

Abschlussbericht

Aufbau einer Herkunftsdatenbank für Wildpflanzensaatgut krautiger Pflanzen und Entwicklung eines analysebasierten Rückverfolgbarkeitssystems

Markus Boner, Florian Cueni, Sabine Hofem, Ann Kareen Mainz, Lina Michely, Markus Wieden



Gefördert durch die Deutsche Bundesstiftung Umwelt

Durchgeführt durch: 1) Agroisolab GmbH, Prof. Rehm Straße 6, 52428 Jülich
2) Verband deutscher Wildsamens- und Wildpflanzenproduzenten e.V.,
Wetzlarer Str. 11, 35581 Wetzlar

November 2018

| | | | | | |
|--|------------------|---|-------------------|------------------------------------|-----------------------|
| 06/02 | | Projektkennblatt der Deutschen Bundesstiftung Umwelt | | | |
| Az | 32853 | Referat | 31 | Fördersumme | 79.927,00 Euro |
| Antragstitel | | Aufbau einer Herkunftsdatenbank für Wildpflanzensaatgut krautiger Pflanzen und Entwicklung eines analysebasierten Rückverfolgbarkeitssystems | | | |
| Stichworte | | Saatgut, Herkunft, Isotope, Rückverfolgung, Chemisches Fingerprinting, Modellierung | | | |
| Laufzeit | 24 Monate | Projektbeginn | 17.05.2016 | Projektende | 30.11.2018 |
| Endbericht | | | 1 | Projektphase(n) | 1 |
| Bewilligungsempfänger | | Agroisolab GmbH Prof. –Rehm- Straße 6 52428 Jülich | | Tel | 02461/ 931 34 10 |
| | | | | Projektleitung Dr. Markus Boner | |
| | | | | Bearbeiter S. Hofem | |
| Kooperationspartner | | Verband deutscher Wildsamens- und Wildpflanzenproduzenten e.V., Wetzlar Wetzlarer Str. 11 35581 Wetzlar | | | |
| <p>Zielsetzung und Anlass des Vorhabens</p> <p>Die Anwendung von Wildpflanzensaatgut für Naturschutzzwecke hat sich in den letzten 10 Jahren mit Förderung durch das Bundesnaturschutzgesetz (BNatschG) und das Europäische Saatgutrecht (EU-Richtlinie 2010/60) stark erhöht. Aufgrund der heutigen großen Nachfrage besteht jedoch die Gefahr, dass ebenfalls Saatgut unbekannter Herkunft (z.B. aus Niedriglohnländern) in diesen Markt eingebracht und als heimisch bzw., regional deklariertes Wildpflanzensaatgut verkauft wird. Für eine Überprüfung solcher unbekanntenen Herkünfte gab es bis heute keine analytische Vorgehensweise.</p> <p>Das Projekt ist als ein „Proof of Concept“ angelegt. Es soll dabei die Möglichkeit verifiziert werden, die Herkunft von krautigem Saatgut mit analytischen Methoden rückverfolgbar zu gestalten. Das analytische System soll dabei möglichst praxisnah eingesetzt werden, indem z.B. die Rückführung der Herkunftsbestimmung auf eine vorher festgelegte Gebietsdefinition (siehe auch DBU Vorläuferprojekt 23931) erreicht wird.</p> <p>Zusammenfassung der Arbeitsschritte</p> <p>In zwei Probennahmen im Jahr 2016 und 2017 wurden gemäß einem vorgegebenen Probenraster innerhalb von Deutschland 4 bis 7 Arten gezogen. Insgesamt standen 431 Referenzen aus Deutschland zur Verfügung. Des Weiteren wurden 25 ausländische (europäische) Proben insbesondere im Jahr 2017 hinzugezogen. Alle Proben wurden vorsortiert, getrocknet, entfettet und feinvermahlen. Das Pulver wurde sowohl für die Analyse der stabilen Isotope der Bioelemente (COHNS) eingesetzt als auch nach Equilibrierung für Nah-Infrarot-Messungen (NIR) genutzt.</p> <p>Zusätzlich wurde an der Art <i>Tragopopon</i> ebenfalls die Konzentration von fünf Elementen (Rb, Sr, Ba, Mn, Ti) bestimmt.</p> | | | | | |

Kurzergebnisse und Diskussion

- Die großräumigen Trennfaktoren des Wassers werden in den krautigen Pflanzen nur unzureichend widergespiegelt. Es überlagern die Effekte der Temperatur insbesondere saisonale Effekte und Luftfeuchtigkeit. Dies unterbindet eine regionale Differenzierung.
- Der Einfluss der Höhe hat signifikante Auswirkungen auf die Isotopenverhältnisse von D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$. Dies ist in einer Herkunftsanalyse entsprechend zu berücksichtigen.
- Der Einfluss des Erntezeitpunktes hat keine signifikanten Auswirkungen auf die Isotopenverhältnisse von D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$.
- Die $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotopenverhältnisse liefern eine Indikation der klimatischen Aufwuchsbedingungen der Pflanze. Eine jahresübergreifende Anwendung ist zwar möglich, jedoch ist immer die Übertragbarkeit mit Referenzen zu prüfen.
- Die $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ und $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ Isotopenverhältnisse liefern jahresübergreifende Differenzierungsmöglichkeiten der Herkunft von krautigem Saatgut.
- Die Stabil-Isotopen-Signaturen als auch das NIR Profiling sind nicht hinreichend geeignet eine signifikante Differenzierung der vordefinierten Regionen (DBU Projekt: 23931) zu gewährleisten. Erst durch die Kombination beider Methoden sind Anwendungsmöglichkeiten (z.B. *Festuca*, *Lotus*) zur Differenzierung der Regionen innerhalb eines Referenzierungsjahres gegeben.
- Das NIR Profiling ist stark abhängig vom Erntejahr und nicht auf das Folgejahr übertragbar. Dagegen sind die Stabil-Isotopen-Daten robuster (siehe auch Stickstoff / Schwefel).
- Jahresübergreifende Differenzierung der Regionen konnte weder mit einer Einzelmethodik, Kombination von Stabilen Isotope und NIR, noch mit zusätzlichen Parameter aus der Element-Bestimmung von fünf Elementen (Rb, Sr, Ba, Mn, Ti) erreicht werden.
- Eine Verifizierung der lokalen (Feld) Herkunft ist eine Möglichkeit die stabilen Isotope in Kombination mit Elementanalytik (Rb, Mn) effektiv und aussagekräftig einzusetzen
- Eine Modellierung der $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ und D/H Isotopenverhältnisse ist möglich bzw. kann für die verschiedenen Arten entwickelt werden. Daraus resultiert eine Möglichkeit diese Isotopensignaturen unabhängig von überlagernden Einflüssen (Temperatur, Luftfeuchtigkeit) darzustellen und einen regionalen Bezug auszuarbeiten.
- Die Einbindung modellierter $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Daten erzielt eine Optimierung der lokalen (Feld) Differenzierung. Differenzierung von 31 lokalen Orten zeigt 80 % Differenzierungswahrscheinlichkeit.
- Die Stabil-Isotopen-Methode liefert nach dem derzeitigen Kenntnisstand gute Möglichkeiten ausländische Saatgutproben nachzuweisen. Der Nachweis ist jedoch nicht abschließend, d.h. Herkunft von Saatgut aus Ländern wie England bzw. Tschechien sind alleine mit den stabilen Isotopen wahrscheinlich nicht nachzuweisen. Eine Ausdehnung der Analytik ist entsprechend notwendig.

Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation

Das Projekt war durch die Einbindung eines Beirates mit Mitgliedern aus der Saatgut-Branche als auch behördlichen Vertretern darauf ausgelegt Informationstransfer der analytischen Möglichkeiten zu gewährleisten.

Des Weiteren wurden die Ergebnisse auf einem Saatgut-Seminar (29-08-2018) in Wetzlar interessierten Vertretern der Branche, Verbände, Behörde vorgestellt und diskutiert. Darauf aufbauend ist der Leitfaden (Anhang) aufgesetzt worden. Neben weiterer Veröffentlichungen (Planung: peer reviewed paper in 2019), ist es geplant die entwickelten Methoden nun in Beispielprojekten bzw. Verifizierungsanalyse weiter bekanntzumachen. Aufgrund der Ergebnisse der ausländischen Saatgutproben ist ebenfalls eine Vorstellung auf einer europäischen Saatgut-Konferenz in Planung.

Fazit

Das direkte Ziel der Herkunftsüberprüfung der vordefinierten Regionen (nach DBU: 23931) kann nicht gewährleistet werden bzw. ist nur in Ausnahmen möglich. Eine Fokussierung der Herkunftsanalyse auf lokale (Feld) Differenzierung ist jedoch ein effektiver Ansatz Herkunftsüberprüfungen im Saatgut durchzuführen bzw. unbekannte Proben auf wenige Herkunftsmöglichkeiten einzuschränken.

Abschließend ist insbesondere die Stabil-Isotopen-Methode in vielen Fällen geeignet ausländisches (europäisches) Saatgut von deutschem Saatgut zu unterscheiden.

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Projektkennblatt..... | 2 |
| Aufgabenstellung | 5 |
| Begleitender Beirat zum Projekt | 8 |
| Probennahme..... | 9 |
| Probennahme-Konzept | 9 |
| Probennahme - Durchführung | 9 |
| Probenprüfung | 10 |
| Probenaufbereitung | 10 |
| Probendaten..... | 10 |
| Grundlagen der Analytik | 10 |
| Die Stablen Isotope der Bioelemente | 10 |
| Nah-Infrarot-Spektroskopie – das chemische Fingerprinting..... | 12 |
| ICP-MS – Die Elemente als Indikator der Geologie | 12 |
| Material und Methoden..... | 12 |
| Isotopenmassenspektrometrie (IRMS) | 12 |
| Nah-Infrarot-Spektroskopie (NIRS) | 14 |
| Statistik..... | 16 |
| Ergebnisse und Diskussion | 17 |
| Die Isotopenverhältnisse von $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ und D/H zur regionalen Differenzierung..... | 17 |
| Einfluss des Höheneffektes auf die D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse | 23 |
| Einfluss der Erntezeitpunkte auf die D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse | 25 |
| Die $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotopenverhältnisse als Klima/Boden-Index | 27 |
| Die lokalen Isotopenverhältnisse von $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ und $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ | 28 |
| Neues Konzept – Verifizierung der lokalen Herkunft..... | 35 |
| Pflanzenphysiologische Modelle zur Wachstumsort-Vorhersage von Saatgut | 38 |
| Neues Konzept II – Verifizierung der lokalen Herkunft mit modellierten $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Werten | 42 |
| Nachweis der Herkunft von ausländischem Saatgut | 43 |
| Fazit | 47 |
| Anhang: | 48 |
| Referenzen | 60 |

Aufgabenstellung

Grünlandflächen in Europa sind stark betroffen von der vorherrschenden intensiven Landnutzung, der damit einhergehenden Degradierung natürlicher Lebensräume und zeigen einen enormen Verlust in der Biodiversität (Durka 2016). Um dem Verlust des Lebensraums „Grasland“ entgegen zu wirken, hat sich die Europäische Union dazu verpflichtet, bis 2020 15 % des degradierten Ökosystems zu restaurieren (De Vitis et al., 2017). Der Einsatz von regional angepasstem Saatgut ist essentiell, um die Erfolgchance auf die Wiederherstellung des natürlichen Lebensraums zu verbessern sowie die damit einhergehende regionale Biodiversität und das ökologische Gleichgewicht (kein Eintrag von invasiven Spezies) wiederherzustellen.

Auf Grund der genetischen Anpassung der Pflanzen und damit der regional gezogenen Pflanzensamen an die spezifischen, standortbezogenen Bedingungen (Klima, Zusammensetzung des Bodens, Wasserressourcen) erhöht die Verwendung regionalen Saatguts die Erfolgchance auf eine zeitlich gesehen stabile Renaturierung mit einer für die Region natürlichen Artenvielfalt. Quantitative Studien hierzu haben zum Beispiel gezeigt, dass im Mittel regional angepasste Pflanzen bis zu 10 % mehr Blütenstände und 7 % mehr Biomasse im Vergleich zu örtlich und somit genetisch entfremdeten Pflanzen produzieren (Bucharova et al., 2017). Diese standortbezogenen Faktoren werden allgemein unter dem Begriff „Fitness“ zusammengefasst, welche als „Performance“ der Pflanze in unterschiedlichen Lebensräumen aufgefasst wird. Der Rahmen für eine erfolgreiche Restaurierung der Graslandflächen mit regionalem Saatgut sowie eine naturschutzverträgliche Produktion von Wildsamen in Deutschland wurde in einem von der DBU geförderten Vorläufer- Projekt „Entwicklung und praktische Umsetzung naturschutzfachlicher Mindestanforderungen an einen Herkunftsnachweis für gebietseigenes Wildpflanzensaatgut krautiger Pflanzen“ (2010) erarbeitet (Abbildung1).

Diese Vorarbeit des DBU Projektes von 2010 war besonders wichtig, da das Bundesnaturschutzgesetz für Deutschland festlegt, dass ab März 2020 nur noch heimisches/regionales Saatgut bei der Renaturierung von Graslandflächen zum Einsatz kommen darf (Abbandonato et al., 2018). Die größte Hürde bei der Rekultivierung degradierten Graslands mit regionalem Saatgut liegt jedoch bereits bei der bloßen Verfügbarkeit von qualitativ hochwertigem, regional authentischen (zertifizierten) und kosteneffizienten Saatgut (Abbandonato et al., 2018; Mainz und Wieden, 2018). Die „heutige“ regionale Wildpflanzensamenproduktion ist nicht in der Lage den Bedarf an regionalem Saatgut zu decken. Um der Bundesnaturschutzgesetzverordnung ab 2020 zu entsprechen, müsste die Produktion in den Jahren von 2016 bis 2020 schätzungsweise um ein 10faches gesteigert werden (<http://ser-insr.org/webinars/2016/11/17/native-seed-production-in-germany>). Die Kombination aus der limitierten Menge an regionalem Saatgut, dem Vorhaben der EU 15 % des degradierten Ökosystems bis 2020 zu restaurieren sowie den Einschränkungen des Bundesnaturschutzgesetzes ab 2020 ausschließlich heimisches Saatgut zu verwenden, forciert unweigerlich den Eintrag von regional entfremdeten Wildsamen. Darüber hinaus besteht eine dauerhafte Gefahr des Eintrags von kostengünstigerem, qualitativ fragwürdigen, ausländischen Saatgut aus einem weitestgehend unkontrollierten europäischen Markt (Abbandonato et al., 2018). Neben der offensichtlichen Gefahr invasiver Neophyten, greift das ausländische Saatgut auf einen völlig entfremdeten Genpool zurück, dessen Folgen für das regionale Ökosystem nicht einschätzbar sind.

Auf Grund der angespannten Marktsituation bei regionalem Saatgut ist es umso wichtiger für den Erfolg der Renaturierungsbemühungen die Marktflüsse anhand von unabhängigen/nicht verfälschbaren Parametern zu kontrollieren. Qualitätssiegel wie das „VWW-Regiosaat®“ können grundsätzlich als Richtlinie für regionale Wildsamens dienen, fälschungssicher sind diese Siegel jedoch nicht. Fehldeklarationen treten vor allem dann auf, wenn mit Marktengpässen zu rechnen ist und sich dadurch ein finanzieller Vorteil ergibt.

Im Wesentlichen bieten sich zwei „technische“ Möglichkeiten der Herkunftskontrolle an; der genetische sowie der isopenchemische Nachweis. Wichtig ist, dass beide Methoden einen unterschiedlichen Ansatz verfolgen und in ihrer Aussagekraft nicht austauschbar, sondern ergänzend zueinander zu betrachten sind. Während sich die Herkunftüberprüfung anhand von genetischen Markern ausschließlich mit der genetischen Identität (genetische Herkunft) beschäftigt, kann die Isopenanalytik Aufschluss über den wirklichen Wuchsort (geographische Herkunft) einer Pflanze/Pflanzensamens geben. Der Wuchsort kann unabhängig von der genetischen Identität (Genotyp) betrachtet werden. Erste Erkenntnisse zu einem potentiellen Sicherungssystem der Herkunft von Saatgut stammen aus einer auf Literatur-Recherchen basierten Machbarkeitsstudie, bei der neben der im Fokus liegenden genetischen auch isopenchemische Nachweismöglichkeiten der Herkunft von Pflanzensamens eruiert wurden (Durka, 2009). An dieser Stelle setzt nun das Vorhaben des DBU Projektes zu dem bis dato unterschätzten Potential der isopenchemischen Herkunftüberprüfung in Kooperation mit der Agroisolab GmbH und dem VWW an.

Zielsetzung dieses „Proof of Concept“ Projektes ist es, die isopenchemischen Möglichkeiten zu verifizieren und die Herkunft von „Wiesen“-Saatgut mit analytischen Methoden rückverfolgbar zu gestalten. Hierbei steht vor allem die praxisnahe Einsatzmöglichkeit im Vordergrund, sodass der „regionale Begriff“ angelehnt wurde an die Gebietsdefinitionen wie sie z.B. im DBU Vorläuferprojekt erarbeitet worden sind. Als Leitfaden des Projektes dient entsprechend die Einteilung der Region gemäß folgendem Muster:

NW: Nordwestdeutsches Tiefland
 NO: Nordostdeutsches Tiefland
 MD: Mitteldeutsches Flach- und Hügelland
 WB: Westdeutsches Berg- und Hügelland
 SO: Südost- und ostdeutsches Bergland
 SW: Südwestdeutsches Berg- und Hügelland mit Oberrheingraben
 SD: Süddeutsches Berg- und Hügelland
 AV: Alpen- und Alpenvorland

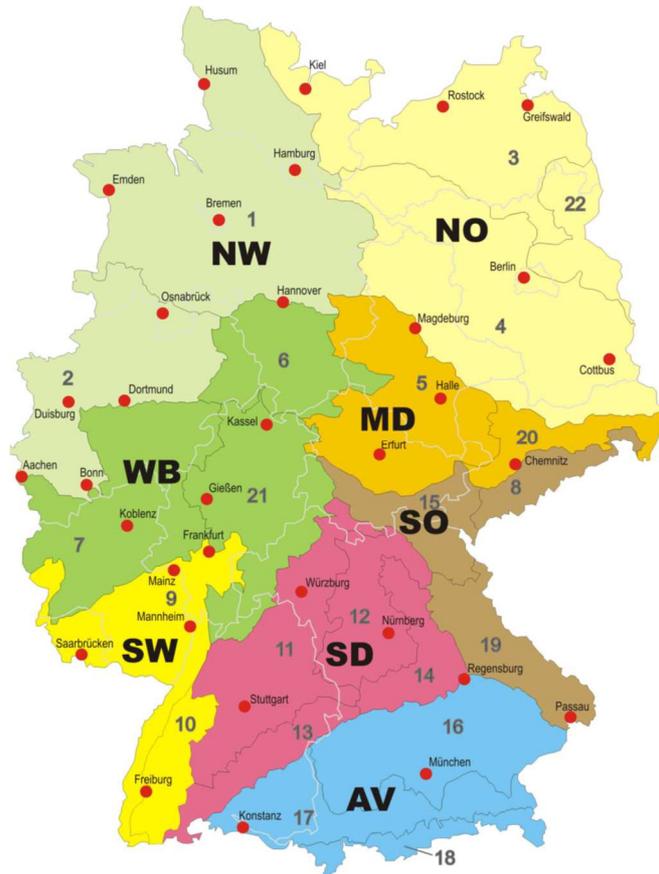


Abbildung 1: Karte der vordefinierten Saatgut-Regionen (DBU Projekt: 23931)

Zur analytischen Beschreibung der vordefinierten Gebiete ist es notwendig diese anhand von Referenzproben zu beschreiben. Dazu werden aus den Referenzen chemische / physikalische Herkunftssignaturen ermittelt, die sowohl durch die natürliche Umgebung als auch anthropogene Faktoren hinterlassen worden sind.

Entsprechend ergeben sich zwei wesentliche Arbeitsschritte, die in diesem Projekt durchgeführt worden sind:

Erarbeitung eines räumlichen Probenkatasters (Referenzproben), Entwicklung von analytischen Differenzierungsmöglichkeiten, die als Anwendung-Guidelines genutzt werden können.

Im Zuge des Projektes wurde die Herkunftsüberprüfung auf zwei Kriterien aufgeteilt, indem einerseits die regionale Herkunftsüberprüfung verifiziert (definierte Herkunftsgebiete) und andererseits das Projekt auf eine länderspezifische Herkunftsprüfung ausgedehnt wurde.

Das Projekt wurde über zwei Jahre ausgelegt, um mögliche jahresabhängige Schwankungen erkennen und quantifizieren zu können. Dies erlaubt an ersten Modellierungen zu arbeiten, welche es ermöglichen insbesondere jahresabhängigen Faktoren zu negieren.

Begleitender Beirat zum Projekt

Die zielgerichtete Lösung der Fragestellung ist hinreichend komplex, da z.B. die Auswahl der Testproben, die Art und Durchführung der Probennahme insbesondere der ausgewählten Lokalitäten, die Aufarbeitung der Proben und die eingesetzte Analytik Auswirkungen auf die Güte der Herkunftsdimensionierung haben kann.

Entsprechend wurde ein wissenschaftlicher Beirat im Projekt implementiert, indem die Ausrichtung des Projektansatzes, die wissenschaftlichen Fortschritte und die Probleme diskutiert wurden.

Ein weiteres Ziel war der schnelle und zielgerichtete Wissenstransfer von erarbeiteten Erkenntnissen aus dem Projekt.

Der Beirat wurde entsprechend aus fachkundigen Experten der öffentlichen Hand bzw. der Niedersächsischen Landesbehörde für Straßenbau und Verkehr (Dr. M. Asseburg), der Hochschule Osnabrück (Prof. Dr. K. Kiehl), der Hochschule Anhalt (Dr. A. Kirmes) und dem Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung (Dr. W. Durka) sowie des Projektgebers DBU (Dr. M. Hempel) besetzt.

Die begleitende Diskussion der Forschungsergebnisse im Beirat war für die Durchführung des Projektes sehr hilfreich. So wurde im Zuge des Projektes der Fokus insbesondere auf den Nachweis von ausländischem Saatgut erweitert und in der zweiten Probennahme Runde entsprechend vertieft.

Insgesamt wurden im Projekt zwei Beiratssitzungen am 15.03.2017 und 12.04.2018 bei der DBU in Oldenburg durchgeführt.

Probennahme

Probennahme-Konzept

Für eine kleinräumige Analyse wurde die Fläche der BRD 40 gleichgroßen Quadraten (Abbildung 2) zugeordnet. In jeder dieser Rasterflächen sollte mindestens eine Probennahme je Art möglichst nah am Zentrum stattfinden.

In 2017 und 2018 wurden zusätzlich zur Rasterfeldbeprobung 25 Proben ausländischer Herkunft gezogen.

Die Probennahme in 2017 wurde ebenfalls durch die Fragestellung des Höheneffektes auf die Isotopenverhältnisse erweitert. Entsprechend wurden innerhalb der deutschen Herkunft insgesamt an 4 Stellen (Schwarzwald, Rhön, Fränkische Schweiz, Taunus) Höhentransekte besammelt, um zu prüfen, ob innerhalb einer Region durch klimatische Unterschiede auch Unterschiede in den Analysewerten zu finden sind.

Ebenso wurde der Einfluss unterschiedlicher Sammelzeiten geprüft.

Die umgesetzten Beprobungsorte sind in den Abbildungen 27 bis 28 des Anhangs verfügbar.



Abbildung 2: Karte der 40 Planquadrate für die Probensammlung

Probennahme - Durchführung

Die Gewinnung der Samen erfolgte durch örtliche Fachleute, überwiegend durch Sammlung. Ein kleiner Teil des Saatgutes stammt auch aus Anbaukulturen zertifizierter Saatgutvermehrter des VWW.

Es war nicht möglich, alle Pflanzenarten innerhalb jedes Rasterfeldes zu sammeln. Das lag überwiegend daran, dass die jeweilige Art dort nicht aufgefunden werden konnte, zu einem kleinen Teil waren auch organisatorische und persönliche Gründe Ursache für fehlende Proben. Die insgesamt erzielte Verteilung über die Rasterfelder geben die Abbildungen x und y im Anhang wieder.

Die Proben wurden immer von Hand gesammelt und in unterschiedlichen Reinigungsstufen an die Geschäftsstelle des VWW geschickt. Dort wurden die Proben registriert und aufbereitet oder zur Reinigung an eine beauftragte Stelle weitergeleitet. Vorgegeben war eine Mindestmenge reiner Samen von 2 cm³, welches in der Regel erreicht wurde. Das Saatgut wurde nicht auf baulich veränderten Standorten, entlang von Verkehrswegen oder auf

hochintensiven landwirtschaftlichen Flächen gesammelt, um chemische Störeinflüsse zu vermeiden. Auch Überflutungen, Bewässerungen oder Beschneidungen sollten vermieden werden.

Probenprüfung

Alle Proben durchliefen eine Sichtprüfung auf Vitalität, Reifegrad, Menge, Reinheitsgrad und Artzuordnung. Die erhobenen Daten wurden dabei in artbezogenen Tabellen abgelegt und für die weitere Auswertung verfügbar gehalten. Bei der Artzuordnung ist allerdings anhand der Samen nicht jede Art erkennbar, z. B. lässt sich nicht erkennen, ob es sich um Horstrotschwengel- oder Ausläuferrotschwengel handelt. Auch kann nicht ausgeschlossen werden, dass es sich in Einzelfällen um weitere Kleinarten handelt, wie Bläuliche Wiesenrispe (*Poa humilis*) oder Kleinköpfiger Bocksbart (*Tragopogon minor*). Einzelne Proben wurden als Fehlbestimmung aussortiert. Hierfür wurden unsicher bestimmte Proben auch an das spezialisierte Labor bei "Appels Wilde Samen" geschickt (Abbildung 3 Bocksbart ungereinigt, gereinigt).

Probenaufbereitung

Alle Proben wurden soweit gereinigt, dass sie mit verkaufsfertiger Handelsware in der Qualität übereinstimmen. Die Reinigung wurde in Kleingeräten oder von Hand durchgeführt. Die Arbeit wurde auf mehrere Orte mit Experten für Saatgutreinigung verteilt. Der hierfür kalkulierte Zeitaufwand wurde erheblich überschritten, da die Saatgutlieferungen in großer Heterogenität erfolgten. Bei den Gräsern musste z.T. das Korn noch von den Stängeln getrennt (gedroschen) werden, z.T. mussten einzelne Fehlarten zwischen den Zielarten herausgelesen werden, bei vielen Samen musste mit aufwändiger Windsichtung Spreu und Saatkorn getrennt werden. Der erhöhte Aufwand kam auch dadurch zustande, dass viel weniger Vermehrungsbetriebe Proben einreichen konnten, als vorgesehen war, da viele Betriebe in ungeeigneter Randlage in den Rasterfeldern liegen. Die Vermehrungsbetriebe verfügen i.d.R. über eine professionelle Saatgutaufbereitung und übernehmen den Großteil der Reinigungsarbeiten somit selbst.

Probendaten

Neben den Analysedaten wurden zur Interpretation der Ergebnisse auch zahlreiche Daten zur Probengewinnung mit erhoben. Hierzu zählen z.B. Standortmerkmale wie Bodenwasserversorgung, Nutzung, Düngung, Geologie, Höhenlage usw. Diese Daten wurden über ein einheitliches Erhebungsprotokoll erfasst.

Grundlagen der Analytik

Die Stablen Isotope der Bioelemente

Die stabilen Isotope haben sich in den letzten Jahren als eine der leistungsfähigsten Möglichkeiten etabliert, die Herkunft von Agrarrohstoffen und Lebensmitteln nachzuweisen. Ähnlich dem genetischen Fingerabdruck kann durch die Nutzung verschiedener stabiler Isotope ein physikalischer Fingerabdruck erstellt werden.

Die derzeit genutzten stabilen Isotope, insbesondere Wasserstoff, Kohlenstoff, Stickstoff, Sauerstoff und Schwefel bieten dabei unterschiedliche Informationen zur geographischen Herkunft. So ist seit langem bekannt, dass sich das Wasser regional in den Isotopenverhältnissen des Wasserstoffs und Sauerstoffs unterscheidet [Craig 1961]. Heute liegen Modelle dieser weltweiten regionalen Verteilung vor [West 2010]. Pflanzen und Tiere nutzen dieses Wasser und spiegeln die Isotopenverhältnisse des regionalen Wassers in ihrem Gewebewasser wider. Diese Wassersignatur wird jedoch in der Pflanze nicht direkt wiedergegeben, sondern ist im Wesentlichen abhängig vom Wasserhaushalt der Pflanze [Sternberg 2009]. Es ist deshalb notwendig, Herkunftsdatenbanken auf Basis von Referenzen aufzubauen. Als Gedächtnis bleiben die Wassersignaturen ebenfalls in der Organik erhalten. So kann die Herkunft anhand der Isotopensignaturen des Wassers bis in die Lipide, z.B. Olivenöl aufgezeigt werden [Angerosa 1999].

Diese Möglichkeiten der Wassersignaturen der stabilen Isotope werden in der forensischen Analytik weitreichend genutzt. So wurden auf Basis der $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ und D/H Isotopenverhältnisse des menschlichen Haares Herkunftskartierungen (Abbildung 3) amerikanischer Bürger vollzogen [Ehleringer 2008].

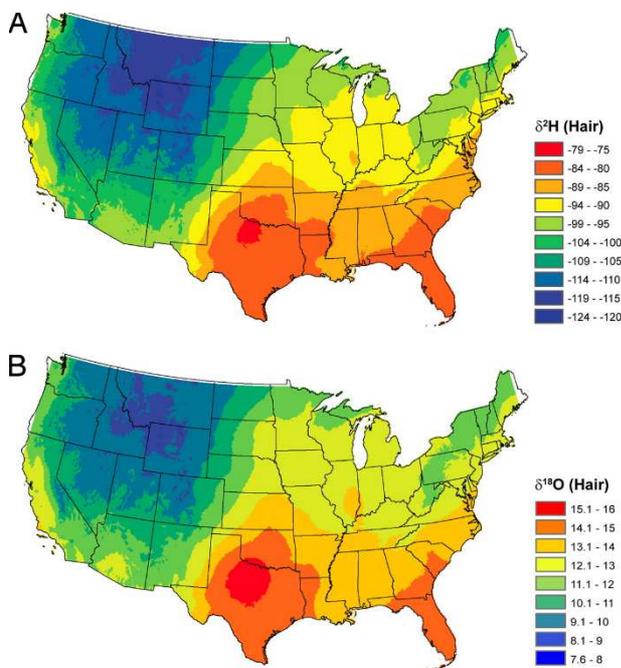


Abbildung 3: Verteilung der Isotopenverhältnisse im Haar amerikanischer Bürger.

In der Regel sind diese Isotope als großräumige Trennfaktoren anzusehen.

Die weiteren Isotope des Stickstoffs und des Schwefels spiegeln anthropogene und geologische Einflüsse wider, welche eine kleinräumige Differenzierung ermöglichen. So beeinflusst der eingesetzte Dünger die Isotopenverhältnisse des Stickstoffs in der Pflanze [Bateman 2007]. Die Isotopenverhältnisse des Schwefels spiegeln die lokalen geologischen Isotopenverhältnisse wider und können insbesondere zur kleinräumigen Differenzierung genutzt werden [Boner 2004]. Die Isotopenverhältnisse des Kohlenstoffs sind im Gewebe mit dem Wasserhaushalt der Pflanze gekoppelt und verweisen dadurch auf die klimatischen Gegebenheiten der Region [Körner 1991]. Die Kombination dieser Isotope ermöglicht es heute, die Herkunft einer Vielzahl von Produkten zu überprüfen [Kelly 2005]. Entsprechend

existieren heute ebenfalls verschiedene Herkunftsdatenbanken wie etwa von Wein, Spargel, Holz (WWF/DBU, ITTO) und Guidelines ihrer Anwendung (z.B. UNODC-Guide: Elfenbein). Die stabile Isotope Methode ist eine der wenigen Analysemöglichkeiten, die zur Herkunftsanalyse vor Gericht anerkannt ist [Camin 2017].

Im Rahmen des „Wasserzeichen“-Projektes der BLE (Bundesamt für Landwirtschaft und Ernährung) wurde ebenfalls aufgezeigt, dass die Kombination der Isotope geeignet ist, die kleinräumige regionale Herkunft am Beispiel von landwirtschaftlichen Agrarprodukten (z.B. Getreide) aus Hessen nachzuweisen (BLE-Projekt: Wasserzeichen, Förderkennzeichen: 2819102513, in Publikation).

Nah-Infrarot-Spektroskopie – das chemische Fingerprinting

Zunehmend liegen heute Publikationen vor, Herkunftsaussagen mit der Nah-Infrarot-Technik (NIR) zu vollziehen. Anhand von Haselnüssen [Roberto 2014], Tee [Si-Min 2014] und Olivenöl [Galtier 2007] bis hin zu Holz [Sandak 2011] konnten schon gute Ergebnisse einer Herkunftsdifferenzierung aufgezeigt werden.

Die NIR-Analyse basiert auf der Auswertung eines chemischen Fingerprints der Probe. Sie verfolgt den Ansatz, dass Pflanzen in ihrer Wachsumgebung durch Klima, Hydrologie, Boden und Nährstoffsituation bis hin zu Stressfaktoren beeinflusst werden und dies in der chemischen Zusammensetzung widerspiegeln.

Einerseits ist die NIR im Gegensatz zur Stabil-Isotopen-Methode preiswerter, andererseits ist in der Regel die Übertragbarkeit dieser Signaturen ins Folgejahr wesentlich schwieriger, da kleine Änderungen in den Umweltbedingungen signifikante Auswirkungen auf die Differenzierung haben bzw. eine Differenzierung verhindert wird.

Dennoch stellt der chemische Fingerprint eine interessante Ergänzung zu den Signaturen der stabilen Isotope dar und wurde in diesem Projekt erstmalig als Kombination eingesetzt.

ICP-MS – Die Elemente als Indikator der Geologie

Als Ergänzung der beiden Methoden der Stabil-Isotopen und Nah-Infrarot-Spektroskopie wurden exemplarisch weitergehende Parameter geprüft.

So wurden Konzentrationen von Rubidium, Strontium, Barium, Mangan und Titan in den Samen analysiert, welche wiederum eine geologische Signatur des lokalen Ortes widerspiegeln. Diese fünf Elemente wurden in verschiedenen Studien zur Herkunftsbestimmung [Giaccio 2008] immer wieder als möglicher Differenzierungsparameter benannt und entsprechend für das Projekt ausgewählt.

Die ICP-MS Analyse erfolgte nach einem Mikrowellenaufschluss gemäß DIN EN 15763 in einem Partnerlabor.

Material und Methoden

Isotopenmassenspektrometrie (IRMS)

Im Projektzeitraum vom 17.05.2016 bis zum 30.11.2018 konnten insgesamt 229 Proben für das Jahr 2016 und 227 Proben für das Jahr 2017 für die Messungen zur Verfügung gestellt werden.

Die verschiedenen Proben teilen sich dabei in verschiedene Arten auf (siehe Tabelle 1). Im zweiten Probenjahr wurde die Artenanzahl auf 4 Leitarten von *Poa*, *Festuca*, *Lotus* und *Tragopogon* reduziert. Ziel war es einerseits eine höhere Informationsdichte zu erzielen und andererseits aufgeworfene Fragestellungen insbesondere des Höheneffektes und der variablen Erntezeitpunkte aufzudecken.

| <u>Art</u> | <u>2016</u> | <u>Detail</u> | <u>2017</u> | <u>Detail</u> |
|-------------------|-------------|--|-------------|--|
| Poa | 36 | P. angustifolia: 28 P. pratensis: 8 | 41 | P. angustifolia: 11 P. humilis: 2 P. pratensis: 28 |
| Festuca | 34 | F. rubra: 33 F. ovina: 1 | 35 | F. rubra: 33 F. nigresceus: 2 |
| Lotus | 40 | L. corniculatus | 52 | L. corniculatus |
| Tragopogon | 47 | T. pratensis: 79 | 84 | T. pratensis: 81 T. dubius: 2 T. porrifolius: 1 |
| Pimpinella | 28 | P. saxifraga | 3 | P. saxifraga |
| Knautia | 40 | K. arvensis | 2 | K. arvensis |
| Corylus | / | / | 10 | C. avellana |
| Prunella | 4 | Prunella vulgaris | | |
| Gesamt | 229 | | 227 | |

Tabelle 1: Übersicht über die Erntejahre und die verschiedenen gezogenen Arten.

Alle vorbereiteten Proben wurden nach einer Feinstvermahlung in einer Kugelmühle (Retsch) mit Hilfe einer Soxhlet-Extraktion entfettet (Dichlormethan). Im Anschluss wurden die stabilen Isotopenverhältnisse analysiert.

Zur Bestimmung dieser stabilen Isotopenverhältnisse wird die Stabil-Isotopen-Massenspektrometrie (IRMS) verwendet.

Das Anwendungsgebiet der IRMS-Systeme (Isotope Ratio Mass Spectrometer) liegt in der Bestimmung der „leichten“ Elemente, besonders der stabilen Isotope der Bioelemente. Zur Detektion im Massenspektrometer ist es notwendig, die stabilen Isotope der Bioelemente (COHNS) dem Massenspektrometer in Gasform zuzuführen, weshalb gelegentlich der Zusatz (GIRMS = gasIRMS) verwendet wird.

Einen detaillierten Einblick über die Technik der IRMS und deren Besonderheiten sind in verschiedenen Arbeiten verfügbar (Posser 1993).

Folgende Gerätekonfigurationen wurden für die Vermessung der stabilen Isotope der Bioelemente eingesetzt (Tabelle 2).

| Isotope | Elementanalysator/Verbrennung | Isotopenmassenspektrometer |
|---|--|----------------------------|
| D/H (org.) | Hochtemperaturofen (Hekatech, 1550° C) | Isoprime, Elementar |
| ¹⁸ O/ ¹⁶ O (org.) | Hochtemperaturofen (Hekatech, 1550° C) | Isoprime, Elementar |
| ¹³ C/ ¹² C | Elementanalysator NA 1500 (Carlo Erba) | Horizon, NU-Instruments |
| ¹⁵ N/ ¹⁴ N | Elementanalysator NA 1500 (Carlo Erba) | Horizon, NU-Instruments |
| ³⁴ S/ ³² S | Elementanalysator EA 3000 CN (Euro Vector) | Horizon, NU-Instruments |

Tabelle 2: Übersicht über die eingesetzte Analytik

Die Werte der stabilen Isotopenmessung werden in der Regel als Verhältniszahl [%] in Bezug zu einem internationalen Standard angegeben. Die Isotopenzusammensetzung des internationalen Referenzstands dient als Bezugspunkt bzw. Nullwert der Skalierung. Entsprechend verweisen positive Isotopenwerte auf höhere Anteile (angereichert) am jeweils schweren Isotop und negative Isotopenwerte auf erniedrigte Anteile (abgereichert).

Als Maßzahl der Isotopenverhältnisse hat sich seit über 60 Jahren die Delta-Notation durchgesetzt, welche die Abweichung von einem internationalen Referenz-Standard angibt. Die Isotopenzusammensetzung des internationalen Referenzstandards dient als Bezugspunkt beziehungsweise Null-Wert der Skalierung. Exemplarisch wird dies am Beispiel des Kohlenstoffs dargestellt:

$$\delta^{18}\text{O} = \left(\frac{R_{pr} - R_{ref}}{R_{ref}} \right) * 1000$$

mit $R_{pr} = [\text{C}^{18}\text{O}] / [\text{C}^{16}\text{O}]$ in der Probe

und $R_{ref} = [\text{C}^{18}\text{O}] / [\text{C}^{16}\text{O}]$ im Internationalen Standard

Zur Kalibrierung der Isotopenmassenspektrometer (IRMS) werden die nachfolgend aufgeführten internationalen Standards der IAEA (International Atomic Energy Agency) und der USGS (United States Geological Survey) verwendet (Tabelle 3).

| Element | IAEA Standards |
|---|------------------------------------|
| D/H(org.) | IAEA-CH7, NBS22, USGS54 |
| ¹⁸ O/ ¹⁶ O (org.) | IAEA-601, IAEA-602, USGS-54 |
| ¹³ C/ ¹² C | IAEA-CH7, IAEA-C7, USGS-54, USGS61 |
| ¹⁵ N/ ¹⁴ N | IAEA-N1, IAEA-N2, USGS61 |
| ³⁴ S/ ³² S | IAEA-S1, IAEA-S2, IAEA-S3 |

Tabelle 3: Übersicht über die zur Analytik eingesetzten internationalen Standards

Nah-Infrarot-Spektroskopie (NIRS)

Die Nah-Infrarot-Spektroskopie ist einerseits eine einfach einzusetzende Methode, so wird die Reflexion einer Probe (z.B. Pulver) in dem Wellenlängenbereich von 780-2500 nm vermessen.

Andererseits ist die Reproduzierbarkeit der Gesamt-Spektren eine nicht zu unterschätzende Hürde. Anders als in typischen Anwendungen der Vermessung von definierten

Wellenlängenbereichen, ist im Fingerprinting mehr oder weniger das Gesamtspektrum interessant.

Zwangsläufig ist es damit notwendig, ein sehr reproduzierbares Spektrum zu erhalten. So haben insbesondere die Temperatur und die Restfeuchtigkeit der Probe einen enormen Einfluss auf das Spektrum.

Entsprechend ist eine Trocknung über 2 Tage in Vakuum und eine weitere Equilibrierung der Probe mit definierter Luftfeuchtigkeit wichtig [Sandak 2011]. Im Projekt wurden die Proben entsprechend bei einer definierten Luftfeuchtigkeit von 10 % nach der Trocknung über einen Zeitraum von 5 Tagen equilibriert. Danach wurden die Spektren an drei unterschiedlichen Tagen bei konstanten Proben Temperaturen von 22 °C vermessen.

Des Weiteren benötigen NIR-Spektren noch Korrekturen aufgrund von Streustrahlung bzw. unterschiedlicher Partikelgrößen der Messproben. Dies wurde durch die SNV Korrektur (Standard Normal Variate Transformation) der Spektren durchgeführt. Über die 1. Ableitung wurde insbesondere die Baseline-Korrektur vollzogen.

In der Auswertung wurde nur der Wellenlängenbereich von 2000 bis 2500 nm berücksichtigt. Dieser umfasst die Kombinationsschwingungen von S-H, C-H und N-H.

Insgesamt liegen damit 251 Parameter aus einer NIR-Messung vor, welche mit einer PCA (Hauptkomponentenanalyse) auf unter 10 Variablen reduziert werden. Dies ist notwendig, damit eine Überinterpretation der Statistik vermieden wird, d.h. die Anzahl der Variablen sollte nicht die Anzahl der Referenzen übersteigen.

Bei der NIR-Analyse ist immer zu berücksichtigen, dass sie einen Fingerprint der chemischen Zusammensetzung widerspiegelt.

Diese chemische Zusammensetzung ist einerseits abhängig von Umweltfaktoren, andererseits abhängig von der Pflanzenart. Die Pflanzenart ist dabei der überwiegende Faktor für die chemische Zusammensetzung. Entsprechend wird die NIR Analytik ebenfalls genutzt für die Unterscheidung von Spezies insbesondere bei Heilkräutern [Wang 2015].

So können ebenfalls leicht die vier Arten *Tragopogon*, *Festuca*, *Knautia* und *Lotus* mit Hilfe der NIR Analytik unterschieden werden (Abbildung 4).

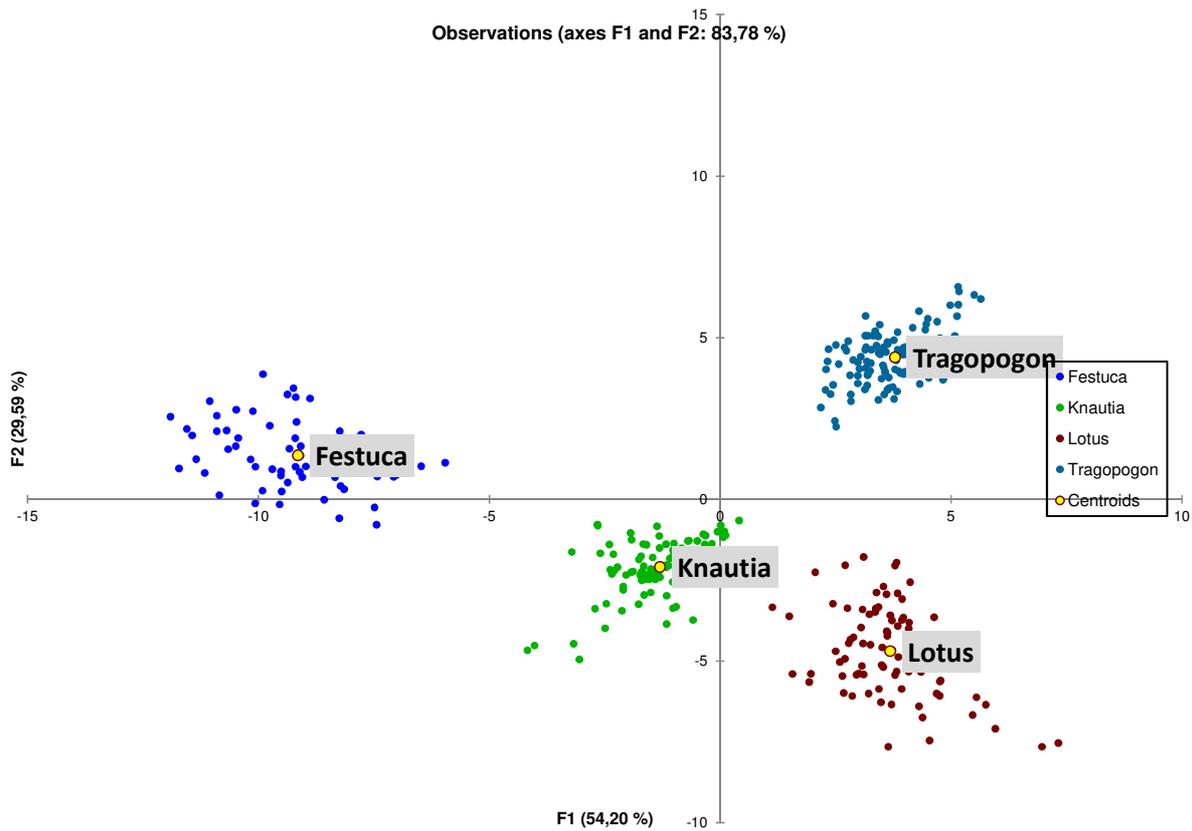


Abbildung 4: Beispiel der Differenzierung von krautigen Pflanzenarten mit NIR Profiling

Daraus ergibt sich die zwingende Konsequenz, dass NIR-Analytik zur Herkunftsanalyse nur in der eigenen / identischen Pflanzen-Art genutzt werden kann. Eine Übertragung auf andere Pflanzenarten ist entsprechend nicht möglich.

Statistik

Neben der PCA (Hauptkomponentenanalyse) wurde die Diskriminanzanalyse zur Überprüfung der Herkunfts-differenzierung verwendet. Des Weiteren wurden mit *Isoscapes* [West 2010] Vorhersagemodelle der räumlichen Verteilung der Isotope aufgestellt.

Ergebnisse und Diskussion

In der folgenden Betrachtung wird insbesondere auf die Art *Tragopogon* beispielhaft eingegangen.

Die weiteren Arten unterscheiden sich in den Ergebnissen nicht wesentlich von dieser Art. Sie werden jedoch immer wieder zur Bestätigung einbezogen. Weiterführende Übersichten wie z.B. eine regionale Gesamtdifferenzierung bzw. die Verifizierung von Einflussgrößen und die Differenzierung der einzelnen Arten sind ebenfalls im Anhang verfügbar.

Die Isotopenverhältnisse von $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ und D/H zur regionalen Differenzierung

Als Vorgabe der regionalen Differenzierung wurde die erarbeitete Gebietsverteilung aus dem Vorläuferprojekt DBU-23931 angewendet.

Aufgrund der eingeschränkten Anzahl der Referenzproben wurde die Differenzierung auf Basis der großräumigeren Kennzeichnung der Regionen zurückgeführt, d.h. es wurde die Differenzierung auf Basis folgender Regionen getestet (Abbildung 5).

- NW: Nordwestdeutsches Tiefland
- NO: Nordostdeutsches Tiefland
- MD: Mitteldeutsches Flach- und Hügelland
- WB: Westdeutsches Berg- und Hügelland
- SO: Südost- und ostdeutsches Bergland
- SW: Südwestdeutsches Berg- und Hügelland mit Oberrheingraben
- SD: Süddeutsches Berg- und Hügelland
- AV: Alpen- und Alpenvorland



Abbildung 5: Karte der vordefinierten Saatgut-Regionen (DBU Projekt: 23931)

Diese Produktionsräume wurden nicht auf Basis möglicher isotopischer Vorgaben entwickelt, sondern sie repräsentieren eine Aufteilung aufgrund von naturräumlichen Gegebenheiten wie Bodenkriterien, mittlerer Temperatur im Juli, mittlerem Jahresniederschlag und atlantischem bzw. kontinentalem Klima. Entsprechend muss die Anwendung der stabilen Isotope immer Unschärfe aufweisen.

Indirekt spiegeln jedoch ebenfalls insbesondere die D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse die Temperatur und Niederschlagsbedingungen wider, jedoch sind in den Abregnungsmustern

des Wassers sowohl der Kontinentaleffekt [Araguas-Araguas 2000] als auch der Höheneffekt mit einzurechnen.

Des Weiteren verlieren Pflanzen über die Stomata stetig Wasser, welches wiederum zu einer Fraktionierung bzw. Anreicherung der Isotopenverhältnisse des Gewebewassers führt.

Entsprechend spiegelt die Pflanze nur indirekt die Isotopenverhältnisse des Umgebungswassers wider.

Im Idealfall liegen vergleichbare D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenmuster im Gewebewasser der Pflanze zum mittleren Isotopenwert des Regenwassers vor, wie es z.B. im Spargel gegeben ist. In diesem Fall fehlen die blattspezifischen Fraktionierungseffekte und eine direkte Korrelation zum Grundwasser ist gegeben (Abbildung 6).

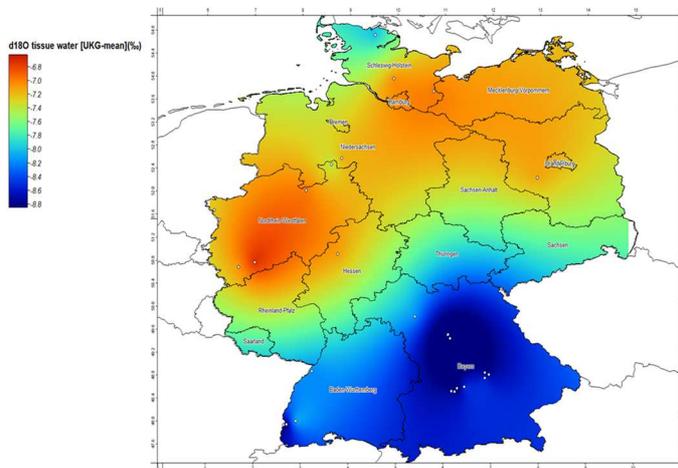


Abbildung 6: Muster der $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse im Gewebewasser von Spargel (Agroisolab Datenbank)

Gut nachzuvollziehen sind die abgereicherten $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse in südlicher/östlicher Richtung, was den typischen Grundwassermustern in Deutschland entspricht [Förstel 1984].

Diese Musterung ist ebenfalls in den $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ und D/H Isotopenverhältnissen der Organik wiederzufinden, jedoch sind dabei weitere Fraktionierungseffekte zu berücksichtigen. So kann in den $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnissen immer von einer Anreicherung von $+27 \pm 4 \%$ ausgegangen werden [Schmidt 2001].

Trotz weiterer biochemischer Fraktionierungen spiegeln die Isotopenverhältnisse der Organik diesen Trend im Grundwasser wider (Abbildung 7).

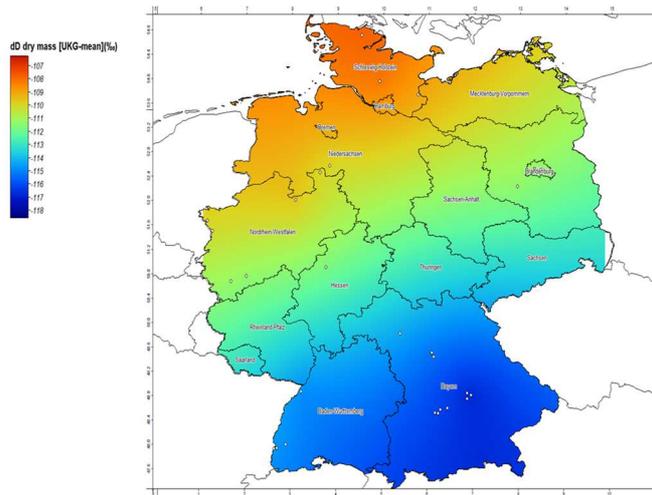


Abbildung 7: Muster der D/H Isotopenverhältnisse in der Organik von Spargel (Agroisolab Datenbank)

In den krautigen Pflanzen ist die Situation jedoch deutlich schwieriger.

Es ist einerseits zu beachten, dass lediglich das Grundwasser zeitlich konstante $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ und D/H Isotopenverhältnisse liefert. Oberflächenwasser zeigt jahreszeitliche Einflüsse, bedingt durch die Winter- und Sommertemperaturen und damit abgeleitete angereicherte $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ bzw. D/H Niederschläge im Sommer [Dawson 1991].

Dieser jahreszeitliche Effekt wird erst ab einer Tiefe von 60 cm [Brodersen 2000] vollständig kompensiert und der konstante Durchschnittswert des Grundwassers erreicht.

Flachwurzeln Pflanzen können damit während der Vegetationsperiode unterschiedlich angereicherte Wasserpools zur Verfügung stehen [Allison 1982].

Des Weiteren sind die schon erwähnten Anreicherungen des Blattwassers durch Transpirationsverluste (Kapitel: Pflanzenphysiologische Modelle zur Wachstumsort-Vorhersage von Saatgut) zu berücksichtigen. Die Anreicherung wird im Wesentlichen durch die Lufttemperatur und Luftfeuchtigkeit bestimmt. Die isotopische Zusammensetzung des vorhandenen Oberflächenwasserpools bildet die Grundlage zur Anreicherung. Daraus ergeben sich typische Korrelationslinien der $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ zu den D/H Isotopenverhältnissen, wie sie von Dunbar beschrieben wurden [Dunbar 1983].

Im Vergleich der Korrelation der $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ zu den D/H Isotopenverhältnissen der Organik ist dabei auffallend, dass die Korrelation der beiden Arten *Pimpinella* und *Lotus* unterschiedlich zu den 4 weiteren Arten (*Knautia*, *Poa*, *Tragopogon* und *Festuca*) sind.

Dabei sind die D/H Isotopenverhältnisse dieser beiden Arten gegenüber den 4 weiteren Arten um ca. +34 ‰ verschoben (Abbildung 8).

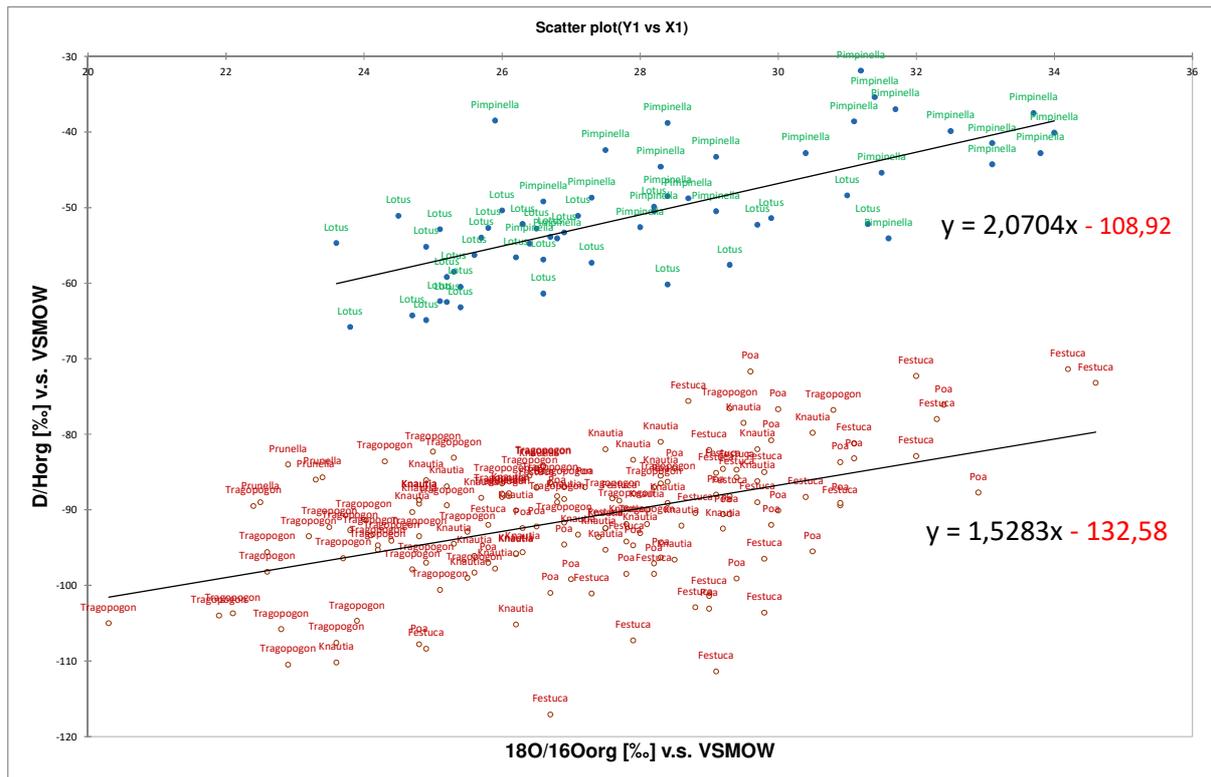


Abbildung 8: Korrelation der D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse von 6 untersuchten krautigen Arten.

Diese Verschiebung ist derzeit nicht durch die zu erwartende Wasser-Fraktionierung durch Transpirationsverluste zu erklären. Es ist eher von einer biochemischen Verschiebung auszugehen. So konnte nachgewiesen werden, dass 50 % des Wasserstoffs während der Cellulose-Synthese durch Wasserstoff des Gewebewassers ausgetauscht werden kann [Yakir 1990].

Daraus ergibt sich die Konsequenz, dass insbesondere die Wasserstoffisotopenverhältnisse dieser beiden Arten nicht direkt mit den weiteren Arten (*Knautia*, *Poa*, *Tragopogon* und *Festuca*) vergleichbar sind und immer gesondert bewertet werden müssen bzw. in einer Herkunftsdatenbank nicht mit den weiteren Arten verglichen werden sollten.

Insgesamt haben die beschriebenen Fraktionierungseffekte insbesondere bei den untersuchten sechs krautigen Arten enorme Auswirkungen auf die D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse. So können beispielhaft bei *Festuca* und *Tragopogon* in den $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnissen keine Ähnlichkeit zu den bekannten Grundwassermustern in Deutschland aufgezeigt werden (Abbildung 9a und 9b). Bis auf angereicherte $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse in Ostdeutschland liegen ebenfalls in den beiden Arten kaum Differenzierungsmuster vor.

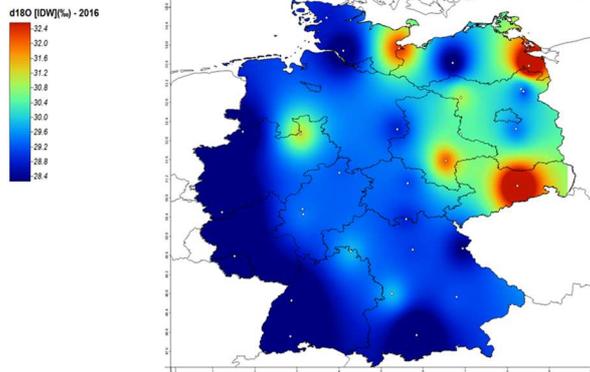


Abbildung 9a: $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenwerte der Organik in *Festuca*

Auffallend sind insbesondere die signifikante Abreicherung der $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse in den südwestlichen Regionen von Deutschland, d.h. in den Regionen SW und WB (WB: Westdeutsches Berg- und Hügelland, SW: Südwestdeutsches Berg- und Hügelland mit Oberrheingraben).

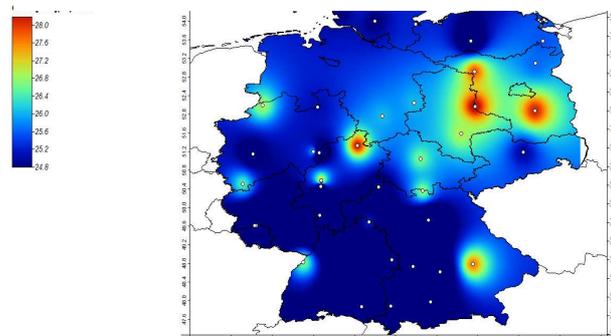


Abbildung 9b: $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenwerte der Organik in *Tragopogon*

Gemäß dem Grundwassermuster sind hier angereicherte Werte zu erwarten.

Im Folgejahr 2017 ändert sich dagegen im direkten Vergleich diese Musterung der $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse in Deutschland vollständig.

Es liegen im Vergleich zu 2016 in den $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnissen der Organik signifikant angereicherte Werte vor (Abbildung 10).

Dabei verweist zumindest die krautige Art *Tragopogon* auf tendenziell abgereicherte Werte in der süddeutschen Region.

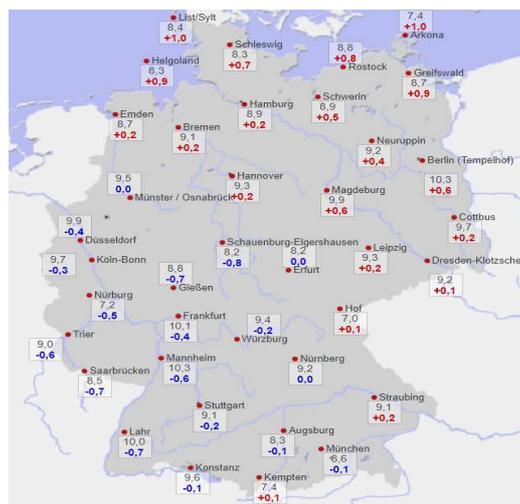


Abbildung 10: Abweichung von der Durchschnittstemperatur in Deutschland im Jahr 2016

Ein Hinweis zur Erklärung dieses signifikanten Unterschiedes liefert insbesondere der Vergleich der Durchschnittstemperaturen in Deutschland insbesondere in der Wachstumsperiode im Monat April (www.wetterkontor.de).

Im Jahr 2016 lagen insbesondere in den Regionen SW und WB (WB: Westdeutsches Berg- und Hügelland, SW: Südwestdeutsches Berg- und Hügelland mit Oberrheingraben) im Mittel zu niedrige Durchschnittstemperaturen vor. Diese Temperatursenke hat entsprechende Auswirkungen auf die $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse mit entsprechend abgereicherten $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Werten.

Dagegen sind die Durchschnittstemperaturen im Folgejahr 2017 in Gesamtdeutschland zu warm (Abbildung 12), so dass ebenfalls angereicherte $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenwerte in den Proben der beiden Arten vorliegen (Abbildung 11a und 11b). Entsprechend sind die Isotopenmuster von $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ nicht direkt von Jahr zu Jahr übertragbar.

Ein ähnliches Ergebnis lag ebenfalls in den D/H Isotopenverhältnissen vor (Anhang, Abbildung 28a bis d). Es ist damit bei den Isotopenverhältnissen von Sauerstoff und Wasserstoff von einem variablen, jahresabhängigen Isotopen-Muster auszugehen, was entsprechend die jahresübergreifende Differenzierungsmöglichkeit nahezu unterbindet.

Die hohe Variabilität der $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ und D/H Isotopenverhältnisse drückt letztlich die kurze Vegetationszeit der krautigen Pflanzen aus. Denn im Vergleich zu langjährigen Pflanzen, wie z.B. Holz bildet sich kein Jahresmittel aus, welches zum Beispiel in den Jahresringen des Holzes widerspiegelt wird. Die krautigen Pflanzen unterliegen einer kurzen Vegetationsperiode und reagieren entsprechend auf die kurzzeitigen Umweltbedingungen (z.B. Klimawechsel).

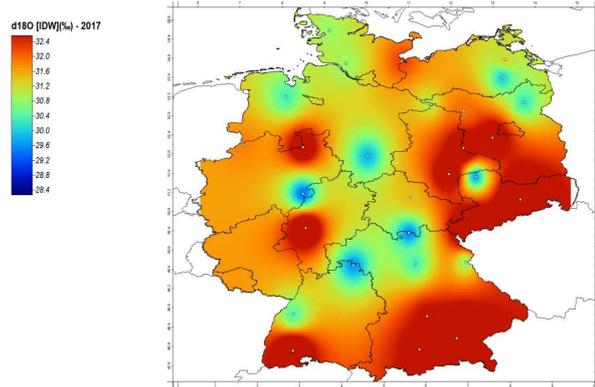


Abbildung 11a: $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenwerte der Organik in *Festuca*

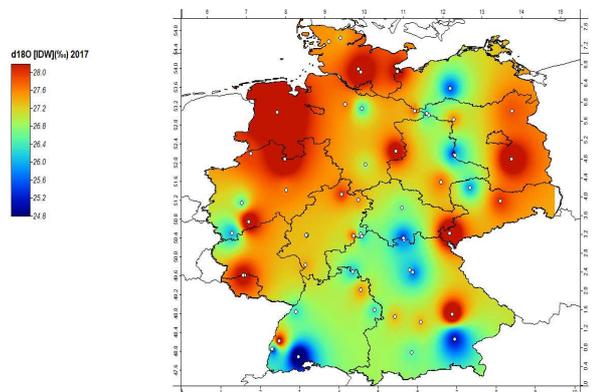


Abbildung 11b: $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenwerte der Organik in *Tragopogon*

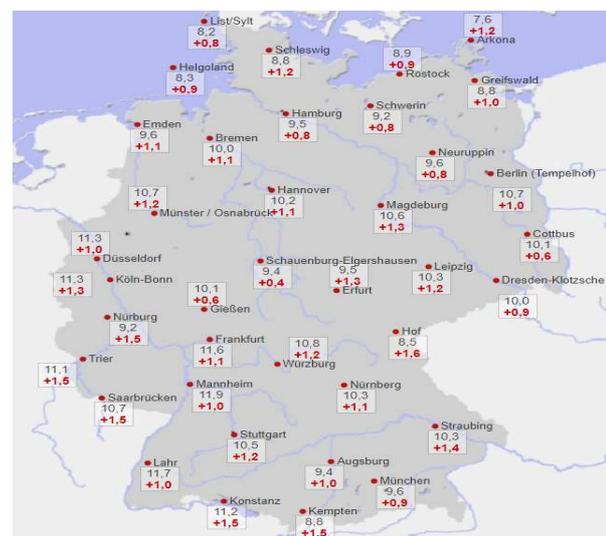


Abbildung 12: Abweichung von der Durchschnittstemperatur in Deutschland im Jahr 2017

→ Die großräumigen Trennfaktoren des Wassers werden in den krautigen Pflanzen nur unzureichend widerspiegelt. Es überlagern die Effekte der Temperatur insbesondere saisonaler Effekte und Luftfeuchtigkeit.

Einfluss des Höheneffektes auf die D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse

In der Höhe über N. N. liegt eine weitere Einflussgröße auf die Isotopenverhältnisse des Wassers und weiterführend auf die Isotopenverhältnisse in der krautigen Pflanze vor. Da die Regenwolke in höhere Atmosphärenschichten aufsteigt und somit die Kondensation durch die niedrigere Temperatur begünstigt wird, sind ebenfalls abgereicherte Isotopenverhältnisse im Regenwasser gegeben.

Als besonders gravierend sind dabei topographische Einschnitte beispielsweise Gebirgszüge zu bewerten, da sie unterschiedliche Isotopenverhältnisse im Wasser auf den durch die Erhebung getrennten Seiten bewirken [Araguas-Araguas 2000].

Die Anreicherung der Pflanze durch die Transpiration (siehe oben) wirkt dabei der Abreicherung des Regenwassers nicht entgegen, sondern katalysiert letztlich die Abreicherung insgesamt noch, da die Temperatur stetig abnimmt und die relative Luftfeuchtigkeit ansteigt.

Dieser Höheneffekt ist ebenfalls in den untersuchten krautigen Arten nachweisbar (Abbildung 13)

So wurde in den Probenstandorten der Fränkischen Schweiz über einer Höhe von 217 m an drei Probenstandorten Proben der *Tragopogon* gesammelt.

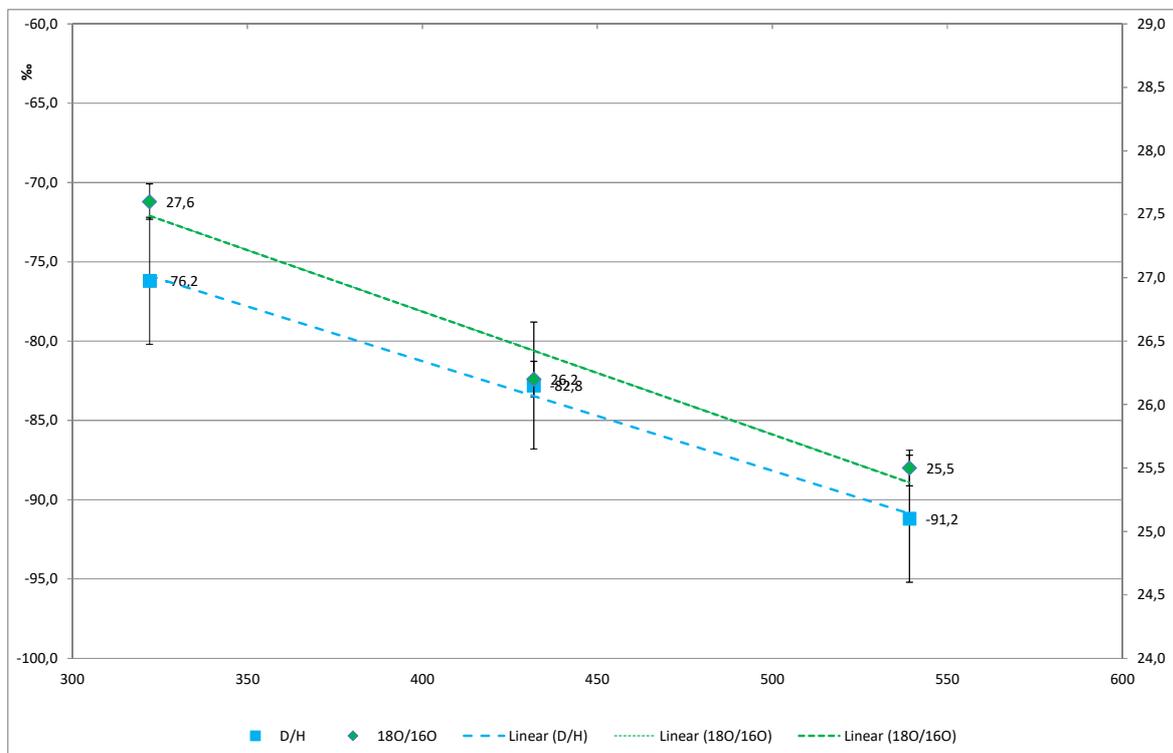


Abbildung 13: Einfluss der Höhe auf die D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenwerte von *Tragopogon* am Beispiel von Proben aus der Fränkischen Schweiz.

Diese Proben weisen in den $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnissen über die Höhendifferenz signifikante Abreicherungen auf. Diese Abreicherungen sind größer als die Isotopenverhältnisse des Bodenwassers dies vermuten lassen. So weist diese Region bei einer Höhe von 230 m einen errechneten $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenwert im Wasser von -8,0 ‰ (OIPC Datenbank: The online Isotopes in Precipitation Calculator, Purdue University, Indiana) auf. In der Höhe von 550 m ist lediglich eine Abreicherung von 0,5 ‰ zu erwarten, d.h. es liegt lediglich ein Wasserwert von -8,5 ‰ vor.

Die $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse der Organik reichern sich jedoch um -2,1 ‰ ab, d.h. über 100 m ca. -1 ‰. Dies ist entsprechend auf die fehlende bzw. geringere Transpirationsfraktionierung zurückzuführen.

Ein ähnliches Ergebnis kann ebenfalls im Beprobungsort an der Rhön aufgezeigt werden (Abbildung 14).

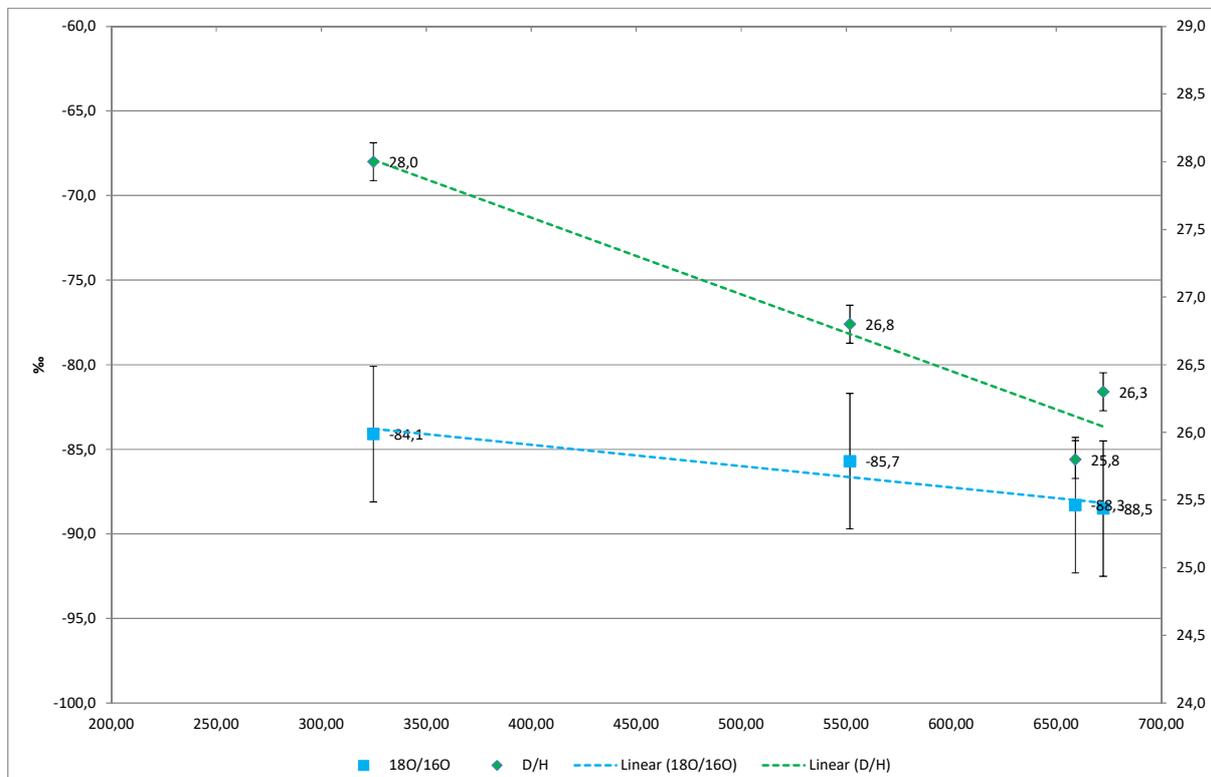


Abbildung 14: Einfluss der Höhe auf die D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenwerte von *Tragopogon* am Beispiel von Proben aus der Rhön.

Insbesondere die $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse reichern sich wiederum signifikant über die Höhendifferenz von 334 m ab. Die Abreicherung ist mit -2,2 ‰ im Vergleich zur Fränkischen Schweiz jedoch geringer. So ist die Abreicherung über 100 m lediglich -0,6 ‰.

Unter Berücksichtigung, dass die D/H Isotopenverhältnisse weniger anreichern als die $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse erklärt dies ebenfalls die geringe Abreicherung der D/H Isotopenverhältnisse an der Rhön im Vergleich zur Fränkischen Schweiz.

Zusammenfassend muss daraus geschlossen werden, dass Höhenunterschiede von mehr als 100 m insbesondere in den $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnissen signifikante Auswirkungen in den krautigen Gewächsen haben.

➔ **Der Einfluss der Höhe hat signifikante Auswirkungen auf die Isotopenverhältnisse von D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$. Dies ist in einer Herkunftsanalyse entsprechend zu berücksichtigen**

Einfluss der Erntezeitpunkte auf die D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse

Aufgrund des möglichen Fraktionierungseffekts in den $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ und D/H Isotopenverhältnissen liegt es nahe, dass ebenfalls die Erntezeitpunkte Auswirkungen auf diese beiden Isotopenverhältnisse haben. In der zweiten Projektphase wurde entsprechend dieser Einfluss an verschiedenen Probenstandorten verifiziert.

So wurde die Art *Tragopogon* am Beprobungsort nahe Husum (Region NW, Nord-Westdeutsches Tiefland) über einen Zeitraum von 39 Tagen jeweils viermal beprobt. Insbesondere die D/H Isotopenverhältnisse weisen unter Berücksichtigung der Reproduzierbarkeit von +/- 2 ‰ sehr konstante D/H Isotopenverhältnisse auf. Lediglich am Anfang der Beprobung liegt eine geringe Abweichung zum angereicherten D/H Isotopenverhältnis vor.

Die $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse weisen zwar eine höhere Schwankung auf, aber unter der Berücksichtigung der Reproduzierbarkeit von 0,2 ‰ ist keine direkte Tendenz gegeben.

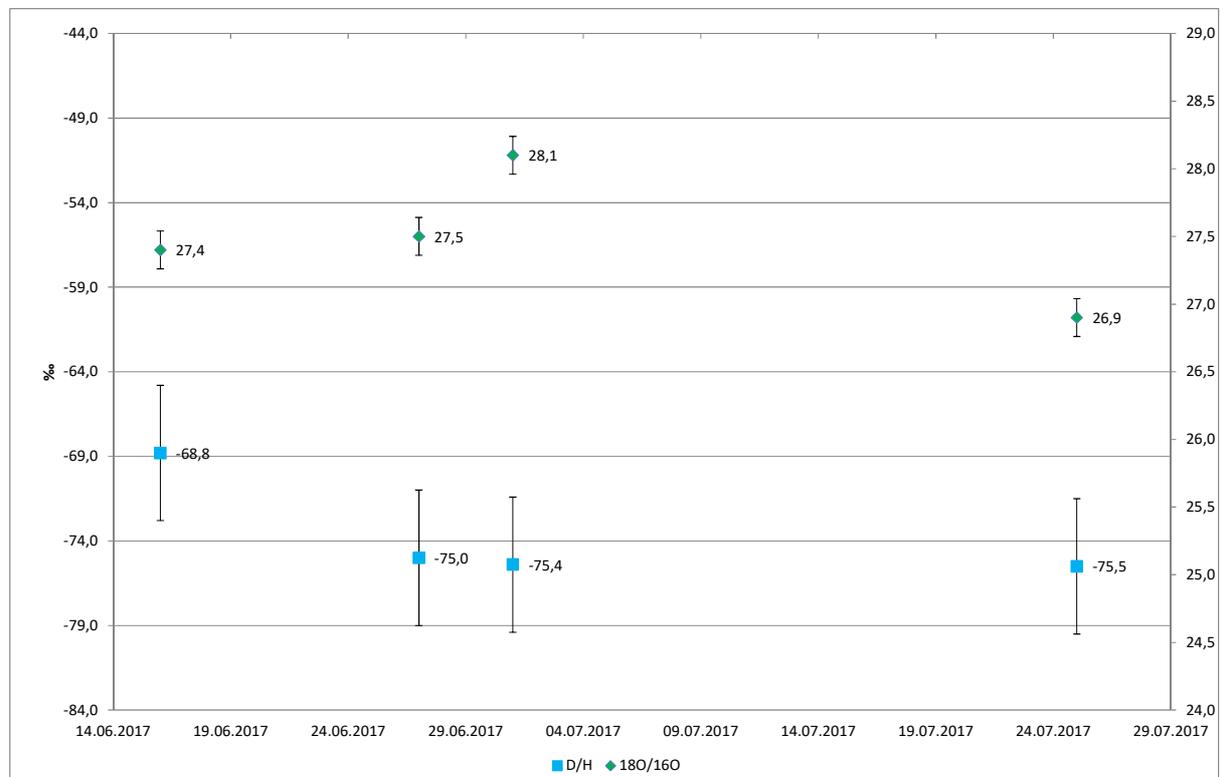


Abbildung 15: Einfluss des Zeitpunktes der Ernte auf die D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenwerte von *Tragopogon* am Beispiel von Proben aus der Region Husum (Region NW).

Diese Konstanz konnte ebenfalls an 2 weiteren Arten festgestellt werden (Anhang, Abbildung 29). Dieses Ergebnis ist einerseits auffallend, da die $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ und D/H Isotopenverhältnisse gerade in krautigen Pflanzen einer sehr hohen Variabilität unterliegen. Andererseits ist jedoch zu berücksichtigen, dass in den Zeitpunkten der Beprobung insbesondere einer späten Probennahme im Juli die Vegetationsperiode der Pflanze vorüber ist, d.h. die Samen sind vollständig angelegt worden und werden nicht mehr auf- bzw. abgebaut. Die $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ und D/H Isotopenverhältnisse der Samen können sich entsprechend kaum noch verändern.

Die geringe Abweichung bei der ersten Probenziehung am 16.06.2017 kann entsprechend eine noch geringe Auswirkung einer Biosynthese sein, die zum Ende des Monats Juni vollständig abgeschlossen ist.

→ Der Einfluss des Erntezeitpunktes hat keine signifikanten Auswirkungen auf die Isotopenverhältnisse von D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$.

Die $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotopenverhältnisse als Klima/Boden-Index

In der Pflanze wird der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotopenwert einerseits durch den Photosynthesemechanismus (C3/C4 Pflanze) vorgegeben und andererseits die Variabilität der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotopenverhältnisse durch klimatische Bedingungen direkt beeinflusst. Die Grundlage ist das Gas-Wasser-Problem der Pflanzen: Werden die Stomata weit geöffnet, um die CO_2 -Aufnahme für die Photosynthese möglichst wenig zu behindern, nimmt zwangsläufig die Transpiration und damit die Gefahr des Austrocknens der Pflanze zu. Schließt die Pflanze jedoch die Stomata, um dieser Gefahr zu begegnen, so wird auch die CO_2 -Aufnahme blockiert. Die Folge ist, dass das vorhandene CO_2 in den Interzellularen nahezu vollständig umgesetzt wird, die $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotopenverhältnisse der Photosynthese Produkte werden angereicherter.

Deshalb zeigen Pflanzen einer Art in ariden Gebieten angereichertere $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotopenverhältnisse in der Biomasse als in gemäßigten Gebieten [Clay 2001].

Des Weiteren spielt entsprechend die Pufferqualität des Bodens für das Gas-Wasser-Problem eine entscheidende Rolle. So ist im sandigen Boden in Ostdeutschland eher ein Wasser-Dilemma zu erwarten als in Ton- bzw. Lösshaltigen Böden in Westdeutschland.

Ähnliche Ergebnisse sind ebenfalls in den $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotopenverhältnissen der Pflanzenart *Festuca* gut nachvollziehbar (Abbildung 16a und 16b).

Jahresübergreifend weisen die westlichen Regionen insbesondere WB (Westdeutsches Berg- und Hügelland) und NW (Nordwestdeutsches Tiefland) tendenziell abgereicherte $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotopenverhältnisse auf. Dagegen sind die *Festuca*-Proben aus Ostdeutschland (NO) in der Tendenz immer angereichert. Ähnliche Ergebnisse liegen auch im Detail vor, so weist die Region um Freiburg (SW) auffallend angereicherte Werte auf.

Grundsätzlich sind die $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotopenverhältnisse in ihrer Aussagekraft als Herkunftsindikator immer nur als Tendenzen zu interpretieren. Regenmengen, topographische Besonderheiten oder Nährstofflimitierungen im Boden mit resultierender eingeschränkter Photosyntheseleistung können diese Tendenzen leicht beeinflussen. So sind die Ergebnisse von *Tragopogon* zwar ähnlich, jedoch andererseits in der Kausalität unklarer (siehe Anhang, Abbildung 30).

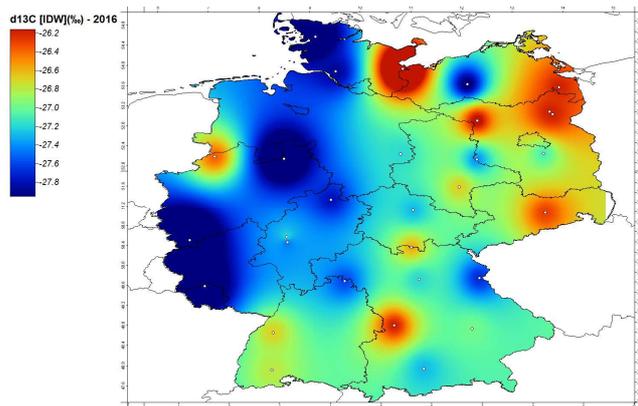


Abbildung 16a: Muster der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotopenwerte in *Festuca* des Erntejahres 2016

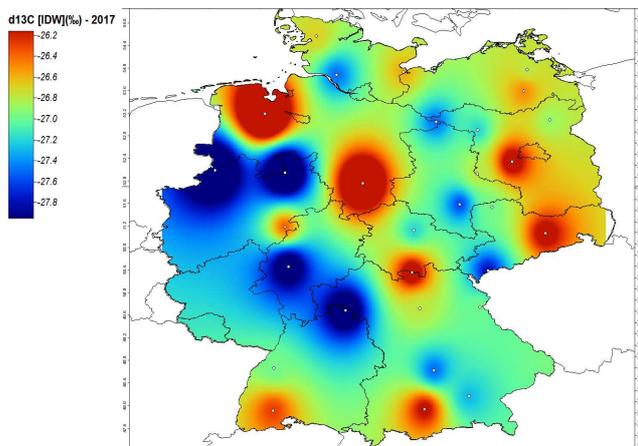


Abbildung 16b: Muster der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotopenwerte in *Festuca* des Erntejahres 2017

→ Die $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotopenverhältnisse liefern eine Indikation der klimatischen Aufwuchsbedingungen der Pflanze. Eine jahresübergreifende Anwendung ist zwar möglich, jedoch immer zu prüfen.

Die lokalen Isotopenverhältnisse von $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ und $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$

In der Regel folgen die $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ und $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Isotopenverhältnisse keinen großräumigen Mustern. Einerseits bestimmt die lokale Geologie die beiden Isotopenverhältnisse, andererseits werden insbesondere die $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Isotopenverhältnisse durch anthropogene Einflüsse in Form von Düngung beeinflusst.

So können z. B. die $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ genutzt werden, um zwischen ökologischem und konventionellem Anbau zu unterscheiden [Bateman 2007].

Auch der Schwefelpool des Bodens ist nicht frei von anthropogenen Einflüssen. Neben Düngungseinträgen kann der Schwefelpool durch Ablagerung bzw. Auswaschung von Schwefelverbindungen aus der Atmosphäre signifikant verändert werden. So zeigen industrielle Verbrennungsgase angereicherte Schwefelisotopenverhältnisse von bis zu + 30 ‰. Der „Fallout“ kann anhand der Isotopenveränderung der Pflanze und des Bodens verfolgt werden [Winner 1978].

Die Aufnahme des Nitrats ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) zeigt keine Isotopenfraktionierungen [Yoneyama 1989], so dass verallgemeinert davon ausgegangen werden kann, dass die Isotopenverhältnisse der Pflanze die Isotopenverhältnisse des Bodennitrats widerspiegeln [Yoneyama 1990]. Ähnlich wie bei der Stickstoffassimilierung ist ebenfalls keine bzw. nur eine geringe (< 1 ‰) Fraktionierung des biogen gebundenen Schwefels gegen den des bioverfügbaren Sulfats bekannt [Chukhrov 1980].

Die Pflanzen bilden somit die Gegebenheit des Bodens direkt ab.

Im Rahmen des Projektes haben sich beide Isotope als sehr hilfreiche Parameter zur Differenzierung entwickelt.

So weisen die *Festuca*-Proben jahresübergreifend in den beprobten Jahren von 2016 und 2017 signifikant abgereicherte $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Isotopenverhältnisse in Ostdeutschland auf (Abbildung 17a und 17b). Eine ähnliche Tendenz liegt ebenfalls in den *Festuca*-Proben aus der Region Freiburg vor.

Dagegen sind die $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Isotopenverhältnisse in der Region von Schleswig-Holstein signifikant angereichert. Dies ist ebenfalls auch im Mitteldeutschland gegeben und spiegelt sich insbesondere in den Proben von *Tragopogon* sehr gut wider (Abbildung, Anhang). Diese Proben von *Tragopogon* bestätigen ebenfalls die abgereicherten $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Isotopenverhältnisse in Ostdeutschland. Eine Erklärung kann wiederum in den Bodenverhältnissen liegen, die aufgrund des Sandbodens arm an biogenen Stickstoff sind.

Die jahresübergreifende Musterung der $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Isotopenverhältnisse ist hilfreich einen Herkunftsnachweis zu führen.

So sollten *Festuca*-Proben aus Ostdeutschland, d.h. aus der Region NO mit der Unterregion 22 immer abgereicherte $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Isotopenwerte aufweisen.

Aufgrund der jahresergreifenden Ähnlichkeit der $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Isotope wurde ebenfalls die direkte Korrelation der Beprobungsorte geprüft.

Es wurden in den Probenziehungen zwar nicht immer die exakten Probenorte im Folgejahr wieder beprobt, jedoch lagen genügend ähnliche Probenpunkte häufig im Umkreis von 100 m vor.

Im Vergleich der $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Isotopenverhältnisse am gleichen Beprobungsort des Jahres 2016 und 2017 ist bei den Proben von *Festuca* eine hohe Korrelation mit einem R^2 von 0,8 hoch festzustellen (Abbildung 18)

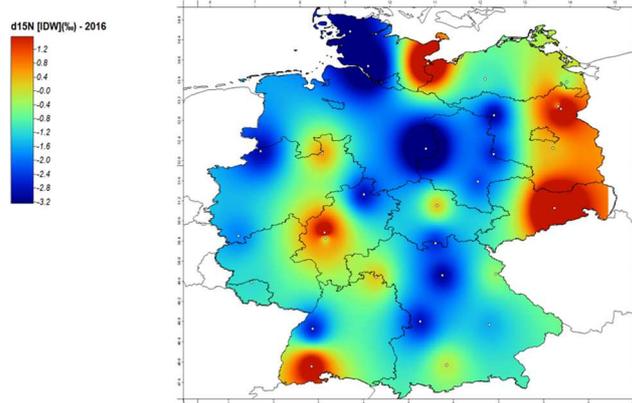


Abbildung 17a: Muster der $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Isotopenwerte in *Festuca* des Erntejahres 2016

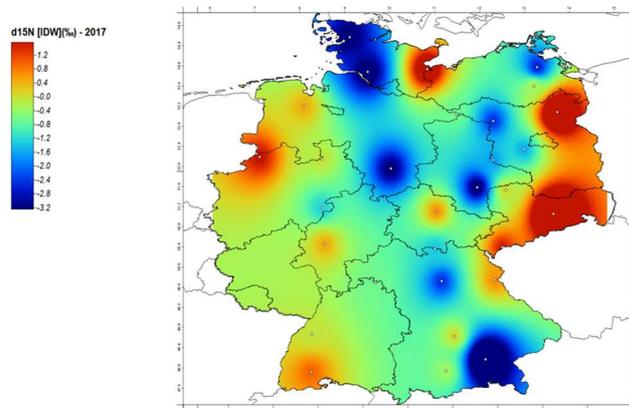


Abbildung 17a: Muster der $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Isotopenwerte in *Festuca* des Erntejahres 2017

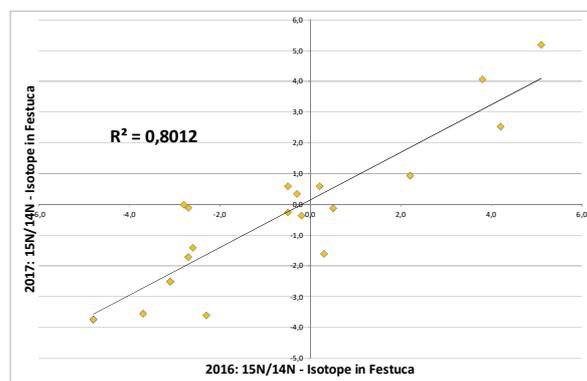


Abbildung 18: Vergleich der $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Isotopenwerte in *Festuca* des Erntejahres 2016 und 2017 am gleichen Beprobungsort

Derartig gute Korrelationen lagen auch bei den Arten *Tragopogon* mit $R^2 = 0,79$ und *Poa* mit $R^2 = 0,78$ vor (Anhang, Abbildung 31 a/b). Alle drei Arten wiesen eine gute jahresübergreifende Korrelation auf. Es sollte erwähnt werden, dass ebenfalls die Art *Lotus* jahresübergreifend gesammelt wurde. Diese zeigt jedoch als stickstofffixierende Pflanze einen sehr konstanten negativen $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Isotopenwert in den verschiedenen beprobten Regionen. Der $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Isotopenwert ist entsprechend als weiterer Parameter zur Herkunftsüberprüfung nicht geeignet.

Die Isotopenverhältnisse von $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ zeigen ähnliche Ergebnisse.

So wiesen die Proben von *Tragopogon* jahresübergreifend in Schleswig-Holstein signifikant angereicherte $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ Werte von über 7 ‰ auf (Abbildung 19 a & b). Derartige Anreicherungen konnten ebenfalls in Thüringen jahresübergreifend nachgewiesen werden. Dagegen wiesen Proben aus Bayern und Nordrhein-Westfalen jahresübergreifend signifikant abgereicherte $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ Isotopenverhältnisse unterhalb von +3 ‰ auf.

Die Korrelation des Ortes der Probenahmen des Jahres 2016 und 2017 im Rahmen von 100 m ist ähnlich zu den $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Isotopenverhältnissen und entsprechend sehr hoch.

So weisen die Proben von *Tragopogon* insgesamt mit einer R^2 von 0,86 eine hohe jahresübergreifende Ähnlichkeit in den $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ Isotopenverhältnissen auf (Abbildung 20).

Ähnliche Ergebnisse sind ebenfalls wieder für *Poa* mit $R^2 = 0,88$ und *Lotus* mit $R^2 = 0,88$ festzuhalten (Anhang, Abbildung 32 a bis c). Lediglich *Festuca* wies eine geringere Ähnlichkeit der Beprobungsorte mit einem $R^2 = 0,65$ auf.

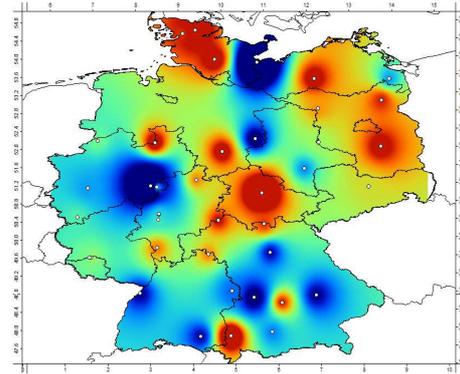
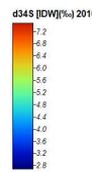


Abbildung 19a: Muster der $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ Isotopenwerte in *Tragopogon* des Erntejahres 2016

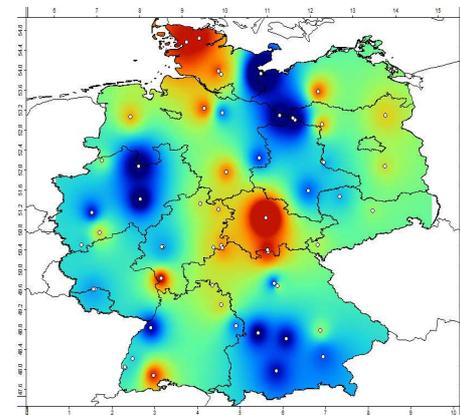
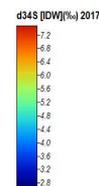


Abbildung 19b: Muster der $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ Isotopenwerte in *Tragopogon* des Erntejahres 2016

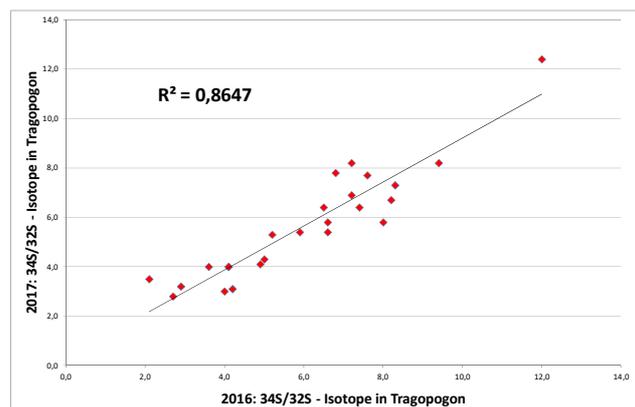


Abbildung 20: Vergleich der $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ Isotopenwerte in *Tragopogon* des Erntejahres 2016 und 2017 am gleichen Beprobungsort

→ Die $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ und $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ Isotopenverhältnisse liefern jahresübergreifende Differenzierungsmöglichkeiten der Herkunft von krautigem Saatgut.

Differenzierung der vordefinierten Saatgutregionen mit Hilfe der stabilen Isotope

Eine signifikante Differenzierung der vordefinierten Region ist insbesondere aufgrund der fehlenden Möglichkeiten der D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse nicht möglich.

In der Regel liefern die D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse eine erste grobräumige Differenzierung, so dass die lokalen Isotopenverhältnisse von $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ und $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ eine Detaildifferenzierung gewährleistet. So sind zwar die $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Isotopenverhältnisse von Bayern und Schleswig-Holstein ähnlich in *Tragopogon*, die D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse sollten jedoch eine

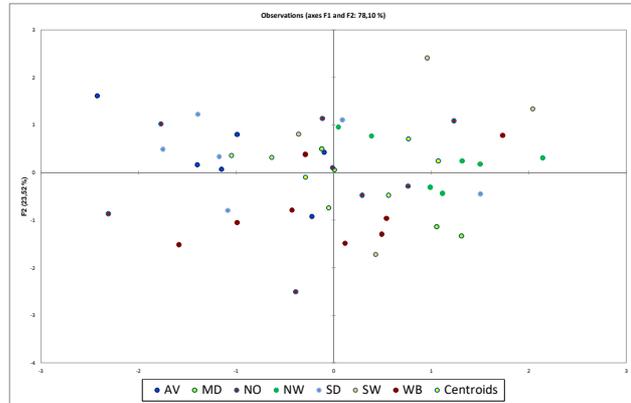


Abbildung 21: Diskriminanzanalyse der D/H, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ und $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ Isotopenverhältnisse am Beispiel *Tragopogon* des Jahres 2016.

Vordifferenzierung aufgrund der unterschiedlichen Isotopenverhältnisse des Wassers liefern. Dies ist jedoch aufgrund der dargestellten Probleme derzeit leider nicht möglich.

Entsprechend ist die Gesamtdifferenzierung der vordefinierten Regionen alleine auf Basis der stabilen Isotope mit 43 untersuchten Proben des Jahres 2016 leider unzureichend (Abbildung 21) und die Differenzierungswahrscheinlichkeit liegt lediglich bei 51 % (Tabelle 4).

| from \ to | AV | MD | NO | NW | SD | SW | WB | Total | % correct |
|-----------|----|----|----|----|----|----|----|-------|-----------|
| AV | 3 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 6 | 50,00% |
| MD | 0 | 2 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 | 50,00% |
| NO | 0 | 0 | 4 | 2 | 1 | 0 | 1 | 8 | 50,00% |
| NW | 0 | 0 | 0 | 6 | 1 | 0 | 0 | 7 | 85,71% |
| SD | 3 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 6 | 16,67% |
| SW | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 1 | 4 | 50,00% |
| WB | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 0 | 4 | 8 | 50,00% |
| Total | 6 | 2 | 10 | 10 | 6 | 2 | 7 | 43 | 51,16% |

Tabelle 4: Statistik der Diskriminanzanalyse der Stabil-Isotopen-Signaturen zur Differenzierung der verschiedenen vordefinierten Regionen von *Tragopogon* des Erntejahres 2016

Ähnliche Ergebnisse lagen bei allen untersuchten Arten des Jahres 2016 vor (Anhang, Tabelle 16 a bis e). So wies *Poa* eine Differenzierungswahrscheinlichkeit von 52 %, *Knautia* von 50 %, *Festuca* von 45 % und *Lotus* von 44 % auf. Lediglich *Pimpinella* zeigte eine bessere Differenzierungswahrscheinlichkeit von 66 %.

Insgesamt ist diese Differenzierung unzureichend um die vordefinierten Regionen abzugrenzen.

Es wurden in der Verifikation der Regionen bewusst nicht die Unterregionen hinzugezogen. Dies würde durchaus zu besseren Ergebnissen führen, die jedoch mehr auf die rudimentäre Anzahl von Proben pro Region zurückzuführen wären. Dieses Ergebnis hat ebenfalls im Jahr 2017 Bestand. So lagen die Differenzierungswahrscheinlichkeiten nur im Rahmen von 40 bis 53 % (Anhang, Tabelle 17 a bis d)

Entsprechend kann die alleinige Anwendung der Isotopenmethode keinen belastbaren Nachweis der vordefinierten Regionen erbringen.

Das NIR Fingerprinting mit der Nutzung der chemischen Zusammensetzung als weiteres Differenzierungsmerkmal der Region könnte eine hilfreiche Ergänzung sein, diese fehlende Differenzierungswahrscheinlichkeit zu verbessern.

Die NIR Methode alleine liefert dabei ebenfalls keine hinreichende Differenzierungsmöglichkeit. So lag die Differenzierungswahrscheinlichkeit der untersuchten *Tragopogon* Proben aus dem Jahr 2016 etwas höher, jedoch ebenfalls nur bei 65 % (PCA = 8 Parameter, Tabelle 5). Die höhere Anzahl der Proben ist nur aufgrund von Dreifach-Messungen an verschiedenen Tagen zurückzuführen. Diese Probenmessungen werden ebenfalls in der Statistik einzeln betrachtet.

| from \ to | AV | MD | NO | NW | SD | SW | WB | Total | % correct |
|-----------|----|----|----|----|----|----|----|-------|-----------|
| AV | 13 | 1 | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 | 18 | 72,22% |
| MD | 0 | 6 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 66,67% |
| NO | 2 | 0 | 15 | 0 | 2 | 2 | 3 | 24 | 62,50% |
| NW | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 3 | 12 | 75,00% |
| SD | 0 | 0 | 3 | 2 | 10 | 0 | 0 | 15 | 66,67% |
| SW | 0 | 0 | 3 | 1 | 0 | 1 | 4 | 9 | 11,11% |
| WB | 1 | 2 | 3 | 1 | 0 | 0 | 22 | 29 | 75,86% |
| Total | 16 | 9 | 29 | 13 | 14 | 3 | 32 | 116 | 65,52% |

Tabelle 5: Statistik der Diskriminanzanalyse der NIR Parameter nach Datenreduktion auf 8 Parameter (PCA) zur Differenzierung der verschiedenen vordefinierten Regionen von *Tragopogon* des Erntejahres 2016

Die weiteren Arten wie *Festuca* mit 68 % (PCA = 7 Parameter), *Lotus* mit 76 % (PCA= 7 Parameter) und *Knautia* mit 61 % (PCA = 8 Parameter) wiesen ebenfalls eine bessere Differenzierung im Vergleich zur Isotopenanalytik auf.

Die Verknüpfung der fünf Parameter der Isotopenmessung mit den weiteren 8 Parametern der NIR-Messungen erbringt jedoch eine deutliche Verbesserung der Differenzierungswahrscheinlichkeit. So steigt die Differenzierungswahrscheinlichkeit auf 77 % (Tabelle 6) an.

| from \ to | AV | MD | NO | NW | SD | SW | WB | Total | % correct |
|-----------|----|----|----|----|----|----|----|-------|-----------|
| AV | 13 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 18 | 72,22% |
| MD | 0 | 6 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 66,67% |
| NO | 1 | 0 | 21 | 0 | 2 | 0 | 0 | 24 | 87,50% |
| NW | 0 | 0 | 0 | 12 | 0 | 0 | 0 | 12 | 100,00% |
| SD | 0 | 0 | 2 | 0 | 11 | 0 | 2 | 15 | 73,33% |
| SW | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 3 | 9 | 66,67% |
| WB | 0 | 2 | 1 | 3 | 0 | 2 | 20 | 28 | 71,43% |
| Total | 14 | 10 | 29 | 15 | 14 | 8 | 25 | 115 | 77,39% |

Tabelle 6: Statistik der Diskriminanzanalyse der NIR Parameter nach Datenreduktion auf 8 Parameter (PCA) zur Differenzierung der verschiedenen vordefinierten Regionen von *Tragopogon* des Erntejahres 2016

Eine leichte Verbesserung kann erreicht werden, wenn Regionen vereinigt werden. Mit einer Neudefinition einer West-Region von SW und WB steigt die Gesamtdifferenzierung der *Tragopogon*-Proben des Jahres 2016 auf ca. 80 % (Abbildung 22).

Durchaus interessant sind jedoch die Ergebnisse der Proben von *Festuca*. Die Kombination von NIR und Isotopenanalytik brachte hier eine sehr hohe Differenzierungswahrscheinlichkeit von über 96 %. Dies kann entsprechend als signifikant angesehen werden.

Diese Signifikanz konnte im Folgejahr 2017 nicht mehr erreicht werden. Die Differenzierungswahrscheinlichkeit lag dabei auf dem Niveau der weiteren drei Arten. Entsprechend ist diese Signifikanz derzeit als Ausreißer zu werten.

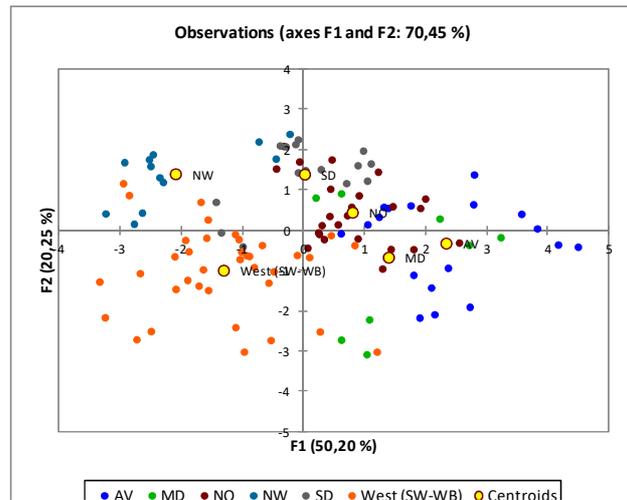


Abbildung 22: Diskriminanzanalyse der D/H, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ und $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ Isotopenverhältnisse am Beispiel *Tragopogon* des Jahres 2016. Zusammenlegung von Regionen (SW+WB)

Die Proben von *Lotus* wiesen in Kombination von NIR und stabilen Isotopen im Jahr 2016 ebenfalls eine hohe Differenzierungswahrscheinlichkeit von 90 % auf. Diese war ebenfalls im Folgejahr nicht mehr zu erreichen. Im Folgejahr erbrachte die Kombination von NIR und stabilen Isotopen ebenfalls nur noch 69 %.

Dieser Trend zur schlechteren Differenzierung im Jahr 2017 war ebenfalls bei *Tragopogon* zu beobachten. Im Jahr 2017 betrug die Differenzierungswahrscheinlichkeit ebenfalls nur noch 69 % statt 77 % im Jahr 2016.

Der Verlust an Differenzierungswahrscheinlichkeit war bei allen untersuchten Arten eine Kombination von fehlenden Diskriminierungsmöglichkeiten insbesondere im NIR Fingerprinting. So betrug die Differenzierungswahrscheinlichkeit der vordefinierten Regionen von *Tragopogon* unter Berücksichtigung von NIR Signaturen (PCA = 8 Parameter) nur noch 44 % statt 65 % im Vorjahr 2016. Entsprechende Verluste lagen auch bei *Festuca* (PCA = 8 Parameter): 52 % (2017) statt 68 % (2016) und *Lotus* (PCA = 8 Parameter): 51 % (2017) statt 76 % (2016).

Dies zeigt wie veränderbar bzw. anfällig chemische Fingerprinting-Signaturen innerhalb unterschiedlicher Erntejahre sind, dagegen sind die Isotopensignaturen im Vergleich deutlich konstanter.

Eine jahresübergreifende Differenzierung war entsprechend nicht möglich. In diesem Fall gingen die Differenzierungswahrscheinlichkeiten auf unter 60 % zurück (Anhang, Tabelle 18).

Kausal ist dies insbesondere auf die Veränderung der NIR-Fingerprinting zurückzuführen. Die chemische Zusammensetzung ändert sich immer geringfügig in den Jahren aufgrund unterschiedlicher Umwelteinflüsse. Entsprechend sind chemische Fingerprinting Datensätze

immer zu aktualisieren, was z.B. in der praktischen Umsetzung schon heute in der Fruchtsaft-Branche (z.B. durch SGF) gemacht wird.

Zur weiteren Verbesserung der Differenzierung wurde das Projekt im Jahr 2017 um die quantitative Messung der fünf Elemente (Rb, Ba, Sr, Mn, Ti) kostenneutral (Eigeninitiative Agroisolab) erweitert.

Insgesamt wurde die Konzentration dieser fünf Elemente in 100 Proben von *Tragopogon* quantifiziert.

Eine signifikante Verbesserung lag auch mit diesem neuen Parametersatz nicht vor. Insgesamt erbrachte die Kombination aus Stabil-Isotopen-Messung mit der Elementbestimmung eine Differenzierungsmöglichkeit von *Tragopogon* des Erntejahres 2017 von lediglich 64 %. Im Vergleich war die Kombination aus Stabil-Isotopen-Analytik und NIR mit 69 % weiterhin effektiver.

Des Weiteren waren die neuen Parameter in der Gesamtbetrachtung der beiden Erntejahre 2016 bis 2017 schlussendlich ebenfalls nicht hilfreich. So stieg die Differenzierungswahrscheinlichkeit nur von 58 % auf 61 % an, was keinem signifikanten Anstieg gleichkommt.

In der weiterführenden Evaluierung der Möglichkeiten war jedoch die Kombination aus Stabil-Isotopen-Analytik und Elementanalyse mit einem kleinräumigen Differenzierungsansatz sehr interessant.

- ➔ ***Die Stabil-Isotopen-Signaturen als auch das NIR Profiling sind nicht hinreichend geeignet eine signifikante Differenzierung der vordefinierten Regionen (DBU Projekt: 23931) zu gewährleisten. Erst durch die Kombination beider Methoden sind Anwendungsmöglichkeiten (z.B. Festuca, Lotus) zur Differenzierung der Regionen innerhalb eines Referenzierungsjahres gegeben.***
- ➔ ***Das NIR Profiling ist stark abhängig vom Erntejahr und nicht auf das Folgejahr übertragbar. Dagegen sind die Stabil-Isotopen-Daten robuster (siehe auch Stickstoff / Schwefel).***
- ➔ ***Jahresübergreifende Differenzierung der Regionen konnte weder mit einer Einzelmethodik, Kombination von Stabilen Isotope und NIR, noch mit zusätzlichen Parameter aus der Element-Bestimmung von fünf Elementen (Rb, Sr, Ba, Mn, Ti) erreicht werden.***

Neues Konzept – Verifizierung der lokalen Herkunft

Nach dem derzeitigen Stand des Wissens kann eine effektive Überprüfung der vordefinierten Regionen nur durch umfangreiche Jahresreferenzen erreicht werden. Ein einmaliger Aufbau einer Herkunftsdatenbank kann nicht erfolgreich sein, da insbesondere das Fingerprinting Muster der NIR in den verschiedenen Erntejahren immer Änderungen unterworfen ist.

Selbst bei einer umfangreichen aktuellen Referenzdatenbank besteht weiterhin die Problematik, dass die Trennleistungen der verschiedenen vordefinierten Regionen in der Regel nicht signifikant (> 95 %) sein wird.

Weiterhin ist eine jährliche Referenzierung der Anbauggebiete in der praktischen Umsetzung immer kosten- und zeitintensiv. Dies ist in der Regel bis heute ein großes Problem für ganzheitliche Methoden, die alleinig auf chemisches Fingerprinting (NIR, NMR) ausgelegt sind.

Eine Lösung der Probleme kann ein lokaler Ansatz bieten, d.h. es wird nicht mehr auf Regionen geprüft, sondern auf die mögliche lokale Herkunft.

Dies wurde entsprechend anhand des Beprobungsrasters (siehe Abbildung 2) geprüft und am Beispiel von *Tragopogon* verifiziert.

Dabei wurden alle Proben jahresübergreifend einbezogen. Es wurden jedoch die Probenorte verworfen, die nur einmalig beprobt wurden sowie deren Distanz bzw. Höhe gravierend unterschiedlich waren.

Dieser Ansatz ist möglich, da insbesondere die $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ und $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ Isotope häufig eine jahresübergreifende Signatur liefern und lokale Unterschiede gegeben sind. Zusätzlich wurden zur Differenzierung die $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotope genutzt, die zwar nur geringe Möglichkeiten bieten aber aufgrund der besonderen Bodenstrukturen insbesondere in Ostdeutschland durchaus hilfreich für eine Differenzierung sind. In der Evaluierung der untersuchten fünf Elemente sind derzeit nur Mangan (Mn) und Rubidium (Rb) hilfreich für eine lokale Differenzierung.

In der Kombination dieser 5 Parameter konnte bei 31 zusammengefassten Probenstandorten des Jahres 2016 bis 2017 für mehr als die Hälfte eine gute Differenzierung von bis zu 100 % erreicht werden (Tabelle 7), d.h. diese spezifischen Ortssignaturen gewährleisten immer eine jahresübergreifende Rückverfolgung auf die Örtlichkeit.

| from \ to | R1 | R10 | R11 | R13 | R14 | R15 | R16 | R17 | R18 | R19 | R2 | R20 | R21 | R22 | R23 | R25 | R26 | R28 | R29 | R3 | R30 | R31 | R33 | R34 | R35 | R37 | R39 | R4 | R40 | R8 | R9 | Total | % correct |
|-----------|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|---------|---------|---------|-----------|
| R1 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 85,71% |
| R10 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 100,00% | |
| R11 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 50,00% | | |
| R13 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | | |
| R14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | | |
| R15 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 33,33% | | |
| R16 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 50,00% | | | |
| R17 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 50,00% | | | |
| R18 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 100,00% | | | |
| R19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 100,00% | | | |
| R2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | | | |
| R20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | | | |
| R21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 100,00% | | | |
| R22 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 50,00% | | | |
| R23 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 6 | 33,33% | | | |
| R25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 60,00% | | | |
| R26 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | | | |
| R28 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0,00% | | | |
| R29 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 66,67% | | | |
| R3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 100,00% | | | |
| R30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | | | |
| R31 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 | 0,00% | | | |
| R33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | | | |
| R34 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 66,67% | | | |
| R35 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 4 | 75,00% | | | |
| R37 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 33,33% | | | |
| R39 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | | | |
| R4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 50,00% | | | |
| R40 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 100,00% | | | |
| R8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 3 | 66,67% | | |
| R9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 100,00% | | |
| Total | 8 | 5 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 4 | 4 | 2 | 2 | 5 | 1 | 7 | 3 | 3 | 1 | 4 | 3 | 2 | 5 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 1 | 3 | 3 | 2 | 89 | 70,79% |

Tabelle 7: Statistik der Diskriminanzanalyse der ¹³C/¹²C, ¹⁵N/¹⁴N und ³⁴S/³²S Isotope zur Differenzierung der Beprobungsorte (n=31) in Kombination mit den Konzentrationsmengen von Rubidium und Mangan.

Andere Beprobungsorte zeigen kein klares Muster und gehen in der Zuordnung in weiteren Beprobungsorten auf (z.B. R31). Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass in der Regel eine Eingrenzung in der Praxis auf wenige Herkunftsorte möglich sein sollte. Entsprechend kann die Auswahlmöglichkeit sicherlich auf unter 10 Beprobungsorte reduziert werden; dadurch steigt die Differenzierungsmöglichkeit auf über 95 % an (Tabelle 8).

| from \ to | R1 | R10 | R11 | R13 | R14 | R16 | R17 | R19 | R2 | Total | % correct |
|-----------|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-------|-----------|
| R1 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 85,71% |
| R10 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 100,00% |
| R11 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| R13 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| R14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| R16 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| R17 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| R19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 100,00% |
| R2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 100,00% |
| Total | 6 | 4 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 24 | 95,83% |

Tabelle 8: Statistik der Diskriminanzanalyse der ¹³C/¹²C, ¹⁵N/¹⁴N und ³⁴S/³²S Isotope zur Differenzierung der Beprobungsorte (n=9) in Kombination mit den Konzentrationsmengen von Rubidium und Mangan.

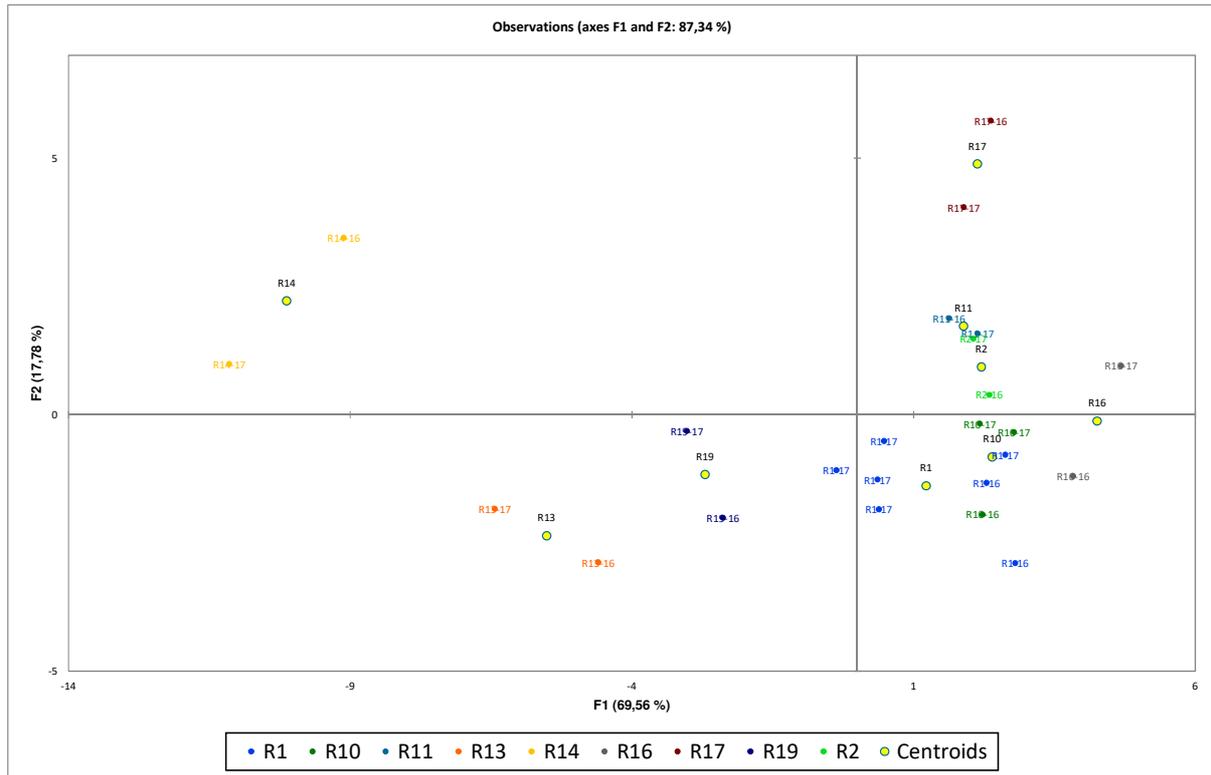


Abbildung 23: Diskriminanzanalyse der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ und $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ Isotope zur Differenzierung der Beprobungorte (n=9) in Kombination mit den Konzentrationsmengen von Rubidium und Mangan.

Eine weitere Verbesserung kann durch die Modellierung der D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse als großräumiger Trennfaktor erreicht werden.

Diese stehen aufgrund der hohen jahresübergreifenden Variabilität nicht zur Verfügung.

Unter Berücksichtigung, dass maßgeblich die Temperatur und die Luftfeuchtigkeit insbesondere die Isotopenverhältnisse der $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotope beeinflusst, sollte es möglich sein unter Berücksichtigung möglicher Herkunftsorte diese Parameter mit klimatischen Daten zu modellieren bzw. zu korrigieren, was im Rahmen einer weitergehenden Doktorarbeit (Florian Cueni) an verschiedenen Pflanzenprodukten (z.B. Getreide, Beeren) vertiefend getestet und ausgearbeitet wird und im folgenden Kapitel auch für Saatgut erläutert wird.

➔ ***Eine Verifizierung der lokalen (Feld) Herkunft ist eine Möglichkeit die stabilen Isotope in Kombination mit Elementanalytik (Rb, Mn) effektiv und aussagekräftig einzusetzen.***

Pflanzenphysiologische Modelle zur Wachstumsort-Vorhersage von Saatgut

Ziel des folgenden Kapitels ist es, aufzuzeigen, wie mit Hilfe von in der Wissenschaft etablierten pflanzenphysiologischen Modellen und des Kalibrierens dieser durch die in dem Projekt gesammelten und gemessenen Proben, präzise Vorhersagekarten mit den stabilen Isotopen des Wassers ($\delta^{2}\text{H}$, $\delta^{18}\text{O}$) berechnet werden können.

Es ist allgemein bekannt, dass Pflanzen für die Photosynthese Kohlenstoffdioxid (CO_2) aus der Umwelt aufnehmen und daraus mit, von in den Wurzeln aufgenommenem Wasser, Energie in Form von Zucker produzieren. Diese Aufnahme des CO_2 findet in den Blättern durch sogenannte Spaltöffnungen (Stomata) statt, welche sich meist an der Unterseite der Blätter befinden. Somit ist die Pflanze direkt an die Umwelt gekoppelt, denn durch die offenen Stomata diffundiert nicht nur CO_2 in die Pflanze, sondern auch Wasser aus der Pflanze. Dieser Prozess, der Verdunstung von Wasser über die Spaltöffnungen der Pflanze wird (stomatäre) Transpiration genannt. Die Transpiration wird hauptsächlich von der Dampfdruckdifferenz (Englisch: vapour-pressure deficit, VPD) zwischen dem Dampfdruck im Blattinnern [berechnet aus relativer Luftfeuchtigkeit (100 %) und Blatttemperatur] und dem Umgebungsdampfdruck getrieben. Der Dampfdruck wird aus der lokal vorliegenden relativen Luftfeuchtigkeit (Blattinneren resp. Umgebungsluft) und der jeweiligen Temperatur berechnet. Die relative Luftfeuchtigkeit ist wiederum das relative Verhältnis des momentanen Dampfdrucks und des Sättigungsdampfdrucks basierend auf der zugehörigen Lufttemperatur und dem atmosphärischen Druck. Somit ist in warmen, trockenen Gebieten die potentielle Transpiration von Pflanzen am höchsten. Um nicht auszutrocknen und um das Kavitationsrisiko (Abriss der Wassersäule im Xylem) zu vermindern, können Pflanzen der Transpiration entgegenwirken, indem sie die stomatäre Öffnung und somit den Verlust des Wassers aus den Blättern regulieren. Weshalb an heißen, trockenen Tagen Pflanzen ihre Stomata oft schließen und somit die tatsächliche Transpiration verringern. Das Schließen der Stomata steht jedoch im Konflikt mit der Aufnahme von CO_2 für die Photosynthese. Sogenannte CAM und C4-Pflanzen umgehen diesen Trade off durch zeitliche respektive räumliche Trennung von C-Assimilation und C-Fixierung.

Die Transpiration aus den Stomata führt zu einer Fraktionierung der Isotope des Wassers und einer Anreicherung der schweren Isotope (^{18}O und ^2H) in den Zellen um die Stomata. Durch Diffusion vermischt sich das durch die Transpiration isotopisch angereicherte Wasser mit dem restlichen Blattwasser, wodurch dieses gegenüber dem lokalen Niederschlagswasser isotopisch schwerer ist. Verringerte Transpirationsraten, z.B. durch das Schließen der Stomata bei zu hohem Dampfdruckdefizit, führen zu stärker angereichertem Blattwasser in direktem Vergleich zu einer Pflanze mit höherer Transpiration.

Die isotopische Anreicherung des Blattwassers als Resultat der Transpiration wurde im Jahre 1965 das erste Mal beschrieben (Gonfiantini et al. 1965). Im selben Jahr beschrieben Craig und Gordon (1965) ein mathematisches Modell zur Berechnung der isotopischen Anreicherung durch Evaporation an der Oberfläche eines Wasserkörpers. Dieses Modell, das «Craig & Gordon Model», kann auch dazu verwendet werden, um die isotopische

Anreicherung von Wasser am Ort der Transpiration im Blatt (Stomata) zu beschreiben (Dongmann et al. 1974; Farquhar and Lloyd 1993) und wurde bereits in vielen pflanzenphysiologischen Studien erfolgreich angewandt (Kahmen et al. 2008, 2011; West et al. 2008; Bögelein et al. 2017). Die wichtigsten Inputparameter für das Modell sind: (1) die isotopische Zusammensetzung des Niederschlags, (2) die relative Luftfeuchtigkeit, (3) die Lufttemperatur und (4) die Höhe über Meer am Wachstumsort der Pflanze.

Das Modell unterscheidet in zwei Fraktionierungsfaktoren zwischen Sauerstoff und Wasserstoff und beschreibt mathematisch die bei Transpiration beobachtete stärkere Anreicherung von schwerem Sauerstoff gegenüber Deuterium. Die beiden Fraktionierungsfaktoren sind die sog. Gleichgewichts-Isotopenfraktionierung (equilibrium isotope fractionation, $\epsilon+$), abhängig von der Temperatur (Majoube 1971) und die kinetische Fraktionierung (kinetic isotope fractionation, ϵ_k) (Farquhar et al. 1989).

In der Anwendung des Modells stellte sich jedoch heraus, dass das Craig & Gordon Model die isotopische Anreicherung des Blattwassers nur direkt am Ort der Transpiration (Stomata) beschreibt und das gesamte Blattwasser in Wirklichkeit weniger angereichert ist als vom Modell angenommen. Zur Korrektur dieser Überschätzung der isotopischen Anreicherung wurden zwei Modellerweiterungen beschrieben. Zum einen der «Péclet-effect» welcher verschiedene Gradienten der Anreicherung im Blattwasser annimmt (Farquhar and Lloyd 1993; Kahmen et al. 2011), zum anderen das «Two-Pool model» welches das gesamte Blattwasser als eine Mischung von Craig-Gordon-angereichertem Wasser und isotopisch verarmten Xylem-, respektive Niederschlagswasser beschreibt (Yakir and DeNiro 1990; Roden and Ehleringer 1999). In diesem Ausblick wird das Craig & Gordon Modell mit dem einfacheren, aber trotzdem ebenso genauen Two-Pool Modell korrigiert (Cernusak et al. 2016; Bögelein et al. 2017).

Somit können die isotopischen Anreicherungsprozesse, die dazu führen, dass sich das Blattgewebewasser gegenüber dem lokalen Niederschlagswasser unterscheidet, mathematisch beschrieben werden. Getrieben werden die Prozesse hauptsächlich von Temperatur und relativer Luftfeuchtigkeit am Wachstumsort der Pflanze. Essenziell für die Vorhersage des Standorts einer Pflanze, über deren dort produzierten Samen ist jedoch der Fakt, dass das angereicherte Blattwasser über das Phloem bis zu sich entwickelnden Organen, wie z.B. Samen transportiert wird (Cernusak et al. 2016). Daher werden organische Substanzen (u.a. Zellulose, Zucker, Stärke und Lipide) in einem gegenüber dem lokalen Regenwasser angereichertem Umfeld gebildet, welches isotopisch eine Mischung zwischen angereichertem Blattwasser und unangereichertem Xylemwasser ist (Cernusak et al. 2016).

Bei der Synthese von organischen Substanzen (z.B. Zellulose) kommt es zudem zu einem weiteren Fraktionierungsschritt, der sog. biosynthetischen Fraktionierung (ϵ_{bio}). Diese wurde für das Sauerstoffisotop (^{18}O) bei viele Substanzen als konstante Anreicherung über dem Blattwasser $\delta^{18}O$ -Wert beschrieben (Schmidt et al. 2001). So zum Beispiel bei Sauerstoff in Zellulose, welcher $+27\text{‰} \pm 4$ angereicherter als das Blattwasser beobachtet wird. Dies wird hauptsächlich der isotopischen Gleichgewichtsfraktionierung zwischen der Carbonylgruppe und dem Wasser zugeschrieben (Sternberg et al. 1986). Barbour et al. (2004) und Cernusak et al. (2005) haben diesen für Wasserpflanzen etablierten Fraktionierungsfaktor von $+27\text{‰}$

für Landpflanzen, am Beispiel von Baumwolle, verfeinert und um einen speziesspezifischen Korrekturterm (p_{expx}) erweitert (Munksgaard et al. 2017).

Wie aus der oben beschriebenen Theorie hervorgeht, ist es für die Herkunftsbestimmung von Wildpflanzen-Samen anhand der stabilen Isotope des Wassers maßgebend, dass (1) zur Berechnung der Anreicherung des Blattwassers durch das Craig & Gordon Modell dieses präzise kalibriert wird, (2) der Anteil der beiden Wasserpools für das Two-Pool Modells berechnet wird und (3) der Korrekturterm p_{expx} sowie e_{bio} für $\delta^{18}\text{O}$ der Zellulose definiert wird.

Zur präzisen Kalibrierung des Modells kann auf das sehr umfangreiche Daten-Set des von der DBU geförderten Wildsamensprojekts zurückgegriffen werden. Mit Hilfe der erhobenen Daten wurden am Beispiel von *Tragopogon* die Isotopenwerte des Sauerstoffs ($\delta^{18}\text{O}$) der Zellulose der Samen für das Modell auf das Jahr 2016 kalibriert und auf Basis des Datensatzes von 2017 getestet (Abbildung 24). Daraus ist ersichtlich, dass durch eine präzise Kalibrierung der Modellparameter, die gemessenen ^{18}O -Werte sehr genau berechnet und reproduziert werden können.

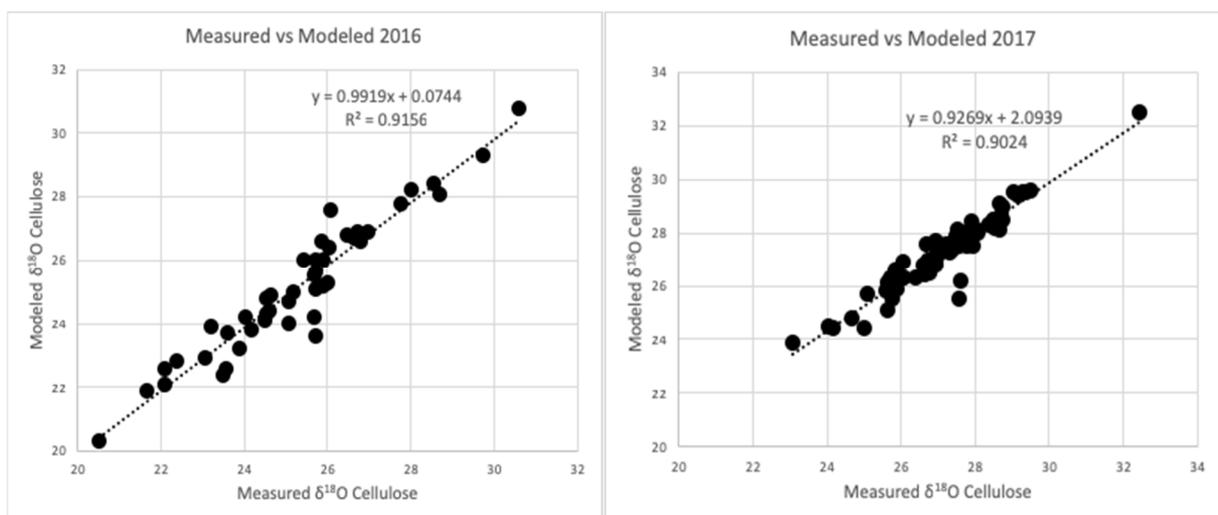


Abbildung 24: Modellierte $\delta^{18}\text{O}$ -Werte (Two-Pool korrigiertes Craig & Gordon Modell mit artspezifischen Modellparametern) gegenüber den gemessenen $\delta^{18}\text{O}$ -Werten der Samen von *Tragopogon*.

Das durch Punktmessungen kalibrierte Modell zur Berechnung der ^{18}O -Werte von Samen bildet die Basis zur Berechnung von Vorhersagekarten. Als Inputparameter dienen nun anstelle von einzelnen Messungen, Rasterkarten der Inputparameter, Isotopenwerte des Niederschlags, relative Luftfeuchtigkeit, Lufttemperatur und Höhe über Meer (Abbildung 25). Diese Rasterkarten werden von verschiedenen Institutionen zum Download bereitgestellt (z.B. Waterisotopes.org, Climate Research Unit). Dabei bilden das digitale Höhenmodell und die durchschnittlichen Isotopenwerte des Niederschlags den statischen Teil des Modells, die Lufttemperatur und relative Luftfeuchtigkeit den dynamischen Teil, welcher von Jahr zu Jahr verändert wird. Dies führt zu einem sehr dynamischen und hoch anpassbaren Modell, welches sich den zwischenjährlichen klimatischen Veränderungen anpasst und daher die

Vorhersage durch den lokalen Parameter Sauerstoff entscheidend verbessert. Somit können nun zum Beispiel die beobachteten Differenzen zwischen dem Jahr 2016 und 2017 beschrieben werden.

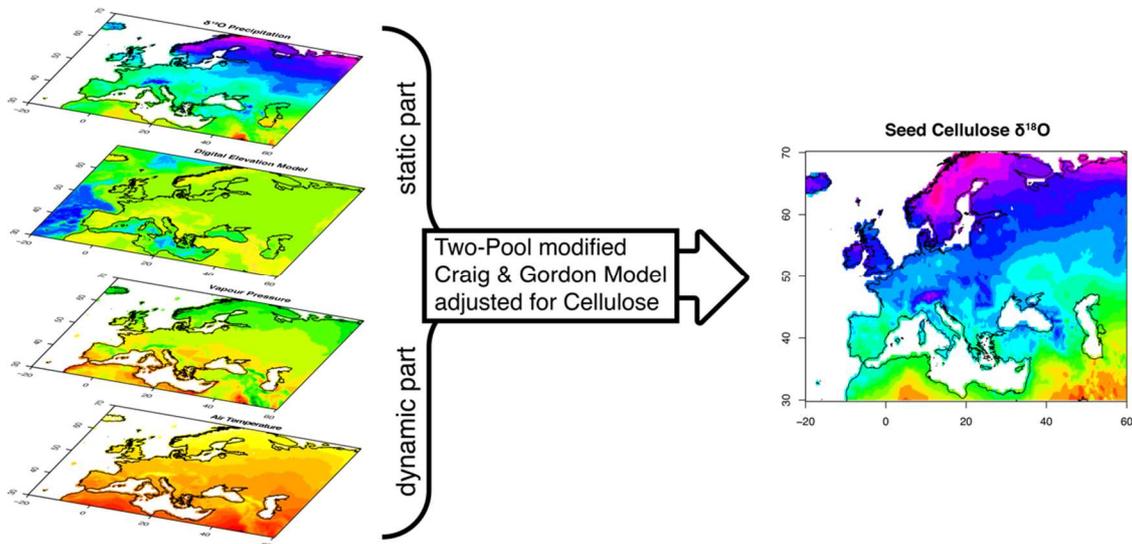


Abbildung 25: Schematische Darstellung zur Berechnung von Vorhersagekarten für Zellulose $\delta^{18}\text{O}$ am Beispiel von *Tragopogon* im Jahr 2016. Die statischen Inputparameter des Modells sind die $\delta^{18}\text{O}$ -Isotopenwerte des Niederschlags und ein digitales Höhenmodell, die dynamischen sind die relative Luftfeuchtigkeit und die Lufttemperatur des modellrelevanten Monats, hier Mai 2016.

Nichtsdestotrotz ist es sehr wichtig, dass das Modell jährlich durch spezifische Referenzproben überprüft, verbessert und angepasst wird und damit die präzise Vorhersagegenauigkeit durch die Sauerstoff-Isotopenwerte der Zellulose gewährleistet ist.

- ➔ **Eine Modellierung der $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ und D/H Isotopenverhältnisse ist möglich bzw. kann für die verschiedenen Arten entwickelt werden. Daraus resultiert eine Möglichkeit diese Isotopensignaturen unabhängig von überlagernden Einflüssen (Temperatur, Luftfeuchtigkeit) darzustellen und einen regionalen Bezug auszuarbeiten.**

Neues Konzept II – Verifizierung der lokalen Herkunft mit modellierten ¹⁸O/¹⁶O Werten

Die Modellierung der *Tragopogon*-Daten erlaubt es einen nahezu jahresunabhängigen ¹⁸O/¹⁶O Isotopenwert zu berechnen. Dieser kann in die lokale Differenzierung eingebunden werden und liefert in Kombination mit den drei weiteren Isotopenwerten von (¹³C/¹²C, ¹⁵N/¹⁴N, ³⁴S/³²S) und den Werten der Elementbestimmung von Rubidium und Mangan eine Differenzierungsrate von annähernden 80 %.

| from \ to | R1 | R10 | R11 | R13 | R14 | R15 | R16 | R17 | R18 | R19 | R2 | R20 | R21 | R22 | R23 | R25 | R26 | R28 | R29 | R3 | R30 | R31 | R33 | R34 | R35 | R37 | R39 | R4 | R40 | R8 | R9 | Total | % correct | |
|-----------|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|----|----|-------|-----------|---------|
| R1 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 85,71% | |
| R10 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 100,00% | |
| R11 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | |
| R13 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | |
| R14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | |
| R15 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 33,33% | |
| R16 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | |
| R17 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | |
| R18 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 66,67% | |
| R19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 100,00% | |
| R2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 50,00% | |
| R20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | |
| R21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 100,00% | |
| R22 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 50,00% | |
| R23 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 83,33% | |
| R25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 60,00% | |
| R26 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | |
| R28 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 50,00% | |
| R29 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 66,67% | |
| R3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 100,00% | |
| R30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | |
| R31 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 25,00% | |
| R33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | |
| R34 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 100,00% | |
| R35 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 | 75,00% | |
| R37 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 33,33% | |
| R39 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | |
| R4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 50,00% | |
| R40 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 100,00% | |
| R8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | 100,00% | |
| R9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 100,00% |
| Total | 9 | 4 | 2 | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 8 | 3 | 3 | 1 | 2 | 3 | 2 | 6 | 3 | 4 | 3 | 2 | 2 | 1 | 2 | 4 | 2 | 89 | 79,78% | |

Tabelle 9: Statistik der Diskriminanzanalyse der ¹³C/¹²C, ¹⁵N/¹⁴N und ³⁴S/³²S Isotope zur Differenzierung der Beprobungsorte (n=31) in Kombination mit den Konzentrationsmengen von Rubidium und Mangan und modellierten ¹⁸O/¹⁶O Isotopenwerten

Die praktische Umsetzung des Konzeptes kann einerseits durch einen direkten Referenzabgleich (z.B. im Rahmen einer Ausschreibungs-Anforderung) und andererseits durch die Anlage von Referenzproben im Rahmen einer Vorabbeprobung bzw. Eigen-Referenzierung durch den Saatgutbetrieb erfolgen.

Im zweiten Fall werden diese Eigenreferenzen des Betriebes lediglich aufbewahrt und im Bedarfsfall zielorientiert analysiert (Referenzen sind in der Regel als Abgleich kostenfrei). So können derartige Konzepte effektiv und kostengünstig umgesetzt werden. Dies wird z.B. im Lebensmittelbereich schon heute genutzt, z.B. im Rahmen von Isotrace für Hühnereier (KAT).

In jedem Fall ist eine zielgerichtete Analytik mit wichtigen Meta-Daten (z.B. mögliche Herkunft) zum Einsatz der Stabil-Isotopen-Methode in Kombination mit NIR oder der Element-Analytik wichtig eine belastbare Herkunftsverifizierung durchzuführen. Entsprechend ist im Anhang ein Probennahme-Leitfaden hinterlegt worden.

➔ Die Einbindung modellierter $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Daten erzielt eine Optimierung der lokalen (Feld) Differenzierung. Differenzierung von 31 lokalen Orten zeigt 80 % Differenzierungswahrscheinlichkeit.

Nachweis der Herkunft von ausländischem Saatgut

Generell war das Projekt als ein Proof of Concept einer möglichen Überprüfung der regionalen Herkunft von deutschem Saatgut angelegt. Andererseits ist der Nachweis einer ausländischen Herkunft für die Absicherung von Saatgut ebenfalls wichtig und wurde entsprechend in der internen Diskussion des Beirates in der Weiterentwicklung empfohlen.

Entsprechend wurde in der Probennahme des Jahres 2017 ebenfalls ausländisches Saatgut hinzugenommen. Bis zum November 2018 konnten dabei insgesamt 26 ausländische Proben dem Projekt zugeführt werden.

Im Fokus der Überprüfung stand die Verifizierung der vier Datensätze von *Tragopogon*, *Festuca*, *Poa* und *Lotus*. Zwar lagen auch drei ausländische Proben von *Pimpinella* und *Knautia* aus dem Jahr 2017 vor, jedoch kann aufgrund der fehlenden Referenzen des Jahres 2017 nicht ausgeschlossen werden, dass eine mögliche Inkompatibilität der Datensätze von 2016 zu den Datensätzen von 2017 (siehe D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Problematik) entsprechend falsche Schlussfolgerung gezogen werden.

Bei den vier aufgezeigten Datensätzen von *Tragopogon*, *Festuca*, *Poa* und *Lotus* ist durch die jahresübergreifende Probennahme dieses Problem nicht gegeben. Insgesamt standen 22

Proben von 8 europäische Ländern zur Verfügung: d.h. Tschechien, Niederlande, Serbien, Luxemburg, Spanien, Italien, Portugal und UK mit Schottland. Unter Berücksichtigung des derzeitigen Datensatzes von *Tragopogon* konnte die Herkunft der ausländischen Proben weitgehend nur mit den stabilen Isotopen der Bioelemente (COHNS) abgrenzt werden (Tabelle 10). So zeigte eine Diskriminanzanalyse, dass sich die Testproben aus Italien, Luxemburg, Schottland signifikant vom deutschen Cluster unterscheidet (siehe auch Abbildung 26). Es darf darauf hingewiesen werden, dass für eine Centroid-Bildung des Diskriminanzanalyse immer 2 Proben benötigt wird. Entsprechend wurden Einzelproben gedoppelt.

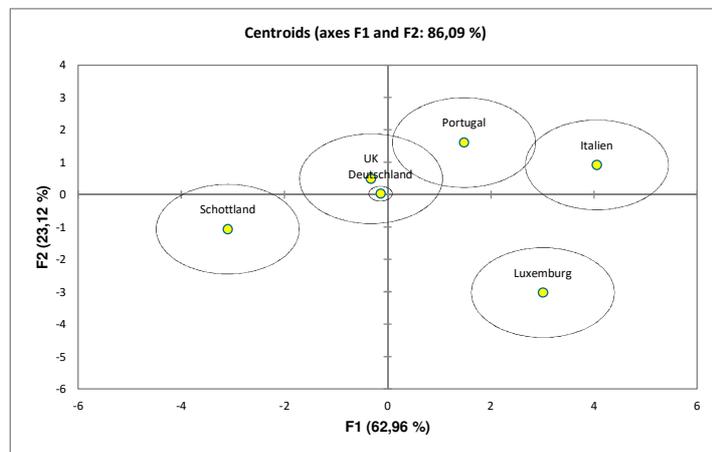


Abbildung 26: Diskriminanzanalyse der stabilen Isotope (COHNS) der deutschen und ausländischen Proben.

| from \ to | Deutschland | Italien | Luxemburg | Portugal | Schottland | England | Total | % correct |
|------------------|-------------|---------|-----------|----------|------------|---------|-------|-----------|
| Deutschland | 72 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 74 | 97,30% |
| Italien (n=1) | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| Luxemburg (n=1) | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| Portugal (n=2) | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 50,00% |
| Schottland (n=1) | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 100,00% |
| England (n=1) | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0,00% |
| Total | 75 | 3 | 2 | 1 | 2 | 1 | 84 | 94,05% |

Tabelle 10: Statistik der Diskriminanzanalyse der stabilen Isotope der deutschen und ausländischen Proben von *Tragopogon*

Die abgeleiteten Differenzierungen werden dadurch jedoch nicht geändert.

In den beiden Proben aus Portugal konnte nur eine Probe weiterhin Portugal zugewiesen werden. Die weitere Probe aus Portugal zeigt unter Berücksichtigung der stabilen Isotopensignaturen eine Überlappung mit dem deutschen Cluster. Die Testprobe aus UK wies ebenfalls eine Ähnlichkeit mit dem deutschen Cluster auf und wurde entsprechend falsch zugeordnet.

In der Praxis würden diese beiden Proben entsprechend nicht erkannt werden.

Ein ähnliches Ergebnis lag ebenfalls bei den ausländischen Testproben von *Festuca* vor (Tabelle 11). Bei dieser Art konnte ebenfalls die Testprobe aus England nicht von den Proben aus Deutschland differenziert werden. Die weiteren Proben von Luxemburg, Schottland und Tschechien waren dagegen sicher von den deutschen Proben zu differenzieren und damit eine ausländische Herkunft nachweisbar.

| from \ to | Deutschland | England | Luxemburg | Schottland | Tschechien | Total | % correct |
|------------------|-------------|---------|-----------|------------|------------|-------|-----------|
| Deutschland | 28 | 2 | 1 | 1 | 0 | 32 | 87,50% |
| England (n=1) | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0,00% |
| Luxemburg (n=1) | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| Schottland (n=1) | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 100,00% |
| Tschechien (n=1) | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 100,00% |
| Total | 30 | 2 | 3 | 3 | 2 | 40 | 85,00% |

Tabelle 11: Statistik der Diskriminanzanalyse der stabilen Isotope der deutschen und ausländischen Proben von *Festuca*

Die Problematik der englischen Proben setzt sich ebenfalls bei *Lotus* fort (Tabelle 12)

| from \ to | Deutschland | England | Italien | Luxemburg | Niederlande | Serbien | Spanien | Tschechien | Total | % correct |
|-------------------|-------------|---------|---------|-----------|-------------|---------|---------|------------|-------|-----------|
| Deutschland | 37 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 40 | 92,50% |
| England (n=1) | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0,00% |
| Italien (n=1) | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| Luxemburg (n=1) | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| Niederlande (n=3) | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 | 66,67% |
| Serbien (n=1) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| Spanien (n=1) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 100,00% |
| Tschechien (n=2) | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0,00% |
| Total | 40 | 1 | 2 | 3 | 4 | 2 | 3 | 0 | 55 | 85,45% |

Tabelle 12: Statistik der Diskriminanzanalyse der stabilen Isotope der deutschen und ausländischen Proben von *Lotus*

So sind Proben aus Italien, Luxemburg, Serbien und Spanien signifikant von den deutschen Proben zu differenzieren. Eine der drei niederländischen Proben wurde zwar nicht den deutschen Referenzen zugeordnet, konnte aber gleichsam nicht dem niederländischen Cluster zugeordnet werden. Dennoch würde diese Probe weiterhin für eine Herkunft aus Deutschland falsifiziert werden.

Abschließend standen von *Poa* insgesamt zwei Testproben aus Schottland und Luxemburg zur Verfügung.

| from \ to | Deutschland | Luxemburg | Schottland | Total | % correct |
|------------------|-------------|-----------|------------|-------|-----------|
| Deutschland | 40 | 1 | 0 | 41 | 97,56% |
| Luxemburg (n=1) | 0 | 2 | 0 | 2 | 100,00% |
| Schottland (n=1) | 2 | 0 | 0 | 2 | 0,00% |
| Total | 42 | 3 | 0 | 45 | 93,33% |

Tabelle 13: Statistik der Diskriminanzanalyse der Stablen Isotope der deutschen und ausländischen Proben von *Poa*

Die Testprobe aus Luxemburg war wieder von Deutschland zu trennen (Tabelle 13). In diesem Fall wies jedoch die Testprobe aus Schottland Ähnlichkeiten zu den deutschen Referenzen auf und konnte nicht getrennt werden.

Die guten, artübergreifenden Differenzierungsmöglichkeiten der vier Test-Proben aus Luxemburg sind insbesondere auf die signifikant abgereicherten $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ Isotopenverhältnisse von bis zu -11,6 ‰ zurückzuführen. Diese abgereicherte Signatur ermöglicht eine Abgrenzung von den deutschen Referenzen.

Insbesondere die südländischen Proben von Italien, Spanien und Portugal (mit einer Einschränkung) zeigen dagegen signifikant angereicherte $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse von über +30 ‰, welches ebenfalls hilfreich ist eine Differenzierung von Deutschland zu gewährleisten.

Insbesondere das Problem der englischen Proben lässt sich jedoch nur durch eine Ausdehnung der Analytik lösen. So ist die NIR Analytik eine gute Möglichkeit diese Lücke zu schließen.

Es muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass zur Verifizierung dieser Möglichkeit eine größere Anzahl von englischen Testproben nötig ist, um eine Überinterpretation der Werte zu vermeiden.

Zum Austesten wurden deshalb die NIR-Parameter von über 251 auf 2 reduziert.

So reichen bei Lotus diese 2 zusätzlichen Parameter der NIR-Analyse aus die Herkunft der beiden englischen Proben (NIR = Dreifachmessung an unterschiedlichen Tagen) von den deutschen Referenzen abzugrenzen. Es gab lediglich noch eine Fehlzugehörigkeit von sechs Mess-Signaturen (Tabelle 14).

| from \ to | Deutschland | England | Italien | Spanien | Total | % correct |
|---------------|-------------|---------|---------|---------|-------|-----------|
| Deutschland | 117 | 3 | 0 | 3 | 123 | 95,12% |
| England (n=2) | 1 | 5 | 0 | 0 | 6 | 83,33% |
| Italien (n=1) | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | 100,00% |
| Spanien (n=1) | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 100,00% |
| Total | 118 | 8 | 3 | 6 | 135 | 94,81% |

Tabelle 14: Statistik der Diskriminanzanalyse der Stablen Isotope und NIR (PCA: 2 Parameter) der deutschen und ausländischen Proben von Lotus.

Ähnliche Möglichkeiten weisen ebenfalls *Festuca* und *Poa* auf. In beiden Fällen reichte eine Einbindung von 2 NIR Parameter (nach PCA) aus, die Differenzierung zu gewährleisten.

Dagegen war im Fall der englischen Testproben von *Tragopogon* auch unter Einbindung von NIR-Daten keine Trennung möglich.

Eine weitere Möglichkeit ist die Einbeziehung von Konzentrationen der Elemente wie z.B. Rubidium und Mangan, was jedoch nicht mehr im Projekt getestet werden konnte.

Insgesamt kann schon derzeit abgeleitet werden, dass schon auf Basis der stabilen Isotope Proben ausländischer Herkunft nachzuweisen sind. Es ist derzeit nicht zu klären, welche Überlappung zwischen den ausländischen Herkünften und Deutschland existieren, hierzu ist eine größere Anzahl an ausländischen Testproben notwendig.

Es kann jedoch aufgezeigt werden, dass die Differenzierung der ausländischen Proben auffallend robust ist. So weisen die Testproben von Lotus auch unter der Einbeziehung der Referenzen aus 2016 weiterhin gute Abgrenzungen auf (Tabelle 15).

| from \ to | D-2016 | D-2017 | Italien | Luxemburg | Niederlande | Serbien | Spanien | Tschechien | England | Total | % correct |
|-------------------|--------|--------|---------|-----------|-------------|---------|---------|------------|---------|-------|-----------|
| D-2016 | 18 | 17 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 37 | 48,65% |
| D-2017 | 13 | 24 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 40 | 60,00% |
| Italien (n=1) | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| Luxemburg (n=1) | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| Niederlande (n=3) | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 66,67% |
| Serbien (n=1) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| Spanien (n=1) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| Tschechien (n=2) | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0,00% |
| England (n=1) | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0,00% |
| Total | 32 | 43 | 2 | 3 | 4 | 4 | 3 | 0 | 1 | 92 | 56,52% |

Tabelle 15: Statistik der Diskriminanzanalyse der Stablen Isotope der deutschen und ausländischen Proben von Lotus mit jahresübergreifenden deutschen Referenzen aus den Jahren 2016 und 2017

Insgesamt kann davon ausgegangen werden, dass insbesondere südländische Proben gut nachzuweisen sind.

➔ **Die Stabil-Isotopen-Methode liefert nach dem derzeitigen Kenntnisstand gute Möglichkeiten ausländische Saatgutproben nachzuweisen. Der Nachweis ist jedoch nicht abschließend, d.h. Herkunft von Saatgut aus Ländern wie England bzw. Tschechien sind alleine mit den stabilen Isotopen wahrscheinlich nicht nachzuweisen. Eine Ausdehnung der Analytik ist entsprechend notwendig.**

Fazit

Nach dem derzeitigen Kenntnisstand kann der Nachweis der Herkunftsüberprüfung der vordefinierten Regionen (nach DBU: 23931) mit Hilfe der stabilen Isotope und dem NIR Profiling nicht gewährleistet werden bzw. ist nur in Ausnahmen möglich.

Mit einer Änderung der Fragestellung bzw. mit einem angepassten systemischen Ansatz insbesondere der Archivierung von Referenzproben, können jedoch schon mit den derzeitigen analytischen Möglichkeiten signifikante lokale (Feld) Differenzierungen durchgeführt werden. Im optimalen Ansatz werden dazu jährlich Referenzproben der Felder hinterlegt und in der späteren Überprüfung ein Abgleich vollzogen.

Verbesserungen der Differenzierung können insbesondere durch Modellierung der klimatischen Bedingungen erzielt werden. Diese Ausarbeitung von Vorhersage-Modellen sind von entscheidender Wichtigkeit auch ohne Referenzproben die D/H und $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Isotopenverhältnisse in Pflanzen inkl. Saatgut vorhersagen zu können.

Diese Modelle werden im Rahmen des europäischen „Plant-Hub“ Projektes in Zusammenarbeit mit der Universität Basel derzeit von der Agroisolab entwickelt.

Davon abgesehen ist der Nachweis von ausländischen Saatgut insbesondere mit Hilfe der stabilen Isotope jederzeit möglich.

Die Ausdehnung auf weitere Parameter wie z.B. die Elementaranalyse von Rubidium und Mangan ist insbesondere für eine örtliche Differenzierung hilfreich.

Derzeit wurden nur fünf Elemente (Rb, Sr, Ba, Mn, Ti) analysiert. Es ist wahrscheinlich, dass die Ausdehnung auf weitere Elemente weitere Verbesserungen in der Verifizierung insbesondere der lokalen Herkunft erbringt. So konnte in der Kombination von bis zu 55 Elementen mit den stabilen Isotopen von D/H, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ und $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ hohe Differenzierungsaufösungen in Produkten wie Wein und Tee erreicht werden (Watling et al. 2010).

Es muss jedoch eingeschränkt werden, dass die überwiegende Differenzierung in dieser Arbeit auf Länderebene vollzogen wurde. Eine sehr kleinräumige bzw. eine jahresübergreifende Differenzierung wurde nicht ausgetestet.

Dennoch ist die Ausdehnung der analytischen Parameterzahl ein zielführender Weg sich der schlussendlichen Fragestellung der Verifizierung der vordefinierten Region weiter anzunähern.

Entsprechend ist es zu empfehlen den derzeitigen Wissenstand in einem weiteren Projekt mit weiteren analytischen Parametern (inkl. Genetischer Möglichkeiten) auszubauen.

Anhang:

Abbildung 27:

a) Orte der Probennahme der sieben verschiedenen Arten in 2016

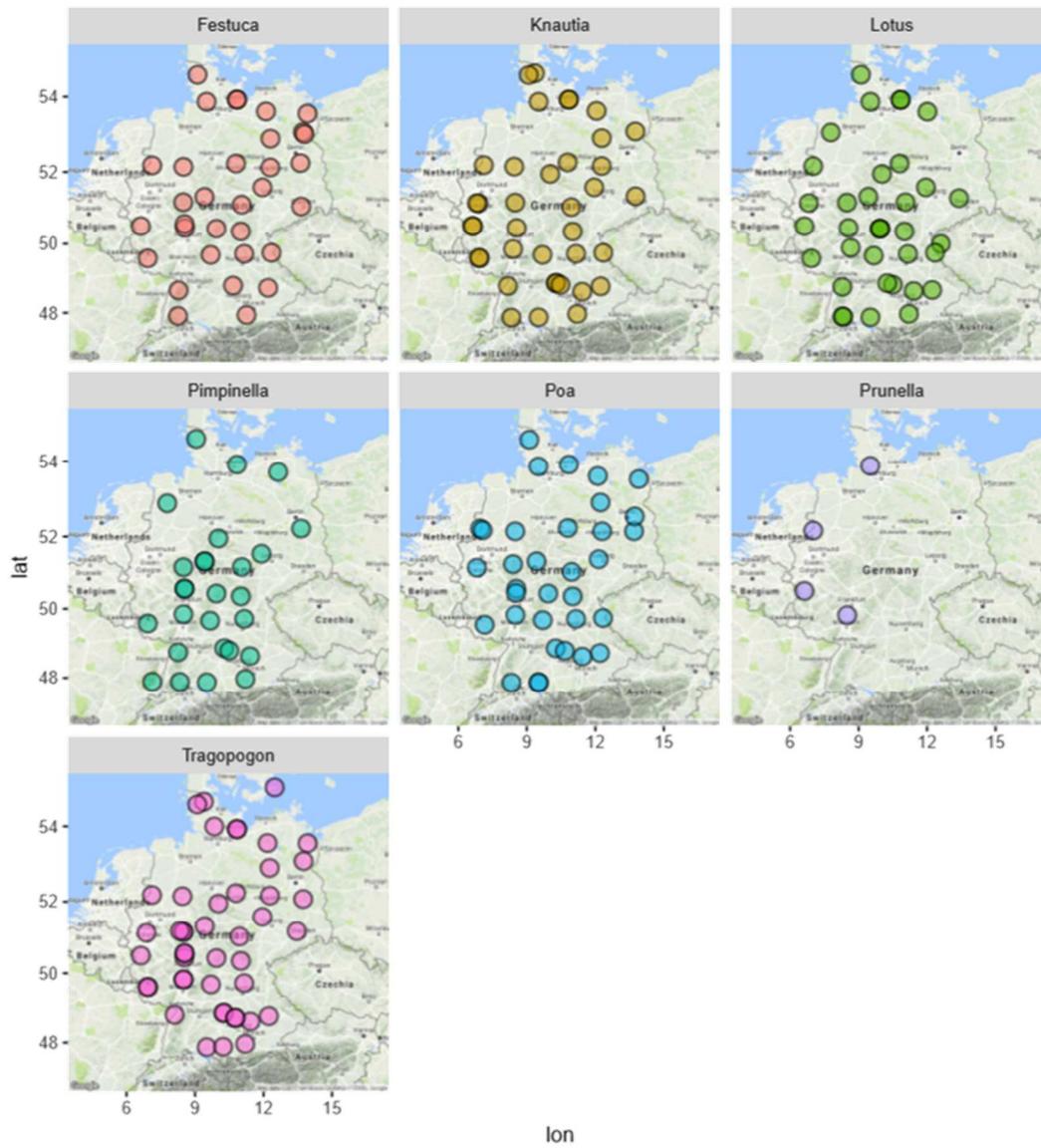


Abbildung 28a: D/H Isotopenwerte der Organik in *Festuca* im Jahr 2016

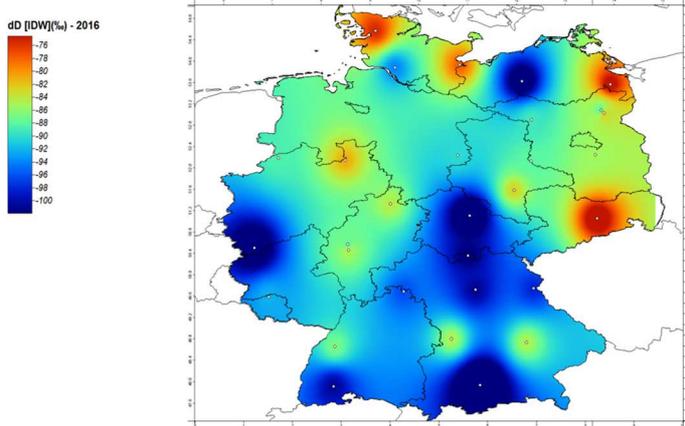


Abbildung 28b: D/H Isotopenwerte der Organik in *Tragopogon* im Jahr 2016

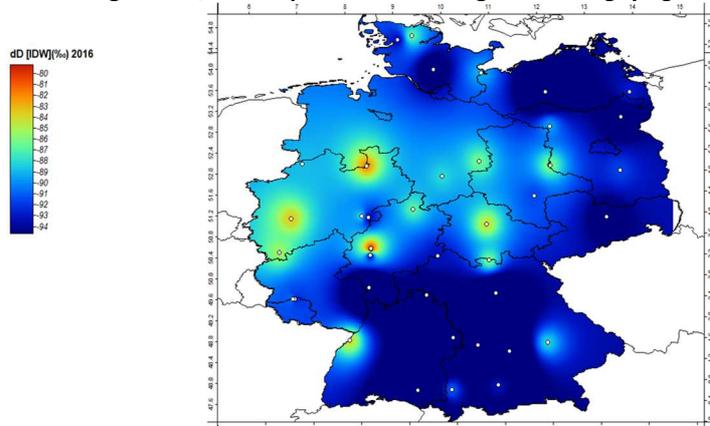


Abbildung 28c: D/H Isotopenwerte der Organik in *Festuca* im Jahr 2017

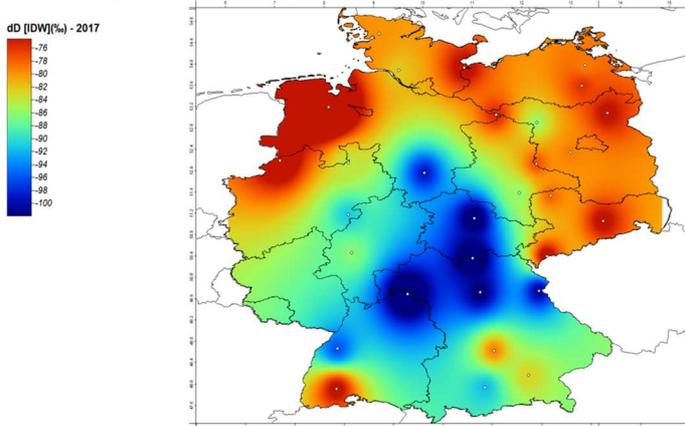


Abbildung 28d: D/H Isotopenwerte der Organik in *Tragopogon* im Jahr 2017

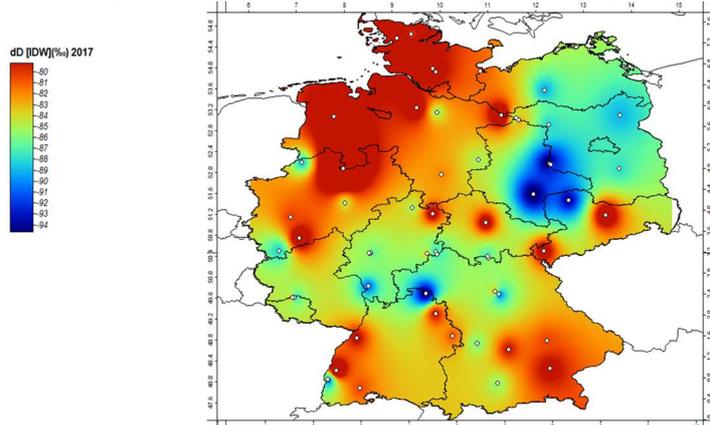
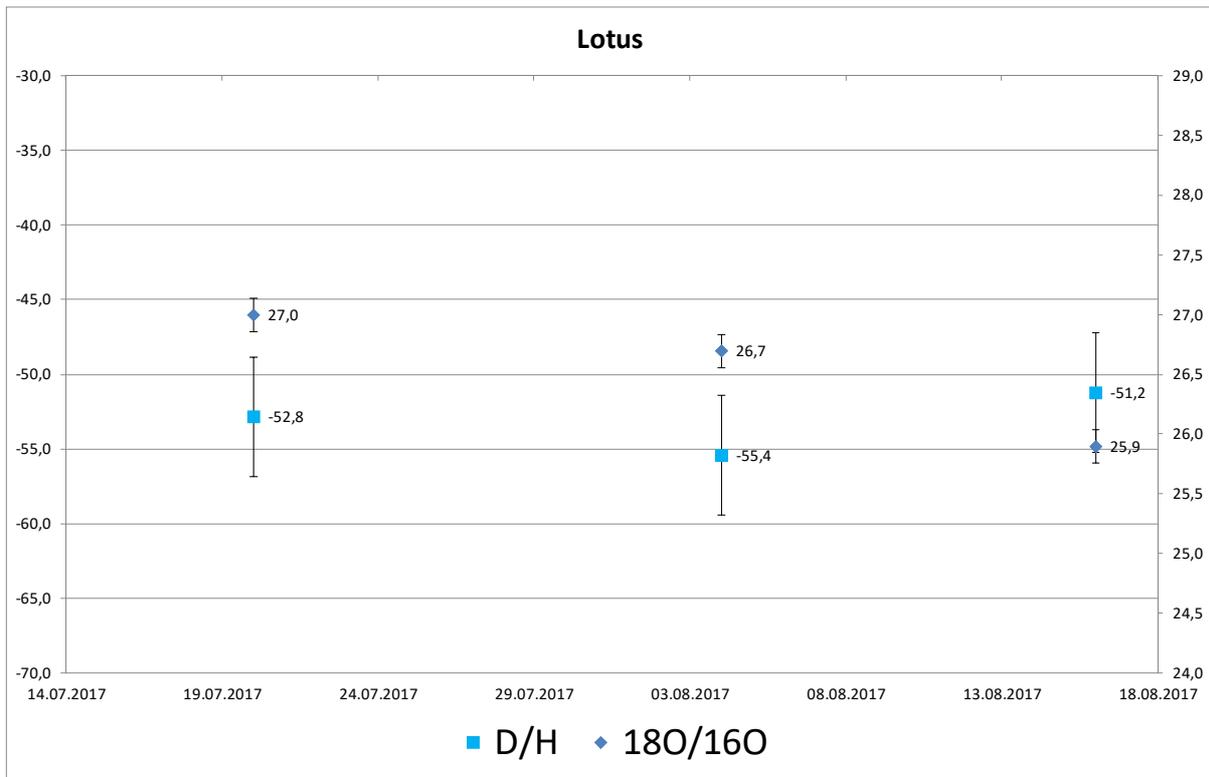


Abbildung 29: Ernteeffekte am Beispiel von *Lotus* und *Poa*

a) Ort der Probennahme von *Lotus*: Region am Ammersee (AV : Alpen / Alpenvorland)



b) Ort der Probennahme von *Poa*: Region Wittenberge (NO: Norddeutsches Tiefland)

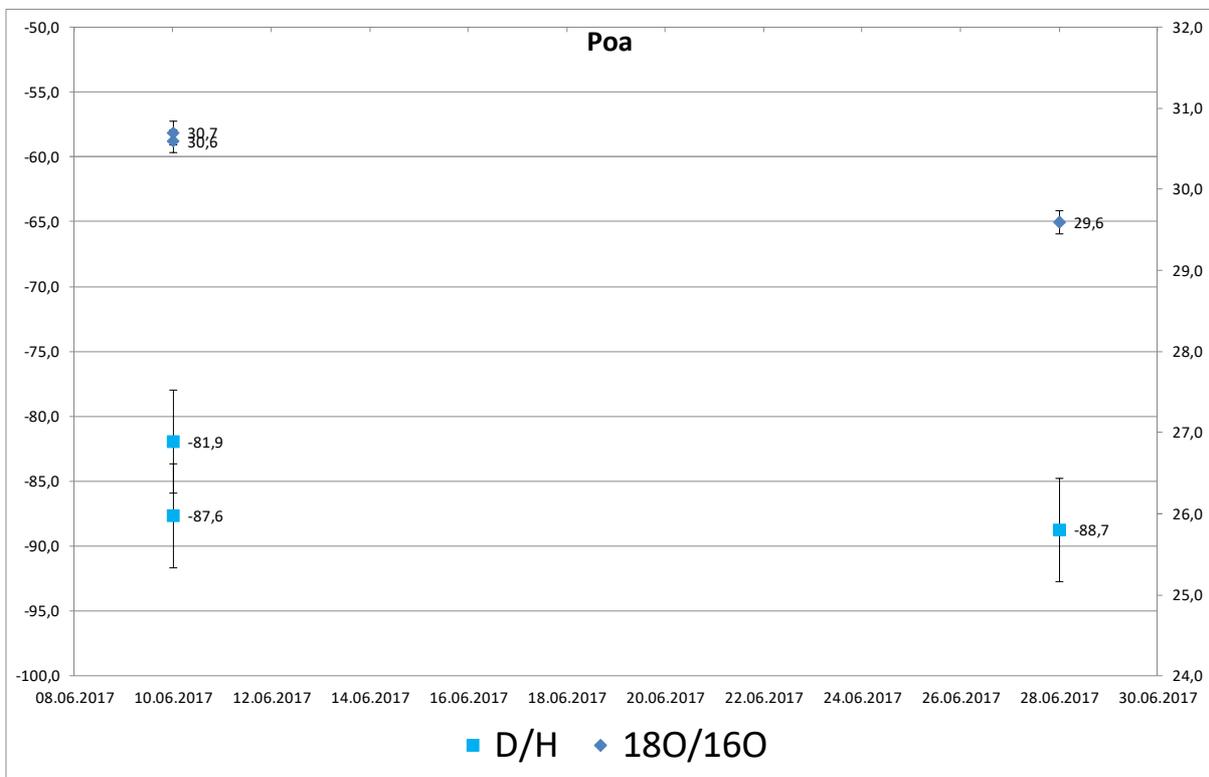


Abbildung 30a: Muster der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotopenwerte in *Tragopogon* des Erntejahres 2016

d13C [IDW](‰) 2016

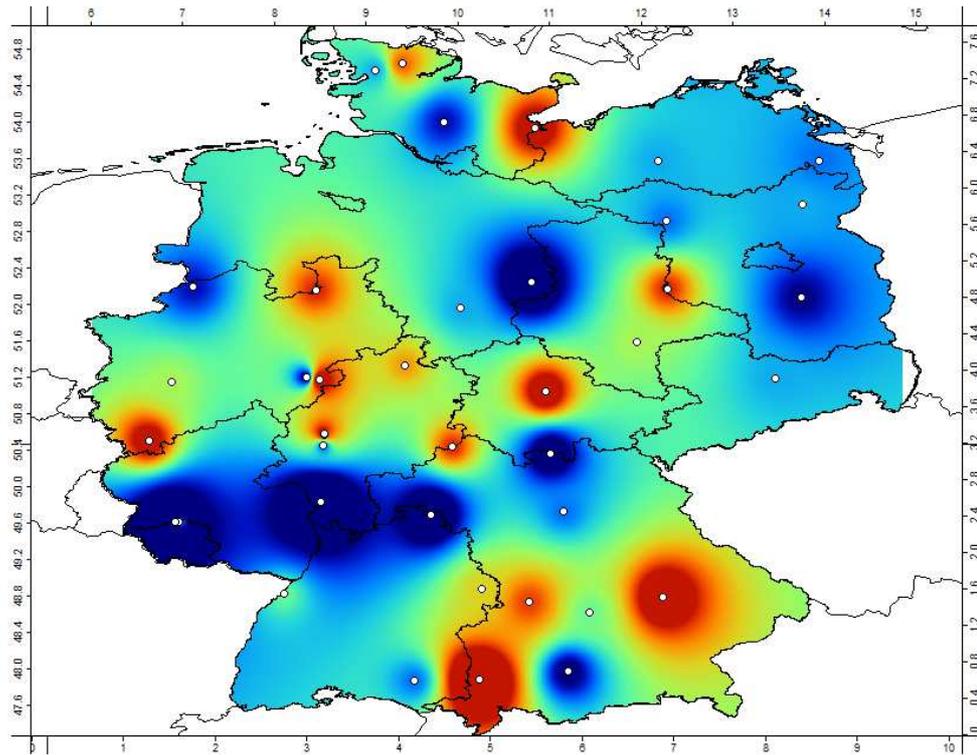
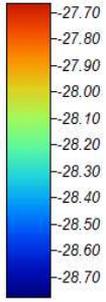


Abbildung 30b: Muster der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotopenwerte in *Tragopogon* des Erntejahres 2017

d13C [IDW](‰) 2017

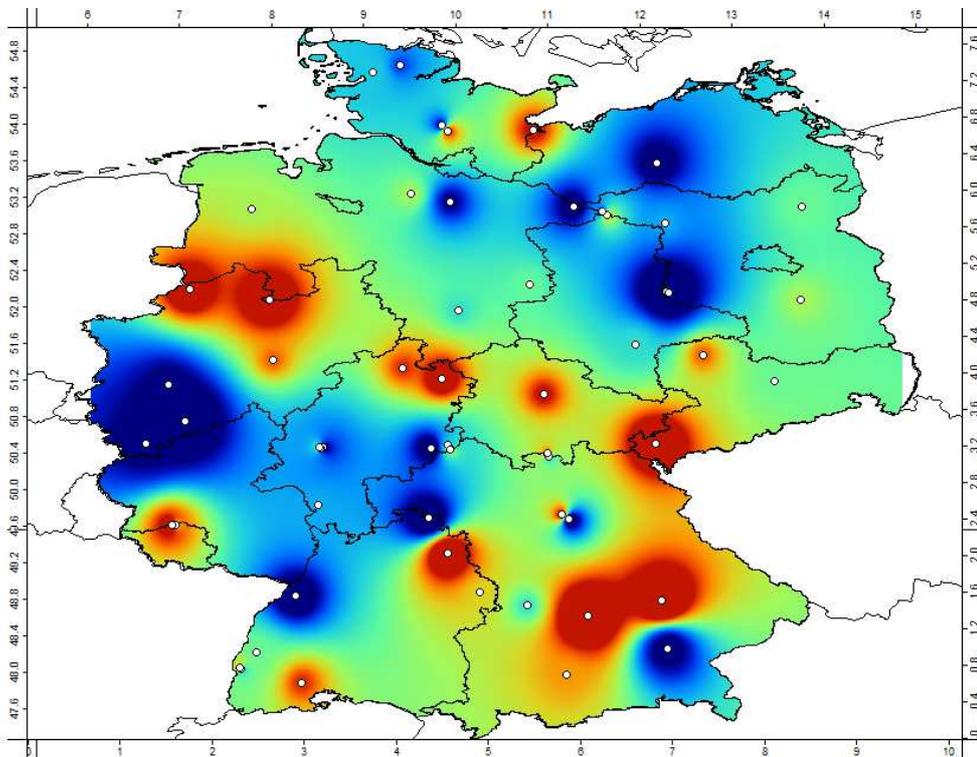
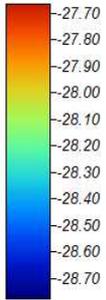
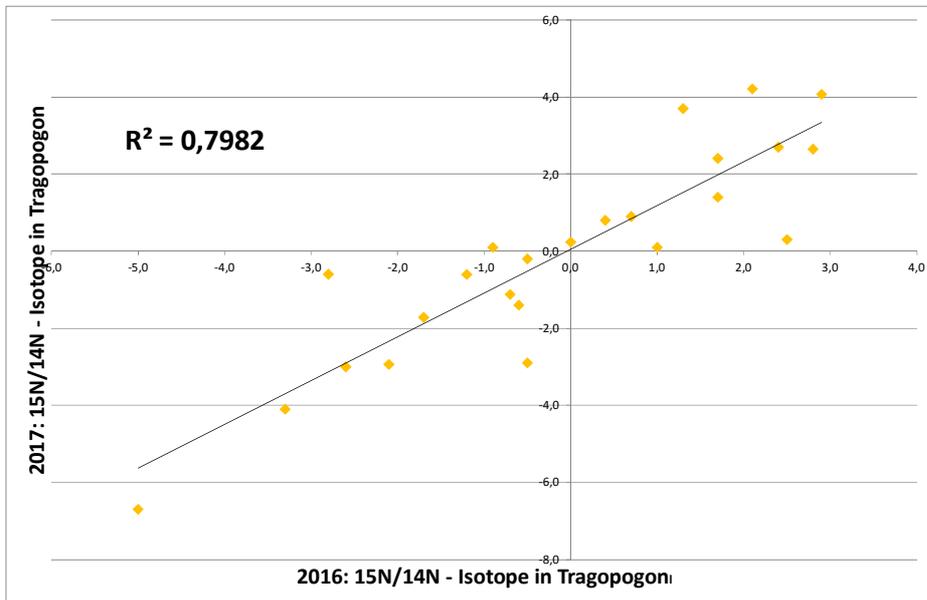


Abbildung 31: Korrelation der $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Isotopenverhältnisse in den Jahren 2016 bis 2017

a) *Tragopogon*



b) *Poa*

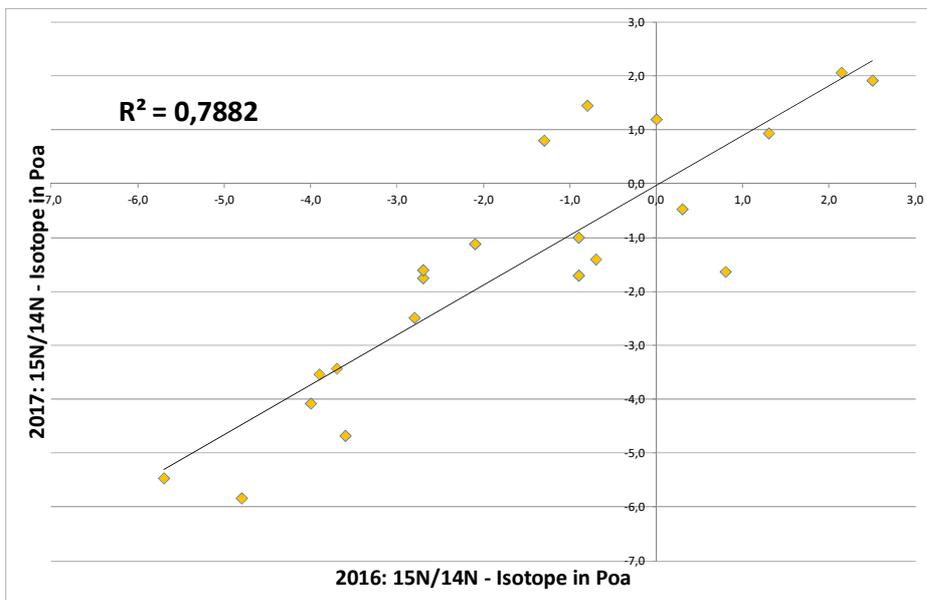
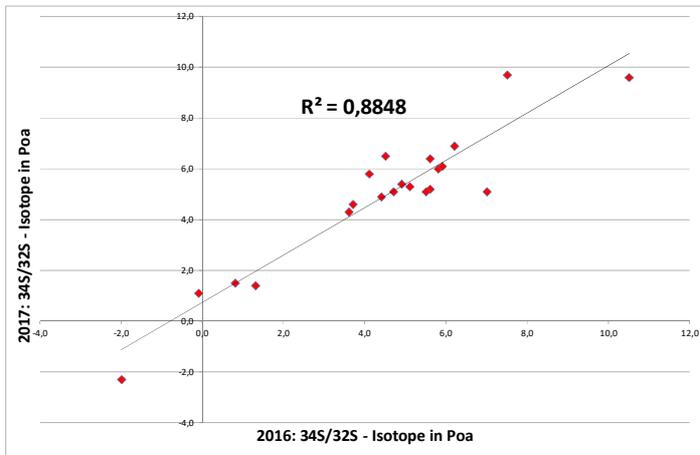
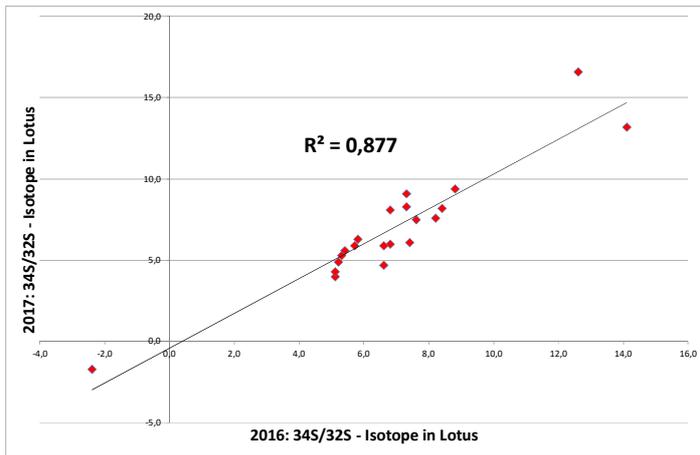


Abbildung 32: Korrelation der $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ Isotopenverhältnisse in den Jahren 2016 bis 2017

a) *Poa*



b) *Lotus*



c) *Festuca*

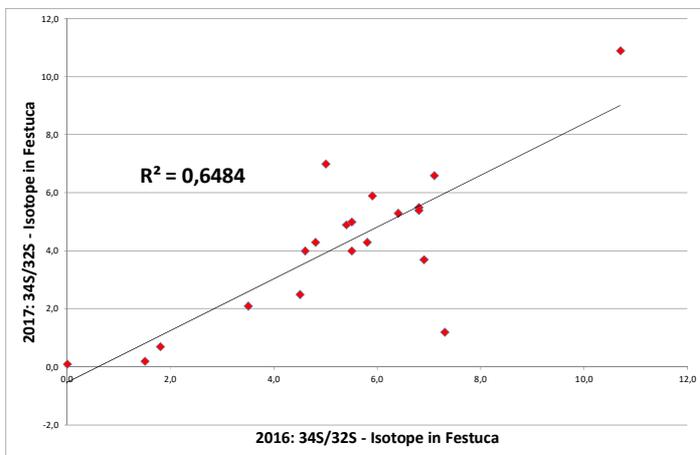


Tabelle 16: Statistik der Differenzierung der vordefinierten Regionen mit Hilfe der stabilen Isotope (COHNS) im Jahr 2016

a) Poa

| from \ to | AV | MD | NO | NW | SD | SW | WB | Total | % correct |
|-----------|----|----|----|----|----|----|----|-------|-----------|
| AV | 2 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 5 | 40,00% |
| MD | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 33,33% |
| NO | 0 | 1 | 3 | 2 | 0 | 0 | 1 | 7 | 42,86% |
| NW | 2 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 5 | 40,00% |
| SD | 0 | 0 | 1 | 0 | 6 | 0 | 0 | 7 | 85,71% |
| SW | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 50,00% |
| WB | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 3 | 5 | 60,00% |
| Total | 5 | 2 | 9 | 5 | 8 | 1 | 4 | 34 | 52,94% |

b) Knautia

| from \ to | AV | MD | NO | NW | SD | SW | WB | Total | % correct |
|-----------|----|----|----|----|----|----|----|-------|-----------|
| AV | 3 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 5 | 60,00% |
| MD | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 4 | 0,00% |
| NO | 2 | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 | 7 | 28,57% |
| NW | 0 | 0 | 1 | 5 | 0 | 0 | 1 | 7 | 71,43% |
| SD | 0 | 0 | 2 | 2 | 4 | 0 | 0 | 8 | 50,00% |
| SW | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 | 4 | 50,00% |
| WB | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 4 | 5 | 80,00% |
| Total | 6 | 1 | 7 | 8 | 10 | 3 | 5 | 40 | 50,00% |

c) Festuca

| from \ to | AV | MD | NO | NW | SD | SW | WB | Total | % correct |
|-----------|----|----|----|----|----|----|----|-------|-----------|
| AV | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 3 | 0,00% |
| MD | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 4 | 25,00% |
| NO | 0 | 2 | 5 | 0 | 1 | 0 | 1 | 9 | 55,56% |
| NW | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 4 | 50,00% |
| SD | 0 | 0 | 1 | 0 | 4 | 0 | 0 | 5 | 80,00% |
| SW | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 50,00% |
| WB | 0 | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | 2 | 6 | 33,33% |
| Total | 0 | 3 | 11 | 4 | 7 | 2 | 6 | 33 | 45,45% |

d) Lotus

| from \ to | AV | MD | NO | NW | SD | SW | WB | Total | % correct |
|-----------|----|----|----|----|----|----|----|-------|-----------|
| AV | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 2 | 5 | 0,00% |
| MD | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 | 4 | 0,00% |
| NO | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 4 | 50,00% |
| NW | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 4 | 50,00% |
| SD | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 1 | 1 | 8 | 75,00% |
| SW | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 3 | 33,33% |
| WB | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 5 | 8 | 62,50% |
| Total | 0 | 0 | 3 | 4 | 12 | 3 | 14 | 36 | 44,44% |

e) Pimpinella

| from \ to | AV | MD | NO | SD | SW | WB | Total | % correct |
|-----------|----|----|----|----|----|----|-------|-----------|
| AV | 3 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 | 75,00% |
| MD | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 50,00% |
| NO | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 4 | 50,00% |
| SD | 0 | 0 | 0 | 5 | 1 | 1 | 7 | 71,43% |
| SW | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 3 | 33,33% |
| WB | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 6 | 7 | 85,71% |
| Total | 4 | 1 | 4 | 8 | 2 | 8 | 27 | 66,67% |

Tabelle 17: Statistik der Differenzierung der vordefinierten Regionen mit Hilfe der stabilen Isotope (COHNS) im Jahr 2017



a) *Poa*

| from \ to | AV | MD | NO | NW | S | SD | SO | SW | WB | Total | % correct |
|--------------|----------|----------|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|---------------|
| AV | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4 | 50,00% |
| MD | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 5 | 40,00% |
| NO | 0 | 2 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 77,78% |
| NW | 0 | 1 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 6 | 33,33% |
| S | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0,00% |
| SD | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 33,33% |
| SO | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0,00% |
| SW | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 4 | 75,00% |
| WB | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 6 | 33,33% |
| Total | 5 | 6 | 15 | 5 | 0 | 2 | 0 | 4 | 5 | 42 | 45,24% |

b) *Lotus*

| from \ to | AV | E | I | MD | NO | NW | SD | SO | SW | UK | WB | Total | % correct |
|--------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|---------------|
| AV | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 7 | 57,14% |
| E | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| I | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| MD | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 25,00% |
| NO | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 5 | 40,00% |
| NW | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 8 | 50,00% |
| SD | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0,00% |
| SO | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 0,00% |
| SW | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 4 | 25,00% |
| UK | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 50,00% |
| WB | 3 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 8 | 25,00% |
| Total | 8 | 3 | 2 | 3 | 6 | 9 | 1 | 0 | 2 | 2 | 11 | 47 | 40,43% |

c) *Festuca*

| from \ to | AV | MD | NO | NW | S | SD | SO | SW | UK | WB | Total | % correct |
|--------------|----------|----------|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|---------------|
| AV | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 33,33% |
| MD | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 4 | 25,00% |
| NO | 0 | 0 | 8 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 88,89% |
| NW | 0 | 0 | 1 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 80,00% |
| S | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| SD | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 3 | 0,00% |
| SO | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 | 66,67% |
| SW | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0,00% |
| UK | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 100,00% |
| WB | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 33,33% |
| Total | 1 | 5 | 13 | 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 2 | 2 | 36 | 58,33% |

d) *Tragopogon*

| from \ to | AV | I | MD | NO | NW | S | SD | SO | SW | UK | WB | Total | % correct |
|--------------|----------|----------|----------|-----------|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|---------------|
| AV | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 6 | 16,67% |
| I | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| MD | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 6 | 0,00% |
| NO | 2 | 1 | 1 | 5 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 11 | 45,45% |
| NW | 0 | 0 | 1 | 1 | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 17 | 76,47% |
| S | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100,00% |
| SD | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 | 8 | 0,00% |
| SO | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 3 | 33,33% |
| SW | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 8 | 0,00% |
| UK | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 100,00% |
| WB | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 14 | 16 | 87,50% |
| Total | 4 | 3 | 2 | 12 | 20 | 3 | 2 | 3 | 0 | 4 | 28 | 81 | 49,38% |

Tabelle 18: Statistik der jahresübergreifende (2016-2017) Differenzierung der vordefinierten Regionen mit Hilfe der stabilen Isotope (COHNS) und NIRS Signaturen (PCA, 7 bis 8 Parameter)

a) *Poa*

| from \ to | AV | MD | NO | NW | S | SD | SO | SW | WB | Total | % correct |
|-----------|----|----|----|----|---|----|----|----|----|-------|-----------|
| AV | 15 | 1 | 0 | 2 | 0 | 5 | 0 | 1 | 2 | 26 | 57,69% |
| MD | 3 | 12 | 5 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 21 | 57,14% |
| NO | 0 | 4 | 25 | 5 | 0 | 0 | 4 | 0 | 4 | 42 | 59,52% |
| NW | 0 | 5 | 4 | 23 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 33 | 69,70% |
| S | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 100,00% |
| SD | 8 | 0 | 1 | 0 | 0 | 17 | 1 | 0 | 3 | 30 | 56,67% |
| SO | 0 | 0 | 5 | 2 | 0 | 1 | 3 | 0 | 1 | 12 | 25,00% |
| SW | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 11 | 27,27% |
| WB | 7 | 2 | 9 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 12 | 33 | 36,36% |
| Total | 33 | 24 | 55 | 32 | 3 | 25 | 8 | 6 | 25 | 211 | 53,55% |

b) *Lotus*

| from \ to | AV | E | I | MD | NO | NW | SD | SO | SW | UK | WB | Total | % correct |
|-----------|----|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|-------|-----------|
| AV | 20 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 9 | 0 | 0 | 0 | 5 | 38 | 52,63% |
| E | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 100,00% |
| I | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 100,00% |
| MD | 8 | 0 | 0 | 5 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 23 | 21,74% |
| NO | 0 | 0 | 0 | 4 | 16 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 | 28 | 57,14% |
| NW | 2 | 0 | 0 | 4 | 3 | 23 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 36 | 63,89% |
| SD | 7 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 18 | 0 | 0 | 0 | 1 | 29 | 62,07% |
| SO | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 5 | 0 | 1 | 1 | 10 | 50,00% |
| SW | 4 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 0 | 0 | 8 | 1 | 0 | 18 | 44,44% |
| UK | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 6 | 100,00% |
| WB | 4 | 0 | 0 | 3 | 9 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 23 | 41 | 56,10% |
| Total | 45 | 6 | 3 | 19 | 38 | 32 | 27 | 6 | 13 | 8 | 38 | 235 | 55,32% |

c) *Tragopogon*

| from \ to | AV | I | MD | NO | NW | S | SD | SO | SW | UK | WB | Total | % correct |
|-----------|----|---|----|----|----|---|----|----|----|----|----|-------|-----------|
| AV | 24 | 0 | 0 | 7 | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | 39 | 61,54% |
| I | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 100,00% |
| MD | 2 | 0 | 9 | 6 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 5 | 27 | 33,33% |
| NO | 5 | 1 | 2 | 38 | 3 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 8 | 62 | 61,29% |
| NW | 2 | 0 | 5 | 5 | 50 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 8 | 73 | 68,49% |
| S | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 100,00% |
| SD | 3 | 0 | 1 | 3 | 4 | 0 | 14 | 3 | 1 | 0 | 9 | 38 | 36,84% |
| SO | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 9 | 66,67% |
| SW | 4 | 0 | 3 | 1 | 5 | 0 | 6 | 0 | 8 | 0 | 3 | 30 | 26,67% |
| UK | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | 100,00% |
| WB | 0 | 0 | 3 | 10 | 10 | 0 | 3 | 1 | 1 | 0 | 58 | 86 | 67,44% |
| Total | 40 | 4 | 23 | 70 | 80 | 3 | 29 | 10 | 15 | 5 | 94 | 376 | 58,24% |

d) *Festuca*

| from \ to | AV | MD | NO | NW | S | SD | SO | SW | UK | WB | Total | % correct |
|-----------|----|----|----|----|---|----|----|----|----|----|-------|-----------|
| AV | 0 | 1 | 5 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0,00% |
| MD | 0 | 6 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 13 | 46,15% |
| NO | 0 | 3 | 19 | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 26 | 73,08% |
| NW | 0 | 3 | 5 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16 | 50,00% |
| S | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0,00% |
| SD | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 8 | 0 | 0 | 0 | 1 | 12 | 66,67% |
| SO | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 7 | 57,14% |
| SW | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 100,00% |
| UK | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0,00% |
| WB | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 5 | 9 | 55,56% |
| Total | 0 | 18 | 39 | 15 | 0 | 9 | 7 | 3 | 1 | 9 | 101 | 52,48% |

Leitfaden zum Probenversand von Pflanzensamen

Welche Fragestellung soll beantwortet werden?

Beispielhaft:

Stammt die Wildsamprobe von der deklarierten Wildsamproduktionsstätte? (Direkte Referenz notwendig!)

Es liegt undeklarierte Ware vor. Kann eine Herkunft aus Deutschland bestätigt/ausgeschlossen werden? (Nur bei im Rahmen des DBU Projektes kartierten Gattungen - Festuca, Knautia, Lotus, Pimpinella, Poa und Tragopogon)

Welche Informationen sind über die Verdachtsprobe vorhanden?

Je genauer die Informationen zu einer Verdachtsprobe angegeben werden, desto zielgerichteter und somit aussagekräftiger kann eine Herkunftsüberprüfung mittels stabiler Isotope durchgeführt werden.

Essentiell ist die Genauigkeit der Herkunftsangabe zu der Verdachtsprobe (z.B. Land, Region, Betrieb, Feld).

Welche Art liegt vor? – Auf Basis der erhobenen Datensätze des von der DBU geförderten Kooperationsprojektes zwischen der Agroisolab GmbH und dem VWW können wir gattungsspezifisch (Festuca, Knautia, Lotus, Pimpinella, Poa und Tragopogon) großräumige Herkunftsüberprüfungen ohne direkte Referenz anbieten. Abweichende Gattungen sind von diesem Herkunftsnachweis ausgeschlossen.

Bei abweichenden Gattungen bieten wir ein bereits bewährtes Prinzip des direkten Abgleichs mit Referenzproben an.

Ist es möglich zu der Verdachtsprobe eine authentische Referenz mit „identischer“ deklarierte Herkunft zur Verfügung zu stellen?

Eine authentische Referenzprobe ermöglicht eine sichere Herkunftsuntersuchung der Verdachtsprobe. So kann zum Beispiel festgestellt werden, ob regional entfremdetes Saatgut unter zertifiziertem Siegel auf den Markt gelangt. Dadurch wird nicht nur der Abnehmer von Saatgut geschützt, sondern auch der jeweilige Saatgutbetrieb, der sich über einen Abgleich der Isotopensignaturen vor Produktfälschungen schützen kann. Ein Qualitätssiegel zeichnet ein Produkt zwar aus, macht es aber nicht fälschungssicher.

*Die Isotopenanalyse der Referenzprobe ist **kostenlos!***

*Neben Verdachts- und Referenzproben ist es möglich **Datenbankproben** einzusenden. Im Rahmen eines Projektes können zum Beispiel die vorkommenden Isotopensignaturen eines Betriebes kartiert werden und bei zukünftigen Verdachtsproben zum Abgleich herangezogen werden.*

Allgemeine Informationen:

*Das zu analysierende Saatgut sollte nach **Gattung/Art sortiert** sein und frei von Verunreinigungen.*

*Das zu untersuchende Saatgut muss **reif** sein.*

*Probenmenge: Eine **Probenmenge von 2 g** ist ausreichend. Größere Probenmengen erleichtern die Aufarbeitung. Wenn die vorhandene Menge der Verdachtsprobe den Richtwert von 2 g unterschreitet, bitten wir um vorherige Abklärung.*



Begleitdokument zum Probenversand

Auftraggeber: _____

Ansprechpartner: _____

Anschrift: _____

Steuer-ID: _____

Tel./Fax: _____

E-Mail: _____

Adresse für den Probenversand:
Agroisolab GmbH
Prof.-Rehm-Str. 6
D-52428 Jülich
Deutschland

Ergebnisbericht: Deutsch Englisch

Gewünschte Analyse/Frage: _____

| Probe | Externe Probenkennzeichnung | Gattung/ Art der Samen | Deklarierte Herkunft/Wildsamensbetrieb (z.B. Land, Region, PLZ, Koordinaten) | Zusätzliche Informationen (Datum der Probenziehung, Verantwortlicher, etc.) | Status |
|-------|-----------------------------|------------------------|--|---|---|
| 1 | | | | | <input type="checkbox"/> Verdachts- /Testprobe <input type="checkbox"/> Referenzprobe <input type="checkbox"/> Datenbankprobe |
| 2 | | | | | <input type="checkbox"/> Verdachts- /Testprobe <input type="checkbox"/> Referenzprobe <input type="checkbox"/> Datenbankprobe |
| 3 | | | | | <input type="checkbox"/> Verdachts- /Testprobe <input type="checkbox"/> Referenzprobe <input type="checkbox"/> Datenbankprobe |
| 4 | | | | | <input type="checkbox"/> Verdachts- /Testprobe <input type="checkbox"/> Referenzprobe <input type="checkbox"/> Datenbankprobe |

Anmerkung: Je genauer und vollständiger die Informationen zur „Wildsamens“-Verdachtsprobe angegeben werden, desto besser kann das Potential der Herkunftsprüfung mittels Stabilisotopenanalyse ausgeschöpft werden

Referenzen

- Abbadonato et (2018) Native seed trade of herbaceous species for restoration: a European policy perspective with global implicatons. *Restoration Ecology*. 5, 820-826.
- Allison G.B. (1982) The relationship between 18O and deuterium in water in sand undergoing evaporation. *J. Hydrology* 55, 151-161.
- Angerosa, F. et al (1999) Application of stable isotope ratio analysis to the characterization of the geographical origin of olive oils. *J. Agric. Food Chem*, 47, S. 1013-1017
- Araguas-Araguas L.; Froehlich K.; Rozanski K. (2000) Deuterium and oxygen-18 isotope composition of precipitation and atmospheric moisture. *Hydrol. Process.* 14, 1341-1355
- Barbour MM, Roden JS, Farquhar GD, et al (2004) Expressing leaf water and cellulose oxygen isotope ratios as enrichment above source water reveals evidence of a Péclet effect. 426–435. doi: 10.1007/s00442-003-1449-3
- Bateman A. et al. (2007) Nitrogen Isotope composition of organically and conventionally grown corps. *Agric. Food Chem.*, 55, 2664-2670
- Bögelein R, Thomas FM, Kahmen A (2017) Leaf water 18O and 2H enrichment along vertical canopy profiles in a broadleaved and a conifer forest tree. *Plant Cell Environ* 40:1086–1103. doi: 10.1111/pce.12895
- Boner M. Foerstel H. (2004) Stable isotope variation as a tool to trace the authenticity of beef. *Anal Bioanal Chem.*, 378, 301-310
- Bucharova A. et al (2017) Genetic differentiation and regional adaptation among seed origins used for grassland restoration: lessons from a multispecies transplant experiment. *J. of Applied Ecology*. 54, 127-136.
- Camin F. et al (2017) Stable isotope technique for verifying the declared geographical origin of food in legal cases. *Trends in Food Science*, 61, 176-187.
- Cernusak LA, Barbour MM, Arndt SK, et al (2016) Stable isotopes in leaf water of terrestrial plants. 1087–1102. doi: 10.1111/pce.12703
- Cernusak LA, Farquhar GD, Pate JS (2005) Environmental and physiological controls over oxygen and carbon isotope composition of Tasmanian blue gum, *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiol* 25:129–146. doi: 10.1093/treephys/25.2.129
- Chukhrov F.V.; Ermilova L.P.; Churikov V.S.; Nosik L.P. (1980) The isotopic composition of plant sulphur. *Org. Geochem.* 2, 69-75.
- Clay D.E.; Engel R.E.; Long D.S.; Liu Z. (2001) Nitrogen and water stress interact to influence carbon-13 discrimination in wheat. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65, 1823-1828
- Craig H, Gordon LI (1965) Deuterium and oxygen 18 variations in the ocean and the marine atmosphere. Tongiorgi E, ed Proc conference stable Isot Oceanogr Stud Paleotemp Piza, Italy Lab Geol Nucl Sci 9–130.
- Craig H. (1961) Isotopic variations in meteoric waters. *Science* 133, 1702-1703.
- Dawson T.E.; Ehleringer J.R. (1991) Streamside trees that do not use stream water. *Nature* 350, 335-336
- Dongmann G, Nürnberg HW, Förstel H, Wagener K (1974) On the enrichment of H₂ 18O in the leaves of transpiring plants. *Radiat Environ Biophys* 11:41–52. doi: 10.1007/BF01323099
- Dunbar J. Wilson. A.T. (1983) Oxygen and Hydrogen isotopes in Fruit and vegetable juices. *Plant Physiology*. 72, 725-727.
- Durka W. (2009) Machbarkeitstudie - Herkunftskontrollen von Saat- und Pflanzengut aus lokalen Herkünften. Teil des DBU-Projektes: "Entwicklung und praktische Umsetzung naturschutzfachlicher Mindestanforderungen an einen Herkunftsnachweis für gebietseigenes Wildpflanzensaatgut krautiger Pflanzen", Prasse, Kunzmann&Schröder.
- Ehleringer, J. R. et al (2008) Hydrogen and oxygen ratios in human hair are related to geography. *Proceedings of Nat. Academy of Science of USA*, 105, S. 2788-2793
- Farquhar GD, Ehleringer JR, Hubick KT (1989) Carbon Isotope Discrimination and Photosynthesis. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 40:503–537. doi: 10.1093/oxfordjournals.annurev.plantphys.a01001019890601503
- Farquhar GD, Lloyd J (1993) Carbon and oxygen isotope effects in the exchange of carbon dioxide between terrestrial plants and the atmosphere. *Stable Isot Plant Carbon-water Relations* 47–70. doi: 10.1016/B978-0-08-091801-3.50011-8
- Förstel, H. und H. Hützen (1984) Variation des Verhältnisses der stabilen Sauerstoff-Isotope im Grundwasser der Bundesrepublik Deutschland. *GWF-Wasser/Abwasser*. 125, S. 21-25
- Galtier O. et al (2007) Geographic origins and compositions of virgin oils determined by chemometric analysis of NIR spectra. *Analytical Chimica Acta*. 595. 136-144.
- Giaccio M, Vicentini A. (2008) Determination of the geographical origin of wines by means of the mineral content and the stable isotope ratios: A review. *J. Commodity Sci. Technol. Quality*. 47, 267-284.

- Gonfiantini R, Gratziu S, Tongiorgi E (1965) Oxygen isotopic composition of water in leaves. *Isot Radiat Soil Plant Nutr Stud* 405–410.
- Kahmen A, Sachse D, Arndt SK, et al (2011) Cellulose $\delta^{18}\text{O}$ is an index of leaf-to-air vapor pressure difference (VPD) in tropical plants. *Proc Natl Acad Sci* 108:1981–1986. doi: 10.1073/pnas.1018906108
- Kahmen A, Simonin K, Tu KP, et al (2008) Effects of environmental parameters, leaf physiological properties and leaf water relations on leaf water $\delta^{18}\text{O}$ enrichment in different Eucalyptus species. *Plant, Cell Environ* 31:738–751. doi: 10.1111/j.1365-3040.2008.01784.x
- Kelly S. et al, (2005) Tracing the geographical origin of food: The application of multi-element and multi-isotope analysis. *Trends in Food Science & Technology*. 16, 555-567
- Körner C.; Farquhar G.D.; Wong S.C. (1991) Carbon isotope discrimination by plants follows latitudinal and altitudinal trends. *Oecologia*. 88, 30-40.
- Mainz A.K., Wieden M. (2018) Ten years of native seed certification in Germany - A summary. *Plant Biology*. ISSN 1435-8603.
- Majoube M (1971) Fractionnement en oxygène ^{18}O et en deutérium entre l'eau et sa vapeur. *J Chim Phys* 68:1423--1436. doi: 10.1051/jcp/1971681423
- Munksgaard NC, Cheesman WC, English NB, et al (2017) Identifying drivers of leaf water and cellulose stable isotope enrichment in Eucalyptus in northern Australia. *Oecologia* 183:31–43. doi: 10.1007/s00442-016-3761-8
- Posser S.J. (1993) A novel magnetic sector mass spectrometer for isotope ratio determination of light gases. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*. 125, 241-266.
- Roberto M. et al (2014) Near infrared spectroscopy is suitable for the classification of hazelnuts according to protected designation of origin. *Science of Food and Agriculture*. DOI10.1002/jsfa.6992
- Roden JS, Ehleringer JR (1999) Observations of Hydrogen and Oxygen Isotopes in Leaf Water Confirm the Craig-Gordon Model under Wide-Ranging Environmental Conditions 1. *120:1165–1173*.
- Sandak A. et al (2011) Relationship between near-infrared (NIR) spectra and the geographical provenance of timber. *Wood Sci Technol*, 45, 38-48.
- Schmidt HL, Werner RA, Roßmann A (2001) ^{18}O pattern and biosynthesis of natural plant products. *Phytochemistry* 58:9–32. doi: 10.1016/S0031-9422(01)00017-6
- Si-Min Yan. et al (2014) Rapid discrimination of the geographical origins of an Oolong Tea (anxi-tieguanyin) by Near-Infrared Spectroscopy and partial least square discriminant analysis. *J. of Analytical Methods in Chemistry*. ID704971
- Sternberg LDSL, Deniro MJ, Savidge RA (1986) Oxygen Isotope Exchange between Metabolites and Water during Biochemical Reactions Leading to Cellulose Synthesis. *Plant Physiol* 82:423–427. doi: 10.1104/pp.82.2.423
- Wang P. et al (2015) Species authentication and geographical origin discrimination of herbal medicines by near infrared spectroscopy: A review. *Journal of Pharmaceutical analysis*. 5, 277-284.
- Watling R. et al (2010) The Application of Solution and Laser Ablation Based ICP-MS and Solution Based AES for the Provenance Determination of Selected Food and Drink Products. *J. Open Chem. Biomed. Method*. 3, 179-196.
- West J. et al (2010) *Isoscapes - Understanding movement, pattern, and process on Earth through isotope mapping*. ISBN 978-90-481-3353-6
- West J.B. et al (2010) *Understanding movement pattern and process on Earth through isotope mapping*. ISBN 978-90-481-3353-6
- West JB, Sobek A, Ehleringer JR (2008) A Simplified GIS Approach to Modeling Global Leaf Water Isoscapes. doi: 10.1371/journal.pone.0002447
- Winner W.E.; Bewley J.D.; Krouse H.R.; Brown H.M. (1978) Stable sulphur isotope analysis of SO_2 pollution impact on vegetation. *Oecologia*. 36, 351-361
- Yakir D, DeNiro MJ (1990) Oxygen and Hydrogen Isotope Fractionation during Cellulose Metabolism in Lemna gibba L. *Plant Physiol* 93:325–332. doi: 10.1104/pp.93.1.325
- Yoneyama T.; Kouno K.; Yazaki J. (1990) Variation of natural ^{15}N abundance of crops and soils in Japan with special reference to the effect of soil conditions and fertilizer application. *Soil Sci. Plant Nutr*. 36, 667-675.
- Yoneyama T.; Nambiar P.T.C.; Lee K.K.; Srinivasa Rao B.; Williams J.H. (1990) Nitrogen accumulation in three legumes and two cereals with emphasis on estimation of N_2 fixation in the legumes by the natural ^{15}N dance technique. *Biol. Fertil. Soil*. 9, 25-30.