha N und im 2. Schnitt für alle Düngungsstufen zu einer Steigerung des Ertrags. In Hohenfinow war dies nur bis 120 kg/ha N bzw. 80 kg/ha N der Fall.

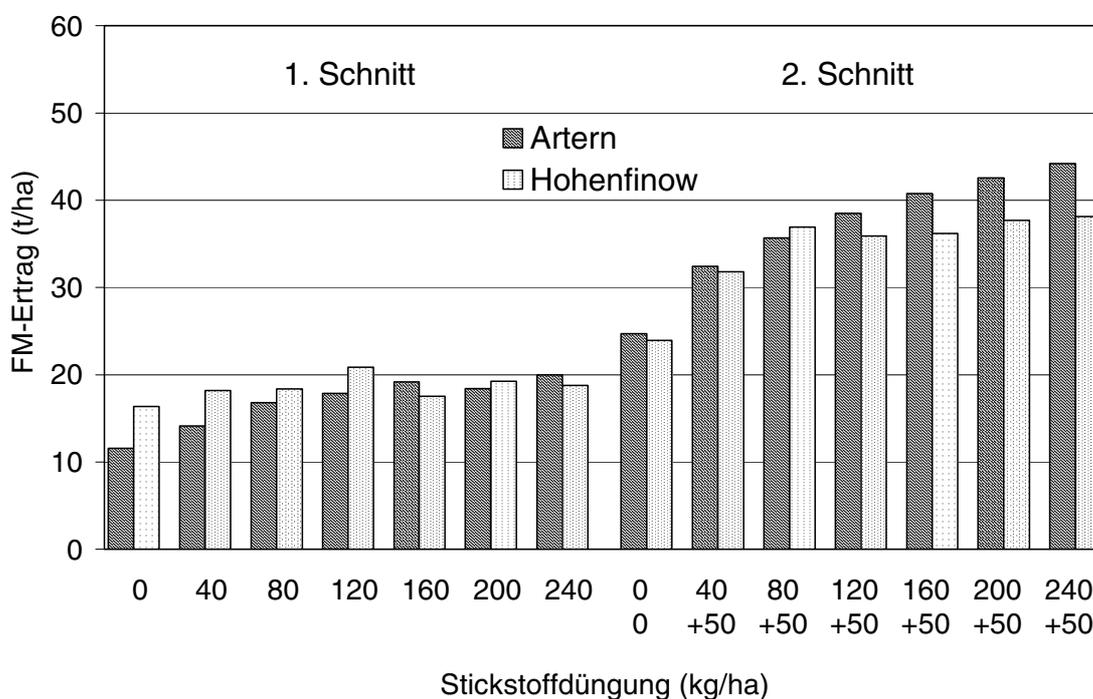


Abb. 18: Frischmasseertrag der 1. und 2. Ernte in Artern und Hohenfinow in Abhängigkeit von der applizierten N-Düngung (n=4)

Aus beiden Schnitten resultiert ein Gesamtfrischmasseertrag zwischen 36,3 und 64,2 t/ha. Die Steigerung der Stickstoffversorgung führte zu einer stetigen Ertragszunahme, wobei sich jedoch nur die Nullvariante signifikant von allen übrigen Stufen unterscheidet. Bereits ab der niedrigsten N-Gabe unterschieden sich die FM-Erträge nicht mehr von der nächsthöheren Stufe. Abbildung 19 zeigt jeweils die Mittelwerte aus zwei Ernten an beiden Standorten für jede Behandlung.

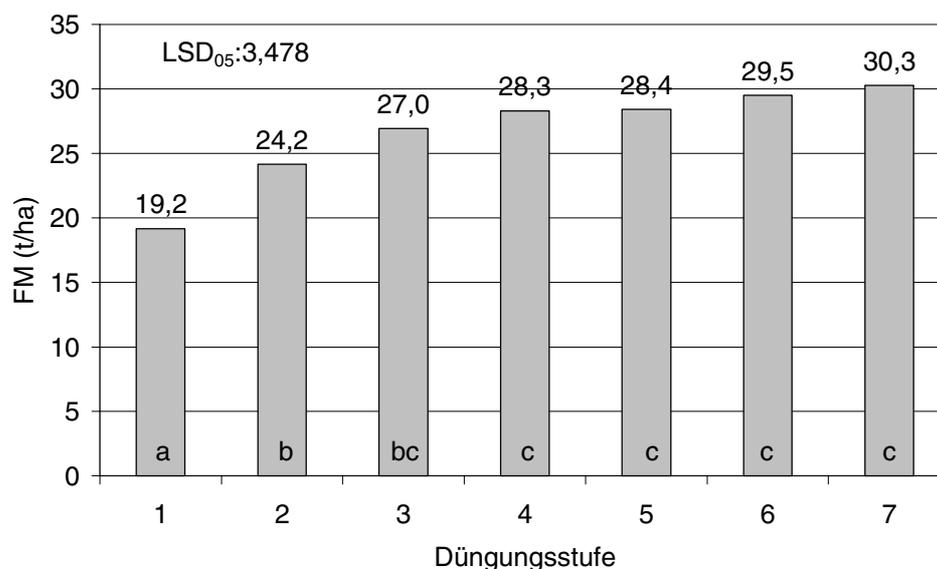


Abb. 19: Mittelwerte der FM-Erträge von Artischockenblättern aus zwei Ernten an zwei Standorten mit sieben N-Düngungsstufen (n=16, unterschiedliche Buchstaben zeigen Signifikanz bei $\alpha=5\%$).

Der Trockensubstanzgehalt der FM unterscheidet sich sowohl bei beiden Ernten als auch an beiden Standorten signifikant (Tab. 12). Die unterschiedliche N-Versorgung der Pflanzen erzeugt lediglich graduelle Unterschiede.

Tab. 12: Trockensubstanzgehalt (%) der Artischockenblätter aus dem N-Düngungsversuch

	1. Schnitt	2. Schnitt	MW_{Orte} (LSD₀₅:0,333)
Artern	15,4 % \pm 0,89	8,7 % \pm 0,56	12,1 % a
Hohenfinow	14,0 % \pm 1,43	8,0 % \pm 0,59	11,0 % b
MW_{Schnitte} (LSD₀₅:0,333)	14,7 % a	8,3 % b	

Unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikante Unterschiede bei $\alpha=5\%$.

Die Differenz im TS-Gehalt zwischen den beiden Ernteterminen beträgt für alle Behandlungen 6-7 %, die im Herbst geernteten Blätter enthalten absolut betrachtet nur gut die Hälfte der TS des Sommerschnittes. Der Standort Hohenfinow weist bei beiden Schnitten signifikant niedrigere TS-Gehalte auf als Artern. Der TS-Gehalt der frischen Blätter weist mit steigender N-Versorgung der Pflanzen bei beiden Ernten an beiden Standorten eine fallende Tendenz auf, die jedoch nicht statistisch signifikant ist. Die Differenz zwischen der Nullparzelle und der höchsten N-Versorgung beträgt im Mittel bei beiden Ernten ca. 1 %.

Bedingt durch die deutlichen Unterschiede im TS-Gehalt zwischen 1. und 2. Ernte fielen die Ertragsunterschiede bei den Drogenerträgen (LTM mit 10 % Restfeuchte) weit weniger deutlich aus als bei den frischen Blättern. Beim Blattdrogenertrag treten signifikante Unterschiede zwischen den Orten, den Ernteschnitten und den N-Versorgungsstufen auf. Der 1. Schnitt ergab Erträge zwischen 2,1 und 3,3 t/ha, der 2. Schnitt zwischen 2,5 und 4,1 t/ha (Abb. 20).

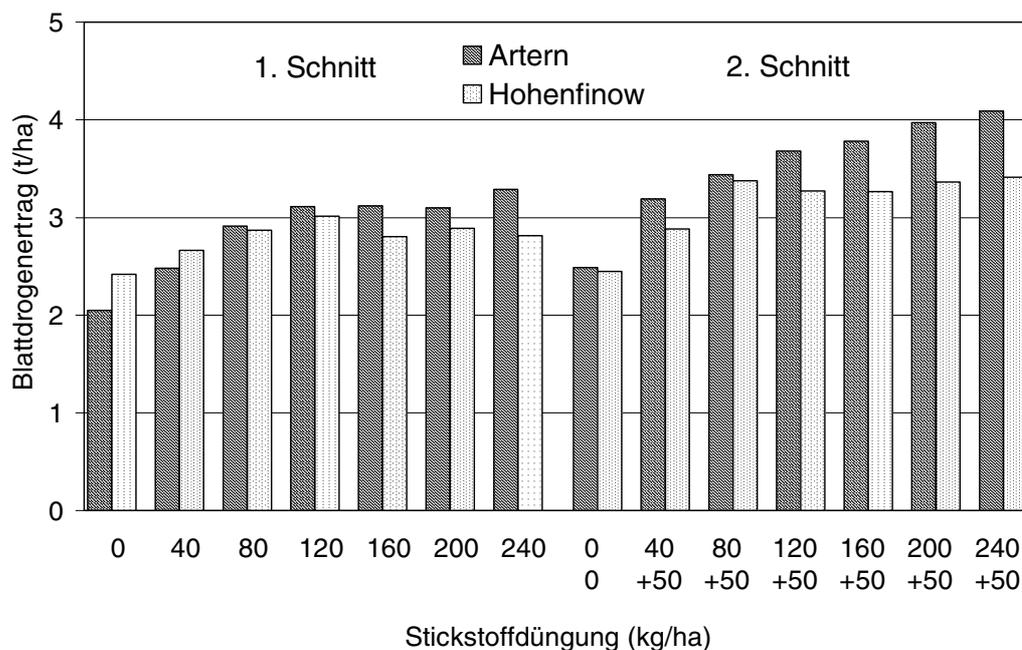


Abb. 20: Blattdrogenertrag (10 % Restfeuchte) der 1. und 2. Ernte in Artern und Hohenfinow in Abhängigkeit von der applizierten N-Düngung (n=4)

Mit beiden Ernten wurde ein kumulierter Drogenertrag zwischen 4,5 und 7,4 t/ha erzielt. Die Mittelwerte des Gesamtertrags an beiden Standorten zeigt Abbildung 21. Nur zwischen der ungedüngten Variante und den beiden niedrigsten (40 und 80 kg/ha N) Düngungsstufen bestehen signifikante Unterschiede. Der weitere Ertragszuwachs ist nur noch tendenziell und nicht kontinuierlich. Der mittlere Gesamtdrogenertrag beträgt für beide Standorte 6,2 t/ha.

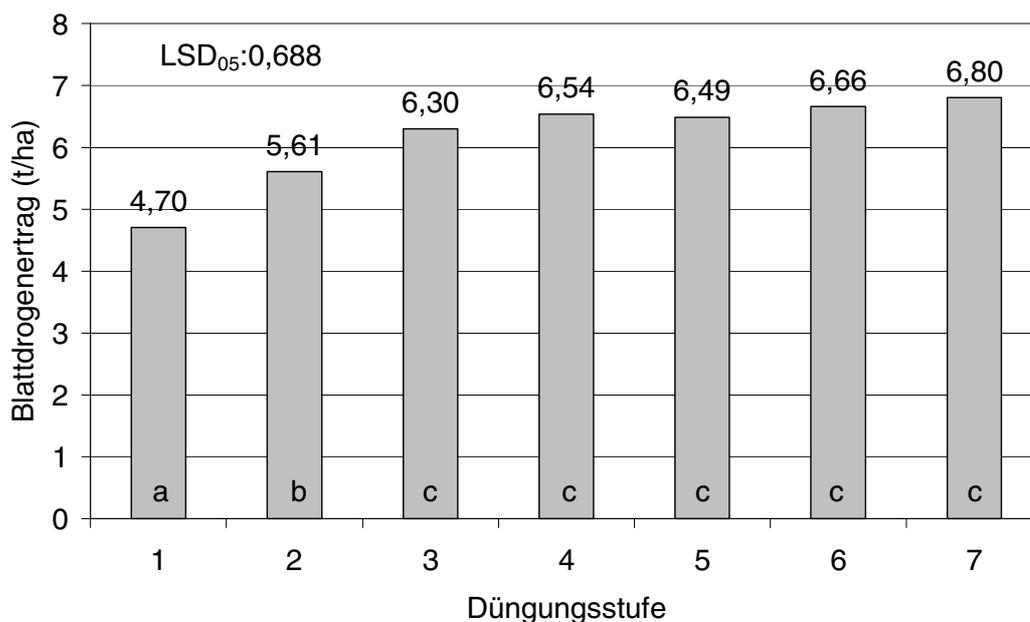


Abb. 21: Mittelwerte der Gesamterträge an Artischockenblattdroge aus zwei Ernten an zwei Standorten mit 7 N-Düngungsstufen (n=8, unterschiedliche Buchstaben zeigen Signifikanz bei $\alpha=5\%$).

Tabelle 13 enthält die Mittelwerte für den Blattdrogenertrag (10 % Restfeuchte) der einzelnen Schnitte beider Orte. In Hohenfinow wurde in beiden Schnitten ein signifikant niedrigerer Drogenertrag erzielt als in Artern. Trotz des deutlich niedrigeren Trockensubstanzgehalts im Erntematerial des zweiten Schnittes war der Ertrag signifikant höher als beim ersten Schnitt.

Tab. 13: Mittelwerte für den Blattdrogenertrag (t/ha) in Abhängigkeit von Standort und Schnitt.

	1. Schnitt	2. Schnitt	MW _{Orte} (LSD ₀₅ :0,184)
Artern	2,87 t/ha ± 0,45	3,52 t/ha ± 0,60	3,19 t/ha <i>a</i>
Hohenfinow	2,78 t/ha ± 0,79	3,15 t/ha ± 0,41	2,96 t/ha <i>b</i>
MW_{Schnitte} (LSD₀₅:0,184)	2,82 t/ha <i>a</i>	3,33 t/ha <i>b</i>	

Unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikante Unterschiede bei $\alpha=5\%$.

3.3.2.3 CCS- und Flavonoidgehalt

Der Gehalt an Kaffeylchinasäurederivaten in der Blattdroge weist für die Parameter Ort, Schnitt und N-Düngung sowie zwischen den Schnitten eines Ortes statistisch signifikante Unterschiede auf. Mit zunehmender Stickstoffversorgung sinken die CCS-Gehalte in der Droge. Der mit signifikantem Abstand höchste Gehalt wurde jeweils in der ungedüngten Variante beobachtet. In Artern wurden Werte zwischen 4,5 % und 2,0 % im 1. und 2,7 % bis 1,5 % im 2. Schnitt erreicht. Zwischen 3,1 % und 1,64 % in der 1. und 3,1 % bis 1,73 % in der 2. Ernte wurden in Hohenfinow erzielt (Abb. 22).

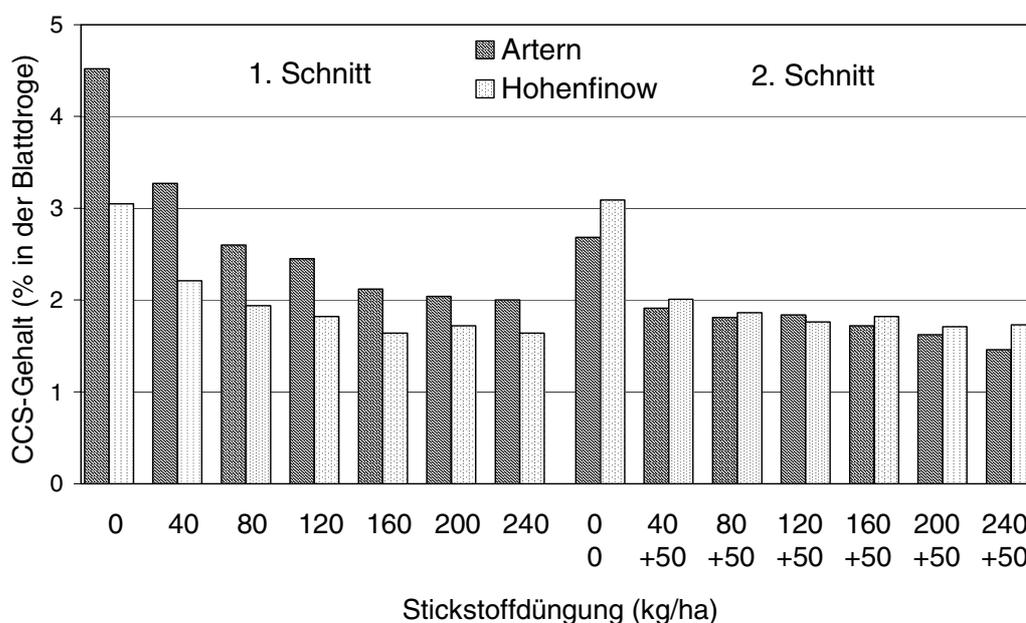


Abb. 22: CCS-Gehalt der Blattdroge vom 1. und 2. Schnitt der beiden Standorte (n=4)

Bei der 1. Ernte wurden höhere Gehalte erreicht als bei der 2. Ernte. Die Effekte der Behandlung fielen vor allem in Artern bei der 2. Ernte geringer aus als bei der 1. Ernte. Der CCS-Gehalt der Droge des 2. Schnitts lag bei einem Durchschnitt von 1,93 % signifikant unter dem Gehalt der 1. Ernte (Tab. 14). Während sich die Gehalte in der Nullparzelle zwischen 1. und 2. Schnitt in Hohenfinow nicht unterscheiden, war in Artern ein deutlicher Rückgang von 4,5 auf 2,7 % feststellbar.

Tab. 14: Mittelwerte der CCS-Gehalte in der Blattdroge der beiden Schnitte und Standorte.

	1. Schnitt	2. Schnitt	MW _{Orte} (LSD ₀₅ :0,143)
Artern	2,71 % ± 0,91	1,82 % ± 0,45	2,29 % <i>a</i>
Hohenfinow	2,00 % ± 0,74	2,00 % ± 0,52	2,00 % <i>b</i>
MW_{Schnitte} (LSD₀₅:0,143)	2,36 % <i>a</i>	1,93 % <i>b</i>	

Unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikante Unterschiede bei $\alpha=5\%$.

Der Flavonoidgehalt der Droge der 1. und 2. Ernte war im Niveau und in den Behandlungseffekten nahezu identisch (Abb. 23). Wie beim CCS-Gehalt konnte ebenfalls eine negative Korrelation zur N-Düngermenge festgestellt werden. Die höchsten Gehalte (0,8 %) wurden auch hier ohne N-Düngung erreicht. Den niedrigsten Wert (0,5 %) erreichte die höchste N-Versorgungsstufe in Artern. Weder zwischen den Orten noch zwischen den Schnitten bestehen signifikante Unterschiede. Für die N-Düngung existieren wie bei den CCS-Verbindungen Unterschiede, die statistisch abgesichert sind (Abb. 24).

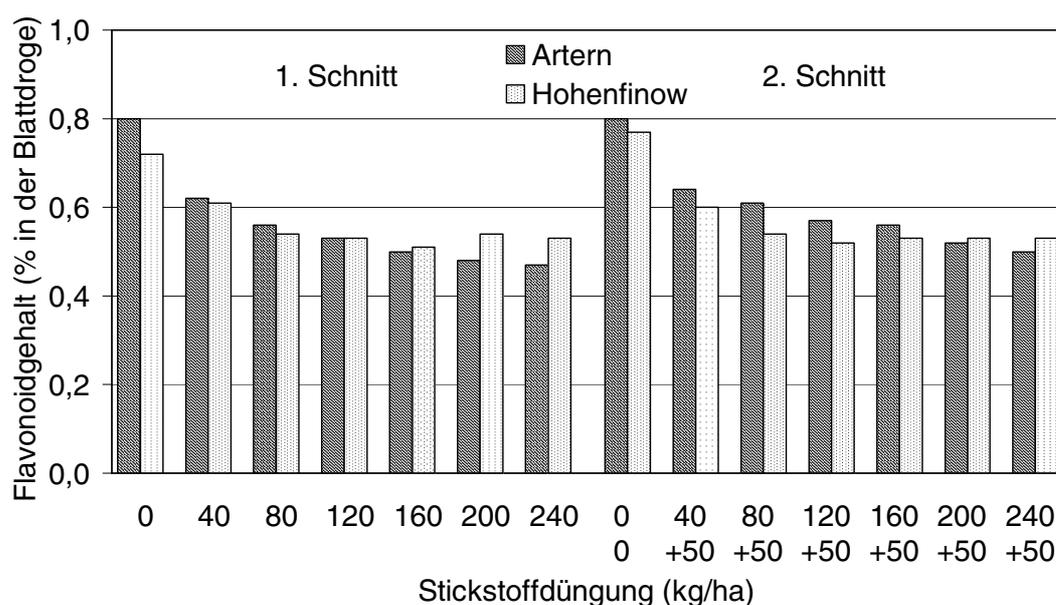


Abb. 23: Flavonoidgehalt der Blattdroge in Abhängigkeit von der Stickstoffdüngung (n=4)

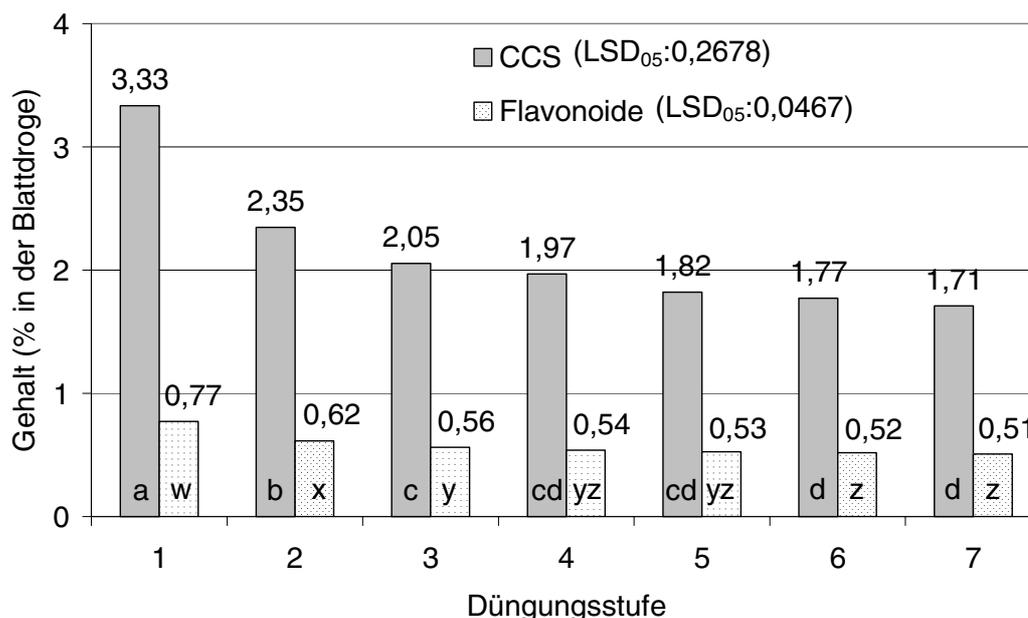


Abb. 24: Mittelwerte der CCS- und Flavonoidgehalte in der Blattdroge in Abhängigkeit von der Düngungsstufe (n=16, unterschiedliche Buchstaben zeigen Signifikanz bei $\alpha=5\%$)

3.3.2.4 N- und Nitratgehalt

Der Stickstoffgehalt der Blattdroge unterschied sich signifikant sowohl zwischen den Orten als auch zwischen den Schnitten (Tab. 15). Dabei waren die Gehalte in Hohenfinow höher als in Artern und die der 2. Ernte höher als die der 1. Ernte. Im 1. Schnitt wurden Gehalte von 1,5 bis 2,96 % und im 2. Schnitt von 2,32 bis 3,62 % erreicht. Die mittleren N-Gehalte der Droge sind in Abbildung 25 dargestellt. Bis auf die N-Stufen 5 und 6 unterscheiden sich alle Behandlungen signifikant. Die Steigerung der Stickstoffversorgung führte zu einem fast linearen Anstieg des Gesamt-N-Gehalts der Droge.

Tab. 15: Mittelwerte für den Gesamtstickstoffgehalt (%) in der Blattdroge in Abhängigkeit von Standort und Schnitt.

	1. Schnitt	2. Schnitt	MW _{Orte} (LSD ₀₅ :0,145)
Artern	1,87 % ± 0,32	2,68 % ± 0,39	2,27 % a
Hohenfinow	2,45 % ± 0,42	3,18 % ± 0,39	2,82 % b
MW_{Schnitte} (LSD₀₅:0,145)	2,16 % a	2,93 % b	

Unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikante Unterschiede bei $\alpha=5\%$.

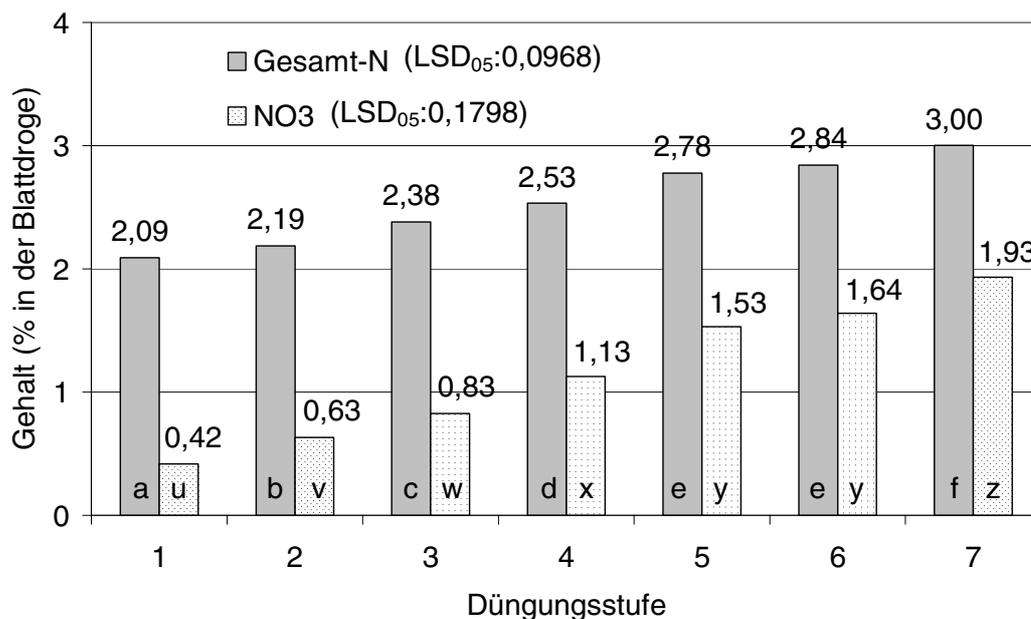


Abb. 25: Gesamtstickstoff- und Nitratgehalt in der Blattdroge in Abhängigkeit von der Düngungsstufe (n=16, unterschiedliche Buchstaben zeigen Signifikanz bei $\alpha=5\%$)

Der Nitratgehalt der Blattdroge ist für jede Düngungsstufe bezogen auf den Schnitt in Hohenfinow höher als in Artern. Die Mittelwerte sind in Tabelle 16 dargestellt. In der 2. Ernte wurden deutlich höhere Werte gefunden als in der 1. Ernte. Im ersten Schnitt liegen die Werte zwischen 0,17 % und 2,08 % und im zweiten Schnitt zwischen 0,35 % und 2,68 %. Die niedrigsten Nitratwerte wurden in beiden Schnitten jeweils in der Behandlung a2 (40 kg/ha N) in Artern gemessen. Die mittleren Nitratgehalte sind in Abbildung 25 dargestellt. Bis auf Stufe 5 und 6 unterschieden sich alle Behandlungen signifikant und zeigen einen linearen Anstieg des NO₃-Gehalts. Der Anstieg ist im Vergleich zum N-Gehalt überproportional. Der größte Wert ist etwa 4,5 mal so hoch wie der Wert für die Nullparzelle.

Tab. 16: Mittelwerte für den Nitratgehalt (%) in der Blattdroge in Abhängigkeit von Standort und Schnitt.

	1. Schnitt	2. Schnitt	MW _{Orte} (LSD ₀₅ :0,096)
Artern	0,46 % ± 0,28	1,00 % ± 0,68	0,73 % a
Hohenfinow	1,25 % ± 0,66	1,91 % ± 0,39	1,58 % b
MW_{Schnitte} (LSD₀₅:0,096)	0,86 % a	1,46 % b	

Unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikante Unterschiede bei $\alpha=5\%$.

In Hohenfinow war im Gegensatz zu Artern ein deutlicher Effekt der Stickstoffgabe nach dem ersten Schnitt (50 kg/ha N für alle gedüngten Parzellen) erkennbar (Abb. 26). Im zweiten

Schnitt stieg wie in Artern auch der Nitratwert für die Nullparzelle an. Aber zur 1. gedüngten Variante war in Hohenfinow ein deutlicher Sprung mit einer Differenz von 0,9 % zu verzeichnen. Für alle weiteren Stufen stiegen die Werte kontinuierlich an.

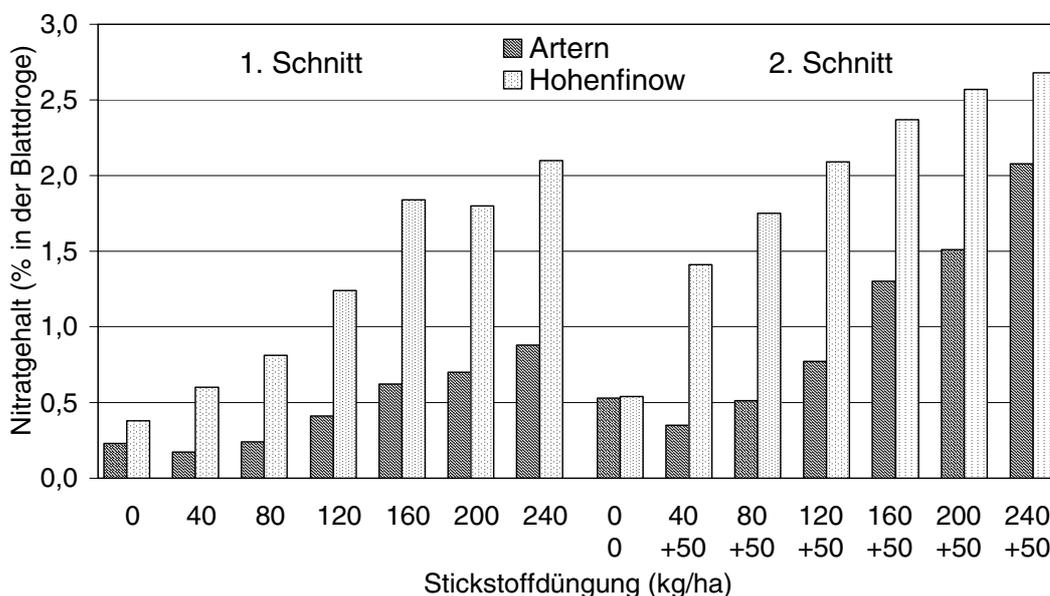


Abb. 26: Nitratgehalt (%) in der Blattdroge in Abhängigkeit von Schnitt, Standort und Düngungsstufe (n=4)

3.3.2.5 Nährstoffentzug und N_{\min} -Werte nach der Ernte

Der N-Entzug durch den 1. und 2. Aufwuchs stieg an beiden Standorten mit der N-Düngermenge (Abb. 27). Er variierte zwischen 31 und 83 kg/ha für die 1. Ernte und zwischen 61 und 129 kg/ha für die 2. Ernte.

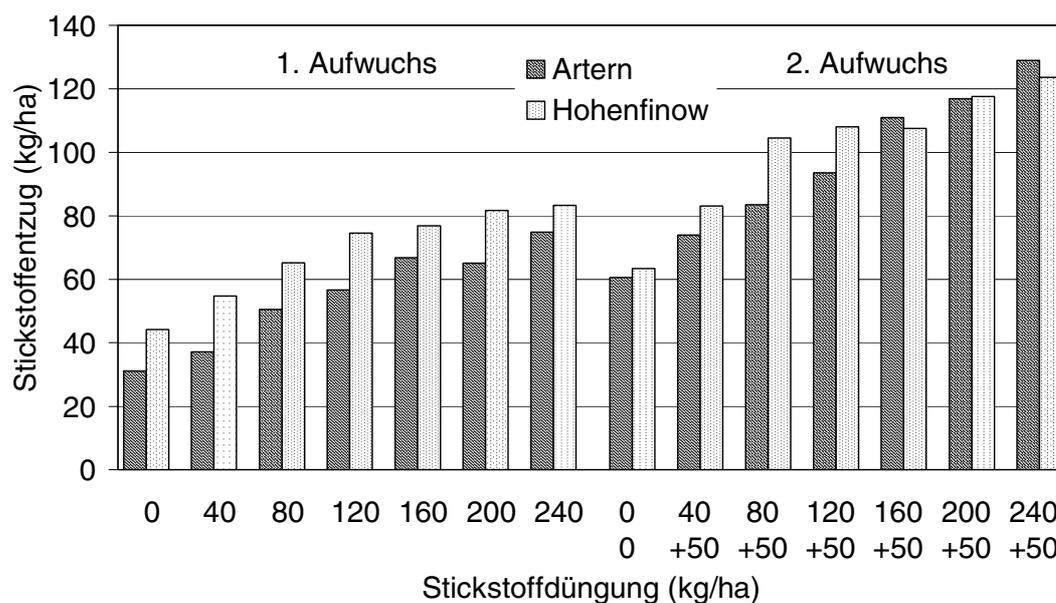


Abb. 27: Stickstoffentzug in Abhängigkeit von der Düngungsstufe, getrennt nach Aufwuchs und Standort (n=4)

Der N-Gesamtentzug für beide Ernten unterschied sich kaum zwischen den Standorten. Er variierte zwischen der Nullvariante und der höchsten Versorgungsstufe von 100 bis 205 kg/ha (Abb. 28). Für den 1. Schnitt waren die Werte in Hohenfinow im Durchschnitt höher als in Artern. Durch die höheren N-Gehaltswerte der Droge aus Hohenfinow wurden die höheren Erträge mit niedrigeren N-Werten in Artern kompensiert und führten somit zu vergleichbaren Entzugszahlen an beiden Standorten.

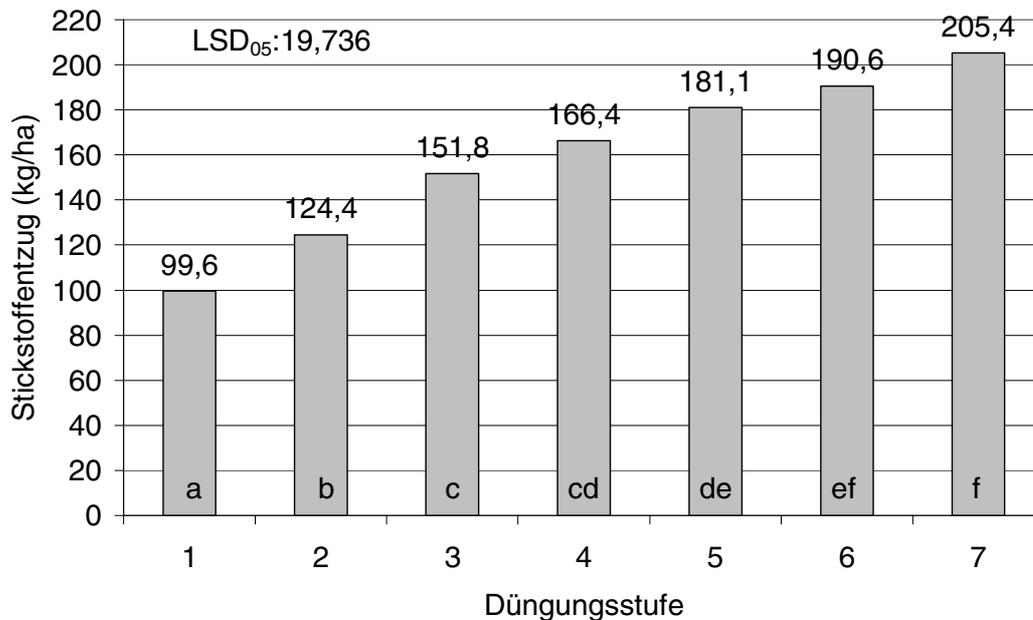


Abb. 28: Gesamtstickstoffentzug in Abhängigkeit von der Düngungsstufe (n=16, unterschiedliche Buchstaben zeigen Signifikanz bei $\alpha=5\%$)

Der Stickstoffentzug hing sehr stark vom Angebot aus der Düngung ab ($R^2=0,986$, $\alpha=0,001$). Andere Einflussfaktoren scheiden aus. Er stieg gegenüber dem Angebot lediglich mit einem Faktor von 0,38. Der Entzugswert für die Nullparzelle (99,6 kg/ha) war fast identisch mit dem Nullwert der Korrelationsfunktion (Abb. 29).

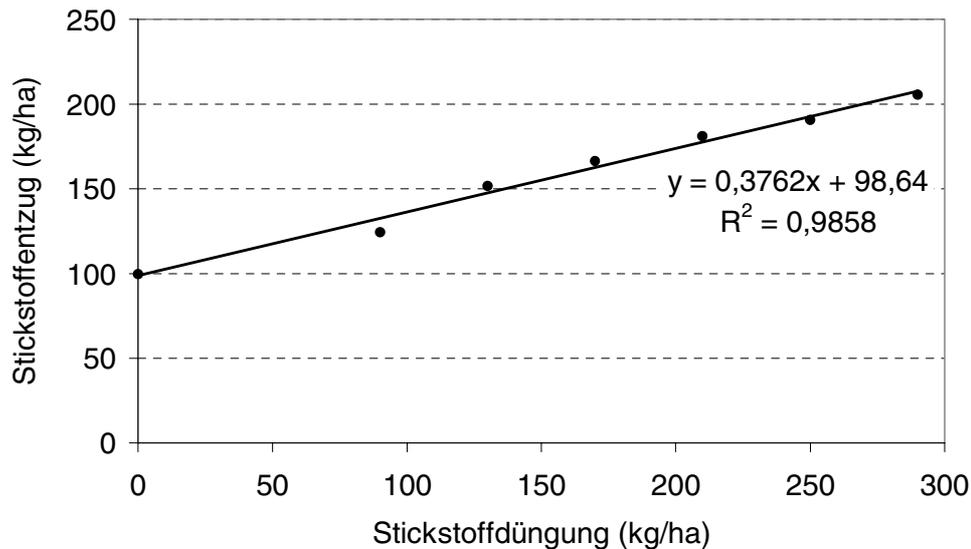


Abb. 29: Korrelation zwischen Stickstoffdüngung und gesamtem N-Entzug ($\alpha=0,001$)

Abbildung 30 zeigt die Stickstoffbilanz für die beiden Versuchsstandorte. Der hier ermittelte Entzug entspricht im eigentlichen Sinne der Nährstoffabfuhr und führt zu korrekten Werten für die Bilanz. Der komplette Entzug durch die Pflanzen enthält darüber hinaus noch den Bedarf für Wurzeln und oberirdische Pflanzenreste, die auf dem Feld verbleiben, für die aber ebenfalls ein Angebot vorhanden sein muss. In Hohenfinow lag zwischen den Stufen 4 und 5 (170-210 kg/ha) eine ausgeglichene Bilanz vor, d.h. der Entzug entsprach der Düngung. In Artern war dieser Zustand bereits zwischen Stufe 3 und 4 (130-170 kg/ha) erreicht. Höhere Düngergaben führten zwar zu einem steigenden Entzug, doch ein ebenso steigender Anteil des N-Angebots wird von den Pflanzen nicht verwertet. In der ungedüngten Variante entzogen die Pflanzen dem Boden zwischen 91 kg/ha (Artern) und 107 kg/ha N (Hohenfinow). Der maximale Überschuss war mit etwa 85 kg/ha für beide Standorte gleich groß. Durch den höheren Entzug auf der Nullparzelle ist die Spanne für die Bilanz (-107 bis +85 kg/ha) in Hohenfinow größer als in Artern.

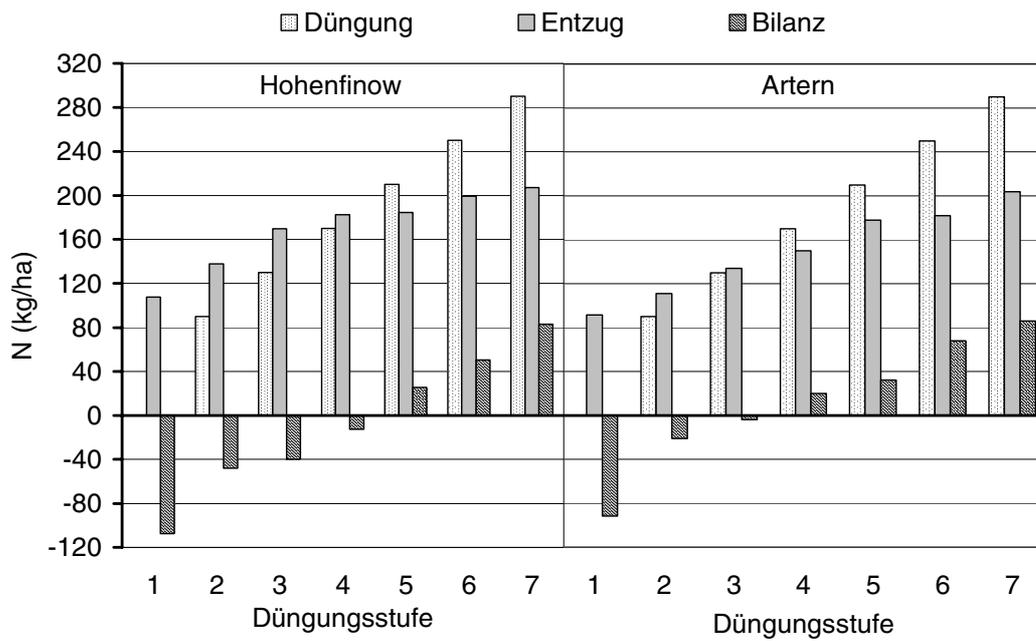


Abb. 30: Stickstoffentzug und -bilanz an beiden Standorten in Abhängigkeit von der Düngungsstufe

Nach der 2. Ernte im Herbst wurden im Boden N_{\min} -Werte bestimmt, um eine Aussage über den Bodenvorrat an leichtlöslichem Stickstoff zu erhalten (Abb. 31). In Artern lagen die Werte bis zu einem N-Düngungsniveau von 170 kg/ha (120+50) um 20 kg/ha N_{\min} in einer Tiefe von 0-60 cm. Ein höheres N-Angebot führte zu Werten von maximal 50 kg/ha, davon 30 kg/ha in der Schicht von 30-60 cm. Auf dem Standort Hohenfinow wurden durchgehend höhere Gehalte gemessen. Während bis zur 4. Düngungsstufe (170 kg/ha) weniger als 40 kg/ha N_{\min} im Boden vorhanden waren, stiegen die Werte bis zur höchsten N-Versorgungsstufe auf bis zu 100 kg/ha, die sich gleichmäßig auf die beiden Schichten von 0-30 cm und 30-60 cm verteilen, extrem stark an.

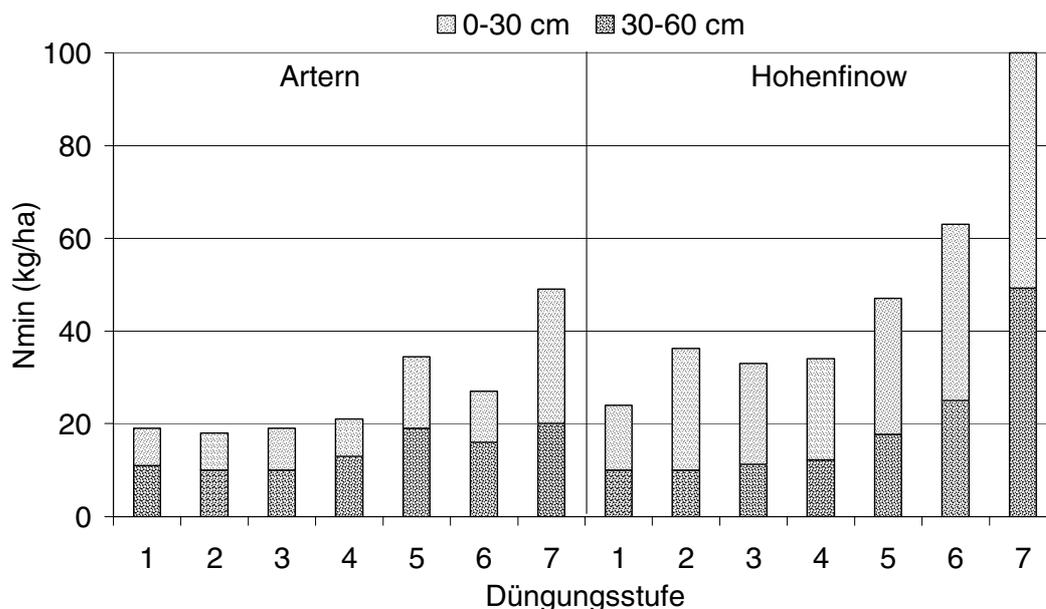


Abb. 31: N_{min}-Gehalte (0-60 cm) im Boden nach der 2. Ernte im Herbst (Probenahme 11.11.98)

In je vier Blattdrogenproben beider Standorte wurden weitere Nährelemente bestimmt. In Tabelle 17 sind die mittleren Gehalte und die daraus errechneten Entzugszahlen für P, K, Mg, S, Ca und Na angegeben. Die Entzugswerte wurden mit dem mittleren Gesamtertrag an Blattdroge von 6,16 t/ha berechnet. Das Material aus Artern hat mit 0,98 % einen etwa fünfmal höheren Natriumgehalt als die Blattdroge aus Hohenfinow (0,19 %). Ursache dafür ist die Nutzung von salzhaltigem Beregnungswasser am Standort Artern.

Tab. 17: Nährstoffgehalte (%) und Entzugszahlen (kg/ha) von Artischockenblattdroge (n=4/Standort)

Standort	P	K	Mg	S	Ca	Na
Artern	0,19 ±0,04	2,81 ±0,75	0,16 ±0,03	0,31 ±0,07	1,50 ±0,19	0,98 ±0,26
Hohenfinow	0,22 ±0,03	2,38 ±0,06	0,23 ±0,02	0,2 ±0,001	1,37 ±0,08	0,19 ±0,09
MW_{Versuch}	0,20	2,59	0,19	0,25	1,44	0,59
Entzug (kg/ha)	13	160	12	15	88	11,7-60,4
Entzug (kg/10 dt)	4,8 als	31,2 als	3,2 als	2,4 als	20,0 als	1,9-9,8 als
LTM	P ₂ O ₅	K ₂ O	MgO	S	CaO	Na

Die Umrechnungsformeln für die Nährstoffe in ihre als Düngemittel üblichen Oxidformen wurden aus FINCK (1989) entnommen.

3.3.3 Diskussion

Die vorgestellten Versuchsergebnisse basieren auf einem einjährigen Versuch an zwei Standorten mit einer Herkunft (C104). Dies ist bei der Bewertung und Übertragbarkeit der Ergebnisse zu berücksichtigen.

3.3.3.1 Pflanzenentwicklung und Ertrag

Die Entwicklung des BI und seine enge Korrelation mit dem Ertrag zeigen, dass der 1. Schnitt ohne Ertragsminderungen 2-3 Wochen früher möglich gewesen wäre. Der 2. Schnitt hätte aus Sicht der Pflanzenentwicklung später erfolgen können, da bis zum letzten Boniturtermin eine signifikante Zunahme feststellbar war. Das Ertragspotential wurde hier wahrscheinlich nicht vollständig ausgeschöpft. Wegen Frostgefahr musste jedoch geerntet werden, da die Blätter sehr frostempfindlich sind (FOURY, 1976).

Aus den Messungen vom 21.08. lässt sich ableiten, dass Pflanzen mit mehr Blättern auch größere Blätter haben, also insgesamt weiter entwickelt sind. Dieser Zusammenhang gilt jedoch nicht für die Ergebnisse der Bonitur vom 15.10. Offensichtlich bildet sich ein Gleichgewicht aus neu wachsenden und alternden Blättern. Der hier bestimmte, von der Blattanzahl unabhängige Index steigt aber weiter, da die Größe der Blätter im Durchschnitt der Pflanze weiterhin zunimmt.

In einem Stickstoffdüngungsversuch mit einer Gemüseartischockensorte stellten PRADO et al. (1983) eine sehr langsame Jugendentwicklung fest. 127 Tage nach der Pflanzung hatten die Pflanzen erst 6 % der gesamten Trockenmasse gebildet. In den weiteren knapp 120 Tagen bis zur Ernte wurden die restlichen 94 % gebildet. In dem hier durchgeführten Versuch entspricht die 1. Ernte im Durchschnitt 45 % der gesamten Blattdroge. Diese Menge wurde 100 Tage nach der Aussaat erreicht, nach den Ergebnissen der Beobachtungen zur Pflanzenentwicklung am Standort Artern sogar noch früher. Die 55 % des 2. Schnittes wurden nach weiteren 63 Tagen gebildet.

Die zunehmende N-Düngung vor dem 1. Schnitt steigerte sowohl den Ertrag der 1. als auch der 2. Ernte, jedoch nur für die ersten beiden Behandlungen signifikant für beide Erntetermine. Der Blattdrogenertrag des 2. Schnittes der gedüngten Parzellen lag im Durchschnitt 0,55 t/ha über dem des 1. Schnittes. Ohne Düngung stieg der Ertrag um 0,23 t/ha. Dies zeigt, dass die nach der 1. Ernte ausgebrachte N-Düngung (50 kg/ha) nur einen geringen Einfluss auf den Ertrag der zweiten Ernte hatte, wohl aber auf den Nitratgehalt der Droge in Hohenfinow. Die in diesem Versuch im Durchschnitt erzielten Frischmasseerträge liegen über den von BAIER und HANNIG (1998) für den Anbau in Deutschland genannten Werten von bis zu 40 t/ha und sind vergleichbar mit den von SCHNEIDER et al. (2001) genannten Frischmasseer-

trägen von bis zu 60 t/ha aus chilenischem Anbau.

UNGUREANU (1996) berichtet über einen Sortenvergleich von Artischocken, die ebenfalls für die Erzeugung von Blattdroge verwendet werden. Die unter rumänischen Verhältnissen erzielten Erträge schwanken zwischen 3,4 und 8,7 t/ha getrocknete Blätter (letzter Wert von einem Standort im Südosten Rumäniens) und weisen damit eine etwas größere Spannweite auf als die hier gemessenen Blattdrogenerträge. Die für einen eingehenderen Vergleich der Ertragswerte notwendigen Angaben wie Länge der Vegetationsdauer, Düngung, Anzahl der Schnitte etc. werden von diesem Autor nicht gemacht.

DELLACECCA und DE PALMA (1981) prüften in einem Sortenvergleich in Süditalien die Erträge von elf Kardonensorten. Bei einem N-Düngungsniveau von 130-230 kg/ha N (steigende Düngung vom 1. zum 3. Standjahr) und einer Bestandesdichte von 0,95 Pfl./m² wurde mit einer Ernte ein maximaler Blattfrischmasseertrag von 45-56 t/ha erreicht. Das hier vorgestellte Zweischnittsystem hat unter mitteleuropäischen Klimabedingungen mit einer deutlich höheren Pflanzenzahl bezogen auf die Varianten mit vergleichbarer N-Düngung ähnliche Erträge erzielt.

Der TS-Gehalt der Frischmasse unterscheidet sich bei beiden Ernten und an beiden Standorten erheblich. Da der Wert für die ungedüngte Kontrolle vom ersten zum zweiten Schnitt ebenso sinkt wie für die anderen Behandlungen, kann in diesem Fall ein Einfluss durch die Stickstoffversorgung ausgeschlossen werden. Auch PARIS und HÉRRISET (1969) fanden sehr unterschiedliche Wassergehalte bei unterschiedlichen Ernteterminen. So enthielten die Blätter einer Sommerernte und einer Herbsterte ohne weitere Terminangabe 82 % bis 86 % beziehungsweise 91 % bis 92,5 % Wasser. Dies entspricht den hier gefundenen Werten. Andere Faktoren, wie z.B. das Wasserangebot, müssen alle Varianten gleichmäßig beeinflusst haben; es ist möglicherweise auch die Ursache für die unterschiedlichen Niveaus der beiden Standorte. Die Unterschiede zwischen den Behandlungen innerhalb der Erntetermine sind fast bedeutungslos, wenn man die möglichen Schwankungen im Restwassergehalt der Droge in der Praxis betrachtet. Nur durch eine exakte Steuerung dieses Parameters am Ende der Trocknung (Ausschluss von Übertrocknung) können die Trocknungskosten durch einen höheren TS-Gehalt in der Frischware effektiv reduziert werden.

3.3.3.2 Inhaltsstoffe

Die höchsten CCS- und Flavonoidgehalte wurden ohne Stickstoffdüngung erreicht. Die Werte der Nullparzelle in Artern (0,8 %) liegen noch über dem von WAGENBRETH et al. (1996) gefundenen Wert von 0,75 %. Ein steigendes Stickstoffangebot verursachte einen Rückgang des CCS- und des Flavonoidgehalts sowohl in der Droge des ersten als auch des zweiten

Schnittes. Die CCS-Gehalte waren in der 2. Ernte z. T. erheblich niedriger als in der 1. Ernte. Da vor allem das Material der Nullparzelle von diesem Rückgang betroffen war, liegt die Ursache nicht in der zusätzlichen N-Düngung nach der 1. Ernte. Der Rückgang ist wahrscheinlich auf witterungsbedingte und jahreszeitliche Einflüsse (z.B. abnehmende Sonneneinstrahlung, niedrigere Temperaturen) zurückzuführen. Außerdem wurden nach den Messungen in Artern beim 2. Erntetermin (mittlerer BI von 12,0) im Durchschnitt größere Blätter geerntet als beim 1. Termin (mittlerer BI von 9,1). Bei den Flavonoiden wurden im Vergleich mit den CCS keine signifikanten Unterschiede zwischen den Orten und Schnitten gefunden. Auch zwischen den N-Düngungsstufen innerhalb der Versuchsorte variierten die Gehalte an Flavonoiden deutlich weniger als die CCS-Gehalte.

Aus pharmazeutischer Sicht weniger bedeutsam – hier ist der prozentuale Gehalt der Inhaltsstoffe entscheidend – ist der Ertrag an CCS und Flavonoiden pro ha. Aus pflanzenphysiologischer Sicht sollen die Werte aber nicht unberücksichtigt bleiben. Die Abhängigkeit des CCS- und des Flavonoidertrags von der N-Düngung und dem Erntetermin ist in Abbildung 32 dargestellt.

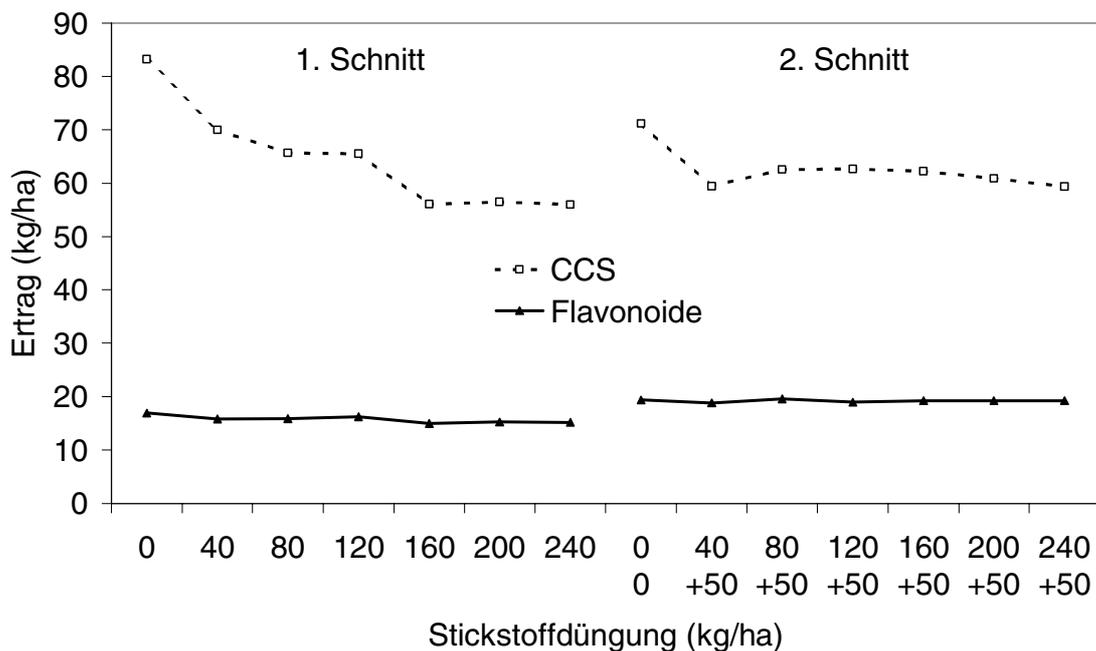


Abb. 32: CCS- und Flavonoidertrag (kg/ha) in Abhängigkeit von Düngung und Erntetermin

Beim 1. Schnitt wird der Rückgang im Gehalt an CCS-Verbindungen nicht durch den steigenden Ertrag bei steigender N-Versorgung ausgeglichen. Es werden pro Flächeneinheit absolut weniger CCS gebildet als bei der ungedüngten Variante. Für den zweiten Schnitt wird

der prozentuale Rückgang innerhalb der gedüngten Parzellen nahezu ausgeglichen, wobei trotz höherem Biomasseertrag im Durchschnitt aller Varianten etwa 2 kg/ha weniger CCS erreicht werden. Das Niveau der gedüngten Varianten liegt im zweiten Schnitt ca. 10 kg/ha unter dem Wert der ungedüngten Parzelle. Im ersten Schnitt war der deutlichste Ertragsrückgang für die CCS zwischen der Nullparzelle und der 1. Düngungsstufe festzustellen. Ein weiterer deutlicher Rückgang war zwischen 120 kg/ha und 160 kg/ha N zu verzeichnen. Der Flavonoidertrag verhält sich deutlich anders. Hier gleicht der mit der zunehmenden N-Düngung steigende Ertrag den prozentualen Rückgang komplett aus, so dass mit geringen Abweichungen bezogen auf den Erntetermin gleiche Flächenerträge für alle Düngungsvarianten erzielt werden. Durch den höheren Ertrag des zweiten Aufwuchses und den im Durchschnitt etwas höheren Flavonoidgehalt in der Blattdroge liegt der Ertrag um 3,5 kg/ha (ca. 20 %) über dem des 1. Aufwuchses. Der Verlauf der Kurven für den Flavonoidertrag pro ha in Abbildung 32 macht deutlich, dass dieser Parameter unabhängig von der Stickstoffdüngung war. Mit einer Tonne Droge wurden im 1. Schnitt 5,6 kg und im 2. Schnitt 5,8 kg Flavonoide geerntet.

Sowohl CCS als auch Flavonoide wurden im vorliegenden Versuch durch das Stickstoffangebot beeinflusst. Nach MENGEL (1991) begünstigt eine mäßige N-Versorgung die Synthese von nicht N-haltigen Inhaltsstoffen. Einen negativen Einfluss von steigender Stickstoffversorgung auf die Flavonoidgehalte fanden z.B. auch RÖHRICHT et al. (1996) bei ihren Versuchen mit *Salvia officinalis*. Offensichtlich besteht ein direkter Zusammenhang zwischen Stickstoffversorgung und Inhaltsstoffproduktion, der sich in der Konkurrenz zwischen Primär- und Sekundärstoffwechsel zeigt. Ein Indiz dafür sind auch die steigenden Proteingehalte in der Blattdroge, die sich aus dem gemessenen Protein-N bei zunehmender N-Versorgung ableiten lassen. JONES und HARTLEY (1999) fassten die Stoffwechselkonkurrenz in einem „Protein-Competition-Model“ zusammen, mit dem unter Berücksichtigung von Pflanzenwachstum und Umwelteinflüssen die Bildung von Verbindungen, die vom Phenylalanin abstammen, vorausgesagt werden soll. Die Aminosäure Phenylalanin ist das für die Proteinsynthese und für die Bildung von CCS und Flavonoiden gemeinsam genutzte Substrat. Sie wird durch das Enzym Phenylalanin-Ammonium-Lyase oxidativ zu Zimtsäure deaminiert (TEUSCHER, 1989; HEB, 1999). Zimtsäure ist als Vorstufe der Kaffeesäure notwendig für die Synthese der Kaffeesäurederivate und auch gleichzeitig Vorstufe von *p*-Cumaroyl-CoA, einem Bestandteil des Chalcon, dem Grundbaustein der Flavonoide (KOES et al., 1994; HEB, 1999; WINKEL-SHIRLEY, 1999).

Die niedrigeren Schwankungen des Flavonoidgehalts und der gleichbleibende Flavonoidertrag legen den Schluss nahe, dass zumindest bei dem untersuchten Genotyp die Flavonoidsynthese weniger als die CCS-Bildung von äußeren Faktoren beeinflusst wurde oder stärker genetisch fixiert ist. BONGUE-BARTELSMANN und PHILLIPS (1995) fanden bei ihren Untersuchungen an Tomaten, dass unter verminderter Stickstoffversorgung nicht das gesamte für die Pflanze typische Inhaltsstoffspektrum vermehrt gebildet wird, sondern die Synthese einzelner Stoffe gefördert wird. Die Genexpression der für die Flavonoidsynthese notwendigen Enzyme fand dabei vermehrt statt. Das Verhalten der Flavonoide im vorliegenden Versuch lässt auf eine ähnliche Reaktion schließen.

3.3.3.3 Verbleib des Stickstoffs und Nährstoffbedarf

Neben der Protein-N-Bestimmung hat sich die zusätzliche Nitratbestimmung im Probenmaterial als absolut notwendig für die Ermittlung des Gesamtstickstoffgehalts der Droge erwiesen. Die Nitratgehalte in der Droge stiegen im Vergleich zum Stickstoffgehalt mit zunehmendem N-Angebot überproportional an. Bei hohem Stickstoffangebot im Spätsommer und Herbst waren die Pflanzen nicht mehr in der Lage, den Stickstoff z.B. in Form von Eiweiß durch den Stoffwechsel zu verwerten. In den Pflanzen wurde verstärkt Nitrat angereichert.

Der höchste in der Droge bestimmte N-Gehalt betrug 3,62 % und liegt damit im unteren Bereich der von GERAKIS und HONMA (1969) gefundenen Werte (3,45 bis 4,39 %) für getrocknete Blätter. Ein Unterschied zum Ergebnis dieser Autoren wird deutlich, wenn man die Werte des ersten und des zweiten Probenahmetermins mit den hier gezeigten Werten der ersten und zweiten Ernte vergleicht. In dem hier beschriebenen Versuch lag der N-Gehalt der Blattdroge der zweiten Ernte immer über dem der ersten Ernte. Die relativ späte Stickstoffdüngung nach der ersten Ernte könnte eine Erklärung für dieses Ergebnis sein. Allerdings müssen nicht zuletzt wegen des höheren N-Gehalts auch für die ungedüngte Parzelle noch weitere Einflüsse vorhanden sein.

Die N_{\min} -Gehalte der beiden Standorte unterschieden sich im Frühjahr um etwa 20 kg/ha (Tab.10). Obwohl Artern mit 66 kg/ha den höheren Wert aufweist, ist der Entzug durch die Nullparzellen dort niedriger als in Hohenfinow. Die Vorfrucht Buchweizen hatte trotz weitgehender Abfuhr des Aufwuchses zu einer höheren Nachlieferung durch Mineralisation geführt. Mit 107 kg/ha (Entzugswert Nullparzelle) stand den Pflanzen etwa die 2,5fache N_{\min} -Menge aus dem Bodenvorrat zur Verfügung. Dieses über die Düngung hinausgehende Angebot ist dann auch als Ursache für das insgesamt höhere N_{\min} -Niveau und die sehr hohen N_{\min} -Gehalte in den hoch gedüngten Varianten nach der letzten Ernte in Hohenfinow zu sehen.

Außerdem sind auch die hohen Nitratgehalte in der Droge ein Anzeichen für eine deutliche Überversorgung.

Die Stickstoffbilanz sowie die N_{\min} -Werte nach der Ernte im Herbst spiegelte die Bodenunterschiede der beiden Versuchsstandorte wider. Der Standort in Hohenfinow wies ein geringeres Puffervermögen für Stickstoff auf. In den hochversorgten Varianten waren bereits kurz nach der letzten Ernte größere Mengen leichtlöslichen Stickstoffs in tiefere Bodenschichten verlagert. Am Standort Hohenfinow hätte auf die N-Gabe nach dem 1. Schnitt verzichtet werden können.

Für die Steuerung der N-Versorgung in Artischockenblattkulturen anhand von N-Gehalten im Blatt liegt noch kein Datenmaterial vor. Außerdem stellten POMARES et al. (1993) fest, dass die Nährstoffgehaltsanalyse in Artischockenblättern wegen hoher Schwankungen nur sehr bedingt aussagefähig ist. Über den Einfluss der Versorgung mit verschiedenen Mikronährstoffen auf die Bildung von sekundären Inhaltsstoffen von Artischocken liegen nur sehr wenige Erkenntnisse vor. Eine gute Manganversorgung hat nach ersten Erfahrungen einen positiven Effekt (LATTANZIO, 2000).

Für einen umweltfreundlichen Anbau von Artischockenblattkulturen waren die Parzellen ab 210 kg/ha N an beiden Standorten zu hoch versorgt. Somit wird deutlich, dass das im Gemüseanbau übliche N-Düngungsniveau von 300 kg/ha und Jahr (MAGNIFICO, 1987; ELIA et al., 1991) bis zu 500 kg/ha und Jahr (PEDRENO et al., 1996) auf keinen Fall auf Artischockenblattkulturen übertragbar ist.

Eine stickstoffbetonte Düngung von Blattdrogen, wie sie DACHLER und PELZMANN (1999) empfehlen, ist für die geprüfte *Cynara*-Herkunft nicht angebracht. Auch auf eine Reserve von 30–50 kg/ha aus der Stickstoffdüngung, wie sie BOMME und NAST (1998) vorschlagen, sollte verzichtet werden, da bereits ein negativer Einfluss auf die Qualität der Artischockenblattdroge zu erwarten ist.

Aus den hier vorgestellten vorläufigen Ergebnissen wird als Kompromiss zwischen Qualität und Ertrag eine Stickstoffdüngung von 80 kg/ha, aufgeteilt in zwei Gaben, vor der ersten Ernte und weitere 50 kg/ha unmittelbar nach der ersten Ernte empfohlen. Dabei muss, wie auch im Rahmen der guten fachlichen Praxis im Pflanzenbau gefordert (ANONYM, 1996), die Vorfrucht berücksichtigt und der N_{\min} -Gehalt des Bodens zu Beginn der Kultur in Abzug gebracht werden. In der Praxis erfolgt der 1. Schnitt in der Regel früher (Anfang August), so dass für den zweiten Aufwuchs mehr Zeit zur Verfügung steht oder z.T. noch ein 3. Schnitt geerntet wird und das N-Angebot nach dem 1. Schnitt von den Pflanzen länger genutzt werden kann. Dadurch ist eine N-Düngung nach dem 1. Schnitt gerechtfertigt. Optimal wäre eine

N_{\min} -Bestimmung im Sommer, um den Bodenvorrat besser beurteilen und den tatsächlichen Düngungsbedarf für das weitere Wachstum bestimmen zu können.

Wie für Gemüseartischocken in der Literatur beschrieben, zeigte sich auch für die Blattnutzung der untersuchten Herkunft ein geringer Phosphat- und hoher Kaliumbedarf. Einen geringen Phosphatentzug haben auch BOMME und NAST (1998) in ihren mehrjährigen Untersuchungen bei allen darin berücksichtigten Heil- und Gewürzpflanzenarten festgestellt. Für fundierte Düngungsempfehlungen zu Artischockenblattkulturen müssen mehrjährig Entzugszahlen von verschiedenen Sorten an verschiedenen Standorten ermittelt werden. Dies gilt für alle Nährstoffe, insbesondere für Stickstoff wegen des dargestellten Einflusses auf die Qualität.

4 Schlussfolgerungen und Ausblick

Die hohen Bestandesdichten und der einjährige Anbau von Artischocken zur Blattnutzung erfordern Saatgut für die Anlage der Feldbestände (BAIER et al., 1997). Die Saatguterzeugung aus langjährig vegetativ vermehrten, stark heterozygoten Gemüsesorten führt zu inhomogenen Pflanzenbeständen. Ein wichtiges Ziel der Züchtung von Arzneiartischocken ist deshalb die deutliche Verbesserung der Homozygotie. Mit einem Verfahren für die Erzeugung dihaploider Artischocken könnte dieses Ziel sicher (BAENZIGER, 1996) und nach Etablierung der Methode wesentlich schneller als durch wiederholte Selbstbestäubung, die bei Artischocken zu starker Inzuchtdepression führt (PÉCAUT, 1993), erreicht werden.

Die Frage nach der Möglichkeit einer Erzeugung haploider bzw. dihaploider Artischockenpflanzen über den Weg der Antheren- oder Ovulakultur muss an dieser Stelle unbeantwortet bleiben. In den durchgeführten Versuchen wurde nur an wenigen Explantaten die Bildung von Kallus beobachtet und die Regeneration von Pflanzen war nicht möglich. Der Einfluss der Genotypen in der Versuchskonzeption wurde möglicherweise überbewertet. Weitere Versuche sollten Aspekte wie die Grundzusammensetzung des Nährmediums, feine Konzentrationsabstufungen der Wachstumsregulatoren im Nährboden und vor allem verschiedene Temperaturbehandlungen wesentlich stärker berücksichtigen. Um das Ziel haploide Artischocken zu erreichen, sollten auch grundlegend andere Methoden wie beispielsweise die Bestäubung mit bestrahlten Pollen oder die Mikrosporenkultur weiter untersucht werden.

Gemüse- und Arzneiartischocken unterscheiden sich grundsätzlich im Anbauverfahren und im Ernteprodukt. Die Züchtung von Gemüseartischocken verfolgt daher Ziele, die dem Anbau von pharmazeutischen Blattkulturen konträr sind: Saatgutvermehrte Gemüsesorten der Artischocke sollen ein möglichst geringes Kältebedürfnis für die Blühinduktion haben, eine möglichst kurze Wachstumsphase bis zum Erreichen erntefähiger Köpfe benötigen und für den einjährigen Anbau bereits im Jahr der Aussaat Köpfe bilden. Kardonen sollen sich durch Blätter mit dicken fleischigen Stielen bzw. Mittelrippen auszeichnen. Dagegen sollen Artischocken für eine pharmazeutische Blattnutzung möglichst lange im vegetativen Rosettenstadium bleiben und müssen deshalb für die Blühinduktion einen hohen Kältebedarf haben. Sie sollen viel Blattmasse bilden mit möglichst geringen Stiel- bzw. Rippenanteilen und nicht zuletzt müssen sie über einen hohen Gehalt an pharmazeutisch relevanten Inhaltsstoffen verfügen.

Hohe Polyphenolgehalte, wie sie für die pharmazeutische Nutzung angestrebt werden, erhöhen die Gefahr von Verbräunungen während der Lagerung von Gemüseartischocken (LATTANZIO und VAN SUMERE, 1987; LATTANZIO et al., 1994). Dies legt den Schluss nahe,

dass Gemüsesorten möglicherweise ohne Kenntnis der physiologischen Zusammenhänge auf einen niedrigen CCS-Gehalt ausgelesen wurden. Die genannten Unterschiede erfordern die Züchtung eigener Sorten für eine optimale Blattdrogenerzeugung. Bis entsprechende Sorten verfügbar sind, muss auf geeignete Gemüsesorten von Kardonen und Artischocken zurückgegriffen werden.

Der wässrige Gesamtextrakt aus Artischockenblättern ist einzelnen Inhaltsstoffen in seiner pharmakologischen und klinischen Wirkung überlegen (z.B. BRAND, 1999). Folglich dürfen bei der züchterischen Bearbeitung der Artischocke mit dem Ziel der Optimierung für die pharmazeutische Nutzung derzeit einzelne Inhaltsstoffe nicht bevorzugt werden. Hierfür sind noch zu viele Fragen bezüglich der Wirkung einzelner Substanzen im Vergleich zur Wirkung des Gesamtextrakts offen, wie die Untersuchungen zur Pharmakologie einzelner Flavonoide zeigen (GEBHARDT, 1998; SHIMOI et al., 1998; BRAND, 1999). Vielmehr ist es nach dem derzeitigen Stand der Erkenntnis sinnvoll, das vorhandene genetische Material möglichst vollständig zu untersuchen und zu charakterisieren und die für eine erfolgreiche züchterische Bearbeitung der Pflanze notwendigen Methoden zu etablieren. Hierzu zählt auch, die möglicherweise unterschiedlichen pharmakologischen Eigenschaften des Genpools sowie späterer Züchtungsprodukte bereits in einem frühen Stadium zu prüfen, wie es BUETER et al. (2001) für die Entwicklung und Etablierung rationaler Phytopharmaka fordern. Die Ergebnisse können dann zur Definition neuer Anforderungen an das Pflanzenmaterial und somit als Grundlage für Züchtung und Selektion genutzt werden. Dafür müssen weitere Grundlagen über Vorkommen, Vererbung, Entwicklung und mögliche Steuerung von Inhaltsstoffen erarbeitet werden. Neben der Homozygotie von Linien, die mit Hilfe von haploiden Pflanzen erreichbar ist, können Haploide durch die Manifestierung rezessiver Allele auch zur Aufklärung der Vererbung einiger Merkmale beitragen (LINNERT und MICKE, 1997). Bis zum Vorliegen neuer Erkenntnisse muss die Züchtung an der Verbesserung des gesamten Inhaltsstoffniveaus sowie pflanzenbaulicher und technologischer Parameter wie z.B. Ertrag und Trocknungsverhalten arbeiten.

Trotz des nicht unerheblichen Umfangs der Anbauflächen für Gemüseartischocken ist diese Nutzpflanze für Züchter wenig attraktiv. Mehrjährige Nutzung der Bestände und vergleichsweise geringe Bestandesdichten machen es für den Züchter nahezu unmöglich, die Aufwendungen für die Züchtung über den Saatgutpreis in einem vernünftigen Zeitraum zu refinanzieren. Nur eine gleichzeitige Umstellung auf eine nur ein- bis zweijährige Kulturdauer würde den Saatgutbedarf deutlich erhöhen. Der Saatgutbedarf pro ha für pharmazeutische Blattkultu-

ren ist um ein vielfaches größer als im Gemüsebau. Gleichzeitig ist aber der Flächenumfang für die Blattdrogenherzeugung sehr gering. Die Kosten für die Züchtung können auch hier kaum über den Saatgutabsatz refinanziert werden.

Im Hinblick auf die Wirkung des Gesamtextrakts sollte dieser das Inhaltsstoffmuster von dem beschriebenen Chemotyp III mit Scolymosid, Cynarosid und L7G aufweisen. Idealerweise stammt die Droge dafür von einer Herkunft/Sorte, die Chemotyp III repräsentiert, und dadurch alleine für die Extraktion verwendet werden kann. Die zweite Möglichkeit wäre eine Mischung aus Typ I und II, die ebenfalls alle drei Flavonoide enthalten würde.

Das in fünf Herkünften bestimmte Flavonoidmuster war sowohl in wachsenden als auch in ausgewachsenen Blättern des Rosettenstadiums über einen Zeitraum von 20 Wochen nachweisbar und somit von der Pflanzenentwicklung und äußeren Faktoren unabhängig. Dadurch ist es zur Charakterisierung von Herkünften geeignet. Der Quotient aus Chlorogensäure und 1,3-Di-Caffeoylchinasäure kann dafür nicht herangezogen werden, da er bedingt durch die Blattentwicklung und äußeren Einflüssen starken Veränderungen unterliegt.

Insgesamt werden die Gehalte an pharmazeutisch relevanten Inhaltsstoffen in Artischockenblättern sowohl durch die Blattentwicklung als auch durch das Stickstoffangebot beeinflusst. Wie bereits von NICHIFORESCO (1970a) beschrieben, korrelieren beide Stoffgruppen über weite Bereiche positiv, wobei die Flavonoide geringeren Veränderungen unterliegen als die CCS-Verbindungen. Bei den CCS-Gehalten war eine kontinuierliche Abnahme mit dem Wachstum der Blätter festzustellen. Der Flavonoidgehalt stieg während der Blattentwicklung nach einem sehr niedrigen Ausgangsgehalt innerhalb sehr kurzer Zeit auf sein Maximum an, um dann ebenfalls bis hin zur Seneszenz der Blätter kontinuierlich abzufallen. Sowohl für CCS als auch für Flavonoide war in ausgewachsenen Blättern über einen Probenahmezeitraum von acht Wochen ab Mitte September im Mittel von fünf untersuchten Herkünften kein deutlicher Einfluss durch jahreszeitliche Veränderungen erkennbar. Dieses Datenmaterial reicht allerdings nicht aus, um einen jahreszeitlich bedingten Einfluss vollständig ausschließen zu können.

Der optimale Erntezeitpunkt hat bei vielen Arzneipflanzen einen entscheidenden Einfluss auf die Qualität des Ernteprodukts. Er wird somit in erster Linie durch die Anforderungen an die innere und äußere Qualität der Droge bestimmt. Ein entscheidendes Kriterium für den Beginn der Ernte eines Artischockenbestandes ist der beginnende Übergang der Pflanzen in die generative Phase, da die Droge keine Blüten- und Blütenstielanteile enthalten darf (BAIER und

HANNIG, 1998). Bei Anbau einer geeigneten Sorte und ausreichend später Aussaat wird dieses Stadium in einer einjährigen Kultur nicht erreicht.

Die Ergebnisse der vorgestellten Untersuchungen zeigen, dass es zur Erzielung hoher Inhaltsstoffwerte prinzipiell günstiger ist, junges Blattmaterial zu ernten. Im praktischen Anbau bedeutet dies einen frühzeitigen ersten Schnitt und je nach Entwicklungsgeschwindigkeit der Pflanzen mehrere Folgeschnitte, so dass im Mittel des Bestandes ein möglichst hoher Anteil wachsender Blätter vorhanden ist. Hier sind weitere Untersuchungen notwendig, um die Einflüsse von Pflanzenentwicklung, Bestandesdichte und Jahreszeit auf die Qualität der Droge zu quantifizieren. Auch mit den Ergebnissen aus solchen Versuchen wird es schwierig bleiben, für den Anbauer leicht zu erfassende Merkmale für die optimalen Schnittzeitpunkte zu definieren.

Die zunehmende N-Düngung hat den Ertrag und die Qualität der Droge in unterschiedlicher Weise beeinflusst. Mit einem höheren Stickstoffangebot bilden die Pflanzen mehr Frischmasse und auch mehr Trockensubstanz pro Flächeneinheit. Der Ertrag steigt weniger als der Gehalt an CCS abfällt, d.h. bei höherer Stickstoffdüngung sinkt der Ertrag dieser Inhaltsstoffgruppe nicht nur prozentual in der Droge sondern auch absolut pro Flächeneinheit. Bei den Flavonoiden sinkt lediglich der Gehalt, nicht der Flächenertrag.

Die Ergebnisse aus dem Düngungsversuch können nur bedingt verallgemeinert werden, da sie nur das Verhalten einer Herkunft in einem Anbaujahr widerspiegeln. Sie werden jedoch durch Ergebnisse aus dem kommerziellen Anbau gestützt. Ein hohes Niveau der Stickstoffdüngung oder ein hoher N-Vorrat des Bodens hatte dort negative Effekte auf den Inhaltsstoffgehalt der Droge, wie Auswertungen von Drogenuntersuchungen und Anbaudaten aus den Jahren 1999 und 2000 zeigten (BAIER und EICH, unveröff.). Für alle Nährstoffe und insbesondere für Stickstoff sind noch fundierte Entzugszahlen zu ermitteln. Dies war bislang noch nicht möglich, weil noch kein einheitliches Sortenmaterial zur Verfügung stand und auch das Anbauverfahren erst aus der Praxis heraus entwickelt wurde (WAGENBRETH et al., 1996; BAIER und HANNIG, 1998). Die vorgestellten Ergebnisse können bereits jetzt für einen Vergleich mit Werten aus dem Anbau genutzt werden, um die Stickstoffdüngung zu optimieren und bieten eine gute Basis für die Planung weiterer Versuche. Diese sollten neben anderen Standortbedingungen vor allem die Auswirkungen einer gleichzeitigen Veränderung der Menge, des Ausbringzeitpunkts und der Häufigkeit der N-Düngung prüfen, um die Erzeugung von Artischockenblättern für die pharmazeutische Verwendung zu optimieren und die hier vorgestellten vorläufigen Ergebnisse aus einem Versuchsjahr abzusichern.

Aus Sicht der pharmazeutischen Qualität sollte auf eine N-Düngung verzichtet werden. Praktische Erfahrungen haben aber gezeigt, dass ein Verzicht auf N-Düngung den Anbauern nur schwer zu vermitteln ist, nicht zuletzt weil die Düngung nur einen verhältnismäßig niedrigen Kostenfaktor im gesamten Anbau darstellt (DACHLER und PELZMANN, 1999). Für eine effektive Umsetzung solcher Forderungen müssen qualitätsabhängige Bezahlungssysteme eingesetzt werden. Aus pharmazeutischer Sicht gewinnt dieser Aspekt besondere Bedeutung, wenn ein angereicherter Extrakt hergestellt und dafür eine Droge mit maximalem Gehalt erzeugt werden soll.

Das Stickstoffangebot hat die Gehalte an pharmazeutisch relevanten Inhaltsstoffen in den getrockneten Artischockenblättern z.T. sehr deutlich beeinflusst. Dies sollte ebenso wie die Einflüsse anderer Nährelemente auf die Bildung von Inhaltsstoffen mit Versuchen, die eine bessere Kontrolle der äußeren Einflüsse erlauben (z.B. Gefäßversuche), näher untersucht werden.

Die Stickstoffdüngung ist neben der Sortenwahl und den Trocknungsbedingungen nur ein wichtiger Faktor, der die Qualität von Artischockenblattdroge beeinflusst. Die Trocknung hat aufgrund der Thermolabilität der Inhaltsstoffe bei gleichem Ausgangsmaterial den größten Einfluss auf die Qualität (NICHIFORESCO, 1967; WAGENBRETH, 1995; BRAND, 1997; HANNIG und EICH, 2000).

Aus dem Verlauf des Flavonoidgehalts während der Blattentwicklung und dem von der N-Düngung und vom Biomasseertrag unabhängigen Flavonoidertrag pro Flächeneinheit kann der Schluss gezogen werden, dass in einem frühen Stadium der Blattentwicklung eine bestimmte Menge an Flavonoiden synthetisiert wird und durch den Biomassezuwachs der Blätter der prozentuale Gehalt dann sinkt (Verdünnungseffekt). Es wäre interessant zu untersuchen, wie schnell die Pflanzen in der Lage sind, diese Menge an Flavonoiden zu bilden. Dies könnte als Grundlage für die Festlegung einer Schnitthäufigkeit bei maximalem Flavonoidgehalt dienen.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Extraktivstoffgehalt der getrockneten Blätter nicht untersucht. Veränderungen dieses Parameters durch Faktoren wie Blattalter und Düngungsniveau sind wie bei anderen Arzneipflanzen auch bei Artischockenblättern zu erwarten. Das Verhältnis zwischen eingesetzter Droge und dem daraus erhaltenen nativen Extrakt (DEV nach GAEDKE und STEINHOFF, 2000) darf sich durch einen stark erhöhten bzw. reduzierten Extraktivstoffgehalt nicht aus dem in der Zulassung des Arzneimittels festgelegten Bereich bewegen. Deshalb muss auch dieser Wert in der zukünftigen Anbauforschung und Züchtung berücksichtigt werden.

Der kontrollierte Anbau von Arzneipflanzen gewinnt immer noch an Bedeutung, nicht zuletzt durch die Verbesserung der Drogenqualitäten, die auch aus der Angleichung der Ernten verschiedener Anbaujahre resultiert. Die Etablierung des kontrollierten Artischockenanbaus zur Erzeugung hochwertiger Blattdroge in Mitteleuropa hat bereits zu einer entscheidenden Verbesserung der Drogenqualität beigetragen (BRAND und WESCHTA, 1991; WAGENBRETH et al., 1996; BRAND, 1997). Mit weiteren Untersuchungen zum optimalen Pflanzenmaterial, zu Standortbedingungen und zur Düngung kann das biologische Potential dieser interessanten Arzneipflanze noch weiter ausgeschöpft werden.

5 Zusammenfassung

Die Gattung *Cynara* hat vor einiger Zeit eine taxonomische Revision erfahren, die Artischocken und Kardonen zu einer Art zusammenfasst. Weitergehende Untersuchungen rechtfertigen eine pharmazeutische Verwendung beider Kulturformen, die aber noch Eingang in die Arzneibücher finden muss. Artischockenblätter für die pharmazeutische Verwendung stammen heute überwiegend aus einjährigen Blattkulturen, die sich vom Anbauverfahren für die Gemüseerzeugung deutlich unterscheiden. Artischockenblattextrakte wurden in den letzten zehn Jahren intensiv erforscht. Die seit langem bekannten Wirkungen wie Förderung der Cholerese sowie Schutz der Leber und Förderung ihrer Stoffwechselfunktionen wurden pharmakologisch und klinisch abgesichert, aktuell wurde auch die cholesterinsenkende Wirkung durch eine klinische Studie bestätigt. Die vorliegende Arbeit untersucht einige Grundlagen, die für die Standardisierung und Optimierung der Erzeugung von Artischockenblattdroge interessant sind.

Mit dem Ziel haploide bzw. dihaploide Artischockenpflanzen zu entwickeln, wurden Antheren und Ovula von 25 verschiedenen Genotypen (Artischocke und Kardone) *in vitro* kultiviert. Nur 0,4 % der Explantate bildeten einen Kallus, aus dem sich jedoch keine Pflanzen regenerieren ließen. Hier sollten grundsätzlich andere Versuchsansätze wie z.B. die Mikrosporenkultur geprüft werden.

An fünf Herkünften wurden die Veränderungen im Inhaltsstoffniveau während der Blattentwicklung von Rosettenpflanzen untersucht. Die höchsten Gehalte an Kaffeoylchinasäurederivaten (CCS, 11,5 %) und Flavonoiden (2,4 %) nach der Trocknung wurden in jungen, wachsenden Blättern bestimmt. Das Vorkommen verschiedener Flavonoide wurde nicht vom Entwicklungsstadium der Pflanzen beeinflusst und kann zur Charakterisierung von Herkünften herangezogen werden, dagegen unterlagen einzelne CCS-Verbindungen starken Schwankungen. Von Mitte September bis Mitte November zeigten die ausgewachsenen Blätter ein relativ stabiles Inhaltsstoffniveau und keinen jahreszeitlichen Einfluss.

Der Einfluss der Stickstoffdüngung auf den Gehalt an pharmazeutisch relevanten Inhaltsstoffen in Artischockenblattdroge wurde mit einer Herkunft an zwei Standorten untersucht. An beiden Standorten wurden die gleichen Effekte beobachtet. Der Drogenenertrag und die Qualität werden in unterschiedlicher Weise beeinflusst. Von sieben N-Düngungsstufen mit 0-240 kg/ha N vor der 1. Ernte erzielte die Nullvariante jeweils die höchsten Inhaltsstoffwerte. Mit zwei Schnitten wurden zwischen 4,6 und 7,4 t/ha getrocknete Blätter mit einem CCS-Gehalt zwischen 4,5 und 1,5 % und einem Flavonoidgehalt von 0,8 bis 0,5 % erreicht. Als

Kompromiss zwischen Ertrag und Qualität wird eine N-Versorgung von 80 kg/ha vor und 50 kg/ha nach der 1. Ernte empfohlen. Die vorläufigen Ergebnisse bedürfen einer Bestätigung durch weitere Versuche mit gleichzeitiger Variation von Menge, Zeit und Häufigkeit der N-Applikation.

Der Gesamtextrakt aus Artischockenblättern ist als Wirkstoff in zahlreichen Studien untersucht worden und anerkannt. Die Komplexität eines solchen Wirkstoffs erfordert besondere Anstrengungen bei der Standardisierung der Droge als Grundlage für die gleichbleibende Qualität und Wirksamkeit des daraus hergestellten Arzneimittels. Beginnend mit der Züchtung homogenen Pflanzenmaterials müssen alle Schritte der Drogenerzeugung auf die pharmazeutische Verwendung hin optimiert und die Erzeugung soweit wie möglich standardisiert werden. Für die erst vor wenigen Jahren in Mitteleuropa etablierten Artischockenblattkulturen ergeben sich aus dieser Prämisse noch zahlreiche Fragestellungen, die in dieser Arbeit andiskutiert werden.

6 Summary

The taxonomic classification of the genus *Cyanara* was recently revised, artichoke and cardoon were combined to one species. Further studies justify the pharmaceutical use of both forms, however this has not yet been taken into the Pharmacopoeias. Artichoke leaves for pharmaceutical use are mainly derived at the present time from one year old leaf cultures which differ significantly from the culture methods used for the production of vegetable. Artichoke leaf extracts have been intensively studied in the last ten years. The long established actions such as increased choleresis, liver protection and increased hepatic metabolic activity have all been confirmed pharmacologically and clinically; most recently the cholesterol lowering effect has also been confirmed in a clinical study. The present dissertation examines some basic principles which are of interest for the standardisation and optimisation of the production of artichoke leaf drug.

In order to produce haploid and dihaploid artichoke plants the anthers and ovules of 25 different genotypes (artichoke and cardoon) were cultivated *in vitro*. Only 0.4 % of the explants formed a callus, but it was not possible to regenerate a plant from any of these. Totally different research concepts - for example microspore cultures - should be investigated.

Changes in the amounts of various chemical components during the leaf development of rosette plants were studied in plants from five different accessions. The highest content of caffeoylquinic acid derivatives (CQA, 11.5 %) and flavonoids (2.4 %) after drying were found in the young, growing leaves. The presence of different flavonoids did not change during the course of plant development and can thus be used to characterise the different accessions, in contrast individual CQA derivatives vary greatly. Mature leaves show a relatively uniform composition without seasonal influence from mid-September to mid-November.

The effect of nitrogen fertilisation on the content of pharmaceutically relevant constituents in artichoke leaf drug was investigated at two different cultivation sites using material from one cardoon accession. The same effects were observed at both sites. Drug yield and drug quality were changed in different ways. When testing seven different nitrogen quantities (from 0 to 240 kg/ha) before first harvest the series without additional nitrogen yielded the highest levels of constituents. A total yield between 4.6 and 7.4 t/ha of dried leaves with a CQA content of 4.5 to 1.5 % and a flavonoid content of 0.8 to 0.5 % was achieved. As a compromise between yield and quality it is recommended to use a nitrogen supply of 80 kg/ha before and 50 kg/ha after first harvest. These preliminary results require further confirmation in studies with si-

multaneous variation of amount, time and frequency of application of nitrogen.

The total extract of artichoke leaves has been examined - and its activity confirmed - in numerous studies. The complexity of such extracts demands particular effort towards standardisation of the crude drug as a prerequisite for a uniform quality and efficacy of medicinal products prepared from the drug. Starting with the breeding of homogeneous plant material every step in the production of the drug must be optimised and standardised as far as possible in the light of the pharmaceutical use. There are still numerous problems to be resolved in the production of artichoke leaf cultures which were only established a few years ago in central Europe and some of these are discussed in this thesis.

7 Literatur

- ADZET, T.; PUIGMACIA, M. 1985: High-performance liquid chromatography of caffeoylquinic-acid derivatives of *Cynara scolymus* leaves. *Journal of Chromatography*, 348, 447-453.
- ANCORA, G. 1986: Globe Artichoke (*Cynara scolymus* L.). In: BAJAJ, Y.P.S. (Hrsg.): *Biotechnology in agriculture and forestry*, Vol. 2, Crops I. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 471-484.
- ANCORA, G.; SACCARDO, F. 1987: Carciofo: nuove tecniche di propagazione. *L'informatore agrario*, 43, 4, 77-78.
- ANONYM 1990: Aufbereitungsmonographie *Cynarae folium*, Artischockenblätter. *Bundesanzeiger* 122, 6.7.1988, in der korrigierten Fassung des *Bundesanzeiger* 164, 1.9.1990.
- ANONYM 1996: Verordnung über die Grundsätze der guten fachlichen Praxis beim Düngen (Düngeverordnung). *Bundesgesetzblatt I*, Nr. 6, 118-121.
- BAENZIGER, P.S. 1996: Reflections on doubled haploids in plant breeding. In: JAIN, S.M.; SOPORY, S.K.; VEILLEUX, R.E. (Hrsg.): *In Vitro Haploid Production in Higher Plants*. Volume 1 – Fundamental Aspects and Methods. *Current plant science and biotechnology in agriculture*, Vol. 23. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 35-48.
- BAGGETT, J.R.; MACK, H.J.; KEAN, D. 1982: Annual culture of globe artichoke from seed. *HortScience*, 17, 5, 766-768.
- BAIER, C. 1997: Untersuchungen zur Blühinduktion von Artischocken (*C. scolymus* L.). 7. Bernburger Winterseminar zu Fragen der Arznei- und Gewürzpflanzenproduktion, 31.
- BAIER, C.; DIEKMANN, W.; MÜLLER, B.; WEGENER, T. 1997: Vermehrung der Arzneipflanze Artischocke (*Cynara spec.*). *Drogenreport*, 10, 18, 86-92.
- BAIER, C.; HANNIG, H.-J. 1998: Artischockenblattkulturen: Neue Erkenntnisse zum kontrollierten Anbau einer aktuellen Arzneipflanze. In: Marquard, R.; Schubert, E. (Hrsg.): *Fachtagung Arznei- und Gewürzpflanzen*, 1.-2.10.1998, Gießen, Tagungsband, 63-68.
- BASNIZKY, J. 1981: Quelques exigences écologiques communes aux artichauts sauvages et cultivés. In: MARZI, V.; LATTANZIO, V. (Hrsg.): *Atti del 3° Congresso Internazionali di Studi sul Carciofo*, Bari. *Industria Grafica Laterza*, Bari, 192-206.
- BASNIZKY, J. 1985: *Cynara scolymus*. In: HALEVY, A.H. (Hrsg.): *CRC Handbook of Flowering*, CRC Press, Boca Raton, 391-399.
- BASNIZKY, J. 2000: Temperature requirements for flowering of seed grown artichoke. In: IV. International Congress on Artichoke, October 17 – 21, Abstracts. *CIHEAM-IAM.B*, Valenzano – Bari, Italy, 57.
- BASNIZKY, J.; MAYER, A.M. 1985: Germination of *Cynara* seeds; effect of light and temperature and function of the endosperm. *Agronomie*, 5, 6, 529-532.
- BASNIZKY, J.; ZOHARY, D. 1994: Breeding of seed planted artichoke. *Plant Breeding Reviews*, 12, 253-269.
- BÄTZ, G.; DÖRFEL, H.; FUCHS, A.; THOMAS, E. 1987: *Einführung in die Methodik des Feldversuchs*, 2. Auflage. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin.
- BBA 2002: Pflanzenschutzmittelverzeichnis. <http://www.bba.de/psm/psmright.htm>, Stand der Zulassung: 09.01.2002. Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Messeweg 11/12, D-38104 Braunschweig.

- BECKER-DILLINGEN, J. 1924: Die Artischocke. In: Handbuch des gesamten Gemüsebaus. Paul Parey Verlag, Berlin, Hamburg, 730-733.
- BEN-HOD, G.; BASNIZKI, Y.; ZOHARY, D.; MAYER, A.M. 1992: Cynarin and chlorogenic acid content in germinating seeds of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). Journal of Genetics and Breeding, 46, 63-68.
- BERNHARD, H. 1982: Quantitative Bestimmung der Bitter-Sesquiterpene von *Cynara scolymus* L. (Artischocke) und *Cynara cardunculus* L. (Kardone) (Compositae). Pharm. Acta Helv., 57, 179-180.
- BERNHARD, H.O.; THIELE, K.; PRETSCH, E. 1979: Cynaratriol, a new guajanolide from *Cynara cardunculus* L. and *C. scolymus* L. (Compositae). Helvetica Chimica Acta, 62, 4, 1288-1297.
- BIANCO, V.V. 1990: Carciofo (*Cynara scolymus*). In: Bianco, V.V.; Rimpini, F.: Orticoltura. Patron Editore, Bologna, 209-251.
- BIANCO, V.V. 2000: Persönliche Mitteilung. CNR-Istituto sull'Orticoltura Industriale, Via Amendola 165/A – 70126 Bari, Italien.
- BOHOROVA, N.; ATANASSOV, A.; GEORGIEVA-TODOROVA, J. 1985: *In vitro* organogenesis, androgenesis and embryo culture in the genus *Helianthus* L. Zeitschrift für Pflanzenzüchtung, 95, 35-44.
- BOMME, U.; NAST, D. 1998: Nährstoffversorgung bei Heil- und Gewürzpflanzen. Schule und Beruf, 4/5, IV 17-27.
- BONGUE-BARTELSMANN, M.; PHILLIPS, D.A. 1995: Nitrogen stress regulates gene expression of enzymes in the flavonoid biosynthetic pathway of tomato. Plant Physiology and Biochemistry, 33, 5, 539-546.
- BONOMI, A. 1989: L'impiego della farina di foglie di carciofo disidratate (*Cynara scolymus* L.) nell'alimentazione degli animali in produzione zootecnica (contributo sperimentale). La Rivista della Società Italiana di Scienza Alimentazione, 18, 5, 365-378.
- BONOMI, A.; PATERLINI A. 1966: La Farina di foglie di carciofo disidratate nell'alimentazione dei polli. Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie, 19, 269-271.
- BRAND, N. 1990: *Cynara scolymus* L. - Die Artischocke. Zeitschrift für Phytotherapie, 11, 169-175.
- BRAND, N. 1992: Monographie *Cynara*. In: Hänsel R.; Keller K.; Rimpler H.; Schneider G. (Hrsg.): Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis. 5. Auflage, Band 4: Drogen A-D. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1117-1122.
- BRAND, N. 1997: Der Extrakt in Artischockenpräparaten. Deutsche Apotheker Zeitung, 137, 41, 3564-3578.
- BRAND, N. 1999: Die Artischocke - eine Dekade interdisziplinärer Forschung. Zeitschrift für Phytotherapie, 20, 292-302.
- BRAND, N.; WESCHTA, H. 1991: Die analytische Bewertung der Artischocke und ihrer Präparate. Zeitschrift für Phytotherapie, 12, 15-21.
- BRAVO, A.; ARIAS, E. 1983: Cultivo de la alcachofa. El campesino, 1/2, 18-31.
- BRIESE, D. 1995: *Cynara* 507 - A crop for all seasons? The Australian New Crops Newsletter, 4, 6-8.
- BROTERO, F.A. 1804: Flora Lusitanica, 1. Olissipone; zit. nach WIKLUND, 1992.

- BSA 2002: Geschützte und zugelassene Sorten. Bundessortenamt, Osterfelddamm 80, 30627 Hannover, <http://www.bundessortenamt.de/internet20/Sorteninformatio/inhalt.htm>, Abruf 28.01.2002.
- BUETER, B.; MESSMER, M.; SEYFARTH, R.; SIMMEN, U.; BERGER-BUETER, K.; SCHAFFNER, W. 2001: Rationale Phytopharmaka – welchen Beitrag leistet die Agronomie. Vortrag anlässlich der Fachtagung für Heil- und Gewürzpflanzen vom 12.-15.11.2001 in Bad Neuenahr-Ahrweiler. Staatliche Lehr- und Versuchsanstalt Ahrweiler/Mayen. Kurzfassung der Beiträge, 17.
- CAJARVILLE, C.; GONZALES, J.; REPETTO, J.L.; RODRÍGUEZ, C.A.; MARTÍNEZ, A. 1999: Nutritive value of green forage and crop by-products of *Cynara cardunculus*. Ann. Zootech., 48, 353-365.
- CALABRESE, N.; ELIA, A.; SARLI, G. 1994: Yield and quality of new artichoke cultivars propagated by seed. Acta Horticulturae, 371, 189-193.
- CALABRESE, N.; DE PALMA, E.; BIANCO, V.V. 2000: Gibberellic acid and earliness of new seed propagated artichoke cultivars. In: IV. International Congress on Artichoke, October 17 – 21, Abstracts. CIHEAM-IAM.B, Valenzano – Bari, Italy, 16.
- CALLEBERG, E.K.; JOHANSSON, L.B. 1996: Effect of gelling agents on anther cultures. In: JAIN, S.M.; SOPORY, S.K.; VEILLEUX, R.E. (Hrsg.): *In Vitro* Haploid Production in Higher Plants. Volume 1 – Fundamental Aspects and Methods. Current plant science and biotechnology in agriculture, Vol. 23. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 189-203.
- CAPPADOCIA, M.; CHRÉTIEN, L.; LAUBLIN, G. 1988: Production of haploids in *Gerbera jamesonii* via ovule culture: influence of fall versus spring sampling on callus formation and shoot regeneration. Canadian Journal of Botany, 66, 1107-1110.
- CHATELET, P.; STAMIGNA, C.; THOMAS, G. 2000: Early development from isolated microspores of artichoke. In: IV. International Congress on Artichoke, October 17 – 21, Abstracts. CIHEAM-IAM.B, Valenzano – Bari, Italy, 67.
- CHOUDHARY, D.K.; KAUL, B.L. 1992: Globe Artichoke (*Cynara scolymus* L.) oil - A potential new source of essential polyunsaturated fatty acids. Research and Industry, 37, 3, 29-30.
- CIETTO, S. 1973: Aspectos sobre a cultura da alcachofra. Casa da Agricultura de Cotia, 24.08.73, 1-4.
- CÓDIGO PHARMACÊUTICO BRASILEIRO, 1959: Alcachofra – Folium cynarae. Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil, 2. Auflage. Indústria Gráfica Siquéira S.A., São Paulo.
- CONSTANTINESCU, D.G.; PLATON, F.; PAVEL, M. 1967: Über die Inhaltsstoffe der Blätter von in Rumänien akklimatisierter *Cynara scolymus* L. Pharmazie, 22, 176-178.
- CORDEIRO, M.C.; PAIS, M.S.S.; BRODELIUS, P.E. 1998: *Cynara cardunculus* subsp. *flavescens* (Cardoon): In Vitro Culture, and the Production of Cyprosins – Milk-Clotting Enzymes. In: BAJAJ, Y.P.S. (Hrsg.): Biotechnology in agriculture and forestry, Vol. 41, Medicinal and Aromatic Plants X, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 132-153.
- DACHLER, M.; PELZMANN, H. 1999: Arznei- und Gewürzpflanzen, Anbau - Ernte - Aufbereitung; 2. Auflage. Österreichischer Agrarverlag, Klosterneuburg.

- DAMATO, G.; BIANCO, V.V. 1981: Studio di alcune caratteristiche delle foglie di circa 100 cultivar di carciofo esaminate in epoche diverse. In: MARZI, V.; LATTANZIO, V. (Hrsg.): Atti del 3° Congresso Internazionali di Studi sul Carciofo, Bari. Industria Grafica Laterza, Bari, 245-321.
- DAMIANI, L.; VANADIA, S.; DELLA GATTA, U. 1975: Influence de l'époque et de la modalit  de r colte sur la production des feuilles dess ch es d'artichaut et sur leur teneur d'orthodiphenols. Convegno Internazionale Polifenoli, 292-300.
- DE VOS, N.E. 1992: Artichoke production in California. HortTechnology, 2, 4, 438-444.
- DELLACECCA, V. 1990: Cardo (*Cynara cardunculus* L.). In: Bianco, V.V.; Rimpini, F.: Orticoltura. Patron Editore, Bologna, 252-258.
- DELLACECCA, V.; DE PALMA, E. 1981: Prove triennali di confronto fra cultivar di cardo (*Cynara cardunculus* L. var. *atilis* DC.). In: MARZI, V.; LATTANZIO, V. (Hrsg.): Atti del 3° Congresso Internazionali di Studi sul Carciofo, Bari. Industria Grafica Laterza, Bari, 423-440.
- DELLACECCA, V.; MAGNIFICO, V.; MARZI, V.; PORCEDDU, E.; SCARASCIA MUGNOZZA, G.T. 1973: Contributo alla conoscenza delle variet  di carciofo coltivate nel mondo. In: Atti del 2° Congresso Internazionale di Studi sul Carciofo. Edizioni Minerva Medica, Bari, 199-316.
- VON DENFFER et al 1983: siehe unter V.
- DITTRICH, M. 1970: Morphologische und anatomische Untersuchungen an Fr chten der Car-duinae (Compositae). I. Morphologischer Teil. Candollea, 25, 45-67.
- DUMAS DE VAULX, R.; CHAMBONNET, C.; RODE, J.C.; RIVES, M. 1993: Culture in vitro et biologie cellulaire. In: Station d'amélioration des plantes maraich res d'Avignon-Montfavet (Hrsg.): Rapport d'activité 1991-1992, 75-79.
- DUMAS DE VAULX, R.; DORE, C. 1985: Applications of in vitro techniques to the breeding of some vegetable species. Manuskript (INRA) , 15-21.
- DUNWELL, J.M. 1996: Microspore culture. In: JAIN, S.M.; SOPORY, S.K.; VEILLEUX, R.E. (Hrsg.): *In Vitro* Haploid Production in Higher Plants. Volume 1 – Fundamental Aspects and Methods. Current plant science and biotechnology in agriculture, Vol. 23. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 205-216.
- EDGARD-ROSA, G. 1934: D'un principe cristallis  du *Cynara scolymus* (artichaut cultiv ). Gaz. Hop., 107, 373-374.
- EICH, J.; BAIER, C.; WEGENER, T. 1997: Variations of the content of pharmaceutical relevant substances in different chemotypes of artichoke during ontogenetic development. 45th Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research, 07.-12.09.1997, Regensburg, E 14.
- EICH, J.; PAPER, D.H.; GR N, M. 2001: Luteolin-7-O- -glucuronide from artichoke leaves. Pharmaceutical and Pharmacological Letters, 1, 9-10.
- ELIA, A.; MICCOLIS, V. 1996: Relationships among 104 artichoke (*Cynara scolymus* L.) accessions using cluster analysis. Advances in Horticultural Science, 10, 158-162.
- ELIA, A.; PAOLICELLI, F.; BIANCO, V.V. 1991: Effect of sowing date, plant density and nitrogen fertilizer on artichoke (*Cynara scolymus* L.): preliminary results. Advances in Horticultural Science, 5, 119-122.

- EL-NEGOUMY, S.I.; EL-SAYED, N.H.; SALEH, N.A.M. 1987: Flavonoid glycosides of *Cynara scolymus*, *Fitoterapia*, 58, 3, 178-180.
- ELBHOLTZ, J.S. 1648: Vom Garten-Baw: Oder Unterricht von der Gärtnerney auff das Clima der Chur-Marck Brandenburg wie auch der benachbarten Deutschen Länder ausgerichtet, 3. Auflage. Band 3: Der Küchen-Garte, III.29. Cardonen und IV.10. Artschocken. Neudruck der Ausgabe Berlin, Leipzig, Cölln 1684; Edition Leipzig, 1987.
- ENGLISCH, W.; BECKERS, C.; UNKAUF, M.; RUEPP, M.; ZINSERLING, V. 2000: Efficacy of artichoke dry extract in patients with hyperlipoproteinemia. *Arzneimittel Forschung / Drug Research*, 50, 3, 260-265.
- ERNST, E. 1995: Die Artischocke - eine Heilpflanze mit Geschichte und Zukunftsperspektiven. *naturamed*, 10, 30-35.
- FAO 2002: FAOSTAT, Food and Agricultural Organization of the United Nations, Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italy. Abruf 20.01.2001, <http://www.fao.org/>. <http://apps.fao.org/default.htm>.
- FARAG, R.S.; KHEREBA, A.H.A.; HAMAMA, A.A.M. 1980: Cardoon and artichoke interspecific hybrids as potential source of edible oils. *Grasas y Aceitas*, 31, 4, 255-259.
- FARO, C.J.; MOIR, A.J.G.; PIRES, E.V. 1992: Specificity of a milk-clotting enzyme extracted from the thistle *Cynara cardunculus* L.: action on oxidised insulin and K-casein. *Biotechnology Letters*, 14, 841-846.
- FERNANDEZ, J.; MANZANARES, P. 1990: *Cynara cardunculus* L., a new crop for oil, paper pulp and energy. In: *Biomass for Energy and Industry*, 5th EC Conference I, Elsevier, 1184-1189.
- FERNANDEZ, J.; HIDALGO, M.; DEL MONTE, J.P.; CURT, M.D. 2000: *Cynara cardunculus* as a perennial crop for non-irrigated lands: yields and applications. In: IV. International Congress on Artichoke, October 17 – 21, Abstracts. CIHEAM-IAM.B, Valenzano – Bari, Italy, 11.
- FIGUEIREDO, A.C.; FEVEREIRO, P.; CABRAL, J.M.S.; NOVAIS, J.M.; PAIS, M.S.S. 1987: Callus and suspension cultures for biomass production of *Cynara cardunculus* (Compositae). *Biotechnology Letters*, 9, 3, 213-218.
- FINCK, A. 1989: *Dünger und Düngung*. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, XIV.
- FINTELMANN, V. 1996: Antidyspeptische und lipidsenkende Wirkung von Artischockenblättereextrakt. *Zeitschrift für Allgemeinmedizin*, 72, 3-19.
- FINTELMANN, V.; MENßEN, H.G. 1996: Artischockenblätterextrakt. Aktuelle Erkenntnisse zur Wirkung als Lipidsenker und Antidyspeptikum. *Deutsche Apotheker Zeitung*, 136, 17, 1405-1414.
- FOURY, C. 1967: Étude de la biologie florale de l'artichaut (*Cynara scolymus* L.); Application a la sélection. 1^{er} Partie.- Données sur la biologie florale. *Ann. Amélior. Plantes*, 17, 4, 357-373.
- FOURY, C. 1969: Étude de la biologie florale de l'artichaut (*Cynara scolymus* L.); Application a la sélection. 2^e Partie.- Étude des descendances obtenues en fécondation contrôlée. *Ann. Amélior. Plantes*, 19, 1, 23-52.
- FOURY, C. 1969a: L'amélioration de l'artichaut. *Pépiniéristes-Horticulteurs-Maraichers*, 96, 5639-5649.
- FOURY, C. 1976: L'artichaut. *Bull. Techn. Inform.*, 311, 415-432.

- FOURY, C. 1979: Quelques aspects pratiques de la sélection généalogique de l'Artichaut. I. Présentation, création de lignées. *Ann. Amélior. Plantes*, 29, 4, 383-418.
- FOURY, C. 1987: Quelques aspects du développement de l'artichaut (*Cynara scolymus* L.) issu de semences, analyse plus particulière de la floraison en conditions naturelles. Thèse de doctorat d'état des sciences naturelles, Université Pierre et Marie Curie, Paris.
- FOURY, C. 1989a: Ressources génétiques et diversification de l'Artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Acta Horticulturae*, 242, 155-166.
- FOURY, C. 1989b: Quelques caractéristiques des semences d'Artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Acta Horticulturae*, 253, 45-54.
- FOURY, C.; MARTIN, F. 1973: Étude des possibilités de création et d'utilisation de variétés d'artichaut issues de semences. In: *Atti del 2° Congresso Internazionale di Studi sul Carciofo*. Edizioni Minerva Medica, Bari, 667-679.
- FOURY, C.; PÉCAUT, P. 1988: Quelques aspects du développement de l'Artichaut (*Cynara scolymus* L.): Problèmes posés par la substitution de la reproduction sexuée à la multiplication végétative. *C. R. Acad. Agric. Fr.*, 74, 5, 85-92.
- FOURY, C.; MARTIN, F.; IMPERIALI, M. 1978: Remarques sur la production des semences d'Artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Ann. Amélior. Plantes*, 28, 45-60.
- GAEDCKE, F.; STEINHOFF, B. 2000: *Phytopharmaka*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart.
- GAMBORG, O.L.; PHILLIPS, G.C. 1995: Media preparation and handling. In: GAMBORG, O.L.; PHILLIPS, G.C. (Hrsg.): *Plant cell, tissue and organ culture: fundamental methods*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 21-34.
- GEBHARDT, R. 1996: Neue experimentelle Erkenntnisse zur Wirkung von Artischockenblättereextrakt. *Zeitschrift für Allgemeinmedizin*, 72, 20-23.
- GEBHARDT, R. 1998: Inhibition of cholesterol biosynthesis in primary cultured rat hepatocytes by artichoke (*Cynara scolymus* L.) extracts. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 286, 1122-1128.
- GERAKIS, P.A.; HONMA, S. 1969: Response of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) to various nutritional environments in solution culture and to N, P, and K fertilizer in organic soil. *Soil Science*, 108, 4, 290-295.
- GERAKIS, P. A.; MARKARIAN, D.; HONMA, S. 1969: Vernalization of globe artichoke, *Cynara scolymus* L. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 94, 254-258.
- GOMEZ, K.A.; GOMEZ, A.A. 1984: *Statistical procedures for agricultural research*. John Wiley & Sons, New York.
- GONZALEZ ORTEGA, G.; SCHENKEL, E.P.; ATHAYDE, M.L.; MENTZ, L.A. 1989: *Brasilianische Phytotherapeutika*. *Deutsche Apotheker Zeitung*, 129, 1847-1848.
- GOUGEROT, M.M.; SERINGE, 1936: Eczéma professionnel: par l'artichaut (?). *Bulletin de la Société de Dermatologie et de Syphiligraphie*, 43, 1463-1467.
- GRANČAI, D.; NAGY, M.; SUCHÝ, V.; NOVOMESKÝ, P. 1994: Cynarin from the fresh flower buds of *Cynara cardunculus*. *Fitoterapia*, 65, 3, 282.
- HALTER, L.; SCHNITZLER, W.H. 2000: Artischockenanbau – Erste Erfahrungen aus Bayern. *Gemüse*, 3, 188-190.

- HALTER, L.; HABEGGER, R.; SCHNITZLER, W.H. 2000a: Annual culture of artichoke in Germany. In: IV. International Congress on Artichoke, October 17 – 21, Abstracts. CIHEAM-IAM.B, Valenzano – Bari, Italy, 26.
- HALTER, L.; HABEGGER, R.; SCHNITZLER, W.H. 2000b: Field technologies for commercial production of artichoke in Germany. In: IV. International Congress on Artichoke, October 17 – 21, Abstracts. CIHEAM-IAM.B, Valenzano – Bari, Italy, 25.
- HANNIG, H.-J.; EICH, J. 2000: Artischocken – Anbau für pharmazeutische Zwecke – eine neue Anbautechnologie. In: Saluplanta e.V. (Hrsg.): 10. Bernburger Winterseminar zu Fragen des Arznei- und Gewürzpflanzenanbaus, 02.02.-03.02.2000, Bernburg, 32.
- HARWOOD, R.R.; MARKARIAN, D. 1968: Annual culture of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) I. Preliminary report. Proceedings of the American Society for Horticultural Science, 92, 400-409.
- HAUSEN, B.M. 1988: *Cynara scolymus* L. In: Allergiepflanzen - Pflanzenallergene. Handbuch und Atlas der allergieinduzierenden Wild- und Kulturpflanzen. Teil 1. Kontaktallergene. ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg, 107-110.
- HEBERLE-BORS, E.; LÖSCHENBERGER, F.; MORENO, R.M.B.; GARRIDO, D.; YLSTRA, B.; STÖGER, E.; STAUFFER, C.; VICENTE, O. 1991: In-vitro-Reifung und In-vitro-Embryogenese von Pollen. In: Pflanzliche In-vitro-Kultur, Erfolgsbilanz und Perspektive; Vorträge für Pflanzenzüchtung, 21, 63-74.
- HEGI, G. 1954: *Onopordon acanthium*. In: Illustrierte Flora von Mitteleuropa, Band VI, 2. Teil. Verlag Carl Hauser, München, 920-926.
- HEIMGARTNER, U.; PIETRZAK, M.; GEERTSEN, R.; BRODELIUS, P.; DA SILVA FIGUEIREDO, A.C.; PAIS, M.S.S. 1990: Purification and partial characterization of milk clotting proteases from flowers of *Cynara cardunculus*. Phytochemistry, 29, 1409-1410.
- HEB, D. 1999: Pflanzenphysiologie, molekulare und biochemische Grundlagen von Stoffwechsel und Entwicklung der Pflanzen. 10. Auflage, Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, 242-247.
- HUSAIN, S.; STEWART, K. 1996: Effects of irrigation and nitrogen fertilizer rate on the annual culture of globe artichoke in Quebec. HortScience, 31, 573.
- IGLESIAS, J.; PUIGMACIA, M.; QUILES, J. M. 1985: Effect of the extraction method on the polyphenol content of *Cynara scolymus* extracts. Plantas Medicinales et Fitoterapia, 19, 202-210.
- IUPAC 1976: Nomenclature of cyclitols. Recommendations 1973. Commission on the Nomenclature of Organic Chemistry (CNOC) und IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (CBN). Biochem. J., 153, 23-31.
- JONARD, R.; MEZZAROBBA, A. 1990: Sunflower (*Helianthus* ssp.): Anther culture and field studies on haploids. In: BAJAI, Y.P.S. (Hrsg.): Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 10, Legumes and oil seed crops I. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 485-501.
- JONES, C.G.; HARTLEY, S.E. 1999: A protein competition model of phenolic allocation. Oikos, 86, 1, 27-44.
- KANAKIS, A.G.; DEMETRIOU, K. 1993: In vitro shoot regeneration of globe artichoke from shoot apices treated with thidiazuron and from mature zygotic embryos treated with cytokinins. Journal of Horticultural Science, 68, 3, 439-445.

- KELLER, W.A.; ARMSTRONG, K.C. 1979: Stimulation of embryogenesis in *Brassica campestris* anther cultures by elevated temperature treatments. *Theoretical and Applied Genetics*, 55, 65-67.
- KELLER, E.R.J.; KORZUN, L. 1996: Ovary and Ovule culture for haploid production. In: JAIN, S.M.; SOPORY, S.K.; VEILLEUX, R.E. (Hrsg.): *In Vitro* Haploid Production in Higher Plants. Volume 1 – Fundamental Aspects and Methods. Current plant science and biotechnology in agriculture, Vol. 23. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 217-235.
- KHUSH, G.S.; VIRMANI, S.S. 1996: Haploids in plant breeding. In: JAIN, S.M.; SOPORY, S.K.; VEILLEUX, R.E. (Hrsg.): *In Vitro* Haploid Production in Higher Plants. Volume 1 – Fundamental Aspects and Methods. Current plant science and biotechnology in agriculture, Vol. 23. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 11-33.
- KIENEL, G. 1959: Medizinische Grundlagen für die therapeutische Anwendung der Artischocke. *Medizinische Monatsschrift*, 13, 349-351.
- KIRCHHOFF, R.; BECKERS, C.; KIRCHHOFF, G.; TRINCZEK-GÄRTNER, H.; PETROWICZ, O.; REIMANN, H.-J. 1993: Steigerung der Cholerease durch Artischockenextrakt - Ergebnisse einer plazebokontrollierten Doppelblindstudie. *Ärztliche Forschung*, 40, 6, 1-12.
- KOES, R.E.; QUATTROCCHIO, F.; MOL, J.N.M. 1994: The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. *Bioessay*, 16, 2, 123-132.
- KRAFT, K. 1997: Artichoke leaf extract - Recent findings reflecting effects on lipid metabolism, liver and gastrointestinal tracts. *Phytomedicine*, 4, 4, 369-378.
- LA MALFA, G.; FOURY, C. 1971: Aspects de la multiplication végétative de l'artichaut dans le bassin occidental de la Méditerranée. *Pépiniéristes Hort. Maraîchers*, 114, 19-29.
- LATTANZIO, V. 2000: Persönliche Mitteilung. CNR-Istituto di Orticoltura e Colture Industriali, Via S. Loja, 85050 Tito Scalo, Italien.
- LATTANZIO, V.; MORONE, I. 1978: Artichoke active principles determination during the plant growing season. *Atti Soc. Ital. Sci. Nat. Mus. Civ. Stor. Nat. Milano*, 119, 3-4, 329-340.
- LATTANZIO, V.; MORONE, I. 1979: Variations of the orthodiphenol content of *Cynara scolymus* L. during the plant growing seasons. *Experientia*, 35, 993-994.
- LATTANZIO V.; VAN SUMERE, C. F. 1987: Changes in phenolic compounds during the development and cold storage of artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads. *Food Chemistry*, 24, 37-50.
- LATTANZIO, V.; BIANCO, V.V.; CASCARANO, A.; DELLA GATTA, C. 1975: Teneur d'orthodiphenols en variétés d'artichaut en différentes périodes de récolte. *Conv. Int. Polifenoli*, 385-396.
- LATTANZIO, V.; CARDINALI, A.; LINSALATA, V.; DI VENERE, D.; PALMIERI, S. 1994: Browning phenomena in stored artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads: enzymic or chemical reactions. *Food Chemistry*, 50, 1-7.
- LINNERT, G.; MICKE, A. 1997: Klassische Techniken zur Erzeugung neuartiger genetischer Variation. In: ODENBACH, W. (Hrsg.): *Biologische Grundlagen der Pflanzenzüchtung*. Parey Buchverlag, Berlin, 218-250.
- MAGGINI, F.; TUCCI, G.F.; GELATI, M.T. 1988: Ribosomal RNA genes in species of the *Cynareae* tribe (*Compositae*) II. *Protoplasma*, 144, 125-131.

- MAGNIFICO, V. 1987: Alcuni aspetti agronomici della coltivazione del carciofo. *Informatore Agrario*, 43, 57-66.
- MAGNIFICO, V.; LATTANZIO, V. 1976: Ritmo di asportazione di elementi nutritivi (N, P e K) nelle diverse fasi del ciclo di una carciofaia. *Rivista di Agronomia*, 10, 273-281.
- MARQUARD, R.; KROTH, E. (Hrsg.) 2001: Artischocke (*Cynara scolymus* L., *Cynara cardunculus* L. subsp. *flavescens* WIKL.) Typ Arzneiartischocke. In: *Anbau und Qualitätsanforderungen ausgewählter Arzneipflanzen*. Buchedition Agrimedia, Bergen/Dumme, 34-40.
- MARRAS, G.F. 1969: Ricerche sugli apparati radicali del carciofo. *Atti del 1° Congresso Internazionale di Studi sul carciofo*, Bari. Edizioni Minerva Medica, Bari, 45-53.
- MARTELLI, G.P.; RUSSO, M.; RANA, G.L. 1981: A survey of the virological problems of *Cynara* spp. In: MARZI, V.; LATTANZIO, V. (Hrsg.): *Atti del 3° Congresso Internazionali di Studi sul Carciofo*, Bari. Industria Grafica Laterza, Bari, 895-927.
- MATHEWS, A. 1830: On the varieties of cardoon, and the methods of cultivating them. *Transactions of the Horticultural Society of London*, 7, 9-15; zit. nach WIKLUND, 1992.
- MAUROMICALE, G.; COPANI, V. 1990: Tecniche per regolare la produzione degli organi di moltiplicazione in *Cynara scolymus* L. *Tecnica Agricola*, 42, 45-54.
- MAYR, A.; FRÖHLICH, E. 1965: Zwei Jahrtausende Artischocke, *Cynara scolymus*. *Österreichische Apotheker Zeitung*, 19, 468-471.
- MEDING, B. 1983: Allergic contact dermatitis from artichoke, *Cynara scolymus*. *Contact Dermatitis*, 9, 314.
- MENGEL, K. 1991: Ernährung und Stoffwechsel der Pflanze. Gustav Fischer Verlag, Jena, 7. Auflage.
- MEYNET, J.; SIBI, M. 1984: Haploid plants from *in vitro* culture of unfertilized ovules in *Gerbera jamesonii*. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*, 93, 1, 78-85.
- MICELI, A.; DE LEO, P. 1996: Extraction, characterization and utilization of artichoke-seed oil. *Bioresource Technology*, 57, 301-302.
- MIGLIORI, A.; COLLET, J.-M.; PORTENEUVE, C.; CORRE, J. 1993: Situation des maladies a virus chez l'Artichaut en France. *Phytoma- La Défense des végétaux*, 449, 51-53.
- MOTZO, R.; DEIDDA, M. 1993: Anther and ovule culture in globe artichoke. *Journal of Genetics and Breeding*, 47, 263-266.
- MOULINIER, H. 1980: Appréciation des besoins en engrais de l'artichaut. *C. R. S. Acad. Agric. Fr.*, 66, 527-531.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.
- NICHIFORESCO, E. 1966: La variation des dérivés o.dihydroxyphénoliques de type acide caféique de l'artichaut (*Cynara scolymus* L.) pendant sa période de végétation. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 24, 6, 451-456.
- NICHIFORESCO, E. 1967: Considérations sur la stabilité des dérivés o.dihydroxyphénoliques des feuilles d'artichaut (*Cynara scolymus* L.) *Annales pharmaceutiques françaises*, 25, 4, 285-290.
- NICHIFORESCO, E. 1970: Sur la composition des dérivés caféylquiniques des feuilles d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, 4, 1, 56-62.

- NICHIFORESCO, E. 1970a: Correlation of caffeil-quinic derivatives and flavones from the leaves of *Cynara scolymus*, (Summary). *Farmacia*, 18, 247-250.
- NICHIFORESCO, E.; COUCOU, V. 1966: Sur la répartition des o-dihydroxyphénols de type acide caféique dans la feuille d'artichaut et sur leur variation en fonction de la température. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 24, 127-132.
- NIELSEN 2001: AC Nielsen GmbH, Ludwig-Landmann-Straße 405, 60486 Frankfurt/Main.
- NITSCH, J.P.; NITSCH, C. 1969: Haploid plants from pollen grains. *Science*, 163, 85-87.
- NITZSCHE, W.; WENZEL, G. 1977: Haploids in plant breeding. *Advances in plant breeding*, Heft 8, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.
- ORDAS, R.J.; TAVAZZA, R.; ANCORA, G. 1990: In vitro morphogenesis in the globe artichoke (*Cynara scolymus* L.), *Plant Science*, 71, 233-237.
- PAHLOW, M. 1999: Das große Buch der Heilpflanzen. Gräfe und Unzer Verlag, München.
- PANIZZI, L.; SCARPATI, M.L. 1954: Isolamento e costituzione del principio attivo del carciofo. *Gazzetta Chimica Italiana*, 84, 792-805.
- PANIZZI, L.; SCARPATI, M.L. 1965: Sugli acidi 1,4- ed 1,5-dicaffeilchinici. *Gazzetta Chimica Italiana*, 95, 71-82.
- PARIS, R.; HÉRISSET, A. 1969: Culture et dessiccation industrielle des feuilles d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Variation des polyphénols au cours de la végétation et de la conservation. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, 3, 1, 44-63.
- PÉCAUT, P. 1993: Globe artichoke - *Cynara scolymus* L. In: Kalloo, G.; Bergh, B.O. (Hrsg.): Genetic improvement of vegetable crops. Pergamon Press, Oxford, New York, Seoul, Tokyo, 737-746.
- PÉCAUT, P.; FOURY, C. 1992: L'artichaut In: Gallais, A.; Bannerot, H. (Hrsg.): Amélioration des espèces végétales cultivées. INRA, Paris, 460-470.
- PÉCAUT, P.; MARTIN, F. 1989: Artichaut - Les variétés. *Fruits et Légumes*, 69, 46-49.
- PÉCAUT, P.; FOURY, C.; RICO, F.; MARTIN, F. 1981: Bilan d'un premier cycle de sélection de variétés d'artichaut à semer. In: MARZI, V.; LATTANZIO, V. (Hrsg.): Atti del 3° Congresso Internazionali di Studi sul Carciofo, Bari. *Industria Grafica Laterza*, Bari, 615-627.
- PÉCAUT, P.; DUMAS DE VAULX, R.; LOT, H. 1983: Virus free clones of globe artichoke (*Cynara scolymus*) obtained after in vitro propagation. *Acta Horticulturae*, 131, 303-309.
- PÉCAUT, P.; CORRE, J.; LOT, H.; MIGLIORI, A. 1985: Intérêt des plantes saines d'artichaut régénérés par la culture „in vitro“. *P.H.M. - Revue Horticole*, 256, 21-26.
- PECHAN, P.M.; KELLER, W.A. 1988: Identification of potentially embryogenic microspores in *Brassica napus*. *Physiologia Plantarum*, 74, 377-384.
- PEDRENO, J.N.; MORAL, R.; GÓMEZ, I.; MATAIX, J. 1996: Reducing nitrogen losses by decreasing mineral fertilisation in horticultural crops of eastern Spain. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 59, 217-221.
- PEÑA-IGLESIAS, A.; AYUSO, P. 1982: The elimination of some globe artichoke viruses by shoot apex culture and in vitro micropropagation. *Acta Horticulturae*, 127, 31-37.
- PERRINO, P.; PACUCCI, G. 1974: Indagine su alcune tecniche di autofecondazione e di incrocio nel carciofo (*Cynara scolymus* L.). *Sementi Elette*, 20, 3-10.

- PFLSCHG 1998: Gesetz zum Schutz der Kulturpflanzen in der Fassung vom 14.05. 1998. <http://www.bba.de/recht/pfg1.htm>.
- PHARMACOPÉE FRANÇAISE X 1986: Monographie Artichaut – *Cynara scolymus*. Adrapharm, Paris.
- PINZAUTI, M.; FREDIANI, D.; TESI, R. 1981: Osservazioni sull'impollinazione entomofila del carciofo. In: MARZI, V.; LATTANZIO, V. (Hrsg.): Atti del 3° Congresso Internazionali di Studi sul Carciofo, Bari. Industria Grafica Laterza, Bari, 605-615.
- PLESCHER, A. 1998: Persönliche Mitteilung. Pharmaplant GmbH, Straße am Westbahnhof, 06556 Artern.
- POMARES, F.; TARAZONA, F.; ESTELA, M.; BARTUAL, R.; ARCINIAGA, L. 1993: Response of globe artichoke to nitrogen, phosphorous and potassium fertilizer. *Agrochimica*, 37, 111-121.
- PORCEDDU, E. 1979: The Bari Germplasm Laboratory. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 38, 3-5.
- PORCEDDU, E.; DELLACECCA, V.; BIANCO, V.V. 1976: Classificazione numerica di cultivar di carciofo. Atti del 2° Congresso Internazionale di Studi sul carciofo, Bari. Edizioni Minerva Medica, Torino, 1105-1119; zit. nach BASNIZKY und ZOHARY, 1994.
- PORTENEUVE, C.; LEROUX, M.; MIGLIORI, A.; CORRE, J. 1990: Production et consommation d'artichaut. *Infos-Ctifl*, 64, 35-36.
- PRADO, O.; UNDURRAGA, P.; MONTOYA, A. 1983: Fertilizacion nitrogenada en alcachofas (*Cynara scolymus* L.) de primer ano. I. Efecto del nitrogeno en la produccion de cabezas comercializables y materia secca. *Ciencia e Investigacion Agraria*, 10, 157-162.
- PRINCIPE, J.A. 1984: Male-sterility in artichoke. *HortScience*, 19, 6, 864.
- QUINTERO, J.J. 1986: Cultivo del cardo. Hojas Divulgadoras, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentacion, 12, 1-16.
- RACCUIA, S.A.; PATANÈ, C.; MELILLI, M. 2000: Multiple utilisation of plants of wild cardoon: inulin yield. In: IV. International Congress on Artichoke, October 17 – 21, Abstracts. CIHEAM-IAM.B, Valenzano – Bari, Italy, 110.
- RAVINA, A. 1934: L'action thérapeutique de la feuille d'artichaut et de son principe cristallisé *Presse Méd.*, 42, 65, 1299.
- REINHARDT, L. 1911: Die Erde und die Kultur. Band IV: Kulturgeschichte der Nutzpflanzen, Teil 1. Ernst Reinhardt Verlag, München, 330-337.
- RENNER, E. 1981: Mathematisch-statistische Methoden in der praktischen Anwendung, 2. Auflage. Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg.
- RÖHRICHT, C.; GRUNERT, M.; SOLF, M. 1996: Der Einfluss einer gestaffelten Stickstoffdüngung auf Ertrag und Qualität von echtem Salbei (*Salvia officinalis* L.). *Zeitschrift für Arznei- und Gewürzpflanzen*. 1, 117-122.
- ROTTENBERG, A.; ZOHARY, D. 1995: The wild ancestry of the cultivated artichoke. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 43, 53-58.
- ROTTENBERG, A.; ZOHARY, D. 2000: The wild genetic resources of cultivated artichoke. In: IV. International Congress on Artichoke, October 17 – 21, Abstracts. CIHEAM-IAM.B, Valenzano – Bari, Italy, 52.

- ROTTENBERG, A.; ZOHARY, D.; Nevo, E. 1995: Isozyme relationships between cultivated artichoke and the wild relatives. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 43, 59-62.
- RUIPÉREZ, F.H.; GUTIÉRREZ, M.A.P.; DIAZ, J.M.C.; RIOS, R.M.; TRUEBA, E.O. 1992: Nutritive assessment of artichoke crop residues (*Cynara scolymus* L.): sun dried leaves and whole plant silage. *Archivos de Zootecnia*, 41, 257-264.
- RYDER, J.E. 1983: Close encounter with an artichoke. *HortScience*, 18, 5, 636.
- RYDER, E.J.; DE VOS, N.E.; BARI, M.A. 1983: The globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). *HortScience*, 18, 646-655.
- SAN, L.H.; GELEBART, P. 1986: Production of gynogenic haploids. In: Vasil, I.K. (Hrsg.): *Cell culture and somatic cell genetics of plants*. Vol. 3, Academic Press, London, 305-322.
- SANGWAN, R.S.; SANGWAN-NOREEL, B.S. 1996: Cytological and biochemical aspects of *in vitro* androgenesis in higher plants. In: JAIN, S.M.; SOPORY, S.K.; VEILLEUX, R.E. (Hrsg.): *In Vitro Haploid Production in Higher Plants*. Volume 1 – Fundamental Aspects and Methods. *Current plant science and biotechnology in agriculture*, Vol. 23. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 95-109.
- SCHILCHER, H. 1995: Pharmazeutische Aspekte pflanzlicher Gallentherapeutika. 37. Mitteilung zur Standardisierung, Normierung und Wertbestimmung von Drogen und Drogenzubereitungen: Gehaltsbestimmungen in *Cynarae folium*, *Curcumae rhizoma* und *Chelidonii herba*. *Zeitschrift für Phytotherapie*, 16, 211-222.
- SCHILCHER, H.; HAGELS, H. 1999: Preßsaft aus Artischocken. Artischockenfrischpflanzenpreßsaft aus Artischockenblütenknospen versus Teezubereitung und ethanolisch-wässrige Tinktur. *Deutsche Apotheker Zeitung*, 139, 2725-2729.
- SCHILCHER, H.; HEIL, B.M. 1992: Artischockenextrakt – eine aktuelle Standortbestimmung. *Therapeutikon*, 6, 9, 410-417.
- SCHLECHTENDAL, D.F.L. VON; LANGETHAL, L.E.; SCHENK, E.; HALLIER, E. (Hrsg.) 1887: *Cynara scolymus* L. In: *Flora von Deutschland*. Verlag von Fr. Eugen Köhler, Gera-Untermhaus.
- SCHNEIDER, G.; THIELE, K. 1974: Die Verteilung des Bitterstoffes Cynaropikrin in der Artischocke. *Planta medica*, 26, 174-183.
- SCHNEIDER, E.; BRUNNER, P.; STEKLY, G.; MESSMER, M.; BÜTER, B. 2001: Züchtung der SALUSCHOCKE®-ein Projekt zur Optimierung der Qualität der Arznei-Artischocke. *Zeitschrift für Arznei- und Gewürzpflanzen*, 6, 2, 64-68.
- SESTILI, S.; FICCADENTI, N. 1996: Irradiated pollen for haploid production. In: JAIN, S.M.; SOPORY, S.K.; VEILLEUX, R.E. (Hrsg.): *In Vitro Haploid Production in Higher Plants*. Volume 1 – Fundamental Aspects and Methods. *Current plant science and biotechnology in agriculture*, Vol. 23. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 263-274.
- SHIMOI, K.; OKADA, H.; FURUGORI, M.; GODA, T.; TAKASE, S.; SUZUKI, M.; HARA, Y.; YAMAMOTO, H.; KINAE, N. 1998: Intestinal absorption of luteolin and luteolin 7-O- β -glucoside in rats and humans. *FEBS Letters*, 438, 220-224.
- SITBON, M. 1981: Production of haploid *Gerbera jamesonii* plants by *in vitro* culture of unfertilized ovules. *Agronomie*, 1, 9, 807-812.
- SLANINA, J.; PAULOVÁ, H.; HUMPA, O.; BOCHORÁKOVÁ, H.; TÁBORSKÁ, E. 1999: 1,5-Dicaffeoylquinic acid, an antioxidant component of *Cynara cardunculus* leaves. *Scripta Medica (BRNO)*, 72, 1, 9-18.

- SNYDER, M.J. 1981: Investigation of propagational techniques for artichokes. In: MARZI, V.; LATTANZIO, V. (Hrsg.): Atti del 3° Congresso Internazionale di Studi sul carciofo, Bari. Industria Grafica Laterza, Bari, 347-357.
- SOPORY, S.K.; MUNSHI, M. 1996: Anther culture. In: JAIN, S.M.; SOPORY, S.K.; VEILLEUX, R.E. (Hrsg.): *In Vitro* Haploid Production in Higher Plants. Volume 1 – Fundamental Aspects and Methods. Current plant science and biotechnology in agriculture, Vol. 23. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 145-176.
- STOEV, S.D.; ANGUELOV, G.; IVANOV, I.; PAVLOV, D. 2000: Influence of ochratoxin A and an extract of artichoke on the vaccinal immunity and health in broiler chicks. *Exp. Toxic. Pathol.*, 52, 43-55.
- SUNDERLAND, N.; ROBERTS, M. 1979: Cold-pretreatment of excised flower buds in float culture of tobacco anthers. *Annals of Botany Company*, 43, 405-414.
- TEUSCHER, E. 1989: *Pharmakognosie – Biogene Arzneimittel*, Teil II. Akademie-Verlag, Berlin.
- THENGANE, R.S.; JOSHI, M.S.; KHUSPE, S.S.; MASCARENHAS, A.F. 1994: Anther culture in *Helianthus annuus* L., influence of genotype and culture conditions on embryo induction and plant regeneration. *Plant cell reports*, 13, 222-226.
- THIELE, K.; SCHNEIDER, G. 1971: Nachweis und Verteilung des Bitterstoffes Cynaropikrin in der Artischocke. *Pharmazeutische Zeitung*, 116, 1600.
- THOMSEN, C.D.; BARBE, G.D.; WILLIAMS, W.A.; GEORGE, M.R. 1986: Escaped artichokes are troublesome pests. *California Agriculture*, 40, 2, 7-9.
- TITTEL, C. 1986: *Compositae*. In: Schultze-Motel, J. (Hrsg.): *Rudolf Mansfelds Verzeichnis landwirtschaftlicher und gärtnerischer Kulturpflanzen (ohne Zierpflanzen)*. Akademie-Verlag, Berlin, 1261-1335.
- TIVANG, J.G.; DE VOS, N.; NIENHUIS, J.; SKROCH, P.W. 1994: Organization of artichoke, *Cynara scolymus* L., based on RAPD molecular marker banding patterns. *HortScience*, 29, 478.
- TIVANG, J.G.; SKROCH, P.W.; NIENHUIS, J.; DE VOS, N. 1996: Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) variation among and within Artichoke (*Cynara scolymus* L.) cultivars and breeding populations. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 12, 5, 783-788.
- TLL 1998: Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft, Abteilung Untersuchungswesen, Naumburger Straße 98, 07743 Jena.
- TOPONI, M.; GAUTHERET, M.R. 1960: Recherches sur la développement de fragment de bractées d'Artichaut. *C. R. Acad. Sci.*, 250, 2439-2441.
- TUCCI, G.F.; MAGGINI, F. 1986: Ribosomal RNA genes in species of the *Cynareae* tribe (*Compositae*) I. *Protoplasma*, 132, 76-84.
- UNGUREANU, N. 1996: Unirea -un nou soi de anghinare (*Cynara scolymus* L.) (Abstract). *Herba romanica. Analele statiunii de cercetari pentru plante medicinale si aromatice Fundulea*, 13, 19-24.
- VDLUFA 1976: *Handbuch der landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsmethodik*, (Siegel, O.; Hrsg.), Band III: Die Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA-Verlag, Darmstadt.

- VDLUFA 1991: Handbuch der landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsmethodik, (Siegel, O.; Hrsg.), Band I: Die Untersuchung von Böden. VDLUFA-Verlag, Darmstadt.
- VDLUFA 1996: Handbuch der landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsmethodik, (Siegel, O.; Hrsg.), Band VII: Umweltanalytik. VDLUFA-Verlag, Darmstadt.
- VESCHAMBRE, D.; LE BOHEC, J.; FOURY, C. 1985: L'artichaut. Colloques de l'INRA (France), 33, 71-75.
- VOGEL, G. 1996: Handbuch des speziellen Gemüsebaus. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 137-147.
- VON DENFFER, D.; ZIEGLER, H.; EHRENDORFER, F.; BRESINSKY, A. 1983: Strasburger – Lehrbuch der Botanik. 32. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 892-893.
- WAGENBRETH, D. 1995: Content of phenolic constituents in *Cynara scolymus* L. leaves: influence of drying conditions, gradients within the plant and diurnal variations (Abstract). 43rd Annual Congress on Medicinal Plant Research, September 3-7., 1995, Halle/Saale, 73-74.
- WAGENBRETH, D. 1996: Evaluation of artichoke cultivars for growing and pharmaceutical use. Beiträge zur Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, 2, 400-403.
- WAGENBRETH, D. 1998: Persönliche Mitteilung. Versuchsstation Hohenfinow, Niederfinower Str. 3, 16248 Hohenfinow.
- WAGENBRETH, D.; EICH, J. 1996: Content and gradients of caffeoylquinic acids and flavonoids along the sprout and within the headbuds of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). In: 44th Annual Congress on Medicinal Plants, September 3-7, 1996, 142-143.
- WAGENBRETH, D.; EICH, J. 2001: Pharmaceutical relevant phenolic constituents in artichoke leaves are useful for chemical classification of accessions. Acta Horticulturae (im Druck).
- WAGENBRETH, D.; GRÜN, M.; WAGENBRETH, A.-N.; WEGENER, T. 1996: Artischocke - Qualitätsdroge aus Arzneipflanzenanbau. Deutsche Apothekerzeitung, 136, 43, 112-122.
- WEGENER, T.; SCHMIDT, M. 1995: Artischockenblätterextrakt - Lipidsenkung auf pflanzlicher Basis. Ärztezeitschrift für Naturheilverfahren, 36, 5, 378-389.
- WELBAUM, G.E. 1994: Annual culture of globe artichoke from seed in Virginia. HortTechnology, 4, 2, 147-150.
- WELBAUM, G.E.; WARFIELD, S.C. 1992: Growing globe artichokes from seed. Acta Horticulturae, 318, 111-115.
- WIKLUND, A. 1992: The Genus *Cynara* L. (Asteraceae-Carduae). Botanical Journal of the Linnean Society, 109, 75-123.
- WINKEL-SHIRLEY, B. 1999: Evidence for enzyme complexes in the phenylpropanoid and flavonoid pathways. Physiologia Plantarum, 107, 142-149.
- YANG, H.Y.; ZHOU, C. 1982: In vitro induction of haploid plants from unpollinated ovaries and ovules. Theoretical and Applied Genetics, 63, 97-104.
- ZOHARY, D. 2000: Persönliche Mitteilung. Department of Evolution, Systematics and Ecology. The Hebrew University, Jerusalem, 91904, Israel.
- ZOHARY, D.; BASNIZKY, J. 1975: The cultivated artichoke — *Cynara scolymus*. Its probable wild ancestors. Economic Botany, 29, 233-235.

Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unerlaubte Hilfe verfasst und andere als die angegebenen Hilfsmittel nicht benutzt habe.

Hohen Neuendorf,

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt:

Herrn Prof. Pohlheim für die fachliche Betreuung dieser extern durchgeführten Arbeit sowie die zahlreichen Anregungen und Diskussionen, die wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben

Frau Prof. Kaufmann für die Übernahme des Korreferates sowie die konstruktive Kritik und die Hinweise bei der Durchsicht des Manuskripts;

Herrn Dr. Eich für die wertvollen Ratschläge und Diskussionen und die fachliche Unterstützung;

Herrn Dr. Diekmann für die Vermittlung seiner Erfahrungen im Bereich der In-vitro-Technik und die stete Diskussionsbereitschaft, sowie Herrn Zimmermann für die umfangreiche Unterstützung bei den statistischen Auswertungen;

Herrn Dr. Plescher und allen Mitarbeitern der Pharmaplant GmbH für die gewährte Unterstützung und das freundschaftliche Arbeitsklima;

Herrn Dr. Wagenbreth und seinen Mitarbeitern für die Betreuung des Versuchs auf der Versuchsstation Hohenfinow;

Herrn Wegener für die freundschaftliche Betreuung sowie Frau Müller und Frau von Glasow für die Literaturkopien;

Meiner Frau für die umfangreiche Korrekturarbeit;

Meiner Familie für Geduld, Ablenkung und Aufmunterung, ohne die diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre;

Der Sertürner Arzneimittel GmbH, Berlin, der Martin Bauer GmbH und Co. KG, Vestenbergsgreuth, sowie der Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen (AiF) für die finanzielle Unterstützung der Arbeit.

Lebenslauf

Christian Baier,
geb. am 09.10.1969
in Bad Neustadt/Saale,
verheiratet, 4 Kinder

- 09/76 – 08/80 Grundschule Salz
- 09/80 – 05/89 Rhöngymnasium Bad Neustadt/Saale
Allgemeine Hochschulreife
- 06/89 – 01/90 Zivildienst, Heimathof Simonshof, Bastheim
- 02/90 – 09/90 Fortführung des elterlichen landwirtschaftlichen Betriebes
- 10/90 – 07/95 Studium der Agrarwissenschaften an der TU München-
Weihenstephan, Fachrichtung Pflanzenbauwissenschaften,
Abschluss als Diplom-Agraringenieur
- 08/95 – 12/95 LKV Bayern, Probenehmer in der Milchleistungsprüfung;
Einsätze als Betriebshelfer im Ackerbau
- 01/96 – 02/99 Sertürner Arzneimittel GmbH, Wissenschaftlicher Mitarbeiter;
Entwicklung einer Vermehrungstechnologie für pharmazeutisch
genutzte Artischocken, Untersuchungen zur Optimierung von
Anbau und Aufbereitung, Auditierung im Arzneipflanzenanbau;

Praktische Versuche für die vorliegende Arbeit
- 03/99 – 12/01 Lichtwer Pharma AG, Einkäufer pflanzliche Rohstoffe;
Weltweiter Rohstoffeinkauf, Qualitätssicherung durch Monitoring
und Auditierung der Rohstofferzeugung, Organisation von
Arzneipflanzenanbau, Anbauberatung und Weiterentwicklung von
Anbau- und Aufbereitungsverfahren