

Mit Wasserdampf-Hydrolaten gegen den Rapsglanzkäfer

33. Tagung des DPG-Arbeitskreises Raps

Sibylle Kümmritz, Nadine Austel, Torsten Meiners, Andrea Krähmer
10. Februar 2021

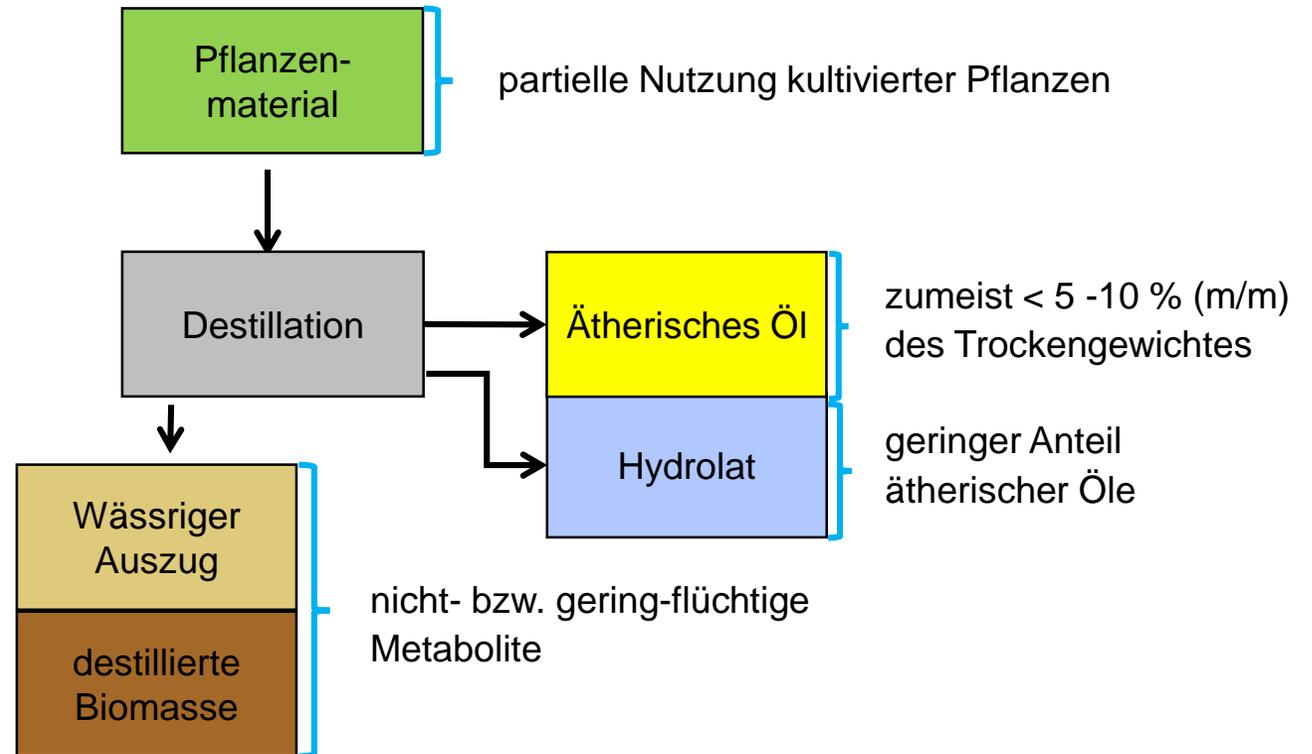


Wasserdampfdestillation zur Gewinnung ätherischer Öle aus Arznei- und Gewürzpflanzen



Prozessströme und Rückstände

- Pflanzenmaterial z.B. Blüten, Blätter, Früchte → z.B. Schnittreste ohne weitere Verwendung
 - Hydrolate enthalten u.a. Phenole, Monoterpene
 - Wässriger Extrakt & destillierte Biomasse enthalten u.a. Alkane, Phenole, Flavonoide, höhere Terpene, Coumarine
- antimikrobielle, insektizide und antioxidative Eigenschaften



Analyse der Zusammensetzung der Hydrolate



Extraktion und Analyse

- 10 ml Hydrolat mit 1 ml n-Hexane, 6-fach
 - Phasentrennung, Verdampfung org. Lösungsmittel
- ca. 12 g ätherisches Öl/ L Hydrolat

GC-FID/MS Analyse

Pflanze, Herkunft	Hauptkomponenten ¹	Anteil im Öl [%] ¹
<i>Carum carvi</i>-Hydrolat ITVP Clausthal-Zellerfeld	Carvon	87,4
	α -Terpineol	12,3
<i>Pinus sylvestris</i>-Hydrolat VER Reichstädt GmbH	Terpinen-4-ol	6,4
	Verbenone	5,8
	Camphor	2,6
	(+)-Borneol	2,6
<i>Thymus vulgaris</i>-Hydrolat Dr. Otto GmbH Wittenberge	Thymol	68,2
<i>Foeniculum vulgare</i>-Öl FOE 25 ² JKI Berlin-Dahlem	Limonen	47,2
	Piperitenonoxid	28,7
	γ -Terpinen	10,6

¹Zuordnung anhand der Spektren der GC-MS-Analyse durch Abgleich mit Datenbanken, Quantifizierung via GC-FID-Analyse über Peakflächenanteil

²aus Gudi et al., 2014, Journal of Agricultural and Food Chemistry

Repellente Wirkung von Hydrolaten auf den Rapsglanzkäfer

Ziel

- Bestimmung der Bioaktivität von Hydrolaten gegenüber *Brassicogethes aeneus* (Rapsglanzkäfer)
 - Applikation in Feldkultur von Winterraps
- Untersuchung olfaktorische Orientierung von *B. aeneus* gegenüber Hydrolaten
 - Laborversuch

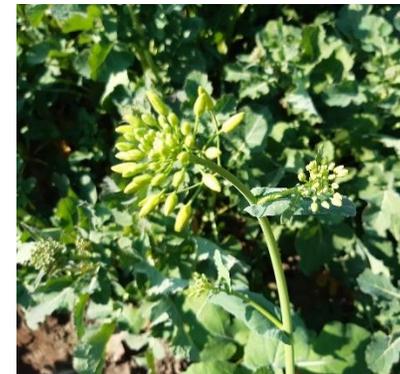
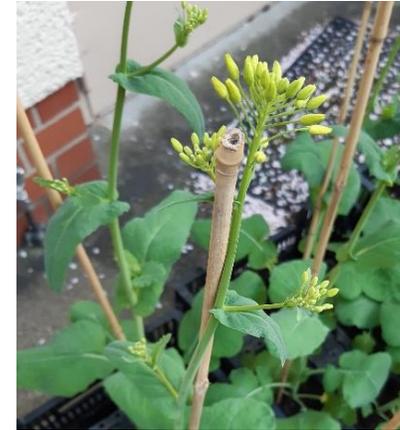


Repellente Wirkung von Hydrolaten auf den Rapsglanzkäfer



Feldversuch 2020

- Anzucht von *Brassica napus* 'Avatar' bis BBCH 55-57 im Gewächshaus, 3 Versuchswiederholungen á N=15 je Behandlung
- Sprühapplikation 30 ml Testlösung je Pflanze (inkl. Benetzungsmittel ProFital 0,15% v/v)
- Aufstellung randomisiert in Versuchsfeld mit unbehandelter Kultur von *B. n.* 'Bender' über 2-3 d
- Boniturparameter:
 - Zustand und Entwicklungsstadium der Pflanze
 - Anzahl der Käfer je Pflanze
 - Anzahl der Fraßstellen an Blütenknospen (Haupt- und Nebeninfloreszenzen)
 - Anzahl vertrockneter und abnormaler Knospen

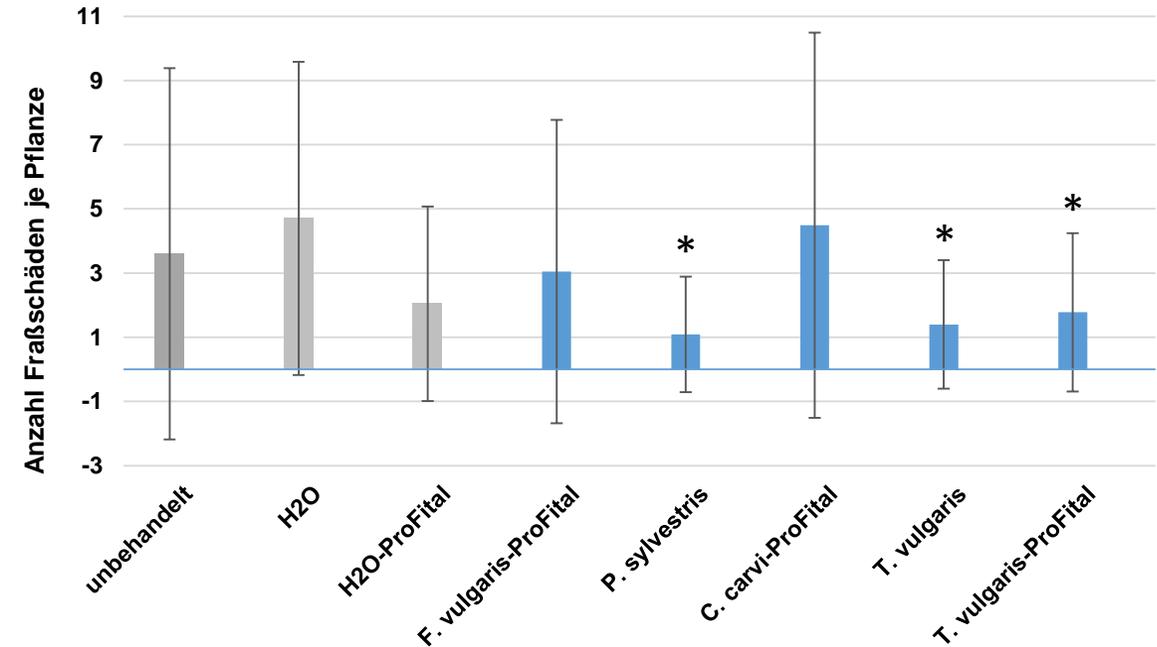


Repellente Wirkung von Hydrolaten auf den Rapsglanzkäfer



Feldversuch 2020

- Behandlung mit Hydrolaten, Öl-Präparat und Kontrollen (siehe Abb.); N = min. 44
- Befall mit Käfern:
 - 0,4 bis 0,8 je Pflanze (\bar{x} 0,67)
 - kein signifikanter Effekt durch Behandlung nachweisbar
 - rel. Abweichung \bar{x} 193%
- Fraßschäden:
 - signifikant reduziert um 70% (Kiefer) bzw. 61% (Thymian) vs. unbehandelt
 - rel. Abweichung > 100% (\bar{x} 143%)

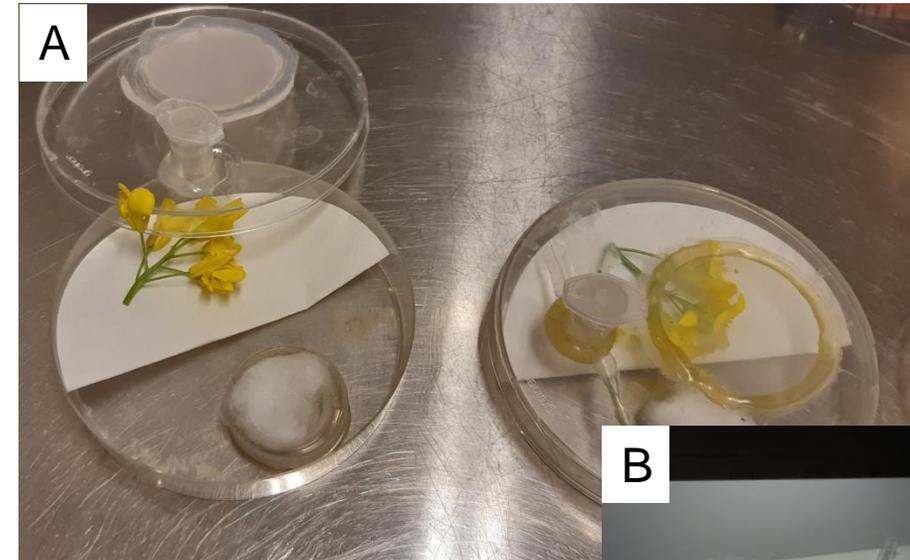


Ausmaß der Schäden an *B. napus* durch *B. aeneus* nach Behandlung mit Hydrolaten, Öl-Präparat von *F. vulgaris* Akzession FOE 25 (blau) und Kontrollen (grau). N = min. 44; *: P-Wert < 0,05 (einfaktorielle ANOVA)

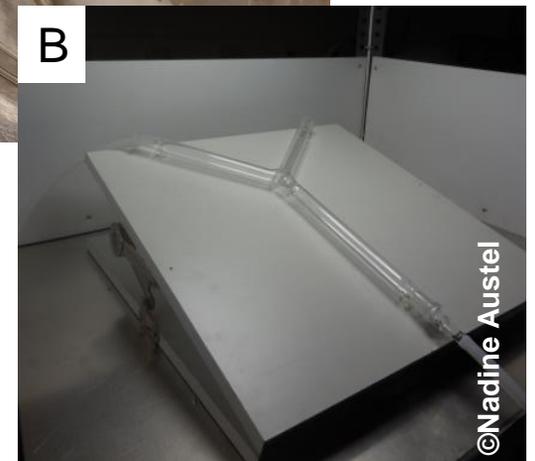
Repellente Wirkung von Hydrolaten auf den Rapsglanzkäfer

Olfaktometer-Test

- Sammlung adulter Käfer Mai bis Juni 2020
- Kultur bei 10 °C und 16/8 h Tag/Nacht bis zu 7 d
- Geschlechtsbestimmung mittels Binokularmikroskop 2 d vor Test
- getrennte Haltung nach Geschlecht ohne Zugabe von Nahrung
- Y-Olfaktometer mit Gasfluss von 60 ± 5 ml/min,
- 24 °C, zentrale Beleuchtung, Raum dunkel
- 30 ml Testlösung vs. dem. Wasser
- Wechsel:
 - Richtung der Anschlüsse nach 4-5 Messungen,
 - Testlösung nach 8-10 Messungen
- Laufzeit 5 min, wenn Käfer unterhalb der Start- oder Ziellinie nach Ablauf der Laufzeit → Stopp der Messung



Modifizierte Petrischale zur Kultivierung der Rapsglanzkäfer (A); Y-Olfaktometer (B)



©Nadine Austel

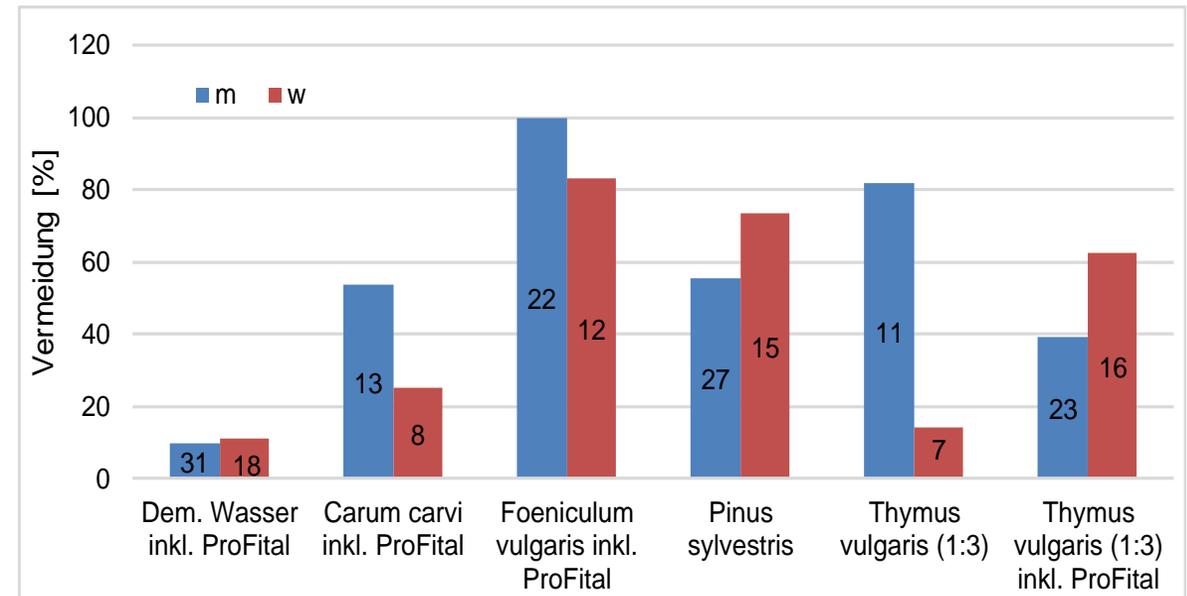
$$\text{Vermeidung [\%]} = \frac{(N_{Ref} - N_{Test})}{(N_{Ref} + N_{Test})} \times 100$$

Repellente Wirkung von Hydrolaten auf den Rapsglanzkäfer



Olfaktometer-Test

- Thymianhydrolat 1:3 verdünnt, unverdünnt kein Laufen
 - Ø -Tendenz zur Vermeidung bei:
 - Fenchel-Öl-Präparat (94%)
 - Kieferhydrolat (62%)
 - Thymianhydrolat verd. (56%)
 - Wirkung scheint z.T. geschlechtsspezifisch
- Bestätigung der abschreckenden Wirkung von Kiefer- und Thymianhydrolat auf Rapsglanzkäfer im Freilandversuch
- Abweichung Effekt von Fenchel-Öl-Präparat



Verhalten von *B. aeneus* in Y-tube-Olfaktometer gegenüber ätherischem Fenchelöl (FOE 25, 0,2%, V/V) und Hydrolaten (inkl. Benetzungsmittel ProFital 0,15% V/V) mit dem. Wasser als Kontrolle, Sex ratio Ø 1,74 (m:w); N Versuchstiere im Balken

Einfluss der Hydrolate auf Nichtzielorganismen



Ziel

- Effekte von Hydrolaten auf Bodenmikroorganismen
 - N-Mineralisierung und Nitrifizierung
 - DIN EN ISO 14238:2014 (2013)
- Effekte von Hydrolaten auf Regenwürmer
 - Fluchttest ISO/FDIS 17512-1 (2008)
 - akute Toxizität EN ISO 11268-1 (2015)



Einfluss der Hydrolate auf Nichtzielorganismen



Effekte auf N-Mineralisierung und Nitrifizierung im Boden

– Testhydrolate:

- Kiefer (VER Reichstädt GmbH)
- Thymian (Dr. Otto GmbH Wittenberge)

– Prüfboden: Lufa 2.2 + N-Quelle (50% max. Wasserhaltekapazität)

– Inkubation: 20 °C, dunkel über 56 d

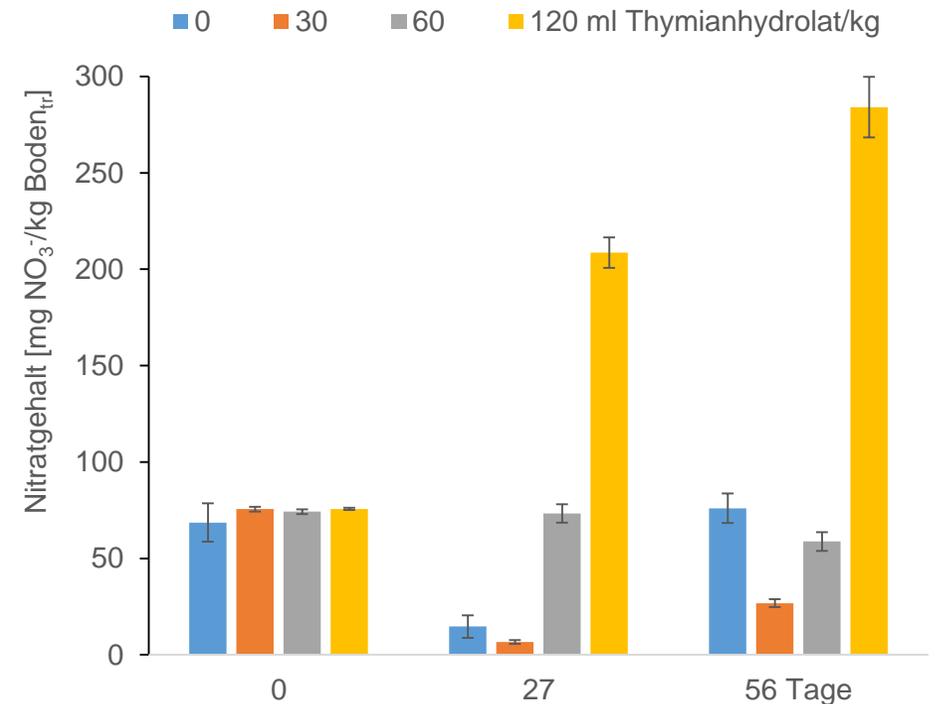
– Extraktion und Analyse Ammonium NH_4^+ , Nitrit NO_2^- und Nitrat NO_3^-

→ Werte für Nitrit unterhalb Bestimmungsgrenze

→ Ammonifizierung geringfügig beeinflusst

→ Nitratgehalte im Boden bei Kiefer geringfügig beeinflusst, für Thymian bei 120 ml Hydrolat /kg Bodentrockenmasse erhöht

→ bis 60 ml Hydrolat /kg Bodentrockenmasse akzeptable Auswirkung auf Bodenmikroorganismen



Einfluss auf die Nitrifizierung durch Hydrolat von Thymian bestimmt nach DIN EN ISO 14238:2014 (2013), N=4

Einfluss der Hydrolate auf Nichtzielorganismen



Effekt auf Fluchtverhalten Kompostwurm *Eisenia fetida*

- Testhydrolate:
 - Kiefer (VER Reichstädt GmbH)
 - Thymian (Dr. Otto GmbH Wittenberge)
- Prüfboden: Lufa 2.2 (50% max. Wasserhaltekapazität)
- Inkubation: 20 °C, 1000 Lux, 16/8 Tag/Nacht
- Kultur der Würmer 48 h getrennt vs. Kontrolle, 10 Versuchstiere je Schale, 5 Wiederholungen
- Zählung der Würmer je Partition

$$\text{Vermeidung [\%]} = \frac{(N_{Ref} - N_{Test})}{(N_{Ref} + N_{Test})} \times 100$$

Fluchtverhalten von *E. fetida* nach 48 h gegenüber Hydrolat von *Pinus sylvestris* (A) und *Thymus vulgaris* (B);
+ Vermeidung, - Anziehung

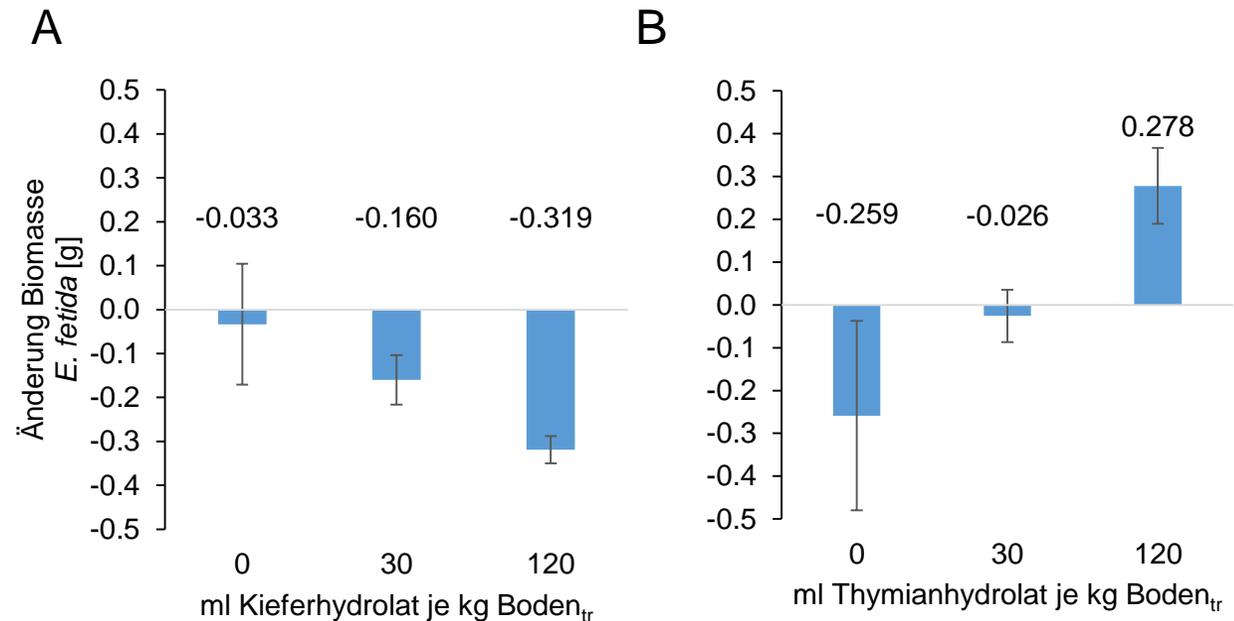
Behandlung [ml Hydrolat/kg Bodentrockenmasse]	Vermeidung [%] <i>Pinus sylvestris</i>	Vermeidung [%] <i>Thymus vulgaris</i>
0	-12	-4
30	8	-48
120	44	-56

Einfluss der Hydrolate auf Nichtzielorganismen



Akute Toxizität von Hydrolaten auf *E. fetida*

- Testbedingungen analog Fluchtverhalten
 - akute Toxizität-Test
 - Kultur der Würmer 14 d, 4 Wiederholungen
 - Bestimmung Anzahl vitaler Würmer, Biomasseveränderung, Verhalten
 - alle Würmer überlebten die Behandlungen
 - mittlerer Biomasseverlust jeweils < 10%
- kein akut toxischer Effekt der Hydrolate auf *E. fetida* beobachtet



Biomasseänderung von *E. fetida* nach 14 d gegenüber Hydrolat von *Pinus sylvestris* (A); *Thymus vulgaris* (B), N=4

Zusammenfassung und Ausblick



- **Hydrolate zeigen vielversprechende Reduktion der Fraßschäden an Rapsblütenknospen (Vgl. unbehandelt) im Freiland:**
 - 70% geringer bei Kieferhydrolat
 - 61% geringer bei Thymianhydrolat
- **Fenchel-Öl-Präparat, Kiefer- und Thymianhydrolat zeigen abschreckende Wirkung auf Rapsglanzkäfer im Olfaktometer**
- **Effekte der Hydrolate auf Nicht-Zielorganismen:**
 - N-Mineralisierung und Nitrifizierung im Boden bis 60 ml Hydrolat/kg Bodentrockenmasse akzeptabel
 - Verhalten der Kompostwürmer geringfügig negativ beeinflusst durch Kieferhydrolat (unter Schwellenwert), Thymianhydrolat als Substrat für Kompostwürmer?
 - keine akute Toxizität für Hydrolate auf Kompostwürmer beobachtet
 - Ausweitung auf Einfluss der Hydrolate auf Bienen und Nützlinge
- **Wiederholung des Feldversuches gegen Rapsglanzkäfer Frühjahr 2021**

Danksagung

JKI-ÖPV: Arbeitsbereiche Phytochemie (AG Krähmer und AG Meiners) sowie Auswirkung von Agrarchemikalien (AG Felgentreu und AG Hommel) und Versuchsfeld

Wir danken unseren Partnern für die Bereitstellung von Hydrolaten und Untersuchungsmaterial:

ITVP Clausthal-Zellerfeld



VER Reichstädt GmbH



Dr. Otto GmbH Wittenberge



Kontakt: sibylle.kuemmritz@julius-kuehn.de

Das Verbundprojekt „Ressourceneffiziente Gewinnung pharmazeutischer Wirkstoffe aus Wasserdampf-Hydrolaten und Destillationsrückständen“ wird über das BMEL und über die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. gefördert (Fkz.: 22021517).



Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages

