

Fachbereich 09 „Agrarwissenschaften,
Ökotoxikologie und Umweltmanagement“
Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung II
Professur für organischen Landbau



Master-Thesis

Der Einfluss von Tannin auf das Keimungsverhalten von *Lotus corniculatus* L. und *Lolium perenne* L. unter variierten Bedingungen

Gestellt von: Dr. Harald Laser

Zweitprüfer: Prof. Dr. Günther Leithold

Eingereicht von: B. Sc. Bettina Siekmann

Gießen, im August 2008

INHALTSVERZEICHNIS

ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	1
2. LITERATURÜBERSICHT	2
2.1 <i>Lotus corniculatus</i> L.....	2
2.2 <i>Lolium perenne</i> L.	3
2.3 Tannin.....	4
2.4 Keimung.....	8
2.5 Arbeitshypothese.....	9
3. MATERIAL UND METHODEN	10
3.1 Material.....	10
3.1.2 Varianten.....	10
3.1.3 Versuchsaufbau.....	11
3.2 Methoden.....	12
3.2.1 Messung der Keimlingsgrößen.....	12
3.2.2 Statistische Auswertung.....	12
4. ERGEBNISSE	14
4.1 Keimungsrate.....	14
4.2 Keimungsgeschwindigkeit.....	15
4.3 Längenwachstum von Keimwurzel und –spross.....	18
4.4 Weitere Beobachtungen.....	21
5. DISKUSSION	23
5.1 Einfluss der Art.....	23
5.2 Einfluss des Tannins.....	23
5.3 Einfluss des PEG.....	24
5.4 Einfluss des Lichtes.....	26
5.5 Gesamtbetrachtung.....	27

6. ZUSAMMENFASSUNG	28
7. LITERATURVERZEICHNIS	30
8. ANHANG	33
EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG	

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis:

	Seite
Abb. 1: Corilagin	4
Abb. 2: Proanthocyanidin (verändert nach HASSLAM 2007)	5
Abb. 3: Spektrum der Keimungsraten für alle Varianten bis zum Versuchsende nach 28Tagen	15
Abb. 4a: Keimungsgeschwindigkeit von <i>Lolium perenne</i> und <i>Lotus corniculatus</i> bei Licht	16
Abb. 4b: Keimungsgeschwindigkeit von <i>Lolium perenne</i> und <i>Lotus corniculatus</i> in Dunkelheit	17
Abb. 5: Längenwachstum von Spross und Wurzel bei <i>Lolium perenne</i> und <i>Lotus corniculatus</i> am Versuchsende (Tag 28), unterteilt in Arten und Lichtstrategie	19
Abb. 6: Verschiedene Pilzarten in der Variante Lotus corniculatus / 0,1% Tannin / 0 hPa / Dunkel, am Tag 28	22
Abb. 7: Schwarz verfärbte Karyopse der Variante Lolium perenne / 5,0% Tannin / 0 hPa / Licht, am Tag 28	22
Abb. 8: Drei Wurzeln an einem Samen der Variante Lolium perenne / 10,0% Tannin / -4000 hPa / Licht, am Tag 28	22
Abb. 9: Saatgutvergleich bei Lotus corniculatus: links gequollene Samen; rechts trockenes Saatgut, am Tag 28	22
Tab. 1: Gehalt an kondensierten Tanninen in verschiedenen Futterpflanzen (modifiziert nach HESS und SCHARENBERG, 2007)	8
Tab. 2: Versuchsplan, Varianten angelegt als Blockanlage mit vier Wiederholungen	11

1 Einleitung

Die immer wichtigere Stellung von *Lotus corniculatus* L. als Futterleguminose beruht unter anderem auf dem fördernden Effekt des ausgewogenen Tanningehaltes auf die Futtermittelverwertung. Weil *Lotus corniculatus* im ökologischen Landbau mit dem äußerst produktiven Futtergras *Lolium perenne* L. in Mischkultur angebaut wird, sollte untersucht werden, ob *Lotus corniculatus* L. selbst oder auch *Lolium perenne* L. von möglichen Tanninkonzentrationen im Boden in ihrer Keimfähigkeit oder dem Keimwachstum gehemmt werden. Aufgrund des hohen erforderlichen Aufwands, wurden noch keine Untersuchungen zur Ausscheidung von Tanninen durch *Lotus corniculatus* durchgeführt. So ist es Ziel dieser Arbeit, mittels eines Keimversuches festzustellen, ob und unter welchen Bedingungen Tannin die beiden genannten Arten in ihrer Keimung beeinflusst.

2 Literaturübersicht

2.1 *Lotus corniculatus* L.

Lotus corniculatus, der Gewöhnliche Hornklee, gehört zur Familie der Fabaceae und ist eine mehrjährige Leguminose. Synonym werden die Namen „Birdsfoot Trefoil“, „Birdfoot Deervetch“, „Bloomfell“, „Cat's Clover“ und „Crowtoes“ verwendet (ADAM 2008). *Lotus corniculatus* ist seit 200 Jahren in Großbritannien als Futterpflanze bekannt und wird in Amerika auf mehr als einer Million Hektar als Futterlieferant angebaut (GEBREHIWOT, BEUSELING and ROBERTS 2002). Es ist ein tetraploider ($2n = 4x = 24$) Fremdbefruchter (MARSHALL et al. 2008) und wächst in temperaten Klimata. Er ist weniger empfindlich gegenüber nährstoffarmen sauren Böden im Vergleich zu seinen Verwandten Weißklee (*Trifolium repens*) und Rotklee (*Trifolium pratense*). Dazu ist *Lotus corniculatus* trockentolerant und hat sich inzwischen weltweit verbreitet. Durch neue Züchtungen ist diese Leguminose in den letzten 50 Jahren schneller in seiner Entwicklung, winterhärter und produktiver geworden.

In Versuchen von MARLEY (2006) wurde gegenüber der Fütterung von anderen Leguminosen ein höheres Lebendgewicht bei Lämmern beobachtet. Außerdem wurde in einem früheren Versuch von MARLEY in 2003 eine Reduktion der parasitären Intensität von Nematoden festgestellt. Beides ist wahrscheinlich auf den Gehalt an kondensiertem Tannin zurückzuführen. Die Tanninkonzentration schwankt je nach Literatur bei *Lotus corniculatus* zwischen 0,25% und 3,5% (MARLEY 2003) bzw. zwischen 1% und 5% (SCHARENBERG und ARRIGO 2006). Nach Marshall (2008) können die Einzelwerte der Individuen sogar bis zu $60 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ Trockenmasse schwanken. Im Vergleich enthält Zichorie (*Cichorium intybus*) 0% bis 2% und Esparsette (*Onobrychis viciifolia*) 4% bis 10% (SCHARENBERG und ARRIGO 2006). Der Gehalt von kondensierten Tanninen im Kraut von *Lotus corniculatus* wird nach Marshall (2008) von erhöhtem Kohlenstoffdioxidgehalt, Temperatur, von Trockenheit und anderen Umwelt- und Entwicklungsfaktoren beeinflusst. Es hat sich weiterhin gezeigt, dass eine Tanninkonzentration von über 6% die freiwillige Futteraufnahme der Tiere verringert (MARLEY, FYCHAN und JONES 2006), dazu mehr in Kapitel 2.3. GEBREHIWOT et al. (2002) haben zudem festgestellt, dass im Stamm weniger kondensiertes Tannin enthalten ist als in Blättern und Blüte. Die Wurzel wurde dabei leider nicht untersucht.

2.2 *Lolium perenne* L.

Das Deutsche Weidelgras (*Lolium perenne*), gehört zur Familie der Poaceae und wird auch als Englisches Raygras bezeichnet. Weitere Synonyme sind „Ausdauerndes Weidelgras“ oder „Ausdauernder Lolch“. Die Unterfamilie sind die Pooideae. *Lolium perenne* ist in zahlreichen Formen und Varietäten anzutreffen. Es ist eine sehr veränderliche Art. Es handelt sich dabei um ein mehrjähriges Horstgras, das trockenheits- und frostempfindlich ist (KÄSTNER et al. 2001). *Lolium perenne* wächst auf stickstoffreichen, schweren Ton- und Lehmböden. Auf Marschböden ist es das vorherrschende Gras. *Lolium perenne* ist ein besonders trittfestes Gras, das dementsprechend auch auf oberflächlich verdichteten Böden gedeiht. Außerdem gilt es als Nährstoff-, Frische- und Tonzeiger. Weiterhin ist es eine Lichtpflanze (LENUWEIT und GHARADJEDAGHI 2002).

Die Gattung *Lolium* stammt aus dem Mittelmeerraum, den temperaten Regionen Europas und Asiens sowie von den Kanarischen Inseln. *Lolium perenne* hat sich über Europa hinaus in Teile Westasiens und Nordafrika verbreitet, wurde weltweit verschleppt und ist somit heute auf allen Kontinenten aufzufinden. In Mitteleuropa ist es von der Ebene bis in die mittlere Gebirgslage bis zu 1100m Höhe (KÄSTNER et al. 2001) und die Alpentäler verbreitet und dabei stets in großer Vielzahl anzutreffen. Häufig wächst es in Gesellschaft von Weißklee (*Trifolium repens*), Gänseblümchen (*Bellis perennis*), Scharfgarbe (*Achillea millefolium*) und Breitwegerich (*Plantago major*) (LENUWEIT und GHARADJEDAGHI 2002). Als Assoziationen werden bei LENUWEIT und GHARADJEDAGHI (2002) *Lolio-Cynosuretum* (Lolch-Fettweide, Weidelgras-Weide, Tieflagen-Fettweide) und *Lolio-Polygonetum arenastri* (Lolch-Vogelknöterich-Trittgesellschaft) genannt. Die Lolch-Vogelknöterich-Trittgesellschaft gehört zum Verband *Polygonion avicularis*. Sie ist eine sehr häufige und in Europa die am weitesten verbreitete Trittgesellschaft. Dadurch entstanden verschiedenste Formen der Assoziation, oft in Begleitung von *Trifolium repens* (OBERDORFER 1993).

Lolium perenne ist ein sehr gutes Futtergras, das sich sowohl durch eine sehr gute Verdaulichkeit als auch durch seine Inhaltsstoffe auszeichnet. Bereits vor 350 Jahren wurde *Lolium perenne* in England zur Futterproduktion angebaut. Tetraploide Sorten wurden zwar in den 1950er Jahren hauptsächlich in den Niederlanden gezüchtet, konnten aber erst in den achtziger Jahren des 20. Jahrhunderts in Ausdauer und Wachstumsqualität mit den diploiden Sorten mithalten (LENUWEIT und GHARADJEDAGHI 2002). Als Monokotyle Pflanze enthält es kein Tannin.

2.3 Tannin

Tannine sind pflanzliche Gerbstoffe, die in dikotylen Stauden, Sträuchern und Baumblättern besonders der Tropen und Subtropen (HESS und SCHARENBERG 2007) weit verbreitet sind und von Pflanzen fressenden Säugetieren aufgenommen werden (HASSLAM 2007). Diese Verbindungen ($C_{76}H_{52}O_{46}$) haben ein molekulares Gewicht von 500-3000. Sie zählen zu den quantitativen Sekundärstoffen. Chemisch gesehen handelt es sich dabei um Polyhydroxyphenole. Sie sind in Wasser, Alkohol und Aceton löslich. Sie enthalten ausreichend phenolische *ortho*-Di-Hydroxygruppen um Quervernetzungen zwischen Makromolekülen, wie Proteinen, Zellulose und Pektin, ausbilden zu können. Solche Vernetzungen können die Aktivität von Pflanzenenzymen und -organellen hemmen und sorgen in der Lederherstellung für Haltbarkeit und Schutz vor Mikroorganismen (FALLERT-MÜLLER 2000; HEDQVIST 2004). Die pflanzlichen Tannine variieren deutlich in ihrer chemischen Struktur und biologischen Aktivität (GEBREHIWOT, BEUSELING and ROBERTS 2002). Tannine mit starken Absorbtionseigenschaften sind im Allgemeinen in den Vakuolen zu finden, separiert vom Protoplasma der Pflanzen (WHITTAKER 1970). Die physiologische Aktivität resultiert aus der selektiven Bindefähigkeit der Tannine zu Proteinen, besonders zu großen und prolinreichen Molekülen mit offener Konformation (SILANIKOVE 1996).

Es gibt zwei Tannin-Gruppen: hydrolysierbare und kondensierte Tannine. Erstere können durch Glukose, andere mehrwertige Alkohole, Gallussäure oder Ellagsäure hydrolysiert werden. Als Beispiel für ein hydrolysierbares Tannin ist das in Abbildung 1 abgebildete Corilagin.

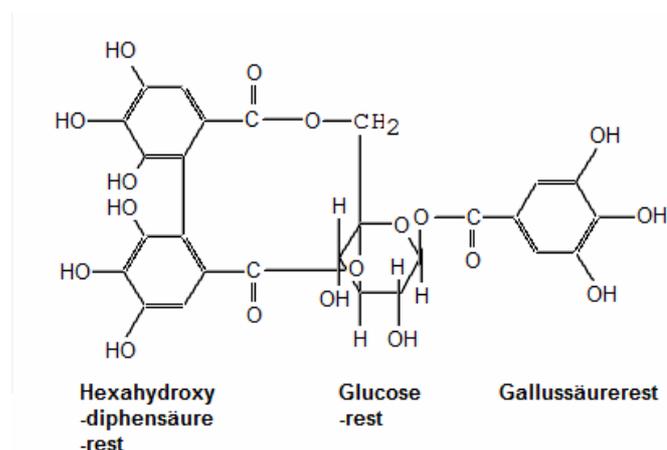


Abb. 1: Corilagin

Corilagin ist ein Ellagitannin aus dem Divi-Divi Baum (*Caesalpinia coriaria*), einer Leguminose aus Mittelamerika. Wie in Abbildung 1 dargestellt, besteht Corilagin aus einem Hexahydroxydiphensäure-, einem Glukose- und einem Gallussäurerest. Da diese Tannine sich meistens von der Gallussäure ableiten lassen, spricht man von Gallotanninen. Corilagin hat daher das Synonym Gallotannin erhalten.

Statt Hexahydroxydiphensäure oder Gallussäure können auch andere phenolische Komponenten Bestandteile hydrolysierbarer Tannine sein, beispielsweise Chebulsäure und Brevifolincarbonsäure. Im Unterschied zu den kondensierten Tanninen sind sie weniger verbreitet. Sie befinden sich in Blättern, Früchten, Hülsen, Holz und Borke mancher Baumarten, zum Beispiel Eiche und Kastanienbaum (HEDQVIST 2004).

Kondensierte Tannine, auch bekannt als kondensierte Proanthocyanidine, sind Polymere, deren monomere Einheiten aus phenolischen Flavanen bestehen, meist Flavan-3-ol (Catechin), vgl. Abbildung 2. Die Monomere sind in der Regel an Position 4 und 8 gebunden (FALLERT-MÜLLER 2000; HASSLAM 2007).

Die Bindungen kondensierter Tannine sind stärker als die der hydrolysierten. Sie werden je nach Bindung der Monomere, den verschiedenen Stereoisomeren und der Anzahl an Hydroxylgruppen klassifiziert (GEBREHIWOT, BEUSELING and ROBERTS 2002). Sie sind die Tanningruppe, die am häufigsten in Futterleguminosen gefunden wurde (REED 1995).

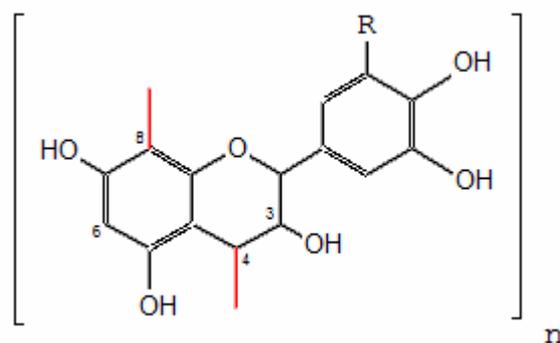


Abb. 2: Proanthocyanidin (verändert nach HASSLAM 2007)

Abgesehen von der gerbenden Wirkung, die durch Vernetzung von Proteinketten entsteht, schützt Tannin die Pflanze gegen Insekten, Pilze und Bakterien sowie gegen UV-Strahlung (HEß 2008). Deswegen ist der Hauptanteil der pflanzlichen Tannine in der Rinde enthalten (FALLERT-MÜLLER 2000; STEEN 2008; GEBREHIWOT,

BEUSELING and ROBERTS 2002; HESS und SCHARENBERG 2007).

In den letzten zwei Jahrzehnten richtete sich der Fokus auf Tannin wegen seiner sowohl positiven als auch negativen Wirkung im Tierfutter auf Futteraufnahme, Verdaulichkeit, Tierleistung und Tiergesundheit. Die Wirkung ist abhängig von der Konzentration des im Futter enthaltenen Tannins. Geringere Konzentrationen von kondensiertem Tannin reduzieren die schaumige Gärung im Pansen und steigern die Proteinaufnahme bei grasenden Wiederkäuern (WEN et al. 2003), bzw. reduzieren die Rate der Proteinzerstörung (MARSHALL et al. 2008). Außerdem wird die Umwelt durch geringere Stickstoffverluste geschützt (MARSHALL et al. 2008). Moderate Mengen steigern die Laktation, Wollwachstum und Lebendgewicht ohne die positive Futteraufnahme zu reduzieren. Höhere Konzentrationen gehen einher mit einem höheren Ligningehalt und weniger Rohprotein, als auch mit weniger verdaulicher Trockenmasse. Hydrolysierbare Tannine hingegen sind toxisch für Wiederkäuer, da sie im Verdauungstrakt zu giftigen, absorbierbaren Bestandteilen zerlegt werden (REED 1995, HESS und SCHARENBERG, 2007). REED (1995) hat herausgefunden, dass kondensierte Tannine in Zusammenhang mit Schäden an der Darmschleimhaut stehen, obwohl sie als nicht-toxisch gelten, da sie im Tier nicht aufgespalten werden (auch HESS und SCHARENBERG, 2007). Die optimale Konzentration liegt zwischen 20 g und 40 g kondensierten Tannins pro kg Futtertrockenmasse (WEN et al. 2003; GEBREHIWOT, BEUSELING and ROBERTS 2002). Ab 60 g kg⁻¹ reduziert kondensiertes Tannin die Futteraufnahme durch negative Schmackhaftigkeit und hemmt die Verdauungseffizienz (WEN et al. 2003; REED 1995). Wegen der verhältnismäßig hohen Tanninkonzentration von 4% - 10% ist es nicht verwunderlich, dass in mehreren Untersuchungen der Futterleguminose *Onobrychis viciifolia* geringere Futteraufnahme im Vergleich zum vorherigen Futtermittel festgestellt wurde (SCHARENBERG und ARRIGO 2006).

Außerdem können sie direkt Magen-Darm-Parasiten reduzieren und limitieren die Proteolyse in einigen Leguminosen während des Silierungsprozesses (MARLEY, FYCHAN und JONES 2006; HÄRING 2007). Der Gehalt an kondensiertem Tannin ist allerdings nicht nur von der Art, sondern auch von der Sorte und von Umweltfaktoren abhängig. Weitere Unterschiede resultieren aus der Entwicklungsphase der Pflanze und dem Erntezeitpunkt (GEBREHIWOT, BEUSELING and ROBERTS 2002; MARSHALL et al. 2008; WEN et al. 2003). Überdies wurde vielmehr Tannin in den Blättern als in den Stängeln von *Lotus corniculatus* gefunden, bestätigt MARSHALL et al. (2008). Dies waren 42,6 mg kondensiertes Tannin g⁻¹ TM zu 12,4 mg kondensiertes

Tannin g^{-1} TM. Ähnlich ist das Verhältnis der Tanninkonzentration von Blatt zu Stängel in Esparsette (*Onobrychis viciifolia*) (HÄRING 2007).

Bezüglich einer möglichen keimhemmenden Wirkung erwähnt GRÜMMER bereits 1955, dass Tannine als Blattausscheidungen auftreten können und eventuell zu einer Hemmung beitragen. Außerdem hatten die Gerbstoffe mit höheren Phenolkonzentrationen größere Wirkung als diejenigen mit weniger Phenolen. Für Phenole ist seit langem bekannt, dass sie auf die Keimung einiger Pflanzenarten stark hemmend wirken. Über aktive Ausscheidung von Gerbstoffen ist jedoch bislang nichts bekannt.

Die Wirkung von kondensierten Tanninen kann durch Zugabe von PEG (Polyethylenglycol) zum Trocknungs- oder zum Silierungsprozess aufgehoben werden, weil sich PEG besser an Tannin bindet als Proteine (SCHARENBERG und ARRIGO 2006; WAGHORN 1994). Solche PEG-Tannin-Komplexe entstehen mit PEG-Molekülen mit einem Molekulargewicht von 2.000 -35.000 in einem pH-Bereich von 2 - 8,5 (MAKKAR, BLÜMMEL und BECKER 1995). In dieser Bindung ist das Tannin inaktiviert und kann nicht mehr an Proteine binden (SILANIKOVE et al. 1996). Über die Interaktion zwischen Tanninen und PEG-Molekülen ist wenig bekannt. Für die meisten Komplexe gilt, dass die Bindungsstärke mit Erhöhung des PEG-Molekulargewichtes von 2000 auf 4000 ansteigt (MAKKAR, BLÜMMEL und BECKER 1995).

Wegen der vielen positiven Effekte von kondensiertem Tannin suchen die Forscher nach molekular-genetischen Techniken, um Futterleguminosen mit einem positiven Tanningehalt zu züchten, wie zum Beispiel Weiß-Klee (*Trifolium repens*) und Luzerne (*Medicago sativa*), die bisher kein oder kaum Tannin enthalten (REED 1995). Im Jahre 1993 haben FAY und DALE über fünfzig Leguminosen auf Tannin untersucht, wobei zwei Arten der Gattung *Trifolium* und sieben Arten der Gattung *Chronosemium* Tannine enthielten. HESS und SCHARENBERG (2007) haben ähnliche Versuche durchgeführt. Das Ergebnis ist in Tabelle 1 aufgeführt.

Tab. 1: Gehalt an kondensierten Tanninen in verschiedenen Futterpflanzen (modifiziert nach HESS und SCHARENBERG, 2007)

Pflanzenart	Gehalt an kondensierten Tanninen (g/kg TS)
Luzerne	0-1
Raigras	0-2
Rotklee	0-2
Chicorée	1-5
Hornklee	10-50
Espарsette	30-100
Sumpf-Hornklee	30-105
Kronen-Süßklee	40-120

Die Analyse von Tanninen ist schwierig und ungenau. Problematisch sind in dieser Hinsicht der Prozess der Probenentnahme und der Trocknung, Extraktion kondensierter Tannine, das Fehlen geeigneter Standards, sowie unpräzise quantitative Methoden, die nicht alle Reaktionen und Effekte in der Pflanze mit einbeziehen. Im Ganzen betrachtet gibt es keine einzige Methode, die zufrieden stellende Ergebnisse zur Quantifizierung liefert (REED 1995).

Auch wegen der Spezifität der Analysemethoden ist die ernährungswissenschaftliche und ökologische Interpretation von Tanningehalten schwierig (SILANIKOVE et al. 1996).

2.4 Keimung

KUTSCHERA definierte in seinem Lehrbuch von 2002 den Prozess der Keimung folgendermaßen: „Der Übergang vom ruhenden, im Samen eingeschlossenen Embryo zur jungen Pflanze (Keimling) wird als Keimung bezeichnet.“ (KUTSCHERA 2002, Seite 94). Obwohl es nur gekeimte oder nicht gekeimte Individuen gibt, wird in der Literatur ein gekeimtes Individuum unterschiedlich definiert. Nach KUTSCHERA (2002) wird von Keimung gesprochen, wenn ein über 5 mm langes Hypokotyl, bzw. eine über 2 mm lange Wurzelspitze aus der Samenhülle, der so genannten Testa, hervorbricht. Die Sprengung der Keimschale wird Testaruptur genannt und ist bei HESS (2008) das Zeichen dafür, dass Keimung vorliegt. Manchmal wird die Keimung mit Austreten der Wurzelspitze bereits als abgeschlossen angesehen oder im Gegensatz dazu erst wenn der Keimling sich unabhängig entwickeln kann (ZIRON 2000). Der Keimungsprozess beginnt, sobald die Keimruhe, je nach Art Quieszenz oder Dormanz, aufgehoben wird (HEß 1991). Die Quieszenz, eine Keimruhe, die durch äußere Faktoren bestimmt wird, wird durch Wasserzugabe beendet

(KUTSCHERA 2002; HESS 2008). Das Wasser weicht gleichzeitig das Endosperm auf, um die Testaruptur zu vereinfachen. In der Regel liegt bei Kulturpflanzen Quieszenz vor, um einen sicheren Feldaufgang nach der Saat zu gewährleisten (SCHOPFER und BRENNICKE 2006). Dormante Samen werden von inneren Faktoren wie Abscisinsäure an der Keimung gehindert. Sie kann durch Belichtung oder Kältebehandlung, bei manchen sogar erst nach Brandkatastrophen, abgebrochen werden. Bei den vorhandenen Arten handelt es sich jeweils um quieszente Arten.

Die meisten Pflanzen sind lichtgeförderte Keimer (HESS 2008). Außerdem wird die Keimung in epigäische und hypogäische unterschieden. Als epigäisch keimende Samen bezeichnet man solche, die durch Zellstreckung die Kotyledonen (Keimblätter) aus der Erde heben, Chlorophyll ausbilden und so mit den photoaktiven Keimblättern eine Zeit lang den Keimling autotroph ernähren. Bei einer hypogäischen Keimung hingegen bleiben die Kotyledonen in der Erde und liefern weiterhin die entsprechenden Speicherstoffe für den Keimling. Der Stängel oder Halm des Keimlings bildet sich über den Kotyledonen im Gegensatz zur epigäischen Keimung, bei welcher der Stängel unter den Kotylendonen in die Länge wächst (KNÖDLER 2001; KUTSCHERA 2002). Typisch für alle unsere Getreidearten keimt *Lolium perenne* als Gras hypogäisch, während *Lotus corniculatus* epigäisch keimt (KUTSCHERA 2002).

Die Keimung wird in drei Phasen unterteilt: 1. Reversible Quellung, 2. Irreversibles aktives Wachstum des Embryos und 3. Abbau der Speicherstoffe. Statistisch keimen in einem Keimungsversuch am ersten Tag nach der Aussaat 2%, am zweiten Tag 30%, am dritten Tag 70% und am vierten Tag wird der Sättigungspunkt von 90% erreicht. So entsteht eine S-förmige Sättigungskurve der Keimhäufigkeit in Abhängigkeit von der Anzahl an Tagen nach der Aussaat. Dabei trat Raps (*Brassica napus*) als Beispieldpflanze bereits nach 12 h Quellung in die Wachstumsphase ein (KUTSCHERA 2002).

2.5 Arbeitshypothese

Aus der Literatur lassen sich folgende Fragestellungen ableiten:

- » Verursachen die Faktoren signifikante Unterschiede?
- » Inwiefern beeinflusst Tannin die Keimung bzw. das Wachstum der Keimlinge?
- » Was bewirkt der Trockenstress, was das PEG selbst?
- » Entspricht die Keimungsgeschwindigkeit der S-Kurve von KUTSCHERA?
- » Wie wirken sich Licht- und Dunkelstrategie auf das Keimungsverhalten aus?

3. Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Varianten

Die ausgewählten Arten *Lotus corniculatus* und *L. Lolium perenne* L. sind dieselben eines Feldversuches des Institutes für organischen Landbau der Universität Gießen in Mischkultur auf der Versuchsstation Gladbacher Hof im Hochtaunus.

Die verwendete Hornklee-Sorte war „Oberhaunstaedter 2006“. Bei *Lolium perenne* L. handelte es sich um die Sorte Aberstar, Versuchssaatgut der Firma Saatzucht Steinach GmbH in 94377 Steinach. In einer weiteren Untersuchung hat MARLEY (2006) mehrere Sorten von *Lotus corniculatus* und *Lotus uliginosus* hinsichtlich ihrer Tanninkonzentrationen, der Etablierung im Feld und ihrer Produktivität über drei Jahre verglichen. Die *Lotus corniculatus*-Sorte Oberhaunstaedter hatte mit die höchste Pflanzenpopulation. Dazu produzierte sie im zweiten Ernte-Jahr den höchsten Trockenmasse-Ertrag aller untersuchten Sorten. Während die *Lotus corniculatus*-Sorten insgesamt Keimungsraten von 24% bis 92% aufwiesen, zeigte die Sorte Oberhaunstaedter durchschnittliche 72%.

Es wurden sechs Tannin-Konzentrationen gewählt, und zwar 0,0%, 0,1%, 0,5%, 1,0%, 5,0% und 10,0%. Die zuletzt genannte überschreitet sogar die Konzentrationen im Hornklee von 1-5% (SCHARENBERG und ARRIGO 2006). Dieses Extrem soll für eine breitere Aussagekraft untersucht werden.

Verwendet wurde Tannin des Herstellers J.T. Baker (Baker Analyzed Reagent, Art. Nr. 1199).

Als dritter Faktor tritt der Trockenstress ein. Polyethylenglykol 6000 (PEG) ist eine osmotisch wirksame Substanz mit einer Molekularmasse von 6000. Durch die Veränderung der Wasserspannung wurde Trockenstress simuliert. Die Wasserspannungen wurden dreifach variiert. Die Kontrolle enthielt nur deionisiertes Wasser (=PEG1, $c = 0 \text{ g/l}$). die gewählten Konzentrationen für die anderen zwei Varianten betragen 67 g l^{-1} PEG mit -1000 hPa (=PEG2), die einem pF-Wert von 3,0 entspricht, und 161 g l^{-1} mit -4000 hPa (=PEG3). -4000 hPa entsprechen einem pF-Wert von 3,6, welches nah am permanenten Welkepunkt von $\text{pF}=3.7$ liegt. Der Ansatz erfolgte nach MICHEL und KAUFMANN (1973).

Eine letzte Variation war die Trennung in Licht- und Dunkelvarianten (s. Tabelle 1).

Tab. 2: Versuchsplan, Varianten angelegt als Blockanlage mit vier Wiederholungen

Faktoren	Stufen
1 Art	1.1 <i>Lolium perenne</i> L. 1.2 <i>Lotus corniculatus</i> L.
2 Tanninkonzentration (Massenanteil in Aquadest.)	2.1 0,0% 2.2 0,1% 2.3 0,5% 2.4 1,0% 2.5 5,0% 2.6 10,0%
3 Wasserspannung	3.1 0 hPa, H ₂ O deionisiert (=PEG1) 3.2 -1000 hPa (=PEG2), pF = 3,0 3.3 -4000 hPa (=PEG3), pF = 3,6
4 Licht *	4.1 Licht 4.2 Dunkel

*(16 h Tag/8 h Nacht)

Die Lichtvarianten bekamen 16 h Licht pro Tag, also Langtagbedingungen und die Dunkelvarianten bekamen kein Licht, als wären die Samen bedeckt.

3.1.2. Versuchsaufbau

Es kamen je Variante 20 Samen einer Art in eine Petrischale (mit 9 cm Durchmesser) auf einen eingelegten Rundfilter. Jeder Filter wurde mit 2 ml Lösung getränkt, die bereits Tannin und PEG in entsprechender Konzentration enthielten. Von jeder Variante gab es vier Wiederholungen, die in Blöcken angeordnet waren und innerhalb der Blöcke randomisiert wurden, so dass die Bedingungen möglichst ausgeglichen waren.

Die Proben umfassten 288 Gefäße á 20 Samen. Kleine Kisten, vier mit Glasdeckel für die Lichteinstrahlung und zwei mit Holzdeckel zur Lichtabschirmung, dienten als Blöcke. Folglich befanden sich in jeder Licht-Kiste alle Varianten mit dem Faktor Licht mit je einer Keimschale, also 36 Stück. In jeder Dunkelkiste waren alle Varianten mit dem Faktor Dunkel in zweifacher Wiederholung vorhanden, somit insgesamt 72 Schalen. Die Anordnung der Varianten innerhalb eines Blocks war zufällig und wurde bei jedem Zähltermin geändert.

Die sechs Keimschalenkisten lagerten in einem Klimaschrank im Labor der Versuchsstation Gladbacher Hof. Der Schrank wurde auf 16 Lichtstunden pro Tag und einer Wechseltemperatur von 20°C am Tag und 10°C in der Nacht eingestellt. Die Temperatur wurde mit einem innen liegenden Thermometer ständig kontrolliert. Die Beleuchtung bestand aus zwei kreisförmigen Neonröhren, die in gleichem Abstand zu den jeweiligen Kisten angebracht waren. Der Standort der Kisten der Lichtvarianten rotierte im Schrank nach jeder Zählung. Gezählt und gemessen wurde am 2. Tag, am 4. Tag, am 6. Tag, am 10. Tag, am 14. Tag, und am 28. Tag nach Versuchsbeginn (Tag 0). Tag 28 war gleichzeitig Versuchsende.

3.2 Methoden

3.2.1 Messen der Keimlingsgrößen

Bei jedem Zähltermin wurden die Keimschalen auf Veränderungen untersucht. Sobald ein Millimeter Keimwurzel, Keimspross oder beides zu messen war, wurden die Längen des entsprechenden Organs mittels Pinzette und einer digitalen Schieblehre vermessen und auf einen halben Millimeter genau vermerkt. Danach wurde der gemessene gekeimte Samen entfernt, damit keiner mehrfach gezählt werden konnte und im Nachhinein die Keimungsgeschwindigkeit berechnet werden kann. Die Dunkelvarianten wurden in einer Dunkelkammer nur unter Grünlicht untersucht.

3.2.2 Statistische Auswertung

Um statistische Werte für die Signifikanz von Faktorwirkungen zu bekommen, wurde eine Varianzanalyse durchgeführt. Die Bedingungen für die mehrfaktorielle Varianzanalyse, mehr als zwei Mittelwerte, hohe Probenanzahl und mehr als zwei Faktoren, waren gegeben. Während für die Grafiken die Resultate direkt verwendet

werden konnten, mussten sie für die Varianzanalyse transformiert werden. Die Transformation war eine Sinus/Cosinus-Transformation, die in Microsoft Office Excel 2007 umgesetzt wurde, vgl. Anhangtab. 8.

~

Formel: $x = \arcsin(\sqrt{Y*0.01} * 180/\pi)$

Damit wurde die reale Funktion in eine normale Funktion umgerechnet.

Die transformierten Werte wurden als Spaltanlage in dem Statistikprogramm SPSS for Windows mit der multifaktoriellen Varianzanalyse verrechnet (s. Anhangtab. 1-4).

Als abhängige Variable wurden sowohl die Anzahl gekeimter Samen der jeweiligen Zähltag, als auch die Gesamtzahl gekeimter Samen, die durchschnittliche Keimungsgeschwindigkeit, die durchschnittliche Wurzellänge sowie die durchschnittliche Sprosslänge verwendet.

4 Ergebnisse

4.1 Keimungsrate

In den Anhangtabellen 1-4 sind die Ergebnisse der Varianzanalyse aufgeführt. Die Signifikanz mit $\alpha = 5\%$ wird mit * gekennzeichnet, eine Signifikanz von $\alpha = 1\%$ wird mit ** dargestellt. Die Anhangtabelle 5 enthält die Werte des Versuches mit allen Mittelwerten der Wiederholungen. Anhangtabelle 9 enthält die für die Statistik transformierten Werte des Versuches in gleicher Form.

Beim Vergleich der MQ/F-Werte aus Anhangtabelle 1 zeigt sich, dass der größte Wert an allen Zählterminen außer an Tag 4 bei der Art liegt. Diesen Unterschied macht Abbildung 3 mit geringerer Farbintensität der entsprechenden Flächen deutlich und zeigt eine insgesamt geringere Keimungsrate von *Lotus corniculatus* im Vergleich zu *Lolium perenne*. Das bedeutet, die wichtigste Varianzursache ist die Art. Die Mittelwerte der Arten zeigen dies ersichtlich: Sie liegen bei *Lolium perenne* bei 84,1% gekeimte Samen und bei *Lotus corniculatus* bei 63,5%, vgl. Anhangtab. 5. Hierbei ist der größte Unterschied bei der Variante PEG3 in Abbildung 3 zu erkennen. In Zahlen ausgedrückt heißt das, dass *Lotus corniculatus* im Durchschnitt bei PEG3 in der Lichtvariante eine Keimungsrate zwischen 33,8% und 55,0% erzielte, im Gegensatz zu *Lolium perenne* mit durchschnittlich doppelt so starker Keimungsrate von 80,0% bis 96,3% für die gleiche Variante, vgl. Anhangtab. 5. Anhangtabelle 1 bestätigt dies, denn die zweitgrößte Signifikanz ist die Interaktion Art * PEG, wiederum an allen Tagen außer an Tag 4. An Tag 4 ist diese Interaktion zumindest die drittwichtigste Varianzursache. Der Faktor PEG selbst ist aber nach der vierten Woche nicht mehr signifikant.

Bei Betrachtung des Gesamtergebnisses in Spalte „Tag 28“ der Anhangtabelle 1, ist der Faktor Tannin Ursache für die drittgrößte Varianz. Auch bei diesem Faktor treten Unterschiede in der Abhängigkeit von der Art auf (Art * Tannin). In Abbildung 2 wird bei beiden Arten die Keimungsrate zu den höheren Tanninkonzentrationen hin geringer, jedoch in unterschiedlicher Intensität und abhängig von den Varianten PEG und Lichtstrategie. Die daraus folgenden Interaktionen zwischen Licht-Strategie und PEG sowie zwischen Tannin und PEG sind hochsignifikant. Beim Vergleich der Varianten Licht und Dunkel in Anhangtab. 5 unterscheidet sich der Mittelwert nur um 0,1%, aber die PEG-Varianten 2 und 3 wirkten sich entgegengesetzt aus.

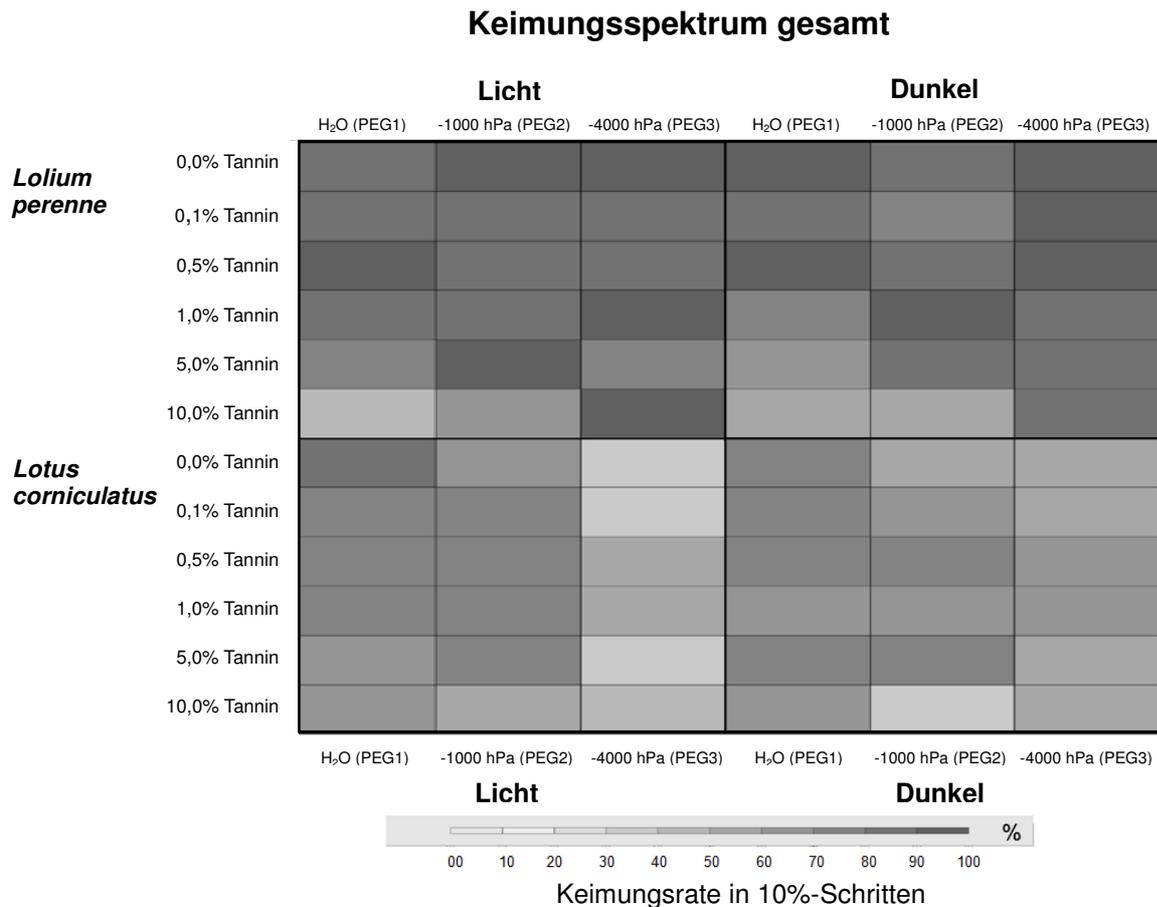


Abb. 3.: Spektrum der Keimungsraten für alle Varianten bis zum Versuchsende nach 28 Tagen

Bei Betrachtung der insgesamt gekeimten Samen in Anhangtabelle 2 wird die Art als wichtigster Faktor für Signifikanz mit einem sehr hohen Wert im MQ/F-Test bestätigt. Mit großem Abstand folgt erneut die Interaktion zwischen Art und PEG. Für die Anzahl gekeimter Samen des gesamten Versuches wird Tannin hochsignifikant als drittgrößte Varianzursache ausgegeben.

4.2 Keimungsgeschwindigkeit

Um die unterschiedlichen Ergebnisse im Laufe des Versuches genauer betrachten zu können, wurde die Keimungsgeschwindigkeit in gleicher Weise statistisch ausgewertet (vgl. Kapitel 3.2.2 und Anhangtab. 3). Die Keimgeschwindigkeit ist die Anzahl gekeimter Samen (Keimrate) in einer bestimmten Zeit, in diesem Fall in Tagen. Dazu gehören die folgenden Abbildungen 4a und 4b mit je zwei Grafiken, die sich in Art und Lichtvariante unterscheiden. Die Keimzahlen der Varianten mit der niedrigsten Tanninkonzentration von 0%, einer mittleren von 1% und der höchsten Konzentration von 10% in allen PEG-Stufen werden im Verlauf des Versuches dargestellt.

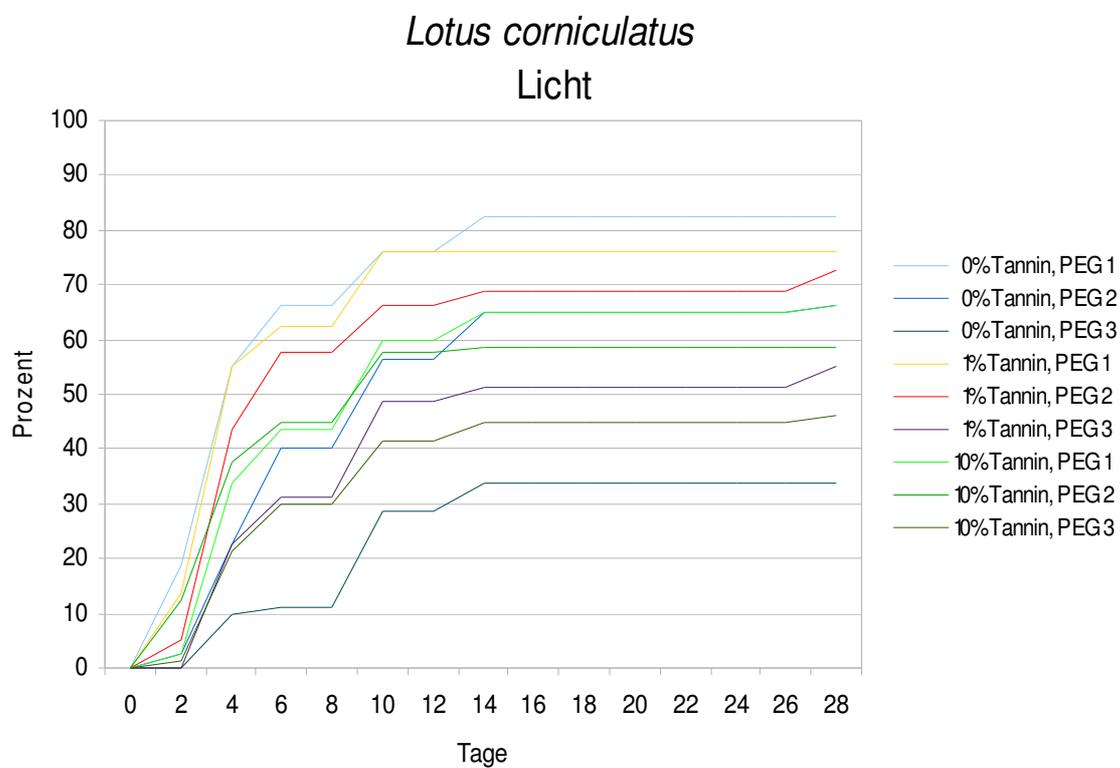
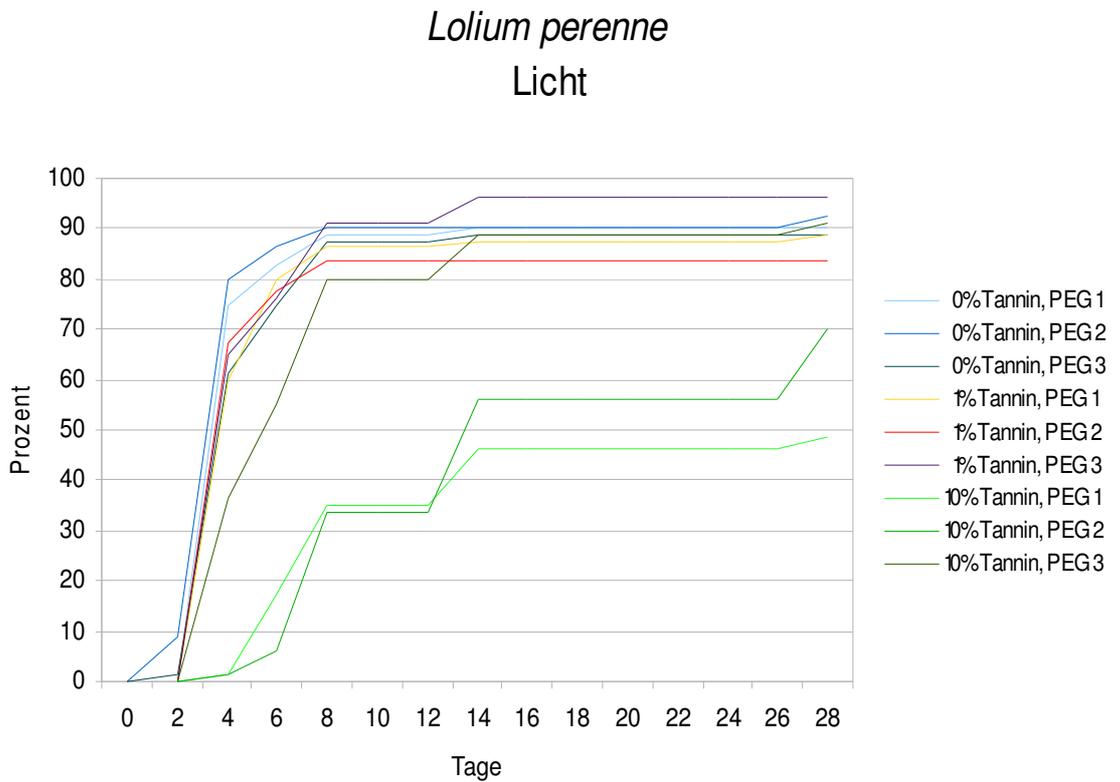


Abb. 4a: Keimungsgeschwindigkeit von *Lolium perenne* und *Lotus corniculatus* bei **Licht**.

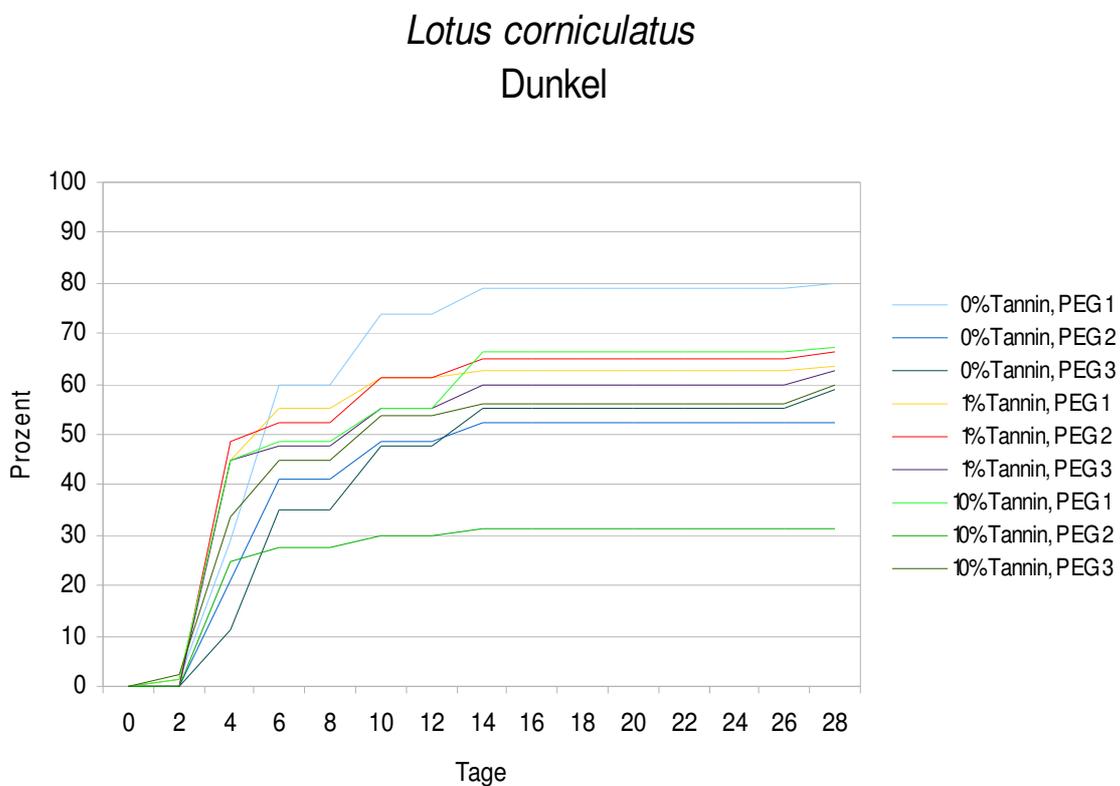
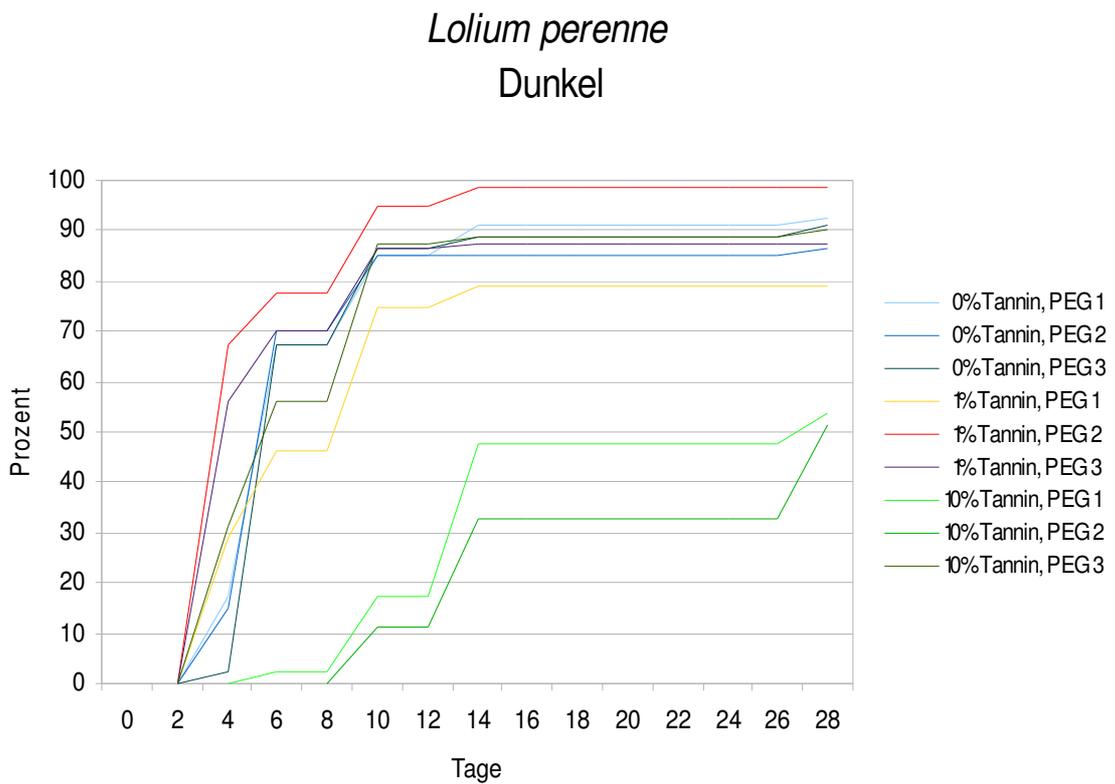


Abb. 4b: Keimungsgeschwindigkeit von *Lolium perenne* und *Lotus corniculatus* in **Dunkelheit**.

In der Signifikanztabelle der Keimungsgeschwindigkeit erhält die Interaktion Art * Tannin den größten MQ/F-Wert von 74,4 und ist damit hochsignifikant. Weiterhin besteht eine hochsignifikante Interaktion zwischen Art und PEG. Drittgrößte Varianzursache in Bezug auf die Keimungsgeschwindigkeit ist der Faktor Tannin. Die Interaktion Art * Licht hat ebenfalls einen Anteil an der Varianz.

In Abbildung 3 stellt sich die Wechselwirkung Art * Tannin als stärkste Verzögerung der Keimung sogar von mehreren Tagen bei der Art *Lolium perenne* und einer Tanninkonzentration von 10% dar (grün im Bild). In Anhangtabelle 6 wird diese durch die realen Mittelwerte der Tanninkonzentrationen bestätigt. Hierbei ist eine deutliche Verzögerung von 2,5 Tagen auf 4,3 Tage bzw. 4,4 Tagen bei *Lolium perenne* abzulesen. Bei *Lotus corniculatus* haben wir die größte Keimungsverzögerung in der Kontrolle und einen Schwerpunkt auf der fünfprozentigen Tanninvariante, vgl. dazu Anhangtab. 6. Die Arten unterscheiden sich auch in der Aktivität unter verschieden ausgeprägtem Trockenstress (PEG). Während sich bei *Lolium perenne* auch unter starkem Trockenstress eine hohe Keimungsrate abzeichnet, ist *Lotus corniculatus* unter gleichen Bedingungen weniger aktiv. Die Varianten mit PEG3 weisen unter Lichtbedingungen die schlechtesten Werte auf (vgl. Abbildung 4a) und in Dunkelheit (vgl. Abbildung 4b) finden sich die PEG3-Varianten in der unteren Hälfte der Grafik als geringe Keimungsrate. Wichtiger als die Wechselwirkung Licht * PEG ist die Interaktion Art * PEG und darauf folgend der Faktor Licht selbst. Die realen Werte liegen bei der Dunkelstrategie mit einer durchschnittlichen Keimungsgeschwindigkeit von 3,2 Tagen mehr als einen halben Tag später als die Lichtvarianten (2,5 Tage), vgl. Anhangtab. 6. Faktor Art hat einen ähnlichen Anteil an der Varianz wie Faktor Licht. Außerdem sind die Interaktion Tannin * PEG und die multifaktorielle Aktion Art * Tannin * PEG hochsignifikant, siehe Anhangtab. 3.

4.3 Längenwachstum von Keimwurzel und -spross

Das Längenwachstum von Keimwurzel und Keimspross wurde von den Faktoren unterschiedlich beeinflusst. Der wichtigste signifikante Einfluss erfolgt durch die Art. Die Arten unterscheiden sich insgesamt durch eine Differenz beim Wurzelwachstum von 0,89 cm und beim Sprosswachstum von 3,12 cm jeweils zu Ungunsten von *Lotus corniculatus*. Während noch bei beiden Organen die wichtigste Varianzursache die Art ist, wirkt sich der Faktor Tannin beim Längenwachstum der Wurzel am zweitstärksten aus. Unterdessen nimmt diese Position der Signifikanz beim

Keim sprosslängenwachstum der Faktor Licht ein. Derselbe Faktor erscheint in der Signifikanzta be lle beim Wurzelwachstum erst nach Tannin und der Interaktion Art * Tannin. Beim Sprosswachstum treten stattdessen die Wechselwirkungen Art * Licht und Tannin * PEG in Aktion, vgl. Anhangtab. 4.

Es folgen die signifikanten Interaktionen und Faktoren beim Sprosswachstum in folgender Reihenfolge: Tannin * Licht, Tannin, Art * Tannin * Licht und als letztes Art * Tannin. Beim Wurzelwachstum h ingegen schließen sich auf die Varianzursache Licht erst die Interaktionen Tannin * PEG und Art * PEG, dann PEG selbst und als letzte hoch signifikante Ursache die Multiaktion Art * Tannin * PEG an, vgl. Anhangtab. 4. Beim Vergleich des Längenwachstums der beiden Keimlingsorgane fällt auf, dass im Gesamtbild die Wurzel in ihrem Wachstum hauptsächlich durch Tannin und das Sprosswachstum stärker durch die Lichtstrategie beeinflusst wurden.

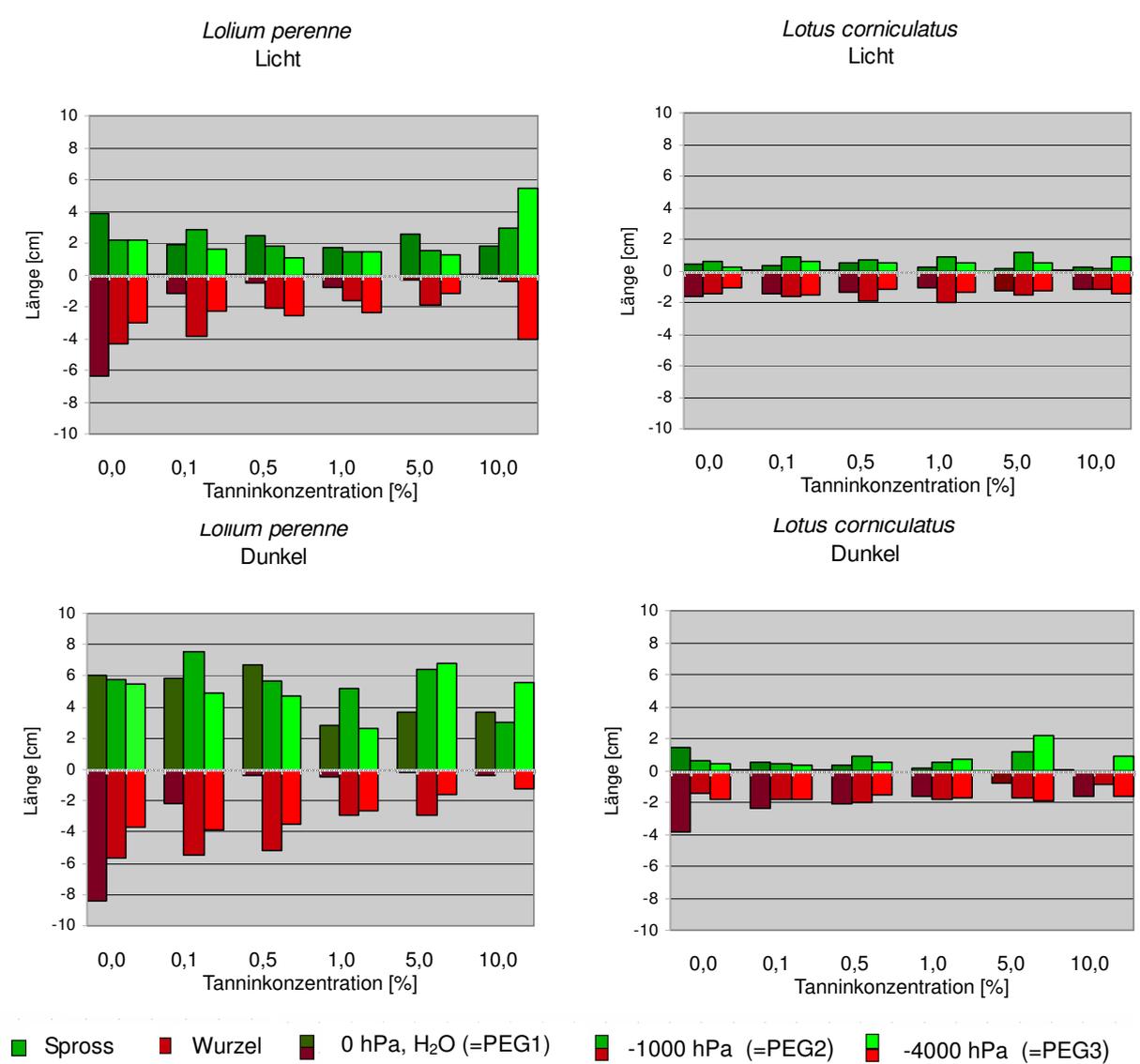


Abb. 5: Längenwachstum von Spross und Wurzel bei *Lolium perenne* und *Lotus corniculatus* am Versuchsende (Tag 28), unterteilt in Arten und Lichtstrategie

In Abbildung 5 sind die durchschnittlichen Gesamtlängen in Bezug zur Tanninkonzentration und unterschieden in die drei PEG-Stufen abgebildet. Die vier Grafiken unterscheiden sich in Art und Lichtstrategie. Sie verdeutlichen, dass sich die Tanninkonzentration mehr auf die Wurzeln auswirkt und die Lichtstrategie auf den Spross. Besonders bei *Lolium perenne* ist eine Stagnation des Wurzelwachstums mit Steigerung der Tanninkonzentration zu erkennen. Die durchschnittlichen Werte sinken von 5,24 cm auf 1,05 cm, vgl. Anhangtab. 7. Die Variante PEG3 macht allerdings eine Ausnahme und sinkt erst von 3,01 auf 1,20 cm und steigt dann bei einer Tanninkonzentration von 10,0% auf 4,02 cm Länge an, vgl. Anhangtab. 7. Bei *Lotus corniculatus* ist die Wirkung des Tannins nicht so deutlich, aber eine Stagnation ist zumindest in der PEG-Variante 1 ohne Trockenstress in Abbildung 4 erkennbar. In Anhangtab. 7 stellt sich diese Stagnation als sinkende Werte im Licht von 1,63 cm auf 1,15 cm, bzw. in Dunkelheit von 3,85 cm auf 0,81 cm mit Steigerung auf 1,59 cm in zehnpromzentiger Tanninlösung dar. Unter Licht ist in geringem Maße beim Wurzelwachstum die Förderung von 0,5 bis 1,0-prozentiger Tanninlösung und PEG2 festzustellen, die bereits bei der Keimungsrate auffiel, vgl. Abb. 3.

Die Abbildung 5 zeigt außerdem, dass ohne Trockenstress, aber mit mindestens 0,1-prozentiger Tanninlösung *Lolium perenne* im Verhältnis einen wesentlich längeren Spross als Wurzel bildet, während die anderen PEG-Stufen ein ausgeglicheneres Verhältnis haben. Bei den *Lotus-corniculatus*-Keimlingen hat sich das Verhältnis umgekehrt, so dass die Wurzeln länger als die Sprosse wurden. Dies zeigt sich aber nicht nur ohne Trockenstress, sondern auch mit diesem. Unabhängig von der Art und den Lichtverhältnissen ist bei einer Wasserspannung von -4000 hPa ebenfalls eine Stagnation im Wurzelwachstum mit der Tanninkonzentration feststellbar. Sie beginnt bei einer halben Länge im Vergleich zur Kontrolle, fällt dafür jedoch in geringerem Maße ab.

Die signifikante Wirkung von Licht auf das Wachstum des Keimsprosses zeigt bei *Lolium perenne* fast eine Verdoppelung der Länge bei Dunkelheit. Die Gesamtwerte der Lichtvariante ist mit 1,37 cm nur halb so groß wie die der Dunkelvarianten mit 2,87 cm - unabhängig von der Art -, vgl. Anhangtab. 8. In Abbildung 4 ist *Lotus corniculatus* auch in Bezug auf die signifikante Wirkung der Lichtstrategie wegen der insgesamt niedrigeren Werte nicht so klar aufgestellt wie *Lolium perenne*. Dafür

zeichnet sich bei *Lotus corniculatus* ein Unterschied zwischen Licht- und Dunkelvariante zwischen den PEG-Stufen ab. Während unter Lichtbedingungen die PEG2-Varianten am längsten wuchsen, stieg das Wachstum in Dunkelheit bei den PEG3-Varianten mit der Tanninkonzentration bis 5% Tannin auf über zwei Zentimeter an und erreicht bei zehnpromzentiger Tanninkonzentration noch fast einen Zentimeter, vgl. Abbildung 4 und Anhangtab. 8. Laut Anhangtab. 8 halten sich die PEG-Varianten beim Sprosswachstum unter Lichteinfluss die Waage zwischen 1,34 cm und 1,42 cm und variieren bei Dunkelheit von 2,60 cm (PEG1) über 3,09 cm (PEG2) auf 2,93 cm (PEG3).

4.4 Weitere Beobachtungen

Abgesehen von der Keimungsrate, Keimungsgeschwindigkeit und dem Längenwachstum von Wurzel und Spross der Keimlinge können noch morphologische Veränderungen der Wurzeln und über das Lösungsverhalten von Tannin beobachtet werden. Bereits ab dem vierten Zähltag kann man bei höheren Tanninkonzentration (mindestens 1,0%) Schimmelpilze beobachten; ab dem sechsten Tag auch bei niedrigeren Konzentrationen und verstärkt am 28. Tag in Dunkelheit, vgl. Abbildung 6. Die Pilzarten können auch mit Hilfe eines Mikroskops nicht sicher bestimmt werden. Zugleich sind wenige Samen von Bakterien befallen. Abgesehen davon wurden bei höchster Tanninkonzentration immer häufiger, zum Ende des Versuches hin, dunkelbraune, teilweise fast schwarze Wurzelspitzen und verfärbte Karyopsen bemerkt, als auch einzeln verdickte oder gekrümmte Wurzeln (Bsp. in Abbildung 7). Am 14. Versuchstag gab es Keimlinge, die scheinbar einen Spross, aber keine Wurzel ausgebildet haben oder welche die mehrere Wurzeln hatten, vgl. Abbildung 8. Alle Samen von *Lotus corniculatus* haben sichtbar die erste Phase der Keimung, die reversible Quellung, erreicht, denn im Vergleich zum trockenen Saatgut sind sie eindeutig aufgequollen, vgl. Abbildung 9. Sie haben es jedoch nicht über die Quellung hinaus geschafft, obwohl eigentlich nach zwölf Stunden Quellung bereits das Wachstum eingesetzt haben sollte (s. Kapitel 2.4). Die Filter der Varianten mit 10-prozentiger Tanninkonzentration waren frühzeitig trocken, wodurch das Tannin sein Trägermedium verlor.

Abb. 6: Verschiedene Pilzarten in der Variante *Lotus corniculatus* / 0,1% Tannin / 0 hPa / Dunkel, am Tag 28

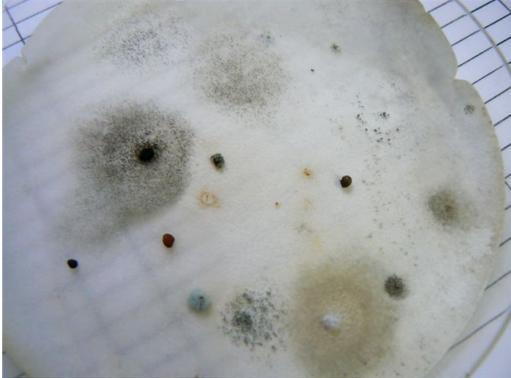


Abb. 7: Schwarz verfärbte Karyopse der Variante *Lolium perenne* / 5,0% Tannin / 0 hPa / Licht, am Tag 28



Abb. 8: Drei Wurzeln an einem Samen der Variante *Lolium perenne* / 10,0% Tannin / -4000 hPa / Licht, am Tag 28



Abb. 9: Saatgutvergleich bei *Lotus corniculatus*: links gequollene Samen; rechts trockenes Saatgut, am Tag 28



5 Diskussion

5.1 Einfluss der Art

Bei einem Versuch mit einer monokotylen und einer dikotylen Grünlandpflanze ist es nicht verwunderlich, dass die Ergebnisse sich zwischen den beiden Arten deutlich unterscheiden. Bereits innerhalb der Keimungsprozesse gibt es wichtige Unterschiede, die in diesem Versuch sicherlich zum Tragen kamen. Dazu gehört in erster Linie das *Lotus corniculatus* epigäisch keimt und *Lolium perenne* hypogäisch.

Sowohl hinsichtlich der Keimungsrate als auch bei der Länge von Wurzel und Spross des Keimlings verursacht die Art die größte Varianz. Ebenfalls in Hinblick auf die Keimungsgeschwindigkeit verursacht die Art die größte Signifikanz innerhalb von Interaktionen. Die Keimungsrate von *Lotus corniculatus* liegt im Durchschnitt mit 63,5% nach 28 Tagen niedrigerer als die Kontrolle mit 82,5% (Licht) bzw. 80,0% (Dunkel) und niedriger als die der Versuche von MARLEY (2006), vgl. Kapitel 2.1. Die durchschnittliche Keimungsrate von *Lolium perenne* mit 84,1% erreicht ebenfalls nicht die Werte der Kontrolle (Licht: 90,0%, Dunkel: 92,5%). Die Arten reagieren sowohl auf den Faktor Tannin als auch auf den Faktor PEG deutlich abweichend voneinander. Bemerkenswert ist allerdings, dass der Faktor Art am vierten Tag, dem Tag nach Aussaat, an dem nach KUTSCHERA (2002) unter normalen Bedingungen statistisch bereits 90,0% der Samen gekeimt wären, nicht signifikant ist.

5.2 Einfluss des Tannins

Betrachtet man das Keimungsspektrum (Abbildung 3) ist besonders bei *Lolium perenne* ohne Trockenstress eine deutliche Hemmung mit steigender Tanninkonzentration zu erkennen. Mit zunehmender Trockenheit, verursacht durch PEG 6000, wirkt sich das Tannin weniger stark aus. Die Werte bei 0,5% und 1,0% Tannin sind relativ gut, dafür dass *Lotus corniculatus* insgesamt weniger stark gekeimt ist. Abhängig vom Trockenstress sind die Werte höher als die mit niedrigeren Konzentrationen von 0,0% und 0,1%. Da die Keimzahl erst bei 10,0% Tannin oder -4000 hPa stark abnimmt, kann bei genügend verfügbarem Wasser von einer positiven Wirkung von mittleren Tanninkonzentrationen auf die Keimung von *Lotus corniculatus* gesprochen werden. *Lolium perenne* dagegen ist eindeutig keimungsstärker in niedrigen Tanninkonzentrationen und erreicht hauptsächlich bei

0,0%-Tannin-Varianten und Varianten mit einer Wasserspannung von -4000 hPa eine Keimfähigkeit von über 90,0%, vgl. Abbildung 3.

Auch in der Keimungsgeschwindigkeit (Abbildungen 4a und 4b) zeigt sich *Lolium perenne* bei hohen Tanninwerten deutlich gehemmt, kann aber noch einen großen Teil zwischen dem sechsten (Licht) bzw. dem achten (Dunkel) und dem 14. Tag aufholen. Bis zum letzten Zähltag sind sogar noch etliche 10,0%-Varianten bei PEG3 gekeimt. Bei *Lotus corniculatus* gab es solche Entwicklungen nicht. In diesem Fall hat sich in den ersten vier bis sechs Tagen alles entschieden.

Die Tendenz, dass sich Tannin ohne PEG hemmend auswirkt, findet sich in Abbildung 5 im Wurzelwachstum wieder. Dies zeigte sich bereits bei der Keimungsrate. In Dunkelheit wird das Wurzelwachstum von *Lolium perenne* in allen PEG-Stufen bei steigender Tanninkonzentration gehemmt. Dies gilt insofern für das Wurzelwachstum von *Lolium perenne* im Licht, als die Variante mit einer Tanninlösung von 10,0% und -4000 hPa eine Ausnahme bildet. Der Durchschnitt dieser Variante schafft sogar 4 cm Länge und damit mehr als bei 0,1-prozentiger Tanninlösung und PEG2. PEG1 und PEG2 reichen nicht aus um die Wirkung von Tannin zu unterdrücken. In beiden Lichtstrategien erreichen diese Varianten nur wenige Millimeter Wurzellänge. Die Ausnahme bei PEG3 ist anstatt auf Faktoreffekte auf die Komplexbildung von PEG mit Tannin zurückzuführen, wie sie bei MAKAR, BLÜMMEL und BECKER (1995) beschrieben ist, vgl. Kapitel 2.3 und 4.4.

Das Wurzelwachstum von *Lotus corniculatus* wird bei normaler Wasserversorgung auch durch Tannin gehemmt. Sinkt die Wasserversorgung kann man keine Hemmwirkung durch eine steigende Tanninkonzentration mehr feststellen.

Das Sprosswachstum wird vielmehr durch die Lichtbedingungen und die Wasserspannung bestimmt und weniger von Tannin. Sicherlich ist der Unterschied der Organe darauf zurückzuführen, dass die Wurzel das Tannin direkt über das Wasser aufnimmt, während der Spross nur einen äußeren Kontakt mit dem Gerbstoff hat. Das Tannin gelangt also nicht von der Wurzel zum Spross hin.

5.3 Einfluss des PEG

Obwohl *Lotus corniculatus* trockentolerant ist, zeigt es die niedrigste Keimungsrate in den Varianten mit PEG3, vgl. Kapitel 2.1 und 4.1. Unter Licht sind sogar weniger als 50% aller Samen bei -4000 hPa gekeimt.

Im Gegenteil dazu sind die Werte von *Lolium perenne* äußerst positiv bei Trockenstress. Ungeachtet dessen, dass *Lolium perenne* trockenheitsempfindlich (KÄSTNER et al. 2001) und ein Frischeanzeiger ist (LENUWEIT und GHARADJEDAGHI 2002), steigt die Keimungsrate mit steigender PEG-Konzentration und trotz hoher Tanninwerte an. Da es in der Kontrolle (ohne PEG) eine gleichmäßige Abnahme der Keimungsrate bei steigender Tanninkonzentration in beiden Lichtstrategien aufweist, muss die geringere Hemmwirkung von Tannin bei höherem Trockenstress mit einer Reaktion von PEG auf das gelöste Tannin zusammenhängen. SCHARENBERG UND ARRIGO (2006) zufolge geht die Zugabe von PEG tatsächlich mit einer Neutralisierung der Tannine durch die bessere Bindungskraft von PEG in Relation zu Proteinen einher, vgl. Kapitel 2.3 und 5.2. Diese Beobachtung bezieht sich zwar auf Aspekte der Tierernährung, vorstellbar ist dennoch ein Einfluss auch auf die keimungshemmende Wirkung von Tannin. Dies wäre der Fall, wenn die Hemmung ebenfalls durch Proteinbindung entsteht. Dies ist aufgrund der Eigenschaften des Tanninmoleküls anzunehmen. Das heißt, dass die Keimfähigkeit von *Lolium perenne* durch Tannin gehemmt wird, soweit es nicht von PEG selbst gehemmt wird.

Lotus corniculatus hingegen wird von Tannin und PEG in additiver Weise gehemmt. Dabei hat das PEG den größeren Effekt, vgl. Abbildung 3, denn das Tannin wirkt bei mittleren Konzentrationsstufen fördernd, denn die Keimungsrate ist in den Varianten mit 0,5% und 1,0% Tannin sehr stabil und jede zweite ist höher als die Varianten mit 0,0% und 0,1% Tannin, vgl. Abbildung 3 und Anhangtab. 5. Die schlechtesten Keimungsraten entstanden bei -4000 hPa und 0,0%, 0,1% und 5,0% Tannin unter Licht sowie bei -1000 hPa und 10% Tannin im Dunkeln, obwohl diese Art trockentolerant ist, vgl. Abbildung 3 und Kapitel 2.1. Dies begründet sich aus der physiologischen Fähigkeit von *Lotus corniculatus*, die eigene Keimung bei Trockenheit auf einen Zeitpunkt zu verschieben, an dem die Umweltbedingungen vorteilhafter für die Pflanze sind.

Die Interaktion Art * PEG spielt also eine wichtige Rolle und ist dementsprechend als zweit wichtigste Varianzursache für die Keimungsrate angegeben, vgl. Anhangtab. 2. Es darf darüber nicht vergessen werden, dass bezüglich der Keimungsrate der Faktor PEG am Ende des Versuches nicht mehr signifikant ist. Das bedeutet, dass die Samen nach zwei bis vier Wochen in ihrer Keimfähigkeit nicht mehr von PEG beeinflusst werden und sich abhängig von der umgebenden Tanninkonzentration im Boden normal weiterentwickeln können. Deshalb ist Abbildung 3 für die Interpretation

von PEG-Effekten auf die Keimungsrate nur bedingt geeignet. Daher folgt ein genauerer Blick auf die Keimungsgeschwindigkeit, dargestellt in den Abbildungen 4a und 4b.

Ebenfalls an zweiter Stelle finden wir die Interaktion Art * PEG in der Signifikanztabelle der Keimungsgeschwindigkeit (Anhangtab. 3). Dies äußert sich zumindest bei *Lotus corniculatus* in den langsamsten Keimungsprozessen unter den Varianten mit PEG3, siehe Abbildungen 4a und 4b. Diese Verlangsamung in den ersten vier Tagen entscheidet aber bereits über die Keimungsrate dieser Art am Ende des Versuches nach 28 Tagen. Die Keimungsgeschwindigkeit von *Lolium perenne* ist dagegen unter Trockenstress-Bedingungen abhängig von der Tanninkonzentration mittelmäßig. Es sind aber zugleich die Varianten, die am stärksten aufholen und teilweise sogar die ersten zwei PEG-Stufen der jeweiligen Tanninkonzentration überholen. Die Ursache für diesen Effekt könnte wiederum die Bindung des Tannins durch PEG sein, so dass die hemmende Wirkung des Tannins fehlt oder nicht mehr ausreicht, um die Samen an der Keimung zu hindern, vgl. Kapitel 4.3 und 4.4.

Was das Sprosswachstum betrifft, verursacht der Faktor PEG nur in Interaktion mit dem Faktor Tannin signifikante Effekte, s. Anhangtab. 4. Beim Wurzelwachstum jedoch interagiert es mehrfach mit den Faktoren Tannin und Art, vgl. Kapitel 4.3 und Anhangtab. 4.

5.4 Einfluss des Lichtes

In Bezug auf die Keimungsrate kann festgestellt werden, dass Dunkelheit nicht hemmend wirkt, da kaum ein Unterschied zwischen den Lichtstrategien besteht, obwohl es sich bei beiden Arten um lichtgeförderte Keimer handelt. Auch wenn man die einzelnen Faktorkombinationen des Keimungsspektrums betrachtet, sind nur sehr geringfügige Unterschiede zwischen der Licht- und der Dunkelvariante vorhanden.

Die Lichtstrategie hat zwar insgesamt keinen so großen Einfluss im Vergleich zu den anderen Faktoren, wirkt sich aber insbesondere auf die Keimungsgeschwindigkeit und auf das Sprosslängenwachstum aus. Die Dunkel-Varianten brauchten im Durchschnitt einen halben Tag länger als die Lichtvarianten, aber sowohl die höchste als auch die geringste Keimfähigkeit wurde im Dunkeln erbracht, vgl. Abbildung 4a mit 4b. Die Wurzeln von *Lolium perenne* wuchsen bei Licht fast doppelt so schnell

wie bei Dunkelheit. Dagegen wuchs der Spross in Dunkelheit deutlich mehr als unter 16 h Licht am Tag. Dass der Spross im Dunkeln mehr wächst, ist leicht dadurch zu erklären, dass er natürlicherweise zum Licht hin wächst, wodurch ein stärkeres Längenwachstum hervorgerufen wird. Stattdessen muss er unter Lichtbedingungen nicht mehr zusätzlich wachsen, um Lichtenergie zu bekommen, sondern kann den Spross normal ausbilden. Dagegen wird das Wurzelwachstum durch die Lichtimpulse angeregt, um sich bei entsprechender Jahreszeit zu einer erwachsenen Pflanze entwickeln zu können.

5.5 Gesamtbetrachtung

Aufgrund dessen, dass *Lotus corniculatus* selbst nur wenige Prozent an Tannin enthält und das meiste davon in Blättern und Blüte enthalten ist, ist es fraglich, ob höhere Konzentrationen im Boden erreicht werden. Da aber nicht bekannt ist, inwiefern Tannin im Boden von Grünlandsystemen abgebaut wird oder ob es sich über längere Zeiträume akkumulieren kann, ist grundsätzlich eine keimhemmende Wirkung nicht auszuschließen. Wäre letzteres der Fall, könnte sich aus der Tatsache, dass die Keimung der Samen der tanninhaltigen Leguminose weniger durch Tannin beeinflusst wird als die des Grases, ein Konkurrenzvorteil für *Lotus corniculatus* ergeben. Zudem wurde eine Förderung von *Lotus corniculatus* durch geringe Tanninkonzentrationen festgestellt. Diese Vorteile wären allerdings nur zur Ansaat gegeben, denn es handelt sich jeweils um mehrjährige Arten. Zumindest ist die keimhemmende Wirkung des Tannins und des Trockenstresses nicht irreversibel, so dass *Lolium perenne* die verlorene Zeit aufholen kann oder zumindest keinen direkten Schaden erleidet.

Um diese Frage jedoch zweifelsfrei zu klären, wäre es nötig, weitere Untersuchungen durchzuführen, die sich mit dem Umsatz von Tannin im System Pflanze/Boden beschäftigen. Dazu wären Kenntnisse zu den Tanningehalten in der Wurzel und zu kritischen Ertragsanteilen der Leguminose im Mischbestand noch interessant.

In Anbetracht der Unterschiede zwischen den Arten wären möglicherweise auch Untersuchungen mit anderen Mischkulturpartnern von *Lotus corniculatus* aufschlussreich.

6 Zusammenfassung

Untersucht wurde der Einfluss von Tannin, Wasserspannung und Licht auf das Keimverhalten der Futterleguminose *Lotus corniculatus* und des Futtergrases *Lolium perenne*. In einem Keimversuch in einem Klimaschrank wurden Keimungsrate, Keimungsgeschwindigkeit und die Längen von Keimwurzel und Keimspross gemessen. Ziel war es herauszufinden, ob und inwiefern Tannin, welches in *Lotus corniculatus* mit 1-5% enthalten ist und wahrscheinlich von dieser Pflanze an den Boden abgegeben wird, eine Keimhemmung auf die Leguminose *Lotus corniculatus* selbst oder auf *Lolium perenne* hat. Zur Auswertung wurde die mehrfaktorielle Varianzanalyse herangezogen.

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Am signifikantesten war der Unterschied zwischen den Arten. Zweit größte Varianzursache war das Tannin, gefolgt von PEG und der Interaktion Art * PEG. Der Faktor Lichtstrategie war auch signifikant, erwirkte jedoch nur kleine Varianzen.
2. Höhere Tanninkonzentrationen verursachen stärkere Hemmung der Keimung. Tannin hemmt mit steigender Konzentration vermehrt das Wurzelwachstum, weniger die Sprosslänge von *Lolium perenne*. *Lotus corniculatus* erfährt bei geringerer Wasserspannung bei mittleren Konzentrationen von 0,5% und 1,0% eine Förderung durch das Tannin.
3. Tannin wird bei niedriger Wasserspannung von PEG 6000 als Komplex gebunden und damit inaktiviert. Der zunehmende Trockenstress senkt die Keimungsrate bei *Lotus corniculatus* erheblich, wirkt sich aber kaum auf die Keimfähigkeit von *Lolium perenne* aus. PEG 6000 beeinflusst in Wechselwirkungen mit der Art, der Tanninkonzentration und dem Faktor Licht das Längenwachstum mit, insbesondere das der Keimwurzel.
4. Während sich bei *Lotus corniculatus* alles in den ersten vier bis sechs Tagen entschied, holte *Lolium perenne* mit den Varianten 10% Tanninlösung auch später noch auf.

5. Die Dunkelheit verursacht ein stärkeres Längenwachstum des Sprosses. Die Dunkelvarianten brauchen im Durchschnitt einen halben Tag länger zur Keimung als die Lichtvarianten.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. ADAM R. P.: Birdsfoot Trefoil, Birdfoot Deervetch, Bloomfell, Cat's Clover, Crowtoes (*Lotus corniculatus*).
<http://www.adampaul.com/gallery/Wildflowers/Pea/Birdsfood%20Trefoil/index.html>, 22.4.08.
2. FALLERT-MÜLLER, A., 2000: Lexikon der Biochemie. 1. Auflage, Sonderausgabe von 2005, Elsevier GmbH, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, S. 335ff, 375 und 379, ISBN 3-8274-1580-2.
3. FAY M. F. and P. J. DALE, 1993: Condensed tannins in *Trifolium* species and their significance for taxonomy and plant breeding. *Genetic Resources and Crop evolution* 40: 7-13.
4. GEBREHIWOT L., P. R BEUSELINCK. and C. A. ROBERTS, 2002: Seasonal Variations in Condensed Tannin Concentration of Three *Lotus* species. *Agronomy Journal* 94, 1059-1065.
5. GRÜMMER G., 1955: Die gegenseitige Beeinflussung höherer Pflanzen - Allelopathie - Gottfried Fischer-Verlag, Jena.
6. HASLAM E., 2007: Vegetable tannins – Lessons of a phytochemical lifetime (Review). *Phytochemistry* 68: 2713.
7. HÄRING D. A., 2007: Determinants of tannin concentrations in forage plants. Agronomic potential of tanniferous forage plants. Dissertation, Basel
<http://e-collection.ethbib.ethz.ch/eserv/eth:29669/eth-29669-01.pdf>, 17.07.2008.
8. HEDQVIST, H. 2004: Metabolism of soluble proteins by rumen microorganism and the influence of condensed tannins on nitrogen solubility and degradation. doctoral thesis, Uppsala, ISSN 1401-6249, ISBN 91-576-6780-2.
9. HESS H-D. und A. SCHARENBERG, 2007: Tannine hätten Potential, diegrüne, 7/2007: 20-21, Posieux, Schweiz.
10. HEB D., 2008: Pflanzenphysiologie. 11. Auflage, Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, ISBN 978-3-8252-8393-3.
11. KÄSTNER A., E. J. JÄGER und R. SCHUBERT, 2001: Handbuch der Segetalpflanzen Mitteleuropas. Springer Verlag, Wien.
12. KNÖDLER C., 2001: Keimungsverhalten verbreiteter *Festuco-Brometea*- und *Molinietalia*-Arten. Dissertation, Universität Gießen.

13. KUTSCHERA, U., 2002: Prinzipien der Pflanzenphysiologie. 2. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, ISBN 3-8274-1121-1.
14. LENUWEIT U. und B. GHARADJEDAGHI, 2002: Biologische Basisdaten zu *Lolium perenne*, *Lolium multiflorum*, *Festuca pratensis* und *Trifolium repens*. <http://www.umweltdaten.de/publikationen/fpdf-l/2103.pdf> vom Umweltbundesamt 15.04.2008.
15. MAKKAR H. P. S., M. BLÜMMEL and K. BECKER, 1995: Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins, and their implication in gas production and true digestibility in vitro techniques. *British Journal of Nutrition* 73: 897.
16. MARLEY C.L., J. BARRETT, N. H. LAMPKIN, R. COOK and R. KEATING 2003: The effects of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) and chicory (*Cichorium intybus*) on parasite intensities and performance of lambs naturally-infected with helminth parasites. *Veterinary Parasitology*, 112, 147-155.
17. MARLEY C. L., R. FYCHAN and R. JONES, 2006: Yield, persistency and chemical composition of Lotus species and varieties (birdsfoot trefoil and greater birdsfoot trefoil) when harvested for silage in the UK. *Grass and Forage Science* 61: 134-145.
18. MARSHALL A., D. BRYANT, G. LATYPOVA, B. HAUCK, P. OLYOTT, P. MORRIS and M. ROBBINS, 2008: A High-throughput Method for the Quantification of Proanthocyanidins in Forage Crops and its Application in Assessing Variation in Condensed Tannin Content in Breeding Programmes for Lotus *corniculatus* and Lotus *uliginosus*. *Journal of agricultural and food chemistry* 56: 974.
19. MICHEL B. E. and M. R. KAUFMANN, 1973: The Osmotic Potential of Polyethylene Glycol 6000. *Plant Physiology* 51: 914.
20. OBERDORFER, E., 1993: Süddeutsche Pflanzengesellschaften, Teil III: Wirtschaftswiesen und Unkrautgesellschaften. 3. Auflage. Gustav Fischer Verlag Jena.
21. REED J. D, 1995: Nutritional Toxicology of Tannins and Related polyphenols in Forage Legumes. Department of Meat and Animal Science, University of Wisconsin-Madison, *Journal of animal science*; 73: 1516.
22. SCHARENBERG A. und Y. ARRIGO, 2006: Tanninhaltige Pflanzen in der Wiederkäuerfütterung, Vortrag vom 29.09.2006 auf der ALP-Tagung in Posieux, Schweiz www.db-alp.admin.ch/de/publikationen/docs/vortrag_2006_09_29_98.pdf 17.06.2008.
23. SCHOPFER P. und A. BRENNICKE, 2006: Pflanzenphysiologie. 6. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag,

ISBN 3-8274-1561-6.

24. SILANIKOVE N., D. SHINDER, N. GILBOA, M. EYAL, and Z. NITSAN, 1996: Binding of Poly(ethylene glycol) to Samples of Farage Plants as an Assay of Tannins and their Negative Effects on Ruminal Degradation. *Journal of agricultural and food chemistry* 44: 3230.
25. STEEN C.
<http://www.uni-duesseldorf.de/MathNat/Biologie/Didaktik/Holz/dateien/tannin.html> 3.6.2008.
26. WAGHORN G. C., 1994: Effects of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on its nutritive value for sheep. 2 nitrogenous aspects. *The journal of agricultural science* 123: 109.
27. WEN L., C. A. ROBERTS, J. E. WILLIAMS, R. L. KALLENBACH, P. R. BEUSELINCK, and R. L. MCGRAW, 2003: Condensed Tannin Concentration of Rhizomatous and Nonrhizomatous Birdsfoot Trefoil in Grazed Mixtures and Monocultures. *Crop Science* 43: 302-306.
28. WHITTAKER R. H., 1970: The Biochemical Ecology of Higher Plants. (In *Chemical Ecology*. by Ernest Sondheimer; John B. Simeone).
29. ZIRON C., 2000: Zum Keimverhalten ausgewählter *Planaginetes majoris*- und *Molinio-Arrhenatheretes*-Arten. Dissertation, Universität Gießen

8. ANHANG

Anhangtab. 1: Varianztabelle für die Keimungsraten von Tag 2-28

Anhangtab. 2: Varianztabelle für Keimungsrate

Anhangtab. 3: Varianztabelle für Keimungsgeschwindigkeit

Anhangtab. 4: Varianztabelle für Längenwachstum von Wurzel und Spross

Anhangtab. 5: Keimungsrate mit Mittelwerten [%]

Anhangtab. 6: Wertetabelle transformierter Daten

Anhangtab. 7: Keimungsgeschwindigkeit mit Mittelwerten [Tagen]

Anhangtab. 8: Wurzellänge mit Mittelwerten [cm]

Anhangtab. 9: Sprosslänge mit Mittelwerten [cm]

Anhangtab. 1: Varianztabelle für die Keimungsraten von Tag 2-28

Varianzursache	FG	Tag 2	Tag 4	Tag 6	Tag 10	Tag 14	Tag 28
Art	1	359,73**	296,33	4224,213**	14221,275**	16906,304**	18692,383**
Tannin	5	9,61	2624,996**	2966,973**	2288,539**	1443,06**	1113,046**
Licht	1	342,516**	7739,078**	764,601**	105,838	5,147	0,327
PEG	2	89,703**	1552,056**	935,036**	280,098*	275,837*	202,593
Art * Tannin	5	7,93	1940,54**	1932,927**	1028,236**	449,744**	267,698**
Art * Licht	1	105,814**	8962,109**	2573,4**	169,855	66,994	44,324
Tannin * Licht	5	5,48	1540,328**	18,135	86,818	57,017	43,746
Art * Tannin * Licht	5	4,5	546,45**	61,763	74,473	91,172	63,902
Art * PEG	2	54,398**	3742,083**	3667,923**	3176,18**	2696,456**	2527,642**
Tannin * PEG	10	12,502*	809,827**	1090,414**	802,866**	567,505**	473,115**
Art * Tannin * PEG	10	15,75**	278,719	362,874**	227,407**	132,739	144,011*
Licht * PEG	2	79,359**	886,458**	1263,818**	661,543**	524,253**	610,612**
Art * Licht * PEG	2	46,13**	178,059	407,39*	67,361	140,387	171,010
Tannin * Licht * PEG	10	8,42	184,554	110,66	103,893	142,498*	146,162*
Art * Tannin * Licht * PEG	10	14,841**	156,987	68,698	71,373	71,073	66,708
Fehler	216						

Anhangtab. 2: Varianztabelle für die Keimungsrate

Varianzursache	FG	MQ/F-Test
Art	1	1254,170**
Tannin	5	85,695**
Licht	1	0,170
PEG	2	34,628**
Art * Tannin	5	14,345*
Art * Licht	1	5,837
Tannin * Licht	5	4,712
Art * Tannin * Licht	5	4,678
Art * PEG	2	230,003**
Tannin * PEG	10	39,537**
Art * Tannin * PEG	10	10,053*
Licht * PEG	2	51,503**
Art * Licht * PEG	2	22,295*
Tannin * Licht * PEG	10	9,320*
Art * Tannin * Licht * PEG	10	2,887
Fehler	216	

Anhangtab. 3: Varianztabelle für die Keimungsgeschwindigkeit

Varianzursache	FG	MQ/F-Test
Art	1	24,975**
Tannin	5	55,421**
Licht	1	27,280**
PEG	2	15,263**
Art * Tannin	5	74,410**
Art * Licht	1	50,346**
Tannin * Licht	5	2,126
Art * Tannin * Licht	5	2,266
Art * PEG	2	62,967**
Tannin * PEG	10	19,740**
Art * Tannin * PEG	10	19,474**
Licht * PEG	2	20,392**
Art * Licht * PEG	2	0,751
Tannin * Licht * PEG	10	2,549
Art * Tannin * Licht * PEG	10	3,203
Fehler	215	

Anhangtab. 4: Varianztabelle für das Längenwachstum von Wurzel und Spross

Varianzursache	FG	Wurzel	Spross
Art	1	56,434**	698,923**
Tannin	5	35,992**	5,046**
Licht	1	20,069**	163,454**
PEG	2	8,698**	1,917
Art * Tannin	5	21,824**	4,339**
Art * Licht	1	1,203	141,722**
Tannin * Licht	5	4,127**	6,375**
Art * Tannin * Licht	5	1,651	4,762**
Art * PEG	2	11,823**	0,819
Tannin * PEG	10	12,985**	6,684**
Art * Tannin * PEG	10	5,636**	2,541*
Licht * PEG	2	0,831	1,172
Art * Licht * PEG	2	5,256*	2,890
Tannin * Licht * PEG	10	1,522	2,315
Art * Tannin * Licht * PEG	10	0,857	1,498
Fehler	216		

Anhangtabelle 5: Keimungsrate am Ende des Versuches mit Mittelwerten [%]

	Tanningehalt	Licht			Dunkel			Mittelwerte Tanningehalt	Mittelwerte der Arten
		PEG1	PEG2	PEG3	PEG1	PEG2	PEG3		
<i>Lolium perenne</i>	0,00%	90,00	92,50	92,70	92,50	86,25	91,25	90,87	84,10
	0,10%	88,75	88,75	87,50	89,96	71,20	92,50	86,44	
	0,50%	91,25	88,75	85,00	92,50	90,00	95,00	90,42	
	1,00%	88,75	83,75	96,25	78,75	98,75	87,50	88,96	
	5,00%	73,75	93,75	80,00	62,50	90,00	82,50	80,42	
	10,00%	48,75	70,00	91,25	53,75	51,25	90,00	67,50	
<i>Lotus corniculatus</i>	0,00%	82,50	66,25	33,75	80,00	52,50	58,75	62,29	63,45
	0,10%	78,75	73,75	36,25	73,75	68,75	53,75	64,17	
	0,50%	75,00	75,00	55,00	76,25	71,86	63,75	69,48	
	1,00%	76,25	72,50	55,00	62,50	68,65	62,50	66,23	
	5,00%	62,50	72,50	40,00	75,00	73,75	57,50	63,54	
	10,00%	66,25	58,75	46,25	67,50	31,25	60,00	55,00	
Mittelwerte der PEG-Stufen		76,88	78,02	66,58	75,41	71,18	74,58		
Mittelwerte der Lichtstrategien		73,83			73,73				

Anhangtabelle 6: Keimgeschwindigkeit mit Mittelwerten [Tagen]

	Tanningehalt	Licht			Dunkel			Mittelwerte Tanningehalt	Mittelwerte der Arten
		PEG1	PEG2	PEG3	PEG1	PEG2	PEG3		
<i>Lolium perenne</i>	0,00%	1,25	0,75	2,50	3,50	3,00	3,75	2,46	3,60
	0,10%	0,25	4,00	3,00	5,75	2,75	4,25	3,33	
	0,50%	0,75	3,50	4,25	7,00	3,25	6,50	4,21	
	1,00%	1,25	1,25	3,00	5,75	3,25	3,25	2,96	
	5,00%	6,25	0,75	2,75	7,50	2,75	6,50	4,42	
	10,00%	3,50	5,50	5,00	3,00	2,25	6,25	4,25	
<i>Lotus corniculatus</i>	0,00%	2,00	3,25	3,50	2,75	1,50	2,50	2,58	2,09
	0,10%	1,25	1,00	3,00	1,75	2,00	2,50	1,92	
	0,50%	1,25	1,25	2,00	1,50	1,25	2,75	1,67	
	1,00%	2,75	1,75	3,50	1,25	1,75	1,50	2,08	
	5,00%	2,25	2,25	2,75	1,50	3,75	1,75	2,38	
	10,00%	3,25	2,50	2,25	1,25	0,50	1,75	1,92	
Mittelwerte der PEG-Stufen		2,17	2,31	3,13	3,54	2,33	3,60		
Mittelwerte der Lichtstrategien		2,53			3,16				

Anhangtabelle 7: Wurzellänge mit Mittelwerten [cm]

	Tanningehalt	Licht			Dunkel			Mittelwerte Tanningehalt	Mittelwerte der Arten
		PEG1	PEG2	PEG3	PEG1	PEG2	PEG3		
<i>Lolium perenne</i>	0,00%	6,36	4,34	3,01	8,38	5,67	3,68	5,24	2,50
	0,10%	1,15	3,90	2,29	2,19	5,46	3,84	3,14	
	0,50%	0,53	2,05	2,65	0,42	5,19	3,54	2,40	
	1,00%	0,76	1,63	2,33	0,49	2,97	2,64	1,80	
	5,00%	0,32	1,95	1,20	0,19	2,97	1,60	1,37	
	10,00%	0,23	0,40	4,02	0,37	0,06	1,20	1,05	
<i>Lotus corniculatus</i>	0,00%	1,63	1,47	1,04	3,85	1,45	1,77	1,87	1,61
	0,10%	1,47	1,62	1,55	2,39	1,81	1,84	1,78	
	0,50%	1,38	1,92	1,17	2,11	2,04	1,57	1,70	
	1,00%	1,04	2,00	1,35	1,60	1,85	1,73	1,60	
	5,00%	1,26	1,52	1,24	0,81	1,73	1,94	1,42	
	10,00%	1,15	1,19	1,43	1,59	0,84	1,65	1,31	
Mittelwerte der PEG-Stufen		1,44	2,00	1,94	2,03	2,67	2,25		
Mittelwerte der Lichtstrategien		1,79			2,32				

Anhangtabelle 8: Sprosslänge mit Mittelwerten [cm]

	Tanningehalt	Licht			Dunkel			Mittelwerte Tanningehalt	Mittelwerte der Arten
		PEG1	PEG2	PEG3	PEG1	PEG2	PEG3		
<i>Lolium perenne</i>	0,00%	3,90	2,18	2,22	6,06	5,72	5,46	4,26	3,68
	0,10%	1,89	2,86	1,60	5,84	7,51	4,86	4,09	
	0,50%	2,50	1,79	1,05	6,71	5,69	4,75	3,75	
	1,00%	1,74	1,42	1,41	2,84	5,21	2,61	2,54	
	5,00%	2,53	1,50	1,24	3,71	6,38	6,83	3,70	
	10,00%	1,78	2,94	5,45	3,63	3,02	5,56	3,73	
<i>Lotus corniculatus</i>	0,00%	0,39	0,62	0,22	1,40	0,63	0,37	0,61	0,56
	0,10%	0,31	0,84	0,57	0,51	0,41	0,36	0,50	
	0,50%	0,55	0,70	0,52	0,37	0,84	0,55	0,59	
	1,00%	0,23	0,89	0,47	0,14	0,48	0,74	0,49	
	5,00%	0,10	1,12	0,47	0,00	1,19	2,16	0,84	
	10,00%	0,20	0,12	0,85	0,00	0,00	0,89	0,34	
Mittelwerte der PEG-Stufen		1,34	1,42	1,34	2,60	3,09	2,93		
Mittelwerte der Lichtstrategien		1,37			2,87				

Anhangtabelle 9: Wertetabelle transformierte Daten

	Tanningehalt	Licht			Dunkel		
		PEG1	PEG2	PEG3	PEG1	PEG2	PEG3
<i>Lolium perenne</i>	0,00%	72,15	76,17	73,05	74,32	68,44	75,52
	0,10%	73,57	71,43	69,53	70,48	65,32	79,27
	0,50%	87,89	73,28	68,02	78,75	72,29	78,93
	1,00%	70,91	66,64	82,16	62,66	85,39	72,63
	5,00%	60,43	77,55	64,79	52,51	72,15	65,55
	10,00%	44,30	56,98	73,67	47,16	45,77	71,57
<i>Lotus corniculatus</i>	0,00%	65,55	54,56	34,03	63,61	42,63	50,33
	0,10%	62,72	60,09	36,74	59,43	56,18	47,19
	0,50%	60,06	60,24	48,13	61,09	58,29	53,09
	1,00%	61,00	58,67	47,97	53,08	54,49	52,49
	5,00%	52,78	58,69	38,93	58,49	60,91	49,34
	10,00%	54,52	50,19	42,82	55,30	33,88	50,81