

Aus dem Institut für Acker- und Pflanzenbau



**Untersuchungen zur Endophytbesiedelung von Gräserökotypen und zu
Symbioseeffekten durch *Neotyphodium lolii* in *Lolium perenne*-Genotypen
hinsichtlich Stresstoleranz und Ertragsmerkmale**

Der Landwirtschaftlichen Fakultät
der
Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg

als

Dissertation

Zur Erlangung des akademischen Grades
doctor agriculturarum (Dr. agr.)

vorgelegt von

Diplomagraringenieur
Uljana Hesse

geb. am 01. August 1973
in Halle/Saale

Gutachter: Prof. Dr. W. Schöberlein
Prof. Dr. W. Diepenbrock
Dr. PD. A. Leuchtmann

Verteidigung am: 29. April 2002

Halle/Saale 2002

urn:nbn:de:gbv:3-000003438

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000003438>]

Inhaltsverzeichnis

I	Abkürzungsverzeichnis	
1	Einleitung und Problemstellung	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Historischer Abriss	3
2.2	Taxonomie	4
2.3	Verbreitung der <i>Neotyphodium</i> -Endophyten	5
2.4	Wachstum und Entwicklung von <i>Neotyphodium</i> -Wirtsgräsern	8
2.5	Alkaloide und biotische Stresstoleranz	9
2.6	Die endophytinduzierte Trockenstresstoleranz	11
3	Material und Methoden	
3.1	Sammlung von Gräserökotypen und ihre Analyse hinsichtlich der <i>Neotyphodium</i> -Endophyten	14
3.2	Taxonomische Untersuchungen der endophytischen Pilze	14
3.3	Versuche zur Abtötung endophytischer Pilze	15
3.4	Feldversuch mit 14 <i>Lolium perenne</i> -Genotypen jeweils mit und ohne Endophyten	16
3.5	Stärkegelelektrophorese	18
3.6	Stressversuche in Gefäßen mit <i>Lolium perenne</i> -Genotypen jeweils mit und ohne Endophyten	19
3.6.1	Allgemeine Versuchsangaben	19
3.6.2	Stressversuch 1	20
3.6.3	Stressversuch 2	21
3.6.4	Stressversuch 3	22
3.6.5	Erfasste Parameter	23
3.7	Biometrische Auswertungsverfahren	24
3	Ergebnisse	
3.1	Sammlung von Gräserökotypen und ihre Analyse hinsichtlich der <i>Neotyphodium</i> -Endophyten	26
3.2	Taxonomische Zuordnung der endophytischen Pilze im Sammlungsmaterial	28
3.3	Abtötung endophytischer Pilze in Gräserökotypen	30

4.4	Feldversuch mit 14 <i>Lolium perenne</i> -Genotypen jeweils mit und ohne Endophyten	32
4.4.1	Pflanzenentwicklung	32
4.4.2	Morphologische Merkmale	33
4.4.3	Samenernte	33
4.4.4	Samenqualität	36
4.4.5	Einfluss des Endophyten auf den Samenertrag der Genotypen	37
4.4.6	Nachwuchsernte	38
4.4.7	Stärkegelelektrophorese	40
4.4.8	Zusammenfassung	41
4.5	Gefäßversuche mit <i>Lolium perenne</i> -Genotypen jeweils mit und ohne Endophyten	43
4.5.1	Stressversuch 1	43
4.5.1.1	Genotyp B	43
4.5.1.2	Genotyp M	50
4.5.1.3	Zusammenfassung und Vergleich mit den Ergebnissen im Feldversuch	55
4.5.2	Stressversuch 2	57
4.5.2.1	Genotyp F	57
4.5.2.2	Genotyp J	62
4.5.2.3	Genotyp L	66
4.5.2.4	Zusammenfassung und Vergleich mit den Ergebnissen im Feldversuch	70
4.5.3	Stressversuch 3	72
4.5.3.1	Genotyp A	72
4.5.3.2	Genotyp E	75
4.5.3.3	Zusammenfassung und Vergleich mit den Ergebnissen im Feldversuch	78
5	Diskussion	79
6	Zusammenfassung	87
7	Literaturverzeichnis	89
	Anhang	
	Zusammenfassung (deutsch)	
	Zusammenfassung (englisch)	
	Lebenslauf	
	Danksagung	
	Erklärung	

I Verzeichnis der verwendeten, nicht immer gebräuchlichen Abkürzungen

α	Wahrscheinlichkeit für Fehler 1. Art
A	Anhang
ACP	Saure Phosphatase (acid phosphatase)
B	Bestimmtheitsmaß
BB	Blattbreite
BFL_w	Wahre Blattfläche
BL	Blattlänge
DC	Dezimalcode
EB	Endophytbesiedelt
EF	Endophytfrei
GD	Grenzdifferenz
Gen. Trieb	Generativer Trieb
H	Hypothese
K	Kontingenzkoeffizient
KF	Keimfähigkeit
KV	Kontrollvariante
MTT	3-(4,5-dimethyldiazol-diphenyl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
n	Wiederholungen
NADP	Nikotinamid-adenin-dinukleotidphosphat
PDA	Kartoffel-Dextrose-Agar (potato-dextrose-agar)
PGI	Phosphoglucoisomerase
PMS	Phenazinmethosulphat
Q	Quotient
RDE	Relative Differenz zwischen den Endophytvarianten
RDT	Relative Differenz der Trockenstressvariante zur Kontrollvariante
RDÜ	Relative Differenz der Überflutungsvariante zur Kontrollvariante
s_R	Reststandardabweichung
SV	Stressvariante
TKM	Tausendkornmasse
TV	Trockenstressvariante
ÜV	Überflutungsvariante
Veg. Trieb	Vegetativer Trieb
WK	Wasserkapazität
\bar{x}	arithmetisches Mittel

1 Einleitung und Problemstellung

Bei den Zuchtsorten der mehrjährigen Nutzgräser zählt die Persistenz neben der Ertragsleistung, der Qualität und den Resistenzen zu den bedeutsamen Sorteneigenschaften. Unter ungünstigen Standortbedingungen und für Aussaaten zur Rasennutzung spielt die Ausdauer der Pflanzen eine dominierende Rolle. In dieser Hinsicht erlangen bei den *Festuca*-Arten und *Lolium perenne* die Nutzungsmöglichkeiten einer mutualistischen Symbiose zwischen den Graspflanzen als Wirt und den endophytisch lebenden Pilzen der Gattung *Neotyphodium* auch in Europa zunehmendes Interesse.

Die *Neotyphodium*-Endophyten wachsen symptomlos in den Sprosssteilen der Pflanzen, werden von ihr mit Nährstoffen versorgt und durch die Samen verbreitet. Ihrerseits können sie einen positiven Einfluss auf die vegetative und generative Entwicklung sowie die Nachwuchsfähigkeit der Gräser haben, was häufig auf eine endophytbedingt erhöhte Toleranz der Wirtspflanzen gegen biotische und abiotische Stressfaktoren zurückzuführen ist. Unter anderem induzieren die Pilze in ihren Wirtsgräsern die Synthese verschiedener Alkaloide, welche für Säugetiere und/oder für Insekten schädlich sind. Das führt einerseits zu einer erhöhten biotischen Stresstoleranz der Pflanzen, hat aber andererseits in wärmeren Klimaregionen (USA und Neuseeland) aufgrund der temperaturbedingt hohen Alkaloidkonzentrationen Weidetiertoxikosen zur Folge. Letzteres kann durch die Selektion von Pilzstämmen mit ausschließlich insektizider Wirkung vermieden werden. Umfangreiche Versuche mit Sorten und Genotypen von *Festuca arundinacea* belegen den positiven Einfluss der Endophyten auf die Trockenstresstoleranz des Rohrschwingels. Diese Eigenschaften steigern die Wettbewerbsfähigkeit endophytbesiedelter Gräser insbesondere auf Standorten mit ungünstigen Wachstumsbedingungen.

Für *Lolium perenne* konnte nachgewiesen werden, dass endophytbesiedelte Pflanzen in trockenen Lagen häufiger zu finden sind als in feuchten. Das kann sowohl mit positiven Endophyteneffekten auf die Samenproduktion bzw. die Samenqualität zusammenhängen, aber auch auf eine endophytinduzierte Trockenstresstoleranz zurückzuführen sein. Zu den Symbioseeffekten zwischen *Neotyphodium lolii* und *Lolium perenne* liegen bisher nur wenige Untersuchungen mit zum Teil widersprüchlichen Ergebnissen vor. Sortenversuche ergaben, dass Endophytenpräsenz in trockenen Gebieten von Vorteil sein kann, wobei jedoch der Endophyteneffekt auf den Ertrag in Abhängigkeit vom Versuchsjahr erheblichen Schwankungen unterliegt. Da *Lolium perenne*-Sorten stets ein Genotypengemisch darstellen und bisherige Untersuchungen belegen, dass die Endophyteneffekte in Abhängigkeit von der jeweiligen Pilz-Wirt-Kombination variieren können, sind Versuche mit einer möglichst großen Anzahl von Pilz- und Pflanzengenotypen erforderlich.

Die im Rahmen der vorliegende Arbeit durchgeführten Untersuchungen konzentrierten sich auf folgende Fragen:

1. Gibt es ein unterschiedlich häufiges Vorkommen von endophytbesiedelten Graspflanzen der wirtschaftlich wichtigen Arten *Lolium perenne*, *Festuca pratensis*, *Festuca arundinacea*, *Festuca rubra* und *Festuca ovina* in Abhängigkeit von den Standortbedingungen?
2. Welchen Einfluss hat der Endophyt auf das Wachstum, die Entwicklung und die Stresstoleranz von einzelnen *Lolium perenne*-Genotypen unter Berücksichtigung der Herkunft der gesammelten Pflanzen?

Zugleich werden Ergebnisse methodischer Untersuchungen zur Erzeugung von genetisch identischem endophytfreien Pflanzenmaterial aus endophytbesiedelten *Festuca* sp. und *Lolium perenne*-Genotypen mitgeteilt.

Die Ergebnisse der Dissertation insgesamt sollen zum Kenntnisgewinn bezüglich der Verbreitung endophytischer Pilze auf unterschiedlichen Standorten unserer Klimaregion und zu den möglichen Ursachen unterschiedlicher Versuchsergebnisse mit *Lolium perenne*-Saatgut sowie zu den Nutzungsmöglichkeiten des Endophyten *Neotyphodium lolii* in *Lolium perenne*-Sorten beitragen.

2 Literaturübersicht

Endophyten sind Organismen, welche ihren gesamten Lebenszyklus oder zumindest einen bedeutsamen Teil (Latenz- bzw. Inkubationsperiode) symptomlos im lebenden Pflanzengewebe verbringen (PETRINI, 1991). Zahlreiche Pilze und Bakterien leben als Endophyten, wobei die Auswirkungen für die Wirtspflanzen in vielen Fällen nicht aufgeklärt sind. Die nachstehenden Ausführungen beziehen sich vornehmlich auf die endophytischen Pilze der Gattung *Neotyphodium*, die in mehrjährigen Gräsern vorkommen und ihren gesamten Lebenszyklus in der Wirtspflanze vollenden.

2.1 Historischer Abriss

Bereits 1898 wies VOGL auf das Vorkommen einer ‚eigentümlichen Pilzschicht‘ zwischen dem Endosperm und der Aleuronschicht in Spelzfrüchten von *Lolium temulentum* hin. Da er in den Karyopsen anderer, ungiftiger *Lolium*-Arten nichts Vergleichbares beobachtet hatte, glaubte er, in dem Pilz die Ursache für die Toxizität des Taumellolches gefunden zu haben. Die Untersuchungen von NESTLER (1898) an *L. temulentum* zeigten, dass der Pilz interzellulär in den Sprosssteilen wächst und ausschließlich über die Samen übertragen wird. NEUBAUER (1902) berichtete von analogen Hyphengeflechten in einigen wenigen Spelzfrüchten von *L. perenne* und nahm an, dass die mit dem Pilz behafteten Exemplare giftig und die pilzfreien ungiftig sein müssten. Diese Vermutung blieb jedoch unbewiesen und fand, wie auch weitere Mitteilungen zum Vorkommen endophytischer Pilze in *Lolium perenne* und *Festuca* sp. (FREEMAN, 1903; SAMPSON, 1933; NEILL, 1940), kaum Beachtung.

Die Erforschung dieser Endophyten erfuhr erst Auftrieb, nachdem infolge des zwischen 1960 und 1970 expandierten Anbaus der Rohrschwingelsorte ‚Kentucky 31‘ in den USA die Weidetierkrankung ‚*Festuca*-Toxikose‘ zunehmend auftrat und zu wirtschaftlichen Verlusten führte (DANIELS, 1989). Die Symptome dieser Krankheit erinnerten an die der Ergot-Toxikose, verursacht durch Pilze der Gattung *Claviceps* (Gangränen der Extremitäten, erhöhte Körpertemperatur und Respiration, Geburtsprobleme), wobei jedoch dieser Pilz nicht gefunden wurde. 1977 stellten BACON et al. fest, dass das Auftreten der Toxikose mit dem Vorkommen eines endophytisch lebenden Pilzes in enger Beziehung steht. Diesen klassifizierte er als *Sphacelia typhina*. Wenig später wurde in Neuseeland der Zusammenhang zwischen ‚ryegrass staggers‘ – einer neurologischen Störung bei Schafen – und endophytischen Pilzen in *Lolium perenne* nachgewiesen (FLETCHER and HARVEY, 1981).

In Versuchen, das Problem durch den Anbau endophytfreier Gräser zu lösen, zeigte sich jedoch, dass die endophytfreien Sorten gegen Insekten und Dürre anfällig und von geringerer Ausdauer waren (PRESTIDGE et al., 1982; READ and CAMP, 1986). Vertiefte Untersuchungen führten zur Erkenntnis, dass zwischen dem Endophyten und der Wirtspflanze das Phänomen einer facettenreichen Symbiose vorliegt (SIEGEL et al., 1987).

2.2 Taxonomie

Aufgrund seiner morphologischen Merkmale (Kolonieeigenschaften, Form der Konidienträger und Konidien) wurde der Endophyt des Rohrschwingels zunächst für *Sphacelia typhina*, den Anamorph des Erstickungsschimmels *Epichloë typhina*¹, gehalten. Seine Unfähigkeit, das teleomorphe Stadium zu bilden, wies jedoch auf eine taxonomische Eigenständigkeit hin. 1982 erfolgte die Einordnung des Pilzes in die Gattung *Acremonium*, Sektion *Albo-Lanosa* (MORGAN-JOHNES & GAMS), in welche auch die symptomlosen Endophyten anderer Grasarten sowie der Anamorph von *Epichloë* sp. gelangten. Untersuchungen zeigten, dass die asexuellen Endophyten entweder von *Epichloë* sp. abstammen, welche im Laufe ihrer Koevolution mit den Graswirten das sexuelle Stadium verloren hatten, oder durch interspezifische Hybridisierung mit *Epichloë* sp. entstanden sind (WHITE, 1988; SCHARDL et al., 1994; MOON et al., 2000). Unter Anwendung molekularbiologischer Methoden bewiesen GLENN et al. 1996, dass sich die Pilze der Sektion *Albo-Lanosa* von denen der anderen *Acremonium*-Sektionen phylogenetisch unterscheiden. Die neue Gattung, welche die *Epichloë*-Anamorphen und ihre asexuellen Verwandten umfasst, erhielt die Bezeichnung „*Neotyphodium* (GLENN, BACON & HANLIN)“.

Für die vorliegende Arbeit sind die Endophyten von *Lolium perenne* (*Neotyphodium lolii*), *Festuca pratensis* (*Neotyphodium uncinatum*), *Festuca arundinacea* (*Neotyphodium*

¹ *Epichloë typhina* ist ein weit verbreiteter, wirtschaftlich jedoch unbedeutender Krankheitserreger bei Gräsern (MÜHLE, 1971). Gelangen Ascosporen des Pilzes auf Blüten von Graspflanzen, können sie den sich entwickelnden Samen infizieren. Bei dessen Keimung wachsen die Hyphen in die Blattscheiden der Blätter und später auch in die generativen Triebe. Zur Zeit des Schossens bildet der Pilz um den Fruchtstand ein weißes Myzelstroma und erstickt diesen. Auf dem Stroma entwickeln sich mitotische Sporen, welche durch weibliche Fliegen der Gattung *Botanophila* auf Stromata anderer Pflanzen übertragen werden. Treffen Sporen verschiedener Geschlechtstypen aufeinander, erfolgt nach der Karyogamie und der Meiose die Bildung von Perithezien, in welchen die infektiösen Ascosporen entstehen. *E. typhina* ist ein Antagonist, welcher die Fruchtstände der Wirtspflanze befällt und deren generative Entwicklung vollständig unterbindet (SCHARDL et al., 1997).

Die Beobachtung, dass bei mehreren Grasarten das Stroma von *Epichloë* nur bei wenigen generativen Trieben auftritt, weist auf eine pleiotrope Beziehung (sowohl positive als auch negative Effekte) zwischen diesen Pilz- und Wirtsarten hin. Derzeit unterliegt die Pilzgattung einer Neustrukturierung unter Berücksichtigung der Wirtsart (LEUCHTMANN and CLAY, 1993; SCHARDL and WILKINSON, 2000).

coenophialum) und der feinblättrigen Schwingelarten *Festuca rubra* und *Festuca ovina* (*Neotyphodium festucae*) von Bedeutung. Auf Kartoffel-Dextrose-Agar bilden diese Pilze relativ langsam wachsende, weiße bis gelbliche Kulturen und auf einzelnen, einzelligen, unverzweigten Konidienträgern jeweils eine einzellige, hyaline Konidie, die in Abhängigkeit von der Pilzart rund (*N. festucae*), oval bis nierenförmig (*N. coenophialum*, *N. lolii*) oder oval bis sichelförmig (*N. uncinatum*) ist. In der Pflanze besiedeln die *Neotyphodium*-Endophyten die Interzellularräume der Blattscheiden und Halme und bilden dort kaum verzweigte, langgestreckte, manchmal darmartig gekrümmte Myzelstränge. Bisher wurden lediglich bei *F. arundinacea* Pilzhyphen in den Blattspreiten (CHRISTENSEN et al., 1998), im Internodium (COOK, 1987) und in den Wurzeln von Keimpflanzen (AZEVEDO and WELTY, 1995) gefunden. Von außen unsichtbar, wachsen die Pilze bei der Keimung einer besiedelten Spelzfrucht in die Keimpflanze und dann mit fortschreitendem Wachstum der Pflanze bis in die Fruchtstände, von wo aus sie wiederum in die Samenanlagen gelangen. Die ausschließliche *Neotyphodium*-Übertragung durch Samen wird jedoch jüngst angezweifelt, nachdem MOY et al. (2000) sowie WHITE et al. (2000) auf Blattspreiten von *Festuca* sp. Hyphennetze von *Neotyphodium typhina* nachgewiesen haben.

In *Lolium perenne* und *Festuca pratensis* können auch andere endophytische Pilze, die den Gattungen *Gliocladium* und *Phialophora* zugeordnet sind, vorkommen (LATCH et al., 1984; SCHMIDT, 1991). Sie unterscheiden sich jedoch von *Neotyphodium* in ihren Eigenschaften und sollen hier nicht näher betrachtet werden.

2.3 Verbreitung der *Neotyphodium*-Endophyten

Epichloë und dessen Anamorphen besiedeln ein breites Wirtsspektrum, vornehmlich Arten der *Poaceae* (LEUCHTMANN, 1992). Die asexuellen *Neotyphodium*-Endophyten hingegen sind wirtsspezifisch¹, lassen sich durch künstliche Inokulation nur schwer auf andere Grasarten übertragen und bilden dort nicht immer lebensfähige Beziehungen (KOGA et al., 1993 a/b; CHRISTENSEN et al., 1997). Derzeit sind solche Pilze in einzelnen Arten der Gattungen *Lolium*, *Bromus*, *Dactylis*, *Festuca*, *Stipa*, *Phleum*, *Poa*, *Achnatherum*, *Echinopogon* und *Melica* bekannt (LATCH et al., 1984; MORGAN-JONES and GAMS, 1982; WHITE and MORGAN-JONES, 1987 a/b; WHITE et al., 1987; GAMS et al. 1990; MORGAN-JONES et al., 1990; LEUCHTMANN et al., 1994; MOON et al., 2000). Zahlreiche Berichte von ähnlichen Endophyten in anderen Gras- (WHITE and COLE, 1986;

¹ Ausnahmen: *N. starrii* (WHITE and MORGAN-JONES, 1987b) und *N. tembladarae* (CABRAL et al., 2000)

NELSON et al., 1993; NAN and LI, 2000; SAIKKONEN et al., 2000) und Wildgetreidearten (MARSHALL et al., 1999; CLEMENT et al., 1997; NAN and LI, 2000) lassen jedoch vermuten, dass auch die asexuellen *Neotyphodium*-Arten eine größere Anzahl von Wirtsarten besiedeln können als bisher angenommen wurde.

Die *Neotyphodium*-Endophyten sind weltweit verbreitet. Etwa 90 % der Rohrschwingelweiden in den USA und Canada (35 Mio. ha) enthalten mit *N. coenophialum* besiedelte Pflanzen zu Anteilen von 50-100 % (BACON and SIEGEL, 1988). Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten auch SHELBY und DALRYMPLE (1987), VANSANTEN und COLLINS (1991), HOLDER et al. (1994) sowie SIEGEL et al. (1995). Diese Befunde in den USA sind durch den weit verbreiteten Anbau der hochgradig endophytbesiedelten Sorte ‚Kentucky 31‘ begründet. Versuche zeigten weiterhin, dass mit fortschreitendem Alter eines Grasbestandes der Anteil besiedelter Pflanzen ansteigt (HILL et al., 1998). Dagegen scheinen die Ökotypen der feinblättrigen Schwingelarten in Nordamerika nur selten Wirtspflanzen von *Neotyphodium* zu sein. SAHA et al. (1987) fanden nur in 3 % der untersuchten *Festuca rubra* und *F. ovina*-Pflanzen endophytische Pilze vor.

CABRAL et al. (2000) prüften natürliche Graslandstandorte unterschiedlicher Klimaregionen in Südamerika (Argentinien und dessen Nachbarstaaten). Insgesamt 33 Grasarten beherbergten *Neotyphodium*-Endophyten, drei davon die endemische Art *N. tembladarae*. Sie beobachteten außerdem, dass die endophytbesiedelten Pflanzen in trockenen und in alpinen Gebieten vermehrt auftreten.

In Neuseeland führte die Entdeckung von *Neotyphodium lolii* als Ursache für „ryegrass-staggers“ zu landesweiten Untersuchungen der fast ausschließlich aus *Lolium perenne* bestehenden Weiden. Es zeigte sich, dass die Pflanzen zumeist endophytbesiedelt sind (LATCH and CHRISTENSEN, 1982) und ihr Anteil auf älteren Grünlandstandorten in der Regel höher ist als auf jüngeren Weiden (THOM et al., 1999). Endophytfreie Populationen wurden vornehmlich auf der kühleren Südinsel vorgefunden (WIDDUP and RYAN, 1992). Untersuchungen ergaben weiterhin ein häufiges Endophytvorkommen in den zwei führenden *L. perenne*-Sorten Nui und Ellett (LATCH, 1983).

Auch in Australien wuchs aufgrund des häufigen Auftretens von Weidetiertoxikosen die Aufmerksamkeit für Endophyten in Gräsern. Es zeigte sich, dass die meisten geprüften Weiden fast ausschließlich *N. lolii*-besiedelte *Lolium perenne* Pflanzen beherbergen (GUY, 1992; REED et al., 2000). Die Futtersorten des Rohrschwingels erwiesen sich als endophytfrei, während die Rasensorten dieser Grasart häufig *N. coenophialum* enthalten (WHEATLEY, 2000).

In China wurde eine endemische *Neotyphodium*-Art in *Achnatherum inebrians* gefunden und als *Neotyphodium inebrians* bezeichnet (MOON et al., 2000). Umfangreiche Untersuchungen von NAN und LI (2000) weisen darauf hin, dass auch andere in China einheimische Grasarten *Neotyphodium*-Endophyten beherbergen.

In Europa blieben die Endophyten der Gräser aufgrund der seltenen Fälle von Weidetiertoxikosen lange Zeit unbeachtet. „Ryegrass-staggers“ wurde bisher nur in England (LEWIS, 1993) und in den Niederlanden (VANESSEN et al., 1995; FINK-GREMMELS and BULL, 2000) registriert. LEBARS und LEBARS (1996) beobachteten vereinzelte Fälle von *Festuca*-Toxikose bei Pferden in Frankreich. Allerdings wurde in Fütterungs- und Weideversuchen nachgewiesen, dass auch unter europäischen Bedingungen bei Verfütterung von endophyhaltigem Gras subklinische Effekte wie geringere Futteraufnahmen und verringerte Gewichtszunahmen auftreten können (EMILE et al., 1997; OLDENBURG, 1997 a und b). Untersuchungen zum Vorkommen von *Neotyphodium*-Endophyten erwiesen, dass natürliche Graslandstandorte Europas häufig endophytbesiedelte Pflanzen enthalten.

Zahlreiche Berichte belegen die weite Verbreitung von *N. lolii*-besiedelten *Lolium perenne* Ökotypen in Europa. So erwiesen sich in Deutschland 87 % (OLDENBURG, 1994), in England 61 % (TYLER et al., 1981), in Frankreich 74 % (CHARMET et al., 1990), in Italien 58 % (BALFOURIER and CHARMET, 1991) und in Spanien 50 % (OLIVEIRA et al., 1997) der untersuchten Wildpopulationen als endophytbesiedelt. Der Anteil der endophytbesiedelten Pflanzen war jedoch auf den meisten Standorten nur gering (unter 50 %). Allerdings konnte mit fortschreitendem Alter der Weiden (LEWIS and CLEMENTS, 1986) und auch in trockenen Regionen ein häufigeres Vorkommen von *N. lolii* in *L. perenne*-Ökotypen festgestellt werden (RAVEL et al., 1997; CAGAŠ et al., 1999). Im Gegensatz dazu erwiesen sich die europäischen Sorten dieser Grasart weitgehend als endophytfrei (LATCH et al., 1987; DAPPRICH, 1996).

Auch *Festuca*-Ökotypen sind häufig Wirtspflanzen von *Neotyphodium*-Endophyten. Die Untersuchungen von Samenakzessionen ergaben, dass fast alle in Finnland (SAIKKONEN et al., 2000) und Spanien (OLIVEIRA and CASTRO, 1997) geprüften Rohrschwengelstandorte endophytbesiedelte Pflanzen dieser Grasart enthielten. GUILLAUMIN et al. (2000) fanden in 12 von 19 *F. arundinacea*-Ökotypen *N. coenophialum* vor. Die Analyse von Rohrschwengelsorten auf Endophytpresenz führte dagegen zu unterschiedlichen Resultaten. So konnten CAGAŠ (1991) in 70 %, PFANNMÖLLER et al. (1994) dagegen nur in 12 % der geprüften Saatgutproben Endophyten feststellen.

Ähnliche Ergebnisse bezüglich der Verbreitung endophytbesiedelter Ökotypen liegen für *F. pratensis* vor (WÄLI et al., 2000). Erhebungen von SCHMIDT (1991) in der Schweiz ergaben, dass von 63 Wiesenschwingelökotypen 43 endophytbesiedelt waren, davon allerdings nur 22 *Neotyphodium uncinatum* enthielten. Die anderen Endophyten wurden der Gattung *Phialophora* zugeordnet (SCHMIDT, 1994). Untersuchungen zum Vorkommen von *N. uncinatum* in europäischen Sorten dieser Grasart erwiesen in 31 % der geprüften Saatgutproben endophytische Pilze (MIKA and BUMERL, 1991). Dem entsprechen die Befunde von EGGESTEIN (1997), welcher in 10 von 28 Wiesenschwingelsorten *N. uncinatum* fand. Hierbei wurde jedoch festgestellt, dass der Befallsgrad der einzelnen Saatgutpartien einer Sorte in Abhängigkeit von der Lagerung, dem Erntejahr und dem Vermehrungsstandort erheblich variieren kann.

2.4 Wachstum und Entwicklung von *Neotyphodium*-Wirtsgräsern

Zahlreiche Versuche zeigten, dass *Neotyphodium*-Endophyten das Wachstum und die Entwicklung ihrer Wirtspflanzen beeinflussen können.

CLAY et al. (1987) stellten in Keimprüfungen mit endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Karyopsen von *L. perenne*- und *F. arundinacea* bei den jeweils EB Varianten eine höhere Keimfähigkeit fest. In Keimversuchen mit *L. perenne* beobachtete PFANNMÖLLER (pers. Mitt. 1999), dass die EB Varianten nur in unsteriler Erde, nicht jedoch in sterilisierter im Vorteil waren, was auf Abwehrmechanismen gegen bodenbürtige Mikroorganismen hinweist. Nach PINKERTON et al. (1990) ist der Endophyteeffekt auf die Keimfähigkeit vom Genotyp der Pflanze abhängig. Auf mehreren Versuchsstandorten ergaben sich deutliche Unterschiede zugunsten der EB Varianten verschiedener *Festuca pratensis*-Sorten für den Feldaufgang (EGGESTEIN, 1997). JOOST (1995) beobachtete auf Parzellen von EB Rohrschwingelpopulationen eine dichtere Bodenbedeckung als auf EF Parzellen. Gewächshaus- und Freilandversuche, in welchen die Bedingungen für die Pflanzenentwicklung möglichst optimal gestaltet wurden, ergaben positive Endophyteeffekte auf die Anzahl vegetativer Triebe und die Biomasseproduktion bei *Lolium perenne* und *Festuca arundinacea* (LATCH et al., 1985; CLAY, 1987; DE BATTISTA et al., 1990a). Parzellenversuche mit Rohr- und Wiesenschwingelsorten bzw. Pflanzen dieser Grasarten zeigten, dass auch der Samenertrag der Pflanzen in Abhängigkeit von der Sorte, dem Standort und dem Versuchsjahr durch die Endophytpräsenz erhöht werden kann (BUMERL und MIKA, 1991; RICE et al., 1994; EGGESTEIN, 1997).

Endophytbesiedelung führt jedoch nicht immer zu einem verbesserten Pflanzenwachstum. So traten in den oben beschriebenen Versuchen nicht zu allen Ernteterminen signifikante Endophyteeffekte auf. Bei ausreichender Wasserversorgung ergaben weitere Feldversuche keine endophytbedingten Unterschiede im Pflanzenwachstum von *F. arundinacea* (WEST et al., 1989; BOUTON et al., 1993) und *Lolium perenne* (HUME et al., 1993; THOM et al., 1999). KEOGH und LAWRENCE (1987) berichteten sogar von einem endophytbedingt geringerem Wachstum bei *L. perenne* Jungpflanzen (zitiert bei EASTON, 1993). Auch in den Versuchen von EGGESTEIN (1997) ergaben sich auf 2 von insgesamt 10 Standorten zum Teil negative Endophyteeffekte auf den Feldaufgang und die Trockenmasseerträge der geprüften Wiesenschwingelsorten.

Vertiefte Untersuchungen bewiesen, dass die *Neotyphodium*-Endophyten die Stresstoleranz ihrer Wirtspflanzen beeinflussen und positive Endophyteeffekte häufig erst bei biotischem oder abiotischem Stress auftreten.

2.5 Alkaloide und biotische Stresstoleranz

Wie bereits angesprochen wurde, können die *Neotyphodium*-Endophyten in ihren Wirtspflanzen die Synthese von Alkaloiden induzieren, was besonders in wärmeren Klimaregionen mit gesundheitlichen und leistungsmindernden Problemen bei Weidetieren verbunden ist. Andererseits führt die Alkaloidproduktion bei den Wirtspflanzen zu einer biotischen Stresstoleranz und dadurch zu einer verbesserten Ausdauer der Pflanzen.

Als kausale Wirkstoffgruppe für die *Festuca*-Toxikose erwiesen sich Ergotalkaloide, speziell das Ergovalin (YATES et al., 1985; LYONS et al., 1986; PORTER et al., 1987; GARNER et al., 1993). Diese werden von den *Neotyphodium*-Endophyten in Symbiose mit Rohrschwingel, aber auch mit Wiesenschwingel (CAGAŠ et al., 1999), feinblättrigen Schwingelarten (YUE et al., 1997) und *Lolium perenne* (SIEGEL et al., 1990) produziert. Die höchsten Konzentrationen treten in den basalen Sprosssteilen sowie in heranwachsenden Fruchtständen auf (AGEE and HILL, 1994; HIATT and HILL, 1997; LANE et al., 1997). Hohe Stickstoffgaben, erhöhte Temperaturen und Trockenheit bewirken eine Zunahme (ARACHEVALETA et al., 1992; LANE et al., 1997).

Die Symptome von „ryegrass-staggers“ (neuromuskuläre Inkoordination, Hypersensitivität) deuten auf die Anwesenheit eines termogenen Neurotoxins in endophytbesiedelten *Lolium perenne*-Pflanzen hin (ROWAN, 1993). GALLAGHER et al. (1984) gelang der Nachweis von Lolitrem B als ursächlichen Wirkstoff der Krankheit. Dieses Alkaloid wird vor allem in den basalen Sprosssteilen sowie in adulten und abgestorbenen Blättern akkumuliert, kann aber

auch in den Wurzeln von *Lolium perenne* vorkommen (GALLAGHER et al., 1987; KEOGH et al., 1991; DAPPRICH et al., 1996). Die Konzentration variiert in Abhängigkeit von der Jahreszeit und ist im Spätsommer bis Herbstbeginn am höchsten (BALL et al., 1995).

Pyrrrolizidinalkaloide, insbesondere N-acetylloin und N-formylloin, werden in endophytbesiedelten *Festuca arundinacea*- und *F. pratensis*-Pflanzen (SIEGEL et al., 1990; EGGESTEIN, 1997; JUSTUS et al., 1997) sowie in *Lolium perenne* (HUIZING et al., 1991) gebildet. Auch diese Alkaloide können toxische Effekte auf Säugetiere haben (BUSH et al., 1993). Die höchsten Konzentrationen treten in den Fruchtständen, in den Spelzfrüchten und in den Pseudostengeln¹ auf (BURHAN, 1984). Durch einwirkenden Trockenstress (KENNEDY and BUSH, 1983; BELESKY et al., 1989), hohe Temperaturen (HUIZING et al., 1991) und bei erhöhtem Phosphorangebot (GUGLIELMONE et al., 1981 - zitiert bei BUSH, 1993) wird die Alkaloidproduktion gefördert.

Während die endophytinduzierte Bildung der bisher aufgeführten Alkaloide für die Tierproduktion von Nachteil ist, bietet sie andererseits den Wirtspflanzen einen Schutz vor pflanzenfressenden Säugetieren (HOVELAND, 1993). Zur Entdeckung der endophytinduzierten Insektenresistenz führte die Beobachtung von PRESTIDGE et al. (1982), dass endophytfreie *L. perenne*-Pflanzen anfällig sind gegen ein in Neuseeland weit verbreitetes Insekt - den Argentinischen Stengelrüssler (*Listronotus bonariensis*). Mittlerweile sind 20 Insektenarten bekannt, welche durch eine *Neotyphodium*-Besiedelung der Wirtsgräser abgeschreckt oder in ihrer Entwicklung gehemmt werden (LATCH, 1993). In Europa wurde bisher über eine abschreckende Wirkung auf Blatt- und Wurzelläuse (SCHMIDT, 1991; EGGESTEIN, 1997) berichtet, während die Fritfliege (*Oscinella frit*) unbeeinflusst blieb (LEWIS and CLEMENTS, 1986). Es konnte nachgewiesen werden, dass die insektizide Wirkung der Pilze vornehmlich auf der endophytinduzierten Peraminsynthese in den Wirtspflanzen beruht (MORTIMER and DI MENNA, 1983, ROWAN et al., 1986). Dieses Alkaloid ist von besonderem Interesse, da es für Weidetiere nicht toxisch ist und von vielen *Neotyphodium*-Arten (u.a. *N. lolii*, *N. coenophialum*, *N. uncinatum* und einigen *Epichloë*-Arten) produziert wird (SIEGEL et al., 1990). Untersuchungen von BALL et al. (1995) zeigten, dass der Peramingehalt in den Sommer- und Herbstmonaten am höchsten ist. Über die Verteilung dieses Alkaloides innerhalb der Pflanze liegen jedoch widersprüchliche Resultate vor (TAPPER et al., 1989; FANNIN et al., 1990). Auch für die Ergopeptin- und Paxillin-Indolalkaloide wurde eine insektizide Wirkung nachgewiesen (DYMOCK et al., 1989).

¹ Die ineinander liegenden Blattscheiden der Gräser bilden einen halmähnlichen Pflanzenteil, welcher als Pseudostengel bezeichnet wird (Anonym, 1988).

Nicht völlig klar sind die Ursachen für die beobachtete Nematodenresistenz, welche vornehmlich bei endophytbesiedeltem Rohrschwengel in Erscheinung tritt (PEDERSEN et al., 1988; WEST et al., 1988, 1989; KIMMONS et al., 1990; KIRKPATRICK et al., 1990). GWINN und BERNARD (1993) stellten sowohl eine reduzierte Attraktivität als auch eine verminderte Vermehrung der Nematoden in den EB Varianten fest, was auf hemmende Wurzelsubstanzen bzw. -ausscheidungen schließen lässt. Weiterhin fanden sie, dass bei den EB *F. arundinacea*-Pflanzen die Wurzelzellwände wesentlich dicker waren als bei den EF Kontrollen. Auch bei *F. pratensis* wurden in Feldversuchen auf unterschiedlichen Standorten deutliche Endophyteeffekte auf die Populationsdichte freilebender (parasitärer) Bodennematoden festgestellt. In den EB Varianten kamen signifikant weniger Bodennematoden vor als in den EF Varianten (SCHÖBERLEIN et al., 1998).

2.6 Die endophytinduzierte Trockenstresstoleranz

Der Einfluss der *Neotyphodium*-Endophyten auf die Trockenstresstoleranz wurde bisher fast ausschließlich an Rohrschwengel untersucht, da diese Grasart in den USA wirtschaftlich von größter Bedeutung ist und Endophytpresenz hier eine Voraussetzung für die Ausdauer der Sorten in den meist trockenen Anbaugebieten darstellt. Die folgenden Ausführungen beziehen sich deshalb zunächst auf die Symbiose zwischen *N. coenophialum* und *F. arundinacea*.

Die endophytinduzierte Trockenstresstoleranz wurde erstmals von READ und CAMP (1986) eingehend beschrieben. Sie berichteten, dass EB Rohrschwengelpflanzen bei langanhaltender Trockenheit eine wesentlich bessere Ausdauer und ein stärkeres Nachwuchsvermögen aufweisen als die EF Pflanzen. Auch die Untersuchungen von WEST et al. (1993) ergaben in einem Feldversuch, dass bei Trockenstress die Sprossanzahl der EB Pflanzen in geringerem Umfang reduziert war als bei den EF. Nach Wiederbefeuchtung erlangten die Pflanzen der EB Parzellen die gleiche Sprossdichte wie die normalbewässerte Variante, während die EF Pflanzen nur 62 % davon erreichten. In weiteren Untersuchungen konnten diese Befunde bestätigt werden (WEST et al., 1988; BOUTON et al., 1993; JOOST, 1995). Versuche mit genetisch identischem Pflanzenmaterial und verschiedenen Pilzstämmen ergaben jedoch, dass diese Endophyteeffekte nicht bei allen Pilz-Wirt-Kombination signifikant sind und sowohl der Pflanzen- als auch der Pilzgenotyp einen Einfluss haben (BELESKY et al. 1989; HILL et al., 1990; HILL et al., 1996; ELBERSEN and WEST, 1996).

Laut LEVITT et al. (1980) können die Pflanzen bezüglich ihrer Trockenresistenzmechanismen in folgende Kategorien eingestuft werden:

- Flucht: schnelle Vollendung des Lebenszykluses während der wasserreichen Phase
- Vermeidung: Erhaltung eines hohen Blattwasserpotentials während der Trockenphase
 - 1) Reduktion der Evapotranspiration durch Reduktion der Blattfläche bzw. Verringerung der Stomata-, Kutikula- oder Blattleitfähigkeit
 - 2) bessere Wasseraufnahme durch die Ausbildung eines stärkeren Wurzelsystems bzw. eine bessere Leitfähigkeit der Wurzel
- Toleranz: Erhaltung eines höheren Turgordruckes bei geringem Blattwasserpotential
 - 1) durch Osmoseregulation
 - 2) Veränderung der Zellwandelastizität

Bei der Symbiose zwischen *Neotyphodium coenophialum* und *Festuca arundinacea* konnten sowohl Vermeidungs- als auch Toleranzmechanismen nachgewiesen werden.

ARACHEVALETA et al. (1989) prüften EB und EF Klone eines Rohrschwengelgenotypen unter unterschiedlichen Wachstumsbedingungen und fanden bei den EB Pflanzen stets schmalere Blätter vor als bei den EF Klonen. Die Untersuchungen von HILL et al. (1990) sowie von BELESKY und FEDDERS (1995) ergaben, dass Endophytbesiedelung häufig zu einem größeren Sprossgewicht führt. HILL et al. (1990) beobachteten weiterhin, dass die Sprossbasis der EB Pflanzen zwischen 7 und 11 mm tiefer im Boden lag als die der EF Klone. Sowohl WEST et al. (1988) als auch CARROW (1996) stellten einen positiven Endophyteeffekt auf das Wurzelwachstum von Rohrschwengelklonen fest. Diese morphologischen Veränderungen führen bei Pflanzen zu einem verbesserten Wasserhaushalt und lassen einen erheblichen Einfluss des Endophyten auf den Stoffwechsel ihrer Wirtsgräser vermuten.

In der Pflanze werden das Wachstum und die Entwicklung durch Phytohormone reguliert. Wie DE BATTISTA (1990b) entdeckte, kann auch *Neotyphodium coenophialum* in-vitro das Auxin Indolyl-3-Essigsäure (IES) produzieren. Dieses Hormon hat Einfluss auf die generative Entwicklung, die Sprossbildung und das Wurzelwachstum. Ein weiteres Phytohormon, welches bei Pflanzen unter Stressbedingungen vermehrt produziert wird und Schutzmechanismen aktiviert, ist die Abscisinsäure (ABA). Sie reguliert u.a. den Stomataschluss, hemmt die Sprossbildung und fördert das Wurzelwachstum. Sowohl BUNYARD und MCINNIS (1990) als auch JOOST (1995) berichteten, dass bei Trockenstress endophytbesiedelte Rohrschwengelpflanzen schneller und mehr ABA akkumulieren als endophytfreie.

Dementsprechend wurde nachgewiesen, dass *N. coenophialum* die stomatäre Wasserleitfähigkeit der Blätter beeinflussen kann. Nach Angaben von BELESKY et al. (1987); WEST et al. (1988), ELMI et al. (1989) sowie ELBERSEN et al. (1994) war diese unter Trockenstress bei den EB Pflanzen geringer als bei den EF Klonen, was auf einen schnelleren Stomatenschluss bei den EB Pflanzen schließen lässt. Die Untersuchungen von BUCK et al. (1997) beweisen, dass dieser Effekt genotypspezifisch ist, was die gegenteiligen Ergebnisse von RICHARDSON et al. (1990) erklären könnte. Hierbei kann der spezifische Einfluss der Pilze auf die ABA-Synthese der Pflanzen eine Rolle spielen.

Mit dem Spaltenschluss ist auch der Gasaustausch der Pflanzen verbunden. In Übereinstimmung mit den Befunden zur Wasserleitfähigkeit der Blätter stellten BELESKY et al. (1987) einen negativen, RICHARDSON et al. (1993) dagegen einen positiven Endophyteneffekt auf die Netto-CO₂-Assimilation und die Transpiration der Pflanzen fest. MARKS und CLAY (1996) fanden unter hohen Temperaturen bei den EB Rohrschwingelpflanzen eine höhere Brutto-CO₂-Assimilation als bei EF Pflanzen. Sie vermuten, dass der Pilz entweder die Photorespiration reduziert oder als starker Sink für Photosyntheseprodukte wirkt und somit eine negative Rückkopplung verhindert.

Ein Mechanismus zur Verbesserung der Trockenstresstoleranz ist die Erhöhung der Osmoregulation. Die Anreicherung von gelösten Stoffen in den Zellen senkt die Wasserverdunstung und führt zu einer Erhöhung des Turgors in den Zellen. Bei Trockenstress beobachtete RICHARDSON et al. (1992) eine vermehrte Einlagerung von Fruktose und Glukose in Blattscheiden der EB Pflanzen, was einen verbesserten Schutz der meristematischen Gewebe bedeutet. Nach Angaben von RICHARDSON et al. (1993) sowie ELMI und WEST (1995) war das osmotische Potential bei den EB Pflanzen wesentlich höher als bei den EF Klonen. HILL et al. (1996) fanden diesen Endophyteneffekt erst bei anhaltendem Trockenstress vor. In anderen Versuchen konnten keine endophytbedingten Unterschiede für dieses Merkmal festgestellt werden, was auf den wesentlichen Einfluss des Pflanzen- und Pilzgenotypen schließen lässt (WHITE et al., 1992; REYNOLDS et al., 1997; BARKER et al., 1997).

Bei *Festuca pratensis* und *Lolium perenne* scheinen die *Neotyphodium*-Endophyten ähnliche Prozesse auszulösen, allerdings liegen hierzu nur wenige Untersuchungen vor (MARKS and CLAY, 1990; COOK et al., 1991; MALINOWSKI et al., 1997 a/b; EERENS et al., 1998; AMALRIC et al., 1999).

3 Material und Methoden

3.1 Sammlung von Gräserökotypen und ihre Analyse hinsichtlich der *Neotyphodium*-Endophyten

Das Sammeln von Pflanzenmaterial bedeutsamer Nutzgräser erfolgte vom Frühjahr bis zum Herbst 1997 auf natürlichen Graslandstandorten in Sachsen-Anhalt, welche Stressfaktoren wie Trockenheit und/oder Überflutung ausgesetzt sind und seit mindestens 20 Jahren nicht erneuert worden waren. Die meisten Beprobungsstandorte befanden sich im Saalkreis oder in dessen Umgebung, es wurden jedoch auch Pflanzen in der Wischeniederung bei Seehausen, im Drömling, im Biosphärenreservat Mittlere Elbe und im Harz gesammelt. Insbesondere interessierten die Pflanzenbestände auf trockenen Hängen bzw. in zur Nässe neigenden Niederungen und Senken. Den Schwerpunkt der Sammlung bildeten Ökotypen vom Deutschen Weidelgras (*Lolium perenne*), Wiesenschwingel (*Festuca pratensis*), Rohrschwingel (*Festuca arundinacea*), Rotschwingel (*Festuca rubra*) und Schafschwingel (*Festuca ovina*). Auf dem jeweiligen Standort wurden je nach Pflanzenbestand 5 bis 30 Einzelpflanzen pro Art entnommen. Nach der Untersuchung auf Endophytpresenz folgte das Auspflanzen der Ökotypen auf dem „Julius-Kühn-Feld“, dem Versuchsfeld der Landwirtschaftlichen Fakultät in Halle.

Für den Endophytnachweis gelangten pro Pflanze jeweils fünf Sprosse zur Untersuchung. Unter dem Binokular wurde mit einem Skalpell von der Blattscheide die innere Schicht der Epidermis abgetrennt. Diese gelangte auf einen Objektträger, wurde durch einen Tropfen Bengalrosalösung (5 % Ethanol, 0,5 % Bengalrosa) angefärbt und mit einem Deckgläschen angedrückt. Unter dem Mikroskop waren bei einer 200fachen Vergrößerung im Falle einer *Neotyphodium* sp.-Besiedelung interzellulär verlaufende, kaum verzweigte Hyphen zu sehen.

3.2 Taxonomische Untersuchungen der endophytischen Pilze

- Isolation der Endophyten

Von drei bis fünf Sprossen pro Pflanze wurde jeweils ein etwa 2,5 cm langes Blattscheidenstück am basalen Ende abgeschnitten und von alten Blättern und Schmutz befreit. Zur Oberflächensterilisation gelangten die Stücke in einem verschließbaren Teesieb für 10 s in eine 70 %ige Ethanol- und danach für 5 min in eine 14 %ige Natriumhypochloritlösung. Unter sterilen Bedingungen wurden die Stücke dann nochmals zerschnitten, auf Kartoffel-Dextrose-Agar (PDA) gelegt und im Brutschrank für 4 (*Festuca* sp.) bis 6 Wochen (*Lolium perenne*) bei 20 °C im Dunkeln inkubiert. Zur Verminderung von Bakterien- und Pilzkontaminationen erfolgte vor der Inkubation für 12 h die Bestrahlung der Petrischalen mit UV-Licht.

- Taxonomische Zuordnung

Zur Beurteilung der Pilzkulturen dienten ihre Wachstumsgeschwindigkeit, Farbe, Morphologie und Konidienbildung. Für die Charakterisierung der Kolonien wurden die Petrischalen geöffnet unter das Mikroskop gelegt und bei 250-500facher Vergrößerung die Größe und Form der Konidien sowie Konidienträger und ihre Konstellation zueinander festgestellt. Anhand der Beschreibungen durch die Erstautoren erfolgte die Zuordnung der Pilze zu *Neotyphodium coenophialum* (MORGAN-JONES & GAMS, 1982), *Neotyphodium uncinatum* (GAMS et al., 1990), *Neotyphodium festucae* (LEUCHTMAN et al., 1994) bzw. *Neotyphodium lolii* (LATCH et al., 1984)¹.

3.3 Versuche zur Abtötung endophytischer Pilze

Zur Erzeugung von endophytfreiem Klonmaterial wurden Sprosse endophytbesiedelter Pflanzen in Hydrokultur über mehrere Wochen einer wässrigen Lösung mit dem Fungizid Desmel © (Wirkstoff: 250 ml/l Propiconazol) ausgesetzt. Zur Klärung methodischer Details dienten zunächst Vorversuche mit jeweils vier Genotypen von *Lolium perenne*, *Festuca pratensis* und *Festuca rubra*, in denen folgende zwei Methoden getestet wurden:

Methode 1: Je vier Sprosse eines Genotypen wurden einzeln in einer Multitopfpalette mit Hilfe von Polyesterflocken fixiert, so dass die Wurzeln aus dem durchlocherten Boden heraushingen. Die Palette wurde auf eine Schale mit Fungizidlösung gestellt, damit nur die Wurzeln der Pflanzen in die Lösung eintauchten. Der Versuch erfolgte mit zwei Wirkstoffkonzentrationen:

- 1a= 0.2 % Propiconazolösung
- 1b= 0.4 % Propiconazolösung

Methode 2: Jeweils vier Sprosse eines Genotypen wurden einzeln in eine Palette mit Blähtonkugeln (8-16 mm Durchmesser) gepflanzt und dann in eine Schale mit 0,4 %iger Propiconazolösung gestellt.

Bei beiden Methoden wurde die Fungizidlösung nach dreiwöchigem Einwirken durch Wasser ersetzt. Nach weiteren vier Tagen gelangten die Sprosse in Erde. Die Pflanzen wurden einmal wöchentlich mit einer im Handel erhältlichen NPK-Nährstofflösung (7:3:7) gedüngt und ausreichend mit Wasser versorgt. Drei Monate später erfolgte die Untersuchung auf Endophytpresenz.

Nach Auswertung der Vorversuche fand zur Erstellung von endophytfreiem Pflanzenmaterial die folgende abgewandelte Methode Anwendung:

Methode 3: Pro Genotyp wurden 3-6 Sprosse entnommen, von alten Blättern und Schmutz befreit, in einen Einzelpf einer Multitopfpalette (33x51,5x5,3 cm) plaziert und mit Kieselsteinen (8-16 mm Durchmesser) fixiert. Die Paletten gelangten in Schalen (35x55x7 cm), welche 2,5 l einer 0,4 %igen Propiconazolösung enthielten. Die Pflanzenwurzeln und max. 1 cm der Sprossbasis tauchten in die Lösung ein. An jedem zweiten Tag erfolgte ein Auswechseln der Propiconazolösung. Die Sprosse vom Deutschen Weidelgras, Rotschwengel und Schafschwengel wurden nach 2,5 Wochen, die Wiesen- und Rohrschwengelsprosse nach drei Wochen in Erde gepflanzt. Nach drei Monaten erfolgte die Untersuchung auf Endophytpresenz. Daraufhin wurden die endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen eines jeden Genotypen verklont und zur Beobachtung ihrer Weiterentwicklung nebeneinander auf dem Versuchsfeld ausgepflanzt. Sie verblieben dort mindestens ½ Jahr, bevor sie für die Einzelpflanzenversuche zur Verfügung stehen konnten.

3.4 Feldversuch mit 14 *Lolium perenne*-Genotypen jeweils mit und ohne Endophyten

Der Versuch zur Prüfung von Endophyteeffekten auf das Wachstum und die Entwicklung von *Lolium perenne*-Genotypen unter Feldbedingungen erfolgte auf dem Versuchsstandort ‚Julius-Kühn-Feld‘ in Halle. Tabelle 1 vermittelt einen Überblick über die Herkunft der Genotypen, welche im Rahmen dieser Arbeit in Einzelpflanzenversuchen untersucht wurden.

Tabelle 1 Herkunft der *Lolium perenne*-Genotypen, die auf Endophyteeffekte geprüft wurden

Genotyp	Herkunft	Standortcharakterisierung		FV ¹	SV1 ²	SV2 ²	SV3 ²
A	Oppin	dünne Sandschicht auf Beton ³	trocken	+			+
B	Langenbogen	sandiger, steiniger Hang	trocken	+	+		
C	Wettin	sandiger Hügel	trocken	+			
D	Langenbogen	sandige Ödlandfläche	trocken	+			
E	Langenbogen	sandiger, steiniger Hang	trocken	+			+
F	Oppin	dünne Sandschicht auf Beton	trocken	+		+	
G	Langenbogen	sandige Ödlandfläche	trocken	+			
H	Langenbogen	sandiger, steiniger Hang	trocken	+			
I	Göhrendorf	sandiger Hügel	trocken	+			
J	Wettin	Senke an einem Hügel	wechselfeucht	+		+	
K	Wettin	Weide	wechselfeucht	+			
L	Halle	ehemaliges Moorgebiet	nass	+		+	
M	Drömling	Senke an der Saale	nass	+	+		
N	Drömling	ehemaliges Moorgebiet	nass	+			

1) FV = Feldversuch

2) SV1, SV2, SV3 = Stressversuche 1, 2, 3 in Gefäßen

3) ehemaliger Flughafen

¹ Die Erstautoren benutzten bis zur taxonomischen Neuordnung 1996 den Gattungsnamen *Acremonium* (siehe Punkt 2.2).

Der Versuchsstandort ist charakterisiert durch deutlich degradierte Schwarzerden (Braunerde-Tschernosem [Braunschwarzerde] bis Parabraunerde-Tschernosem [Griserde]; FAO: Haplic Phaeozem bis Luvisc Phaeozem) (Stumpe et al., 1995). Die langjährigen Jahresmittel für Temperatur und Niederschlag (1965-1994) betragen 10,5 °C bzw. 475,4 mm. Frühjahr und Sommer des Versuchsjahres 1999 waren regenreich, während in den Spätsommer- und Herbstmonaten trockene Witterung vorherrschte (Tab. 2).

Tabelle 2 Monatliche Durchschnittswerte für Temperatur (°C) und Niederschläge (mm) 1999 im Vergleich zum langjährigen Mittel (\bar{x} 1965-1994) am Versuchsfeld Halle

		Jan.	Feb.	März	April	Mai	Juni	Juli	Aug.	Sept.	Okt.	Nov.	Dez.
°C	1999	3,5	1,1	5,9	9,9	14,5	16,2	20,2	18,2	18,1	9,7	3,9	3,2
	\bar{x}	0,3	0,5	4,5	8,1	13,2	16,3	18,3	18,1	14,3	9,7	4,5	1,8
mm	1999	16,0	51,4	27,7	61,2	54,2	64,1	89,8	41,0	23,0	17,9	38,2	37,6
	\bar{x}	25,8	22,3	32,3	38,8	50,0	59,8	51,7	53,8	40,4	33,1	32,6	34,7

Im Vorfeld der Untersuchung galt es, einheitliche EB und EF Klonteile der Genotypen zu erstellen. Dafür wurden die Klone zunächst in Multitopfpaletten mit Erde gepflanzt und nach einer zweimonatigen Wachstumsperiode auf gleich große Pflanzen mit je vier Sprossen vereinheitlicht. Die Anlage des Versuches erfolgte am 26. April 1999. Pro Genotyp wurden jeweils 15 EB und 15 EF Pflanzen in eine Parzelle gepflanzt. Die Versuchsanlage vermittelt die Abbildung A1. Kurz vor dem Auspflanzen erfolgte eine Stickstoffdüngung in Höhe von 70 kg N/ha.

Während der Wachstumsperiode wurde bei den einzelnen Genotypen die generative Entwicklung, charakteristische Merkmale (Massebildung, Farbe, Halmlänge und Wuchsform) sowie das Auftreten von Krankheiten entsprechend den Richtlinien des Bundessortenamtes bonitiert. Die Ernte der generativen Triebe der einzelnen Pflanzen fand jeweils im Stadium der späten Teigreife der Spelzfrüchte statt. Diese wurden 5 cm über dem Boden abgeschnitten und zur Nachreife in Tüten aufbewahrt. Es folgte das Erfassen der Anzahl der reifen und grünen Fruchtstände, der Pflanzentrockenmasse und die Untersuchung der Klone auf Endophytbesiedelung. Zur Samenertragsermittlung wurden die Fruchtstände pro Pflanze in einer Labordreschmaschine gedroschen und anschließend das Druschgut aufbereitet.

Zur Prüfung der Spelzfruchtqualität wurden pro Variante die Tausendkornmasse (TKM) und die Keimfähigkeit entsprechend den ISTA-Vorschriften (1993) ermittelt. Die Keimfähigkeitsbestimmung erfolgte auf dem Keimapparat nach JAKOBSEN bei 20 °C, wobei pro Variante 4x100 Spelzfrüchte zur Untersuchung gelangten. Die Erstauszählung fand fünf Tage nach Versuchsbeginn statt; die Endauszählung erfolgte nach 14 Tagen. Zur Untersuchung der

Karyopsen auf Endophytpresenz wurden jeweils 10 Spelzfrüchte pro Pflanze (150 Karyopsen/Variante) in Titerplatten für 10-12 Stunden in einer alkalischen Lösung (2,5 % NaOH, 0,2 % Bengalrosa) und dann für weitere 2 Stunden in einer sauren Farblösung (5 % Ethanol, 0,5 % Bengalrosa) eingeweicht. In den herauspräparierten Aleuronschichten konnten im Falle einer Endophytbesiedelung unter dem Mikroskop (Vergrößerung 200x) die Hyphen festgestellt werden. Nach einer sechswöchigen Nachwuchsphase folgte am 18. Oktober 1999 ein Grünschnitt. Die Pflanzen wurden auf jeweils 5 cm Stoppelhöhe zurückgeschnitten und die Frisch- sowie die Trockenmasse pro Pflanze ermittelt.

3.5 Stärkegelelektrophorese

Zur Prüfung der genetischen Identität der EB und EF Pflanzen eines Genotypen erfolgte die Untersuchung der pflanzlichen Isoenzymssysteme Phosphoglucoisomerase (PGI) und Saure Phosphatase (ACP) mittels Stärkegelelektrophorese. Diese beiden Enzyme werden permanent in der Pflanze gebildet und in der Züchtung u.a. für die Identifikation von Einzelpflanzen verwendet.

Für den Nachweis wurden von allen 420 *Lolium perenne*-Pflanzen des Feldversuches je 2 kräftig entwickelte vegetative Triebe entnommen und wie folgt vorbereitet: Zunächst gelangten die 2 Sprosse klein geschnitten in je eine Vertiefung einer Mikrotiterplatte, in welche daraufhin jeweils 110 µl einer Extraktionslösung (10 %ige Saccharoselösung + 0,1% Mercaptoethanol) gegeben wurde. Daraufhin wurden die Sprosstücke gemörsert und der entstandene Extrakt mit Hilfe von Filterpapierstückchen (10x3 mm) aus Whatmann 3MM Filterpapier auf die Gele appliziert.

Für die Gelzubereitung wurden 375 ml Gelpuffer (7,92 mM Tris + 2,34 mM Zitronensäure, pH 7) mit 45 g Stärke vermischt und unter ständigem Rühren zum Kochen gebracht. Das Entgasen erfolgte durch ein kurzzeitiges Umrühren der Lösung bei möglichst hoher Umdrehungszahl, woraufhin diese sofort in einen vorbereiteten Rahmen (18x18x10 cm) gegossen wurde. Nach dem Aushärten wurde das Gel mit einer Folie abgedeckt und über Nacht im Kühlschrank gelagert.

Die Stärkegelelektrophorese erfolgte in einer Elektrophoresekammer des Types Biotec-Fischer PHOR HF. Als Elektrodenpuffer diente eine Lösung aus 0,22 M Tris + 0,065 M Zitronensäure (pH 7). Das Gel wurde vier und elf cm von der Kathode senkrecht eingeschnitten, pro Schnitt jeweils 30 extraktgetränkte Filterpapierstückchen inseriert, das Gel zusammengesoben und mit einer Glasplatte beschwert. Die Elektrophorese verlief bei einer konstanten Temperatur von 4 °C ohne Begrenzung der Stromstärke (Stromgerät PHERO-stab. 500). Während der ersten 15 min. wurde die Spannung auf 150 V (max. Stromstärke 41 mA) eingestellt, woraufhin die Filterpapierstückchen aus dem Gel gezogen und mit der Elektrophorese bei 300 V (max. Stromstärke 112 mA) für die nächsten 3 h fortgefahren wurde.

Nach Beendigung der Elektrophorese wurde das Gel mit einem Messer horizontal in 1,5 mm dicke Scheiben geschnitten und diese in Glasschalen mit der dem jeweiligen Enzym entsprechenden Färbelösung (Tab. 3) bei 37 °C in einem Wasserbad im Dunkeln angefärbt. Zur Aufbewahrung wurden die Gele über Nacht in einer 20 %igen Glycerinlösung eingeweicht, daraufhin zwischen zwei nasse Acetalfolien auf eine Glasplatte gelegt und im Dunkeln getrocknet.

Tabelle 3 Puffer und Färbelösung für die Isoenzyme PGI und ACP

Enzym	Umpuffern	Färbelösung
PGI (nach HAHN, 1996)	ja	10 mg Fructose-6-Phosphat 3 mg NADP 5 mg MTT 2 mg PMS 10 U Glucose-6-Phosphatdehydrogenase 25 ml 0,1 M Tris/HCl-Puffer (pH 8) 100 µl MgCl ₂ (25 %ige Lösung)
ACP (mod. nach WENDEL and WEEDEN, 1989)	nein	50 mg β-Naphtylphosphat 25 mg Echtblausalz 25 ml 0,1 M Na-Acetat-Puffer (pH 5) 100 µl MgCl ₂ (25 %ige Lösung)

3.6 Stressversuche in Gefäßen mit *Lolium perenne*-Genotypen jeweils mit und ohne Endophyten

3.6.1 Allgemeine Versuchsangaben

Zur Prüfung der Stresstoleranz wurden insgesamt 7 *Lolium perenne*-Genotypen (jeweils EB und EF) in der Gefäßstation des Institutes für Bodenkunde und Pflanzenernährung an der Martin-Luther-Universität untersucht (Abb.1).

In Vorbereitung der Gefäßversuche erfolgte die Auswahl solcher *Lolium perenne*-Genotypen, die von Standorten mit unterschiedlichen Stressbedingungen stammten, im Vorfeld der Untersuchungen endophytbedingte Wachstumsunterschiede aufwiesen und sich auch im Einzelpflanzenfeldversuch befanden. Eine Kurzcharakteristik ihrer ursprünglichen Standorte ist Tabelle 1 (Punkt 3.4) zu entnehmen. Zunächst erfolgte die Anzucht der EB und EF Klone in Erde. Nach vier Wochen waren die Pflanzen so weit entwickelt, dass pro Grasgenotyp und Endophytstatus gleiche Klonteile mit je vier Sprossen entnommen und ein Klonteil pro Mitscherlichgefäß gepflanzt werden konnte.

Die Gefäße enthielten je **6,5 kg Sand**, dem **0,8 g CaCO₃**; **0,7 g P** [Ca(H₂PO₄)₂x1 H₂O]; **0,315 g N** [NH₄NO₃]; **0,3 g Mg** [MgSO₄ x 7H₂O]; **0,8 g K** [K₂SO₄]; **0,63 mg B** [H₃BO₃]; **0,051 mg Cu** [Cu(NO₃)₂]; **0,315 mg Zn** [ZnCl₂]; **0,63 mg Mn** [MnCl₂]; **0,013 mg Mo** [MoO₃] sowie **0,576 g Fe** [Fe III Citrat x 5 H₂O] (nach SMITH et al., 1983) eingemischt waren. Vier Wochen nach Versuchsbeginn und nach jeder Ernte erfolgte eine Stickstoffdüngung (0,2 g N/Gefäß) in Form von KNO₃. Außerdem erhielten die Pflanzen zum Ende der Blüte je 0,3 g N als MgNO₃ und 0,3 g K als K₂HPO₄+ KH₂PO₄.

Die Gefäße waren auf fahrbaren Wagen angeordnet. Sie befanden sich tagsüber bei trockenem Wetter im Freien und bei Regen sowie nachts in der Wachstumshalle. Die Töpfe wurden täglich gewogen und mit destilliertem Wasser auf ein Gewicht gebracht, welches der angestrebten Wasserkapazität (WK) des Sandes entsprach. Die Versuchsvarianten, die Erntetermine und die erfassten Parameter werden im Folgenden näher beschrieben.



Abb. 1 Gefäßstation des Institutes für Bodenkunde und Pflanzenernährung der Martin-Luther-Universität. Stressversuche 1 und 2 (1. bzw. 2. Wagenreihe von links) Juni 1999.

3.6.2 Stressversuch 1

In diesem zweijährigen Versuch (1998/1999) wurden EB und EF Klone der beiden Weidelgrasgenotypen B und M in drei Wasserversorgungsvarianten (Kontrolle, Trockenheit und Überflutung) auf Wachstum und Entwicklung untersucht. Das Experiment erfolgte mit insgesamt 72 Einzelpflanzen (2 Genotypen x 2 Endophytvarianten x 3 Wasserversorgungsstufen x 6 Wiederholungen).

Die Versuchsbedingungen für die Versuchsvarianten vermittelt Tabelle 4. Zunächst war für alle Pflanzen über fünf Wochen eine ausreichende Wasserversorgung gewährleistet (WK 70-75 %). Danach schloss sich eine siebenwöchige Stressphase an. Dabei wurden die Gefäße der Trockenstressvariante stufenweise entwässert, bei der Überflutungsvariante dagegen bis 5 mm unter den Gefäßrand mit Wasser befüllt. Die Kontrollvariante blieb unverändert. Nach dem ersten

Grünschnitt erfolgte die Anpassung der beiden Stressvarianten an die Kontrolle, wobei den überfluteten Pflanzen der nährstoffhaltige Überschuss später als Gießwasser diente. Nach einer dreiwöchigen Nachwuchphase bei ausreichender Wasserversorgung folgte der zweite Grünschnitt. Die Pflanzen überwinterten in der unbeheizten Wachstumshalle der Gefäßstation bei einer WK von 80-85 %. Ende März 1999 erfolgte eine Frühjahrsdüngung mit 0,3 g N in Form von KNO₃. Ab dem 6. Juni 1999 wurden die Pflanzen analog zu ihrer Behandlung im Vorjahr ausreichend mit Wasser versorgt, Trockenstress ausgesetzt oder überflutet. Nach der Ernte der Fruchtstände am 14. Juli 1999 erfolgte die Angleichung aller Varianten auf eine WK von 80 - 85 %. Die abschließende Ernte, die den Grünschnitt und die Wurzelwaschung beinhaltete, fand sechs Wochen später statt.

Tabelle 4 Versuchsbedingungen für die Varianten des Stressversuches 1

Dauer der Wachstumsphasen und Erntetermine	Wasserversorgungsvarianten		
	Kontrolle	Trockenstress	Überflutung*
06.07. - 10.08.98 (5 Wo.)	stressfreie Wachstumsphase bei 70 - 75% WK		
10.08. - 29.09.98 (7 Wo.) 1. Ernte: 29.09.98	70 - 75% WK	2 Wo. 50% WK 2 Wo. 30% WK 3 Wo. kein H ₂ O	überflutet
29.09. - 18.10.98 (3 Wo.) 2. Ernte: 18.10.98	stressfreie Wachstumsphase bei 70 - 75% WK		
18.10.98 - 07.06.99 (33 Wo.)	stressfreie Wachstumsphase bei 80 - 85% WK		
07.06. - 14.07. 99 (5,5 Wo.) 3. Ernte: 14.07.99	80 - 85% WK	25 - 30% WK	überflutet
14.07. - 25.08.99 (6 Wo.) 4. Ernte: 25.08.99	stressfreie Wachstumsphase bei 80 - 85% WK		

* Gefäße vor dem Befüllen mit zwei Polyethylenbeuteln ausgelegt

3.6.3 Stressversuch 2

In diesem 1999 durchgeführten Versuch sollten EB und EF Klone von drei weiteren *Lolium perenne*-Genotypen (F, J und L) auf das Wachstum und die Entwicklung unter dem Einfluss von ausreichender Wasserversorgung einerseits und anhaltendem Trockenstress andererseits geprüft werden. Die Versuchsanlage erfolgte in fünf Wiederholungen pro Variante (insgesamt 60 Einzelpflanzen) unter den in Tabelle 5 mitgeteilten Versuchsbedingungen. Bei Versuchsbeginn wurden alle Pflanzen über fünf Wochen ausreichend mit Wasser versorgt (80-85 % WK). Danach wurden die Pflanzen der Trockenstressvariante auf eine WK von 30-40 % umgestellt und die der Kontrolle unverändert weitergeführt. Mitte August erfolgte die Samenernte und nach weiteren zehn Wochen unter Beibehaltung der reduzierten WK in der Trockenstressvariante, die Ernte des Nachwuchses und das Auswaschen der Wurzeln.

Tabelle 5 Versuchsbedingungen für die Varianten des Stressversuches 2

Dauer der Wachstumsphasen und Erntetermine	Wasserversorgungsvarianten	
	Kontrolle	Trockenstress
26.04. - 31.05.99 (5 Wo.)	stressfreie Wachstumsphase bei 80 - 85% WK	
31.05. - 16.08.99 (11 Wo.) 1. Ernte: 16.08.99	80 – 85 %WK	30 – 40 %WK
16.08. - 25.10.99 (10 Wo.) 2. Ernte: 25.10.99	80 – 85 %WK	30 – 40 %WK

3.6.4 Stressversuch 3

Dieser Versuch mit den zwei *Lolium perenne*-Genotypen A und E (jeweils EB und EF), zwei Wasserversorgungsstufen (Kontrolle und Trockenstress) und fünf Wiederholungen wurde ebenfalls im Versuchsjahr 1999 durchgeführt.

Die Versuchsbedingungen und -varianten gehen aus Tabelle 6 hervor. Nach einer fünfwöchigen Wachstumsphase bei 80 - 85 % WK wurde bei der Trockenstressvariante die WK auf 25 - 30 % zurückgestuft. Die Kontrolle erhielt weiterhin ausreichend Wasser. Ende September erfolgte der erste Grünschnitt sowie die Umstellung der Trockenstressvariante auf 80 - 85 % WK. Drei Wochen später fand Ende Oktober der abschließende Grünschnitt und die Wurzelauswaschung statt.

Tabelle 6 Versuchsbedingungen für die Varianten des Stressversuches 3

Dauer der Wachstumsphasen und Erntetermine	Wasserversorgungsvarianten	
	Kontrolle	Trockenstress
12.07. - 16.08.99 (5 Wo.)	stressfreie Wachstumsphase bei 80 - 85% WK	
16.08. - 27.09.99 (6 Wo.) 1. Ernte: 27.09.99	80 – 85 %WK	25 – 30 %WK
27.09. - 18.10.99 (3 Wo.) 2. Ernte: 18.10.99	stressfreie Wachstumsphase bei 80 - 85% WK	

3.6.5 Erfasste Parameter

In den ersten 25 Tagen nach Versuchsbeginn wurde dreimal wöchentlich die Sprossanzahl pro Pflanze registriert. Nach jeder Ernte erfolgte in der ersten Woche täglich an 10 Blättern pro Pflanze die Längenmessung der nachwachsenden Blätter, um den Zuwachs in cm/Tag ermitteln zu können.

Bei den Grünschnitternten wurden die Pflanzen 3 cm über der Bodenoberfläche abgeschnitten und die Frisch- und Trockenmasse, die Sprossanzahl sowie die Blattspreitenlänge und -breite von je 10 Blättern festgestellt.

Die Berechnung der Blattspreitenfläche erfolgte nach der Methode von GRAF-MARTIN (zitiert bei ANALYTIS et al., 1971). Dafür wurden zunächst von jeweils 50 *Lolium perenne*-Blattspreiten die Blattlängen (BL) und -breiten (BB) gemessen, ihre Blattkonturen auf Milimeterpapier aufgetragen und die wahre Blattfläche (BFLw) durch Auszählen der mm² erfasst. Daraufhin wurde für jedes Blatt der Quotient $Q = (BL \times BB) / BFLw$ berechnet. Der Mittelwert der 50 Quotienten ergibt einen Proportionalitätsfaktor, welcher den Fehler (Abweichung der Blattform von einem Rechteck) bei der Ermittlung der Blattfläche über BL x BB korrigiert. Folglich wurde zur Bestimmung der Blattspreitenfläche das Produkt von BL x BB mit dem Proportionalitätsfaktor multipliziert.

Die Ernte der ersten reifen Fruchtständen erfolgte jeweils einzeln zum Zeitpunkt der späten Teigreife der Spelzfrüchte. Die generativen Triebe wurden 3 cm über der Halmbasis abgeschnitten und in Tüten aufbewahrt. Zum angegebenen Termin (Zeitpunkt, zu dem alle Pflanzen > 90 % reife Fruchtstände hatten) erfolgte dann die Ernte der verbliebenen Halme und ein Rückschnitt der Pflanzen auf 3 cm Stoppelhöhe. Von je 10 Halmen pro Pflanze wurden Halmlänge, Fahnenblattlänge und -breite sowie die Ährchenanzahl des Fruchtstandes bestimmt. Die Anzahl der Blüten wurde in jeweils 10 Ährchen¹ von 10 Fruchtständen pro Variante festgestellt. Es folgte das Erfassen der Pflanzentrockenmasse, der Anzahl generativer und vegetativer Triebe sowie der Länge und Breite von je 10 Blattspreiten pro Pflanze. Zur Bestimmung der Samenmasse pro Pflanze wurden die Karyopsen manuell aus den Ähren ausgerieben. Die Analyse der TKM und der Keimfähigkeit erfolgte in gleicher Weise, wie in Punkt 3.4 beschrieben. Zur Ermittlung des prozentualen Anteils endophytbesiedelter Spelzfrüchte pro Pflanze wurden jeweils 6 Karyopsen von 10 Fruchtständen pro Pflanze analog zu der in Punkt 3.4 beschriebenen Methode untersucht.

Die letzte Ernte beinhaltete jeweils noch das Erfassen der Stoppelmasse und das Auswaschen der Wurzeln. Die Stoppeln wurden direkt an der Bodenoberfläche abgeschnitten und deren Frisch- und Trockenmasse festgestellt. Die Ermittlung der Wurzeltrockenmasse erfolgte nach vorsichtigem Auswaschen der Wurzeln und der Trocknung bei 105 °C im Trockenschrank. Um Messfehler durch verbleibenden Sand zu vermeiden, folgte eine sechsstündige Veraschung der Wurzeln bei 600 °C sowie das Auswaschen der Asche mit 4 %iger Salzsäure

¹ den jeweils 3 untersten, 4 mittleren und 3 obersten Ährchen eines Fruchtstandes

(HCl). Durch Zurückwiegen und Subtrahieren des Sandanteils konnte die tatsächliche Trockenmasse der Wurzeln ermittelt werden.

Zur Ermittlung des Spross-Wurzel-Verhältnisses pro Pflanze wurde der Quotient aus Wurzelrockenmasse / Sprossrockenmasse berechnet.

3.7 Biometrische Auswertungsverfahren

Um festzustellen, ob es einen Zusammenhang zwischen der Endophytbesiedelung von Gräserökotypen und der Wasserversorgung am Herkunftsstandort gibt, wurde unter Anwendung des Programmes ‚Kontingenztafel- und Kontrastanalyse‘ (WARNSTORFF und DÖRFEL, 1998) eine Kontingenztafelanalyse durchgeführt und der Kontingenzkoeffizient K nach WORTHA (1989) berechnet. Die Ermittlung der Standorte, welche mit größerer Wahrscheinlichkeit EB Pflanzen enthalten (einseitige Fragestellung), erfolgte unter Anwendung des u-Testes für den paarweisen Vergleich von Wahrscheinlichkeiten.

Das Ziel des Feldversuches war die Analyse des Einflusses der Endophytbesiedelung (EB versus EF) auf die Ertragsparameter der untersuchten *Lolium perenne*-Genotypen. Da davon auszugehen war, dass zwischen den Endophytenstämmen und somit auch zwischen den Pilz-Wirt-Beziehungen Unterschiede bestehen könnten, wurde jeder Genotyp einzeln verrechnet. Die biostatistische Auswertung erfolgte mittels einer einfaktoriellen Varianzanalyse unter Nutzung von SAS 6.12 (Prozedur GLM)¹.

In den Gefäßversuchen interessierte 1. der Einfluss der Endophytbesiedelung auf die Ertragsparameter eines *Lolium perenne*-Genotypen in Abhängigkeit von der Wasserversorgung und 2. die Auswirkung von Stress (Trocken- bzw. Überflutungsstress) auf das Wachstum der EB und EF Pflanzen im Vergleich zu ausreichender Wasserversorgung. Zur biostatistischen Auswertung wurden unter Anwendung von SAS 6.12 (Prozedur GLM) eine zweifaktorielle Varianzanalyse sowie paarweise Mittelwertvergleiche (pro Wasserversorgungsstufe: EB versus EF; pro Endophytvariante: Stress versus Kontrolle) mittels t-Test durchgeführt. Den Mittelwertvergleichen lag jeweils die einseitige Fragestellung zugrunde, da untersucht werden sollte, ob Endophytpräsenz das Wachstum und die Stresstoleranz der *Lolium perenne*-Genotypen positiv beeinflusste ($H_0: \mu_1 = \mu_2$; $H_1: \mu_1 > \mu_2$) und bei Trockenstress bzw. bei Überflutung negative Effekte auf das Pflanzenwachstum zu erwarten waren ($H_0: \mu_1 = \mu_2$; $H_1: \mu_1 < \mu_2$).

¹ SAS Institute, Cary, NC, USA

Zur Verdeutlichung von Ertragsdifferenzen zwischen den Endophytvarianten erfolgte für jedes Merkmal die Berechnung der Relativen Differenz der Endophytvarianten (RDE) nach der Formel:

$$\mathbf{RDE = (EB - EF) \times 100 / EF.}$$

Dem entsprechend beinhalten die Relativen Differenzen der Trockenstress- (RDT) bzw. Überflutungsvarianten (RDÜ) die prozentuale Differenz zwischen der jeweiligen Stress- und ihrer Kontrollvariante (KV), bezogen auf KV:

$$\mathbf{RDT = (TV - KV) \times 100 / KV} \quad (\text{TV=Trockenstressvariante}) \quad \text{bzw.}$$

$$\mathbf{RDÜ = (ÜV - KV) \times 100 / KV} \quad (\text{ÜV=Überflutungsvariante}).$$

Da die Keimfähigkeit von Spelzfrüchten ein alternatives Merkmal ist (gekeimt bzw. nicht gekeimt) wird eine Binominalverteilung vorausgesetzt. Der Vergleich der Wahrscheinlichkeiten einer Keimung der Spelzfrüchte zwischen den Endophyt- bzw. Wasserversorgungsvarianten erfolgte unter Anwendung des u-Testes.

Um den Einfluss des Endophyten auf die Sprossbildung und die Nachwuchsfähigkeit der Pflanzen in Abhängigkeit von der Vegetationszeit beurteilen zu können, wurden nichtlineare Regressionsfunktionen geschätzt. Die Funktionsauswahl erfolgte mittels CADEMO-WACH 3.12¹ nach dem Auswahl-Kriterium der kleinsten Restvarianz. Unter Anwendung der Programme STATISTICA² und SAS 6.12 wurden die Regressionsfunktion, das Bestimmtheitsmaß B, die Reststandardabweichung s_R und die Konfidenzintervalle für die Funktionswerte berechnet. Die Schätzung der Regressionsfunktion erfolgte mit den Einzelwerten je Untersuchungszeitpunkt. In den Abbildungen sind die Schätzfunktion, die Konfidenzintervalle für die Funktionswerte und die Mittelwerte je Zeitpunkt dargestellt. Die Unterschiede zwischen der EB und der EF Variante sind gesichert, wenn sich die Konfidenzintervalle der Regressionsfunktionen nicht mehr überlagern (markiert durch Pfeil).

¹ Biomath GmbH, Rostock

² Statsoft Inc. (2000), Tulsa, OK, USA

4 Ergebnisse

4.1 Sammlung von Gräserökotypen und ihre Analyse hinsichtlich der *Neotyphodium*-Endophyten

Insgesamt wurden in 19 Landschaftsgebieten Sachsen-Anhalts 51 Standorte beprobt und 868 Pflanzen gesammelt. Die Untersuchungen ergaben ein häufiges Vorkommen von Endophyten in Gräserökotypen (Tab. 7). Insgesamt 86 % der Wiesenschwingel und 59 % der Rohrschwingelpflanzen waren endophytbesiedelt. Rot- und Schafschwingelökotypen beherbergten zu 51 % bzw. 26 % endophytische Pilze. Bei *Lolium perenne* waren 35 % der Pflanzen besiedelt.

Tabelle 7 Anzahl der gesammelten Pflanzen und deren Endophytstatus

Pflanzenart	Anzahl der gesammelten Pflanzen	endophytbesiedelte Pflanzen	
		Anzahl	%
<i>F. arundinacea</i>	86	51	59
<i>F. pratensis</i>	125	107	86
<i>F. rubra</i>	273	140	51
<i>F. ovina</i>	191	49	26
<i>L. perenne</i>	182	63	35

Detaillierte Angaben zu den Landschaftsgebieten und dem Endophytstatus der dort gesammelten Pflanzen sind der Abbildung A2 / Tabelle A1 im Anhang zu entnehmen.

Einen Überblick über die Verbreitung der EB Pflanzen gewähren die Tabellen 8 und 9. Endophytbesiedelte *F. arundinacea* und *F. pratensis*-Pflanzen waren vielerorts zu finden. 90 % bzw. 94 % der untersuchten Rohr- und Wiesenschwingelstandorte enthielten EB Pflanzen deren Anteil auf dem jeweiligen Standort meist 76-100 % betrug.

Im Gegensatz dazu traten die Endophyten bei den feinblättrigen Schwingelarten gebietsweise auf. So wurden z. B. in den Rot- und Schafschwingelpflanzen von Oppin, Wettin und von der Altmark keine Endophyten nachgewiesen, während alle Ökotypen aus dem Gebiet Friedeburgerhütte/ Freist endophytbesiedelt waren. Insgesamt konnten auf rund 67 % der Standorte EB Pflanzen festgestellt werden, wobei die Rotschwingelstandorte meist einen hohen und die Schafschwingelstandorte meist einen niedrigen Anteil an EB Ökotypen aufwiesen.

Auch *Lolium perenne*-Ökotypen sind verbreitet Wirtspflanzen von Endophyten. Fast 74 % der untersuchten Standorte enthielten EB Pflanzen. Auf den meisten Standorten waren 26 % bis 50 % der Ökotypen endophytbesiedelt. Hohe Anteile EB Pflanzen (über 50 %) wurden nur auf 4 der insgesamt 23 beprobten Standorte festgestellt.

Tabelle 8 Überblick über die Häufigkeit des Vorkommens von EB Gräserökotypen auf den untersuchten Standorten

Pflanzenart	Anzahl der untersuchten Standorte	Standorte mit EB Pflanzen		
		Anzahl	Anteil (%)	EB Pflanzen (%)*
<i>F. arundinacea</i>	10	9	90,0	27 - 100
<i>F. pratensis</i>	18	17	94,4	50 - 100
<i>F. rubra</i>	31	21	67,7	8 - 100
<i>F. ovina</i>	21	14	66,7	14 - 100
<i>L. perenne</i>	23	17	73,9	17 - 78

* Spannweite des prozentualen Anteils an EB Gräserökotypen auf Standorten mit EB Graspflanzen.

Tabelle 9 Aufteilung der Standorte nach ihrem Anteil an EB Gräserökotypen

Pflanzenart	Keine EB Pflanzen	≤ 25 % EB Pflanzen	26-50 % EB Pflanzen	51-75 % EB Pflanzen	76-100 % EB Pflanzen
<i>F. arundinacea</i>	1	0	1	3	5
<i>F. pratensis</i>	1	0	2	3	12
<i>F. rubra</i>	10	5	2	7	7
<i>F. ovina</i>	7	5	4	1	4
<i>L. perenne</i>	6	4	9	3	1

Mittels einer Kontingenztafelanalyse wurde sowohl für *F. arundinacea* als auch für *L. perenne* ein Zusammenhang zwischen der Endophytbesiedelung der Ökotypen und dem Feuchtezustand am Standort nachgewiesen (Tab. 10). Die Ergebnisse für den paarweisen Vergleich der Wahrscheinlichkeiten des Auftretens endophytbesiedelter Gräserökotypen auf den jeweils trockenen, wechselfeuchten oder nassen Standorten vermittelt Tabelle A2. Für *Lolium perenne* und *Festuca arundinacea* galt, dass die Wahrscheinlichkeit des Auftretens endophytbesiedelter Pflanzen auf trockenen Standorten signifikant höher war als auf nassen. Das Gegenteil wurde bei *Festuca pratensis* nachgewiesen.

Tabelle 10 Vorkommen von EB und EF Pflanzen auf Standorten mit unterschiedlichem Feuchtezustand.

Pflanzenart	trocken			wechselfeucht			nass			Kontingenzkoeffizient*
	EB	EF	EB %	EB	EF	EB %	EB	EF	EB %	
<i>F. arundinacea</i>	15	2	88	19	6	76	19	26	42	0,401
<i>F. pratensis</i>	27	9	75	23	3	89	57	6	91	ns
<i>F. rubra</i>	128	117	52	4	6	40	8	10	44	ns
<i>F. ovina</i>	49	113	30	0	29	0	0	0	0	ns
<i>L. perenne</i>	38	41	48	11	37	23	14	41	26	0,246

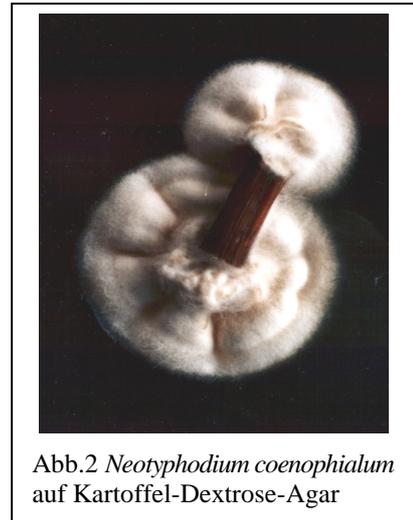
* Der Kontingenzkoeffizient zeigt die Stärke des Zusammenhanges zwischen der Endophytbesiedelung bei Gräserökotypen und dem Feuchtezustand am Standort.

4.2 Taxonomische Zuordnung der endophytischen Pilze im Sammlungsmaterial

Von den insgesamt 412 endophytbesiedelten Graspflanzen konnten die Endophyten aus allen Ökotypen isoliert werden.

- Endophyten des Rohrschwingels

Bis auf eine Ausnahme wurden alle Rohrschwingel-endophyten der Spezies *Neotyphodium coenophialum* (MORGAN-JONES & GAMS, 1982) zugeordnet. Auf Kartoffel-Dextrose-Agar (PDA) bildeten diese Pilze ein kompaktes, weißbraunes bis sahnigfarbendes Hyphengeflecht, welches eine erhabene, leicht gefurchte Form hatte. Meist war es von Luftmyzel bedeckt, wodurch die Oberfläche wollig bis filzig erschien. Alle Kolonien bildeten die für *N. coenophialum* typischen ei- bis nierenförmigen hyalinen Konidien, deren durchschnittliche Größe $8-10 \times 3-6 \mu$ betrug. Das abweichende Pilzisolat wurde anhand seiner Konidien der Gattung *Phialophora* zugeordnet (LATCH et al., 1984).



- Endophyten des Wiesenschwingsels

Im Gegensatz zum Rohrschwingel variierten die Endophyten der Wiesenschwengelökotypen stark in ihren morphologischen Koloniemerkmalen. Es erfolgte die Einteilung in drei Gruppen. Insgesamt 45% der untersuchten Pilze gehörten der Gruppe 1 an, welche als *Neotyphodium uncinatum* identifiziert wurde. Deren Kolonien zeichneten sich durch eine sahnig- bis weißbraune Färbung, eine stark erhabene, hirnartig gefurchte Form und eine wachsartige bis weiche Oberfläche aus. Diese Isolate bildeten ei- ($4-5 \times 3-4 \mu$), nieren- ($6-8 \times 3-5 \mu$) und / oder sichelförmige ($8-15 \times 0,5-3 \mu$) Konidien, welche für *N. uncinatum* charakteristisch sind (GAMS et al., 1990).



Die Endophyten der Gruppen 2 und 3 erzeugten keine Konidien, was eine taxonomische Zuordnung unmöglich machte. Im Gegensatz zu den *Neotyphodium*-Endophyten bildeten sie kein kompaktes Hyphengeflecht, sondern lockere, weiche bis wollige Kolonien von milchig-sahniger Farbe. Die Isolate der Gruppe 2 hatten eine flache, ebene Wuchsform, während die der Gruppe 3 schwach erhaben und gewellt waren.

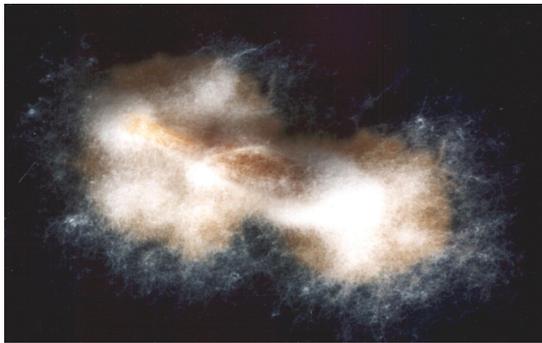


Abb.4 Endophytischer Pilz der Gruppe 2 aus *Festuca pratensis* auf Kartoffel-Dextrose-Agar



Abb.5 Endophytischer Pilz der Gruppe 3 aus *Festuca pratensis* auf Kartoffel-Dextrose-Agar

- Endophyten der feinblättrigen Schwingelarten

Die endophytischen Pilze der Rot- und Schafschwingelökotypen waren morphologisch nicht zu unterscheiden und werden hier gemeinsam vorgestellt. Alle Isolate produzierten, meist zahlreich, ei- bis kugelförmige (3-6 x 2-4 μ) Konidien, welche die Zuordnung zur Species *Neotyphodium festucae* erlaubten (LEUCHTMAN et al., 1994). Das Auftreten des *Epichloe*-Stromas an einigen Fruchtständen einzelner Pflanzen im Feldbestand bestätigt die Annahme. Beide Schwingelarten beherbergten Endophyten von zwei morphologischen Gruppen. Die Pilze der 1. Gruppe bildeten auf PDA weiße bauschige Myzelknäuel. Die 2. Gruppe vereint Isolate, welche flache, ebene Myzelmatten von sahniger bis weißbrauner Färbung formten. Meistens waren diese von einem etwas dunklerem, mehr oder weniger ausgebreiteten Hof umgeben, welcher häufig von Konidienträgern mit Konidien übersät war.



Abb.6 *Neotyphodium festucae* (Gruppe 1) auf Kartoffel-Dextrose-Agar



Abb.7 *Neotyphodium festucae* (Gruppe 2) auf Kartoffel-Dextrose-Agar

- Endophyten des Deutschen Weidelgrases

Die Endophyten der *L. perenne*-Ökotypen bildeten auf PDA kompakte, weiß- bis gelbbraune Kolonien in Form von unregelmäßig gefurchten Wucherungen. Die Oberfläche war meist wachsartig und stellenweise von einem weichen Belag aus Luftmyzel bedeckt. Nur bei 61 % der Isolate wurden die für *N. lolii* typisch nierenförmigen, 6-8 x 3-5 µ großen Konidien gefunden (LATCH et al., 1984). Die taxonomische Zugehörigkeit der verbleibenden Endophyten zur gleichen Spezies ist aufgrund der markanten Koloniemerkmale und dem für *N. lolii* charakteristischen langsamen Wachstum sehr wahrscheinlich.

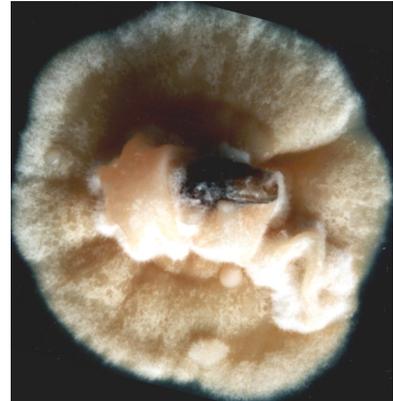


Abb.8 *Neotyphodium lolii* auf Kartoffel Dextrose-Agar

4.3 Abtötung endophytischer Pilze in Gräserökotypen

Die Ergebnisse des Vorversuches (Tab. 11) zeigten, dass die Endophyten durch längeres Einwirken einer Propiconazolösung auf die Pflanzen mittels Hydrokultur erfolgreich abgetötet werden können. Selbst bei Wiesenschwingel, dessen Endophyten eine erstaunliche Widerstandsfähigkeit besitzen, war der Pilz bei Anwendung einer 0,4 %igen Wirkstoffkonzentration aus 100 % bzw. 85 % der überlebenden Pflanzen eliminiert. Allerdings vertrug ein großer Anteil der Sprosse die Fungizidbehandlungen nicht. Besonders empfindlich reagierte Rotschwingel, bei welchem keiner der Sprosse die 0,4 %ige und nur einer die 0,2 %ige Behandlung überlebten.

Die Methode 1 erwies sich als sehr arbeitsaufwendig. Die geringsten Pflanzenverluste traten in der Variante mit Blätton als Hydrokultursubstrat auf. Als eine mögliche Ursache hierfür könnte die Absorption des Fungizides und somit eine Verminderung des Stresses in Frage kommen, was jedoch die genaue Applikation des Wirkstoffes unmöglich macht. Deshalb wurden im Hauptversuch die in Punkt 3.3 beschriebenen methodischen Veränderungen vorgenommen, um relativ kurzfristig im notwendigem Umfang EF Klone zu erstellen.

Tabelle 11 Ergebnisse des Vorversuches zur Gewinnung endophytfreier Klonpflanzen

Hydrokultursubstrat und Behandlung		Pflanzenart	behandelte Sprosse	überlebende Sprosse		endophytfreie Pflanzen	
1a	Polystyrolflocken, 0,2 %ige Propiconazolösung	<i>F. pratensis</i>	16	12	75 %	8	67 %
		<i>F. rubra</i>	16	1	6 %	1	100 %
		<i>L. perenne</i>	16	6	38 %	6	100 %
1b	Polystyrolflocken, 0,4 %ige Propiconazolösung	<i>F. pratensis</i>	16	6	38 %	6	100 %
		<i>F. rubra</i>	16	0	0 %	-	-
		<i>L. perenne</i>	16	3	19 %	3	100 %
2	Blähtonkugeln, 0,4 %ige Propiconazolösung	<i>F. pratensis</i>	16	13	81 %	11	85 %
		<i>F. rubra</i>	16	0	0 %	-	-
		<i>L. perenne</i>	16	7	44 %	7	100 %

Im Hauptversuch wurden insgesamt 1831 Sprosse von 412 endophytbesiedelten Genotypen in Hydrokultur mit der Fungizidlösung behandelt. Mit Ausnahme von sechs Wiesenschwingelsprossen war es damit gelungen, die Pilze aus allen überlebenden Pflanzen zu eliminieren (Tab. 12). Auch bei dieser Behandlungsmethode waren hohe Pflanzenverluste zu verzeichnen. Von den feinblättrigen Schwingeln überlebten nur 4 % bzw. 13 % der Sprosse, bei *L. perenne* 20 % und bei *F. pratensis* 28 %. Etwas weniger empfindlich reagierte *F. arundinacea*, obwohl auch hier nur 56 % der Sprosse die Fungizidbehandlung überlebten.

Tabelle 12 Ergebnisse des Hauptversuches zur Gewinnung endophytfreier Klonpflanzen nach der Behandlung mit einer 0,4 %igen Propiconazolösung

Pflanzenart	behandelte Sprosse	überlebende Sprosse		endophytfreie Pflanzen	
<i>F. arundinacea</i>	135	76	56 %	76	100 %
<i>F. pratensis</i>	355	100	28 %	94	94 %
<i>F. rubra</i>	783	103	13 %	103	100 %
<i>F. ovina</i>	254	9	4 %	9	100 %
<i>L. perenne</i>	304	61	20 %	61	100 %

4.4 Feldversuch mit 14 *Lolium perenne*-Genotypen jeweils mit und ohne Endophyten

4.4.1 Pflanzenentwicklung

Aufgrund günstiger Witterungsbedingungen zeigten die Pflanzen im Frühjahr 1999 ein rasches Wachstum und erreichten bis Mitte Juni zum Teil fortgeschrittene Stadien der generativen Entwicklung (Tab. A3). Neun Genotypen schoben Fruchtstände (DC 51-59¹), bei Genotyp A allerdings nur die EF Variante, und bei Genotyp C begannen einige Klone zu blühen. Infolge von Wildverbiss (Feldhasen) mussten jedoch am 16. Juni alle Versuchspflanzen zurückgeschnitten und daraufhin die Versuchsfläche eingezäunt werden. Die Stoppelhöhe wurde jedoch bewusst hoch belassen (15 cm), um die generative Triebbildung möglichst wenig zu beeinflussen.

Die generative Entwicklung der Genotypen nach dem Rückschnitt zeigt Abbildung 9. Am 21. Juni begannen sechs Genotypen erneut, Fruchtstände zu schieben. Sieben weitere erreichten dieses Stadium 4 Tage und Genotyp L 8 Tage später. Entsprechend zeitlich versetzt, begann nach etwa 10 Tagen die Blüte (DC 61) und nach weiteren 10 Tagen die Vollblüte (DC 65). Die schnellste Entwicklung zeigten die Genotypen C, D, G und M, als spät erwiesen sich die EF Pflanzen des Genotypen A sowie die Klone der Genotypen L und N.

Endophytbedingte Unterschiede in der generativen Entwicklung der Pflanzen wurden zu diesem Zeitpunkt lediglich bei Genotyp A festgestellt. Vor dem Rückschnitt zeigten die EB Klone eine langsamere Entwicklung als die EF Pflanzen. Nach dem Schnitt entwickelten sich alle Pflanzen dieses Genotypen bis zur Vollblüte einheitlich. Danach trat jedoch bei der EB Variante ein schnelleres Abblühen und Reifen ein, weshalb diese Variante zwei Wochen vor der EF Variante geerntet werden musste.

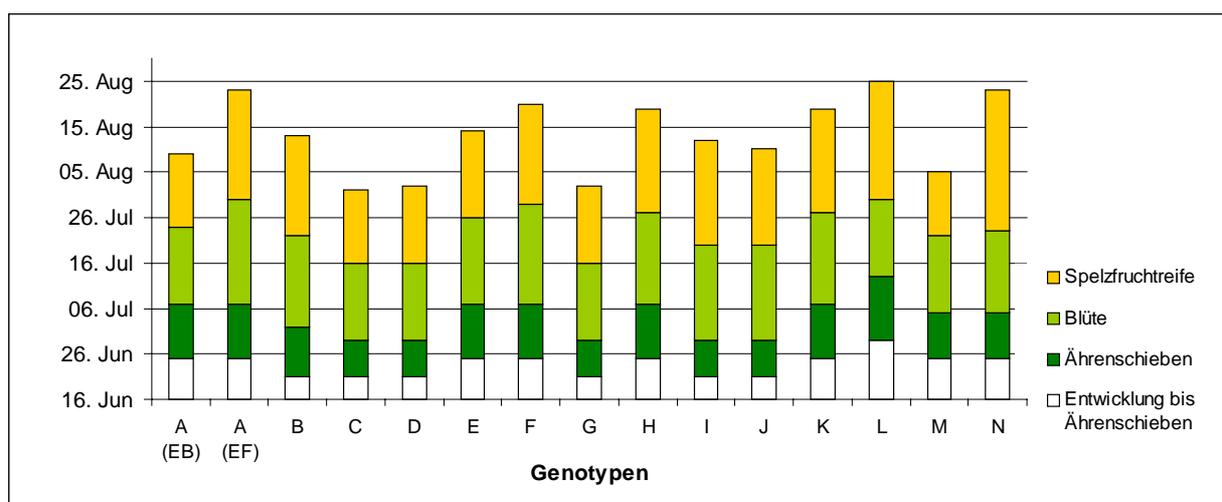


Abb. 9 Termine der generativen Entwicklung von 14 *Lolium perenne*-Genotypen nach dem Rückschnitt der Pflanzen am 16. Juni 1999 (Einzelpflanzen-Feldversuch).

¹ Zur Beurteilung der Pflanzenentwicklung der *Lolium perenne*-Genotypen wurde der Dezimalcode (DC) für die Entwicklungsstadien des Getreides nach ZADOKS et al. (1974) angewendet.

4.4.2 Morphologische Merkmale

Zum Ende der Blüte erfolgte am 13. Juli 1999 die Bonitur der Pflanzen auf Massebildung, Farbe, Wuchsform und Krankheitserscheinungen (Tab. A3). Zu diesem Zeitpunkt hatten die Pflanzen ihre maximale Wuchshöhe erreicht und zeigten zum Teil zwischen den Genotypen und auch zwischen den Endophytvarianten Unterschiede im Phänotyp.

Besonders auffällig differierten die Genotypen in ihrer Massebildung. So zeichnete sich Genotyp N durch eine starke Wüchsigkeit aus, während die Pflanzen der Genotypen C, E und F relativ klein blieben. Die Endophytpräsenz förderte das Pflanzenwachstum bei den Klonen A, B und M und hemmte es bei H, I, J und K. Farblich variierten die Genotypen zwischen sehr hellem grün (Genotyp N) und dunkelgrün (Genotypen J und M). Bei den EF Varianten der Klone A, F und H waren die Blätter in den ersten 2-3 Wochen nach dem Auspflanzen violett gefärbt. Zum Boniturtermin erschienen diese Pflanzen um ein bis zwei Boniturnoten dunkler als ihre EB Pendanten. Die meisten Graspflanzen waren von aufrechter bis halbaufrechter Wuchsform. Die Endophytpräsenz bewirkte einen aufrechteren Wuchs bei den Genotypen A, H und J, während bei den Genotypen E und M die EF Pflanzen etwas aufrechter wuchsen. Eine Infektion mit Braunrost (*Puccinia recondita*) zur Zeit der Blüte, die bei den Genotypen D und I besonders stark auftrat, ließ keine Unterschiede in Abhängigkeit vom Endophytstatus erkennen.

4.4.3 Samenernte

Bis zur Samenernte zeigten die Pflanzen des Feldversuches eine gute Entwicklung. Die Ernteergebnisse zeigt Tabelle 13. Im Mittel der Genotypen und Endophytvarianten wurden pro Pflanze 52,4 g Trockenmasse und 126,9 generative Triebe gebildet. Der mittlere Samenertrag an Spelzfrüchten pro Pflanze betrug 6,35 g.

Im Durchschnitt aller Genotypen waren die Unterschiede in den Ertragsmerkmalen zwischen den beiden Endophytvarianten auffallend gering. Die Mittelwertdifferenzen betragen beispielsweise 0,6 g Trockenmasse, 3,5 generative Triebe und 0,37 g Spelzfrüchte pro Pflanze. Diese Daten sind jedoch aus fachlichen Gründen nicht vergleichbar, da die verschiedenen Grasgenotypen aufgrund der weiten Entfernung zwischen ihren Sammlungsstandorten höchstwahrscheinlich unterschiedliche Endophytstämme beherbergten.

Tabelle 13 Samenerntergebnisse von 14 *Lolium perenne*-Genotypen jeweils mit (EB) und ohne (EF) Endophyten (Einzelpflanzen-Feldversuch 1999).

Sammelstandort	Genotyp	Trockenmasse (g/Pflanze)		Fruchtstände (gesamt/Pflanze)		Fruchtstände (reif/Pflanze)		Anteil reifer Fruchtstände (%)		Samenertrag (g/Pflanze)		Spelzfrüchte / Pflanze		Spelzfrüchte / reifen Fruchtstand		Halmlänge (cm)	
		EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
trocken	A	88,8	62,0	176,9	73,1	130,0	52,0	73,5	71,1	9,43	6,25	6009	3745	46,2	72,0	53,1	51,1
	B	64,2	39,2	157,7	96,5	88,3	57,1	56,0	59,2	10,28	6,92	7178	4622	81,3	80,9	42,5	41,5
	C	36,1	25,4	138,5	98,0	66,5	41,3	48,0	42,2	4,06	1,87	2755	1099	41,4	26,6	41,3	39,9
	D	60,3	47,6	159,5	122,6	75,1	57,8	47,1	47,2	8,54	6,32	6554	5282	87,2	91,4	40,3	41,9
	E	37,9	31,5	69,4	77,5	34,5	39,7	49,7	51,2	5,52	4,37	3426	3086	99,4	77,8	44,9	40,8
	F	45,5	63,8	107,5	134,0	63,5	72,9	59,1	54,4	8,83	9,86	5325	6144	83,9	84,2	48,1	50,8
	G	64,7	59,7	137,0	144,9	34,1	33,6	24,9	23,2	0,51	0,62	487	534	14,3	15,9	44,1	45,0
	H	41,4	70,8	108,9	167,7	74,9	116,1	68,7	69,2	8,11	12,93	5651	8586	75,5	74,0	44,7	49,8
	I	21,1	57,3	69,1	168,9	35,1	94,5	50,8	56,0	3,94	13,72	2585	9411	73,7	99,6	37,2	40,1
wechsel- feucht	J	33,0	67,8	61,1	128,5	41,1	79,7	67,3	62,0	5,36	6,91	2815	4662	68,5	58,5	49,1	54,1
	K	35,5	55,7	55,5	93,1	48,1	68,2	86,8	73,3	4,86	4,49	2365	3544	49,1	52,0	47,1	51,5
nass	L	56,4	26,1	91,3	44,2	49,2	22,9	53,9	51,8	6,45	2,14	3545	1220	72,0	53,4	44,9	45,2
	M	65,4	40,2	175,2	114,5	110,9	71,9	63,3	62,8	7,24	2,18	5345	2053	48,2	28,6	40,3	41,9
	N	87,5	82,0	293,2	287,7	158,1	155,7	53,9	54,1	8,41	7,73	5388	4551	34,1	29,2	54,7	54,6
Mittelwert		52,7	52,1	128,6	125,1	72,1	68,8	57,4	55,5	6,54	6,17	4245	4181	62,5	60,3	45,2	46,3
Gesamtmittel		52,4		126,9		70,5		56,4		6,35		4213		61,4		45,7	

EB Pflanzen sind den EF signifikant überlegen (einfaktorielle Varianzanalyse, F-Test), $\alpha=5\%$
 EF Pflanzen sind den EB signifikant überlegen (einfaktorielle Varianzanalyse F-Test), $\alpha=5\%$

Die einzelnen Genotypen ließen bezüglich der Ertragsmerkmale große Unterschiede in ihrer Reaktion auf den Endophyten erkennen. Neun der untersuchten Genotypen (A bis I) stammten von trockenen Standorten. Fünf dieser Genotypen wiesen häufig positive Endophyteffekte auf. So produzierten die EB Klone der Genotypen A, B, C und D im Mittel pro Pflanze signifikant mehr Trockenmasse, generative Triebe und reife Fruchtstände als ihre EF Pendanten. Für Genotyp A war dabei festzustellen, dass die endophytbedingten Zunahmen in der mittleren Anzahl der generativen Triebe mit durchschnittlich 142 % wesentlich größer waren als im mittleren Trockenmasseertrag (im Durchschnitt 43 %). Bei Genotyp C bewirkte die Endophytbesiedelung außerdem eine signifikante Zunahme im durchschnittlichen Anteil an reifen Fruchtständen und auch eine höhere mittlere Karyopsenanzahl pro reifen Fruchtstand. Bei Genotyp E war die mittlere Anzahl der generativen Triebe pro Pflanze bei beiden Endophytvarianten annähernd gleich, der Trockenmasseertrag, die Halmlänge, die Anzahl der Karyopsen pro reifen Fruchtstand sowie der Samenertrag aber im Durchschnitt wiederum bei den EB Klonen signifikant höher. Auf die Erträge der Genotypen F und G hatte der Endophyt dagegen keinen nachweisbaren Einfluss. Die auffallend geringen mittleren Samenerträge des Genotypen G sind möglicherweise auf die Braunrostinfektion während der Blüte zurückzuführen. Bei den Pflanzen der Genotypen H und I führte die Endophytbesiedelung zu erheblichen Mindererträgen. Die negativen Endophyteffekte waren bei Genotyp I in allen untersuchten Merkmalen signifikant. Hier produzierten die EB Klone durchschnittlich nur noch 30-40 % an Trockenmasse, generativen Trieben und Spelzfrüchten im Vergleich zu den EF Pflanzen.

Auch bei den Genotypen J und K, welche von wechselfeuchten Standorten stammten, reduzierte die Endophytpräsenz im Mittel die Anzahl, die Länge und das Gewicht der generativen Triebe. Trotz des höheren mittleren Anteils an reifen Fruchtständen (signifikant bei Genotyp K) produzierten die EB Klone beider Genotypen durchschnittlich erheblich weniger Spelzfrüchte pro Pflanze als die EF.

Die drei Genotypen L, M und N wurden auf nassen Standorten gesammelt. Bei den ersten beiden wirkte sich der Endophyt positiv auf das Pflanzenwachstum aus. Im Mittel waren die Trockenmasseerträge, die Anzahl der generativen Triebe und auch die Anzahl der Spelzfrüchte pro reifen Fruchtstand bei den EB Klonen signifikant höher als bei den EF Pflanzen. Somit führte die Endophytpräsenz durchschnittlich zu wesentlich größeren Karyopsenzahlen und Samenerträgen pro Pflanze. Bei Genotyp N konnten dagegen keine Unterschiede zwischen den Endophytvarianten festgestellt werden. Die Blattscheidenanalyse auf *Neotyphodium lolii* ergab jedoch, dass mit Ausnahme von zwei Pflanzen alle Klone der EB Variante dieses Genotypen den Pilz nicht mehr enthielten.

4.4.4 Samenqualität

Die Ergebnisse der Samenqualitätsuntersuchungen vermittelt Tabelle 14. Im Mittel aller Genotypen und Endophytvarianten betrug die TKM der Spelzfrüchte 1,48 g. Fünf der Genotypen produzierten im besiedelten Zustand durchschnittlich signifikant leichtere Karyopsen. Fünf weitere zeigten dagegen endophytbedingte Zunahmen, bei Genotyp K sogar um 62 %.

Die Wahrscheinlichkeit der Keimung der Spelzfrüchte war weniger häufig vom Endophyten beeinflusst. Im Gesamtdurchschnitt lag sie nach 5 Tagen bei 84 % und stieg bis zur Endauszählung auf 88 %. Lediglich bei Genotyp G wurde eine sehr geringe mittlere Keimfähigkeit von rund 50 % festgestellt. Die Ursachen hierfür sind unklar. Abweichend von den anderen Genotypen wurde hier bereits in der Blühphase ein starker Braunrostbefall beobachtet. Bei insgesamt 6 Genotypen führte die Pilzbesiedelung zu einer signifikant höheren mittleren Wahrscheinlichkeit der Keimung ihrer Spelzfrüchte. Ein negativer Einfluss des Endophyten auf dieses Merkmal wurde nicht festgestellt.

Tabelle 14 Qualität der Spelzfrüchte von 14 *Lolium perenne*-Genotypen jeweils mit (EB) und ohne (EF) Endophyten (Einzelpflanzen-Feldversuch 1999).

Sammelstandort	Genotyp	Tausendkorntmasse (g)		Keimfähigkeit (%) nach 5 Tagen ¹		Keimfähigkeit (%) nach 14 Tagen ¹		Endophytbesiedelte Spelzfrüchte (%)	
		EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
trocken	A	1,57	1,67	69,75	59,50	85,00	76,00	100	0
	B	1,43	1,50	95,50	91,50	97,25	96,50	100	0
	C	1,47	1,71	84,25	87,00	89,75	93,00	100	0
	D	1,30	1,20	82,75	84,75	89,25	92,25	100	0
	E	1,61	1,42	93,75	84,75	96,25	86,75	93	0
	F	1,66	1,61	91,50	84,75	96,00	87,25	96	0
	G	1,05	1,16	49,25	49,00	50,00	49,00	100	0
	H	1,44	1,51	90,25	88,75	93,25	90,50	100	0
	I	1,52	1,46	92,25	93,00	95,25	96,00	76	0
wechsel-feucht	J	1,90	1,48	93,00	85,25	95,00	91,00	100	0
	K	2,06	1,27	79,25	84,00	81,25	86,25	59	0
nass	L	1,35	1,06	92,25	80,25	94,75	86,25	55	0
	M	1,38	1,54	90,75	89,00	93,00	92,25	100	0
	N	1,56	1,66	96,75	96,00	98,25	97,00	*	0
Mittelwert		1,52	1,45	85,80	82,68	89,59	87,14	90,70	0,00
Gesamtmittel		1,48		84,24		88,37		45,35	

EB Pflanzen sind den EF signifikant überlegen (F-Test für TKM, u-Test für Keimung), $\alpha=5\%$
 EF Pflanzen sind den EB signifikant unterlegen (F-Test für TKM, u-Test für Keimung), $\alpha=5\%$

¹ Anteil normal gekeimter Spelzfrüchte

* bei zwei Pflanzen waren 100 % der Samen EB, die anderen Pflanzen waren EF

Die Endophytübertragung in die Spelzfrüchte war bei den EB Pflanzen von 8 Genotypen vollständig erfolgt (100 %). Selbst die Spelzfrüchte der stark mit Braunrost infizierten Pflanzen des Genotypen G enthielten zu 100 % *Neotyphodium lolii*. Bei den Genotypen E und F waren 93 % bzw. 96 % der untersuchten Karyopsen endophytbesiedelt. Geringere Besiedelungsraten ergaben sich für die Karyopsen der Genotypen I, K und L, die in einem Umfang von 76 %, 59 % bzw. 55 % Endophyten beherbergten. Bei Genotyp N wurde in der Spelzfruchtanalyse analog zum Blattscheidentest mit Ausnahme von zwei Pflanzen keine Pilzbesiedelung nachgewiesen. Die beiden endophytbesiedelten Klone enthielten jedoch in allen untersuchten Spelzfrüchten *Neotyphodium lolii*. Die Karyopsen der EF Pflanzen von allen Genotypen waren endophytfrei.

4.4.5 Einfluss des Endophyten auf den Samenertrag der Genotypen

Über die Ertragsfähigkeit der untersuchten *Lolium perenne*-Genotypen geben die Ernteergebnisse ihrer EF Klone Auskunft. In welchem Ausmaß die Endophytpräsenz die Ausprägung eines Merkmals beeinflusst, verdeutlicht die Relative Differenz zwischen den Endophytvarianten (RDE) eines Genotypen (siehe Punkt 3.7).

Die Ergebnisse der Samenernte weisen auf eine negative Beziehung zwischen dem Ertragspotential eines Genotypen (gemessen an der Produktivität seiner EF Klone) und dem Einfluss des Endophyten auf das Pflanzenwachstum hin. Besonders deutlich zeigt sich dieser Zusammenhang bei den Genotypen A bis I, welche von trockenen Standorten stammten (Abb. 10). Bei Genotypen, deren EF Klone eine geringe mittlere Anzahl an generativen Trieben bildeten, wurde meist ein positiver Endophyteinfluss festgestellt. Mit zunehmender Triebzahl nahm die RDE jedoch ab. Auch unter Einbeziehung der Genotypen von wechselfeuchten und nassen Standorten blieb diese Tendenz für die Parameter Trockenmasseertrag, generative Triebe/Pflanze, Spelzfrüchte/Fruchtstand und Samenertrag erhalten (Abb. A3-6). Demnach vermag eine Endophytpräsenz leistungsschwache Genotypen zu fördern, während Genotypen mit einem hohen Ertragspotential unbeeinflusst bleiben oder gehemmt werden. Bei Genotyp N, welcher im Durchschnitt die größten Trockenmasseerträge und Triebzahlen aufwies, erwiesen sich die meisten Pflanzen der EB Variante zur Samenernte als endophytfrei (Punkt 4.4.3).

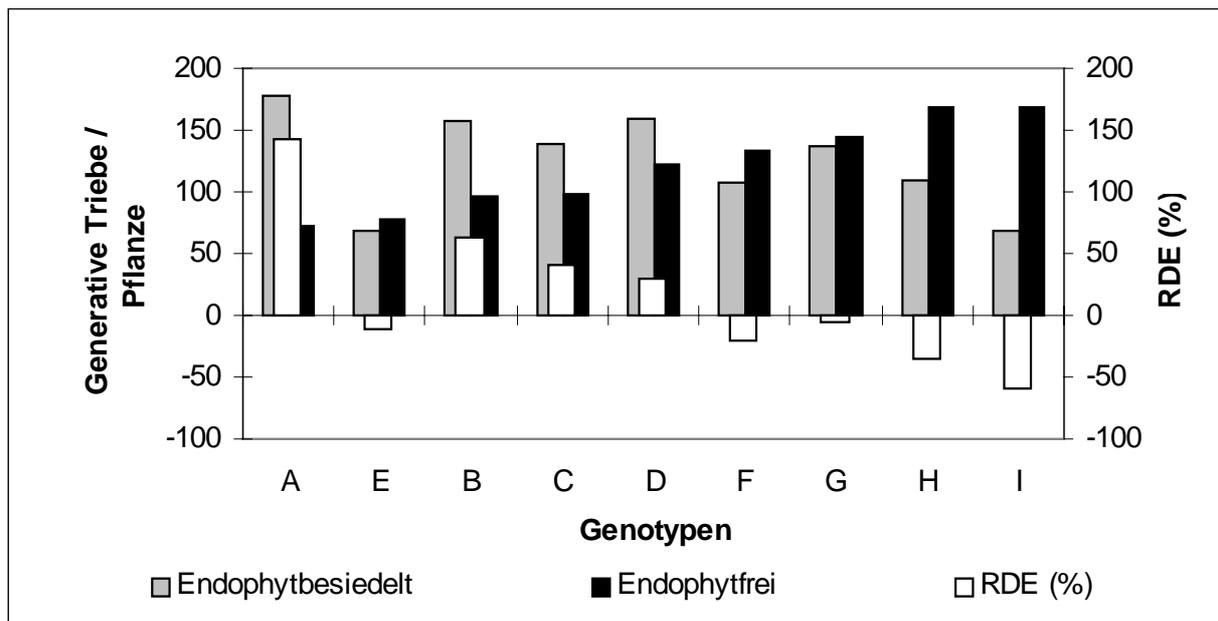


Abb. 10 Beziehung zwischen der Produktivität eines Genotypen, gemessen an der Anzahl generativer Triebe der endophytfreien Pflanzen und der Relativen Differenz zwischen den Endophytvarianten (RDE) in diesem Merkmal bei 9 *Lolium perenne*-Genotypen (Einzelpflanzen-Feldversuch, Samenernte 1999)

4.4.6 Nachwuchsernte

Die Nachwuchsperiode im Spätsommer 1999 kennzeichneten überdurchschnittlich hohe Temperaturen und geringe Niederschlagsmengen (siehe Punkt 3.4). Die meisten Genotypen reagierten darauf mit einem schwachen Nachwuchs und geringen Erträgen. Im Gesamtdurchschnitt wurden nur 36,8 g Frisch- und 14,4 g Trockenmasse pro Pflanze gebildet (Tab. 15). Besonders betroffen waren die Genotypen F und G, deren Klone unabhängig von ihrem Endophytstatus nicht mehr als 6 g Trockenmasse produzierten.

Bei der Mehrzahl der Genotypen führte die Endophytpräsenz zu einer Minderung des Nachwuchsvermögens. Signifikante Ertragsverluste traten bei den Klonen C, E, G, I und J auf. Endophytbedingte Zunahmen in den mittleren Frisch- und Trockenmasseerträgen konnten nur bei den Genotypen A, B und M nachgewiesen werden. Bei fünf Genotypen erhöhte die Endophytpräsenz die Bildung von Nachschossern, die aber nur in einem sehr geringen Umfang von den Pflanzen produziert wurden.

Tabelle 15 Nachwuchsernteergebnisse von 14 *Lolium perenne*-Genotypen jeweils mit (EB) und ohne (EF) Endophyten (Einzelpflanzen-Feldversuch 1999).

Sammelstandort	Genotyp	Frischmasse (g/Pflanze)		Trockenmasse (g/Pflanze)		Generative Triebe/Pflanze	
		EB	EF	EB	EF	EB	EF
	A	110,40	59,76	39,57	22,82	0,67	0,60
	B	52,49	31,81	23,14	14,18	0,60	0,60
	C	14,06	24,15	5,80	9,93	5,50	1,07
	D	25,16	43,55	10,80	16,28	10,60	4,36
trocken	E	13,73	22,76	6,67	10,45	0,13	0,47
	F	11,09	14,06	4,93	5,74	1,00	1,09
	G	4,86	13,93	2,92	6,00	5,36	3,40
	H	19,99	26,40	8,17	9,59	1,92	3,31
	I	22,22	34,85	10,68	16,61	2,67	1,27
wechsel-	J	24,21	59,10	9,81	21,81	1,67	0,07
feucht	K	50,59	48,37	17,70	19,63	0,50	0,53
	L	29,06	21,68	10,86	8,97	10,40	6,77
nass	M	65,81	43,77	25,61	17,49	16,13	1,08
	N	71,59	69,87	24,51	22,84	0,73	0,93
Mittelwert		36,80	36,72	14,37	14,45	4,13	1,83
Gesamtmittel		36,76		14,41		2,98	

EB Pflanzen sind den EF signifikant überlegen (einfaktorielle Varianzanalyse, F-Test), $\alpha=5\%$
 EF Pflanzen sind den EB signifikant unterlegen (einfaktorielle Varianzanalyse, F-Test), $\alpha=5\%$

Mit Hilfe der Relativen Differenz zwischen den Endophytvarianten (RDE) können die Auswirkungen einer *Neotyphodium*-Besiedelung auf verschiedene Ertragsmerkmale verglichen werden. So war zu beobachten, dass die Endophytpresenz zur Nachwuchsernte den mittleren Trockenmasseertrag pro Pflanze bei jenen Genotypen erhöhte, die zur Samenernte eine relativ hohe RDE in der mittleren Anzahl der generativen Triebe aufwiesen (Abb. 11).

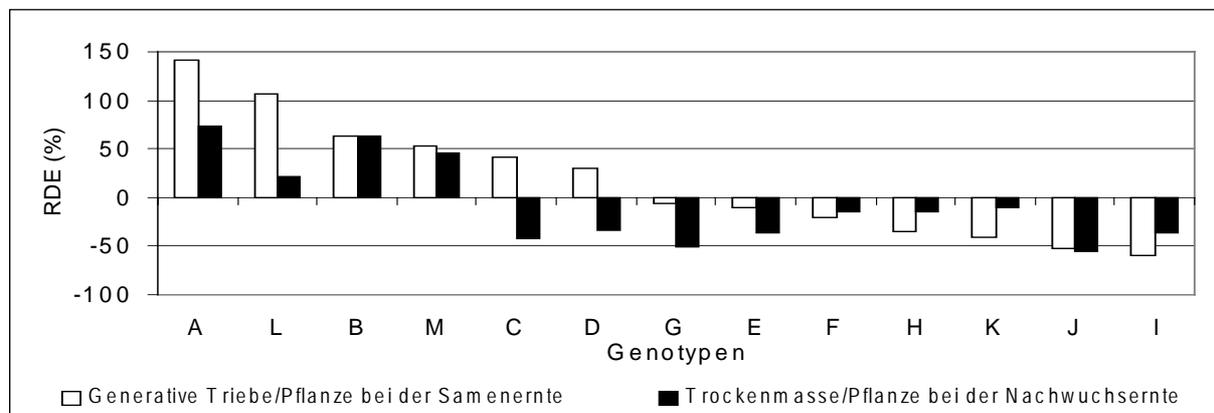


Abb. 11 Vergleich der Relativen Differenzen zwischen den Endophytvarianten (RDE) in den Merkmalen generative Triebe bei der Samenernte 1999 und Trockenmasseertrag bei der Nachwuchsernte 1999 von 13 *Lolium perenne*-Genotypen (Einzelpflanzen-Feldversuch).

4.4.7 Stärkegelelektrophorese

Die Isoenzymanalyse erwies sich als eine relativ effektive Methode zur Charakterisierung und Identifikation der Einzelpflanzen des Feldversuches. So konnten anhand der PGI- und ACP-Bandenmuster zwischen den meisten *Lolium perenne*-Genotypen genetisch bedingte Unterschiede nachgewiesen werden. Die Bandenmuster der Genotypen F und N sowie der Genotypen J und M waren jedoch jeweils gleich (Abb. 12).

Das Enzym PGI besteht aus zwei Polypeptiduntereinheiten. Die Zymogramme solcher dimeren Enzyme sind bei diploiden Homozygoten einbandig und bei diploiden Heterozygoten dreibandig¹. Die Analyse des PGI-Systems bei den Einzelpflanzen des Feldversuches ergab, daß insgesamt sechs Genotypen in diesem Merkmal homozygot waren. Die Ergebnisse lassen auf drei aktive Allele (PGI-1 bei Genotyp G; PGI-2 bei den Genotypen F, J, M und N; PGI-3 bei Genotyp I) an diesem Locus schließen. Fünf weitere Genotypen erwiesen sich als heterozygot.

Die Stärkegelzymogramme der Sauren Phosphatase ergaben sechs Genotypen mit jeweils einer (ACP-1 bei den Genotypen B, I, J und M; ACP-2 bei den Genotypen G und H) und vier Genotypen mit je zwei Banden. Diese Ergebnisse weisen auf eine monomere Enzymstruktur hin. Bei Genotyp L wurden jedoch drei ACP-Banden festgestellt. Dem könnte das Auftreten eines zweiten Locus und eine damit verbundene Überlagerung der Banden oder auch Polyploidie zugrunde liegen (GOTTLIEB, 1982), die genaue Ursache dieser Variation bleibt jedoch unklar.

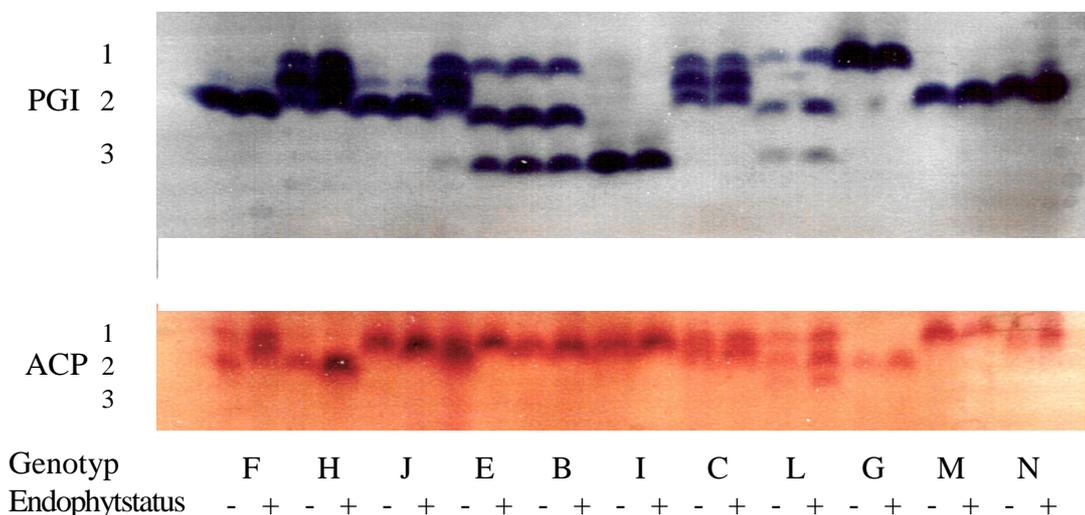


Abb.12 Bandenmuster der Isoenzyme Phosphoglucoisomerase (PGI) und Saure Phosphatase (ACP) von 11 der im Feldversuch geprüften *Lolium perenne*-Genotypen jeweils ohne (-) und mit (+) ihrem Endophyten

¹ Die von den beiden Allelen (1 und 2) codierten Polypeptide (I und II) binden sich nach dem Zufallsprinzip, woraus zwei Homodimere (jeweils zwei gleiche Polypeptide I-I bzw. II-II) und ein Heterodimer (zwei unterschiedliche Polypeptide I-II) resultieren.

Bisher wurden die Bandenmuster von 11 Genotypen vorgestellt, bei welchen die Pflanzen unabhängig vom Endophytstatus dasselbe Bandenmuster hatten. Bei drei Genotypen traten jedoch Unterschiede zwischen den Endophytvarianten auf (Tab. 16). Bei Genotyp A bildeten die EF Klone die Banden PGI-11 und ACP-22. Die EB Pflanzen zeigten dagegen die Bandenmuster PGI-12 und ACP-12. Dieselbe Veränderung im PGI-Bandenmuster trat bei Genotyp K auf, wobei jedoch hier das ACP-Bandenmuster bei beiden Endophytvarianten gleich war (ACP-12). Bei Genotyp E zeigten die EF Klone das Bandenmuster PGI-12, die EB Klone PGI-13 und beide Endophytvarianten ACP-11.

Tabelle 16 Bandenmuster der Isoenzymssysteme PGI und ACP bei den endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Klonen der Genotypen A, E und K

Enzym	Allel	Genotyp A		Genotyp E		Genotyp K	
		EF	EB	EF	EB	EF	EB
PGI	1	—	≡	≡	—	—	≡
	2		≡	≡	—		≡
	3				—		
ACP	1		—	—	—	—	—
	2	—	—			—	—

4.4.8 Zusammenfassung

In der Summe aller Genotypen waren die mittleren Ertragsdifferenzen zwischen den Endophytvarianten sowohl zur Samenernte als auch zur Nachwuchsernte nur sehr gering. Die einzelnen Genotypen zeigten jedoch bezüglich der Ertragsmerkmale große Unterschiede in ihrer Reaktion auf den Endophyten.

Die Entwicklung der Pflanzen wurde bei vier Genotypen durch den Endophyten beeinflusst. Bei Genotyp A begannen die EB Klone später mit dem Schossen als ihre EF Pendanten. Dagegen blieben die generativen Triebe der EF Klone erheblich länger grün, hatten eine längere Blühphase und somit eine sehr uneinheitliche Samenreife. Auch bei den Genotypen C und K wirkte sich Endophytpräsenz förderlich auf die Entwicklung der generativen Triebe aus, was in der Samenernte zu einem höheren mittleren Anteil an reifen Fruchtständen führte. Das Gegenteil war bei Genotyp I festzustellen.

Bei der Mehrzahl der Genotypen wurden zur Samenernte signifikante Endophyteeffekte festgestellt. Im Mittel führte die Endophytbesiedelung bei sieben Genotypen zu erheblich höheren, bei vier Genotypen dagegen zu geringeren Pflanzenerträgen. Auch der Einfluss des Endophyten auf die Samenqualität war vom Pflanzengenotyp abhängig. Bei fünf Genotypen war die durchschnittliche TKM der Spelzfrüchte bei den EB Klonen höher und bei weiteren

fünf Genotypen signifikant geringer als bei ihren EF Pendanten. Die mittlere Keimfähigkeit wurde durch die Endophytpräsenz nur in wenigen Fällen, dann aber stets positiv beeinflusst.

Die Ergebnisse der Samenernte weisen auf eine mögliche Beziehung zwischen der Pflanzenproduktivität eines Genotypen und dem Einfluss des Endophyten hin. In der Tendenz hatte die Endophytpräsenz bei Genotypen mit geringen mittleren Erträgen meist positive Effekte, während sie sich bei hoher Pflanzenproduktivität der EF Klone eher negativ auswirkte. In der Nachwuchsperiode war diese Wechselwirkung allerdings nicht mehr zu erkennen. Demnach sollte die Bedeutung dieser Beziehung über einen längeren Zeitraum und an einer größeren Anzahl von Genotypen geprüft werden.

Der Nachwuchs der Pflanzen erfolgte unter relativ trockenen und warmen Witterungsbedingungen. Bei den meisten Genotypen führte Endophytpräsenz im Durchschnitt zu geringeren Erträgen. Es zeigten nur jene Ökotypen positive Endophyteeffekte, bei welchen das Pflanzenwachstum bis zur Samenernte überdurchschnittlich vom Endophyten gefördert worden war.

Die Isoenzymanalyse der PGI- und ACP-Systeme ergab bei 11 der 14 Genotypen keine Unterschiede zwischen den Endophytvarianten. Dagegen zeigten die Endophytvarianten der Genotypen E und K Abweichungen im PGI-Bandenmuster. Bei Genotyp A war auch das ACP-Bandenmuster in Abhängigkeit vom Endophytstatus der Pflanzen verschieden.

4.5 Gefäßversuche mit *Lolium perenne*-Genotypen jeweils mit und ohne Endophyten

In diesen Versuchen wurde der Einfluss des Endophyten auf das Wachstum und die Entwicklung ausgewählter Genotypen des Feldversuches bei Wasserstress in Vergleich zu ausreichender Wasserversorgung geprüft.

4.5.1 Stressversuch 1

4.5.1.1 Genotyp B

Aufwuchs 1998: In der ersten Wachstumsphase bei ausreichender Wasserversorgung konnten deutliche Unterschiede in der Sprossentwicklung zugunsten der EF Pflanzen festgestellt werden. Bereits 13 Tage nach dem Versuchsbeginn am 06.07.1998 wiesen die EF Pflanzen im Vergleich zu den EB Klonen eine gesichert höhere mittlere Sprossanzahl pro Pflanze auf. 12 Tage später betrug die mittlere Differenz zwischen den Endophytvarianten 10 Triebe pro Pflanze (Abb. 13).

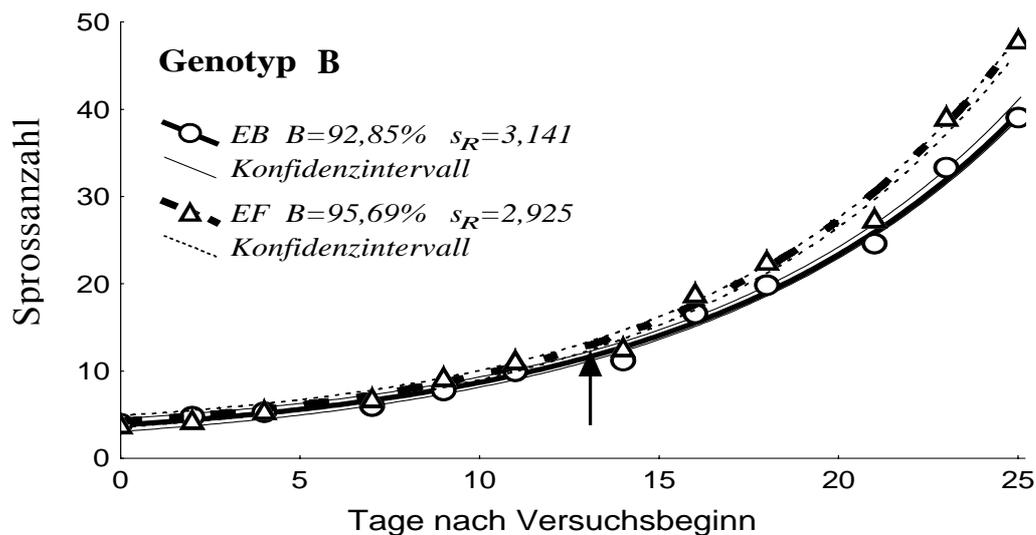


Abb. 13 Anzahl der vegetativen Triebe der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen B im Verlauf von 25 Tagen nach Versuchsbeginn (Schätzfunktion: $\hat{y}=a+b*\exp(c*(t-t_0))$); O bzw. Δ = Mittelwerte pro Tag von n=18 Einzelpflanzen)

Die Ergebnisse der 1. Ernte 1998 werden in der Tabelle 17 mitgeteilt. In der Kontrollvariante bildeten die EB Klone pro Pflanze durchschnittlich 189,2 Sprosse und 8,01 g Trockenmasse. Bei den EF Klonen lagen die Mittelwerte für diese Parameter geringfügig höher. Allerdings induzierte die Endophytpräsenz die Ausbildung von durchschnittlich 2,3 generativen Trieben pro Pflanze, so dass diesbezüglich eine signifikante Differenz zu den EF Klonen (0,0) vorliegt.

Der Trockenstress hatte einen negativen Einfluss auf das Pflanzenwachstum, wobei dieser Effekt bei den EB Klonen etwas geringer ausgeprägt war als bei den EF Pflanzen. Während die stressbedingten Ertragsminderungen bei den EB Klonen unbedeutend blieben, produzierten die EF Pflanzen im Durchschnitt signifikant weniger Sprosse und Trockenmasse als ihre ausreichend bewässerten Kontrollpflanzen. Die mittleren Blattflächen waren unabhängig vom Endophytstatus der Pflanzen signifikant reduziert. Zwischen den Endophytvarianten konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Die Überflutung wirkte sich dagegen positiv auf das Pflanzenwachstum aus. Hierbei wurden zwischen den Endophytvarianten signifikante Mittelwertdifferenzen im Trockenmasseertrag und im Sprossgewicht zugunsten der EF Pflanzen nachgewiesen. Dagegen waren die mittleren Blattflächen der EB Klone signifikant größer als die ihre EF Pendanten.

Tabelle 17 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen B nach ausreichender Wasserversorgung, Trockenstress und Überflutung, 1. Ernte 1998 (Stressversuch 1).

Varianten	Trockenmasse (g/Pflanze)		Veg. Triebe / Pflanze		Sprossgewicht (mg/veg. Trieb)		Gen. Triebe / Pflanze		Blattfläche (cm ²)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	8,01	9,63	189,2	204,7	41,0	47,4	2,3	0,0	5,40	4,93
Trockenstress	6,68	7,13 *	164,0	163,3 *	39,5	44,3	0,5 *	0,2	2,64 *	2,89 *
Überflutung	10,67 *	13,60 *	215,7	235,2	49,2 *	58,7 *	1,3	0,0	6,91 *	5,87 *
GD ¹	1,79		37,0		7,2		1,28		0,86	
RDT (%) ²	-17	-26	-13	-20	-4	-7	-79	.	-51	-41
RDÜ (%) ²	+33	+41	+14	+15	+20	+24	-43	.	+28	+19

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen der Stress- und der Kontrollvariante bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 Relative Differenz der Trockenstress- (RDT) bzw. der Überflutungsvariante (RDÜ) zur Kontrollvariante

Nachwuchs 1998: Während der Nachwuchsphase wurden die Pflanzen aller Varianten auf 75 % Wasserkapazität gegossen. Dabei zeigte sich, dass die EB Klone nach Trockenstress bzw. nach Überflutung im Laufe der ersten Woche ein gesichert größeres mittleres Blattlängenwachstum pro Tag aufwiesen als die EF Pflanzen (Abb. A7).

Zur Ernte waren bei den Pflanzen der Kontrollvariante keine endophytbedingten Unterschiede festzustellen (Tabelle 18). Die EB Klone produzierten im Durchschnitt 115,7 Triebe und 3,11 g Trockenmasse pro Pflanze, was mit den Ergebnissen der EF Pflanzen annähernd übereinstimmte.

Der vorangegangene Trockenstress hatte keinen wesentlichen Einfluss auf den Nachwuchs der Pflanzen. Beide Endophytvarianten erzielten ähnliche Erträge wie ihre ausreichend bewässerten Kontrollpflanzen. Die endophytbedingten Mittelwertdifferenzen waren nicht signifikant.

Die vorangegangene Überflutung wirkte sich auch auf das Nachwuchsvermögen positiv aus. Mit durchschnittlich 4,27 g erzielten die EB Klone etwas mehr an Pflanzentrockenmasse und bildeten im Durchschnitt signifikant größere Blätter aus als ihre EF Pendanten. Die mittlere Sprossanzahl betrug bei beiden Endophytvarianten rund 190 Triebe pro Pflanze.

Tabelle 18 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen B nach ausreichender Wasserversorgung, Trockenstress und Überflutung, 2. Ernte 1998 (Stressversuch 1).

Varianten	Trockenmasse (g/Pflanze)		Veg. Triebe / Pflanze		Sprossgewicht (mg/veg. Trieb)		Blattfläche (cm ²)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	3,11	3,21	115,7	139,0	27,6	24,6	3,08	2,84
Trockenstress	3,49	3,20	129,3	106,2	26,8	30,5 *	3,07	3,32
Überflutung	4,27 *	3,86	189,2 *	193,3 *	23,7	20,1	3,42	2,39
GD ¹	0,91		40,3		5,10		0,60	
RDT (%) ²	+12	0	+12	-24	-3	+24	0	+17
RDÜ (%) ²	+37	+20	+64	+39	-14	-18	+11	-16

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen der Stress- und der Kontrollvariante bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 Relative Differenz der Trockenstress- (RDT) bzw. der Überflutungsvariante (RDÜ) zur Kontrollvariante

1. Ernte 1999: Nach der Überwinterung wurden die Pflanzen analog zum Vorjahr weiterhin ausreichend mit Wasser versorgt, Trockenstress ausgesetzt oder überflutet. In dieser Wachstumsphase bildeten die Klone Fruchtstände. Die Ernteergebnisse zeigen die Tabellen 19 a und b.

In der Kontrollvariante produzierten die EF Klone durchschnittlich 184,0 vegetative und 94,7 generative Triebe sowie 33,2 g Trockenmasse pro Pflanze. Die Endophytpräsenz reduzierte die mittlere Anzahl der vegetativen Triebe signifikant, erhöhte jedoch gleichzeitig das durchschnittliche Sprossgewicht. Auf die mittlere Anzahl der generativen Triebe hatte der Endophyt keinen nachweisbaren Einfluss, das mittlere Halmgewicht und der durchschnittliche Trockenmasseertrag pro Pflanze waren jedoch bei den EB Klonen signifikant geringer als bei ihren EF Pendanten. In der Halmlänge, der Fahnenblattfläche und den Fruchtstandsmerkmalen (Ährchen- und Blütenanzahl) erwiesen sich die Mittelwertdifferenzen zwischen den Endophytvarianten als nicht signifikant. Im Durchschnitt bestanden die Fruchtstände aus 19 Ährchen, welche ihrerseits 6 Blüten enthielten. Die Ausbildung von Spelzfrüchten war in diesem Versuch sehr gering. Bei ausreichender Wasserversorgung betrug der mittlere Spelzfruchtansatz pro Blüten nur 2,24 % bei den EB und 3,46 % bei den EF Pflanzen. Im Ergebnis dessen waren auch die durchschnittlichen Samenerträge pro Pflanze mit 279,0 mg bei der EB Variante bzw. 381,2 mg bei der EF Variante sehr gering.

Tabelle 19 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen B nach ausreichender Wasserversorgung, Trockenstress und Überflutung, 1. Ernte 1999 (Stressversuch 1).

Tabelle 19 a

Varianten	Trockenmasse (g/Pflanze)		Veg. Triebe / Pflanze		Sprossgewicht (mg/veg. Trieb)		Gen. Triebe / Pflanze		Halmgewicht (mg/gen. Trieb)		Anteil der gen. Triebe (%)		Blattfläche (cm ²)		Fahnenblattfläche (cm ²)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	27,3	33,2	115,6	184,0	76,2	51,8	88,8	94,7	223,9	258,6	47,5	34,9	3,71	3,15	2,71	2,80
Trockenstress	28,9	29,4 *	81,7	127,5 *	81,1	58,4	98,8	88,5	229,1	247,1	55,1	42,7	3,50	3,09	3,02	3,26
Überflutung	24,7	30,4	206,0*	160,7	41,2 *	62,9	72,0	86,0	226,7	237,4	26,6 *	35,0	3,57	2,79 *	3,13	3,04
GD ¹	3,0 (3,2 ²)		44,3 (46,5 ²)		11,1 (11,6 ²)		16,4 (17,2 ²)		24,7 (25,9 ²)		10,7 (11,2 ²)		0,33 (0,34 ²)		0,47 (0,49 ²)	
RDT (%) ³	+6	-12	-29	-31	+6	+13	+11	-7	+2	-5	+16	+22	-6	-2	+11	+16
RDÜ (%) ³	-10	-8	+78	-13	-46	+21	-19	-9	+1	-8	-44	0	-4	-12	+15	+9

Tabelle 19 b

Varianten	Halmlänge (cm)		Ährchen / Fruchtstand		Blütchen / Ährchen		Spelzfruchtansatz / Blütchen (%)		Spelzfrüchte / Pflanze		TKM (g)		Samenmasse (mg/Pflanze)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	45,2	48,6	19,2	18,3	6,3	6,0	2,24	3,46	256,0	343,4	1,09	1,11	279,0	381,2
Trockenstress	43,8	44,9	18,4	18,9	6,3	6,2	1,70	0,63 *	187,1	60,3 *	1,21 *	1,16	226,8	69,7 *
Überflutung	45,8	46,2	18,8	19,1	6,3	6,4	1,88	0,86 *	161,4	91,8 *	1,11	1,27 *	179,2	115,7 *
GD ¹	4,4 (4,6 ²)		1,4 (1,5 ²)		0,4 (0,4 ²)		0,93 (0,97 ²)		96,8 (101,6 ²)		0,07		107,2 (112,5 ²)	
RDT (%) ³	-3	-8	-4	+3	0	+4	-24	-82	-27	-82	-10	-4	-19	-82
RDÜ (%) ³	+1	-5	-2	+5	+1	+7	-16	-75	-37	-73	-8	+10	-36	-70

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen der Stress- und der Kontrollvariante bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 GD für Mittelwertvergleiche mit Variante ‚Kontrolle EB‘, da aufgrund einer fehlenden Wiederholung in dieser Variante hier die Standardabweichung der Mittelwertdifferenzen abweicht.

3 Relative Differenz der Trockenstress- (RDT) bzw. der Überflutungsvariante (RDÜ) zur Kontrollvariante

Der Trockenstress beeinträchtigte vor allem das Wachstum der EF Klone. Bei diesen waren die mittlere Anzahl der vegetativen Triebe und der durchschnittliche Trockenmasseertrag signifikant reduziert. Die stressbedingten Verluste im Spelzfruchtansatz pro Blüten und auch im Samenertrag pro Pflanze betragen im Mittel 82 %. Bei den EB Klonen war der negative Trockenstresseinfluss auf die Ertragsmerkmale nicht signifikant. Im Gegensatz zu den EF Pflanzen erzielten die EB Klone durchschnittlich sogar etwas höhere Halmanzahlen und Trockenmasseerträge als ihre ausreichend bewässerten Kontrollen. Auch im mittleren Samenansatz pro Blüten wurde bei den EB Pflanzen kein Trockenstresseinfluss nachgewiesen, die TKM stieg sogar signifikant auf durchschnittlich 1,21 g an. Im Mittel produzierten die EB Pflanzen unter Trockenstress annähernd dasselbe an Spelzfrüchten und Samenmasse wie bei ausreichender Wasserversorgung und dabei signifikant mehr als ihre EF Pendanten.

Bei Überflutung erzielten die EF Pflanzen mit durchschnittlich 160,7 vegetativen und 86,0 generativen Trieben ähnliche Werte wie bei ausreichender Wasserversorgung. Der mittlere Samenertrag war hingegen aufgrund des wesentlich reduzierten mittleren Spelzfruchtansatzes signifikant gemindert. Die Endophytbesiedelung bewirkte die Ausbildung einer sehr hohen Anzahl von vegetativen Trieben (im Durchschnitt 206,0 pro Pflanze). Dem gegenüber war die mittlere Anzahl der generativen Triebe bei den EB Klonen etwas geringer als bei den EF Pflanzen. Der durchschnittliche Samenertrag blieb bei den EB Pflanzen von der Überflutung kaum beeinflusst.

Die Ergebnisse lassen erkennen, dass der Endophyteneffekt auf die generative Entwicklung von der Wasserversorgung beeinflusst wurde. Bei ausreichender Wasserversorgung und auch bei Trockenstress bewirkte die Endophytenpräsenz, dass im Durchschnitt pro Pflanze ein signifikant größerer Anteil der Triebe Fruchtstände bildete, förderte also ihre generative Entwicklung. Bei Überflutung war dagegen der mittlere Anteil an generativen Trieben pro Pflanze durch den Endophyten um 24 % reduziert (Abb. 14).

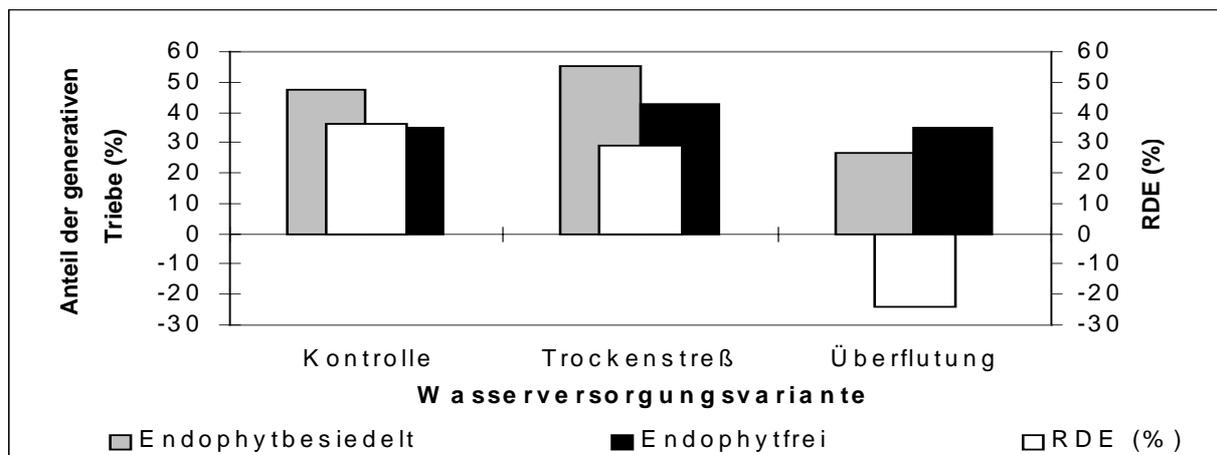


Abb.14 Einfluss des Endophyten (dargestellt als Relative Differenz zwischen den Endophytvarianten (RDE)) auf den mittleren Anteil der generativen Triebe bei den Pflanzen des Genotypen B in Abhängigkeit von der Wasserversorgung.

Nachwuchs 1999: In der Nachwuchsperiode wurden die Pflanzen aller Varianten analog zum Vorjahr ausreichend mit Wasser versorgt. Die täglichen Blattlängenmessungen an den neu austreibenden Sprossen ergaben im Unterschied zum Nachwuchs 1998 keine endophytbedingten Differenzen (Abb. A8).

Die Ergebnisse der Nachwuchsernte vermittelt Tabelle 20. Bei ausreichender Wasserversorgung erzielten beide Endophytvarianten mit über 300 Trieben pro Pflanze eine sehr hohe mittlere Sprossanzahl. Die Triebe blieben allerdings sehr klein und die durchschnittlichen Trockenmasseerträge aus dieser Erntefraktion mit 4,00 g bei den EB und 4,53 g bei den EF Klonen nur gering. Der mittlere Ertrag an Stoppelmasse betrug unabhängig vom Endophytstatus der Pflanzen rund 12 g.

Der vorangegangene Trockenstress reduzierte den Nachwuchs bei beiden Endophytvarianten signifikant. Mit 195,0 vegetativen Trieben und 2,49 g Trockenmasse pro Pflanze erzielten die EB Pflanzen im Durchschnitt etwas geringere Werte als ihre EF Pendanten, die Unterschiede zwischen den Endophytvarianten waren jedoch nicht signifikant.

Die vorangegangene Überflutung hatte keinen nachweisbaren Einfluss auf die mittlere Sprossanzahl pro Pflanze. Die Blattfläche, das Sprossgewicht und der Trockenmasseertrag aus dieser Erntefraktion waren dagegen bei beiden Endophytvarianten gegenüber ihren Kontrollpflanzen im Durchschnitt signifikant reduziert. Die mittlere Stoppelmasse blieb jedoch von der Überflutung unbeeinflusst.

Tabelle 20 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen B nach ausreichender Wasserversorgung, Trockenstress und Überflutung, 2. Ernte 1999 (Stressversuch 1).

Varianten	Sprosstrockenmasse (g/Pflanze)		Veg. Triebe / Pflanze		Sprossgewicht (mg/veg. Trieb)		Blattfläche (cm ²)		Stoppeltrockenmasse (g/Pflanze)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	4,00	4,53	314,4	331,5	12,8	13,8	2,81	3,06	11,92	11,76
Trockenstress	2,49	3,38	195,0 *	232,0 *	11,9	14,5	1,65 *	1,81 *	10,88	9,66 *
Überflutung	1,88 *	3,04 *	277,0	267,5	6,7 *	10,8 *	2,25 *	2,14 *	11,57	12,56
GD ¹	1,46 (1,53 ²)		88,0 (92,3 ²)		3,4 (3,5 ²)		0,37 (0,39 ²)		1,93 (2,03 ²)	
RDT (%) ³	-38	-25	-38	-30	-7	+5	-41	-41	-9	-18
RDÜ (%) ³	-53	-33	-12	-19	-48	-21	-20	-30	-3	+7

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen der Stress- und der Kontrollvariante bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 GD für Mittelwertvergleiche mit Variante ‚Kontrolle EB‘, da aufgrund einer fehlenden Wiederholung in dieser Variante hier die Standardabweichung der Mittelwertdifferenzen abweicht.

3 Relative Differenz der Trockenstress- (RDT) bzw. der Überflutungsvariante (RDÜ) zur Kontrollvariante

Gesamtertrag der Pflanzen: Summiert über die vier Ernten, produzierten die EB Klone bei ausreichender Wasserversorgung im Durchschnitt signifikant weniger an oberirdischer Pflanzentrockenmasse als ihre EF Pendants (Tabelle 21). Auf die mittlere Wurzeltrockenmasse hatte die Endophytbesiedelung dagegen in der Tendenz einen positiven Einfluss. Im mittleren Gesamtertrag an Pflanzentrockenmasse wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Endophytvarianten festgestellt.

Der zeitweilige Trockenstress hatte lediglich bei den EF Pflanzen signifikante Verluste in der mittleren Sprosstrockenmasse zur Folge. Im Unterschied zur Kontrollvariante war die Mittelwertdifferenz zwischen den EB und den EF Klonen in diesem Merkmal nicht mehr signifikant. Die durchschnittliche Wurzeltrockenmasse war dagegen bei beiden Endophytvarianten um die Hälfte geringer als bei ihren Kontrollpflanzen. Insgesamt bildeten sowohl die EF als auch die EB Pflanzen durchschnittlich rund 60 g an Pflanzentrockenmasse.

Die zeitweilige Überflutung hatte keinen nachweisbaren Einfluss auf die mittlere Sprosstrockenmasse der Pflanzen. Wie auch in der Kontrollvariante erzielten die EF Klone signifikant höhere Werte als ihre EB Pendants. Die durchschnittliche Wurzeltrockenmasse war bei beiden Endophytvarianten im Vergleich zu ihren Kontrollpflanzen erheblich reduziert. Dieser negative Überflutungseffekt war bei den EF Klonen wesentlich stärker ausgeprägt, was zu einer signifikanten Differenz zugunsten der EB Variante führte. Mit durchschnittlich 65,5 g produzierten die EB Klone jedoch insgesamt weniger an Pflanzentrockenmasse als ihre EF Pendants.

Tabelle 21 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen B nach ausreichender Wasserversorgung, Trockenstress und Überflutung, Gesamtertrag pro Pflanze, summiert über 4 Ernten (Stressversuch 1).

Varianten	Sprosstrockenmasse (g/Pflanze)		Wurzeltrockenmasse (g/Pflanze)		Spross-Wurzel-Verhältnis (1: \bar{X})		Pflanzentrockenmasse (g/Pflanze)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	55,7	62,3	15,3	12,7	0,27	0,21	70,9	75,0
Trockenstress	52,5	52,8 *	8,1 *	6,6 *	0,16 *	0,12 *	60,6 *	59,3 *
Überflutung	53,0	63,5	12,5 *	8,4 *	0,24	0,13 *	65,5	71,9
GD ¹	4,0 (4,2 ²)		2,6 (2,7 ²)		0,77 (0,79 ²)		5,6 (5,8 ²)	
RDT (%) ³	- 6	- 15	- 47	- 48	- 43	- 43	- 15	- 21
RDÜ (%) ³	- 5	+ 2	- 18	- 33	- 14	- 38	- 8	- 4

 EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

 EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen der Stress- und der Kontrollvariante bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 GD für Mittelwertvergleiche mit Variante ‚Kontrolle EB‘, da aufgrund einer fehlenden Wiederholung in dieser Variante hier die Standardabweichung der Mittelwertdifferenzen abweicht.

3 Relative Differenz der Trockenstress- (RDT) bzw. der Überflutungsvariante (RDÜ) zur Kontrollvariante

4.5.1.2 Genotyp M

Aufwuchs 1998: Analog zu Genotyp B bildeten die EF Klone des Genotypen M in der ersten Wachstumsphase eine höhere mittlere Anzahl vegetativer Triebe, als ihre EB Pendant. 25 Tagen nach dem Versuchsbeginn am 06.07.1998 betrug diese Differenz im Durchschnitt 6 Sprosse pro Pflanze (Abb. 15).

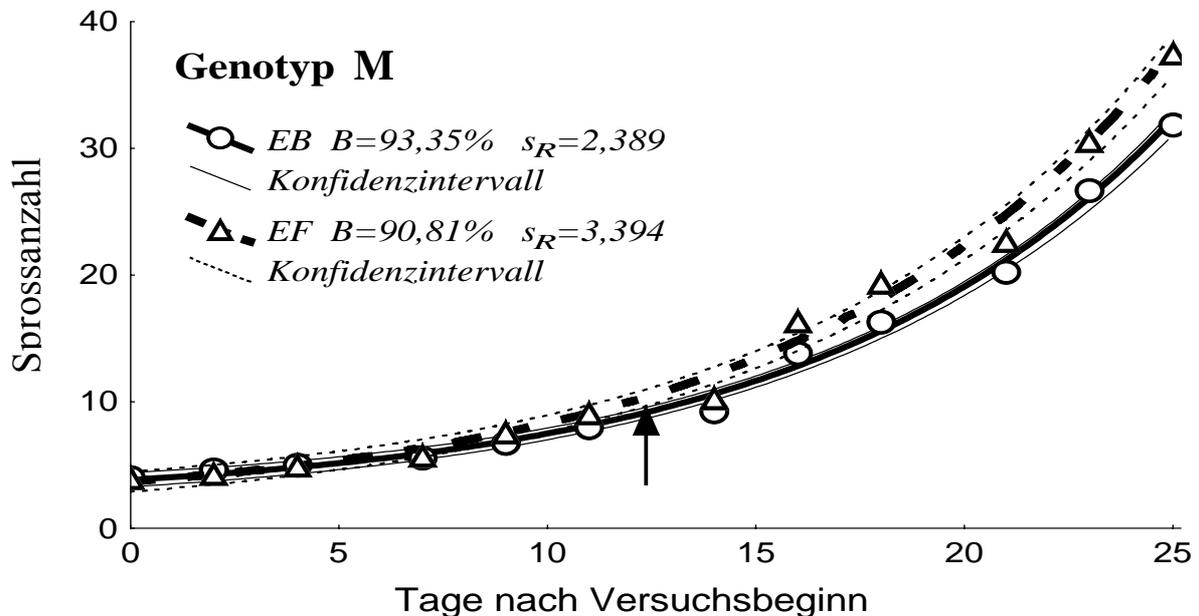


Abb. 15 Anzahl der vegetativen Triebe der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen M im Verlauf von 25 Tagen nach Versuchsbeginn (Schätzfunktion: $\hat{y}=a+b*\exp(c*(t-t_0))$); O bzw. Δ = Mittelwerte pro Tag von $n=18$ Einzelpflanzen)

Bei ausreichender Wasserversorgung wurde dieser negative Endophyteeffekt auch zur 1. Ernte 1998 festgestellt (Tab. 22). Mit durchschnittlich 162,5 Trieben und 11,02 g Trockenmasse erzielten die EB Klone pro Pflanze signifikant geringere Werte als ihre EF Pendant, welche im Mittel 191,5 Sprosse und 12,30 g Trockenmasse gebildet hatten.

Der Trockenstress hatte keinen nachweisbaren Einfluss auf die mittlere Sprossanzahl, reduzierte jedoch im Durchschnitt pro Pflanze den Trockenmasseertrag, das Sprossgewicht und die Blattfläche signifikant. Da die Ertragsverluste bei den EB Klonen im Vergleich zu den EF Pflanzen etwas geringer waren, erwiesen sich die Unterschiede zwischen den Endophytvarianten unter Trockenstressbedingungen als nicht signifikant. Unabhängig von ihrem Endophytstatus bildeten die Pflanzen im Mittel rund 8 g Trockenmasse und 170 vegetative Triebe.

Auch bei Überflutung wurden keine negativen Endophyteeffekte mehr festgestellt. Im Durchschnitt produzierten die Klone beider Endophytvarianten mit rund 11 g Trockenmasse und 180 Trieben pro Pflanze bei dieser Wasserversorgungsstufe annähernd gleiche Erträge.

Tabelle 22 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen M nach ausreichender Wasserversorgung, Trockenstress und Überflutung, 1. Ernte 1998 (Stressversuch 1).

Varianten	Trockenmasse (g/Pflanze)		Veg. Triebe / Pflanze		Sprossgewicht (mg/veg. Trieb)		Blattfläche (cm ²)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	11,02	12,30	162,5	191,5	68,2	64,7	6,15	7,24
Trockenstress	8,01 *	8,03 *	167,7	176,5	48,7 *	45,7 *	3,61 *	3,55 *
Überflutung	10,60	11,41	180,0	178,0	59,1 *	64,7	7,97 *	6,92
GD ¹	0,95		21,6		6,8		0,96	
RDT (%) ²	-27	-35	+3	-8	-29	-29	-41	-51
RDÜ (%) ²	-4	-7	+11	-7	-13	0	+30	-4

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen der Stress- und der Kontrollvariante bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 Relative Differenz der Trockenstress- (RDT) bzw. der Überflutungsvariante (RDÜ) zur Kontrollvariante

Nachwuchs 1998: Während der Nachwuchsperiode wurden alle Pflanzen ausreichend mit Wasser versorgt. Die im Laufe der ersten fünf Tage täglich gemessene Blattlänge ergab keine Unterschiede zwischen den Endophytvarianten (Abb. A9).

Die Ernteergebnisse zeigt Tabelle 23. Wie zuvor, bildeten die EB Klone bei ausreichender Wasserversorgung mit durchschnittlich 162,8 Sprossen pro Pflanze signifikant weniger vegetative Triebe, als ihre EF Pendanten. Aufgrund ihres etwas höheren mittleren Sprossgewichtes waren jedoch die Trockenmasseerträge im Durchschnitt bei beiden Endophytvarianten ähnlich.

Tabelle 23 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen M nach ausreichender Wasserversorgung, Trockenstress und Überflutung, 2. Ernte 1998 (Stressversuch 1).

Varianten	Trockenmasse (g/Pflanze)		Veg. Triebe / Pflanze		Sprossgewicht (mg/veg. Trieb)		Blattfläche (cm ²)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	3,97	4,42	162,8	216,3	24,4	20,5	2,94	2,78
Trockenstress	1,41 *	2,54 *	58,3 *	114,2 *	24,8	23,3	2,89	2,87
Überflutung	3,38	3,65 *	145,3	132,3 *	23,9	28,6 *	2,68	2,85
GD ¹	0,62		29,5		4,6		0,52	
RDT (%) ²	-65	-43	-64	-47	+2	+14	-2	+3
RDÜ (%) ²	-15	-17	-11	-39	-2	+40	-9	+2

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen der Stress- und der Kontrollvariante bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 Relative Differenz der Trockenstress- (RDT) bzw. der Überflutungsvariante (RDÜ) zur Kontrollvariante

In Anschluss an den Trockenstress zeigten die Pflanzen ein sehr schlechtes Nachwuchsvermögen. Besonders betroffen waren die EB Klone. Mit 58,3 Trieben und 1,41 g Trockenmasse pro Pflanze produzierten sie im Mittel rund 65 % weniger als ihre Kontrollpflanzen. Signifikante Ertragsverluste traten auch bei den EF Klonen auf, ihre Werte lagen jedoch im Vergleich zu den EB Pendants wesentlich höher. Auf das mittlere Sprossgewicht und die durchschnittliche Blattfläche hatten jedoch weder der Trockenstress noch der Endophyt einen nachweisbaren Einfluss.

Die vorangegangene Überflutung reduzierte vor allem den Nachwuchs der EF Klone. Mit 132 Trieben bildeten sie im Durchschnitt 39 % weniger Sprosse pro Pflanze als ihre ausreichend bewässerten Kontrollpflanzen. Trotz des wesentlich höheren mittleren Sprossgewichtes hatte das im Mittel signifikant geringere Trockenmasseerträge zur Folge. Bei den EB Pflanzen waren die mittleren Ertragsverluste im Vergleich zur Kontrolle nicht signifikant.

1. Ernte 1999: Nach der Überwinterung wurden die Pflanzen entsprechend ihrer Behandlungsvariante im Vorjahr wiederum ausreichend mit Wasser versorgt, Trockenstress ausgesetzt oder überflutet. Wie die Ernteergebnisse zeigen, hatten die Klone des Genotypen M auch in dieser Wachstumsperiode vornehmlich vegetative Triebe gebildet (Tabellen 24 a und b). In der Kontrollvariante erzielten die EB Pflanzen mit durchschnittlich 290,2 Sprossen eine annähernd gleiche Anzahl an vegetativen Trieben wie ihre EF Pendants. Im Mittel wurden pro Pflanze lediglich 7 Sprosse generativ, der durchschnittliche Trockenmasseertrag betrug bei beiden Endophytvarianten rund 16 g.

Unabhängig vom Endophytstatus der Pflanzen reduzierte der Trockenstress die mittlere Anzahl der vegetativen Sprosse, erhöhte aber gleichzeitig die durchschnittliche Anzahl ihrer generativen Triebe auf das Vierfache (rund 28 pro Pflanze) und steigerte erheblich das mittlere Halmgewicht. Im Ergebnis erzielten sowohl die EB als auch die EF Klone mit rund 21 g im Mittel signifikant höhere Trockenmasseerträge pro Pflanze als ihre ausreichend bewässerten Kontrollen.

Die Überflutung wirkte sich im Durchschnitt, ähnlich dem Trockenstress, negativ auf die vegetative Triebzahl und positiv auf die generative Triebzahl aus. Die Endophytpräsenz war hierbei von Nachteil. So produzierten die EB Klone eine wesentlich geringere mittlere Anzahl an generativen Trieben und durchschnittlich signifikant weniger an Trockenmasse pro Pflanze als ihre EF Pendants.

Analog zu Genotyp B bildeten die Klonpflanzen des Genotypen M pro Fruchtstand nur sehr wenig Spelzfrüchte aus. Zusammen mit der niedrigen Anzahl an generativen Trieben bewirkte das einen extrem geringen mittleren Samenertrag pro Pflanze. Endophytbedingte Unterschiede traten hier aufgrund der hohen Variabilität zwischen den Wiederholungen innerhalb der einzelnen Varianten nicht auf.

Tabelle 24 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen M nach ausreichender Wasserversorgung, Trockenstress und Überflutung, 1. Ernte 1999 (Stressversuch 1).

Tabelle 24 a

Varianten	Trockenmasse (g/Pflanze)		Veg. Triebe / Pflanze		Sprossgewicht (mg/veg. Trieb)		Gen. Triebe / Pflanze		Halmgewicht (mg/gen. Trieb)		Blattfläche (cm ²)		Fahnenblattfläche (cm ²)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	16,0	16,1	290,2	274,8	51,5	54,9	6,5	6,7	177,4	197,8	4,21	3,38	1,98	1,99
Trockenstress	21,1 *	20,4 *	168,5 *	222,8 *	76,1 *	58,3	28,2 *	28,0 *	290,2 *	271,4 *	4,45	3,65	2,21	2,15
Überflutung	15,1	17,8	241,5 *	259,3	52,2	52,8	12,7	24,0 *	186,5	181,7	3,47 *	3,05	2,13	1,80
GD ¹	2,6		38,0		6,9		10,6		66,4 (69,7 ²)		0,49		0,60 (0,63 ²)	
RDT (%) ³	+32	+27	-42	-19	+48	+6	+333	+320	+64	+37	+6	+8	+12	+8
RDÜ (%) ³	-6	+11	-17	-6	+1	-4	+95	+260	+5	-8	-18	-10	+8	-10

Tabelle 24 b

Varianten	Halmlänge (cm)		Ährchen / Fruchtstand		Blütchen / Ährchen		Spelzfruchtansatz / Blütchen (%)		Spelzfrüchte / Pflanze		TKM (g)		Samenmasse (mg/Pflanze)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	34,9	40,3	20,9	21,5	6,2	6,0	1,08	2,53	50,3	39,4	1,40	1,46	70,2	57,5
Trockenstress	38,0	39,5	22,3	21,3	5,7 *	5,9	2,05	3,76	42,4	78,7	1,38	1,35 *	58,3	105,8
Überflutung	33,1	36,3	20,0	20,3	6,2	6,1	1,18	3,03	23,8	89,0	1,34	1,25 *	31,8	111,5
GD ¹	5,7 (6,0 ²)		1,9 (2,0 ²)		0,2 (0,2 ²)		2,71 (2,85 ²)		68,9 (72,2 ²)		0,10		93,4 (97,9 ²)	
RDT (%) ³	+9	-2	+7	-1	-8	-2	-48	-33	-16	+100	-1	-8	-17	+84
RDÜ (%) ³	-5	-10	-5	-6	0	+3	-42	-20	-53	+126	-3	-7	-55	+94

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen der Stress- und der Kontrollvariante bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 GD für Mittelwertvergleiche mit Variante ‚Kontrolle EB‘, da aufgrund fehlender generativer Triebe bei einer Wiederholung dieser Variante hier die Standardabweichung der Mittelwertdifferenzen abweicht.

3 Relative Differenz der Trockenstress- (RDT) bzw. der Überflutungsvariante (RDÜ) zur Kontrollvariante

Nachwuchs 1999: Während der Nachwuchsperiode wurden die Pflanzen aller Varianten einheitlich auf 85 % Wasserkapazität gegossen. Die Blattlängenmessungen während der ersten Woche ergaben keine nachweisbaren Endophyteeffekte (Abb. A10). Die Ernteergebnisse vermittelt Tabelle 25.

Bei ausreichender Wasserversorgung erzielten die EB Klone mit durchschnittlich 3,71 g Sprosstrockenmasse pro Pflanze wesentlich geringere Erträge als ihre EF Pendanten. Im Mittel waren auch das Sprossgewicht und die Blattfläche durch den Endophyten signifikant reduziert. In der mittleren Stoppelmasse traten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Endophytvarianten auf.

Der vorangegangene Trockenstress reduzierte den Nachwuchs der Pflanzen erheblich. Die Verluste in der Sprosstrockenmasse, der Anzahl der Triebe, dem Sprossgewicht und der Blattfläche waren im Durchschnitt bei beiden Endophytvarianten signifikant. Auf die mittlere Stoppelmasse hatte der Trockenstress keinen nachweisbaren Einfluss.

Auch die vorangegangene Überflutung wirkte sich negativ auf das Nachwuchsvermögen der Pflanzen aus. Die mittlere Sprossanzahl war bei der EB Variante auf 163,7 und bei der EF Variante auf 187,2 Triebe pro Pflanze reduziert, die stressbedingten Trockenmasseverluste aus dieser Erntefraktion betragen unabhängig vom Endophytstatus der Pflanzen durchschnittlich 80 %. Im Gegensatz dazu nahm die mittlere Stoppelmasse nach der Überflutung bei beiden Endophytvarianten im Vergleich zur Kontrolle signifikant zu.

Tabelle 25 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen M nach ausreichender Wasserversorgung, Trockenstress und Überflutung, 2. Ernte 1999 (Stressversuch 1).

Varianten	Sprosstrockenmasse (g/Pflanze)		Veg. Triebe / Pflanze		Sprossgewicht (mg/veg. Trieb)		Blattfläche (cm ²)		Stoppeltrockenmasse (g/Pflanze)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	3,71	4,98	280,0	342,5	12,2	14,7	2,92	3,30	6,94	8,31
Trockenstress	1,37 *	2,16 *	154,2 *	219,3 *	8,3 *	12,0 *	1,61 *	1,70 *	7,30	9,10
Überflutung	0,75 *	0,98 *	163,7 *	187,2 *	4,4 *	5,9 *	0,99 *	1,25 *	9,72 *	10,52 *
GD ¹	0,99		92,1		2,5		0,31		2,08	
RDT (%) ²	-63	-57	-45	-36	-32	-19	-45	-49	+5	+10
RDÜ (%) ²	-80	-80	-42	-45	-64	-60	-66	-62	+40	+27

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen der Stress- und der Kontrollvariante bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 Relative Differenz der Trockenstress- (RDT) bzw. der Überflutungsvariante (RDÜ) zur Kontrollvariante

Gesamtertrag der Pflanzen: Summiert über die vier Ernten bildeten die EB Pflanzen der Kontrollvariante im Durchschnitt signifikant weniger an Sprosstrockenmasse als ihre EF Pendanten (Tabelle 26). Die endophytbedingten Mittelwertdifferenzen in der Wurzeltrockenmasse, im Spross-Wurzel-Verhältnis und im Gesamtertrag an Pflanzentrockenmasse waren nicht signifikant.

Der Trockenstress führte bei den EF Klonen zu signifikanten Mindererträgen in der mittleren Sprosstrockenmasse und reduzierte bei beiden Endophytvarianten die Wurzelrockenmasse um durchschnittlich 60 %. Der mittlere Gesamtertrag an Trockenmasse betrug unabhängig vom Endophytstatus der Klone noch rund 50 g pro Pflanze.

Die Überflutung hatte keinen nachweisbaren Einfluss auf die mittlere Sprosstrockenmasse. Hier wurde, wie auch bei den Kontrollpflanzen, ein signifikanter negativer Endophyteeffekt festgestellt. Die Wurzelrockenmassen waren im Durchschnitt bei den EB Klonen auf 12,2 g und bei den EF Pflanzen auf 10,9 g reduziert. Insgesamt produzierten die Klone beider Endophytvarianten im Mittel rund 20 % weniger an Pflanzentrockenmasse als ihre Kontrollpflanzen.

Tabelle 26 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen M nach ausreichender Wasserversorgung, Trockenstress und Überflutung, Gesamtertrag pro Pflanze summiert über 4 Ernten (Stressversuch 1).

Varianten	Sprosstrockenmasse (g/Pflanze)		Wurzelrockenmasse (g/Pflanze)		Spross-Wurzel-Verhältnis (1: \bar{X})		Pflanzentrockenmasse (g/Pflanze)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	41,6	46,1	24,0	21,8	0,56	0,48	65,6	67,8
Trockenstress	39,1	42,2 *	9,9 *	8,7 *	0,25 *	0,20 *	49,0 *	50,9 *
Überflutung	39,5	44,4	12,2 *	10,9 *	0,31 *	0,24 *	51,8 *	55,2 *
GD ¹	3,4		7,8		0,19		8,9	
RDT (%) ²	- 6	- 8	- 59	- 60	- 55	- 58	- 25	- 25
RDÜ (%) ²	- 5	- 4	- 49	- 50	- 45	- 49	- 21	- 19

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen der Stress- und der Kontrollvariante bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 Relative Differenz der Trockenstress- (RDT) bzw. der Überflutungsvariante (RDÜ) zur Kontrollvariante

4.5.1.3 Zusammenfassung und Vergleich mit den Ergebnissen im Feldversuch

Die Genotypen B und M entstammten jeweils einem trockenen und einem nassen Standort. Bei beiden wurden im Feldversuch (Punkt 4.4) sowohl zur Samenernte als auch im Nachwuchs positive Endophyteeffekte auf die Ertragsmerkmale nachgewiesen. Im vorliegenden Gefäßversuch konnte das nicht festgestellt werden.

Bei ausreichender Wasserversorgung produzierten die EB Klone des Genotypen B im Durchschnitt meist geringfügig, zur 1. Ernte 1999 jedoch signifikant weniger Trockenmasse pro Pflanze als ihre EF Pendanten. Das führte zu einem wesentlich geringeren mittleren Gesamtertrag an oberirdischer Pflanzentrockenmasse bei der EB Variante. Allerdings förderte der Endophyt die generative Entwicklung der Sprosse: Zur 1. Ernte 1998 hatten lediglich die EB Klone Fruchtstände gebildet; zur Samenernte 1999 wurde bei den EB Klonen im Durchschnitt pro Pflanze ein wesentlich größerer Anteil der Triebe generativ als bei den EF Klonen.

Der Trockenstress hatte vor allem bei den EF Klonen einen negativen Einfluss auf das Pflanzenwachstum. Die stressbedingten Ertragsminderungen gegenüber der Kontrollvariante waren bei den EF Pflanzen häufig signifikant. Dagegen erzielten die EB Klone bei Wassermangel meist ähnliche Erträge wie bei ausreichender Wasserversorgung, wobei der positive Einfluss des Endophyten auf die generative Entwicklung erhalten blieb. Zur Samenernte 1999 lagen der Spelzfruchtansatz und auch der Samenertrag im Durchschnitt bei den EB Klonen signifikant höher als bei ihren EF Pendanten. Die in der Kontrollvariante beobachteten negativen Endophyteneffekte traten bei Trockenstress nicht auf und der mittlere Gesamtertrag an oberirdischer Pflanzentrockenmasse war bei beiden Endophytenvarianten annähernd gleich.

Im 1. Versuchsjahr bewirkte die Überflutung im Vergleich zur Kontrollvariante ein signifikant verbessertes Pflanzenwachstum. Das ließ eine suboptimale Wasserversorgung der Kontrollpflanzen vermuten, woraufhin deren Wasserversorgung im 2. Versuchsjahr auf 85 % WK erhöht wurde. Die Endophytenbesiedelung hatte bei Überflutung eine Verminderung des mittleren Sprossgewichtes und im Durchschnitt größere Blattflächen zur Folge (signifikant zu jeweils 3 Ernteterminen). Der oben beschriebene positive Endophyteneffekt auf die generative Entwicklung war hier nicht festzustellen. Im Gegensatz zu der Kontroll- und der Trockenstressvariante war die mittlere Anzahl der vegetativen Triebe bei den EB Klonen geringfügig höher und der durchschnittliche Anteil an generativen Trieben etwas geringer als bei den EF Pflanzen. Im Mittel produzierten die EB Klone signifikant weniger an oberirdischer Pflanzentrockenmasse, erzielten jedoch wesentlich höhere Wurzeltrockenmasseerträge als ihre EF Pendanten.

Bei Genotyp M bildeten die EB Pflanzen in der Kontrollvariante durchschnittlich signifikant weniger Sprosse und Trockenmasse als die EF Klone (signifikant zu jeweils 2 Ernteterminen). Der Trockenstress reduzierte die mittleren Erträge der Pflanzen beider Endophytenvarianten gegenüber der Kontrolle signifikant, wobei die EB Klone im Durchschnitt wiederum eine geringere Anzahl an Trieben produzierten als ihre EF Pendanten (signifikant zu 2 Ernteterminen). Im Gegensatz zu Genotyp B hatte die Endophytenpräsenz bei Genotyp M demnach keine verbesserte Trockenstresstoleranz zur Folge. Es kann somit angenommen werden, dass die Wasserversorgung am Herkunftsort der Genotypen für die Ausprägung von Endophyteneffekten auf die Trockenstresstoleranz von Bedeutung ist. Auch bei Überflutung erzielten die EB Klone des Genotypen M im Durchschnitt geringere Gesamterträge an oberirdischer Trockenmasse als ihre EF Pendanten. Somit konnten in diesem Versuch keine positiven Endophyteneffekte auf die Überflutungstoleranz der Pflanzen nachgewiesen werden.

Im Vergleich mit den Ergebnissen des Feldversuches bildeten die Pflanzen des Genotypen M im Gefäßversuch eine auffallend geringe mittlere Anzahl an generativen Trieben. Vermutlich besitzt dieser Genotyp ein hohes Vernalisationsbedürfnis, das im Gefäßversuch nicht ausreichend befriedigt wurde. Insofern scheinen also auch die Wachstumsbedingungen während der Winterzeit Einfluss auf die Ausprägung von Endophyteneffekten ausgeübt zu haben, was die Unterschiede zwischen den Ergebnissen der beiden Einzelpflanzenversuche erklären könnte.

4.5.2 Stressversuch 2

4.5.2.1 Genotyp F

Aufwuchs: Die Untersuchung der Sprossentwicklung im Laufe der ersten 25 Tage nach dem Versuchsbeginn am 26.04.1999 ergaben bei diesem Genotypen keine gesicherten Unterschiede zwischen den Endophytvarianten (Abb. 16).

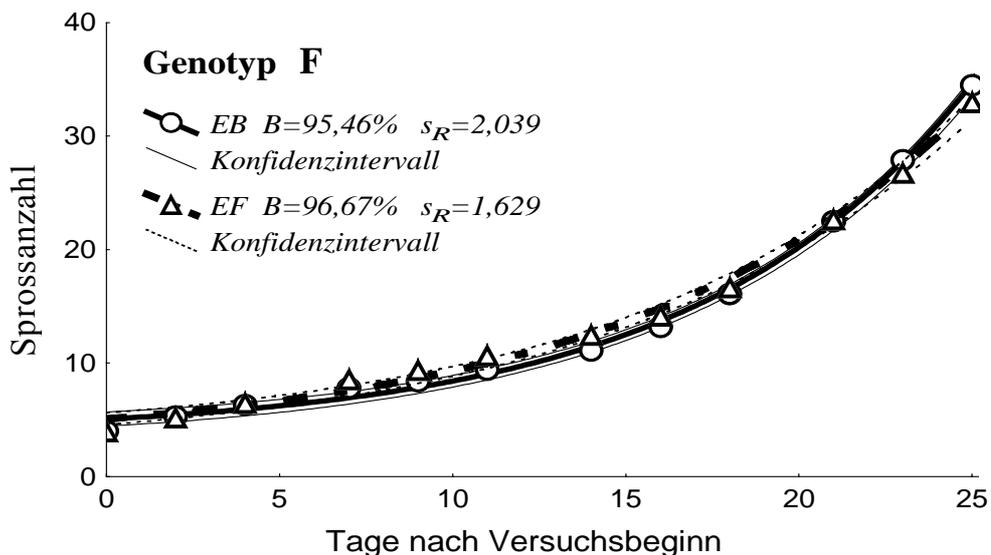


Abb. 16 Anzahl der vegetativen Triebe der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen F im Verlauf von 25 Tagen nach Versuchsbeginn (Schätzfunktion: $\hat{y}=a+b*\exp(c*(t-t_0))$); ○ bzw. △ = Mittelwerte pro Tag von n=10 Einzelpflanzen)

Die Ergebnisse der 1. Ernte vermitteln die Tabellen 27 a und b. Bei ausreichender Wasserversorgung produzierten die EF Klone im Durchschnitt pro Pflanze 54,0 vegetative und 73,6 generative Triebe sowie 32,3 g Trockenmasse. Endophytpräsenz reduzierte im Mittel sowohl die Sprossanzahl als auch den Trockenmasseertrag signifikant. Mit durchschnittlich 48,2 reifen Fruchtständen erzielten die EB Klone wesentlich geringere Werte als ihre EF Pendanten. Auf die Blütenstandsmerkmale hatte der Endophyt dagegen keinen nachweisbaren Einfluss. Im Durchschnitt bildeten die Pflanzen pro Fruchtstand rund 30 Ährchen, von denen allerdings das obere Drittel verkrüppelt war, sowie 6,1 Blüten pro vollentwickeltes Ährchen. Bei beiden Endophytvarianten setzten im Mittel rund 10 % der Blüten Spelzfrüchte an. Die durchschnittliche Anzahl der Spelzfrüchte pro Pflanze und der mittlere Samenertrag waren bei den EB und den EF Klonen annähernd gleich. Im Durchschnitt bewirkte die Endophytpräsenz eine signifikante Verminderung der TKM, sie hatte jedoch keinen nachweisbaren Einfluss auf die mittlere Keimfähigkeit der Spelzfrüchte (Tabelle 28).

Tabelle 27 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen F nach ausreichender Wasserversorgung und Trockenstress, 1. Ernte 1999 (Stressversuch 2).

Tabelle 27 a

Varianten	Trockenmasse (g/Pflanze)		Veg. Triebe / Pflanze		Sprossgewicht (mg/veg. Trieb)		Gen. Triebe / Pflanze		Halmgewicht (mg/gen. Trieb)		Reife Fruchtstände/ Pflanze		Anteil reifer Fruchtstände (%)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	23,4	32,3	27,2	54,0	224,4	227,0	59,2	73,6	303,9	282,4	48,2	60,8	81,4	82,6
Trockenstress	19,9 *	19,6 *	59,2 *	59,2	131,9	218,7	59,8	58,0 *	214,4 *	181,5 *	47,0	46,2 *	78,6	79,8
GD ¹	1,3		25,5		112,1		6,3		32,6		5,3		4,3	
RDT ²	-15	-39	+118	+10	-41	-4	+1	-21	-29	-36	-3	-24	-4	-3

Tabelle 27 b

Varianten	Halmlänge (cm)		Ährchen gesamt / Fruchtstand		Vollentwickelte Ährchen / Fruchtstand		Blütchen / vollentwickeltes Ährchen		Spelzfruchtansatz / Blütchen (%)		Spelzfrüchte / Pflanze		Samenmasse (g/Pflanze)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	66,3	63,6	30,7	29,2	20,9	21,3	6,1	6,1	10,2	9,4	619,9	741,9	1,14	1,53
Trockenstress	50,8 *	49,3 *	30,8	29,5	26,2 *	25,9 *	5,8 *	5,9	10,2	11,8	757,6	880,7	1,42	1,65
GD ¹	2,4		1,5		2,0		0,3		4,1		374,7		0,71	
RDT ²	-23	-23	0	+1	+25	+22	-6	-3	+4	+28	+22	+19	+25	+8

 EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

 EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen den Wasserversorgungsstufen bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 RDT = Relative Differenz der Trockenstressvariante zur Kontrollvariante

Bei Trockenstress produzierten die EB Pflanzen gegenüber der Kontrollvariante durchschnittlich signifikant mehr vegetative Triebe. Bei den EF Klonen bewirkte der Wassermangel eine signifikante Reduktion in der mittleren Anzahl der generativen Triebe. Dadurch ergaben sich bei dieser Wasserversorgungsstufe für die EB Klone ähnliche Werte für die mittlere Sprossanzahl wie für die EF Pflanzen. Im Durchschnitt produzierten die Klone rund 60 vegetative und 60 generative Triebe sowie 20 g Trockenmasse. Der Trockenstress erhöhte im Vergleich zur Kontrolle die mittlere Anzahl der voll entwickelten Ährchen signifikant, was die geringfügig größeren mittleren Samenerträge pro Pflanze erklärt. Die Endophytpresenz hatte im Durchschnitt weder auf den Samenertrag noch auf die Samenqualität (Tabelle 28) einen nachweisbaren Einfluss.

Tabelle 28 Qualität der Spelzfrüchte von den endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen F nach ausreichender Wasserversorgung und Trockenstress, 1. Ernte 1999 (Stressversuch 2).

Varianten	TKM (g)		Keimfähigkeit (%) nach 5 Tagen		Keimfähigkeit (%) nach 14 Tagen		Anteil EB Karyopsen (%)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	1,83	2,06	92,75	90,25	93,00	91,25	100	0
Trockenstress	1,87	1,87 *	92,50	93,00	95,00	95,25 *	100	0
RDT ²	GD ¹ = 0,06 + 2 - 9		u-Test ($\alpha=5\%$) 0 + 3		u-Test ($\alpha=5\%$) + 2 + 4		-	

 EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen

 EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen

* signifikanter Unterschied zwischen den Wasserversorgungsstufen bei der jeweiligen Endophytvariante

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 RDT = Relative Differenz der Trockenstressvariante zur Kontrollvariante

Nachwuchs: In diesem Versuch blieben die Pflanzen auch während der Nachwuchsperiode den beiden unterschiedlichen Wasserversorgungsstufen ausgesetzt. Das tägliche Erfassen der mittleren Blattlängen pro Pflanze im Verlauf der ersten Woche nach der 1. Ernte ergab keine gesicherten Unterschiede zwischen den Endophytvarianten (Abb. A11).

Unabhängig von ihrem Endophytstatus zeigten die Klone des Genotypen F ein extrem geringes Nachwuchsvermögen. Zur Ernte (Tabelle 29a) erzielten die EB Pflanzen in der Kontrollvariante mit durchschnittlich 62,4 Sprossen und 0,92 g Trockenmasse wesentlich geringere Werte als ihre EF Pendanten. Die Stoppelmasse wurde vom Endophyten nicht signifikant beeinflusst und betrug im Mittel 2,76 g bei den EB und 3,36 g bei den EF Klonen.

Tabelle 29 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen F nach ausreichender Wasserversorgung und Trockenstress (Stressversuch 2).

Tabelle 29 a 2. Ernte 1999

Varianten	Sprosstrockenmasse (g/Pflanze)			Veg. Triebe / Pflanze			Sprossgewicht (mg/veg.Trieb)			Blattfläche (cm ²)			Stoppeltrockenmasse (g/Pflanze)		
	EB	EF	GD 1 ¹	EB	EF	GD 1 ¹	EB	EF	GD 1 ¹	EB	EF	GD 1 ¹	EB	EF	GD 1 ¹
Kontrolle	0,92	1,30	0,29	62,4	78,8	20,76	14,86	16,81	3,30	2,57	2,22	0,39	2,76	3,36	0,72
Trockenstress	0,89	0,49 *	0,32	91,8 *	73,3	23,21	9,71 *	6,39 *	3,69	1,27 *	1,40 *	0,44	2,52	2,72	0,80
GD 2 ¹	0,31			22,0			3,50			0,42			0,76		
RDT ²	-3	-62		+47	-7		-35	-62		-51	-37		-9	-19	

Tabelle 29 b Gesamtertrag pro Pflanze (Summe der 2 Ernten)

Varianten	Sprosstrockenmasse (g/Pflanze)			Wurzeltrockenmasse (g/Pflanze)			Spross-Wurzel-Verhältnis (1: \bar{X})			Pflanzentrockenmasse (g/Pflanze)		
	EB	EF	GD 1 ¹	EB	EF	GD 1 ¹	EB	EF	GD 1 ¹	EB	EF	GD 1 ¹
Kontrolle	27,11	36,97	1,25	6,75	7,61	0,84	0,25	0,21	0,05	33,86	44,58	1,09
Trockenstress	23,46 *	22,87 *	1,40	5,58 *	3,14 *	0,89	0,25	0,14 *	0,06	28,68 *	25,94 *	1,22
GD 2 ¹	1,33			0,87			0,05			1,16		
RDT ²	-13	-38		-17	-59		0	-31		-15	-42	

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen (GD 1; t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen (GD 1; t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen den Wasserversorgungsstufen bei der jeweiligen Endophytvariante (GD 2; t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich (GD1 für EB/EF, GD2 für Kontrolle/Trockenstress) mittels t-Test ($\alpha=5\%$). Sie variiert, da aufgrund jeweils einer fehlenden Wiederholung in den Varianten ‚Trockenstress EB‘ und ‚Trockenstress EF‘ die Standardabweichung der Mittelwertdifferenzen abweicht.

2 RDT = Relative Differenz der Trockenstressvariante zur Kontrollvariante

Der Trockenstress hatte wie zuvor bei den EB Klonen einen positiven Effekt auf die mittlere Anzahl der vegetativen Triebe, während bei den EF Pflanzen signifikante Trockenmasseverluste zu verzeichnen waren. Im Durchschnitt erzielten die EB Klone mit 91,8 Trieben und 0,89 g Trockenmasse pro Pflanze höhere Erträge als ihre EF Pendanten. Die mittlere Stoppelmasse war bei beiden Endophytvarianten annähernd gleich und auch von der Kontrollvariante nicht signifikant verschieden.

Gesamtertrag pro Pflanze: In der Summe der beiden Ernten (Tabelle 29b) bildeten die EB Pflanzen in der Kontrollvariante durchschnittlich signifikant weniger oberirdische Trockenmasse als die EF Klone. In der mittleren Wurzeltrockenmasse wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Endophytvarianten festgestellt. Der Gesamtertrag an Pflanzentrockenmasse betrug im Durchschnitt 33,86 g bei den EB und 44,58 g bei den EF Klonen

Der Trockenstress reduzierte die mittleren Trockenmasseerträge gegenüber der Kontrollvariante bei beiden Endophytvarianten signifikant. Diese Verluste waren jedoch bei den EB Klonen wesentlich geringer als bei den EF Pflanzen. Im Ergebnis dessen erzielten die EB Klone im Durchschnitt annähernd die gleiche Sprosstrockenmasse und übertrafen die EF Klone im mittleren Wurzelmasseertrag signifikant. Das führte zu einem wesentlich geringeren durchschnittlichen Spross-Wurzel-Verhältnis bei der EB Variante. Im Gegensatz zur Kontrollvariante lagen die mittleren Trockenmasseerträge pro Pflanze bei den EB Klonen signifikant höher als bei ihren EF Pendanten.

4.5.2.2 Genotyp J

Aufwuchs: Bei diesem Genotypen konnte bereits 11 Tage nach Versuchsbeginn eine gesichert höhere mittlere Sprossanzahl bei der EB Variante festgestellt werden. Nach weiteren 14 Tagen hatten die EB Pflanzen im Durchschnitt 26 Sprosse und die EF Klone 19 Triebe pro Pflanze gebildet (Abb. 17).

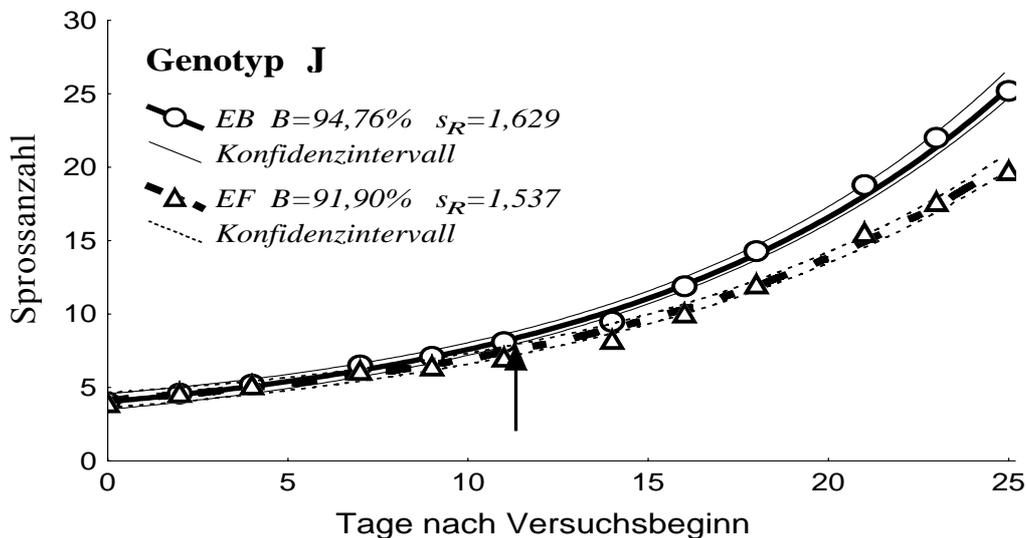


Abb. 17 Anzahl der vegetativen Triebe der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen J im Verlauf von 25 Tagen nach Versuchsbeginn (Schätzfunktion: $\hat{y}=a+b*\exp(c*(t-t_0))$); O bzw. Δ = Mittelwerte pro Tag von n=10 Einzelpflanzen)

Die Ergebnisse der 1. Ernte 1999 vermitteln die Tabellen 30 a und b. In der Kontrollvariante bildeten die EB Klone eine signifikant geringere mittlere Anzahl an vegetativen Trieben als ihre EF Pendanten. Die Anzahl der generativen Triebe war dagegen im Vergleich zur EF Variante im Durchschnitt pro Pflanze signifikant größer. Aufgrund des endophytbedingt höheren mittleren Einzelspross- und Halmgewichtes produzierten die Klone beider Endophytvarianten im Mittel einen annähernd gleichen durchschnittlichen Trockenmasseertrag. Die mittlere Anzahl der reifen Fruchtstände betrug bei den EB Klonen fast das Doppelte im Vergleich zu den EF Klonen. Die Endophytpräsenz reduzierte zwar erheblich die durchschnittliche Anzahl der vollentwickelten Ährchen (bei Endophytbesiedelung waren im Durchschnitt die jeweils obersten 7 Ährchen der Fruchtstände verkrüppelt), erhöhte jedoch den mittleren Samenansatz pro Blütchen signifikant. Folglich produzierten die EB Klone im Durchschnitt signifikant mehr Spelzfrüchte und Samenmasse pro Pflanze als die EF Klone. Die mittlere Keimfähigkeit der Spelzfrüchte war jedoch bei den Endophytvarianten annähernd gleich (Tabelle 31).

Tabelle 30 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen J nach ausreichender Wasserversorgung und Trockenstress, 1. Ernte 1999 (Stressversuch 2).

Tabelle 30 a

Varianten	Trockenmasse (g/Pflanze)		Veg. Triebe / Pflanze		Sprossgewicht (mg/veg. Trieb)		Gen. Triebe / Pflanze		Halmgewicht (mg/gen. Trieb)		Reife Fruchtstände/ Pflanze		Anteil reifer Fruchtstände (%)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	23,2	24,3	54,4	202,2	113,0	80,8	51,0	27,8	337,9	292,8	27,6	15,0	54,6	55,2
Trockenstress	17,0 *	18,5 *	69,0	169,6 *	83,3 *	73,1	39,8 *	28,2	285,9 *	221,4 *	25,2	17,2	63,2	60,3
GD ¹	1,7		22,1		17,9		8,4		31,6		6,6		11,5	
RDT ²	-27	-24	+27	-16	-26	-10	-22	+1	-15	-24	-9	+15	+16	+9

Tabelle 29 b

Varianten	Halmlänge (cm)		Ährchen gesamt / Fruchtstand		Vollentwickelte Ährchen / Fruchtstand		Blütchen / vollentwickeltes Ährchen		Spelzfruchtansatz / Blütchen (%)		Spelzfrüchte / Pflanze		Samenmasse (g/Pflanze)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	64,4	65,6	25,7	23,3	18,9	21,9	6,4	6,2	19,3	11,5	648,8	250,2	1,27	0,40
Trockenstress	52,9 *	51,7 *	26,2	22,9	22,0 *	22,7	6,3	6,2	20,6	13,1	777,0	341,9	1,42	0,54
GD ¹	3,2		2,0		1,8		0,3		5,6		327,7		0,59	
RDT ²	-18	-21	+2	-2	+16	+3	-1	0	+7	+14	+20	+37	+12	+33

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen den Wasserversorgungsstufen bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 RDT = Relative Differenz der Trockenstressvariante zur Kontrollvariante

Der Trockenstress reduzierte den positiven Endophyteinfluss auf die generative Entwicklung der Pflanzen. Im Vergleich zu ihrer Kontrollvariante produzierten die EB Klone zwar insgesamt eine ähnliche Triebanzahl (durchschnittlich 109 pro Pflanze), die mittlere Anzahl der generativen Triebe war jedoch signifikant reduziert. Auf die durchschnittliche Sprossanzahl der EF Klone hatte der Wassermangel dagegen keinen nachweisbaren Einfluss. Somit bildeten die EB Klone wie auch bei ausreichender Wasserversorgung im Durchschnitt signifikant weniger vegetative aber noch erheblich mehr generative Triebe als ihre EF Pendants. Auch die mittlere Anzahl der reifen Fruchtstände war bei den EB Klonen im Vergleich zu den EF Pflanzen signifikant höher. Bei einer annähernd gleichen Anzahl vollentwickelter Ährchen pro Fruchtstand, einem doppeltem Samenansatz und einer signifikant höheren TKM produzierten die EB Klone im Durchschnitt signifikant mehr Samenmasse als ihre EF Pendants. Auf die Keimfähigkeit der Karyopsen hatte die Endophytpresenz keinen nachweisbaren Einfluss (Tabelle 31).

Tabelle 31 Qualität der Spelzfrüchte von den endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen J nach ausreichender Wasserversorgung und Trockenstress, 1. Ernte 1999 (Stressversuch 2).

Varianten	TKM (g)		Keimfähigkeit (%) nach 5 Tagen		Keimfähigkeit (%) nach 14 Tagen		Anteil EB Karyopsen (%)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	1,96	1,60	96,50	96,25	97,50	97,75	100	0
Trockenstress	1,83 *	1,57	98,00	98,00	98,00	98,00	100	0
	GD ¹ = 0,09		u-Test ($\alpha=5\%$)		u-Test ($\alpha=5\%$)		.	
RDT ²	- 7	- 2	+ 2	+ 2	+ 1	0	.	.

 EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen

 EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen

* signifikanter Unterschied zwischen den Wasserversorgungsstufen bei der jeweiligen Endophytvariante

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 RDT = Relative Differenz der Trockenstressvariante zur Kontrollvariante

Nachwuchs: Die im Laufe der ersten Woche täglich gemessenen Blattlängen pro Pflanze waren im Mittel bei den Endophytvarianten annähernd gleich (Abb. A12).

Zur 2. Ernte 1999 wurde ein signifikanter negativer Endophyteinfluss auf das Nachwuchsvermögen der Pflanzen festgestellt (Tab. 32). Bei ausreichender Wasserversorgung bildeten die EB Klone mit durchschnittlich 94,8 Sprossen, sowie 1,93 g Spross- und 2,69 g Stoppeltrockenmasse rund die Hälfte von dem ihrer EF Pendants. Der Trockenstress reduzierte das Pflanzenwachstum bei beiden Endophytvarianten erheblich. Die negativen Endophyteeffekte waren wie auch in der Kontrollvariante signifikant.

Tabelle 32 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen J nach ausreichender Wasserversorgung und Trockenstress, 2. Ernte 1999 (Stressversuch 2).

Varianten	Sprosstrockenmasse (g/Pflanze)		Veg. Triebe / Pflanze		Sprossgewicht (mg/veg. Trieb)		Blattfläche (cm ²)		Stoppeltrockenmasse (g/Pflanze)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	1,93	3,85	94,8	200,2	20,2	19,3	3,23	3,17	2,69	5,70
Trockenstress	1,18 *	2,15 *	96,6	190,6	12,3 *	11,3 *	1,57 *	2,37 *	2,20	3,28 *
GD ¹	0,52		19,8		2,4		0,40		0,78	
RDT ²	-39	-44	+2	-5	-39	-41	-51	-25	-18	-42

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen den Wasserversorgungsstufen bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 RDT = Relative Differenz der Trockenstressvariante zur Kontrollvariante

Gesamtertrag pro Pflanze: Im Ergebnis der beiden Ernten (Tab. 33) erzielten die EB Pflanzen bei ausreichender Wasserversorgung mit 27,78 g Spross- und 8,78 g Wurzelrockenmasse im Durchschnitt einen signifikant geringeren Gesamtertrag an Pflanzentrockenmasse als ihre EF Pendanten.

Der Trockenstress reduzierte gegenüber der Kontrollvariante bei beiden Endophytvarianten den mittleren Sprossmasseertrag um rund 30 %. Auch die stressbedingten mittleren Verluste an Wurzelrockenmasse waren unabhängig vom Endophytstatus der Pflanzen signifikant. Im Durchschnitt bildeten die EB Klone wie auch bei ausreichender Wasserversorgung signifikant weniger an oberirdischer Pflanzentrockenmasse, ihre mittlere Wurzelrockenmasse lag jedoch wesentlich höher als bei den EF Pflanzen. Somit führte die Endophytbesiedelung bei einem ähnlichen Gesamtertrag an Pflanzentrockenmasse zu einem signifikant geringeren Spross-Wurzel-Verhältnis.

Tabelle 33 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen J nach ausreichender Wasserversorgung und Trockenstress, Gesamtertrag pro Pflanze (Summe der 2 Ernten) (Stressversuch 2).

Varianten	Sprosstrockenmasse (g/Pflanze)		Wurzelrockenmasse (g/Pflanze)		Spross-Wurzel-Verhältnis (1: \bar{X})		Pflanzentrockenmasse (g/Pflanze)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	27,78	33,82	8,78	8,63	0,32	0,26	36,57	42,45
Trockenstress	20,35 *	23,93 *	6,07 *	5,11 *	0,30	0,21 *	26,41 *	29,04 *
GD ¹	2,05		0,54		0,04		2,38	
RDT ²	-27	-29	-31	-41	-6	-16	-28	-32

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen den Wasserversorgungsstufen bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 RDT = Relative Differenz der Trockenstressvariante zur Kontrollvariante

4.5.2.3 Genotyp L

Aufwuchs: Auch bei diesem Genotypen konnte zunächst ein gesicherter positiver Endophyteinfluss auf die Sprossbildung der Pflanzen festgestellt werden. 25 Tage nach Versuchsbeginn hatten die EB Pflanzen durchschnittlich 26, die EF Klone dagegen nur 17 Triebe gebildet (Abb. 18).

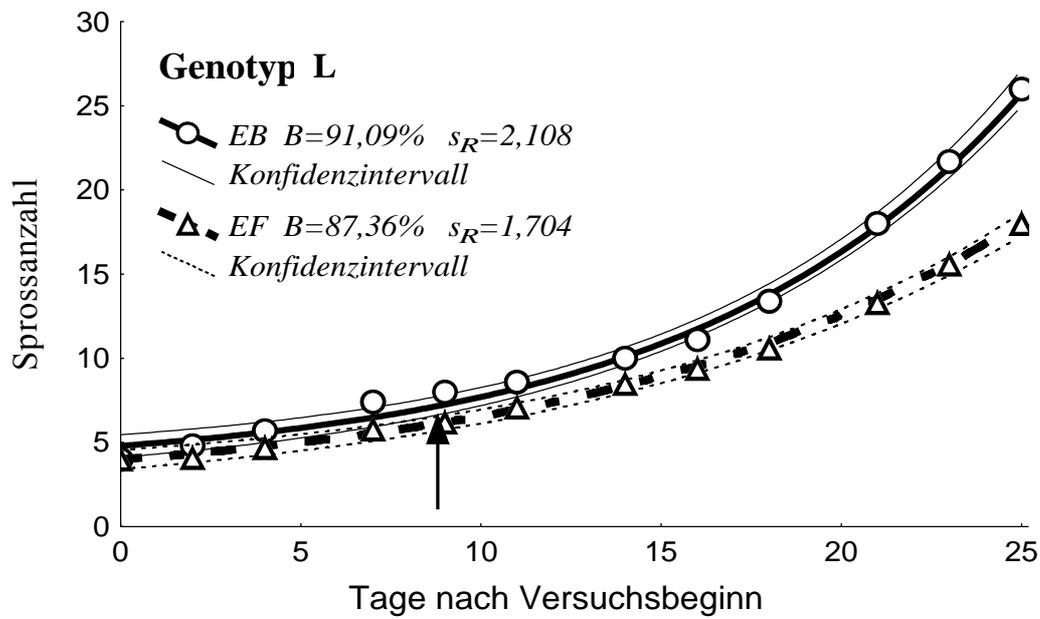


Abb. 18 Anzahl der vegetativen Triebe der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen L im Verlauf von 25 Tagen nach Versuchsbeginn (Schätzfunktion: $\hat{y}=a+b*\exp(c*(t-t_0))$); O bzw. Δ = Mittelwerte pro Tag von n=10 Einzelpflanzen)

Zur 1. Ernte 1999 waren keine positiven Endophyteeffekte auf die mittlere Sprossanzahl nachweisbar (Tabelle 34). Bei ausreichender Wasserversorgung erzielten die EB Pflanzen mit 91,6 vegetativen und 63,0 generativen Trieben sowie 25,5 g Trockenmasse im Durchschnitt ähnliche Werte wie ihre EF Pendanten. Bei diesem Genotypen hemmte die Endophytbesiedelung die generative Entwicklung der Pflanzen. Die EB Klone produzierten durchschnittlich 40 reife Fruchtstände, also signifikant weniger als die EF Pflanzen. Endophytpresenz bewirkte zwar eine signifikante Zunahme in der mittleren Anzahl der Ährchen pro Fruchtstand, reduzierte jedoch erheblich den durchschnittlichen Spelzfruchansatz pro Blüten. Folglich bildeten die EB Klone im Mittel eine signifikant geringere Anzahl an Spelzfrüchten pro Pflanze und erheblich weniger Samenmasse als ihre EF Pendanten. Auf die Samenqualität wirkte sich der Endophyt positiv aus (Tabelle 34). Sowohl die durchschnittliche TKM als auch die mittlere Wahrscheinlichkeit der Keimung der Spelzfrüchte lagen bei der EB Variante im Vergleich zu der EF Variante signifikant höher.

Tabelle 34 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen L nach ausreichender Wasserversorgung und Trockenstress, 1. Ernte 1999 (Stressversuch 2).

Tabelle 34 a

Varianten	Trockenmasse (g/Pflanze)		Veg. Triebe / Pflanze		Sprossgewicht (mg/veg.Trieb)		Gen. Triebe / Pflanze		Halmgewicht (mg/gen. Trieb)		Reife Fruchtstände/ Pflanze		Anteil reifer Fruchtstände (%)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	25,5	26,0	91,6	80,2	137,2	149,7	63,0	67,2	213,1	208,3	39,9	52,7	63,0	78,4
Trockenstress	16,3 *	16,5 *	84,8	72,8	120,5	122,5	51,8 *	61,8	123,1 *	143,5 *	19,9 *	43,0 *	38,4 *	69,4
GD ¹	1,7		26,4		34,6		6,6		16,9		7,5		8,4	
RDT ²	-36	-36	-7	-9	-12	-18	-18	-8	-42	-31	-50	-18	-39	-12

Tabelle 34 b

Varianten	Halmlänge (cm)		Ährchen gesamt / Fruchtstand		Vollentwickelte Ährchen / Fruchtstand		Blütchen / vollentwickeltes Ährchen		Spelzfruchtansatz / Blütchen (%)		Spelzfrüchte / Pflanze		Samenmasse (g/Pflanze)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	56,0	57,5	26,7	23,3	26,7	22,3	6,4	6,3	17,9	36,1	1316,5	2666,0	1,88	3,27
Trockenstress	44,2 *	45,6 *	25,5	22,8	25,5	21,1	6,0 *	6,0 *	12,0	32,2	355,9 *	1736,5 *	0,54 *	2,19 *
GD ¹	1,6		1,5		1,7		0,3		6,9		573,9		0,80	
RDT ²	-21	-21	-5	-2	-5	-6	-5	-5	-33	-11	-73	-35	-71	-33

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen den Wasserversorgungsstufen bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 RDT = Relative Differenz der Trockenstressvariante zur Kontrollvariante

Im Vergleich zur Kontrollvariante hemmte der Trockenstress das Wachstum und auch die Entwicklung der Pflanzen signifikant. Besonders betroffen waren die EB Klone, bei welchen neben dem mittleren Trockenmasseertrag auch die Anzahl der generativen Triebe und der Anteil an reifen Fruchtständen im Mittel signifikant reduziert waren. Mit durchschnittlich 20 reifen Fruchtständen bildeten sie noch die Hälfte von dem der EF Pflanzen. Auf die Fruchtstandsmerkmale (mittlere Ährchen- und Blütchenanzahl) und den durchschnittlichen Spelzfruchtansatz hatte der Trockenstress keinen nachweisbaren Einfluss, die Anzahl der Spelzfrüchte pro Pflanze war jedoch gegenüber der Kontrollvariante im Mittel signifikant reduziert. Für die EB Variante ergaben sich mit durchschnittlich 0,5 g pro Pflanze signifikant geringere mittlere Samenerträge als bei den EF Klonen, welche noch 2,2 g produzierten. Dagegen waren die TKM und auch die Wahrscheinlichkeit der Keimung bei den Spelzfrüchten der EB Klone im Durchschnitt signifikant höher als bei der EF Variante (Tabelle 35).

Tabelle 35 Qualität der Spelzfrüchte von den endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen L nach ausreichender Wasserversorgung und Trockenstress, 1. Ernte 1999 (Stressversuch 2).

Varianten	TKM (g)		Keimfähigkeit (%) nach 5 Tagen		Keimfähigkeit (%) nach 14 Tagen		Anteil EB Karyopsen (%)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	1,43	1,23	95,25	85,00	98,50	94,00	100	0
Trockenstress	1,51*	1,26	91,75 *	83,50	95,25 *	95,75	100	0
RDT ²	GD ¹ = 0,07 + 6 + 3		u-Test (α=5%) - 4 - 2		u-Test (α=5%) - 3 + 2		.	

-  EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen
-  EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen
- * signifikanter Unterschied zwischen den Wasserversorgungsstufen bei der jeweiligen Endophytvariante
- 1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test (α=5%)
- 2 RDT = Relative Differenz der Trockenstressvariante zur Kontrollvariante

Nachwuchs: Der Nachwuchs der Pflanzen erfolgte wie auch bei den Genotypen F und J unter Beibehaltung der beiden Wasserversorgungsstufen. Die Blattlängenmessungen während der ersten Woche ergaben keine gesicherten Unterschiede zwischen den Endophytvarianten (Abb. A13).

Die Ergebnisse der 2. Ernte 1999 vermittelt Tabelle 36 a. In der Kontrollvariante produzierten die EB Klone mit durchschnittlich 71,6 Trieben signifikant weniger Sprosse als ihre EF Pendanten. Da das mittlere Einzelsprossgewicht bei den EB Pflanzen in der Tendenz erhöht war, erzielten sie im Durchschnitt eine ähnliche Sprosstrockenmasse wie die EF Klone.

Tabelle 36 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen L nach ausreichender Wasserversorgung und Trockenstress (Stressversuch 2).

Tabelle 36 a 2. Ernte 1999

Varianten	Sprosstrockenmasse (g/Pflanze)			Veg. Triebe / Pflanze			Sprossgewicht (mg/veg.Trieb)			Blattfläche (cm ²)			Stoppeltrockenmasse (g/Pflanze)		
	EB	EF	GD 1 ¹	EB	EF	GD 1 ¹	EB	EF	GD 1 ¹	EB	EF	GD 1 ¹	EB	EF	GD 1 ¹
Kontrolle	1,18	1,33	0,28	71,6	103,4	22,44	16,39	12,95	4,80	2,47	2,25	0,47	4,52	4,71	1,14
Trockenstress	0,43 *	0,50 *	0,36	32,3 *	72,0 *	28,98	16,28	6,49 *	6,20	1,50 *	1,30 *	0,60	2,44 *	2,68 *	1,48
GD 2 ¹	0,33			25,9			5,54			0,54			1,32		
RDT ²	-64	-62		-55	-30		-1	-50		-40	-42		-46	-43	

Tabelle 36 b Gesamtertrag pro Pflanze (Summe der 2 Ernten)

Varianten	Sprosstrockenmasse (g/Pflanze)			Wurzeltrockenmasse (g/Pflanze)			Spross-Wurzel-Verhältnis (1: \bar{X})			Pflanzenrockenmasse (g/Pflanze)		
	EB	EF	GD 1 ¹	EB	EF	GD 1 ¹	EB	EF	GD 1 ¹	EB	EF	GD 1 ¹
Kontrolle	31,19	32,00	2,75	6,77	5,60	1,03	0,22	0,17	0,04	37,96	37,60	3,00
Trockenstress	19,26 *	20,52 *	3,55	3,30 *	3,70 *	1,21	0,18	0,21	0,07	22,81 *	24,81 *	3,88
GD 2 ¹	3,17			1,15			0,06			3,47		
RDT ²	-38	-36		-51	-34		-16	+20		-40	-34	

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant überlegen (GD1; t-Test), $\alpha=5\%$

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Wasserversorgungsstufe signifikant unterlegen (GD1; t-Test), $\alpha=5\%$

* signifikanter Unterschied zwischen den Wasserversorgungsstufen bei der jeweiligen Endophytvariante (GD 2; t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich (GD1 für EB/EF, GD2 für Kontrolle/Trockenstress) mittels t-Test ($\alpha=5\%$). Sie variiert, da aufgrund jeweils einer fehlenden Wiederholung in den Varianten ‚Trockenstress EB‘ und ‚Trockenstress EF‘ die Standardabweichung der Mittelwertdifferenzen abweicht.

2 RDT = Relative Differenz der Trockenstressvariante zur Kontrollvariante

Der Trockenstress hatte bei beiden Endophytvarianten erhebliche Ertragsminderungen gegenüber der Kontrollvariante zur Folge. Mit durchschnittlich 32,3 Trieben pro Pflanze bildeten die EB Klone eine signifikant geringere Sprossanzahl, wobei jedoch das mittlere Sprossgewicht wesentlich höher war als bei den EF Pflanzen. Die durchschnittlichen Erträge an Sprosstrockenmasse waren bei beiden Endophytvarianten mit rund 0,5 g extrem gering. Auch die mittlere Stoppelmasse wurde durch den Trockenstress im Vergleich zur Kontrolle bei den EB und den EF Pflanzen signifikant reduziert.

Gesamtertrag pro Pflanze: In der Summe der beide Ernten (Tabelle 36 b) waren bei ausreichender Wasserversorgung die mittleren Sprossmasseerträge beider Endophytvarianten annähernd gleich. Bei den EB Klonen ergaben sich jedoch im Vergleich zu den EF Pflanzen signifikant höhere Werte für die durchschnittliche Wurzelrockenmasse. Auf den mittleren Trockenmasseertrag pro Pflanze hatte die Endophytbesiedelung keinen nachweisbaren Einfluss, sie bewirkte jedoch eine signifikante Verminderung im durchschnittlichen Spross-Wurzel-Verhältnis.

Gegenüber der Kontrollvariante reduzierte der Trockenstress im Durchschnitt sowohl die Spross- als auch die Wurzelrockenmassen der Pflanzen signifikant. Die mittleren Gesamterträge an Pflanzentrockenmasse und auch das Spross-Wurzel-Verhältnis waren bei den Endophytvarianten annähernd gleich.

4.5.2.4 Zusammenfassung und Vergleich mit den Ergebnissen im Feldversuch

Der Genotyp F entstammt einem trockenem Standort. Im Feldversuch (Punkt 4.4) tendierten die EB Pflanzen im Vergleich zu den EF Klonen zu geringeren mittleren Erträgen, allerdings waren diese Endophyteeffekte nicht signifikant. Im Gefäßversuch zeigten die EB Klone bei ausreichender Wasserversorgung ein wesentlich geringeres Wachstum als ihre EF Pendanten. Hier bewirkte die Endophytbesiedelung zu beiden Ernteterminen eine signifikante Verminderung der mittleren Sprossanzahl und des durchschnittlichen Trockenmasseertrages. Bei Trockenstress trat das Gegenteil ein. Im Vergleich zur Kontrollvariante erzielten die EB Klone bei permanentem Wassermangel eine signifikant höhere Sprossanzahl pro Pflanze. Bei den EF Klonen lagen die stressbedingten mittleren Verluste in der Anzahl der generativen Triebe (1. Ernte signifikant) und im Trockenmasseertrag (1. und 2. Ernte signifikant) wesentlich höher als bei den EB Pflanzen. Bei einem ähnlichen Sprossmasseertrag und einer signifikant höheren Wurzelrockenmasse waren die Gesamterträge an Pflanzentrockenmasse in dieser Wasserversorgungsvariante bei den EB Klonen im Durchschnitt signifikant größer als bei den EF Pflanzen. Insofern ist festzustellen, dass bei diesem Genotyp die Endophytpräsenz ausschließlich bei Trockenstress eine positive Wirkung auf das Pflanzenwachstum hat.

Der von einem wechselfeuchten Standort stammende Genotyp J zeigte im Feldversuch signifikant negative Endophyteeffekte auf das Pflanzenwachstum. Auch im Gefäßversuch produzierten die EB Klone unabhängig von der Wasserversorgung im Durchschnitt signifikant weniger Sprosse als die EF Pflanzen. Dagegen förderte die Endophytpräsenz die generative Entwicklung. Zur 1. Ernte 1999 bewirkte Endophytbesiedelung, dass im Mittel eine wesentlich höhere Anzahl der Triebe Fruchtstände bildete. Da der Endophyt auch den durchschnittlichen Spelzfruchtansatz positiv beeinflusste, erzielten die EB Klone in diesem Versuch einen signifikant höheren mittleren Samenertrag als ihre EF Pendanten. Diese Ergebnisse stimmen insofern mit denen vom Feldversuch überein, da auch dort Endophytpräsenz in der Tendenz zu einem höheren Anteil an generativen Trieben pro Pflanze und einem größeren Samenansatz pro Fruchtstand führte. Eine endophytinduzierte Trockenstresstoleranz wurde bei diesem Genotyp nicht festgestellt: Wassermangel hatte unabhängig vom Endophytstatus der Pflanzen einen negativen Effekt auf das Pflanzenwachstum und hemmte bei den EB Klonen auch die generative Entwicklung der Triebe. Allerdings wurde hier, wie auch bei Genotyp F, ein signifikanter positiver Endophyteeffekt auf das Wurzelwachstum nachgewiesen.

Bei dem von einem nassen Standort stammendem Genotypen L wurden im Feldversuch zur Samenernte signifikante positive Endophyteeffekte festgestellt, welche jedoch zur Nachwuchsernte nicht mehr auftraten. Im Gefäßversuch zeigten die EB Pflanzen im Laufe des ersten Versuchsmonates eine gesichert schnellere Sprossbildung. Zu den Ernteterminen konnten jedoch bei ausreichender Wasserversorgung im Durchschnitt keine endophytbedingten Zunahmen in der Triebanzahl oder in der Trockenmasse nachgewiesen werden. Die Endophytpräsenz reduzierte im Mittel den Anteil der reifen Fruchtstände, den Samenansatz pro Blütenchen und auch den Samenertrag pro Pflanze signifikant, führte jedoch gleichzeitig zu einer wesentlich größeren Wurzel Trockenmasse. Der Trockenstress hatte unabhängig vom Endophytstatus der Klone einen signifikanten negativen Effekt auf das Pflanzenwachstum. Die Mittelwertdifferenzen zur Kontrollvariante in den Merkmalen generative Triebe/Pflanze (1. Ernte), vegetative Triebe/Pflanze (2. Ernte) und Wurzel Trockenmasse lagen jedoch bei den EB Klonen wesentlich höher als bei den EF Pflanzen. Demnach war bei Genotyp L eine sehr hohe Empfindlichkeit gegenüber Trockenstress festzustellen, welche durch die Endophytbesiedelung in der Tendenz verstärkt wurde. Das könnte eine Erklärung für die unterschiedlichen Endophyteeffekte im Feldversuch sein, da dort bis zur Samenernte häufig Niederschläge auftraten, während in der Nachwuchsperiode trockene und warme Witterungsbedingungen vorherrschten.

4.5.3 Stressversuch 3

4.5.3.1 Genotyp A

Aufwuchs: Bei diesem Genotypen konnte 15 Tage nach dem Versuchsbeginn am 12.07.1999 ein gesicherter Unterschied in der mittleren Sprossanzahl zugunsten der EB Klone nachgewiesen werden. 10 Tage später hatten im Durchschnitt die EF Klone je 19 und die EB Klone je 23 Sprosse gebildet (Abb. 19).

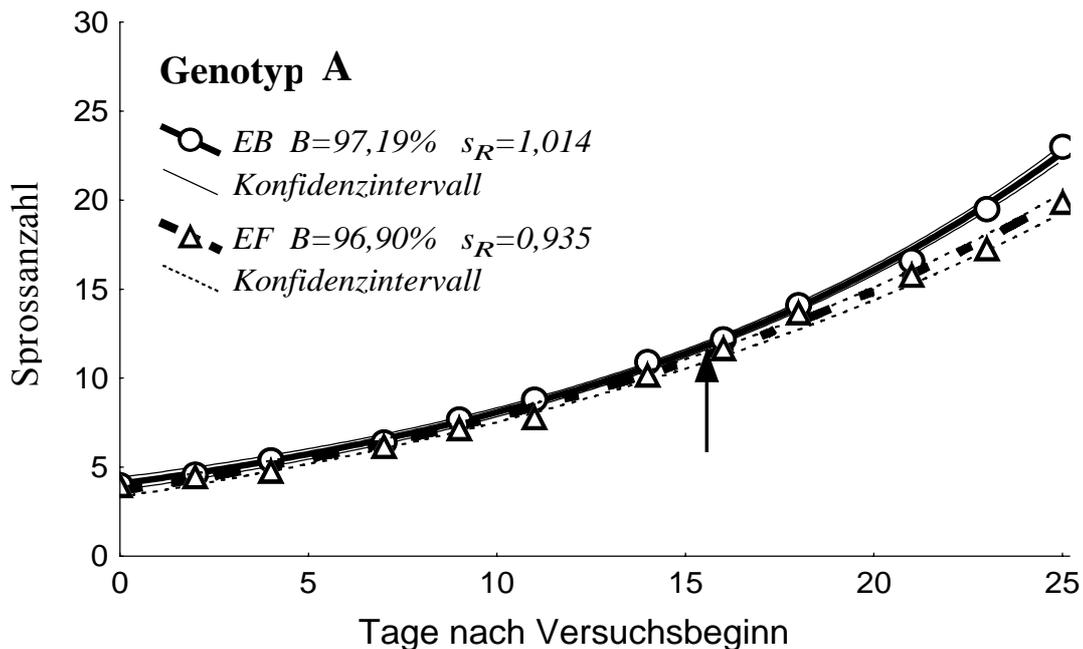


Abb.19 Anzahl der vegetativen Triebe der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen A im Verlauf von 25 Tagen nach Versuchsbeginn (Schätzfunktion: $\hat{y}=a+b*\exp(c*(t-t_0))$); O bzw. Δ = Mittelwerte pro Tag von $n=10$ Einzelpflanzen)

Bei ausreichender Wasserversorgung war dieser Endophyteeffekt auch zur 1. Ernte nachweisbar (Tabelle 37). Mit durchschnittlich 137,6 Trieben pro Pflanze erzielten die EB Klone signifikant höhere Werte als ihre EF Pendanten. Im mittleren Trockenmasseertrag waren die Unterschiede zwischen den Endophytvarianten nur unbedeutend, was auf das signifikant geringere Sprossgewicht bei den EB Klonen zurückzuführen war.

Der Trockenstress hatte gegenüber der Kontrollvariante einen signifikant negativen Einfluss auf das Pflanzenwachstum. Die mittlere Sprossanzahl war bei beiden Endophytvarianten annähernd gleich, das durchschnittliche Sprossgewicht jedoch wiederum bei den EB Klonen signifikant geringer als bei ihren EF Pendanten.

Tabelle 37 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen A nach ausreichender Wasserversorgung und Trockenstress, 1. Ernte 1999 (Stressversuch 3).

Varianten	Trockenmasse (g/Pflanze)		Veg. Triebe / Pflanze		Sprossgewicht (mg/veg. Trieb)		Blattfläche (cm ²)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	9,34	10,66	137,6	110,2	67,4	97,4	5,79	6,11
Trockenstress	4,66 *	6,03 *	95,2 *	77,4 *	48,9 *	77,7 *	3,78 *	4,10 *
GD ¹	1,52		17,8		8,6		0,76	
RDT ²	- 50	- 43	- 31	- 30	- 27	- 20	- 35	- 33

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Bewässerungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Bewässerungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen den Wasserversorgungsstufen bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 RDT = Relative Differenz der Trockenstressvariante zur Kontrollvariante

Nachwuchs: Die Nachwuchsphase der Pflanzen erfolgte bei ausreichender Wasserversorgung aller Varianten. Die im Laufe der ersten Woche täglich erfaßten mittleren Blattlängen ließen keine gesicherten Unterschiede zwischen den Endophytvarianten erkennen (Abb. A14).

In diesem Versuch zeigten die Pflanzen des Genotypen A bis zur 2. Ernte ein schwaches Nachwuchsvermögen (Tabelle 38). In der Kontrollvariante produzierten die EB Klone im Mittel 132,8 und die EF Pflanzen durchschnittlich 107,0 vegetative Triebe, welche allerdings extrem klein blieben. Das mittlere Einzelsprossgewicht betrug lediglich 12,9 mg bei der EB und 16,3 mg bei der EF Variante. Folglich waren die durchschnittlichen Trockenmasseerträge aus der Spross- und auch aus der Stoppelfraktion nur gering. Die Unterschiede zwischen den Endophytvarianten waren lediglich in der Blattfläche signifikant, wobei die EB Klone geringere Werte erzielten als die EF Pflanzen.

Der vorangegangene Trockenstress beeinträchtigte auch den Nachwuchs der Pflanzen erheblich. Mit Ausnahme des Sprossgewichtes waren die stressbedingten Mittelwertdifferenzen in allen geprüften Ertragsmerkmalen signifikant. Mit durchschnittlich 43,6 Sprosse und 0,27 g Sprosstrockenmasse erzielten die EB Klone ähnliche Erträge wie ihre EF Pendanten, die mittlere Blattfläche war jedoch wie in der Kontrollvariante durch die Endophytbesiedelung signifikant reduziert.

Tabelle 38 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen A nach ausreichender Wasserversorgung und Trockenstress, 2. Ernte 1999 (Stressversuch 3).

Varianten	Sprosstrockenmasse (g/Pflanze)		Veg. Triebe / Pflanze		Sprossgewicht (mg/veg. Trieb)		Blattfläche (cm ²)		Stoppeltrockenmasse (g/Pflanze)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	1,70	1,74	132,8	107,0	12,9	16,3	3,96	5,64	2,50	2,88
Trockenstress	0,27 *	0,74 *	43,6 *	48,4 *	8,1	13,5	1,61 *	3,22 *	1,35 *	1,63 *
GD ¹	0,46		29,6		4,7		1,31		0,87	
RDT ²	-84	-57	-67	-55	-37	-17	-59	-43	-46	-43

- EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Bewässerungsstufe signifikant überlegen (t-Test)
 EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Bewässerungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)
 * signifikanter Unterschied zwischen den Wasserversorgungsstufen bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)
 1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)
 2 RDT = Relative Differenz der Trockenstressvariante zur Kontrollvariante

Gesamtertrag pro Pflanze: In der Summe der beiden Ernten (Tabelle 39) produzierten die EB Pflanzen bei ausreichender Wasserversorgung mit durchschnittlich 13,55 g einen ähnlichen Sprosstrockenmasseertrag, wie die EF Klone. Ihre mittlere Wurzelrockenmasse war dagegen signifikant geringer als bei den EF Pendanten. Das führte bei der EB Variante im Durchschnitt zu einem nachweislich größeren Spross-Wurzel-Verhältnis und signifikant geringeren Trockenmasseerträgen pro Pflanze.

Der Trockenstress reduzierte gegenüber der Kontrolle die mittlere Sprosstrockenmasse beider Endophytvarianten signifikant auf rund die Hälfte. Die stressbedingten Verluste in der mittleren Wurzelrockenmasse waren dagegen nur bei den EF Pflanzen bedeutsam. Folglich erzielten beide Endophytvarianten in dieser Wasserversorgungsvariante im Durchschnitt ähnliche Trockenmasseerträge bei einem annähernd gleichen Spross-Wurzel-Verhältnis.

Tabelle 39 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen A nach ausreichender Wasserversorgung und Trockenstress, Gesamtertrag pro Pflanze (Summe der 2 Ernten) (Stressversuch 3).

Varianten	Sprosstrockenmasse (g/Pflanze)		Wurzelrockenmasse (g/Pflanze)		Spross-Wurzel-Verhältnis (1: \bar{X})		Pflanzentrockenmasse (g/Pflanze)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	13,55	15,27	2,10	5,45	0,16	0,36	15,65	20,72
Trockenstress	6,28 *	8,40 *	1,34	1,96 *	0,22 *	0,25 *	7,62 *	10,36 *
GD ¹	2,49		0,88		0,05		2,74	
RDT ²	-54	-45	-36	-64	+34	-32	-51	-50

- EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Bewässerungsstufe signifikant überlegen (t-Test)
 EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Bewässerungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)
 * signifikanter Unterschied zwischen den Wasserversorgungsstufen bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)
 1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)
 2 RDT = Relative Differenz der Trockenstressvariante zur Kontrollvariante

4.5.3.2 Genotyp E

Aufwuchs: Auch bei diesem Genotypen wurde in den ersten 25 Tage nach dem Auspflanzen der Klone bei der EB Variante eine gesichert höhere mittlere Sprossanzahl gegenüber den EF Pflanzen festgestellt. Die Differenz zwischen den Endophytvarianten war jedoch nur gering (Abb. 20).

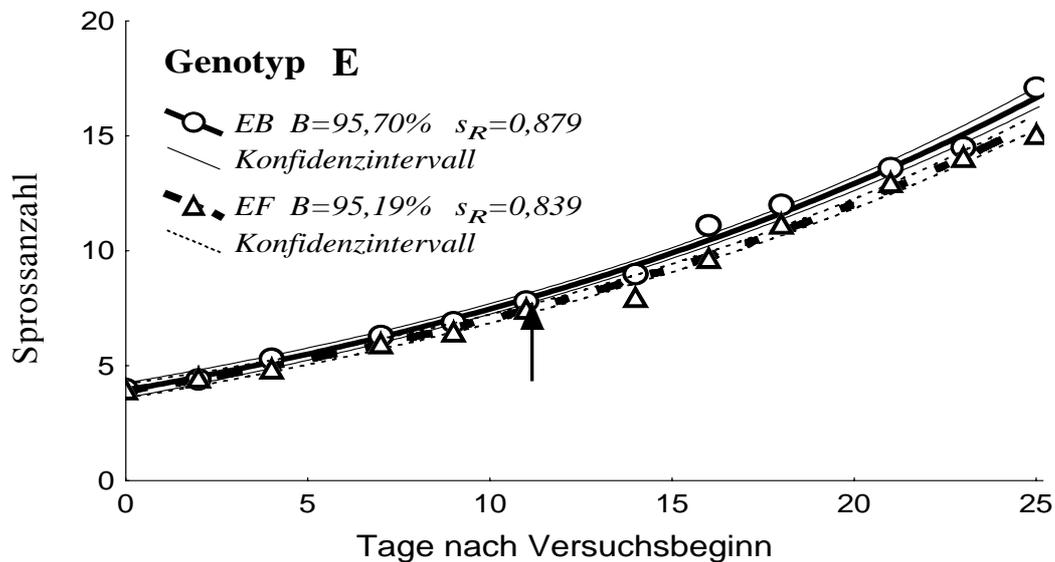


Abb.20 Anzahl der vegetativen Triebe der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen E im Verlauf von 25 Tagen nach Versuchsbeginn (Schätzfunktion: $\hat{y}=a+b*\exp(c*(t-t_0))$); O bzw. Δ = Mittelwerte pro Tag von $n=10$ Einzelpflanzen)

Zum 1. Erntetermin (Tabelle 40) konnte in der Kontrollvariante kein signifikanter Endophyteeffekt auf die mittlere Sprossanzahl der Pflanzen nachgewiesen werden. Mit durchschnittlich 111,6 Trieben pro Pflanze bildeten die EB Klone eine ähnliche mittlere Sprossanzahl wie ihre EF Pendanten. Das Sprossgewicht, der Trockenmasseertrag und die Blattfläche waren aber im Durchschnitt bei den EB Klonen signifikant größer als bei den EF Pflanzen.

Der Trockenstress bewirkte gegenüber der Kontrolle bei beiden Endophytvarianten ein wesentlich verringertes Pflanzenwachstum. Die stressbedingten Mittelwertdifferenzen waren in allen untersuchten Merkmalen signifikant. Die Endophytbesiedelung führte im Durchschnitt zu einer nachweislich geringeren Sprossanzahl. Auf das mittlere Sprossgewicht und die durchschnittliche Blattfläche hatte der Endophyt dagegen wie auch in der Kontrollvariante einen signifikant positiven Einfluss.

Tabelle 40 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen E nach ausreichender Wasserversorgung und Trockenstress, 1. Ernte 1999 (Stressversuch 3).

Varianten	Trockenmasse (g/Pflanze)		Veg. Triebe / Pflanze		Sprossgewicht (mg/veg. Trieb)		Blattfläche (cm ²)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	10,12	7,03	111,6	119,8	90,4	59,3	6,07	4,63
Trockenstress	3,85 *	3,13 *	69,6 *	90,4 *	55,0 *	34,6 *	3,30 *	2,15 *
GD ¹	1,29		18,2		5,5		0,61	
RDT ²	-62	-56	-38	-25	-39	-42	-46	-54

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Bewässerungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Bewässerungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen den Wasserversorgungsstufen bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 RDT = Relative Differenz der Trockenstressvariante zur Kontrollvariante

Nachwuchs: Analog zu Genotyp A wurden die Pflanzen aller Varianten während dieser Wachstumsperiode ausreichend mit Wasser versorgt. Die Endophytpräsenz hatte keinen nachweisbaren Einfluss auf die in der ersten Woche täglich erfasste mittlere Blattlänge der Pflanzen (Abb. A15).

Der Nachwuchs der Pflanzen bis zur 2. Ernte war auch bei Genotyp E nur gering (Tabelle 41). Die Klone der Kontrollvariante hatten unabhängig vom Endophytstatus im Durchschnitt rund 113 Triebe pro Pflanze gebildet. Das mittlere Sprossgewicht betrug lediglich 12,6 mg bei der EB Variante bzw. 10,3 mg bei der EF Variante, was zu entsprechend geringen durchschnittlichen Trockenmasseerträgen führte. In der mittleren Stoppelmasse waren jedoch signifikante Unterschiede zwischen den Endophytvarianten zugunsten der EB Klone nachweisbar.

Der vorangegangene Trockenstress führte gegenüber der Kontrollvariante zu einem erheblich verminderten Nachwuchsvermögen der Pflanzen, wobei dieser negative Effekt bei den EB Klonen stärker ausgeprägt war. Im Unterschied zu den EF Pflanzen waren die stressbedingten Verluste in der durchschnittlichen Sprosstrockenmasse und der mittleren Blattfläche bei den EB Klonen signifikant. Mit 69,7 Trieben pro Pflanze produzierten die EB Klone im Durchschnitt 19 % weniger als die EF Klone (nicht signifikant). Die in der Kontrollvariante beobachteten positiven Endophyteeffekte auf die Stoppelmasse waren hier nicht nachweisbar.

Tabelle 41 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen E nach ausreichender Wasserversorgung und Trockenstress, 2. Ernte 1999 (Stressversuch 3).

Varianten	Sprosstrockenmasse (g/Pflanze)		Veg. Triebe / Pflanze		Sprossgewicht (mg/veg. Trieb)		Blattfläche (cm ²)		Stoppeltrockenmasse (g/Pflanze)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	1,44	1,16	113,2	112,6	12,6	10,3	3,75	2,36	3,86	2,27
Trockenstress	0,76 *	0,81	69,6 *	85,4 *	10,9	9,4	2,88 *	2,00	1,04 *	0,97 *
GD ¹	0,36		15,9		3,2		0,51		0,77	
RDT ²	-47	-30	-39	-24	-14	-9	-23	-16	-73	-57

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Bewässerungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Bewässerungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen den Wasserversorgungsstufen bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 RDT = Relative Differenz der Trockenstressvariante zur Kontrollvariante

Gesamtertrag pro Pflanze: In der Summe der beiden Ernten (Tabelle 42) erzielten die EB Pflanzen bei ausreichender Wasserversorgung mit durchschnittlich 15,42 g Spross- und 2,31 g Wurzeltrockenmasse signifikant höhere Erträge als ihre EF Pendanten. Das führte im Mittel zu einem nachweislich größeren Gesamtertrag an Pflanzentrockenmasse bei der EB Variante.

Bei Trockenstress waren die mittleren Trockenmasseerträge im Vergleich zur Kontrollvariante bei den EB Klonen um rund 60 % und bei den EF Pflanzen um rund 50 % reduziert. Die Unterschiede zwischen den Endophytvarianten waren in dieser Wasserversorgungsvariante nicht signifikant.

Tabelle 42 Ertragsparameter der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen E nach ausreichender Wasserversorgung und Trockenstress, Gesamtertrag pro Pflanze (Summe der 2 Ernten) (Stressversuch 3).

Varianten	Sprosstrockenmasse (g/Pflanze)		Wurzeltrockenmasse (g/Pflanze)		Spross-Wurzel-Verhältnis (1: \bar{X})		Pflanzentrockenmasse (g/Pflanze)	
	EB	EF	EB	EF	EB	EF	EB	EF
Kontrolle	15,42 *	10,45 *	2,31 *	1,34	0,14	0,13	17,73 *	11,79 *
Trockenstress	5,65	4,91	1,01	0,72	0,18	0,15	6,66	5,62
GD ¹	2,16		0,62		0,06		2,65	
RDT ²	-63	-53	-56	-47	26	16	-62	-52

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Bewässerungsstufe signifikant überlegen (t-Test)

EB Pflanzen sind den EF auf der jeweiligen Bewässerungsstufe signifikant unterlegen (t-Test)

* signifikanter Unterschied zwischen den Wasserversorgungsstufen bei der jeweiligen Endophytvariante (t-Test)

1 GD = Grenzdifferenz für paarweisen Mittelwertvergleich mittels t-Test ($\alpha=5\%$)

2 RDT = Relative Differenz der Trockenstressvariante zur Kontrollvariante

4.5.3.3 Zusammenfassung und Vergleich mit den Ergebnissen im Feldversuch

Bei Genotyp A erzielten die EB Klone im Feldversuch durchschnittlich signifikant höhere Pflanzenerträge als die EF Klone. Hierbei war zu beobachten, dass der positive Einfluss des Endophyten auf die mittlere Anzahl der generativen Triebe (RDE = 142 %) größer war als auf den durchschnittlichen Trockenmasseertrag (RDE = 43 %). Auch im Gefäßversuch waren bei ausreichender Wasserversorgung positive Endophyteeffekte auf die mittlere Sprossanzahl zu erkennen (signifikant zur 1. Ernte), während der durchschnittliche Trockenmasseertrag aufgrund des endophytbedingt reduzierten mittleren Sprossgewichtes (signifikant zur 1. Ernte) durch den Endophyten nicht nachweislich beeinflusst wurde. Im Vergleich zur Kontrollvariante hatte der Trockenstress im Durchschnitt signifikante Verluste an Trockenmasse, Sprossanzahlen und Blattfläche zur Folge. Zwischen den Endophytvarianten konnten dabei keine gesicherten Unterschiede festgestellt werden.

Bei Genotyp E hatte der Endophyt im Feldversuch keinen nachweisbaren Einfluss auf die mittlere Anzahl der generativen Triebe, die Trockenmasseerträge waren jedoch bei den EB Klonen signifikant größer als bei den EF Pflanzen. Dem entsprechend wurde im Gefäßversuch ein positiver Endophyteeffekt auf das mittlere Sprossgewicht festgestellt (signifikant zur 1. Ernte), was bei ausreichender Wasserversorgung zu signifikant höheren Trockenmasseerträgen zugunsten der EB Variante führte (signifikant zur 1. Ernte und im Gesamtdurchschnitt). Der Trockenstress hatte wie auch bei Genotyp A signifikante Mindererträge gegenüber der Kontrollvariante zur Folge. Die endophytbedingten Unterschiede im mittleren Trockenmasseertrag waren bei dieser Wasserversorgungsstufe nicht signifikant.

In diesem Gefäßversuch war zu beobachten, dass der Einfluss des Endophyten auf die mittlere Sprossanzahl bzw. den durchschnittlichen Trockenmasseertrag bei beiden Genotypen im Feld- und im Gefäßversuch gleichgerichtet blieb. Es konnte jedoch bei keinem der beiden Genotypen trotz ihrer Herkunft von trockenen Standorten eine endophytinduzierte Trockenstresstoleranz nachgewiesen werden.

Die Analyse der Isoenzyme bei den im Feldversuch geprüften Klonen dieser Genotypen ergaben Unterschiede zwischen den Endophytvarianten. Die Ursache hierfür bleibt unklar, mögliche Erklärungen werden in Punkt 5 diskutiert.

Die Untersuchungen zum Vorkommen endophytischer Pilze der Gattung *Neotyphodium* in Ökotypen wirtschaftlich bedeutsamer Grasarten belegen, dass endophytbesiedelte Pflanzen auf natürlichen Grünlandstandorten weit verbreitet und häufig zu finden sind.

Fast alle Rohr- und Wiesenschwingelstandorte enthielten EB Ökotypen, wobei deren Anteil meist bei über 75 % lag. Im Mittel enthielten 59 % der *F. arundinacea* und 86 % der *F. pratensis* Pflanzen endophytische Pilze. Diese Ergebnisse stimmen im wesentlichen mit den Befunden vorangegangener Untersuchungen zur Endophytbesiedelung der Ökotypen dieser Arten in Europa überein (LEUCHTMANN, 1992; OLIVEIRA and CASTRO, 1997; SAIKKONEN et al., 2000). Für den Rohrschwingel wurde nachgewiesen, dass EB Pflanzen mit einer signifikant höheren Wahrscheinlichkeit auf trockenen Standorten im Vergleich zu nassen vorkamen. Bei *Festuca pratensis* traf das Gegenteil zu. Die taxonomischen Untersuchungen zeigten, dass es sich bei den Endophyten des Rohrschwingels bis auf eine Ausnahme um *Neotyphodium coenophialum* handelte. Beim Wiesenschwingel konnten dagegen lediglich 45 % der Pilzisolat *Neotyphodium uncinatum* zugeordnet werden, wobei eine hohe Variation in der Form der Sporen (rund bis sichelförmig) auftrat. CAGAŠ (2000) fand, dass die Isolate des Wiesenschwingels aus tschechischen Sorten meist etwas dickere und kürzere Konidien bildeten als die aus Neuseeland übersandten Kontrollisolate. Da die *Neotyphodium*-Endophyten ursprünglich aus Europa stammen (SIEGEL et al., 1985), ist eine erhöhte Variation in der Form der Konidien dieser Pilze nicht verwunderlich. Die anderen Wiesenschwingelökotypen beherbergten Endophyten, bei welchen keine Konidien gefunden wurden und welche sich in ihren Koloniemerkmalen von *N. uncinatum* unterschieden. Über das Auftreten von *Glyocladium*- und *Phialophora*-Endophyten in Sorten und Ökotypen von *Festuca* sp. und *Lolium perenne* wurde bereits berichtet (LATCH et al., 1984; PHILLIPSON, 1991; LEUCHTMANN, 1992). Die Untersuchungen von SCHMIDT (1991) ergaben, dass von insgesamt 43 Pilzisolaten aus Wiesenschwingelökotypen lediglich 51 % *N. uncinatum* waren, die anderen dagegen der Gattung *Phialophora* angehörten. Insofern ist auch hier eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse festzustellen.

Die feinblättrigen Schwingel waren gebietsweise endophytbesiedelt. Insgesamt 1/3 der Standorte beherbergte ausschließlich EF Pflanzen. Der Anteil an EB Rotschwingelökotypen war auf den Standorten meist hoch (> 50 %), jener der EB Schafschwingel in der Regel gering (< 50 %). Bei beiden Grasarten wurden im Falle einer Endophytbesiedelung stets *Neotyphodium festucae* festgestellt. Dieser Pilz ist in der Lage, das teleomorphe Stadium *Epichloë festucae* zu bilden. Bei einigen der gesammelten Ökotypen wurde im Sommer die

Ausbildung des Stromas an den Fruchtständen festgestellt. Die Ergebnisse lassen vermuten, dass die Produktion infektiöser Konidien zur Verbreitung des Pilzes in der näheren Umgebung beitragen kann, bei weiten Entfernungen aber offensichtlich keine Rolle spielt. Die durchschnittlichen Besiedelungsraten betragen für *F. rubra* 51 % und für *F. ovina* 26 %, im Mittel also 39 %. Diese Ergebnisse stimmen gut mit denen aus Spanien und Finnland überein. So fanden ZABALGOGEAZCOA et al. (1997), dass 68 % der untersuchten Rotschwengel EB waren, während SAIKKONEN et al. (2000) bei feinblättrigen Schwengelarten eine Besiedelungsrate von 31 % feststellten.

Das Vorkommen von Endophyten in *Lolium perenne*-Ökotypen ist in Europa gut untersucht. Die Ergebnisse aus insgesamt 20 Ländern wurden von LEWIS et al. 1997 zusammen ausgewertet. Etwa 40 % der untersuchten Populationen enthielten keine endophytischen Pilze. In den restlichen 60 % der Populationen wurden Endophyten in *L. perenne*-Pflanzen nachgewiesen, wobei der Anteil der EB Ökotypen jedoch in der Regel gering (unter 50 %) war. Die für Frankreich gewonnenen Ergebnisse zeigten, dass die *Lolium*-Populationen mit häufigem Endophytvorkommen meist in trockenen Gebieten lokalisiert sind (RAVEL et al., 1997). Auch in Deutschland sind auf vielen natürlichen Grünlandstandorten EB *Lolium perenne*-Ökotypen zu finden. Nach eigenen Untersuchungen sind 74 %, nach den Befunden von OLDENBURG (1994) 86 % der geprüften Populationen endophytbesiedelt. Auch hier lag der Anteil der EB Pflanzen in der Regel unter 50 %. Unsere Ergebnisse lassen jedoch darauf schließen, dass die Wasserversorgung am Standort einen erheblichen Einfluss auf das Vorkommen endophytischer Pilze in *L. perenne*-Ökotypen hat. So war die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von EB Pflanzen in trockenen Lagen signifikant höher als in wechselfeuchten oder nassen Gebieten. Untersuchungen in Tschechien zeigten die gleiche Tendenz (CAGAŠ, 1999).

Für die Analyse von Endophyteneffekten bei Grasgenotypen ist die Erstellung von genetisch identischem Pflanzenmaterial jeweils mit und ohne Endophyten eine wichtige Voraussetzung. Die derzeit angewendeten Methoden zur Abtötung dieser Pilze zeigen, dass die *Neotyphodium*-Endophyten eine sehr hohe Überlebensfähigkeit in ihren Wirtspflanzen besitzen. Versuche mit verschiedenen Fungiziden in unterschiedlichen Konzentrationen, Einwirkungszeiten und Anwendungsmethoden (LATCH and CHRISTENSEN 1982; HILL et al. 1990) sowie Hitzebehandlung der Pflanzen (DAPPRICH, 1996) ergaben hohe Sterberaten bei den Wirtspflanzen. Meist gelang nur eine Wachstumshemmung des Pilzes und nur selten ein vollständiges Abtöten. Aus diesem Grund wurde hier eine Methode geprüft, bei welcher die Pflanzen in Hydrokultur über mehrere Wochen dem Fungizid Desmel © (Wirkstoff: 250

ml/l Propiconazol) ausgesetzt waren. Diese Behandlungsweise erwies sich zwar als sehr wirkungsvoll, aber auch biozid gegenüber der Wirtspflanze. Lediglich Rohrschwengel ertrug die anhaltende Fungizideinwirkung relativ gut, indem über die Hälfte der Sprosse überlebten. Bei Wiesenschwengel überstand noch 1/3 der Pflanzen die Behandlung, wobei der Endophyt jedoch in 6 % der Pflanzen erhalten blieb. Bei Anwendung dieser Methode zur Erstellung von EF Klonen wird für diese beiden Grasarten eine Mindestanzahl von 6 Sprossen pro Genotyp angeraten. Besonders hohe Pflanzenverluste traten bei den feinblättrigen Schwengelarten auf, bei welchen im Mittel nur 8,5 % der Sprosse die Fungizidbehandlung überlebten. Auch bei *Lolium perenne* waren die Verluste bei einer Wirkstoffkonzentration von 0,4 % Propiconazol mit 80 % erheblich. Deshalb sollten zur Erstellung von EF Klonen die Genotypen dieser Pflanzenarten mit geringeren Fungizidkonzentrationen behandelt werden. Unter der Voraussetzung einer angepassten Behandlungsdauer und Wirkstoffkonzentration ist diese relativ gering aufwendige Hydrokulturmethode für die Abtötung von Endophyten in Genotypen verschiedener Grasarten geeignet.

Das vermehrte Auftreten von EB *Lolium perenne*-Pflanzen auf trockenen Standorten kann sowohl auf eine endophytbedingte Verbesserung der Samenproduktion bzw. der Samenqualität als auch auf eine erhöhte Trockenstresstoleranz zurückzuführen sein. Das wurde in den Einzelpflanzenversuchen an Ökotypen geprüft, welche aufgrund ihrer Herkunft von häufig überfluteten, wechselfeuchten oder extrem trockenen Standorten einen Einfluss von *Neotyphodium lolii* auf die Anpassungsfähigkeit der Pflanzen an Stressbedingungen vermuten ließen.

Die Versuchsergebnisse belegen, dass *Neotyphodium lolii* die generative Entwicklung der Pflanzen in Abhängigkeit von der jeweiligen Pilz-Wirt-Kombinationen unterschiedlich beeinflussen kann. Diese war bei den Genotypen A, C, J und K durch die Endophytbesiedelung gefördert: die EB Klone zeigten im Vergleich zu den EF Pflanzen eine schnellere Samenreife oder hatten zum Erntetermin im Durchschnitt einen signifikant höheren Anteil an reifen Fruchtständen gebildet. Bei den Genotypen I und L wurde die generative Entwicklung dagegen durch den Endophyten signifikant gehemmt. Wie die Ergebnisse des Genotypen B beweisen, kann dieser Endophyteneffekt in Abhängigkeit von der Wasserversorgung der Pflanzen erheblich variieren. Bei ausreichender Wasserversorgung und auch bei Trockenstress bewirkte die Endophytpräsenz, dass im Durchschnitt ein signifikant höherer Anteil der Triebe Fruchtstände bildete. Bei Überflutung war dagegen der mittlere Anteil an generativen Trieben pro Pflanze durch den Endophyten in der Tendenz reduziert. Bei einigen Genotypen war auch die Wuchsform, also das mehr oder weniger aufrechte

Wachstum der Triebe vom Endophyten verändert. Diese Merkmale werden in der Pflanze vornehmlich über den Hormonhaushalt der Pflanzen reguliert, wobei die Auxine eine wesentliche Rolle spielen (GOODIN, 1972). Zum Zeitpunkt des Schossens führt eine erhöhte Auxinakkumulation zur Ausprägung der apikalen Dominanz, welche zugleich eine Hemmung der Seitentriebe, ein einheitlicheres Abblühen (weniger Nachschosser) und folglich auch eine gleichmäßigere Samenreife bewirkt. Damit kann ein früherer Erntetermin bzw. ein höherer Anteil reifer Fruchtstände verbunden sein. Da die Auxine auch auf das Richtungswachstum von Sprossen wirken (DÖRFFLING, 1982) ist anzunehmen, dass *Neotyphodium lolii* einen erheblichen Einfluss auf die Bildung und den Transport dieser Pflanzenhormone in den Wirtspflanzen haben kann. Diese Vermutung wird durch die Befunde von DE BATTISTA (1990b) bestärkt, welcher in-vitro bei Pilzkulturen von *N. coenophialum* die Produktion von Auxinen nachwies.

Auch auf das Pflanzenwachstum hatte der Endophyt einen nachweisbaren Einfluss. Im Feldversuch zeigten 7 der untersuchten Genotypen zur Samenernte signifikant positive und 4 signifikant negative Endophyteeffekte auf den mittleren Pflanzenertrag. Im Vergleich mit den Ergebnissen der Gefäßversuche wurde festgestellt, dass stark ausgeprägte Endophyteeffekte auch bei unterschiedlichen Wachstumsbedingungen gleichgerichtet blieben. So bewirkte der Endophyt bei Genotyp J im Feld- und im Gefäßversuch stets eine signifikante Reduktion der mittleren Sprossanzahl. Auch bei den Genotypen A und E stimmten die jeweiligen Endophyteeffekte auf die Triebanzahl und den Trockenmasseertrag in beiden Versuchen überein. Insofern werden die Befunde von LEWIS (1990) sowie HESSE und LATCH (1999) bestätigt, dass bei *Lolium perenne* die Ausprägung von Symbioseeffekten bei den jeweiligen Pilz-Wirt-Kombinationen spezifisch ist. Im Gegensatz zu den Untersuchungen an *Festuca arundinacea*, wo Endophytpresenz das Pflanzenwachstum lediglich bei Nährstoffmangel nachweislich hemmt (CHEPLICK et al., 1989; BELESKY et al. 1989), kann *Neotyphodium lolii* bei einzelnen *Lolium perenne*-Genotypen auch unter optimalen Wachstumsbedingungen zu signifikanten Ertragsminderungen führen. Es ist somit möglich, dass *L. perenne*-Pflanzen die Endophytbesiedlung in Abhängigkeit vom Genotyp unterschiedlich gut vertragen, also eine genotypspezifische Kompatibilität zwischen den Symbiosepartnern vorliegt. Eventuell besteht eine Beziehung zwischen der Ertragsfähigkeit eines Genotypen, also der Produktivität der EF Klone und dem Endophyteeffekt. Darauf weisen die Ergebnisse der Samenernte im Feldversuch hin, wo die Endophytpresenz bei Genotypen mit einem geringen Ertragspotential in der Regel positiv, bei Genotypen mit einer hohen Produktivität dagegen meist negativ auf das Pflanzenwachstum wirkte. In der Nachwuchsperiode war diese Wechselwirkung

allerdings nicht mehr zu beobachten. Demnach sollte die Bedeutung dieser Beziehung über einen längeren Zeitraum und an einer größeren Anzahl von Genotypen geprüft werden.

Neotyphodium-Endophyten können nachweislich die Samenproduktion ihrer Wirtspflanzen verbessern. So berichteten RICE et al. (1990) von endophytbedingt höheren Samenerträgen bei *F. arundinacea*. BUMERL und MIKA (1991), welche Wiesen- und Rohrschwingelsorten auf Endophyteneffekte hinsichtlich der Samenproduktion prüften, fanden endophytbedingte Mehrerträge lediglich bei *F. pratensis* vor. Dem entsprechen auch die Befunde von EGGESTEIN (1997), welcher in Abhängigkeit von Versuchsjahr und Standort positive Endophyteneffekte bei Einzelpflanzen und Sorten von *Festuca pratensis* nachwies.

Insofern waren auch bei den untersuchten *Lolium perenne*-Genotypen Endophyteneffekte auf den Samenertrag zu erwarten. Diese variierten in Abhängigkeit von der jeweiligen Pilz-Wirt-Kombination von signifikant positiv bis signifikant negativ. Die Analyse der Ertragskomponenten zeigte, dass die Endophytenpräsenz den Samenertrag im wesentlichen durch die mittlere Anzahl der reifen Fruchtstände und den durchschnittlichen Spelzfruchtansatz beeinflusste, während die endophytbedingten Differenzen in den Fruchtstandsmerkmalen (mittlere Ährchen- und Blütenanzahl) nicht von Bedeutung waren. Die Produktion von generativen Grastrrieben ist insbesondere von der Herbstentwicklung der Pflanzen abhängig, da die bis Vegetationsende angelegten Blattsprosse und Vegetationspunkte einen bestimmten Entwicklungsstand für die Vernalisierbarkeit erreicht haben müssen. Nur „empfängnisbereite“ Vegetationskegel werden über Winter vernalisiert und können sich deshalb im zeitigen Frühjahr differenzieren, also die Vorstufen für die Ährchen und Blüten anlegen (SCHÖBERLEIN, 1970). Eine Stimulierung der Herbstentwicklung der Gräser durch den Endophyten und damit auch eine Förderung der generativen Triebbildung ist nicht auszuschließen. Die für Genotyp A vorliegenden Ergebnisse lassen weiterhin vermuten, dass die Endophytenpräsenz vielleicht auch im zeitigen Frühjahr für die Entwicklung der generativen Triebe förderlich ist. Als Indiz hierfür dient die auffallend hohe Anzahl an generativen Trieben bei den EB Pflanzen im Vergleich zu den EF Klonen bei einheitlicher Klongröße (4 Sprosse) zu Versuchsbeginn und identischer Pflanzzeit im Frühjahr. Diese Annahme wird durch die vorliegenden Ergebnisse für den Genotypen B bestärkt, bei welchem ein hohes Vernalisationsbedürfnis vermutet werden kann. Auch hier führte die Endophytenbesiedelung im Feldversuch zu einer überdurchschnittlichen Erhöhung der generativen Triebanzahl. Ein positiver Endophyteneinfluss auf das Ausschöpfen des Potentials an vernalisierten Trieben, also die Förderung der Fruchtstandentwicklung bei einer höheren Anzahl der vernalisierten Seitentriebe im zeitigen Frühjahr könnte dieses Phänomen erklären.

Da die Endophytpresenz den mittleren Spelzfruchtansatz bei einigen Genotypen signifikant veränderte ist anzunehmen, dass *Neotyphodium lolii* auch die Nährstoffversorgung der Fruchstängel beeinflussen kann. Diese Vermutung wird von den Ergebnissen der Samenqualitätsanalysen bestärkt. Im Gegensatz zu vorhergehenden Befunden von EGGESTEIN (1997), CLAY (1987) sowie BUMERL und MIKA (1991), welche keine endophytbedingten Veränderungen in der mittleren TKM der Spelzfrüchte fanden, konnten in den vorliegenden Versuchen signifikante Endophyteeffekte auf dieses Merkmal nachgewiesen werden. Der Einfluss des Endophyten variierte in Abhängigkeit von der jeweiligen Pilz-Wirt-Kombination, blieb jedoch sowohl im Feld- als auch im Gefäßversuch gleichgerichtet. Bei einigen Genotypen erhöhte die Endophytpresenz die Keimfähigkeit der Spelzfrüchte signifikant. Gleiches beobachteten CLAY (1987) und PFANNMÖLLER (pers. Mitt. 1999).

Bisherige Untersuchungen ließen vermuten, dass *Neotyphodium lolii* die Trockenstresstoleranz des Deutschen Weidelgrases verbessern kann. So ergaben Feldversuche mit *Lolium perenne*-Sorten (RAVEL et al., 1999) bzw. Halbgeschwisterfamilien (OLIVEIRA et al., 1997) auf trockenen Standorten im 2. bzw. 3. Versuchsjahr höhere Grünmasseerträge und eine allgemein verbesserte Persistenz bei den EB Varianten. Endophytbedingte Mindererträge wurden hier nicht festgestellt. DAPPRICH (1996) berichtete, dass bei Wassermangel die Überlebensfähigkeit bei EB Pflanzen im Vergleich zu EF Pflanzen der gleichen Sorte erheblich höher war. Untersuchungen an einzelnen Genotypen ergaben dagegen widersprüchliche Ergebnisse. So fanden AMALRIC et al. (1999) positive, BARKER et al. (1997) keine, EERENS et al. (1998) dagegen negative Endophyteeffekte auf das Pflanzenwachstum bei Trockenstress.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde festgestellt, dass der Endophyteinfluss auf die Trockenstresstoleranz in Abhängigkeit von der jeweiligen Pilz-Wirt-Kombination variierte. Positive Endophyteeffekte auf diese Eigenschaft konnten lediglich bei zwei Genotypen nachgewiesen werden. Die anderen Genotypen zeigten stressbedingte Ertragsminderungen, welche durch die Endophytbesiedelung nicht nachweislich beeinflusst oder sogar verstärkt wurden. Bei Genotyp B scheint der Endophyteeffekt vornehmlich auf eine erhöhte Persistenz der Pflanzen unter Wassermangel ausgerichtet zu sein, da der Trockenstress bei den EB Klonen zu geringeren Mindererträgen gegenüber den Kontrollpflanzen führte als bei den EF Klonen. Bei Genotyp F wirkte sich die Endophytbesiedelung dagegen ausschließlich bei Trockenstress positiv aus. Während die EF Klone stressbedingt signifikante Mindererträge aufwiesen, produzierten die EB Klone bei permanentem Wassermangel eine höhere Anzahl von Trieben als bei ausreichender Wasserversorgung. Dem entsprechen die Befunde von RAVEL et al. (1997), welche bei drei *L. perenne*-Genotypen endophytbedingte Mehrerträge ebenfalls erst bei Trockenstress feststellten.

Insofern ist festzustellen, dass bei *Lolium perenne* eine endophytinduzierte Trockenstresstoleranz offensichtlich nur bei wenigen Pilz-Wirt-Kombinationen vorliegt. Damit stimmen die Ergebnisse von LEWIS (2000) überein, welcher nur bei 2 von 21 *L. perenne*-Genotypen positive Endophyteeffekte auf die Trockenstresstoleranz der Pflanzen vorfand. Allerdings wurde bei fünf der in den Gefäßversuchen geprüften sieben Genotypen ein signifikant positiver Einfluss des Endophyten auf die Wurzelrockenmasse festgestellt. Auch das Spross-Wurzel-Verhältnis war bei den EB Klonen häufig geringer als bei den EF Pflanzen. Ein endophytbedingt verbessertes Wurzelwachstum scheint demnach keine Seltenheit bei *Lolium perenne*-Ökotypen zu sein. Diese Eigenschaften tragen zur Vermeidung von Trockenstress bei (LEVITT et al., 1980), was die beobachteten Mehrerträge bei den EB Varianten in trockenen Regionen und auch das vermehrte Auftreten von EB *Lolium perenne*-Ökotypen in trockenen Lagen erklären kann.

Bei Genotyp E war jedoch die optimale Wasserversorgung Voraussetzung für die Ausprägung positiver Endophyteeffekte. Die Genotypen A, L und M wiesen im Gefäßversuch kaum endophytbedingte Mehrerträge auf, während im Feldversuch deutlich positive Endophyteeffekte festgestellt wurden. Demnach haben vermutlich auch andere Umweltfaktoren Einfluß auf die Ausprägung von Endophyteeffekten.

Summiert man die Ergebnisse des Feldversuches über alle Genotypen, so ist festzustellen, dass zu beiden Ernteterminen die Mittelwertdifferenzen in den untersuchten Merkmalen zwischen den Endophytvarianten auffallend gering waren. Die positiven und negativen Endophyteeffekte auf den Trockenmasseertrag, die generative Triebanzahl und den Samenertrag bei den einzelnen Genotypen kompensierten sich gegenseitig und ergaben in der Summe fast Null. Ein ähnlicher Effekt kann bei Grassorten vorliegen, welche stets ein Genotypengemisch darstellen. So zeigten umfangreiche Versuche mit *Lolium perenne*-Sorten in Regionen mit häufigen Niederschlägen keine endophytbedingten Vorteile (EASTON, 1993; HUME et al., 1993; EERENS et al., 1997; THOM et al., 1999). Bisher erfolgte bei der Züchtung von Grassorten in Europa keine Selektion auf positive Endophyteeffekte, da hier der Nutzen der Pilze kaum erforscht und die Erhaltung eines hohen Endophytbesiedelungsgrades im Saatgut mit technischen Problemen verbunden ist (FEUERSTEIN, 2000). Dem entsprechend wurden *Neotyphodium*-Endophyten in den *Lolium perenne*-Sorten Europas nur selten gefunden (DAPPRICH, 1996).

Die vorliegenden Versuchsergebnisse zeigen jedoch, dass eine Selektion von Endophytenstämmen mit positiven Effekten auf das Pflanzenwachstum und/oder ihre Trockenstresstoleranz möglich sein könnte. Eine wichtige Voraussetzung hierfür ist jedoch die Prüfung der jeweiligen

Pilzstämme in mehreren Grasgenotypen der gleichen Sorte auf Standorten mit unterschiedlicher Wasserversorgung. Wie die Ergebnisse aus Holland zeigen, kann sich Endophytpresenz insbesondere in der Rasengräserzüchtung vorteilhaft erweisen. Dort wurden seit 1992 vermehrt EB Rasensorten aus Neuseeland importiert, welche im Vergleich zu den endophytfreien europäischen Sorten eine wesentlich bessere Ausdauer aufwiesen (FINK-GREMMELS, pers. Mitt. 2000).

Für die künftige Arbeit mit genetisch identischen EB und EF Pflanzen sind die ermittelten Ergebnisse der Isoenzymanalyse von erheblicher Bedeutung. Danach ist nicht auszuschließen, dass der Endophyt, eventuell aber auch die dauerhafte Einwirkung des Fungizides zur Erstellung von EF Klonen bei den Genotypen A, E und K zu Veränderungen in der Expression der Isoenzyme ACP und/oder PGI führte. Aus vorhergehenden Untersuchungen ist jedoch bekannt, dass Pilzbefall bei Pflanzen das Bandenmuster von ACP und PGI beeinflussen kann. So berichteten SAKO und STAHMANN (1972), dass bei Gerste eine Infektion mit Mehltau (*Erysiphe graminis*) zu einer höheren Bandenzahl dieser Isoenzyme führte. Dem entsprechen die Befunde von DA SILVA et al. (2000), welche Samen von Mais untersuchten und bei Befall mit *Aspergillus flavus*, *Fusarium monoiliforme* oder *Penicillium* spp. Veränderungen in der Expression von 5 Isoenzymen (incl. ACP) feststellten. Auch Unterschiede im Entwicklungsstadium können bei Pflanzen zu Variationen im Bandenmuster von Isoenzymen führen (SCANDALIOS, 1974; ENDO, 1981). Da Endophytpresenz bei den Genotypen A und K die generative Entwicklung der Pflanzen beeinflusste, wäre hier eine indirekte Wirkung auf die Expression der Isoenzyme möglich. Die Aktivität von ACP in Pflanzen ist von ihrer Phosphorversorgung abhängig (CAMACHO and MALAVOLTA, 2000; GAUME et al., 2001). Bei Arabidopsis (PATEL et al., 1998) und Tomaten (BALDVIN et al., 2001) wurde unter Phosphormangel die Expression eines neuen ACP-Genes nachgewiesen. Unterschiede im ACP Bandenmuster wurden lediglich bei Genotyp A festgestellt, wobei die EF Pflanzen eine, die EB Klone dagegen zwei Banden bildeten. Die EF Pflanzen dieses Genotypen zeigten im Frühjahr eine violette Blattfärbung, welche ein Indiz für Phosphormangel ist (SCHILLING, 1987). Bei den EB Klonen war dies nicht zu beobachten. Bei Rohrschwengel konnte ein positiver Einfluss ihrer *Neotyphodium*-Endophyten auf die P-Aufnahme nachgewiesen werden (MALINOWSKI et al., 1999). Es ist somit nicht auszuschließen, dass Endophytpresenz in *Lolium perenne* zu ähnlichen Effekten führen und folglich auch die Expression von ACP verändern kann.

Endophytbesiedelte Gräser sind auf vielen natürlichen Grünlandstandorten zu finden. Fast alle Rohr- und Wiesenschwingelpopulationen enthielten EB Ökotypen in einem Umfang von meist über 75 %. Für *Festuca arundinacea* erfolgte der Nachweis, dass die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von EB Pflanzen auf trockenen Standorten signifikant höher ist als auf nassen. Bei *F. pratensis* wurde das Gegenteil festgestellt. Während bei Rohrschwingel mit einer Ausnahme *Neotyphodium coenophialum* gefunden wurde, konnten beim Wiesenschwingel lediglich 45 % der Pilzisolat *N. uncinatum* zugeordnet werden. Die anderen Ökotypen dieser Grasart beherbergten Endophyten, deren taxonomische Zugehörigkeit aufgrund fehlender Konidienbildung nicht eindeutig geklärt werden konnte. Die feinblättrigen Schwingelarten waren nur gebietsweise endophytbesiedelt. Die durchschnittlichen Besiedelungsraten betragen bei *Festuca rubra* 51 % und bei *F. ovina* 26 %. Mit *Neotyphodium lolii* besiedelte *Lolium perenne*-Ökotypen wurden auf 74 % der untersuchten Standorte gefunden, wobei ihr Anteil in der Regel gering (unter 50 %) war. Auch bei dieser Grasart war die Wahrscheinlichkeit des Auftretens der EB Pflanzen auf trockenen Standorten im Vergleich zu nassen wesentlich höher. Die methodischen Untersuchungen zur Erzeugung von genetisch identischem endophytfreiem Pflanzenmaterial aus endophytbesiedelten Pflanzen zeigten, dass die geprüfte Hydrokulturmethode hinsichtlich der Abtötung der Pilze sehr wirkungsvoll war. Allerdings wurde auch eine biozide Wirkung auf die Wirtspflanzen festgestellt, welche jedoch durch eine für die jeweilige Grasart angepasste Behandlungsdauer und Wirkstoffkonzentration reduziert werden kann.

Die Ergebnisse der Einzelpflanzenversuche belegen, dass *Neotyphodium lolii* die generative Entwicklung der Pflanzen in Abhängigkeit von der jeweiligen Pilz-Wirt-Kombinationen unterschiedlich beeinflussen kann. So wurde bei den EB Klonen der Genotypen A, C, J und K eine schnellere Samenreife bzw. ein höherer Anteil an generativen Trieben zum Erntetermin festgestellt. Das Gegenteil traf für die Genotypen I und L zu. Bei einigen Genotypen war auch die Wuchsform, also das mehr oder weniger aufrechte Wachstum der Triebe durch den Endophyten verändert. Da diese Merkmale in der Pflanze vornehmlich durch die Auxine reguliert werden ist anzunehmen, dass *Neotyphodium lolii* in Abhängigkeit vom Genotyp die Bildung und den Transport dieser Phytohormone in der Wirtspflanze beeinflussen kann.

Die Versuchsergebnisse belegen, dass auch die Endophyteeffekte auf das Wachstum von *Lolium perenne*-Pflanzen genotypspezifisch sind und in Abhängigkeit von der jeweiligen Pilz-Wirt-Kombination sowohl positiv als auch negativ sein können. Im Feldversuch wiesen 7 der 14 geprüften Genotypen während der stressfreien Wachstumsperiode (April bis August 1999) bei Endophytbesiedelung signifikante Zunahmen im Trockenmasse- und Samenertrag auf, während bei

4 Genotypen das Gegenteil der Fall war. Der Vergleich mit den Ergebnissen der Gefäßversuche zeigte, dass stark ausgeprägte Endophyteeffekte auf die Sprossanzahl, das Einzelsprossgewicht und die TKM auch bei unterschiedlichen Wachstumsbedingungen gleichgerichtet blieben. Diesem Sachverhalt kann eine unterschiedliche Kompatibilität zwischen den Symbiosepartnern zugrunde liegen. Eventuell besteht eine Beziehung zwischen der Ertragsfähigkeit eines Genotypen und der Ausprägung von Symbioseeffekten. Der Endophyt scheint besonders leistungsschwache Genotypen zu fördern, während diejenigen mit einer hohen Produktivität eher unbeeinflusst bleiben oder sogar gehemmt werden können. Diese Wechselwirkung sollte in weiteren Versuchen noch eingehend geprüft werden.

Eine wesentliche Verbesserung der Trockenstresstoleranz durch den Endophyten konnte lediglich bei den Genotypen B und F nachgewiesen werden. Die anderen *Lolium perenne*-Genotypen zeigten stressbedingte Ertragsminderungen, welche durch die Endophytbesiedelung nicht nachweislich beeinflusst oder sogar verstärkt wurden. Allerdings wurde bei fünf der in den Gefäßversuchen geprüften sieben Genotypen ein signifikanter positiver Einfluss des Endophyten auf die Wurzeltrockenmasse festgestellt. Dieser Effekt, wie auch die nachgewiesene endophytbedingte Verbesserung der Keimfähigkeit von Spelzfrüchten, könnten insbesondere auf trockenen Standorten bedeutsam sein und zu der beobachteten Häufigkeit von endophytbesiedelten *Lolium perenne*-Ökotypen beigetragen haben.

Bei einigen Genotypen scheint die optimale Wasserversorgung jedoch Voraussetzung für die Ausprägung positiver Endophyteeffekte zu sein. So waren endophytbedingte Mehrerträge bei Genotyp E ausschließlich bei ausreichender Wasserversorgung festzustellen.

Im Ergebnis dieser Untersuchungen scheint die Selektion von *Neotyphodium lolii*-Stämmen zur Verbesserung des Pflanzenwachstums bzw. der Persistenz möglich. Insbesondere in der Rasenraserzüchtung wäre eine endophytbedingte Verbesserung der Ausdauer von Nutzen. Eine Voraussetzung ist jedoch die Überprüfung der Pilzstämme in mehreren Wirtsgenotypen bei unterschiedlichen Wachstumsbedingungen.

- Agee, C.S. and Hill, N.S. (1994): Ergovaline variability in *Acremonium*-infected tall fescue due to environment and plant genotype. *Crop Sci.* 34, 221-226.
- Amalric, C., Sallanon, H., Monnet, F., Hitmi, A., Coudret, A. (1999): Gas exchange and chlorophyll fluorescence in symbiotic and non-symbiotic ryegrass under water stress. *Photosynthetica* 37, 107-112.
- Analytis, S., Kranz, J. und Stumpf, A. (1971): Eine Methode zur Berechnung der Blattfläche. *Angew. Botanik XLV*, 111-114.
- Anonym (1988): Richtlinien für die Durchführung von landwirtschaftlichen Wertprüfungen und Sortenversuchen. Bundessortenamt. Verlag Alfred Strothe. Pp. 173.
- Anonym (2000): Beschreibende Sortenlist 2000. Rasengräser. Bundessortenamt. Verlag Alfred Strothe. Pp. 173.
- Arachevaleta, M., Bacon, C.W., Hoveland, C.S. and Radcliffe D.E. (1989): Effect of the tall fescue endophyte on plant response to environmental stress. *Agron.J.* 81, 83-90.
- Arachevaleta, M., Bacon, C.W., Plattner, R.D., Hoveland, C.S. and Radcliffe D.E. (1992): Accumulation of ergopeptide alkaloids in symbiotic tall fescue grown under deficits of soil water and nitrogen fertiliser. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 857-861.
- Azevedo M. D. and Welty R. E. (1995): A study on the fungal endophyte *Acremonium coenophialum* in the roots of tall fescue seedlings. *Mycologia*, 87 (3), 289-297.
- Bacon, C.W., Porter, J.K., Robbins, J.D. and Luttrell, E.S. (1977): *Epichloe typhina* from tall fescue grasses. *Appl. Environ. Microbiol.* 35, 576-581.
- Bacon, C.W. and Siegel, M.R. (1988): Endophyte parasitism of tall fescue. *J. Prod. Agric.* 1, 45-55.
- Baldwin, J. C., Karthikeyan, A.S. and Raghothama, K. G. (2001): LEPS2, a phosphorus starvation-induced novel acid phosphatase from tomato. *Plant Physiology* 125, 728-737.
- Balfourier, F. and Charmet, G. (1991): Spaced plant evaluation of Mediterranean germplasm collection of perennial ryegrass. *Euphytica* 57, 57-66.
- Ball, O.J.P., Prestidge, R.A. and Sprosen, J.M. (1995): Interrelationships between *Acremonium lolii*, peramine, and Lolitrem B in perennial ryegrass. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 1527-1533.
- Barker, D.J., Hume, D.E. and Quigley, P.E. (1997): Negligible physiological responses to water deficit in endophyte-infected and uninfected perennial ryegrass. In: *Neotyphodium/Grass Interactions*. C.W. Bacon and N.S. Hill (Ed.). Plenum Press. New York and London, 137-140.
- Belesky, D.P., Evans J.J. and Wilkinson, S.R. (1985): Amino acid composition of tall fescue seed produced from fungal endophyte (*Acremonium coenophialum*)-free and infected plants. *Agron. J.* 77, 796-798.
- Belesky, D.P., Devine, O.J., Pallas, J.E.jr. and Stringer, W.C. (1987): Photosynthetic activity of tall fescue as influenced by a fungal endophyte. *Photosynthetica* 21, 82.

- Belesky, D.P., Stringer, W.C. and Hill, N.S. (1989): Influence of endophyte and water regime upon tall fescue accessions. I. Growth characteristics. *Ann. Bot.* 63, 495-503.
- Belesky, D.P. and Fedders, J.M. (1995): Tall fescue development in response to *Acremonium coenophialum* and soil acidity. *Crop Sci.* 35, 529-533.
- Belesky, D.P. and Fedders, J.M. (1996): Does endophyte influence regrowth of tall fescue? *Ann. Bot.* 78 (1996), 499-505.
- Bouton, J.H., Gates, R.N., Belesky, D.P. and Owsley, M. (1993): Yield and persistence of tall fescue in the south-eastern coastal plain after removal of its endophyte. *Agron. J.* 85, 52-55.
- Buck, G.W., West, C.P. and Elbersen, H.W. (1997): Endophyte effect on drought tolerance in diverse *Festuca* species. In: *Neotyphodium/Grass Interactions*. C.W. Bacon and N.S. Hill (Ed.). Plenum Press. New York and London, pp. 141-144.
- Bumerl, J. and Mika, V. (1991): Infection of meadow fescue and *Festuca arundinacea* by the fungus *Acremonium coenophialum*: The effect on seed yield and quality. *Scientific studies 1991*, Oseva, Breeding Institute for Fodder Plants, Troubsko, 187-191.
- Bunyard, B. and McInnis, T., Jr. (1990): Evidence for elevated phytohormone levels in endophyte infected tall fescue. *Int. Symp. on Acremonium/Grass Interactions, Abstracts*. S.S. Quinsberry and R.E. Joost (Ed.). New Orleans, 185-188.
- Burhan, W. (1984): Development of *Acremonium coenophialum* and accumulation of N-acetyl loline and N-formyl loline in tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). MT. University of Kentucky. Lexington. US. Pp. 64.
- Bush, L. P., Fannin, F. F., Siegel, M. R., Dahlman, D.L. and Burton, H. R. (1993): Chemistry, occurrence and biological effects of saturated pyrrolizidine alkaloids associated with endophyte grass interactions. *Agriculture Ecosystems & Environment* 44, 81-102.
- Cabral, D., Novas, M.V. and White, J.F. (2000): *Neotyphodium* endophytes: incidence, diversity, and hosts in South America. In: 4th International *Neotyphodium/Grass Interactions* Symposium. Book of Abstract. V.H. Paul and P.D. Daprich (Ed.) Soest, Germany. Pp 34.
- Cagaš, B. (1991): Genetic resources of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) and *Acremonium coenophialum*. Report of a working group on forages, 4th Meeting, Budapest. Pp. 76-81.
- Cagaš, B. (1999): The endophytes (*Neotyphodium* spp.) in ecotypes of *Lolium perenne* and the characteristics of their localities. *Grassland Ecology V. Proceedings of the 5th Ecological Conference*. 23 - 25 November 1999, Banska Bystrica, Slovakia, 180-184.
- Cagaš, B. (2000): The endophytes *Neotyphodium* spp., their incidence in the Czech republic, problems, questions, work with E+ plants. COST 828 "Endophyte Meeting". Institut für Acker- und Pflanzenbau Halle, Germany, 6./7. April 2000.
- Camacho, R. and Malavolta, E. (2000): Effect of phosphorus supply on growth and acid phosphatase activity of grain sorghum hybrids. *Phyton – International Journal of Experimental Botany* 67, 13-20.

- Carrow, R.N. (1996): Drought avoidance characteristics of diverse tall fescue cultivars. *Crop Sci.* 36, 371-377.
- Charmet, G., Balfourier, F. and Bion, A. (1990): Agronomic evaluation of a collection of French perennial ryegrass populations. *Genetic Resources and Crop Evolution* 40, 77-89.
- Cheplick, G.P., Clay, K. and Marks, S. (1989): Interactions between infection by endophytic fungi and nutrient limitation in the grasses *Lolium perenne* and *Festuca arundinacea*. *New Phytol.* 111, 89-97.
- Christensen, M. J., Ball, O. J. P., Bennett, R. J. and Schardl, C. L. (1997): Fungal and host genotype effects on compatibility and vascular colonization by *Epichloe festucae*. *Mycological Research* 101, 493-501.
- Christensen, M.J., Easton, H.S., Simpson, W.R. and Tapper, B.A. (1998): Occurrence of the fungal endophyte *Neotyphodium coenophialum* in leaf blades of tall fescue and implications for stock health. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 41, 595-602.
- Clay, K. (1987): Effects of fungal endophytes on the seed and seedling biology of *Lolium perenne* and *Festuca arundinacea*. *Oecologia* 73, 358-362.
- Clement, S. L., Wilson, A. D., Lester, D. G. and Davitt, C. M. (1997): Fungal endophytes of wild barley and their effects on *Diuraphis noxia* population development. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 82, 275-281.
- Cook, K. (1987): Distribution of *Acremonium coenophialum* in developing seedlings and inflorescences of *Festuca arundinacea*. M.S. Thesis, Oregon State Univ., Corvallis. 62 pp.
- Cook R., Lewis C. G. and Mizen K. A. (1991): Effects on plant-parasitic nematodes of infection of perennial ryegrass, *Lolium perenne*, by the endophytic fungus, *Acremonium lolii*. *Crop Protection* 91, 403-407.
- Daniels, L.B. (1989): Historical perspective of fescue toxicosis in Arkansas. In: Proceedings of the 1989 Arkansas Fescue Toxicosis Conference. C.P. West (Ed.). US. Arkansas Agricultural Experiment Station. Pp. 1-6.
- Dapprich, P. (1996): Untersuchungen zur morphologischen und molekularbiologischen Charakterisierung der Gräserendophyten *Acremonium lolii* und *Acremonium uncinatum* und deren Auswirkungen auf ihren Wirt. Dissertation. Paderborn, Germany. Pp 150.
- Dapprich, P., Paul, V.H. and Krohn, K. (1996): Incidence of *Acremonium* endophytes in selected German pastures and the contents of alkaloids in *Lolium perenne*. *Bulletin OILB/srop* 19, 103-114.
- Da Silva, E.A.A., Pintho E.V.D., Vieiva M.D.G.C., de Carvalho M.L.M. and Machado I.D. (2000): Alteration of the isoenzyme patterns in corn seeds infected by fungi. *Pesqousa Agropecuaria Brasileira* 35, 1725-1732.
- De Batista, J.P., Bouton, J.H., Bacon, C.W. and Siegel, M.R. (1990a): Rhizome and herbage production of endophyte-removed tall fescue clones and populations. *Agron. J.* 82, 651-654.
- De Battista, J.P., Bacon, C.W., Severson, R., Plattner, R.D. and Bouton, J.H. (1990b): Indole acetic acid production by the fungal endophyte of tall fescue. *Agron. J.* 82, 878-880.

- Dörffling, K. (1982): Das Hormonsystem der Pflanze. Georg Thieme Verlag Stuttgart New York. Pp. 303.
- Dymock, J.J., Rowan, D.D. and McGee, I.R. (1989): Effects of endophyte-produced mycotoxins on Argentine stem weevil and the cutworm *Graphania mutans*. In: Proc. 5th Australasian Conference of Grassland Invertebrate Ecology. Melbourne. Australia. Pp. 35-43.
- Easton, H.S. (1993): Will endophyte strain affect variety performance. In: Proc. Sec. Int. Symp. on *Acremonium*/Grass Interactions. Hume D.E., Latch, G. C. M. and Easton, H. S. (Ed.). Palmerston North. New Zealand. Pp. 195-199.
- Eerens, J.P.J., Easton, H.S., Lukas, R.J., White, J.G.H. and Miller, K.B. (1997): Influence of the ryegrass endophyte on pasture production and composition in a cool-moist environment. *Neotyphodium*/Grass Interactions. C.W. Bacon and N.S. Hill (Ed.). Plenum Press. New York and London, 157-160.
- Eerens, J.P.J., Lucas, R.J., Easton, H.S., White, J.G.H. (1998): Influence of the ryegrass endophyte (*Neotyphodium lolii*) in a cool-moist environment II. New Zealand Journal of Agricultural Research 41, 191-199.
- Eggstein, S. (1997): Untersuchungen zum Vorkommen von Endophyten der Gattung *Acremonium* in *Festuca*-Arten Europas sowie zu Symbioseeffekten bei *Festuca pratensis*. Diss., Halle, 115S.
- Elbersen, H.W., Buck, G.W., West, C.P. and Joost, R.E. (1994): Water loss from tall fescue leaves is decreased by endophyte. Arkansas Farm Research 43, 8-9.
- Elbersen, H.W. and West, C.P. (1996): Growth and water relations of field-grown tall fescue as influenced by drought and endophyte. Grass and Forage Science 51, 333-342.
- Elmi, A.A., West, C.P. and Turner, K.E. (1989): *Acremonium* enhances osmotic adjustment in tall fescue. Arkansas Farm Research 38, 7.
- Elmi, A.A., West, C.P., Turner, K.E. and Oosterhuis, D.M. (1990): *Acremonium coenophialum* effects on tall fescue water relations. Proc. Int. Symp. on *Acremonium*/Grass Interactions. S.S. Quinsberry and R.E. Joost (Ed.). New Orleans, 137-140.
- Elmi, A.A. and West, C.P. (1995): Endophyte infection effects on stomatal conductance, osmotic adjustment and drought recovery of tall fescue. New Phytol. 131, 61-67.
- Emile, J.C., Ravault, J.P., Chabosseau, J.M. and Ghesquiere, M. (1997): Effect of endophyte-infected tall fescue hay on dairy heifers under European intensive management. XVIII International Grassland Congress, Canada.
- Endo, T. (1981): Developmental modification and hybridisation of allelic acid phosphatase isoenzymes in homo- and heterozygotes for the Acp-1 locus in rice. Biochemical Genetics 19, 373-384.
- Fannin, F.F., Bush, L.P., Siegel, M.R. and Rowan, D.D. (1990): Analysis of peramin in fungal endophyte infected grasses by reversed-phase thin-layer chromatography. J. Chromatogr. 503, 288-292.

- Feuerstein, U. (2000): Utilisation of endophyte-mediated advantages in plant breeding. COST 828 "Seed Science in the field of genetically controlled stress physiology" Endophyte Meeting. April 6./7., Halle. Germany.
- Fink-Gremmels, J. and Bull, S. (2000): Prevalence of ryegrass staggers syndrome in horses in the Netherlands. In: 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium. Book of Abstracts. V.H. Paul and P.D. Dapprich (Ed.) Soest, Germany. Pp 72.
- Fletcher, L.R. and Harvey, I.C. (1981): An association of a *Lolium* endophyte with ryegrass staggers. N.Z.Vet. J. 29, 185-186.
- Freeman, E.M. (1903): The seed-fungus of *Lolium temulentum* L. the darnel. Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B 196, 1-27.
- Gallagher, R.T., Hawkes, A.D., Steyn, P.S. and Vlegaar, R. (1984): Termogenic neurotoxins from perennial ryegrass causing ryegrass staggers disorder of livestock: structure elucidation of lolitrem. Br. J. Chem. Soc., Chem. Commun. Pp, 614-616.
- Gallagher, R.T., Smith, G.S. and Sprosen, J.M. (1987): The distribution and accumulation of Lolitrem B neurotoxin in developing perennial ryegrass plants. Proc. 4th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Assoc. of Animal Production Societies. Hamilton. New Zealand. Pp 404.
- Gams, W., Petrini O. and Schmidt D. (1990): *Acremonium uncinatum*, a new endophyte in *Festuca pratensis*. Mycotaxon 15, 311-318.
- Garner, G.B., Rottinghaus, G.E., Cornell, C.M. and Testereci, H. (1993): Chemistry of compounds associated with endophyte/grass interaction: ergovaline and ergopeptine-related alkaloids. Agriculture, Ecosystems and Environment 44, 65-80.
- Gaume A., Machler F., De Leon C., Narro L., and Frossard, E (2001): Low-P tolerance by maize (*Zea mays* L.) genotypes: Significance of root growth, and organic acids and acid phosphatase root exudation. Plant and Soil 228, 253-264.
- Glenn, A.E., Bacon, C.W., Price, R.P. and Hanlin, R.T. (1996): Molecular phylogeny of *Acremonium* and its Taxonomic implications. Mycologia 88, 369-383.
- Goodin, J.R. (1972): Chemical regulation of growth in leaves and tillers. In: The Biology and Utilisation of Grasses. V.B. Younger and C.M. McKell (Ed.). Academic Press. New York and London. Pp. 135-146.
- Gottlieb, L.D. (1982): Conservation and duplication of isozymes in plants. Science 216, 373-380.
- Guillaumin, J.J., Frain, M., Pichon, N. and Ravel, C. (2000): Survey of the fungal endophytes in wild grass species of the Auvergne Region (Central France). In: 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium. V.H. Paul and P.D. Dapprich (Ed.) Soest, Germany. Pp 85-92.
- Guy, P.L. (1992): Incidence of *Acremonium lolii* and lack of correlation with barley yellow dwarf viruses in tasmanian perennial ryegrass pastures. Plant Pathology 41, 29-34.

- Gwinn, K.D. and Bernard, E.C. (1993): Interactions of endophyte-infected grasses with the nematodes *Meloidogyne marylandi* and *Pratylenchus scribneri*. In: Proceedings of the Second International Symposium on *Acremonium*/Grass Interactions. D.E. Hume, G.C.M. Latch and H.S. Easton (Ed.) Palmerston North. New Zealand. Pp. 156-160.
- Hahn, H. (1996): Untersuchungen zur elektrophoretischen Charakterisierung ausgewählter Sorten und Zuchtstämme von *Festuca pratensis* Huds. und *Festulolium*-Bastarden. Dissertation. Halle/Saale. Germany. S. 139.
- Hesse U. and Latch G.C.M. (1999): Influence of *Neotyphodium lolii* and barley yellow dwarf virus, individually and combined, on the growth of *Lolium perenne*. Australasian Plant Pathology 28, 240-247.
- Hiatt E.E. and Hill N.S. (1997): *Neotyphodium coenophialum* mycelial protein and herbage mass effects on ergot alkaloid concentration in tall fescue. Journal of Chemical Ecology 23, 2721-2736.
- Hill, N.S., Stringer, W.C., Rottinghaus, G.E., Belesky, D.P., Parrott, W.A. and Pope, D.D. (1990): Growth, morphological, and chemical component responses of tall fescue to *Acremonium coenophialum*. Crop Sci. 30, 156-161.
- Hill, N.S., Pachon, J.G. and Bacon, C.W. (1996): *Acremonium coenophialum*-mediated short- and long-term drought acclimation in tall fescue. Crop Sci. 36, 665-672.
- Hill, N.S., Beleski, D.P. and Stringes W.C. (1998): Encroachment of endophyte-infected on endophyte-free tall fescue. Annals of Botany 81, 483-488.
- Holder, T.L., West, C.P., Turner, K.E., McConnell, M.E. and Piper, E.L. (1994): Incidence and viability of *Acremonium* endophytes in tall fescue and meadow fescue plant introductions. Grop-Sci. Madison, Wis. : Grop Science of America, 34, 252-254.
- Hoveland, C.S. (1993): Importance and economic significance of the *Acremonium*-endophytes to performance of animals and grass plants. Agriculture Ecosystems & Environment 44, 3-12.
- Huizing, H.J., Molen W., Kloek W. and Nijs A. P. M (1991): Detection of lolines in endophyte-containing meadow fescue in the Netherlands and the effect of elevated temperature on induction of lolines in endophyte-infected perennial ryegrass. Blackwel Scientific Publications 46, 441-445.
- Hume, D.E., Popay, A.J. and Barker, D.J. (1993): Effect of *Acremonium* endophyte on growth of ryegrass and tall fescue under varying levels of soil moisture and Argentine stem weevil attack. Proc. Sec. Int. Symp.on *Acremonium*/Grass Interactions. Hume D.E., Latch, G. C. M. and Easton, H. S. (Ed.). New Zealand: Palmerston North pp.161.
- Joost, R.E. (1995): *Acremonium* in fescue and ryegrass: Boon or bane? A review. J. Anim. Sci. 73, 881-888.
- Justus, M., Witte, L. and Hartmann, T. (1997): Levels and tissue distribution of loline alkaloids in endophyte-infected *Festuca pratensis*. Phytochemistry 44, 51-57.
- Kennedy, C.W. and Bush, L.P. (1983): Effect of environmental and management factors on the accumulation of N-acetyl and N-formyl loline alkaloids in tall fescue. Crop Science 23, 547-552.
- Keogh, R.G. and Lawrence, T. (1987): Influence of *Acremonium lolii* presence on emergence and growth of ryegrass seedlings. NZ. J. Agric. Res. 30, 507-510.

- Keogh, R.G., Tapper, B.A. and Fletcher, R.H. (1991): Distributions of the fungal endophyte *Acremonium lolii*, and of the alkaloids Lolitrem B and peramine, within perennial ryegrass. NZ. J. Agric. Research. 35. 35-38.
- Kimmons, C.A., Gwinn, K.D. and Bernard E.C. (1990): Nematode reproduction on endophyte-free tall fescue. Plant Dis. 74, 757-761.
- Kirpatrick T.L., Barham J.D., and Batteman R.J. (1990): Host status for *Meloidogyne graminis* of tall fescue clones with and without the endophyte *Acremonium coenophialum*. In: Proceedings of the International Symposium on *Acremonium*/Grass Interactions, S. S. Quisenberry and R. E. Joost (Ed.) USA: New Orleans, 154-156.
- Koga, H., Christensen, M.J. and Bennett, R.J. (1993a): Incompatibility of some grass-*Acremonium* endophyte associations. Mycol. Res. 97, 1237-1244.
- Koga, H., Christensen, M.J. and Bennett, R.J. (1993b): Grass/*Acremonium* associations at the cellular level. Proc. Sec. Int. Symp.on *Acremonium*/Grass Interactions. Hume D.E., Latch, G. C. M. and Easton, H. S. (Ed.). New Zealand: Palmerston North, 52.
- Lane, G.A., Tapper,B.A., Davies, E., Hume, D.E., Latch, G.C.M., Barker, D.J., Easton, H.S. and Rolston, M.P. (1997): Effect of growth conditions on alkaloid concentrations in perennial ryegrass naturally infected with endophyte. *Neotyphodium*/Grass Interactions. C.W. Bacon and N.S. Hill (Ed.). Plenum Press. New York and London, 179-182.
- Latch, G.C.M. (1983): Incidence and control of ryegrass endophytes in New Zealand. Proceedings of Forage and Turfgrass Endophyte Workshop. Oregon (USA): Oregon State University Extension Service, 29-34.
- Latch, G.C.M. (1993): Physiological interactions of endophytic fungi and their hosts. Biotic stress tolerance imparted to grasses by endophytes. Agriculture, Ecosystems and Environment 44, 143-156.
- Latch, G.C.M. and Christensen, M.J. (1982): Ryegrass endophyte, incidence, and control. NZ. J.Agric.Res. 25, 443-448.
- Latch, G.C.M., Christensen, M.J. and Samuels, G.J. (1984): Five endophytes of *Lolium* and *Festuca* in New Zealand. Mycotaxon 20, 535-550.
- Latch, G.C.M., Hunt, W.F. and Musgrave, D.R. (1985): Endophytic fungi affect growth of perennial ryegrass. NZ. J. Agric.Res. 28, 165-168.
- Latch, G.C.M., Potter L. R. and Tyler B. F. (1987): Incidence of endophytes in seeds from collections of *Lolium* and *Festuca* species. Annals of Applied Biology 111, 59-64.
- LeBars, J. and LeBars, P. (1996): Recent acute and subacute mycotoxicoses recognised in France. Vet. Research 27, 383-394.
- Leuchtman, A. (1992): Systematics, Distribution, and Host Specificity of Grass Endophytes. Natural Toxins 1, 150-162.
- Leuchtman, A. and Clay, K. (1993): Nonreciprocal compatibility between *Epichloe typhina* and four host grasses. Mycologia Bronx, The New York Botanical Garden. 85, 157-163.

- Leuchtman, A., Schardl, C.L. and Siegel, M.R. (1994): Sexual compatibility and taxonomy of a new species of *Epichloe* symbiotic with fine fescue. *Mycologia* 86, 802-812.
- Levitt, J.: Responses of plants to environmental stresses. Vol. II. Water, radiation, salt, and other stresses. Academic Press. New York (1980).
- Lewis, G.C. (1990): Herbage yield of nine genotypes of perennial ryegrass with and without infection by ryegrass endophyte. *Tests of Agrochemicals and Cultivars* 11, Ann. Appl. Biol. (Suppl.) 116: 108-109.
- Lewis, G.C. (1993): Incidence of infection of grasses by endophytic fungi in the UK, and effects of infection on animal health, pest and disease damage and plant growth. *Proceedings of the Conference on Harmful and Beneficial Microorganisms in Pastures. Turf and Grassland, Padernborn*, pp. 161-167.
- Lewis, G.C. (2000): Effect of drought stress on genotypes of *Lolium perenne* and other grass species with and without *Neotyphodium/Epichloe* infection. In: 4th International *Neotyphodium/Grass Interactions Symposium*. V.H. Paul and P.D. Dapprich (Ed.) Soest, Germany. Pp. 201-206.
- Lewis, G.C. and Clements, R.O. (1986): A survey of ryegrass endophyte (*Acremonium loliae*) in the U.K. and its apparent ineffectuality on a seed pest. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 107, 633-638.
- Lewis, G.C. and Clements, R.O. (1990): Effect of *Acremonium lolii* on herbage yield of *Lolium perenne* at three sites in the United Kingdom. *Proc. Int. Symp. on Acremonium /Grass Interactions*. S. S. Quinsberry and R. E. Joost (Ed.). USA: New Orleans, 160.
- Lewis, G.C., Bakken, A.K., MacDuff, J.H. and Raistrick, N. (1996): Effect of infection by the endophytic fungus *Acremonium lolii* on growth and nitrogen uptake by perennial ryegrass (*Lolium perenne*) in flowing solution culture. *Ann. Appl. Biol.* 129, 451-460.
- Lewis, G.C., Ravel, C., Naffaa, W., Astier, C. and Charmet, G. (1997): Occurrence of *Acremonium* endophytes in wild populations of *Lolium* spp. in European countries and a relationship between level of infection and climate in France. *Ann. Appl. Biol.* 130, 227-238.
- Lyons, P.C., Plattner, R.D. and Bacon, C.W. (1986): Occurrence of peptide and clavine ergot alkaloids in tall fescue grass. *Science (Washington DC)*. 232, 487-489.
- Lyons, P.C., Evans, J.J. and Bacon C. W. (1990): Effects of the fungal endophyte *Acremonium coenophyalum* on nitrogen accumulation and metabolism in tall fescue. *Plant Physiol.* 92, 726-732.
- Malinowski, D., Leuchtman, A., Schmidt, D. and Nosberger, J. (1997a): Growth and water status in meadow fescue is affected by *Neotyphodium* and *Phialophora* endophyte species. *Agron. J.* 89, 673-678.
- Malinowski, D., Leuchtman, A., Schmidt, D. and Nosberger, J. (1997b): Symbiosis with *Neotyphodium uncinatum* endophyte may increase the competitive ability of meadow fescue. *Agron. J.* 89, 833-839.
- Malinowski D.P., Beleski D.P. and Fedders J. M. (1999): Endophyte infection may affect the competitive ability of tall fescue grown with red clover. *Journal of agronomy and Crop Science* 183, 91-101.

- Marks, S. and Clay, K. (1990): Effects of CO₂ enrichment, nutrient addition, and fungal endophyte-infection on the growth of two grasses. *Oecologia* 84, 207-214.
- Marks, S. and Clay, K. (1996): Physiological responses of *Festuca arundinacea* to fungal endophyte infection. *New Phytol.* 133, 727-733.
- Marschall, D., Tunali, B. and Nelson, L.R. (1999): Occurrence of fungal endophytes in species of wild *Triticum*. *Crop Science* 39, 1507-1512.
- Mika, V. and Bumerl, J. (1991): Occurrence of endophytic fungi in varieties of *Festuca pratensis*. *Int. Symp. "Progress in grass seed production"*. Roznov pod Radhostem. 14-16.Mai. Pp.12-16.
- Moon, C.D., Miles, C.O. and Schardl, C.L. (2000): The evolutionary origins of *Neotyphodium* endophytes from grasses indigenous to the southern hemisphere. In: 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium. V.H. Paul and P.D. Dapprich (Ed.) Soest, Germany. pp. 289-294.
- Morgan-Jones, G. and Gams, W. (1982): Notes on Hyphomycetes. XLI. An endophyte of *Festuca arundinacea* and the anamorph of *Epichloe typhina*, new taxa in one of two new sections of *Acremonium*. *Mycotaxon* 15, 311-318.
- Morgan-Jones, G., White, J.F., Jr. and Piontelli, E.L. (1990): Endophyte-host associations in forage grasses. XIII. *Acremonium chilense*, an undescribed endophyte occurring in *Dactylis glomerata* in Chile. *Mycotaxon* 39, 441-454.
- Mortimer, P.H. and DiMenna, M.E. (1983): Ryegrass staggers: further substantiation of *Acremonium* endophyte aetiology and the discovery of weevil resistance of ryegrass pastures infected with *Lolium* endophyte. *Proc. NZ. Grassl. Assoc.* 44, 240-243.
- Moy, M., Belanger F., Duncan R., Freehof A., Leary C., Meyer W., Sullivan R. and White J. F. (2000): Identification of epiphyllous mycelial nets on leaves of grasses infected by clavicipitaceous endophytes. *Symbiosis* 28, 291-302.
- Mühle, E. (1971): *Krankheiten und Schädlinge der Futtergräser*. S. Hirzel Verlag Leipzig. S 147-152.
- Nan, Z.B. and Li, C.J. (2000): *Neotyphodium* in native grasses in China and observations on endophyte/host interactions. In: 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium. V.H. Paul and P.D. Dapprich (Ed.) Soest, Germany. Pp 41-50.
- Neill, J.C. (1940): The endophyte of rye-grass (*Lolium perenne*). *New Zealand J. Sci. Technol.* 2, 280A-291A.
- Nelson, L.R., Marshall, D. and Tunali, B. (1993): Exploration for fungal endophyte in *Lolium* and other grass species of central Turkey. In: *Proceedings of the 2. International Symposium on Acremonium/Grass Interactions*. D.E. Hume, G.C.M Latch and H.S. Easton (Ed.). Palmerston-North. New Zealand. 11-13.
- Nestler, A. (1898): Über einen in der Frucht von *Lolium temulentum* L. vorkommenden Pilz. *Berlin: Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 16, 207-214.
- Neubauer, H. (1902): Ueber die von A. Vogl entdeckte Pilzschicht in *Lolium*früchten. *Zentralblatt Bakteriologie* 9, 652-653.

- Oldenburg, E. (1994): Occurrence of fungal endophytes in *Lolium perenne*. Bulletin of the International Conference on Harmful and Beneficial Microorganisms in Grassland, Pasture and Turf. 17, 99-104.
- Oldenburg, E. (1997a): Endophytische Pilze in Gräsern - Auswirkungen auf die Pflanzenqualität und die Leistung von Weidetieren. In: Bericht über die 41. Jahrestagung der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften, AG Grünland und Futterbau. vom 28. - 30. 8. in Aulendorf, 69-74.
- Oldenburg, E. (1997b): Endophytic fungi and alkaloid production in perennial ryegrass in Germany. Grass and Forage Science. 52, 425-431.
- Oliveira, J.A. and Castro, P. (1997): Incidence and viability of *Acremonium* endophytes in tall fescue accessions from North Spain. Genetic Resources and Crop Evolution 44, 519-522.
- Oliveira, J.A., Rottinghaus G.E., Collar J. and Castro P. (1997): Perennial ryegrass endophyte in Galicia, Northwest Spain. Journal of Agricultural Science. 129, 173-177.
- Pedersen, J.F., Rodriguez-Kabana R. and Shelby R.A. (1988): Ryegrass cultivars and endophyte in tall fescue affect nematodes in grass and succeeding soybean. Agron J. 80, 811-814.
- Petrini, O. (1991): Fungal endophytes of tree leaves. In: Microbial Ecology of Leaves. J.A. Andrews and S.S. Hirano (Ed.). New York. Springer-Verlag, 179-197.
- Petrini, O., Sieber, T.N., Toti, L. and Viret, O. (1992): Ecology, metabolite production, and substrate utilization in endophytic fungi. Natural Toxins 1, 185-196.
- Pfannmöller, M., Eggstein, S. and Schöberlein, W. (1994): Endophytes in European varieties of fescue species. IOBC/WPRS Bulletin OILB/SROP 17, 105-109.
- Philipson, M.N. (1991): Septal and lateral pores in the fungal endophytes of two pasture grasses. National research Council of Canada. 69, 2740-2743.
- Pinkerton, B.W., Rice, J.S. and Undersander, D.J. (1990): Germination in *Festuca arundinacea* as affected by the fungal endophyte, *Acremonium coenophialum*. Proc. Int. Symp. on *Acremonium*/Grass Interactions. S.S. Quisenberry and R.E. Joost (Ed.). New Orleans, 176.
- Porter, J.K., Bacon, C.W., Plattner, R.D. and Arrendale, R.F. (1987): Ergot peptide alkaloid spectra of *Claviceps*-infected tall fescue, wheat, and barley. J. Agric. Food Chem. 35, 359-361.
- Prestidge, R.A., Pottinger R.P. and Barker G.M. (1982): An association of *Lolium* endophyte with ryegrass resistance to Argentine stem weevil. Proc. N. Z. Weed Pest Control Conf. 35, 119-122.
- Ravel, C., Charmet G. and Balfourier, F. (1995): Influence of the fungal endophyte *Acremonium lolii* on agronomic traits of perennial ryegrass in France. Grass and Forage Science 50, 75-80.
- Ravel, C., Astier, C., Balfourier, F. and Charmet, G. (1997): *Acremonium* Endophytes of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) in France. Session 13- Constraints on Forage and Grassland Production, 13-17.
- Ravel, C., Balfourier, F. and Guillaumin, J.J. (1999): Enhancement of yield and persistence of perennial ryegrass inoculated with one endophyte isolate in France. Agronomie 19, 635-644.

- Read, J.C. and Camp, B.J. (1986): The effect of the fungal endophyte *Acremonium coenophialum* in tall fescue on animal performance, toxicity, and stand maintenance. *Agron. J.* 78, 848-850.
- Reed, K.F.M., Leonforte, A., Cunningham, P.J., Walsh, P.J., Walsh, J.R., Allen, D.I., Johnstone, G.R. and Kearney, G. (2000): Incidence of ryegrass endophyte (*Neotyphodium lolii*) and diversity of associated alkaloid concentrations among naturalised populations of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Australian Journal of Agricultural Research* 51, 569-578.
- Reynolds, J.H., Walker, C.L. and Sams, C.L. (1997): Photosynthesis and chlorophyll fluorescence in tall fescue. *Neotyphodium/Grass Interactions*. C.W. Bacon and N.S. Hill (Ed.). Plenum Press. New York and London, 199-200.
- Rice, J.S., Pinkerton, B.W. and Undersander, D.J. (1990): Imbibition of Tall Fescue as affected by *Acremonium coenophialum*. *Proc. Int. Symp. on Acremonium/Grass Interactions*. S.S. Quinsberry and R.E. Joost (Ed.). New Orleans, 185-188.
- Rice, J.S., Ferguson, N.H., Pinkerton, B.W. and Stringer, W.C. (1994): Alteration of phenotypic variances by the endophyte of tall fescue. *Crop Sci.* 34, 1487-1489.
- Richardson, M.D., Bacon, C.W. and Hoveland, C.S. (1990): The effect of endophyte removal on gas exchange in tall fescue. *Proc. Int. Symp. on Acremonium/Grass Interactions*. S.S. Quinsberry and R.E. Joost (Ed.). New Orleans, 189-193.
- Richardson, M.D., Chapman, G.W., Jr., Hoveland, C.S. and Bacon, C.W. (1992): Sugar alcohols in endophyte-infected tall fescue under drought. *Crop Sci.* 32, 1060-1061.
- Richardson, M.D., Hoveland, C.S. and Bacon, C.W. (1993): Photosynthesis and stomatal conductance of symbiotic and nonsymbiotic tall fescue. *Crop Sci.* 33, 145-149.
- Rowan, D.D., Hund, M.B. and Gaynor, D.L. (1986): Peramine, a novel insect feeding deterrent from ryegrass infected with the endophyte *Acremonium loliae*. *Journal of the Chemical Society-Chemical Communications* 12, 935-936.
- Rowan, D.D. (1993): Lolitrems, peramine and paxilline: mycotoxins of the ryegrass/endophyte interaction. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 44, 103-122.
- Saha, D.C., Johnson-Cicalese, J.M., Van Heemstra, M.I., and Funk, C.R. (1987): Occurrence and significance of endophytic fungi in the fine fescues. *Plant Disease* 71: 1021-1024.
- Sako, N. and Stahmann, M. A. (1972): Multiple molecular forms of enzymes in barley leaves infected with *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*. *Physiol. Plant Pathol.* 2: 217-226
- Sampson, K. (1933): The systemic infection of grasses by *Epichloe typhina* (Pers.) Tul. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 18, 30-47.
- Saikkonen, K., Ahlholm J., Helander, M., Lehtimaki, S. and Niemelainen, O. (2000): Endophytic fungi in wild and cultivated grasses in Finland. *Ecography* 23, 360-366.
- Scandalios, J.G. (1974): Isozymes in development and differentiation. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25, 225-258.

- Schardl, C.L., Leuchtman, A., Tsai, H.F., Collet, M.A., Watt, D.M. and Scott, D.B. (1994): Origin of a fungal symbiont of perennial ryegrass by interspecific hybridization of a mutualist with the ryegrass choke pathogen, *Epichloe typhina*. *Genetics*. Baltimore, Md. Genetics Society of America. 136, 1307-1317.
- Schardl, C.L., Leuchtman, A., Chung, K.R., Penny, D. and Siegel, M.R. (1997): Coevolution by common descent of fungal symbionts (*Epichloe* spp.) and grass hosts. *Molecular Biology and Evolution* 14, 133-143.
- Schardl, C.L. and Wilkinson, H.H. (2000): Hybridization and Cospeciation Hypotheses for the evolution of grass endophytes. In: *Microbial Endophytes*. Ed: C.W. Bacon and J.F. White. Marcel-Dekker-Inc. New York 2000.
- Schilling, G. (1987): *Pflanzenernährung und Düngung. Teil 1: Pflanzenernährung*. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag DDR. Berlin. 240 S.
- Schöberlein, W. (1970): Untersuchungen an mehrjährigen Gramineen über die Abhängigkeit der generativen Triebbildung vom Entwicklungsstand der Herbsttriebe und Möglichkeiten seiner Beeinflussung im Hinblick auf höhere Saatguterträge. Diss. Halle. 170 S.
- Schöberlein, W. und Pfanmüller, M. (1996): Endophytische Pilze in mehrjährigen Nutzgräsern - Probleme oder Vorteile. In: „Bericht über die 47. Arbeitstagung der Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter“ vom 26.-28. 11. in Gumpenstein, Verl. und Druck der BA für alpenländische Landw. Gumpenstein, S. 185-191.
- Schöberlein, W., Pfanmüller, M., Eggestein, S. and Szabová (1998): Effects of endophyte-infected *Festuca pratensis* plots on population density of nematode species in the soil. In: *Breeding for a Multifunctional Agriculture*. B. Boller and F.J. Stadelmann (Ed.). Swiss Federal Research Station for Agroecology and Agriculture. Zürich-Reckenholz. Pp. 218-220.
- Siegel, M.R., Latch, G.C.M. and Johnson, M.C. (1985): Acremonium fungal endophytes of tall fescue and perennial ryegrass: significance and control. *Plant Disease* 69, 179-183.
- Siegel, M.R., Latch, G.C.M. and Johnson, M.C. (1987): Fungal endophytes of grasses. *Ann. Rev. Phytopathol.* 25, 293-315.
- Siegel, M.R., Latch, G.C.M., Bush, L.P., Fannin, F.F., Rowan, D.D., Tapper, B.A., Bacon, C.W. and Johnson, M.C. (1990): Fungal endophyte-infected grasses: alkaloid accumulation and aphid response. *J-Chem-Ecol.* New York: Plenum Press 16, 3301-3315.
- Siegel, M.R., Schardl, C.L. and Phillips, T.D. (1995): Incidence and compatibility of nonclavicipitaceous fungal endophytes in *Festuca* and *Lolium* grass species. *Mycologia* 87, 196-202.
- Smith, G.S., Johnston, C.M. and Cornforth, I.S. (1983): Comparison of nutrient solutions for growth of plants in sand culture. *New Phytol.* (1983) 94, 537-548.
- Schmidt, D. (1991): Les endophytes de la féstouque des prés. *Revue Suisse Agric.* 23, 369-375.
- Schmidt, D. (1994): Du nouveau sue les endophytes de la féstouque des prés. *Revue Suisse Agric.* 26, 57-63.

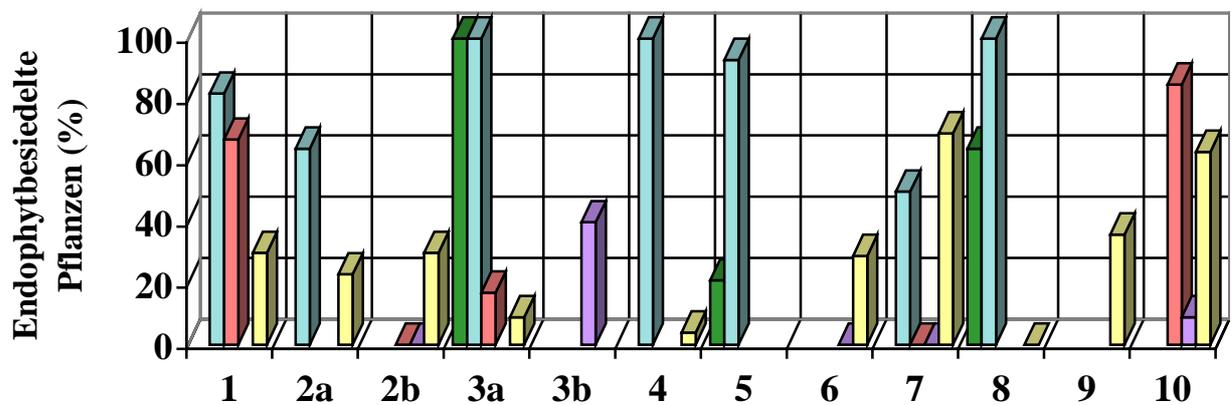
- Shelby, R.A. and Dalrymple, L.W. (1987): Incidence and distribution of the tall fescue endophyte in the United States. *Plant Disease* 71: 783-786.
- Stumpe, H., Garz, J. und Schliephake, W. (1995): Das Versuchsfeld der Landwirtschaftlichen Fakultät in Halle und seine Dauerversuche. *Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft, Exkursionsführer zur Jahrestagung 1995 in Halle*. Herausgeber: P. Hugenroth. 77, ISSN 0343-107X, S. 375-382.
- Sun, S., Clarke, B.B., and Huff, D.R. (1993): Enhanced performance and new sources of *Acremonium typhinum* in fine fescues. *Proc. Sec. Int. Symp.on Acremonium/Grass Interactions*. Hume D.E., Latch, G. C. M. and Easton, H. S. (Ed.). New Zealand: Palmerston North, 23-26.
- Tapper, B.A., Rowan, D.D. and Latch, G.C.M. (1989): Detection and measurement of the alkaloid peramine in endophyte-infected grasses. *J. Chromatogr*, 463: 133-138.
- Thom, E.R., Clark, D.A. and Waugh, C.D. (1999): Growth, persistence, and alkaloid levels of endophyte-infected and endophyte-free ryegrass pastures grazed by dairy cows in northern New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 42, 241-253.
- Tyler, B.F., Chorlton, K.H. and Thomas I.D. (1981): Extending genetic resources. *Annual Report for Welsh Plant Breeding Station for 1980*, pp. 44-46.
- Van-Essen, G.J., Blom, M. and Frink-Gremmels, J. (1995): Rye-grass intoxication in horses. *Tijdschrift voor diergeneeskunde* 120, 710-711.
- Van-Santen, E. and Collins, D.J. (1991): Genetic diversity in tall fescue ecotypes from Alabama. 1. Maturity, morphological traits, and disease reaction. *Plant Breeding* 107, 210-217.
- Vogl, A.E. (1898): Mehl und die anderen Mehlprodukte der Cerealien und Leguminosen. *Nahrungsm. Unters. Hyg. Warenk.* 12, 25-29.
- Wäli, P., Saikkonen, K., Helander, M., Lehtimäki, S. and Lehtonen, P. (2000): Seed transmitted endophytic fungi in wild grass populations in Finland. In: *4th International Neotyphodium/Grass Interactions Symposium*. V.H. Paul and P.D. Dapprich (Ed.) Soest, Germany. Pp 93-96.
- Warnstorff, K. und Dörfel, H. (1998): Ein Programm zur Kontingenztafel- und Kontrastanalyse. *Zeitschrift für Argarinformatik*. 2, 38-42.
- Wendel, J.F. and Weeden, N.F. (1989): Visualization and interpretation of plant isozymes. *Isozymes in Plant Biology*. Ed.: D.E. Soltis & P.S. Soltis. Dioscorides, Portland, Oregon.
- West, C.P., Izekor, E., Oosterhuis, D.M. and Robbins, R.T. (1988): The effect of *Acremonium coenophialum* on the growth and nematode infestation of tall fescue. *Plant Soil* 112, 3-6.
- West, C.P., Izekor, E., Elmi, A., Robbins, R.T. and Turner, K.E. (1989): Endophyte effects on drought tolerance, nematode infestation and persistence of tall fescue. In: *Proceedings of the Arkansas Fescue Toxicosis Conference*. C.P. West (Ed.). Arkansas Agricultural Experiment Station. US. Pp. 23-27.
- West, C.P., Izekor, E., Turner, K.E. and Elmi, A. (1993): Endophyte effects on growth and persistence of tall fescue along a water-supply gradient. *Agron. J.* 85, 264-270.

- Wheatley, W.M. (2000): Endophytes as a marketing tool to increase the yield of perennial ryegrass cultivars in south-eastern Australia. In: 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium. V.H. Paul and P.D. Dapprich (Ed.) Soest, Germany. Pp169-174.
- White, J.F., Jr. (1988): Endophyte-host associations in forage grasses. XI A proposal concerning origin and evolution. *Mycologia* 80, 442-446.
- White, J.F. and Cole, T.G. (1986): Endophyte-host associations in forage grasses. V. Occurrence of fungal endophytes in certain species of *Bromus* and *Poa*. *Mycologia* 78, 846-850.
- White, J.F., Cole, G.T. and Morgan-Jones, G. (1987): Endophyte-host associations in forage grasses. VI. A new species of *Acremonium* isolated from *Festuca arizonica*. *Mycologia* 79, 148-152.
- White, J.F. and Morgan-Jones, G. (1987a): Endophyte-host associations in forage grasses. VII. *Acremonium chisosum*, a new species isolated from *Stipa eminens* in Texas. *Mycotaxon* 28, 179-189.
- White, J.F. and Morgan-Jones, G. (1987b): Endophyte-host associations in forage grasses. X. Cultural studies on some species of *Acremonium* Sect. *Albo-Lanosa*, including a new species, *A. starrii*. *Mycotaxon* 30, 87-95.
- White, J.F., Jr., Meyer, W., Sullivan, R., Moy, M., Balady, G. and Cabral, D. (2000): Evolution of *Epichloe/Neotyphodium* endophytes. In: 4th International *Neotyphodium*/Grass Interactions Symposium. V.H. Paul and P.D. Dapprich (Ed.) Soest, Germany. Pp 17-30.
- White, R.H., Engelke, M.C., Morton, S.J., Johnson-Cicalese, J.M. and Ruemmele, B.A. (1992): *Acremonium* endophyte effects on tall fescue drought tolerance. *Crop Sci.* 32, 1392-1396.
- Widdup, K.H. and Ryan, D.L. (1992): Forage potential of wild populations of perennial ryegrass collected from southern New Zealand farms. In: Proceedings of the New Zealand Grassland Association 54, 161-165.
- Wortha, H.-P. (1989): A new statistical method for mixed variates analyses in epidemiological research. *Biometrical Journal.* 31, 941-955.
- Yates, S.G., Plattner, R.D. and Garner, G.B. (1985): Detection of ergopeptine alkaloids in endophyte-infected, toxic Ky-31 tall fescue by mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 33, 719-722.
- Yue, Q., Logendra, S., Freehoff, A. and Richardson, M.D. (1997): Alkaloids of turf-type fine fescue (*Festuca* sp.). *Neotyphodium*/Grass Interactions. C.W. Bacon and N.S. Hill (Ed.). Plenum Press. New York and London, 285-287.
- Zabalgogezcoa, I., Vazquez de Aldana, B. R., Garcia Criado, B. and Garcia Ciudad, A. (1997): The infection of *Festuca rubra* by the fungal endophyte *Epichloe festucae* in Mediterranean permanent grasslands. *Grass and Forage Science* 54, 91-95.
- Zadoks; J.C., Chang, T.T. and Konzak, C.F. (1974): A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research - Oxford* 14, 415-421.

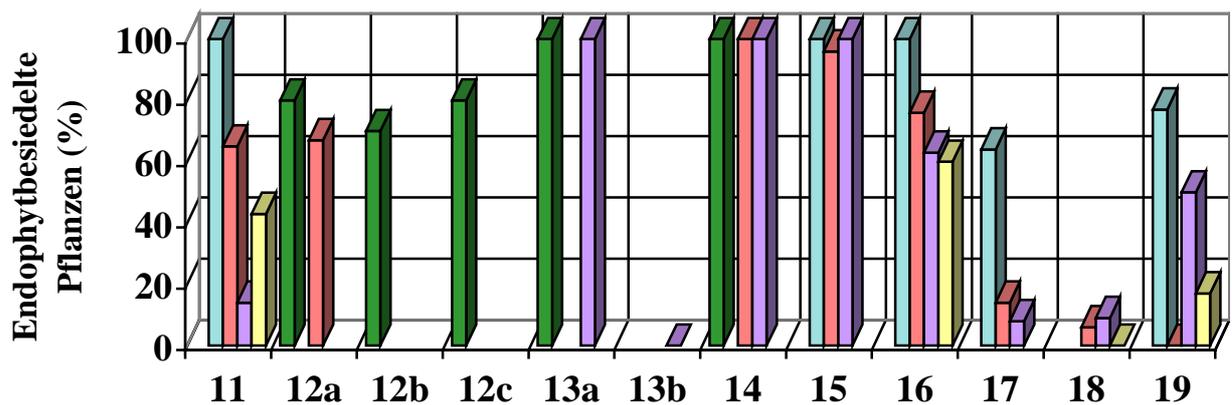
Anhang

Genotyp M EB EF EB EF EB EF	Genotyp N EB EF EB EF EB EF	
Genotyp J EB EF EB EF EB EF	Genotyp K EB EF EB EF EB EF	Genotyp L EB EF EB EF EB EF
Genotyp G EB EF EB EF EB EF	Genotyp H EB EF EB EF EB EF	Genotyp I EB EF EB EF EB EF
Genotyp D EB EF EB EF EB EF	Genotyp E EB EF EB EF EB EF	Genotyp F EB EF EB EF EB EF
EB EF EB EF EB EF EB EF EB EF EB EF EB EF EB EF EB EF EB Genotyp A EF EB EF EB EF EB EF	Genotyp B EB EF EB EF EB EF	Genotyp C EB EF EB EF EB EF

Abb. A1 Versuchsanlage des Einzelpflanzen-Feldversuches mit 14 *Lolium perenne*-Genotypen jeweils mit (EB) und ohne (EF) ihren Endophyten



a: Landschaftsregionen 1 bis 10



b: Landschaftsgebiete 11 bis 19

- *F. arundinacea*
- *F. pratensis*
- *F. rubra*
- *F. ovina*
- *L. perenne*

Abb. A2 Endophytbesiedelungsgrad der gesammelten Ökotypen von fünf Grasarten auf Standorten der Landschaftsregionen 1 bis 10 (a) und 11 bis 19 (b); Legende zu den Standorten siehe Tabelle A1.

Tabelle A1 Fortsetzung zur Abbildung A2: Legende zu den Landschaftsregionen 1-19

Landschaftsregion		Standortbedingungen
1	Wiesen bei Seehausen in der Wischeniederung	- wechselfeuchte Mähwiesen
2	Kusey (Drömling/Altmark, ehemaliges Moorgebiet)	a) naß-feuchte Umtriebsweiden b) trockene Böschungen an Dämmen
3	Biosphärenreservat Mittlere Elbe	a) Wiesen wechselfeuchten Types in Elbnähe b) extrem trockener sandiger Hügel
4	Wiese bei Dessau	- in Elbnähe, häufige Frühjahrsüberflutungen; Mähwiese
5	Wiesen an der Fuhne in Plötz	- nasse bis feuchte Wiesen
6	Wiesen bei Wettin	- wechselfeucht, im Sommer stark austrocknend; Umtriebsweiden
7	Oppiner Flugplatz	- dünne Sandschicht auf Beton; extrem trocken; Schafhutung
8	Wiesen in Döllnitz	- wechselfeucht, in Saalenähe, häufig Frühjahrsüberschwemmungen
9	Wörmlitzer Waldgebiet	- feuchte Wiesen, zeitweilige Staunässe; Schafhutung
10	Kuhschwanzberg bei Langenbogen	- steinige Hänge und Ödlandflächen; extrem trocken
11	Flegelsberg bei Höhnstedt	- sandiger Boden, extrem trocken; Schafhutung
12	Kerner See bei Höhnstedt	a) flaches Uferteil; frisch b) sandige trockene Steilhänge; extrem trocken c) zubetoniertes Uferteil; trocken
13	Kirschberg bei Adendorf	a) trockener steiniger Hang b) Steilhang auf dem Berg; extrem trocken
14	Berg bei Friedeburgerhütte	- trockener steiniger Hang; ehemalige Obstplantage, Schafhutung
15	Berg bei Freist	- steile, steinige und trockene Hänge; Obstplantage und Schafhutung
16	zwei Berge bei Göhrendorf	- verbuschendes Ödland an trockenen Berghängen
17	Braunschwende (Harzvorland)	- trockene steinige Hänge und Ödlandflächen
18	Harzgerode (Harz)	- trockene Mähwiesen auf Sand und Schiefer
19	Güntersberge (Harz)	- kühle, trockene Mähwiesen an Berghängen und auf Kuppen

Tabelle A2 Berechnete u^1 -Werte für den paarweisen Vergleich der Wahrscheinlichkeiten des Auftretens endophytbesiedelter Gräserökotypen von fünf verschiedenen Grasarten auf trockenen, wechselfeuchten bzw. nassen Standorten

<i>Lolium perenne</i>	wechselfeucht	nass
trocken	2,827	2,646
wechselfeucht		0,300
<i>Festuca arundinacea</i>	wechselfeucht	nass
trocken	0,991	3,248
wechselfeucht		2,718
<i>Festuca pratensis</i>	wechselfeucht	nass
trocken	1,324	2,066
wechselfeucht		0,287
<i>Festuca rubra</i>	wechselfeucht	nass
trocken	0,760	0,639
wechselfeucht		0,228
<i>Festuca ovina</i>	wechselfeucht	nass
trocken	3,435	- ²
wechselfeucht		-

1 ($u_{1-\alpha} = 1,64$; bei $u_{\text{ber}} > u_{1-\alpha}$ Annahme der Hypothese $H_1: \hat{p}_1 > \hat{p}_2$)

2 keine Pflanzen auf nassen Standorten gefunden

Tabelle A3 Entwicklungsstand der Einzelpflanzen im Feldversuch zur Zeit des Rückschnittes am 16.06.1999 sowie Massebildung¹, Wuchsform¹ und Farbe² am 13.07.1999

Genotyp / Variante	Entwicklung vor dem Rückschnitt ³	Massebildung	Farbe	Wuchsform	Genotyp / Variante	Entwicklung vor dem Rückschnitt	Massebildung	Farbe	Wuchsform
A EB	Schossen	6	4	2	H EB	Schossen	4	4	2
A EF	Ährenschieben	5	6	3	H EF	Schossen	5	5	4
B EB	Ährenschieben	6	5	3	I EB	Schossen	3	3	2
B EF	Ährenschieben	4	5	3	I EF	Schossen	6	3	2
C EB	Blühbeginn	4	4	2	J EB	Ährenschieben	3	7	2
C EF	Blühbeginn	4	4	2	J EF	Ährenschieben	4	7	3
D EB	Ährenschieben	6	4	2	K EB	Ährenschieben	4	5	3
D EF	Ährenschieben	6	4	2	K EF	Ährenschieben	5	5	3
E EB	Schossen	3	5	3	L EB	Ährenschieben	3	4	2
E EF	Schossen	4	5	2	L EF	Ährenschieben	3	4	2
F EB	Ährenschieben	4	3	2	M EB	Ährenschieben	5	7	4
F EF	Ährenschieben	5	5	2	M EF	Ährenschieben	3	7	3
G EB	Schossen	6	4	2	N EB	Ährenschieben	8	1	2
G EF	Schossen	6	4	2	N EF	Ährenschieben	8	1	2

1 Boniturnoten 1-9 (Bundessortenamt 1988)

2 Farbscala 1-9 (Bundessortenamt 1988)

3 Rückschnitt aller Versuchspflanzen am 16.06.1999 aufgrund von Wildverbiss (Feldhasen)

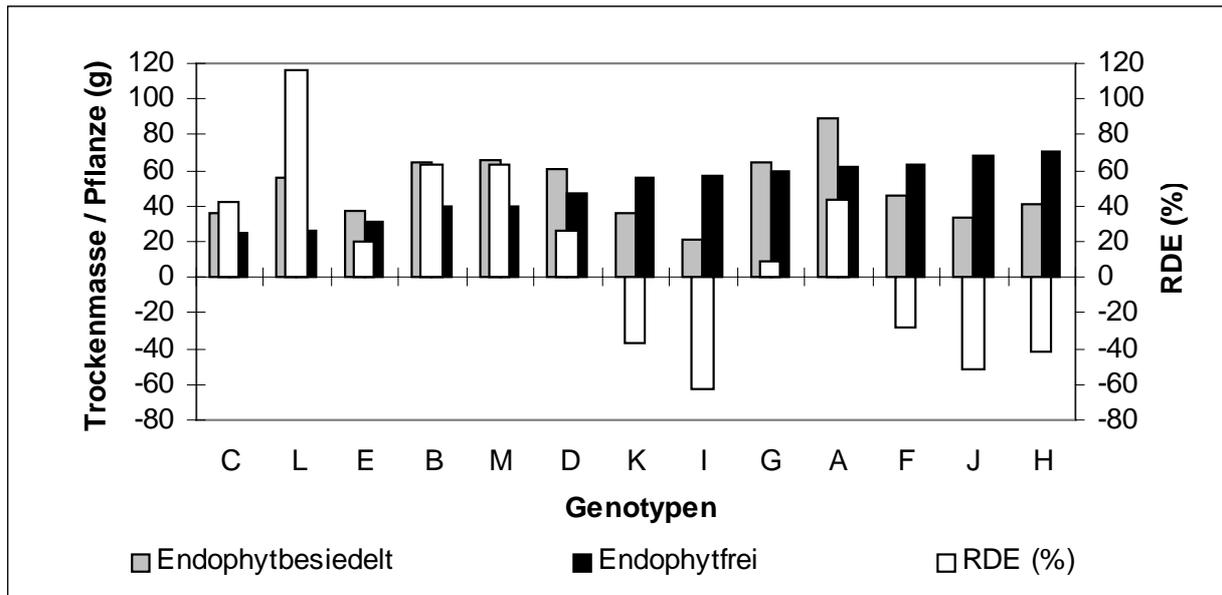


Abb. A3 Beziehung zwischen der Produktivität eines Genotypen, gemessen an der Trockenmasseproduktion der endophytfreien Pflanzen und der Relativen Differenz in diesem Merkmal bei 13 *Lolium perenne* Genotypen. Feldversuch, Samenernte 1999.

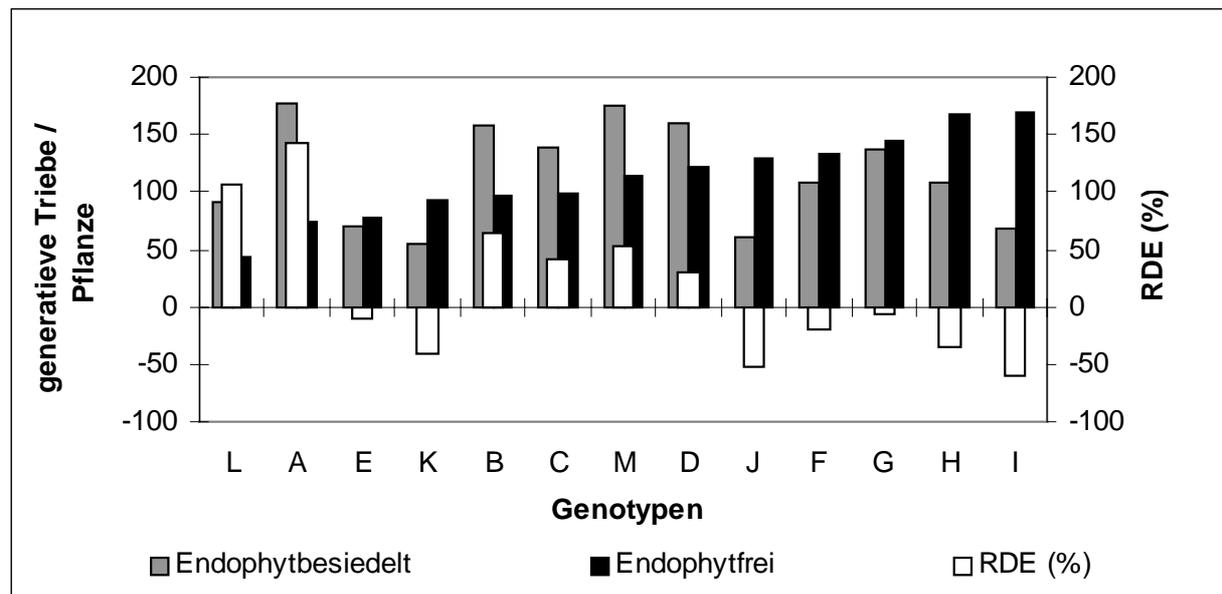


Abb. A4 Beziehung zwischen der Produktivität eines Genotypen, gemessen an der generativen Triebzahl der endophytfreien Pflanzen und der Relativen Differenz in diesem Merkmal bei 13 *Lolium perenne* Genotypen. Feldversuch, Samenernte 1999.

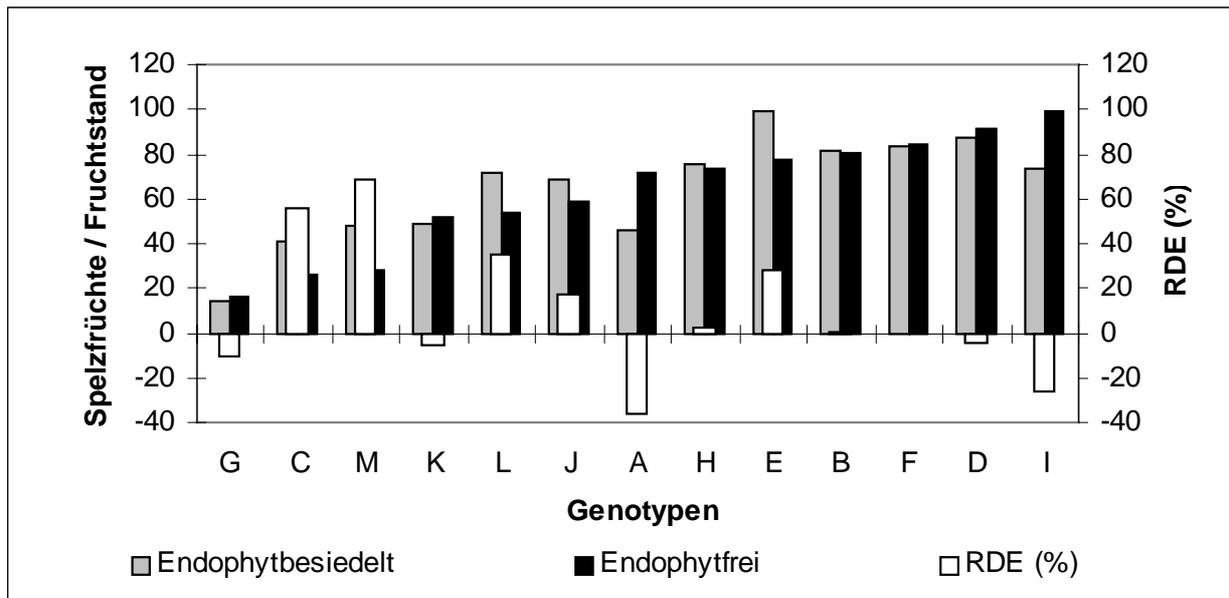


Abb. A5 Beziehung zwischen der Produktivität eines Genotypen, gemessen an der Spelzfruchtanzahl pro Fruchtstand der endophytfreien Pflanzen und der Relativen Differenz in diesem Merkmal bei 13 *Lolium perenne* Genotypen. Feldversuch, Samenernte 1999.

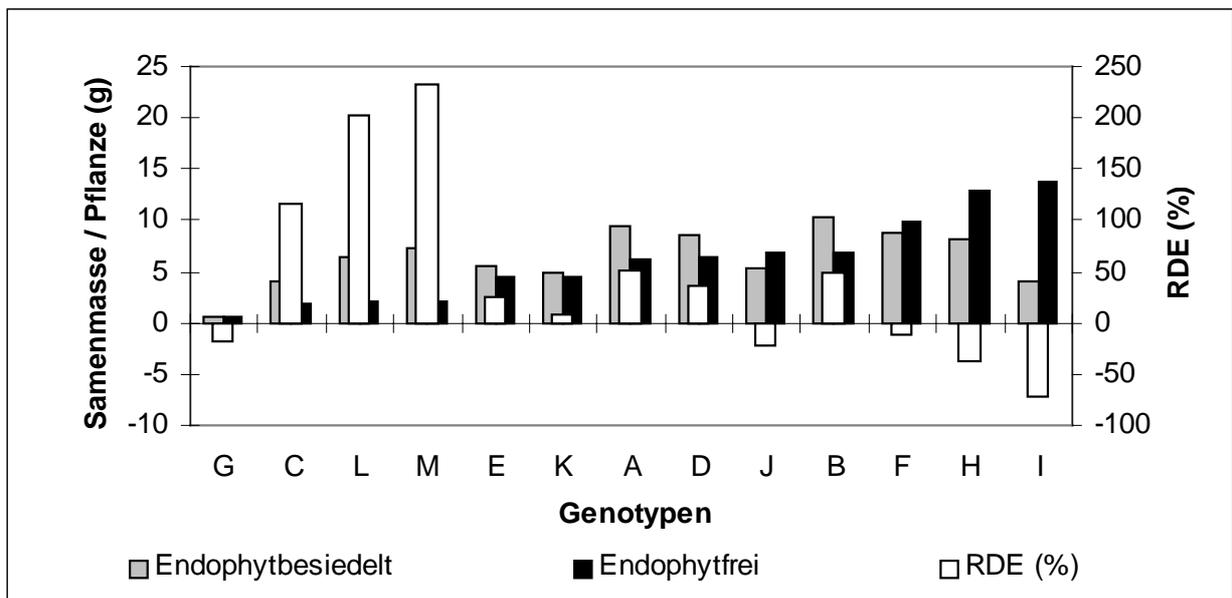


Abb. A6 Beziehung zwischen der Produktivität eines Genotypen, gemessen an der Samenmasse der endophytfreien Pflanzen und der Relativen Differenz in diesem Merkmal bei 13 *Lolium perenne* Genotypen. Feldversuch, Samenernte 1999.

Abb. A7 Nachwuchs der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen B nach der 1. Ernte 1998 (Stressversuch 1)

(Schätzfunktion: $\hat{y}=a/2(1+2/\pi \arctan(c(t-t_0)-b))$; O bzw. Δ Mittelwerte pro Tag aus $n=60$ Einzelwerten)

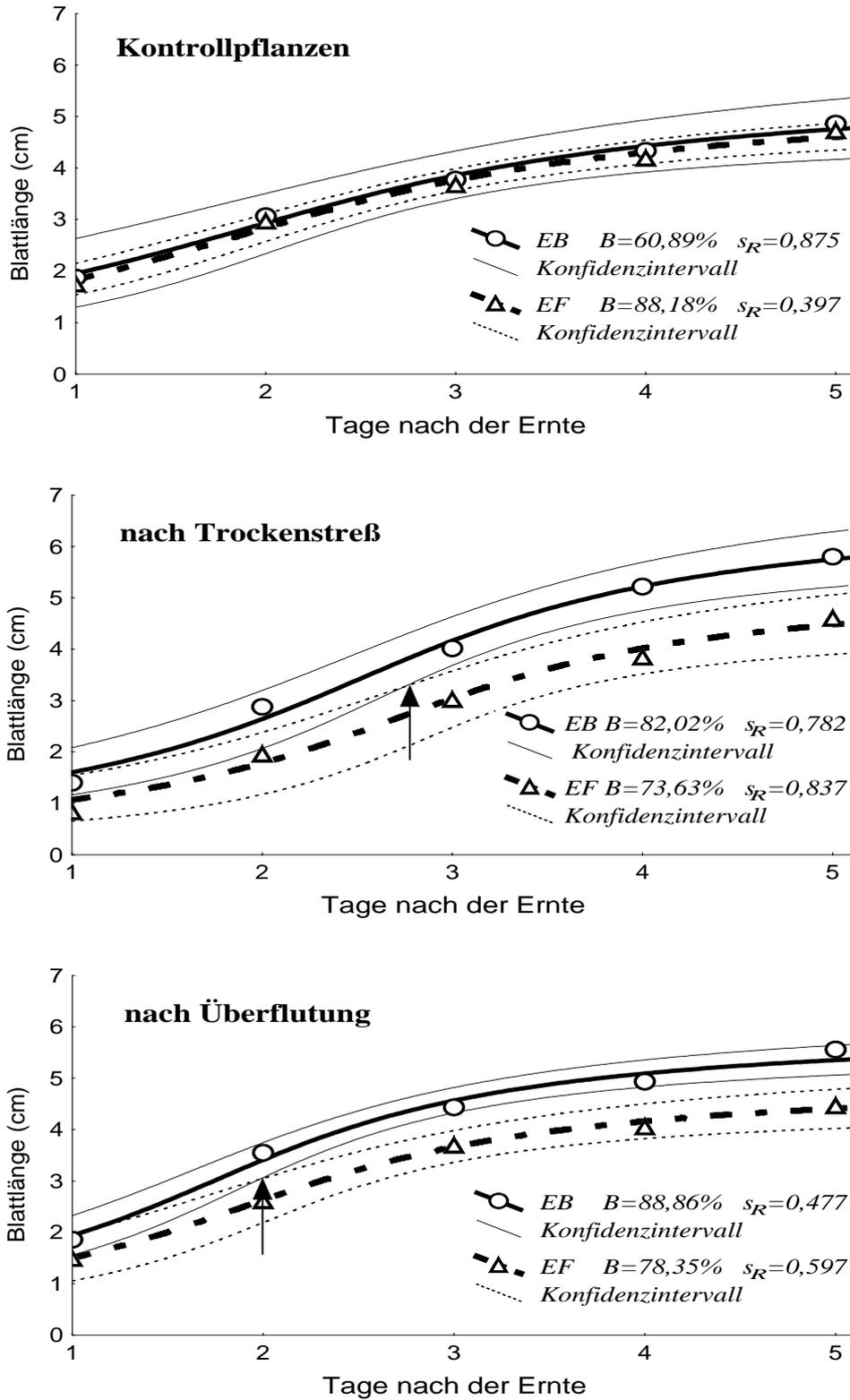


Abb. A8 Nachwuchs der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen B nach der 1. Ernte 1999 (Stressversuch 1)

(Schätzfunktion: $\hat{y}=a/2(1+2/\pi \arctan(c(t-t_0)-b))$; O bzw. Δ Mittelwerte pro Tag aus $n=60$ Einzelwerten)

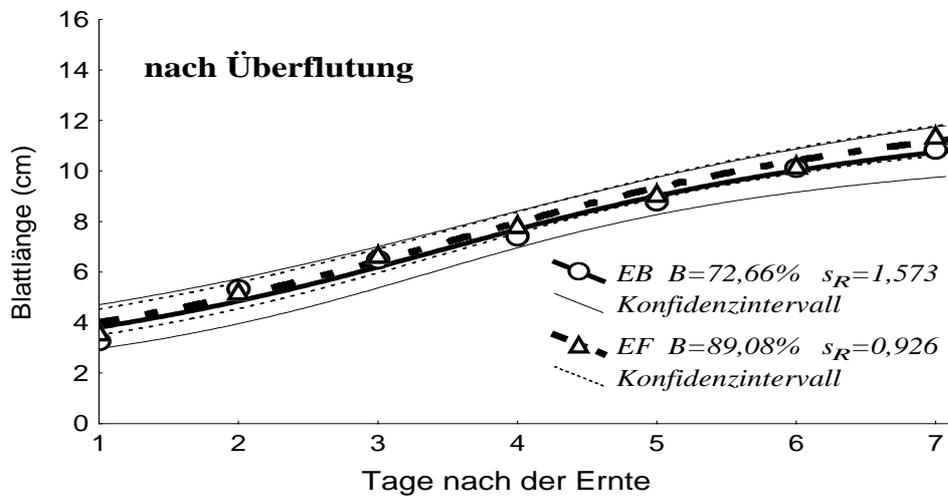
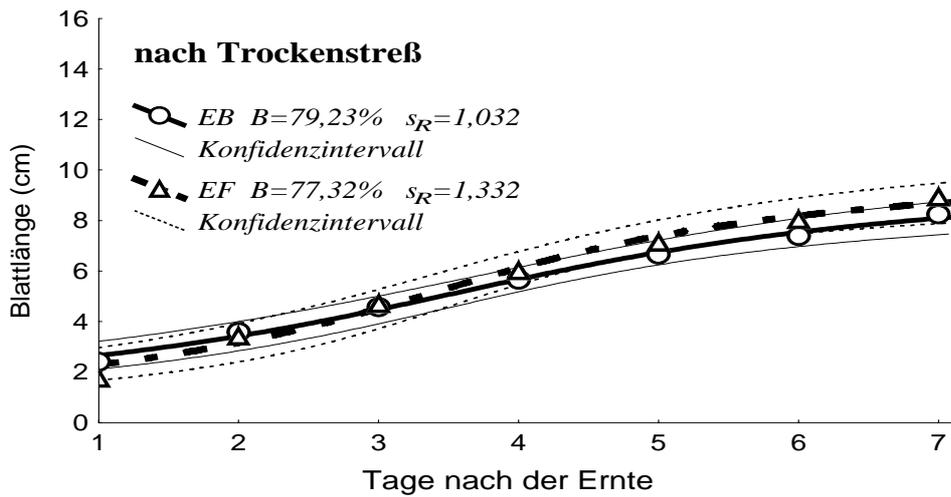
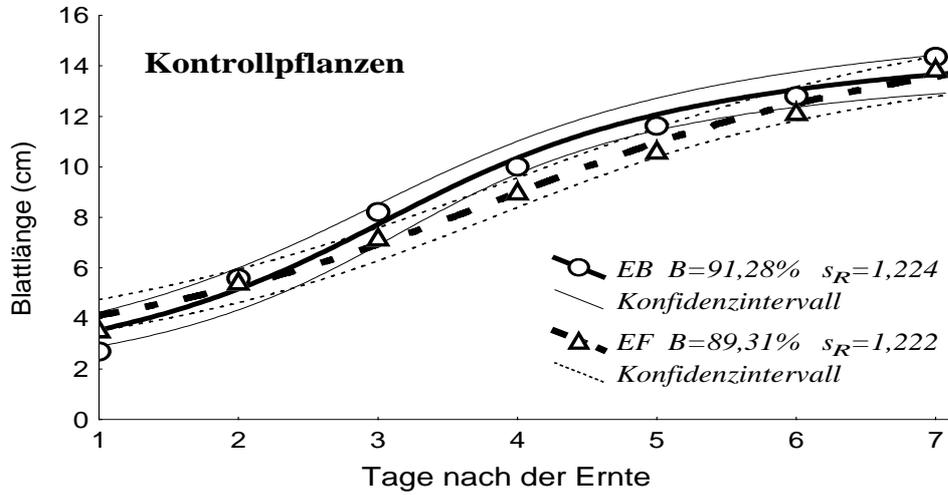


Abb. A9 Nachwuchs der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen M nach der 1. Ernte 1998 (Stressversuch 1)

(Schätzfunktion: $\hat{y}=a/2(1+2/\pi \arctan(c(t-t_0)-b)$; O bzw. Δ Mittelwerte pro Tag aus $n=60$ Einzelwerten)

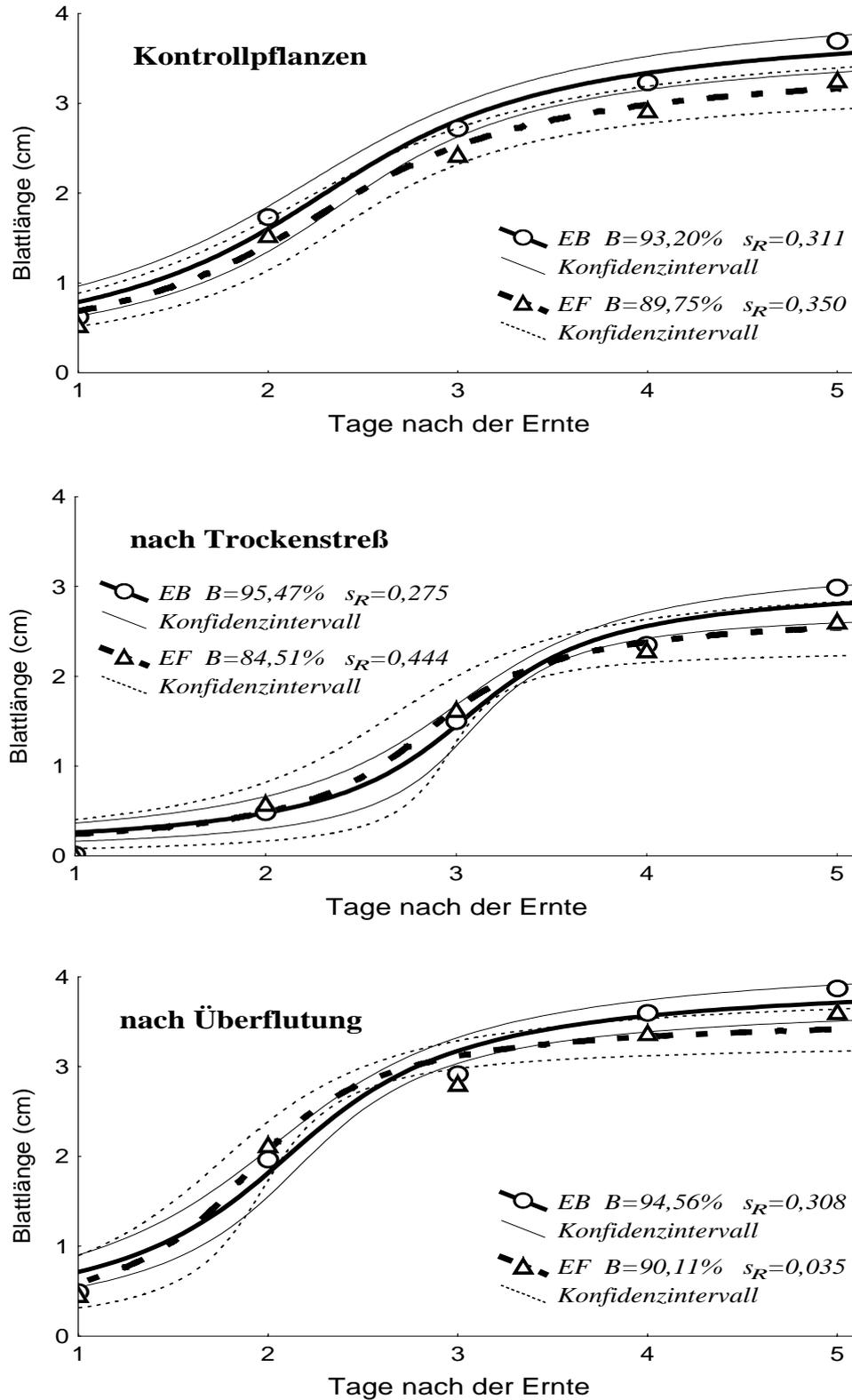


Abb. A10 Nachwuchs der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen M nach der 1. Ernte 1999 (Stressversuch 1)

(Schätzfunktion: $\hat{y}=a/2(1+2/\pi \arctan(c(t-t_0)-b))$; O bzw. Δ Mittelwerte pro Tag aus $n=60$ Einzelwerten)

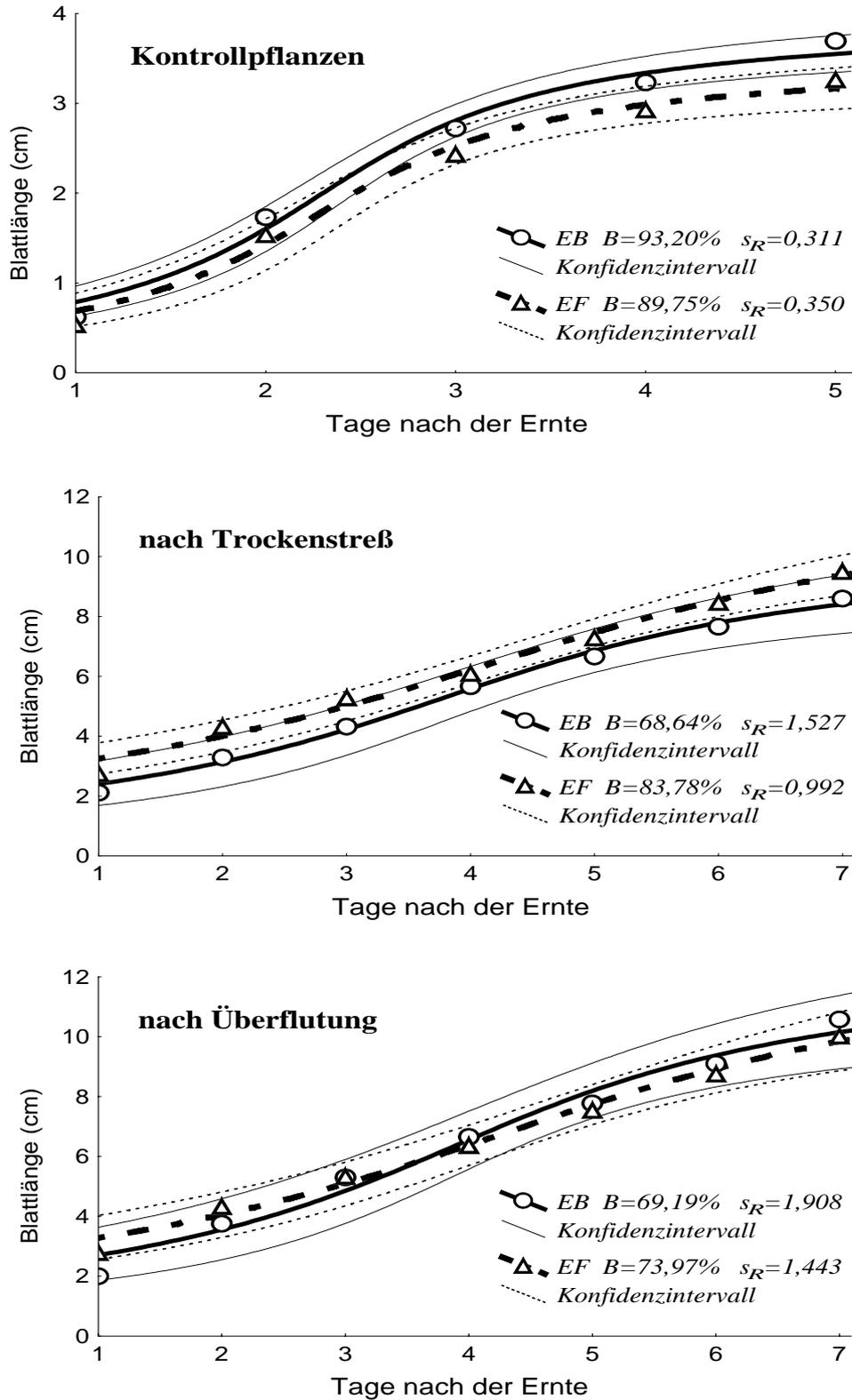


Abb. A 11 Nachwuchs der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen F nach der 1. Ernte 1999 (Stressversuch 2)

(Schätzfunktion: $\hat{y}=a/2(1+2/\pi \arctan(c(t-t_0)-b))$; O bzw. Δ Mittelwerte pro Tag aus n=50 Einzelwerten)

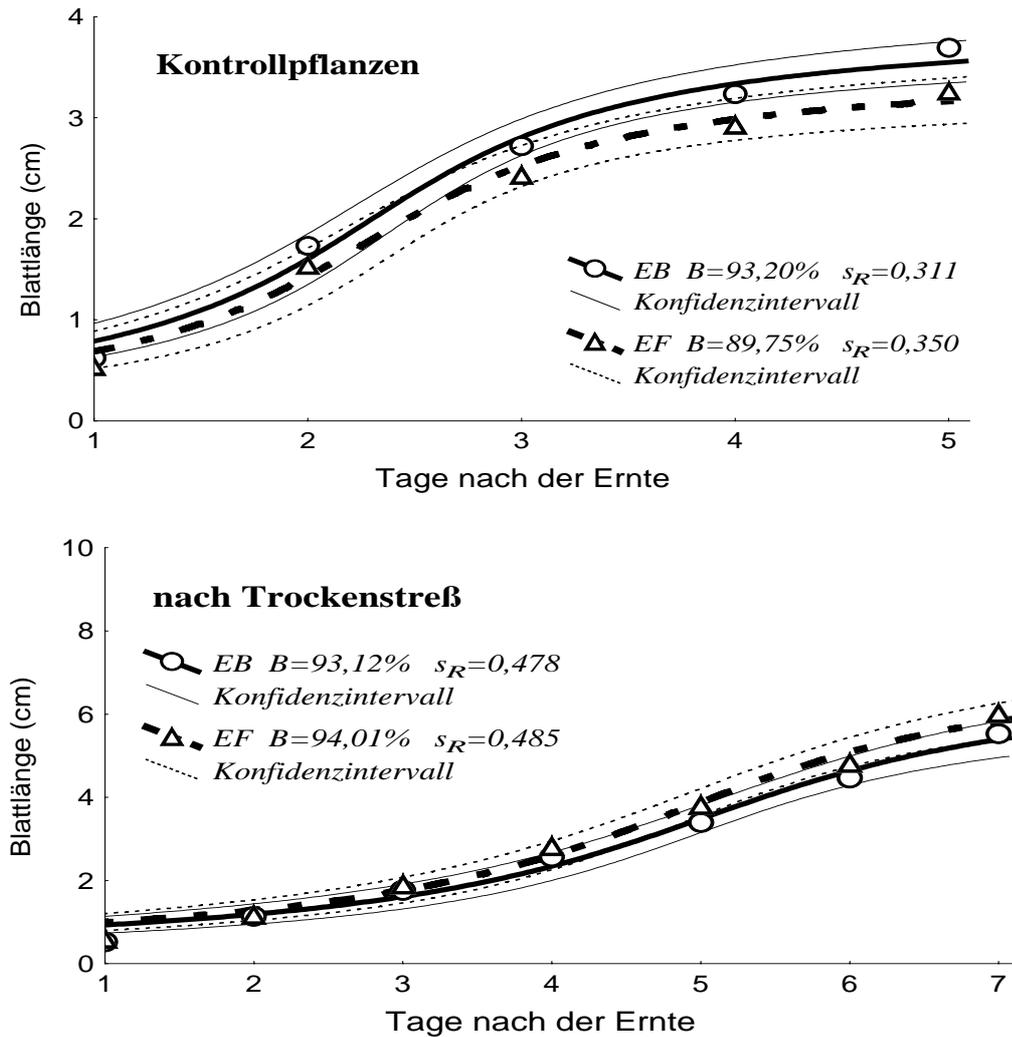


Abb. A 12 Nachwuchs der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen J nach der 1. Ernte 1999

(Schätzfunktion: $\hat{y}=a/2(1+2/\pi \arctan(c(t-t_0)-b))$; O bzw. Δ Mittelwerte pro Tag aus $n=50$ Einzelwerten)

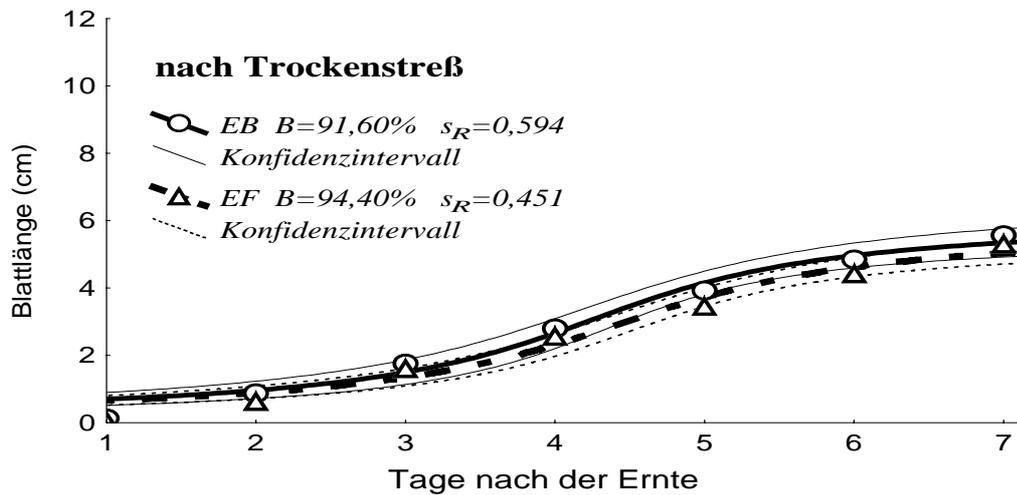
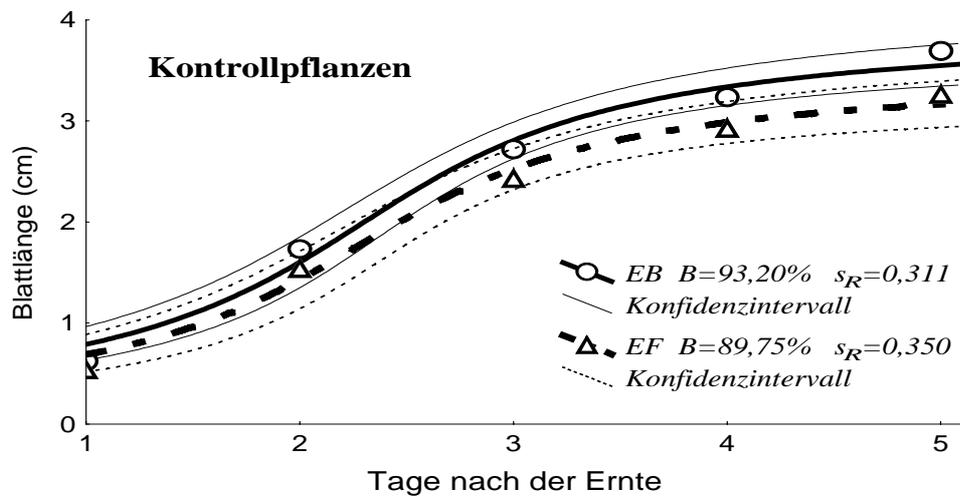


Abb. A 13 Nachwuchs der endophytenbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen L nach der 1. Ernte 1999 (Stressversuch 2)

(Schätzfunktion: $\hat{y}=a/2(1+2/\pi \arctan(c(t-t_0)-b))$; O bzw. Δ Mittelwerte pro Tag aus $n=50$ Einzelwerten)

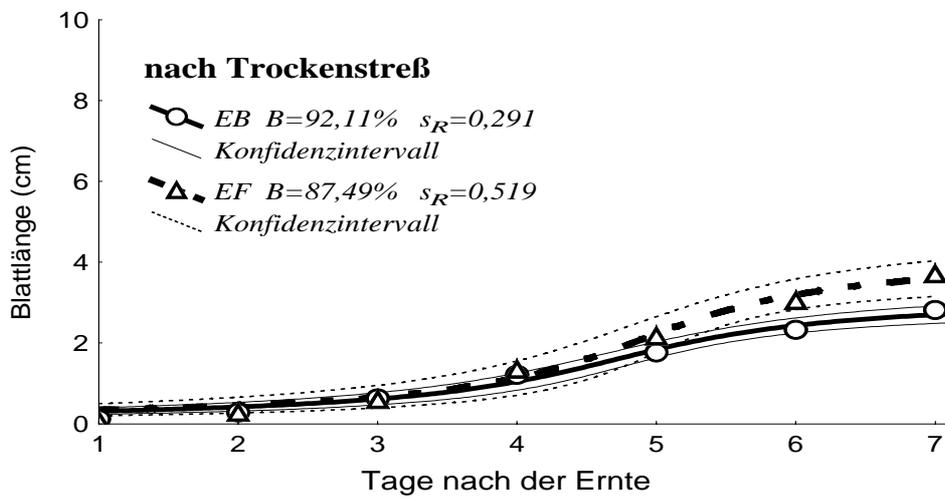
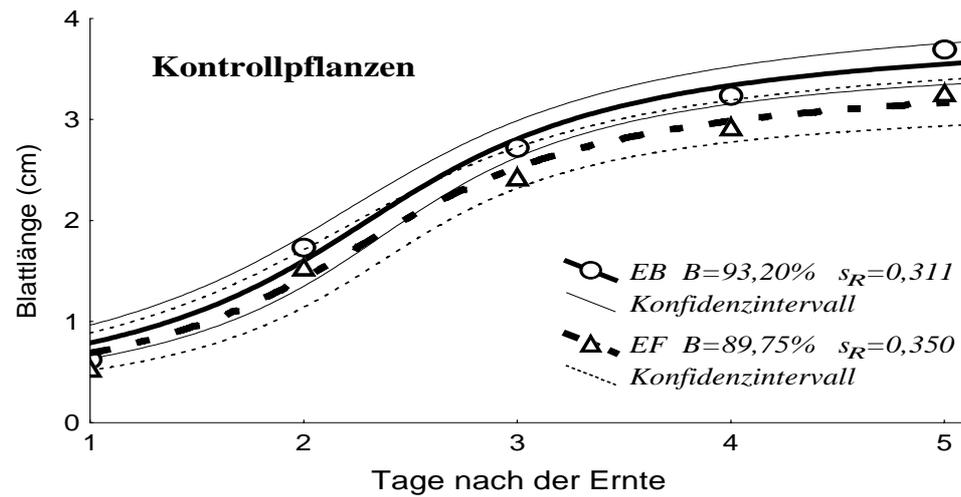


Abb. 14 Nachwuchs der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen A nach der 1. Ernte 1999 (Stressversuch 3)

(Schätzfunktion: $\hat{y}=a/2(1+2/\pi \arctan(c(t-t_0)-b))$; O bzw. Δ Mittelwerte pro Tag aus n=50 Einzelwerten)

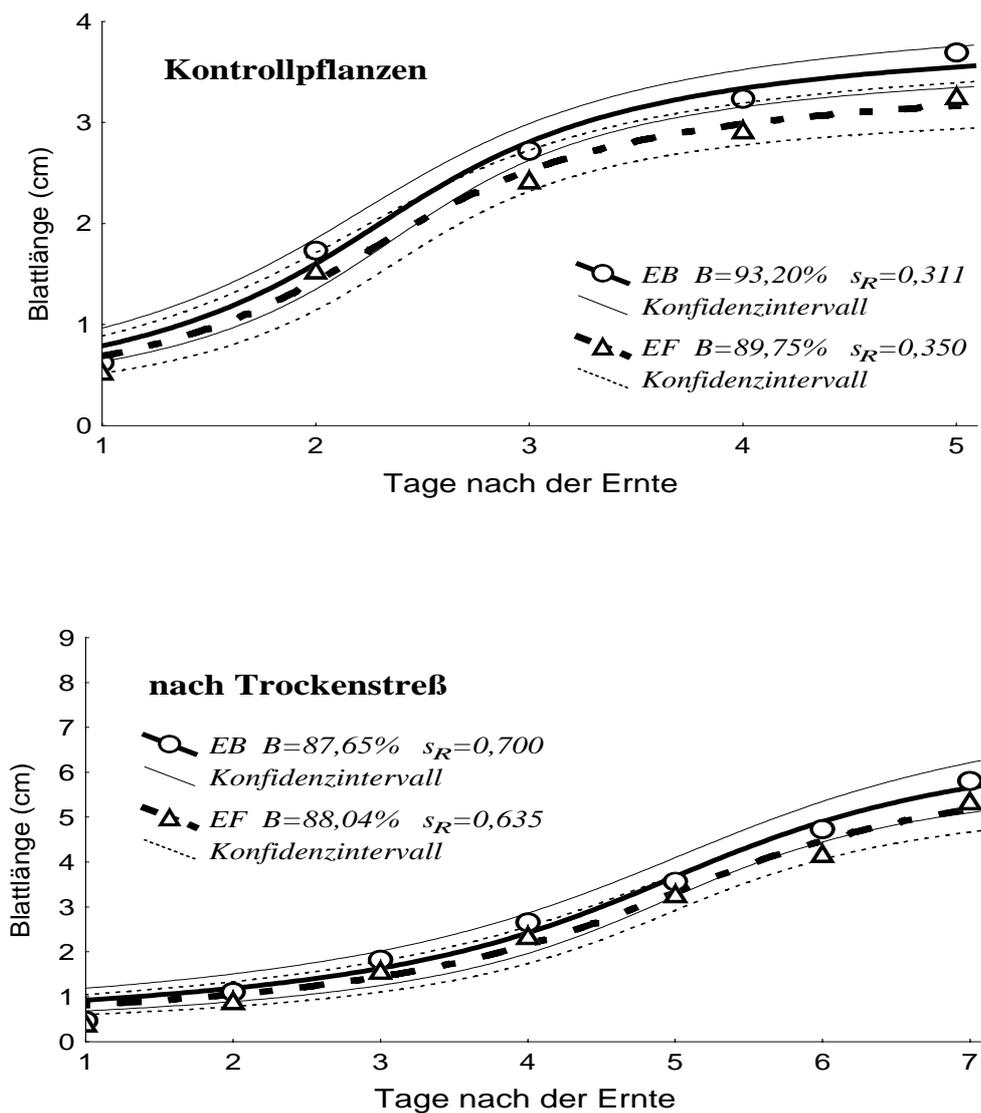
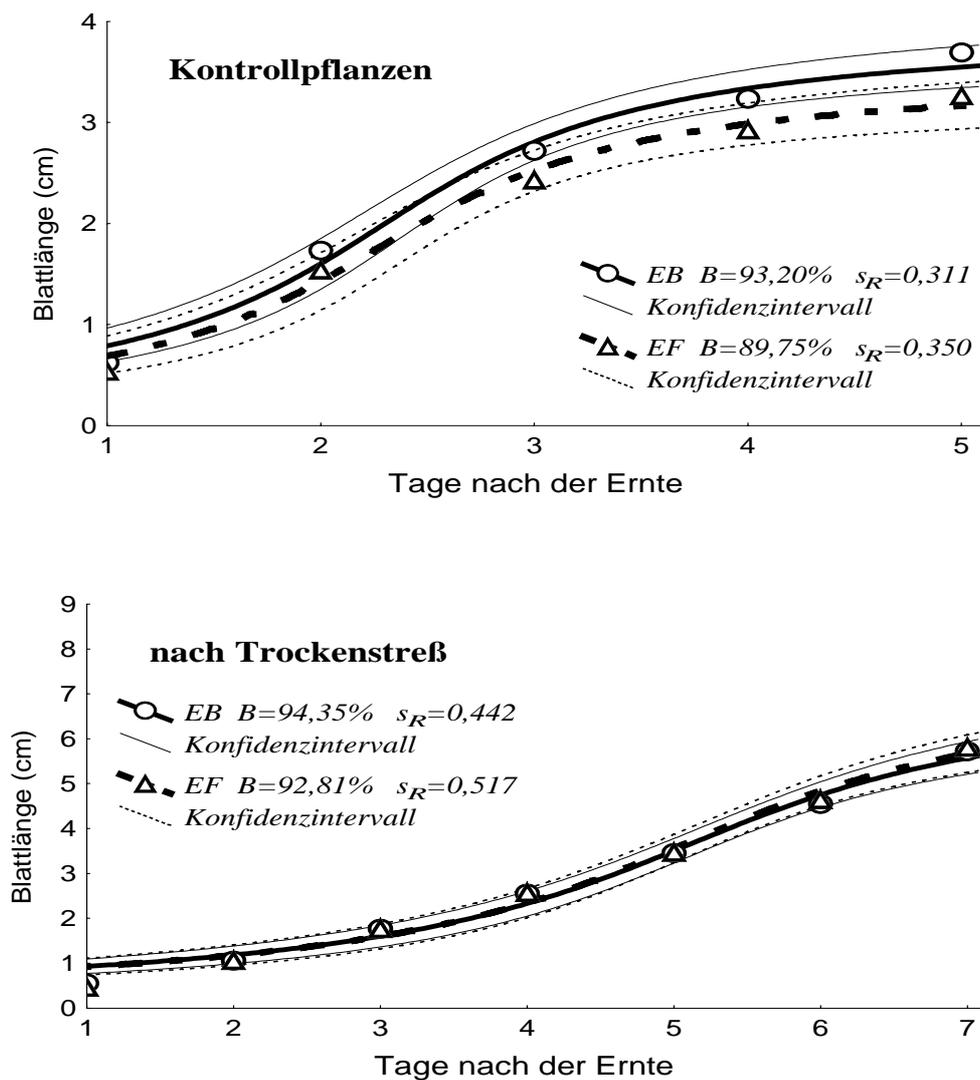


Abb. 15 Nachwuchs der endophytbesiedelten (EB) und endophytfreien (EF) Pflanzen des Genotypen E nach der 1. Ernte 1999 (Stressversuch 3)

(Schätzfunktion: $\hat{y}=a/2(1+2/\pi \arctan(c(t-t_0)-b))$; O bzw. Δ Mittelwerte pro Tag aus n=50 Einzelwerten)



Aus dem Institut für Acker- und Pflanzenbau

ZUSAMMENFASSUNG

Untersuchungen zur Endophytbesiedelung von Gräserökotypen und zu Symbioseeffekten durch *Neotyphodium lolii* in *Lolium perenne*-Genotypen hinsichtlich Stresstoleranz und Ertragsmerkmale

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades
doctor agriculturarum (Dr. agr.) der Landwirtschaftlichen Fakultät der
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Diplomagraringenieur Uljana Hesse

geb. am 01. August 1973 in Halle/Saale

Halle/Saale 2002

Endophytische Pilze der Gattung *Neotyphodium* leben mit ihren Wirtsgräsern in einer mutualistischen Symbiose. Von außen unsichtbar, wachsen sie interzellulär in den Sprossteilen der Pflanze, werden von ihr mit Nährstoffen versorgt und durch die Samen verbreitet. Ihrerseits vermögen die Pilze die biotische und abiotische Stresstoleranz ihrer Wirtspflanzen positiv zu beeinflussen. Diese Eigenschaften steigern die Wettbewerbsfähigkeit endophytbesiedelter Pflanzen auf Standorten mit ungünstigen Wachstumsbedingungen. Untersuchungen zum Vorkommen von *Neotyphodium lolii* in Ökotypen von *Lolium perenne* zeigten, dass endophytbesiedelte Pflanzen in trockenen Lagen häufiger zu finden sind als in feuchten. Das kann sowohl mit positiven Endophyteneffekten auf die Samenproduktion bzw. Samenqualität zusammenhängen als auch auf eine endophytinduzierte Trockenstresstoleranz zurückzuführen sein. Über die Symbioseeffekte zwischen *Neotyphodium lolii* und *Lolium perenne* liegen jedoch nur wenig Untersuchungen vor. Diese sind zudem nicht einheitlich und zum Teil durch widersprüchliche Ergebnisse gekennzeichnet. Bisherige Befunde weisen darauf hin, dass die Ausprägung von Endophyteneffekten im Wesentlichen von der jeweiligen Pilz-Wirt-Kombination abhängig ist.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde geprüft, ob und wie häufig *Neotyphodium*-besiedelte Graspflanzen der wirtschaftlich wichtigen Arten *Lolium perenne*, *Festuca pratensis*, *Festuca arundinacea*, *Festuca rubra* und *Festuca ovina* auf trockenen, wechselfeuchten bzw. häufig überfluteten Standorten in Sachsen-Anhalt vorkommen. Unter Berücksichtigung der Herkunft der endophytbesiedelten Pflanzen sollte festgestellt werden, inwieweit eine Endophytenpräsenz die generative Entwicklung und die Trockenstresstoleranz von *Lolium perenne*-Genotypen beeinflusst. Hierzu wurde der Pilz in den *Neotyphodium*-besiedelten Gräserökotypen mit Hilfe einer Fungizideinwirkung abgetötet, um endophytenfreies Klonmaterial erstellen und somit endophytbesiedelte und endophytenfreie Pflanzen des gleichen Genotypen in den experimentellen Arbeiten verwenden zu können. Zur Untersuchung des Einflusses von *Neotyphodium lolii* auf die vegetative und generative Leistungsfähigkeit von Deutschem Weidelgras erfolgte die Anlage eines Einzelpflanzen-Feldversuches mit 14 *Lolium perenne*-Genotypen. Insgesamt sieben dieser Genotypen wurden in Gefäßversuchen auf Endophyteneffekte hinsichtlich einer Trockenstress- bzw. Überflutungstoleranz geprüft. Die Ergebnisse der Untersuchungen lassen sich in folgenden Punkten zusammenfassen:

1. *Neotyphodium*-besiedelte Gräser sind auf vielen natürlichen Grünlandstandorten zu finden. Fast alle untersuchten Rohr- und Wiesenschwingelpopulationen enthielten endophytbesiedelte Pflanzen in einem Umfang von meist über 75 %. Die feinblättrigen Schwingelarten waren nur gebietsweise endophytbesiedelt. Insgesamt beherbergten 51 % der *Festuca rubra* und 26 % der *Festuca ovina*-Ökotypen *Neotyphodium*-Endophyten. Mit *Neotyphodium lolii* besiedelte

Lolium perenne-Pflanzen wurden auf 74 % der beprobten Standorte gefunden, wobei ihr Anteil in der Regel unter 50 % lag.

2. Für *Lolium perenne* und auch für *Festuca arundinacea* wurde nachgewiesen, dass die Wahrscheinlichkeit des Auftretens endophytbesiedelter Ökotypen auf trockenen Standorten signifikant höher ist als auf nassen Standorten.
3. Bei den Pflanzen von *Festuca arundinacea*, *F. rubra*, *F. ovina* und *Lolium perenne* wurden ausschließlich *Neotyphodium*-Endophyten festgestellt. Dagegen konnten bei *Festuca pratensis* lediglich 45 % der Pilzisolat *Neotyphodium uncinatum* zugeordnet werden. Die restlichen 55 % der Pflanzen dieser Grasart beherbergten Endophyten, deren taxonomische Zugehörigkeit aufgrund fehlender Konidienbildung nicht eindeutig geklärt werden konnte. Nach Vergleichen mit Literaturangaben ist jedoch zu vermuten, dass diese Pilze der Gattung *Phialophora* angehörten.
4. Das Erstellen von endophytfreiem Klonmaterial ist aufgrund der sehr hohen Überlebensfähigkeit der *Neotyphodium*-Endophyten schwierig. Die geprüfte Methode, bei welcher die Pflanzen in Hydrokultur über mehrere Wochen einer 0,4 %igen Propiconazolösung (Fungizid Desmel ©) ausgesetzt waren, erwies sich als sehr wirkungsvoll, aber auch biozid gegenüber der Wirtspflanze. Unter der Voraussetzung einer angepassten Behandlungsdauer und Wirkstoffkonzentration ist jedoch diese relativ gering aufwendige Methode für die Abtötung von Endophyten in Genotypen verschiedener Grasarten geeignet.
5. Die Ergebnisse der Einzelpflanzenversuche zeigten, dass die Endophyteeffekte auf die generative Entwicklung und das Wachstum von *Lolium perenne*-Pflanzen genotypspezifisch sind und in Abhängigkeit von der jeweiligen Pilz-Wirt-Kombination sowohl positiv als auch negativ sein können. Im Feldversuch wiesen 7 der 14 geprüften Genotypen während der stressfreien Wachstumsperiode (April bis August 1999) bei Endophytbesiedelung signifikante Zunahmen im mittleren Trockenmasse- und Samenertrag auf, während bei 4 Genotypen das Gegenteil der Fall war. Diesem Sachverhalt kann eine unterschiedliche Kompatibilität zwischen den Symbiosepartnern zugrunde liegen. Weiterhin lassen die Ergebnisse den Trend erkennen, dass eine Beziehung zwischen der Ertragsfähigkeit eines Genotypen und der Ausprägung von Symbioseeffekten besteht. Der Endophyt scheint besonders leistungsschwache Genotypen zu fördern, während diejenigen mit einer hohen Produktivität eher unbeeinflusst bleiben oder sogar gehemmt werden können. Diese Wechselwirkung sollte in weiteren Versuchen noch eingehend geprüft werden.

6. Die Untersuchungen zur Qualität der Spelzfrüchte zeigten, dass *Neotyphodium lolii* die mittlere TKM in Abhängigkeit vom Genotyp sowohl erhöhen als auch verringern kann. Der Einfluss des Endophyten auf die mittlere Keimfähigkeit war genotypspezifisch und stets positiv. In allen Versuchen wurde eine hohe Endophytübertragungsrate in die Spelzfrüchte der Pflanzen festgestellt.
7. Wie die Ergebnisse für die Genotypen A, J, und E belegen, können stark ausgeprägte Endophyteneffekte auf die Anzahl der Triebe, das mittlere Einzelsprossgewicht und die TKM der Spelzfrüchte auch unter verschiedenen Wachstumsbedingungen gleichgerichtet bleiben.
8. Eine wesentliche Verbesserung der Trockenstresstoleranz durch den Endophyten konnte lediglich bei den Genotypen B und F nachgewiesen werden, während bei den anderen Genotypen durch Wassermangel zum Teil signifikant negative Endophyteneffekte auftraten. Bei den Genotypen von den nassen Standorten waren die endophytbedingten Verluste in der Sprossanzahl und im Trockenmasseertrag unter Trockenstressbedingungen besonders hoch.
9. Bei mehreren Genotypen (B, E, F, J und M) führte die Endophytbesiedelung zu einem nachweislich größeren Wurzelwachstum. Dieser Endophyteneffekt, wie auch eine endophytbedingte Verbesserung der Keimfähigkeit von Spelzfrüchten, könnten insbesondere auf trockenen Standorten bedeutsam sein und zu der beobachteten Häufigkeit von endophytbesiedelten *Lolium perenne*-Ökotypen beigetragen haben.
10. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse zum Endophyteneinfluss auf die generative Entwicklung und den Wuchstyp der Pflanzen sowie den Kenntnissen aus der einschlägigen Literatur ist anzunehmen, dass *Neotyphodium lolii* in Abhängigkeit vom Genotyp die Bildung und den Transport von Auxinen in der Wirtspflanze zu beeinflussen vermag.
11. Im Ergebnis der Untersuchungen insgesamt scheint eine Selektion von *Neotyphodium lolii*-Stämmen zur Verbesserung des Pflanzenwachstums bzw. der Persistenz von *Lolium perenne* möglich. Eine Voraussetzung hierfür ist jedoch die Überprüfung der Pilzstämme auf ihre Symbioseeffekte in mehreren Wirtsgenotypen bei unterschiedlichen Wachstumsbedingungen.

Investigations on endophyte-infection of grass ecotypes and on symbiotic effects of *Neotyphodium lolii* in *Lolium perenne* genotypes concerning stress tolerance and yield parameters

The endophytic fungi of the genus *Neotyphodium* live with their host grasses in a symbiotic relationship. Invisible from the outside, the fungi grow between the cells in the upper parts of the host plant. The host supplies the nutrients the fungus needs to survive and distributes the fungus through its seeds. For their part, the endophytes can improve the biotic and abiotic stress tolerance of their host plants. These effects increase the competitive ability of endophyte-infected plants on sites with a stressful environment. Evaluations concerning the occurrence of *Neotyphodium lolii* in *Lolium perenne* ecotypes have shown that endophyte-infected plants do occur more often on dry rather than on wet sites. This can be due to positive endophyte effects on seed production or seed quality as well as to an endophyte-induced drought stress tolerance. The information about the symbiotic relationship between *Neotyphodium lolii* and *Lolium perenne* is rare and sometimes contradictory. Current results indicate, that the endophyte-effects are mainly influenced by the specific endophyte-plant combination.

This study investigates whether and how often, *Neotyphodium*-infected plants of the commercially important plant species *Lolium perenne*, *Festuca pratensis*, *Festuca arundinacea*, *Festuca rubra* and *Festuca ovina* do occur on dry, flooded or alternatively both, dry and flooded sites in Saxony-Anhalt. In consideration of the plant origin, it was investigated to what extent endophyte-infection can influence the generative development, the growth, and the drought stress tolerance of *Lolium perenne* genotypes. To obtain genetically identical grass plants with and without the fungus, endophyte was eradicated from *Neotyphodium*-infected grass ecotypes by fungicide treatment. 14 *Lolium perenne* genotypes were examined in a single-plant field trial. Seven of these genotypes were tested in pot experiments for endophyte-effects on drought or alternatively flooding tolerance of the plants. The results of this study are summarized as follows:

1. *Neotyphodium*-infected grass ecotypes are widely distributed on natural grassland sites. Nearly all meadow and tall fescue sites did contain endophyte-infected plants, their mean incidence being usually above 75 %. The fine leaved fescues were infected only in some regions. On average, 51 % of the *Festuca rubra* and 26 % of the *Festuca ovina* ecotypes contained *Neotyphodium* endophytes. *Neotyphodium lolii*-infected *Lolium perenne* plants were found on 74 % of the tested sites, the mean incidence usually being lower than 50 %.

2. For *Lolium perenne* and *Festuca arundinacea* it was verified, that the probability of occurrence of the endophyte-infected ecotypes on dry sites was significantly higher than on wet sites. The opposite was true for *Festuca pratensis*.
3. The plants of *Festuca arundinacea*, *F. rubra*, *F. ovina* and *Lolium perenne* were found to be infected by endophytes of the genus *Neotyphodium* only. For *Festuca pratensis* it was shown, that only 45 % of the fungal isolates were *Neotyphodium uncinatum*. The other 55 % of the plants contained endophytes, which did not produce conidia in-vitro and therefore could not be taxonomically classified.
4. Due to the tenacity of the fungus, the production of endophyte-free clonal plant material is difficult. The tested method, where plants were grown in hydro-culture for several weeks in a 0.4 % Propiconazol-solution (fungicide Desmel ©), was very effective at eliminating the fungus but had some herbicidal effects on the host plants. However, by adjusting treatment duration and concentration of the active ingredient, this relatively simple method is suitable for the elimination of endophytes from plants of different grass species.
5. The results of the single-plant experiments show that the effect of *Neotyphodium lolii* on the generative development and the plant growth of *Lolium perenne* genotypes can vary, depending on the specific endophyte-host-combination. The result of this variance can be negative or positive for the parameters measured. In the field experiment, during the stress-free growing period (April-August 1999), the endophyte induced significant increases in average dry matter and seed yield in 7 of the 14 tested *Lolium perenne* genotypes. For 4 genotypes the opposite was true. These effects can be caused by differences in compatibility between the symbiotic partners. Furthermore, the results of this experiment indicate, that there could be a relationship between the endophyte-effect and the plant productivity of a genotype. The fungus seems to improve growth of genotypes with low productivity, whereas growth of genotypes with high productivity remains unaffected or is even inhibited. This relationship should be verified in further experiments.
6. The study of seed quality revealed that *Neotyphodium lolii* can increase or reduce the thousand kernel weight depending on the genotype. The germination of the seeds was

increased in some genotypes. In all experiments high transmission rates of the endophyte to the seeds were detected.

7. As the results of the genotypes A, E and J show, strong endophyte-effects on the tiller number, the single shoot weight and the thousand kernel weight can persist under differing environmental conditions.
8. A significant improvement of the drought stress tolerance by the endophyte was observed for the genotypes B and J only. During drought, the other genotypes, especially ones that originated from wet sites, showed significant decreases in shoot number and plant dry weight.
9. Several genotypes (B, E, F, J, and L) showed an endophyte-induced increase in root growth. This effect can be of significance to plant survival especially at sites with stressful environment. Analogue with the endophyte-improved germination of seeds, it could explain the high incidence of endophyte-infected *Lolium perenne* plants on dry sites.
10. The results concerning the endophyte-effects on generative development and growing direction of tillers suggest that *Neotyphodium lolii* can influence the production and transport of the phytohormone auxin in *Lolium perenne* plants.
11. It may be concluded that it is possible to select *Neotyphodium lolii* strains for improved growth and persistence of *Lolium perenne*. It is a prerequisite however, that the endophyte strains are tested in several plant genotypes under varying growing conditions for their symbiotic effects.

LEBENS LAUF

Vor- und Zunahme: Uljana Hesse
Geburtsdatum: 01.08. 1973
Geburtsort: Halle/Saale
Staatsbürgerschaft: deutsch

Schulbildung: 1980 - 1986 Polytechnische Oberschule in Leipzig
1986 - 1990 Mittelschule Nr. 2 in Leningrad / UdSSR und
EOS beim Generalkonsulat der DDR in Leningrad

Schulabschluss: 1990 - Abschluss des Abiturs an der Mittelschule Nr. 2 in
Leningrad mit einer Ehrenurkunde in Biologie und
Chemie

- Abschluss der 10. Klasse in Deutsch, Geschichte und
Staatsbürgerkunde an der EOS beim Generalkonsulat der
DDR in Leningrad, Abschluss: sehr gut

Studium: 1991 - 1997 Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Landwirtschaftliche Fakultät
Fachrichtung Pflanzenwissenschaften
Abschluss Diplom: 1,8

Dissertation: 1997 - z.Z. Thema: Untersuchungen zur Endophytbesiedelung von
Gräserökotypen und zu Symbioseeffekten durch
Neotyphodium lolii in *Lolium perenne*-Genotypen
hinsichtlich Stresstoleranz und Ertragsmerkmale

Praktika: 1990 - 1991 H.A. Niemeyer in Beckedorf / Niedersachsen (100 ha
Betrieb, Tier- und Pflanzenproduktion) mit Besuch der
Albrecht-Thaer-Schule in Celle (Berufsbildende Schule
IV)

1995 - 1996 Landwirtschaftliches Forschungsinstitut AgResearch.
Palmerston North. Neuseeland

- Durchführung eines Versuches zur Erfassung
möglicher Wechselwirkungen zwischen
Gerstengelbverzwergungsvirus und *Acremonium*
Endophyten
- Inokulation von Graspflanzen mit Endophyten unter
Anwendung von Gewebekulturtechniken.

Danksagung

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Schöberlein, sehr herzlich für die Überlassung des interessanten Themas und die hervorragende wissenschaftliche Betreuung danken. Für seine umsichtige und gütige Art der Anleitung, die anregenden Diskussionen und die wertvollen Hinweise bei der Anfertigung der vorliegenden Dissertation bin ich ihm sehr verbunden.

Herrn Prof. Dr. Diepenbrock möchte ich für seinen Einsatz bei der Beantragung des Stipendiums, die Weiterführung der Betreuung und das mir erwiesene Vertrauen danken.

Ich danke Frau Dr. Förster für die ständige Diskussionsbereitschaft und den großen Beistand während der Fertigstellung der Arbeit. Frau Dr. Pfanmöller und Frau Dr. Hahn bin ich für ihre Aufmerksamkeit und die kritischen Hinweise sehr verbunden. Mein tiefster Dank gilt den Mitarbeitern des Lehrgebietes Saatgutwirtschaft, insbesondere Frau Helfinger, Frau Ott und Frau Kozłowski, die durch ihr Mitwirken zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben. Für die vielen wertvollen Ratschläge und die konstruktive Kritik bin ich ihnen sehr verbunden.

Herrn Prof. Dr. Merbach, Herrn Dr. Wittenmayer und den Mitarbeitern des Institutes für Bodenkunde und Pflanzenernährung, Bereich Physiologie und Ernährung der Pflanzen, bin ich für ihre große Unterstützung bei der Realisierung der Gefäßversuche zu Dank verpflichtet.

Herrn Dr. Buchte und den Mitarbeitern des Julius-Kühn-Feldes danke ich für die freundliche Unterstützung bei der Betreuung des Feldversuches.

Frau Dr. Warnstorff möchte ich für die kompetente Beratung zur biostatistischen Auswertung der Ergebnisse und die wertvollen Hinweise bei der Anfertigung der Arbeit herzlich danken.

Ich danke meinen Eltern, die mir durch ihre stetige Unterstützung und ihr Vertrauen Kraft zum Durchhalten gegeben haben.

Mein besonderer Dank gilt Sadig sowie Anja & Thomas Richter und Kalina für ihre fortwährende praktische und moralische Unterstützung.

Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die eingereichte Dissertation selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Halle/Saale 2002