

(1969). — NEALE, D.: Allozyme studies in balsam fir. M.Sc. thesis, Univ. of New Hampshire, Durham, N. H. (1978). — NEI, M.: Genetic distance between populations. *Amer. Nat.* **106**: 283—292 (1972). — NEI, M.: Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Nat. Acad. Sci. No. 70*, Washington, D.C. p. 3321—3323 (1973). — NEI, M.: Molecular population genetics and evolution. In: A. NEUBERGER and E. L. TATUM (eds.). *Frontiers of Biology Vol. 40*. Am. Elsevier, New York (1975). — NEI, M. and ROYCHOUDHURY, A. K.: Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics* **76**: 379—390 (1974). — RIEGER, R., MICHAELIS, A. and GREEN, M. M.: Glossary of genetics and cytogenetics. Springer-Verlag, Berlin (1976). — ROWE, J. S.: Forest regions of Canada. *Can. For. Serv. Pub. 1300* (1972). — SHAW, C. R.: Electrophoretic variation in enzymes. *Science* **149**: 936—943 (1965). — SHAW, D. V.: The mating system and breeding structure of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*). Ph. D. dissertation. Univ. of California, Davis, Ca. (1982). — WORKMAN, P. L. and NISWANDER, J. D.: Population studies on southwestern Indian tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. *Am. J. Hum. Genet.* **22**: 24—49 (1970).

— WRIGHT, S.: Interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* **19**: 395—420 (1965). — YANG, J. C., CHING, T. M. and CHING, K. K.: Isoenzyme variation of coastal Douglas fir. I. A study of geographic variation in three enzyme systems. *Silvae Genet.* **26**: 10—18 (1977). — YEH, F. C.: Analysis of gene diversity in some species of conifers. In: M. T. CONKLE (ed.). *Proc. Symp. on Isozymes of N. American Forest Trees and Forest Insects*, Berkeley, Ca., 1979. USDA Gen. Tech. Rep. PSW-48. p. 48—52 (1981). — YEH, F. C. and EL-KASSABY, Y. A.: Enzyme variation in natural populations of Sitka spruce (*Picea sitchensis*). I. Genetic variation patterns among trees from 10 IUFRO provenances. *Can. J. For. Res.* **10**: 415—422 (1980). — YEH, F. C. and LAYTON, C.: The organisation of genetic variability in central and marginal populations of lodgepole pine (*Pinus contorta* ssp. *latifolia*). *Can. J. Genet. Cytol.* **21**: 487—503 (1979). — YEH, F. C. and O'MALLEY, D. M.: Enzyme variations in natural populations of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* (MIRB.) FRANCO) from British Columbia. I. Genetic variation patterns in coastal populations. *Silvae Genet.* **29**: 83—92 (1980).

## Identifizierung von Hybridlärchen mit Hilfe chemischer Merkmale

Von G. WEISSMANN\*) und S. RECK\*\*)

Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft Hamburg, Institut für Holzchemie und chemische Technologie des Holzes\*) und Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung\*\*)

(Eingegangen 8. Dezember 1986)

### Zusammenfassung

Eine Unterscheidung zwischen Hybriden und artreinen Lärchen ist in der Forstwirtschaft und in der Züchtung außerordentlich wichtig, nach dem äußeren Erscheinungsbild jedoch nicht immer möglich. Ziel der Untersuchungen war es, chemische Merkmale auf ihre Eignung zur Identifizierung von Hybridlärchen zu prüfen. Dazu wurden Nadelöle und Harzbalsame aus definierten Beständen europäischer (*Larix decidua*) und japanischer Lärche (*L. kaempferi*) sowie Hybridlärchen (*L. decidua* × *L. kaempferi* und *L. kaempferi* × *L. decidua*) gewonnen und mit Hilfe von GC und GC/MS untersucht. Die neutralen, nicht flüchtigen Bestandteile der Harzbalsame enthalten hauptsächlich bicyclische Diterpenalkohole neben Harzaldehyden. Ein monocyclischer Diterpenalkohol (Thunbergol) tritt nur im Balsam von *L. kaempferi* und in den Hybriden auf, ist aber im Balsam der europäischen Lärche nicht nachzuweisen und damit für eine Unterscheidung zwischen reinen europäischen Lärchen und Hybridlärchen geeignet.

### Summary

In forestry and forest tree breeding a differentiation between hybrids and pure larches is very important but according to the exterior appearance not always possible. The aim of this investigation was to test chemical markers for the identification of larch hybrides. Needle oils and oleoresins from authentic stands of European (*Larix decidua*) and Japanese larch (*L. kaempferi*) as well as hybrids (*L. decidua* × *L. kaempferi*, *L. kaempferi* × *L. decidua*) were isolated and analyzed by GLC and GLC/MS. The neutral non-volatile fractions of oleoresins contain mainly bicyclic diterpene alcohols aside from resin aldehydes. A monocyclic diterpene alcohol (thunbergol) is present only in oleoresins from *L. kaempferi* and hybrids but could not be identified in *L. decidua* oleoresin and is therefore suitable for a differentiation between pure European larch and hybrids.

**Key words:** Forest tree breeding, *L. decidua*, *L. kaempferi*, Identification of hybrids, Composition of needle oils, Separation and composition of oleoresins, Gas-liquid chromatography, Mass-spectrometry.

### Einleitung

Hybriden zwischen europäischen und japanischen Lärchen (*Larix eurolepis* HENRY) können in der Natur nach spontaner Kreuzbefruchtung zwischen beiden Arten entstehen. Da beide Lärchenarten in beiden Richtungen miteinander leicht kreuzbar sind, ist in allen Gebieten, in denen europäische und japanische Lärchen gemeinsam vorkommen, mit dem Auftreten zufällig entstandener Arthybriden zu rechnen (LANGNER 1951/52). In der Forstpflanzenzüchtung werden Hybridlärchen durch künstliche Zwischenartkreuzungen erzeugt oder aus „Hybridsamenplantagen“ nach freier Befruchtung gewonnen mit dem Ziel, durch die Hybridisierung eine erhöhte Wuchsleistung auszulösen („Heterosis) oder erwünschte arttypische Eigenschaften miteinander zu kombinieren. In allen Fällen sind Kriterien für eine sichere Identifizierung von Hybriden erforderlich. Für die Beurteilung von Lärchenbeständen auf ihre Eignung als Saatguterntebestände ist von Bedeutung, ob und mit welchem Anteil Hybriden enthalten sind. In der Hybridlärchenzüchtung ist die Identifizierung von Hybriden in den Ausgangspopulationen und in den gezüchteten Nachkommenschaften wesentlicher Teil der Züchtungskontrolle.

Da eine sichere Unterscheidung zwischen Hybriden und artreinen Lärchen nach dem äußeren Erscheinungsbild nicht immer möglich ist, sollten chemische Merkmale auf ihre Eignung zur Identifizierung von Hybridlärchen geprüft werden. Als relativ leicht zugängliches Untersuchungsmaterial kommen die Nadelöle und die Harzbalsame in Betracht, die aus definierten Beständen europäischer (*Larix decidua*) und japanischer Lärchen (*L. kaempferi*) sowie der Hybridlärchen (*L. decidua* × *L. kaempferi* und *L. kaempferi* × *L. decidua*) gewonnen wurden.

Anschrift: \*) Leuschnerstraße 91, D-2050 Hamburg 80

\*\*\*) Sieker Landstraße 2, D-2070 Großhansdorf 2

Zur chemischen Zusammensetzung der Nadelöle und Harzbalsame verschiedener Lärchenarten liegen bereits zahlreiche Veröffentlichungen vor. Soweit gaschromatographische Methoden zur Identifizierung der Komponenten eingesetzt worden sind, konnten in den älteren Arbeiten häufig nur die Hauptkomponenten erkannt werden. Erst die Entwicklung der Golay-Säulen und insbesondere der Glas- und Quarzkapillarsäulen ermöglichte die weitgehende Trennung der Einzelkomponenten und auch den Nachweis der oft nur in geringen Mengen vorliegenden Nebenbestandteile.

Ausführliche Untersuchungen über die Zusammensetzung der Nadelöle einiger Lärchen liegen von einer sowjetischen Arbeitsgruppe vor (KOLESNIKOVA *et al.* 1979, LATISH *et al.* 1979). Ihre Ergebnisse zeigen, daß bei den Monoterpen-Kohlenwasserstoffen der Öle von europäischer und japanischer Lärche in qualitativer Hinsicht keine Unterschiede festzustellen sind. Die Hauptbestandteile sind  $\alpha$ - und  $\beta$ -Pinen und  $\Delta^3$ -Caren. Insgesamt wurden in den Nadelölen mehr als 40 Komponenten nachgewiesen, darunter zahlreiche Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe (KHAN *et al.* 1983). Ob Nadelöle für eine chemische Identifizierung von Hybridlärchen geeignet sind, schien zumindest zweifelhaft.

Die Terpentingbestandteile des Harzbalsams verschiedener Lärchen und Hybriden wurden von STAIRS (1968) eingehend untersucht. Auch hierbei war eine Unterscheidung zwischen europäischer und japanischer Lärche aufgrund der angegebenen Hauptkomponenten nicht möglich, ebensowenig ließ sich das Terpentingöl der Hybriden von den Ölen der reinen Arten unterscheiden.

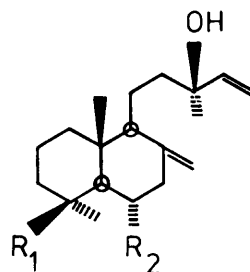
Von den nichtflüchtigen Bestandteilen des Harzbalsams sind die Säuren nach den vorliegenden Literaturangaben (MILLS 1973, KONOPLEVA *et al.* 1983) für chemotaxonomische Untersuchungen nicht geeignet. Charakteristisch für alle Lärchenbalsame ist ein hoher Anteil an Isopimarsäure ( $\Delta^{7,15}$ -Isopimarsäure), während d-Pimarsäure ( $\Delta^{8(14),15}$ -Pimarsäure) nicht oder nur in Spuren vorhanden ist. Daneben liegen die üblichen Harzsäuren des Abietintyps (Abietin-, Neoabietin-, Laevopimar- und Palustrinsäure) sowie Dehydroabietinsäure und Sandaracopimarsäure ( $\Delta^{8(14),15}$ -Isopimarsäure) vor.

Sehr komplex in ihrer Zusammensetzung und für chemotaxonomische Untersuchungen interessanter scheinen die nichtflüchtigen neutralen Bestandteile des Harzbalsams zu sein. Hauptprodukt dieser Fraktion bei *L. decidua* ist Larixylacetat (Ia), neben Larixol (Ib), Epimanool (Ic) und verschiedenen Harzaldehyden (BRUNS 1969). In vergleichenden Untersuchungen der Harzbalsame verschiedener Lärchenarten konnten gerade bei den Neutralteilen deutliche Unterschiede festgestellt werden (MILLS 1973). Im Balsam von *L. kaempferi* konnte Thunbergol (II), ein macrocyclischer Diterpen-Alkohol, nachgewiesen werden, während Larixol und Larixylacetat nicht gefunden wurden. Andererseits war Thunbergol im Balsam der europäischen Lärche nicht nachgewiesen worden. Hiermit scheint eine Möglichkeit zur chemischen Unterscheidung der europäischen und japanischen Lärchen und zur Identifizierung von Hybridlärchen gegeben zu sein.

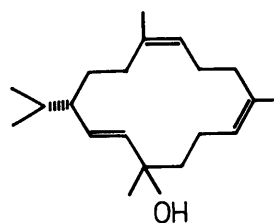
## Material und Methoden

### Gewinnung der Nadelöle

Jeweils ca. 100 g junge Nadeln wurden 1 Stunde mit Wasserdampf destilliert. Das übergelassene Öl/Dampfgemisch wurde in einem Schlangenkühler kondensiert. Die Ausbeute an Nadelöl ist außerordentlich gering (0,1%, bezogen auf



- |     |                                     |                       |                 |
|-----|-------------------------------------|-----------------------|-----------------|
| Ia. | R <sub>1</sub> = CH <sub>3</sub>    | R <sub>2</sub> = OAc: | Larixylacetat   |
| Ib. | R <sub>1</sub> = CH <sub>3</sub>    | R <sub>2</sub> = OH:  | Larixol         |
| Ic. | R <sub>1</sub> = CH <sub>3</sub>    | R <sub>2</sub> = H:   | 13-Epimanool    |
| Id. | R <sub>1</sub> = CH <sub>2</sub> OH | R <sub>2</sub> = H:   | 13-Epitorulosol |



## II. Thunbergol

frische Nadeln). Das anfallende Kondensat wurde deshalb mit Ether extrahiert, die etherische Lösung anschließend über Natriumsulfat getrocknet, vorsichtig auf dem Wasserbad eingedunstet und zur gaschromatographischen Analyse eingesetzt.

### Gewinnung und Auftrennung der Lärchenbalsame

Das Harz der Lärche, z. B. das sog. Venezianische Terpenting der europäischen Lärche, wird durch ein Bohrverfahren gewonnen (MAZEK-FIALLA 1947). Die Bohrung wird im Fuß des Stammes vorgenommen und durch den Stock schräg abwärts gegen die Hauptwurzel geführt. Bei der kommerziellen Balsamgewinnung werden nur Stämme über 35 cm Durchmesser (in Brusthöhe) geharzt. Für unsere Untersuchungen standen uns ca. 30jährige europäische und japanische Lärchen sowie die Hybriden aus Anbauversuchen im Arboretum des Instituts für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung in Schmalenbeck bei Hamburg zur Verfügung. Jeweils 4–5 Stämme wurden mit einem Zuwachsbohrer angebohrt und die Bohrlöcher zunächst mit einem Holzstopfen verschlossen. Nach etwa vier Wochen konnte zumindest bei den europäischen und japanischen Lärchen aus den Bohrlöchern eine ausreichende Menge des zähflüssigen Balsams entnommen werden. Bei den Hybriden hatte sich kein Harz abgeschieden. Zur Gewinnung des Balsams der Hybridlärchen konnten wir auf 30jährige Bäume aus einem kontrollierten Anbauversuch im Forstamt Rantau (Friedrichsgabe bei Hamburg) zurückgreifen. Hier haben wir kleine Mengen des Harzes durch Anschneiden des Splintholzes erhalten können. In allen Fällen wurden die Harzproben der Einzelbäume einer Art zusammengefaßt.

Zur Gewinnung des Balsamterpentinöls wurde der Harzbalsam mit Wasserdampf destilliert. Das Terpentinöl (Ausbeute 15–20%) konnte als reines Produkt abgetrennt werden. Der nichtflüchtige Rückstand wurde in Äther aufgenommen. Aus der etherischen Lösung wurden die Harzsäuren mit verdünnter Sodalösung extrahiert. Die Seifenlösungen wurden mit Essigsäure angesäuert, die freigesetzten Harzsäuren in Äther aufgenommen (Ausbeute ca 40%) und anschließend mit Diazomethan verestert. Die bei der Extraktion mit Sodalösung im Ether verbleibenden neutralen Bestandteile wurden nach Abdampfen des Lösungsmittels als zähflüssiges, wasserklares Produkt erhalten (Ausbeute ca. 40%).

#### Gaschromatographische Analysen

Es wurde ein Perkin-Elmer Chromatograph Sigma 2 B mit FID und angeslossenem Integrator (Spectra-Physics System I) verwendet. Für die Analyse der Nadel- und Terpentinöle sowie der neutralen Bestandteile des Harzbalsams benutzten wir 30 m-Quarz-Kapillarsäulen mit chemisch gebundenem Methyl-(5% Phenyl)-Polysiloxan (Durabond DB-5, J. & W. Scientific) und mit chemisch gebundenem quervernetztem Polyethylenglykol (Durabond-Wax, J. & W. Scientific). Trägergas: Wasserstoff, Strömung: ca. 2 ml/min, Split: 1:60. Die Harzsäure-Methylester wurden ausschließlich auf der unpolaren Polysiloxansäure untersucht.

### Ergebnisse und Diskussion

#### Nadelöle

Wie eingangs erwähnt, handelt es sich bei den Nadelölen um äußerst komplexe Gemische, in denen Monoterpen-Kohlenwasserstoffe überwiegen. Typische Bestandteile von Nadelölen sind ferner  $\alpha$ -Terpineol und Bornylacetat. An höhersiedenden Komponenten liegen Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe und -Alkohole vor und wie durch massenspektrometrische Analyse gezeigt werden konnte, Diterpen-Kohlenwasserstoffe (M: 272).

Die Zusammensetzung der Monoterpen-Fraktion der Nadelöle ist in *Tabelle 1* aufgeführt. In qualitativer Hinsicht sind praktisch keine Unterschiede zwischen europäischer und japanischer Lärche und ihrer Hybriden festzustellen. Quantitative Unterschiede, z. B. im Gehalt an  $\Delta^3$ -Caren

Tab. 1. — Zusammensetzung der Monoterpene aus den Nadelölen von Lärchen.

	L. decidua	L. kaempferi	Hybriden
$\alpha$ -Pinen	19,3 %	16,5 %	26,8 %
Camphen	1,8	2,6	2,2
Sabinen	1,0	4,4	0,4
$\beta$ -Pinen	10,8	9,9	7,5
Myrcen	6,4	12,8	10,8
$\alpha$ -Phellandren	Spuren	0,3	Spuren
$\Delta^3$ -Caren	24,2	9,3	11,6
$\alpha$ -Terpinen (?)	--	0,7	Spuren
p-Cymol	0,8	0,2	0,4
Limonen	2,9	4,9	3,8
$\beta$ -Phellandren	5,1	4,9	4,2
$\gamma$ -Terpinen (?)	0,4	1,8	0,7
Terpinolen	2,1	6,1	1,9
nicht identifiziert	Spuren	0,3	0,7
nicht identifiziert	2,3	1,4	3,5
nicht identifiziert	1,9	6,1	1,9
$\alpha$ -Terpineol	6,8	1,4	3,4
nicht identifiziert	--	--	1,2
nicht identifiziert	0,4	0,5	0,4
Bornylacetat	13,2	15,9	18,1

Tab. 2. — Zusammensetzung der Monoterpen-Kohlenwasserstoffe aus den Terpentinölen der Lärchenbalsame.

	L. decidua	L. kaempferi	L. decidua x L. kaempferi	L. kaempferi x L. decidua
Tricyclen (?)	0,2 %	0,05 %	0,2 %	0,2 %
?	0,1	Spuren	Spuren	Spuren
$\alpha$ -Pinen	76,4	80,6	80,0	86,3
Camphen	0,7	0,7	0,8	0,8
Sabinen	0,6	0,1	0,4	0,2
$\beta$ -Pinen	7,7	14,0	14,2	10,1
Myrcen	5,4	1,1	1,0	0,4
$\alpha$ -Phellandren	0,1	0,1	0,1	0,05
$\Delta^3$ -Caren	4,3	0,5	0,3	0,4
p-Cymol	0,1	Spuren	Spuren	Spuren
Limonen	1,9	1,0	1,1	0,7
$\beta$ -Phellandren	2,0	2,0	1,9	0,7
$\gamma$ -Terpinen	0,1	Spuren	Spuren	Spuren
Terpinolen	0,3	0,1	0,2	0,1

oder Myrcen und anderen Verbindungen, treten dagegen deutlich zutage, sind aber für eine Unterscheidung der beiden reinen Arten oder zur sicheren Identifizierung der Hybriden nicht genügend abgesichert, was ja auch in den Untersuchungen von KOLESNIKOVA *et al.* (1979) bereits zum Ausdruck gebracht wurde.

Interessant ist das Vorkommen des sog. Blätteraldehyds (2-Hexenal) in Mengen von ca. 10% (bezogen auf die Monoterpene) in den Nadelölen. 2-Hexenal ist bei der gaschromatographischen Analyse relativ leicht zu erkennen. Während er auf unpolaren Säulen bereits vor  $\alpha$ -Pinen auftritt (Kp 146° C), wird er auf der stärker polaren Carbowax-Säule erst nach  $\beta$ -Phellandren eluiert. Wie der Name andeutet, konnte 2-Hexenal in den grünen Blättern zahlreicher Pflanzen nachgewiesen werden und wurde auch bereits in den Nadelölen einiger Coniferen gefunden (v. RUDLOFF 1975). Nach den massenspektrometrischen Untersuchungen enthalten die Nadelöle der Lärchen auch geringe Mengen an 3-Hexenol und 3-Hexenylacetat.

In der Sesquiterpen-Fraktion der Nadelöle überwiegen anscheinend Kohlenwasserstoffe und Alkohole vom Cadinentyp. Ein eindeutiger Nachweis definierter Verbindungen war auch durch die massenspektrometrische Analyse nicht möglich. Da grundlegende Unterschiede zwischen den verschiedenen Lärchenarten anhand der gaschromatographischen Analyse nicht festgestellt werden konnten, wurden die Nadelöle nicht weiter bearbeitet.

#### Balsamterpentinöle

Die Terpentinöle aus den Harzbalsamen der Lärchen enthalten im wesentlichen nur Monoterpen-Kohlenwasserstoffe, deren Verteilung in *Tabelle 2* angegeben ist. Charakteristisch ist der hohe Gehalt an  $\alpha$ -Pinen, was mit den Angaben von STAIRS (1968) in Einklang steht. Geringe Mengen an höhersiedenden Bestandteilen waren vorhanden, in denen  $\alpha$ -Terpineol und Bornylacetat nachzuweisen waren. Unterschiede sind nur in der quantitativen Zusammensetzung vorhanden. Auffällig ist der höhere Gehalt an Myrcen und  $\Delta^3$ -Caren im Terpentin von *L. decidua*. Wie bei den Nadelölen lassen sich die Terpentinöle aber nicht zur Unterscheidung der Arten oder zur Identifizierung der Hybriden verwenden.

#### Harzsäuren

Die Zusammensetzung der Harzsäuren der Lärchenbalsame (*Tabelle 3*) ist nur der Vollständigkeit halber aufgeführt. Charakteristische Unterschiede zwischen den verschiedenen Arten sind nicht erkennbar. Hauptbestandteil

Tab. 3. — Zusammensetzung der Harzsäuren aus Lärchenbalsamen.

	L. kaempferi	L. decidua	L. decidua x L. kaempferi	L. kaempferi x L. decidua
Sandaracopimarsäure	1,7 %	2,2 %	2,2 %	1,9 %
$\Delta^{7,15}$ -Isopimarsäure	30,0	42,2	44,9	41,3
Laevopimar- und Palustrinsäure	26,1	21,5	24,7	22,1
Dehydroabietinsäure	4,0	6,9	3,4	3,1
Abietinsäure	20,9	12,8	9,3	16,9
Neobietinsäure	12,0	3,4	7,0	0,2
Unbekannte Säuren	5,3	11,0	8,5	5,5

ist stets  $\Delta^{7,15}$ -Isopimarsäure mit Anteilen bis zu fast 45%. Eine gaschromatographische Trennung von Laevopimar- und Palustrinsäuremethylester war unter den gewählten Bedingungen auf der unpolaren Polysiloxan-Kapillarsäule nicht möglich, ist für chemotaxonomische Betrachtungen auch wenig aussagefähig. Aus Untersuchungen an Kiefern ist bekannt, daß Laevopimarsäure in den frischen Harzbalsamen den Hauptbestandteil bildet. Bei der Verarbeitung wird Laevopimarsäure weitgehend zu Abietinsäure (und Neobietin-/Palustrinsäure) isomerisiert, die im Kolophonium mit 40—50% vorliegt. Für chemotaxonomische Untersuchungen bei Kiefernharzbalsamen ist in einigen Fällen das Verhältnis von Säuren des Abietintyps einerseits zu den verschiedenen Pimar- bzw. Isopimarsäuren von Interesse und erlaubt eine Zuordnung zu einzelnen, definierten Kiefernarten (WEISSMANN und VORHER 1975).

#### Neutrale Bestandteile

Die neutralen Bestandteile des Harzbalsams bilden für chemotaxonomische Untersuchungen der Lärchen die in-

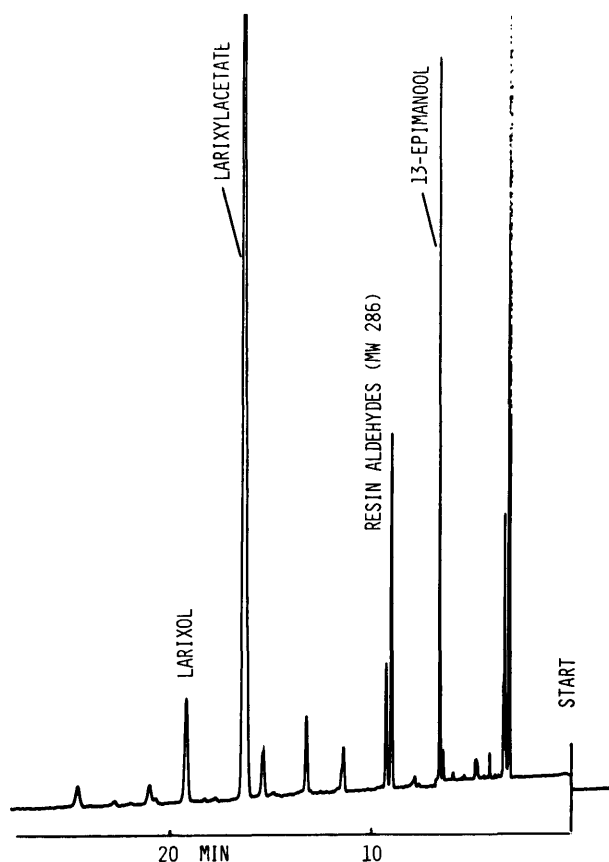


Abb. 1. — Neutralteile aus dem Harzbalsam von *L. decidua* (30 m-Durabond-Wax, T: 220° C).

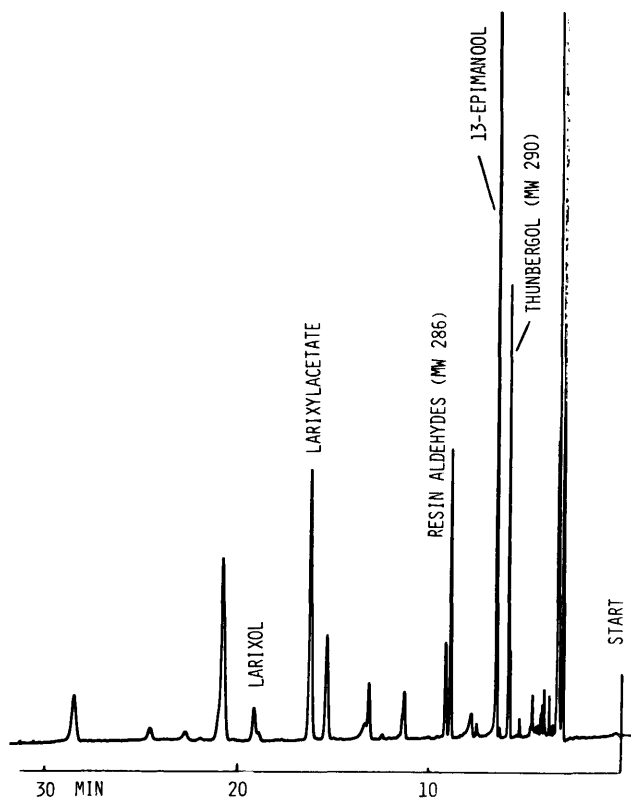


Abb. 2. — Neutralteile aus dem Harzbalsam von *L. kaempferi* (30 m-Durabond-Wax, T: 220° C).

teressanteste Fraktion, in der deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Arten zu erwarten sind (MILLS 1973). Die gaschromatographischen Trennungen der Neutralteile aus *L. decidua* und *L. kaempferi* Balsam auf einer Carbowax-Säule sind in Abbildung 1 und 2 wiedergegeben, aus denen die unterschiedliche Zusammensetzung hervorgeht. Im Balsam von *L. decidua* bilden bicyclische Diterpenalkohole mit Labdanstruktur, wie Larixylacetat (Ia) neben Larixol (Ib) und 13-Epimanool (Ic) die Hauptbestandteile. BRUNS (1969) hatte daneben verschiedene Harzaldehyde nachgewiesen, wobei Isopimaral und Dehydroabietal in größeren Mengen vorkamen. Durch GC/MS-Kopplung konnten in unserer Fraktion ebenfalls entsprechende Aldehyde nachgewiesen werden (Molegewicht 286). Da offensichtlich die gleichen Aldehyde auch im Balsam von *L. kaempferi* vorkommen, sie zur Unterscheidung der beiden Lärchen also nicht geeignet sind, wurden keine weiteren Anstrengungen zur eindeutigen Identifizierung unternommen.

Im Chromatogramm der Neutralteile von *L. kaempferi* ist vor dem 13-Epimanool ein scharfer Peak auszumachen, der dem monocyclischen Alkohol Thunbergol (II) zuzuordnen ist. Thunbergol wurde von KIMLAND und NORIN (1968) erstmals im Harzbalsam der Douglasie (*Pseudotsuga menziesii*) entdeckt und in seiner Struktur aufgeklärt. Die massenspektrometrische Analyse (GC/MS-Kopplung, on-column-Aufgabe bei 30° C) zeigte die Übereinstimmung mit Thunbergol aus Douglasie. Wie in vielen Fällen bei höheren sekundären und tertiären Alkoholen beobachtet, ist die Intensität des Molekülpeaks sehr gering (Abbildung 3). Im höheren Massenbereich treten einige charakteristische Fragmente auf, die in qualitativer Hinsicht mit den Literaturangaben übereinstimmen (KIMLAND und NORIN 1968) und aus der Struktur des Thunbergols abzuleiten sind ( $m/e$  272,  $M - 18$ , 30,7%;  $m/e$  257,  $M - (18 + 15)$ , 5,1%;  $m/e$  247,  $M - 43$ , 2,8%;  $m/e$  229,  $M - (18 + 43)$ , 22,4%).

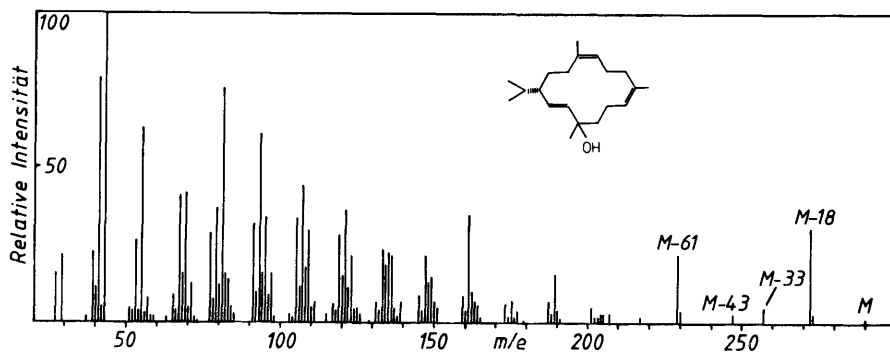


Abb. 3. — Massenspektrum von Thunbergol.

Im Gegensatz zu den Angaben von MILLS (1973) enthalten auch die Neutralteile von *L. kaempferi* relativ große Mengen an Larixacetat neben wenig Larixol, was durch gaschromatographischen Vergleich mit authentischen Mustern nachgewiesen werden konnte. Eine weitere Hauptverbindung im Balsam der japanischen Lärche liegt im Chromatogramm hinter Larixol. Nach dem Massenspektrum beträgt das Molekulargewicht 390, und es könnte sich hier um das Diacetat von Torulosol oder Epitorulosol (Id) handeln, das MILLS (1973) im Balsam von *L. kaempferi* vermutet. Diese Verbindung ist im Balsam der europäischen Lärche höchstens in Spuren vorhanden und zusammen mit dem Vorkommen von Thunbergol zur Unterscheidung von europäischer und japanischer Lärche geeignet.

Die durch Integration der Peakflächen in den Chromatogrammen ermittelte Zusammensetzung der neutralen Bestandteile ist in Tabelle 4 angegeben. Spalte 1 gibt die relativen Retentionsvolumina der Verbindung auf der Carbowax-Säule an. Die Neutralteile der Hybridlärchen enthalten deutliche Mengen an Thunbergol, ebenso auch des nicht identifizierten Diacetats ( $R_t^{rel}$  3,13), sind demnach also eindeutig von den Neutralteilen aus europäischen Lärchen zu unterscheiden, nicht dagegen von denen der japanischen Lärchen. In der Forstpflanzenzüchtung ist damit zumindest die Identifizierung von Hybriden gegenüber reinen europäischen Lärchen möglich.

Tab. 4. — Zusammensetzung der Neutralteile aus Lärchenbalsamen.

	$R_t^{rel}$	$R_t^{rel}$			
		<i>L. kaempferi</i>	<i>L. decidua</i>	<i>L. decidua</i> x <i>L. kaempferi</i>	<i>L. kaempferi</i> x <i>L. decidua</i>
nicht identifiziert	0,89	1,1 %	-	1,9 %	1,6 %
Thunbergol	0,90	7,9	-	8,7	13,6
13-Epimanol *)	1,00	24,4	11,4 %	13,3	12,2
Harzaldehyd(M:286)	1,37	7,7	8,2	14,8	9,0
Harzaldehyd(M:286)	1,40	3,0	3,3	2,8	2,9
nicht identifiziert	1,73	2,4	1,7	4,5	4,6
nicht identifiziert	2,00	2,4	2,6	3,6	4,7
nicht identifiziert	2,03	1,4	-	-	-
nicht identifiziert	2,34	5,9	2,2	7,4	3,9
Larixylacetat	2,47	15,2	60,0	22,5	33,6
Larixol	2,91	2,3	5,3	1,5	1,5
M:390(Torulosol-/ Epitorulosol-di- acetat?)	3,13	14,3	0,3	9,5	3,2
nicht identifiziert	3,18	Spuren	1,1	1,4	2,6
nicht identifiziert	3,73	1,0	1,3	1,6	1,8
M:348 (?)	4,33	4,4	-	1,8	0,7

\*)  $R_t$  13-Epimanol: 6,60 min

Das aufgezeigte Verfahren ist allerdings bei der Beurteilung von Jungpflanzen problematisch, da bei ihnen die Gewinnung ausreichender Mengen von Balsam nicht möglich ist. Wir beschäftigen uns deshalb jetzt mit der Entwicklung einer geeigneten Methode, um die Isolierung der neutralen Diterpen-Verbindungen aus den Extrakten von Jungholz zu erreichen. Die Zusammensetzung der Extrakte ist von der der Harzbalsame deutlich verschieden. Neben den terpenoiden Verbindungen liegen in den Extrakten der Nadelhölzer vornehmlich Fette, Sterine und Sterinester vor, die einen gaschromatographischen Nachweis von Thunbergol stören würden. Über die Ergebnisse dieser Untersuchungen wird demnächst berichtet.

#### Danksagung

Herrn Prof. Dr. K. BRUNS von der Firma Henkel KG in Düsseldorf sei auch an dieser Stelle für die massenspektrometrische Untersuchung der etherischen Öle und der Neutralteile gedankt, wodurch die Identifizierung einiger Bestandteile abgesichert werden konnte. Herrn Dr. D. MEIER vom Institut für Holzchemie danken wir für die Aufnahme des Massenspektrums von Thunbergol.

#### Literatur

BRUNS, K.: Neutrale Bestandteile aus dem Harz von *Larix europaea* D. C. *Tetrahedron* 25, 1771—1775 (1969). — KHAN, V. A., DUBOVENKO, Zh. V. und PENTEGOVA, V. A.: Sesquiterpenoids found in oleoresin of some Siberian and Far East conifer species of *Pinaceae* family. *Khimiya Drevesiny* No. 4, 34—42 (1983). — KIMLAND, B. und NORIN, T.: Thunbergol, a new macrocyclic diterpene alcohol. *A. Chem. Scand.* 22, 943—948 (1968). — KOLESNIKOVA, R., LATISH, V., KRASNOBOJAROVA, L. und DERJUZHKIN, R.: New information about the chemical composition of Larch essential oil. *Proc. 7th Intern. Congress "Essential Oils" Kyoto 1977, 367—372, publ. 1979.* — KONOPLEVA, N. R. and SKVORTSOV, N. P.: Isolation and analysis of oxidized resin acids from Larch gum. *Khimiya Drevesiny* No. 4, 18—20 (1983). — LANGNER, W.: Kreuzungsversuche mit *Larix europaea* D. C. und *Larix leptolepis* GORD. *Zeitschr. f. Forstgenet. und Forstpflanzenzüchtung* 1, 2—18, 40—56 (1951/52). — LATISH, V., DERJUZHKIN, R., KOLESNIKOVA, R., KRASNOBOJAROVA, L. und CHERNODUBOV, A.: Chemosystematizm of the Larch and Pine with connection of the peculiarities of the composition and properties of essential oil. *Proc. 7th Intern. Congress "Essential Oils" Kyoto 1977, 194—197, publ. (1979).* — MAZEK-FIALLY, K.: Die Harzung der Lärche. In: *Die Harzgewinnung in Österreich*. 2. Aufl. Verlag Georg Fromme & Co, Wien (1947). — MILLS, J. S.: Diterpenes of *Larix* oleoresins. *Phytochemistry* 12, 2407—2412 (1973). — RUDLOFF, E. V.: Volatile leaf oil analysis in chemosystematic studies of North American conifers. *Biochem. Systematics and Ecology* 2, 131—167 (1975). — STAIRS, G. R.: Monoterpene composition in *Larix*. *Silvae Genetica* 17, 182—186 (1968). — WEISSMANN, G. und VORHER, W.: Die Harzbalsame kubanischer Kiefern. *Holz Roh- Werkstoff* 33, 21—25 (1975).