



## Untersuchungen zur Inkulturnahme von Augentrost (*Euphrasia officinalis*)

B. Waßmann, W. Claupein; Universität Hohenheim, M. Straub Weleda Gärten

### Einleitung

*E. officinalis* ist ein Sammelname, unter dem Linné viele Arten zusammenfasste. Die therapeutisch verwendeten Stammpflanzen sind vor allem *E. rostkoviana*, *E. stricta*, *E. minima*, *E. latifolia* (8, 17). In der Medizin und Pharmazie, neuerdings auch in der Kosmetik, verwendet man das ganze Kraut des Augentrostes (Herba Euphrasia), frisch oder getrocknet. Als Inhaltsstoffe sind Iridoidglykoside wie Aucubin, Catepol, Euphrosid und Ixorosid, Ligane, Phenylpropanglykoside, Quercetin- und Apigeninglykoside, Flavonoide, Gallotannine, Kaffee- und Ferulasäure, Bitterstoffe sowie ätherisches Öl beschrieben worden (11, 12, 17). In der Homöopathie wird die Tinktur aus frischen Pflanzen äußerlich sowie innerlich zur Behandlung von Augenentzündungen eingesetzt sowie auch bei Arthrose, Rheuma, Gicht, Magenbeschwerden und Prostataleiden. Neben einer großen Artenvielfalt weist die Gattung *Euphrasia* den Semiparasitismus auf. Diese Semiparasiten besitzen zwar chlorophyllhaltige Blätter, zapfen jedoch über Haustorien den Xylemstrom der Wirtspflanzen an, da ihr schwach ausgeprägtes Wurzelsystem nicht genügend Wasser und Nährstoffe aufnehmen kann (7). Die Gattung *Euphrasia* ist im nördlichen und mittleren Eurasien, Australien, Neuseeland und im südlichen Südamerika verbreitet. Jedoch kommt sie nur im gemäßigten Klimabereich vor, welcher entweder vom Breitengrad sowie von der Höhenstufe bestimmt wird (6). Typische Standorte sind wenig gedüngte Wirtschaftswiesen, besonders Bergwiesen sowie Magerrasen, ferner aber auch Sumpfwiesen. Die Gattung wird als lichtbedürftig bezeichnet, da mit zunehmendem Konkurrenzdruck um Licht, bedingt durch Intensivierung der landwirtschaftlichen Nutzung von Wiesen und Weiden, ein stärkerer Rückgang der Augentrostbestände registriert worden war (10).

**Ziel** der vorliegenden Arbeit bestand in der Gewinnung grundlegender pflanzenbaulicher Kenntnisse, die für eine Inkulturnahme der Art *E. rostkoviana* von Bedeutung sind. Dabei sollten erstens geeignete Keimbedingungen und bei vorliegender Dormanz Möglichkeiten zur Dormanzbrechung gefunden werden, zweitens unterschiedliche Pflanzen auf ihre Eignung als Wirtspflanzen getestet und drittens *E. rostkoviana* Pflanzen im Freiland an gewünschten, jedoch artuntypischen Standorten mittels pflanzenbaulicher Maßnahmen etabliert werden.

### Material und Methoden

Bisher existierten keine Sorten von *Euphrasia* mit bestimmten Qualitäts- und Ertragseigenschaften auf dem deutschen Markt (3). Für die Versuche konnte von der Saatgutfirma Rieger- Hofmann bis zu 6, 0 g Saatgut aus drei Wildbeständen bezogen werden. Die Herkunftsgebiete der Samen stammten aus der Region Feldberg, Halle (Saale) und den Alpen Österreichs, gesammelt im Zeitraum zwischen August und September 2001. Nach den allgemeingültigen



Bestimmungen der internationalen Vorschriften für die Prüfung von Saatgut (1) wurde die Tausendkornmasse bestimmt, sowie ein Test auf Lebensfähigkeit nach dem Grundsatz des topographischen Tetrazoliumverfahrens (TTC- Test) am Institut für Pflanzenzüchtung der Universität Hohenheim durchgeführt.

### Keimversuche

In Keimversuchen am Institut für Pflanzenbau der Universität Hohenheim wurde der Einfluss von Temperatur und Licht geprüft. Die Behandlungen, die zwischen dem 22.01.02 und 13.06.02 getestet worden waren, sind in Tab. 1 dargestellt.

**Tab. 1: Unterschiedliche Temperatur- und Lichtbehandlungen zur Brechung der Dormanz von *E. rostkoviana* in Petrischalen im Keimschrank. L= Dauerlicht; D= Dauerdunkelheit**

Behandlung	1.- 3. Woche	4. Woche- Versuchsende
1	20 °C/L	20 °C/L
2	WT**/L	WT/L
3	5 °C/L	WT/L
4	5 °C/D	WT/L
5	5 °C*/L/KNO <sub>3</sub>	WT/L
6	20 °C/D	20 °C/D
7	5 °C/L	5 °C/L
8	5 °C/D	5 °C/D

\*= 10 Tage bei 5°C

\*\* WT= Wechseltemperatur von je 12 h 20 °C und 30 °C

Wegen unzureichender Saatgutmengen konnten nicht die Saatgutpartien aller Herkunftsgebiete mit allen Behandlungen untersucht werden. Die Keimversuche wurden nach internationalen Regeln für Saatgutprüfung in ventilierten Keimschränken durchgeführt (1).

Ziel dieser Untersuchungen war, die Behandlung mit der höchsten Keimrate zu finden. Für die Keimraten wurden die Mittelwerte und Standardfehler aus dem prozentualen Anteil gekeimter im Verhältnis zu den ausgelegten Samen der 4 Wiederholungen aller Behandlungen errechnet.

### Gefäßversuche

Der Semiparasitismus auf Wirtspflanzen ließ sich in Gefäßversuchen (dünnwandige Plastikschaalen; Länge= 18, 5 cm; Breite=13 cm; Höhe= 6,5 cm; mit 26 eingesetzten Löchern; gefüllt mit einer Erdmischung aus „Filder“ (Lehm, Torf und Sand im Verhältnis zwei zu eins zu eins) im Gewächshaus der Universität Hohenheim am besten kontrollieren. Neben drei Temperaturbehandlungen wurden die drei Gramineen *Agrostis capillaris* (Ac), *Festuca rubra rubra* (Frr), sowie *Dactylis glomerata* (Dg) als Wirtspflanzen fünf Tage vor der Aussaat der *Euphrasia* Samen in die Versuchsgefäße hinzugesät. Im Gewächshaus waren die Gefäße der natürlichen Beleuchtung, im Klimaschrank künstlichem Dauerlicht ausgesetzt. Als unterschiedliche Temperaturbehandlungen waren die Samen der Behandlung eins (>20°C) während der gesamten Versuchsdauer einer Temperatur von > 20°C



im Gewächshaus ausgesetzt. Bei den Behandlungen zwei (5°C/>20°C) und drei (5°C+Eis/>20°C) wurden die Gefäße direkt nach der Aussaat von *E. rostkoviana* für ca. 3 Wochen (13. März bis zehnter April 2002) in einen Klimaschrank bei einer Temperatur von 5°C gestellt. Die Behandlung drei unterschied sich von Behandlung zwei durch dreimalige Verabreichung von zerstoßenem, demineralisiertem Eis auf die Versuchsgefäße während drei Wochen bei 5°C. Nach den 3 Wochen wurden die Versuchsgefäße der Behandlung zwei und drei aus dem Klimaschrank gemäß Anlageplan zwischen den im Gewächshaus bereits aufgestellten Gefäßen der Behandlung eins eingegliedert. Jede Temperaturbehandlung wurde mit jeder Wirtspflanze kombiniert, so dass 9 Behandlungen mit je 4 Wiederholungen angelegt, also 36 Versuchsgefäße zu 6 balancierten, unvollständigen Blöcken mit GENDEX Modul BIB.EXE randomisiert wurden (9).

Ziel der Untersuchungen war, die Behandlungen mit den meisten und größten Pflanzen zu finden.

#### Kulturmaßnahmen im Gewächshaus

Während der Versuchsdauer wurden anfangs die Versuchsschalen einmalig mit Compo® Guano plus Urgesteinsmehl gedüngt. Danach wurden die daraufhin stark wachsenden Gramineen mehrmals zurück geschnitten um *E. rostkoviana* ausreichend Licht zu gewähren.

#### Freilandversuche

Die Freilandversuche wurden im Zeitraum vom 17. März 2002 bis zum 2. August durchgeführt. In einem bereits bestehenden Wiesenbestand auf dem Gelände des Weleda- Heilpflanzengartens in Wetzgau bei Schwäbisch Gmünd (450 mÜNN; mittlerer Jahresniederschlag 905 mm; mittlerer Jahrestemperatur 9,6°C; toniger Lehmboden) wurden Mitte März 2002 Samen von *E. rostkoviana* ausgesät. Es sollte die bereits bestehende Pflanzengesellschaft des Wiesenbestandes auf ihre Eignung als Wirtspflanzenspektrum von *E. rostkoviana* getestet werden. Nach Bestimmung der Arten im Frühjahr 2002 wurden 20 zufällig ausgewählte Parzellen mit einer Größe von 0,03 m<sup>2</sup> angelegt. Sie wurden als repräsentative Stichprobe des gesamten Wiesenbestandes gewertet, in denen *E. rostkoviana* Samen eingesät wurde. Von den eingesäten *E. rostkoviana* Samen wurden die Anzahl Pflanzen sowie die Entwicklungsstadien bis zur ersten Blüte dokumentiert. Am 2. August 2002 wurden alle *E. rostkoviana* Pflanzen geerntet und deren Einzelgewicht und das Pflanzengewicht pro Parzelle als Frischmasse bestimmt. Es wurde ebenso die Verteilung der Anzahl Pflanzen über den Versuchszeitraum und die Verteilung der Pflanzengewichte mittels des Graphikogramms Sigma-Plot (4.0) dargestellt.

### **Ergebnisse**

#### Keimversuche

Die Samen der Herkunft Feldberg und der Herkunft Österreich waren zu 75% und 85% lebensfähig. Die Tausendkornmasse der Herkunft Feldberg ist 0,192 g und damit signifikant höher als die der Herkunft Österreich mit 0,175 g. Bei den



Untersuchungen zur Bestimmung geeigneter Keimbedingungen erzielten die Samen der Herkunftsgebiete Feldberg und Österreich jeweils höhere Keimraten nach dreiwöchiger Temperatureinwirkung von 5°C als bei 20 ° oder 30°. Die Keimraten der Samen der Herkunft Feldberg wurden weder durch Kaliumnitrat noch durch Licht oder Dunkelheit signifikant beeinflusst. Bis zu 4% keimten bei 20°C und Dauerlicht, die anderen Samen waren dormant. Die Samen der Herkunft Österreich erreichten bei 20°C und Dauerlicht eine Keimrate von unter 1 Prozent. Erst nach 10 Tagen bei einer Temperatur Einwirkung von 5°C und Kaliumnitrat wurde eine Keimrate von 8 Prozent erreicht, sobald die Petrischalen in 20 °C und 30°C Wechseltemperatur gestellt wurden. Bei 5°C keimten bis zur dritten Woche keine Samen, jedoch bis zu 45% nach umsetzen in 20 und 30°C Wechseltemperatur. Eine stetig steigende Keimrate bis zu 74% ließ sich durch konstante 5°C über 15 Wochen erzielen. Hingegen wurde bei anfangs 3 Wochen 5°C und danach 20 und 30 °C Wechseltemperatur ab der 5. Woche keine weitere Keimung beobachtet.

#### Gefäßversuche

Eine ähnliche Temperaturabhängigkeit der Anzahl Pflanzen (Keimlinge) wurde in den Gefäßversuchen im Gewächshaus ermittelt. Die Behandlungen die 3 Wochen bei 5°C im Keimschrank standen (mit und ohne Eisgaben), hatten signifikant höhere Keimraten beziehungsweise mehr Pflanzen gebildet als die die im Gewächshaus verblieben und Temperaturen über 20 °C ausgesetzt waren. Acht Wochen nach der Aussaat war die maximale mittlere Anzahl Pflanzen aller Varianten bei den Behandlungen mit anfangs 5°C erreicht. Im weiteren zeitlichen Verlauf ging die Anzahl Pflanzen zurück. Bis zur 16. Woche wurde die Anzahl Pflanzen dokumentiert, die sich unter gegebenen Bedingungen auf Wirtspflanzen etablieren und bis zur Blüte entwickeln konnten. Ein signifikanter Unterschied des Prüfmerkmals Pflanzenanzahl wurde in Bezug auf die Wirtspflanze *A. capilaris*, *D. glomerata* und *Festuca rubra rubra* nicht gemessen. Auch im Wuchs von *E. rostkoviana* fielen keine Unterschiede auf, die auf ein unterschiedliches Nährstoffangebot der Wirtspflanzen hätten hinweisen können.

#### Freilandversuche

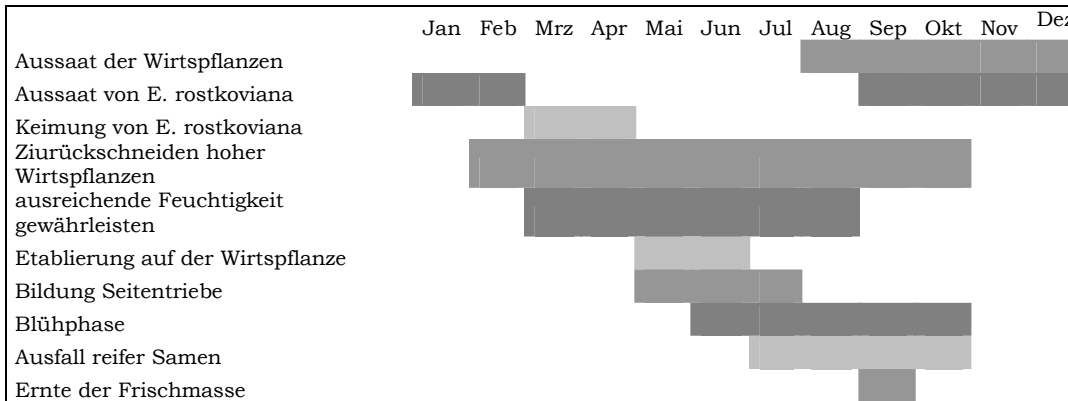
Die klimatischen Bedingungen nach der am 17. März erfolgten Aussaat waren mit mindestens 15 Tagen Bodenfrost ausreichend zur Brechung der Dormanz der Samen der Herkunft Österreich. Es erschien 4 Wochen nach der Aussaat zwischen 0 und 795 Keimlinge/m<sup>2</sup> in den zufällig ausgewählten Parzellen. In der 6. Woche bei einem 14 cm hohen Wiesenbestand wurden die Keimlinge mit einer Höhe von 1 cm überschattet. Nach dem Rückschnitt der potentiellen Wirtspflanzen traten ab der 7. Woche erste Pflanzenverluste auf. Bis zur 10. Woche hatten die Pflanzen einen gestauchten Wuchs und bis 8 Blattpaare ausgebildet. Eine darauf folgende Etablierung auf den Wirtspflanzen wurde aufgrund des auffälligen Entwicklungsschubes, sichtbar an der Zunahme der Anzahl Zähne am Rand der neu gebildeten Blätter angenommen. In der 12. Woche bildeten sich Seitentriebe und in der 14. Woche öffneten sich die ersten Blütenköpfchen an den Haupttrieben, später auch an den Seitentrieben. In der 17. Wochen (2. August



2002) wurden sämtliche *Euphrasia* Pflanzen geerntet und einzeln gewogen sowie das Gesamtgewicht je Parzelle ermittelt. Der Mittelwert lag zum Erntezeitpunkt bei 179 Pflanze/m<sup>2</sup>. 50% der Parzellen hatten zwischen 60 und 232 blühende Pflanzen/m<sup>2</sup>. Von allen Parzellen (0,6 m<sup>2</sup>) auf der Versuchswiese wurden insgesamt 0,142 kg geerntet.

### Diskussion

Die Dormanz konnte signifikant erst bei einer Temperatur von 5°C gebrochen werden. Für den Anbau bedeutet dies eine frühzeitige Aussaat im Herbst oder Winter, um eine ausreichende natürliche Stratifikation zu gewährleisten. Für die Anzucht im Gewächshaus sollten die angefeuchteten Samen mindestens 3 Wochen im Kühlschrank stratifiziert werden. Licht oder Dunkelheit hatten in den Untersuchungen keinen Einfluss auf die Höhe der Keimraten. Die *Euphrasia* Pflanzen, die in den Gefäßversuchen gemeinsam mit den Gräsern als Wirtspflanzen angezogen wurden, entwickelten sich zu schwächtigen, jedoch blühenden Pflanzen. In den Untersuchungen konnten also bei *Agrostis capillaris*, *Dactylis glomerata* und *Festuca rubra rubra* etablierte *E. rostkoviana* angetroffen werden (16, 19). Für die Anzucht sollten bereits etablierte, kräftig, bewurzelte Wirtspflanzen verwendet werden. Dies erscheint ebenso wichtig zu sein wie die Auswahl der Wirtspflanzen (8, 14, 18-21). Eine Etablierung auf den Wirtspflanzen wurde durch den auffälligen Wachstumsschub der Blätter erkannt. Das Zurückschneiden der Wirtspflanzen bis zur ersten Verzweigung von *E. rostkoviana* erwies sich während der Versuche als notwendig, um eine Beschattung der Pflanzen zu vermeiden (19). Ebenso war eine gute Wasserversorgung während der gesamten Wachstumszeit wichtig. (15). Die starke Transpiration kommt im raschen Welken nach dem Pflücken der Pflanzen zum Ausdruck (6). Bei einer Düngung kann *Euphrasia* die Nährstoffe indirekt über die Wirtswurzeln aufnehmen, jedoch ist dann ein erhöhter Wuchs und Beschattung durch die Wirtspflanzen zu erwarten. Die große Variationsbreite der Frischmassegewichte (g/m<sup>2</sup>) sowie die stark variierende Anzahl Pflanzen/m<sup>2</sup> zeigen dass in zukünftigen Untersuchungen der Einfluss weiterer Kulturmaßnahmen zu prüfen ist, damit im Anbau hohe und sichere Erträge erzielt werden können. Bei einem Bedarf von 100 kg Frischmasse müssten unter ähnlichen Bedingungen wie bei den Untersuchungen 240 g Saatgut auf einer Fläche von 414 m<sup>2</sup> ausgesät werden (Abb. 1). Wegen der sehr geringen Aussaatmenge und folglich geringen Pflanzenernte ist die Hochrechnung auf 100 kg ein grober Schätzwert. Eine zukünftige Aussaat könnte auf schmalen, gefrästen Streifen (30 cm) erfolgen, die alternierend zwischen Gras- oder Grünlandstreifen (60 cm) angelegt sind. Diese Streifen können dann mit einem Rasenmäher kurz gehalten werden. Der Erntezeitpunkt des frischen blühenden Krauts lag zwischen Juli und Oktober. Für die Gewinnung von Saatgut werden die Monate August und September empfohlen.



**Abb. 1: Zeitplan einer möglichen Kultivierung von *E. rostkoviana* nach den Ergebnissen der Freilandversuche in Schwäbisch Gmünd 2002**

### Zusammenfassung

Augentrost (*Herba Euphrasiae*), das für pharmazeutische und kosmetische Produkte verwendet wird, stammt derzeit aus Wildsammlungen. Die in der Pharmazie aufgeführte Stammpflanze *Euphrasia officinalis* L. ist ein Sammelname und steht für eine Artengruppe, zu der auch *E. rostkoviana* Hayne gezählt wird. In den Untersuchungen wurden Samen aus Wildbeständen der Art *E. rostkoviana* verwendet und zuerst auf Lebensfähigkeit sowie Keimfähigkeit geprüft. Anschließend wurde die Anzucht auf verschiedenen Wirtspflanzen in gewächshaus- und Freilandversuchen durchgeführt. Das Hauptziel war, *E. rostkoviana* auf einer vorgesehenen Wiesenfläche zu etablieren, um konkrete Anbaukenntnisse zu erhalten. Eine zufriedenstellende Keimung von *E. rostkoviana*, erfolgte im Keimschrank, im Gewächshaus sowie im Freiland nach mindestens dreiwöchiger Stratifikation bei 5°C. Auf den untersuchten Wirtspflanzen *Agrostis capillaris*, *Dactylis glomerata* und *Festuca rubra rubra* konnte sich *E. rostkoviana* etablieren, jedoch gab es keinen signifikanten Unterschiede während des Aufwuchses. Die Pflanzen im Freilandversuch waren im Wuchs kräftiger, was auf einen Ernährungsvorteil älterer Wirtspflanzen schließen lässt. Die Gesamtpflanzenernte von *E. rostkoviana* ergab ein durchschnittliches Frischpflanzengewicht von 241,6 g/m<sup>2</sup>. Bei einem Frischpflanzenbedarf von 100 kg hätten 240 g Saatgut auf einer Fläche von ca. 415 m<sup>2</sup> ausgesät werden müssen.

### Literatur

1. Internationale Vereinigung für Saatgutprüfung. Internationale Vorschriften für die Prüfung von Saatgut: Vorschriften 1999. Zürich: Seed Science&Technology (Suppl 27); Seed.
2. Baskin CC, Baskin JM. Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. San Diego: Academic Press; 1998
3. Bundessortenamt. Beschreibende Sortenliste Arznei- und Gewürzpflanzen 2002. Hannover: Deutscher Landwirtschaftsverlag GmbH; 2002



4. Duffner J, Jensen U, Schumacher E. Statistik mit SAS. 2. Aufl. Stuttgart: B. G. Teubner; 2002.
5. Ellenberg H. Vegetation Mitteleuropas mit den Alpen in ökologischer Sicht. 5. Aufl. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer; 1986
6. Hartl D. Euphrasia. In: Hegi G. editor. Illustrierte Flora Mitteleuropas. 2, 6 ed. München: F.J. Lehmann Verlag; 1972. p. 335- 373.
7. Musselmann LJ, Dickison W. The structure and development of the haustorium in parasitic Scrophulariaceae. Bot J Linn Soc 1975; 70: 183. 212
8. Neidhardt G. Euphrasia rostkoviana Hayne: Der Augentrost. Die Pharmazie. 3 Beiheft, 1. Ergänzungsbd. Berlin: Verlag Dr. W. Sängner; 1947
9. Nguyen N-K. Gendex DOE toolkit (online). 2004. Available from: URL: <http://design.computing.net/gendex/>. Accessed 5 Oct, 2004.
10. Rothmaler W. Exkursionsflora von Deutschland: Gefäßpflanzen: Grundband. 16. Aufl., Bd. 2. Jena, Stuttgart: Fischer Verlag
11. Salama O, Sticher O. Iridoidglucoside von Euphrasia rostkoviana 4. Mitteilung über Euphrasia Glykoside. Planta Medica 1983; 47: 90- 94.
12. Salama O, Sticher O, Chaudhuri R. A lignan glucoside from Euphrasia rostkoviana. Phytochemistry 1981; 20(11);2603- 2604
13. Schaefflein H. Beiträge zur Kenntnis einiger mitteleuropäischer Euphrasien. I Der taxomonische Wert der drüsigen Behaarung. Phytion 1967;48-86.
14. Vitek E. Evolution alpiner Populationen von Euphrasia (Scrophulariaceae): Die mittel- bis kleinblütigen, drüsenhaarigen Arten. Plant Syst Evol 1985; 148:215-237.
15. Weber HC. Untersuchungen an parasitischen Scrophulariaceen (Rhinanthoideen) in Kultur. I. Keimung und Entwicklungsweise. Morphologie, Geobotanik, Oekophysiologie. Flora 1981;171:23-38.
16. Wettstein R von. Monographie der Gattung Euphrasia. Leipzig: Verlag Wilherlm Engelmann; 1896.
17. Wichtl M. Teedrogen: Ein Handbuch für die Praxis auf wissenschaftlicher Grundlage. 2. Auflage Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH; 1989.
18. Wilkins DA. Plasticity and establishment in Euphrasia. Ann Bot (Lond) 1963;72(107):533-552.
19. Yeo PF. The growth of Euphrasia in cultivation. Watsonia. Proc Bot Soc Br Isles 1964; 6:1-24.
20. Yeo PF. Germination, seedings, and the formation of haustoria in Euphrasia. Watsonia Proc Bot Soc Br Isles 1961; 5(1):11-22.
21. Zopfi H-J. The genetic basis of ecotypic variants of Euphrasia rostkoviana Hayne (Scrophulariaceae) in relation to grassland management, Morphologie, Geobotanik, Oekophysiologie. Flora 1998;193:41-58.