

Aus dem Institut für Phytomedizin
der Universität Hohenheim
Fachgebiet Herbologie
Prof. Dr. Karl Hurle

Zur Diversität von *Galium aparine* L.-Herkünften

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Agrarwissenschaften
der Fakultät Agrarwissenschaften

von
Dipl.-Ing. agr.
Vera Ernst
aus Köln

2003

Die vorliegende Arbeit wurde am 17.02.2003 von der Fakultät Agrarwissenschaften der Universität Hohenheim als „Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Agrarwissenschaften“ angenommen.

Tag der mündlichen Prüfung:	05.05.2003
Dekan:	Prof. Dr. K. Stahr
Berichterstatter, 1. Prüfer:	Prof. Dr. K. Hurle
Mitberichterstatter, 2. Prüfer:	Prof. Dr. R. Schultze-Kraft
3. Prüfer:	Prof. Dr. R. Böcker

Inhaltsverzeichnis		
1	Einleitung	1
2	Biologie von <i>Galium aparine</i> L.	8
2.1	Taxonomie und Bezeichnung	8
2.2	Herkunft, Vorkommen und Standortansprüche	8
2.3	Morphologie der Pflanze	9
2.4	Keimung	11
2.5	Zytologie	12
2.6	Fortpflanzung und Formen von <i>G. aparine</i>	12
2.7	Morphologische und phänologische Variabilität innerhalb der Art <i>G. aparine</i>	13
2.8	<i>G. aparine</i> und weitere in den Kulturpflanzenbeständen vorkommende <i>Galium</i> -Arten	16
3	Material und Methoden	19
3.1	Herkunft der <i>G. aparine</i> -Populationen	19
3.2	Pflanzenanzucht	21
3.3	Untersuchungen zur Herbizidempfindlichkeit	21
3.3.1	Eingesetzte Wirkstoffe	22
3.3.2	Gegenwärtiger Stand zum Vorkommen resistenter Unkrautarten bei den angewendeten sowie verwandten Wirkstoffen	24
3.3.3	Untersuchte Herkünfte, eingesetzte Wirkstoffe und Aufwandmengen sowie zeitlicher Verlauf der Untersuchungen	26
3.3.4	Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse	27
3.4	Untersuchungen zur Morphologie und Phänologie	30
3.4.1	Untersuchte Parameter	31
3.4.2	Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse	33
3.5	Molekularbiologische Untersuchungen	33
3.5.1	Puffer und Lösungen	34
3.5.2	Extraktion genomischer DNA	34
3.5.3	DNA-Gehaltsbestimmung	35
3.5.4	Polymerase-Kettenreaktion (RAPD-PCR)	35
3.5.5	Eingesetzte Primer	36
3.5.6	Auftrennung der Amplifikationsprodukte	37
3.5.7	Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse	38

4	Ergebnisse	39
4.1	Herbizidempfindlichkeit verschiedener <i>G. aparine</i>-Herkünfte	39
4.1.1	Mecoprop-P	39
4.1.2	Cinidon-ethyl	42
4.1.3	Fluroxypyr	44
4.1.4	Quinmerac	49
4.1.5	Amidosulfuron	51
4.1.6	Versuchsprodukt	52
4.1.7	Bentazon	58
4.1.8	Zusammenfassung	60
4.2	Morphologie und Phänologie verschiedener <i>G. aparine</i>-Herkünfte	63
4.2.1	Haupttrieblänge	63
4.2.2	Anzahl der Quirle am Haupttrieb	66
4.2.3	Länge der Internodien des Haupttriebes	68
4.2.4	Anzahl der Blätter am Haupttrieb	70
4.2.5	Anzahl der Nebentriebe erster und zweiter Ordnung	72
4.2.6	Sprossgewicht und Anteil des Haupttriebes am Sprossgewicht	75
4.2.7	Fläche, Länge, Breite und Form der Keimblätter	78
4.2.8	Fläche, Länge, Breite und Form der Laubblätter sowie Fläche eines Quirls	80
4.2.9	Blühbeginn, Samenzahl, TKM und Samenertrag	83
4.2.10	Zusammenfassende Betrachtungen der Untersuchungen zur Morphologie und Phänologie	88
4.2.10.1	Unterschiede zwischen den <i>G. aparine</i> -Herkünften hinsichtlich der untersuchten Parameter	88
4.2.10.2	Herausragende Herkünfte	89
4.2.10.3	Korrelationen zwischen den Parametern der Morphologie und Phänologie	90
4.2.10.4	Zusammenhänge zwischen den morphologischen bzw. phänologischen Merkmalsausprägungen und der geographischen Herkunft der Populationen sowie der Feldhistorie	93
4.2.10.5	Charakterisierung der Herkünfte hinsichtlich der Gesamtheit ihrer morphologischen und phänologischen Merkmalsausprägungen; Clusteranalyse	93
4.2.10.6	Zusammenhang zwischen den morphologischen und phänologischen Merkmalsausprägungen und der Herbizidempfindlichkeit	98
4.2.10.7	Zusammenfassung	99

4.3	Genetische Variabilität verschiedener <i>G. aparine</i>-Herkünfte in Beziehung zur Morphologie und Phänologie sowie zur Herbizidempfindlichkeit	101
5	Diskussion	105
5.1	Untersuchungen zur Herbizidempfindlichkeit	105
5.2	Untersuchungen zur Morphologie und Phänologie	115
5.3	Zusammenhang zwischen der Herbizidempfindlichkeit und der Morphologie bzw. Phänologie der untersuchten Herkünfte	130
5.4	Molekularbiologische Untersuchungen	131
5.5	Forschungsbedarf	133
6	Zusammenfassung	135
7	Summary	137
8	Literatur	139
9	Anhang	151

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
λ	Lambda
°C	Grad Celsius
μ l	Mikroliter
a. i.	Aktivsubstanz
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
ALS	Acetolactat-Synthase
bp	Basenpaar
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cm	Zentimeter
cm ²	Quadratcentimeter
d. h.	das heißt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleotidtriphosphat
ED	effektive Dosis
etc.	et cetera
g	Gramm
<i>g</i>	Umdrehungen
GC	Guanin-Cytosin
ggf.	gegebenenfalls
GS	Genetic Similarity
h	Stunde
ha	Hektar
H ₂ O _{bidest}	Wasser bidestilliert
H ₂ O _{dest}	Wasser destilliert
kg	Kilogramm
M	Mol
mA	Milliampere
mg	Milligramm
mm	Millimeter
min	Minute
Mio.	Million
ml	Milliliter

Abkürzungsverzeichnis

ng	Nanogramm
PCR	Polymerase Chain Reaction
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RE	relative Empfindlichkeit
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA	Ribonukleinsäure
s.	siehe
spp.	Arten
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
TKM	Tausendkornmasse
U	Unit
u. Ä.	und Ähnliches, und Ähnlichem
u. a.	und andere, unter anderem
UPGMA	Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages
UV	ultraviolett
V	Volt
W	Watt
z. B.	zum Beispiel

Liste der im Text aufgeführten lateinischen Pflanzennamen und ihre deutsche Bezeichnung (RAUH und SENGHAS 1988, HANF 1990)

Lateinischer Name	Deutscher Name
<i>Aethusa cynapium</i> L.	Hundspetersilie
<i>Alisma plantago-aquatica</i> L.	Gemeiner Froschlöffel
<i>Alopecurus myosuroides</i> HUDS.	Acker-Fuchsschwanzgras
<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	Zurückgekrümmter Amarant
<i>Ammi majus</i> L.	Knorpelmöhre
<i>Anthemis arvensis</i> L.	Acker-Hundskamille
<i>Apera spica-venti</i> (L.) P. B.	Windhalm
<i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) HEYNH.	Schmalwand
<i>Brassica kaber</i> (D. C.) L. C. WHEELER	Ackersenf
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) MEDICUS	Hirtentäschelkraut
<i>Centaurea solstitialis</i> L.	Sonnenwend-Flockenblume
<i>Chenopodium album</i> L.	Weißer Gänsefuß
<i>Chrysanthemum segetum</i> L.	Saat-Wucherblume
<i>Cirsium arvense</i> (L.) SCOP.	Acker-Distel, Acker-Kratzdistel
<i>Compositae</i>	Korbblütler
<i>Conium maculatum</i> L.	Flecken-Schierling
<i>Conyza albida</i> WILLD. ex SPRENG.	Weißes Berufskraut
<i>Conyza bonariensis</i> (L.) CRONQ.	Südamerikanisches Berufskraut
<i>Conyza canadensis</i> (L.) CRONQ.	Kanadisches Berufskraut
<i>Cyperaceae</i>	Sauer-, Riedgräser
<i>Cyperus difformis</i> L.	Missgestaltetes Zyperngras
<i>Cyperus rotundus</i> L.	Nussgras, Nusssegge
<i>Descurainia sophia</i> (L.) WEBB.	Besenrauke
<i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) P. B.	Gemeine Hühnerhirse
<i>Echinochloa</i> spp.	Hühnerhirse-Arten
<i>Galeopsis tetrahit</i> L.	Gemeiner Hohlzahn
<i>Galium aparine</i> L.	Klebriges Labkraut, Klebkraut
<i>Galium parisiense</i> L.	Pariser Labkraut
<i>Galium rubioides</i> L.	Krappartiges Labkraut
<i>Galium</i> spp.	Labkraut-Arten
<i>Galium tricornutum</i> DANDY	Dreihörniges Labkraut
<i>Galium spurium</i> L.	Acker-Labkraut

Verzeichnis der lateinischen Pflanzennamen

<i>Kochia scoparia</i> (L.) SCHRADER	Besen-Radmelde
<i>Lamium</i> spp.	Taubnessel-Arten
<i>Lapsana communis</i> L.	Gemeiner Rainkohl
<i>Lolium rigidum</i> GAUD.	Steifer Lolch
<i>Matricaria chamomilla</i> L.	Echte Kamille
<i>Matricaria</i> spp.	Kamille-Arten
<i>Myosotis arvensis</i> (L.) HILL	Acker-Vergissmeinnicht
<i>Papaver rhoeas</i> L.	Klatsch-Mohn
<i>Pennisetum clandestinum</i> HOCHST. ex CHIOV.	Kikuyugras
<i>Plantaginaceae</i>	Wegerichgewächse
<i>Poa annua</i> L.	Einjähriges Rispengras
<i>Rubiaceae</i>	Rötegewächse
<i>Scirpus maritimus</i> L.	Strand-Simse, Meer-Binse
<i>Scirpus mucronatus</i> L.	Stachelspitzige Binse
<i>Senecio vulgaris</i> L.	Gemeines Kreuzkraut
<i>Sinapis alba</i> L.	Weißer Senf
<i>Sinapis arvensis</i> L.	Ackersenf
<i>Solidago</i> spp.	Goldruten-Arten
<i>Stellaria media</i> (L.) VILL.	Vogelmiere, Vogel-Sternmiere
<i>Veronica agrestis</i> L.	Acker-Ehrenpreis
<i>Veronica</i> spp.	Ehrenpreis-Arten
<i>Viola</i> spp.	Stiefmütterchen-Arten

1 Einleitung

Auf ungefähr 25-30 % der gesamten Landfläche der Erde wird heute Landwirtschaft betrieben, wobei nicht mehr als 70 Kulturpflanzenarten (12 Halmfrucht-, 23 Gemüse-, 35 Obst- und Nussarten) auf einer Fläche von etwa 1440 Mio. ha angebaut werden (ALTIERI 1991). Seit Beginn des Ackerbaus, der in Mitteleuropa 5000 Jahre alt ist, wachsen neben den Kulturpflanzenarten eine Vielzahl von Unkrautarten. Zahlreiche Autoren beschäftigten sich mit dem Wesen des Unkrautes. Nach RADEMACHER (1948) sind Unkräuter - biologisch gesehen - Pflanzen, die gesellschaftsbildend mit den Nutzpflanzen zusammen vorkommen, deren Kultur für sie erträglich, förderlich oder sogar lebensnotwendig ist. KOCH und HURLE (1978) definierten Unkräuter als Pflanzen, die mehr schaden als nützen.

Kulturpflanzen und Unkräuter haben eine gemeinsame evolutionäre Geschichte (HAMMER et al. 1995). Im Laufe der Jahrtausende wurden die Unkräuter durch den Ackerbau unbeabsichtigt kultiviert und konnten somit Kulturpflanzeigenschaften erwerben (RADEMACHER 1948). Kennzeichnend für Unkräuter, im Gegensatz zu Kulturpflanzenarten und -sorten, ist somit, dass sie auf ihren Standorten einem ständigen Prozess der Anpassung unterliegen, der im Sinne von TURESSON in unterschiedlichen „Anpassungs-“ bzw. „Ökotypen“ einer Art resultiert, die sich morphologisch und physiologisch voneinander unterscheiden (TURESSON 1924 und 1928, GREGOR 1944). Anpassungs- bzw. Ökotypen von Unkräutern resultieren aus dem andauernden Prozess der Evolution auf unseren Kulturflächen, der auf Faktoren wie Mutation, Rekombination und Selektion zurückzuführen ist. Durch Mutationen, die im Allgemeinen mit einer Rate von 10^{-5} bis 10^{-9} spontan auftreten und zu einer richtungslosen Veränderung des Erbgutes führen, wird neues genetisches Material in den Gen-Pool geliefert. Im Prozess der Meiose kommt es zur Rekombination von Genen, die in genetischer Variabilität von Individuen einer Art resultiert. Durch den Einfluss von Standortfaktoren – Klimafaktoren, des Weiteren die auf den Kulturflächen vollzogenen Maßnahmen zur Pflanzenproduktion wie etwa die Fruchtfolge, die Bodenbearbeitung, die Düngung, die Unkrautbekämpfung u. a. - kommt es zur Selektion der am besten angepassten Individuen. Im Laufe der Generationen nimmt somit die Anpassung einer Unkrautpopulation an die gegebenen Standortbedingungen ständig zu, was schließlich in diversen Ökotypen resultiert.

Verschiedene Umwelten üben einen unterschiedlich starken Selektionsdruck aus (HIESEY et al. 1942), wobei der Selektionsdruck auf den Kulturflächen, aufgrund der Vielzahl der zur Nahrungsmittelproduktion durchgeführten Maßnahmen, größer ist als auf vom Menschen weitgehend unberührten Standorten (BERKEFELD 1988). Typische Merkmale bei Unkräutern, die durch Maßnahmen auf den Kulturflächen beeinflusst werden, sind die Zeit und Rate von

Keimung und Dormanz, die Pflanzen- und Samengröße, Wachstumsraten in verschiedenen Entwicklungsstadien, der Blühzeitpunkt, die Größe von reproduktiven und vegetativen Komponenten sowie physiologische Charakteristika wie die Empfindlichkeit gegenüber Herbiziden (WARWICK 1991).

Die Variabilität ist für den Erhalt einer Unkrautart von großer Bedeutung. Mit der Zunahme dieser steigt die Wahrscheinlichkeit, dass bei ungünstigen Einflussfaktoren Individuen präsent sind, die den neuen Verhältnissen angepasst sind, so dass der Erhalt der Art gewährleistet ist (TURESSON 1928, WARWICK 1991). In der Pflanzenproduktion ist die intraspezifische Variabilität bei Unkrautarten u. a. insofern von Bedeutung, als dass sich die Artbestimmung als schwierig erweisen kann; bei einer großen morphologischen Variabilität innerhalb einer Unkrautart können Probleme auftreten, diese anhand ihrer morphologischen Merkmale eindeutig zu identifizieren und von anderen Unkrautarten zu differenzieren, was jedoch für eine erfolgreiche Unkrautbekämpfung unbedingt erforderlich ist. Des Weiteren kann sich die Unkrautbekämpfung auf den Kulturf Flächen als schwierig erweisen, etwa wenn Populationen bzw. Individuen dieser zu verschiedenen Zeiten keimen und auflaufen, oder aber wenn sich gegenüber einem herbiziden Wirkstoff weniger empfindliche Populationen entwickeln. Im Extremfall können sie Resistenzen, zurückzuführen auf den fort dauernden Einsatz ein und desselben Wirkstoffes bzw. von verschiedenen Wirkstoffen mit gleichem Wirkungsmechanismus und der daraus resultierenden andauernden Selektion weniger empfindlicher Individuen, entwickeln. So haben nach Untersuchungen von HEAP (1999) bereits 145 Unkrautarten mit insgesamt 216 verschiedenen Biotypen eine Resistenz gegen einen oder mehrere Wirkstoffe entwickelt. Von besonderer Bedeutung ist dabei die Resistenz gegenüber Triazinen mit 60 betroffenen Unkrautarten auf einer Fläche von weltweit mehr als drei Mio. ha sowie die gegenüber ALS (Acetolactat-Synthase)-Inhibitoren mit 53 Arten. 26 Unkrautarten sind inzwischen resistent gegen Bipyridyle, 19 gegen ACCase (Acetyl-CoA-Carboxylase)-Inhibitoren, ebenso 19 gegen Harnstoffe und Amide, 17 gegen Wirkstoffe der Gruppe der synthetischen Auxine und sieben Unkrautarten gegen Dinitroaniline. Am stärksten betroffen von dem Problem der Herbizidresistenz sind die USA mit 71 resistenten Biotypen. Von besonderer ökonomischer Bedeutung ist das Phänomen der multiplen Resistenz, bei dem Biotypen Resistenzen gegenüber Wirkstoffen mit verschiedenen Wirkmechanismen aufweisen wie die Art *Poa annua* L., die Resistenz gegen Atrazin, Diuron und Terbacil (alles Inhibitoren der Photosynthese am Photosystem II) sowie gegenüber Ethofumesat (Inhibitor der Lipidsynthese) in Oregon, USA, entwickelt hat (HEAP und KNIGHT 1990). Die intraspezifische Variabilität bei Unkräutern kann somit die Nahrungsmittelproduktion auf den Kulturf Flächen extrem erschweren. Die Pflanzenschutzmittelindustrie ist gefordert, fortlaufend neue, sowohl ökonomisch als auch ökologisch vertretbare, herbizide Wirkstoffe zu

entwickeln und auf dem Markt zu etablieren. Dabei steht sie vor der Herausforderung, die intraspezifische Variabilität bei Unkräutern, etwa bei der Ermittlung der empfohlenen Aufwandmenge der Wirkstoffe, zu beurteilen und zu berücksichtigen, so dass herbizide Wirkstoffe auf allen Flächen zu einer möglichst optimalen Anwendung gelangen. Ebenso sind die Landwirte gefordert, nicht nur eine sowohl hinsichtlich ökonomischer als auch ökologischer Aspekte akzeptable Unkrautbekämpfung auf den Flächen vorzunehmen, sondern des Weiteren Variabilität innerhalb von Unkrautarten zu berücksichtigen und flächenspezifisch mit in die Maßnahmen der Unkrautbekämpfung einzubeziehen.

Als Konsequenz der intraspezifischen Variabilität bei Unkräutern und der sich daraus ergebenden Probleme im Kulturpflanzenanbau ergibt sich die Forderung, Variabilität innerhalb von Unkrautarten hinreichend zu untersuchen. Dies kann im Wesentlichen durch morphologische, phänologische und cytologische Untersuchungen, durch die Analyse von Iso- und Alloenzymen und anhand molekularbiologischer Methoden wie dem RFLP, der PCR und dem AFLP erfolgen (Übersicht in MILLER 1995 sowie MORELL et al. 1995). Untersuchungen zur Morphologie bei Unkräutern erfolgten beispielsweise bei *Cyperus rotundus* L., wo Unterschiede zwischen Populationen von Ackerflächen und Feldwegen hinsichtlich der Blattlänge und -breite sowie des Blühbeginns festgestellt wurden (CHEN und THSENG 1990). Isoenzymanalysen werden zur Untersuchung von Diversität und Variabilität bei Kulturpflanzenarten und hier zur Sortendifferenzierung, aber auch bei Unkräutern eingesetzt. WILEN et al. (1995) untersuchten anhand dieser Methode die Variabilität hinsichtlich der Verbreitungsweise von *Pennisetum clandestinum* HOCHST. ex CHIOV.-Populationen aus Gebieten Kaliforniens, wo die Art als besonders invasiv angesehen wird. Bei Populationen von *Echinochloa crus-galli* (L.) P. B. wurden sich hinsichtlich der Morphologie und der Empfindlichkeit gegenüber dem herbiziden Wirkstoff Quinclorac unterscheidende Populationen ausfindig gemacht und die Variabilität mithilfe dieser Methode erforscht (DEL MONTE und MARTINEZ 1997). Der Einsatz der Methode der RFLP (restriction fragment length polymorphism), die darauf beruht, dass die DNA des Zielorganismus durch den Einsatz von Restriktionsenzymen aufgespalten und die Produkte gelelektrophoretisch aufgetrennt werden, erfolgt insbesondere bei Kulturpflanzen zur Arten- und Sortendifferenzierung wie beispielsweise bei Getreide (TERZI et al. 1998) und Aprikosen (DE VICENTE et al. 1998). Eine der bedeutendsten angewandten Methoden zur Untersuchung von Diversität und Variabilität ist die PCR (polymerase chain reaction, SAIKI et al. 1988). Bei dieser Methode wird eine DNA-Sequenz mithilfe von zwei Oligonukleotiden (Primern) in einer mehrere Zyklen umfassenden, aus drei Schritten bestehenden Reaktion (Denaturierung, Annealing, Polymerisation) durch Einsatz einer thermostabilen DNA-Polymerase (*Taq*-Polymerase) amplifiziert. Das Verfahren wird in einer Reihe von Variationen eingesetzt, wobei insbesondere die RAPD-PCR (RAPD, random amplified

polymorphic DNA, WILLIAMS et al. 1990) Anwendung findet. Die Methode ermöglicht die Untersuchung genetischer Variation, ohne dass es einer Kenntnis der Ziel-DNA-Sequenz erfordert. Die RAPD-PCR wurde bisher vorwiegend zur Untersuchung von Kulturpflanzenarten eingesetzt und hier insbesondere zur Ermittlung der genetischen Verwandtschaft von Sorten und zur Identifizierung bzw. Differenzierung dieser wie z. B. bei Mandarinen (MORELL et al. 1995), bei der Olive (FABBRI et al. 1995) und bei Chicoree (KOCH und JUNG 1997). Neuerdings werden mithilfe der RAPD-PCR, wie in vorliegender Arbeit, auch herbologische Fragestellungen bearbeitet. Nicht selten gestaltet sich die Klassifikation und Identifikation von Unkräutern anhand morphologischer Merkmale als schwierig, da die morphologische Variabilität innerhalb einer Art sehr groß sein kann. LOPEZ-MARTINEZ et al. (1995) untersuchten die interspezifische Variabilität verschiedener anhand morphologischer Parameter nur schwer identifizierbarer *Echinochloa* spp. auf genetischer Ebene mithilfe der RAPD-PCR. Bei der Art *Sinapis arvensis* L. wurden gegenüber den herbiziden Wirkstoffen Dicamba und Chlorsulfuron resistente Populationen ausfindig gemacht und die Methode, mit dem Ziel, eine Differenzierung von resistenten und sensiblen Populationen vorzunehmen, eingesetzt (MEIKLE et al. 1995). Ebenso wurde mithilfe der RAPD-PCR der Versuch unternommen, eine Differenzierung von Sulfometuron-methyl-resistenten und -sensiblen *Amaranthus retroflexus* L.-Populationen vorzunehmen mit dem Ziel, in Zukunft Resistenz durch die RAPD-PCR zügig diagnostizieren zu können (MICHEL et al. 1997). Ähnliche Untersuchungen wurden von GADAMSKI und GAWRONSKI (1997) bei *Conyza bonariensis* (L.) CRONQ. und insbesondere bei *Conyza canadensis* (L.) CRONQ. durchgeführt. Letztere Art gilt als sehr anpassungsfähig, was auf den Kulturflächen zum Vorkommen unterschiedlich herbizidempfindlicher Populationen führt, so dass die Autoren anhand der RAPD-PCR das Ausmaß der Diversität bei europäischen Populationen untersuchten und überprüften, ob resistente *Conyza canadensis*-Populationen über spezifische RAPD-Muster verfügen. Weiterhin wird die RAPD-PCR bei Fragestellungen, die die Verbreitungsweise von Unkräutern betreffen, eingesetzt. HEIMANN und HARDING (1996) untersuchten die intrapopuläre genetische Variation bei *Cirsium arvense* (L.) SCOP. mit dem Ziel, Hinweise auf die Bedeutung der sexuellen Fortpflanzung dieser sich vegetativ vermehrenden und deshalb als besonders invasiv angesehenen Art zu erhalten.

Die Untersuchung der Diversität ist insbesondere bei weit verbreiteten und somit sehr anpassungsfähigen Unkrautarten mit großem Schadpotenzial wie *G. aparine* L. von besonderer Bedeutung. *G. aparine* ist eine annuelle, dikotyle, sich generativ verbreitende Pflanzenart. Sie zählt zu den bedeutendsten Unkrautarten und ist in den verschiedensten Kulturen - überwiegend in Getreide, Raps und Hackfrüchten - mit großem Schadpotenzial vertreten. Die Ertragsverluste, die durch *G. aparine* verursacht werden können, sind erheblich, was sich in

der niedrigen wirtschaftlichen Schadensschwelle von 0,1-0,5 Pflanzen/m² in Getreide verdeutlicht. HOFMANN und PALLUTT (1989) ermittelten bei Winterweizen pro *G. aparine*-Pflanze einen Ertragsverlust von 0,42 %, was ca. 25 kg Weizen je Pflanze entspricht. Da die Art jedoch über eine relativ schwache Konkurrenzwirkung hinsichtlich der Wachstumsfaktoren Licht, Wasser und Nährstoffe verfügt, noch dazu insbesondere die Frühkonkurrenz aufgrund der recht langsamen Anfangsentwicklung unbedeutend ist, ist erst mit Ertragsreduktionen zu rechnen, wenn die *Galium*-Konkurrenz bis in spätere Entwicklungsstadien bestehen bleibt (HAFNER 1968, MÜLLVERSTEDT 1975). Die große Schadwirkung beruht auf der Fähigkeit der Pflanzen, an den Kulturpflanzen emporzuklimmen, schließlich den Bestand zu überwuchern und eine Reihe von Folgewirkungen zu verursachen (BUHR et al. 1977, SIEBERHEIN 1979a, HOFMANN und PALLUTT 1989, RÖDER et al. 1990): In Getreidebeständen kommt es zu Lager und folglich zu einer Erhöhung der relativen Luftfeuchtigkeit, was wiederum eine Förderung von Mykosen nach sich zieht. Das Getreide reift ungleichmäßig ab, die Kornfeuchte ist erhöht, so dass nach einer erschwerten Ernte erhöhte Trocknungskosten aufkommen. Das Erntegut wird mit den Samen von *G. aparine* kontaminiert, was zu einem erhöhten Reinigungsaufwand und somit zu einem Anstieg der dafür aufgewendeten Kosten bis zur Aberkennung des Getreides als Saatgut führen kann.

Die Bedeutung von *G. aparine* auf den Kulturflächen hat seit den siebziger Jahren durch steigende Ausbreitung und Befallsstärke zugenommen. Die Ursache darin ist im Wesentlichen auf Veränderungen in der Bewirtschaftung der Kulturflächen zurückzuführen (BUHR et al. 1977, SIEBERHEIN 1979a, GLAUNINGER 1985 und 1986). Es kam zu Fruchtfolgeumstellungen verbunden mit einer Ausdehnung der Getreideanbaufläche - insbesondere von Wintergetreide – sowie zur Vorverlegung der Frühjahrssaat. Die Konkurrenzkraft des Getreides gegen das Unkraut wurde durch den Anbau von Kurzstrohsorten bzw. durch die Behandlung des Getreides mit Halmverkürzern herabgesetzt. Durch die Erhöhung der Stickstoffdüngung kam es zu einer Förderung von *G. aparine*, da die Art nitrophil ist (ELLENBERG 1950, HIRDINA 1959, ELLENBERG et al. 1992). Im Hackfruchtanbau wurde die Handarbeit bzw. der Einsatz mechanischer Maßnahmen zur Bestandespflege reduziert. Die in den letzten Jahrzehnten zunehmende Ausbreitung und Befallsstärke von *G. aparine* wird zudem damit begründet, dass sich die gezielte Bekämpfung dieses Unkrautes mit herbiziden Wirkstoffen über Jahrzehnte hinweg als schwierig erwies. Schon WIEDERSHEIM (1912) bewertete die chemische Bekämpfung als problematisch, da mit den zur damaligen Zeit zur Verfügung stehenden Mitteln wie z. B. Eisensulfat, Chilesalpeter und Kaliumchlorid keine durchgreifenden Bekämpfungserfolge erzielt werden konnten. Mit mehr oder weniger großem Erfolg kam zur Bekämpfung der Art auch Kalkstickstoff, Feinkainit und das den Wirkstoff DNOC (Dinitroorthokresol) enthaltende, heute nicht mehr zugelassene Präparat Raphatox® zur

Anwendung (HIRDINA 1959). Als zu Beginn der fünfziger Jahre schließlich die ersten synthetischen Auxine 2,4-D sowie MCPA auf den deutschen Markt kamen, erfuhr *G. aparine* eine Förderung, da die Art mit diesen Wirkstoffen nicht kontrolliert werden konnte und durch die erfolgreiche Bekämpfung anderer Unkrautarten mit diesen Präparaten die Konkurrenzwirkung dieser gegen *G. aparine* ausgeschaltet wurde (HANF 1958, LEMBCKE 1979). Ende der fünfziger Jahre standen schließlich weitere synthetische Auxinherbizide mit den Wirkstoffen Mecoprop und Dichlorprop, mit denen *G. aparine* erfolgreich unter Kontrolle gebracht werden konnte, zur Verfügung (HANF 1958, HIRDINA 1959). In den siebziger und achtziger Jahren wurde jedoch erstmals über mangelhafte Bekämpfungserfolge von *G. aparine* durch Einsatz von Präparaten, die Mecoprop enthielten, berichtet (WEILER 1975, LUTMAN et al. 1987, NIEMANN 1988, KEES und REINERT 1989). Die Ursache vermutete man in einer Selektion von Mecoprop-resistenten Biotypen sowie in ungünstigen Witterungseinflüssen zum Applikationstermin, wurde jedoch bis heute nicht eindeutig aufgeklärt. Hinzu trat der Verdacht, dass *G. spurium* L., eine nah mit *G. aparine* verwandte und zudem nach Beobachtungen von NEURURER (in WEILER 1975) in Österreich unempfindlicher gegenüber den Wirkstoffen Mecoprop und Dicamba reagierende Art, sich unbemerkt, aufgrund des Selektionsvorteils sowie der großen Ähnlichkeit hinsichtlich morphologischer Merkmale mit *G. aparine*, auf den Kulturf Flächen ausgebreitet hatte. Dies konnte jedoch nach Untersuchungen von WEILER (1975) in Mittel- und Südhessen nicht nachgewiesen werden. In Kanada hingegen ist *G. spurium* inzwischen von großer Bedeutung und kommt zusammen mit *G. aparine* in den Kulturpflanzenbeständen vor (MOORE 1975).

Inzwischen stehen weitere herbizide Wirkstoffe aus der Gruppe der synthetischen Auxine wie Quinmerac und Fluroxypyr, die in den achtziger Jahren eingeführt wurden, zur Verfügung. Weiterhin wurde Ende der achtziger Jahre Amidosulfuron als ein Vertreter der ALS (Acetolactat-Synthase)-Inhibitoren auf den Markt gebracht und Anfang 1999 wurde in Deutschland der Wirkstoff Cinidon-ethyl mit dem Wirkungsmechanismus eines Protox (Protoporphyrinogen-Oxidase)-Inhibitors zur Bekämpfung von *G. aparine* zugelassen. Hinsichtlich des Wirkstoffes Fluroxypyr ist jedoch inzwischen, ebenso wie bei Mecoprop, über unbefriedigende Bekämpfungserfolge bei *G. aparine* berichtet worden (LOVEGROVE et al. 1985, LUTMAN et al. 1987), wobei auch hier die Ursache nicht eindeutig ermittelt wurde.

Aufgrund der großen Bedeutung von *G. aparine* in der Pflanzenproduktion und der Erfordernis über umfassende Informationen zur Biologie und Ökologie dieser Art für eine erfolgreiche Bekämpfung zu verfügen, bestand das Ziel dieser Arbeit darin, die Variabilität von *G. aparine* zu untersuchen. Dies erfolgte anhand von 24 aus Europa stammenden Ackerpopulationen mit teilweiser bekannter Feldhistorie. Zum Vergleich wurde als ein Vertreter eines anderen

Habitats eine Heckenpopulation mitgeführt sowie eine Herkunft der mit *G. aparine* nah verwandten Art *G. spurium*. Ein Schwerpunkt dieser Arbeit war die Untersuchung der Herkünfte auf ihre Empfindlichkeit gegenüber den heute gängigen, gegen *G. aparine* eingesetzten Wirkstoffen Mecoprop-P, Fluroxypyr, Quinmerac, Amidosulfuron, Bentazon, Cinidon-ethyl und ein Versuchsherbizid mit dem Wirkmechanismus eines ALS-Inhibitors. Ein weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit bestand in der Untersuchung der morphologischen sowie phänologischen Variabilität der Herkünfte. Es wurden Parameter wie die Keim- und Laubblattfläche, deren Form, die Haupttrieblänge, die Verzweigung, der Blühbeginn sowie der Samenertrag erhoben. Anhand der Methode der RAPD-PCR wurde die Variabilität von *G. aparine* schließlich auch auf genetischer Ebene untersucht; es wurde eine Reihe von Decamer-Primern auf ihre Eignung zur Beschreibung der Diversität von *G. aparine* getestet und schließlich die genetische Ähnlichkeit zwischen den einzelnen *Galium*-Populationen ermittelt.

2 Biologie von *Galium aparine* L.

2.1 Taxonomie und Bezeichnung

G. aparine L. gehört der Familie der *Rubiaceae* (Rötegewächse) sowie der Gattung *Galium*, die in Europa mit etwa 150 und weltweit mit ca. 500 verschiedenen Arten verbreitet ist, an. In der deutschen Sprache wird die Art als „Klettenlabkraut“ bezeichnet, wobei der erste Wortteil auf die Fähigkeit der Pflanze hinweist, sich mit ihren Samen, die mit hakenförmig gebogenen Haaren besetzt sind, an Kleidung, Fell u. Ä. festzusetzen und sich so über Mensch und Tier zu verbreiten. Der Wortteil „Lab“ sowie der Gattungsname „*Galium*“ (v. griech. γάλα [gála]=Milch) deutet auf den Inhaltsstoff Labferment hin, was bedeutet, dass das Kraut die Fähigkeit besitzt, Milch zum Gerinnen zu bringen (HEGI 1918, GLAUNINGER 1986). Es besteht eine Vielzahl landes- und landschaftsüblicher Bezeichnungen, mit denen die Art benannt wird wie cleavers, catchweed, bedstraw, goose-grass, robin run the hedge im englischsprachigen sowie gaillet gratteron, gratteron riéble im französischsprachigen Raum oder caglio, gaglio, attaccamani und speronella in Italien (HEGI 1918, ALEX et al. 1980). In der deutschen Sprache wird *G. aparine* u. a. als Klief, Düwelsdrat, Klimmup (Ostfriesland), Kliewen (Oldenburg), Klime (Göttingen), Kläwer, Klebgras, Klette (Nahegebiet), Klauban (Oberharz), Kleiba (Schwäbische Alb) bezeichnet (HEGI 1918).

2.2 Herkunft, Vorkommen und Standortansprüche

G. aparine ist eurasiatischer Herkunft (HEGI 1918), wobei die Art mindestens seit der jüngeren Steinzeit auftritt (KOCH 1970). Sie zählt zu den Pionierpflanzen, da neue Gebiete aufgrund der autogamen Fortpflanzungsweise von Einzelpflanzen besiedelt werden können. Sie ist weit verbreitet und kommt vorwiegend in den gemäßigten Zonen Eurasiens (außer in den arktischen Gebieten südwärts bis Zentralasien und Himalaja) sowie Nord- und Südamerikas, in Australien, in Afrika und dort in Tunesien und Äthiopien vor (HESS et al. 1972, HOLM et al. 1979). Insgesamt sind 33 verschiedene Länder von *G. aparine* besiedelt (HOLM et al. 1979), wobei die Art in verschiedenen Habitaten - im Agrar-, im offenen und halbschattigen Ruderal- und im naturnahen eutrophen Laubwaldökosystem und hier besonders in Auenwäldern - anzutreffen ist (HILBIG 1979, GROLL und MAHN 1986). Im Agrarökosystem ist *G. aparine* in 19 verschiedenen Kulturen vertreten (HARR et al. 1991), wobei sie am häufigsten in Getreide, Raps und Hackfrüchten vorkommt, aber auch in Sonderkulturen wie z. B. Arznei- und Gewürzpflanzen ist diese Art nicht ohne Bedeutung (PANK 1979).

G. aparine bevorzugt frische bis feuchte, nährstoffreiche, humose, gut durchlüftete Lehm- und Tonböden (HEGI 1918, MÖRCHEN 1965, HOLZNER 1981), wobei eine mäßig anhaltende Feuchtigkeit für die Entwicklung von besonderer Bedeutung ist - Bodenaustrocknung sowie -vernässung meidet diese Art (HIRDINA 1959). Hinsichtlich des Reaktionszustandes des Bodens ist *G. aparine* weitgehend indifferent (ELLENBERG 1950), jedoch sind Böden mit basischer bis schwach saurer Bodenreaktion von Vorteil (HILBIG 1979). Stickstoff fördert das Vorkommen, da *G. aparine* nitrophil ist (ELLENBERG 1950, HIRDINA 1959, ELLENBERG et al. 1992).

2.3 Morphologie der Pflanze

Wurzelsystem

G. aparine ist recht anspruchsvoll gegenüber dem Bodenzustand, was darauf zurückzuführen ist, dass das Wurzelsystem nicht besonders stark entwickelt ist (HOLZNER 1981). Es besteht aus einer Hauptwurzel und einer Vielzahl von feinen, haarförmigen, braun bis braunrot gefärbten Nebenwurzeln. Das Hauptwurzelsystem kann zudem, insbesondere wenn die Samen in größerer Bodentiefe keimen und auflaufen, durch Adventivwurzeln aus dem Hypokotyl ergänzt werden (HANF 1941).

Keimblätter

G. aparine ist eine dikotyle Pflanzenart, wobei die gestielten und ungeteilten Keimblätter in ihrer Form länglich-lanzettlich bis eiförmig sind und am Ende über eine leichte Einbuchtung nach innen verfügen. Die Länge und Breite der Keimblattspreite beträgt etwa 0,7-1,55 cm bzw. 0,4-1,05 cm. Das Verhältnis von Spreitenlänge zu -breite liegt etwa zwischen 1,5:1 und 2:1 (GLAUNINGER 1985).

Sprosswachstum und Habitus

Der Spross ist krautig und weist einen Haupttrieb mit einer großen Anzahl von Nebentrieben, die bereits in den Achseln der Keimblätter angelegt werden, auf. *G. aparine* zählt zu den Spreizklimmern, so dass die Pflanzen ohne Ranken mithilfe der waagrecht abstehenden Nebentriebe und rückwärts gerichteter Haare die benachbarte Vegetation erklimmen (HEGI 1918). Bei Betrachtung des Sprosswachstums im Zeitablauf, verläuft zu Beginn der Entwicklung das Wachstum relativ langsam, da in diesem Zeitraum die Wurzelentwicklung im Vordergrund steht (HOLZNER 1981). Später – bei Getreide nach dem Schossen - legt *G. aparine* jedoch deutlich zu. Die vegetative Phase erstreckt sich über einen verhältnis-

mäßig langen Zeitraum. Nach dem Auflaufen im Frühjahr setzt die Blüte erst nach Verlauf von zwei bis drei Monaten ein und erst nach einem weiteren Monat verfügen die Pflanzen über erste reife Samen. Nach der Samenreife sterben die Pflanzen ab.

Stängel

Die Stängel sind zerbrechlich, wachsen niederliegend, aufsteigend oder kletternd. Sie erreichen in der Regel Längen von ca. 30-150 cm (HEGI 1918). Es wurden jedoch auch Sprosslängen von 316 cm gemessen (WIEDERSHEIM 1912). Die Stängel sind vierkantig, wobei die Farbe der Kollenchymleisten in Abhängigkeit von den Beleuchtungsverhältnissen, denen die Pflanze ausgesetzt ist, von grün nach rötlich bis tief dunkelrot variiert (BERKEFELD 1988). An den Stängelkanten befinden sich abwärts gerichtete Haare, die der Pflanze das Anhaften und Emporwachsen an benachbarten Gewächsen ermöglichen (GLAUNINGER 1985). BERKEFELD (1988) unterscheidet drei verschiedene Formen von Haaren, mit denen die Pflanze ausgestattet ist: „Hakenhaare“, „Stacheln“ und „lange Haare“.

Laubblätter

Die Laubblätter sind ungeteilt, oval-lanzettlich bis verkehrt eiförmig. Sie sind kurz zugespitzt bis stachelspitzig, wohingegen die Basis keilförmig ist. Die Länge der Laubblätter beträgt ca. 2-6 cm, die Breite 0,3-1 cm. Das Verhältnis von Laubblattlänge zu -breite liegt etwa zwischen 1,6:1 und 5,2:1 (GLAUNINGER 1985). Die Blätter sind oberseits kahl oder behaart, wobei die kurzen Haare auf kegelförmigen Papillen nach vorn gerichtet stehen (HESS et al. 1972, HILBIG 1979, GLAUNINGER 1985). Des Weiteren sind die Blattränder und Mittelnerven der Blattunterseiten mit Haaren versehen, die in einer Reihe stehend gegen die Blattbasis gerichtet sind (GLAUNINGER 1985). 4-9 Blätter bilden einen Quirl, wobei die Blattzahl pro Quirl von unten nach oben zunimmt. Bei den Quirlen handelt es sich um Scheinquirle (PÖTTER und KLOPFER 1987), was bedeutet, dass diese aus Phyllomen (echten Blättern) und Stipeln (Nebenblättern), die den Phyllomen sehr ähnlich sind, bestehen (RUTISHAUSER 1984).

Blüten

Die Blüten sind zweigeschlechtlich, 2 mm breit und weiß (MOORE 1975). Der Fruchtknoten ist unterständig, annähernd kugelig und zweifächrig. Die zwei freien Griffel sind von vier Staubgefäßen mit gelb gefärbten Staubbeuteln umgeben. Die Pollen verfügen über einen Durchmesser von 25-31 μ (MOORE 1975). Ein Kelch oder rudimentäre Kelchblattanlagen sind nicht vorhanden (PÖTTER und KLOPFER 1987). Jeweils zwei bis fünf Blüten sind zu einer Zyme mit vier bis acht blattähnlichen Tragblättern angeordnet (GLAUNINGER 1985). Die Blüten- bzw. Fruchtsiele sind gerade, leicht spreizend und 1-2 cm lang (HEGI 1918, HESS et al. 1972). Die

Blütezeit erstreckt sich vom späten Frühjahr (Juni) bis in den frühen Herbst (Oktober) hinein (HOLZNER 1981).

Früchte/Samen

Die Frucht- bzw. Samenentwicklung und -reife erfolgt an einer Pflanze von unten nach oben. Bei der Reife zerfällt der aus zwei Fächern bestehende Fruchtknoten in zwei kugelige Teilfrüchte. Es handelt sich bei diesen um Schließfrüchte, d. h. der eigentliche Same ist mit dem Perikarp verwachsen. Die Farbe der Schließfrüchte, die in vorliegender Arbeit als Samen bezeichnet werden, variiert in Abhängigkeit vom Reifegrad von zunächst grün und schließlich grau bis dunkelbraun. Sie sind kugelig und mit Papillen besetzt, auf denen gewöhnlich Hakenhaare sitzen (*G. aparine* forma *aparine*). Die Samen verfügen über einen Durchmesser von ca. 3-5 mm, die TKM beträgt etwa 8-11 g. Pro Zyme werden etwa bis zu 18 (MALIK und VANDEN BORN 1988) und pro Pflanze etwa 300-500 Samen produziert. Die Verbreitung der Samen erfolgt durch Mensch, Tier und Wasser.

2.4 Keimung

Nach der Reife sind die Samen sofort keimfähig oder aber unterliegen einer sich über einen Zeitraum von einem Monat bis zu einem Jahr erstreckenden Dormanz, die durch Kälteeinwirkung und Feuchtigkeit gebrochen wird (HIRDINA 1959, HOLZNER 1981). Die Hauptkeimzeit liegt in den Herbst- und Frühjahrsmonaten (KOCH 1969, RÖTTELE 1980), wobei sich der Prozess bei günstigen Bedingungen bis in den Frühsommer hinein erstrecken kann. *G. aparine* zählt zu den Dunkelkeimern (WIEDERSHEIM 1912, NIETHAMMER 1928, HANF 1941), wobei bereits eine schwache Lichtreduktion ausreichend ist (SJÖSTEDT 1959). Die untere und obere Temperaturgrenze liegt zwischen 2-5 °C und 20 °C; Temperaturen von 7-13 °C sind für die Keimung optimal (KOCH 1969). Eine ausreichende Bodenfeuchtigkeit (HANF 1941, SIEBERHEIN et al. 1977) sowie ein ausreichendes Sauerstoffangebot (MÜLLVERSTEDT 1963) sind eine wichtige Voraussetzung für den Keimprozess. Die optimale Keim- und Auflauftiefe liegt bei 1-3 cm (HANF 1941), wobei die Samen jedoch noch in einer Bodentiefe von 20 cm zu keimen und bei gutem Bodenzustand vereinzelt auch aufzulaufen vermögen (HIRDINA 1959). Die Lebensfähigkeit der Samen im Boden erstreckt sich auf einen Zeitraum von 7-8 Jahren, jedoch wird diese sehr stark von Umweltfaktoren beeinflusst (KOCH 1969); sie sind nicht nur empfindlich gegenüber Sauerstoffmangel, sondern auch gegenüber Gülle, Mist und Silage (HOLZNER 1981).

2.5 Zytologie

G. aparine ist polyploid, wobei mit einer Basiszahl von $x=11$ vier Ploidiegrade bekannt sind: Diploidie ($2n=22$), Tetraploidie ($2n=44$), Hexaploidie ($2n=66$) und Oktoploidie ($2n=88$). Die hexaploide Form kommt am häufigsten vor (MOORE 1975). Abweichungen mit zwei bis vier Chromosomen von der jeweiligen theoretischen polyploiden Chromosomenzahl sind ebenso bekannt: $2n=86$ (FAGERLIND 1937), $2n=63, 64$ (KLIPHUIS 1962), $2n=42, 48, 62, 68$ (TUTIN et al. 1976). Da im Allgemeinen bei Polyploiden die Wahrscheinlichkeit, dass eine Mutation auftritt, größer ist als bei Diploiden und diese zudem, weil nicht mutierte Allele aktiv bleiben können, seltener zur Letalität führt, vermögen sich Polyploide verändernden Umweltverhältnissen schneller anzupassen (RAUBER 1977).

2.6 Fortpflanzung und Formen von *G. aparine*

Die Fortpflanzung erfolgt ausschließlich generativ und zwar durch Selbstbestäubung (WIEDERSHEIM 1912, EHRENDORFER 1965, MOORE 1975), wobei aber auch Fremdbefruchtung durch Insekten vorkommen kann (WIEDERSHEIM 1912). Nach HESS et al. (1972) sollen zwischen *G. aparine* und *G. spurium* Zwischenformen bekannt sein, die vermutlich auf Genintrogressionen zurückzuführen sind. Nach MOORE (1975) und MALIK und VANDEN BORN (1988) gibt es bisher keinen Hinweis für das Vorkommen von Hybriden bei *G. aparine*.

Es existieren zwei Formen von *G. aparine* mit verschiedenen Varietäten (MOORE 1975):

G. aparine forma *aparine*

- *G. aparine* L. var. *minor* HOOKER, Fl. Bor. Am. I, 290. 1834.
- *G. aparine* L. var. *subglabrum* PETERMANN, Fl. Lips. Excurs. 122. 1838.

G. aparine forma *intermedium* (BONNET) R. J. MOORE stat. nov.

- *G. aparine* L. var. *intermedium* BONNET, Petite Fl. Paris. 191. 1883.
- *G. intermedium* MERAT, Fl. Paris. 3rd ed. II. 255. 1831. non Eichw. nec Schultes (illegit., homonym).
- *G. aparine* L. var. β GAUDIN. Fl. Helv. I, 440. 1828.

G. aparine f. *aparine* ist die verbreitetste Form. Die Früchte sind behaart. *G. aparine* f. *intermedium* kommt selten vor (MOORE 1975). Die Früchte sind glatt oder höckrig und unbehaart.

2.7 Morphologische und phänologische Variabilität innerhalb der Art *G. aparine*

Die Art *G. aparine* zeichnet sich nicht nur durch ihre fast weltweite Verbreitung aus, sondern auch durch ihre Fähigkeit, selbst auf geographisch engstem Raum unterschiedliche Habitate zu besiedeln (GROLL und MAHN 1986). Dies deutet auf ein hohes Maß an Anpassungsfähigkeit bzw. Plastizität und ggf. genetischer Variabilität innerhalb der Art hin - einer der Gründe, weshalb *G. aparine* das Interesse auf sich gezogen hat. Da in vorliegender Arbeit die Untersuchungen zur Morphologie und Phänologie den größten Anteil ausmachen und auf diesem Gebiet die umfangreichsten Untersuchungen in der Literatur vorliegen, sollen anhand dieses Kapitels die wesentlichen bisher erzielten Ergebnisse dargelegt werden. Die Morphologie und Phänologie von *G. aparine* wurden bereits sowohl unter gleichen Wachstumsbedingungen als auch im Gelände, allerdings weniger anhand einer Vielzahl verschiedener Ackerherkünfte wie in vorliegender Arbeit, sondern anhand von aus verschiedenen Habitaten stammenden Populationen untersucht (GROLL und MAHN 1986, AUGÉ und MAHN 1988, NIEMANN 1988, BERKEFELD 1988, FROUD-WILLIAMS und FERRIS-KAAN 1991). Dabei konnte insgesamt betrachtet der Nachweis erbracht werden, dass Herkünfte verschiedener Habitate sich sowohl hinsichtlich ihrer Entwicklungsstrategie als auch hinsichtlich einer Vielzahl von morphologischen und phänologischen Merkmalen den gegebenen Bedingungen anzupassen vermögen. Es konnte die Existenz von zwei verschiedenen Ökotypen - dem „Ackerökotyp“ und dem „Nichtackerökotyp“ - nachgewiesen werden.

GROLL und MAHN (1986) führten Geländeuntersuchungen in verschiedenen Habitaten durch und wiesen nach, dass die Art sich hinsichtlich ihrer **Entwicklungsstrategie** den gegebenen Bedingungen recht gut anzupassen vermag. Zum Beispiel verliefen in konkurrenzstarken Wald- und Ruderalökosystemen sowie in weiteren Phytozönosen, wo *G. aparine* im Frühjahr aufläuft, das Streckungswachstum und die reproduktive Phase stark verkürzt, was mit den zunehmend schlechter werdenden Bedingungen hinsichtlich des Lichtfaktors in Zusammenhang stand und schließlich in einem geringen reproduktiven Output resultierte. Hingegen wurde beobachtet, dass *G. aparine* bei Herbstaufbau in konkurrenzarmen Ruderal- und Agrarökosystemen eine große Biomasse aufzubauen vermochte, so dass es zu einer ausgedehnten reproduktiven Phase mit hohem reproduktiven Output kam. Zudem konnten die Autoren im Gelände Unterschiede bezüglich morphologischer Merkmale feststellen. Zum Beispiel verfügten Ruderalherkünfte über kürzere **Hypokotylglieder** als Auwald- und Ackerpopulationen. Die **Keimblätter** von Ruderal- und Auwaldherkünften waren breiter und eiförmiger als die der Ackerherkünfte, die schmaler und lanzettlicher geformt waren. Ebenso unterschieden sich die Populationen in Abhängigkeit vom Lichtangebot auf den verschie-

denen Standorten hinsichtlich ihrer **Epikotyllängen**; Pflanzen der Ackerherkünfte, die im Winter keimten und aufkamen - wie in Winterweizen und -raps - besaßen die kürzesten Epikotyle, wohingegen bei Auflaufen zur gleichen Zeit auf geschützten und lichtarmen Standorten - wie im Auwald - längere Epikotyle entwickelt wurden. Was die **Sprosslänge** angeht, verfügten Pflanzen auf einem offenen Ruderalstandort über die längsten Sprosse. Des Weiteren stellten die Autoren eine positive Korrelation zwischen der **Biomasse** und der **Samenzahl** fest, so dass Pflanzen auf einem offenen Ruderalstandort nicht nur längere Sprosse, sondern auch eine deutlich größere Biomasse und Samenzahl als die in den anderen Habitaten entwickelten. Pflanzen aus dem Auwald produzierten Samen mit der geringsten **TKM**. Außerdem verfügten diese Samen sowie die von Ruderalflächen unmittelbar nach der Reife über eine größere **Keimbereitschaft** als Samen von Pflanzen aus dem Habitat Acker.

AUGE und MAHN (1988) führten weitere Geländeuntersuchungen bei *G. aparine* anhand von zwei Herkünften im Habitat Auwald sowie anhand einer Population in der Kulturart Hafer bei sommerannuellem Entwicklungszyklus durch. Dabei stellten sie fest, dass die **Kotyledonen** der Auwaldherkünfte, im Gegensatz zu denen der Ackerherkunft, bis zum Blühbeginn assimilationsfähig blieben. Des Weiteren bildete nur etwa die Hälfte der Pflanzen im Auwald **Kotyledonarsprosse** aus, während dies sämtliche Pflanzen der Ackerpopulation taten. Das **Blühstadium** setzte bei den Auwaldherkünften bereits Mitte Mai ein, bei der Ackerpopulation jedoch erst Anfang Juli. Der frühe Blühbeginn der Auwaldherkünfte stand mit der zunehmenden Beschattung durch die austreibenden Gehölze in Zusammenhang. Die **Blütezeit** der Waldpopulationen erstreckte sich zudem mit acht Wochen (bis Anfang Juli) über einen längeren Zeitraum als die der Ackerherkunft mit lediglich sechs Wochen Blütezeit (bis Mitte August). Bei Betrachtung **des Wachstums im Zeitverlauf** stellten die Autoren fest, dass die Waldherkünfte ihre maximale relative Wachstumsrate bereits Ende April im 3-Quirlstadium erreichten, die sich schließlich mit den zunehmenden ungünstigen Lichtverhältnissen und dem damit einhergehenden Übergang in die reproduktive Phase sogar verringerte. Die **Biomasse** der Ackerpopulation erhöhte sich dagegen mit einer konstanten relativen Wachstumsrate auch in der reproduktiven Phase exponentiell, so dass die Ackerpopulation am Ende des Lebenszyklus über eine größere Biomasse als die Waldpopulationen verfügte. Die **Sprosse** der Ackerherkunft waren etwa doppelt so lang wie die der Waldherkünfte. Zudem verfügte die Ackerherkunft über eine größere **Anzahl von Blüten und Samen**. Ebenso konnten Unterschiede in der **Biomasseverteilung** der Populationen während des Lebenszyklus festgestellt werden. So erreichten die Waldherkünfte ihr Maximum an vegetativer Biomasse bereits Mitte Juni, die Ackerherkunft jedoch erst Mitte August. Die Ursache für die unterschiedliche Entwicklung der Herkünfte sehen die Autoren insbesondere in den differen-

zierten Lichtverhältnissen, die in den beiden Habitaten vorherrschen. Im Verlauf der Vegetationsperiode nimmt im Waldökosystem das Lichtangebot immer weiter ab, dem sich *G. aparine* im Gegensatz zum Agrarökosystem nicht durch Anpassung der Wuchsform entziehen kann.

Auch NIEMANN (1988) untersuchte - allerdings unter gleichen Umweltbedingungen im Vergleichsanbau, ähnlich wie in vorliegender Arbeit - Populationen herrührend aus den Habitaten Acker, Waldrand, Grabenböschung sowie Hecke. Auch er konnte, wie bereits GROLL und MAHN (1986) bei Untersuchungen im Gelände festgestellt haben, nachweisen, dass die **Keimblätter** der Ackerherkünfte in ihrer Form eher elliptisch-lanzettlich und die der Nichtackerherkünfte eher elliptisch sind. Auch konnte er, allerdings in einem begrenzten Zeitraum der Entwicklung, Unterschiede hinsichtlich der **Laubblattform** feststellen, und zwar insofern, als dass die Blätter der Ackerpopulationen schmaler waren als die der Herkünfte von den übrigen Standorten. Des Weiteren verfügten die Ackerherkünfte über längere **Hauptspresse**, die zudem schon zu Beginn der Entwicklung aufsteigend wuchsen. Der **Wuchstyp** der Ackerherkünfte war „lockerer“, während der der Nichtackerherkünfte - außer am Ende der Entwicklung, wo eine Zunahme des Streckungswachstums einsetzte - kompakt und kriechend war. Die Ackerherkünfte gelangten ein bis drei Wochen früher in die **Stadien des Schossens, Blühens, Fruchtens sowie der Samenreife** als die Populationen der übrigen Habitate. Außerdem konnte NIEMANN Unterschiede bezüglich der **Trockenmassebildung** nachweisen. Während die Ackerherkünfte zu Beginn ihrer Entwicklung über eine größere Trockenmasse verfügten, kehrte sich dies nach Blühbeginn der Nichtackerherkünfte ins Gegenteil um. Hinsichtlich der **Dormanz der Samen** konnten jedoch zwischen den beiden Ökotypen keine Unterschiede festgestellt werden.

BERKEFELD (1988) untersuchte Acker- und Nichtackerherkünfte im Gelände sowie unter gleichen Wachstumsbedingungen. Dabei stellte er sowohl im Gelände als auch im Vergleichsanbau - wie GROLL und MAHN (1986) sowie NIEMANN (1988) - fest, dass die **Keimblätter** der Ackerpopulationen eher über eine länglich-lanzettliche, die der Nichtackerpopulationen hingegen eher über eine elliptische Form verfügen. Des Weiteren konnte auch er anhand von Geländeuntersuchungen aufzeigen, dass *G. aparine* sich den jeweiligen gegebenen Bedingungen durch die **Wuchsform** anzupassen vermag. Pflanzen auf schattigen, feuchten Standorten bildeten nur wenige **Nebentriebe** mit sehr langen in die Höhe wachsenden **Internodien** aus. Die **Blätter** waren hellgrün, hygromorph und erreichten mit 10 cm Länge und 1 cm Breite eine beachtliche Größe. Auf lichten Standorten jedoch - wie z. B. auf Hachfruchtäckern - waren die Pflanzen dagegen stark verzweigt, die Sprosse kurz und die Wuchsform polsterförmig. Die Blätter waren dunkelgrün und mit 2-3 cm in der Länge und

maximal 0,7 cm in der Breite deutlich kleiner als auf den schattigen, feuchten Standorten. Untersuchungen unter gleichen Bedingungen zeigten jedoch, dass es sich bei der Wuchsform der Herkünfte - im Gegensatz zu der Keimblattform – vermutlich nicht um ein genetisch fixiertes Merkmal handelte; die Populationen wuchsen – allerdings im Gegensatz zu den oben aufgeführten Ergebnissen von NIEMANN (1988) - alle recht einheitlich. Des Weiteren wurden sowohl im Gelände als auch unter gleichen Bedingungen Unterschiede bezüglich des **Sprossdurchmessers** nachgewiesen. Die Ackerherkünfte verfügten häufiger über Sprosse mit geringerem Durchmesser als die Nichtackerherkünfte. Die **Kollenchymleisten** sämtlicher Ackerherkünfte nahmen unter gleichen Bedingungen eine grüne Farbe an, während die der Nichtackerherkünfte grün oder rötlich bis tief dunkelrot gefärbt waren. Generell variierte jedoch die Farbe der Kollenchymleisten in Abhängigkeit der Beleuchtungsverhältnisse und des Alters der Internodien recht stark. Auch hinsichtlich der **Behaarung der Stängelleisten** konnte BERKEFELD Unterschiede zwischen den beiden Ökotypen nachweisen. Wie bereits in Kapitel 2.3 dargestellt, verfügt *G. aparine* im Wesentlichen über drei verschiedene Haarformen: Stacheln, Hakenhaare und lange Haare. Nach Anzucht unter gleichen Wachstumsbedingungen waren bei allen Ackerherkünften die Stängelkanten der Internodien mit einigen wenigen Stacheln versehen. Bei den Nichtackerherkünften traf entweder selbiges zu oder aber die Stängelkanten waren dicht mit Hakenhaaren und langen Haaren besetzt. Außerdem unterschieden sich die beiden Ökotypen hinsichtlich der **Länge der auf den Samen sitzenden Hakenhaare**, wobei unter gleichen Bedingungen die Samen der Ackerherkünfte mit kürzeren Hakenhaaren versehen waren als die der Nichtackerherkünfte.

Auch FROUD-WILLIAMS und FERRIS-KAAN (1991) untersuchten die Variabilität innerhalb *G. aparine* anhand von Acker- und Heckenpopulationen nach Anzucht unter gleichen Bedingungen. Dabei fanden die Autoren heraus, dass die Heckenpopulationen über längere **Internodien** verfügten. Des Weiteren gelangten diese einige Tage früher ins **Blühstadium**. Die **Samen** waren größer und weniger dormant als die der Ackerherkünfte. Keine Unterschiede konnten die Autoren jedoch hinsichtlich der **TKM** der Samen ermitteln.

2.8 *G. aparine* und weitere in den Kulturpflanzenbeständen vorkommende *Galium*-Arten

Neben *G. aparine* kommen als weitere Vertreter der Gattung *Galium* insbesondere *G. spurium* (Kleinfüchsiges Klettenlabkraut), *G. tricornutum* DANDY (Dreihörniges Labkraut) und *G. parisiense* L. (Pariser Labkraut) als Unkräuter in den Kulturpflanzenbeständen vor

(GLAUNINGER 1985). Während *G. aparine*, wie in Kapitel 2.2 bereits aufgeführt, in den gemäßigten Zonen Eurasiens, Nord- und Südamerikas, in Australien und in Afrika auftritt (HESS et al. 1972, HOLM et al. 1979), ist *G. spurium* in Mittel- und Südeuropa (nordwärts nur vereinzelt und oft nur verschleppt bis Südengland und Südschweden), im südwestlichen Asien und in Nord- und Zentralafrika vertreten (HESS et al. 1972). *G. spurium* kommt allerdings auch in den Kulturpflanzenbeständen Nordamerikas vor, wo die Art von Eurasien aus eingeführt worden ist und besonders in Westkanada ein ernstes Unkrautproblem in Getreide, Lein und Raps darstellt (MOORE 1975, MALIK und VANDEN BORN 1987a, b und 1988, HALL et al. 1998). Die Nährstoff- und Feuchtigkeitsansprüche von *G. spurium* sind geringer als die von *G. aparine*. Die Art bevorzugt lockere, stickstoffreiche, lehmige Böden in wärmeren Lagen (HESS et al. 1972). *G. tricornutum* ist in Südeuropa (nordwärts vereinzelt und meist nur verschleppt bis England und Südschweden), im westlichen Asien und in Nordafrika anzutreffen (HESS et al. 1972). Die Art bevorzugt warme Lagen auf trockenen, lockeren, meist kalkhaltigen, nährstoffreichen, tonhaltigen Böden. Die Verbreitung von *G. parisiense* ist, im Gegensatz zu den übrigen drei *Galium* spp., auf Europa beschränkt. Die Art ist in Süd-, West- und Zentraleuropa zu finden, nordwärts bis Ostengland und östlich bis in die ehemalige Tschechoslowakei und Bulgarien (TUTIN et al. 1976). *G. parisiense* behauptet sich ausschließlich auf eher trockenen, teilweise sauren, sandigen Böden (GLAUNINGER 1985), so dass sie, wie oben bereits aufgeführt, von allen vier aufgeführten *Galium* spp. die geringste Bedeutung auf den Kulturflächen hat.

Von den vier Arten ähneln sich insbesondere *G. aparine* und *G. spurium* hinsichtlich einer Vielzahl von morphologischen Merkmalen, während *G. parisiense* sich am deutlichsten von den drei anderen Arten unterscheidet. Im Folgenden werden einige wichtige morphologische Unterscheidungsmerkmale der vier Arten aufgeführt, da es nicht selten zur Verwechslung, insbesondere von *G. aparine* und *G. spurium*, kommen kann. Die Ausführungen beruhen auf TUTIN et al. (1976), HILBIG (1979), HOLZNER (1981) und GLAUNINGER (1985 und 1986): Alle vier Arten verfügen über **Keimblätter**, die am Ende leicht nach innen eingebuchtet sind und über stachelspitze **Laubblätter**. Da die Keim- und Laubblätter jedoch in Abhängigkeit von den Umweltbedingungen hinsichtlich Form und Größe stark variieren können, soll lediglich darauf hingewiesen werden, dass *G. parisiense* über wesentlich kleinere Keimblätter als die anderen Arten verfügt. Auch die **Sprosslänge** variiert stark in Abhängigkeit von den Umweltbedingungen. Für *G. aparine* werden jedoch mit bis zu 200 cm die größten Längen angegeben, gefolgt von *G. spurium* und *G. tricornutum* mit bis zu 100 bzw. 45 cm. Pflanzen der Art *G. parisiense* mit Sprosslängen von höchstens 20 cm sind am kleinsten. Der **Blütenstand** aller vier Arten ist eine Zyme. *G. aparine* verfügt über 2-5-blütige, *G. spurium* über 3-9- und *G. tricornutum* meist nur über 3-blütige Zymen. Bei *G. parisiense* treten die Blüten-

stände gehäuft in einer endständigen Rispe auf. Als wichtige Kriterien zur Differenzierung der hier aufgeführten *Galium* spp. werden insbesondere die Blüten und Samen, bei denen es sich im botanischen Sinne um Schließfrüchte handelt, herangezogen. Die **Blüten** von *G. aparine* sind weiß und mit einem Durchmesser von 2 mm am größten. *G. tricornutum* verfügt über gelblich weiße, 1-1,5 mm große Blüten, während die von *G. spurium* grünlich weiß und im Durchmesser 1 mm groß sind. *G. parisiense* hat die kleinsten Blüten. Sie sind lediglich 0,5-1 mm groß und unterscheiden sich auch hinsichtlich ihrer Farbe – innen sind sie grünlich, außen rötlich gefärbt - deutlich von den drei anderen Arten. Über die größten **Samen** verfügen *G. aparine* und *G. tricornutum* mit Durchmessern von ca. 3-5 mm bzw. 3-4 mm, während die Samen von *G. spurium* mit 1,5-3 mm wesentlich kleiner und die von *G. parisiense* mit 0,8-1 mm im Durchmesser am kleinsten sind. Die Samen von *G. aparine* sind mit auf Papillen sitzenden Hakenhaaren versehen (*G. aparine* f. *aparine*) und nur selten unbehaart und glatt oder höckrig (*G. aparine* f. *intermedium*). Die Oberfläche der Samen von *G. spurium* ist glatt bis feinkörnig und behaart (*G. spurium* f. *vaillantii*) oder unbehaart (*G. spurium* f. *spurium*). *G. tricornutum* verfügt über unbehaarte Samen, die mit Papillen besetzt sind. Die Samen von *G. parisiense* sind höckrig rau, steifhaarig oder kahl. Ein typisches Merkmal für *G. tricornutum* sind außerdem die im fruchtenden Zustand der Pflanze zurückgekrümmten **Fruchstiele**; die Fruchstiele der anderen drei Arten sind gerade. Über die **Zahl der Chromosomen** ist bei *G. aparine* in Kapitel 2.5 ausführlich berichtet worden; während bei dieser Art mit einer Basiszahl von $x=11$ vier Ploidiestufen vorkommen, existiert bei *G. spurium* mit einer Basiszahl von $x=10$ ausschließlich die diploide Form ($2n=20$), ebenso bei *G. tricornutum* ($2n=44$) mit der Basiszahl $x=22$, während bei *G. parisiense* Chromosomenzahlen von $2n=44$ und 66 vorkommen (TUTIN et al. 1976). Nach HESS et al. (1972) sind bei *G. aparine*, *G. spurium* und *G. tricornutum* keine Bastarde bekannt, jedoch sollen zwischen *G. aparine* und *G. spurium* Zwischenformen vorkommen, die vermutlich auf Genintrogressionen zurückzuführen sind. MOORE (1975) sowie MALIK und VANDEN BORN (1988), die sich mit der Bedeutung und der Biologie von *G. aparine* und *G. spurium* auseinandersetzten, konnten keinen Beweis für die Existenz von Hybriden bei diesen beiden Arten erbringen.

3 Material und Methoden

Es wurden 24 Ackerpopulationen von *G. aparine* (*G. aparine* f. *aparine*) aus Europa hinsichtlich ihrer Herbizidempfindlichkeit sowie einer Vielzahl morphologischer und phänologischer Merkmale untersucht. Abschließend erfolgten molekularbiologische Untersuchungen anhand der RAPD-PCR (s. Kapitel 1). Zum Vergleich wurde eine Herkunft aus einem anderen Habitat - eine Heckenpopulation (s. Kapitel 2.7) - sowie eine Ackerpopulation der mit *G. aparine* nah verwandten und auf den Kulturlflächen nicht unbedeutenden Art *G. spurium* (s. Kapitel 2.8) in die Untersuchungen einbezogen.

3.1 Herkunft der *G. aparine*-Populationen

Alle Herkünfte stammten aus dem Jahr 1995 in Form von Samen von jeweils einer Kulturlfläche. Von den Flächen einiger Populationen liegt eine Feldhistorie für den Zeitraum von frühestens 1990 bis etwa 1995 mit Angaben zur Fruchtfolge und zum chemischen Pflanzenschutz vor (s. Anhang). Abb. 1 und Tab. 1 geben eine Übersicht über die untersuchten Populationen sowie ihre geographische Herkunft.



Abb. 1: Geographische Herkunft der untersuchten *G. aparine*-Populationen; *=Heckenpopulation, **=*G. spurium*

Tab. 1: Untersuchte *G. aparine*-Populationen und deren geographische Herkunft

Population	Herkunftsland	Herkunftsort	Region innerhalb des Herkunftslandes	Feldhistorie
B1	Belgien	Elsegem	Westen	+
B2	Belgien	Assenede	Westen	+
E1	England	Wendens Ambo	Süden	+
E2	England	Wendens Ambo	Süden	-
F1	Frankreich	Ligny-St.-Flochel	Norden	+
F2	Frankreich	Ligny-St.-Flochel	Norden	+
F3	Frankreich	Meigné-le-Vicomte	Westen/Zentral	-
F4	Frankreich	Verzenay	Nordosten	+
F5	Frankreich	Epoye	Nordosten	+
F6	Frankreich	Beine-Nauroy	Nordosten	+
N1	Niederlande	Hilversum	Westen	-
N2	Niederlande	Hilversum	Westen	-
N3	Niederlande	Hilversum	Westen	-
DK1	Dänemark	Holbæk	Osten	+
DK2	Dänemark	Regstrup	Osten	+
DK3	Dänemark	Søllested	Südosten	+
K	Kroatien	Cakovec	Norden	+
D1	Deutschland	Neuhausen	Südwesten	-
D2	Deutschland	Nürtingen	Südwesten	-
D3	Deutschland	Sielmingen	Südwesten	-
D4	Deutschland	Möhringen	Südwesten	-
D5	Deutschland	Harthausen	Südwesten	-
D6	Deutschland	Schönaich	Südwesten	-
D7	Deutschland	Dormettingen	Südwesten	-
D8*	Deutschland	Limburgerhof	Südwesten	+
R**	Russland	Belgorod	Südwesten	+

B1 bis D7=Ackerpopulationen, *=Heckenpopulation (kein Herbizideinsatz), **=*G. spurium*; +=bekannt, -=unbekannt

3.2 Pflanzenanzucht

Um Pflanzen anzuziehen, war eine Vorkeimung der Samen erforderlich. Das Samenmaterial wurde mit dem Fungizid Polyram-Combi® (700 g/kg Metiram) gebeizt und mit Fruhstorfer Einheitserde® im Verhältnis 1:3 vermischt. Das Gemisch wurde mit einer 0,2%igen Polyram-Combi-Lösung angefeuchtet und in Schalen bei 8 °C im Dunkeln verwahrt. In wöchentlichen Abständen wurde das Material umgeschichtet und ggf. mit der Polyram-Combi-Lösung angegossen, um die Feuchtigkeit konstant zu halten. Nach etwa drei Wochen hatten sich kräftige Keimlinge entwickelt, so dass diese in mit Komposterde gefüllte Töpfe überführt werden konnten.

Für die Untersuchungen zur Herbizidempfindlichkeit wurden in jeden mit Erde gefüllten Topf drei Keimlinge und für die Untersuchungen zur Morphologie und Phänologie ein Keimling gelegt. Nachdem die Keimlinge mit ein wenig Erde bedeckt worden waren, wurden diese mit dem Fungizid Fonganiil® Neu (240 g/l Metalaxyl) in 0,05%iger Konzentration angegossen. Während des Wachstums wurden die Pflanzen regelmäßig mit Befestigungsringen (Nelkenringe) an Stützstäben angebunden, um ein Ineinanderwachsen der Pflanzen zu vermeiden. Die Bekämpfung von Blattläusen und anderen schädlichen Insekten erfolgte durch Gelbtäfelchen und Sprühbehandlungen mit Neudosan® (51 % Kaliumsalze, natürliche Fettsäuren) in einer Konzentration von 2 %.

3.3 Untersuchungen zur Herbizidempfindlichkeit

Im Zeitraum von 1996 bis 1997 wurden die Herkünfte angezogen (s. Kapitel 3.2) und im Gewächshaus auf ihre Herbizidempfindlichkeit untersucht. Es wurden sechs verschiedene Herbizide, die in der Praxis gegen *G. aparine* eingesetzt werden, sowie ein Versuchsherbizid in jeweils aufsteigenden Dosierungen mit 12 Wiederholungen im 3-4-Quirlstadium der Pflanzen durch Einsatz eines Parzellenspritzgerätes (Düsentyp: SS 800 15 VS) appliziert. Die Wassermenge betrug 250 l/ha für jede Dosierung. Folgende Herbizide kamen zum Einsatz: Duplosan® KV (600 g/l Mecoprop-P), Starane® (180 g/l Fluroxypyr), Nimbus® WP (500 g/kg Quinmerac), Basagran® (480 g/l Bentazon), Hoestar® WG (750 g/kg Amidosulfuron), Lotus® (200 g/l Cinidon-ethyl) und ein Versuchsherbizid (ALS-Inhibitor gegen Dikotyle).

3.3.1 Eingesetzte Wirkstoffe

Im Folgenden werden die Wirkstoffe, die bei den Untersuchungen zur Herbizidempfindlichkeit eingesetzt wurden, mit ihren Eigenschaften aufgeführt. Die Ausführungen beruhen, wenn nicht anders vermerkt, auf PERKOW (1993), TOMLIN (1995), HOCK et al. (1995), ANONYM (2000) sowie auf dem GLOBAL HERBICIDE DIRECTORY (2001). Weitere Angaben zu den Wirkstoffen sind im Anhang aufgeführt.

Mecoprop

Mecoprop wurde bereits im Jahr 1953 in den Markt eingeführt. Der Wirkstoff gehört der Gruppe der Phenoxy-carbonsäuren an und ist ein selektives, systemisches Blattherbizid mit auxinartiger Wirkung. Die Wirkung von Auxinherbiziden beruht im Wesentlichen auf einer übermäßigen Wachstumsstimulation bei sensiblen Pflanzen, da bei diesen die Auxinkonzentration im Pflanzengewebe aufgrund der zu langsam verlaufenden Metabolisierung dauerhaft überhöht ist. Zudem stimulieren auxinaktive Herbizide die Ethylenbiosynthese (SCHELTRUP und GROSSMANN 1996). Mecoprop ist seit einigen Jahren in Form des (+)-D-Stereo-Isomers als Mecoprop-P im Handel, wodurch die Dosierung gegenüber dem früheren Isomerengemisch verringert werden konnte. Die Anwendung von Mecoprop-P erfolgt mit einer empfohlenen Aufwandmenge von 1200 g/ha im Nachauflauf in Sommer- und Wintergetreide gegen *G. aparine*, *Stellaria media* (L.) VILL. u. a. dikotyle Unkräuter. Weiterhin findet der Wirkstoff Anwendung im Forst, Grünland sowie im Weinbau und auf Rasenflächen.

Fluroxypyr

Fluroxypyr wurde 1982 in den Markt eingeführt. Der Wirkstoff zählt zu den Pyridin-carbonsäuren und ist, wie Mecoprop(-P), ein systemisches Herbizid vom Auxintyp. Er wird vorwiegend über das Blatt aufgenommen, kann aber auch über die Wurzel absorbiert werden. Fluroxypyr wird im Nachauflauf mit einer empfohlenen Aufwandmenge von 180 g/ha gegen dikotyle Unkräuter wie *G. aparine*, *Veronica* spp. und *Viola* spp. im Getreide angewendet. Ebenso erfolgt die Bekämpfung dikotiler Unkräuter in Mais, auf dem Weideland, im Obst- und Weinbau sowie in Koniferen.

Quinmerac

Die Markteinführung von Quinmerac erfolgte im Jahr 1985. BERGHAUS und WÜRZER (1987), BERGHAUS und RETZLAFF (1988 und 1989), WALTER et al. 1994, SCHELTRUP und GROSSMANN (1996): Quinmerac gehört der Wirkstoffgruppe der Chinolincarbonsäuren an und wirkt, wie Mecoprop und Fluroxypyr, mit dem Mechanismus eines Auxinherbizids

(s. unter Mecoprop). Die Aufnahme des systemischen Wirkstoffes erfolgt über Blatt und Wurzel. Des Weiteren konnte anhand von Untersuchungen bei *G. aparine* nachgewiesen werden, dass Quinmerac die Transpiration und CO₂-Assimilation inhibiert. Das Wirkungsspektrum umfasst *G. aparine*, *Aethusa cynapium* L., *Conium maculatum* L., *Ammi majus* L., *Veronica* spp. und *Lamium* spp. Die Anwendung erfolgt in Getreide, Raps und Rüben im Vor- sowie Nachauflauf mit einer empfohlenen Aufwandmenge von 500 g/ha.

Cinidon-ethyl

Der Wirkstoff ist erst kürzlich (1999) in den Markt eingeführt worden. Cinidon-ethyl gehört zur Wirkstoffgruppe der Stickstoffphenylphthalimide und ist ein selektives Kontaktherbizid. Die Wirkung beruht auf einer Inhibierung des Enzyms Protoporphyrinogen-IX-oxidase, das insbesondere als Schlüsselenzym an der Chlorophyllbiosynthese beteiligt ist (GROSSMANN und SCHIFFER 1998 und 1999). Im grünen Pflanzengewebe kommt es zu einer Akkumulation von Protoporphyrin IX und durch Lichteinwirkung zur Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies. Es folgt die Synthese von Ethylen und eine Schädigung der Membranen durch Lipidperoxidation, so dass es schließlich innerhalb weniger Tage zum Absterben der Pflanzen kommt. Cinidon-ethyl wird mit einer empfohlenen Aufwandmenge von 50 g/ha im Getreide im Nachauflauf zur Bekämpfung dikotyler Unkräuter wie *G. aparine*, *Galeopsis tetrahit* L., *Veronica* spp. und *Lamium* spp. eingesetzt (NUYKEN et al. 1999).

Amidosulfuron

Amidosulfuron (Markteinführung 1989) zählt zu den Sulfonylharnstoffen und ist ein selektives, systemisches Herbizid, das überwiegend vom Spross absorbiert wird. Im Wesentlichen inhibiert der Wirkstoff die Acetolactat-Synthase (ALS), wodurch die Biosynthese der verzweigten Aminosäuren Valin, Leucin und Isoleucin blockiert wird. Außerdem kommt es zu einer starken Einschränkung der DNA-Synthese sowie zu einer Hemmung der Phloembeladung und des -transports. Kennzeichnend im Vergleich zu allen anderen hier aufgeführten Wirkstoffen ist, dass die volle Wirkung, in Abhängigkeit von der Pflanzenart, erst etwa drei Wochen nach der Applikation eintritt. Der Wirkstoff wird mit einer empfohlenen Aufwandmenge von 30 g/ha im Nachauflauf gegen dikotyle Unkräuter wie *Myosotis arvensis* (L.) HILL, *Capsella bursa-pastoris* (L.) MEDICUS, *Matricaria chamomilla* L., *Anthemis arvensis* L., *Veronica agrestis* L., insbesondere jedoch gegen *G. aparine* in Winter- und Durumweizen, in Gerste, Roggen, Triticale sowie Hafer eingesetzt.

Versuchsherbizid

Bei dem Versuchsherbizid handelt es sich um einen sich in der Entwicklung befindenden ALS-Inhibitor gegen Dikotyle. Die empfohlene Aufwandmenge liegt voraussichtlich bei 50 g/ha Wirkstoff.

Bentazon

Die Markteinführung von Bentazon erfolgte bereits 1968. Bentazon ist ein selektiver, systemischer Wirkstoff der Gruppe der Benzothiadiazinone, der über Spross und Wurzel aufgenommen wird. Der Wirkungsmechanismus beruht auf einer Inhibierung der Photosynthese, indem der Elektronentransport im Photosystem II blockiert wird. Bentazon wird im Nachauf-
lauf gegen dikotyle Unkräuter, insbesondere gegen *Matricaria* spp., *G. aparine* und *Stellaria media* in Winter- und Sommergetreide, ausgenommen Sommerroggen, in Mais, Kartoffeln und Sojabohnen angewendet. In Reis wird der Wirkstoff zur Bekämpfung der *Cyperaceae* eingesetzt. Die empfohlene Aufwandmenge liegt bei 1440 g/ha.

3.3.2 Gegenwärtiger Stand zum Vorkommen resistenter Unkrautarten bei den angewendeten sowie verwandten Wirkstoffen

Die folgenden Ausführungen beruhen, wenn nicht anders vermerkt, auf Darstellungen von HEAP (1999), der das Vorkommen herbizidresistenter Unkrautarten weltweit untersuchte. Zunächst soll jedoch der Begriff der Herbizidresistenz definiert werden. Nach HEAP ist Resistenz die auftretende und vererbte Eigenschaft von Biotypen einer Population, Herbizidbehandlungen zu überleben, die bei normalen Anwendungsbedingungen diese Population wirksam bekämpfen würden. Kreuzresistenz ist eine Resistenz gegen zwei oder mehr Herbizide, die auf einem einzigen Resistenzmechanismus beruht. Multiple Resistenz liegt vor, wenn resistente Pflanzen über zwei oder mehrere Resistenzmechanismen verfügen.

Die Resistenz von Unkrautarten gegenüber **Auxinherbiziden** ist nicht von besonderer Bedeutung. Bis heute sind gegenüber den synthetischen Auxinherbiziden mit 17 überwiegend dikotylen Pflanzenarten relativ wenige herbizidresistente Unkrautarten aufgetreten. Am häufigsten wurden Resistenzen gegenüber den sich schon seit rund 50 Jahren auf dem Markt befindenden Wirkstoffen 2,4-D und MCPA bekannt. Gegenüber **Mecoprop** wurden um Mitte der achtziger Jahre lediglich resistente Biotypen von *Stellaria media* in Großbritannien entdeckt (BARNWELL und COBB 1989, LUTMAN und HEATH 1990, HEAP 1999). Weitere resistente Unkrautarten gegenüber Mecoprop sind bisher nicht bekannt. Ähnlich ist es bei **Fluroxypyr**.

Hinsichtlich dieses Wirkstoffes wurde bis heute lediglich über einen Picloram-resistenten Biotyp von *Centaurea solstitialis* L. berichtet, der sich gegenüber Fluroxypyr als kreuz-resistent erwies (FUERST et al. 1996). Gegenüber **Quinmerac** gibt es bisher keine resistenten Unkrautarten. Ebenso ist hinsichtlich der Wirkstoffe, die die **Protoporphyrinogen-Oxidase** inhibieren, wie **Cinidon-ethyl**, bisher keine resistente Unkrautart beschrieben worden (DUKE et al. 1996, DAYAN und DUKE 1997, HEAP 1999).

ALS-Inhibitoren werden aufgrund ihrer geringen Aufwandmengen, ihrer relativ geringen Toxizität im Säugerorganismus sowie ihrer Selektivität in über 12 Hauptfrüchten relativ häufig angewandt (BROWN und COTTERMAN 1994). Folglich hat in den letzten zehn Jahren die Anzahl der gegenüber ALS-Inhibitoren resistenten Unkrautarten besonders stark zugenommen; bis heute wurden weltweit insgesamt 53 ALS-Inhibitor-resistente Unkrautarten in 16 verschiedenen Ländern beschrieben. Besonders häufig kommt dabei die Resistenz gegenüber dem Sulfonylharnstoff Chlorsulfuron vor, der im Boden mit einer Halbwertszeit im Bereich von mehreren Monaten recht stabil ist, so dass eine Selektion resistenter Arten gefördert wird (HOCK et al. 1995). In Europa tritt in fast allen Ländern ALS-Resistenz auf, wobei hier 11 Arten betroffen sind (CLAUDE et al. 1999): *Alisma plantago-aquatica* L., *Alopecurus myosuroides* HUDS., *Chrysanthemum segetum* L., *Conyza albida* WILLD. ex SPRENG., *Cyperus difformis* L., *Kochia scoparia* (L.) SCHRADER, *Lolium rigidum* GAUD., *Papaver rhoeas* L., *Scirpus maritimus* L., *Scirpus mucronatus* L. und *Stellaria media* (L.) VILL. Besonders häufig in Europa ist *Alopecurus myosuroides* betroffen, wo mehr als 235 Fälle bekannt geworden sind. In der Gattung **Galium** wurde bisher lediglich ein ALS-Inhibitor-resistenter Biotyp der Art **G. spurium** in Alberta, Kanada, entdeckt (HALL et al. 1998). Hinsichtlich des Wirkstoffes **Amidosulfuron** berichteten CLAUDE et al. (1998) über eine *Papaver rhoeas*-Population in Spanien, die sich u. a. gegenüber weiteren Sulfonylharnstoffen als resistent erwies. Weitere Fälle von Amidosulfuron-Resistenz sind bisher nicht bekannt.

Unter den **Inhibitoren des Photosynthese II-Systems** sind mit bisher 60 resistenten Unkrautarten insbesondere die Triazine betroffen. 19 Arten sind resistent gegenüber Wirkstoffen der Gruppe der Harnstoffe und Amide. Hinsichtlich weiterer Gruppen der Photosynthese II-Inhibitoren wie z. B. der Nitrile, der Phenylpyridazine und der Benzothiadiazinone ist lediglich die Art *Senecio vulgaris* L. als resistent gegen Bromoxynil aus der Gruppe der Nitrile bekannt. Gegenüber **Bentazon** (Benzothiadiazinon) gibt es keine resistenten Unkrautarten.

Generell ist bisher gegenüber keinem sich auf dem Markt befindenden Wirkstoff ein resistenter Biotyp von **G. aparine** aufgetreten (BANDEEN et al. 1982, GRESSEL et al. 1982, LEBARON 1991, THILL et al. 1991, CLAUDE et al. 1999, HEAP 1999). Es wurden lediglich unterschiedlich

Mecoprop- und Fluroxypyr-empfindliche Herkünfte (bei gutem Bekämpfungserfolg mit der empfohlenen Aufwandmenge) ermittelt (LUTMAN und LOVEGROVE 1985, NIEMANN 1988, COURTNEY und HILL 1988, HILL und COURTNEY 1991a und 1991b).

3.3.3 Untersuchte Herkünfte, eingesetzte Wirkstoffe und Aufwandmengen sowie zeitlicher Verlauf der Untersuchungen

Tab. 2a gibt eine Übersicht über den Ablauf der Untersuchungen zur Herbizidempfindlichkeit: Im Jahr 1996 wurden aus den verschiedenen Ländern jeweils einige der in Kapitel 3.1 beschriebenen Herkünfte angezogen und mit den sieben Herbiziden behandelt (s. Kapitel 3.3). Bei Mecoprop-P, Cinidon-ethyl, Fluroxypyr und Quinmerac wurde zusätzlich eine Herkunft von *G. spurium* (R) mitgeführt. Im Jahr 1997 wurden weitere Herkünfte bezüglich ihrer Empfindlichkeit gegenüber Fluroxypyr und dem ALS-Hemmer/Versuchsprodukt getestet. Dabei wurden B1 und E2, die bereits im Vorjahr mit diesen Wirkstoffen behandelt worden waren, wiederum untersucht, um zu überprüfen, inwiefern die erzielten Ergebnisse mit denen aus dem Vorjahr vergleichbar sind. Des Weiteren wurde hier die Heckenpopulation D8, die in ihrer Historie generell keine Herbizidbehandlung erfuhr, mitgeführt. Tab. 2b zeigt die eingesetzten Aufwandmengen der Wirkstoffe, die in Anlehnung an die empfohlenen Aufwandmengen und anhand von Vorversuchen ermittelt wurden, um mit den Dosierungen möglichst das ganze Wirkungsspektrum (von einer kleinen Wirkung bis zum Tod der Pflanzen) zu erzielen. Dies ist eine Voraussetzung zur korrekten statistischen Auswertung der Versuche (s. folgendes Kapitel) mithilfe des logistischen Modells von STREIBIG (1988).

Tab. 2a: Herkünfte, Wirkstoffe und zeitliche Abfolge der Untersuchungen

Herkünfte	Wirkstoffe	Untersuchungszeiten
B1, B2, E2, F1, F4, F5, F6, N3, D5, R**	Mecoprop-P Cinidon-ethyl	Juni 1996
B1, B2, E2, F1, F4, F5, F6, N3, D5, R**	Fluroxypyr Quinmerac	August 1996

B1 bis D7=Ackerpopulationen, *=Heckenpopulation, **=*G. spurium*

Tab. 2a: Fortsetzung

B1, B2, E2, F1, F4, F5, F6, N3, D5; bei Behandlung mit Bentazon zusätzlich DK3 und D1	Amidosulfuron Versuchsherbizid Bentazon	Oktober 1996
B1, E1, E2, F2, F3, N1, N2, DK1, DK2, DK3, K, D2, D3, D4, D6, D7, D8*	Fluroxypyr Versuchsherbizid	Juli 1997

B1 bis D7=Ackerpopulationen, *=Heckenpopulation, **=*G. spurium*

Tab. 2b: Wirkstoffe und deren Aufwandmengen

Wirkstoffe	Aufwandmengen [g/ha]	Untersuchungszeiten
Mecoprop-P Cinidon-ethyl	0; 37,8; 75; 150; 300; 450; 600; 900 0; 1,56; 3,13; 6,25; 12,5; 18,75; 25; 37,5	Juni 1996
Fluroxypyr Quinmerac*	0; 2,81; 5,62; 11,24; 22,5; 45; 90; 135 0; 7,81; 15,62; 31,25; 62,5; 125; 250; 500	August 1996
Amidosulfuron Versuchsherbizid* Bentazon	0; 0,94; 1,88; 3,75; 7,5; 15; 30; 60 0; 0,20; 0,39; 0,78; 1,56; 3,13; 6,25; 12,5 0; 11,25; 22,5; 45; 90; 180; 360; 720; 1440	Oktober 1996
Fluroxypyr Versuchsherbizid*	0; 3,38; 6,75; 13,5; 27; 54; 108 0; 0,63; 1,25; 2,5; 5; 10; 20	Juli 1997

*=mit Ölzusatz (Atplus® 411 F, 2 l/ha)

3.3.4 Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

Etwa drei Wochen, nachdem die Herbizidbehandlungen durchgeführt worden waren, war ein vollständiger Wirkungseintritt – von einer leichten Reaktion bei niedrigen Dosierungen bis zu abgestorbenen Pflanzen bei hohen Dosierungen - zu verzeichnen, so dass die Sprosse ge-

erntet und bei 120 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurden, um anschließend die Trockengewichte zu ermitteln.

Zur statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse wurde das vier Parameter umfassende logistische Modell von STREIBIG (1988) herangezogen:

$$y = C + \frac{D-C}{1 + e^{[b(\ln(x)-\ln(ED_{50}))]}}$$

Y=Wirkung; D=obere Grenze; C=untere Grenze; x=Dosis; b=Steigung im linearen Bereich; ED₅₀=Dosis, die eine 50%ige Wirkung verursacht

Graphisch präsentiert sich das Modell in Form einer logistischen Dosis-Wirkungskurve (Abb. 2), wobei sich die vier Parameter des Modells biologisch interpretieren lassen (SEEFELDT et al. 1995). Die obere Grenze D entspricht in vorliegender Arbeit dem durchschnittlichen Trockengewicht der unbehandelten Kontroll-Pflanzen und nimmt in Prozent ausgedrückt einen Wert von 100 an. Die Wirkung liegt somit bei einer Dosis von 0 g/ha bei 0 %. Die untere Grenze C ergibt sich aus dem durchschnittlichen Trockengewicht, ausgedrückt in Prozent zur Kontrolle, bei der höchsten Dosierung. Die Wirkung ist hier maximal und geht gegen 100 %. Da aber auch totes Pflanzenmaterial noch eine messbare Größe ist, liegt C stets ein wenig über dem Wert 0. Die Steigung b ist ein Maß für die Veränderung der Wirkung mit zunehmender Dosis und weist somit auf den Verlauf der Dosis-Wirkungskurve hin. Nimmt b einen kleinen Wert an, verläuft die Dosis-Wirkungskurve flach, während ein größerer Wert zu einem steil abfallenden Kurvenverlauf führt. Der ED₅₀ entspricht die Dosis, die erforderlich ist, um eine Reduktion des Trockengewichtes auf 50 % zu verursachen, also eine 50%ige Wirkung hervorzurufen.

Die statistischen Berechnungen der Dosis-Wirkungskurven - Berechnung der vier Regressionsparameter, Test auf Parallelität der Dosis-Wirkungskurven und Test auf Signifikanz - wurden nach MICHEL et al. (1999) vorgenommen. Dabei wurde das SAS-Programmpaket (Version 6.08) angewandt. Die graphische Darstellung der Dosis-Wirkungskurven erfolgte mithilfe des Programmes Sigma Plot (Version 2.01).

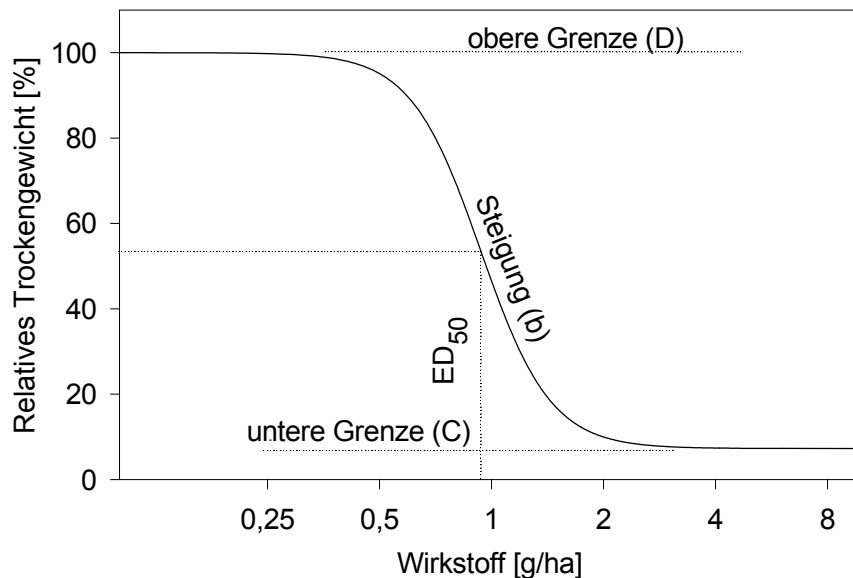


Abb. 2: Logistische Dosis-Wirkungsbeziehung (STREIBIG und KUDSK 1993, verändert); Erklärung der Parameter im Text weiter oben

Anhand der errechneten ED_{50} -Werte wurden die relativen Empfindlichkeiten (RE) der Herkünfte abgeleitet, um einen schnellen Überblick über die Rangfolge dieser hinsichtlich ihrer Herbizidempfindlichkeit und der Größe der Unterschiede zwischen den einzelnen Populationen zu erhalten. Die relative Empfindlichkeit der einzelnen Herkünfte berechnete sich folgendermaßen:

$$RE = ED_{50}(u) / ED_{50}(e)$$

RE=relative Empfindlichkeit; ED_{50} =Dosis, die erforderlich ist, um eine 50%ige Wirkung zu erzielen; u=unempfindlichere Herkunft, e=empfindlichste Herkunft bei Behandlung mit einem Herbizid

Die empfindlichste Herkunft (bei Behandlung mit einem Herbizid) verfügt somit stets über eine relative Empfindlichkeit von 1,0. Herkünfte mit einer $RE > 1$ sind entsprechend unempfindlicher. Verfügt eine Herkunft z. B. über eine relative Empfindlichkeit von 1,5, besagt dies, dass diese 1,5-mal unempfindlicher ist als die Empfindlichste; es ist 1,5-mal mehr Wirkstoff als bei der empfindlichsten Population erforderlich, um die gleiche Wirkung wie bei Letzterer zu erzielen.

Mithilfe eines F-Testes wurde überprüft, ob die Dosis-Wirkungskurven der Herkünfte parallel verlaufen. Bei parallelem Kurvenverlauf bleibt die Rangfolge bzw. die relative Empfindlichkeit der Herkünfte hinsichtlich ihrer Herbizidempfindlichkeit auf jedem beliebigen Wirkungsniveau gleich. Verlaufen die Kurven jedoch nicht parallel zueinander, ändern sich die Unterschiede zwischen den Herkünften und somit die Rangfolge dieser in Abhängigkeit vom betrachteten Wirkungsniveau. Somit wurden in dieser Arbeit auch die ED_{10} - (die Dosis, mit der eine 10%ige Wirkung erzielt werden kann) und die für die Bekämpfung besonders relevanten ED_{90} -Werte (die Dosis, mit der eine 90%ige Wirkung herbeigeführt werden kann) der Herkünfte berechnet und nach dem bereits oben dargestellten Prinzip die relativen Empfindlichkeiten abgeleitet. Die Berechnung der ED_{10} - und ED_{90} -Werte erfolgte nach einer Gleichung von STREIBIG et al. (1995) mit den zuvor ermittelten ED_{50} -Werten und der Steigungen b der Dosis-Wirkungskurven:

$$ED_{(x)} = ED_{50} \left[\frac{x}{(100-x)} \right]^{\frac{1}{b}}$$

$ED_{(x)}$ =zu berechnender Wirkungsgrad, x nimmt hier somit einen Wert von 10 bzw. 90 an; ED_{50} =Dosis, die erforderlich ist, um eine 50%ige Wirkung zu erzielen; b =Steigung der Dosis-Wirkungskurve

Um zu prüfen, ob die Herkünfte sich signifikant hinsichtlich ihrer Herbizidempfindlichkeit voneinander unterscheiden, wurde ein F-Test durchgeführt. Die berechneten Signifikanzen gelten für jedes Wirkungsniveau, sofern die Kurven parallel verlaufen. Bei nicht parallelem Kurvenverlauf sind sie nur für die ED_{50} -Werte gültig. Eine Berechnung der Signifikanzen für die übrigen Wirkungsniveaus war dann nicht möglich.

3.4 Untersuchungen zur Morphologie und Phänologie

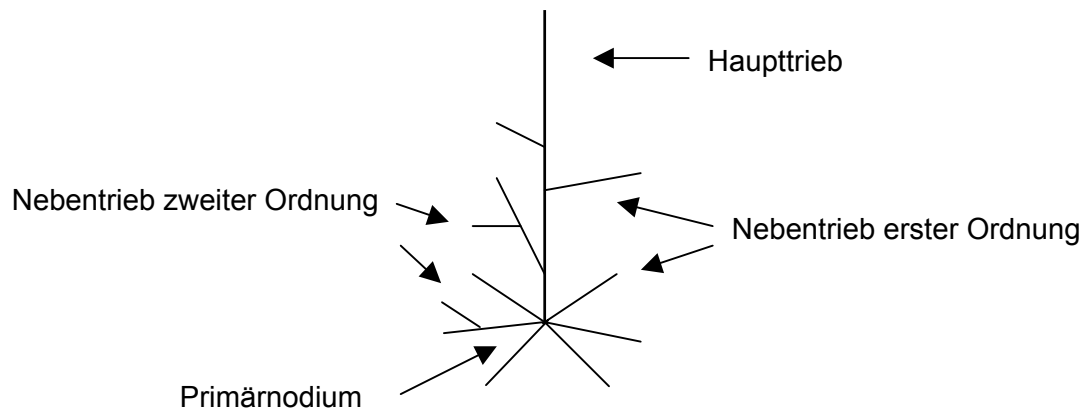
Im April 1997 wurden alle Herkünfte, nachdem sie vorgekeimt waren (s. Kapitel 3.2), zum gleichen Zeitpunkt in einer Vegetationshalle angezogen, um diese unter gleichen Umweltbedingungen hinsichtlich ihrer morphologischen und phänologischen Diversität im Laufe der Entwicklung zu untersuchen. Versuchsanlage war eine randomisierte Blockanlage mit zehn Wiederholungen und vier Ernteterminen. Zur Untersuchung der Diversität wurden die Pflanzen zu den verschiedenen Terminen - Mitte Mai (ca. 7-8-Quirlstadium), Ende Mai (ca. 10-11-

Quirlstadium), Mitte Juni (ca. 13-16-Quirlstadium) und im September (Samenreife) - unmittelbar über dem Boden abgeschnitten und die Parameter erhoben.

3.4.1 Untersuchte Parameter

Folgende Parameter wurden erhoben (Tab. 3):

- Haupttrieblänge (vom Primärnodium bis zur Triebspitze)
- Anzahl der Quirle am Haupttrieb (alle entfalteten Quirle)
- Internodienlänge des Haupttriebes (Haupttrieblänge/Anzahl der Quirle)
- Anzahl der Blätter am Haupttrieb (alle Blätter entfalteter Quirle)
- Anzahl der Nebentriebe erster sowie zweiter Ordnung:



- Trockengewicht

Die Haupt- und Nebentriebe der Pflanzen wurden bei 120 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, gewogen und der prozentuale Anteil des Haupttriebgewichtes am Gesamt-sprossgewicht ermittelt. Ebenso wurde das Trockengewicht des gesamten Sprosses erfasst.

- Keim- und Laubblätter

Von jeder Pflanze wurden ein Keimblatt und die Laubblätter des fünften Quirls vom Haupttrieb (gezählt von der Sprossbasis an) entfernt und ihre Fläche, Länge und Breite ermittelt; die Blätter wurden auf Papier aufgeklebt, fotokopiert und schließlich mithilfe eines Blattflächenmessgerätes (Delta-T Image Analysis Systems/DIAS, Version 1.10) vermessen (Phytokopie, SCHWERDTLE 1994). Aus dem Verhältnis Länge zu Breite eines Blattes wurde der Keimblatt- bzw. der Laubblattindex berechnet, wobei ein großer Index

auf ein elliptisch-lanzettliches und ein kleiner Index auf ein elliptischeres Blatt hindeutet. Ebenso wurde die gesamte Laubblattfläche des fünften Quirls ermittelt.

- Blühbeginn (Anzahl der Tage vom Überführen der Keimlinge aus den Vorkeimschalen in die Töpfe bis zum Blühbeginn), Samenzahl und Samenertrag pro Pflanze, TKM der Samen

Tab. 3: Untersuchte Parameter und Erhebungstermine

Parameter	1. Termin Mitte Mai 7-8 Quirle	2. Termin Ende Mai 10-11 Quirle	3. Termin Mitte Juni 13-16 Quirle	4. Termin September Samenreife
Haupttrieblänge	+	+	+	
Zahl der Quirle am Haupttrieb	+	+	+	
Internodienlänge des Haupttriebes	+	+	+	
Blattzahl am Haupttrieb	+	+		
Zahl Nebentriebe erster Ordnung	+	+		
Zahl Nebentriebe zweiter Ordnung	+	+		
Anteil des Haupttriebgewichtes am gesamten Sprosstrockengewicht	+			
Sprosstrockengewicht insgesamt	+	+	+	
Keimblattfläche, -länge, -breite	+			
Keimblattindex (Länge/Breite)	+			
Laubblattfläche, -länge, -breite	+			
Laubblattindex (Länge/Breite)	+			
Fläche des fünften Quirls	+			
Anzahl Tage bis zur Blüte			+	
Samenzahl				+
TKM				+
Samenertrag				+

3.4.2 Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

Um zu überprüfen, ob die Herkünfte sich hinsichtlich ihrer morphologischen bzw. phänologischen Merkmalsausprägungen voneinander unterscheiden, wurde mithilfe des Programmpaketes SAS (Version 6.08) eine Varianzanalyse und ein Mittelwertvergleich nach Tukey ($\alpha=0,05$) durchgeführt. Mit dem Ziel zu testen, ob und welche Parameter miteinander korrelieren, wurde eine Korrelationsanalyse (Pearsonscher Maßkorrelationskoeffizient) vorgenommen. Um zu prüfen, welche Herkünfte sich hinsichtlich der Gesamtheit ihrer Merkmalsausprägungen ähneln, wurde mithilfe des Programmpaketes SAS (Version 6.08) eine hierarchische Clusteranalyse nach dem Verfahren von WARD (1963) durchgeführt; Herkünfte mit ähnlichen Merkmalsausprägungen werden dabei in Ähnlichkeitsgruppen eingeteilt. Zu Beginn der Clusterung stellt jede Herkunft eine Gruppe dar, die miteinander zu einer geringeren Anzahl von Gruppen fusionieren, bis schließlich alle Herkünfte zusammen eine Gruppe bilden. Zu Beginn dieses Prozesses ist die Heterogenität innerhalb der gebildeten Herkunftsgruppen klein; es liegt eine größere Anzahl von Gruppen vor, die aus wenigen Herkünften bestehen. Mit abnehmender Gruppenzahl nimmt schließlich die Heterogenität innerhalb der Gruppen zu. Die Gruppenzahl wurde nach dem Scree-Verfahren ermittelt, wobei die optimale Zahl dann erreicht ist, wenn die Heterogenität bei einer weiteren Fusionierung (erstmalig) deutlich ansteigt (BACHER 1996). Es wurden lediglich voneinander unabhängige Parameter in die Analyse einbezogen. Um zu vermeiden, dass die Clusteranalyse durch die absolute Größe der Werte beeinflusst wird, wurden die Daten zuvor z-transformiert (DEICHSEL und TRAMPISCH 1985). Die Ergebnisse der Clusteranalyse wurden auf der Grundlage des durch die Berechnungen erhaltenen statistischen Outputs mithilfe des Programmes Excel (Version 5.0) in Form eines Baumdiagrammes dargestellt.

3.5 Molekularbiologische Untersuchungen

Anhand des Verfahrens der RAPD-PCR (WILLIAMS et al. 1990) wurde die Diversität der *Galium*-Herkünfte molekularbiologisch untersucht. Die Methode wurde bereits in der Einleitung (s. Kapitel 1) erläutert. Es wurden die Populationen herangezogen, die sich bereits hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit gegenüber den verschiedenen Herbiziden (s. Kapitel 4.1) sowie bezüglich ihrer Morphologie und Phänologie (s. Kapitel 4.2) deutlicher voneinander unterscheiden. Des Weiteren wurde bei der Auswahl der Herkünfte berücksichtigt, dass aus jedem Land und nach den Ergebnissen der Clusteranalyse (s. Kapitel 4.2.10.5) aus jeder Gruppe wenigstens eine Herkunft vertreten ist. Untersucht wurden die deutschen Herkünfte

D2, D3, D8 (Heckenpopulation), die niederländischen Herkünfte N2 und N3, die französischen Herkünfte F1, F3, F4, F5, F6, die kroatische Herkunft K, DK1 aus Dänemark, B1 aus Belgien, E2 aus England sowie R (*G. spurium*) aus Russland.

3.5.1 Puffer und Lösungen

Für die molekularbiologischen Arbeiten kamen folgende Puffer und Lösungen zum Einsatz: 0,1xTE-Puffer (Tris-EDTA-Puffer), 0,5xTBE-Puffer (Tris-Borat-EDTA-Puffer), Dye sowie Ethidiumbromidlösung. Vor Gebrauch wurden die Puffer, das H₂O_{bidest} und die erforderlichen Geräte für 20 min bei 120 °C und 1,1 bar autoklaviert.

3.5.2 Extraktion genomischer DNA

Von jeder Herkunft wurden jeweils zehn Pflanzen wie unter 3.2 beschrieben angezogen, im 6-Quirlstadium von jeder Pflanze 100 mg junges Blattmaterial genommen und in 1,5 ml-Eppendorf-Reaktionsgefäßen bei -20 °C eingefroren. Die Extraktion der genomischen DNA erfolgte mithilfe des „Plant DNA Isolation Kit“ der Firma Boehringer Mannheim, wobei die Methode leicht modifiziert wurde: Das gefrorene Blattmaterial wurde in einen vorgekühlten Mörser überführt und nach Zugabe von flüssigem Stickstoff mit einem Pistill fein zerrieben. Anschließend wurde es in 1,5 ml-Eppendorf-Reaktionsgefäßen überführt und durch Zugabe von 450 µl Puffer 1, durch den Oxidationsprozesse und die Aktivität von Nukleasen eingeschränkt werden sollen, suspendiert. Um die Zellmembranen aufzulösen, wurden 30 µl Puffer 2 hinzugegeben und die Probe für 5 min im 65 °C heißen Wasserbad inkubiert. Durch Zugabe von 150 µl Puffer 3, einer 5-minütigen Inkubation auf Eis und einer Zentrifugation bei 4 °C und 13 000 g für 10 min wurden die Proteine sedimentiert. Der proteinfreie Überstand wurde in ein mit 600 µl kaltem Isopropanol (-20 °C) gefülltes 1,5 ml-Reaktionsgefäß überführt. Durch kurzes Schütteln und einer Inkubation bei -20 °C für 15 min wurde die DNA präzipitiert. Anschließend erfolgte eine 10-minütige Zentrifugation bei 4 °C und 13 800 g. Der Überstand wurde verworfen und das Präzipitat bei Raumtemperatur in den Reaktionsgefäßen 5 min getrocknet. Durch Zugabe von 330 µl 0,1xTE-Puffer und 30-minütigem Vortexen bei kleiner Geschwindigkeit wurde das Pellet vollständig resuspendiert. Anschließend wurde für 5 min bei 4 °C und 9880 g zentrifugiert und der Überstand in ein neues Tube überführt. Nach Zugabe von 500 µl kaltem Isopropanol (-20 °C) und 35 µl Natriumacetat (3 M; pH 5,2) erfolgte eine 15-minütige Inkubation bei -20 °C, der sich eine 5-minütige Zentri-

fugation bei 4 °C und 9880 g anschloss. Der Überstand wurde verworfen und das Pellet bei 40 °C im Vakuumtrockner für 10 min getrocknet. Die DNA wurde durch Zugabe von 100 µl 0,1xTE-Puffer und 30-minütigem Vortexen bei kleiner Geschwindigkeit resuspendiert und bei -20 °C gelagert.

3.5.3 DNA-Gehaltsbestimmung

Die DNA-Konzentration der Proben wurde gelelektrophoretisch auf 0,8%igen Agarosegelen ermittelt. Die Erstellung der Gele erfolgte, indem 0,8 g Agarose mit 100 ml 0,5xTBE-Puffer bei 100 °C kurz aufgeköcht wurde, bis die Lösung sich aufklarte. Nachdem das Gel auf 70 °C abgekühlt war, wurde es in einen mit zwei 14er Kämmen versehenen Gelträger gegossen. Die DNA-Proben wurden aufbereitet, indem 3 µl Proben-DNA mit 9 µl H₂O_{bidest} und 3 µl Dye verdünnt wurden. Als das Gel abgekühlt war, wurden die DNA-Verdünnungen auf das Gel aufgetragen. Es wurden vier Konzentrationsstufen eines λ-DNA Standards (25, 50, 100, 150 ng/µl) mitgeführt. Die Auftrennung der DNA-Verdünnungen erfolgte in einer horizontalen Elektrophoresekammer in 0,5xTBE-Puffer bei 80 V in 1 h. Anschließend wurde das Gel in einer Ethidiumbromidlösung 30 min lang gefärbt, dann weitere 30 min in H₂O_{dest} gewässert und unter UV-Licht visualisiert (Gelaufnahme, SL Microtest GmbH, Jena). Die Konzentrationsbestimmung der Proben erfolgte durch den optischen Vergleich der Banden mit denen der λ-DNA Standards.

3.5.4 Polymerase-Kettenreaktion (RAPD-PCR)

Die Polymerase-Kettenreaktionen (s. Kapitel 1) erfolgten in einem programmierbaren Wasserbad-Thermocycler (Grant Instruments, Barrington). Das für die RAPD-PCR eingesetzte Temperatur- und Zeitprofil der einzelnen Reaktionsschritte im Thermocycler ist in Tab. 4 aufgeführt. Die RAPD-Reaktionen liefen in 25 µl-Reaktionsansätzen ab, die unter der Sterilbank bei Verwendung von Einmalpipettenspitzen mit Filtereinsätzen hergestellt wurden, um Kontaminationen zu vermeiden. Jeder Reaktionsansatz bestand aus PCR-Puffer (Roche Diagnostics, Mannheim), *Taq*-Polymerase (Roche Diagnostics, Mannheim), einem Primer (Roth, Karlsruhe), dNTPs (Roche Diagnostics, Mannheim), autoklaviertem H₂O_{bidest} und der Proben-DNA. Die Gehaltsangaben der einzelnen Reagenzien eines 25 µl-Reaktionsansatzes sind in Tab. 5 aufgeführt. Als Proben-DNA wurde eine Mischprobe, die sich aus gleichen Gewichtsanteilen DNA der einzelnen DNA-Proben (ermittelt wie unter Kapitel 3.5.3

beschrieben) einer Herkunft zusammensetzte, hergestellt. Bei allen RAPD-Reaktionen wurde eine Negativ-Kontrolle ohne Mischproben-DNA mitgeführt. Die Amplifikationsprodukte wurden bis zur gelelektrophoretischen Auftrennung bei -20 °C gelagert.

Tab. 4: Temperatur- und Zeitprofil der einzelnen Reaktionsschritte der RAPD-PCR

Reaktionsschritt	Temperatur [°C]	Zeit [min]
Initial-Denaturierung	94	2
45 Zyklen bestehend aus:		
-Denaturierung	94	1
-Hybridisierung	36	1
-Amplifikation	72	2
letzte Hybridisierung	36	1
letzte Amplifikation	72	5

Tab. 5: Bestandteile eines 25 µl-Reaktionsansatzes für die RAPD-PCR

Bestandteile	Volumen [µl]
10xPCR-Puffer	2,5
H ₂ O _{bidest}	18,35
dNTP (10 mM)	0,25
Taq-Polymerase (5 U)	0,4
Primer (30 ng/µl)	1
DNA-Mischprobe (12,5 ng/µl)	2,5

3.5.5 Eingesetzte Primer

Es wurden 40 Decamer-Primer (Primer Kit M und N; Roth, Karlsruhe) auf ihre Eignung zur Beschreibung der Diversität der *Galium*-Herkünfte untersucht. Die Basenabfolge der Primer und ihre GC-Gehalte sind in Tab. 6 aufgeführt.

Tab. 6: Sequenzen und GC-Gehalte der eingesetzten RAPD-Primer

Primer Kit M	GC-Gehalt [%]	Primer Kit M	GC-Gehalt [%]
1 GTTGGTGGCT	60	11 GTCCACTGTG	60
2 ACAACGCCTC	60	12 GGGACGTTGG	70
3 GGGGGATGAG	70	13 GGTGGTCAAG	60
4 GGCGGTTGTC	70	14 AGGGTCGTTC	60
5 GGGAACGTGT	60	15 GACCTACCAC	60
6 CTGGGCAACT	60	16 GTAACCAGCC	60
7 CCGTGACTION	60	17 TCAGTCCGGG	70
8 TCTGTTCCCC	60	18 CACCATCCGT	60
9 GTCTTGCGGA	60	19 CCTTCAGGCA	60
10 TCTGGCGCAC	70	20 AGGTCTTGGG	60

Primer Kit N	GC-Gehalt [%]	Primer Kit N	GC-Gehalt [%]
1 CTCACGTTGG	60	11 TCGCCGCAAA	60
2 ACCAGGGGCA	70	12 CACAGACACC	60
3 GGTACTCCCC	70	13 AGCGTCACTC	60
4 GACCGACCCA	70	14 TCGTGCGGGT	70
5 ACTGAACGCC	60	15 CAGCGACTGT	60
6 GAGACGCACA	60	16 AAGCGACCTG	60
7 CAGCCCAGAG	70	17 CATTGGGGAG	60
8 ACCTCAGCTC	60	18 GGTGAGGTCA	60
9 TGCCGGCTTG	70	19 GTCCGTACTION	60
10 ACAACTGGGG	60	20 GGTGCTCCGT	70

3.5.6 Auftrennung der Amplifikationsprodukte

Die Auftrennung der Amplifikationsprodukte erfolgte gelelektrophoretisch auf 1,5%igen Agarosegelen. 1,5 g Agarose wurde mit 100 ml 0,5xTBE-Puffer bei 100 °C kurz aufgeköcht, bis die Lösung sich aufklärte. Das Gel wurde bei einer Temperatur von 70 °C in einen Gelträger mit einem 20er Kamm gegossen. Die RAPD-Reaktionsprodukte wurden mit 6 µl Dye versetzt, 15 µl dieser Lösung auf das Agarosegel aufgetragen und in einer horizontalen Elektro-

phoresekammer in 0,5xTBE-Puffer bei 80 V in 4,5 h aufgetrennt. Zur Größenbestimmung der RAPD-Fragmente wurde auf jedem Gel eine 100 bp-Leiter mitgeführt. Im Anschluss wurde das Gel für 30 min in einer Ethidiumbromidlösung gefärbt, für weitere 30 min in H₂O_{dest} gewässert und unter UV-Licht visualisiert und dokumentiert (Gelaufnahme, SL Microtest GmbH, Jena).

3.5.7 Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

Die Gele, bei denen durch die eingesetzten Primer deutliche Unterschiede im Bandenmuster der Herkünfte detektiert werden konnten, wurden mit dem Programm GelCompar (Version 4.1, Applied Maths, Gent, Belgien) ausgewertet. Die ermittelten RAPD-Fragmente wurden zu einer binären Matrix codiert und die genetische Ähnlichkeit für alle paarweisen Vergleiche ermittelt. Die genetische Ähnlichkeit (GS) zwischen den Herkünften wurde nach der Formel von NEI und LI (1979), die auf der Formel von DICE (1945) basiert, berechnet. Um die ermittelten Ähnlichkeiten zwischen den Herkünften graphisch darzustellen, wurde eine Clusteranalyse nach dem UPGMA-Verfahren (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages, SNEATH und SOKAL 1973) vorgenommen.