

Elfadl Yousif Elmogtaba Elfadl

Suitability of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) for Cultivation as an Oil Crop under the Conditions of Organic and Low-Input Farming Systems in Central Europe



Cuvillier Verlag Göttingen
Internationaler wissenschaftlicher Fachverlag

Institute of Crop Sciences
University of Hohenheim
Department of General Crop Farming
Prof. Dr. Wilhelm Claupein

**Suitability of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) for Cultivation as an Oil
Crop under the Conditions of Organic and Low-Input Farming Systems in
Central Europe**

A Dissertation

submitted in fulfillment of the requirements for the degree of

Dr. sc. agr. in Agricultural Sciences
“Doktor der Agrarwissenschaften“

to the
Faculty of Agricultural Sciences

Presented by

Elfadl Yousif Elmogtaba Elfadl

M. Sc. in Agricultural Sciences

Born in Sudan

Stuttgart-Hohenheim

2010

Summary

Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) is a warm-season annual plant that also grows in the temperate climate. This project was designed 1. to ascertain the suitability of safflower to be cropped in Central Europe, 2. to identify selection criteria that facilitate a breeding of safflower to develop a desired plant ideotype, 3. to optimize the nitrogen application rate and seed density for the production of the introduced safflower in a low-input system, and 4. to develop a calibration model for the prediction of safflower oil using the Near Infra-red Spectroscopy technique.

In order to sustain the introduction of safflower, a total of 468 accessions were studied under organic farming conditions at Kleinhohenheim experimental station during the seasons of 2004 and 2005. All the accessions were evaluated for 12 phenotypic traits and three rated diseases. Multivariate analyses have been used to measure the diversity in a subset of 200 accessions. It was clear that accessions harbored a highly considerable variability for all studied traits with the exception of lodging. This large genetic variability could be ascribed to differential adaptability of the accessions to prevailing cool temperatures during early vegetative stages and humid conditions at reproductive stages that resulted in epidemic head rot (*Botrytis cinerea*, or *Sclerotinia sclerotiorum*) and Alternaria leaf spot (ALS; *Alternaria carthami*). Most of the accessions that originated in Europe revealed higher performances compared to non-Europeans. High yielding, early maturing, and disease tolerant accessions were identified. However, the low oil content (<23%) is the primary concern in this germplasm collection. The degree of heritability varied between 10% for lodging to 86% for plant height. The genotypic coefficient of correlation (r_g) showed that selection based on seeds/plant, TKW, and resistance to head rot and ALS diseases may enhance the genetic potential of yield in safflower. The significant positive correlation between seed yield and oil content ($r_g=0.78$) is of advantage for a selection to both, higher seed yield and high oil content. About 78% of the total phenotypic diversity in the germplasm was explained on the basis of four principal components. The distribution of the accessions within clusters had no apparent relationship with the geographical origin. However, many of the European accessions showed a tendency to stay together.

It has been observed in the temperate climate that safflower varietal performance tremendously fluctuated from one year to another under chemical-free conditions. Therefore, it is necessary to evaluate and select superior genotypes which are either stable over environments with a relatively high yield performance or can be used as locally adapted varieties. Twenty safflower genotypes from various countries were evaluated under organic

conditions at different sites in Germany, Switzerland and Austria during the growing seasons of 2004 and 2005. Yield stability was estimated by different models using the restricted maximum likelihood (REML) procedure to handle the partially unbalanced data sets. For many traits, a significant effect of genotypes and interactions between genotypes and environments (GEI) were observed. However, the environment was the major source of variation. The genotypic coefficients of variation varied between 0.0% for days to maturity and 14.0% for seeds/head. The heritability estimates ranged from 0.2% for days to maturity to 92.3% for days to beginning of flowering. Principal component analysis (PCA) revealed that the first four principal components had an eigenvalue of 12.7 that explained 74.8% of the total variability. The PCA identified seed yield, oil content, days to beginning and days to end of flowering, plants/m², heads/plants, plant height, as well as the rated diseases head rot and ALS as the most important sources of variation that differentiated the genotypes. Significant improvement of yield can be realized through selection for early flowering, TKW, and seeds/head. According to the stability analyses, the genotypes BS-62913 and BS-62922 could be suitable for cultivation in organic farming system due to their high yield and oil yield stabilities. The high yielding genotypes BS-62926 and BS-62929 could be recommended for cultivation under favorable environmental conditions due to their lower yield stabilities.

Field experiments under low-input farming conditions were conducted in South West Germany (Ihinger Hof) and North Switzerland (Wil) in 2004 and 2005. They aimed at optimizing nitrogen rate and seed density for the production of safflower. The experiments were laid out in a four-replicated-split plot design with three nitrogen fertilizer rates (0, 40, 80 kg/ha) as main plots and nine combinations consisting of cultivars (Sabina, Saffire, BS-62915) and seed densities (50, 100, 150 seeds/m²) randomized in split plots. The application of nitrogen rates did not significantly affect most of the investigated traits. However, the genotypes responded differentially across environments to rate of nitrogen and seed density for many traits. At Ihinger Hof, the total nitrogen fertilizer needed to maximize safflower yield was estimated to be 86 kg N/ha. At Wil, residual soil nitrogen alone resulted in satisfactory seed yield when safflower followed a crop fertilized at a commercial rate. The nitrogen rate x seed density interaction was only significant for seed yield and *Alternaria* leaf spot disease. Nitrogen rates provided significant increases in seed yield at the high seed density compared to the low seed density. The factor seed density did not reveal any significant variation in seed yield, oil content, and oil yield. On average, the low seed density produced substantially higher numbers of heads/plant and seeds/plant compared to medium

and high densities. These results demonstrate the ability of safflower to use residual soil nitrogen efficiently and to compensate a low plant density.

The development of a NIRS calibration model as a rapid, precise, robust, and cost-effective method to estimate the oil content in ground seeds of a worldwide safflower germplasm collection grown under different agro-climatic conditions was the key objective of this study. The oil content was measured by the accelerated solvent extraction method in a total of 328 samples collected across the 2004 (165 samples) and 2005 (163) growing seasons and used as reference values. Two thirds of the measured samples were used for developing the calibrations and one third for the validations. The combined and the annual calibration and validation models were carried out by NIRCal 4.21 using the partial least squares (PLS) regression. In both, combined and annual calibration models, the statistical parameters were consistent with the respective parameters in validation models. Coefficients of variation (15.5 to 25.1%) demonstrated a high variability in calibration and validation models. The standard error of estimation (SEE) and the standard error of prediction (SEP) for the combined model were 1.40 and 1.43, respectively. Although the quality value (Q-value) of calibration was slightly higher in the annual models (0.66 for both years), the combined calibration model (0.64) more precisely predicted oil content as indicated by a higher coefficient of determination ($R^2=0.90$) and the relative prediction deviation (RPD) of 3.2% compared to annual calibrations. The precision of the combined calibration model was sufficient to use NIRS as a tool to screen the oil content in a diverse safflower germplasm in the range obtained.

Based on the obtained results of these studies and previous researches, it would be possible to develop a plant ideotype that can enhance the genetic yield potential of safflower, as well as oil content, oil quality, and weed control in organic farming system. For a high yielding ideotype, the selected varieties should be early flowering and early maturing and have a short rosette duration. In addition, genetic gains in yield may be achieved in the future by augmenting TKW, number of seeds/plant and number of seeds/head. Under these humid conditions, breeding for resistance to head rot, *Alternaria* leaf spot, and root-rot diseases (*Phytophthora spp.*, *Fusarium spp.*, *Verticillium spp.*) may result in plant ideotypes that are adapted to such conditions and can enhance the yield potential of safflower. Ideotyping for high contents of edible oil largely depends on a reduced hull thickness and resistances to the above mentioned diseases. Breeding for high oleic acid and tocopherol contents will enhance the nutritive value of safflower oil. A short rosette duration is one of the important traits of safflower for organic farming being much related to competitiveness against weeds. Also, screening of safflower germplasm for allelopathic effects could augment the weed control.

Zusammenfassung

Saflor (*Carthamus tinctorius* L.) ist eine annuelle Kulturpflanze der wärmeren Klimabereiche, die auch im gemäßigten Klimaraum gedeiht. Das vorliegende Projekt hatte zum Ziel, 1. die Eignung von Saflor als neue Sommerkultur in Mitteleuropa nachzuweisen, 2. Selektionskriterien zu benennen, die die Züchtung eines gewünschten Pflanzen-Ideotyps ermöglichen, 3. die Stickstoff-Düngung und die Saatstärke für den Anbau von eingeführtem Saflor zu optimieren und 4. ein Kalibrationsmodell für die Vorhersage des Ölgehaltes unter Verwendung der Nah-Infrarot-Spektroskopie zu entwickeln.

Um die Einführung des Saflors voranzubringen, wurden insgesamt 468 Akzessionen unter den Bedingungen des Ökologischen Landbaus auf der Versuchsstation Kleinohenheim hinsichtlich 12 phänotypischer Merkmale und drei beobachteter Krankheiten in den Jahren 2004 und 2005 evaluiert. In einer Stichprobe von 200 Akzessionen wurde unter Zuhilfenahme multivariater Methoden anschließend die genetische Diversität bestimmt. Es war naheliegend, dass die Akzessionen für fast alle untersuchten Merkmale, mit Ausnahme des Merkmals Lager, eine beträchtliche genotypische Varianz aufwiesen. Diese große genetische Variabilität konnte vielfach auf eine differenzielle Anpassung der Akzessionen an die vorherrschenden kühleren Temperaturen während der frühen Wachstumsstadien und an feuchte Bedingungen zu den reproduktiven Stadien zurückgeführt werden, welche ein Ausbreiten der Köpfchenfäule (*Botrytis cinerea* oder *Sclerotinia sclerotiorum*) und der Alternaria-Blattflecken (*Alternaria carthami*) sowie einen schwachen Samenansatz nach sich zogen. Die meisten Akzessionen, die aus Europa stammten, zeigten höhere Leistungen, verglichen mit den nichteuropäischen Herkünften. Es konnten frühreife, krankheitsresistente Akzessionen mit höheren Samenträgen identifiziert werden. Dennoch war der niedrige Ölgehalt mit <23% das größte Defizit dieser Genbank-Kollektion. Die Höhe der Heritabilität schwankte zwischen 10% für das Merkmal Lager und 86% für die Pflanzenlänge. Der genotypische Korrelationskoeffizient (r_g) zeigte, dass eine Selektion auf die Merkmale Kornzahl pro Pflanze, Tausendkornmasse und die Resistenzen gegen Köpfchenfäule und Alternaria-Blattflecken das Ertragspotential bei Saflor steigern kann. Die signifikante und positive Korrelation zwischen Kornzahl pro Pflanze und Ölgehalt ($r_g=0,78$) ist vorteilhaft, da eine kombinierte Selektion auf hohen Ölgehalt und hohen Kornertrag möglich scheint. Etwa 78% der phänotypischen Varianz im geprüften Material konnte durch vier Hauptkomponenten erklärt werden. Die Verteilung der Akzessionen innerhalb der Cluster hatte offensichtlich keine Beziehung zur geographischen Herkunft derselben. Einige der europäischen Akzessionen zeigten jedoch die Tendenz, sich im Cluster beieinander zu gruppieren.

Im gemäßigten Klimagebiet ist beobachtet worden, dass die Sortenleistung von Saflor ohne den Einsatz von Pflanzenbehandlungsmitteln von einem Jahr zum anderen beträchtlich schwankt. Deshalb ist es notwendig, durch Evaluierung und nachfolgende Selektion überlegener Genotypen zu adaptierten Sorten zu gelangen, die eine umweltstabile Ausprägung ihres hohen Leistungspotenzials gewährleisten bzw. ihre lokale Überlegenheit unter Beweis gestellt haben. Zwanzig Saflor-Genotypen aus unterschiedlichen Ländern wurden unter den Bedingungen des Ökologischen Landbaus an verschiedenen Orten in Deutschland, der Schweiz und Österreich in den Vegetationsperioden der Jahre 2004 und 2005 geprüft. Die Ertragsstabilität wurde mit verschiedenen Modellen geschätzt unter Verwendung der REML-Prozedur, um die teilweise unbalancierten Datensätze bearbeiten zu können. Es wurden für viele Merkmale signifikante Effekte des Genotyps sowie Interaktionen des Genotyps mit der Umwelt ($G \times U$) gefunden. Dennoch waren die Umwelten die größte Variationsursache. Die genotypischen Variationskoeffizienten variierten zwischen 0% für das Merkmal Tage bis zur Reife und 14% für das Merkmal Kornzahl pro Köpfchen. Die Heritabilitätsschätzwerte lagen zwischen 0,2% für Tage bis zur Reife und 92,3% für Tage bis Blühbeginn. Die Hauptkomponentenanalyse (PCA) ergab, dass die ersten vier Hauptkomponenten einen Eigenwert von 12,7 hatten, der 74,8% der Gesamtvarianz erklärte. Die PCA ergab, dass die Merkmale Kornertrag, Ölgehalt, Tage bis zum Blühbeginn und Tage bis zum Ende der Blüte, Pflanzen pro m^2 , Köpfchen pro Pflanze, Pflanzenlänge sowie die Resistenzen gegen Köpfchenfäule und Alternaria-Blattflecken die bedeutendsten Varianzursachen für den Faktor Genotyp darstellten. Gemäß den Stabilitätsanalysen können die Genotypen BS-62913 und BS-62922 wegen ihrer hohen Stabilität für den Ertrag und für den Ölertrag für einen Anbau im Ökologischen Landbau als geeignet bezeichnet werden. Die Genotypen BS-62926 und BS-62929 können für einen Anbau unter günstigen Umweltbedingungen empfohlen werden, da sie eine geringere Umweltstabilität aufwiesen.

Die Feldversuche zur Fragestellung unter Low-Input-Bedingungen wurden in den Jahren 2004 und 2005 in Südwestdeutschland (Ihinger Hof) sowie in der Nordschweiz (Wil) durchgeführt und zielten darauf ab, den optimalen Stickstoffeinsatz und die geeignetste Aussaatstärke für die Produktion von Saflor zu bestimmen. Die Experimente wurden als Spaltanlage mit drei Stickstoffstufen (0, 40, 80 kg/ha) als Großteilstücke und neun Kombinationen aus Sorten (Sabina, Saffire, BS-62915) und Saatstärken (50, 100, 150 Körner pro m^2) als Kleinteilstücke mit vier Wiederholungen angebaut. Die Applikation der verwendeten Stickstoffgaben beeinflusste die Mehrzahl der untersuchten Merkmale nicht signifikant. Gleichwohl reagierten die Genotypen für viele Merkmale differenziert über die

Umwelten hinweg auf die Stickstoffraten und Saatstärken. Auf dem Ihinger Hof wurde der Gesamtstickstoffeinsatz, der für eine maximale Saflorproduktion benötigt wurde, auf 86 kg/ha geschätzt. In Wil erbrachte der Reststickstoff im Boden allein einen ausreichenden Samenertrag, jedoch nur, wenn Saflor einer Vorfrucht wie den Kartoffeln folgte, die kommerziell gedüngt worden waren. Die Interaktion zwischen den Stickstoffstufen und den Saatstärken war nur für den Kornertrag und für die *Alternaria*-Resistenz signifikant. Die Stickstoffstufen sorgten für eine signifikante Erhöhung des Kornertrages bei hoher Saatstärke, verglichen mit der niedrigen Saatstärke. Die Saatstärken hatten keinen signifikanten Einfluss auf Kornertrag, Ölgehalt und Ölertrag. Im Durchschnitt wurden bei der niedrigen Saatstärke deutlich höhere Anzahlen an Köpfchen pro Pflanze und Körnern pro Pflanze erzeugt, verglichen mit der mittleren und hohen Saatstärke. Diese Ergebnisse stellen die Fähigkeit des Saflors unter Beweis, den Reststickstoff im Boden effizient zu nutzen und schwache Bestandesdichten ertraglich zu kompensieren.

Die Entwicklung eines NIRS-Kalibrationsmodells zur Bestimmung des Ölgehaltes gemahlener Kornproben aus einer weltweiten Saflorkollektion, die unter unterschiedlichen agroklimatischen Bedingungen aufgewachsen waren, war das Hauptziel einer weiteren Studie. Die Methode vereinigt folgende Vorteile auf sich: sie ist schnell, präzise, robust und kosteneffizient. Insgesamt 328 Proben der Jahre 2004 und 2005 (165 bzw. 163 Proben) wurden als Referenzwerte für die Ölgehaltsbestimmung mit der ASE-Methode (accelerated solvent extraction) verwendet. Zwei Drittel dieser gemessenen Proben wurden für die Entwicklung der Kalibrationen und ein Drittel für die Validationen verwendet. Die jährlichen Modelle als auch das kombinierte Kalibrations- und Validationsmodell wurden durch NIRCal 4.21 unter Verwendung der PLS (partial least squares) Regression durchgeführt. In den jährlichen sowie dem kombinierten Kalibrationsmodell stimmten die statistischen Parameter mit den entsprechenden Parametern der Validationsmodelle überein. Die Variationskoeffizienten (15,5 bis 25,1%) belegten eine hohe Variabilität bei den Kalibrations- als auch bei den Validationsmodellen. Der Standardfehler der Schätzung (SEE) als auch der Standardfehler der Vorhersage (SEP) betragen für das kombinierte Modell 1,40 bzw. 1,43. Obwohl der Gütewert (Q-Wert) der Kalibration in den jährlichen Modellen etwas höher war (0,66 für beide Jahre), sagte das kombinierte Modell den Ölgehalt mit einem Q-Wert von 0,64 präziser voraus, was durch ein höheres Bestimmtheitsmaß ($R^2=0,90$) und eine relative Vorhersageabweichung (RPD) von 3,2% im Vergleich zu den jährlichen Kalibrationen zum Ausdruck kam. Die Genauigkeit des kombinierten Kalibrationsmodells kann als ausreichend

bezeichnet werden, um die NIRS-Methodik für umfangreiche Bestimmungen des Ölgehaltes in einem diversen Saflorsortiment in der vorliegenden Spannweite zu verwenden.

Basierend auf den erhaltenen Ergebnissen dieser Studien und früherer Forschungsarbeiten scheint es möglich, einen Pflanzenideotyp zu entwickeln, der das genetische Ertragspotenzial von Saflor, seinen Ölgehalt und seine Ölqualität, sowie seine Unkrautkonkurrenz für den Ökologischen Landbau verbessern kann. Für einen Ideotyp mit hoher Ertragsleistung sollten die selektierten Sorten eine frühe Blüte und Abreife besitzen sowie eine kurze Dauer des Rosettenstadiums. Zukünftig können ferner genetische Fortschritte im Ertragspotential erwartet werden, wenn es gelingt, das TKM, die Anzahl Körner pro Pflanze sowie der Körner pro Köpfchen zu steigern. Unter den humiden Bedingungen Mitteleuropas kann zudem die Züchtung auf die Resistenzen gegen Köpfchenfäule, *Alternaria*-Blattflecken sowie Keimlings- und Wurzelfäuleerkrankungen (*Phytophthora* spp., *Fusarium* spp., *Verticillium* spp.) zu Pflanzen-Ideotypen führen, die genau an diese Bedingungen angepasst sind und dies mit höheren Ertragsleistungen honorieren. Eine Steigerung der Gehalte an (Speise-)Öl hängt sehr stark von einer Reduktion der Schalendicke der Achänen und der Resistenz gegen die obengenannten Krankheiten ab. Eine Züchtung auf hohe Gehalte an Ölsäure sowie an Tocopherol kann zudem den nutritiven Wert von Saflor steigern. Ein kurzes Rosettenstadium scheint eines der wichtigsten Merkmale für den Saflor als Sommerkultur im Ökologischen Landbau zu sein, um damit seine Wettbewerbsfähigkeit gegenüber Unkräutern zu verbessern. Zusätzlich könnte ein Screening von Saflorformen auf allelopathische Wirkungen bei Unkräutern diese Eigenschaft verbessern helfen.

Nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeiten kann Saflor als eine neu einführbare, anbauwürdige Ölpflanze im Ökologischen Landbau Mitteleuropas betrachtet werden.