

**ÖKOLOGISCHE UND PHYSIOLOGISCHE  
STUDIEN ÜBER *OROBANCHE* ARTEN IN  
NATÜRLICHEN ÖKOSYSTEMEN**

**DISSERTATION**

**der Fakultät für Chemie und Pharmazie  
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen**

**und**

**der Fakultät für Naturwissenschaften  
der Universitatea de Vest “Vasile Goldiș”, Arad, Rumänien**

**zur Erlangung des Grades eines Doktors  
der Naturwissenschaften**

**2009**

**vorgelegt von**

**Ana Höniges  
aus Sântana, Rumänien**

Dekan: Prof. Dr. Lars Wesemann  
Erstberichterstatter: Prof. Dr. Dr.h.c.mult. Klaus Wegmann,  
Eberhard-Karls-Universität Tübingen.  
Zweitberichterstatter: Prof. Dr. Dr.h.c.mult. Aurel Ardelean,  
Rektor der Universitatea de Vest „Vasile Goldiș“  
din Arad, Rumänien.  
Drittberichterstatter: Academician Prof. Dr. Dr.h.c.mult. Constantin Toma,  
Universitatea „Alexandru Ioan Cuza“ din Iași,  
Rumänien.  
Viertberichterstatter: Prof. Dr. Franz Oberwinkler  
Eberhard-Karls-Universität Tübingen

## *Danksagung*

Nach dem erfolgreichen Abschluss meiner Dissertation möchte ich den Menschen, die mich auf meinem wissenschaftlichen Weg mit Hingabe geleitet haben, die durch ihr beispielhaftes Leben stets für Motivation zum Selbstantrieb und Hingabe für die gestellte Aufgabe gesorgt haben, meine tiefste Anerkennung ausdrücken.

Ich möchte gleichfalls meine ganze Dankbarkeit auch all denen übermitteln, die zur Vollendung dieser Dissertation beigetragen haben.

Herzlichen Dank Herrn Univ.-Prof. Dr. Dr. h. c. mult. Aurel Ardelean und Herrn Univ.-Prof. Dr. Dr. h. c. mult. Klaus Wegmann, angesehene und international anerkannte Persönlichkeiten als Forscher und Akademische Lehrer, dafür, dass Sie stets an mich geglaubt haben, an meine Fähigkeiten zur wissenschaftlichen Forschungsarbeit, und dass sie mich beim Studium dieses komplexen und spannenden Themas angeleitet haben. Ihr Vertrauen und die permanenten Anregungen in all diesen Jahren haben wesentlich zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen. Durch ihre internationalen Verbindungen haben sie mir Forschungsarbeiten an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Deutschland, und an der Universität Wien, Österreich, ermöglicht.

Ich bedanke mich bei bei Herrn Univ.-Prof. Dr. Oliver Betz, Zoologisches Institut der Eberhard-Karls-Universität Tübingen, und bei den Herren Dr. Robert Bauer und Dr. Sigisfredo Garnica, Botanisches Institut

der Eberhard-Karls-Universität Tübingen, für ihre Unterstützung bei meinen Forschungsarbeiten in Tübingen.

Frau Univ.-Prof. Dr. Marianne Popp und Herrn Univ.-Prof. Dr. Franz Hadacek vom Department für Chemische Ökologie und Ökosystemforschung der Universität Wien danke für ihre Unterstützung bei meiner Forschungstätigkeit in Wien.

Vielen Dank auch Herrn Univ.-Prof. Dr. Constantin Drăgulescu und Herrn Ing. Mihai Buiuc vom Lehrstuhl für Ökologie und Umweltschutz der Lucian-Blaga-Universität in Herrmannstadt (Sibiu) und Herrn Dr. Siegfried Demuth, Karlsruhe, dafür, dass Sie mich zu einigen *Orobanche*-Fundstellen begleitet und beraten haben.

Mein herzlicher Dank geht auch an Herrn Univ.-Prof. Dr. Koichi Yoneyama vom Forschungszentrum der Utsunomiya Universität in Japan, für die Durchführung der Strigolacton-Analysen von Wurzelexsudaten.

Ana Höniges

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>SUMMARY</b>	<b>9</b>
<b>ALLGEMEINER TEIL</b>	
<b>1. EINLEITUNG</b>	<b>12</b>
1.1. <b>Die Gattung <i>Orobanche</i> und ihre taxonomische Stellung</b>	<b>14</b>
1.2. <b>Morphologie und Anatomie der Orobanchen</b>	<b>17</b>
1.3. <b>Entwicklungszyklus der Orobanchen</b>	<b>26</b>
1.4. <b>Vergleich zwischen den <i>Orobanche</i>-Arten in der rumänischen Spontanflora und in Baden-Württemberg</b>	<b>29</b>
<b>EXPERIMENTELLER TEIL</b>	
<b>2. AUFGABENSTELLUNG DER VORLIEGENDEN DISSERTATION</b>	<b>33</b>
<b>3. MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>34</b>
3.1. <b>Herkunft des biologischen Materials für die Laborexperimente</b>	<b>34</b>
3.2. <b>Herkunft der Chemikalien</b>	<b>36</b>
3.3. <b>Bestimmung der <i>Orobanche</i> spp.</b>	<b>37</b>
3.4. <b>Ökologische Erhebungen an Fundorten von <i>Orobanche</i> spp. in der Spontanflora in Rumänien und in Baden-Württemberg</b>	<b>38</b>
3.5. <b>Laboruntersuchungen</b>	<b>39</b>
3.5.1. <b>Bodenanalysen</b>	<b>39</b>
3.5.1.1. Wassergehalt	39
3.5.1.2. Bestimmung des pH-Werts der Bodenproben	39
3.5.1.3. Bestimmung des Ammonium-Stickstoffs	39
3.5.1.4. Bestimmung des Nitrat-Stickstoffs	40
3.5.1.5. Bestimmung des pflanzenverfügbaren Phosphats	40
3.5.1.6. Bestimmung des organischen Kohlenstoffs	41
3.5.2. <b>Rasterelektronenmikroskopische (REM) Analysen der <i>Orobanche</i>-Samenoberfläche</b>	<b>42</b>

3.5.2.1.	Präparation	42
3.5.2.2.	REM-Aufnahmen	43
<b>3.5.3.</b>	<b>Lichtmikroskopische und transmissionselektronenmikroskopische (TEM) Untersuchungen von <i>Orobanche</i>-Samen</b>	<b>43</b>
3.5.3.1.	Vorbereitung der Proben	43
3.5.3.2.	Fixierung und Kontrastierung der Proben	45
3.5.3.3.	Einbetten der Proben in Epoxyharz	46
3.5.3.4.	Schneiden der Proben	46
3.5.3.5.	Transmissionselektronenmikroskopische Untersuchungen	47
3.5.3.6.	Lichtmikroskopische Untersuchungen an Semidünnschnitten	48
<b>3.5.4.</b>	<b>Genanalytische Identifizierung endophytischer Pilze</b>	<b>48</b>
3.5.4.1.	Polymerase-Ketten-Reaktion	48
3.5.4.2.	Agarose-Gelelektrophorese	51
3.5.4.3.	Sequenzierung	52
<b>3.5.5.</b>	<b>Keimungsversuche</b>	<b>54</b>
<b>3.5.5.1.</b>	<b>Anzucht der Wirtspflanzen im Gewächshaus</b>	<b>54</b>
<b>3.5.5.2.</b>	<b>Herstellung von Wurzelexsudaten der Wirtspflanzen</b>	<b>55</b>
<b>3.5.5.3.</b>	<b>Vorbereitung der GR 24-Lösung</b>	<b>55</b>
<b>3.5.5.4.</b>	<b>Vorbereitung der <i>Orobanche</i>-Samen für die Keimungsversuche</b>	<b>56</b>
<b>3.5.5.5.</b>	<b>Keimungsstimulation</b>	<b>56</b>
<b>3.5.5.6.</b>	<b>Zusatz potentieller Wirkstoffe</b>	<b>57</b>
<b>3.5.5.7.</b>	<b>Stereomikroskopische Beobachtung und Photodokumentation</b>	<b>57</b>
<b>3.5.6.</b>	<b>Instrumentelle Analyse der Wurzelexsudate</b>	<b>58</b>
3.5.6.1.	Konzentrierung der Wurzelexsudate	58
3.5.6.2.	Fraktionierung der Wurzelexsudate in eine hydrophile und eine hydrophobe Fraktion	58
3.5.6.3.	Derivatisierung der hydrophilen Fraktion I für die Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS)	59
3.5.6.4.	GC-MS-Analyse	59
3.5.6.5.	Derivatisierung der hydrophoben Fraktion II für die High-Performance-Liquid-Chromatography (HPLC)	60
3.5.6.6.	HPLC-Analyse	60
<b>3.5.7.</b>	<b>Analyse von Wurzelextrakten</b>	<b>61</b>

<b>3.5.8.</b>	<b>Bodenanalyse auf potentielle Keimungsinhibitoren</b>	<b>61</b>
3.5.8.1.	Extraktion des Bodens mit Ethylacetat im Soxhlet	61
3.5.8.2.	Derivatisierung des Trocknungsrückstandes	62
3.5.8.3.	Instrumentelle Analytik durch GC-MS	62
<b>3.5.9.</b>	<b>Analyse von Wurzelexsudaten auf Strigolactone</b>	<b>62</b>
3.5.9.1.	Extraktion mit Ethylacetat und Einrotieren zur Trockene	62
3.5.9.2.	Vorbereitung der Proben für die HPLC-Tandem-Massenspektrometrie	62
3.5.9.3.	Durchführung der Analysen	64
<b>4.</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>65</b>
<b>4.1.</b>	<b>Fundorte und ökologische Bedingungen an den Fundorten</b>	<b>65</b>
4.1.1.	Fundorte in Rumänien	65
4.1.2.	Fundorte in Baden-Württemberg	100
4.1.3.	<b>Vorläufige Schlussfolgerungen über die Fundorte</b>	<b>126</b>
<b>4.2.</b>	<b>Ergebnisse der Laboruntersuchungen</b>	<b>128</b>
4.2.1.	Bodenanalysen	128
4.2.2.	Rasterelektronenmikroskopische (REM) Analysen der Samenschalen	129
4.2.3.	Lichtmikroskopische Untersuchungen an Semidünnschnitten	136
4.2.4.	Transmissionselektronenmikroskopische (TEM) Untersuchungen von <i>Orobanche</i> -Samen	138
4.2.5.	DNA-analytische Identifizierung von endophytischen Ascomyceten	141
4.2.6.	Keimungsversuche	142
4.2.6.1.	Keimungsversuche mit potentiellen Wirkstoffen	142
<b>4.2.7.</b>	<b>Instrumentelle Analyse der Wurzelexsudate auf Keimungsinhibitoren</b>	<b>148</b>
4.2.7.1.	Ergebnisse der HPLC-Analysen	148
4.2.7.2.	Ergebnisse der GC-MS-Analysen	161
<b>4.2.8.</b>	<b>Bodenanalyse auf potentielle Keimungsinhibitoren</b>	<b>163</b>
4.2.8.1.	Absorptionsspektrum des Bodenextrakts	163
4.2.8.2.	Ergebnis der GC-MS-Analyse	164
<b>4.2.9.</b>	<b>Analyse von Wurzelexsudaten auf Strigolactone</b>	<b>165</b>

<b>5. DISKUSSION DER ERGEBNISSE</b>	<b>170</b>
<b>5.1. Ökologische Betrachtungen</b>	<b>170</b>
5.1.1 Terrain der <i>Orobanche</i> -Fundorte	170
5.1.2 Klima und Wetter	171
5.1.3. Detaillierte Auswertung der klimatologischen Daten von vier Fundorten	175
5.1.4. Bewertung der Bodenanalysen	202
<b>5.2. Blüten- und Bestäubungsbiologie</b>	<b>203</b>
<b>5.3. Schäden durch Insekten</b>	<b>205</b>
<b>5.4. Allelopathische Einflüsse auf Orobanchen</b>	<b>210</b>
<b>5.5. Strigolactone und Wirtsspezifität</b>	<b>214</b>
5.5.1. Strigolactone und Mycorrhiza	220
5.5.2. Die Wirkung stereoisomerer Formen der Strigolactone	220
5.5.3. Strigolacton-Rezeptoren	221
5.5.4. Wegmanns Hypothese zur Wirtsspezifität der Orobanchen	222
5.5.5 Strigolacton-Analysen in Wurzelexsudaten	222
5.5.6. Wie spezifisch ist die Wirtsspezifität?	224
<b>5.6. Physiologische Aspekte der <i>Orobanche</i>-Arten der Spontanflora im Vergleich mit <i>Orobanche</i>-Landwirtschaftsschädlingen</b>	<b>226</b>
<b>6. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE</b>	<b>234</b>
<b>7. BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>237</b>
<b>8. HERBARIEN</b>	<b>257</b>
<b>9. EIGENE PUBLIKATIONEN AUS DER DISSERTATION</b>	<b>258</b>
<b>AKADEMISCHE LEHRER</b>	<b>259</b>
<b>LEBENS LAUF</b>	<b>260</b>

## SUMMARY

The main objective of this thesis was to find out the reasons, why rare broomrapes (*Orobanche* spp.) in the spontaneous flora are rare and endangered, while weedy broomrapes threat crops in agriculture.

During extensive field work 13 of 22 listed *Orobanche* spp. were found in Romania, namely *Orobanche alba*, *O. arenaria*, *O. caryophyllacea*, *O. coerulescens*, *O. elatior*, *O. gracilis*, *O. lucorum*, *O. lutea*, *O. minor*, *O. purpurea*, *O. reticulata*, *O. salviae* and *O. teucriti*. In Baden-Württemberg, Southwest Germany, 11 of 21 listed *Orobanche* spp. were found, namely *Orobanche alsatica*, *O. arenaria*, *O. caryophyllacea*, *O. elatior*, *O. hederarum*, *O. lutea*, *O. mayeri*, *O. minor*, *O. picridis*, *O. purpurea* and *O. teucriti*. The studies result in the statement, that the number of sites, where *Orobanche* occurs, and the number of individuals, where they are found, is generally declining.

Climate warming plays a minor role, although it would favour *Orobanche*. Collected local weather data over the past 3-4 years showed a distinct tendency towards warmer and more humid spring months (March-May). The precipitation over the days and months is irregularly distributed and changes from year to year. Dry spring months are unsuitable for conditioning and germination of *Orobanche* seeds. This explains, why some *Orobanche* spp. were not found in every year.

Rare *Orobanche* spp. compared with the noxious *Orobanche* spp. in agriculture are biologically handicapped. Their seed production is lower, since their flower stands are much smaller than that of noxious species. Due to insect attack the stems dry off early, so that the seed development leads to immature or empty seeds. This was shown by germination tests under standardised laboratory conditions, and was confirmed by electron microscopy. Some *Orobanche* spp. develop only short germination tubes (radicles), which have a very limited chance to come in contact with a host plant root and to form a haustorium.

Due to these biological disadvantages the rare *Orobanche* spp. are not expected to become noxious species endangering crop plants. The transition to crop damaging pathotypes in rare cases may happen by mutative

adaptation (*Orobanche foetida*) or by hybridisation (*Orobanche lavandulacea* x *O. ramosa*).

Series of germination tests were carried out with *Orobanche* seeds, stimulating them with root exudates of their host plants or with the synthetic germination stimulant GR 24, without or with the addition of potential germination inhibitors, and/or gibberellic acid, which could increase elongation growth of the germ tubes. With GR 24 the germination rates of *O. elatior* and *O. lutea* were zero, that of *O. hederæ* extremely low. This deserves attention, because GR 24 generally serves as a standard in germination tests. In all the germination test series in this thesis *Orobanche ramosa*, a noxious species in agriculture, was used for comparison.

In order to study allelopathic interactions with the associated flora analyses of root exudates by HPLC with UV/VIS diode array detector, and GC-MS were carried out. Benzoic acid was a significant component in half of the investigated root exudates, including that of the associated flora. Its identity was verified by the retention time in the HPLC chromatograms and by the absorption spectrum. Germination inhibitors of the cinnamic acid family were not found. Germination inhibition, shown by standardised germination tests, resulted in significant differences in sensitivity among the *Orobanche* spp.

Suicidal germination is considered a significant factor in the limitation of rare *Orobanche* spp. Almost all plant roots exude strigolactones, the natural germination stimulants, because these are required for mycorrhiza development. Hence, the exudates of the associated flora stimulates germination, without being parasitised afterwards. Under these circumstances no seed potential is built up in the soil, which during a favourable year could lead to a mass appearance of *Orobanche*.

After the observation during the germination tests that fungi grow out of the seed, these were investigated by transmission electron microscopy. When the presence of endophytic Ascomycetes was discovered, their molecular genetic identification was carried out. Two fungi have been identified doubtless as *Alternaria tenuissima* strain IA 285 and *Cladosporium* sp.

For the first time strigolactones have been isolated from the root exudates of host plants of rare *Orobanche* spp. and identified by HPLC-Tandem-MS. Known structures have been found, but there are also indications for related compound, whose structures are not yet revealed. The results show host plant specific qualitative differences in the composition of strigolactones. This supports the hypothesis that host specificity may depend on specific mixtures of strigolactones exuded by the host plant.

The surface of seed coats of *Orobanche* spp. has been investigated by scanning electron microscopy, in order to prove the suitability for the identification of *Orobanche* spp. According to the obtained results *Orobanche* and *Phelipanche* (*Trionychon*) sections can be distinguished, but scarcely the species within these sections.

## 1. EINLEITUNG

Orobanchen (Sommerwurzgewächse) gehören zu dem einen Prozent Höherer Pflanzen, die ihr Leben als Holoparasiten in völliger Abhängigkeit von einer Wirtspflanze führen. Sie haben die Fähigkeit zur Photosynthese verloren. Deshalb müssen sie der Wirtspflanze nicht nur Wasser und anorganische Nährsalze, sondern auch organische Nährstoffe entnehmen, mit denen sie ihren Pflanzenkörper aufbauen und ihren Fortbestand sichern müssen. Wegen ihrer parasitären Lebensweise und ihrer Seltenheit galten Orobanchen immer als botanische Besonderheit. Sie wurden von wenigen bekannten Botanikern studiert. Die Kenntnisse über die schwer zu differenzierenden Arten und ihre Lebensweise sind bis heute noch lückenhaft (Uhlich et al. 1995).

Theophrastus (372-287 v. Chr.) hat bereits die *Orobanche* erwähnt, Dioscorides (40-90 n. Chr.) hat sie in seinem Buch zum ersten Mal bildlich dargestellt: sie wurde zum Emblem des 6th International Symposium of Parasitic Weeds, Cordoba 1996.

Dioscorides hat in der Antike die *Orobanche* beschrieben, weil sie andere Pflanzen (Orobus) erwürgt (anchein). Erst Linné (1753) hat in seiner Arbeit "Species plantarum" zwei Taxa (*O. ramosa* L., *O. major* L.) definiert und Jussieu hat sie 1759 in die Familie Orobanchaceae eingeschlossen (Ungurean 1984).

Von großer Bedeutung in der älteren Literatur sind die Arbeiten von Wallroth (1825), Schultz (1829), Koch (1887), Guimares (1904) und Grințescu (1914).

Die Monographien von Dr. Günther Ritter Beck von Mannagetta (1890, 1930) sind in taxonomischer Hinsicht die Hauptwerke, auf Grund derer die Taxa der Familie der Orobanchaceae in den Floren des 20. Jahrhunderts definiert wurden: Engler (1930), Novopokrovski (1958), Buia (1961), Chater & Webb (1972). In Rumänien haben vor allem Prodan (1935-1939), Borza (1947-1949), Buia (1961), und Dihoru (1970) zur Kenntnis der Orobanchen beigetragen.

Orobanchen wären eine botanische Besonderheit geblieben, wenn nicht von den fast 200 Taxa wenige sich zu Landwirtschaftschädlingen entwickelt

hätten, die ganze Ernten vernichten. Deshalb hat sich in den vergangenen Jahrzehnten die *Orobanche*-Forschung auf die Erforschung der schädlichen Arten konzentriert, mit dem Ziel wirksame Bekämpfungsmethoden zu entwickeln. Dies ist auch der Grund, weshalb die *Orobanche*-Forschung jetzt gut organisiert ist und der wissenschaftliche Austausch auf diesem Gebiet optimal funktioniert.

Die folgenden Internationalen Symposien wurden von der European Weed Research Society (EWRS) organisiert

1<sup>st</sup> International Symposium on Parasitic Weeds, Malta 1973

2<sup>nd</sup> International Symposium on Parasitic Weeds, Raleigh 1979

3<sup>rd</sup> International Symposium on Parasitic Weeds, Aleppo 1984

4<sup>th</sup> International Symposium on Parasitic Flowering Plants, Marburg 1987

5<sup>th</sup> International Symposium on Parasitic Weeds, Nairobi 1991

6<sup>th</sup> Parasitic Weed Symposium, Cordoba 1996

7<sup>th</sup> International Parasitic Weed Symposium, Nantes 2001

und dann von der 2001 gegründeten International Parasitic Plant Society (IPPS)

8<sup>th</sup> International Symposium on Parasitic Plants, Durban 2004

9<sup>th</sup> World Congress on Parasitic Plants, Charlottesville 2007.

Workshops über *Orobanche* wurden abgehalten:

(1<sup>st</sup>) *Orobanche* Workshop, Wageningen 1986, organisiert von Siny ter Borg,

(2<sup>nd</sup>) International Workshop on *Orobanche* Research, Obermarchtal 1989, organisiert von Klaus Wegmann,

3<sup>rd</sup> International Workshop on *Orobanche*, Amsterdam 1993, organisiert von Arnold Pieterse,

4<sup>th</sup> International *Orobanche* Workshop, Albena 1998, organisiert von V. Encheva und Klaus Wegmann.

Die Europäische Union hat 2001-2006 die COST Action 849 "Parasitic Weed Management in Sustainable Agriculture" für den wissenschaftlichen Austausch und regelmäßige Treffen der beteiligten Wissenschaftler finanziert.

„Haustorium“, ursprünglich mit der Eigeninitiative von Chris Parker und Lytton Musselman gegründet, ist heute die offizielle Zeitschrift der International Parasitic Plant Society (IPPS).

Bei den vielen Initiativen zur Erforschung der Orobanchen spielen aber die „seltenen“, vom Aussterben bedrohten Arten, eine untergeordnete Rolle. Zu ihrer Erforschung einen Beitrag zu leisten ist die Aufgabe dieser Dissertation.

Die Bilder in dieser Dissertation sind eigene Aufnahmen der Autorin und von Professor Wegmann; die wenigen Bilder anderer Herkunft sind gekennzeichnet.

### **1.1. Die Gattung *Orobanche* und ihre taxonomische Stellung**

Die systematische Einordnung der Gattung *Orobanche* L. erfolgt nach Flora Europaea (Chater & Webb, 1972), Buia (1961), Ciocârlan (2000), Mauseth (1991) nach dem folgenden Schema:

**Pflanzenreich**

**Unterreich Tracheobionta**

**Oberabteilung Spermatophyta (Samenpflanzen)**

**Abteilung Magnoliophyta (Blütenpflanzen)**

**Klasse Magnoliopsida (Dicotyledonen)**

**Unterklasse Asteridae**

**Ordnung Scrophulariales**

**Familie Orobanchaceae**

**Gattung *Orobanche***

**Sektion Osproleon**

Trionychon

Gymnocaulis

Myzorrhiza

Die Familie der Orobanchaceae umfasst nach heutiger Kenntnis 220 Arten, die in 15 Gattungen gruppiert sind (Uhlich et al. 1995). Die meisten

holoparasiten Vertreter der Orobanchaceae-Familie mit ungefähr 170 Arten und zahlreichen Unterarten (insgesamt etwa 200 Taxa) gehören zur Gattung *Orobanche*. In Rumänien ist diese Familie nur durch die Gattung *Orobanche* vertreten (Pătruț und Imbrea, 2005, Beldie (1979)).

Beck-Mannagetta teilt die Gattung *Orobanche* in 4 Abteilungen ein: die größten sind die Abteilungen *Osproleon* (= *Orobanche*) und *Trionychon*; diese sind in der alten Welt verbreitet (Eurasien, Afrika), während zwei kleinere Abteilungen, *Gymnocaulis* und *Myzorrhiza*, nur in Amerika vorkommen. Teryokhin (1995) hat die vier Abteilungen als selbstständige Gattungen betrachtet: *Orobanche*, *Phelipanche*, *Aphyllon* und *Myzorrhiza*.

Beck von Mannagetta (1930), Chater & Webb (1972), Foley (2001) und Pujadas (2002) unterscheiden die Sektionen *Trionychon* Wallroth und *Orobanche* Linnaeus aufgrund morphologischer Pflanzenmerkmale, die Pujadas (2002) folgendermaßen zusammenfasst: *Trionychon*-Taxa sind gekennzeichnet durch verzweigte Stängel, Blüten mit Tragblättern, ganzrandiger, glockenförmiger Kelch, Krone blau oder purpur, Staubblätter weiß, Narbe gewöhnlich weiß. *Orobanche*-Taxa haben einen unverzweigten Stängel, Blüten ohne Tragblätter, Kelch in zwei seitliche Segmente geteilt, Krone weiß, gelb, braun, amethyst oder rot, Staubblätter gelb, braungrau oder gräulich, Narbe gelb, orange, rot oder purpur.

Für die Trennung der beiden Sektionen macht Teryokhin (1991, 1997) ontogenetische Gründe bei der Embryonalentwicklung geltend.

Auch die Chromosomenzahlen sprechen für die Trennung. In der Sektion *Trionychon* beträgt die Chromosomenzahl  $x = 12$  oder  $24$ , in der Sektion *Orobanche*  $x = 19$  (Schneeweiss et al. 2004).

Es gibt auch chemotaxonomische Gründe für die Unterscheidung aufgrund der Inhalte an verschiedenen Caffeoylglycosiden (Andary et al. 1994).

REM-Untersuchungen der Oberflächenstruktur der Samen wurden für die Unterscheidung herangezogen (Musselman & Mann 1976, Ungurean 1985, Joel 1987, 1988, Abu Sbaih & Jury 1994, Deif et al. 2000, Plaza et al. 2004). Diese Methode wird auch in der vorliegenden Dissertation behandelt.

Die eindeutigste Unterscheidung der beiden Sektionen war mit Hilfe genanalytischer Untersuchungen möglich (Dissertation Schneeweiß 2004, Schneeweiss et al. 2004).

Trotz dieser eindeutigen und überzeugenden Argumente wird die bisherige Bezeichnung *Orobanche* (mit dem Zusatz syn. *Phelipanche*) aus praktischen Gründen beibehalten, so wie dies auch bei den meisten wissenschaftlichen Zeitschriften und in der 93. Auflage der „Flora von Deutschland und angrenzender Länder“, früher Schmeil-Fitch (Seybold 2006) sowie in der Florenliste von Baden-Württemberg (Buttler & Harms 1998) ausgeführt wird. Diese Florenliste entspricht der Datenbank „Arten-Lexikon Baden-Württembergs“; ihr sind für die vorliegende Dissertation die Autorennamen der *Orobanche* spp. entnommen, die für die einzelnen Arten bei den Fundorten genannt werden.

Uhlich et al. (1995) beschreiben 72 Arten der Gattung *Orobanche*, die bisher in Europa identifiziert wurden; von diesen gehören 36 endemische Arten zu den Abteilungen Trionychon und Osproleon, für die es komplette dichotome Bestimmungs-Schlüssel gibt.

In der Flora Europaea (Chater & Webb 1972), werden 45 Arten beschrieben. Buia (1961) erwähnte damals, dass die Gattung ungefähr 100 Arten umfasst, die meisten davon sind in Eurasien, Afrika und Amerika verbreitet. Sie beschreiben in der Flora R.P.R. 22 Arten und zeigen die Regionen, wo sie in Rumänien verbreitet sind.

Ungurean (1985) hat Studien über die 22 *Orobanche*-Arten durchgeführt; die Arten gehörten zu den Sektionen Trionychon (6 Arten) und *Orobanche* (18 Arten). Sie kommt zur Schlussfolgerung, dass sich diese zwei Abteilungen durch anatomische Eigenschaften des Stängels (extrafasciculäre Sklerenchymstränge) unterscheiden lassen und verfasst aufgrund der anatomischen Struktur des Stängels einen Schlüssel zur Bestimmung von *Orobanche*-Arten.

Ciocârlan (2000) beschreibt 25 *Orobanche*-Arten in Rumänien. Ardelean (1999) erwähnt für Valea Crișului Alb (Tal des Weißen Krisch) fünf Arten, *O. ramosa*, *O. alba*, *O. caryophyllacea*, *O. lutea*, *O. alsatica*, mit deren Wirtspflanzen und Verbreitung, und für den Kreis Arad 10 Arten

(2006). Die Flora von Deutschland (Seybold 2006) enthält 25 *Orobanche*-Arten.

## 1.2. Morphologie und Anatomie der Orobanchen

Der Entwicklungsvorgang der Vegetationsorgane erfolgt in mehreren Etappen (Uhlich et al. 1995):

- Die Keimung, induziert durch spezielle Keimungsstimulantien, die von der Wirtswurzel ausgeschieden werden.

- Aus dem Embryo entwickelt sich durch Zellstreckungswachstum eine Radicula (ein Keimschlauch), der sich an die Wirtswurzel anheftet und ein Haustorium bildet. Suchhyphen dringen in das Wurzelgewebe des Wirtes ein und finden den Anschluss an das Gefäßsystem (Xylem und Phloem).

- Der in der Wirtswurzel befindliche Teil des Haustoriums (intramaticulares Haustorium) entwickelt sich und schließt sich dem Nährgewebe eng an. Der externe Teil des Haustoriums (extramaticulares Haustorium) stirbt vom Samen her bis auf ein kurzes subapicales Stück ab, welches sich durch intensive Zellteilung und Zellwachstum zu einem bis 2 cm großen gelblichen Knöllchen entwickelt. Am extramaticularen Teil bilden sich manchmal weitere, sekundäre Knöllchen, die alle Speicherfunktion haben.

- Aus der unteren Hälfte des Knöllchens wachsen sekundäre Haustorien, die weitere Wurzeln der Wirtspflanze angreifen können. Seitlich vom Pol der oberen Knöllchenhälfte bildet sich ein Spross (Abb. 3), der senkrecht nach oben wächst. Bei ästigen *Orobanche*-Arten werden die Anlagen der Achselprosse sichtbar.

- Am Spross bilden sich früh kleine schuppenförmige Blätter, in der späteren Entwicklungsphase Blütenstände.

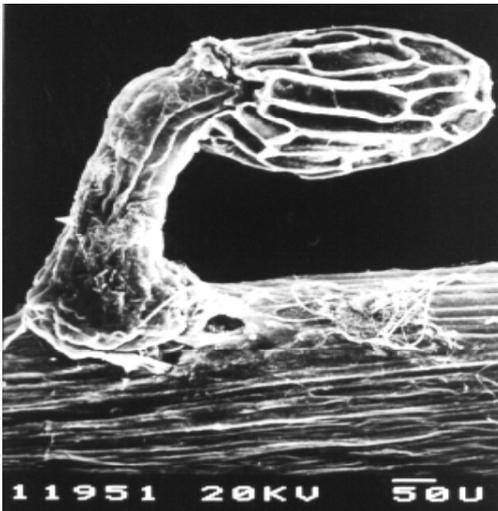
- Der tracheale Hohlzylinder zwischen Knolle und intramaticularem Haustorium zerfällt in Partialstränge welche unregelmäßige und polyedrische Gewebestrukturen aus Tracheiden bilden, begleitet vom Dickenwachstum.

- Das Wachstum der Wirtswurzel um den Parasiten herum wird (durch Stoffwechselprodukte der *Orobanche*) gesteigert, und führt zur Bildung eines Ringwalles um den Parasiten.

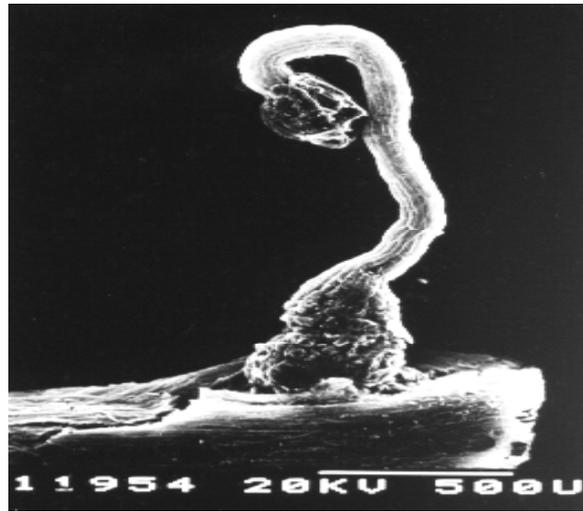
- Oft differenzieren sich Nebenradiculae, die neue Saugorgane bilden und die sich an weitere Wirtswurzeln anheften.

### **Radicula**

Bei der Keimung tritt aus der Samenhülle ein Keimschlauch, eine Radicula, aus, die sich zunächst überwiegend durch Zellstreckungswachstum entwickelt (Aber 1984). Die Radicula kann einige mm lang werden, bis sie auf eine Wirtswurzel trifft. Dann setzt auch Zellteilung ein und es bildet sich ein Haustorium (Abb. 1 und Abb. 2).



**Abb. 1** Haustorienbildung (a)



**Abb. 2** Haustorienbildung (b)

### **Haustorium**

Das Haustorium ist ein spezielles Organ, dessen Leitgewebe perfekt an die Absorptionsfunktion angepasst ist (Toma et al. (2007).

Buia (1961) und Grințescu (1985) betrachten das Haustorium bei *Orobanche* als Ersatz für die Wurzel. Das Haustorium hat gleichzeitig Wurzel- und Stängelmerkmale (Toma et al. 2007).

Die extramatricularen Haustorien haben keine Wurzelhaare und enthalten 2-4 Leitbündel mit Tracheiden. Sie haben eine kaum angedeutete Scheide. Die trachealen Verbindungen gabeln sich oft (Uhlich et al. 1995).

Nach Privat (1960) fehlt die Scheide bei den „maturen Wurzeln“ oder sie geht beim Anwachsen an den Wirt Zelle für Zelle verloren. Nach Toma & Şerbănescu-Jitariu (1997) besitzt „die Wurzel“ keine Scheide.

Zwischen dem intramaticularen Haustorium und der Wirtswurzel gibt es direkten Kontakt zum Phloem und Xylem (Dörr & Kollmann 1995). Dies zeigt, dass holoparasitische Pflanzen dem Wirt sowohl Wasser und Mineralsalze, als auch organische Stoffe entnehmen Şerbănescu-Jitariu & Toma (1980).



**Abb. 3 *Orobanche cumana* auf Sonnenblume**

### **Der Stängel**

Der Stängel (Uhlich et al. 1995) ist relativ gleichmäßig gestaltet, aufrecht, am Grund oft knollenförmig oder keulenförmig verdickt (Abb. 3), erreicht einschließlich des Blütenstandes meist Höhen zwischen 20 und 70 cm. Zumeist sind die Stängel der einzeln oder in Gruppen wachsenden Arten unverzweigt oder, wie in der Sektion Trionychon und sehr selten in der Sektion Osproleon, ästig. Der Stängel trägt schuppenartige Blätter, die meist gegen den Grund zahlreicher stehen. Die zumeist drüsige Behaarung nimmt gegen den Blütenstand hin zu und fehlt selten völlig.

Die Färbung des Stängels (Buia 1961, Simionescu 1947), kann gelblich, bräunlich oder violett sein, abhängig von den in den Epidermiszellen gelösten Farbstoffen.

Die Kutikula ist schwach entwickelt. Die Dicke der Rinde kann sehr stark variieren und bis 30 Zell-Lagen betragen (Uhlich et al. 1995). Das Mark des Stängels ist gegliedert in einen peripheren Teil, der die Gefäßbündel umlagert und aus stärker und porös verdickten und verholzten Zellen besteht, und einen inneren Teil, der von unverholzten, schwach verdickten, großen Zellen gebildet wird. Der innere Teil ist oft zerrissen und ausgehöhlt.

Am Grund des Stängels ist das Parenchym der Rinde und des Markes in ein Vorratsgewebe für Stärke ungewandelt (Privat 1960), mit hufeisenförmigem Leitgewebe (gegen das Mark hin offen), dessen holzige Elemente wenige netzartige Tracheiden enthalten. Die anderen Stängelteile bestehen aus normalem Parenchym und die Leitbündel werden durch Sklerenchym gestützt, das durch die Verholzung der Innenrinde entsteht.

### **Die Blätter**

Die schuppenförmigen Blätter sind eiförmig oder lanzettförmig (Uhlich et al. 1995); sie enthalten kein Chlorophyll. Sie sind ganzrandig oder selten mit ungleichmäßiger Zahnung. Zum Grunde hin werden diese Schuppen gewöhnlich kürzer und breiter, stehen dichter und sind spärlicher behaart, während sie zum Blütenstand hin schmaler und länger sind, entfernter stehen und dichter behaart sind. Ihre Stellung am Stängel ist spiralig (Hovelaque 1888, von Uhlich zitiert).

Der innere Bau der Schuppenblätter ist extrem einfach. Die Epidermis mit allen Wänden gleichmäßig verdickt; sie enthält vereinzelte Spaltöffnungen und häufig Drüsenhaare. Die Spaltöffnungen sind permanent offen (Lory 1847). Das parenchymatische Mesophyll ist dünn, homogen; es hat die Photosynthese-Funktion verloren (Toma et al. 2007). Vom Gefäßbündelring des Stängels treten drei kollaterale Gefäßbündel hervor, wobei das mittlere stärker ist (Uhlich et al. 1995). Die Schuppen am Grund des Stängels haben keine Leitbündel und die nächsten haben nur eines.

Die Brakteen (und die Brakteolen bei der Sektion Trionychon) der Blüten haben denselben Bau wie die Blattschuppen und ihre Funktion besteht in der Stützung und dem Schutz der Blüten und Blütenknospen (Uhlich et al. 1995). Die Brakteolen sind paarig, kleiner als die Brakteen (Tragblätter), schmallanzettlich, und stehen typisch lateral, quer zur Mediane und zum Tragblatt.

Diese Organe enthalten für die Photosynthese inaktive Pigmente (Flavochrom, Neoxanthin, Lutein, Taraxanthin, Anthocyane), aber auch Phenole, Chlorogensäure, die den Embryo in latenten Zustand erhalten (Ungurean 1984).

### **Die Blüte**

Die Blüten sind zwittrig, fünfteilig, tetrazyklisch (Buia, 1961) und bilden Blütenstände. Die Blütenformel ist nach Ardelean & Mohan (2006):

$$\text{♀♂} \% K_{(2), (4-5)} [C_{(4+5)} A_{2+2}] G_{(2-3)}$$

Der Blütenstand besteht aus einfachen oder zusammengesetzten, immer endständigen Ähren oder Trauben, mit bis zu 200 Blüten (Uhlich et al. 1995). Die Form des Blütenstandes kann oval, zylindrisch, pyramiden- oder walzenförmig sein. Die Länge kann bei der Sektion Trionychon 6-35 cm, bei der Sektion Osproleon sogar bis 54 cm betragen und kann somit größer oder kleiner als die Länge des blütenlosen Teiles des Stängels sein.

Der Blütenstand kann dicht oder locker sein. Die Blütenentwicklung innerhalb des Blütenstandes verläuft von unten nach oben. Charakteristisch für die Sektion Osproleon sind Ähren mit dicker Spindel und aufrecht stehenden Blüten. Charakteristisch für die Sektion Trionychon sind aufrechte meist unauffällige Blütenstiele (die Blütenstiele sind kürzer als die eigentlichen Blüten).

### **Der Kelch**

Im Verlauf und Entwicklung des Kelches und in seiner Morphologie gibt es bedeutende, taxonomisch verwendbare Abweichungen. Der Kelch ist persistent, becherförmig oder glockig (Buia 1961), in der Regel ganzrandig. Er kann 4 Zähne haben, oder in zwei seitliche Lappen

gespalten sein. Häufig ist eine Spaltung der Kelchzähne zu beobachten (z. B. bei *O. foetida*, *O. sanguinea*, *O. crenata*). Er besteht ursprünglich aus 5 Kelchblättern, wird aber reduziert zu 4 Zipfeln (Sektion Trionychon) und weiter bis zu 2 Zipfeln bei der Sektion Orobanche (Beck 1890). Die Kelchblätter haben zahlreiche Drüsenhaare (Toma et al. 2007).

In jedes Kelchblatt treten 3 Gefäßbündelstränge ein, die sich im oberen Teil verästeln (Uhlich et al. 1995). Bei manchen Trionychon-Arten zweigen die seitlichen Gefäßbündelstränge vom Hauptnerv ab, bei anderen Arten gibt es überzählige Nerven.

### **Die Krone**

Die Krone besteht aus 5 Kronblättern, die eine Röhre bilden. Sie ist gamopetal, mehr oder weniger deutlich zweilippig, zygomorph bei den Sektionen Trionychon, Orobanche und Myzorrhiza (Beck-Mannagetta 1890). Sie ist relativ einheitlich durch die Form und Anzahl der Kelchblätter, sie hat komplizierte Variationen (Ungurean 1984). Die Oberlippe ist ganz, eingekerbt, zweilappig, aus den hinteren zwei Blütenblättern (Petalen) gebildet, meist durch eine Einfaltung getrennt und bildet ein schützendes, helmartiges Dach für die Staubblätter und die Narbe. Die Unterlippe hat drei Lappen, nach außen umgebogen und bilden eine Rinne für die Nektarinen. Diese drei Lappen werden immer durch Falten gespreizt. Die Falten sind reich (bei Sektion Trionychon) oder spärlich behaart (bei den anderen Sektionen).

Nach Uhlich et al. (1995) enthält jedes Blütenblatt Gefäßbündelstränge, wobei der mittlere stärker ausgebildet ist, besonders deutlich an der Oberlippe. Die seitlichen Leitbündel verzweigen sich besonders an die Außenseiten, während das mittlere sich gleichmäßig verzweigt. In der mittleren Comisur verläuft ein Nerv, der jenem des unterdrückten fünften Staubblattes entspricht. Die Krone ist also 20-nervig: 15 Nerven (je drei) führen in die 5 Blütenblätter, 4 Nerven ziehen in die Staubblätter und einer verläuft blind in die Comisur der Oberlippe.

Der anatomische Bau der Krone ist sehr einfach: die Epidermis, welche besonders an der Außenseite Spaltöffnungen enthält, umschließt

sehr wenige Lagen von Parenchymzellen, die nur gegen den Grund der Krone und um die Gefäßbündel mehrere Lagen Mesophyll bilden.

Manchmal sind die Epidermiszellen papillenförmig nach außen gewölbt (*O. caesia*), oder stärker nach außen verdickt, wodurch die Krone ihre Steifheit erhält (*O. latisquama*).

Viele Arten haben Nektarinen am Grund der eingefügten Staubgefäße an der gegen die Krone gerichteten Seite und sind von außen durch einen intensiv gefärbten halbmondförmigen, behaarten Fleck gekennzeichnet. Bei anderen Arten stehen die 5 Nektarinen in einem Kranz am Grund des Fruchtknotens.

Nach Gilli (1974) sind alle *Orobanche*-Blüten homogam, selten proterogyn, durch große Insekten bestäubt (Bienen, Hummeln, selten Ameisen). Nach Beck-Mannagetta (1930) herrschen die proterogynen Blüten vor. Der leicht verstäubende Pollen, die Stellung und Beschaffenheit der Nektarinen und der Blütenduft lassen die Bienenblume erkennen (Uhlich et al. 1995). Die Anlockung der Insekten erfolgt durch ätherische Öle und den Nektar.

Nach der Bestäubung wird die Krone abgeworfen, bleibt aber an dem gekrümmten Griffel hängen oder sitzt um den Fruchtknoten und dient als Windfang bei der späteren Samenverbreitung.

### **Die Staubblätter**

Die Familie Orobanchaceae hat ein einheitliches Androeceum, das aus vier didynamischen Staubblätter aufgebaut ist. Die Position (verschieden hoch in der Kronröhre eingefügt) und die Behaarung der Staubblätter sind ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal (Novopokrovski 1930, Buia 1961). Nach Uhlich et al. (1995) sind die Staubfäden zur Einfügungsstelle hin meist verdickt und tragen an ihrer Spitze zwei Pollensäckchen. Kahle Staubfäden kommen bei der Gattung *Orobanche* selten vor (*O. uniflora*, *O. caesia*). Die Antheren sind an ihrem Rücken angeheftet (dorsifix). Die Pollensäcke liegen bei der Sektion Trionychon gewöhnlich parallel.

Die Pollenkörner sind klein und zahlreich (Toma et al. 2007). Nach Erdtmann (1952) können die Pollenkörner tricolpoid, tricolpat, tricolporoid

oder unregelmäßig sein. Tarnavschi (1990) beschreibt den Pollen der Gattung *Orobanche* als 2-3-colpat-sincolpat, prolatsferoidal bis prolat, mit kleiner bis mittlerer Größe (0,018-0,030 mm).

### **Der Stempel**

Der Fruchtknoten ist median, oberständig, und steht auf einem mehr oder weniger konvexen Blütenboden (Torus). Die zwei Fruchtblätter haben je zwei Plazenten, getrennt oder verwachsen, die einen meist T-förmigen Querschnitt, aus lockerem Parenchym aufweisen (Uhlich et al. 1995). Die Eizellen sind typisch orthotrop, zahlreich, aber von kleinen Dimensionen, mit einem einzigen Integument und einem sehr reduzierten Zellkern, also tenuinukleat (Toma et al. 2007).

Nach Buia (1961) ist der Griffel mehr oder weniger lang, dünnröhrig, und endet commisural mit 2-4 Narbenlappen. Die Krümmung des Griffels im oberen Teil dient der Bestäubung. Der Griffel ist mehr oder weniger spärlich mit Drüsenhaaren bedeckt oder ganz kahl.

Die Narbe kann unterschiedlich geformt sein: zweilappig, trichter- oder schlüsselförmig mit unbestimmter Lappenbildung. Bei *Trionychon*-Arten finden wir vorzugsweise helle, scheibenförmige Narben mit 2-4 Lappen. Die Sektion *Osproleon* hat zum großen Teil Narben mit zwei kugeligen Lappen, die durch eine Brücke verbunden und nach Uhlich et al. (1995) intensiv gefärbt sind (von gelb bis orange, rot, purpur).

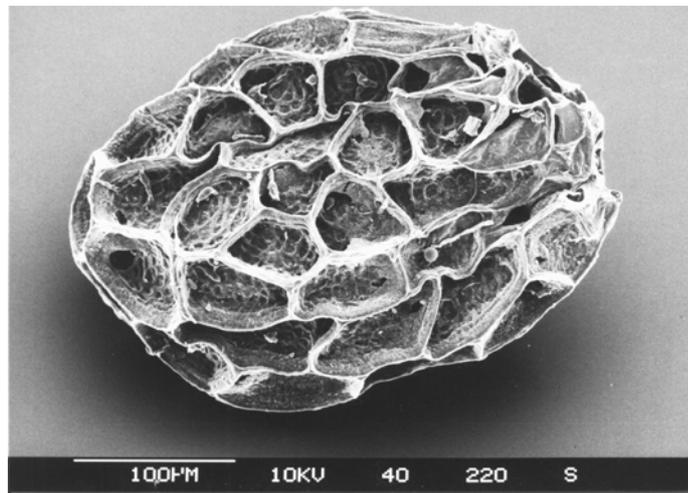
### **Die Frucht und die Samen**

Die Frucht ist eine ausgetrocknete Kapsel mit mehrschichtigem Pericarp, die sich lokulizid öffnet. Allgemein wirkt die Verholzung der Epidermiszellen beim Aufplatzen (Dehiscenz) der Kapselklappen mit. Meist trennen sich die Klappen teilweise oder gänzlich bis zum Grund der Kapsel, aber sie bleiben zusammen durch ihren Spitzen (Buia 1961). Die Kapselklappen werden nie abgeworfen, sondern vertrocknen mit der Pflanze. Form, Behaarung und Größe der Kapsel sind wichtige Merkmale für die Bestimmung der Arten (Ungurean 1984).

Die Samen sind braun bis schwarz und von einer Samenschale aus einer einzigen Zellschicht umhüllt (Șerbănescu-Jitariu & Toma, 1980). Die Samenschale variiert in Anzahl und Ausbildung der Poren (Alveolen) in den oft verholzten Zellwänden, hat jedoch keinen hohen taxonomischen Wert (Uhlich et al. 1995).

Der Same enthält ein großzelliges, öl- und eiweißhaltiges Nährgewebe (Albumen), das den Embryo umschließt. Der Embryo ist wenigzellig, die Keimblätter sind kaum angedeutet. Nach Cézard (1976), Grințescu (1985), Șerbănescu-Jitariu & Toma (1980) fehlen die Keimblätter.

Eine einzige Pflanze von *O. ramosa* kann bis 100.000 Samen produzieren (Wegmann 1999), eine *O. crenata* 150.000 Samen (Cézard 1976). Die Samen können lange keimfähig bleiben, sogar bis zu 60 Jahren (Wegmann 1999). Im allgemeinen enthält ein Same etwa 200 Zellen und sein Gewicht liegt bei 20 µg (Mayer & Bar Nun 1993). Mit einer Größe von etwa 0,3 x 0,2 mm (Abb. 4) gehören *Orobanche*-Samen neben den Orchideen-Samen zu den kleinsten Pflanzensamen überhaupt. Die Verbreitung der Samen erfolgt durch das Regenwasser (Hydrochorie), durch Weidetiere (Zoochorie) und den Wind (Anemochorie).



**Abb. 4 Same von *Orobanche ramosa***

### 1.3. Entwicklungszyklus der Orobanchen

Orobanchen sind Samenpflanzen. Sie entwickeln sich aus winzigen, 0,3-0,4 mm großen Samen, die in sehr großer Zahl produziert werden, und die sehr lange Zeit (bis zu Jahrzehnten) keimungsfähig im Boden verharren, bis sie von den Exsudaten einer Wirtspflanzen-Wurzel zur Keimung induziert werden.

Der Keimungsvorgang verläuft sehr komplex. Bevor die Keimungs-Stimulation durch die Wurzelausscheidungen der Wirtspflanze induziert werden kann, müssen die *Orobanche*-Samen konditioniert werden. Sie müssen etwa 10 Tage unter feucht-warmen Bedingungen verbringen. Unter diesen Bedingungen wird in den *Orobanche*-Samen das Phytohormon Gibberellin synthetisiert (Joel 1989), ohne das Samenkeimung nicht möglich ist. Dieser Befund wurde von der Arbeitsgruppe Wegmann (Bergmann 1992) bestätigt und nachgewiesen, dass die Gibberellinmenge nach 8 Tagen auf das 10fache angestiegen war. Fast alle Samen höherer Pflanzen enthalten genügend Gibberellin, nicht aber die Samen von Orobanchen.

Wird die Konditionierungsphase längere Zeit ausgedehnt, ohne dass die Keimungs-Stimulation durch eine Wirtswurzel erfolgt, gehen die Samen in eine sekundäre Dormanz („wet dormancy“) über (Vallance 1951).

Die optimalen Temperaturen für die Konditionierung und die Keimung können unterschiedlich sein, und sie können sich für verschiedene *Orobanche* spp. unterscheiden. So liegt das Temperaturoptimum für die Konditionierung bei 20-25 °C für *Orobanche ramosa*, bei 18 °C für *Orobanche crenata*. Für *O. crenata* liegt die optimale Keimungstemperatur bei 15-20 °C (Van Hezewijk et al. 1993).

Die Keimung erfolgt über einen breiten pH-Bereich zwischen pH 3,6 – 8,5 (Van Hezewijk 1994).

Wird die Keimung durch das Exsudat einer Wirtswurzel stimuliert, erfolgt die Keimung nach 5 bis 10 Tagen. Aus der Samenhülle tritt an der Mikropyle ein Keimschlauch, eine Radicula, aus, die rasch wächst. Weil der winzige Same nur über wenig Nahrungsvorräte verfügt, muss die Radicula sehr schnell die Verbindung zur Wirtswurzel finden, sonst stirbt sie ab. Es

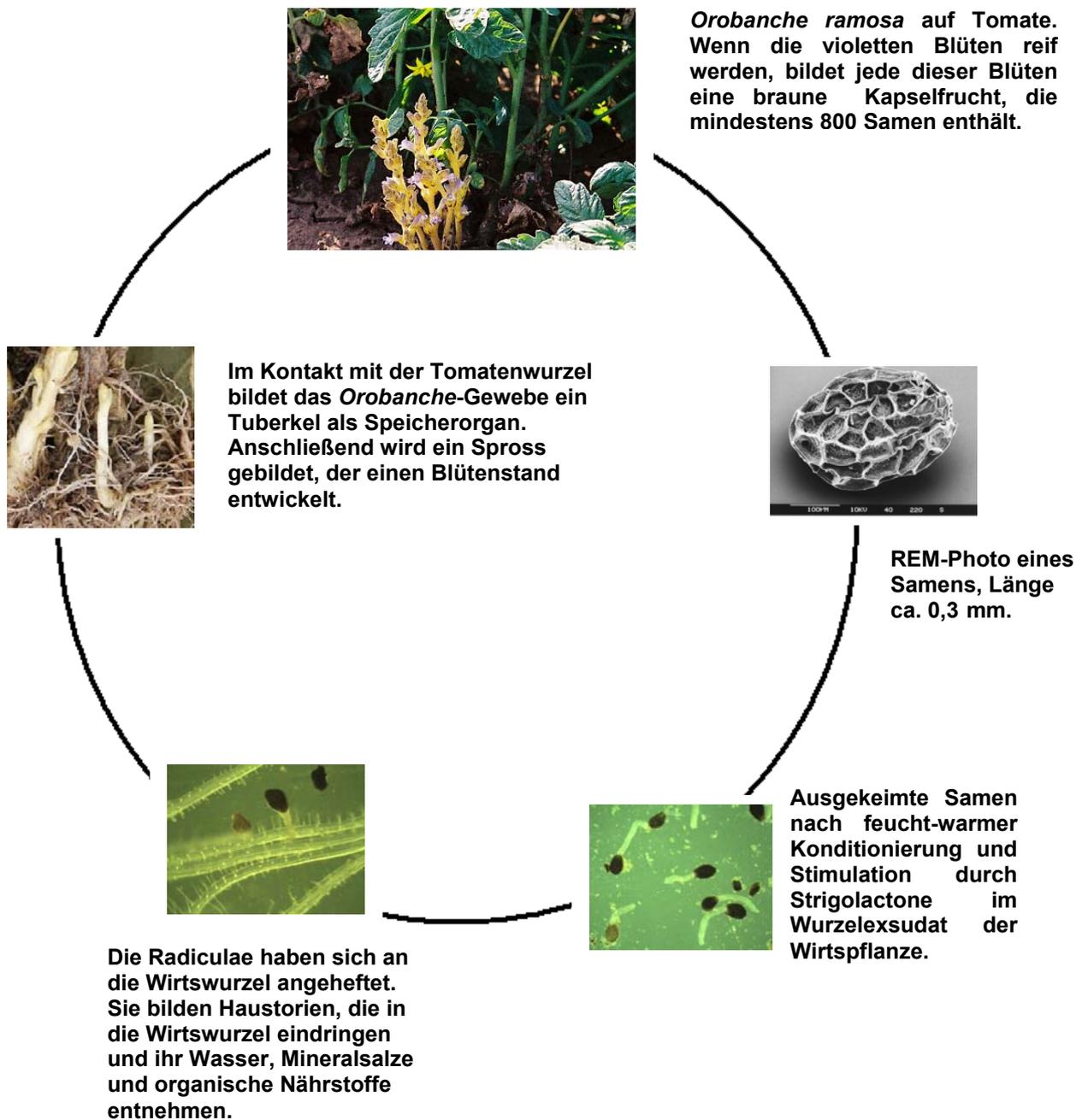
ist noch nicht erwiesen, ob die Radicula chemotropisch zu einer Wirtswurzel hin wächst.

Trifft die Radicula auf eine Wirtswurzel, bildet sich ein Appressorium, eine Anheftungsstelle, und es entwickelt sich ein Haustorium mit Suchhyphen, ähnlich wie bei pathogenen Pilzen, die in das Wurzelgewebe eindringen und den Anschluss an Xylem und Phloem herstellen.

Die Radiculae scheiden Exoenzyme aus, die das Eindringen in das Wurzelgewebe ermöglichen (Ben-Hod et al. (1993), Shomer-Ilan (1993, 1994), Arbeitskreis Wegmann (Brooks 1995, Baumann 1996, Bäcker 1997). Die Untersuchungen über Exoenzyme wurden mit *Orobanche aegyptiaca*, *O. crenata*, *O. cumana*, *O. ramosa* und *Striga hermonthica* durchgeführt. In allen Fällen waren die Pectinasen am aktivsten. Das passt zu den mikroskopischen Untersuchungen von Losner-Goshen et al. (1998), die beobachtet haben, dass das *Orobanche*-Gewebe die Mittellamelle zwischen den Zellen auflöst und so in das Gewebe eindringt.

Die Verbindung mit Xylem und Phloem ist durch elektronenmikroskopische Untersuchungen von Dörr & Kollmann (1995) belegt. Über diese Verbindung entnimmt die *Orobanche* der Wirtspflanze Wasser, anorganische Ionen und organische Nährstoffe. Die Aufnahme wird dadurch erleichtert, dass der Parasit gegenüber der Wirtswurzel durch Mannit-Synthese einen höheren osmotischen Druck aufbaut (Harloff 1991, Harloff & Wegmann 1993).

Das *Orobanche*-Gewebe bildet an der Wirtswurzel ein Knöllchen (Tuberkel), in dem Nährstoffe gespeichert werden. Aus diesem Tuberkel, aber nicht aus allen, entwickelt sich ein Spross, der Blütenstände entwickelt, und nach Bestäubung und Reifung Kapsel Früchte bildet, die wieder eine riesige Menge Samen entlassen. Wegen der großen Samenzahl entwickelt sich im Boden ein großes Samenpotential, aus dem sich Orobanchen aber nur entwickeln, wenn die ökologischen und physiologischen Bedingungen passen.



**Abb. 5 Entwicklungszyklus der Orobanchen**

Der beschriebene Entwicklungszyklus mit allen Details ist aber nur bei wenigen *Orobanche*-Unkräutern untersucht worden. Man darf aber davon ausgehen, dass die Entwicklung der seltenen Arten analog verläuft (Abb. 5).

#### 1.4. Vergleich zwischen den *Orobanche* Arten in der rumänischen Spontanflora und in Baden-Württemberg

In der Flora Rumäniens (Buia 1961) werden 22 *Orobanche* Arten und ihre Verbreitungsgebiete beschrieben. Ciocârlan (2000) beschreibt 21 *Orobanche* Arten in Rumänien. Nach Demuth (1996) sind in der Region Baden-Württemberg (Süddeutschland) auch 21 Spezies *Orobanche* Arten anzutreffen, 20 davon in der Spontanflora.

In Rumänien ist die Region Herrmannstadt (Sibiu) eines der reichsten Vorkommensgebiete. Von den 22 in Rumänien vorkommenden *Orobanche* Spezies, werden hier 16 gefunden (Drăgulescu, 2003). Aus diesem Grund wurde die Feldforschung in dieser Region begonnen: im Steppenreservat Zakel (bei Slimnic), Mocanu Hügel bei Gușterița und Ritoi Hügel (bei Slimnic).

Eines der reichsten Gebiete für *Orobanche* Vorkommen in Baden-Württemberg ist die Bergstraße. Hier kommen 17 Spezies vor (Röhner & Schwöbel 2006), deshalb war Hemsbach (bei Weinheim), Gemarkung Alteberg, von großem Interesse.

Im Vergleich zur deutschen Fachliteratur (siehe Uhlich et al. 1995 und Sebald 1996), werden in der rumänischen, zur Benennung der Hauptspezies einige Synonyme verwendet. Ciocârlan (2000) gebraucht statt *O. brassicae* Novopokr. die Bezeichnung *O. mutelii* F. W. Schultz, statt *O. arenaria* Borkh. die Bezeichnung *O. laevis* L., anstatt *O. cumana* Loefl. bevorzugt er *O. cernua* Loefl., *O. elatior* an Stelle von *O. major* L. (genau so wie Buia 1961). Drăgulescu (2003) greift auf die Bezeichnung *O. vulgaris* Poiret anstatt *O. caryophyllacea* Sm. zurück. In Ciocârlans Werk (2000) erscheint eine *Orobanche*-Spezies weniger, da die *O. picridis* (Buia 1961) nicht mehr registriert ist.

Für Rumänien und die Region Baden-Württemberg (in Deutschland) gibt es 15 gemeinsame *Orobanche* Arten:

*O. alba* Willdenow 1800. Wirtspflanzen: *Thymus pulegioides*, *T. serpyllum*.

*O. alsatica* Kirschleger 1836. Wirtspflanzen: *Peucedanum cervaria*, *P. alsatica*.

*O. arenaria* Borckhausen 1794. Wirtspflanzen: *Artemisia campestris*, *A. absinthium*, *A. vulgaris*.

*O. caryophyllacea* Sm. 1797. Wirtspflanzen: *Galium* sp, *Sherardia arvensis*, *Asperula glauca*, *Achillea millefolium*, *Lathyrus pratensis*, *Stachys recta*, *Pimpinella saxifraga*, *Teucrium chamaedrys*, *T. montanum*.

*O. elatior* Sutton 1798. Wirtspflanzen: *Centaurea scabiosa*, *Hypochoeris radicata*, *Echinops* sp.

*O. gracilis* Smith 1798. Wirtspflanzen, Leguminosen der Gattungen: *Cytisus*, *Dorycnium*, *Genista*, *Hippocrepis*, *Lotus*, *Lathyrus*, *Melilotus*, *Onobrychis*, *Spartium*, *Tetragonolobus*, *Trifolium*, *Ononis*, *Coronilla*.

*O. lucorum* A. Braun 1833. Wirtspflanzen: *Berberis vulgaris*, *Rubus idaeus*, *Crataegus oxyacantha*.

*O. lutea* Baumgarten 1816. Wirtspflanzen: *Medicago* sp., *Trifolium* sp., selten von den Gattungen *Lotus*, *Achillea*, *Hypericum*, *Plantago*, *Galium*, *Centaurea*, *Genista*, *Dorycnium*.

*O. minor* Sutton 1797. Wirtspflanzen: *Trifolium* sp., *Medicago* sp.

*O. picridis* F.W.Schultz 1830. Wirtspflanzen: *Picridis hieracioides*, *Crepis capillaris*, *Daucus carota*.

*O. purpurea* Jaquin 1762. Wirtspflanzen: *Achillea millefolium*, *A. nobilis*, *A. setacea*, *A. crithmifolia*, *Artemisia vulgaris*, *A. campestris*, *Anthemis austriaca*, *Cirsium acaule*, *Chrysanthemum macrophyllum*.

*O. ramosa* L. 1753. Wirtspflanzen: *Nicotiana tabacum*, *Cannabis sativa*, selten *Lycopersicon esculentum*. Selten schmarotzt sie auch auf Wildpflanzen, z. B. *Xanthium* sp.

*O. reticulata* Wallroth 1825. Wirtspflanzen: *Cirsium arvense*, *C. oleraceum*.

*O. salviae* F.W.Schultz 1830. Wirtspflanzen: *Salvia glutinosa*, *Salvia pratensis*, *Sanicula europaea*, *Teucrium montanum*, *Cirsium arvense*.

*O. teucrii* Hollandre 1829. Wirtspflanzen: *Teucrium chamaedrys*, *T. montanum*.

Alle 15 gemeinsame Arten befinden sich auf der Roten Liste der Pflanzen von Baden-Württemberg (Breunig & Demuth, 1999), aber nur drei

auf der Roten Liste der Pflanzen von Rumänien: *O. salviae*, *O. lucorum*, *O. Alsatica* (Olteanu et al. 1994, Boşcaiu et al. 1994), weitere sechs haben verschiedene Gefährdungskategorien, sind aber noch nicht auf der Roten Liste enthalten: *O. arenaria* Borckhausen, *O. purpurea* Jaquin sporadisch, *O. lutea* Baumgarten sporadisch, *O. elatior* Sutton, *O. gracilis* Smith, *O. teucarii* Hollandre selten, *O. reticulata* Wallroth, *O. alba* Willdenow selten (Drăgulescu 2003; Pop 1978).

Im Museum des Botanischen Gartens Bukarest befindet sich die Ausstellung der Präparate von Racoviță Leg. A. (1959-1962), wo *O. ramosa* mit ihren Wirtspflanzen in Alkohol konserviert wurde. Die Präparate enthalten 173 Wirtspflanzen von *O. ramosa*, die zu 21 Familien gehören. In der Fachliteratur werden 9 von diesen Wirtspflanzen anerkannt, 16 sind umstritten oder werden als falsche Wirte betrachtet (nach Uhlich et al. 1995). Die Überprüfung der anderen Wirtspflanzen würde eine andere, umfangreiche wissenschaftliche Forschung bedingen.

Die folgenden *Orobanche* Arten sind nur in Baden-Württemberg anzutreffen:

*O. amethystea* Thuillier. 1799. Wirtspflanze: *Eryngium campestre*.

*O. hederæ* Duby 1828. Wirtspflanzen: *Hedera helix*. Mehrjährig.

*O. rapum-genistæ* Thuillier 1799. Wirtspflanzen: *Cytisus scoparius*, *Genista* sp. Das Abbrennen der Wiesen fördert die Entwicklung von *Cytisus scoparius* und des dazugehörigen Parasiten.

*O. mayeri*. Wirtspflanze: *Laserpitium latifolium*, kommt nur im Naturschutzgebiet „Zeller Horn“ vor, und ist eine endemische Pflanze in Baden-Württemberg.

*O. bartlingii*. Wirtspflanzen: *Seseli libanotis*. Kommt nur im Naturschutzgebiet „Stiegelesfels“ vor. Folgende *Orobanche* Arten kommen nur in Rumänien vor:

*O. cumana* Wallr. 1825. Wirtspflanzen: *Artemisia austriaca*, *A. monogyna*, *A. maritima*, *Helianthus annuus*, *Lycopersicon esculentum*, *Nicotiana rustica*, *N. tabacum*, *Xanthium strumarium*, *X. spinosum*, *Sonchus oleraceus*.

*O. aegyptiaca* Pers. 1807. Wirtspflanzen: *Brassica oleracea*, *Lycopersicon esculentum*, *Solanum melongena*, *S. nigrum*, *Cucumis sativus*, *Nicotiana rustica*. Befindet sich auf der Roten Liste der Pflanzen.

*O. caesia* Rchb. 1829. Wirtspflanzen: *Artemisia absinthium*, *A. austriaca*, *A. pontica*, *A. campestris*, seltener auf *Thymus*, *Pelargonium* Arten. Befindet sich auf der Roten Liste der Pflanzen in Rumänien.

*O. flava* Mart. 1829. Wirtspflanzen: *Petasites niveus*, *P. officinalis*, *P. albus*, *Tussilago farfara*, *Adenostyles alliariae*, manchmal auch auf *Achillea*, *Chrysanthemum*, *Origanum*, *Thymus* sp.

*O. coerulescens* Stephan 1800. Wirtspflanze: *Artemisia campestris*.

*O. brassicae* Novopokr. 1928. Wirtspflanzen: *Brassica oleracea* var. *capitata* selten auf der var. *gongylodes* und *Lycopersicum esculentum*.

*O. loricata* Reichenb. 1829. (*O. artemisiae-campestris* Vaucher in Gaudin 1829). Wirtspflanzen: *Artemisia campestris*, *Picris*, *Orlaya*, *Carlina*, *Helichrysum*.

Zwei von denen sind also nach Oltean et al. (1994) und Boşcaiu et al. (1994) auf der Roten Liste eingetragen.

## 2. AUFGABENSTELLUNG DER VORLIEGENDEN DISSERTATION

Ökologische und physiologische Untersuchungen über die seltenen *Orobanche*-Arten in der Spontanflora in Rumänien und zum Vergleich in Baden-Württemberg (Süddeutschland) sollen mit dem Ziel durchgeführt werden, herauszufinden, warum diese Arten selten und vom Aussterben bedroht sind. Hierzu sollen die ökologischen Bedingungen an den jeweiligen Fundorten studiert und eine Reihe von Hypothesen geprüft werden:

- Die klimatischen Bedingungen könnten sich verändert haben.
- Ungenügende Samenproduktion könnte den Erhalt der Art bedrohen.
- Mangelhafte Bestäubung könnte sich aufgrund der sehr geringen und isolierten Populationen ergeben, weil kleine Populationen für Insekten nicht interessant sind, und weil bei Fremdbestäubern Pollenspenden fehlen.
  - Samenanlagen könnten durch Insekten gefressen werden.
  - Pathogene Pilze könnten die Pflanzen zerstören.
  - Ungenügende Empfindlichkeit der Samen gegen die Keimungsstimulanzien würden die Keimungsrate gering halten.
- Die *Orobanche*-Samen selbst oder die Wirtspflanze könnte Keimungs-inhibitoren enthalten, die die Keimung trotz Stimulation verhindern.
  - Die Wirtspflanzen könnten Resistenzmechanismen entwickelt haben, die das Eindringen des Haustoriums und somit die Ernährung der *Orobanche* verhindern.
  - Allelopathische Wirkungen von Wurzelausscheidungen der Begleitflora könnten die Keimung und Entwicklung der Orobanchen hemmen.

Besondere Bedeutung kommt dem Studium von Klima und Wetter zu, weil die Orobanchen auf bestimmte Bedingungen bei der Keimung angewiesen sind. Sie benötigen 10-15 Tage Konditionierung in feucht-warmer Umgebung, anschließend 10 Tage 20 °C in feuchtem Boden für die Keimung selbst. Auch Untersuchungen zur Wirtsspezifität der Orobanchen sollen durchgeführt werden.

Die zu erwartenden Ergebnisse werden nicht nur das Wissen über seltene *Orobanche*-Arten erweitern. Sie könnten auch zur Entwicklung von Methoden zur Erhaltung der seltenen Arten führen, aber auch neue Wege zur Bekämpfung der Landwirtschaftsschädlinge zeigen.

### 3. MATERIAL UND METHODEN

#### 3.1. Herkunft des biologischen Materials für die Laborversuche

Die Samen der *Orobanche*-Arten und ihrer Wirtspflanzen wurden mit Hilfe des Botanischen Gartens Macea (Tab. 2) besorgt, direkt von anderen Institutionen erhalten, selbstgeerntet (Tab. 1) und vom Botanischen Garten Iași besorgt. Die vegetative Vermehrung mancher Wirtspflanzen wurde im Gewächshaus der Universität Wien durchgeführt.

*Orobanche* Samen, die wir direkt von Institutionen erhalten haben:

*Orobanche hederæ* Vaucher ex Duby vom Botanischen Garten der Universität Freiburg im Breisgau, 2005.

*Orobanche hederæ* Duby 2005 und 2006 von der Ville de Caen, Direction de l'Environnement et du Cadre de Vie, Service Espaces Verts et Nature *Orobanche teucrii* (Daubes-Calcase aus Grasland) von der Université Libre de Bruxelles, Jardin Botanique J. Massart,

*Orobanche hederæ* (Sèvres), und *Orobanche hederæ* (Paris) vom Museum National d'Histoire Naturelle, Paris.

**Tab. 1 Selbst geerntete *Orobanche*-Samen**

Art	Jahr	Fundort
<i>O. alba</i>	2007	Covăsinț
<i>O. arenaria</i>	2006, 2007	Gușterița
<i>O. caryophyllacea</i>	2006, 2007	Gușterița
<i>O. caryophyllacea</i>	2007	Galoșpetreu
<i>O. hederæ</i>	2007	Tübingen
<i>O. lutea</i>	2007	Galoșpetreu
<i>O. minor</i>	2007	Gârbovăț
<i>O. ramosa</i>	2005, 2006, 2007	Macea
<i>O. reticulata</i>	2007	Gârbovăț
<i>O. teucrii</i>	2006, 2007	Gușterița

Samen von Wirtspflanzen vom Botanischen Garten Iași, 2007: *Carduus personata*, *Centaurea scabiosa*, *Cirsium vulgare*, *Dorycnium herbaceum*, *Galium verum*, *Medicago sativa*, *Salvia aethiopis*, *Teucrium chamaedrys*, *Thymus pannonicus*.

Tab. 2 Pflanzensamen vom Botanischen Garten Maceo (Samentausch)

Species	Jahr	Ort	Institution
<i>Orobanche hederæ</i> Duby	2006	Caen	Jardin Botanique de la Ville et de l'Université, Caen, France
<i>Orobanche hederæ</i> Vaucher ex Duby	2006	Dresden	Botanischer Garten der Technischer Universität, Dresden, Germany
<i>Orobanche hederæ</i> Vaucher ex Duby	2006	Berlin	Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Biologie, Spath-Arboretum, Berlin, Germany
<i>Orobanche lucorum</i> F.W.Schultz	2006	Berlin	Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Biologie, Spath-Arboretum, Berlin, Germany
<i>Orobanche major</i> L.	2006	Zurich	Botanischer Garten der Universität Zürich, Switzerland
<i>Achillea millefolium</i> L.	2006	Dijon	Museum d'Histoire Naturelle, Jardin des Sciences de l'Arquebuse, Dijon, France
<i>Galium mollugo</i> L.	2006	Dijon	Museum d'Histoire Naturelle, Jardin des Sciences de l'Arquebuse, Dijon, France
<i>Teucrium chamaedrys</i> L.	2006	Caen	Jardin Botanique de la Ville et de L'Université Caen, France
<i>Teucrium chamaedrys</i> L.	2006	Dijon	Museum d'Histoire Naturelle, Jardin des Sciences de l'Arquebuse, Dijon, France
<i>Teucrium chamaedrys</i> L.	2006	Rostock	Botanischer Garten der Universität Rostock, Germany
<i>Teucrium chamaedrys</i> L.	2006	Wien	Botanischer Garten, Universität für Bodenkultur, Wien, Austria
<i>Teucrium chamaedrys</i> L.	2006	Salaspils	National Botanic Garden, Salaspils, Latvia
<i>Orobanche hederæ</i> Duby	2007	Caen	Jardin Botanique de la Ville et de L'Université, Caen, France
<i>Orobanche lucorum</i> A. Braun	2007	Gent	Plantentuin Universiteit Gent, Belgium
<i>Orobanche hederæ</i> Vaucher ex Duby	2008	Dresden	Botanischer Garten der Technischer Universität, Dresden, Germany
<i>Orobanche hederæ</i> Duby.	2008	Caen	Jardin Botanique de la Ville et de L'Université, Caen, France

Pflanzen, die für Wurzelexsudate im Gewächshaus der Universtät Wien vegetativ vermehrt wurden: *Berberis vulgaris*, *Rubus idaeus*, *Hedera helix*, *Pelargonium zonale*, *Urtica dioica*, *Genista lydia*.

### 3.2. Herkunft der Chemikalien

Chemikalien für die Elektronenmikroskopie:

Vinylcyclohexendioxid (ERL,  $C_8H_{12}O_2$ ) von Sigma, Taufkirchen,  
Nonenylbernsteinsäureanhydrid NSA von Serva, Heidelberg,  
Weichmacher DER 732 von Electron Microscopy Sciences, Hatfield, PA.,  
USA,

Dimethylaminoethanol von Serva, Heidelberg,

Formvar von Merck, Darmstadt,

Uranylacetatdihydrat ( $UO_2$ )( $CH_3COO$ ) $_2$ ·2 $H_2O$ ) von Merck, Darmstadt,

Osmiumtetroxid ( $OsO_4$ ) von Science Services GmbH, München,

Natriumcacodylat ( $C_2H_6AsNaO_2$ ·3 $H_2O$ ) von Serva, Heidelberg,

Polytetrafluorethylen (PTFE = Teflon) von Starnberger Beschichtungen  
GmbH, Landsberg,

Glutaraldehyd von Fluka.

Chemikalien für die Molekularbiologie:

DNeasy<sup>®</sup> Plant Mini Kit von Qiagen, Hilden.

Taq-DNA-Polymerase von Invitrogen GmbH, Karlsruhe.

ExoSAP-IT<sup>®</sup> von USB Corporation, Cleveland, USA,

PCR-Puffer von Invitrogen GmbH, Karlsruhe.

Desoxy-Nucleotid-Triphosphate (dNTPs) Didesoxy-Nucleotid-Triphosphate  
(ddNTPs) von Invitrogen GmbH, Karlsruhe.

Oligonucleotid-Primer von biomers.net GmbH, Ulm.

Von Fluka wurden folgende Chemikalien bezogen:

Amberlite XAD 1180

Essigsäurethylester

Ferulasäure

Gibberellinsäure

Methionin

Methoxaminlösung

N-Methyl-N-(trimethylsilyl)-trifluoracetamid (MSTFA)

Pyridin

Syringasäure

Triton X 100

Von Carl Roth, Karlsruhe, wurde Zimtsäure gekauft.

Alle anderen Chemikalien wurden von Merck, Darmstadt, bezogen:

Aceton

Ammonium-Eisen(II)-Sulfat ( $NH_4$ ) $_2$ Fe( $SO_4$ ) $_2$ ·6 $H_2O$

Ammoniummolybdat ( $NH_4$ ) $_7$ Mo $_7$ O $_24$ ·4 $H_2O$

Ammoniumnitrat  $NH_4NO_3$

Ammoniumvanadat  $\text{NH}_4\text{VO}_3$   
Benzoessäure  
Calciumsulfat  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$   
Chloroform  $\text{CHCl}_3$   
Eisessig  
Ethanol  
Ferroin-Lösung  
Kaliumdichromat  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$   
Kaliumjodid KJ  
Kaliumsulfat  $\text{K}_2\text{SO}_4$   
Methanol  
Milchsäure  
Natriumhypochlorit  $\text{NaOCl}$   
Natriumhydroxid  $\text{NaOH}$   
Natrium-Kalium-Tartrat  
Natriumsalicylat  
Phosphorsäure  
Quecksilberjodid  $\text{HgJ}_2$   
Quecksilbersulfat  $\text{HgSO}_4$   
Salpetersäure  $\text{HNO}_3$   
Salzsäure  $\text{HCl}$   
Schwefelsäure  $\text{H}_2\text{SO}_4$   
Wasserstoffperoxidlösung

### 3.3. Bestimmung der *Orobanche* spp.

Zur Vorbereitung diente das Studium der Herbarien der Babeş-Bolyai-Universität Cluj-Napoca und des Brukenthal-Naturkunde-Museums Sibiu-Hermannstadt, des Botanischen Gartens Macea der „Vasile Goldiș“-Universität Arad sowie des Racovița-„Herbars“ im Botanischen Garten Bukarest, wo die Orobanchen mit ihren Wirtspflanzen in Alkohol aufbewahrt sind.

Die Bestimmung der *Orobanche* spp. erfolgte aufgrund morphologischer Merkmale wie Wuchsform, Blütenform und Blütengröße, Blütenfarbe (ein unsicheres Merkmal, weil manchmal sehr variabel), Stempelfarbe, Wirtspflanze (sofern eindeutig zu bestimmen). Die jüngste Monographie über europäische *Orobanche* spp. von Uhlich et al. (1995) erwies sich dabei als große Hilfe.

### **3.4. Ökologische Erhebungen an Fundorten von *Orobanche* spp. in der Spontanflora in Rumänien und in Baden-Württemberg, Süd-Deutschland**

Fundorte von *Orobanche* spp. in der Spontanflora wurden aufgrund von Literaturangaben und nach Kenntnis von Kollegen aufgesucht. In Deutschland standen die Verbreitungskarten des Naturkundemuseums Stuttgart zur Verfügung sowie auch Angaben von Wissenschaftlern, die die Kartierung der Flora von Baden-Württemberg durchgeführt hatten.

An jedem Fundort wurden folgende Arbeiten durchgeführt:

Bestimmung der gefundenen *Orobanche* spp. und des Blühstadiums.  
Photos.

Falls bereits abgeblüht und reif, Entnahme von Samen für Laborversuche.

Notierung der Begleitflora im Umkreis von einem Quadratmeter um die *Orobanche*. Dies ist nicht nur für die Bestimmung der Wirtspflanze wichtig, sondern kann Hinweise liefern auf mögliche allelopathische Reaktionen, wie z.B. Keimungshemmung der *Orobanche*-Samen durch Wurzelexsudate benachbarter Pflanzen.

Beschreibung der topographischen Lage.

Bestimmung der geographischen Koordinaten mit dem Global Positioning System (GPS), System Etrex Vista C. Die Auflösung beträgt 0,1“ ( $\cong$  3 m).

Entnahme einer Bodenprobe für die Bestimmung des pH-Wertes und die Analyse der Gehalte an Nitrat, Ammonium, pflanzenverfügbarem Phosphat und organischem Kohlenstoff.

Soweit möglich, wurden die Klimadaten und die Wetterdaten der vergangenen Jahre besorgt (besonders Temperatur und Niederschlag). Die Klimadaten wurden nach Köppen (Strahler & Strahler 2005) klassifiziert. In der Klimaformel gibt der erste Buchstabe die Klimazone, der zweite Buchstabe den Klimatyp und die nächsten Buchstaben den Klima-Untertyp an.

## **3.5. Laboruntersuchungen**

### **3.5.1. Bodenanalysen**

Die Analysen der an den Fundstellen entnommenen Bodenproben wurden in der Agenție pentru Protecția Mediului (Agentur für Umweltschutz) in Arad durchgeführt.

#### **3.5.1.1. Wassergehalt**

Weil die Analysendaten der Bodenproben auf das Bodentrockengewicht bezogen werden, ist die Bestimmung des Wassergehaltes in den Bodenproben erforderlich. Dazu werden 30-40 g Boden im Trockenschrank bei 150 °C bis zum konstanten Gewicht getrocknet. Die Abkühlung der Proben erfolgt im Exsikkator. Aus der Gewichts Differenz wird der Wassergehalt berechnet.

#### **3.5.1.2. Bestimmung des pH-Werts der Bodenproben**

20 g Erde werden in 50 mL CO<sub>2</sub>-freiem destillierten Wasser eine Stunde lang mit einem Magnetschüttler geschüttelt. Dann misst man den pH-Wert elektrometrisch mit einer Glaselektrode (pH-Meter ORION Search, USA).

#### **3.5.1.3. Bestimmung des Ammonium-Stickstoffs**

In einen 300 mL-Kolben gibt man 30 g frischen Boden + 90 mL 0,1 M K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung, mischt mit einem Glasstab gut durch und lässt bis zum nächsten Tag absitzen. Dann wird die überstehende Lösung filtriert.

Von dieser Lösung gibt man 10 mL in einen 50 mL-Messkolben, fügt 3 mL Natrium-Kalium-Tartrat-(Seignette-Salz)-Lösung (50 g in 100 mL dest. Wasser) + 1 mL Nessler-Reagens zu, füllt bis zur Marke mit dest. Wasser auf, mischt gut durch und lässt 10 min stehen. Dann wird die Absorption bei 440 nm im Spektralphotometer (UNICAM UV VIS Anglia) gemessen.

Nessler-Reagens: 11 g KJ + 15 g HgJ<sub>2</sub> werden in 100 mL dest. Wasser gelöst und mit 100 mL 6 M NaOH gemischt.

#### **3.5.1.4. Bestimmung des Nitrat-Stickstoffs**

20 g frischer Boden werden mit 100 mL  $\text{CaSO}_4$ -Lösung (0,25 g  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  in 100 mL dest. Wasser gelöst und filtriert) extrahiert und abfiltriert.

10 mL des Bodenextrakts + 1 mL Natriumsalicylat-Lösung (0,5 g in 100 mL dest. Wasser) werden in einem Tiegel auf dem Sandbad eingetrocknet. Dann gibt man 1 mL konz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  zu, vermischt gründlich mit einem Glasspatel. Der Inhalt des Tiegels wird in einen 50 mL-Messkolben in dest. Wasser gegeben, der Tiegel zwei- bis dreimal mit dest. Wasser nachgespült. Dann gibt man noch 12 mL Kalium-Natrium-Tartrat (Seignettesalz)-Lösung zu, füllt bis zur Marke mit dest. Wasser auf und misst die Extinktion bei 410 nm im Spektralphotometer (UNICAM UV VIS Anglia).

#### **3.5.1.5. Bestimmung des pflanzenverfügbaren Phosphats**

Die Bodenextraktion erfolgt mit Lactat-Acetat-Puffer, pH 3,7. Zur Herstellung dieses Puffers wird in einem 2 L-Messkolben 1 kg Milchsäure mit dest. Wasser gemischt und bis zur Marke aufgefüllt. Im Trockenschrank wird auf 95 °C erhitzt, damit sich die Milchsäure löst. Man lässt dann abkühlen und füllt wieder bis zur Marke mit dest. Wasser auf. Die Milchsäure-Lösung gibt man in ein 10 L-Gefäß, setzt 1708 g Eisessig + 770 g Ammoniumnitrat zu und füllt auf 10 L mit dest. Wasser auf. Die Arbeitslösung stellt man her, indem man 1 L der obigen Vorratslösung mit 10 L Wasser verdünnt.

Herstellung der Reagenz-Lösungen:

0,25 %ige Ammoniumvanadat-Lösung: 2,5 g Ammoniumvanadat,  $\text{NH}_4\text{VO}_3$ , werden in 500 mL kochendem dest. Wasser gelöst, nach etwas Abkühlen werden 20 mL konz. Salpetersäure zugesetzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird auf 1 L aufgefüllt.

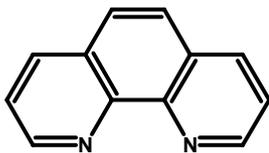
5%ige Ammoniummolybdat-Lösung: 5 g Ammoniummolybdat,  $(\text{NH}_4)_7\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , werden in 100 mL dest. Wasser bei 50 °C gelöst.

Durchführung der Analyse: 5 g trockenen Boden gibt man in einen 250 mL Erlenmeyerkolben, fügt 100 mL Lactat-Acetat-Puffer zu und schüttelt auf einem Rotationsschüttler (30 U/min). Dann werden durch ein Papierfilter (Phosphat- und Calcium-frei) 20-50 mL abfiltriert.

Im 100 mL-Messkolben gibt man zu 20 mL des Extrakts je 5 mL konz. Salpetersäure, 0,25%ige Ammoniumvanadat-Lösung und 5%ige Ammoniummolybdat-Lösung in dieser Reihenfolge. Dann füllt man bis zur Marke mit dest. Wasser auf. Die Proben werden nach 30 min bei 470 nm mit dem Spektralphotometer (UNICAM UV VIS Anglia) gemessen.

### 3.5.1.6. Bestimmung des organischen Kohlenstoffs

Organische Kohlenstoffverbindungen werden mit 1 n Kaliumdichromat ( $K_2Cr_2O_7$ ) in konz. Schwefelsäure bei 95 °C oxidiert. Dabei dient Quecksilbersulfat ( $HgSO_4$ ) als Katalysator. Das nicht verbrauchte Dichromat wird mit 0,2 n Ammonium-Eisen(II)-sulfat (Mohrsches Salz,  $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2$ ) zurücktitriert. Ferroin-Lösung wird dabei als Redox-Indikator eingesetzt. Ferroin ist eine o-Phenanthrolin-Eisen(II)sulfat-Komplex-Lösung, die als fertige Lösung von Merck geliefert wird.



**o-Phenanthrolin**

Herstellung der Reagens-Lösungen:

Kaliumdichromat-Lösung (1 n): 49,04 g (= 1/6 Mol)  $K_2Cr_2O_7$  (bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet) werden in 100 mL dest. Wasser gelöst. Dazu gibt man 200 mL konz. Schwefelsäure, in der 15 g  $HgSO_4$  als Katalysator gelöst sind. Dann füllt man auf 1000 mL mit dest. Wasser auf.

Titrationlösung (0,2 n): 80 g Ammonium-Eisen(II)-sulfat, Mohrsches Salz,  $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$  + 20 mL konz.  $H_2SO_4$  werden in 1000 mL dest. Wasser gelöst.

Durchführung der Analyse:

0,1 – 1 g Boden werden mit 10 mL Kaliumdichromat-Lösung, dann mit 20 mL konz. Schwefelsäure gemischt und im Trockenschrank über Nacht auf 95 °C erhitzt.

Nach dem Abkühlen werden 100 – 200 mL dest. Wasser + 5-6 Tropfen Ferroin-Lösung als Indikator zugegeben. Das nicht verbrauchte Dichromat wird mit Ammonium-Eisen(II)sulfat zurücktitriert. Das Titrationsende wird durch den Farbumschlag von blaugrün nach ziegelrot angezeigt.

Der organische Kohlenstoff im Boden dient als Indikator für Humus. 48-62 % des Kohlenstoffs sind im Humus gebunden. Als Erfahrungswert werden in der Praxis 58 % gerechnet. Der sich daraus ergebende Multiplikationsfaktor ist 1,724.

### **3.5.2. Rasterelektronenmikroskopische (REM) Analysen der *Orobanche*-Samenoberfläche**

Rasterelektronenmikroskopische Analysen wurden durchgeführt, weil die Struktur der Samenoberfläche von manchen Autoren als taxonomisches Merkmal betrachtet wird. Da die Samenhüllen ihre Struktur auch im Boden über viele Jahre unverändert behalten, könnte sich die REM zur taxonomischen Zuordnung von *Orobanche*-Samen im Boden eignen.

Die REM-Untersuchungen wurden im Zoologischen Institut der Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Abteilung für Evolutionsbiologie der Invertebraten, durchgeführt.

#### **3.5.2.1. Präparation**

Trockene *Orobanche*-Samen wurden 2 mal je 5 min mit 100%igem vergälltem Ethanol gewaschen und luftgetrocknet. Dann wurden sie auf Leit-Tabs (12 mm Ø) mit Scotch<sup>®</sup> Brand Tape auf gefaltete Metallfolienstückchen (Stiftprobenteller G 301 von Plano GmbH) aufgeklebt. Anschließend wurden die Proben besputtert (mit einer 20 nm dicken Au/Pd-Schicht bedampft).

Gekeimte *Orobanche*-Samen wurden 5 min mit 30%iger Wasserstoffperoxid-Lösung gewaschen, dann mit einer Ethanol-Konzentrationsreihe jeweils 10 min entwässert: 70%, 85%, 95%, 2 mal 100% Ethanol. Danach wurden sie mit einem Polaron E 3000 Series II Critical Point Drying – Gerät (Abb. 6) 4 h lang getrocknet. Die Proben wurden dann wie die trockenen Samen auf den Träger montiert und besputtert.



**Abb. 6 Critical Point Trocknung**



**Abb. 7 Bei der REM-Aufnahme**

### **3.5.2.2. REM-Aufnahmen**

Die REM-Aufnahmen erfolgten mit einem REM STEMI SV8 von ZEISS und dem CAMBRIDGE STEREOSCAN 250 MKS (Abb. 7).

### **3.5.3. Lichtmikroskopische Untersuchungen und Transmissions- elektronenmikroskopische (TEM) Untersuchungen von *Orobanche*-Samen**

Die lichtmikroskopischen Untersuchungen an Semidünnschnitten und die transmissionselektronen-mikroskopischen Untersuchungen wurden im Botanischen Institut der Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Lehrstuhl für Spezielle Botanik/Mykologie, durchgeführt.

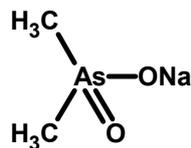
### 3.5.3.1. Vorbereitung der Proben

Die *Orobanche*-Samen wurden mit Glutaraldehyd in Cacodylatpuffer fixiert, mit Osmiumtetroxid nachfixiert mit Uranylacetat kontrastiert, mit Aceton entwässert, dann in Epoxidharz eingebettet. Von den Präparaten wurden Dünnschnitte angefertigt und mit der Transmissions-Elektronen-Mikroskopie untersucht.

Folgenden Reagenzien und Lösungen wurden verwendet: Cacodylatpuffer 0,2 M, 2% Glutaraldehyd in 0,1 M Cacodylatpuffer, Osmiumtetroxid-Lösung, Uranylacetat-Lösung, Epoxidharz.

#### Cacodylatpuffer 0,2 M

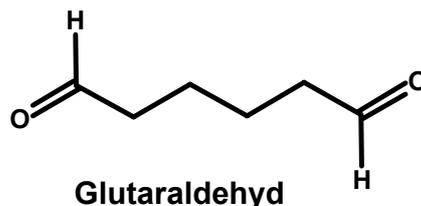
42,8 g Natriumcacodylat werden in 500 mL bidest. Wasser gelöst, mit 1 N HCl auf pH 7,2 eingestellt und auf 1000 mL aufgefüllt. Der Puffer wird im Kühlschrank aufbewahrt.



Natriumcacodylat

#### Glutaraldehyd in 0,1 M Cacodylatpuffer

25 mL 25%iger Glutaraldehyd werden in 131,25 mL bidest. Wasser so lange gerührt, bis sich alles aufgelöst hat, dann mit 156,25 mL 0,2 M Cacodylatpuffer gemischt.



Glutaraldehyd

#### Osmiumtetroxid-Lösung

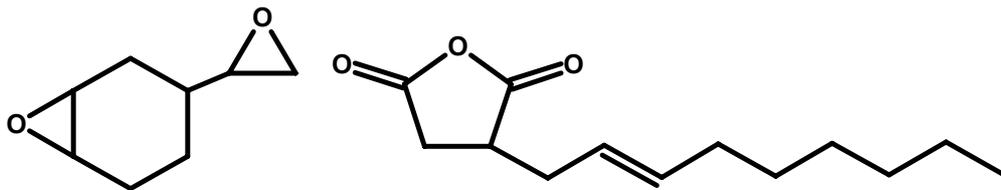
500 mg Osmiumtetroxid (OsO<sub>4</sub>) (1 Ampulle) werden in 25 mL bidest. Wasser gelöst. Für die Auflösung sind mindestens 12 h erforderlich. Die Lösung muss luftdicht und dunkel aufbewahrt werden. Vor Gebrauch werden die 25 mL Osmiumtetroxidlösung mit 25 mL 0,2 M Cacodylatpuffer gemischt.

#### Uranylacetat-Lösung

0,5 g Uranylacetat ( $\text{UO}_2$ )(acetat)<sub>2</sub>) werden in 50 mL bidest. Wasser so lange gerührt, bis die Lösung klar ist. Wegen der Lichtempfindlichkeit des Uranylacetats muss die Lösung im Dunkeln gelagert werden. Wegen der  $\alpha$ -Strahlung des Urans müssen die Arbeiten mit Uranylacetat hinter einer Plexiglasabschirmung durchgeführt und die Abfälle als radioaktiver Abfall entsorgt werden.

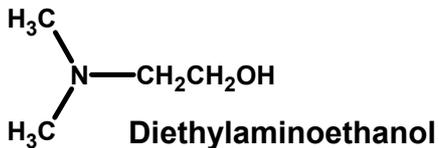
### Epoxidharz

200 g Vinylcyclohexendioxid (ERL) + 120 g DER 732 Weichmacher + 520 g Nonenylbernsteinsäureanhydrid (NSA, Härter) + 8 g Dimethylaminoethanol (S-1 als Beschleuniger) werden in einem Plastikbecher gemischt und 15 min gerührt. Die Mischung wird bis zum Gebrauch in der Tiefkühltruhe gelagert. Sie wird eine Stunde vor Gebrauch aus der Tiefkühltruhe genommen.



Vinylcyclohexendioxid

Nonenylbernsteinsäureanhydrid



### 3.5.3.2. Fixierung und Kontrastierung der Proben

Die Proben werden 1 Stunde lang in 2%igem Glutaraldehyd in 0,1 M Cacodylat-Puffer fixiert, dann 6 mal je 10 min mit 0,1 M Cacodylat-Puffer gewaschen. Glutaraldehyd vernetzt benachbarte Polypeptide.

Anschließend werden die Proben mit 1%iger Osmiumtetroxid-Lösung in 0,1 M Cacodylat-Puffer 1 Stunde lang im Dunkeln behandelt. Dabei werden vor allem ungesättigte Lipide fixiert und metallisches Osmium in die Strukturen eingelagert (Hennig 1981). Dadurch wird eine Kontrastierung erreicht. Nach 1 Stunde werden die Proben 6 mal je 10 min mit bidest. Wasser gewaschen. Dann erfolgt die weitere Kontrastierung mit 1%iger

Uranylacetat-Lösung für 1 Stunde im Dunkeln. Uranylacetat reagiert vor allem mit Nucleinsäuren und Proteinen (Shah 1969, Hayat 2000). Die Arbeiten mit Uranylacetat werden zur Abschirmung der  $\alpha$ -Strahlung hinter einem Plexiglasschirm durchgeführt. Nach 1 Stunde werden die Proben 3 mal je 10 min mit bidest. Wasser gewaschen.

Danach erfolgt die Entwässerung der Proben mit ansteigender Aceton-Konzentrationsreihe 10%, 25%, 50%, 70%, 95%, dreimal 100% Aceton.

### **3.5.3.3. Einbetten der Proben in Epoxyharz**

Die Infiltration der Proben wird zunächst für 30 min mit Epoxyharz-Aceton 1:1, dann für 30 min im Verhältnis 2:1 und schließlich mit acetonfreiem Epoxyharz über Nacht im Exsikkator vorgenommen.

Dann werden die Proben in kleinen Silicon-Schälchen (Science Services GmH, München) in das Epoxyharz eingebettet und 16 Stunden bei 70 °C polymerisiert. Von den so entstehenden Kunstharzblöckchen werden anschließend die Ultradünnschnitte hergestellt.

Wegen der Kleinheit der *Orobanche*-Samen wurden diese nicht in Silicon-Schälchen, sondern in einem Epoxyharz-Tropfen zwischen zwei teflon-beschichteten Objektträger eingebettet. Aus dem Kunstharz-Scheibchen wurden unter dem Mikroskop geeignete Objekte ausgewählt, ausgeschnitten, mit weiterem Kunstharz auf ein „normales“ Kunstharzblöckchen aufgeklebt und erneut ausgehärtet.

### **3.5.3.4. Schneiden der Proben**

Bevor die Proben mit einem Mikrotom geschnitten werden können, müssen die Spitzen der Kunstharz-Stäbchen unter dem Mikroskop hergerichtet werden. Sie werden mit einem LEICA EM TRIM (Abb. 8) zurechtgefräst.

Dann erfolgt das Schneiden der Proben mit dem ULTRACUT E (Fa. Reichart-Jung, Abb. 9) mit Diamant-Messer (Drukker International BV, Cuijk, Niederlande) für Ultradünnschnitte, mit Glasmesser für Semi-dünnschnitte.

Die Ultradünnschnitte für die Transmissions-Elektronenmikroskopie haben eine Dicke von 80 nm. Für die Lichtmikroskopie wurden 800 nm dicke Semidünnschnitte hergestellt.



**Abb. 8 LEICA EM TRIM**



**Abb. 9 ULTRACUT E**

### **3.5.3.5. Transmissionselektronenmikroskopische Untersuchungen**

Die Untersuchungen werden mit einem EM 109 von Zeiss (Abb. 10) durchgeführt. Die Ultradünnschnitte werden auf einem 3 mm Durchmesser Träger-Netzchen aus Kupfer fixiert, die mit einer 20-30 nm dicken Formvarschicht überzogen sind. Der Formvar-Film wird aus einer Lösung von 0,3 g Formvar in 100 mL Chloroform hergestellt. Dann wird das Träger-Netzchen mit der Probe ins Elektronenmikroskop eingesetzt und die Vakuumschleuse geöffnet. Das Vakuum beträgt  $3 \times 10^{-7}$  bar. Das Gerät ist mit einer Kamera ausgestattet, mit der ausgewählte Objekte auf Filme photographiert werden können.



**Abb. 10 ZEISS EM 109**

### **3.5.3.6. Lichtmikroskopische Untersuchungen an Semidünnschnitten**

800 nm dicke Präparateschnitte wurden auf Objektträger fixiert und unter dem Mikroskop analysiert. Die Photoaufnahmen wurden mit einer Digitalkamera Axiocam ICc1 photographiert.

## **3.5.4. Genanalytische Identifizierung endophytischer Pilze**

Die Isolation der DNA der Pilze erfolgt mit Hilfe des DNeasy<sup>®</sup> Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden). Mittels PCR (Polymerase Chain Reaction) wird die DNA exponentiell vermehrt. Sie wird anschließend mittels Gelelektrophorese gereinigt und sequenziert. Die Gensequenzen werden mit einer Datenbank verglichen.

### **3.5.4.1. Polymerase-Ketten-Reaktion**

Bei der sogenannten Polymerase-Ketten-Reaktion folgen viele Zyklen der DNA-Verdoppelung, sodass man in kurzer Zeit aus sehr wenig Ausgangsmaterial viele Kopien eines spezifischen DNA-Abschnitts gewinnen kann (Mullis et al 1986).

Für jede PCR benötigt man neben dem sogenannten Matrizenstrang (Template-DNA), der amplifiziert werden soll, folgende Reaktionskomponenten: DNA-Polymerase, DNA-Oligonucleotide oder Primer, Desoxynucleotid-Triphosphate, Reaktionspuffer.

#### **DNA-Polymerase**

Um zu einer einzelsträngigen Template-DNA den komplementären Strang synthetisieren zu können, braucht man, wie bei der normalen Replikation in der Zelle, eine DNA-Polymerase als Enzym. Die DNA-Polymerase fügt die Desoxyribonucleotide in 5'-3'-Richtung zu einem Polynucleotidstrang zusammen. Da bei der PCR zeitweise mit sehr hohen Temperaturen gearbeitet wird, muss die DNA-Polymerase thermostabil sein. Aus diesem Grund wird die *Taq*-DNA-Polymerase aus dem thermophilen Bacterium *Thermus aquaticus* verwendet. Bei über 90 °C denaturiert das Enzym noch nicht, sein Temperaturoptimum liegt bei 72 °C.

### **DNA-Oligonucleotide oder Primer**

DNA-Oligonucleotide sind kurze, einzelsträngige DNA-Fragmente aus etwa 15 bis 25 Desoxyribonucleotiden mit bekannter Sequenz, die künstlich hergestellt werden müssen. Damit eine DNA-Polymerase überhaupt den komplementären Strang zu einem Matrizenstrang synthetisieren kann, benötigt sie einen Primer, der an die Template-DNA gebunden (hybridisiert) ist. Dieser Primer dient als Startpunkt für die Replikation. In der lebenden Zelle übernehmen dies kurze RNA-Primer, die eine zum Matrizenstrang komplementäre Sequenz aufweisen. Um eine PCR durchführen zu können, muss daher die Sequenz des betreffenden DNA-Abschnitts wenigstens teilweise bekannt sein, um einen passenden Primer zu synthetisieren. Andererseits können so, mit der Wahl der Primersequenz und unter Verwendung zweier verschiedener Primer, Start- und Endpunkt des zu amplifizierenden DNA-Abschnitts genau festgelegt werden.

### **Desoxynucleotid-Triphosphate (dNTPs)**

Für die Synthese des komplementären Strangs sind die Grundbausteine erforderlich. Sie müssen bei der PCR als Desoxyadenosin-, Desoxyguanosin-, Desoxycytidin- und Desoxythymidin-Triphosphat (dATP, dGTP, dCTP und dTTP) zugegeben werden.

### **Reaktionspuffer**

Damit Enzyme optimal arbeiten können, müssen bei den Reaktionsansätzen geeignete Bedingungen geschaffen werden. Die DNA-Polymerase benötigt einen geeigneten Puffer, der KCl und das als Coenzym genutzte  $MgCl_2$  enthält. Bei Verwendung der *Taq*-DNA-Polymerase kann Rinderserum-Albumin (BSA) zur Bindung unerwünschter Hemmstoffe der PCR zugegeben werden.

### **Durchführung der PCR**

Mit diesen Reaktionskomponenten wird nun die PCR in einem Thermocycler (MJ Research PTC 200, Biozym Diagnostik GmbH, Oldendorf) durchgeführt, der das Temperaturprogramm automatisch ausführt. Jeder Zyklus besteht aus drei Schritten. Im Schritt I wird das Reaktionsgemisch auf 94 °C erhitzt. Dabei trennt sich der Doppelstrang der DNA in zwei Einzelstränge. Nun wird die Temperatur auf 50-60 °C gesenkt,

sodass die Primer an komplementäre Sequenzen der Template-DNA hybridisieren können. Dieser zweite Schritt wird als Annealing bezeichnet. Der Schritt III erfordert eine Temperatur von 72 °C (Optimal-Temperatur der *Taq*-DNA-Polymerase), um den Zusammenbau der dNTPs vom 3'-Ende der Primer startend in Gang zu setzen. *Taq*-DNA-Polymerase erkennt das 3'-Ende des Primers und beginnt mit der Verlängerung. Dieser Vorgang wird Extension genannt. Der gesamte Zyklus wird bei der PCR ca. 30 mal wiederholt. Die Reaktion geht mit dem Verbrauch der dNTPs zu Ende.

Reaktionsansatz:

2,50 µL PCR-Puffer (10-fache Konzentration, ohne MgCl<sub>2</sub>)

17,05 µL doppeldestilliertes Wasser

0,75 µL MgCl<sub>2</sub> (50 mM)

1,00 µL dNTPs (5 mM)

0,50 µL forward-Primer (25 pmol/µL)

0,50 µL reverse-Primer (25 pmol/µL)

0,10 µL BSA (1 %)

0,10 µL *Taq*-DNA-Polymerase

2,50 µL Isolationsprodukt

Σ 25,00 µL PCR-Ansatz pro Reaktion

Für die genanalytische Pilzidentifizierung standen folgende Primer zur Verfügung (biomers.net GmbH, Ulm):

forward-Primer

ITS1 mit der Sequenz (5' → 3') TCCGTAGGTGAACCTGCGG

5.8Tulric mit der Sequenz CATTTCGATGAAGACCGT

LR0R mit der Sequenz ACCCGCTGAACTTAACG

LR2Tul mit der Sequenz CAAGTACCGCGAGGGAAAGG

SEBssu1 mit der Sequenz CTTCTTAGAGGGACTGTCAGGA

ITS1F mit der Sequenz CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA

5.8SR mit der Sequenz TCGATGAAGAAGGCAGCG

LR3R mit der Sequenz GTCTTGAAACACGGACC

reverse-Primer

ITS4-Tul mit der Sequenz CCGCCAGATTCACACATTGA

LR2Tulrev mit der Sequenz CACCTTCCCTCGCGGTAC

LR6 mit der Sequenz CGCCAGTTCTGCTTACC

ITS4 mit der Sequenz TCCTCCGCTTATTGATATGC

NL4 mit der Sequenz GTCCGTGTTTCAAGACGG

MWS1628 mit der Sequenz GCCCACTAGAAACTCTCACC

#### **3.5.4.2. Agarose-Gelelektrophorese**

Mit Hilfe der Gelelektrophorese wird der Erfolg der PCR überprüft. Die Wanderungsgeschwindigkeit der DNA ist annähernd umgekehrt proportional zum Logarithmus der Größe (in bp) der DNA-Fragmente. Die exakte Größe wird durch Vergleich mit einer „DNA-Leiter“ bestimmt, bei der die Länge der einzelnen Banden bekannt sind. Die Trennung erfolgt in einer Agagel Mini Biometra<sup>®</sup> Gelkammer (Blomed Analytik GmbH, Göttingen) auf 0,7 % Agarosegel, das aus 30 ml flüssiger Agarose/TBE-Mischung gegossen und nach Erstarren in der Elektrophorese-Kammer mit TBE-Puffer überschichtet wird. Der TBE-Puffer besteht aus 216 g Tris + 110 g Borsäure + 14,8 g EDTA in 2 L doppeldestilliertem Wasser; pH-Einstellung ist nicht erforderlich. 3 µL der PCR-Probe wird aufgetragen und bei einer angelegten Spannung von 140 V während 15 min getrennt.

Sichtbar gemacht wird die DNA auf dem Gel durch Fluoreszenzmarkierung mit Ethidiumbromid, das sich zwischen zwei Basenpaaren der Doppelhelix einlagert und im UV-Licht fluoresziert. Dazu werden die Gele nach der Elektrophorese 30 min in einem Ethidiumbromidbad (0,5 µg/mL) gefärbt und anschließend kurz mit Wasser gewaschen. Auf einem Transilluminator (E.A.S.Y Herolab, Wiesloch) werden die Gele bei Anregung durch 254 nm UV-Licht betrachtet und photographisch dokumentiert.

#### **3.5.4.3. Sequenzierung**

Die PCR-Produkte werden vor der Sequenzierung mit Hilfe des ExoSAP-IT<sup>®</sup> (USB Corporation, Cleveland, USA) aufgereinigt. Dabei

handelt es sich um eine Mischung von Exonuclease I und Alkalischer Phosphatase (Shrimp Alkaline Phosphatase SAP aus *Pandalus borealis*) in einem speziellen Puffer. Durch die Exonuclease werden ungepaarte Nucleotide abgebaut. Die Alkalische Phosphatase spaltet Phosphatgruppen ab. Pro Reaktionsansatz werden 3,5  $\mu\text{L}$  PCR-Produkt mit 1,5  $\mu\text{L}$  ExoSAP-IT® (1:10 mit doppeldest. Wasser verdünnt) gemischt. Die Reaktion wird im Thermocycler mit folgendem Temperaturprogramm durchgeführt: 37,0 °C für 15 min, anschließend 15 min bei 80 °C.

Die Sequenzierung wird mit dem Kettenabbruchverfahren nach Sanger et al. (1977) durchgeführt. Das zu sequenzierende DNA-Fragment wird zunächst bei 96 °C denaturiert. Die so gewonnene einzelsträngige DNA bildet das Ausgangsmaterial für die Sequenzierreaktion; sie wird als Matrizen-DNA (template) bezeichnet. Zugefügt werden jeder Probe ein zu einer einzigen Region der Matrizen-DNA komplementärer Sequenzprimer, DNA-Polymerase und Desoxynucleotidtriphosphate (dNTPs) sowie Didesoxynucleotid-triphosphate (ddNTPs), als Strukturanaloga der dNTPs.

Die Gesamtreaktion der Zyklussequenzierung verläuft prinzipiell wie die PCR; sie wird im Thermocycler durchgeführt: Denaturierung bei 96 °C, beim Annealing bei 50 °C hybridisiert der Sequenzierprimer mit der Matrizen-DNA. Bei der Extension bei 60 °C verlängert die DNA-Polymerase den neuen DNA-Strang in 5'-3'-Richtung durch Anfügen von dNTPs oder ddNTPs. Sobald die Polymerase ein ddNTPs eingebaut hat, kann sie daran kein weiteres Nucleotid einfügen, da beim ddNTP die zur Verknüpfung notwendige OH-Gruppe am 3'-Ende fehlt. An dieser Stelle bricht die Reaktion ab (Kettenabbruchverfahren). Im nächsten Zyklus dient die Matrizen-DNA wieder als Ausgangsprobe für die Synthese neuer, komplementärer DNA-Stücke. Da die DNA-Polymerase ddNTPs zufällig einbaut, kommt es zu einer rein statistischen Unterbrechung der Kettenreaktion. Es entstehen viele Fragmente unterschiedlicher Länge. Trennt man die entstandenen Fragmente der Länge nach durch Gelelektrophorese auf, kann man die Sequenz bei entsprechender Markierung der DNA-Stücke ablesen.

Durch den Einsatz fluoreszenzmarkierter ddNTPs (jede der vier Verbindungen mit einem anderen Farbstoff) wird die Aufklärung der Sequenz in einer einzigen Gelelektrophorese möglich. Ausgewertet wird die Laufzeit (Fragmentlänge) und die Lichtintensität der vier Farben nach Laser-Anregung der Fluoreszenz. Die Auswertung erfolgt mit einem automatischen Sequenzierer mit der zugehörigen Software (ABI PRISM<sup>®</sup> 3100 Genetic Analyzer mit 3130xl Upgrade Applied Biosystems, Foster City, USA).

Zur Auswertung der Ergebnisse wurden die DNA-Sequenz-Datenbank des „National Center for Biotechnology Information“ (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) unter Verwendung des Basic Local Alignment Search Tools BLAST (Altschul et al. 1997) und die DNA-Datenbank für Pilze des Lehrstuhls für Allgemeine Botanik und Mykologie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen verwendet.

### 3.5.5. Keimungsversuche

#### 3.5.5.1. Anzucht der Wirtspflanzen im Gewächshaus

Die Wirtspflanzen für die Gewinnung der Wurzelexsudate wurden im Gewächshaus der Universität Wien angezogen (Abb. 11 und Abb.12). Die Gewinnung der Wurzelexsudate, ihre instrumentelle Analyse und ein Teil der Keimungsversuche wurden im Department für Chemische Ökologie und Ökosystemforschung der Universität Wien durchgeführt.



**Abb. 11**

**Anzucht von Wirtspflanzen im Gewächshaus der Universität Wien**



**Abb. 12**

Eine Woche vor der Gewinnung der Wurzelexsudate wurden die Wirtspflanzen in Vermiculit übergeführt (Abb. 13) und mit reinem Wasser gegossen, um durch den Mangel an Mineralsalzen die Ausscheidung der Keimungsstimulantien zu fördern (Yoneyama et al. 2007).



**Abb. 13 Weitere Aufzucht in Vermiculit (*Cirsium vulgare*)**



**Abb. 14 Wurzelmasse von *Cirsium vulgare***

### 3.5.5.2. Herstellung von Wurzelexsudaten der Wirtspflanzen

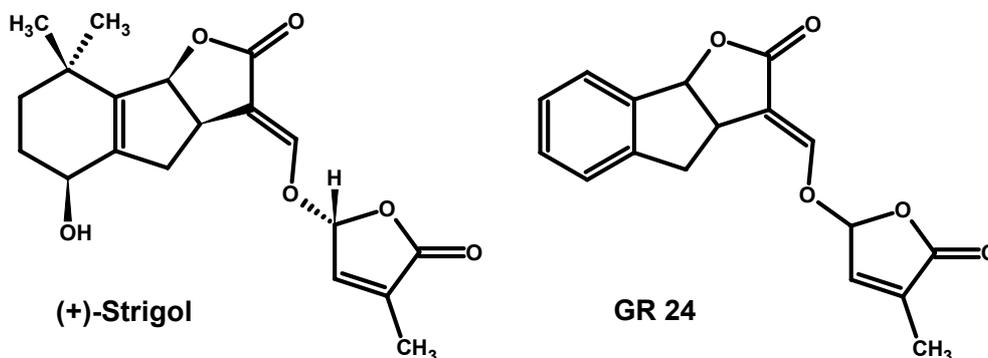
Die Topfpflanzen wurden mit reichlich Wasser ausgewaschen (Milli-Q-Qualität). Die Pflanzen wurden in Bechergläsern mit Milli-Q-Wasser gestellt (Abb. 14). Die Größe der Bechergläser richtete sich nach dem Umfang des Wurzelballens. Es wurde ein möglichst kleines Wasservolumen angestrebt; die Wurzeln waren aber ganz bedeckt. Die Bechergläser wurden in Aluminium-Folie eingepackt, auf einem Horizontalschüttler SM 25 (Edmund Bühler) gestellt und 3 h geschüttelt. Prof. Hadacek von der Universität Wien (pers. Mitteilung) hat beobachtet, dass die Menge der von Wurzeln exsudierten Stoffe durch das Schütteln wesentlich erhöht wird. Barber & Gunn (1974) haben festgestellt, dass mechanischer Stress die Ausscheidung von Stoffen aus den Wurzeln von Getreidepflanzen erhöhte.

Für die Keimungsversuche wurden die Wurzelexsudate filtriert und unkonzentriert eingesetzt.

Wurzelexsudat der „Begleitflora“ wurde analog hergestellt, jedoch mit den aus dem Boden ausgewaschenen Wurzeln einer Pflanzenmischung, die in unmittelbarer Nachbarschaft von Orobanchen ausgestochen waren.

### 3.5.5.3. Vorbereitung der GR 24 – Lösung

GR 24 (benannt nach dem Chemiker Gerald Rosebery, der die Verbindung synthetisiert hat) ist ein synthetisches Strukturanalogon des Strigols (vgl. Strukturen in der Graphik). Die Substanz war ein Geschenk von Prof. Dr. Binne Zwanenburg, Radboud-Universität Nijmegen.



Summenformel  $C_{17}H_{13}O_5$

Molekulargewicht = 297

1 M = 300 g / L

1  $\mu$ M = 300  $\mu$ g / L = 300 ppm

Da die Substanz schwer wasserlöslich ist, wurde eine Urlösung von 3 mg GR 24 in 10 mL Methanol hergestellt, die im Gefrierfach aufbewahrt wurde. Für die Anwendung als Keimungsstimulans wurde die Urlösung 1:100 mit dest. Wasser verdünnt.

#### **3.5.5.4. Vorbereitung der *Orobanche*-Samen für die Keimungsversuche**

##### **Sterilisation der *Orobanche*-Samen**

In der Regel ist die Oberflächensterilisation der *Orobanche*-Samen erforderlich, weil die Samenhülle sehr zerklüftet (REM-Photos unter 4.2.2.) und mit Bakterien und Pilzsporen verunreinigt ist. Die Samen werden 3 min in 1%iger Natriumhypochlorit-Lösung (NaOCl) sterilisiert, der zur besseren Benetzung der Oberfläche ein Tropfen Triton-X100 zugesetzt wurde. Nach der Sterilisation werden die Samen abfiltriert und mit 500 mL sterilem destilliertem Wasser gewaschen.

##### **Konditionierung der *Orobanche*-Samen**

Bevor *Orobanche*-Samen zur Keimung induziert werden können, benötigen sie eine Konditionierungsphase von 10-15 Tagen unter feucht-warmen Bedingungen. Die sterilisierten Samen werden auf einem Filterpapier in einer Petrischale mit bidest. Wasser befeuchtet; sie müssen nass bleiben, dürfen aber nicht schwimmen. Die Petrischalen werden mit einem Streifen Parafilm abgedichtet und 10 Tage im Dunkeln in einem Klimaschrank bei 20 °C gelagert (Abb. 16).

#### **3.5.5.5. Keimungsstimulation**

Nach der Konditionierungsphase werden die Petrischalen geöffnet und mit einer Mikroliterspritze 100 µL GR 24 - Lösung (3 ppm) oder Wurzel-exsudat zugesetzt (Abb. 15). Dann werden sie wieder verschlossen und im Klimaschrank im Dunkeln bei 20 °C gelagert (Abb. 16).

Ab 5 Tagen wurden die Proben regelmäßig unter dem Stereomikroskop auf Keimung kontrolliert. Im allgemeinen werden Samen als gekeimt gezählt, deren Radiculae (Keimschläuche) aus der Samenhülle ausgetreten sind.



**Abb. 15 Ansatz von Keimungsversuchen in Petrischalen**



**Abb. 16 Inkubation der Keimungsversuche bei 20 °C im Dunkeln**

### **3.5.5.6. Zusatz potentieller Wirkstoffe**

In Parallelversuchen wurden folgende Verbindungen (jeweils 1 mM) mit Wurzelexsudat bzw. GR 24 kombiniert:

- Zimtsäure, Ferulasäure, Syringasäure als potentielle Keimungshemmstoffe.
- Benzoesäure, die in vielen Wurzelexsudaten vorkommt.
- Methionin wegen der Beobachtung (Vurro 2004), dass Keimungshemmung bzw. Verkürzung der Radiculae verursacht wird.
- Gibberellinsäure als Phytohormon, das zur Keimung erforderlich ist, Zellstreckungswachstum verursacht, und möglicherweise die Verkürzung der Radiculae aufheben kann.

### **3.5.5.7. Stereomikroskopische Beobachtung und Photodokumentation**

Stereomikroskopische Beobachtungen wurden mit einem Olympus-Stereomikroskop SZH10 mit digitaler Kamera Moticam 1000 (in Wien), oder Bresser Trinocular mit MicrOcular 3.0 MP (in Arad) vorgenommen. Die Bilder wurden im Computer gespeichert.

### **3.5.6. Instrumentelle Analyse der Wurzelexsudate**

#### **3.5.6.1. Konzentrierung der Wurzelexsudate**

Für die instrumentelle Analyse der Wurzelexsudate war eine größere Substanzmenge erforderlich. Deshalb wurde das nach 3.5.5.2. erhaltene Wasser aus dem Wurzelraum über mehrere Tage gesammelt, filtriert und dann im BÜCHI ROTAVAPOR R-124 mit BÜCHI WATERBATH B-480 bei 50°C auf 20-30 mL konzentriert.

#### **3.5.6.2. Fraktionierung der Wurzelexsudate über Amberlite XAD 1180 in eine hydrophile und eine hydrophobe Fraktion.**

(Aus WikEcology, der Methoden-Sammlung des Vienna Ecology Centre der Universität Wien). Nach diesem Analysen-Schema für pflanzliche Naturstoffe wird die hydrophile Fraktion nach Derivatisierung mit Hilfe der Gaschromatographie/Quadrupol-Massenspektrometrie (GC-MS), die hydrophobe Fraktion durch Hochdruck-Flüssigchromatographie (HPLC, High-Performance Liquid Chromatography) mit optischem Diodenarray-Detektor analysiert.

##### **Chemikalien**

Amberlite XAD 1180 Granulat, Wasser (Milli-Q Qualität), absoluter Ethanol, Watte.

##### **Säulenvorbereitung**

10 g Amberlite XAD 1180 Harz wurde über Nacht in 200 mL Wasser (Milli-Q Qualität) gequollen. Dies reicht für 4 Säulen. Je 50 mL aufgeschwemmtes Harz werden in eine Glassäule gefüllt. Zur Fixierung des Gelbettes wird oberhalb und unterhalb der Säulenpackung ein Wattepfropfen angebracht. Vor dem Einsatz wird jedes Säulchen mit 50 mL Wasser gewaschen.

##### **Fraktionierung**

Die wässrige Probe (20-30 mL) wird auf das Säulchen aufgebracht, in der Folge zuerst mit 2 x 75 mL Wasser (Fraktion I, hydrophile Fraktion), und dann mit 75 mL absolutem Ethanol eluiert (Fraktion II, hydrophobe Fraktion). Fraktion I in Wasser wird im Rotavapor auf 25 mL eingedampft. Davon wird 1 mL für die Analyse in abgewogene

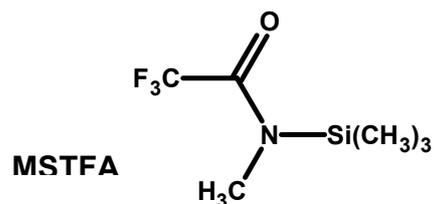
Autosampler-Vials gefüllt. Die Lösungen werden über Nacht im SpeedVac (SC 110, Savant) getrocknet, dann zurück gewogen und verschlossen.

### 3.5.6.3. Derivatisierung der hydrophilen Fraktion I für die GC-MS-Analyse

Für die GC-MS Analyse sollte die Konzentration der Proben bei ca. 3 mg/mL liegen. Es ist daher notwendig, die Silylierung in kleinen Mikroprobeneinsätzen durchzuführen. Die eingedampften Extrakte werden in 200 µL einer Methanol-Chloroform-Wasser-Mischung 1:1:1 (v) gelöst, in Mikro-Einsätze transferiert und wieder am SpeedVac eingetrocknet.

17 h mit 30 µL einer 20 mg/L Methoxyamin-Lösung ( $\text{CH}_3\text{-O-NH}_2$ ) in Pyridin zur Oximierung von Aldehydgruppen z.B. von Zuckern (Gullberg et al. 2004), dann 1 h Trimethylsilylierung mit 30 µL MSTFA (N-Methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoroacetamid) (Fiehn et al. 2000); dabei wird die Trimethylsilylgruppe auf OH-Gruppen von Zuckern oder Carboxylgruppen organischer Säuren übertragen. Dadurch werden diese Verbindungen unzersetzt verdampfbar und sind der gaschromatographischen Trennung zugänglich.

In einem zweiten Versuch wurde auf die Oximierung der Proben verzichtet und direkt mit MSTFA trimethylsilyliert.



### 3.5.6.4. GC-MS-Analyse

Die GC-MS-Analysen wurden mit einem Perkin Elmer Turbomass Autosystem XL mit Gaschromatograph, ausgestattet mit einer Kapillartrennsäule 20 m x 0,18 mm mit 0,18 µm Trennschicht, durchgeführt.

<b>Injektortemperatur</b>	<b>250°C</b>
<b>Ofentemperatur</b>	<b>70°C</b>
<b>Aufheizung</b>	<b>7°C/min</b>
<b>Endtemperatur</b>	<b>310°C, 2 min</b>
<b>Transferline</b>	<b>250°C</b>
<b>Ionenquelle</b>	<b>200°C</b>

### **3.5.6.5. Probenvorbereitung der hydrophoben Fraktion II für die HPLC (High Performance Liquid Chromatography)**

Die Säulenuate mit Ethanol werden im Rotavapor zur Trockene eingedampft. Dann werden sie in Methanol (10 mg/mL) unter Zusatz eines Tropfens Phosphorsäure gelöst. Zur Auflösung werden die Gläschen 15 min ins Ultraschallbad (Bandelin Snox RK 106S) gestellt. 10 µL davon werden mit Hilfe des Autosamplers in das Dionex HPLC System injiziert.

### **3.5.6.6. HPLC-Analyse**

Die Trennung der Proben erfolgt mit einem Dionex HPLC-Gerät, ausgestattet mit einem Probenwechsler Famos, P680 HPLC-Pumpe und einem UVD340U-Photodioden-Array-Detektor mit Datenanalyse. Die Chromatogramme werden bei 229 nm registriert, die Absorption zwischen 220 - 590 nm gescannt).

Die Trennung erfolgt auf einer Synergi 4µ Max RP 80A Säule (150 x 2 mm, Phenomenex).

Die Flussgeschwindigkeit beträgt  $0,2 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ .

Eluiert wird mit 5% Methanol in 0,5%iger Phosphorsäure (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), isokratisch für 2 min, dann mit linearem Gradienten bis 100% Methanol während 98 min, gefolgt von 10 min isokratischer Trennung mit 100% Methanol.

Die Säule wird zwischen den Trennungen mit 5% Methanol in 0,5%iger Phosphorsäure equilibriert.

Bei der Blindprobe wurden alle Präparationsschritte mit Wasser anstelle des Wurzelexsudats durchgeführt.

### **3.5.7. Analyse von Wurzelextrakten**

Die Wurzeln werden in flüssigem Stickstoff zerrieben und das gemahlene Blattmaterial in Extraktionsgefäße (dunkle Flaschen) transferiert. Dann wird absoluter Ethanol zugesetzt und 2-3 Tage stehen gelassen. Der Extrakt wird filtriert und im Rotavapor auf ca. 2 mL eingengt. Dann wird mit Milli-Q-Wasser auf 20 mL aufgefüllt. Die Proben werden auf einer Amberlite XAD-1180-Säule (wie unter 3.5.6.2) getrennt und die beiden Fraktionen entsprechend 3.5.6. ff. analysiert.

### **3.5.8. Bodenanalyse auf potentielle Keimungsinhibitoren**

#### **3.5.8.1. Extraktion des Bodens mit Ethylacetat im Soxhlet**

800 g Boden (Covansînt) wurde in 80 g-Mengen mit Ethylacetat im Soxhlet extrahiert (Abb. 17). Der zitronengelbe Extrakt wurde im Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingedampft.



**Abb. 17 Bei der Soxhlet-Extraktion**

#### **3.5.8.2. Derivatisierung des Trocknungsrückstandes**

Der Trocknungsrückstand wurde in Pyridin gelöst und mit MSTFA eine Stunde lang trimethylsilyliert.

### **3.5.8.3. Instrumentelle Analytik durch GC-MS**

Die Trennung erfolgte wie unter 3.5.6.4. beschrieben.

### **3.5.9. Analyse von Wurzelexsudaten auf Strigolactone**

Strigolactone sind die von Wirtswurzeln, aber auch von Nichtwirten ausgeschiedenen Keimungsstimulantien. Die Zusammensetzung der Strigolactone einiger Wirtspflanzen sollte mit der HPLC-Tandem-Massenspektrometrie analysiert werden.

Die Herstellung der Wurzelexsudate erfolgte prinzipiell wie bei 3.5.5.2. beschrieben. Da Strigolactone in sehr geringen Mengen von den Wurzeln ausgeschieden werden, mussten sie für die Vorbereitung der Analyse stark angereichert werden. Dazu wurde das Wasser aus dem Wurzelraum der Wirtspflanzen an 3 aufeinanderfolgenden Tagen mit Ethylacetat extrahiert und konzentriert.

#### **3.5.9.1. Extraktion mit Ethylacetat und Einrotieren zur Trockene**

Das Wasser aus dem Wurzelraum wurde filtriert. Je 100 mL wurden 2 mal mit je 400 mL Ethylacetat im Scheidetrichter ausgeschüttelt (Abb. 18). Je 400 mL des Ethylacetatextrakts wurden mit 100 mL 0,2 M wässriger  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung gewaschen, anschließend mit wasserfreiem  $\text{MgSO}_4$  getrocknet.

Das Ethylacetat wurde im Rotavapor abdestilliert (Abb. 19). Zur Vermeidung von  $\text{MgSO}_4$ -Verunreinigung wurden die Extrakte in den Rotationskolben filtriert.

Die Proben wurden in kleinen Probengläschen eingetrocknet.

Verwendet wurde ein BÜCHI ROTAVAPOR R-124 mit BÜCHI WATERBATH B-480

Gerätedaten beim Einrotieren:

Vakuum - 0,95 Torr

Kühltemperatur 10°C

Wasserbad 30°C

Das Ethylacetat wurde durch Destillation zurück gewonnen.



**Abb. 18 Beim Ausschütteln mit Ethylacetat**



**Abb. 19 Einrotieren des Ethylacetatextrakts**

Die Wurzelexsudate folgender Wirtspflanzen (Tab. 4) wurden für die Strigolacton-Analyse aufgearbeitet.

**Tab. 4 Proben für die Strigolacton-Analyse**

Wirtspflanzen- Art	Wurzel- exsudat (ml x 3)	Trocken- Substanz (mg)
<i>Cirsium vulgare</i>	150	5
<i>Centaurea scabiosa</i>	400	12
<i>Carduus personata</i>	100	6
<i>Hedera helix</i>	400	12
<i>Galium verum</i>	150	8
<i>Teucrium chamaedrys</i>	100	6

### 3.5.9.2. Vorbereitung der Proben für die HPLC-Tandem-Massenspektrometrie

Die Proben wurden in 60 % Methanol gelöst, filtriert und in eine Reverse-Phase (C18) HPLC-Säule injiziert, die mit einem MS/MS verbunden war. Strigolactone wurden durch die Multiple Reaction Monitoring (MRM) Methode gemessen.

### 3.5.9.3. Durchführung der Analysen

Sieben Übergänge der m/z Werte, nämlich  $339 > 242$ ,  $353 > 256$ ,  $365 > 268$ ,  $367 > 270$ ,  $369 > 272$ ,  $411 > 254$  und  $427 > 270$  wurden registriert für 5-Deoxystrigol, Sorgolacton, Tetradehydro-Orobanchol isomer (Solanacol), Didehydro-Orobanchol isomer, Orobanchol (Strigol), Orobanchylacetat, und 2'epi-4a,8a-Epoxy-orobanchylacetat (Erbsen-Strigolacton).

#### Gerätedaten

U 980 HPLC-Gerät (Jasco, Tokyo, Japan) mit ODS (C<sub>18</sub>) Säule (Mightysil RP-18, 2 x 250 mm, 5 µm, Kanto Chemicals)

Mobile Phase: 60 % Methanol in H<sub>2</sub>O (v/v). 30 min nach Injektion der Probe wurde auf 100 % Methanol umgeschaltet.

Flow Rate war 0,2 mL·min<sup>-1</sup>.

Die Säulentemperatur wurde auf 40 °C eingestellt.

Massenspektrometrie mit einem Quattro-LC-Massenspektrometer (Micromass, Manchester, U.K.) mit einer Electrospray-Quelle ausgestattet.

Als Trocknungs- und Vernebelungsgas wurde Stickstoff verwendet, der aus Pressluft in einem N<sub>2</sub>G-Stickstoff-Generator (Parker-Hanifin Japan (Tokyo, Japan) erzeugt wurde. Der Vernebelungsgasfluss war auf 100 L·h<sup>-1</sup>, der Auflösungsgasfluss auf 500 L·h<sup>-1</sup> eingestellt.

Interface-Temperatur 400 °C,

Temperatur der Ionenquelle 150 °C.

Die MS/MS-Messungen wurden mit Argon als Impact-Gas durchgeführt, die Stoßenergie auf 16 eV gesetzt. Der Impact-Gasdruck war 0,15 Pa.

Die Datenverarbeitung erfolgte mit der MassLynx-Software (ver.3.2).

## 4. ERGEBNISSE

### 4.1. Fundorte und ökologische Bedingungen an den Fundorten

In dieser Arbeit sind 17 *Orobanche* spp. an 26 Fundorten erforscht worden (13 in Rumänien und 13 in Baden-Württemberg). Wir haben 18 weitere Orte aufgesucht (nach Literaturangaben), haben dort aber keine *Orobanche* gefunden.

#### 4.1.1. Fundorte in Rumänien

Die Fundorte in Rumänien liegen vor allem in hügeligen Gegenden (Abb. 20). Sie waren schwer zu finden, weil die Literaturangaben sehr allgemein gehalten sind und die *Orobanche*-Populationen klein sind.

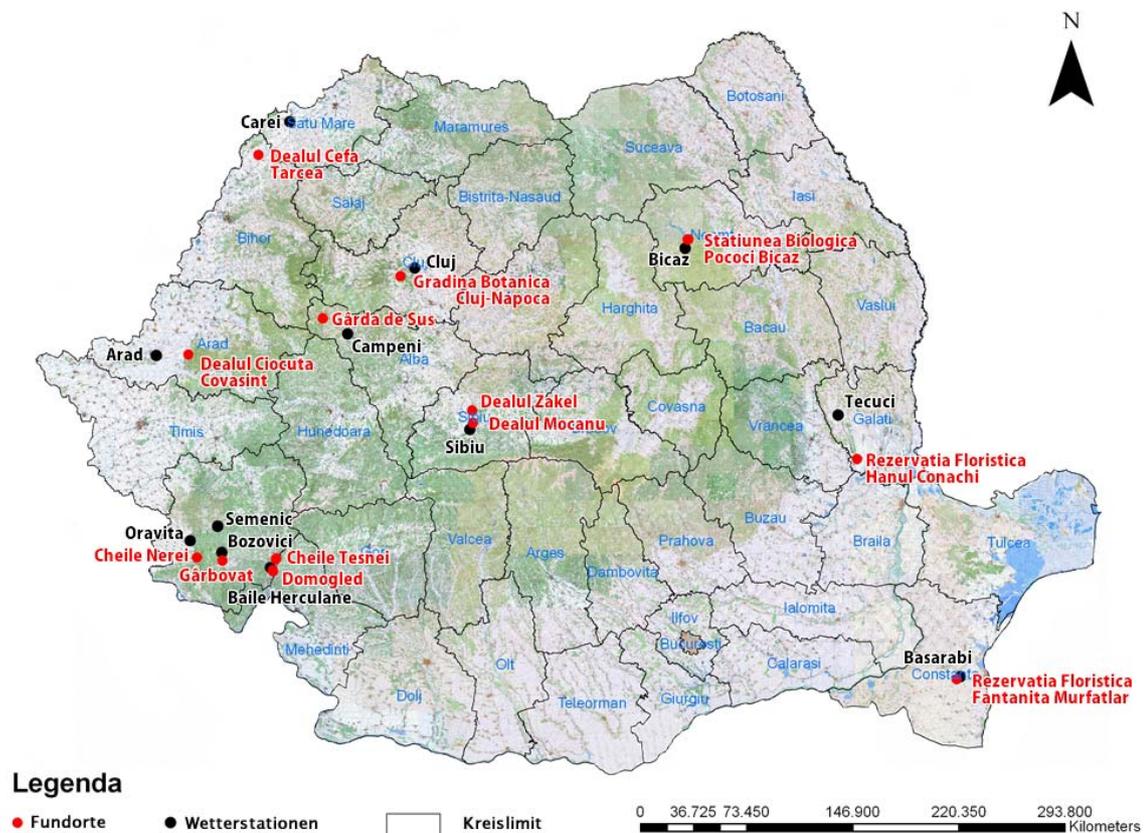
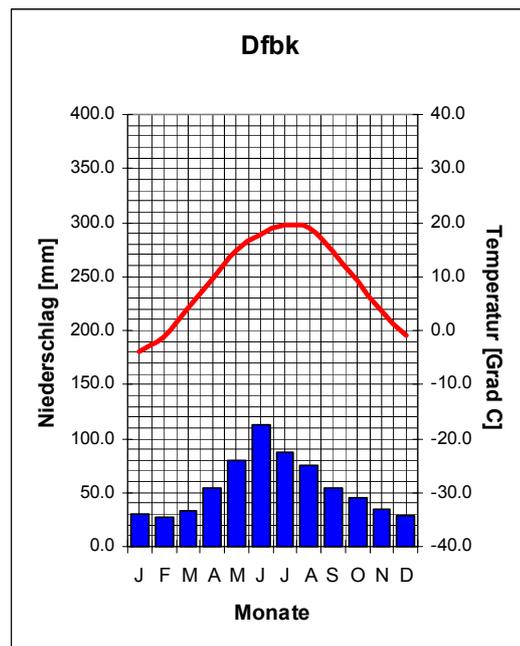


Abb. 20 Geographische Lage der Fundorte in Rumänien

- **Mocanu Hügel**

bei Gușterița (Hammersdorf), in der Nähe von Hermannstadt, (am Ufer des Flusses Cibin). Die Station gehört zur Klimazone Dfbk: kaltes Waldklima mit Schnee, aber mit warmen Sommern (Klimadiagramm 1), mittlere Jahrestemperatur 8.9 °C, jährlicher Niederschlag 662.0 mm.

480-500 m über NN. Koordinaten: 45°49'00.4"N, 24°11'29.4"E, Südwest-Hang.



**Klimadiagramm 1: Sibiu**

Es ist der höchste Hügel in der Gegend, 20° Neigung. Boden lehmig, xeromesophile Pflanzengesellschaft, mit viel *Astragalus onobrychis* (bedeckt 40% der Fläche). Es wurden gefunden: *Orobanche caryophyllacea*, *O. arenaria* (syn. *Phelipanche arenaria*), *O. teucriti*, *O. alba* var. *alba*, f. *communis*, *O. elatior*, *O. lutea*.



**Abb. 21 und 22 *Orobanche caryophyllacea* in der *Festuco-Brometea*-Gesellschaft 12.07.2005**

***Orobanche caryophyllacea* J.E. Smith 1798** (*O. vulgaris* Poiret 1798).  
Am Fuß des Hügels wurden 40 Exemplare gefunden; 30 cm hoch, 14-30  
Blüten an jeder Pflanze, die eine lockere Ähre bilden. Blütezeit Mai-Juni  
(Abb. 21 und Abb. 22). Tragblatt so lang wie der Kelch (14 mm). Blüte  
purpur, Staubblätter am Grund der Krone befestigt, Narbe dunkel purpur,  
reich drüsenhaarig.

Wirtspflanze: *Galium mollugo*

Begleitflora: *Achillea millefolium*, *Agropyron intermedium*,  
*Anthoxanthum odoratum*, *Arrhenatherum elatius*, *Artemisia campestris*,  
*Astragalus onobrychis*, *Brachypodium pinnatum*, *Euphorbia cyparissias*,  
*Festuca rupicola*, *Fragaria viridis*, *Medicago falcata*, *Onobrychis viciifolia*,  
*Phleum phleoides*, *Pimpinella saxifraga*, *Potentilla arenaria*, *Prunus*  
*spinosa*, *Silene vulgaris*, *Thymus pannonicus*, *Teucrium chamaedrys*,  
*Verbascum phoeniceum*.

Pflanzengesellschaft: *Festucion rupicolae*.



**Abb. 23 und 24 *Orobanche arenaria***

***Orobanche arenaria* Borckhausen 1794** (syn. *Phelipanche arenaria*),  
7 Exemplare gruppiert, 5 einzelne Exemplare (Abb. 23 und Abb. 24).  
Stängel gelblich, Schuppen 1,5 cm lang, zylindrische Ähre mit 20-25 Blüten,  
Tragblätter am Grund weißlich und sonst braun im Rest. Blüten 2,5 cm groß.  
Krone und Kelch weißlich drüsenhaarig, Krone hell violett, Kronenröhre

wenig gekrümmt, Oberlippe wenig zurückgekrümmt. Staubblätter über dem untersten Drittel der Krone eingefügt.

Wirtspflanze: *Artemisia campestris*.

Begleitflora: *Astragalus onobrychis*, *Erigeron annuus*, *Euphorbia cyparissias*, *Eryngium campestre*, *Festuca rupicola*, *Festuca vaginata*, *Linaria genistifolia*, *Medicago falcata*, *Seseli annuum*, *Silene armeria*, *Silene vulgaris*, *Teucrium chamaedrys*, *Thymus pannonicus*, *Trifolium arvense*.

Pflanzengesellschaft: *Festucion rupicolae*, *Festucion vaginatae*.



**Abb. 25 Orobanche teucrui 27.05.2006**

**Orobanche teucrui** **Hollandre 1829** (Abb. 25), Stängel zierlich, wenig schuppig, drüsenhaarig, 40 cm lang. Blütenstand zylindrisch, freier Stängel gleich groß wie Blütenstand, mit 13-34 Blüten, die mehr oder weniger rückwärts im Blütenstand liegen. Tragblatt länger als der Kelch, Krone hell braunlila, trocken rot-braun, purpurrote Narbe.

Wirtspflanze: *Teucrium chamaedrys*.

Begleitflora: *Achillea millefolium*, *Asperula cynanchica*, *Astragalus austriacus*, *Centaurea jacea*, *Crambe tatarica*, *Dianthus cartusianorum*,

*Linum catharticum*, *Onobrychis viciifolia*, *Phleum phleoides*, *Stachys recta*, *Teucrium chamaedrys*, *Thymus pannonicus*, *Trifolium alpestre*, *Verbascum phoeniceum*.

Pflanzengesellschaft: *Festucion rupicolae*



**Abb. 26 *Orobanche alba* var. *alba*, f. *communis* 27.05.2006**

***Orobanche alba* Willdenow 1800** (Abb. 26). Blüte mit eiförmigen Tragblatt, so groß wie die Schuppen (20 mm), Krone glockig, 20-30 mm groß, weißgelb, mit rötlichen Drüsenhaaren, die am roten Punkten (Höckerchen) sitzen. Rückenlinie über der Anlage der Staubblätter leicht gekrümmt. Staubblätter 3 mm über dem Grund der Kronröhre schräg eingefügt, an der ganzen Fläche behaart, einschließlich die Staubbeutel.

Wirtspflanze: *Thymus pannonicus*

Begleitflora: *Achillea millefolium*, *Astragalus onobrychis*, *Briza media*, *Bromus hordeaceus*, *Dianthus carthusianorum*, *Teucrium chamaedrys*, *Medicago falcata*, *Trifolium alpestre*, *Eryngium campestre*, *Festuca rupicola*, *Phleum phleoides*, *Veronica austriaca*.

Pflanzengesellschaft: *Festuco-Brometea*.



**Abb. 27 *Orobanche elatior*, 21.06.2007**

***Orobanche elatior* C. Sutton 1798** (*O. major* L. 1753, Abb. 27). Stängel kräftig, 30-60 cm groß, braun, drüsenbehaart, von unten bis oben gleichmäßig stark beschuppt. Ähre zylindrisch. Krone gelblich rosarot, 20-25 mm lang, glockig, etwas erweitert über die eingefügten Staubblättern,. Oberlippe ungeteilt. Staubfäden oben drüsenhaarig. Blühbeginn Ende Mai bis Anfang Juni. (in Deutschland Anfang bis Ende Juni).

Wirtspflanze: *Centaurea scabiosa*.

Begleitflora: *Astragalus onobrychis*, *Briza media*, *Bromus hordeaceus*, *Carex humilis*, *Erigeron annuus*, *Eryngium campestre*, *Euphorbia cyparissias*, *Festuca rupicola*, *Linaria genistifolia*, *Medicago falcata*, *Rhinanthus serotinus*, *Seseli annuum*, *Silene vulgaris*, *Teucrium chamaedrys*, *Thymus pulegioides*, *Trifolium montanum*, *Veronica austriaca*, *Xilium armeria*,

Pflanzengesellschaft: *Festuco-Brometea*.



**Abb. 28 *Orobanche lutea*, 27.05.2006**

***Orobanche lutea* Baumgarten 1816** (Abb. 28). Auf der Hochebene sind 5 einzelne Exemplare gefunden worden. Stängel 20-50 cm groß, kräftig, gelb-purpur. Schuppen länglich, stark behaart, Ähre zylindrisch mit weit abstehenden Blüten, Tragblatt so lang wie die Blüte. Kelchblätter zwei gleichzählig. Krone hellbraun, violett auf den Nerven, drüsenhaarig. Narbe zweilappig, gelb.

Wirtspflanze: *Medicago falcata*.

Begleitflora: *Adonis vernalis*, *Arrhenatherum elatius*, *Astragalus onobrychis*, *Centaurea scabiosa*, *Dictamnus albus*, *Euphorbia cyparissias*, *Salvia nutans*, *Salvia pratensis*, *Scorzonera hispanica*, *Stipa pulcherrima*, *Teucrium chamaedrys*, *Thymus pulegioides*, *Vinca herbacea*.

- **Das Steppenreservat am Zakelsberg**

befindet sich zwischen den Orten Groß-Scheuern (Șura Mare) und Stolzenburg (Slimnic) in Siebenbürgen, 15 km nördlich von Sibiu, auf der Westseite des Șarba-Flusses. Hat gefurchte Form und lehmigen Boden. Gehört zur Klimaregion Dfbx: kaltes Waldklima mit Schnee, warme Sommer, mittlere Jahrestemperatur 9.5°C, 461.4 mm jährlicher Niederschlag (Klimadiagramm 19).

Der bestimmende Faktor für die Verteilung der Pflanzenassoziation (Abb. 29), wird durch die Bodenfeuchtigkeit gegeben; diese wird wiederum

von der Hangneigung, Insolationbedingungen und der Luftbewegung bestimmt, so dass die niedrigste Feuchtigkeit, unter dem Einfluss dieser Faktoren, auf dem südlichen und süd-westlichen Hang anzutreffen ist. Dieser Hang ist, durch die Neigung (28-39°), den ganzen Tag der Sonnenstrahlung ausgesetzt, die zur Sommerzeit senkrecht auf die Bodenoberfläche fällt, und dadurch die starke Erhitzung des Bodens bewirkt. Die überwiegende Winde wehen auch vom Süden her, insbesondere im Frühling, lassen den Schnee sehr früh schmelzen und trocknen den Hang (Drăgulescu & Bude 1999). Aus diesem Grunde ist der südliche und süd-westliche Berghang von großem geobotanischem Interesse, da er als Gebiet des Vorkommens südlicher pontischer und submediterranen Arten gilt (Schneider-Binder 1983). Hier sind folgende Arten gefunden worden: *Orobanche caryophyllacea*, *O. teucrii*, *O. minor*, *O. salviae*, *O. alba*.

523 m über NN. Koordinaten: 45°53'57.0"N, 24°10'22.4"E, Süd-Südwest-Hang.



**Abb. 29 Studien im Reservat Zakel  
unter der Anleitung von Univ.-Prof. Dr. Constantin Drăgulescu**

***Orobanche caryophyllacea* J.E. Smith 1798** (*O. vulgaris* Poiret 1798, Abb. 30). Auf der ganzen Hügelwiese von 3 ha gibt es etwa 130-150 Exemplare, 30 cm hoch, mit je 35-40 Blüten.

Wirtspflanze : *Galium mollugo*

Begleitflora: *Achillea millefolium*, *Astragalus onobrychis*, *Brachypodium pinnatum*, *Bromus hordeaceus*, *Carex humilis*, *Dianthus carthusianorum*, *Eryngium campestre*, *Festuca rupicola*, *Linum*

*catharticum*, *Medicago falcata*, *Onobrychis viciifolia*, *Teucrium chamaedrys*, *Thymus pannonicus*, *Trifolium alpestre*.

Pflanzengesellschaft: *Festuco-Brometea*.



Abb. 30 *Orobanche caryophyllacea*



Abb. 31 *Orobanche teucrii* 30.05.06

***Orobanche teucrii* Hollandre 1829** (Abb. 31). Ähre mit wenigen Blüten (etwa 20), Rand der Oberlippe scharf vorwärts gerichtet, die Staubblätter 5 mm über dem Grund angewachsen.

Wirtspflanze: *Teucrium chamaedrys*.

Begleitflora: *Adonis vernalis*, *Briza media*, *Eryngium campestre*, *Festuca rupicola*, *Fragaria viridis*, *Medicago falcata*, *Salvia nutans*, *Salvia transsilvanica*, *Stipa pulcherrima* *Trifolium alpestre*, *Trifolium pratense*, *Veronica austriaca*, *Vinca minor*.

Pflanzengesellschaft: *Stipetum pulcherrimae*.



**Abb. 32 *Orobanche minor* auf *Trifolium pratense* 21.06.2007**

***Orobanche minor* J.E.Smith 1797** (Abb. 32), 10 Exemplare. Wächst am Rand des Reservates, in der Nähe einer Kleekultur. Der Stängel ist dünn. Blüten kleiner als 15 mm. Zipfel der Oberlippe vorgestreckt und nicht zurück geschlagen. *Festuca rupicola*, *Festuca valesiaca*,

Wirtspflanze: *Trifolium pratense*.

Begleitflora: *Achillea pannonica*, *Adonis vernalis*, *Brachypodium pinnatum*, *Carex humilis*, *Eryngium campestre*, *Festuca rupicola*, *Festuca valesiaca*, *Filipendula vulgaris*, *Fragaria viridis*, *Galium verum*, *Medicago falcata*, *Salvia nutans*, *Stipa lessingiana*, *Stachys germanica*, *Teucrium chamaedrys*, *Veronica spicata*, *Vinca herbacea*.

Pflanzengesellschaft: *Cariceto humilis-Brachypodietum*



**Abb. 33 *Orobanche salviae* 30.05.2006**

***Orobanche salviae* W.D.J.Koch 1833** (Abb. 33), 18 Exemplare, mit gruppierten oder einzelnen Individuen. Der Stängel ist bis 50 cm groß, kräftig, gelb, schuppig. Zylindrische, kompakte Ähre. Tragblatt drüsenbehaart, so groß wie die Blüte. Kelch aus zwei freien Hälften bestehend. Krone 20 mm groß, gelbviolett, die Rückenlinie der Krone gleichmäßig gekrümmt, die Oberlippe ganz, die Unterlippe dreilappig, zurückgeschlagen, Griffel reich drüsenhaarig.

Wirtspflanze: *Salvia pratensis*, *Salvia nutans*.

Begleitflora: *Adonis vernalis*, *Brachypodium pinnatum*, *Carex humilis*, *Crambe tatarica*, *Eryngium campestre*, *Festuca rupicola*, *Filipendula vulgaris*, *Fragaria viridis*, *Inula ensifolia*, *Iris pumila*, *Medicago falcata*, *Peucedanum cervaria*, *Salvia nutans*, *Teucrium chamaedrys*.

Pflanzengesellschaft: *Carici humilis-Brachypodietum pinnati*.



**Abb. 34 *Orobanche alba* auf *Teucrium chamaedrys***

***Orobanche alba* Willdenow 1800** (Abb 34). Population mit Exemplaren an der Hügelspitze. Stängel zierlich, dicht drüsenhaarig, bräunlich, spärlich schuppig. Ähre zylindrisch, locker, Blüten weit abstehend. Kelch so lang wie die Kronenröhre, aus zwei Hälften, die zweizählig sind. Krone 15-25 mm, weißrosa mit purpur Nerven, mit roten Drüsenhaaren. Die Oberlippe gekielt, ganz. Die Unterlippe dreilappig. Narbe gelblich.

Wirtspflanze: *Teucrium chamaedrys*.

Begleitflora: *Adonis vernalis*, *Brachypodium pinnatum*, *Carex humilis*, *Eryngium campestre*, *Festuca rupicola*, *Filipendula vulgaris*, *Fragaria viridis*, *Inula ensifolia*, *Medicago falcata*, *Salvia nutans*, *Stachys germanica*, *Valeriana officinalis*, *Veronica spicat*, *Vinca herbacea*.

Pflanzengesellschaft: *Cariceto humilis-Brachypodietum pinnati*

- **Covăsiņ, Ciocuța Hügel.**

Der Hügel befindet sich in der Mitte des Arader Weinbaugebietes, und zwar in der Kontaktzone, wo die westliche Verlängerung der Zärander Berge (Munții Zărândului) auf die Arader Ebene (Câmpia Aradului) aufeinander treffen, diese Zone wird der Fuß des Berges von Șiria genannt (Ardelean

2006) und befindet sich auf dem Matca Kanal, am Fuße der Zärander Berge, in der unmittelbaren Nähe der Ortschaft Covăsiuț, 28 km von Arad entfernt. Es handelt sich um den Fuß eines Berges, eine Gebirgsfußfläche (eine schmale Übergangszone zwischen Gebirge und Ebene), gebildet durch die Ablagerung der kalkhaltigen erodierten Materialien, die durch das Flusswasser von den Bergen während des Tertiär und Quartär heruntergespült wurden.

Gemäßigtes Klima, mild-kontinental, mit nicht allzu kalten Wintern und relativ warmen Sommertemperaturen, gehört zur Klimazone Cfbx (Klimadiagramm 52): feuchtes mesodermes Klima mit einer Jahrestemperatur von 10.7 °C und 624.9 mm Jahresniederschlag. Der Bodentyp gehört zur Gruppe der braunen Wald-Podsole. Der Fundort befindet sich auf einem Hang mit einem Winkel von 35-40°, über die bewohnte Zone. Der Hang umfasst ein Stück xero-mesophile Weide und eine Übergangszone zu den Sträuchern, die von *Ligustrum vulgare* und *Prunus spinosa* dominiert wird, wo auch zahlreiche *Ailanthus altissima* (falscher Essigbaum) adventive Jungpflanzen, *Maclura pomifera aurantiaca* anzutreffen sind. Man hat *Orobanche alba*, *O. minor* beobachten können.

150 m über NN. Koordinaten: 46°12'14.1"N, 21°37'23.6"E. Südhang.



**Abb. 35 und 36 Junge Gräser zwischen den Pflanzenresten vom vorigen Jahr (22.04.07)**



**Abb. 37 *Orobanche alba***  
Vegetationsphase am Rand der Wiese



**Abb. 38 Blütezeit auf der Wiese**

***Orobanche alba* Willdenow 1800** (Abb. 37). Population mit 50 Exemplaren, so wie auf der eigentlichen Wiese als auch am Rand vom Gebüsch, in der Zone wo die Jungpflanzen von *Ailanthus altissima* überwuchern. Der Stängel ist kürzer als 40 cm, mit wenig Schuppen. Die Ähre ist locker mit weit aufstehenden Blüten. Kelch und Krone mit deutlichen, rötlichen Nerven. Die Krone ist glockig, weiß (Abb. 39), gelblichweiß (Abb. 41) oder rosaweiß (Abb. 40), mit purpurnen Härchen. Narbe rosarot.

Wirtspflanze: *Thymus pulegioides*

Begleitflora: *Agrostis stolonifera*, *Cynodon dactylon*, *Conium maculatum*, *Convolvulus arvensis*, *Dactylis glomerata*, *Daucus carota*, *Dianthus ponderae*, *Eryngium campestre*, *Euphorbia cyparissias*, *Festuca valesiaca*, *Ligustrum vulgare*, *Lotus corniculatus*, *Medicago sativa*, *Potentilla argentea*, *Potentilla verna*, *Ranunculus repens*, *Rosa canina*, *Stachys recta*, *Teucrium chamaedrys*, *Xeranthemum cylindraceum*.

Pflanzengesellschaft: *Festisetum valesiaca*, mit eindringendem *Ailanthus altissima*.



**Abb. 39 *Orobanche alba*  
(Krone weiss)  
auf *Thymus pulegioides***



**Abb. 40 *Orobanche alba*  
(Krone rosa)  
auf *Thymus pulegioides***



**Abb. 41 *Orobanche alba*  
(Krone gelblich)  
auf *Thymus pulegioides* 23.05.2008**



**Abb. 42 *Orobanche minor*  
auf *Medicago sativa* ssp.**

***Orobanche minor* J.E. Smith 1797** (Abb. 42). Population mit 25 Exemplaren auf der Wiese zerstreut. Kein Exemplar wächst in der Nähe des Gebüsches. Blüten höchstens 25 mm groß. Krone gelblichweiß. Staubblätter kahl, Griffel haarig.

Wirtspflanze: *Medicago sativa* ssp. *falcata*

Begleitflora: *Adonis vernalis*, *Convolvulus arvensis*, *Cynodon dactylon*, *Dactylis glomerata*, *Dianthus ponedera*, *Eryngium campestre*, *Euphorbia cyparissias*, *Festuca valesiaca*, *Geranium columbinum*, *Ligustrum vulgare*, *Muscari comosum*, *Potentilla* sp., *Stachys recta*, *Teucrium chamaedrys*, *Xeranthemum cylindraceum*.



**Abb. 43 *Orobanche teucrii* auf *Teucrium chamaedrys* 25.05.2007**

***Orobanche teucrii* Hollandre 1829** (Abb. 43), 10 Exemplare zerstreut in der Wiese, befinden sich Ende Mai in der Phänophase der Fruchtbildung. Die Kelchblätter sind zweizählig.

Wirtspflanze: *Teucrium chamaedrys*

Begleitflora: *Cichorium intybus*, *Eryngium campestre*, *Euphorbia cyparissias*, *Festuca valesiaca*, *Geranium columbinum*, *Hypochoeris radicata*, *Knautia arvensis*, *Koeleria pyramidata*, *Peucedanum cervaria*, *Potentilla argentea*, *Rosa canina*, *Scabiosa ochroleuca*, *Silene vulgaris*., *Thymus pannonicus*, *Tifolium montanum*, *Verbascum blattaria*.

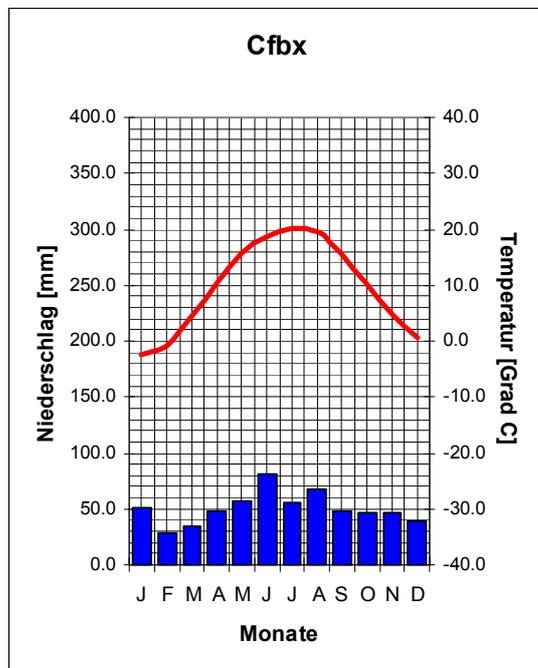
2007 standen hier 50 Pflanzen, die 3 Wochen früher reife Kapseln hatten, 2008 waren es nur 20 Pflanzen, die später aufgeblüht sind.

- **Cefa Hügel, Carei Gegend.**

Der Hügel Cefa (Abb. 44) befindet sich in Tarcea, am Rand Richtung Ort Galoşpetreu, in der Gegend Carei. Der Fundort gehört zur Klimazone Cfbx (Klimadiagramm 2) mit durchschnittlicher Jahrestemperatur von 9.7 °C und 604.2 mm Jahresniederschlag. Der Abhang 15-20°, Boden Löß und lehmig, auf steinigem Grund aus rotem Lehm aus dem Pleistocen, der sich während der Eiszeit durch Löß-Ablagerung gebildet hat. Dominante Pflanzengesellschaften: *Salvio (nemorosi)-Festucetum rupicolae* und *Festucetum valesiacaе-sulcatae*. Es wurden gefunden: *Orobanche alba*, *Orobanche*

*lutea*, *Orobanche caryophyllacea*. Mitte Juni 2007 befanden sich alle diese Arten in der Phänophase der Fruchtentwicklung.

145 m über NN, Koordinaten: 47°28'08.9"N, 22°11'07.8"E, Westhang



Klimadiagramm 2: Carei

Abb. 44 Blick auf die Wiese auf dem Cefa-Hügel:  
*Festucetum valesiacae-sulcatae* 16.06.2007

***Orobanche alba* Willdenow 1800** (Abb. 44). Population mit 40 Exemplaren in Gruppen mit bis 6 Individuen oder zerstreut. Stängel 10-50 cm groß, Krone trocken, braun farbig.

Wirtspflanze: *Thymus pannonicus*

Begleitflora: *Asparagus officinalis*, *Astragalus cicer*, *Bromus inermis*, *Centaurea scabiosa*, *Convolvulus arvensis*, *Echium altissimum*, *Eryngium campestre*, *Euphorbia cyparissias*, *Festuca rupicola*, *Festuca sulcata*, *Galium verum*, *Hypericum perforatum*, *Lotus corniculatus*, *Melilotus officinalis*, *Salvia nemorosa*, *Seseli varium*, *Silene otites*, *Stipa capillata*, *Thymus pannonicus*, *Trifolium arvense*, *Veronica incana*, *Vicia pannonica*.



**Abb. 45 *Orobanche alba* auf  
*Thymus pannonicus***



**Abb. 46 *Orobanche lutea***

***Orobanche lutea* Baumgarten 1816** (Abb. 46), 35 Exemplare. Stängel mit weniger als 15 Schuppen. Tragblatt so lang wie der Kelch. Die Krone ist 20-30 mm groß. Rückenkante der Blütenkrone vorn winklig abfallend. Die Staubfäden sind auf der ganzen Länge haarig. Narbe mit runden, wachsgelben Lappen, gut riechend.

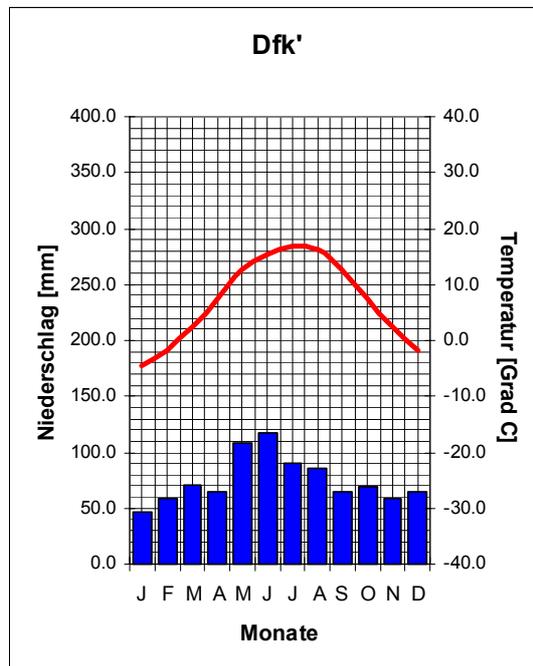
Wirtspflanze: *Vicia grandiflora* var. *sordida*

Begleitflora: *Asparagus officinalis*, *Convolvulus arvensis*, *Coronilla varia*, *Cytisus austriacus*, *Dianthus ponederae*, *Falcaria vulgaris*, *Galium verum*, *Knautia arvensis*, *Lotus corniculatus*, *Marrubium peregrinum*, *Salvia pratensis*, *Sambucus ebulus*, *Scabiosa ochroleuca*, *Silene otites*, *Stipa capillata*, *Veronica incana*, *Vicia pannonica*.

- **Hügel Grosama**

befindet sich zwischen den Orten Gârda de Sus und Ghețarul Scărișoara, Kreis Alba. Hat im Norden den Berg Bătrâna und im Westen das Gebirge Cucurbăta Mare (1849 m). Der Fundort gehört zur Klimazone Dfk' (Klimadiagramm 3, Wetterstation Câmpeni): Waldklima mit sehr kaltem Winter mit Schnee, in allen Jahreszeiten feucht, mit mittlerer Jahrestemperatur von 7.1 °C und Jahresniederschlag von 900.0 mm. Der Fundort ist eine degradierte Weide mit kalkhaltigem Substrat, Podsol-Boden. Zwischen alten Ameisenhaufen, wo *Thymus pulegioides* wächst, wurde *Orobanche alba* gefunden.

900 m über NN. Koordinaten: 46°27'45.3"N, 22°50'28.7"E. Süd-Westhang.



**Klimadiagramm 3: Câmpeni**

***Orobanche alba* Willdenow 1800** (Abb. 47, Einzelblüte in Abb. 48). Kelchhälften sind nicht gespalten, sondern einfach und färben sich beim Trocknen schwarz. Krone weiß, papillendrüsiger behaart, mit purpuren Nerven. Narbe purpur, prominent außerhalb der Krone.

Wirtspflanze: *Thymus pulegioides*

Begleitflora: *Anthoxanthum odoratum*, *Aquilegia transsilvanica*, *Carum carvi*, *Deschampsia caespitosa*, *Filipendula ulmaria*, *Galium mollugo*, *Hypericum perforatum*, *Nardus stricta*, *Poa pratensis*, *Rhinanthus alpinus*, *Sesleria heufleriana*.



**Abb. 47 *Orobanche alba*  
auf *Thymus pulegioides* 2005.08.07**



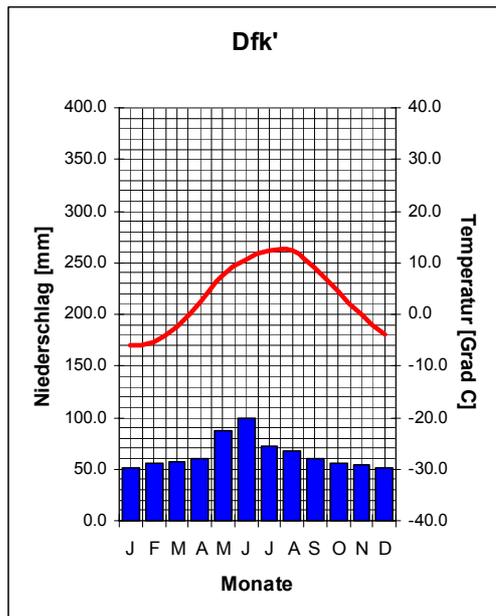
**Abb. 48 Einzelblüte von *Orobanche alba***

- **National Park Domogled-Valea Cernei.**

Gehört zur Klimazone Dfk' mit mittlerer Jahrestemperatur von 3.4 °C und einer Jahresniederschlagsmenge von 772.3 mm. (Klimadiagramm 4).

Wegen der großen Artenzahl, mit vielen endemischen Pflanzen, mit carpto-balcanischen und submediterranen seltenen Arten, gehört das Reservat zu den Pflanzenarten-reichsten Europas. Auf Domogled, auf der steinigen Wiese, die sich auf Karstboden mit nährstoffarmen Kalksteinen entwickelt, sind *Orobanche teucriti* und *Orobanche gracilis* identifiziert worden.

1050 m über NN. Koordinaten: 44°52'20"N, 22°26'40"E



**Klimadiagramm 4: Semenik**

***Orobanche teucrii* Hollandre 1829** (Abb. 49, Einzelblüte in Abb. 50). Kleine Population mit 5 zerstreuten Exemplaren. Stängel 25-30 cm groß. Krone braunlila, mit dichten, hellen und langen Drüsenhaaren. Staubfäden 5 mm über dem Grund eingefügt. Fruchtknoten unbehaart. Narbe zweilappig, braunpurpur.

Wirtspflanze: *Teucrium scordium*

Begleitflora: *Cephalaria laevigata* (endemisch), *Festuca panciana*, *Galium purpureum*, *Iris reichenbachii*, *Potentilla* sp., *Prunella laciniata*, *Scabiosa banatica*, *Seseli rigidum*, *Vicia truncatula*.



**Abb. 49 (links) *Orobanche teucrii* auf *Teucrium scordium* 23.06.2005**  
**Abb. 50 (unten) Einzelblüte von *Orobanche teucrii***



***Orobanche gracilis* J.E. Smith 1798** (Abb. 51, Einzelblüte in Abb. 52). Das Habitat ist dieselbe Steinwiese. Population mit 25 Exemplare, 2-5 in Gruppen oder zerstreut. Stängel kräftig, gelbrötlich. Schuppen eiförmig am Stängelgrund und gespitzt an der Spitze. Krone glockig, außen dunkel rot, innen glänzend, purpurrot, mit weißlichen Drüsenhaaren. Staubfäden behaart, am Grund eingefügt. Narbe zweilappig, gelb.

Wirtspflanze: *Dorycnium pentaphyllum* subsp. *herbaceum*

Begleitflora: *Festuca ovina*, *Galium album*, *Potentilla* sp., *Prunella laciniata*, *Silene pusilla*.



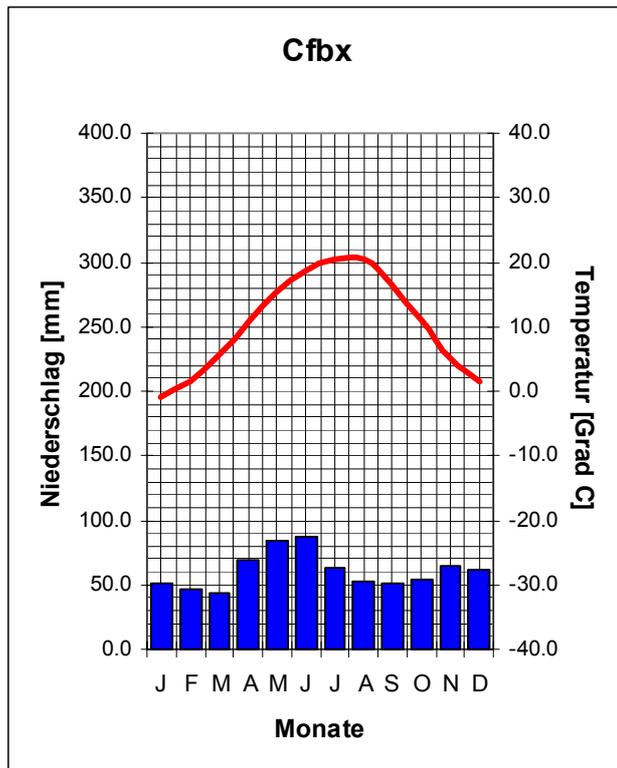
**Abb. 51 *Orobanche gracilis* auf *Dorycnium pentaphyllum* 23.06.200**



**Abb. 52 Einzelblüte von *Orobanche gracilis***

- **Baile Herculane, Cheile Țesnei.**

Abschüssiger Durchbruch im Rahmen des Domogled-Valea Cernei National Parkes, reich an Flora, aber arm an Vegetation. Der Fundort gehört zur Klimazone Cfbx (wie der Cefa-Hügel) mit mittlerer Jahrestemperatur von 10.5 °C und Jahresniederschlag 725.7 mm (Klimadiagramm 5).



**Klimadiagramm 5: Herculane**

Fundort mit kalkhaltigen steilen Gesteinen, die von *Pinus nigra* var. *Banatica* und *Syringa vulgaris* bewachsen sind. Zwischen den Gesteinen sind auch Bäume und Sträucher südlicher Herkunft anzutreffen, wie zum Beispiel *Carpinus orientalis*, *Sorbus cretica*, *Sorbus barbosi*, *S. aucuparia*, *Rosa spinosissima*, *R. pendulina*, *Corylus colurna*. Auf den sehr steinigen Weiden wächst *Orobanche alba*.

500m über NN. Koordinaten: 44°56'45"N, 22°28'7"E

***Orobanche alba* Willdenow 1800** (Abb. 53, Einzelblüte in Abb. 54). Population mit 5 zerstreuten Exemplaren. Die Pflanzen sind klein (10-15 cm).

Wirtspflanze: *Teucrium montanum*.

Begleitflora: *Agropyron* sp., *Asplenium trichomanes*, *Athamanta turbitt* ssp. *hungarica*, *Ceterach officinarum*, *Dianthus kitaibelii*, *Ferula heuffelii*, *Festuca ovina*, *Nardus stricta*, *Primula auricula*,



Abb. 53 *Orobanche alba* 21.06.2005



Abb. 54 Einzelblüte *Orobanche alba*

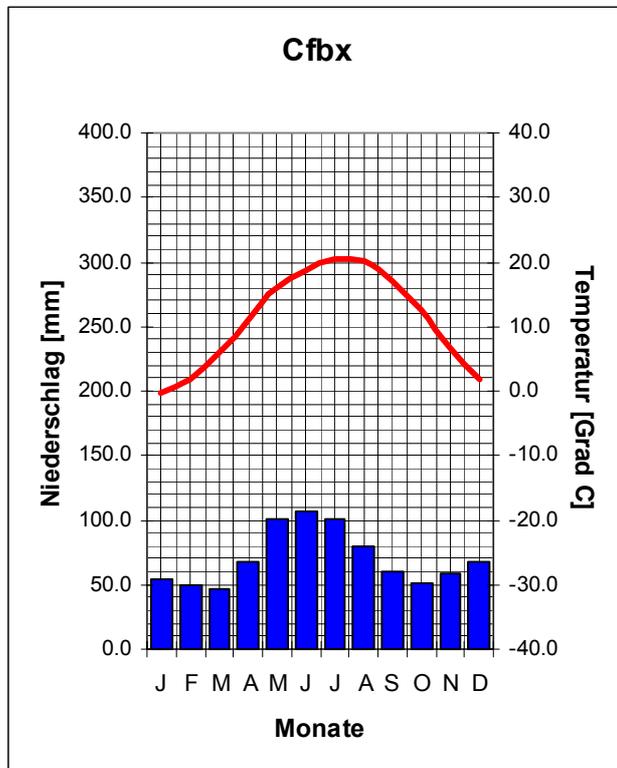
- **Parcul Național Cheile Nerei-Beușnița.**

Der National Park Cheile Nerei – Beușnița befindet sich im Süd-Westen Rumäniens, Kreis Caraș Severin, und zwar in der südlichen Zone der Anina Gebirge. Der Fundort gehört zur Klimaregion Cfbx (wie der Cefa-Hügel) mit mittlerer Jahrestemperatur von 11.0 °C und Jahresniederschlag 843.0 mm. (Klimadiagramm 6). Die geographische Lage des Cheile Nerei – Beușnița National-Parkes auf dem 45. Breitengrad, der den Park durchquert, teilt ihn vom klimatischen Gesichtspunkt der gemäßigten Klimazone zu. Wegen ihrer Lage im Karpaten-Bogen liegt die Provinz in der gemäßigtkontinentalen Klimazone, wobei die Besonderheiten des atmosphärischen Kreislaufes sie im Abschnitt mit Mittelmeerklima-Einfluss plaziert.

Der Naturpark befindet sich in der Mitte des Nordbanat, reich an Jura- und Kreide-Kalkgestein. Im Durchbruch der Nera (Cheile-Nerei), auf der xeromesophilen Weide, nahe der Ilidia Burg, mit südlicher Exposition, und Karst-Boden, wurden *Orobanche reticulata* ssp. *pallidiflora* gefunden. Im

Sommer 2008, im Juni und August, wurde diese Weide zwei mal versehentlich angezündet und ist bis an den Waldrand fast ganz abgebrannt.

540 m über NN. Koordinaten: 44°56'10"N, 21°46'19"E



Klimadiagramm 6: Oravița

***Orobanche reticulata* Wallroth 1825** (Abb. 55 und Abb. 56). Population mit 34 kräftigen Pflanzen, 25-50 cm groß, die sich Anfang der Blütezeit befinden. Ähre kegelförmig, dicht am Grund, dann locker. Tragblatt länger als die Kronröhre. Krone weiß, mit braunpurpurnen Drüsenhaaren, Rückenlinie gerade; Staubblätter schräg eingefügt, Staubfäden unbehaart. Narbe zweilappig, violett.

Wirtspflanze: *Carduus acanthoides*

Begleitflora: *Agropyron repens*, *Agrostis tenuis*, *Alchemilla vulgaris*, *Cardamine glandulifera*, *Centaurea atropurpurea*, *Cirsium vulgare*, *Dianthus domogledii*, *Festuca rubra*, *Festuca valesiaca*, *Knautia arvensis*, *Linum uninerve*, *Molinia coerulea*, *Phleum pratense*, *Poa pratensis*, *Ranunculus flabellifolius*, *Ruscus aculeatus*, *Salvia pratensis*, *Saxifraga*

*aizoon*, *Scabiosa banatica*, *Selaginella helvetica*, *Stipa pulcherrima*, *Thymus dacicus*, *Trisetum flavescens*.

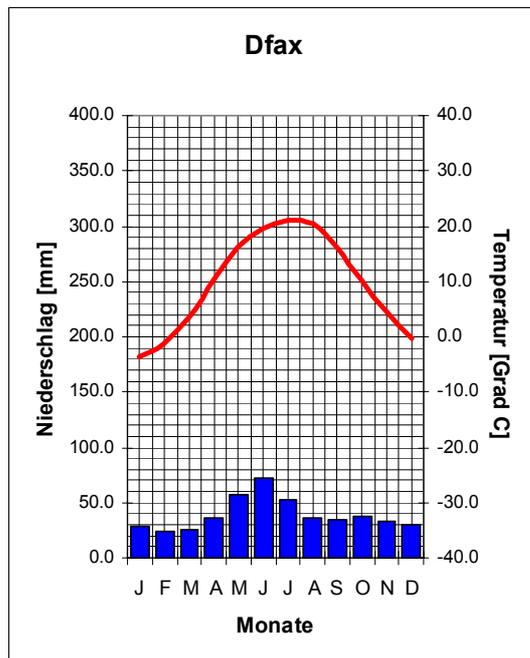


**Abb. 55 und 56 *Orobanche reticulata* ssp. *pallidiflora* 04.06.2005**

- **Floristisches Reservat Hanul Conachi.**

Das Floristische Reservat Hanul Conachi, im Kreis Galați befindet sich südlich der Ortschaft Liești, in der Siret-Aue. Gehört zur Klimazone Dfax: Waldklima mit hartem Winter und sehr heißen Sommern, mit mittlerer Jahrestemperatur 9.8 °C und Jahresniederschlag 466.8 mm (Klimadiagramm 7, Wetterstation Tecuci). Auf fluvialem, alluvialem Sand wächst eine spezifische Trocken-Flora, dominiert von *Salix rosmarinifolia*. Dort hat man *Orobanche arenaria* (syn. *Phelipanche arenaria*) gefunden.

57 m über NN. Koordinaten: 45°34'05.4"N, 27°35'13.0"E. Südhang.



Klimadiagramm 7: Tecuci



Abb. 57 *Orobanche arenaria* 10.06.2005

***Orobanche arenaria* Borckhausen 1794 (syn. *Phelipanche arenaria* Abb. 57).** 17 Exemplare, je 3-5 gruppiert. Sie befinden sich am Beginn der Blütezeit. Stängel kräftig, weiß gelb, lanzettförmige Schuppen mit braunen Spitzen. Blütenstand zylindrisch, kompakt. Blüte mit einem Tragblatt und zwei lanzettförmigen Vorblättern. Krone lang, 25-35 mm, glockig, violett. Staubbeutel lang behaart. Narbe weiß, zweilappig.

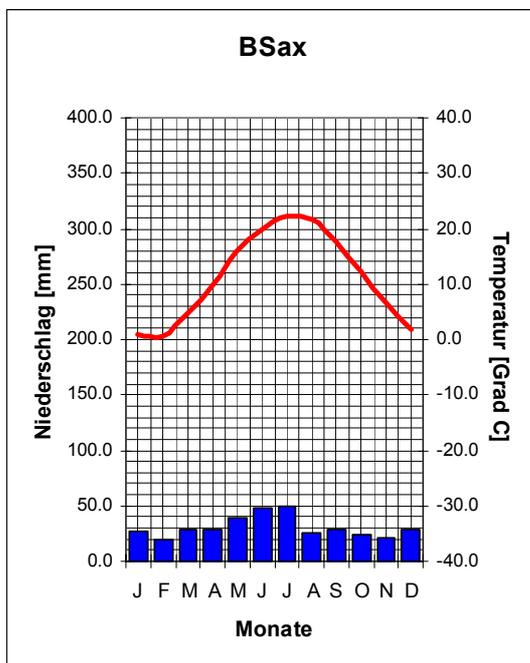
Wirtspflanze: *Artemisia pontica*

Begleitflora: *Achillea kitaibeliana*, *Agropyron elongatum*, *Asparagus pseudoscaber*, *Asparagus varius*, *Centaurea arenaria*, *Cynodon dactylon*, *Dictamnus albus*, *Festuca vaginata*, *Onobrychis arenaria*, *Onosma setosum*, *Polygonum arenarium*, *Secale silvestre*.

- **Floristisches Reservat Fântânița-Murfatlar.** Das Reservat befindet sich im Kreis Constanța, 1 km südlich der Murfatlar-Weinberge, am Ausgang der Stadt Basarabi. Gehört zur Klimazone BSax: Arides Steppenklima mit durchschnittlicher Jahrestemperatur von 11.2 °C und Jahresniederschlagsmenge 369.0 mm (Klimadiagramm 8). Das Substrat besteht aus sarmatianen Kalksteinen und darauf hat sich eine kalkhaltige Rendzin entwickelt (Pop E. & Sălăgeanu N. 1965).

Es ist ein hügeliges Steppereservat, sieht wie ein Plateau aus, mit relativ abrupten Hängen, mit vielen tiefen Gräben und enthält etwa 515 Pflanzen-Arten mit pontischer, balkanischer, kontinentaler, submediteraner oder eurasiatischer Herkunft, die eine große botanische Bedeutung haben. Auf dem Südwesthang mit 10-20° Neigung wurde *Orobanche caryophyllacea* gefunden, in einer krautigen Phytocönose mit *Festuca valesiaca* – *Centaurea orientalis*.

80 m über NN. Koordinaten: 44°10'30.2"N, 28°22'50.0"E.  
Südwesthang



Klimadiagramm 8: Basarabi



Abb. 58 *Orobanche caryophyllacea*  
30.06.2005

***O. caryophyllacea* J.E. Smith 1798** (*O. vulgaris* Poiret 1798, Abb. 58).  
7 Exemplare am Ende der Blütezeit.

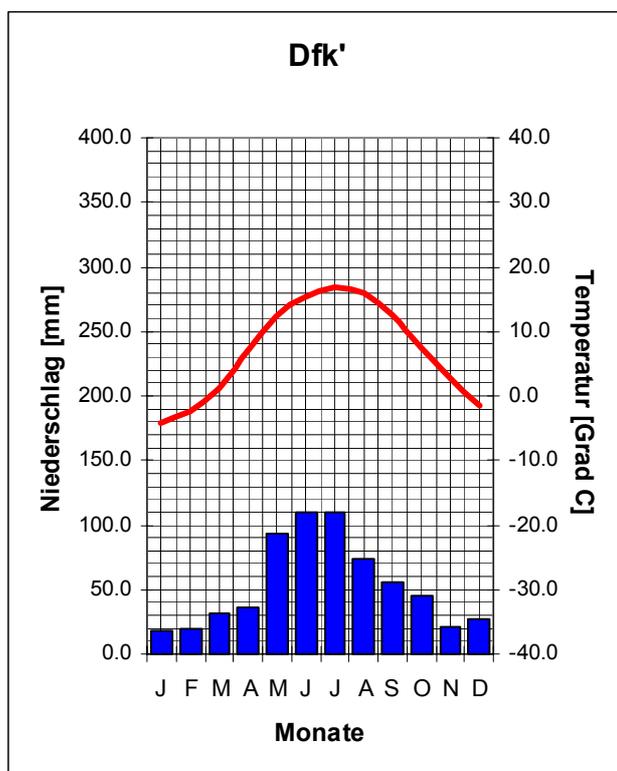
Wirtspflanze: *Galium album*

Begleitflora: *Achillea millefolium*, *Adonis vernalis*, *Allium moschatum*, *Artemisia pontica*, *Asparagus officinalis*, *Astragalus* sp., *Centaurea orientalis* f. *murfatlarii*, *Galium verum*, *Linum borzeanum*, *Lolium perenne*, *Melampyrum arvense*, *Paeonia tenuifolia*, *Plantago lanceolata*, *Poa*

*angustifolia*, *Stipa lessingiana*, *Stipa lessingiana* f. *murfatlarii*, *Trifolium medium*.

- **Stațiunea Biologică Potoci-Bicaz.**

Auf dem linken Ufer des Stausees Izvorul Muntelui mit einem Volumen von 1.230 Millionen m<sup>3</sup> der größten Stausee Rumäniens, gebildet von einem der Flüsse vom Inneren Rumäniens. Gehört der Klimazone Dfk' an (wie der Grosama-Hügel) mit durchschnittlicher Jahrestemperatur von 6.9 °C und Jahresniederschlag 640.0 mm (Klimadiagramm 9, Wetterstation Bicaz).



**Klimadiagramm 9: Bicaz**

Auf der montanen, sekundären Steppenwiese, oberhalb der Biologischen Station Potoci-Bicaz konnte man *O. purpurea* (syn. *Phelipanche purpurea*) und *O. minor* antreffen.

Vegetation, mit mesoxerophilen Formationen, in denen Gräser und Leguminosen überwiegen, umfasst zwei wichtige Pflanzengesellschaften: *Festuco rubrae* - *Agrostetum capilaris*, *Cirsio* - *brachypodietum pinnati*.

555 m über NN. Koordinaten: 46°58'06.2"N, 26°07'50.0"E. Süd-Osthang.

***Orobanche purpurea* N.J. von Jacquin 1762 (syn. *Phelipanche purpurea*, Abb. 59)**, Gruppe mit 7 Exemplaren, 15-20 cm groß. Ähre zylindrisch, Blüten weit abstehend, 20-25 mm lang. Kelch röhrig, 4-zählig. Zwei Vorblätter gleich groß wie der Kelch. Krone violett mit gerader Rückenlinie. Narbe weiß.

Wirtspflanze: *Achillea millefolium*

Begleitflora: *Agrostis tenuis*, *Alopecurus pratensis*, *Cornus sanguinea*, *Corydalis solida*, *Festuca sulcata*, *Festuca supina*, *Potentilla ternata*, *Primula acaulis*, *Prunus spinosa*, *Rosa canina*, *Sanguisorba officinalis*.



**Abb. 59 *Orobanche purpurea*  
auf *Achillea millefolium* 10.06.2005**



**Abb. 60 *Orobanche minor*  
auf *Trifolium repens* 10.06.2005**

***Orobanche minor* J. E. Smith 1797 (Abb. 60)**. Neun zerstreute Exemplare. Stängel dünn, bräunlich. Ähre zylindrisch, locker in der ersten Hälfte, dichtblütig in der oberen Hälfte, länger als der übrige Teil des Stängels. Vorblatt gleich groß wie die Krone. Blüten klein, maximum 15mm, röhrig. Krone mit Rückenlinie gleichmäßig nach vorne gekrümmt, violett auf der Oberlippe und weißlich auf der unteren Seite, spärlich drüsenhaarig. Narbe lila.

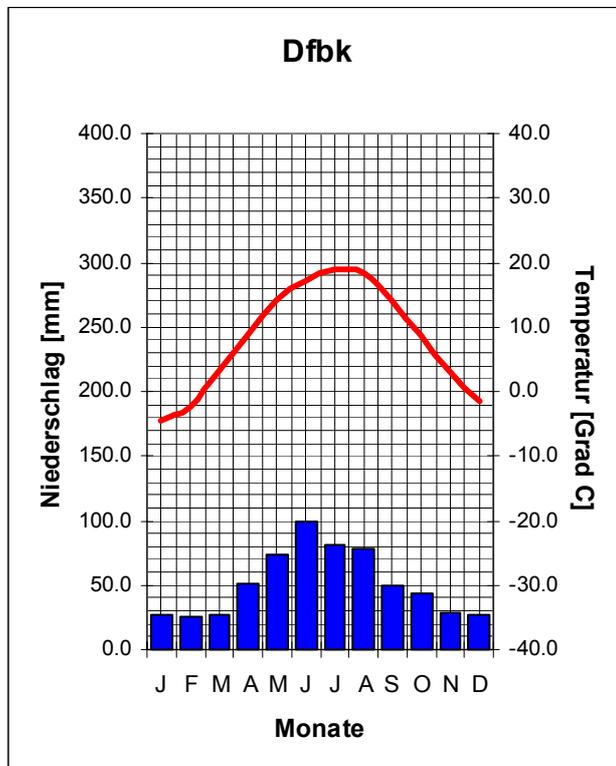
Wirtspflanze: *Trifolium repens*

Begleitflora: *Achillea millefolium*, *Agrostis tenuis*, *Alopecurus pratensis*, *Asparagus officinalis*, *Cornus sanguinea*, *Festuca sulcata*, *Galium album*, *Galium verum*, *Melampyrum arvense*, *Plantago lanceolata*, *Potentilla ternata*, *Prunus spinosa*, *Rosa canina*, *Sanguisorba officinalis*, *Vicia sepium*.

- **Botanischer Garten Klausenburg (Cluj-Napoca).**

Gehört zur Klimazone Dfbk (wie der Mocanu-Hügel), mit durchschnittlicher Jahrestemperatur von 8.2 °C und 612.9 mm Jahresniederschlag (Klimadiagramm 10).

377m über NN. Koordinaten: 46°46'57.1"N, 23°35'15.5"E. Osthang



**Klimadiagramm 10: Cluj**

***Orobanche lucorum* A.K.H. Braun 1833** (Abb. 61), entwickelt sich in der *Berberis*-Kollektion des botanischen Gartens, und befindet sich in der Nähe des Aussichtsturms. Dort wurden 20 einzelne Exemplare gefunden. Diese Population erscheint relativ konstant ganz nah bei den Wirtspflanzen, weil das Gras ringsum regelmäßig gemäht wird. Das Habitat ist östlich exponiert, der Boden vom Typ rotbraune Walderde, mit Lauberde gedüngt.

Wirtspflanze: *Berberis* sp.

Begleitflora: *Bellis perennis*, *Colchicum autumnale*, *Cruciata glabra*, *Fragaria vesca*, *Geum urbanum*, *Leontodon autumnalis*, *Lolium perenne*, *Plantago lanceolata*, *Poa pratensis*, *Primula veris*, *Prunella vulgaris*, *Ranunculus acris*, *Ranunculus repens*, *Taraxacum officinale*, *Trifolium pratense*, *Trifolium repens*.



**Abb. 61 *Orobanche lucorum* auf *Berberis* sp.**

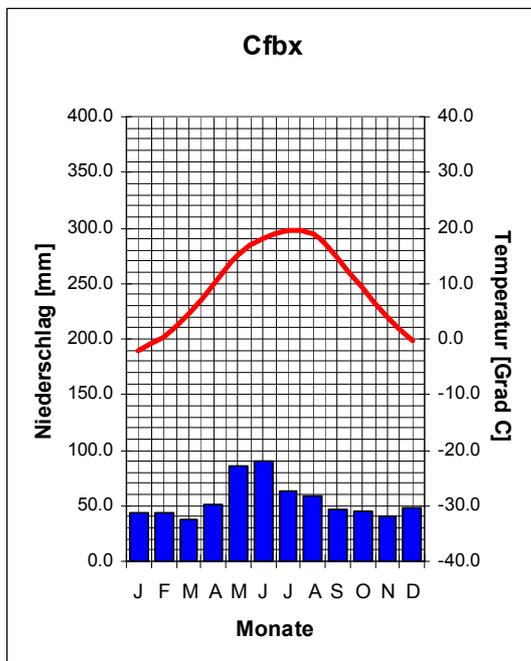
- **Gârbovăț, Gegend Bozovici.**

Auf dem Hügel Valea Mare, Ortschaft Gârbovăț, Gegend von Bozovici, und zwar auf dem nord-östlichen Abhang, auf einer Alm mit mesophiler Weide (Abb. 62), zur Hügelspitze gerichtet. Klimazone Cfbx (Klimadiagramm 11, Wetterstation Bozovici): gemäßigtes Kontinentalklima, mit mäßig kaltem Winter und warmem Sommer, mit mittlerer

Jahrestemperatur von 9.3 °C und Jahresniederschlag von 652.5 mm; die Niederschläge finden zumeist anfangs des Sommers statt.

323 m über NN. Koordinaten: 44°51'46.8"N, 22°01'29.5"E. Nordost-Hang.

Die Vegetation mit hohen Gräsern, wo *Calamagrostis epigeios* überwiegt, wurden *Orobanche minor*, *O. coerulescens*, *O. caryophyllacea* gefunden. Ende Juni waren die meisten *Orobanche*-Exemplare abgetrocknet; viele von ihnen waren von Insektenlarven stark angegriffen, das innere Gewebe war zerstört, was durch Längsschnitt an einigen Stängeln festgestellt werden konnte.



Klimadiagramm 11: Bozovici



Abb. 62 Mit Ilie Goga 28.06.2008

***Orobanche minor* J.E. Smith 1797** (Abb. 63). Population mit 10 zerstreuten Exemplaren.

Wirtspflanze: *Chrysanthemum leucanthemum*

Begleitflora: *Artemisia campestris*, *Briza media*, *Dianthus banaticus*, *Echinops banaticus*, *Filipendula vulgaris*, *Genista sagittalis*, *Leucanthemum vulgare*, *Lathyrus laevigatus*, *Linum flavum*, *Medicago falcata*, *Melampyrum*

*arverse*, *Muscari tenuiflorum*, *Peucedanum cavifolia*, *Phleum phleoides*, *Poa angustifolia*, *Teucrium chamaedrys*.



**Abb. 63 *Orobanche minor***  
**28.06.2008**



**Abb. 64 *Orobanche coerulescens***  
**28.06.2008**

***Orobanche coerulescens* Stephan 1800** (Abb. 64), 20 Exemplare, Tragblatt so lang wie der Kelch, wollig behaart, lanzettförmig, keine Vorblätter, Krone blau, Staubfäden unbehaart, Fruchtknoten unbehaart, Griffel behaart.

Wirtspflanzen: *Achillea millefolium*, *Artemisia campestris*, *Medicago falcata*.

Begleitflora: *Briza media*, *Centaurea scabiosa*, *Dactylis glomerata*, *Dorynicum austriacum*, *Dorycnium herbaceum*, *Festuca pratensis*, *Galium verum*, *Genista tinctoria*, *Geranium sanguineum*, *Inula britannica*, *Lotus corniculatus*, *Melampyrum arverse*, *Phleum phleoides*, *Polygonatum* sp., *Salvia pratensis*, *Trifolium campestre*, *Trifolium montanum*, *Trifolium rubens*.

***Orobanche caryophyllacea* J.E. Smith 1798** (Abb. 65 und Abb. 66). Stängel und Blüte bräunlich, gleich gefärbt.

Pflanzengesellschaft: *Calamagrostetum epigeii*

369 m über NN. Koordinaten: 44°51'46.9"N, 22°01'30.8"E. Nordost-Hang.

Wirtspflanze: *Galium verum*

Begleitflora: *Agropyron repens*, *Brachypodium pinnatum*, *Calamagrostis epigeios*, *Chrysanthemum leucanthemum*, *Festuca pratensis*, *Knautia arvensis*, *Prunus cerasifera*, *Prunus cerasifera*, *Silene nutans*, *Stachys officinalis*, *Tanacetum corymbosum*, *Veronica spicata*.

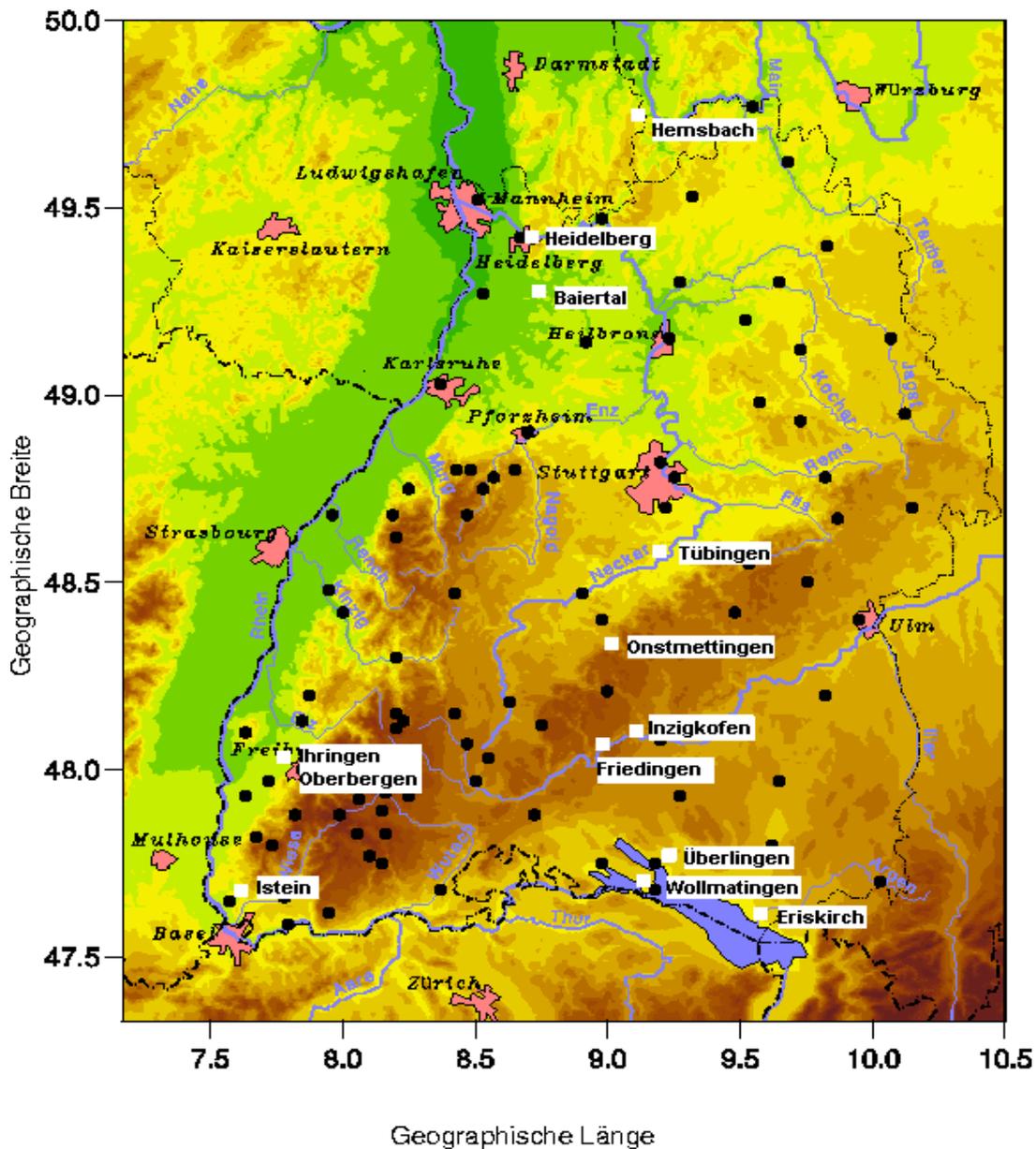


**Abb. 65 und 66 *Orobanche caryophyllacea* 28.06.2008**

Das Vorkommen von *Orobanche*-Arten konnte in Ineu (Dealul Mocreia), Lipova, Șoimoș, Nădab und Șiria, nicht bestätigt werden, obwohl in der Literatur (Buia A. 1961, Pop I. 1978, Ardelean A. 1999) und Herbarien (z.B. Herbarium des Botanischen Garten Macea) Informationen über das Vorkommen der *Orobanche* spp. in dieser Gegend enthalten sind.

#### **4.1.2. Fundorte in Baden-Württemberg**

Auch in Baden-Württemberg kommen die meisten Orobanchen in hügeligen Gegenden vor. Im Gegensatz zu den Fundorten in Rumänien waren sie leichter aufzufinden, weil in Baden-Württemberg alle Pflanzen kartographiert sind.

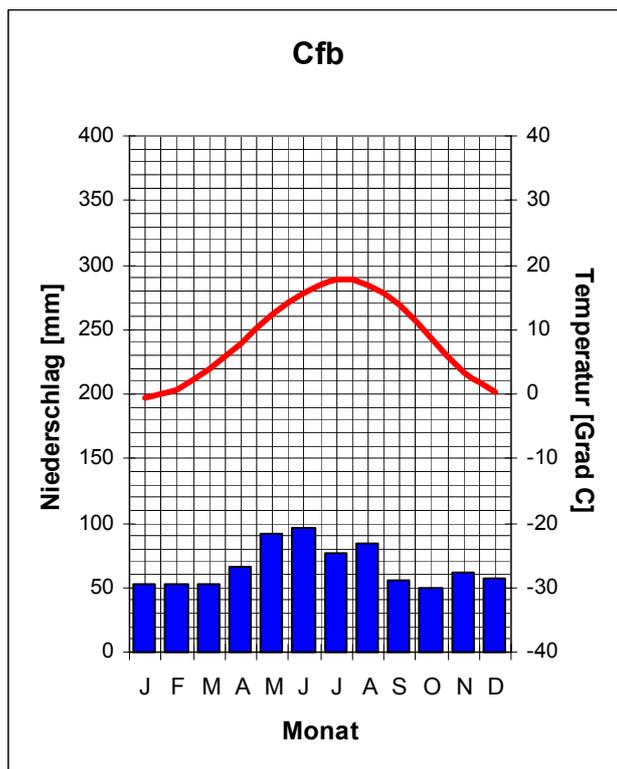


**Abb. 67 Geographische Lage der Fundstellen in Baden-Württemberg**

Die weißen Quadrate markieren die Fundstellen, die schwarzen Punkte die Klimastationen.

In die vorliegende Arbeit wurden die Klimadiagramme der jeweils nächstliegenden Klimastation aufgenommen. Alle Fundorte in Baden-Württemberg gehören der Klimazone Cfb (nach dem Köppen-Klassifikationssystem) an: Gemäßigtes Regenklima mit warmem Sommer.

- **Tübingen, Botanischer Garten der Universität, im Arboretum** (Abb. 68 und Abb. 69), gehört zur Klimaregion mit einer mittleren Jahrestemperatur von 8.3 °C und 795 mm Jahresniederschlag (Klimadiagramm 12, Wetterstation Rottenburg; siehe auch Klimadiagramm 35).  
500 m über NN Koordinaten 48°32'28.0"N, 009°02'00.2E.



**Klimadiagramm 12: Rottenburg**

Spontanvorkommen von *Orobanche hederæ* Duby 1828 auf einem großen Bestand von *Hedera helix* als Wirtspflanze, die an einem alten Baum rankt und den Boden bedeckt. Mehrjährige Art, weil die Wirtspflanze mehrjährig ist. *Orobanche* am 31.05.08 noch nicht aufgeblüht., am 17.06.08 blühend (Abb. 70).



**Abb. 68 Im Botanischen Garten  
der Universität Tübingen**



**Abb. 69 Erste *Orobanchaceae*  
*hederae* Pflanzen am 31.05.2008**



**Abb. 70 *Orobanchaceae hederae* blühend am 17.06.2008**

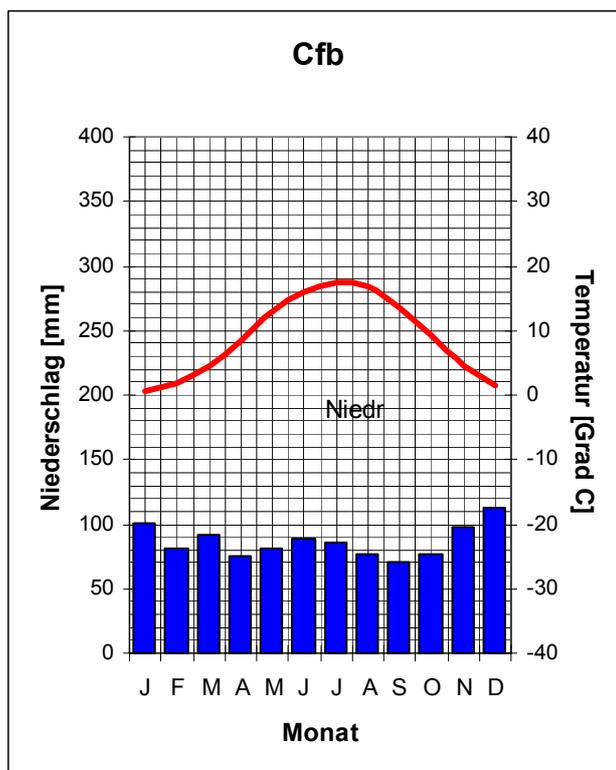
Die beschriebenen Vorkommen von *O. hederae* im Tübinger Stadtfriedhof (Gottschlich 1983, zitiert nach Blütenpflanzen Baden-

Württembergs, Bd. 5, S. 380 (1996) und am Kinderspielplatz im Alten Botanischen Garten (Gottschlich, pers. Mitteilung 2008) konnten nicht bestätigt werden.

- **Hemsbach**

(bei Weinheim), Gemarkung Alteberg, 01.06.08. Mesothermes Klima mit mittlerer Jahrestemperatur von 8.9 °C und 1036 mm Jahresniederschlag (Klimadiagramm 13, Wetterstation Eberbach).

202 m über NN. Koordinaten: 49°35'08.2"N, 008°39'44.6"E. Südhang.



**Klimadiagramm 13: Eberbach**

Ruderal geprägter Magerrasen. Sekundäre Biotope, ehemalige Weinberge. Dünne Lößauflage, Granituntergrund.

***Orobanche elatior* C. Sutton 1798** (Abb 71 – 74), ca. 60 Exemplare. Kräftige, rötliche, 20-70 cm, drüsenbehaarte Stängel. Blüte 1,5-2 cm, rötlichgelb. Krone mit regelmäßiger gekrümmter Rückenlinie, Staubblätter 5 mm über dem Grund eingefügt, Narbe gelb.

Wirtspflanze *Centaurea scabiosa*, reichlich vorhanden.

Begleitflora: *Asparagus officinalis*, *Chondrilla juncea*, *Clematis vitalba*, *Tragopogon dubius*, *Euphorbia cyparissias*, *Galium album*, *Galium*

*verum*, *Geranium sanguineum*, *Melampyrum arvense*, *Origanum vulgare*, *Plantago lanceolata*, *Poa angustifolia*, *Potentilla neumanniana*, *Stachys recta*, *Trifolium campestre*, *Verbascum lychnitis*, *Vicia angustifolia*, *Vitis vinifera* (als Kulturrelikt).



**Abb. 71 Orobanche elatior**



**Abb. 72 O. elatior auf Centaurea scabiosa**



**Abb. 73 Orobanche elatior**



**Abb. 74 Orobanche elatior Gruppe**

Viele Pflanzen sahen abgetrocknet aus. Die Stängel waren besonders am Grund weich, und bei Berührung fielen sie um. Im Längsschnitt (Abb. 75 und Abb. 76) sieht man, dass das innere Gewebe des Stängels von Insektenlarven zerfressen war. Die Larven hatten das gleiche Aussehen wie die Insektenlarven, die wir in Rumänien an den Fundorten Mocanu und Gârbovaț gesehen hatten.



**Abb. 75 und 76 *Orobanche elatior* von Insektenlarven zerfressen**

***Orobanche picridis* F.W. Schultz 1830** (Abb. 77 und Abb. 78). 12 zerstreute Exemplare auf dem ehemaligen Weinberggelände, das seit einigen Jahren als Wiese bewirtschaftet und gemäht wird. Diese Art ist hier wieder gefunden worden, 300 Exemplare 1989, nachdem man dachte, sie sei in Baden-Württemberg ausgestorben. Diese und eine Population in Kleinwallstadt am Main (etwa 100 Exemplare) sind die einzigen gesicherten Vorkommen von *O. picridis* in der Bundesrepublik Deutschland (Demuth, 1990). Blaue Blüten, blüht manchmal bis in den Oktober.

218 m über NN. Koordinaten: 49°35'10.3"N, 008°40'01.7"E.

Wirtspflanze: *Picris heracioides*.

Begleitflora: *Asparagus officinalis*, *Brachypodium pinnatum*, *Crepis capillaris*, *Origanum vulgare*, *Phleum phleoides*, *Plantago lanceolata*, *Poa angustifolia*, *Taraxacum officinale*, *Trifolium campestre*.



**Abb 77 und 78 *Orobanche picridis* auf *Picris heracioides***

***Orobanche lutea* Baumgarten 1816** (Abb. 79 und Abb. 80), 100 Exemplare.

205 m über NN. Koordinaten: 49° 36'01.3"N, 008° 10' 03.0"E.

Blüht gelb, rot überlaufen, Tragblätter länger als die Blüten. Wächst bis über 50 cm hoch, die Krone hat einen Knick in der Nähe der Spitze. Wirtspflanze: *Medicago varia*, häufig vorhanden.

Begleitflora: *Arrhenatherum elatius*, *Dactylis glomerata*, *Elymus repens*, *Origanum vulgare*, *Poa angustifolia*, *Tanacetum vulgare*, *Vitis vinifera*.



**Abb. 79 und 80 *Orobanche lutea* auf *Medicago varia***

***Orobanche alsatica* Kirschleger 1836** (Abb. 81 und Abb. 82), 50 Exemplare zerstreut.

Keine großen Unterschiede zu *O. elatior*, ist kleiner, blüht später. Kleinere Blüten als *O. elator*, mehr blau als gelb.

206 m über NN. Koordinaten: 49°35'10.8"N, 008°39'44.1"E.

Wirtspflanze *Peucedanum cervaria*.

Begleitflora: *Brachypodium pinnatum*, *Centaurea scabiosa*, *Dactylis glomerata*, *Cyanum vincetoxicum*, *Geranium sanguineum*.

Pflanzengesellschaft: *Geranio-Peucedanetum cervariae*.



**Abb. 81 und Abb. 82 *Orobanche alsatica* auf *Peucedanum cervaria***

***Orobanche purpurea* N.J. von Jacquin 1762 (syn. *Phelipanche purpurea*, Abb. 83 und Abb. 84).** Stängel unverzweigt, bläulich, 10-30 cm lang, mit wenig Schuppen. Blüten bis 30 mm groß in drüsenhaarigen Trauben. Bläulich, am Grund gelb überlaufene Krone, Oberlippe mit zwei spitzen Lappen, Narbe blau.

220 m über NN. Koordinaten: 49°35'09.2"N, 008°39'50.8"E.

Wirtspflanze: *Achillea millefolium*.

Begleitflora: *Arrhenatherum elatius*, *Coronilla varia*, *Daucus carota*, *Echium vulgare*, *Eryngeron annuus*, *Origanum vulgare*, *Poa angustifolia*, *Taraxacum officinale*.



**Abb. 83 und Abb. 84 *Orobanche purpurea* (syn. *Phelipanche purpurea*) auf *Achillea millefolium***

***Orobanche hederæ* Duby 1828** (Abb. 95), 1 Exemplar blühend. Der Standort war sehr schattig, am Rand eines Mischwaldes.

216 m über NN. Koordinaten: 49°35'12.2"N, 008°39'48.1"E, Nordhang.

Wirtspflanze: *Hedera helix*, dichter Bestand. Krone weißlich, violett überlaufen, 1- 2 cm groß. Narbenlappen gelb.

Begleitflora: *Brachypodium pinnatum*, Keimlinge von *Fraxinus excelsior*, *Geranium robertianum*, sehr schattiger Standort.



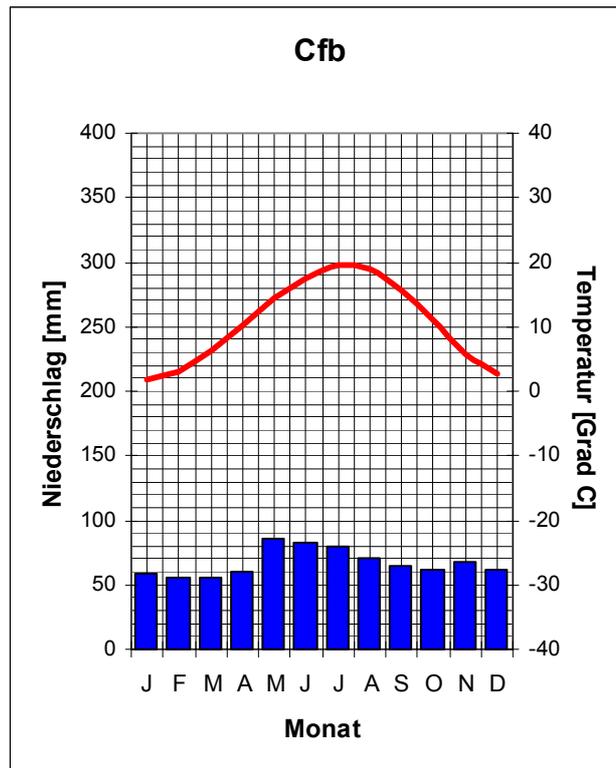
**Abb. 85 *Orobanche hederæ* auf *Hedera helix***

***Orobanche arenaria* Borckhausen 1794 (syn. *Phelipanche arenaria*)**, die hier ebenfalls heimisch ist (Röhner & Schwöbel 2006), ist 2008 nicht gekommen. Diese Art nimmt hier ständig ab, und gilt als stark gefährdet.

- **Heidelberger Schloss,**

befindet sich in der mesothermen Klimazone mit einer mittleren Jahrestemperatur von 10.6 °C und 804 mm Jahresniederschlag (Klimadiagramm 14, Wetterstation Heidelberg).

178 m über NN. Koordinaten: 49°24'39.04"N, 008°42'54.9"E.



**Klimadiagramm 14: Heidelberg**

***Orobanche hederæ* Duby 1828** (Abb. 86 – Abb. 89), auf *Hedera helix* an schattigen Stellen im Innenhof, blühend, in Populationen mit 5-15 Exemplaren. 01.06.08.



**Abb. 86 und 87 *Orobanche hederæ* auf *Hedera helix* an verschiedenen Stellen im Hof des Heidelberger Schlosses**

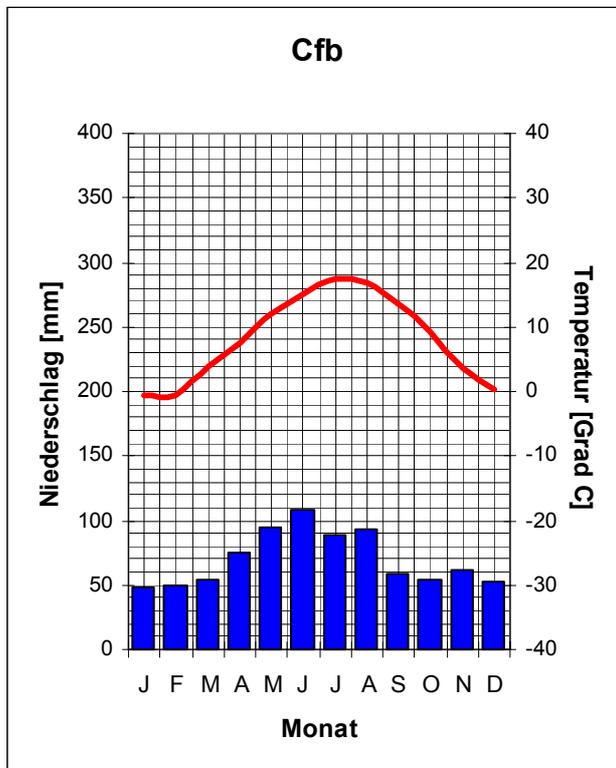


**Abb. 88 und 89 *Orobanche hederae* auf *Hedera helix* an weiteren Stellen im Hof des Heidelberger Schlosses**

- **Onstmettingen „Naturschutzgebiet Zeller Horn“**

(Abb. 90 und Abb. 91), 03.06.2008. Mesotherme Klimaregion mit mittlerer Jahrestemperatur von 8.3 °C und 837 mm Jahresniederschlag (Klimadiagramm 14, Wetterstation Hechingen).

833 m über NN. Koordinaten: 49°24'38.9"N, 008°42'54.8"E, Nordwest-Hang.



**Klimadiagramm 15: Hechingen**

***Orobanche mayeri* K. Bertsch & F. Bertsch 1948** (*O. alsatica* var. *mayeri*, Suessenguth & Ronniger 1942, Abb. 92 und Abb. 93), endemische Art, die heute nur noch an diesem Standort vorkommt. Mesophile Wiese auf kalkhaltigem Lehmboden. Obwohl wir die Wiese gründlich durchgesucht haben, wurden nur 2 Exemplare gefunden. Die Population ist stark gefährdet. 1995 betrug die Population noch 30 Exemplare (Baumann). Der Rückgang ist sehr deutlich, obwohl das Vorkommen in einem Naturschutzgebiet liegt.

Wirtspflanze: *Laserpitium latifolium*

Begleitflora: *Arnica montana*, *Centaurea nigra*, *Dactylis glomerata*, *Daucus carota*, *Epilobium roseum*, *Galium verum*, *Lotus corniculatus*, *Orchis mascula*, *Phyteuma orbiculare*, *Plantago lanceolata*, *Plantago maior*, *Prunella vulgaris*, *Pulmonaria officinalis*, *Ranunculus alpinus*, *Rumex acetosella*, *Seseli annuum*, *Tanacetum vulgare*, *Taraxacum officinale*, *Trifolium pratense*, *Trollius europaeus*.

Die dort ebenfalls beschriebene Art *Orobanche picridis* (Lewejohann 1972, zit. nach Blütenpflanzen Baden-Württembergs, S. 392 (1996) wurde nicht gefunden.



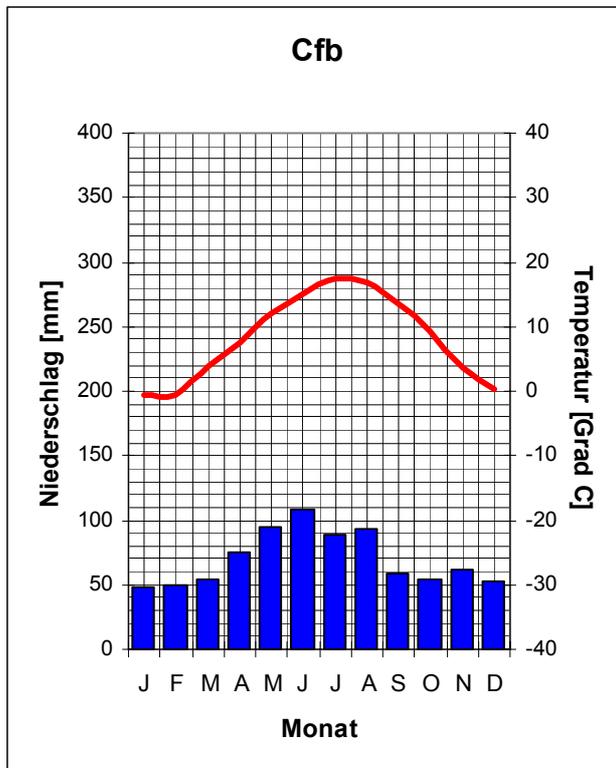
**Abb. 90 und Abb. 91 Am Zeller Horn, dem letzten Fundort der endemischen Art *Orobanche mayeri* (*Orobanche alsatica* var. *mayeri*)**



**Abb. 92 und Abb. 93 *Orobanche mayeri* (*O. alsatica* var. *mayeri*)  
auf *Laserpitium latifolium* 03.06.2008**

- **Inzigkofen bei Sigmaringen,**  
im Donautal. 03.06.2008. Mesotherme Klimaregion mit mittlerer Jahres-  
temperatur von 7.2 °C und 793 mm Jahresniederschlag (Klimadiagramm 15,  
Wetterstation Sigmaringen).

575 m über NN. Koordinaten: 48°04'43.9"N, 008°09'18.7"E.



**Klimadiagramm 16: Sigmaringen**

***O. teucris* Hollandre 1829** (Abb. 94 - 97). 03.06.08. In der Nähe des Bahnhofs Inzigkofen in der Wiese und am Rand des Waldes im Gebüsch, etwa 10-15 Exemplare.

Stängel einfach, mit wenig Schuppen, 15-40 cm groß. Blütenstand mit 15-25 Blüten; Krone weißlich hell braun, braun-schwarze Narbe. Wirtspflanze: *Teucrium montanum*.

Begleitflora: *Clematis vitalba*, *Cornus alba*, *Crataegus monogyna*, *Galium verum*, *Leucanthemum vulgare*, *Mentha piperita*, *Prunus spinosa*, *Rosa canina*, *Rubus ulmifolius*, *Rumex acetosella*, Sämlinge von *Quercus robur*.



**Abb. 94 - 97 *Orobancha teucris* auf *Teucrium montanum* bei Inzigkofen im Donautal**

*O. picridis* **F.W. Schultz 1830**, 1909 von K. Bertsch berichtet (Blütenpflanzen Baden-Württembergs, Bd. 5, S. 394) wurde nicht gefunden.

- **Friedingen im Donautal bei Beuron,**

Stiegelesfels, 03.06.2008.(Abb. 98).

***Orobanche teucrii* Hollandre 1829** (Abb. 99), auf der steilen, kalksteinigen Wiese 1 Exemplar mit 15 cm langen Stängel und wenig schuppig, schwarze Narbe.

773 m über NN. Koordinaten 48°04'47.5"N, 009°09'01.6"E.

Wirtspflanze: *Teucrium montanum*.

Begleitflora: *Arnica montana*, *Carduus defloratus*, *Cynanchium vincetoxicum*, *Euphorbia cyparissias*, *Galium hercynicum*, *Galium montanum*, *Geranium robertianum*, *Lotus corniculatus*, *Potentilla erecta*, *Potentilla reptans*, *Quercus robur*, *Rubus ulmifolius*, *Sanguisorba minor*.



**Abb. 98 Areal am Stiegelesfels**



**Abb. 99 Am Stiegelesfels einziges Exemplar von *Orobanche teucrii* auf *Teucrium montanum***

Die am Stiegelesfels 1981 berichtete *O. picridis* (Sebold, zit. nach Blütenpflanzen Baden-Württembergs, Bd. 5, S. 392) wurde nicht gefunden.

- **Baiertal bei Wiesloch,**

Gemarkung Kobelsberg, Schacht XV. 05.06.2008

234 m über NN. Koordinaten: 48°32'23.4"N, 009°02'07.1"E.

***Orobanche caryophyllacea* J.E. Smith 1798** (Abb. 100 und Abb. 101), über 40 Exemplare, eines der größten Vorkommen in Nordbaden.

Wirtspflanze: *Galium album*, zahlreich in hohem Gras.

Begleitflora: *Campanula patula*, *Cirsium arvense*, *Clematis vitalba*, *Convolvulus arvensis*, *Dactylis glomerata*, *Festuca norica*, *Medicago falcata*, *Plantago media*, *Rubus fruticosus*, *Solidago canadensis*, *Trifolium montanum*, *Vicia sativa nigra*.



**Abb. 100 und Abb. 101 *Orobanche caryophyllacea* auf *Galium mollugo***

- **Hirschberg**, 05.06.08. Das Vorkommen (Demuth, 1996), von *O. purpurea* (syn. *Phelipanche purpurea*) konnte nicht bestätigt werden.

- **Reutlingen, Auf der Achalm** 06.06.08. Das Vorkommen von *Orobanche gracilis* (Mayer 1924, zit. nach Blütenpflanzen Baden-Württembergs, Bd. 5, S, 382) auf der Achalm konnte nicht bestätigt werden.

- **Hayingen bei Zwiefalten**, Großes Lautertal 18.06.08. Das Vorkommen von *O. alba* (Demuth, 1996), konnte nicht bestätigt werden.

- **Eriskirch, Argenmündung** am Bodensee, im „Naturschutzgebiet Argen“ (Abb. 102). 18.07.2008.

401 m über NN. Koordinaten: N 47 ° 35 ' 50.2 " E 009 ° 33' 53",  
Halbtrockenrasen.

***Orobanche caryophyllacea* J.E. Smith 1798** (Abb. 103), 25-30 Exemplare verblüht.

Wirtspflanze: *Melilotus officinalis*, reichlich vorhanden.

Begleitflora: *Arrhenatherum elatius*, *Briza media*, *Euphorbia helioscopia*, *Galium album*, *Galium verum*, *Knautia arvensis*, *Melampyrum arvense*, *Poa angustifolia*, *Rhinanthus serotinus*, *Sanguisorba officinalis*, *Succisa pratensis*, *Trifolium montanum*, *Vicia angustifolia*.



**Abb. 102 Am Naturschutzgebiet „Argen“**



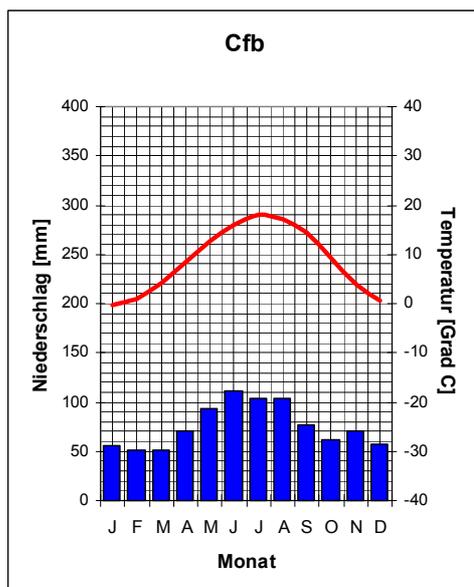
**Abb. 103 *Orobanche caryophyllacea* auf *Melilotus officinalis***

Im Naturschutzgebiet „Eriskircher Ried“ haben die dort tätigen Wissenschaftler seit Jahren, keine *Orobanche* mehr gesehen. Dort war *O. minor* registriert.

- **Überlingen am Bodensee,**

Gemarkung Goldbach (Abb. 104), 19.06.08. Der Fundort ist eine xerophile Wiese, die der mesothermem Klimazone angehört. Mittlere Jahrestemperatur 8.7 °C und 906 mm Jahresniederschlag (Klimadiagramm 16, Wetterstation Überlingen)

429 m über NN. Koordinaten: 47°35'50.0"N, 009°33'52.9"E. Trockenrasen, Südhang.



**Klimadiagramm 17: Überlingen**

***Orobanche minor* J.E. Smith 1797** (Abb. 105 - Abb. 107). Ca. 15 Exemplare.

Wirtspflanze *Trifolium montanum*.

Begleitflora: *Achillea millefolium*, *Arrhenatherum elatius*, *Asparagus officinalis*, *Galium album*, *Galium verum*, *Melampyrum arvense*, *Plantago lanceolata*, *Plantago major*, *Poa angustifolia*, *Ranunculus repens*, *Teucrium chamaedrys*, *Trifolium pratense*, *Trifolium repens*, *Vicia sepium*.



**Abb. 104** Gemarkung Goldbach bei Überlingen



**Abb. 105** *Orobanche minor* auf *Trifolium montanum*



**Abb. 106 und Abb. 107** *Orobanche minor* auf *Trifolium montanum*

- Das *Orobanche*-Vorkommen an der **Süßenmühle** konnte nicht bestätigt werden.

- **Wollmatingen bei Konstanz am Bodensee.**

Mesotherme Klimazone mit mittlerer Jahrestemperatur 9.2 °C und 847 mm Jahresniederschlag (Klimadiagramm 63, Wetterstation Konstanz). 50 m nördlich des Urisberg-Kindergartens, Graswiese, mäßig trittbelastet. 19.06.2008.

421 m über NN. Koordinaten: 47°41'27.3"N, 009°09'09.6"E.

***Orobanche minor* J.E. Smith 1797** (1 Exemplar, Abb. 108) auf *Trifolium repens*.

Begleitflora: *Agrimonia* sp., *Agrostis stolonifera*, *Convolvulus arvensis*, *Dactylis glomerata*, *Galium album*, *Holcus lanatus*, *Lolium perenne*, *Medicago lupulina*, *Pastinaca sativa*, *Poa annua*, *Poa pratensis*, *Senecio erucifolius*, *Taraxacum officinale*.



**Abb. 108 *Orobanche minor* auf *Trifolium repens***

Im Naturschutzgebiet „Wollmatinger Ried“ wurde seit Jahren, nach Aussage der dort tätigen Fachleute, keine *Orobanche* mehr gesehen. Dort war *O. minor* registriert.

- **Istein, Isteiner Klotz, 19.06.2008**

251 m über NN. Koordinaten: 47°39'41.7"N, 007°31'49.4"E. Südhang.

***Orobanche hederæ* Duby 1828** (ca. 15 Exemplare, Abb. 109 und 110).  
Wirtspflanze: *Hedera helix*, reichlich vorhanden am Fuß des Felsens.  
Begleitflora: *Clematis vitalba*, Moose.



**Abb. 109 und 110 *Orobanche hederaceae* auf *Hedera helix* am Isteiner Klotz**

***Orobanche caryophyllacea* J.E. Smith 1798** (Abb. 111 und Abb. 112)  
ca. 15 Exemplare, wachsen auf einer dünnen Bodenschicht, die den Felsen bedeckt.

Wirtspflanze: *Galium hercynicum*, reichlich vorhanden.

259 m über NN. Koordinaten: 47°39'43.1"N, 007°31'50.3"E. Südhang,

Begleitflora: *Clematis vitalba*, *Dianthus carthusianorum*, *Festuca ovina*, *Filipendula ulmaria*, *Knautia arvensis*, *Nardus stricta*, *Oenothera biennis*, *Prunus spinosa*, *Rubus fruticosus*, *Salvia pratensis*, *Sedum acre*, *Teucrium chamaedrys*, *Vicia angustifolia*.



**Abb. 111 Fundort von *Orobanche caryophyllacea* am Isteiner Klotz**



**Abb. 112 *Orobanche caryophyllacea* auf *Galium hercynicum***

Das Vorkommen von *O. alba* und *O. minor* an der Bank vor der St. Anna-Kapelle konnte nicht bestätigt werden.

- **Ihringen (Kaiserstuhlgebiet), 20.06.2008.**

155 m über NN. Koordinaten: 48°02'39.9"N, 007°38'28.3"E.

***Orobanche minor* J.E.Smith 1797** (Abb. 113 und Abb. 114), 5 Exemplare blühend, auf Spontanflora am Rand eines Gartens am Ende der Straße Im Westengarten.

*Orobanche minor* ist leicht mit *O. picridis* zu verwechseln (Röhner & Schwöbel 2006). Da die spezifische Wirtspflanze *Dipsacus silvestris* (Uhlich et al. 1995) sehr dicht um den Parasiten stand, war die Bestimmung erleichtert.

Wirtspflanze: *Dipsacus silvestris*, reichlich vorhanden.

Begleitflora: *Convolvulus arvensis*, *Coronilla varia* (zahlreich und üppig), *Lolium perenne*, *Oenothera biennis*, *Onobrychis viciifolia*, *Ornithopus perpusillus*, *Plantago lanceolata*, *Salvia pratensis*, *Senecio jacobaea*.



**Abb. 113 und 114 *Orobanche minor* auf *Dipsacus silvestris***

Böschung an einer Straße zwischen Weingärten. 20. 06. 2008

270 m über NN. Koordinaten: 48°02'56.0"N, 007°39'00.6"E. Südhang.

***Orobanche teucrii* Hollandre 1829** (ca. 10 Exemplare, Abb. 115) auf *Teucrium molugo*, und ***Orobanche lutea*** Baumgarten 1816 (ca. 7 Exemplare, Abb. 116) auf *Trifolium aureum*.

Begleitflora: *Achillea millefolium*, *Arrhenatherum elatius*, *Bromus erectus*, *Chondrilla juncea*, *Clematis vitalba*, *Daucus carota*, *Euphorbia cyparissias*, *Festuca guestfalica*, *Galium verum*, *Geranium sanguineum*, *Knautia arvensis*, *Onobrychis viciifolia*, *Plantago lanceolata*, *Poa*

*angustifolia*, *Poa dactylis*, *Potentilla neumanniana*, *Rubus fruticosus*, *Teucrium chamaedrys*, *Thymus pulegioides*, *Trifolium campestre*, *Trifolium pratense*, *Vicia angustifolia*.



**Abb. 115 Orobanche teucrii auf Teucrium molugo**



**Abb. 116 Orobanche lutea auf Trifolium aureum**

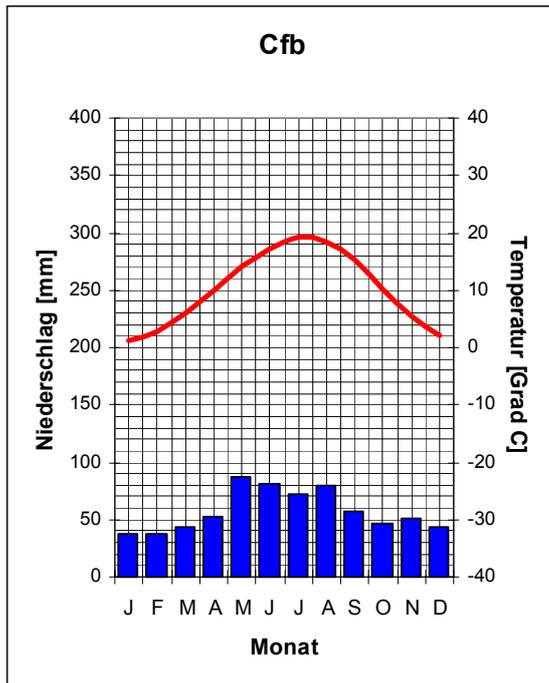
- **Oberbergen (Kaiserstuhl),**

Naturschutzgebiet Badberg (Abb. 117). Mesotherme Klimazone mit 10.1 °C mittlere Jahrestemperatur und 687 mm Jahresniederschlag (Klimadiagramm 17, Wetterstation Vogtsburg-Oberrotweil). Südhang, Vulkanisches Urgestein, Kalkboden. Halbtrockenrasen, hier beginnt in Deutschland der Frühling. 20.06.08.

275 m über NN. Koordinaten: 48°05'44.4"N,007°39'54.8"E. Südhang.



**Abb. 117 Infotafel über das Naturschutzgebiet „Badberg“**



**Klimadiagramm 18:  
Vogtsburg-Oberrotweil**

***Orobanche teucrii* Hollandre 1829** (ca. 15 Exemplare, Abb. 118 und Abb. 119) an der Böschung am Aufstieg .

Wirtspflanze: *Teucrium chamaedrys* (reichlich vorhanden).

Begleitflora: *Clematis vitalba*, *Coronilla varia*, *Crataegus laevigata*, *Crataegus monogyna*, *Festuca ovina*, *Filipendula ulmaria*, *Galium hercynicum*, *Knautia arvensis*, *Nardus stricta*, *Potentilla erecta*, *Prunus spinosa*, *Rosa canina*, *Rubus fruticosus*, *Trifolium campestre*, *Vicia angustifolia*.



**Abb. 118 und 119 *Orobanche teucrii* auf *Teucrium chamaedrys***

***Orobanche lutea* Baumgarten 1816** (Abb. 120) ca. 30 Exemplare am Wegrand.

299 m über NN. Koordinaten: 48°05'45.1"N, 007°39'56.6"E.

Wirtspflanze: *Medicago falcata* reichlich vorhanden.

Begleitflora: *Asparagus officinalis*, *Chondrilla juncea*, *Coronilla varia*, *Dianthus cartusianorum*, *Euphorbia cyparissias*, *Festuca ovina*, *Galium album*, *Galium verum*, *Geranium sanguineum*, *Melampyrum arverse*, *Nardus stricta*, *Origanum vulgare*, *Plantago lanceolata*, *Poa angustifolia*, *Potentilla neumanniana*, *Rubus fruticosus*, *Stachys recta*, *Tragopogon dubius*, *Trifolium campestre*, *Vicia angustifolia*.

***Orobanche elatior* C. Sutton 1798** (ca. 10 Exemplare, Abb. 121). Die Pflanzen sind sehr kräftig, haben 50-70 cm lange und 2-2,5 cm dicke Stängel. Die Ähre nimmt die obere Hälfte ein und besteht aus 2-3 cm großen Blüten.

Wirtspflanze *Centaurea scabiosa*, reichlich vorhanden.

202 m über NN. Koordinaten: 49°05'44.4"N, 007°40'09.4"E. Südhang.

Begleitflora: *Anacanthys pyramidalis*, *Briza media*, *Coronilla varia*, *Dactylis glomerata*, *Galium album*, *Helianthemum nummularium*, *Knautia arvensis*, *Potentilla erecta*, *Rhynanthus* sp., *Sanguisorba minor*, *Vicia angustifolia*.



**Abb. 120 *Orobanche lutea*  
auf *Medicago varia***



**Abb. 121 *Orobanche elatior*  
auf *Centaurea scabiosa***

***Orobanche lutea* Baumgarten 1816.** 16 Exemplare, in der Wiese des Reservates (Abb. 120). Tragblätter länger als die Blüten.

Wirtspflanze: *Medicago varia*, häufig vorhanden.

Begleitflora: *Achillea millefolium*, *Arrhenatherum elatius*, *Briza media*, *Centaurea scabiosa*, *Coronilla varia*, *Dactylis glomerata*, *Elymus repens*, *Galium verum*, *Origanum vulgare*, *Peucedanum cervaria*, *Picris hieracioides*, *Poa angustifolia*, *Ranunculus* sp., *Rhinanthus serotinus*, *Tanacetum vulgare*, *Vicia angustifolia*, *Vitis vinifera*.

***Orobanche caryophyllacea* J.E. Smith 1798** (Abb. 122 und 123), 25 einzelne Exemplare.

Wirtspflanze: *Galium album*

Begleitflora: *Brachypodium pinatum*, *Carex* sp., *Cinanchium vincetoxicum*, *Coronilla varia*, *Dactylis glomerata*, *Galium rubioides*, *Genista tinctoria*, *Geranium pratense*, *Helianthemum nummularium*, *Knautia arvensis*.



**Abb. 122 und 123 *Orobanche caryophyllacea* auf *Galium album***

- **Kniebis, Alexanderschanze**

an der Schwarzwaldhochstraße. Das Vorkommen von *O. rapum-genistae* Thuillier 1799 (Döll 1859, zit. nach Blütenpflanzen Baden-Württembergs Bd. 5, S. 378 (1996) konnte nicht bestätigt werden. Der Ginster als Wirtspflanze war selten. Die Bestände sind offenbar der Sukzession nach dem Orkan „Lothar“ zum Opfer gefallen. Nach Auskunft des nahegelegenen Naturschutzzentrums Ruhstein sind in dieser Gegend keine *Orobanche*-Vorkommen mehr bekannt.

#### 4.1.3. Vorläufige Schlussfolgerungen über die Fundorte

Von 21 *Orobanche* spp., die in Baden-Württemberg wachsen, stehen nach Breunig & Demuth (1999) 19 auf der Roten Liste (s. Tab. 5).

In Rumänien stehen von den 22 *Orobanche* spp. 5 Arten auf der Roten Liste: *O. caesia*, *O. salviae*, *O. lucorum*, *O. aegyptiaca*, *O. alsatica* (Olteanu et al. 1994., Boşcaiu et al. 1994), und 6 Arten haben verschiedene Gefährdungsgrade, ohne auf der Liste eingetragen zu sein: *O. arenaria* Borckhausen, *O. purpurea* Jaquin kommt sporadisch vor, *O. lutea* Baumgarten sporadisch, *O. elatior* Sutton, *O. gracilis* Smith, *O. teucarii* Hollandre selten, *O. reticulata* Wallroth, *O. alba* Willdenow selten (Drăgulescu 2003, Pop 1978).

Allgemein stellt man fest, dass sowohl die Zahl der Exemplare in einer Population wie auch die Zahl der Fundstellen kleiner geworden ist, obwohl viele der Fundorte Naturreserve sind und durch das wärmere Wetter in den letzten Jahren diese Arten eigentlich begünstigt waren.

##### **Anmerkungen zur nachfolgenden Tab. 5**

▪ **Fundorte in Baden-Württemberg. Rote Liste der Farn- und Samenpflanzen Baden-Württembergs, Breunig Th. & Demuth S., Institut für Botanik und Pflanzenkunde Karlsruhe 1999.**

**Kategorie: 1 vom Aussterben bedroht**

**2 stark gefährdet**

**3 gefährdet**

**V auf der Vorwarnliste**

**! Endemit**

\* **Fundorte in Rumänien. Lista Roşie a plantelor vasculare dispărute, periclitare, vulnerabile și rare din flora României, Boşcaiu N., Coldea G. & Horeanu C. (1994). Lista Roşie a plantelor superioare din România, Academia Română, 1994.**

**Kategorie: R selten**

**P verschiedene Gefährdungsgrade, noch nicht auf der Roten Liste**

**Tab. 5 Im Gelände untersuchte *Orobanche* spp. und ihre Kategorie auf der Roten Liste**

Species/PopulatioșgröÙe	Wirtspflanze	Fundort	Kategorie
<i>O. alba</i> /50	<i>Thymus pannonicus</i>	Dealul Mocanu*	P
/12	<i>Teucrium chamaedrys</i>	Rezervația de Stepă Dealul Zakeł*	P
/50	<i>Thymus pulegioides</i>	Covășinț*	P
/40	<i>Thymus pannonicus</i>	Tarcea*	P
/5	<i>Thymus pulegioides</i>	Gârda de Sus*	P
/22	<i>Teucrium chamaedrys</i>	Cheile Țesnei*	P
<i>O. alsatica</i> /50	<i>Peucedanum cervaria</i>	Hemsbach▪	2!
<i>O. arenaria</i> //12	<i>Artemisia campestris</i>	Dealul Mocanu*	P
/5	<i>Carduus acanthoides</i>	Rezervația Floristică Hanul Conachi*	
<i>O. caryophyllacea</i> /40	<i>Galium album</i>	Baiertal▪	3
/30	<i>Melilotus officinalis</i>	Rezervația Naturală Argen▪	3
/15	<i>Galium hercynicum</i>	Istein▪	3
/25	<i>Galium album</i>	Rezervația Naturală Badberg▪	3
/40	<i>Galium mollugo</i>	Dealul Mocanu*	
/150	<i>Galium mollugo</i>	Rezervația de Stepă Dealul Zakeł*	
/7	<i>Galium album</i>	Rezervația Floristică Fântânița Murfatlar*	
/15	<i>Galium verum</i>	Gârbovăț*	
<i>O. coerulescens</i> /20	<i>Artemisia campestris</i>	Gârbovăț*	
<i>O. elatior</i> /60	<i>Centaurea scabiosa</i>	Hemsbach▪	2
/10	<i>Centaurea scabiosa</i>	Rezervația Naturală Badberg▪	2
/50	<i>Centaurea scabiosa</i>	Dealul Mocanu*	P
<i>O. gracilis</i> /5	<i>Dorycnium pentaphyllum</i>	Parcul Național Domogled-Valea Cernei*	P
<i>O. hederæ</i> /40	<i>Hedera helix</i>	Tübingen▪	
/1	<i>Hedera helix</i>	Hemsbach▪	
/15	<i>Hedera helix</i>	Heidelberg▪	
/15	<i>Hedera helix</i>	Istein▪	
<i>O. lucorum</i> /20	<i>Berberis sp.</i>	Grădina Botanică Cluj-Napoca*	R
<i>O. lutea</i> /100	<i>Medicago varia</i>	Hemsbach▪	3
/7	<i>Trifolium aureum</i>	Ihringen▪	3
/30	<i>Medicago falcata</i>	Rezervația Naturală Badberg*	P
/5	<i>Medicago falcata</i>	Dealul Mocanu*	P
/35	<i>Vicia grandiflora</i>	Tarcea*	P
<i>O. mayeri</i> /2	<i>Laserpitium latifolium</i>	Rezervația Naturală Zeller Horn▪	1!
<i>O. minor</i> /15	<i>Trifolium montanum</i>	Überlingen▪	V
/1	<i>Trifolium repens</i>	Wollmatingen▪	V
/5	<i>Dipsacus silvestris</i>	Ihringen▪	V
/10	<i>Trifolium pratense</i>	Rezervația de Stepă Dealul Zakeł*	
/25	<i>Medicago sativa</i>	Covășinț*	
/9	<i>Trifolium repens</i>	Stațiunea Biologică Potoci*	
/10	<i>Chrysanthemum leucanthemum</i>	Gârbovăț*	
<i>O. picridis</i> /12	<i>Picris heracioides</i>	Hemsbach▪	2!
<i>O. purpurea</i> /15	<i>Achillea millefolium</i>	Hemsbach▪	2
/20	<i>Achillea millefolium</i>	Stațiunea Biologică Potoci*	P
<i>O. reticulata</i> /34	<i>Carduus acanthoides</i>	Parcul Național Cheile Nerei – Beușnița*	P
<i>O. salviae</i> /18	<i>Salvia pratensis</i>	Rezervația de Stepă Dealul Zakeł*	R
<i>O. teucrii</i> /10	<i>Teucrium montanum</i>	Inzigkofen▪	3
/1	<i>Teucrium montanum</i>	Friedingen▪	3
/10	<i>Teucrium molugo</i>	Ihringen▪	3
/15	<i>Teucrium chamaedrys</i>	Rezervația Naturală Badberg▪	3
/100	<i>Teucrium chamaedrys</i>	Dealul Mocanu*	P
/30	<i>Teucrium chamaedrys</i>	Rezervația de Stepă Dealul Zakeł*	P
/10	<i>Teucrium chamaedrys</i>	Covășinț*	P
/5	<i>Teucrium scordium</i>	Parcul Național Domogled-Valea Cernei*	

## 4.2. Ergebnisse der Laboruntersuchungen

### 4.2.1. Bodenanalysen

Boden enthält neben festen Partikeln, in denen sich Pflanzen mit ihren Wurzeln verankern können, organische und anorganische Stoffe, unter denen vor allem die Mineralsalze eine wichtige Rolle spielen. Sie dienen der Ernährung der Pflanze. Diese Rhizosphäre ist ständigen Veränderungen unterworfen. Wurzelausscheidungen, Stoffwechselprodukte der Mikroflora und Auslaugung abgestorbener Pflanzenteile tragen zur Zusammensetzung der organischen Stoffe im Boden bei. Der größte Anteil organischer Verbindungen im Boden findet sich im Humus.

**Tab. 6 Bodenanalysen der an den Fundstellen entnommenen Proben**

Nr. lfd.	Fundort	pH	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ppm	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ppm	P pflanzen- verfügbar ppm	C organisch %
1	Baiertal bei Wiesloch	7,73	2,21	2,43	44,31	1,56
2	Böschung Ihringen	8,15	1,40	2,12	14,07	0,39
3	Cluj- Napoca, Botanischer Garten	5,80	0,64	9,29	35,10	2,51
4	Covăsânt	6,53	17,1	30,93	20,63	3,38
5	Tarcea	6,8	32,6	6,24	32,25	2,55
6	Gârbovăt	5,5	20,2	31,25	46	4,2
7	Naturschutzgebiet Badberg	7,69	3,52	3,25	11,77	2,69
8	Hemsbach, Gemarkung Alteberg	7,41	4,01	6,43	88,5	3,58
9	Ihringen (Kaiserstuhlgebiet)	7,93	2,53	5,70	85,5	1,38
10	Inzigkofen bei Sigmaringen	7,60	3,31	19,56	29,64	3,37
11	Gârda de Sus	5,00	13,50	5,40	1,45	1,69
12	Macea	5,57	7,62	2,1	28,36	1,58
13	Mocanu Hügel (Basis)	8,1	20,74	5,24	42,15	1,46
14	Mocanu Hügel (Bergrücken)	8,0	31,33	3,35	18,9	2,21
15	Mocanu Hügel (Mitte)	6,7	42,0	6,63	31,28	2,91
16	Naturschutzgebiet Zeller Horn	6,31	3,93	42,5	2,88	3,25
17	Naturschutzgebiet Argen	7,37	2,89	4,93	11,02	3,09
18	Steppenreservat Zakelsberg	6,5	21,45	4,06	15,2	1,95
19	Tübingen, Botanischer Garten	7,58	2,60	1,30	13,23	3,41
20	Überlingen, Gemarkung Goldbach	7,20	3,09	4,34	21,75	2,26
21	Wollmatingen bei Konstanz	7,52	2,01	3,91	50,2	2,28

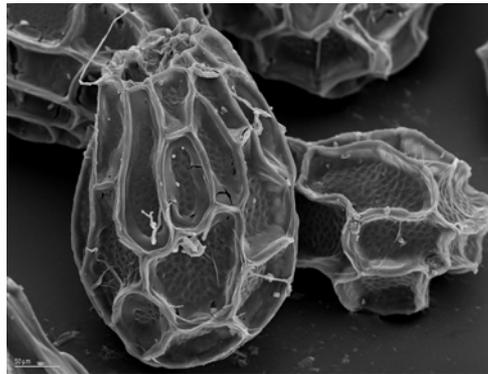
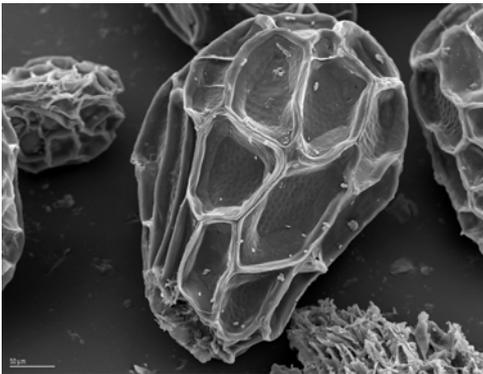
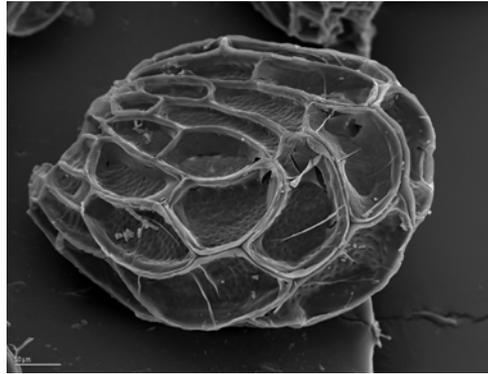
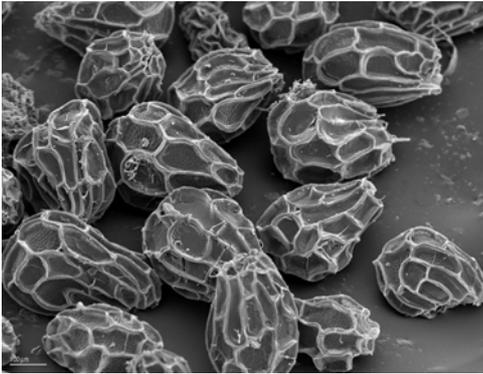
Ammoniumionen werden durch nitrifizierende Bakterien in Nitrationen umgesetzt, Symbiontische Bakterien insbesondere der Gattung *Rhizobium* in Wurzelknöllchen der Leguminosen, aber auch freilebende Cyanobakterien, erhöhen durch N<sub>2</sub>-Fixierung den Ammoniumgehalt des Bodens.

Ammonium und Nitrat sind leichtlöslich und können von den Pflanzenwurzeln leicht aufgenommen werden. Andere anorganische Nährstoffe wie z.B. Phosphat liegen größtenteils fest gebunden vor, und werden erst durch Wurzelausscheidungen teilweise pflanzenverfügbar. Diese Prozesse hängen von der Pflanzendecke, von der Bodenmikroflora, von Temperatur und Bodenfeuchtigkeit ab. Dies führt zu jahreszeitlich unterschiedlichen Analysenergebnissen. Die Analysenergebnisse der Bodenproben erhält man beispielsweise in mg Nitrat / kg Boden (ppm). Die tatsächliche Konzentration des Nitrats in der Rhizosphäre (in mg Nitrat / mL Wasser) wird dadurch nicht ausgedrückt; sie schwankt in weiten Grenzen entsprechend dem aktuellen Wassergehalt des Bodens; dies gilt analog für alle anderen gelösten Stoffe.

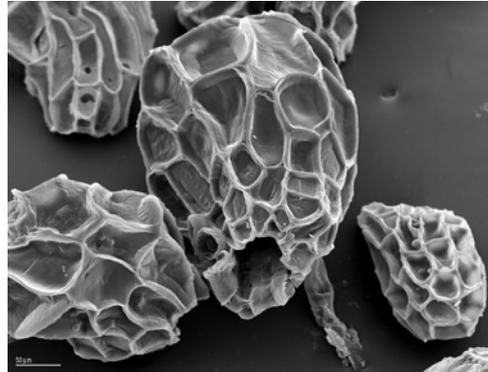
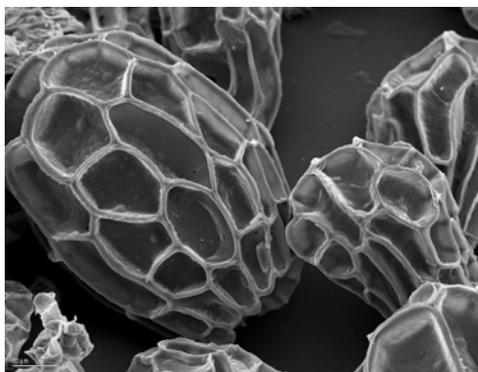
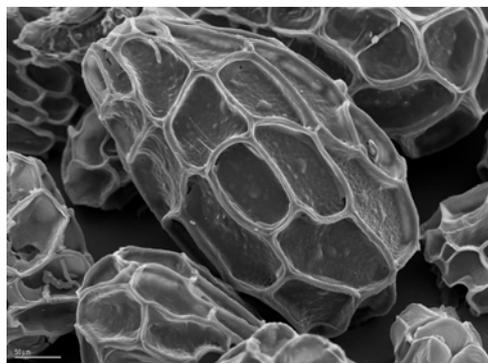
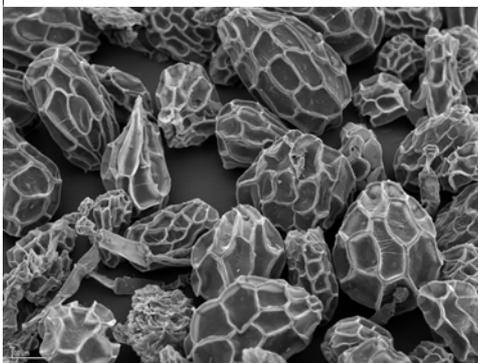
Für die Ernährung der *Orobanche* spielen die Gehalte an Mineralsalzen im Boden keine Rolle, weil der Parasit diese Stoffe nicht aus dem Boden aufnehmen kann, er muss sie der Wirtswurzel entziehen. Allerdings gibt es indirekte Einflüsse auf die Keimung der *Orobanche*-Samen: Ammonium hemmt die Strigolacton-Synthese in der Wirtswurzel, Nitrat fördert sie, Phosphatmangel fördert sie sehr stark (Yoneyama et al. 2001, Yoneyama et al. 2007). Deshalb wurden die Bodenanalysen (Tab. 6) in der vorliegenden Dissertation auf diese wesentlichen Mineralsalze beschränkt.

#### **4.2.2. Rasterelektronenmikroskopische (REM) Analysen der Samenschalen von Orobanchen**

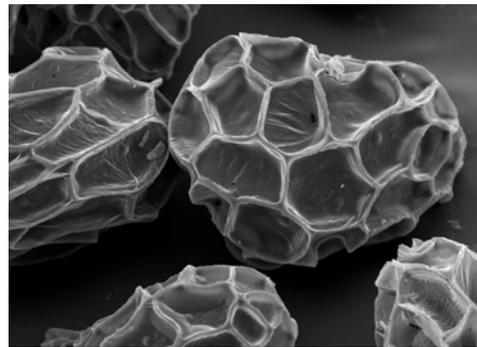
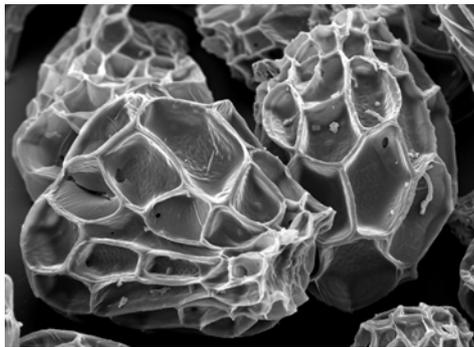
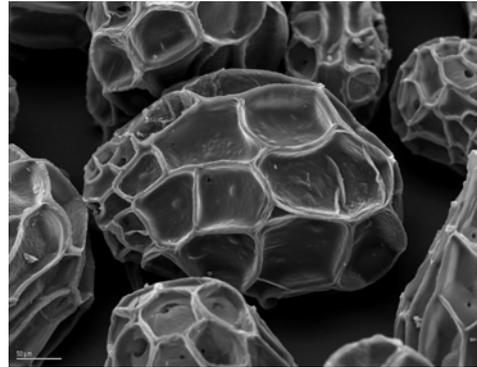
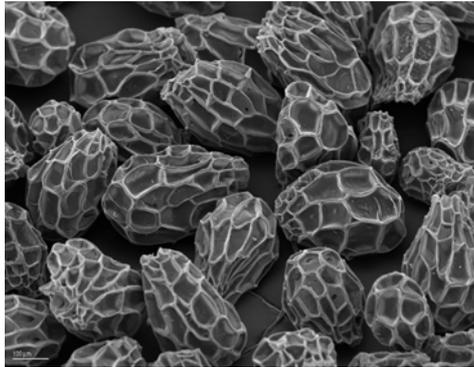
Gezeigt werden in den nachfolgenden Abbildungen (124-167) jeweils eine Übersichts- und drei Detailaufnahmen.



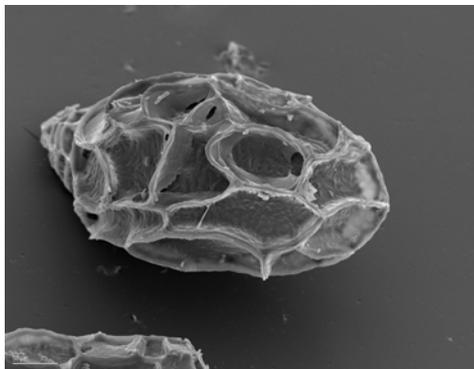
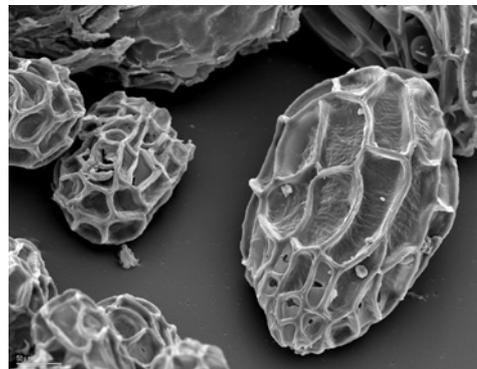
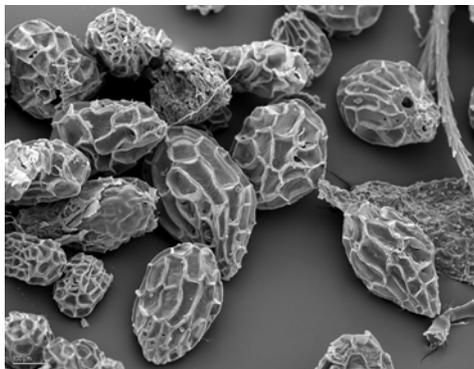
**Abb. 124-127 *Orobanche hederaceae* (gleichmäßige Samen)**



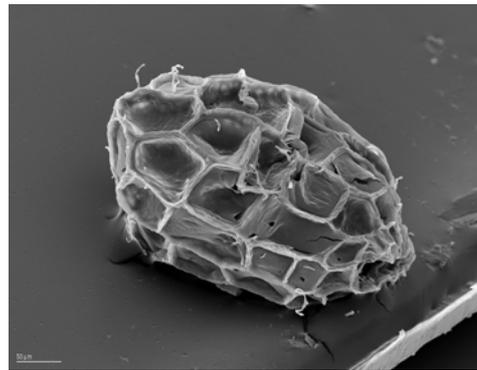
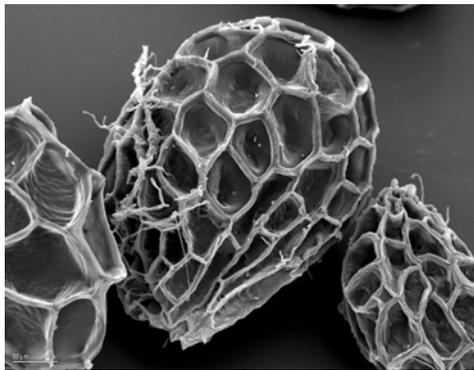
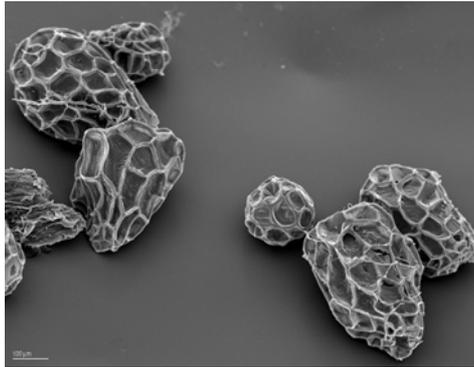
**Abb. 128-131 *Orobanche alba***



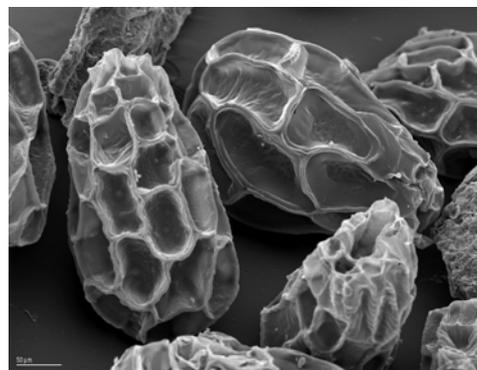
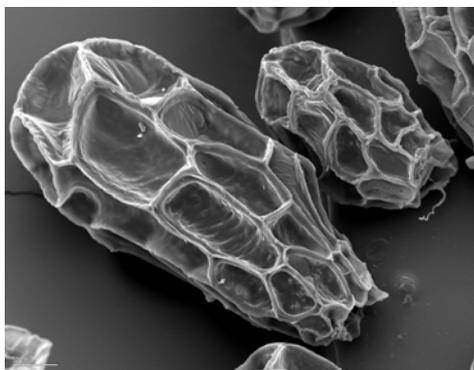
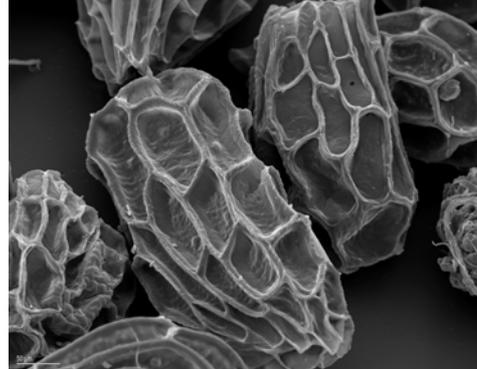
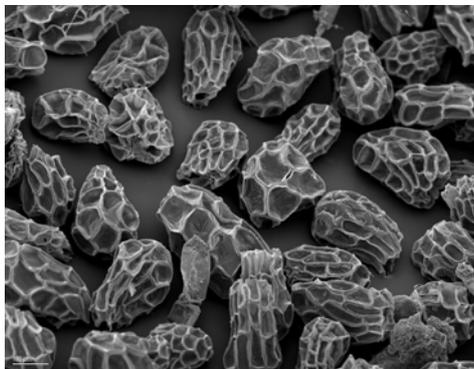
**Abb. 132-135 *Orobanche arenaria* (syn. *Phelipanche arenaria*)**



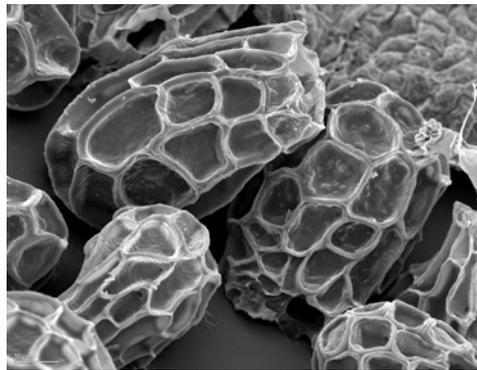
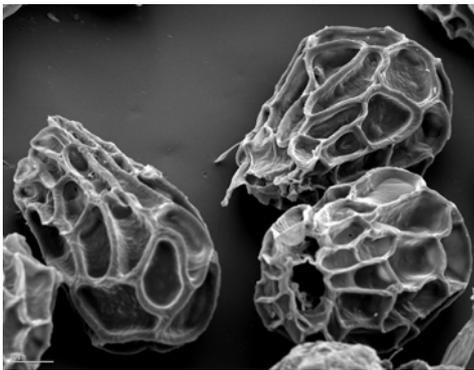
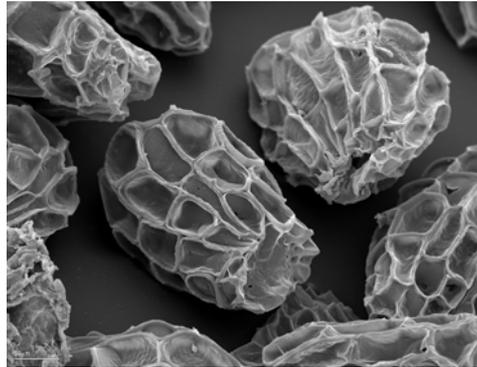
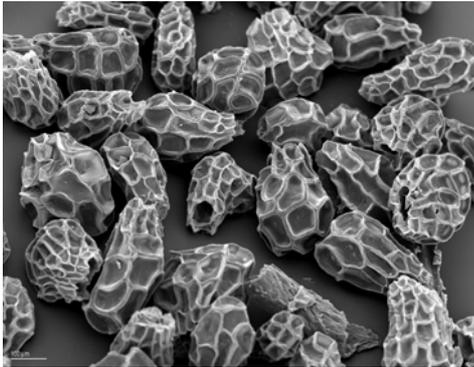
**Abb. 136-139 *Orobanche minor***



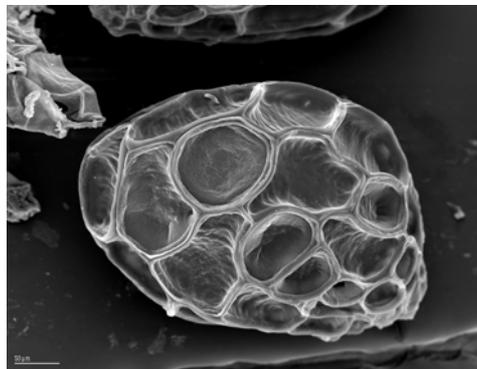
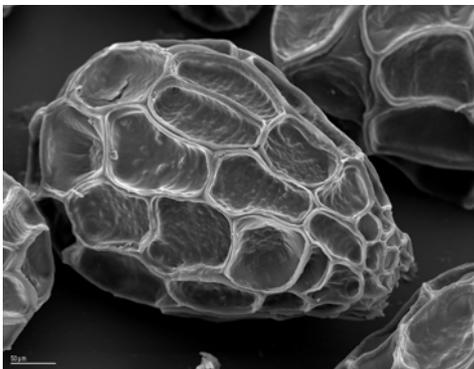
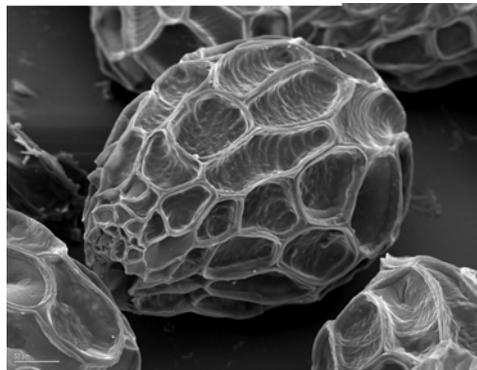
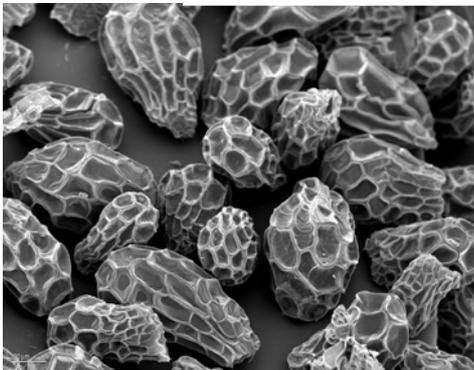
**Abb. 140-143 *Orobanche reticulata***



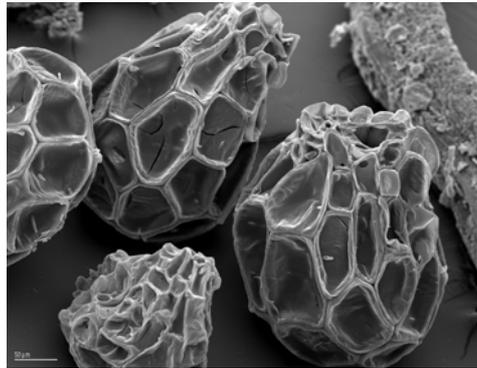
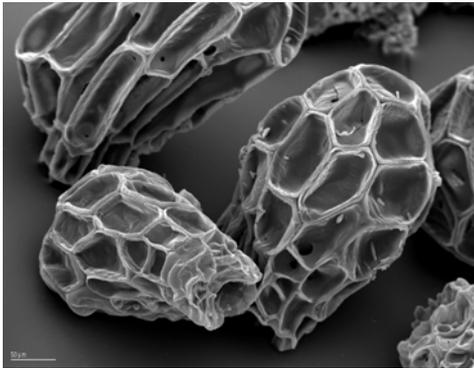
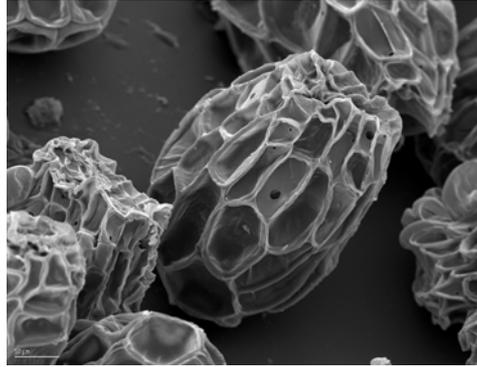
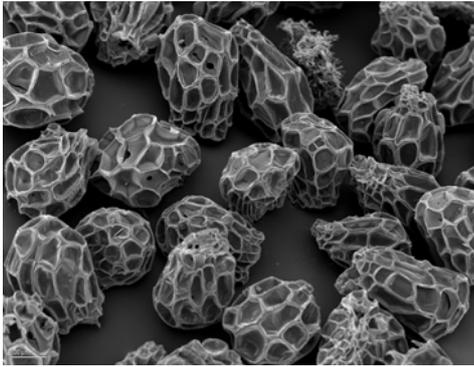
**Abb. 144-147 *Orobanche lutea***



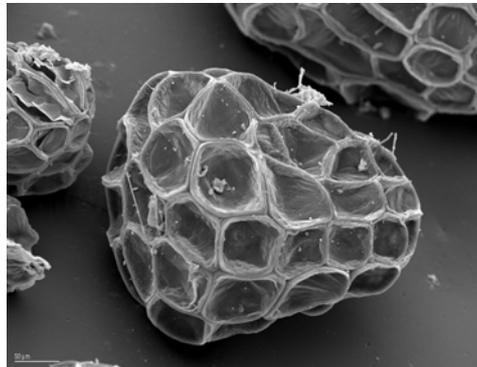
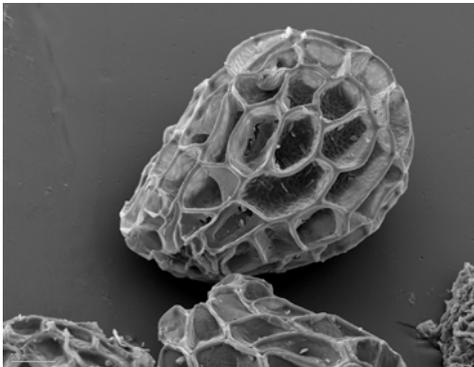
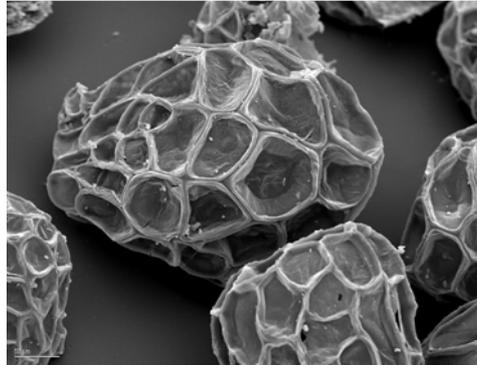
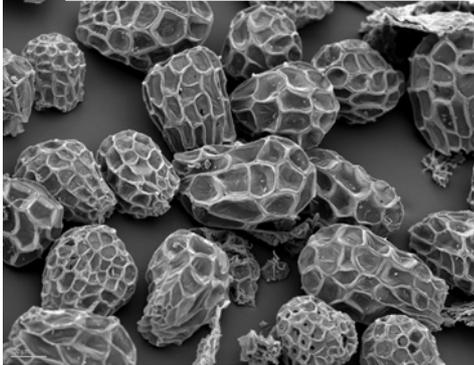
**Abb. 148-151 *Orobanche caryophyllacea***



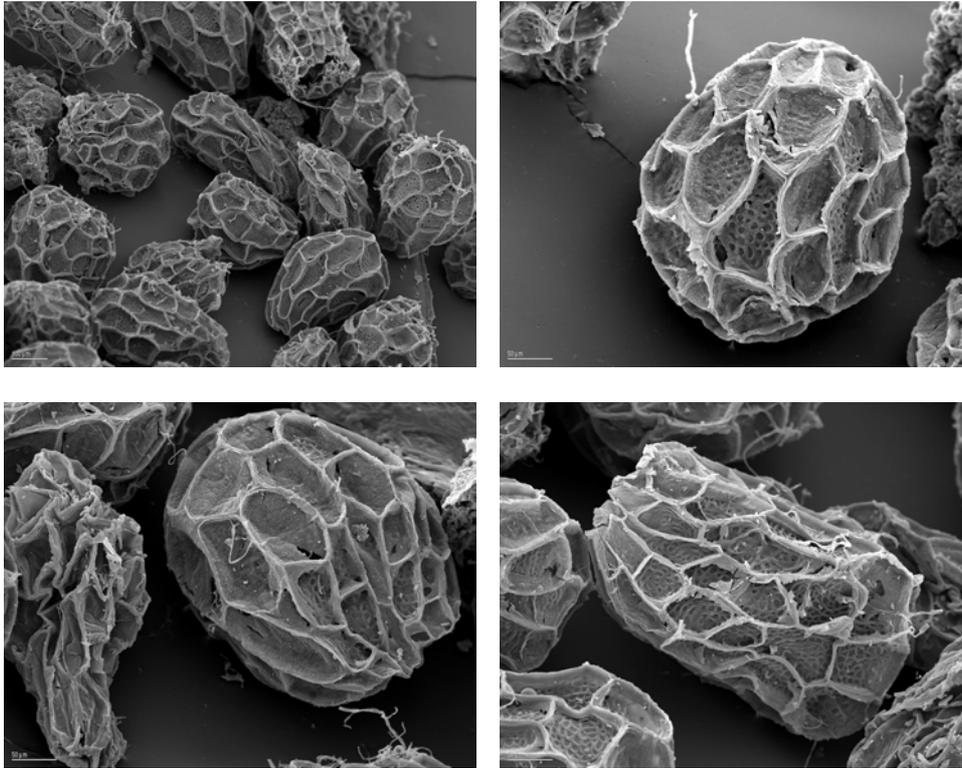
**Abb. 152-155 *Orobanche gracilis***



**Abb. 156-159 *Orobanche teucryi* (ungleichmäßige Samen)**

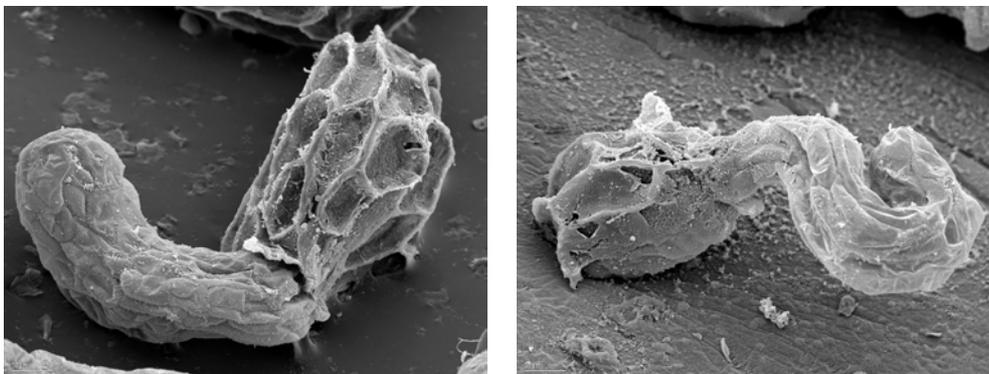


**Abb. 160-163 *Orobanche lucorum***



**Abb. 164-167 *Orobanche ramosa* (syn. *Phelipanche ramosa*), gleichmäßige Samen**

Bei einem Teil der Samen ist der Blick auf die innere tangentielle Zellwand durch die äußere Zellwand behindert wie z.B. in Abb 132-135, wo der Blick auf die innere Zellwand mit charakteristischen Perforationen durch die äußere Zellwand verdeckt wird, bei anderen ist die perforierte Struktur gut zu sehen (Abb. 167). Die REM-Aufnahmen zeigen auch, wie groß die Variabilität in der Samengröße und Samenform ist.

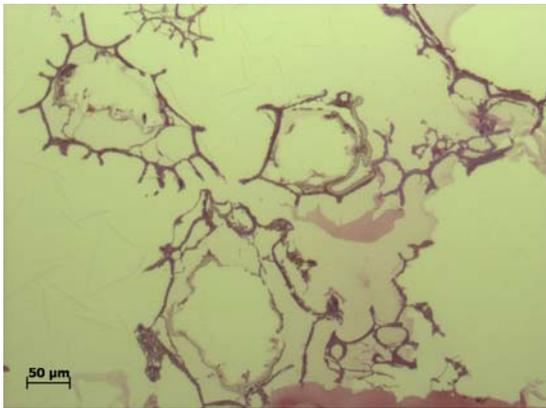


**Abb. 168 und 169 REM-Aufnahmen von ausgekeimter *Orobanche hederæ***

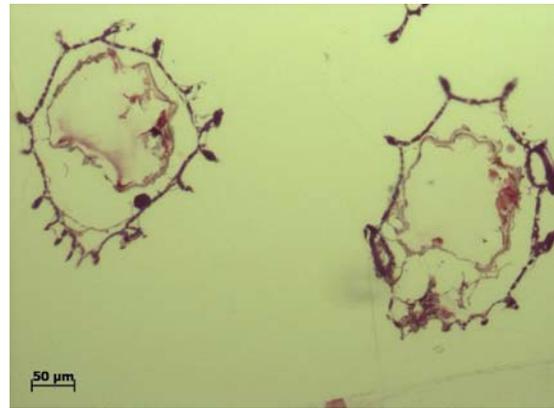
Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen gekeimter Samen von *Orobanche hederæ* (Abb. 168 und Abb. 169) lassen erkennen, dass sich der Keimschlauch vor allem durch Zellstreckungswachstum bildet. Die Zelloberflächen sind gut zu sehen.

#### 4.2.3. Lichtmikroskopische Untersuchungen an Semidünnschnitten

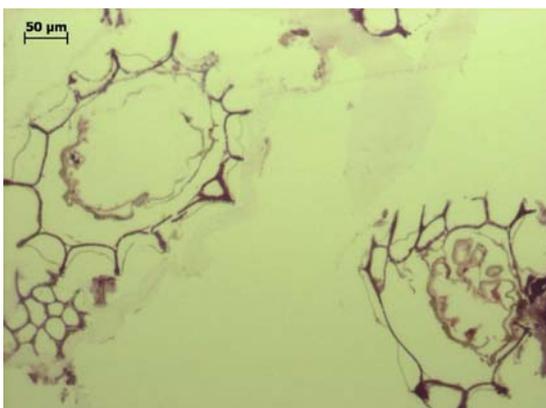
Wegen der harten Samenhüllen war das Schneiden der Semidünnschnitte sehr erschwert. Die dazu benutzten Glasmesser waren nach wenigen Schnitten scharf und mussten ersetzt werden. Beim Schneiden ist bei manchen Präparaten der Inhalt des Samens herausgebrochen.



**Abb. 170 *Orobanche alba***



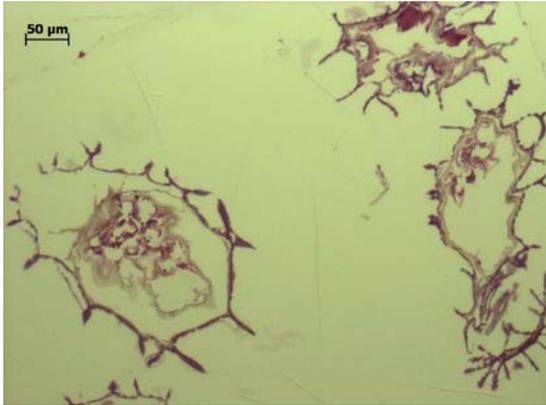
**Abb. 171 *Orobanche hederæ***



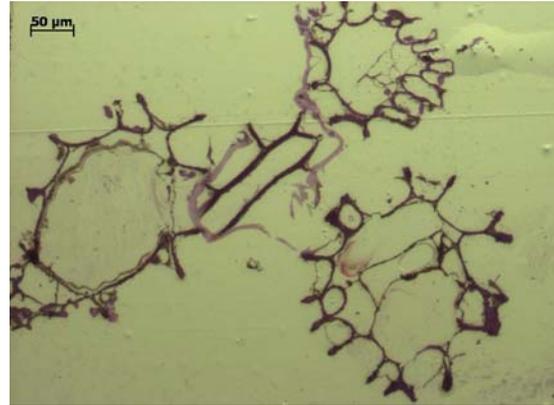
**Abb. 172 *Orobanche arenaria***



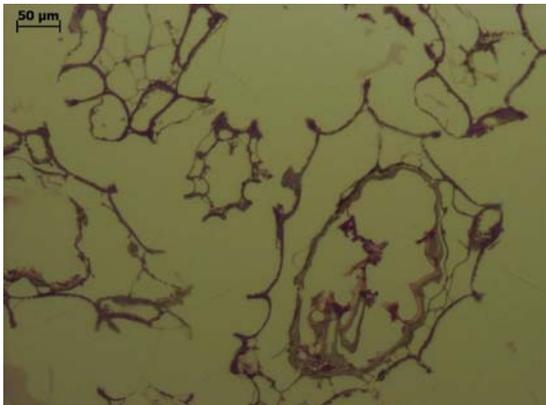
**Abb. 173 *Orobanche minor***



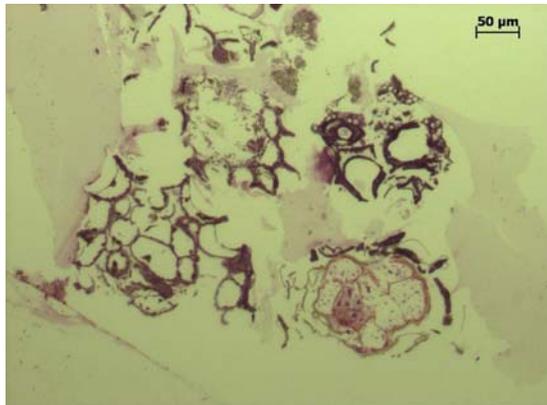
**Abb. 174 *Orobanche ramosa*  
(syn. *Phelipanche ramosa*)**



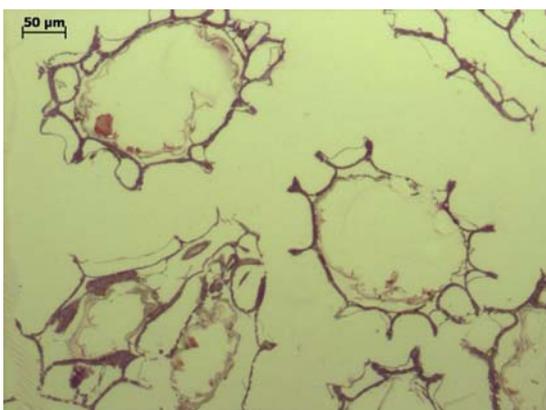
**Abb. 175 *Orobanche caryophyllacea***



**Abb. 176 *Orobanche gracilis***



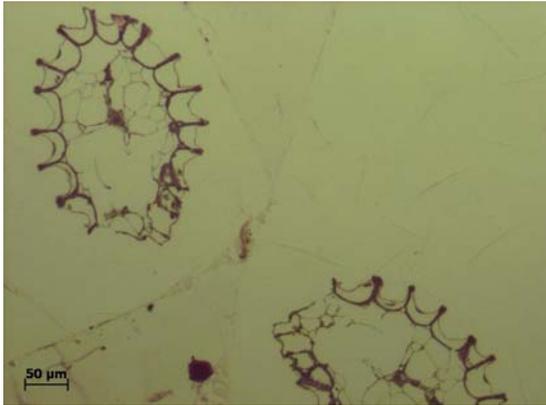
**Abb. 177 *Orobanche reticulata***



**Abb 178 *Orobanche teucrii***



**Abb. 179 *Orobanche lutea***



**Abb. 180 *Orobanche lucorum***

Bei der Interpretation der Photos muss man auch berücksichtigen, dass die Samen zufällig und nicht in einer bestimmten Richtung geschnitten wurden. Der Semidünnschnitt ist ein 800 nm dickes Scheibchen, das einem 500stel der Dicke eines Samens mit 0,4 mm entspricht. Die Herstellung von Serienschnitten war nicht möglich. Es bedarf der Inspektion zahlreicher Präparate, um Schlüsse aus den Bildern zu ziehen.

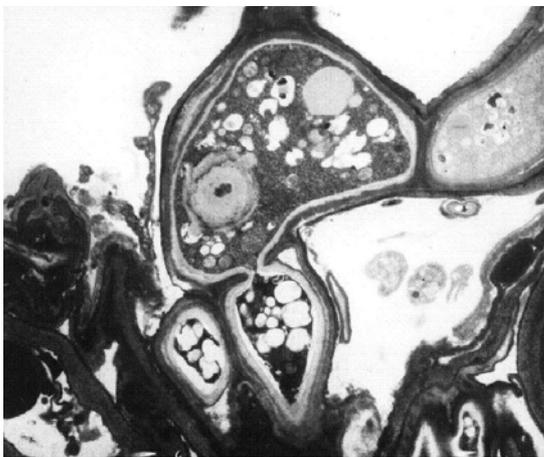
Als wichtigste Beobachtung ergab sich, dass viele der Samen leer (taub) waren. Während in intakten Samen eine Zellstruktur erkennbar ist, auf den gezeigten Photos bei *O. arenaria* (syn. *Phelipanche arenaria*, Abb. 172), *O. minor* (Abb. 173), *O. reticulata* (Abb. 177), *O. lucorum* (Abb.180), und sehr schön bei *O. ramosa* (Abb. 174), sind andere Samen leer, z.B. *O. caryophyllacea* (Abb. 175). Bei *O. teucrui* (Abb. 178) sind zwei leere und ein intakter Samen (links unten) zu sehen.

#### **4.2.4. Transmissionselektronenmikroskopische (TEM) Untersuchungen an *Orobanche*-Samen**

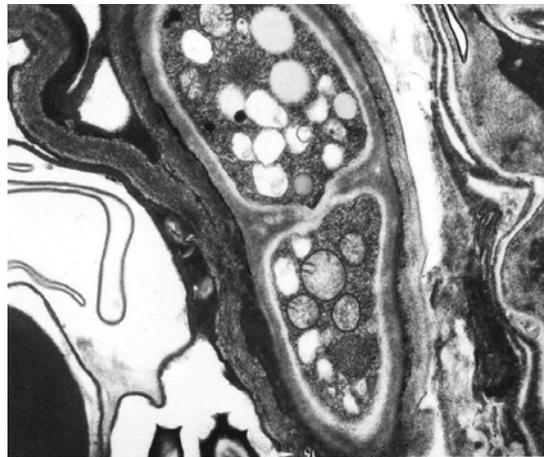
Obwohl die Ultradünnschnitte für die TEM nur 80 nm dick sind, ist der Kontrast bei der TEM-Aufnahme sehr viel besser als bei der lichtmikroskopischen Untersuchung der 800 nm dicken Semidünnschnitte. Die TEM-Untersuchungen wurden vor allem durchgeführt, um zu überprüfen, ob Orobanchen tatsächlich endophytische Pilze enthalten. Die nachfolgenden

Bilder (Abb. 181 – 191) sind nur eine kleine Auswahl der untersuchten Ultradünnschnitte.

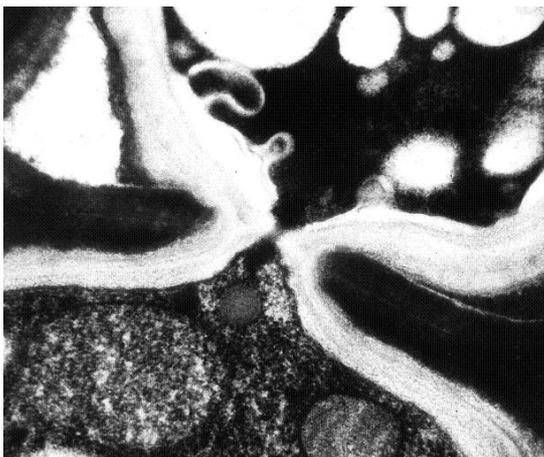
Bei *Orobanche hederæ* (Abb. 181 – Abb. 184) und *O. arenaria* (syn. *Phelipanche arenaria*, Abb. 185) sind endophytische Ascomyceten eindeutig zu erkennen. Ihre Identifizierung aufgrund ihrer Struktur ist aber nicht möglich. Deshalb wurden an den Samen dieser Arten DNA-analytische Experimente mit dem Ziel durchgeführt die endophytischen Pilze zu identifizieren.



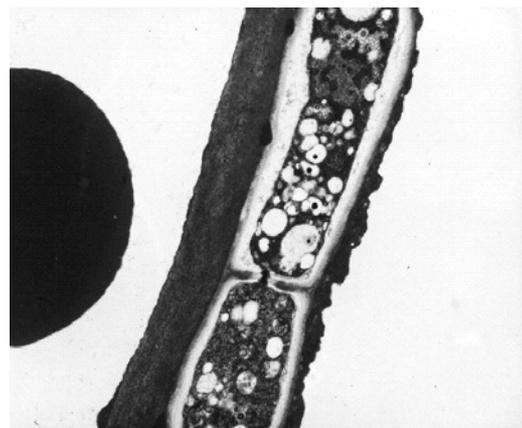
**Abb. 181 *Orobanche hederæ*  
x 7200**



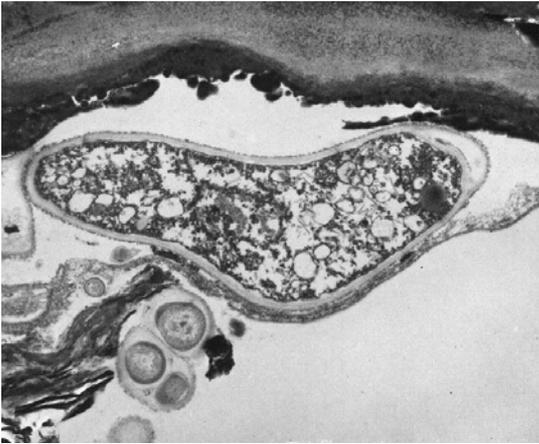
**Abb. 182 *Orobanche hederæ*  
X 19700**



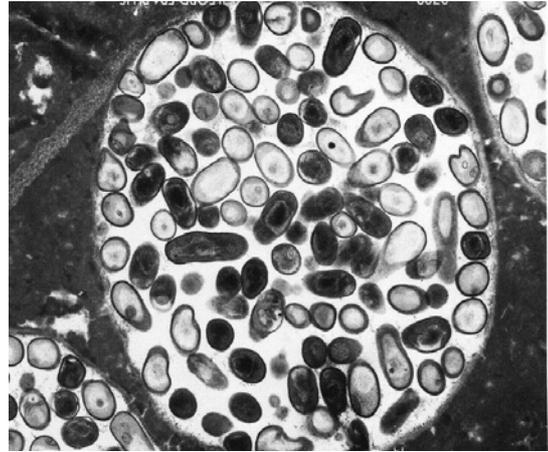
**Abb. 183 *Orobanche hederæ*  
x 7200**



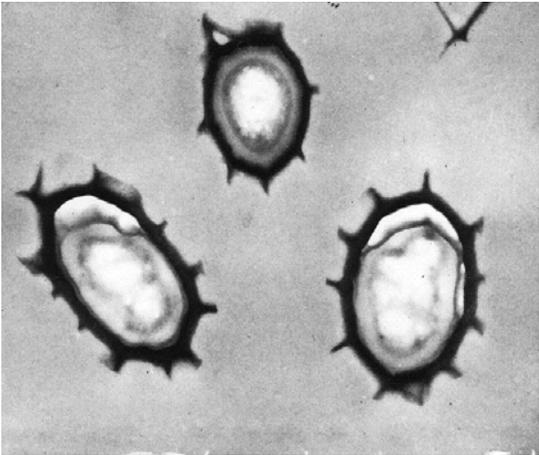
**Abb. 184 *Orobanche hederæ*  
x 11400**



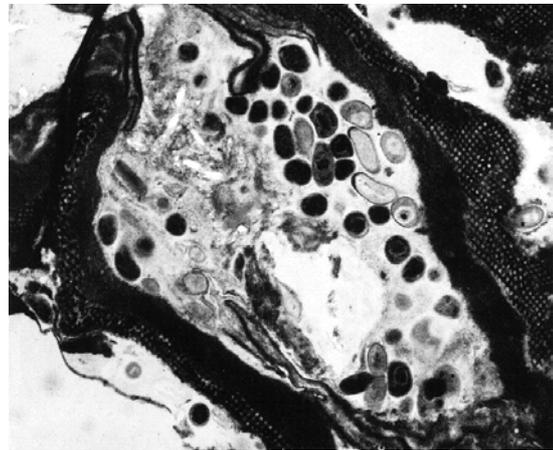
**Abb. 185 *Orobanche arenaria***  
**x 11400**



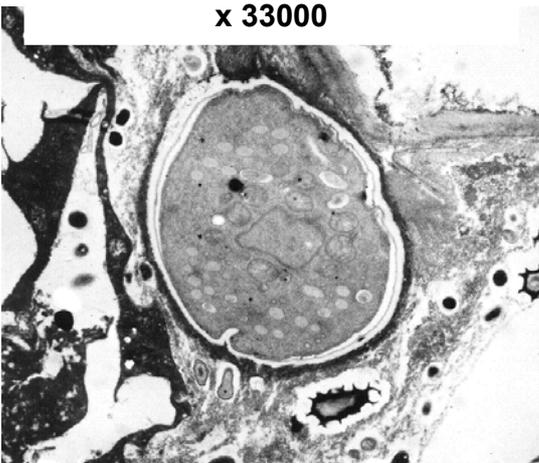
**Abb. 186 *Orobanche reticulata***  
**x 19700**



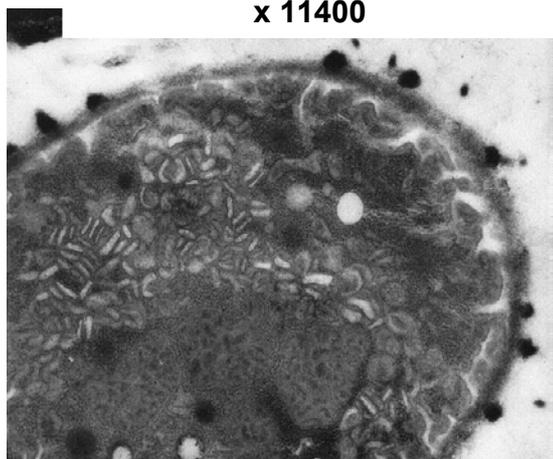
**Abb.187 *Orobanche ramosa***  
**x 33000**



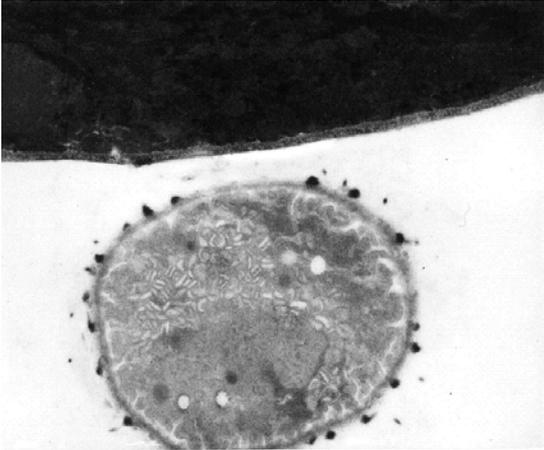
**Abb. 188 *Orobanche gracilis***  
**x 11400**



**Abb. 189 *Orobanche gracilis***  
**x 11400**



**Abb. 190 *Orobanche alba***  
**x 33000**



**Abb. 191 *Orobanche alba*  
x 19400**

#### **4.2.5. DNA-analytische Identifizierung von endophytischen Ascomyceten**

Die Isolation der DNA, PCR und anschließende Sequenzanalyse wurde mit Samen der beiden *Orobanche* spp. durchgeführt, bei denen bei der transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchung (TEM) endophytische Ascomyceten gesehen wurden.

Mit den Primerkombinationen LROR/NL4 wurde bei *Orobanche hederæ* die folgende Gensequenz gefunden:

```
TAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAAYAGCTCAAATTTGAAATCTGGCGTCT  
TCGGCGTCCGAGTTGTAATTTGTAGAGGATGCTTCTGMGTAGCCACCGAC  
CTAAGTTCCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTAYGCGG  
TCGGAAAGTYTCTCTAMCCGTAKCTCCTTCGACGAGTCGAGTTGTTGGGA  
ATGCAGCTCTRAATGGGAGGTATATTTCTTCTAAAGMTAAATATTGGCCAG  
AGACCGATAGCGCACAAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAACCACTTTGGA  
AAGAGAGTTAAAAAGCACGTGAAATTRTTGAAAGGGAAGGGATTGCAACC  
AGACTTGCTYGCGGTGTTCCGCCGGTCTTCTGWCCGGTCTACTC
```

Vergleich mit der Datenbank zeigt 95 % Übereinstimmung für *Cladosporium* sp.

Mit der Primerkombination ITS1F/ITS4 wurde bei *Orobanche arenaria* (syn. *Phelipanche arenaria*) die folgende Gensequenz gefunden:

```
TTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTAGGTGAACCTGCGGAG
GGATCATTACACAAATATGAAGGCGGGCTGGAACCTCTCGGGGTTACAGC
CTTGCTGAATTATTCACCCTTGTCTTTTGCCTACTTCTTGTTTCCTTGGTGG
GTTTCGCC
ACCACTAGGACAAACATAAACCTTTTGTAAATTGCAATCAGCGTCAGTAACA
AATTAATAATTACAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATG
AAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGAA
TCATCGAA
TCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCAAAGGGCATGCCTGTTTCG
AGCGTCATTTGTACCCTCAAGCTTTGCTTGGTGTGGGGCGTCTTGTCTCTA
GCTTTGCTGGAGACTCGCCTTAAAGTAATTGGCAGCCGGCCTACTGGTTTC
GGAGCGCAGCACAAGTCGCACTCTCTATCAGCAAAGGTCTAGCATCCATT
AAGCCTTTTTTTCAACTTTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAA
CTTAAGCATATCAATA
```

Vergleich mit der Datenbank ergibt 100 % Übereinstimmung mit AY154711 *Alternaria tenuissima* strain IA285.

## 4.2.6. Keimungsversuche

### 4.2.6.1. Keimungsversuche

Die einfachen Keimungsversuche mit Wurzelexsudaten der spezifischen Wirtspflanzen und mit dem synthetischen Stimulans GR 24 (Tab. 11) haben wichtige Ergebnisse gebracht.

Die untersuchten *Orobanche* spp. aus der Spontanflora hatten wesentlich geringere Keimungsraten als der Landwirtschaftsschädling *O. ramosa*.

*Orobanche ramosa* war bereits am 5. Tag weitgehend gekeimt, während die anderen Arten 7-9 Tage nach der Stimulation gekeimt waren.

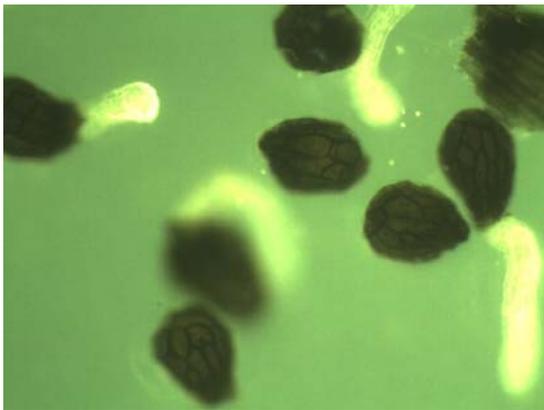
Von den 5 untersuchten *Orobanche* spp. sind 2 (*Orobanche elatior* und *O. hederiae*) mit GR 24 sehr wenig oder gar nicht gekeimt.

Der Zusatz von Wurzelexsudat der Begleitflora reduzierte bei manchen Ansätzen die Keimungsrate.

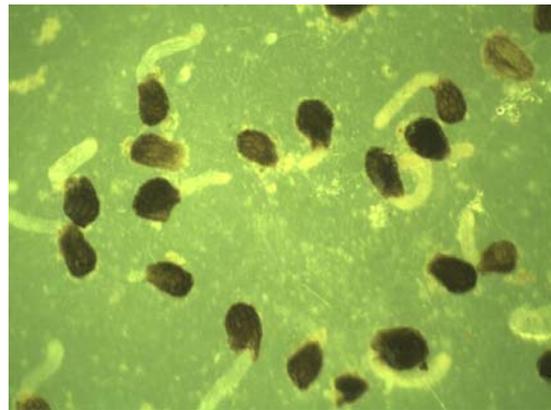
Bei *Orobanche arenaria* (syn. *Phelipanche arenaria*) blieben die Radiculae kurz und dick (Abb. 195). Die Chance, einen Kontakt zur Wirtswurzel zu bekommen, scheint gering.

**Tab. 7 Ergebnisse der Keimungsversuche (Keimung in %)**

Art + Stimulans / Tag der Stimulation	5	7	9	13
<i>O. arenaria</i> + Exudat <i>Artemisia campestris</i>	0	10	22	25
<i>O. arenaria</i> + Exudat <i>Artemisia campestris</i> + GR 24	0	9	21	23
<i>O. arenaria</i> + Exudat <i>Artemisia campestris</i> + Exudat Begleitflora	0	7	29	20
<i>O. arenaria</i> + GR 24	0	7	11	11
<i>O. hederæ</i> + Exudat <i>Hedera helix</i>	0	17	20	22
<i>O. hederæ</i> + Exudat <i>Hedera helix</i> + Exudat Begleitflora	0	20	21	21
<i>O. hederæ</i> + Exudat <i>Hedera helix</i> + GR 24	0	19	19	22
<i>O. hederæ</i> + GR24	0	0	2	2
<i>O. elatior</i> + GR 24	0	0	0	0
<i>O. teucris</i> + GR 24	0	5	5	5
<i>O. teucris</i> + <i>Teucrium chamaedrys</i>	0	7	10	11
<i>O. teucris</i> + <i>Teucrium chamaedrys</i> + GR24	0	5	8	11
<i>O. teucris</i> + Exudat Begleitflora	0	7	9	9
<i>O. ramosa</i> + Exudat <i>Pelargonium zonale</i>	90	90	90	90
<i>O. ramosa</i> + Exudat <i>Pelargonium zonale</i> +GR 24	30	54	88	88
<i>O. ramosa</i> + GR 24	87	90	90	90
<i>O. ramosa</i> + GR 24 + Exudat Begleitflora	69	69	70	70



**Abb. 192 *Orobanche hederæ* mit *Hedera helix* stimuliert**



**Abb. 193 *Orobanche ramosa* mit GR 24 stimuliert**

#### 4.2.6.2. Keimungsversuche mit potentiellen Wirkstoffen

Die Keimungsversuche wurden mit den Wurzelexsudaten der jeweiligen Wirtspflanze und mit GR 24 als synthetischem Keimungsstimulans durchgeführt. Den Ansätzen wurden eine Reihe chemischer Verbindungen zugesetzt, und zwar Zimtsäure, Ferulasäure, Syringasäure als bekannte, potentielle Keimungshemmstoffe; Benzoessäure, weil sie in vielen Wurzelexsudaten vorkommt; Methionin wegen der Beobachtung durch Maurizio Vurro, dass die Aminosäure Keimungshemmung und Verkürzung der Radiculae verursacht.

**Tab. 8 Ergebnisse der Keimungsversuche mit potentiellen Wirkstoffen  
(Keimungsraten in %)**

Stimulans	<i>O. ramosa</i>	<i>O. alba</i>	<i>O. arenaria</i>	<i>O. caryophyllacea</i>	<i>O. gracilis</i>	<i>O. hederæ</i>
Kontrolle	-	-	-	-	-	-
GR 24	96% RI	16% RI	11% Rk	10% Rm	12%Rk	2% Rm
GR 24 + Wurzelexsudat	90% RI	14% RI	23% Rk	8% Rm	10%Rk	5% Rm
GR 24 + Zimtsäure	5% RI	15% RI	9% Rk	9% Rm	11%Rk	0%
GR 24 + Syringasäure	5% RI	19% RI	10 % Rk	7% Rk	9% Rk	1% Rm
GR 24 + Ferulasäure	3% RI	11% RI	9% Rk	5% Rk	9% Rk	0%
GR 24 + Benzoessäure	20% RI	9% Ra	7% Rk	Rk 7%	10%Rk	2% Rm
GR 24 + Methionin	85% RI	12% RI	8% Rk	6% Rk	9%Rk	2% Rm
Wurzelexsudat	96% RI	22% RI	25% Rk	9 % Rm	13%Rk	22% RI
Wurzelexsudat + Zimtsäure	42% RI	16% RI	22% Rk	9% Rm	10%Rk	7% Rm
Wurzelexsudat + Syringasäure	90% RI	14% RI	18% Rk	7% Rk	11%Rk	8% Rm
Wurzelexsudat + Ferulasäure	3%	18% RI	15% Rk	5% Rk	9%Rk	9% Rm
Wurzelexsudat + Benzoessäure	42% RI	15% Ra	19% Rk	6% Rk	11%Rk	7% Rm
Wurzelexsudat + Methionin	88% RI	17% RI	24% Rk	5% Rm	10%Rk	5% Rm
Wurzelexudat + Methionin + Gibberellinsäure	96% RI	19% RI	24% Rm	9% Rm	11%Rk	7% Rm

Tab. 8 (Fortsetzung, weitere *Orobanche* spp.)

Stimulans	<i>O. lucorum</i>	<i>O. lutea</i>	<i>O. minor</i>	<i>O. reticulata</i>	<i>O. teucris</i>
Kontrolle	-	-	-	-	-
GR 24	7% Rm	0%	75% Rm	11% Rm	5%
GR 24 + Wurzelexsudat	7% Rm	8%	71% Rm	10% Rm	
GR 24 + Zimtsäure	5% Rm	0%	63%	9% Rm	4%
GR 24 + Syringasäure	3% Rm	0%	61% Rm	11% Rm	5%
GR 24 + Ferulasäure	4% Rm	0%	64% Rm	5% Rm	3%
GR 24 + Benzoessäure	5% Rm	0%	15% Rm	11% Rm	5%
GR 24 + Methionin	4% Rm	0%	59% Rm	10% Rm	4%
Wurzelexsudat	15% Rm	8 % Ra	80 % Rm	9% Rm	11% Rk
Wurzelexsudat + Zimtsäure	10% Rm	6%	71% Rm	11% Rm	8%
Wurzelexsudat + Syringasäure	13% Rm	5%	69% Rm	11% Rm	7%
Wurzelexsudat + Ferulasäure	10% Rm	5% Ra	51% Rm	3% Rm	8%
Wurzelexsudat + Benzoessäure	9% Rm	6%	5% Rm	10% Rm	9%
Wurzelexsudat + Methionin	11% Rm	5% Rk	68% Rm	11% Rm	5% Rk
Wurzelexsudat + Methionin + Gibberellinsäure	12% Rm	5% Rm	72% Rm	10% Rm	6% Rm

**Anmerkungen zu Tab. 12**

**Wurzelexsudat der Wirtspflanze für die jeweilige *Orobanche* sp.**

**Rk = Radiculae R kurz bis zur Länge der Samenhülle**

**Rm = Radiculae mittel, bis zur 4fachen der Länge der Samenhülle**

**RI = Radiculae lang, mehr als das 4fache der Länge der Samenhülle**

**Ra = Radicula abgestorben**

Die %-Angaben (Tab. 12) sind die Mittelwerte aus 3-4 Ansätzen. Auf eine statistische Auswertung wurde wegen der teilweise sehr geringen Keimungsraten verzichtet. Im einzelnen wurden folgende Beobachtungen gemacht:

*Orobanche alba*. Wirtswurzelexsudat von *Thymus pannonicus*. Lange Radiculae. Bei den Ansätzen mit Benzoessäure waren die Radiculae nach 13 Tagen abgestorben.

*Orobanche arenaria* (syn. *Phelipanche arenaria*). Wirtswurzelexsudat von *Artemisia campestris*. Kurze Radiculae (Abb. 194), die bei Gibberellinsäure-Zusatz länger waren.

*Orobanche caryophyllacea*. Wirtswurzelexsudat von *Galium verum*. 9-10 % Keimung mit Wurzelexsudat oder GR 24. Keimungsrate bei Zusatz von Benzoessäure, Zimtsäure oder Syringasäure reduziert. Radiculae kurz bis

mittel, bei Gibberellinsäure-Zusatz länger. Die Radiculae tragen kleine Ausstülpungen („Warzen“, Abb. 197).

***Orobanche gracilis***. Wirtswurzelexsudat von *Dorycnium herbaceum*. 12-13 % Keimung mit Wurzelexsudat oder GR 24. Kurze Radiculae, die meisten mit „Warzen“ (Abb. 196). Kein Einfluss von Gibberellinsäure-Zusatz.

***Orobanche hederæ***. Wirtswurzelexsudat von *Hedera helix*. 22 % Keimung mit Wurzelexsudat, mit langen Radiculae, aber nur 2 % Keimung mit GR 24. Zusatz von Zimtsäure, Syringasäure, Ferulasäure, Benzoessäure oder auch Methionin reduzierten die Keimungsrate auf 5-9 % und verkürzten die Radiculae.

***Orobanche lucorum***. Wirtswurzelexsudat von *Berberis vulgaris*. 15 % Keimung mit dem Wirtswurzelexsudat, 7 % Keimung mit GR 24. Benzoessäure-Zusatz reduzierte die Keimungsrate deutlich. Mittlere Radiculae, kein Einfluss von Gibberellinsäure.

***Orobanche lutea***. Wirtswurzelexsudat von *Dorycnium herbaceum*. 8 % Keimung mit Wurzelexsudat, keine Keimung mit GR 24. Die meisten der Radiculae waren am 13. Tag nach Keimungsstimulation bereits abgestorben. Mit Methionin verkürzte Radiculae, bei Zusatz von Gibberellinsäure mittlere.

***Orobanche minor***. Wirtswurzelexsudat von *Medicago sativa*. 80 % Keimung mit dem Wurzelexsudat, 75 % Keimung mit GR 24. Keimung insbesondere durch Benzoessäure stark reduziert (von 80 % auf 5 % bei Wurzelexsudat-Stimulation, von 75 % auf 15 % bei GR 24-Stimulation). Mittlere Radiculae.

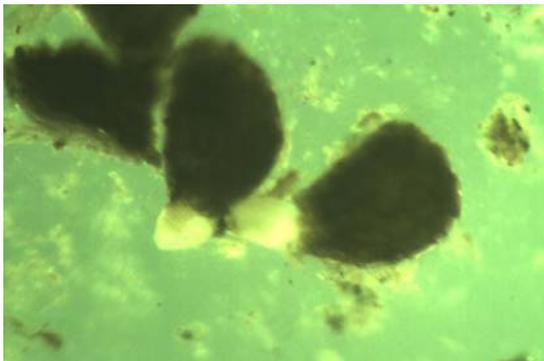
***Orobanche ramosa***. Wirtswurzelexsudat von *Lycopersicon esculentum*. 96 % Keimung mit Wurzelexsudat oder GR 24. Lange Radiculae. Starke Reduktion der Keimungsrate durch Zimtsäure, Ferulasäure (nur noch 3 % Keimung) und Benzoessäure.

***Orobanche reticulata***. Wirtswurzelexsudat von *Carduus personata*. Keimungsrate um 10 %, auf die Hälfte reduziert durch Ferulasäure. Kein Einfluss von Methionin oder Gibberellinsäure.

***Orobanche teucris***. Wirtswurzelexsudat von *Teucrium chamaedrys*. 11 % Keimung mit Wurzelexsudat, 5 % Keimung mit GR 24. Kurze Radiculae, bei Gibberellinsäure-Zusatz mittlere.

Die Keimungsversuche mit den potentiellen Wirkstoffen zeigen zusammengefasst die folgenden Ergebnisse:

- Die Keimungsraten der 10 *Orobanche* spp. aus der Spontanflora hatten geringe bis sehr geringe Keimungsraten. Viele kleine, vermutlich taube Samen wurden beobachtet, auch viele normalgroße Samen scheinen leer zu sein.
- ***Orobanche arenaria*** (syn. *Phelipanche arenaria*), ***O. gracilis*** und ***O. teucris*** entwickelten nur kurze Radiculae.
- Ferulasäure, Zimtsäure, Syringasäure, vor allem aber Benzoesäure, wirken bei einigen *Orobanche* spp. als Keimungsinhibitoren. Interessanterweise wirkt Benzoesäure am stärksten auf den Landwirtschaftsschädling *O. ramosa*.



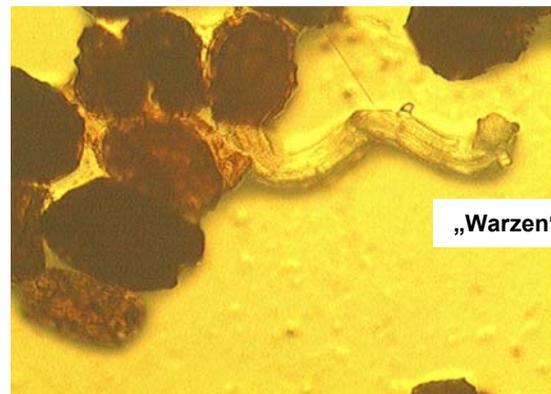
**Abb. 194 *Orobanche arenaria* mit *Artemisia campestris* stimuliert**



**Abb. 195 *Orobanche hederiae* mit *Hedera helix* stimuliert**



**Abb. 196 *Orobanche gracilis* mit *Dorycnium herbaceum* stimuliert**



**Abb. 197 *Orobanche caryophyllacea* mit *Galium verum* stimuliert**

Bei der Auswertung der Keimungsversuche wurde schließlich noch eine Beobachtung gemacht, die hier erwähnt werden soll. Obwohl die *Orobanche*-Samen sorgfältig oberflächensterilisiert waren, wurde öfter beobachtet, dass Pilzhyphen aus der Mikropyle herausgewachsen sind, da wo auch die Radiculae aus dem Samen austreten. Wegen dieser Beobachtung wurden später TEM-Aufnahmen an Dünnschnitten vorgenommen, und nach positiven Befunden endophytischer Pilze auch deren molekulargenetische Identifizierung durchgeführt.

#### **4.2.7. Instrumentelle Analyse der Wurzelexsudate auf Keimungsinhibitoren**

##### **4.2.7.1. Ergebnisse der HPLC-Analysen**

Die nachfolgenden Abb. 198-214 zeigen die HPLC-Chromatogramme von Wurzelexsudaten. Der Diodenarray-Detektor registriert die optischen Absorptions-Spektren aller gefundenen Verbindungen und vergleicht sie mit den Spektren in der Datenbank. Bei mindestens 95 % Übereinstimmung der Spektren wird ein Identifizierungsvorschlag ausgedruckt. Sicher zu identifizieren sind nur Verbindungen, bei denen der Retentionsfaktor bei der HPLC-Trennung und das Absorptionsspektrum übereinstimmen. Leider enthielt die Datenbank die meisten getrennten Verbindungen nicht. Aufgrund der Analysen kann aber ausgeschlossen werden, dass die Keimungsinhibitoren der Zimtsäurefamilie in den Wurzelexsudaten vorkommen. Ferulasäure (HPLC-Chromatogramm in Abb. 215, Absorptionsspektrum und Vorschläge der Datenbank in Abb. 216) und p-Cumarsäure (HPLC-Chromatogramm in Abb. 217, kein Vorschlag der Datenbank) wurden zum Vergleich als Reinsubstanzen chromatographiert.

Benzoessäure wurde sicher identifiziert bei *Artemisia campestris*, *Berberis vulgaris*, *Carduus personata*, *Centaurea scabiosa*, *Cirsium vulgare*, *Galium verum*, *Hedera helix*, *Pelargonium zonale*, *Teucrium chamaedrys*, *Thymus pannonicus* und Begleitflora.

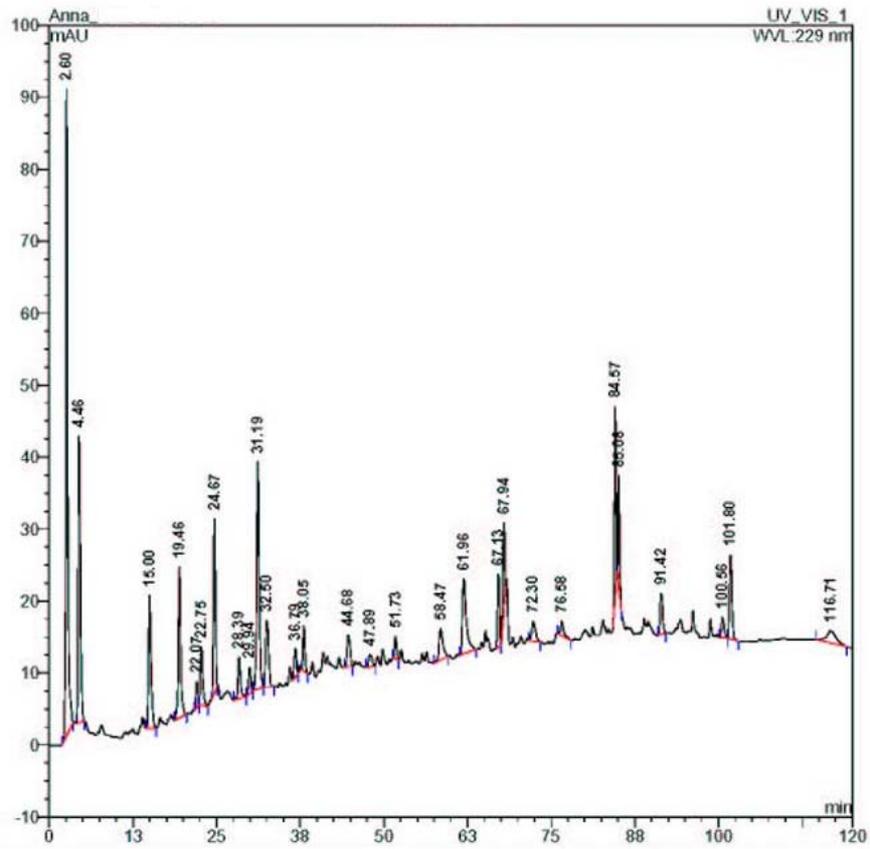


Abb. 198 HPLC-Analyse von Wurzelexsudat von *Artemisia vulgaris*

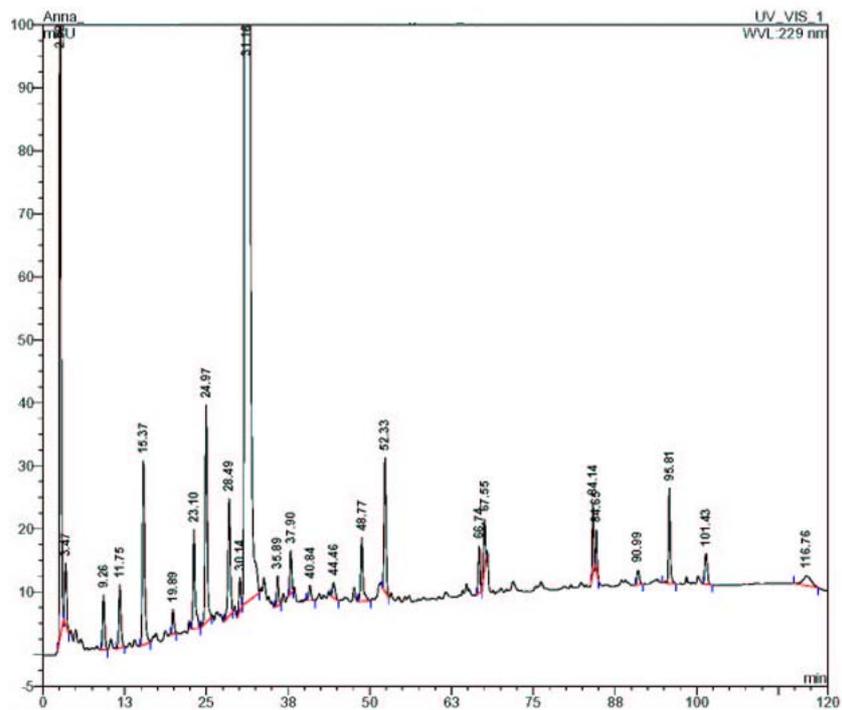


Abb. 199 HPLC-Analyse von Wurzelexsudat von *Berberis vulgaris*

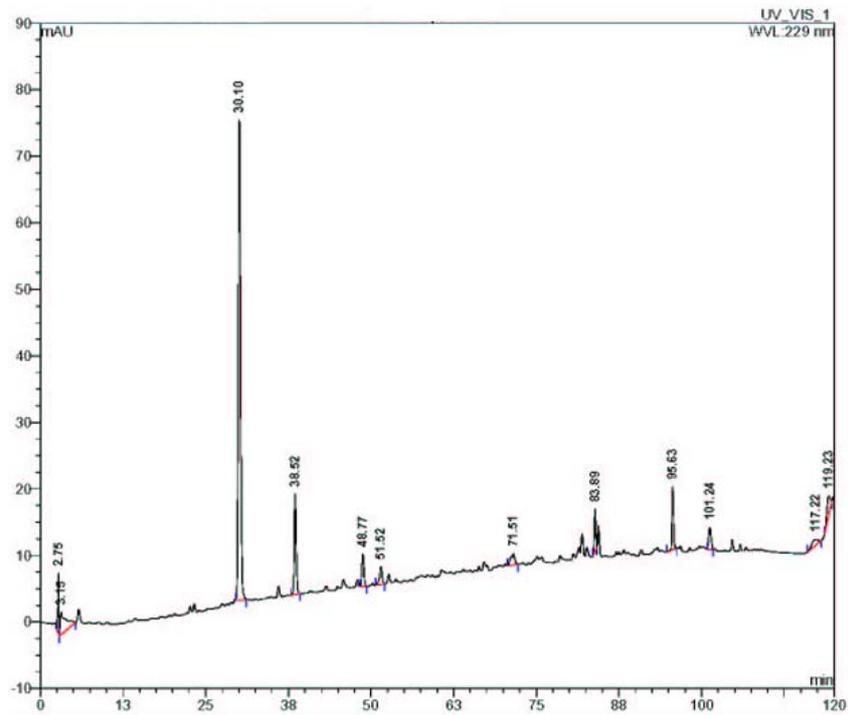


Abb. 200 HPLC-Analyse von Wurzelexsudat von *Carduus personata*

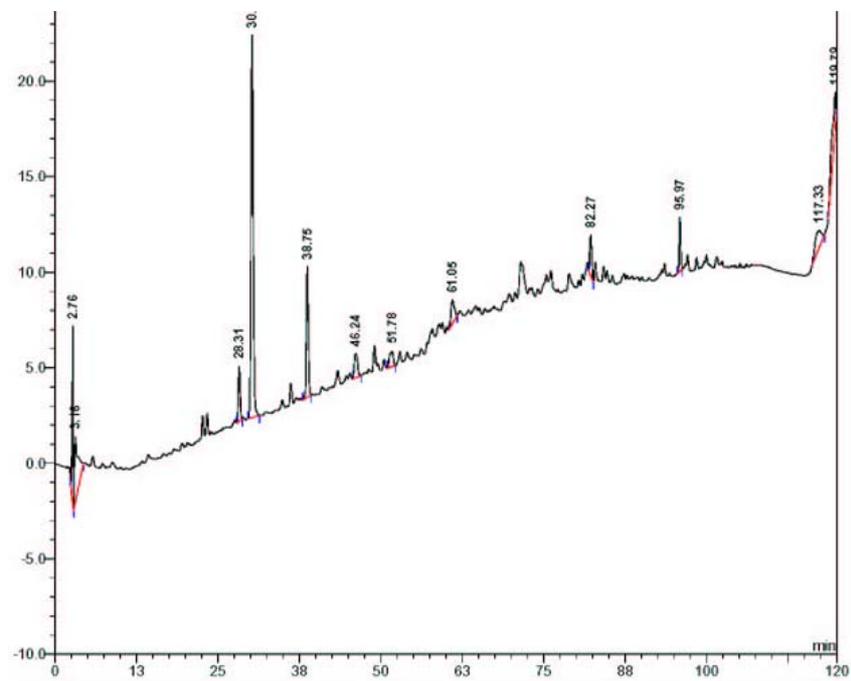


Abb. 201 HPLC-Analyse von Wurzelexsudat von *Centaurea scabiosa*

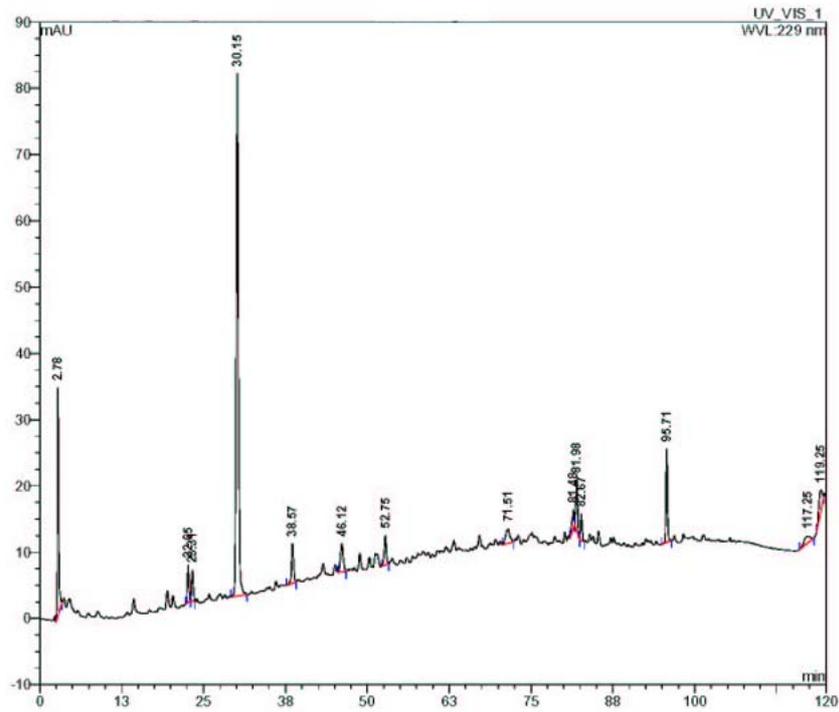


Abb. 202 HPLC-Analyse von Wurzelexsudat von *Cirsium vulgare*

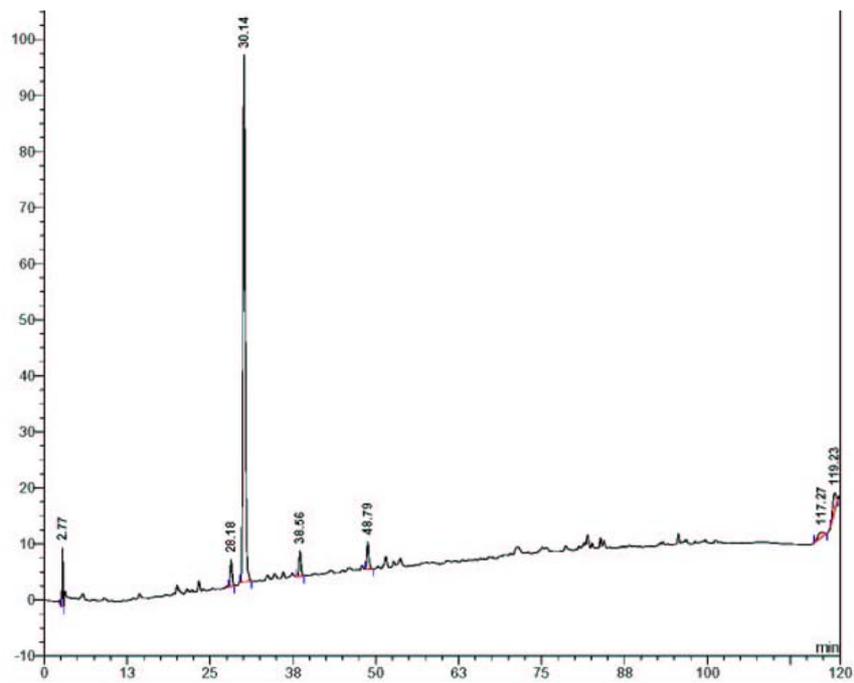


Abb. 203 HPLC-Analyse von Wurzelexsudat von *Galium verum*

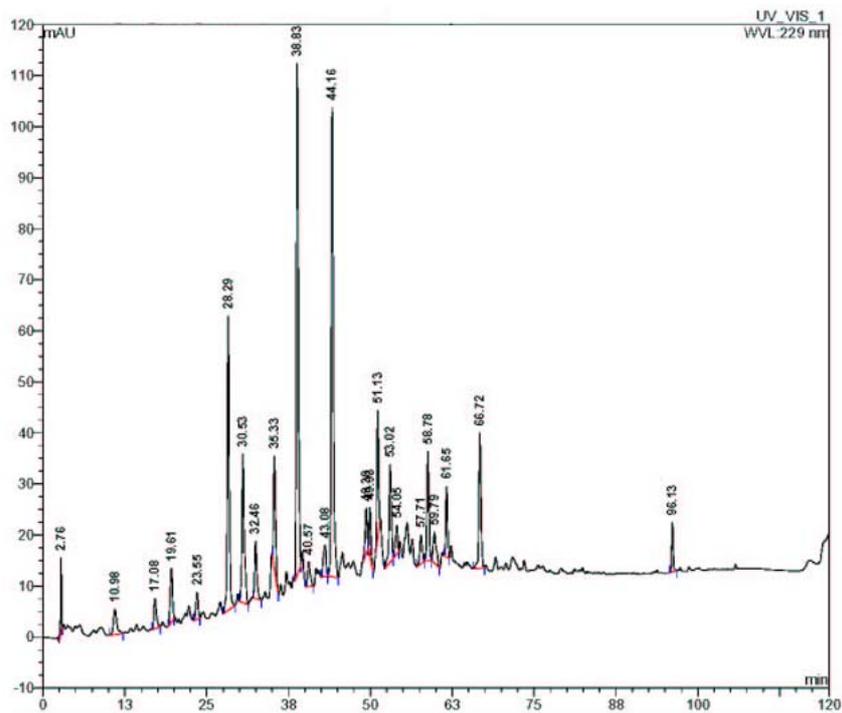


Abb. 204 HPLC-Analyse von Wurzelexsudat von *Genista lydia*

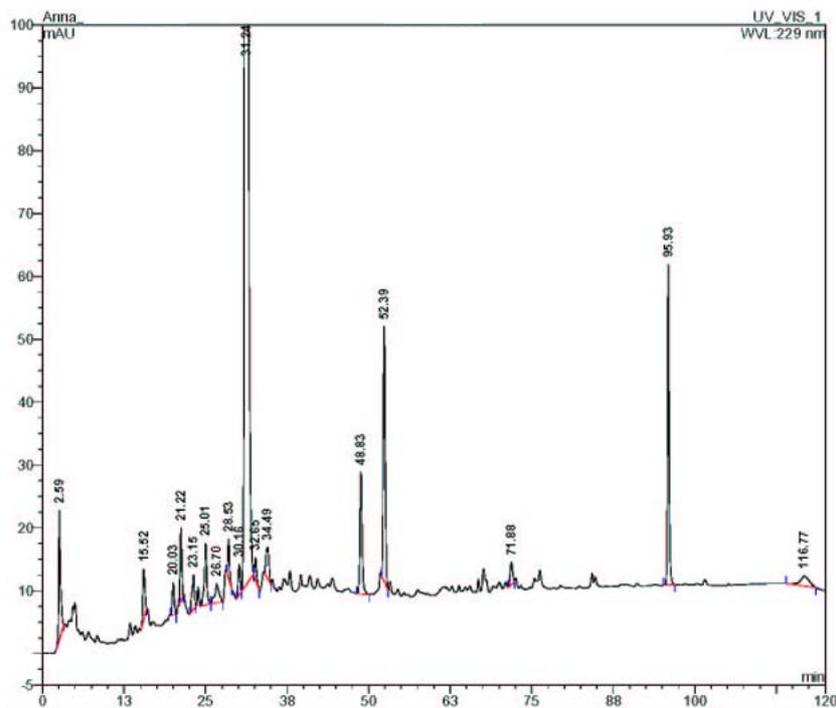
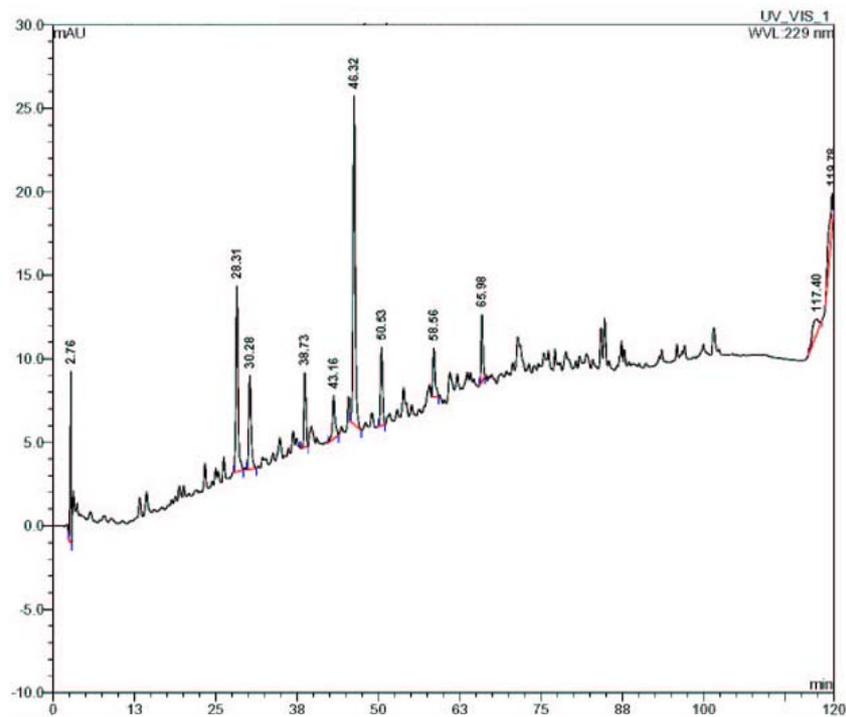
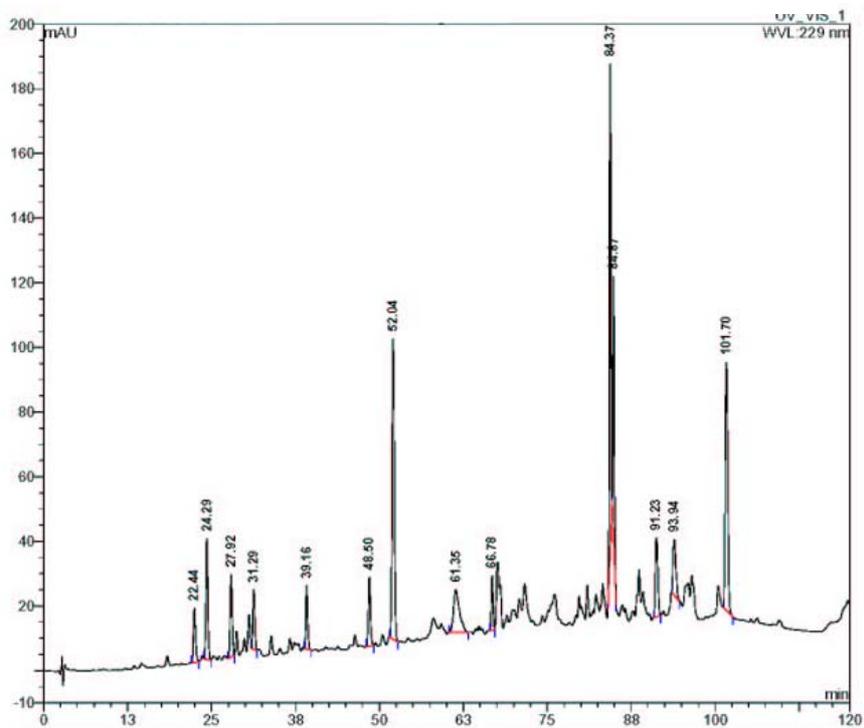


Abb. 205 HPLC-Analyse von Wurzelexsudat von *Hedera helix*



**Abb. 206 HPLC-Analyse von Wurzelexsudat von *Lycopersicon esculentum***



**Abb. 207 HPLC-Analyse von Wurzelexsudat von *Medicago sativa***

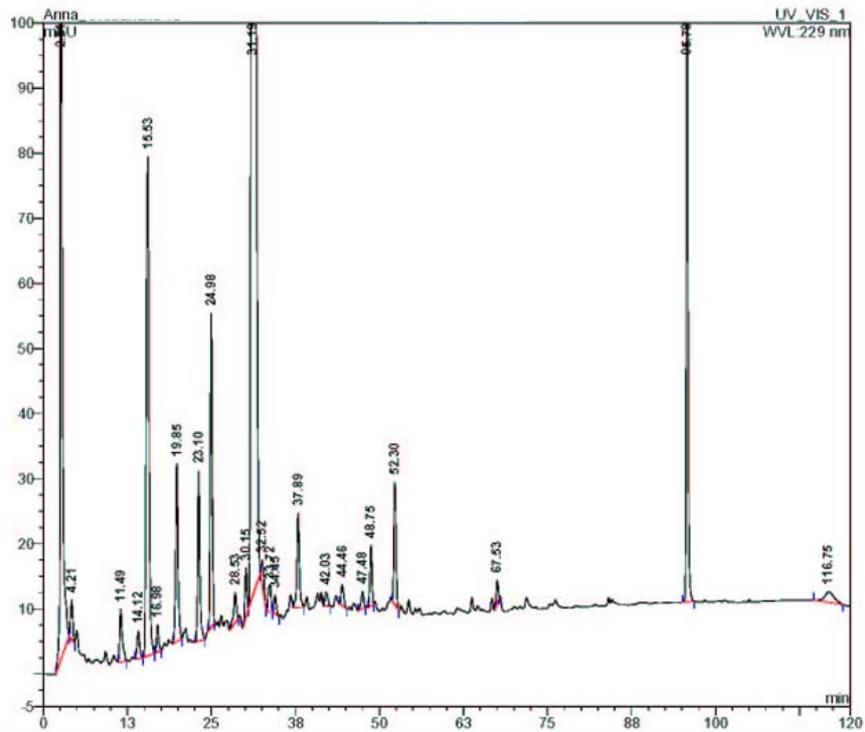


Abb. 208 HPLC-Analyse von Wurzelexsudat von *Pelargonium zonale*

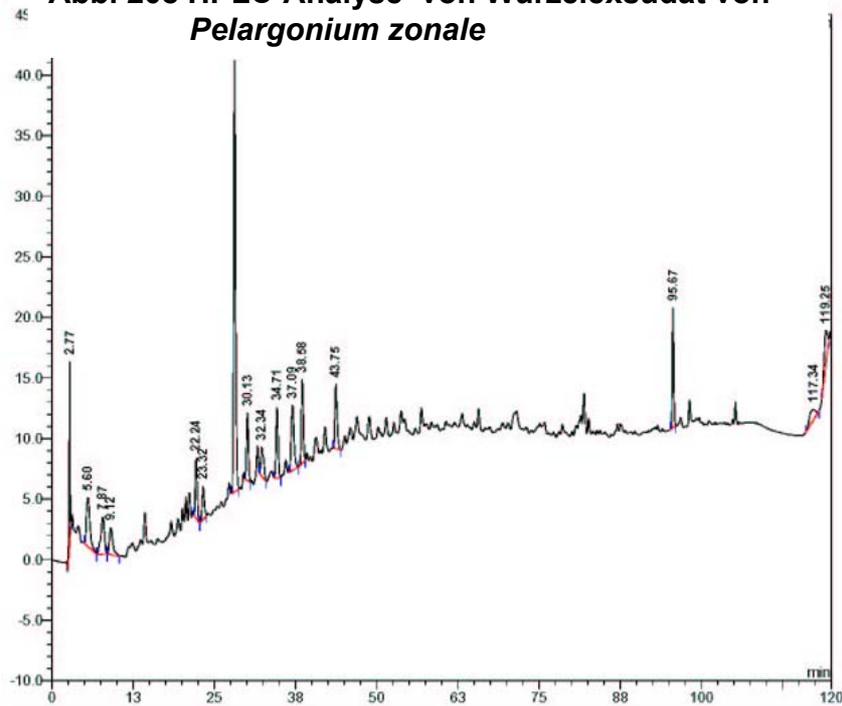


Abb. 209 HPLC-Analyse von Wurzelexsudat von *Rubus idaeus*

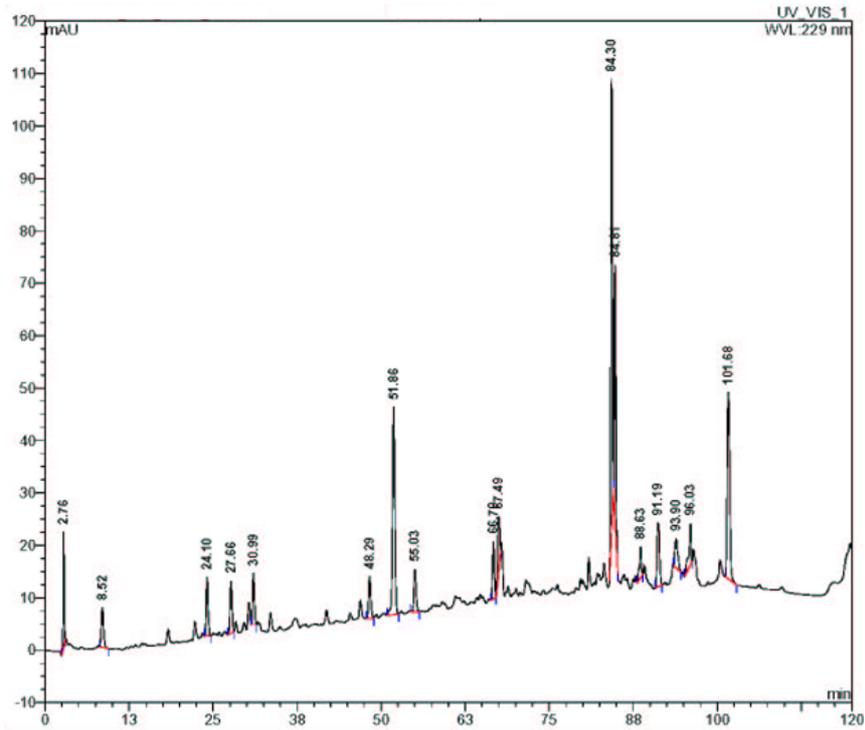


Abb. 210 HPLC-Analyse von Wurzelexsudat von *Salvia aethiopsis*

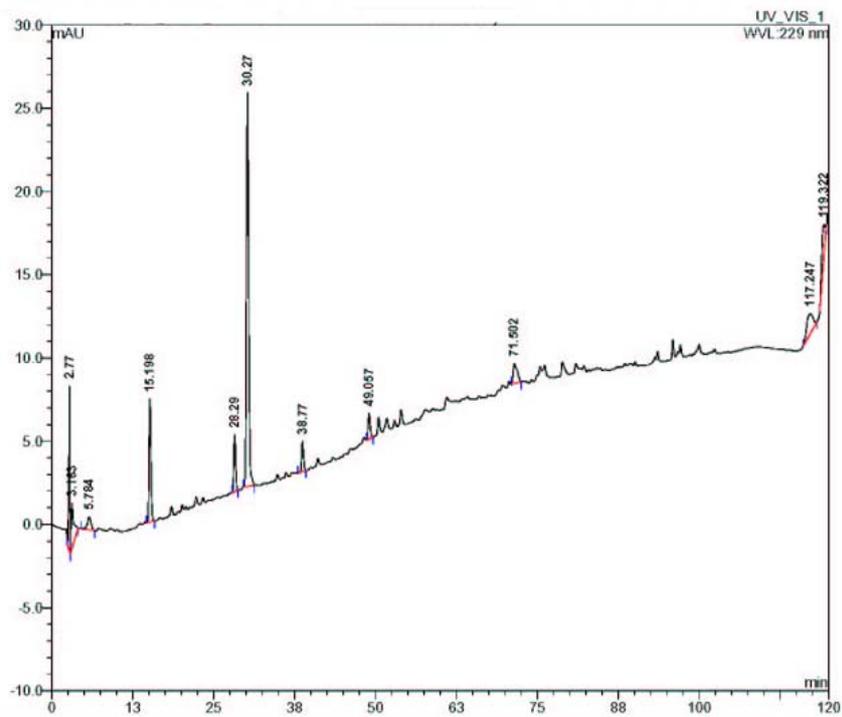


Abb. 211 HPLC-Analyse von Wurzelexsudat von *Teucrium chamaedrys*

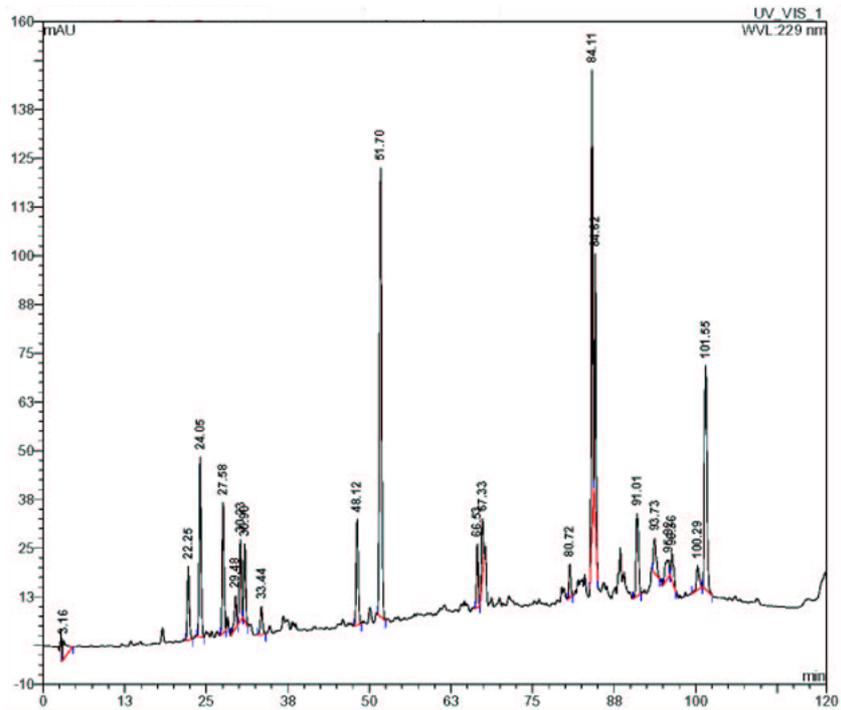


Abb. 212 HPLC-Analyse von Wurzelexsudat von *Thymus pannonicus*

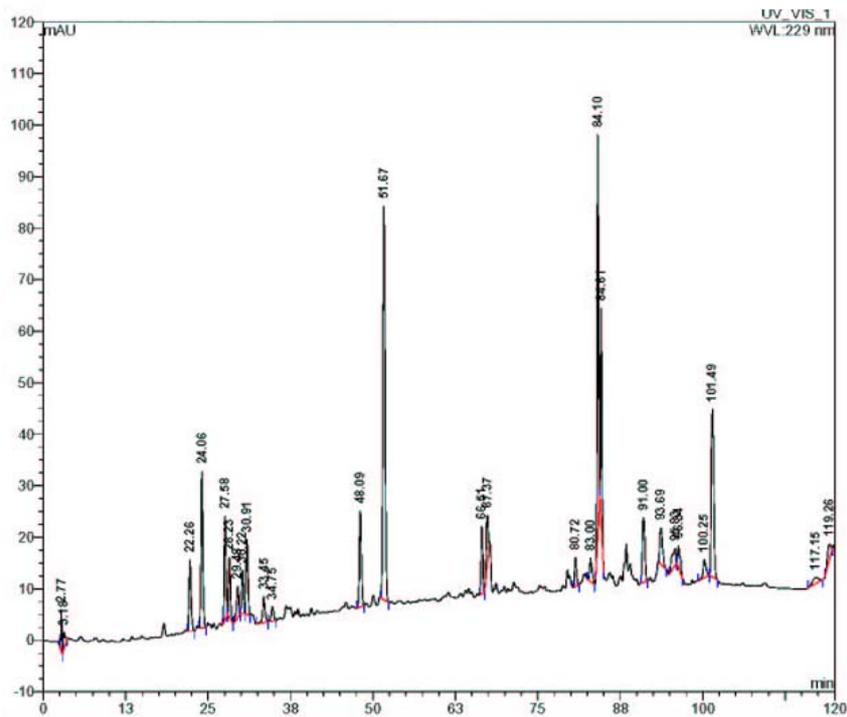


Abb. 213 HPLC-Analyse von Wurzelexsudat von *Urtica dioica*

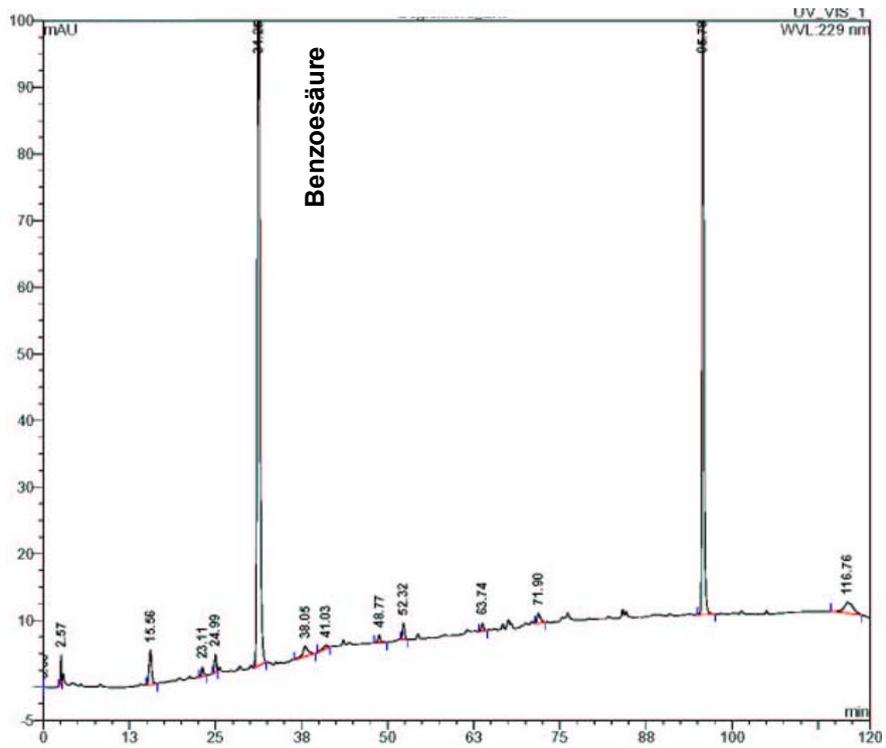


Abb. 214 HPLC-Analyse von Wurzelexsudat der Begleitflora

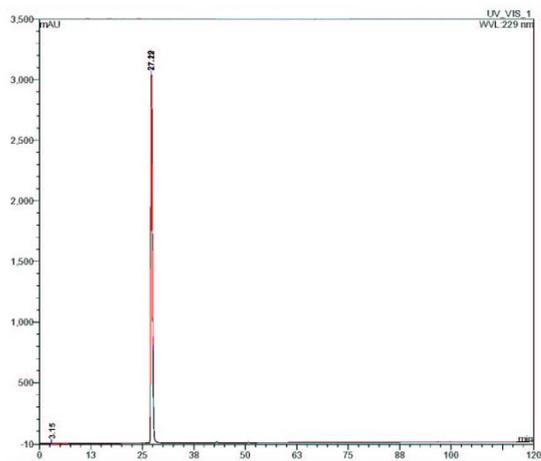


Abb. 215 HPLC von Ferulasäure

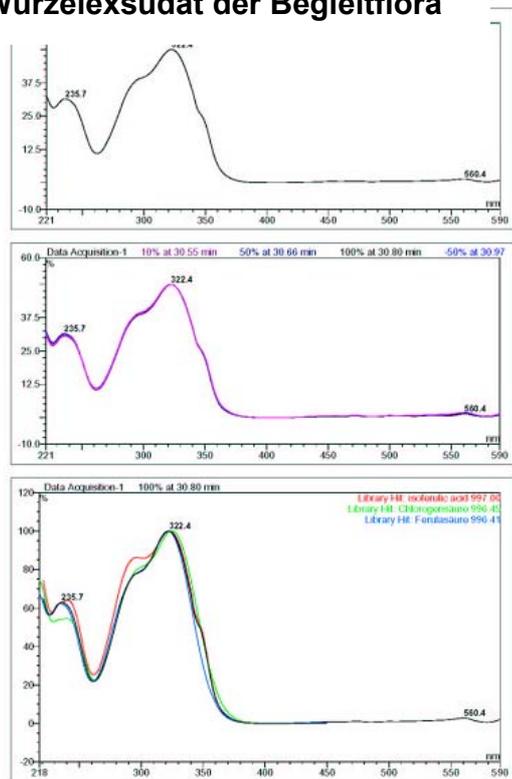
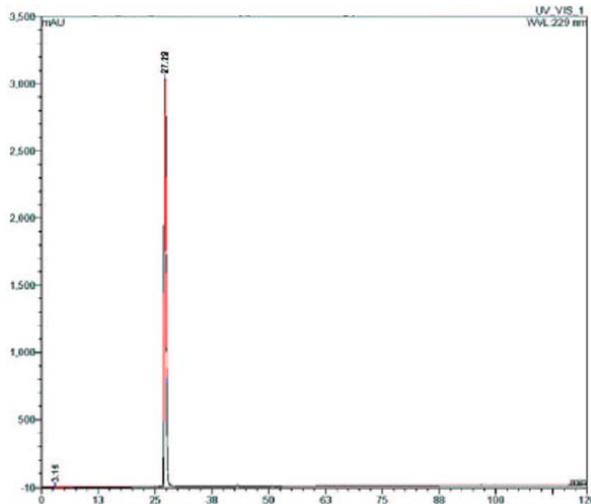


Abb. 216 Absorptionsspektrum der Ferulasäure und Vorschläge der Datenbank

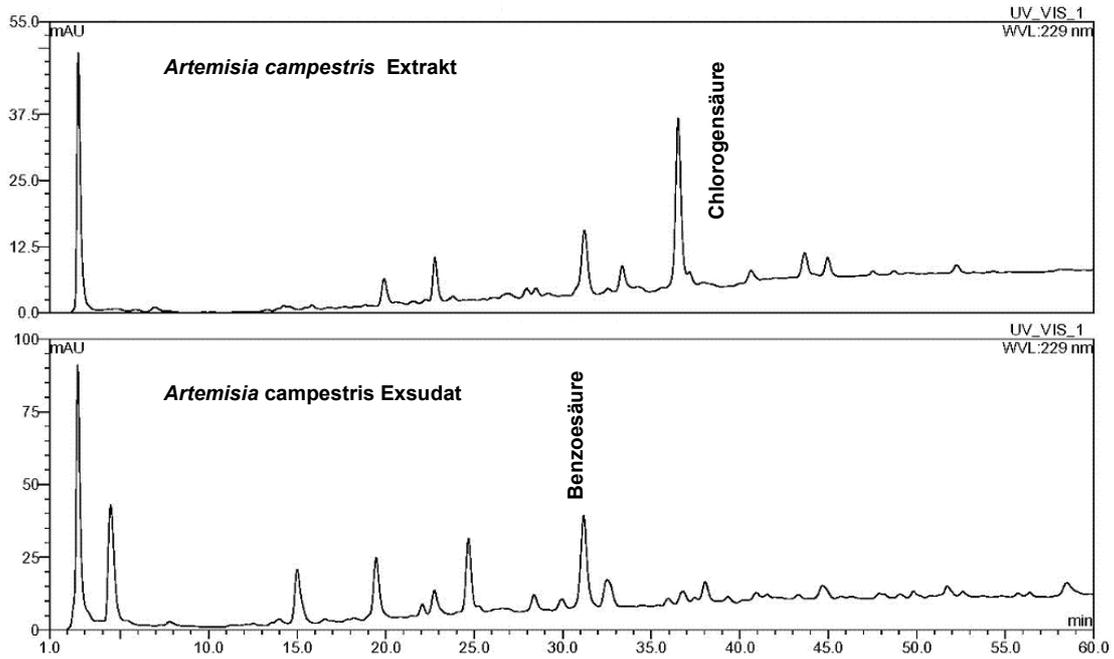


Kein Vorschlag der Datenbank

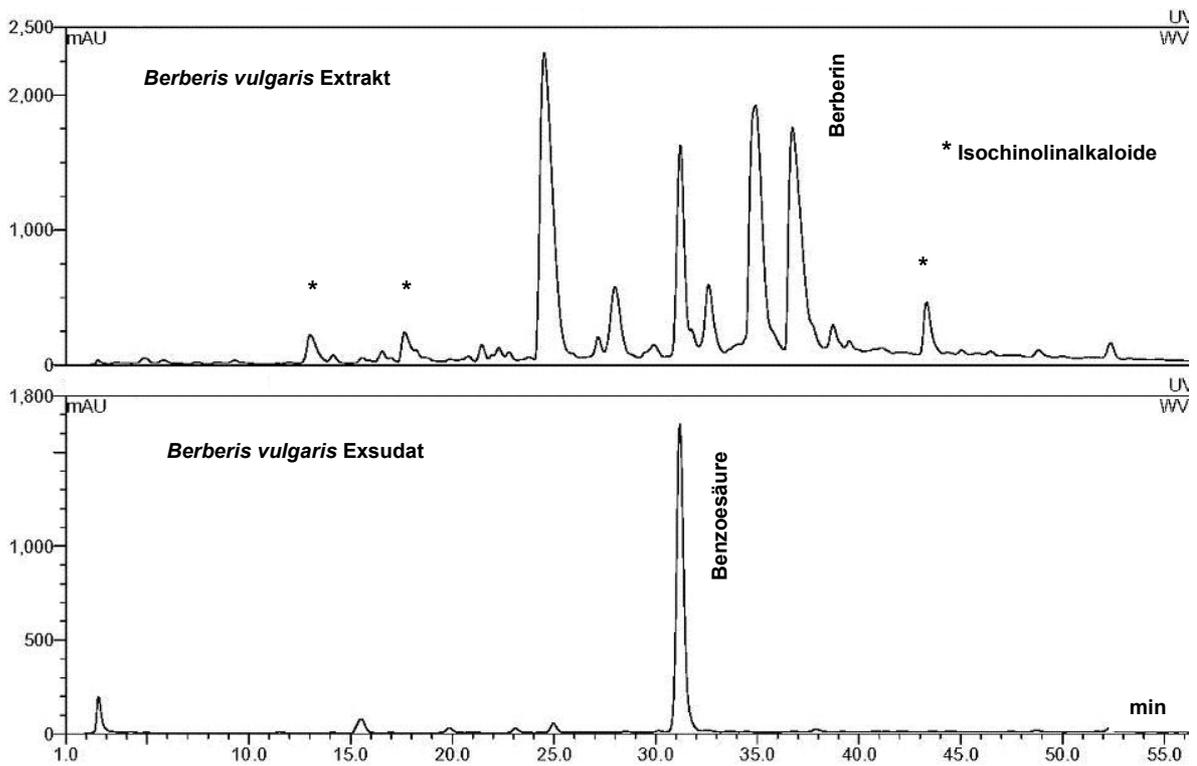
**Abb. 217 HPLC der p-Cumarsäure**

### **Vergleich der HPLC-Analysen von Wurzelextrakten mit denen der zugehörigen Wurzelexsudate**

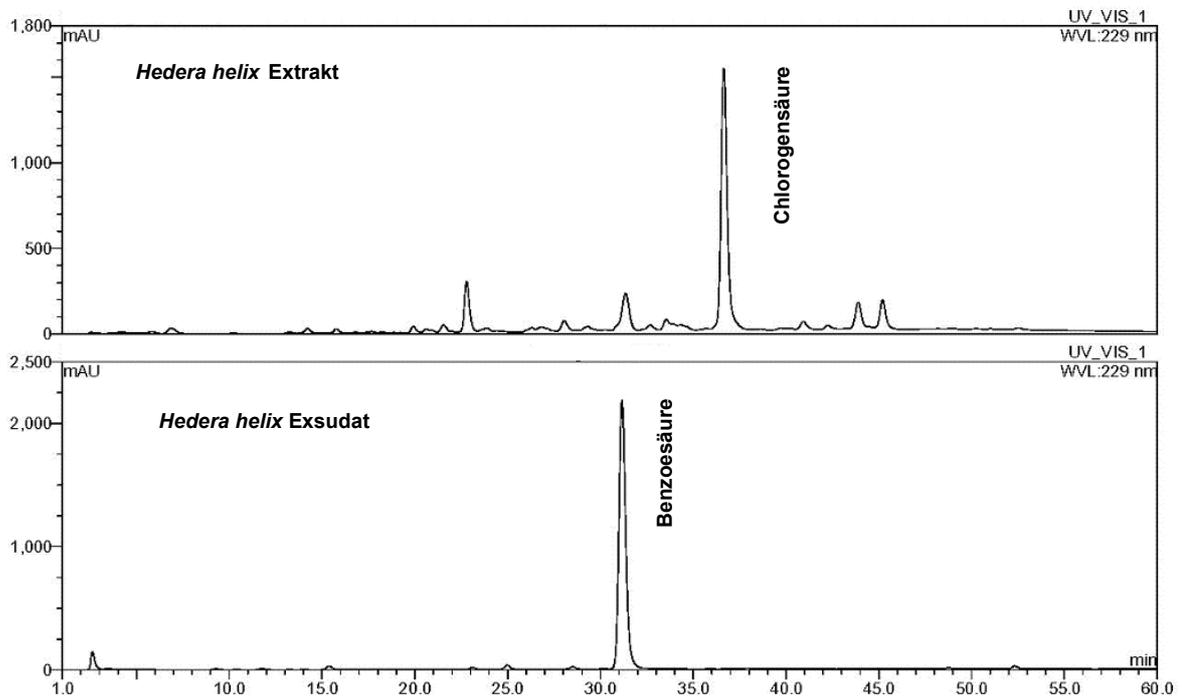
Wurzelextrakte wurden hergestellt und analysiert, um festzustellen, dass die Wurzelexsudate wirklich Ausscheidungsprodukte der Wurzeln enthalten, und nicht die ausgelaufenen Stoffe verletzter Wurzelzellen. Die in Abb. 218-221 gezeigten Beispiele belegen aufgrund der sehr verschiedenen Zusammensetzungen, dass die Wurzelexsudate nur Ausscheidungsprodukte der Wurzeln enthalten.



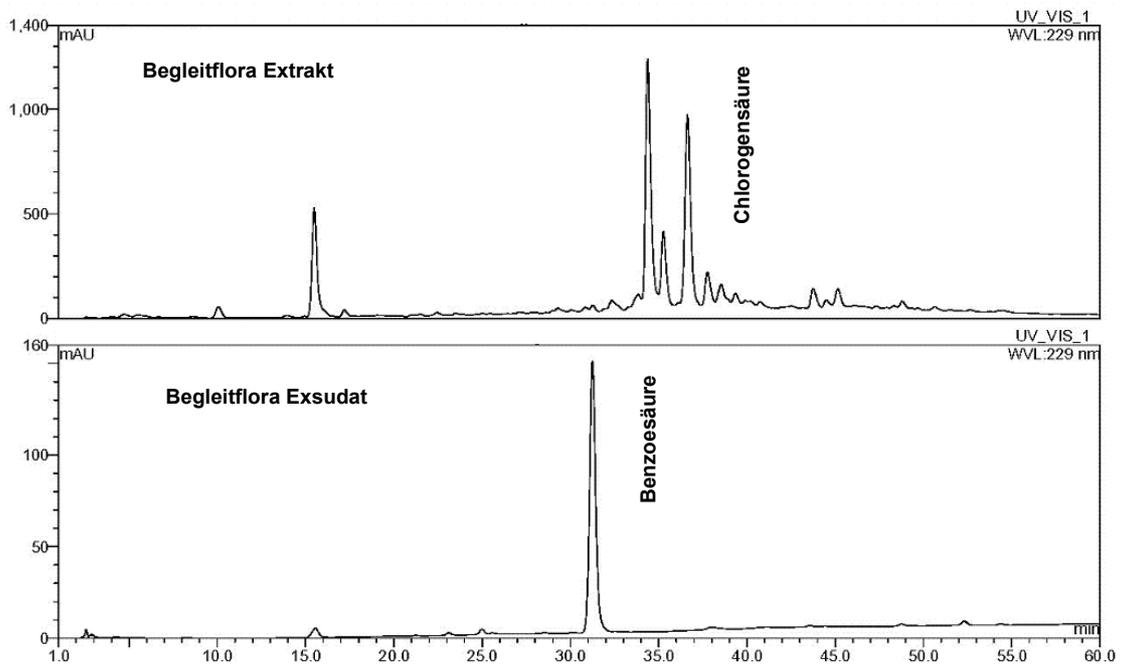
**Abb. 218 HPLC-Vergleich von *Artemisia campestris* Wurzelextrakt mit dem Wurzelexsudat**



**Abb. 219 HPLC-Vergleich von *Berberis vulgaris* Wurzelextrakt mit dem Wurzelexsudat**



**Abb. 220 HPLC-Vergleich von *Hedera helix* Wurzelextrakt mit dem Wurzelexsudat**



**Abb. 221 HPLC-Vergleich vom Extrakt des Begleitflora-Wurzelextrakts mit dem Wurzelexsudat**

#### 4.2.7.2. Ergebnisse der GC-MS-Analysen

Durch GC-MS-Analysen wurde die hydrophile Fraktion der Wurzelexsudate getrennt. Die Chromatogramme sind in Abb. 222-226 abgebildet. Die darin enthaltenen chemischen Verbindungen wurden durch ihre Massenspektren identifiziert. Darin finden sich vor allem Zucker und Polyole sowie organische Säuren, die Boden-Mikroorganismen als Nahrung dienen können.

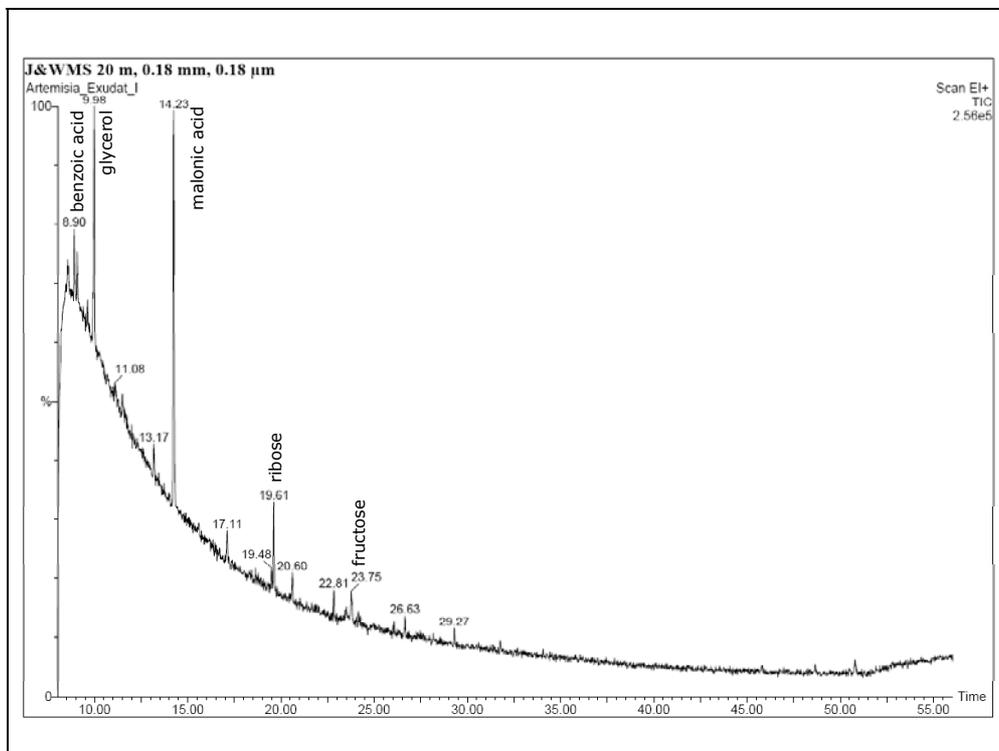
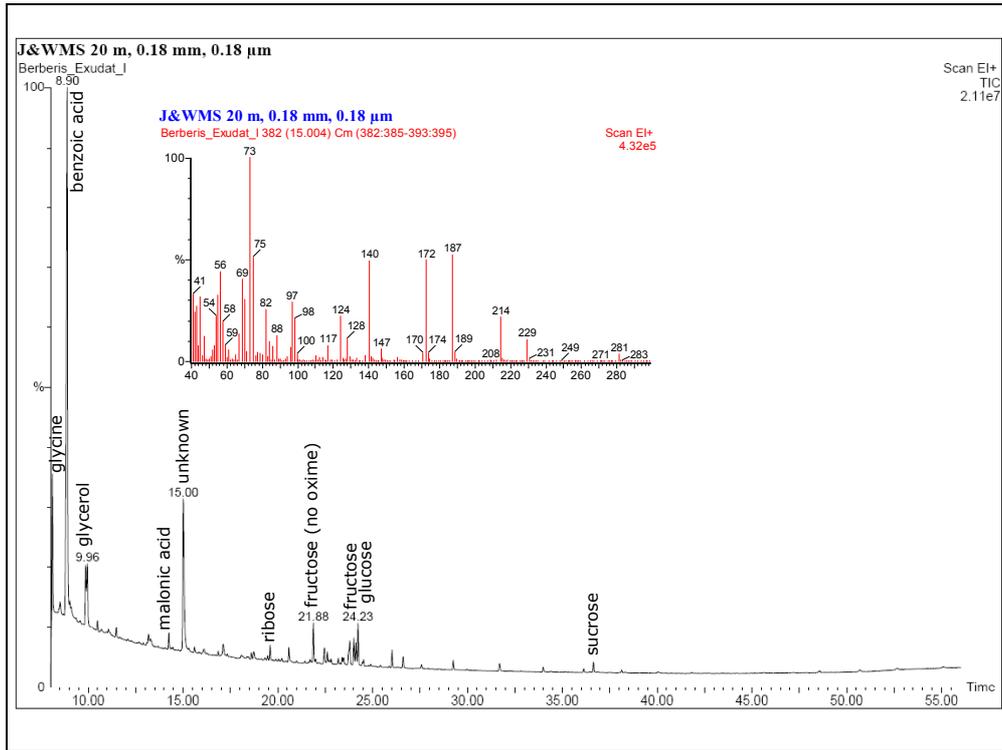
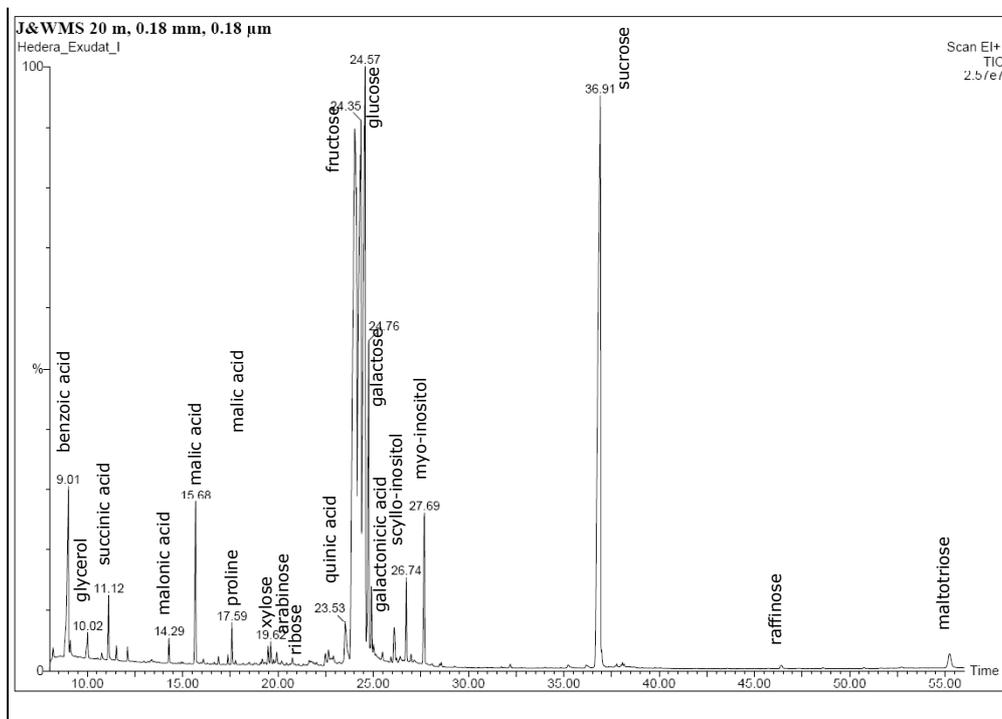


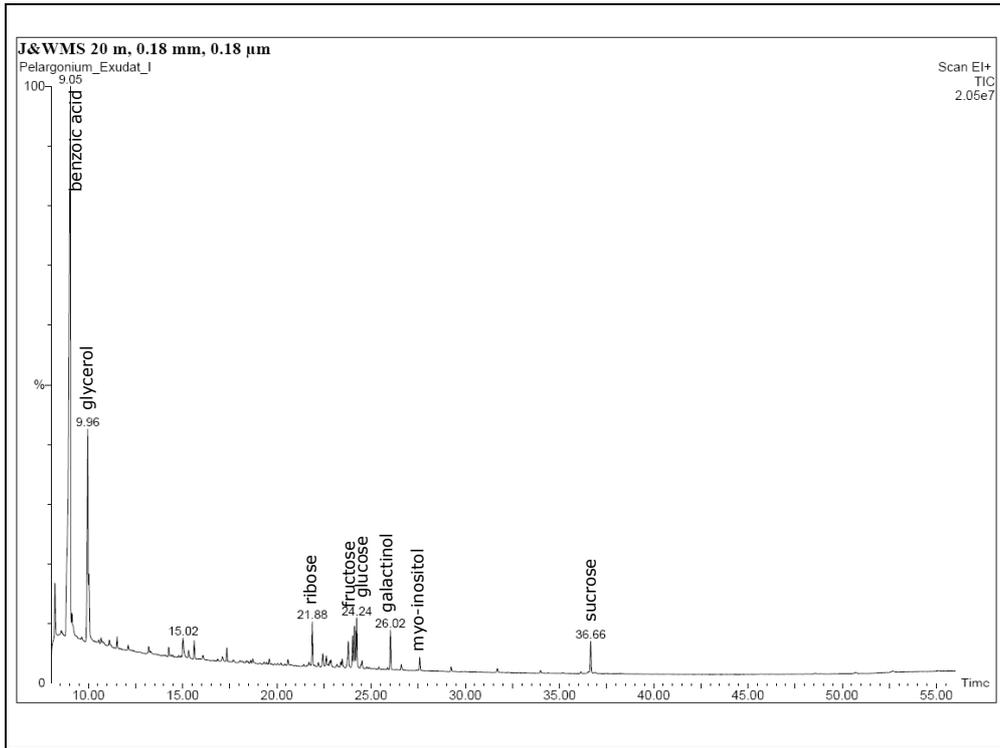
Abb. 222 GC-MS-Trennung von Wurzelexsudat aus *Artemisia campestris*



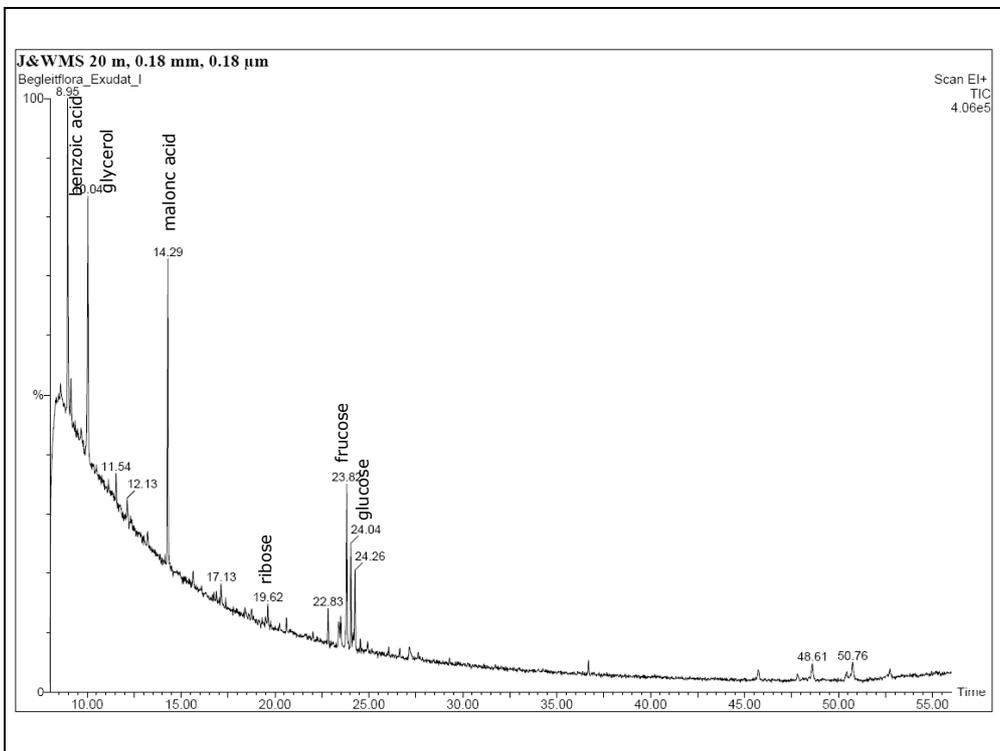
**Abb. 223 GC-MS-Trennung von Wurzelexsudat aus *Berberis vulgaris***  
Das eingefügte Massenspektrum wurde nicht identifiziert



**Abb. 224 GC-MS-Trennung von Wurzelexsudat aus *Hedera helix***



**Abb. 225 GC-MS-Trennung von Wurzelexsudat aus *Pelargonium zonale***



**Abb. 226 GC-MS-Trennung von Wurzelexsudat aus Wurzeln der Begleitflora**

## 4.2.8. Bodenanalyse auf potentielle Keimungsinhibitoren

### 4.2.8.1. Absorptionsspektrum des Bodenextrakts

Das Absorptionsspektrum (Abb. 227) gibt keinen Hinweis auf eine bestimmte Stoffklasse, es deutet vielmehr darauf hin, dass eine Mischung verschiedener farbiger Verbindungen vorliegt. Dieser Aspekt wurde nicht weiterverfolgt.

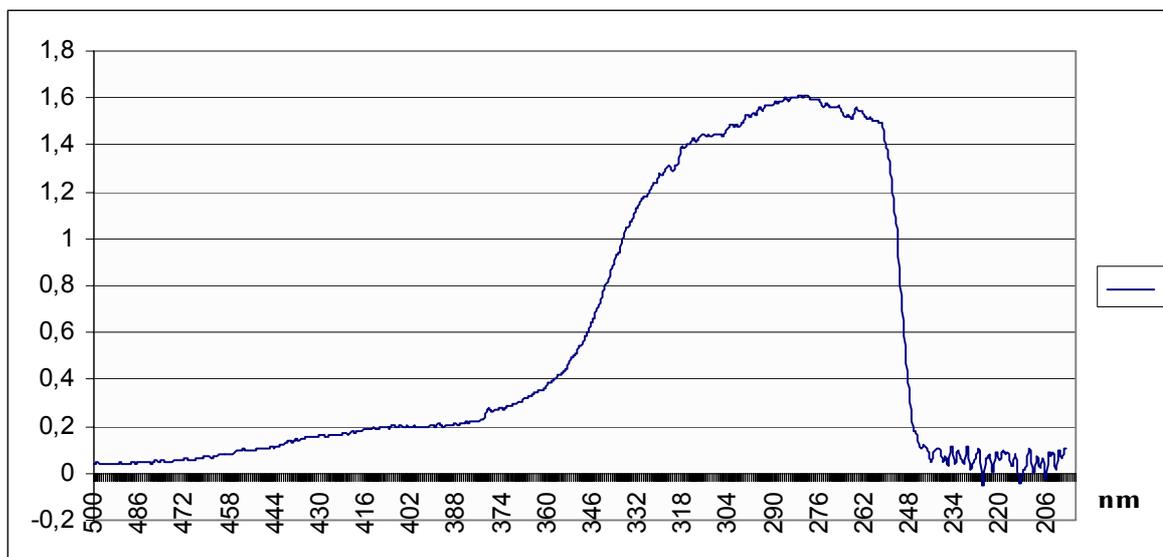


Abb. 227 Absorptionsspektrum des Bodenextrakts

### 4.2.8.2. Ergebnis der GC-MS-Analyse

Die gaschromatographische Analyse des Bodenextrakts (Abb. 228) hat ein überraschendes Ergebnis gebracht, nämlich den auffälligen Gehalt an langkettigen Fettsäuren, Alkanen, Alkanolen sowie Glycerin. Außer diesen Verbindungen wurde  $\beta$ -Sitosterol und Amyrin identifiziert. Im einzelnen wurden folgende Verbindungen im Gaschromatogramm anhand der Massenspektren in der NIST-Library identifiziert: Eicosanol, Eicosansäure, Docosanol, Docosansäure, Tetracosanol, Tetracosansäure, Hexacosanol, Hexacosansäure, Stigmasterol, Amyrin, Octacosanol, Triacontanol, daneben mehrere nicht exakt identifizierte Alkane und ein Triterpen. Hinweise auf aromatische Säuren der Zimtsäuregruppe haben sich auch hier nicht ergeben.

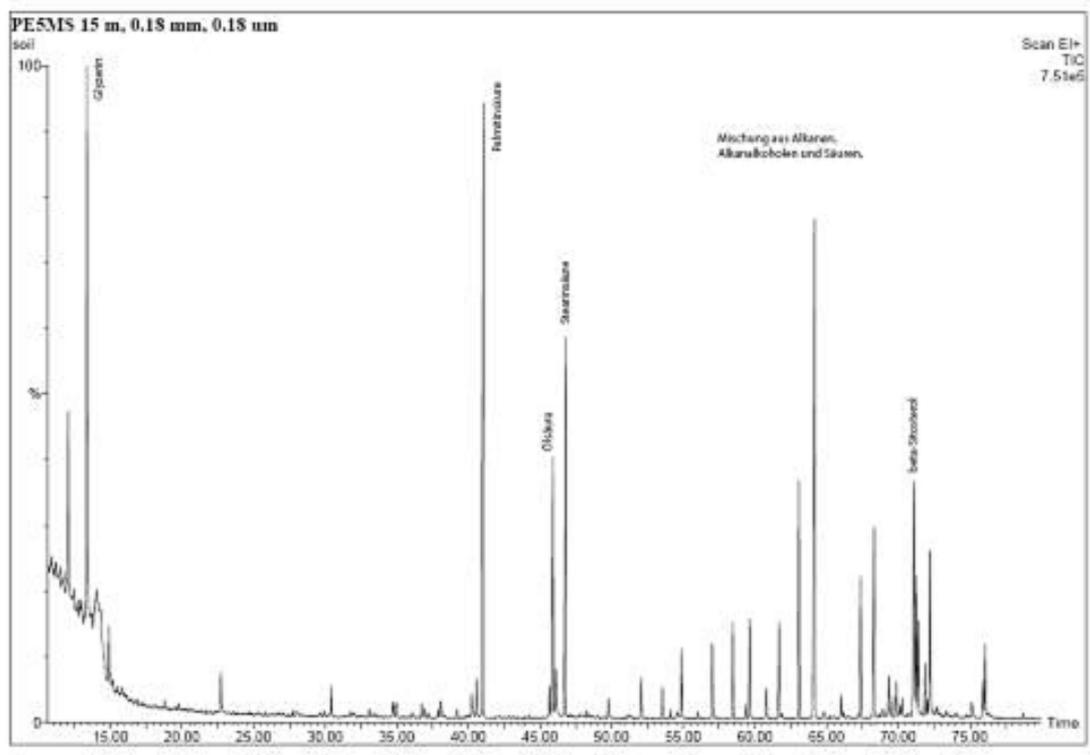


Abb. 228 GC-MS-Analyse eines Bodenextrakts

#### 4.2.9. Analyse der Wurzelexsudate auf Strigolactone

Die Präparate wurden im Department für Chemische Ökologie und Ökosystemforschung der Universität Wien hergestellt, die Analysen wurden im Weed Science Center der Utsunomiya-Universität in Japan (Prof. Koichi Yoneyama) durchgeführt. Die Ergebnisse sind in den Abb. 229-233 gezeigt. Auf der Abszisse ist der zeitliche Ablauf der HPLC-Trennung (min) dargestellt. Die Ordinaten enthalten die Signale für die jeweils vorgegebenen Massenübergänge (Multiple Reaction Monitoring, MRM), die für bekannte Strigolacton-Strukturen charakteristisch sind. 7 Massenübergänge wurden untersucht. Die Massenübergänge stehen jeweils oben rechts. Dargestellt sind nur die nachgewiesenen Massenübergänge mit den zugehörigen Strigolactonen.

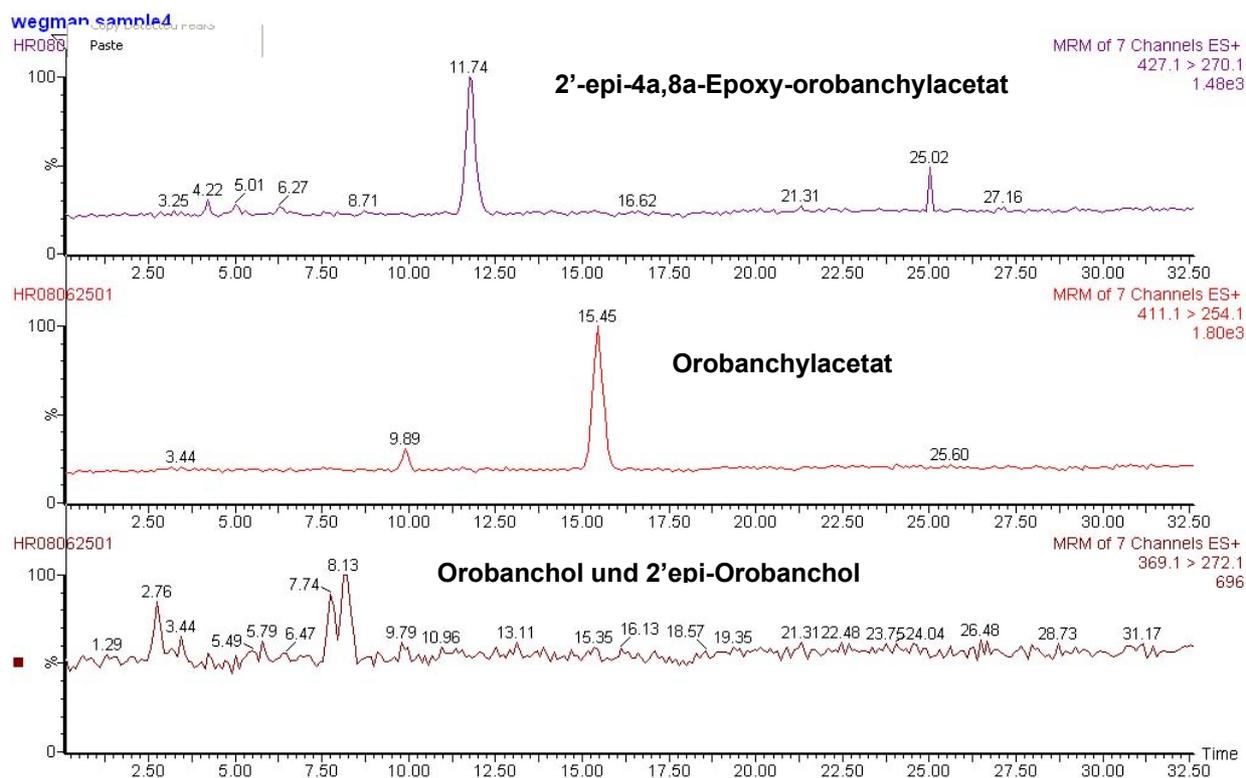


Abb. 229 Strigolactone im Wurzelexsudat von *Cirsium vulgare*, Wirtspflanze von *Orobanche reticulata*

wegman sample5

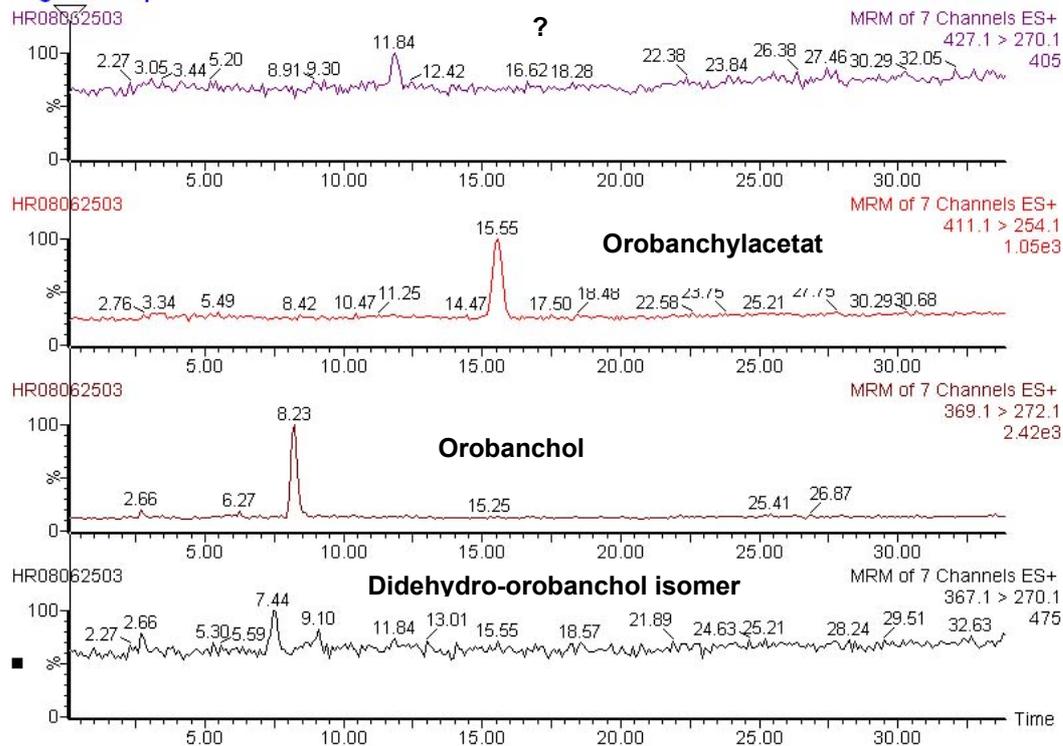


Abb. 230 Strigolactone im Wurzelexsudat von *Centaurea scabiosa*, Wirtspflanze von *Orobanche elatior*

wegman sample6

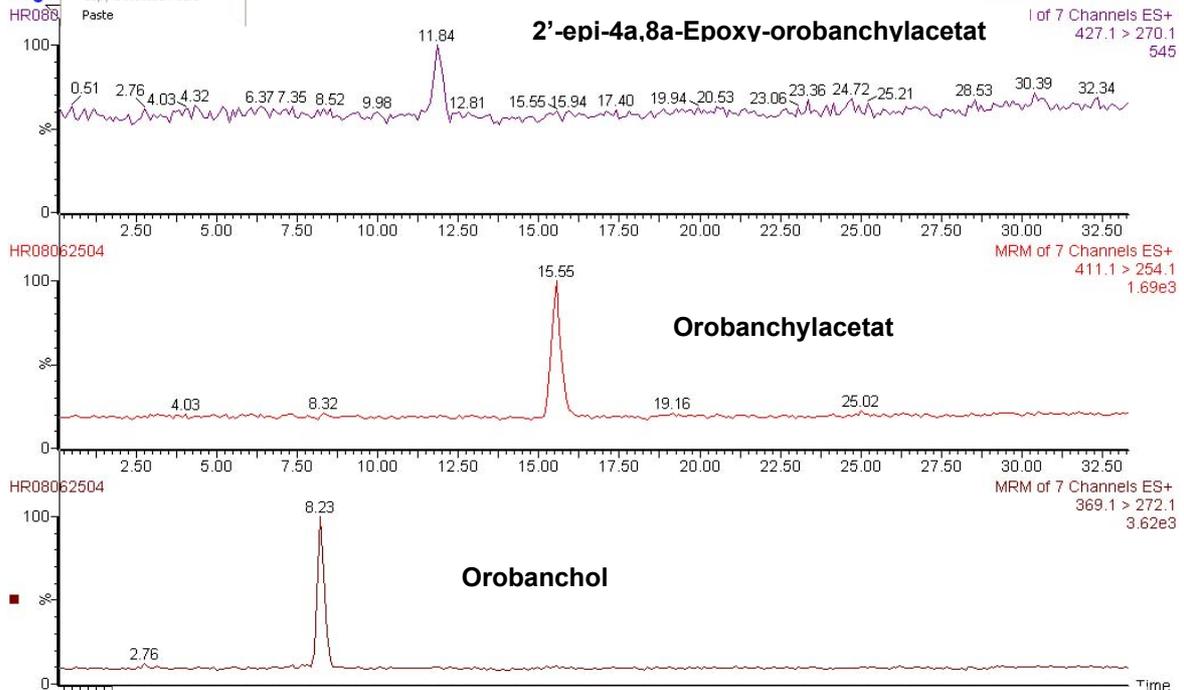
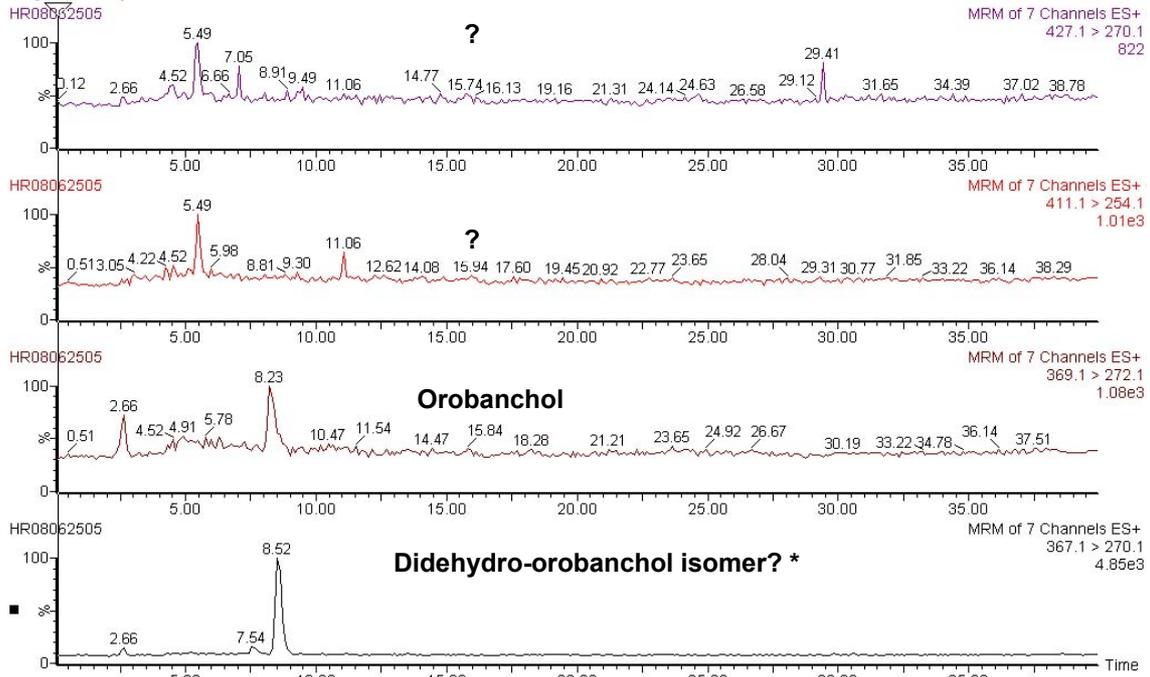


Abb. 231 Strigolactone im Wurzelexsudat von *Carduus personata*, Wirtspflanze von *Orobanche reticulata*

wegman sample7



\* Massenübergang stimmt, nicht aber der Retentionsfaktor

Abb. 232 Strigolactone im Wurzelexsudat von *Hedera helix*, Wirtspflanze von *Orobanche hederæ*

wegman sample8

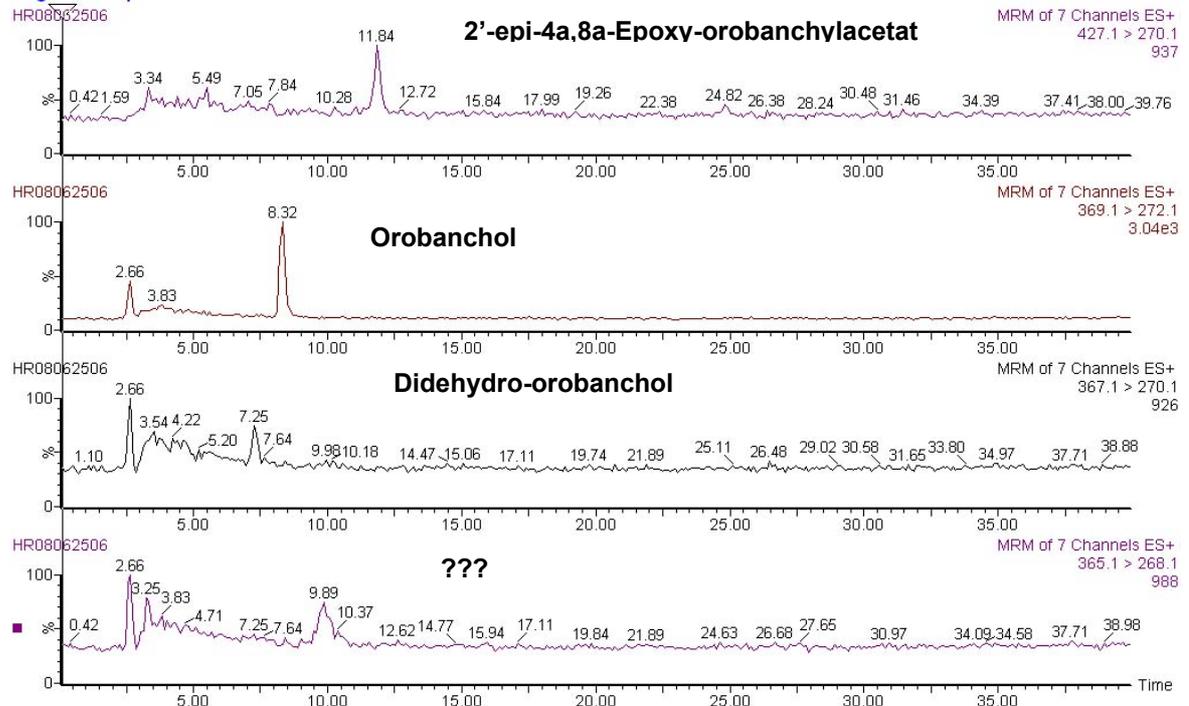


Abb. 233 Strigolactone im Wurzelexsudat von *Galium verum*, Wirtspflanze von *Orobanche caryophyllacea*

Weil Orobanchol und Sorgomol auf der C18 (ODS) Säule nicht getrennt werden, wurden Kontrollchromatogramme mit einer Phenyl-Säule angefertigt. Die Trennungen ergaben, dass in allen Präparaten Orobanchol, aber kein Sorgomol vorhanden war.

Die Strigolacton-Komponenten in den verschiedenen Wirtswurzel-Exsudaten sind qualitativ unterschiedlich zusammengesetzt. Die unbekanntesten Komponenten sind Strigolactone, deren Molekülstruktur noch nicht im Detail aufgeklärt ist. Dies trifft auch für die Isomere von Didehydro-orobanchol zu.

Die untersuchten Wirtspflanzen werden von unterschiedlichen *Orobanche* spp. parasitiert:

*Cirsium vulgare* und *Carduus personata* von *Orobanche reticulata*; die Strigolacton-Zusammensetzung ist am ähnlichsten.

*Centaurea scabiosa* wird von *O. elatior* parasitiert,

*Hedera helix* nur von *O. hederæ*,

*Galium verum* von *O. caryophyllacea*.

## 5. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

In diesem Kapitel wird anhand der Feldbeobachtungen und der experimentellen Ergebnisse untersucht, was die Gründe für den Rückgang der seltenen *Orobanche*-Arten sein könnten. Dazu wurden die ökologischen Bedingungen an den Fundorten studiert und Klima- und Wetter-Daten ausgewertet sowie Bodenproben analysiert. Bei den Laboruntersuchungen wurden standardisierte Keimungsversuche durchgeführt und mögliche allelopathische Reaktionen untersucht. Insbesondere wurden Wurzel-exsudate und eine Bodenprobe auf Keimungsinhibitoren analysiert. Endophytische Pilze wurden erstmals in *Orobanche* spp. der Spontanflora durch elektronenmikroskopische und molekularbiologische Methoden untersucht. Ein Vergleich mit den wenigen noxischen *Orobanche*-Arten, die in der Landwirtschaft erhebliche Schäden verursachen, soll zur Klärung der Frage beitragen, warum diese Arten ungebremste Massenvermehrung zeigen, während die seltenen Orobanchen immer weiter zurückgehen. Schließlich haben die experimentellen Studien wesentlich zur Frage der Wirtsspezifität beigetragen.

### 5.1. Ökologische Betrachtungen

#### 5.1.1. Terrain der *Orobanche*-Fundorte

Mit Ausnahme von *Orobanche hederæ*, die schattige Plätze bevorzugt, so wie auch ihre Wirtspflanze, und oft unter Bäumen und im Gebüsch vorkommt, bevorzugen die Orobanchen in der Spontanflora sonnige und warme Standorte, oft südliche Hänge, zuweilen trifft man sie aber auch auf flachen Wiesen, und manchmal in hohem Gras.

Orobanchen sind Dunkelkeimer. Für ihre Ernährung sind sie nicht auf Licht angewiesen, da sie nicht zur Photosynthese fähig sind. Ob sie für ihre Entwicklung Licht brauchen, ist nicht bekannt. Immerhin werden in *Orobanche minor* Phytochrom-Gene exprimiert (Okazawa et al. 2004, Mathews 2005).

Übrigens wurden an keinem Fundort geschädigte Wirtspflanzen gesehen.

### 5.1.2. Klima und Wetter

„Wetter“ beschreibt die schnell ablaufenden Prozesse und variablen Zustände in der Atmosphäre, speziell in der Troposphäre, bezogen auf einen bestimmten Zeitpunkt (Hupfer 1996). „Klima“ ist das "statistische Verhalten der Atmosphäre, das für eine relativ große zeitliche Größenordnung charakteristisch ist." (Hantel et al. 1987). Die World Meteorological Organization (WMO) hat für die Zeitspanne, über die der Mittelwert des Wetters berechnet werden sollte, auf 30 Jahre festgelegt (Claussen 2003). Daher werden für Klimavergleiche häufig die Zeiträume 1931–1960 bzw. 1961–1990 (Ciutina 2004) gewählt. Man findet in der Literatur aber auch andere Mittelungszeiträume. In dieser Arbeit werden die Klimadaten für die Zeitraum 1961-1990 verwendet. In den Klimadiagrammen werden die mittleren Temperaturen in den Monaten und die Summe der Niederschläge in den Monaten dargestellt sowie die Klimaformel. Die Klimaformel entspricht den Definitionen von W. Köppen und ist bei Strahler & Strahler (2005) beschrieben.

Im Ergebnisteil sind bei den Fundorten die Klimadiagramme der jeweils nächsten Messstation zum Fundort der *Orobanche* gezeigt. Sie enthalten die statistischen mittleren Monatstemperaturen und die statistische Niederschlags-Mengen der Monate sowie die Klimaformel nach Köppen.

Rumänien und das Gebiet Baden-Württemberg (im Südwesten Deutschlands) gehören zu den gemäßigten Klimaten und sind sehr ähnlich.

Baden-Württemberg liegt in einem Übergangsgebiet zwischen Seeklima im Westen und Kontinentalklima im Osten. Mit überwiegend westlichen Winden werden das ganze Jahr über feuchte Luftmassen vom Atlantik herangeführt, die zu Niederschlägen führen. Der ozeanische Einfluss, der von Nordwest nach Südost abnimmt, sorgt für milde Winter und nicht zu heiße Sommer. Mit 10 °C mittlerer Jahrestemperatur im Oberrheinische Tiefland gehört Baden-Württemberg zu den wärmsten Gebieten

Deutschlands. Mit der Höhe sinkt die Durchschnittstemperatur, und der Südschwarzwald ist mit durchschnittlich 4 °C eines der kältesten Gebiete Deutschlands (Borcherdt 1993). Extreme Kältewerte lassen sich deshalb in der Baar beobachten; hier kann es im Winter zu Temperaturen von unter -30 °C kommen. Die Niederschläge betragen im Schwarzwald, Odenwald und in den Voralpen über 1000 mm pro Jahr, aber im mittleren Neckarraum und der Donauniederung bei Ulm etwa 700 mm.

In Rumänien sind die Klimate temperat-kontinental-moderat, ein Übergang zwischen den Klimaten von West-Europa (wo der ozeanische Einfluss dominiert), den Klimaten von Osteuropa (mit ausgesprochen kontinentalen Merkmalen) und von Südeuropa (mediterraner Einfluss). Die mittlere Temperatur variiert zwischen 22°C und 24°C im Sommer (im Juli), bzw. -3°C und -5°C im Winter (im Januar). Die mittlere Jahrestemperatur beträgt im Süden des Landes 11°C, im Norden wegen der geographischen Breite und des Reliefs nur 8 °C. Die mittlere Jahresniederschlagsmenge ist 637 mm und wird von Westen nach Osten geringer, gleichzeitig mit dem Rückgang ozeanischer und mediterraner Einflüsse. In den Berggebieten kann die langjährige Jahresniederschlagsmenge 1.000 - 1.400 mm betragen, in der Dobrudja und im Donau-Delta nur 400 mm.

Wegen der Höhenlagen und der sehr verschieden Exposition des Reliefs haben die Fundorte in Rumänien entsprechend der Definition von Köppen verschiedene Klimaformeln:

- Cfbx für fünf Fundorte (Cefa-Hügel bei Carei, National Park Cheile Nerei-Beuşniţa bei Oraviţa, Covăsinţ bei Arad, Gârbovăţ bei Bozovici, Ţesnei- Durchbruch in Baile Herculane).

- Dfbk für drei Fundorte (Dealul Mocanu und Rezervaţia de Stepă Dealul Zakel bei Sibiu, Botanischer Garten Cluj-Napoca), mit der Bedeutung: Klimazone D (kältester Monat unter -3°C; wärmster Monat über +10°C), Klimatyp f (immerfeucht, keine Trockenzeit), Klimauntertyp b (wärmster Monat < 22°C).

- Dfk' für zwei Fundorte (Staţiunea Biologică Potoci bei Bicz, Dealul Grosama bei Câmpeni): Klimazone D (kältester Monat unter -3°C; wärmster

Monat über +10°C), Klimatyp f (immerfeucht, keine Trockenzeit), Klimauntertyp k'.

- Dfax für Rezervația Floristică Hanul Conachi bei Tecuci: Klimazone D (kältester Monat unter -3°C; wärmster Monat über +10°C), Klimatyp f (immerfeucht, keine Trockenzeit), Klimauntertyp ax.

- BSax für Rezervația Floristică Fântânița-Murfatlar bei Basarabi: Klimazone B (Klima arid oder semiarid), Klimatyp S (semiarid), Klimauntertyp ax (heißer Sommer, wärmster Monat > 22°C).

Es gibt also sechs Fundorte mit Df und fünf mit Cf.

Alle Fundorte in Baden-Württemberg entsprechen der Klimaformel Cfb: Warmgemäßigte Klimazone, feuchttemperiertes Klima mit warmem Sommer.

*Orobanche* spp. keimen, blühen und fruchten zu unterschiedlichen Kalenderdaten. Das hat sich an allen Fundorten gezeigt, wo mehrere Arten gefunden wurden. Sie alle hängen von jeweils einem eigenen, engen „ökologischen Fenster“ ab, das sie für ihre Entwicklung brauchen. Da der Wetterverlauf in verschiedenen Jahren und auch lokal unterschiedlich ist, erklärt dies, warum *Orobanche* spp. nicht regelmäßig jedes Jahr erscheinen, und warum an Fundstellen mit mehreren Arten die Artenzusammensetzung von Jahr zu Jahr wechseln kann.

Die empfindlichste und anspruchsvollste Phänophase der *Orobanche*-Entwicklung ist die Konditionierung und Keimung. Für die 10-15 Tage dauernde Konditionierung ist feuchter Boden mit ca. 20 °C erforderlich, dann kann die Keimung erfolgen, wenn sie durch die Ausscheidungen einer Wirtswurzel stimuliert wird, und Feuchtigkeit und Temperatur stimmen. Für diese Phase ist nicht das Klima maßgeblich, sondern das lokale Wetter zur betreffenden Zeit. Klimaerwärmung könnte sich günstig für die *Orobanche*-Entwicklung auswirken, wenn es aber in den Monaten März/April/Mai nicht regnet, kann sich keine *Orobanche* entwickeln. In der Regel gibt es an den Fundorten der *Orobanche* keine Messstationen. Für die vorliegende Arbeit wurden deshalb die Klimadiagramme der nächstliegenden Messstationen aufgenommen.

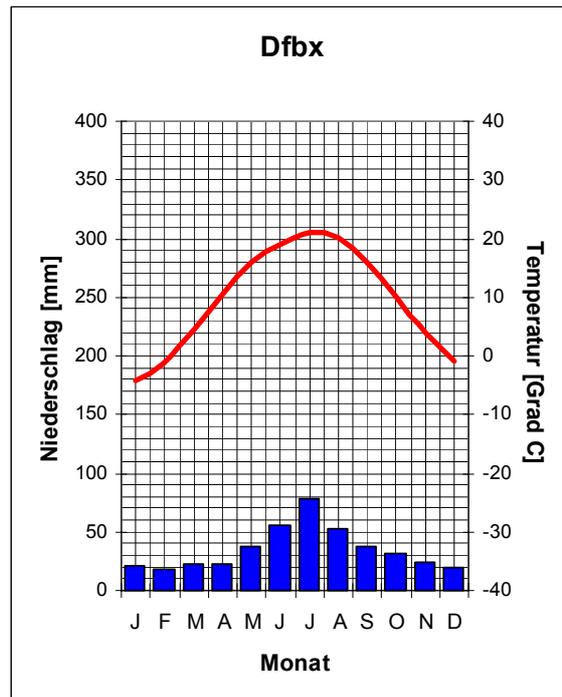
An vier von den Fundorten, nämlich zwei in Baden-Württemberg (Botanischer Garten Tübingen, Wollmatingen bei Konstanz) und zwei in Rumänien (Steppenreservat Zakelsberg, Covăsint), standen die täglichen Mittelwerte der Temperatur und die täglichen Niederschläge von lokalen Forschungsinstitutionen zur Verfügung: Botanischer Garten Tübingen, Naturschutzzentrum Wollmatinger Ried, Universität Lucian Blaga, Sibiu (Fakultät für Ökologie und Umweltschutz), Wein- und Reben-Forschungsstation Stațiunea Viticolă Miniș. Der Wetterverlauf wurde im Zeitraum 2005-2007 verfolgt, in jährliche Klimadiagramme verarbeitet und mit den langjährigen Werten verglichen. Im Zeitraum 2005-2008 sind die Thermopluviogramme für die Monate März, April und Mai dargestellt, weil diese Klimaelemente für den Beginn des Entwicklungszyklus der *Orobanche* spp. sehr wichtig sind.

Ein Klimadiagramm für den Botanischen Garten Tübingen ist durch die Translationsmethode (Buiuc & Vulcan 1997), aufgrund des Klimadiagramms von Rottenburg gemacht worden. Bei dieser Methode geht man davon aus, dass die Temperatur je 100 m Höhenunterschied um 1 °C sinkt. Der Vergleich der Temperaturen 2005-2008 mit dem Standard war aber für den Botanischen Garten Tübingen nicht möglich, weil dort die Temperaturwerte morgens, mittags und abends abgelesen wurden und nicht vier mal am Tag (01, 07, 13, 19 Uhr Ortszeit), wie es die internationalen Vereinbarungen verlangen (Vanc 2005). Immerhin konnte bei den Wetterdaten die zeitliche Auflösung auf einzelne Tage durchgeführt werden.

### 5.1.3. Detaillierte Auswertung der klimatologischen Daten von vier Fundorten

#### Fundort Hügel Zakel

Der Fundort gehört zur Klimaregion Dfbx (Klimadiagramm 19: kaltes Waldklima mit Schnee, aber warmen Sommern, mittlere Jahrestemperatur 9.5 C und 461.4 mm Jahresniederschlag.

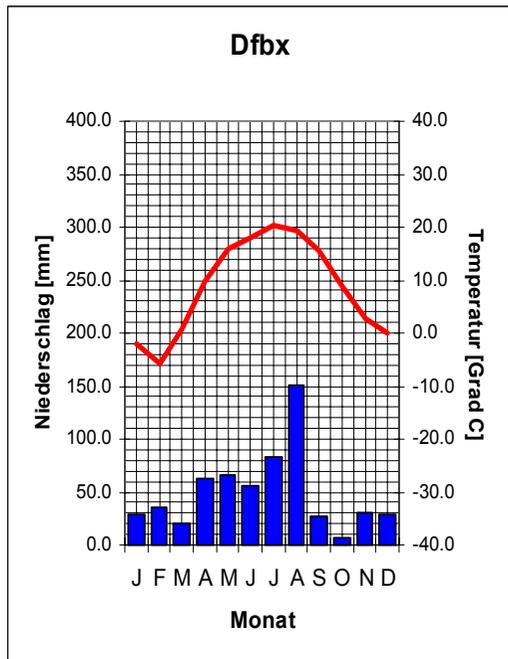


Klimadiagramm 19

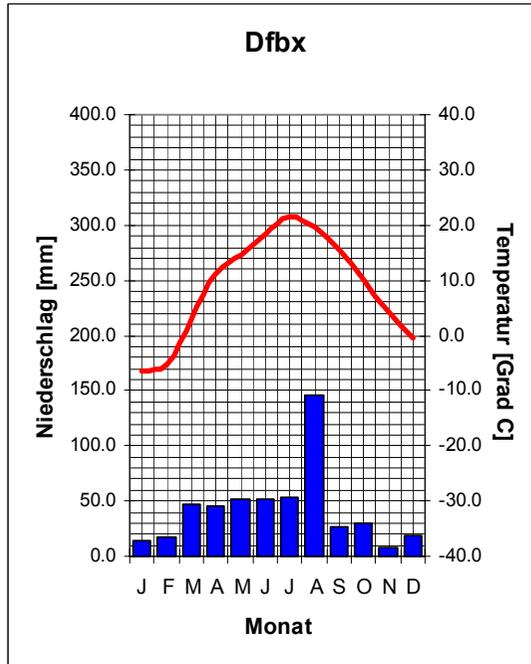
Tab. 9 Vergleich der Jahreswetterdaten (2005-2007) mit den Klimadaten Zakel

Jahresmittel/Jahressumme	2005	2006	2007
Temperatur (C)	8.6	8.8	10.7
Niederschlag (mm)	595.5	509.3	541.9
Differenz zum Mittel 1961-1990 (C / mm)	-0.9 / 134.1	-0.7 / 47.9	1.2 / 80.5

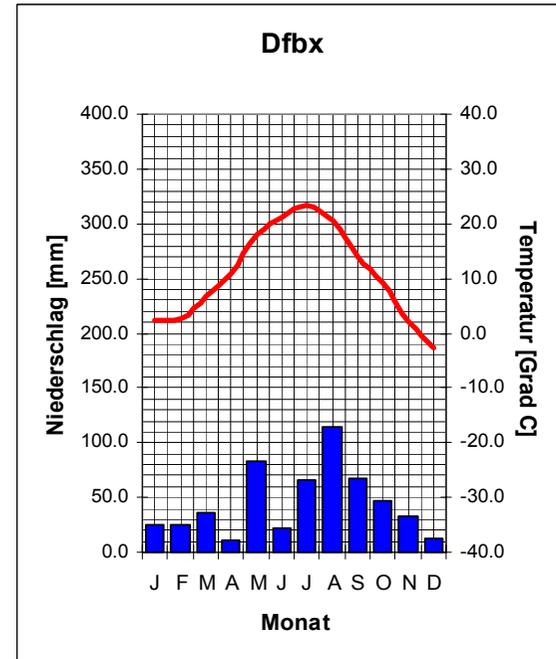
Der Vergleich der Jahreswetterdaten mit den Klimadaten in der Periode 2005-2007 zeigt den Niederschlag über die mittlere Jahresniederschlagssumme 1961-1990 in jedem Jahr. In 2005-2006 war die Jahrestemperatur geringer als das Mittel 1961-1990, aber im Jahr 2007 um 1.2 C höher.



2005

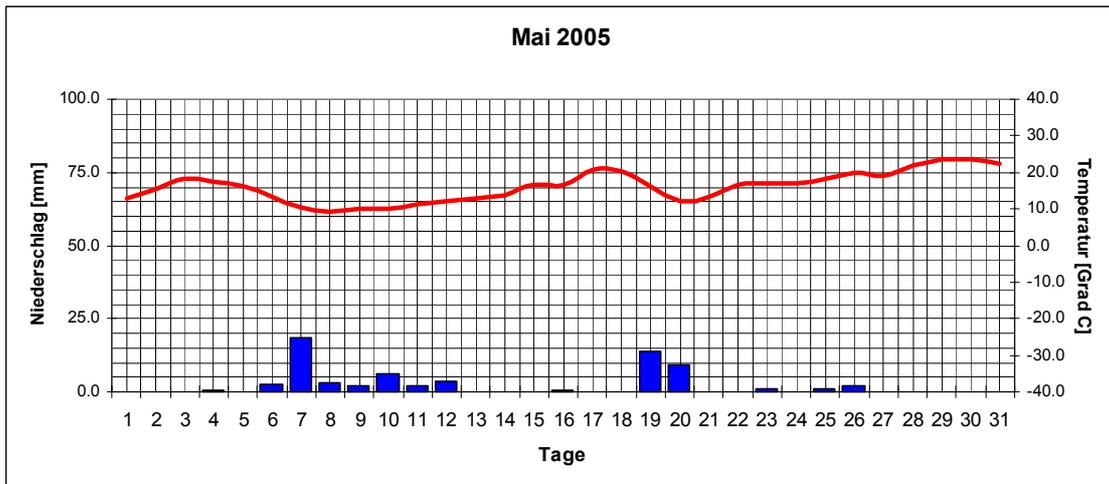
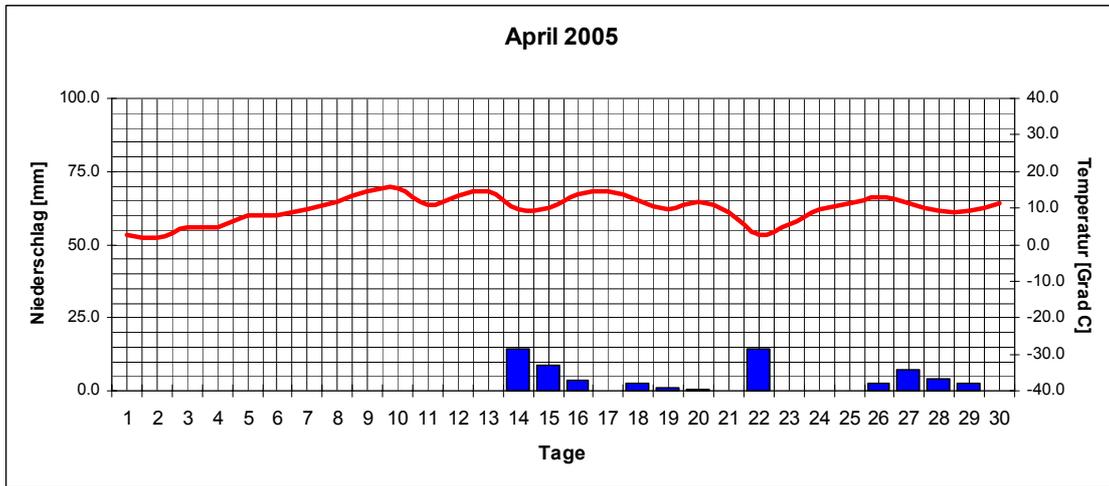
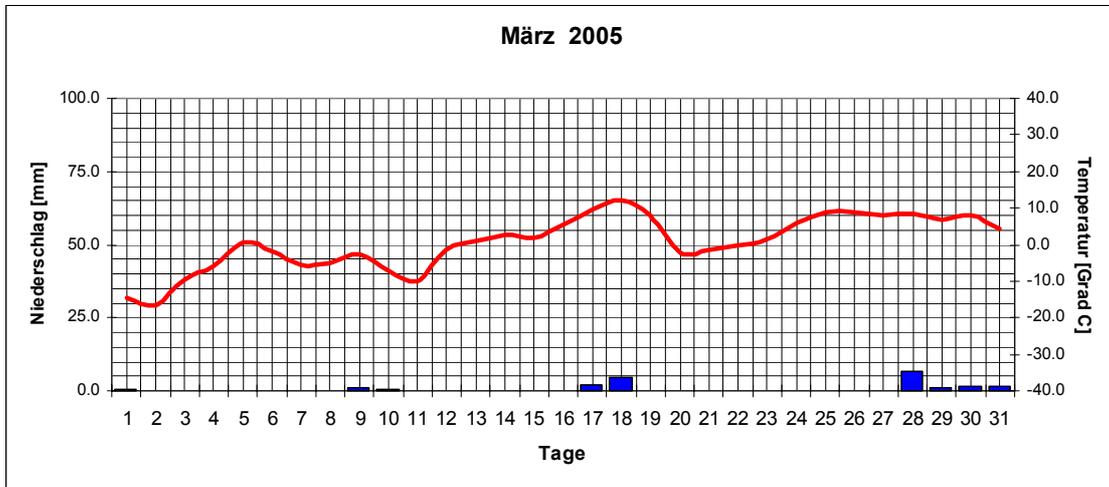


2006

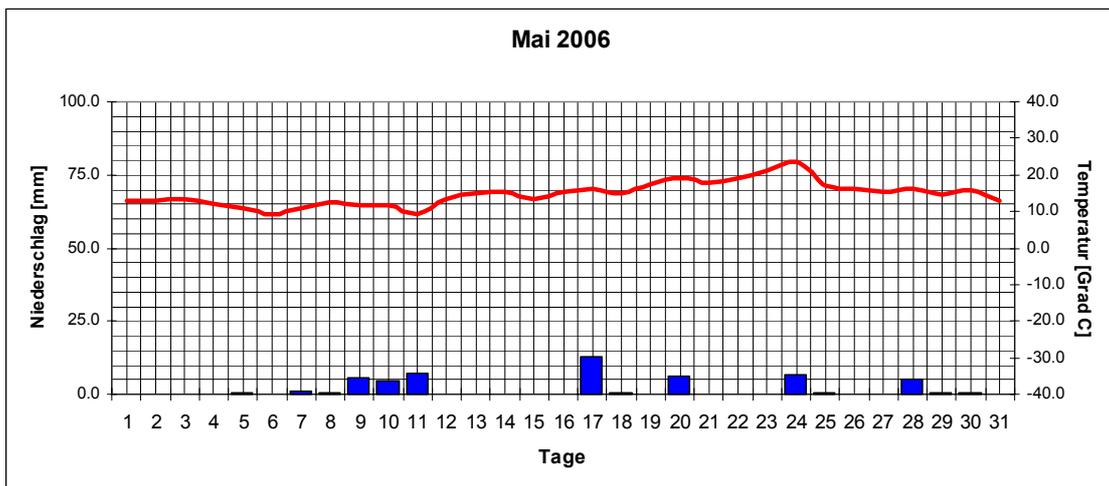
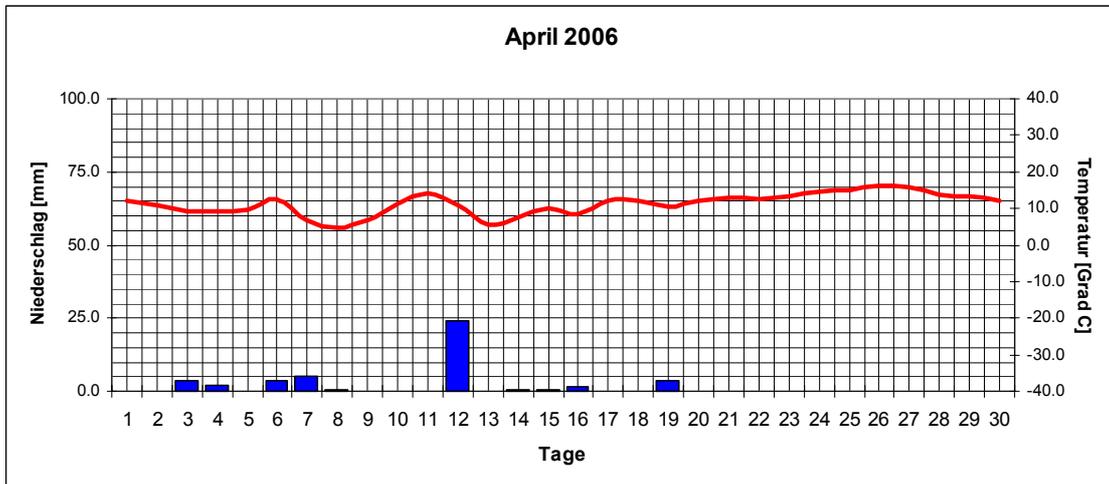
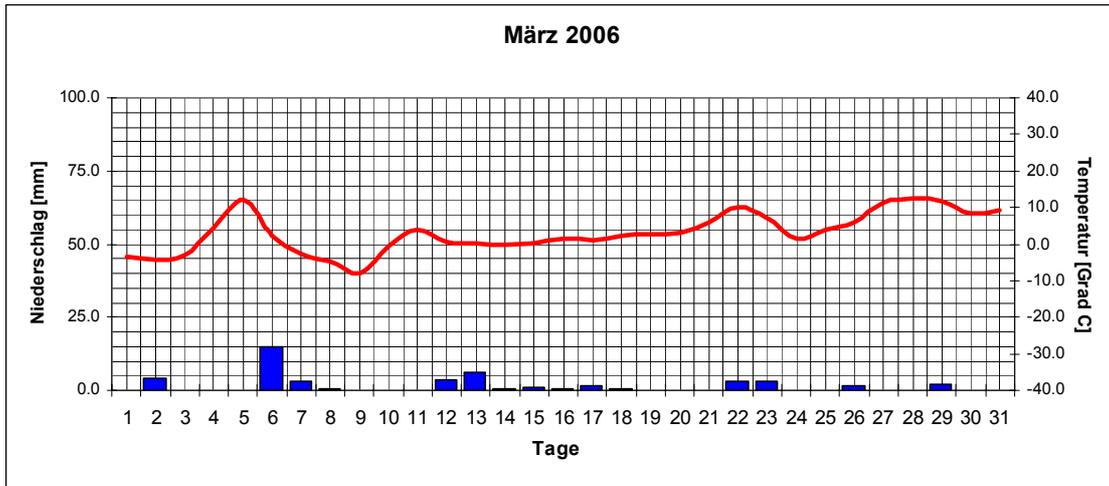


2007

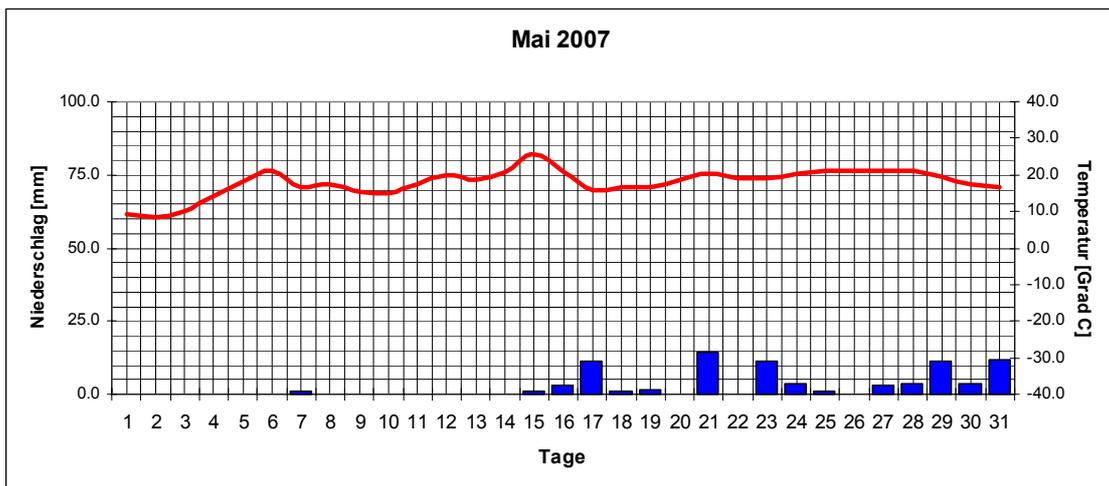
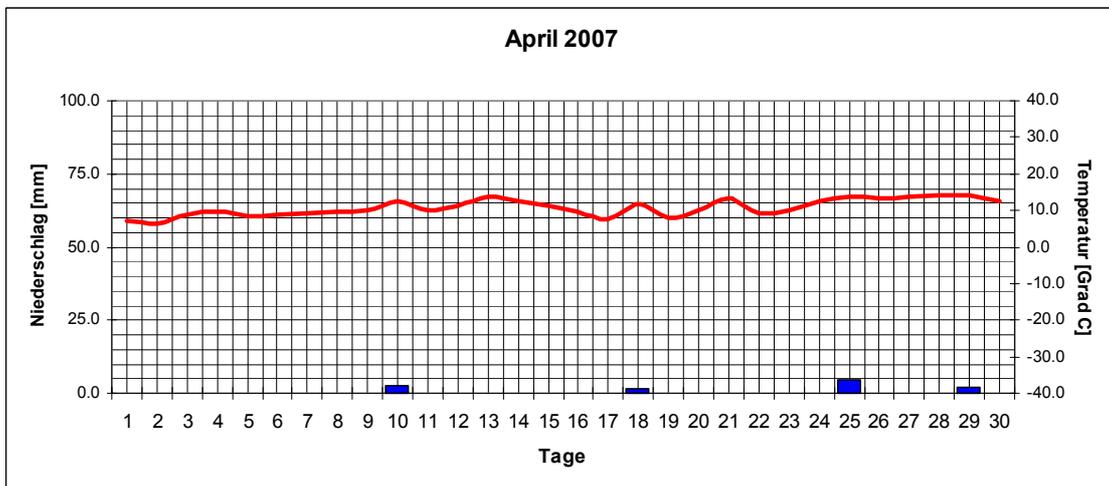
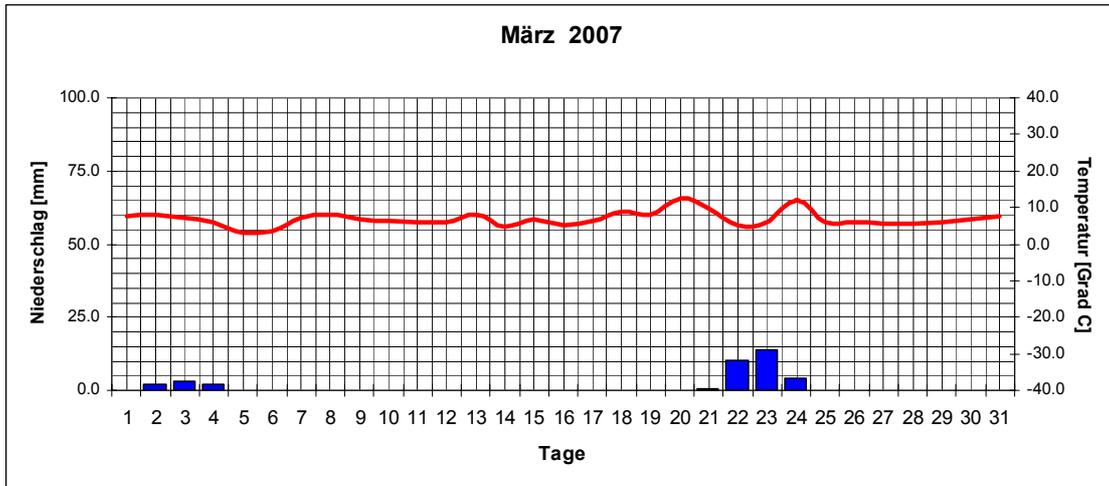
**Klimadiagramme 20-22: Jahrestemperatur und Niederschläge 2005-2007, Fundort Hügel Zakel**



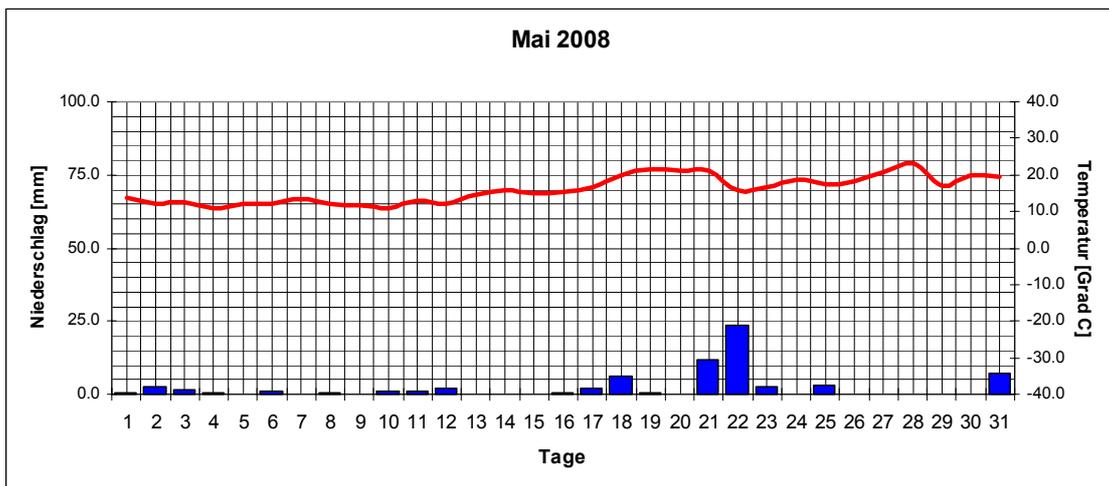
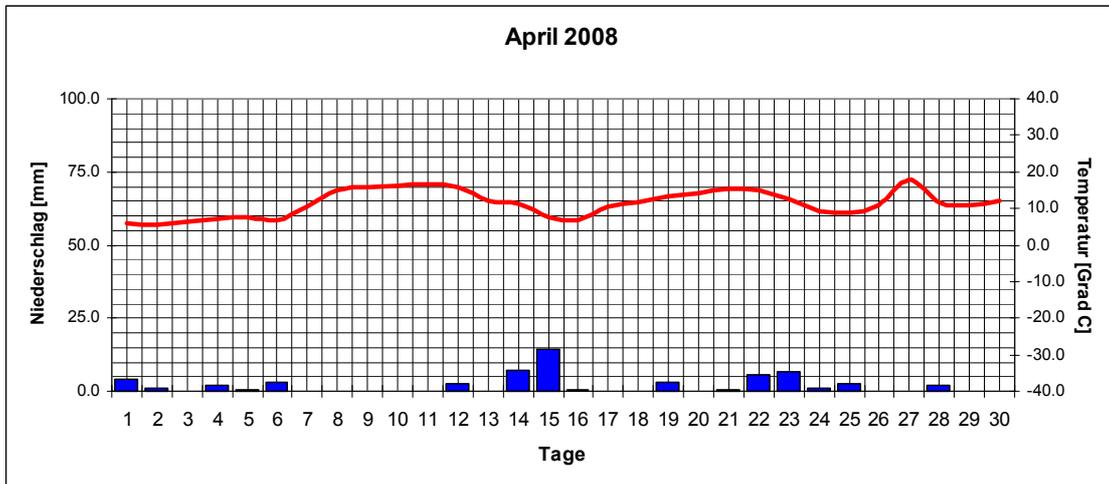
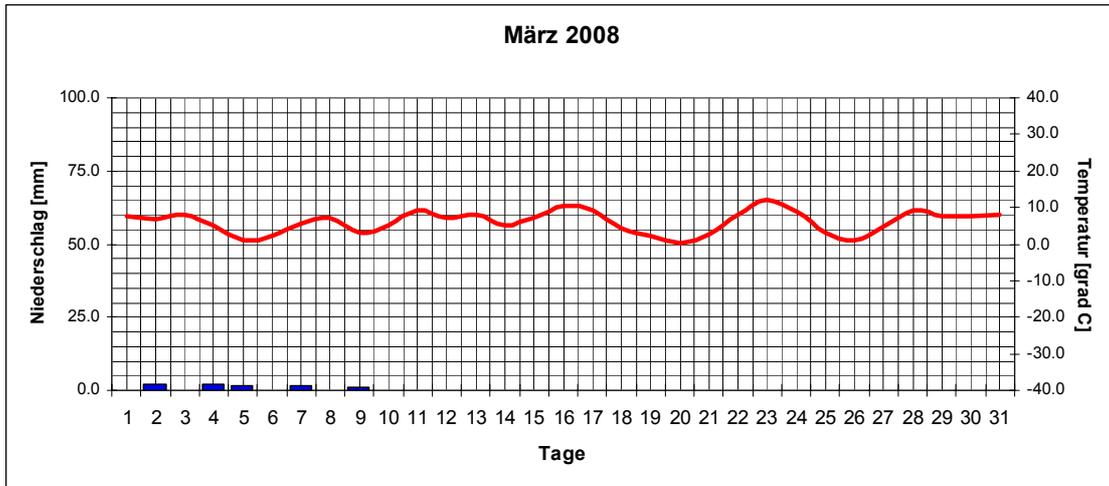
**Klimadiagramme 23-25: Temperatur und Niederschläge im Frühling 2005**



**Klimadiagramme 26-28: Temperatur und Niederschläge im Frühling 2006**



**Klimadiagramme 29-31: Temperatur und Niederschläge im Frühling 2007**



**Klimadiagramme 32-34: Temperatur und Niederschläge im Frühling 2008**

**Tab. 10 Vergleich der Monatswetterdaten mit den Klimadaten Hügel Zakel**

Monatsmittel/Monatssumme	März	April	Mai
Temperatur (°C)	0.6	9.8	16.1
Niederschlag (mm)	20.4	62.0	65.8
Mittel/Summe 1961-1990 (°C/ mm)	4.4 / 22.8	10.4 / 22.8	15.8 / 38.1
Differenz zum Mittel 1961-1990 (°C/ mm)	-3.8 / -1.6 kälter / trockener	-0.6 / 39.2 kälter / feuchter	0.3 / 27.7 wärmer / feuchter

Frühling 2005

Monatsmittel/Monatssumme	März	April	Mai
Temperatur (°C)	3.1	11.2	14.7
Niederschlag (mm)	47.3	46.1	51.8
Mittel/Summe 1961-1990 (°C/ mm)	4.4 / 22.8	10.4 / 22.8	15.8 / 38.1
Differenz zum Mittel 1961-1990 (°C/ mm)	-1.3 / 24.5 kälter / feuchter	0.8 / 23.3 wärmer / feuchter	-1.1 / 13.7 kälter / feuchter

Frühling 2006

Monatsmittel/Monatssumme	März	April	Mai
Temperatur (°C)	6.8	10.8	17.9
Niederschlag (mm)	36.7	10.9	82.8
Mittel /Summe 1961-1990 (°C/ mm)	4.4 / 22.8	10.4 / 22.8	15.8 / 38.1
Differenz zum Mittel 1961-1990 (°C/ mm)	2.2 / 13.9 wärmer / feuchter	0.4 / -11.9 wärmer / trockener	2.1 / 44.7 wärmer / feuchter

Frühling 2007

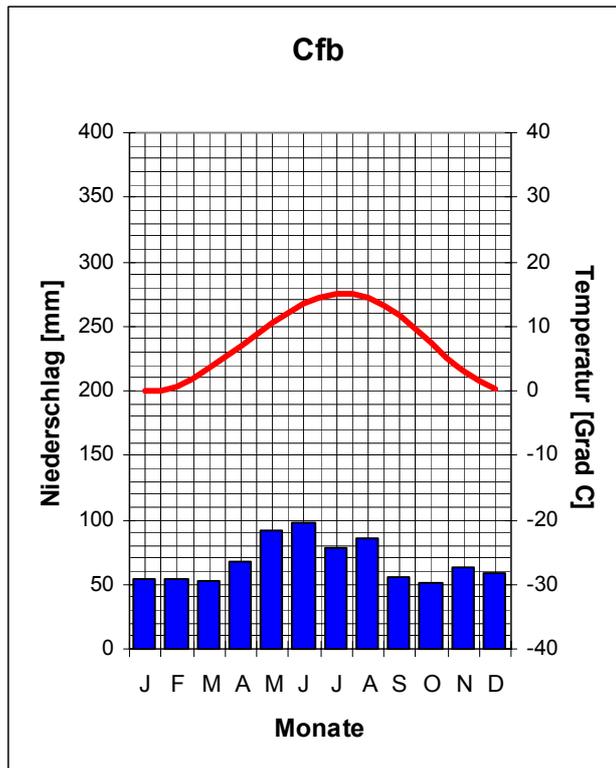
Monatsmittel/Monatssumme	März	April	Mai
Temperatur (°C)	6.0	11.6	16.0
Niederschlag (mm)	8.2	55.9	66.7
Mittel /Summe 1961-1990 (°C/ mm)	4.4 / 22.8	10.4 / 22.8	15.8 / 38.1
Differenz zum Mittel 1961-1990 (°C/ mm)	1.6 / -14.6 wärmer / trockener	1.2 / 33.1 wärmer / feuchter	0.2 / 28.6 wärmer / feuchter

Frühling 2008

Der Vergleich der klimatologischen chronologischen Werte von jedem Frühling 2005-2008 zeigt eine leichte Tendenz zur Erwärmung des Wetters und Erhöhung des Niederschlags. Die Werte der Temperatur sind insgesamt in 8 von 12 Monaten höher als normal, aber mit Werten unter 2,5°C. Gleichzeitig ist der Niederschlag in 9 von 12 registrierten Frühlingsmonaten größer als normal, aber mit Volumen unter 40 mm pro Monat.

### Fundort Botanischer Garten Tübingen

Der Botanische Garten gehört zur Klimazone Cfb: gemäßigttes Regen-  
klima mit warmen Sommern, mittlere Jahrestemperatur von 7.1 °C und  
810.2 mm Jahresniederschlag (Klimadiagramm 35, durch Translation aus  
dem Klimadiagramm 12, Wetterstation Rottenburg).

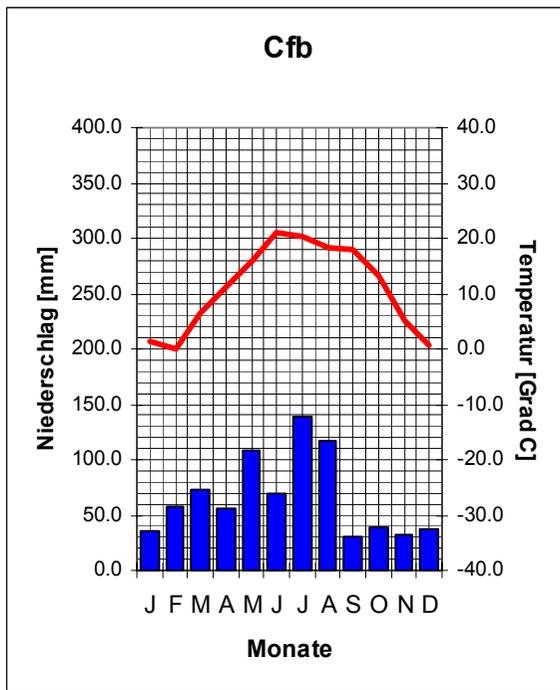


Klimadiagramm 35

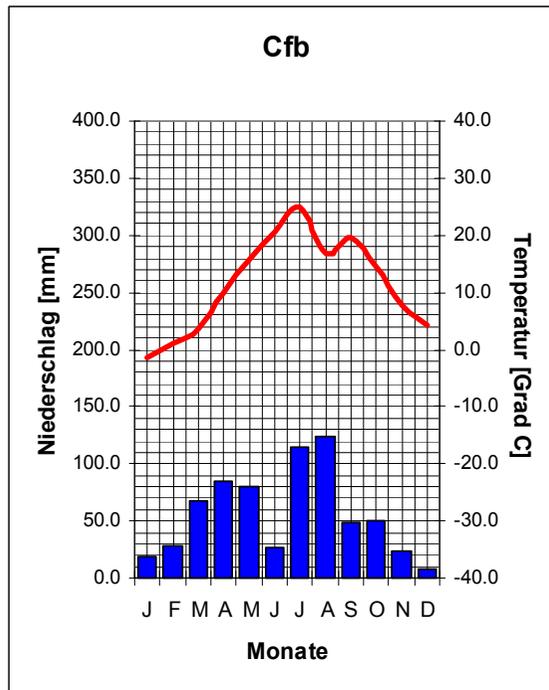
Tab. 11. Vergleich der Jahreswetterdaten (2005-2007)

Jahresmittel/Jahressumme	2005	2006	2007
Temperatur (°C)	10.9	11.4	11.9
Niederschlag (mm)	798.6	675.9	723.8
Differenz zum Mittel 1961-1990 (mm)	-11.6	-134.3	-86.4

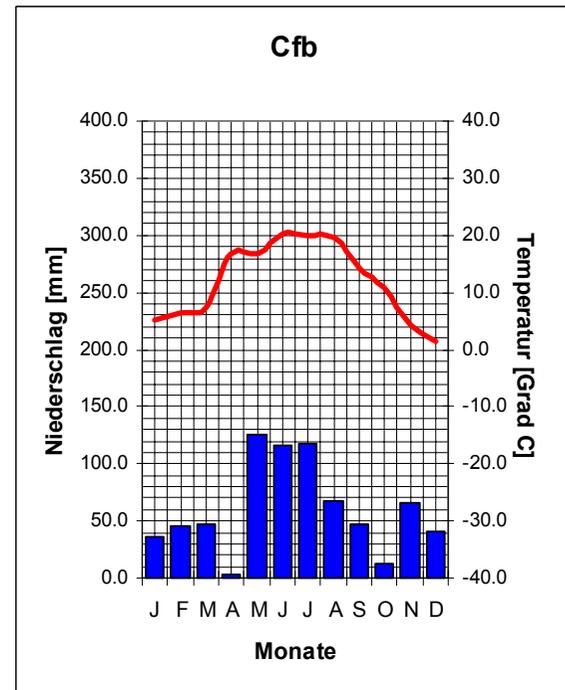
Beim Vergleich der mittleren Jahrestemperaturen und der Niederschläg  
in der Zeit 2005-2007 stellt man eine leichte Tendenz zur Erwärmung und  
gleichzeitig Verringerung der Niederschläge fest. 2007 war der geringste  
Niederschlag im April, was ungünstig für die Keimung der *Orobanche*-  
Samen ist. Der Niederschlag in dieser Zeit war um 11.6-134.3 mm geringer  
als im langjährigen Mittel.



2005

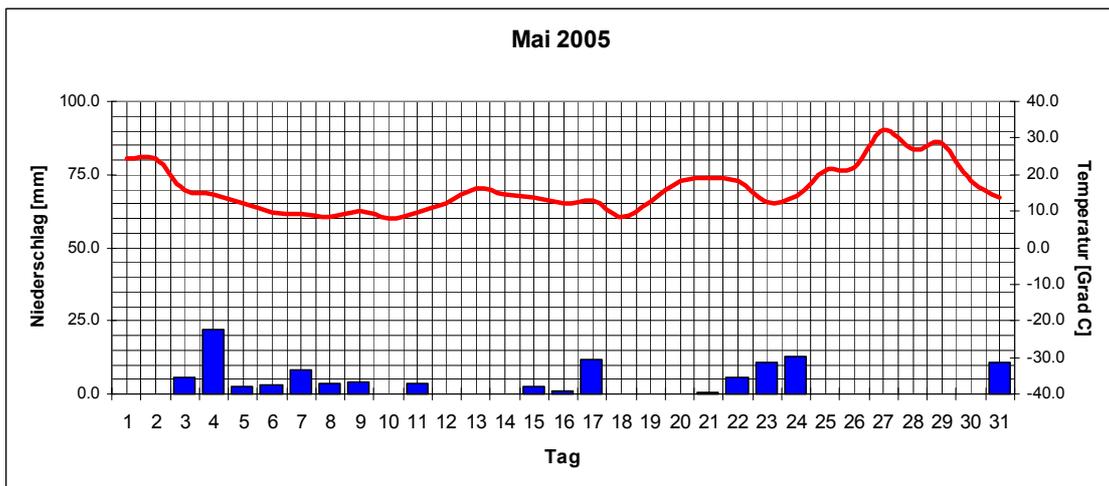
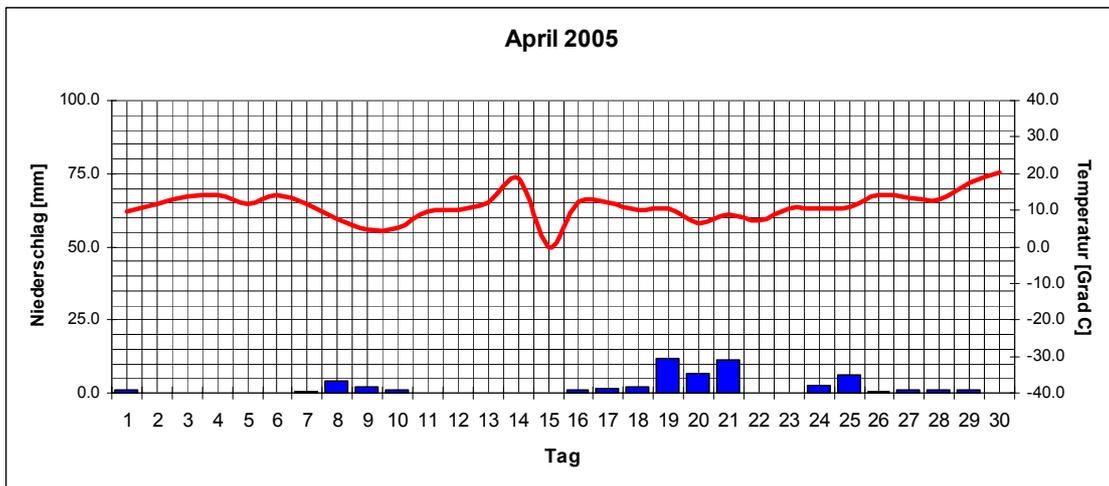
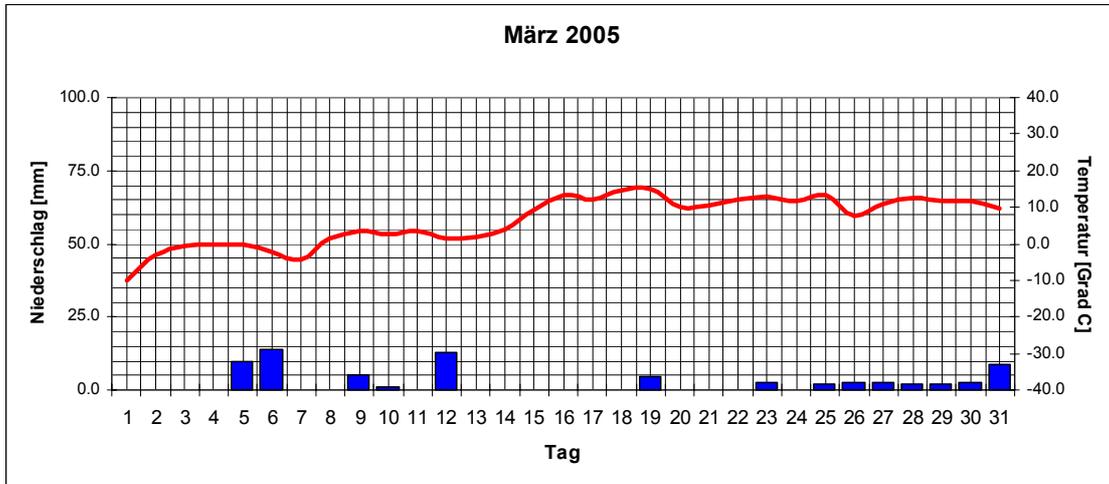


2006

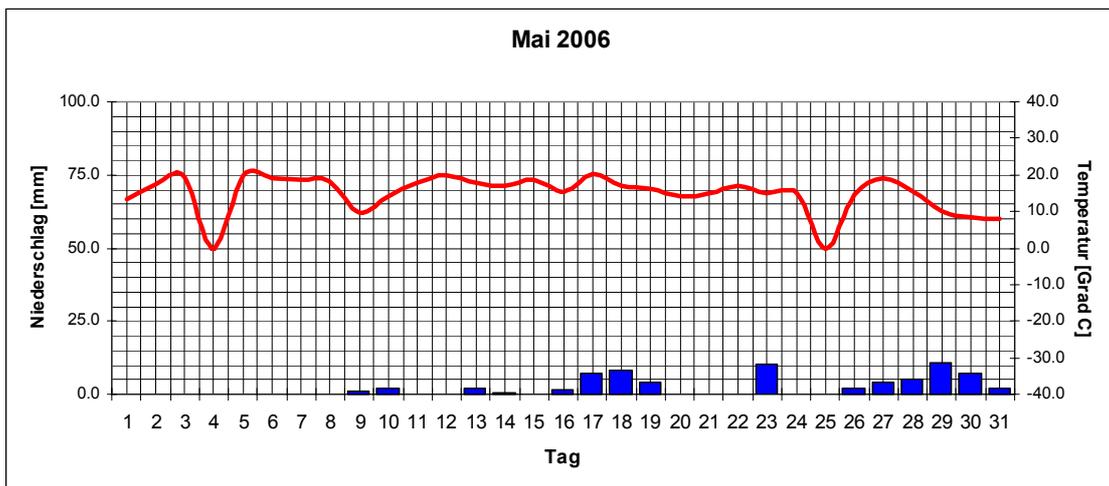
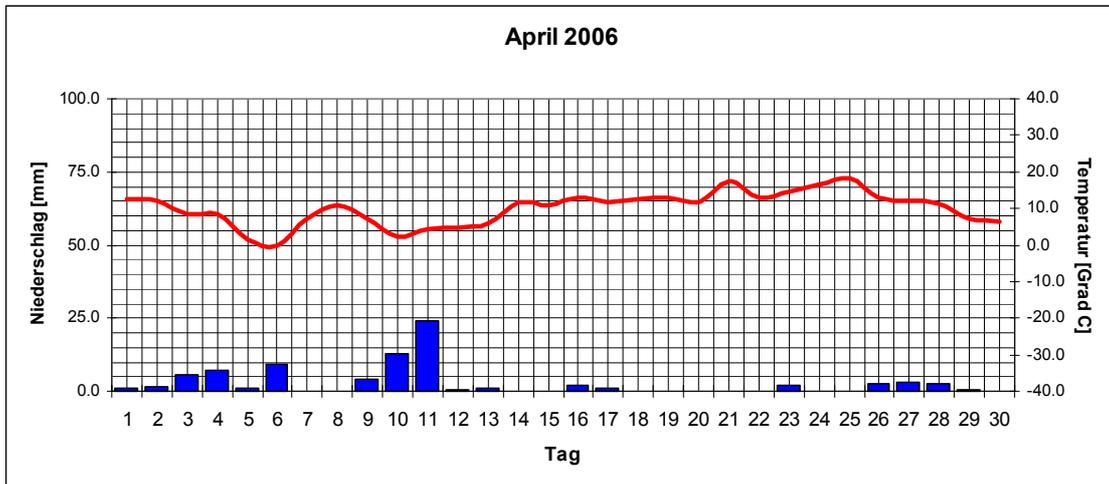
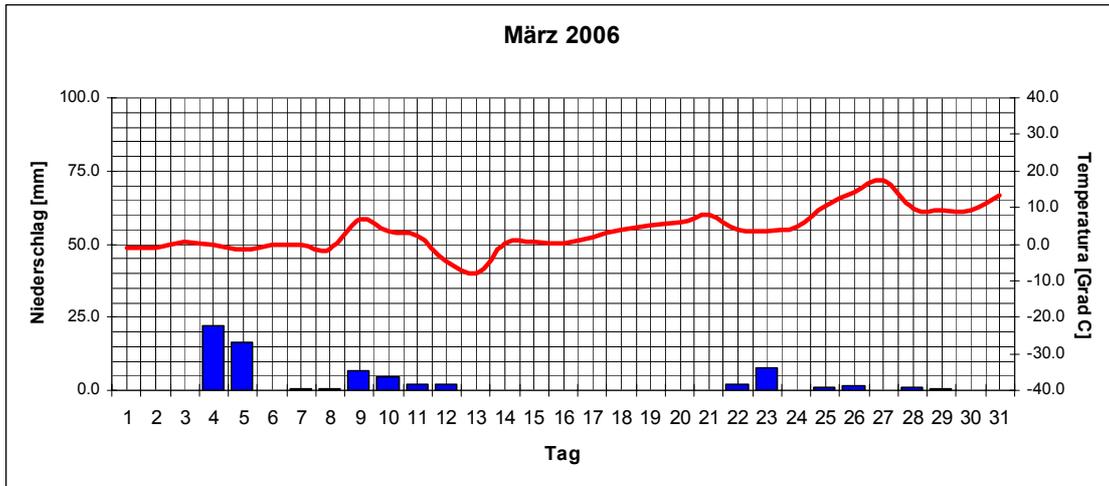


2007

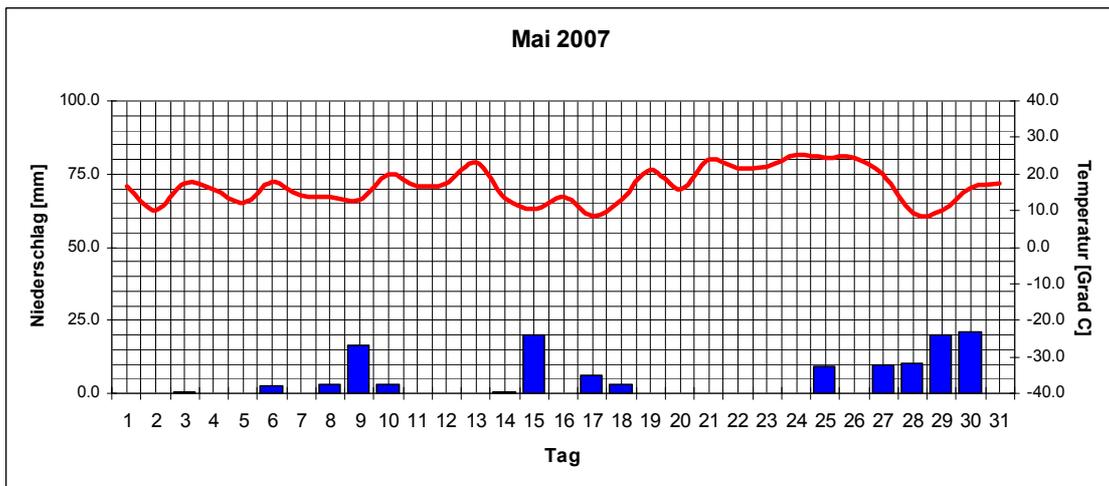
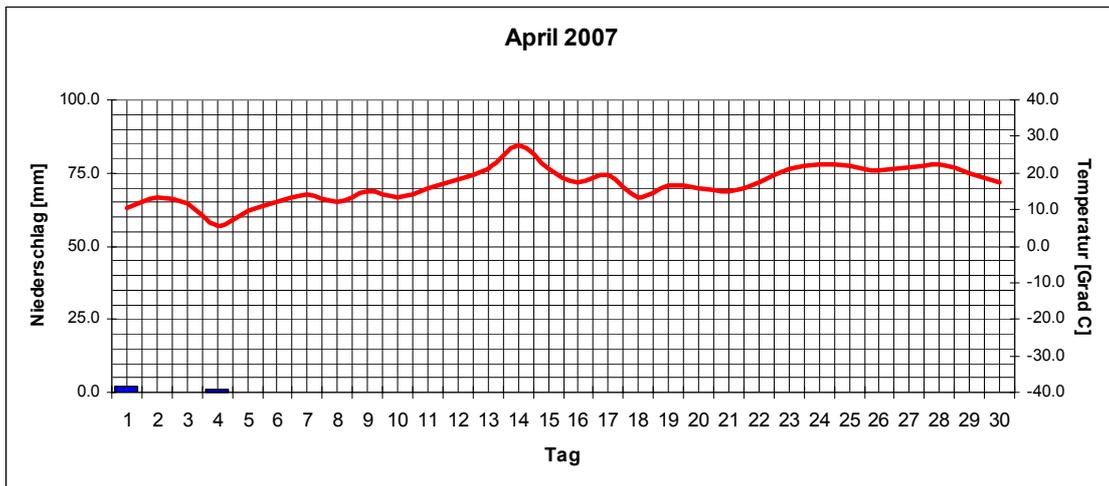
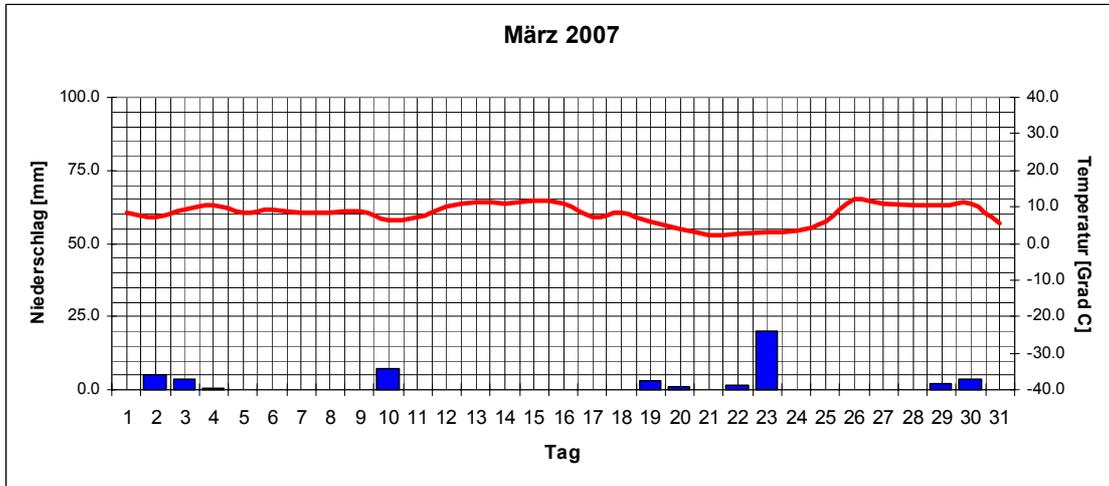
**Klimadiagramme 36-38: Jahrestemperatur und Niederschläge 2005-2007. Botanischer Garten Tübingen.**



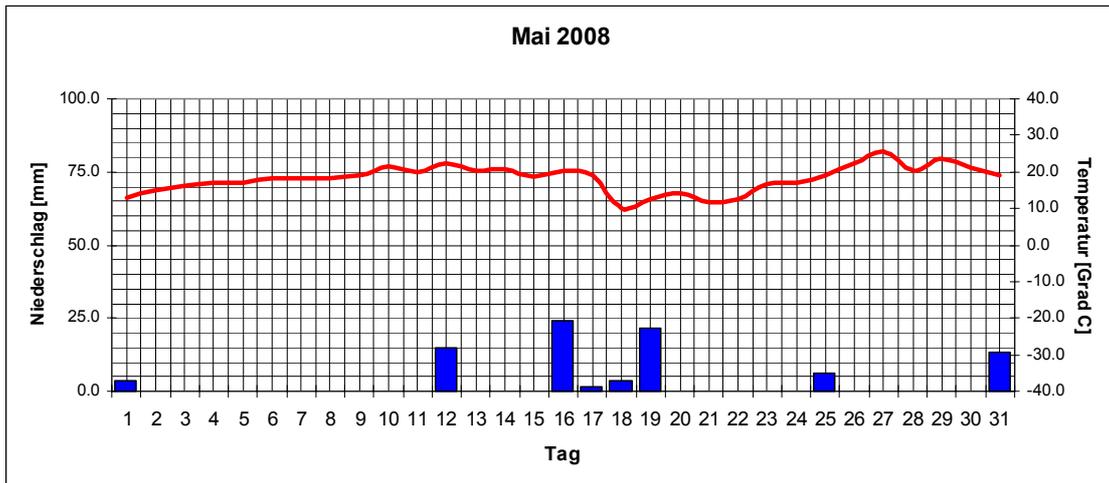
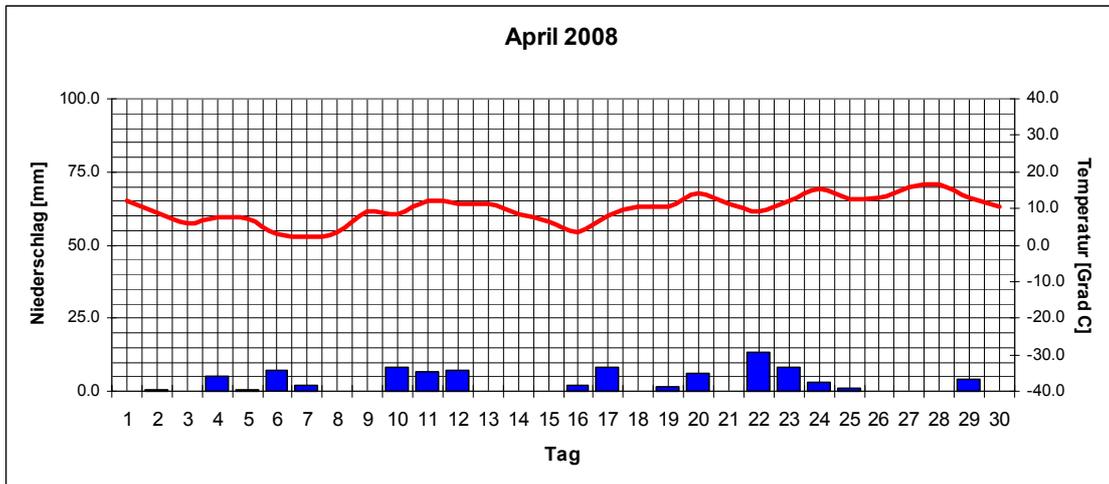
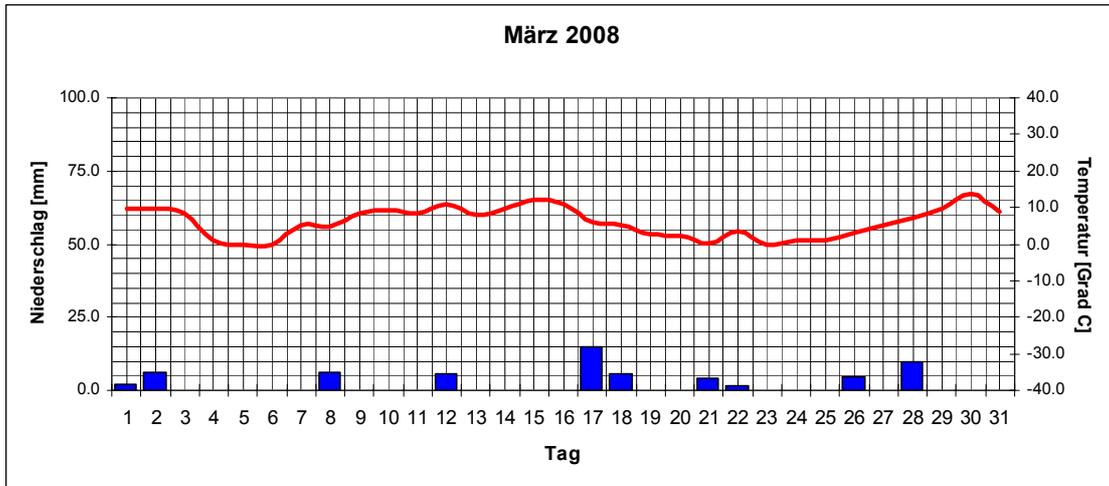
**Klimadiagramme 39-41: Temperatur und Niederschläge im Frühling 2005**



**Klimadiagramme 42-44: Temperatur und Niederschläge im Frühling 2006**



**Klimadiagramme 45-47: Temperatur und Niederschläge im Frühling 2007**



**Klimadiagramme 48-50: Temperatur und Niederschläge im Frühling 2008**

**Tab. 12: Vergleich der Monatswetterdaten mit den Klimadaten Tübingen**

Monatsmittel/Monatssumme	März	April	Mai
Temperatur (°C)	6.3	11.3	15.1
Niederschlag (mm)	73.5	55.8	109.4
Mittel 1961-1990 (mm)	53	67.2	92
Differenz zur Summe 1961-1990 (mm)	20.5 feuchter	-11.4 trockener	17.4 feuchter

Frühling 2005

Monatsmittel/Monatssumme	März	April	Mai
Temperatur (°C)	3.7	9.9	14.9
Niederschlag (mm)	68.4	81.8	67.7
Mittel 1961-1990 (mm)	53	67.2	92
Differenz zur Summe 1961-1990 (mm)	15.4 feuchter	14.6 feuchter	-24.3 trockener

Frühling 2006

Monatsmittel/Monatssumme	März	April	Mai
Temperatur (°C)	7.2	16.8	16.7
Niederschlag (mm)	38.6	3.1	125.7
Mittel 1961-1990 (mm)	53	67.2	92
Differenz zur Summe 1961-1990 (mm)	-14.4 trockener	-64.4 trockener	33.7 feuchter

Frühling 2007

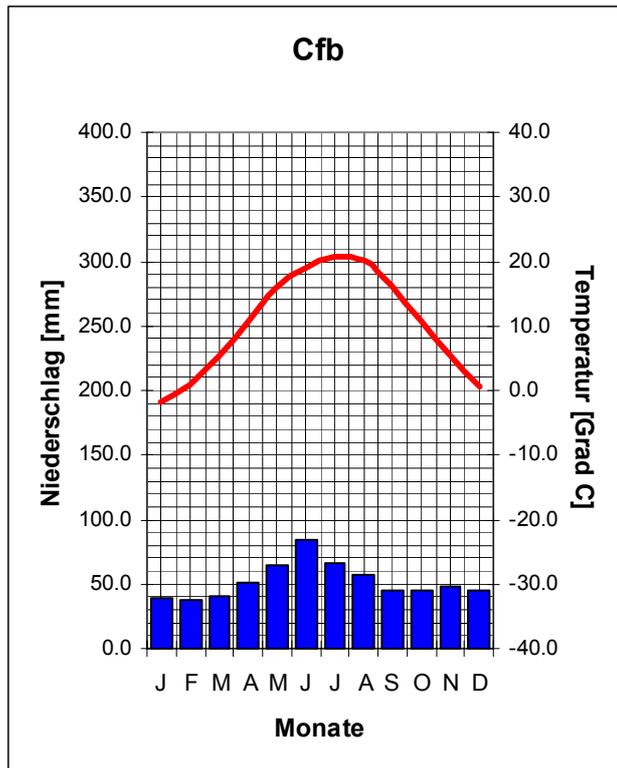
Monatsmittel/Monatssumme	März	April	Mai
Temperatur (°C)	5.9	9.8	18.0
Niederschlag (mm)	61.2	84.5	88.6
Mittel 1961-1990 (mm)	53	67.2	92
Differenz zur Summe 1961-1990 (mm)	8.2 feuchter	17.3 feuchter	-3.4 trockener

Frühling 2008

Der Vergleich der Monatswetterdaten und Tageswerte Tübingen von jedem Frühling in der Periode 2005-2008 zeigt, dass die leichte Tendenz zur Klimaerwärmung und Erhöhung des Niederschlags einschließlich 2008 bleibt. In 7 von 12 Monaten ist es feuchter als normal. Im Mai ist es jedes Jahr etwas wärmer geworden, von 15.1°C in 2005 auf 18.0 °C in 2008 gestiegen.

## Fundort Covăsiuț

Klimazone Cfbx (Klimadiagramm 51): gemäßigtes Regenklima mit kaltem Winter, aber warmem Sommer, mit mittlerer Jahrestemperatur von 10.7 °C und Jahresniederschlag 624.9 mm, die Regen fallen vor allem am Anfang des Sommers.

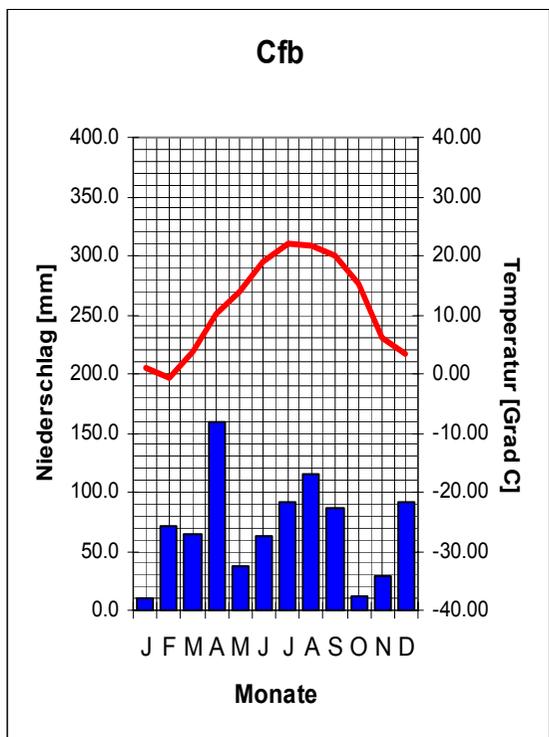


Klimadiagramm 51

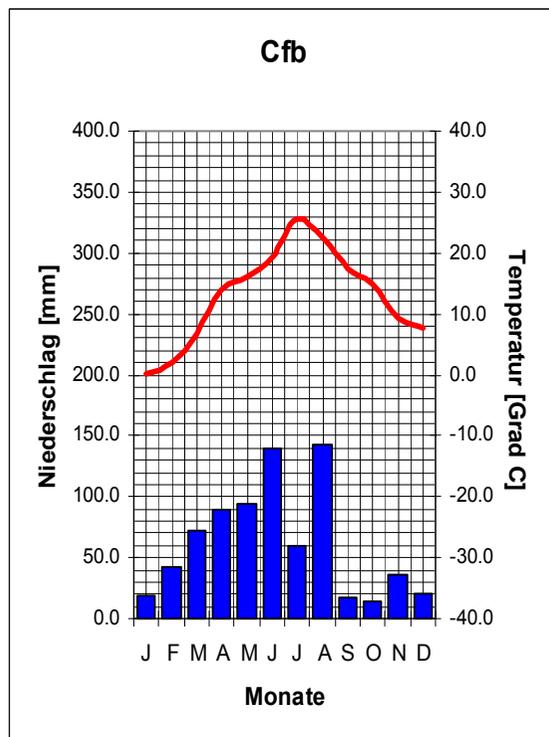
**Tab. 13. Vergleich der Jahreswetterdaten mit den Klimadaten (2005-2007)**

<b>Jahresmittel/Jahressumme</b>	<b>2005</b>	<b>2006</b>	<b>2007</b>
<b>Temperatur (°C)</b>	<b>11.3</b>	<b>12.9</b>	<b>12.9</b>
<b>Niederschlag (mm)</b>	<b>832.0</b>	<b>746.4</b>	<b>656.8</b>
<b>Differenz zum Mittel 1961-1990 (°C/ mm)</b>	<b>0.6 / 208.0</b>	<b>2.2 / 122.4</b>	<b>2.4 / 32.8</b>

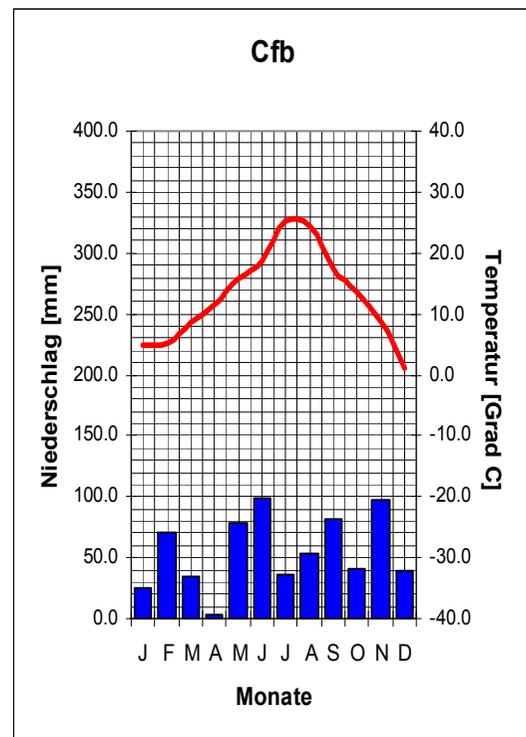
Mittlere Temperaturen (besonders im Sommer) und Niederschläge in der Periode 2005-2007 lagen in jedem Jahr über dem langjährigen Durchschnitt (1961-1990). Die Niederschläge waren ungleichmäßig verteilt, im Vergleich mit den Durchschnittswerten, die gleichmäßig im Lauf des Jahres verteilt sind.



2005

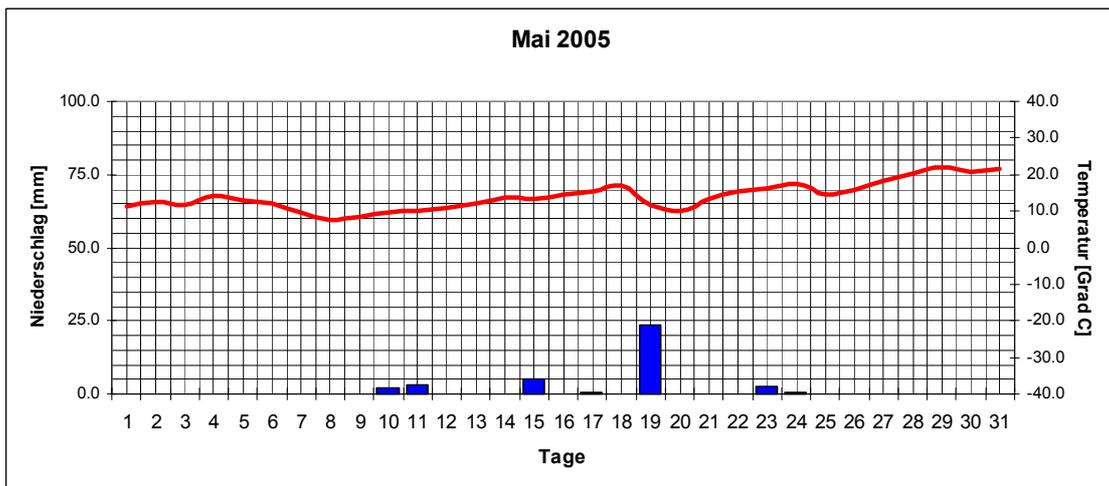
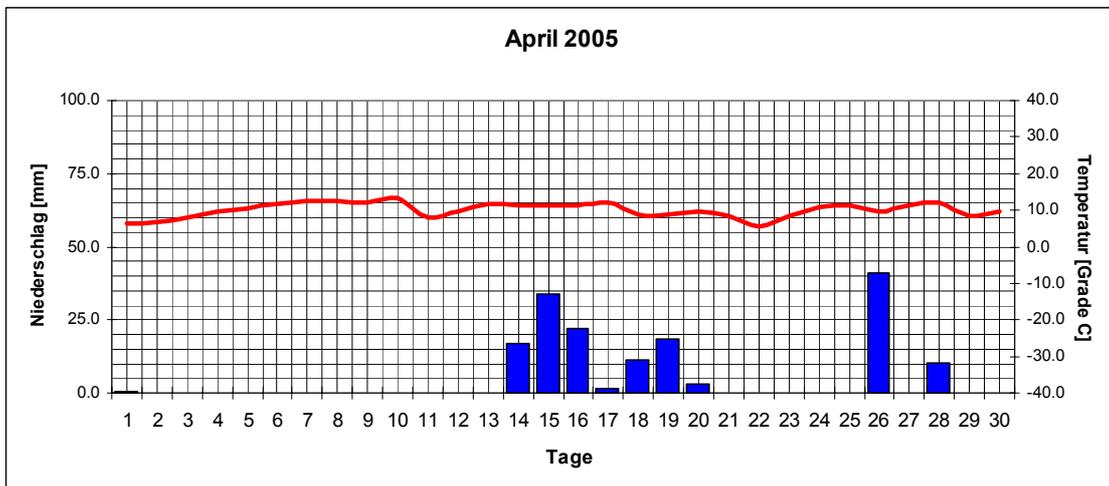
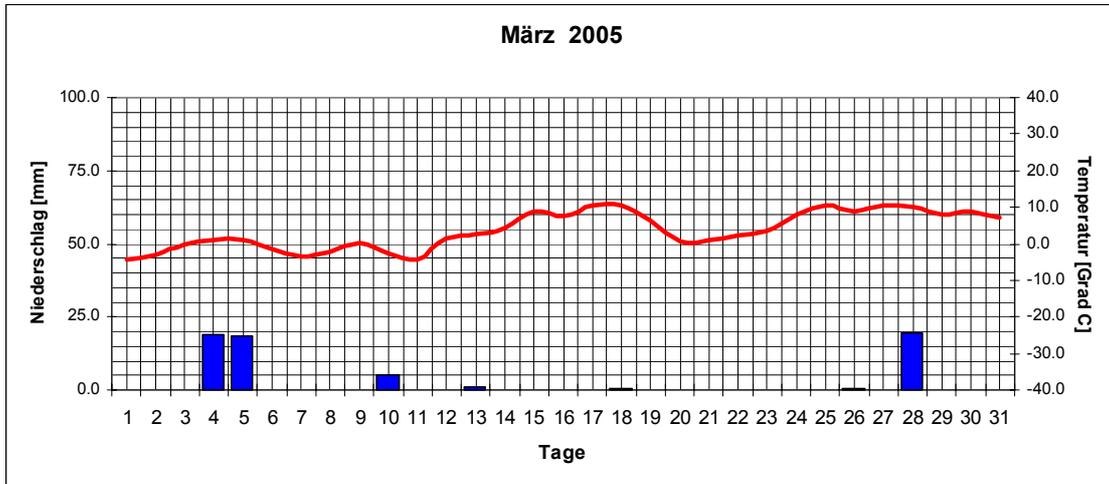


2006

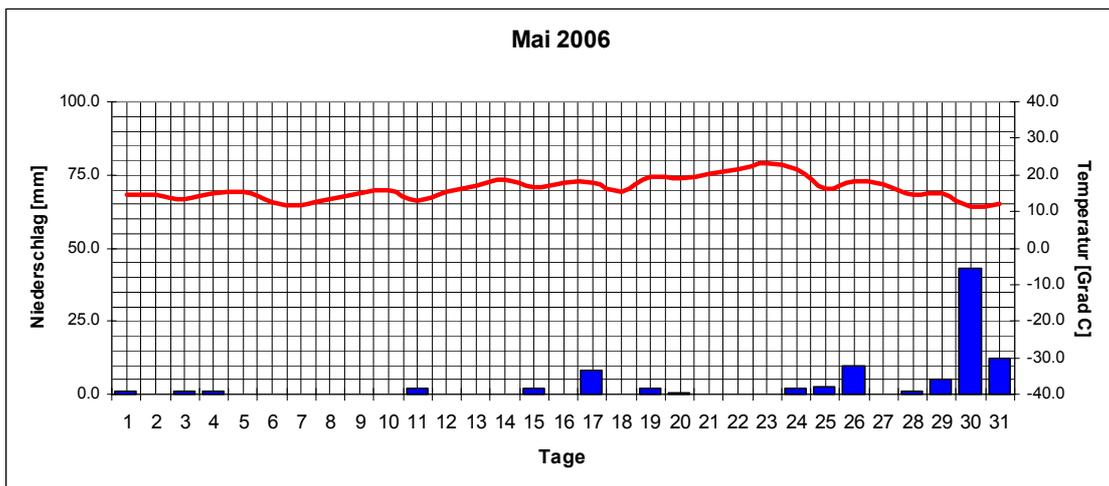
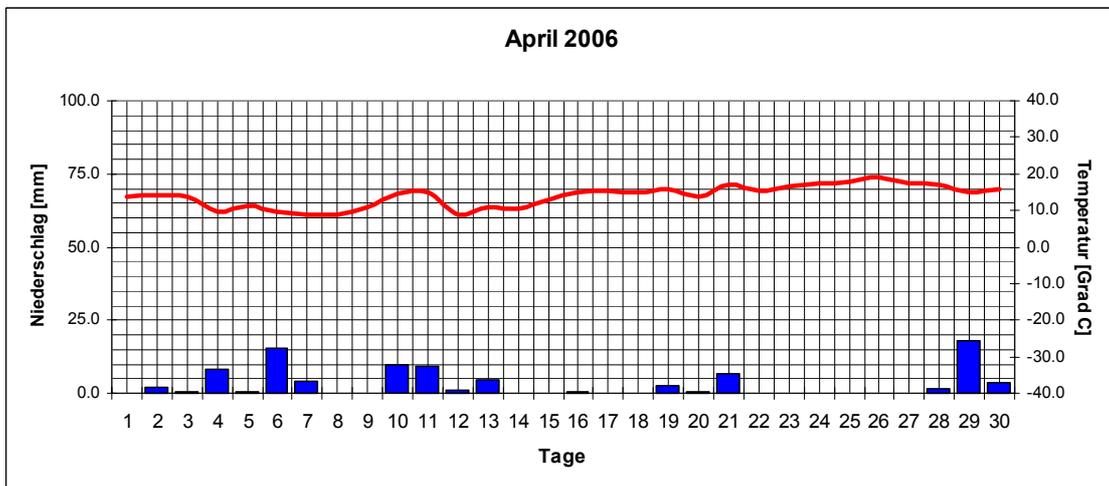
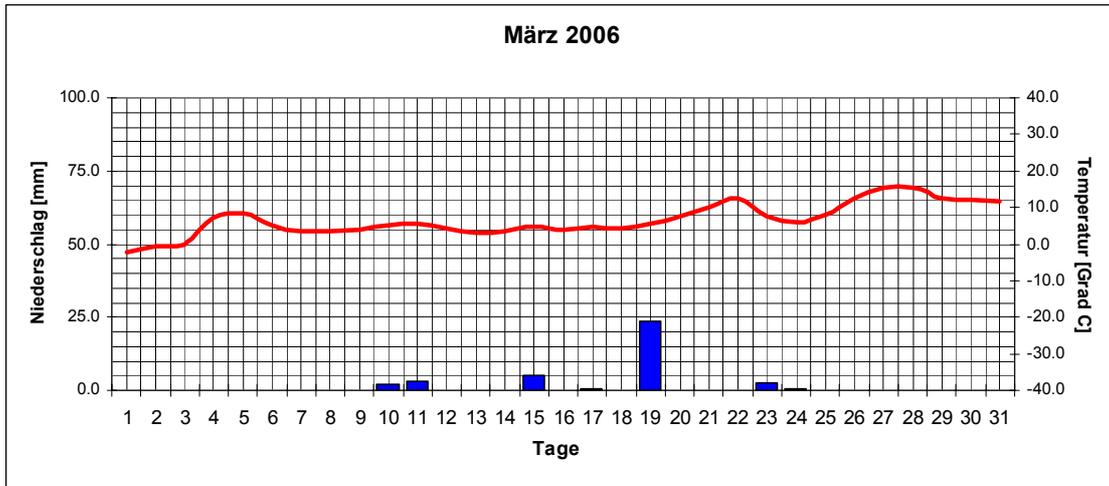


2007

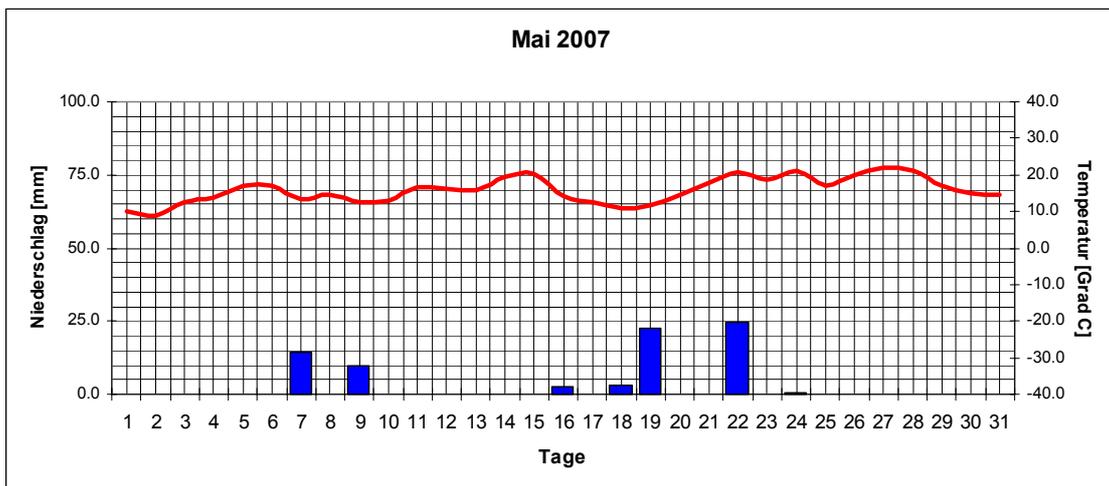
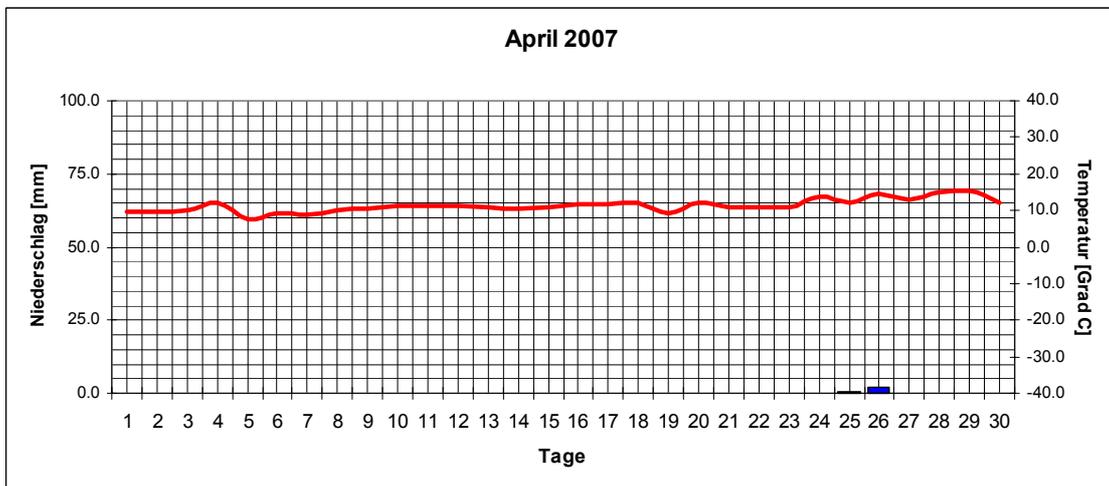
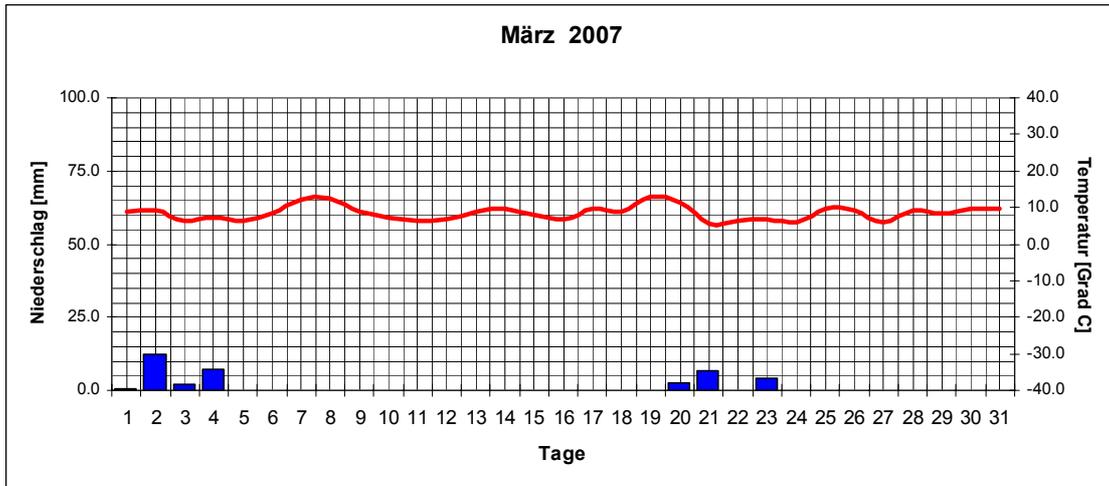
**Klimadiagramme 52-54 Jahrestemperatur und Niederschläge 2005-2007 Coväsint**



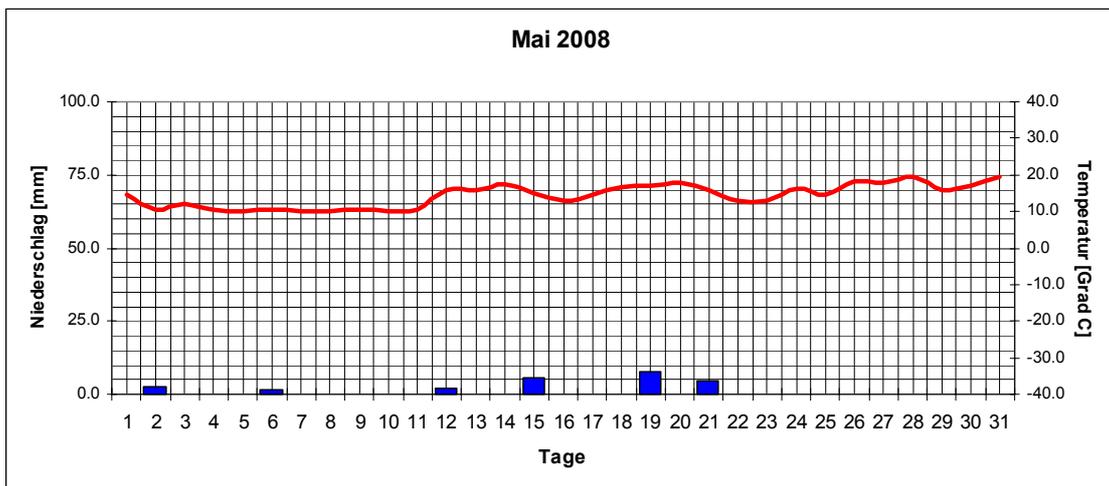
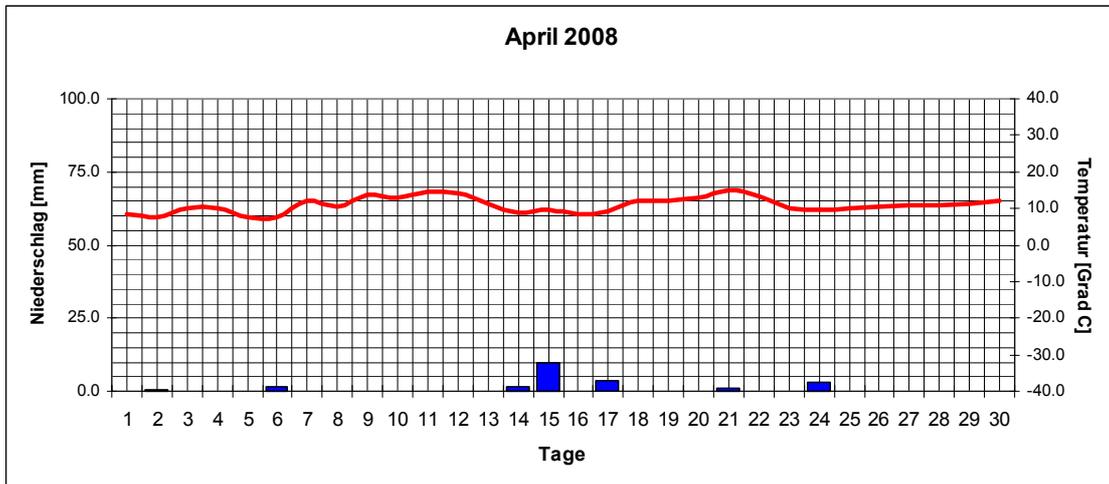
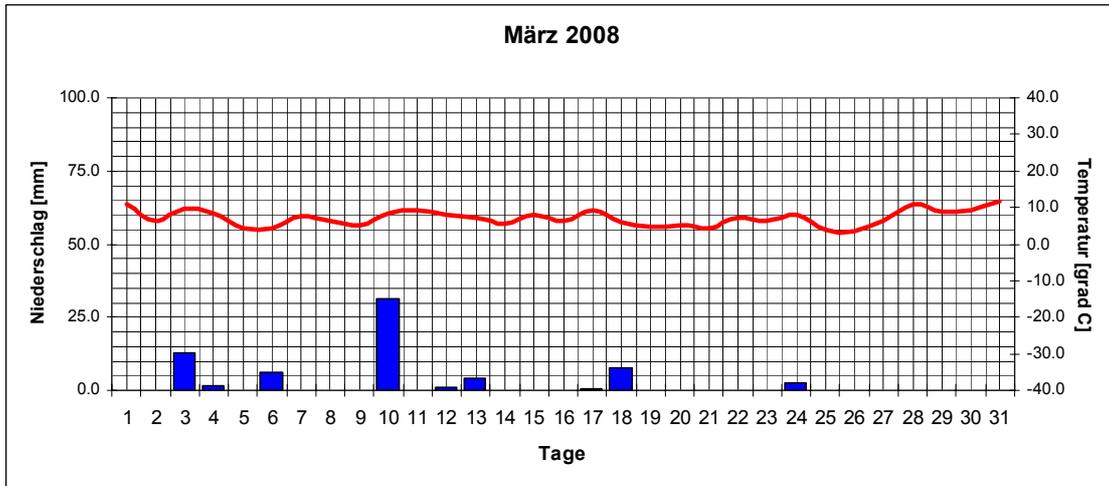
**Klimadiagramme 55-57: Temperatur und Niederschläge im Frühling 2005**



**Klimadiagramme 58-60: Temperatur und Niederschläge im Frühling 2006**



**Klimadiagramme 61-63: Temperatur und Niederschläge im Frühling 2007**



**Klimadiagramme 64-66: Temperatur und Niederschläge im Frühling 2008**

**Tab.14: Vergleich der Monatswetterdaten mit den Klimadaten für Coväsiñt**

Monatsmittel/Monatssumme	März	April	Mai
Temperatur (°C)	3.6	10.1	14.0
Niederschlag (mm)	64.0	159.3	37.7
Mittel /Summe 1961-1990 (°C/ mm)	5.7 / 40.2	10.9 / 51.6	16.0 / 65.4
Differenz zum Mittel 1961-1990 (°C/ mm)	-2.1 / 23.8 kälter / feuchter	-0.8 / 107.7 kälter / feuchter	-2.0 / -27.7 kälter / trockener

Frühling 2005

Monatsmittel/Monatssumme	März	April	Mai
Temperatur (°C)	6.6	13.9	16.2
Niederschlag (mm)	72.3	89.2	94.1
Mittel /Summe 1961-1990 (°C/ mm)	5.7 / 40.2	10.9 / 37.6	16.0 / 65.4
Differenz zum Mittel 1961-1990 (°C/ mm)	0.9 / 32.1 wärmer / feuchter	3.0 / 51.6 wärmer / feuchter	0.2 / 28.7 wärmer / feuchter

Frühling 2006

Monatsmittel/Monatssumme	März	April	Mai
Temperatur (°C)	8.6	11.3	15.8
Niederschlag (mm)	35.0	2.9	77.7
Mittel /Summe 1961-1990 (°C/ mm)	5.7 / 40.2	10.9 / 51.6	16.0 / 65.4
Differenz zum Mittel 1961-1990 (°C/ mm)	2.9 / -5.2 wärmer / trockener	0.4 / -48.7 wärmer / trockener	-0.2 / 12.3 kälter / trockener

Frühling 2007

Monatsmittel/Monatssumme	März	April	Mai
Temperatur (°C)	7.2	10.9	14.3
Niederschlag (mm)	67.1	21.5	24.7
Mittel /Summe 1961-1990 (°C/ mm)	5.7 / 40.2	10.9 / 51.6	16.0 / 65.4
Differenz zum Mittel 1961-1990(°C/mm)	1.5 / 26.9 wärmer / trockener	0.0 / -30.1 gleich / trockener	-1.7 / -40.7 kälter / trockener

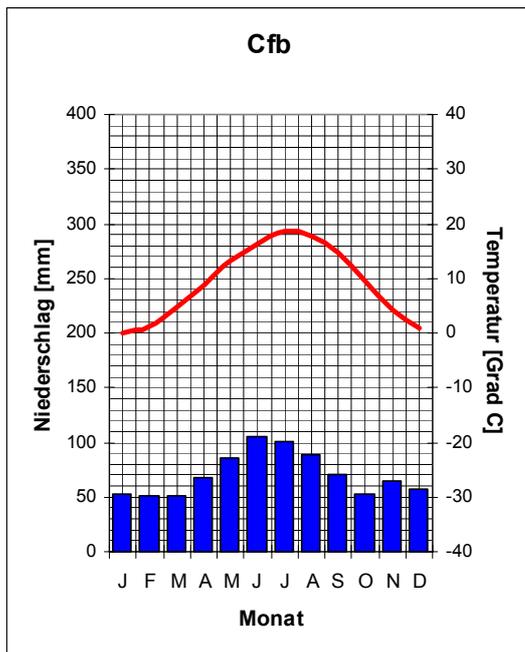
Frühling 2008

Der Vergleich der klimatologischen chronologischen Werte von jedem Frühling 2005-2008 zeigt, dass die meisten Frühlingsmonate 2005-2006 feuchter waren als normal, während alle Frühlingsmonate 2007-2008 trockener waren als normal. In der Periode 2005-2007 war die Zahl der wärmeren Frühlingsmonate (sechs) und die Zahl der kälteren Monate gleich. Die allgemeine Tendenz der Klimaerwärmung in der Periode 2005-2007

wird also nicht vom Frühling bestimmt, sondern von den anderen Jahreszeiten, besonders vom Sommer.

### Fundort Konstanz

Konstanz gehört zur Klimaregion Cfb, mesothermes regnerisches Klima mit mäßig kaltem Winter und warmem Sommer, mittlere Jahrestemperatur 9.2 °C und 847 mm Jahresniederschlag (Klimadiagramm 67).

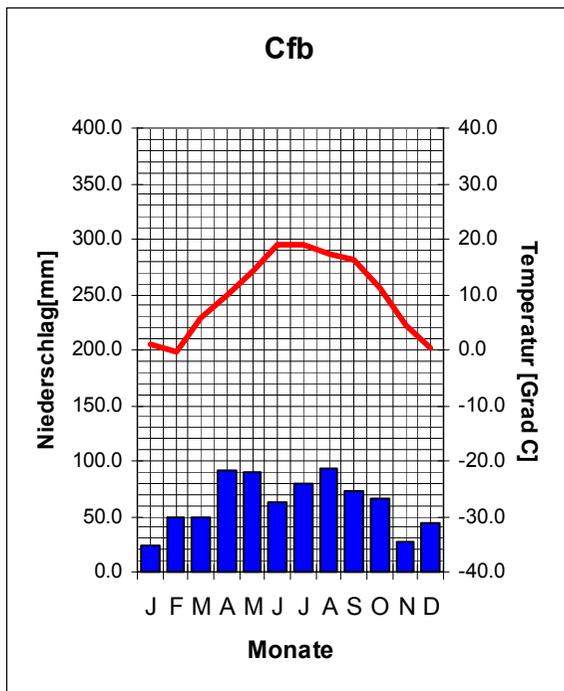


Klimadiagramm 67: Konstanz

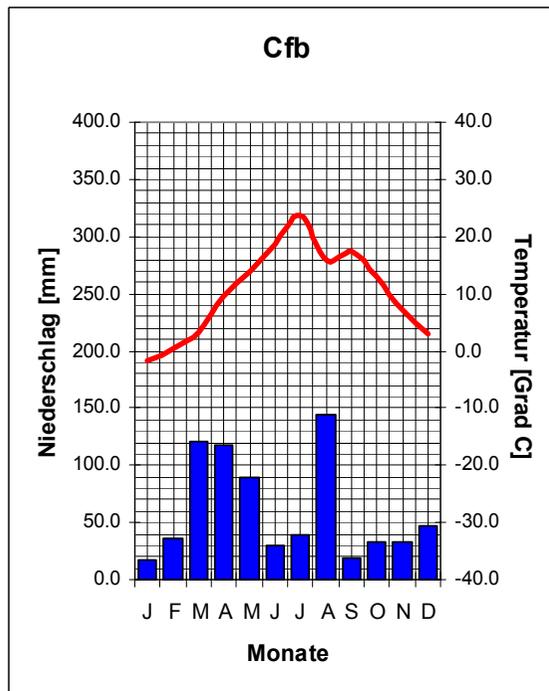
Tab. 15: Vergleich der Jahreswetterdaten mit den Klimadaten (2005-2007)

Jahresmittel/Jahressumme	2005	2006	2007
Temperatur (°C)	9.8	9.7	11.4
Niederschlag (mm)	748.2	749.4	916.1
Differenz zum Mittel 1961-1990 (°C/ mm)	0.6 / -98.8	0.1 / -97.6	2.2 / 69.1

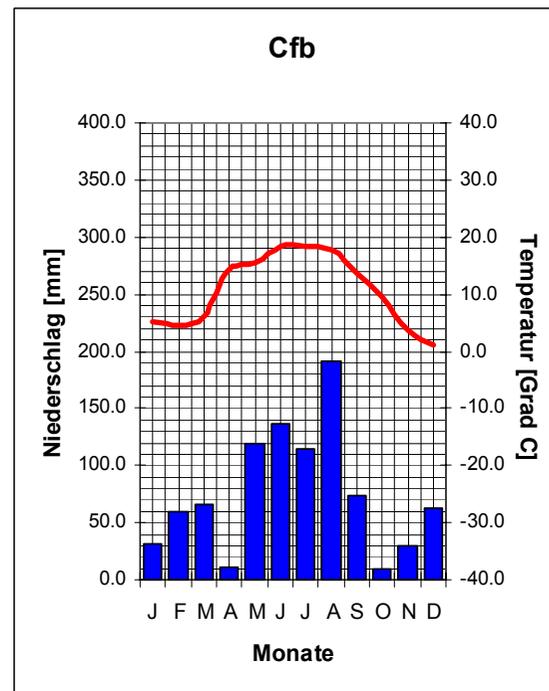
Beim Vergleich der Temperaturen und Niederschläge von 2005-2007 mit den langjährigen Durchschnittswerten (1961-1990) stellt fest: eine leichte Tendenz zur Erwärmung und gleichzeitige Verringerung der Niederschläge mit Ausnahme 2007, als der Niederschlag mit 69,1 mm höher war. Im Jahr 2007 fiel der geringste Niederschlag im April, was ungünstig für die Keimung der *Orobanche*-Samen sein kann.



2005

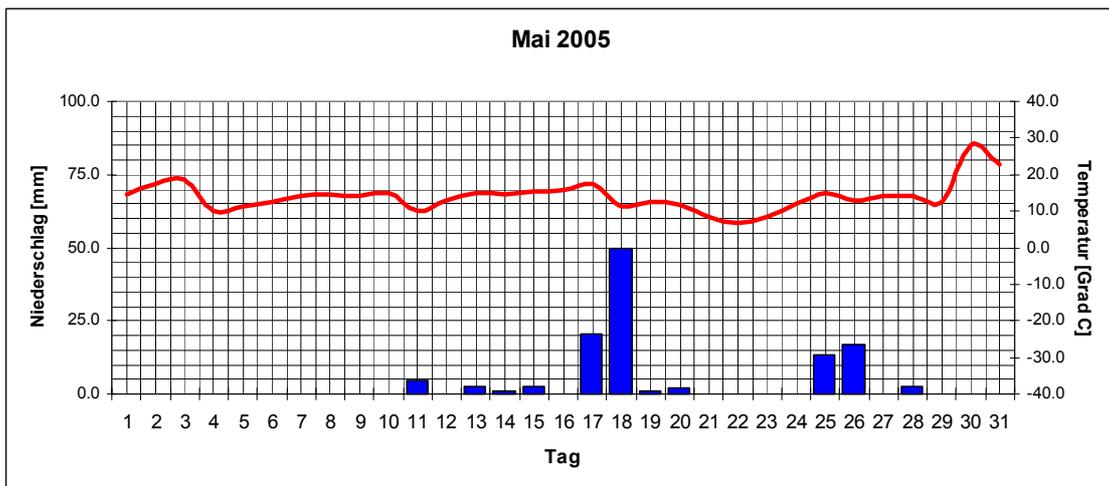
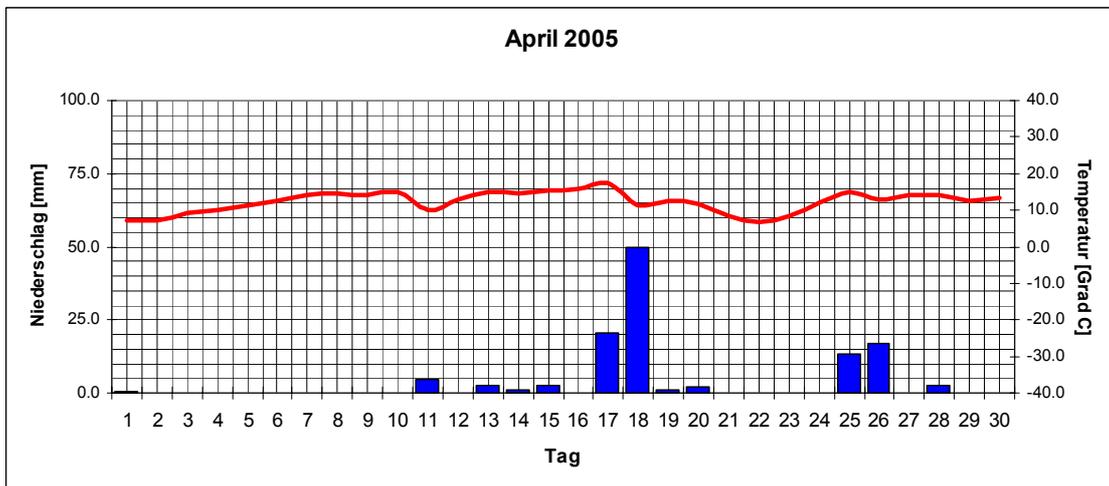
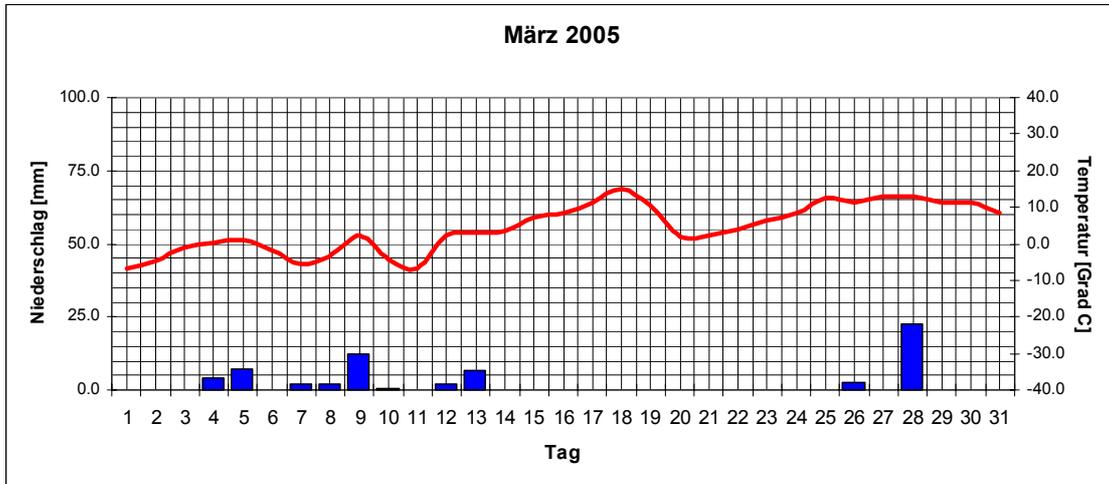


2006

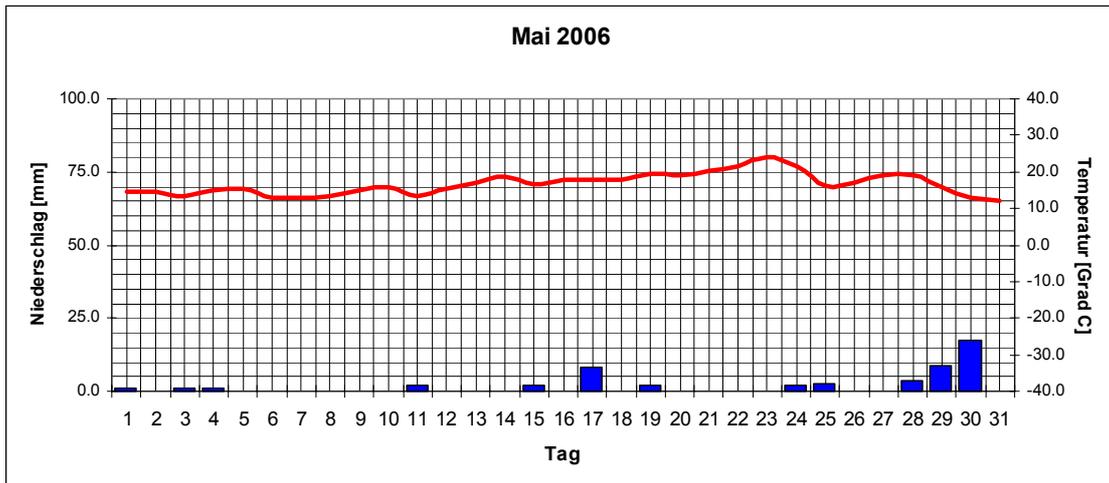
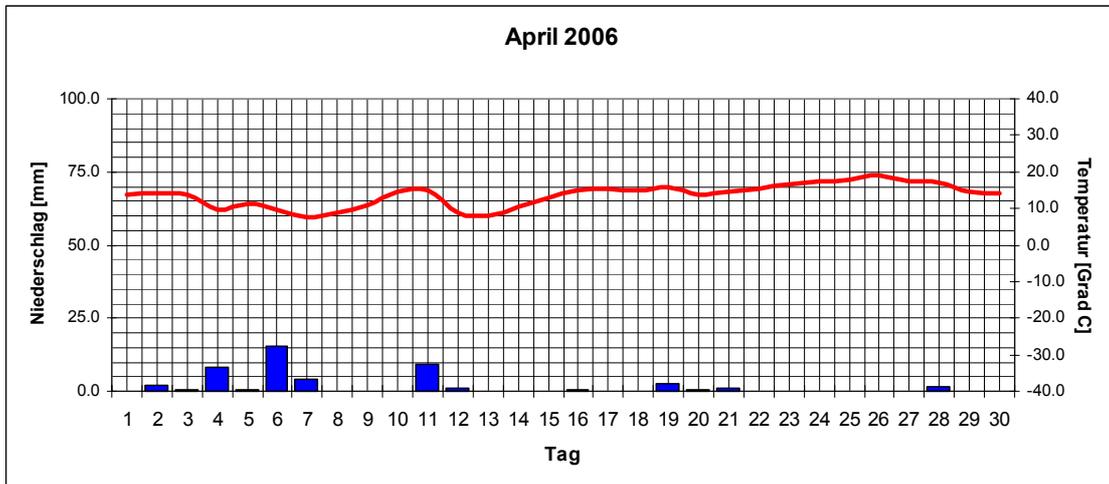
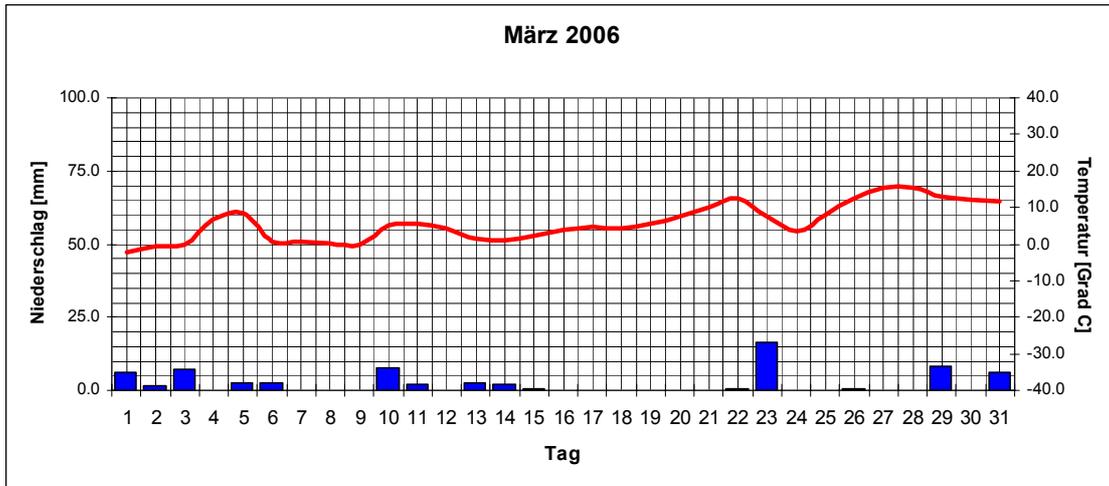


2007

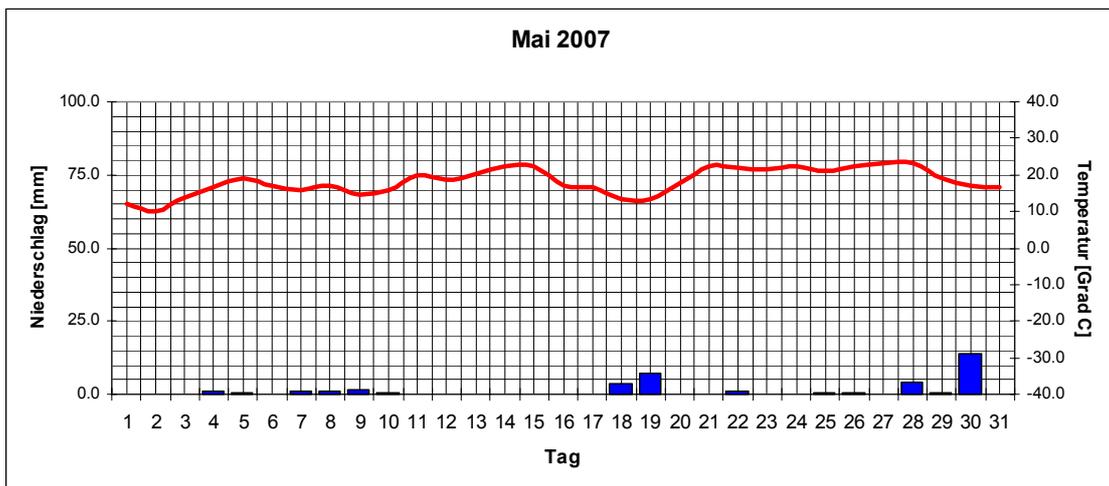
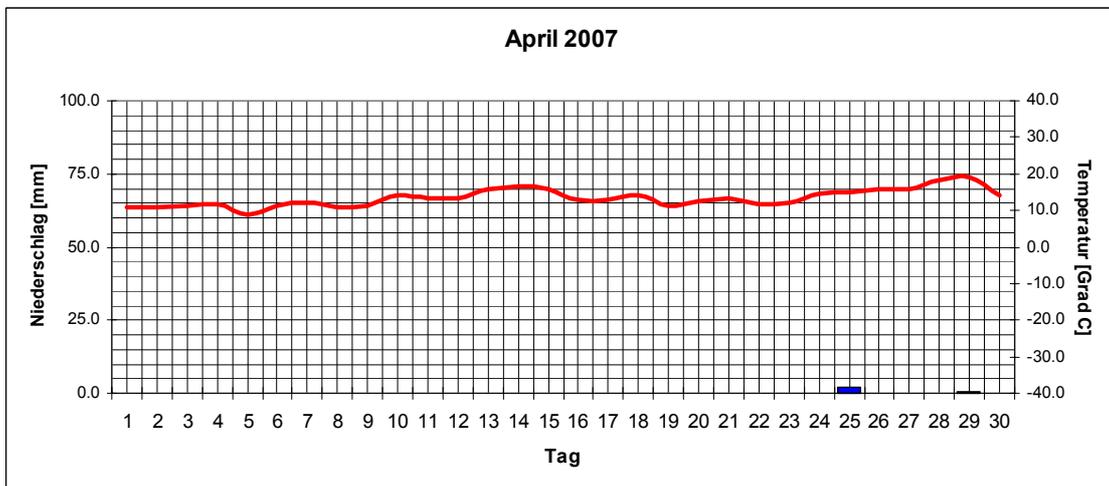
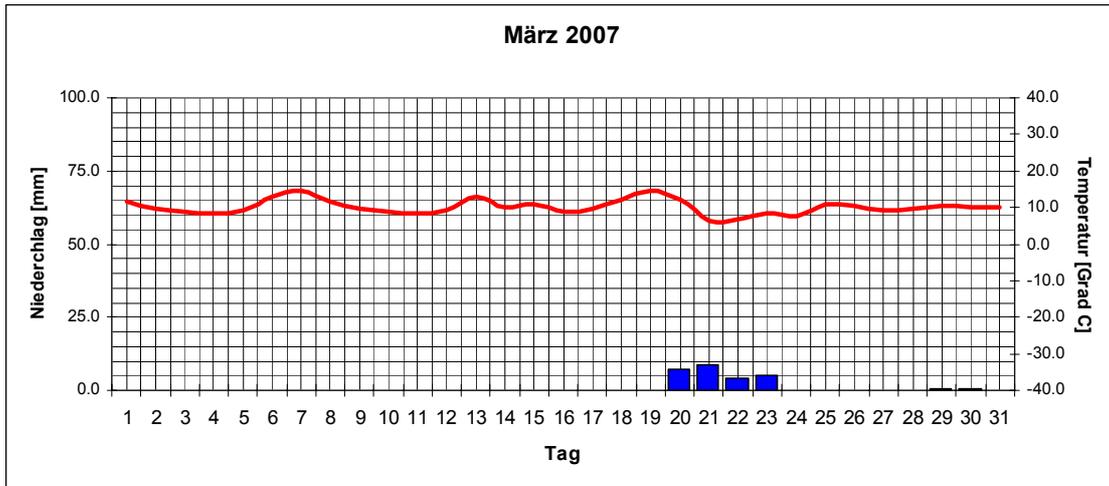
**Klimadiagramme 68-70: Jahrestemperatur und Niederschläge 2005-2007 Konstanz**



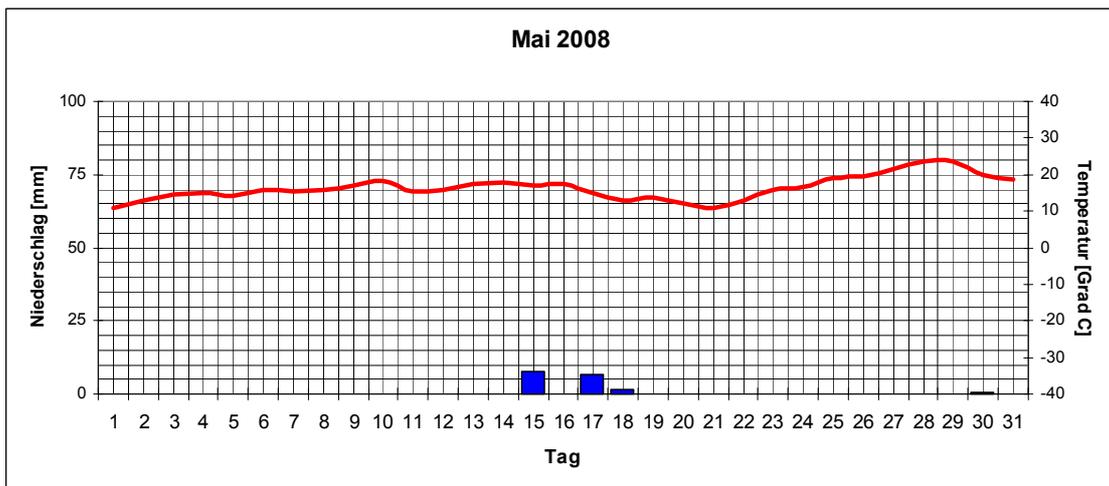
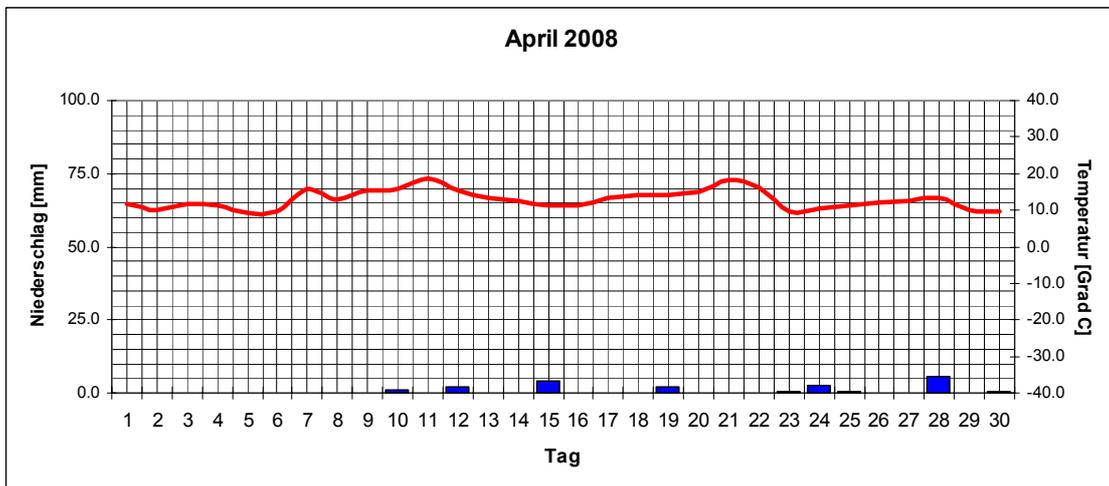
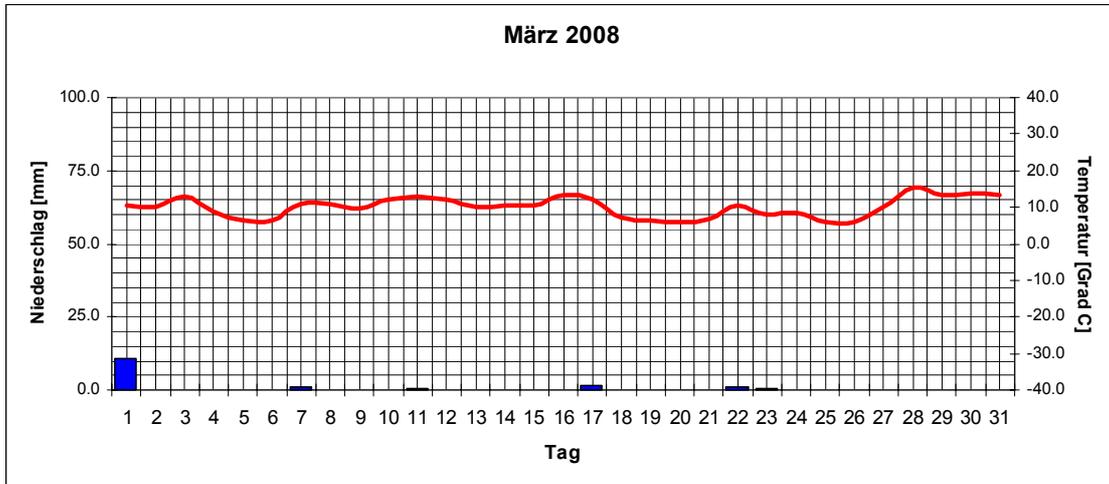
**Klimadiagramme 71-73: Temperatur und Niederschläge im Frühling 2005**



**Klimadiagramme 74-76: Temperatur und Niederschläge im Frühling 2006**



**Klimadiagramme 77-79: Temperatur und Niederschläge im Frühling 2007**



**Klimadiagramme 80-82: Temperatur und Niederschläge im Frühling 2008**

**Tab 16: Vergleich der Monatswetterdaten mit den Klimadaten Konstanz**

Monatsmittel/Monatssumme	März	April	Mai
Temperatur (°C)	5.6	9.9	14.3
Niederschlag (mm)	49.0	91.8	90.5
Mittel 1961-1990 (°C / mm)	4.7 / 50.5	8.7 / 68.1	13.1 / 85.3
Differenz zum Mittel Summe 1961-1990 (°C / mm)	0.9 / -1.5 wärmer / trockener	1.2 / 23.7 wärmer / feuchter	1.2 / 5.2 wärmer / feuchter

Frühling 2005

Monatsmittel/Monatssumme	März	April	Mai
Temperatur (°C)	3.3	9.5	14
Niederschlag (mm)	120	117,5	89.7
Mittel 1961-1990 (°C / mm)	4.7 / 50.5	8.7 / 68.1	13.1 / 85.3
Differenz zum Mittel Summe 1961-1990 (°C / mm)	-1.4 / 70.0 kälter / feuchter	0.8 / 49.4 wärmer / feuchter	0.9 / 4.4 wärmer / feuchter

Frühling 2006

Monatsmittel/Monatssumme	März	April	Mai
Temperatur (°C)	6.2	14.2	15.6
Niederschlag (mm)	66.6	10.5	118.8
Mittel 1961-1990 (°C / mm)	4.7 / 50.5	8.7 / 68.1	13.1 / 85.3
Differenz zum Mittel Summe 1961-1990 (°C / mm)	1.5 / 16.1 wärmer / feuchter	5.5 / -57.6 wärmer / trockener	2.5 / 33.5 wärmer / feuchter

Frühling 2007

Monatsmittel/Monatssumme	März	April	Mai
Temperatur (°C)	5.1	8.5	16.4
Niederschlag (mm)	52.0	116.3	17.1
Mittel 1961-1990 (°C / mm)	4.7 / 50.5	8.7 / 68.1	13.1 / 85.3
Differenz zum Mittel Summe 1961-1990 (°C / mm)	0.4 / 1.5 wärmer / feuchter	-0.2 / 48.2 kälter / feuchter	3.3 / -68.2 wärmer / trockener

Frühling 2008

Der Vergleich der Monatswetterdaten und Tageswerte mit den Klimadaten Konstanz von jedem Frühling zwischen 2005-2008 zeigt, dass die leichte Tendenz der Klimaerwärmung und Erhöhung des Niederschlags einschließlich 2008 bleibt. In 7 von 12 Monate ist es wärmer und feuchter; in 10 Monaten ist es wärmer und in 9 Monaten feuchter.

Die mittlere globale Oberflächentemperatur hat im 20. Jahrhundert um 0,6 °C zugenommen (Fortunat 2001). Modellrechnungen (Forschungsprojekt KLARA 2003) ergaben für Baden-Württemberg bis zum Jahr 2050 eine weitere

Zunahme der Temperatur um 0,6 – 1,5 °C je nach Region. Dies wäre sicher für die Entwicklung der Orobanchen förderlich. Allerdings werden die Niederschläge im Sommer eher abnehmen. Dadurch könnte die Keimung behindert werden.

#### **5.1.4. Bewertung der Bodenanalysen**

Die Bodenanalysen wurden auf die Erhebung von Daten beschränkt, die für die Entwicklung der Orobanchen Bedeutung haben können.

Die gemessenen pH-Werte lagen zwischen 5,0 und 8,15. Die landwirtschaftlichen Schädlinge unter den Orobanchen keinem im pH-Bereich zwischen 3,8 und 9,0 (Van Hezewijk 1994). Hier gibt es also kein Problem für die Orobanchen.

*Orobanche crenata* und *O. ramosa* zeigen auf Feldern mit hoher Ammoniumdüngung geringeren Befall der Wirtspflanzen (Pieterse 1991). 4 mM Ammoniumsulfat hemmte die Keimung von *Orobanche crenata* bei in vitro-Versuchen stark, während 16 mM Kaliumnitrat keinen Einfluss hatte (Van Hezewijk & Verkleij 1996). Bei den durchgeführten Bodenanalysen sind hier keine hohen Werte vorhanden; das ist auch nicht zu erwarten, da es sich bei den meisten Fundorten um geschützte, unbewirtschaftete und somit auch ungedüngte Flächen handelt.

Nitrat ist für die Ausscheidung von Strigolactonen durch die Wirtswurzel günstig, Phosphatmangel fördert die Strigolactonausscheidung, und fördert damit die Keimung der Orobanchen (Yoneyama et al. 2007). Auch hierzu gibt es nichts Auffälliges. Verrier (Altadis-Tabakforschungsinstitut, Bergerac, Frankreich, pers. Mitt.) hat Phosphatdüngung bei Virgin-Tabak mit Erfolg zur Reduzierung von *Orobanche ramosa* eingesetzt.

## 5.2. Blüten- und Bestäubungsbiologie

Die seltenen Orobanchen kommen stets in kleinen Populationen und auf kleinen Flächen vor, die wie Inseln weit entfernt von einem anderen Standort sind. Ein Pollen- und damit ein Genaustausch zwischen den einzelnen *Orobanche*-Vorkommen findet deshalb nicht statt. Genetische Variation wird allgemein als wichtige Quelle der kurzzeitigen Anpassung an fluktuierende Umweltbedingungen und als langfristige evolutionäre Veränderungen betrachtet. In kleinen Populationen muss man den Verlust genetischer Varianz, erhöhte Inzucht, zunehmende Homozygotie und möglicherweise die Stabilisierung schädlicher Allele befürchten. Man könnte deshalb annehmen, dass die Virulenz einer Art infolge Inzucht im Laufe der Zeit abnimmt. Dies wird von Ågren (1996) für *Lythrum salicaria* diskutiert. Ågren hat gezeigt, dass die Samenzahl mit abnehmender Populationsgröße zurück geht. Aber auch die Samenqualität kann durch die Populationsgröße beeinflusst werden. Menges (1991) hat an *Silene regia* gezeigt, dass mit zunehmender Populationsgröße der Prozentsatz der Samenkeimung ansteigt.

Wegen der geringen Zahl der an einem Standort stehenden Blütenstände erscheint der Besuch der Blüten durch Insekten nicht interessant. Hinzu kommt, dass die meisten *Orobanche* spp. nicht duften und auch keinen Nektar produzieren. Insekten werden die *Orobanche*-Blüten daher nicht systematisch besuchen, sondern gelegentlich nach Nektar suchen, wenn sie die meist üppig vorhandenen Wirtspflanzen aufsuchen. Aus diesen Gründen soll der Kenntnisstand der Blüten- und Bestäubungsbiologie kurz referiert werden. In der Literatur finden sich nicht viele Angaben zu diesem Thema hinsichtlich der seltenen *Orobanche*-Arten, über die meisten ist dazu nichts bekannt.

Die ältesten Angaben finden sich bei Knuth (1899), der in seinem Handbuch der Blütenbiologie den damaligen Stand der Kenntnis über Bestäubung der Pflanzen aufgelistet hat. Die Blüten von *Orobanche elatior* Sutt. sind ihrem Bau nach Bienenblumen, sie sind aber geruch- und nektar-los und unscheinbar braun gefärbt. Die Narbe überragt anfangs die Antheren, wird aber dann von ihnen erreicht, so dass spontane Selbstbestäubung erfolgen muss. Auch *Orobanche purpurea* Jacquin, mit auffallend blauen, in Trauben stehenden Blüten, aber ohne Nektar, wird nicht von Insekten besucht. Wie bei *O. elatior* erreichen die Antheren die Narbe und bestäuben sie. Bei *Orobanche ramosa* L. wurde

ebenfalls kein Insektenbesuch beobachtet, sie bestäubt sich selbst. *Orobanche speciosa* DC., heute *Orobanche crenata* Forsk., wird in der Regel durch die Honigbiene (und vermutlich auch von anderen Insekten) fremdbestäubt. Oberhalb des Eingangs zu der 2 cm langen gebogenen Kronröhre befindet sich die große zweiknotige Narbe, und hinter dieser, innerhalb der Kronröhre, liegen die 4 Antheren, sodass spontane Selbstbestäubung ausgeschlossen ist. Wenn das Insekt in die Kronröhre hineinkriecht, streift es die Antheren ab. Die erste Blüte wird selbstbestäubt, wenn das Insekt wieder aus der Blüte herauskommt; die weiteren besuchten Blüten werden fremdbestäubt. Ähnlich verhält es sich mit *Orobanche caryophyllacea* J.E. Smith, die einen nelkenartigen Geruch abgibt und damit offenbar Insekten anlockt.

Musselman et al. (1981) haben die Bestäubung einiger Landwirtschaftsschädlinge unter den *Orobanche*-Arten untersucht. Sie berichteten, dass *O. ramosa* L., *O. minor* Sm. und *O. cernua* Loefl. Selbstbestäuber sind – bei *O. ramosa* tritt die Bestäubung in der Regel schon vor der Öffnung der Blüte ein. Dagegen sind *Orobanche aegyptiaca* Pers. und *Orobanche crenata* Forsk. Fremdbestäuber mit fakultativer Autogamie. Parthenocarpie wurde durch Experimente ausgeschlossen, bei denen die Stigmata der Blüten entfernt wurden.

Michael Jones (1989) hat in seiner Dissertation sehr ausführlich die Bestäubungsbiologie der in der Spontanflora Großbritanniens vorkommenden *Orobanche*-Arten studiert. Er hat Autogamie beobachtet bei *Orobanche purpurea*, *O. alba*, *O. reticulata*, *O. minor*, *O. hederæ* und *O. caryophyllacea*, Allogamie bei *O. elatior*, *O. loricata* und *O. rapum-genistæ*. Jones konnte mit Erfolg Kreuzungen zwischen den allogamen Arten *O. minor* x *O. hederæ* und *O. minor* x *O. reticulata* durchführen. Die morphogenetischen Abweichungen in der F<sub>1</sub>-Generation von den Eltern-Pflanzen beweisen, dass die Hybridisation tatsächlich stattgefunden hat.

Die Experimente haben gezeigt, dass prinzipiell Fremdbestäubung zwischen diesen Arten, wenn auch selten, in der Natur vorkommen kann. Dies könnte Bedeutung gewinnen bei der Anpassung an neue Wirte und bei der Entwicklung höherer Aggressivität der Orobanchen als Parasiten.

### 5.3. Schäden durch Insekten

Bei unseren Felduntersuchungen am Fuße des Mocanu-Hügels haben wir beobachtet, dass die Pflanzen der *Orobanche*-Population von Insektenlarven angegriffen wurden, die das Stängelgewebe von unten nach oben, und später auch die Blüten zerfressen haben, um sich damit zu ernähren. 80 % dieser Pflanzen waren schon im Mai abgestorben; sie standen aber aufrecht, braun, und haben ausgesehen, als seien sie abgereift (Abb. 234-235).



**Abb. 234 *Orobanche teucriti* am Mocanu-Hügel, Mai 2006. Die Pflanze stirbt wegen Insektenbefalls ab.**



**Abb. 235 *Orobanche teucriti* am Mocanu-Hügel, Mai 2006. Die Pflanze stirbt wegen Insektenbefalls ab.**

Die am Stängel durchgeführten Längsschnitte haben gezeigt, dass sich in jedem Stängel mehr als 3 Larven befanden (Abb. 236-238), die das innere Gewebe des Stängels größtenteils gefressen hatten, beginnend von unten nach oben, anschließend die Blüte, was zur Austrocknung der Pflanze geführt hat.



**Abb. 236** Längsschnitt durch einen Stängel von *Orobanche teucrpii* mit Insektenbefall. Der gesamte Inhalt des Stängels wird von den Maden gefressen. Sobald die Leitgefäße zur Wirtswurzel zerstört sind, trocknet die Pflanze ab.



**Abb. 237** Längsschnitt durch den Stängel von *Orobanche teucrpii*. Der Inhalt des Stängels ist total zerfressen.



**Abb. 238 Längsschnitt durch den Blütenstand von *Orobanche teucriti*. Man sieht die Larven**

Die Larven (Abb. 238 und Abb. 240) haben Ähnlichkeit mit den Larven des in Tunesien in den Regionen Bèjà und Nabeul heimischen Käfers *Smicronyx cyaneus* Gyll., der dort *O. crenata* und *O. foetida* parasitiert (Zermane et al. 2003).

In den Kapsel-Früchten (Abb. 241) haben wir einen Käfer (Abb. 242) gefunden, der vermutlich aus den beobachteten Larven entstanden ist. „Unser“ Insekt ist noch nicht identifiziert. Es ist aber sicher, dass es zur Reduktion der befallenen *Orobanche* spp. beiträgt.

Insekten, die sich von *Orobanche* ernähren, haben großes Interesse für die biologische Bekämpfung der landwirtschafts-schädlichen *Orobanche*-Arten. In Tunesien kann *Smicronyx cyaneus* die Biomasse von von *O. crenata* und *O. foetida* um 43-62% verringern, und somit auch die Ernteverluste reduzieren. Die *Orobanche* wird damit aber keineswegs ausgerottet. „Unser“ Rüsselkäfer kann nicht auf *Orobanche* spezialisiert sein. Die *Orobanche*-Populationen sind viel zu klein, um einer Insekten-Art genügend Nahrung zu bieten. Der Befall der *Orobanche* ist eher zufällig. Der Käfer kann auch kaum zum Aussterben einer

*Orobanche* sp. führen, weil das nächste *Orobanche*-Vorkommen weit außerhalb des Wanderungsgebietes des Insekts liegt.



Abb. 239 Längsschnitt durch einen total zerfressenen Stängel einer *Orobanche teucris*-Pflanze



Abb. 240 Apode und eucefale Larven des Curculionides-Typs

Der auf *Orobanche* spezialisierte Rüsselkäfer kann die Vermehrung der *Orobanche* stark eindämmen. Das Insekt kann aber nicht *Orobanche*-spezifisch sein, weil es bei so wenigen *Orobanche*-Pflanzen nirgends eine Überlebenschance hätte.



**Abb. 241** Infizierte Kapseln (links) und gesunde Kapseln (rechts) von *Orobanche arenaria*



**Abb. 242** *Apion* sp.

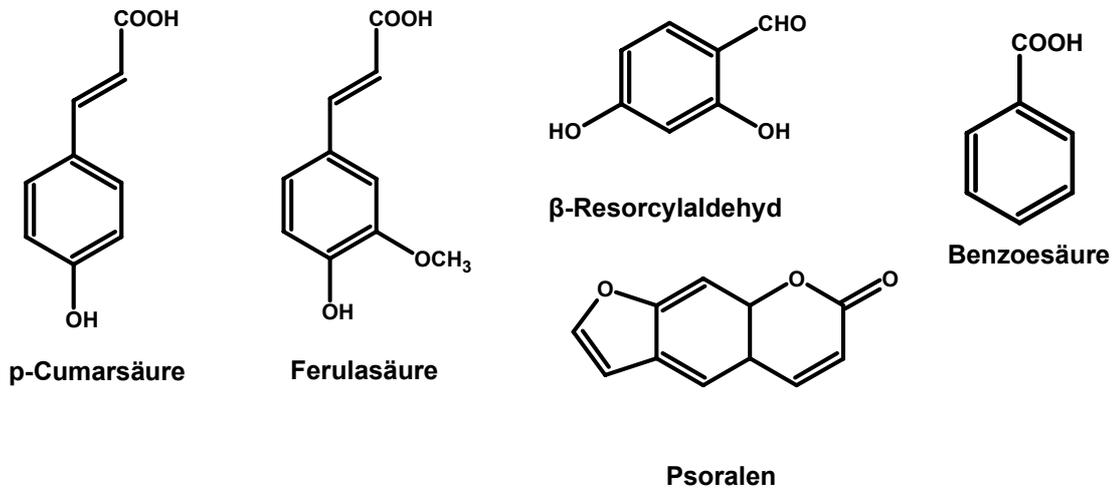
Ein anderes Insekt, die Fliege *Phytomyza orobanchia*, kommt in Syrien (Tel Hadya) vor, wo sie *Orobanche crenata* angreift, die dort ein schlimmer Landwirtschaftsschädling ist. Die Larven dieser Fliegen leben vor allem von den Samenanlagen der *Orobanche crenata*, können aber selbst in ihrem Verbreitungsgebiet die *Orobanche* nicht unter Kontrolle bringen.

Der Insektenfraß bietet eine Erklärung für die zunächst enttäuschenden geringen Keimungsraten mancher Orobanchen bei den Keimungsversuchen. Die meisten Samen sind mangels Nahrung nicht ausgereift, sie sind taub. Das haben später die mikroskopischen Untersuchungen an Semidünnschnitten, und auch transmissionselektronenmikroskopische (TEM) Untersuchungen an Dünnschnitten bestätigt. Übrigens hat auch Jones (1989) berichtet, dass bei seinen Untersuchungen 1986 und 1987 an *Orobanche rapum-genistae* in Gilwern,

South-Wales, U.K. mehr als 98 % der Samen taub waren. Er hat das allerdings nicht mit Insektenfraß, sondern mit der genetischen Selbstinkompatibilität der Blüten erklärt. In der vorliegenden Arbeit konnte dies nicht bestätigt werden. Die Keimungsrate von *Orobanche hederæ* mit dem Wurzelexsudat der Wirtspflanze *Hedera helix* betrug immerhin 22 %.

#### 5.4. Allelopathische Einflüsse auf Orobanchen?

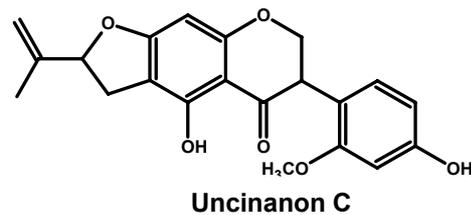
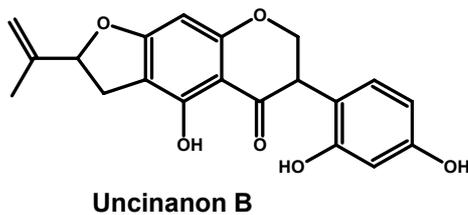
Bei den Beziehungen von Pflanzen untereinander spielt die Allelopathie eine wichtige Rolle. Pflanzen können sich in vielfacher Weise durch die Ausscheidung chemischer Verbindungen gegenseitig unterdrücken, um Konkurrenten auszuschalten. Vor allem Keimungsinhibitoren spielen dabei eine wichtige Rolle. Einige bekannte Keimungsinhibitoren mit allelopathischer Bedeutung werden nachfolgend gezeigt.



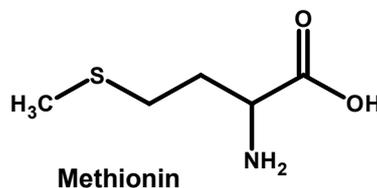
p-Cumarsäure und Ferulasäure sind weitverbreitete Verbindungen aus dem Sekundärstoffwechsel der Pflanzen. Beide sind Keimungshemmstoffe die zusammen sogar synergistisch wirken.  $5 \cdot 10^{-3}$  M p-Cumarsäure +  $5 \cdot 10^{-3}$  M Ferulasäure reduzierten die Keimung von Sorghum-Samen um 59 % (Rasmussen & Einhellig 1977). Für die Ferulasäure ist der Wirkungsmechanismus bekannt; sie erhöht die Abscisinsäure-Synthese (Holappa & Blum 1991), das Phytohormon, das die Keimruhe verursacht. Ein anderer Naturstoff, β-Resorcylaldehyd, reduziert die Keimung von Salat (*Lactuca sativa*) schon in

einer Konzentration von  $5 \cdot 10^{-8}$  M um 10%. Psoralen wurde als wirksamer Hemmstoff für die Samenkeimung von Salat (*Lactuca sativa*) identifiziert (Sinha-Roy & Chakraborty 1976).

Es gibt Berichte über die Keimungshemmung von *Orobanche ramosa* und *O. crenata* durch Wurzelexsudate von *Trigonella foenum-graecum*, *Lupinus inernis* und *Coriandrum sativum* (Al-Menoufi et al. 1996), ohne dass die wirksamen Stoffe bisher bekannt sind.



Isoflavone aus *Desmodium uncinatum* stimulieren teilweise die Samenkeimung von *Striga hermonthica* (Uncinanon B, 10-50 ppm), teilweise hemmen sie das Längenwachstum der Radiculae (Uncinanon C, 5-10 ppm) (Tsanuo et al. 2003). Die Hemmung des Längenwachstums von *Orobanche*-Radiculae berichtete Vurro (2004) auch von der Aminosäure Methionin.



Die für die Keimungsversuche hergestellten Wurzelexsudate von Wirtspflanzen wurden mit Hilfe der HPLC und der GC-MS auf Keimungsinhibitoren untersucht. Die Analysen wurden nach dem Standard des Departments of Chemical Ecology der Universität Wien durchgeführt.

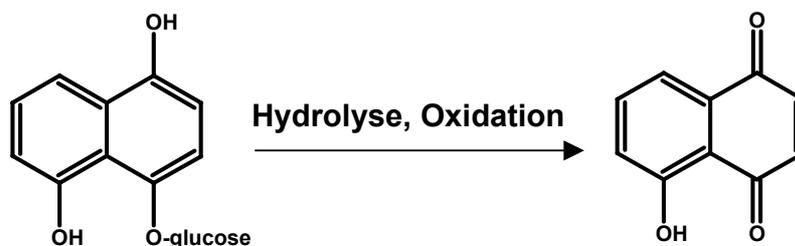
Um sicherzustellen, dass es sich wirklich um Exsudate handelt und nicht um ausgeblutete Stoffe aus verletzten Wurzelzellen wurden auch Wurzelextrakte analysiert. Die sehr unterschiedlichen Chromatogramme zeigen in allen Fällen deutlich die Unterschiede zwischen ausgeschiedenen Stoffen und Inhaltsstoffen der Wurzeln. Nur die ausgeschiedenen Verbindungen können in der Rhizosphäre wirksam werden. Die Inhaltsstoffe können allerdings später die Etablierung des Haustoriums wesentlich beeinflussen.

Waren in den Wurzelexsudaten von Wirtspflanzen überhaupt Keimungs-inhibitoren zu erwarten?

Man muss dabei überlegen, dass bei der Entwicklung des Parasitismus eine Co-Evolution stattgefunden hat. Der Parasit ist darauf angewiesen, der Wirtspflanze Nährstoffe zu entziehen, diese wird aber versuchen, den Parasiten unter Kontrolle zu halten. Das kann durch Keimungshemmung oder durch die Entwicklung von Resistenzmechanismen geschehen. Hinzu kommt die noch junge Erkenntnis, dass die Strigolactone eigentlich nicht zur schädlichen Stimulierung von Parasitensamen, sondern zur förderlichen Stimulation der Mycorrhiza-Entwicklung exsudiert werden (Akiyama et al. 2005).

In den Analysen haben sich aber nicht die bekannten Keimungsinhibitoren gefunden. Allerdings waren in der Hälfte aller untersuchten Wurzelexsudate bedeutende Mengen an Benzoesäure enthalten (Wurzelexsudate von *Carduus personata*, *Centaurea scabiosa*, *Cirsium vulgare*, *Galium verum*, *Lycopersicon esculentum* und *Teucrium chamaedrys*), die anderen enthielten sehr wenig oder gar keine Benzoesäure (*Genista lydia*, *Medicago sativa*, *Rubus idaeus*, *Salvia aethiopsis*, *Thymus panonicus* und *Urtica dioica*). Auch im Wurzelexsudat der Begleitflora war die Benzoesäure eine Hauptkomponente. Die Benzoesäure hat sich in dieser Arbeit bei manchen *Orobanche*-Arten als wirksamer Keimungs-inhibitor erwiesen.

Keimungshemmstoffe werden nicht immer von den Wurzeln ausgeschieden. Sie können auch aus den Blättern ausgewaschen werden und so in den Boden gelangen. Das bekannteste Beispiel ist das Juglon als Keimungsinhibitor für manche Pflanzen. Die Blätter von Nussbäumen (*Juglans nigra* und *J. regia*) scheiden 1,4,5-Trihydroxynaphthalen-4-glucosid aus, das mit dem Regen in den Boden gelangt und dort durch Hydrolyse und Oxidation zu Juglon umgesetzt wird.



Bei einer Konzentration von  $10^{-4}$  M hemmt Juglon die Keimung von Salatsamen komplett.

Um Keimungsinhibitoren im Boden zu erfassen, wurde auch ein Bodenextrakt analysiert. In der GC-MS-Analyse fanden sich auch im Bodenextrakt keine aromatischen Säuren. Das überraschende Ergebnis war, dass neben Glycerin fast die ganze Substanz aus langkettigen Fettsäuren, Alkanen und Alkanolen bestand, die durch ihre Massenspektren identifiziert sind (GC-MS-Analyse Abb. 228).

Über Keimungshemmung bei *Orobanche*-Samen ist fast nichts bekannt. Deshalb wurden bei den Keimungsversuchen die Samen der *Orobanche* spp. nicht nur mit den Wurzelexsudaten ihrer jeweiligen Wirtspflanze oder dem synthetischen Strigol-Analogen GR 24 zur Keimung stimuliert, sondern in Parallelversuchen einige bekannte Keimungsinhibitoren zugesetzt, um deren Wirkung auf die Keimung zu klären. Die wichtigsten Daten finden sich in der Tab. 21. Die eingetragenen Zahlen sind Keimungsprozente. Auffallend starke Wirkungen sind rot markiert. Im Ganzen zeigen die Ergebnisse, dass die aromatischen Säuren nicht bei allen *Orobanche*-Arten gleich wirken, dass neben der Zimtsäure und Ferulasäure auch die in den Wurzelexsudaten nachgewiesene Benzoesäure ein wirksamer Keimungsinhibitor bei *Orobanche* sein kann. Interessanterweise ist der Landwirtschaftsschädling *Orobanche ramosa* am stärksten von der Keimungshemmung betroffen. Dies passt sehr gut zu einer Beobachtung Wegmanns (pers. Mitteilung) auf einem deutschen Tabakfeld, das sehr stark befallen war: An einem verunkrauteten Ende des Feldes war keine *Orobanche* aufgetreten.

Bei den Keimungsversuchen wurde Keimung auch mit dem Wurzelexsudat der Begleitflora beobachtet. Das ist nicht überraschend, weil Strigolactone von den Wurzeln zahlreicher Pflanzen ausgeschieden werden (siehe z.B. Fernández-Aparicio 2008, Fernández-Aparicio et al. 2008), auch von solchen, die nicht parasitiert werden können. In diesem Fall keimen die *Orobanche*-Samen aus, verhungern aber nach wenigen Tagen, weil sie nicht den Anschluss an eine Wirtswurzel finden („Suizidkeimung“).

Tab. 17 Aromatische Säuren als Keimungsinhibitoren für *Orobanche* spp

<i>Orobanche</i> sp.	Wurzelexsudat	Wurzelexsudat + Zimtsäure	Wurzelexsudat + Ferulasäure	Wurzelexsudat + Benzoessäure
<i>O. ramosa</i>	96	42	3	4
<i>O. alba</i>	22	16	18	15
<i>O. arenaria</i>	25	22	15	19
<i>O. caryophyllacea</i>	9	9	5	6
<i>O. gracilis</i>	13	10	9	11
<i>O. hederæ</i>	22	7	9	7
<i>O. lucorum</i>	15	10	10	9
<i>O. lutea</i>	8	6	5	6
<i>O. minor</i>	80	71	51	5
<i>O. reticulata</i>	9	11	3	10
<i>O. teucrii</i>	11	8	8	9

### 5.5. Strigolactone und Wirtsspezifität

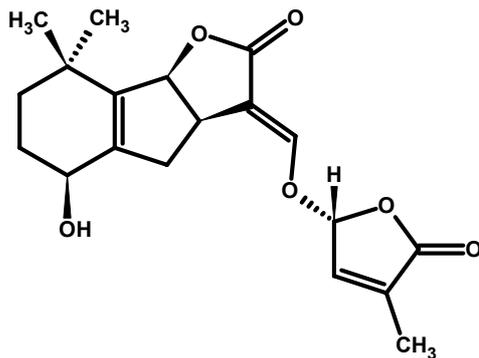
Eine Besonderheit der wurzel-parasitierenden Angiospermen ist die Keimungsstimulation ihrer Samen durch spezifische chemische Verbindungen im Wurzelexsudat der Wirtspflanze. Dadurch besteht eine enge Bindung der Parasiten an bestimmte Wirtspflanzen. Frühere Forscher hatten schon die Bedeutung einer Wirtswurzel für die Keimung von *Orobanche*-Samen erkannt, z.B. Caspary (1854). Koch (1883) hat zum ersten Mal eine chemische Verbindung der Wirtswurzel für die Keimung von *Orobanche*-Samen vermutet. Cook et al. (1966) ist es zum ersten Mal gelungen, ein aktives Keimungsstimulans aus einer hydroponischen Kultur von Baumwoll-Pflanzen zu isolieren, die sie Strigol genannt haben, weil es die Keimung von *Striga lutea* Samen stimuliert hat. Die Struktur wurde von Cook et al. (1972) aufgeklärt, auch von einer Begleitsubstanz, Strigolacetat. Seltsamerweise wird die Baumwoll-Pflanze von keinem der bekannten Wurzelparasiten angegriffen.

Weil sich die chemische Synthese der Strigol-Struktur als schwierig erwies, wurden einfachere chemische Analoga synthetisiert (Johnson et al. 1981). Das Ziel, mit den synthetischen Substanzen durch Suizid-Keimung die *Orobanche* in der Landwirtschaft zu bekämpfen (Johnson et al. 1976), ist damals zwar nicht

gelingen, aber GR 24 wird heutzutage in der *Orobanche*-Forschung als Standard für Keimungsversuche verwendet.

Zwei weitere natürliche Strigol-Verwandte wurden isoliert und ihre Strukturen aufgeklärt. Hauck in Schildknechts Arbeitsgruppe in Heidelberg hat in seiner Dr.-Arbeit (1990) die Struktur des Sorgolactons aus dem Wurzelexsudat von *Sorghum bicolor* aufgeklärt, das von Visser isoliert worden war (Hauck und Schildknecht 1990). In derselben Arbeitsgruppe hat Müller (1991) die Struktur von Alectrol aus dem Wurzelexsudat von *Vigna unguiculata*, einer Wirtspflanze von *Alectra vogelii* (Müller et al. 1992) studiert. Wie *Orobanche* und *Striga* gehört *Alectra* zu den Wurzelparasiten. Butler hat 1993 den Sammelbegriff „Strigolactone“ für diese Verbindungen vorgeschlagen (Butler 1995). Diese Verbindungen stammten aber alle von Wirtspflanzen von *Striga* (Scrophulariaceae), obwohl sie auch die Keimung von *Orobanche*-Samen stimulierten. Yokota et al. (1998) haben erstmals aus einer *Orobanche*-Wirtspflanze, *Trifolium pratense*, Wirt für *Orobanche minor*, die Strigolactone Alectrol und Orobanchol isoliert.

Bisher sind die Strukturen der folgenden Strigolactone bekannt. Dies ist eine viel größere Strukturvielfalt als ursprünglich erwartet wurde. Die in dieser Dissertation in Wurzelexsudaten identifizierten Strigolactone sind rot gedruckt.

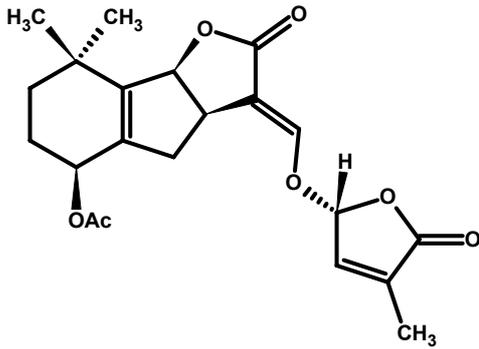


### Strigol

*Gossypium hirsutum* (Cook et al. 1972)

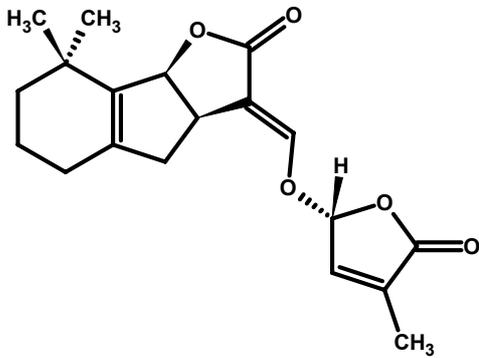
*Pennisetum glaucum*, *Zea mays*, *Sorghum bicolor* (Siame et al. 1993)

*Menispermum dauricum* (Yasuda et al. 2003)



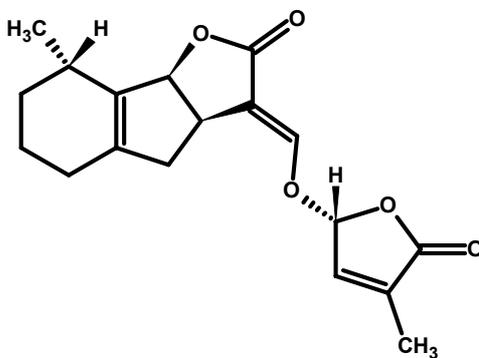
### Strigylacetat

*Gossypium hirsutum* (Cook et al. 1972)



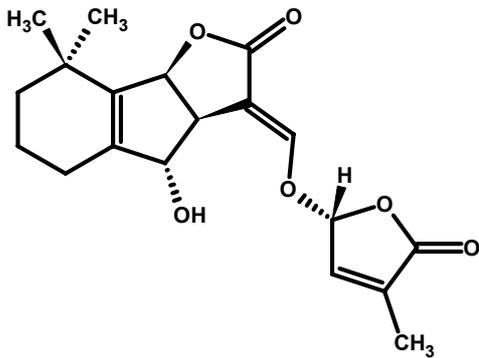
### 5-Deoxystrigol

*Sorghum bicolor*, *Zea mays*, *Pennisetum typhoideum* (Awad et al. 2006)  
*Arachis hypogaea*, *Astragalus sinicus*,  
*Cicer arietinum*, *Glycine max*,  
*Lupinus albus*, *Medicago sativa*,  
*Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum*,  
*Psophocarpus tetragonolobus*, *Vicia faba*,  
*Vigna angularis* (Yoneyama et al. 2008),  
*Lotus japonicus* (Sugimoto & Ueyama (2008))



### Sorgolacton

*Sorghum bicolor* (Hauck 1990, Hauck & Schildknecht 1990)

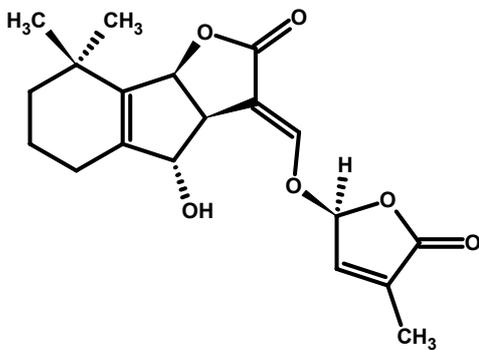


### Orobanchol

*Trifolium pratense* (Yokota et al. 1998)

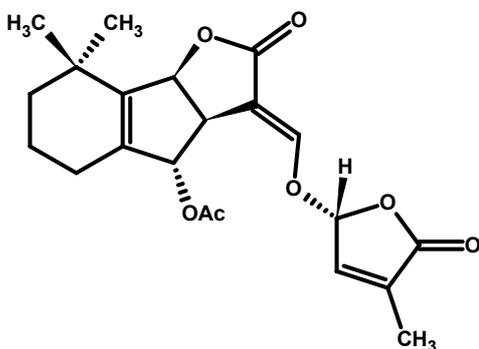
*Lupinus albus* (Yoneyama et al. 2008)

*Centaurea scabiosa*, *Carduus personata*, *Hedera helix*, *Galium verum* (diese Dissertation)



### 2'-epi-Orobanchol

*Nicotiana tabacum* (Xie et al. 2007)



### Orobanchylacetat (früher Alelectrol)

*Arachis hypogaea*, *Astragalus sinicus*,

*Cicer arietinum*, *Glycine max*,

*Lupinus albus*, *Medicago sativa*,

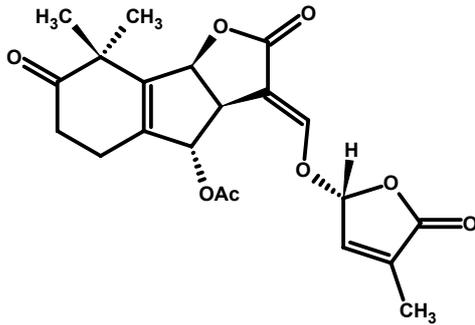
*Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum*,

*Psophocarpus tetragonolobus*, *Trifolium*

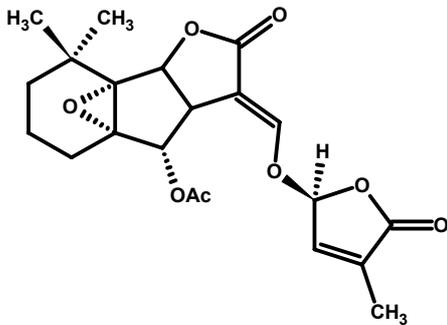
*incarnatum*, *Vicia faba*, *Vigna angularis*

(Yoneyama et al. 2008)

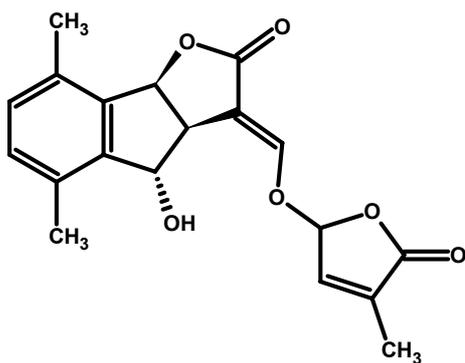
*Cirsium vulgare*, *Carduus personata*,  
*Centaurea scabiosa* (diese Dissertation)



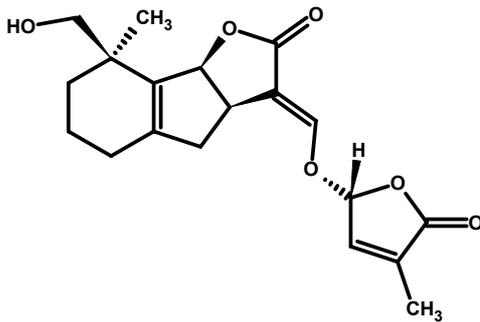
**7-Oxo-orobanchylacetat**  
*Linum usitatissimum*, *Cucumis sativus* (Yoneyama et al. 2008)



**2'-epi-4a,8a-Epoxy-orobanchylacetat**  
 (Erbsenstrigolacton)  
*Pisum sativum*, *Vicia faba* (Yoneyama et al. 2008)  
*Cirsium vulgare*, *Carduus personata*,  
*Galium verum* (diese Dissertation)



**Solanacol**  
*Nicotiana tabacum* (Xie et al. 2007)  
*Trifolium incarnatum* (Yoneyama et al. 2008)



### Sorgomol

*Nicotiana tabacum*, *Solanum lycopersicum*, *Sorghum bicolor*, *Zea mays* (Awad et al. 2006, Xie et al. 2008)

Die Strukturen von Didehydro-orobanchol-Isomeren sind noch nicht vollständig aufgeklärt.

### Didehydro-orobanchol-Isomere

Poaceae, *Nicotiana tabacum*, *Solanum lycopersicum* (Sato et al. 2003, Xie et al. 2007)  
*Lupinus albus*, *Pisum sativum*, *Astragalus sinicus*, *Cicer arietinum* (Yoneyama et al. 2008)  
*Centaurea scabiosa*, *Hedera helix*, *Galium verum* (diese Dissertation)

Daneben wurden Strigolactone mit noch völlig unbekanntem Strukturen gefunden.

Wirtswurzeln (und auch Nichtwirte!) können verschiedene strukturverwandte Strigolactone ausscheiden. Bei allen Untersuchungen über Keimungsstimulantien wurden mehrere aktive Verbindungen gefunden (Brown et al. 1951, 1952, Sunderland 1960, Visser und Botha 1974, Visser 1975), aber aus praktischen Gründen meist nur der aktivste Peak isoliert. Die Strigolactone kommen nur in sehr geringer Konzentration im Wurzelexsudat vor; sie wirken bereits bei Konzentrationen von  $10^{-10}$  –  $10^{-14}$  M. Das erschwert ihre Isolation sehr.

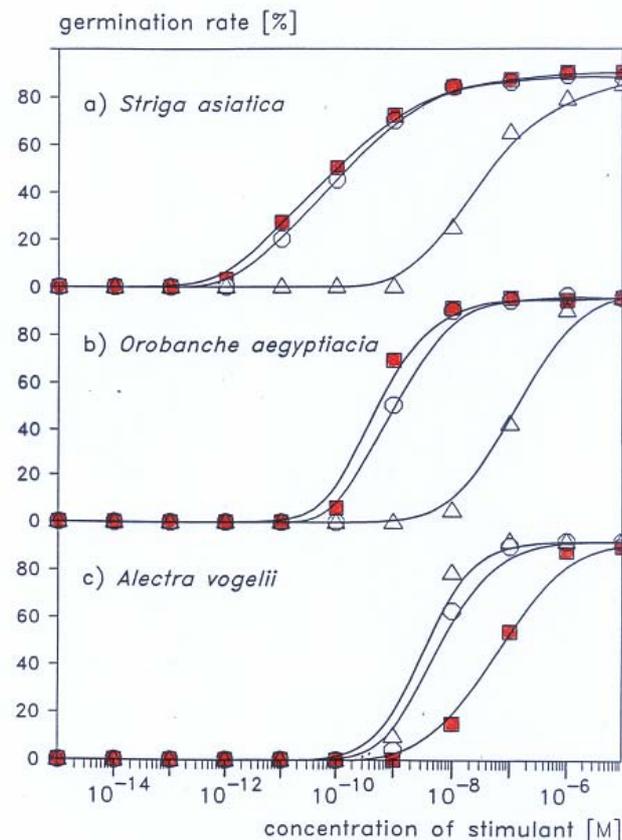
### 5.5.1. Strigolactone und Mycorrhiza

Die Entdeckung durch Akiyama et al. (2005), siehe dazu auch Akiyama & Hayashi (2006) und Akiyama (2007), dass Strigolactone die Hyphenverzweigung von Mycorrhiza-Pilzen induzieren, ist eine plausible Erklärung dafür, warum auch Nichtwirtspflanzen Strigolactone ausscheiden. Strigolactone spielen eine wichtige Rolle bei der Ausbildung der Mycorrhiza. Besserer et al. (2006) haben zeigen können, dass Strigolactone in einer Konzentration von  $10^{-13}$  M die mitochondriale Aktivität von Mycorrhiza-Pilzen aktiviert. Umgekehrt hemmen Strigolactone die Sprossverzweigung bei höheren Pflanzen, wie zwei gleichzeitig in Nature publizierte Arbeiten zeigen (Gomez-Roldan et al. 2008, Umehara et al. 2008). Die Strigolactone werden damit in die Klasse der Phytohormone eingereiht!

### 5.5.2. Die Wirkung stereoisomerer Formen der Strigolactone

Bevor die stereoselektive chemische Synthese der (+)- und (-)-Strigole möglich war, haben Hauck und Schildknecht (1990) das synthetische Racemat auf Cellulosetriacetat getrennt und haben die beiden Enantiomeren auf ihre keimungsstimulierende Aktivität für drei Wurzelparasiten, *Striga asiatica*, *Orobanche aegyptiaca* und *Alectra vogelii*, getestet (Abb. 243). (+)-Strigol erwies sich um zwei Größenordnungen aktiver als (-)-Strigol bei *Striga asiatica*, ebenso bei *Orobanche aegyptiaca*, obwohl deren Empfindlichkeit viel geringer war. Bei *Alectra vogelii* erwies sich das (-)-Strigol aktiver, obwohl *Alectra* noch weniger empfindlich reagierte als *Orobanche*.

Zahlreiche Strukturanalogue wurden synthetisiert, um damit in Keimungstests Struktur-Wirkungsbeziehungen aufzuklären (Zwanenburg et al. 1994). Welzels Arbeitsgruppe war erfolgreich bei der Synthese der stereoisomeren Formen von Strigol, epi-Strigol und mehrerer Derivate. Auch mit diesen Verbindungen wurden in der Arbeitsgruppe Wegmann Struktur-Wirkungs-Beziehungen studiert (Bergmann et al. 1993, Welzel et al. 1994).



**Abb. 243 Keimungsstimulation von drei Wurzelparasiten mit den beiden Strigol-Enantiomeren und dem Racemat. Rote Quadrate (+)-Strigol, Dreiecke (-)-Strigol, Kreise (±)-Strigol (nach Hauck & Schildknecht 1990, verändert)**

### 5.5.3. Strigolacton-Rezeptoren

Stoffe, die in so geringer Konzentration spezifische Wirkungen zeigen, werden in der Regel von einem spezifischen Proteinrezeptor gebunden, der dann eine Kaskade von Folgereaktionen auslöst. Während die Riechrezeptoren von Tieren durch die bahnbrechenden Arbeiten von Buck & Axel (1991), für die sie 2004 mit dem Nobelpreis ausgezeichnet wurden, sehr gut bekannt sind, auch bei Insekten (Nakagawa et al. 2005), konnten die Rezeptoren für Strigolactone aus Orobanchen noch nicht isoliert werden. Es besteht aber kein Zweifel, dass es sie gibt; in der Arbeitsgruppe Zwanenburg in Nijmegen wird daran gearbeitet. Wegen der unterschiedlichen Spezifität ist eine ganze Familie ähnlicher

Rezeptoren zu erwarten. Diese Rezeptoren können sich durch Mutation verändern; dadurch könnte sich die Wirtsspezifität ändern. So ist bis heute nicht geklärt, ob *Orobanche cernua* mit einem breiten Wirtsspektrum zum spezifischen Sonnenblumenschädling *Orobanche cumana* mutiert ist. Da die Rezeptoren als Proteine vererbt werden, sind bei der Hybridisation von *Orobanche*-Arten Veränderungen in der Wirtsspezifität zu erwarten. Ein Beispiel dafür haben Schuchardt et al. (1998) untersucht. Wenn Hybriden die Wirtsspezifität beider Eltern besitzen, kann dies letztlich das breite Wirtsspektrum von *Orobanche crenata* erklären.

#### **5.5.4. Wegmanns Hypothese zur Wirtsspezifität der Orobanchen**

Aufgrund der Befunde, dass in den Wurzelexsudaten stets mehrere aktive Verbindungen vorhanden waren, und dass die enantiomeren Formen der Strigolactone unterschiedliche Aktivitäten aufwiesen, entwickelte Wegmann (1996, 2005, 2006) die Hypothese, dass jede *Orobanche* sp. auf ein Bukett verschiedener Strigolactone reagiert, und dass so die (in manchen Fällen sehr ausgeprägte) Wirtsspezifität zustande kommt. Dies wäre eine Analogie zu den Insekten-Pheromonen, bei denen ebenfalls ein Bukett aus verschiedenen Verbindungen, u.a. auch in spezifischen Enantiomeren-Verhältnissen, die Anlockung des Geschlechtspartners auslöst.

#### **5.5.5. Strigolactonanalysen in Wurzelexsudaten**

Bedeutende Fortschritte für die Analytik von Strigolactonen in Wurzelexsudaten hat Yoneyama durch die Entwicklung einer speziellen Analysetechnik für Strigolactone durch HPLC-Tandem-Massenspektrometrie erreicht (Yoneyama et al. 2004). Diese Methode erlaubt die Identifizierung und Quantifizierung der Strigolactone in Wurzelexsudaten. In der vorliegenden Dissertation wurden mit dieser Methode zum ersten Mal einige Wurzelexsudate von Wirtspflanzen von Orobanchen der Spontanflora analysiert. Die Ergebnisse sind im Ergebnisteil dargestellt.

Die Tab. 22 zeigt die Zusammensetzung der Strigolacton-Komponenten in den analysierten Wurzelexsudaten.

**Tab. 18 Strigolactonzusammensetzung im Wurzelexudat einiger Wirtspflanzen**

Wirtspflanze	Orobanchol	Orobanchyl- acetat	2'-epi-4a,8a- Epoxy- orobanchylacetat	Didehydro- orobanchol Isomere	Unbekannte Komponenten
<i>Cirsium vulgare</i>		+	+		1
<i>Carduus personata</i>	+	+	+		
<i>Centaurea scabiosa</i>	+	+		+	1
<i>Hedera helix</i>	+			+	2
<i>Galium verum</i>	+		+	+	1

Die Strigolacton-Komponenten in den verschiedenen Wirtswurzel-Exsudaten sind qualitativ unterschiedlich zusammengesetzt. Die unbekannt Komponenten sind Strigolactone, deren Molekülstruktur noch nicht im Detail aufgeklärt ist. Dies trifft auch für die beiden Isomere von Didehydro-orobanchol zu.

Diese Wirtspflanzen werden von unterschiedlichen *Orobanche* spp. parasitiert:

- *Cirsium vulgare* und *Carduus personata* von *Orobanche reticulata*; die Strigolacton-Zusammensetzung ist am ähnlichsten;
- *Centaurea scabiosa* von *O. elatior*;
- *Hedera helix* nur von *O. hederæ*;
- *Galium verum* von *O. caryophyllacea*.

Die Daten unterstützen die Vorstellung, dass die qualitative (und quantitative) Zusammensetzung der Strigolactone im Wurzelexsudat der Wirtspflanze eine entscheidende Rolle für die Wirtsspezifität spielt. Ein Bukett aus verschiedenen nahe verwandter Substanzen wirkt stimulierend auf die passende *Orobanche*-Art.

Erst wenn alle Komponenten in genügenden Mengen synthetisiert oder isoliert werden können, wird man systematische Keimungsversuche mit Gemischen durchführen können, um die Hypothese zu beweisen. Die Synthese der Strigolactone ist aber schwierig, deshalb stehen die meisten nicht zur Verfügung.

Aus den Befunden ergibt sich eine weitere wichtige Frage. Strigolactone sind empfindliche Verbindungen, die im Boden nicht lange halten. Biologisch ist dies sinnvoll, weil sich sonst die Keimungsstimulantien im Boden anreichern würden und alle *Orobanche*-Samen auch in Abwesenheit einer Wirtspflanze auskeimen würden. Dadurch würden die *Orobanche*-Samen eliminiert und die

Art könnte nicht überleben. Was geschieht aber, wenn während der Lebensdauer ein Strigolacton durch die Boden-Mikroflora chemisch modifiziert wird, wenn z.B. aus Orobanchol Didehydro-orobanchol wird? Nach den obigen Befunden könnte sich dann die Wirtsspezifität ändern. Spielt dies eine Rolle dabei, dass auf manchen Wirtspflanzen mehrere *Orobanche*-Arten parasitieren können?

### 5.5.6. Wie spezifisch ist die Wirtsspezifität?

Aufgrund der frühen Befunde, dass die Samen wurzelparasitischer Angiospermen (*Striga* spp., *Orobanche* spp., *Alectra* spp.) durch Strigol, und nicht viel später durch GR 24 zur Keimung stimuliert wurden, hat man zunächst angenommen, dass diese Keimungsstimulantien auf alle Arten wirken. Erst spätere Befunde haben gezeigt, dass manche *Orobanche* spp. nicht durch GR 24 stimulierbar sind, und dass viele *Orobanche* spp. nur mit dem Wurzelexsudat ihrer spezifischen Wirtspflanze keimen.

Mónica Fernández-Aparicio (2008) hat im Kapitel 5 ihrer Dissertation die Keimungsstimulation von 9 *Orobanche* spp. mit den Wurzelexsudaten von 38 Pflanzenspecies aus 12 botanischen Familien untersucht (Tab. 19), ohne allerdings die chemischen Verbindungen in den Wurzelexsudaten zu kennen oder zu analysieren.

Diese Keimungsversuche ergaben sehr unterschiedliches Verhalten der *Orobanche* spp. Während *O. densiflora*, *O. gracilis* und *O. hederæ* nur mit dem Wurzelexsudat ihrer jeweiligen Wirtspflanze keimten, wurden *O. aegyptiaca*, *O. minor* und *O. ramosa* durch fast alle Wurzelexsudate stimuliert, *O. crenata*, *O. cumana* und *O. foetida* zeigten Keimungsstimulation bei einigen, aber nicht mit allen Wurzelexsudaten.

Während die Samen von 5 der 9 *Orobanche* spp. (*O. aegyptiaca*, *O. crenata*, *O. cumana*, *O. minor* und *O. ramosa*) durch GR 24 stimuliert wurden, reagierten die Samen von *O. foetida* nur schwach, die Samen von *O. densiflora*, *O. gracilis* und *O. hederæ* überhaupt nicht auf GR 24. Auch diese Experimente lieferten weitere Befunde für die teilweise sehr spezifische chemische Wechselwirkung zwischen Wirt und Parasit.

Dass die Samen mancher *Orobanche* spp. nicht mit GR 24 stimuliert werden können, bestätigen auch die Keimungsversuche in der vorliegenden

Dissertation. Bei *O. hederæ* wurden Keimungsraten zwischen 0 und 2 % beobachtet, *O. lutea* und *O. caryophyllacea* keimten überhaupt nicht.

**Tab. 19 Die untersuchten *Orobanchè* spp. und Wirtspflanzen von Fernández-Aparicio, 2008**

<i>Orobanchè</i> spp.	Family	Plant Species	Cultivar
<i>O. aegyptiaca</i>	Alliaceae	Onion ( <i>Allium cepa</i> L.)	Prebosa
<i>O. crenata</i>	Apiaceae	Coriander ( <i>Coriandrum sativum</i> L.)	Local landrace
<i>O. cumana</i>		Parsley ( <i>Petroselinum sativum</i> Hoffm.)	Local landrace
<i>O. densiflora</i>	Araliaceae	Ivy ( <i>Hedera helix</i> L.)	Leafy stem cuttings
<i>O. foetida</i>	Asteraceae	Sunflower ( <i>Helianthus annuus</i> L.)	Peredovic
<i>O. gracilis</i>	Brassicaceae	Rapeseed ( <i>Brassica napus</i> L.)	Iris
<i>O. hederæ</i>		<i>Sinapis alba</i>	Wild population
<i>O. minor</i>	Cucurbitaceae	Cucumber ( <i>Cucumis sativus</i> L.)	Ashley
<i>O. ramosa</i>		Melon ( <i>Cucumis melo</i> L.)	Piel de sapo
		Squash ( <i>Cucurbita pepo</i> L.)	Virginia 3
	Chenopodiaceae	Fodder beat ( <i>Beta vulgaris</i> L.)	893
	Fabaceae	<i>Astragalus lusitanicus</i> Lam.	Wild population
		Barrel medic ( <i>Medicago truncatula</i> Gaertn.)	Mt-51
		Berseem ( <i>Trifolium alexandrinum</i> L.)	Tigri
		Chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.)	CA-3026
		Cowpea ( <i>Vigna unguiculata</i> L.)	Local landrace
		Faba bean ( <i>Vicia faba</i> L.)	Prothabon
		Fenugreek ( <i>Trigonella foenum graecum</i> L.)	Tunisian landrace
		Grass pea ( <i>Lathyrus sativus</i> L.)	Lisa
		Lentil ( <i>Lens culinaris</i> Medik.)	L-1172
		<i>Lotus japonicus</i> Regel.	GiFu
		Narbon bean ( <i>Vicia narbonensis</i> L.)	Vn-271
		Pea ( <i>Pisum sativum</i> L.)	Messire
		<i>Scorpiurus muricatus</i> L.	Wild population
		<i>Scorpiurus vermiculatus</i> L.	Wild population
		<i>Sulla</i> ( <i>Hedysarum coronarium</i> L.)	Grima Pdi
		Vetches ( <i>Vicia sativa</i> L.)	Mezquita
		White lupin ( <i>Lupinus albus</i> L.)	Giza 2
	Linaceae	Flax ( <i>Linum usitatissimum</i> L.)	Symphonia
	Malvaceae	Cotton ( <i>Gossypium hirsutum</i> L.)	Fotini
	Poaceae	Barley ( <i>Hordeum vulgare</i> L.)	Aspen
		Maize ( <i>Zea mays</i> L.)	Pioner
		Oat ( <i>Avena sativa</i> L.)	Cory
		Rye ( <i>Secale cereale</i> M.Bieb.)	Landrace population
		Triticale (x <i>Triticosecale</i> )	Penaroya
		Durum wheat ( <i>Triticum durum</i> L.)	Meridiano
	Solanaceae	Tobacco ( <i>Nicotiana tabacum</i> L.)	Landrace
		Tomato ( <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	Tres cantos

Positive Keimungsergebnisse zeigen übrigens nur, dass das Wurzelexsudat erkannt wurde, das bedeutet aber nicht, dass die betreffende Pflanze auch

parasitiert wird. Pflanzen, die die Keimung der Parasiten stimulieren ohne parasitiert zu werden, sind Trap Crops, die möglicherweise für die biologische Bekämpfung der Schädlinge eingesetzt werden können (Fruchtwechsel). Trap Crops in der Begleitflora der seltenen *Orobanche* spp. würden allerdings zum weiteren Rückgang dieser seltenen Arten beitragen.

### **5.6. Physiologische Aspekte der *Orobanche*-Arten der Spontanflora im Vergleich mit *Orobanche* Landwirtschaftsschädlingen**

Eine wesentliche Frage ergibt sich aus dieser Dissertation: Was unterscheidet die schädlichen *Orobanche*-Arten von den seltenen in der Spontanflora? Dazu sollen die schädlichen *Orobanche* spp. besprochen und charakterisiert werden. Anschließend werden die wesentlichen Unterschiede herausgearbeitet.

Nur wenige der fast 200 Arten und Unterarten von *Orobanche* haben sich zu wichtigen Schädlingen für die Landwirtschaft entwickelt. Diese noxischen Unkräuter verursachen bedeutende Schäden und können manchmal ganze Ernten vernichten. Sie zeichnen sich im Gegensatz zu den *Orobanche*-Arten in natürlichen Ökosystemen durch Massenvermehrung aus, breiten sich immer weiter aus und können bisher kaum wirksam bekämpft werden. Orobanchen produzieren eine riesige Menge Samen (bis zu mehreren 100.000 Samen pro *Orobanche*-Pflanze), die im Boden lange Zeit (mindestens 15-20 Jahre) keimungsfähig bleiben, bis sie von Keimungsstimulantien der Wirtspflanzenwurzel zur Keimung stimuliert werden. Diese schädlichen *Orobanche*-Arten in der Landwirtschaft befallen wichtige Nahrungs-, Futter- und Industriepflanzen. Häufig zeigen diese Arten eine ausgeprägte Wirtsspezifität:

***Orobanche crenata* Forsk.** mit einem breiten Wirtsspektrum greift fast alle Leguminosen im Nahen Osten, im Mittelmeerraum und in Nordafrika an und zerstört die Ernten von Ackerbohnen (*Vicia faba*, Abb. 244), Linsen (*Lens culinaris*), Kichererbsen (*Cicer arietinum*), Erbsen (*Pisum sativum*, Abb. 245) und Futter-Wicken (*Vicia* sp.).



**Abb. 244 *Orobanche crenata* auf *Vicia faba* (Tel Hadya, Syrien)**



**Abb. 245 *O. crenata* auf *Pisum sativum* (Spanien, Photo: Prof. Rubiales)**

***Orobanche cumana* Wallr.** (Abb. 246 und Abb. 247) parasitiert ausschließlich auf Sonnenblume (*Helianthus annuus*) und richtet große Schäden in Osteuropa und Spanien an. Diese Art entwickelt immer neue, aggressivere Pathotypen.



**Abb. 246 *Orobanche cumana* auf *Helianthus annuus* (Vadul Traian, Rumänien)**



**Abb. 247 *Orobanche cumana* auf den Wurzeln von *Helianthus annuus* (Vadul Traian).**

***Orobanche cernua* Loefl.** wächst in Israel auf Tomaten (*Lycopersicon esculentum*), Karotten (*Daucus carota*) und Aubergine (*Solanum melongena*).

***Orobanche ramosa* Linnaeus 1753** ist seit langer Zeit als Schmarotzerpflanze auf Hanf (*Cannabis sativa*) und Tabak (*Nicotiana tabacum*, Abb 248) in Deutschland, Frankreich, Rumänien und Bulgarien, auf Tomaten (Abb. 249) und Karotten in Israel bekannt. Andere Pathotypen von *O. ramosa* parasitieren Raps (*Brassica rapa* var. *rapa*) in West-Frankreich, oder Kartoffeln (*Solanum tuberosum*) und Kohl (*Brassica oleracea*) auf Zypern.



**Abb. 248 *Orobanche ramosa* auf *Nicotiana tabacum* (Deutschland)**



**Abb. 249 *Orobanche ramosa* auf *Lycopersicon esculentum* (Slowakien)**

In Macea wurde in den letzten zwei Jahren *Orobanche ramosa* Population in einer Tomatenkultur (*Lycopersicon esculentum*) beobachtet. Die nur kleine Population (20 Pflanzen) verhielt sich ähnlich wie die seltenen *Orobanche*-Arten in der Spontanflora: es gelang ihr keine Massenvermehrung und sie hatte keinen bedeutenden Einfluss auf die Biomasse und den Tomatenertrag. In der Population kamen sowohl Pflanzen mit lila-blauen (Abb. 250) als auch mit hellblauen (Abb. 251) Blüten vor.



**Abb. 250 *Orobanche ramosa* auf Tomaten Varietät mit lila-blauen Blüten Macea, Juni 2006**



**Abb. 251 *Orobanche ramosa* auf Tomaten Varietät mit hellblauen Blüten Macea, Juni 2006**

Wenig ist darüber bekannt, ob es wirtsspezifische Pathotypen auch bei den Orobanchen in der Spontanflora gibt. Román et al. (2007) haben dies an *Orobanche gracilis* Sm. in Spanien beobachtet.

*Orobanche aegyptiaca* Pers. hat ein ähnliches Wirtspflanzen-Spektrum wie *Orobanche ramosa*, ist aber aggressiver. und wächst zum Beispiel auf Tomaten (*Lycopersicon esculentum*).

*Orobanche foetida* **Poir.** parasitiert nach Kharrat et al. (1992) in Tunesien auf Ackerbohnen (*Vicia faba*), nach Rubiales et al. (2005) in Marokko auf Wicken (*Vicia* sp.); diese *Orobanche* sp. kommt in Süd-Spanien nur in der Spontanflora vor!

Die Verbreitung der schädlichen *Orobanche* spp. erfolgt vor allem durch verunreinigtes Saatgut der Kulturpflanzen, durch Weidetiere und durch kontaminierte landwirtschaftliche Geräte.

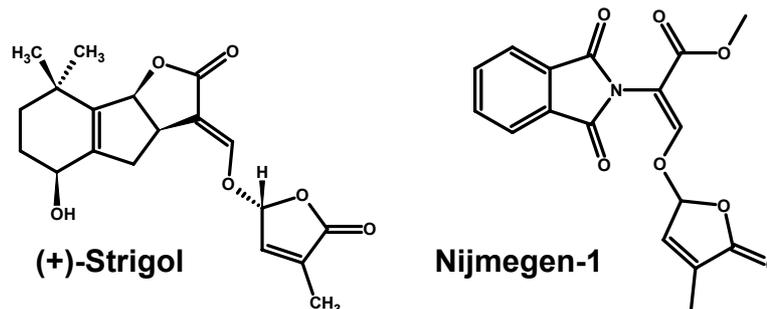
Nach zuverlässigen Schätzungen sind weltweit 16 Millionen Hektar Agrarfläche mit *Orobanche* verseucht (Linke et al. 1989, Abu-Irmaileh & Labrada 2006). Die durchschnittlichen Ernteverluste werden auf 34% geschätzt; es wird aber auch über den Totalverlust der Ernte berichtet (Parker & Riches 1993; Wegmann 1998).

Die Bekämpfung der Orobanchen ist schwierig und bisher nicht befriedigend gelöst. Die Anwendung von Herbiziden scheitert oft daran, dass die Kulturpflanze empfindlicher reagiert als die *Orobanche*. Versuche zur biologischen Bekämpfung mit der Fliege *Phytomyza orobanchia*, die in Syrien auf *Orobanche crenata* heimisch ist, haben in Marokko gute Ergebnisse gebracht (Klein & Kroschel 2002); die Samenzahl von *O. crenata* war um bis zu 80 % reduziert. Da sich das Insekt aber nur auf *Orobanche crenata* vermehren lässt, ist die praktische Anwendung kaum wirtschaftlich. Pathogene Pilze, *Fusarium oxysporum* f. sp. *orthoceras* (Bedi & Donchev 1991) zur Bekämpfung von *Orobanche cumana*, oder anderer pathogener *Fusarium*-Rassen oder *Fusarium arthrosporioides* zur Bekämpfung von *Orobanche crenata* (Linke et al. 1992), *Orobanche ramosa* und *O. aegyptiaca* (Amsellem et al. 1999) waren zwar in Laborversuchen erfolgreich, aber die Herstellung eines Bioherbizids brachte viele praktische Probleme (Vermehrung der Pilze, Erzeugung von Dauerformen, Feldanwendung). Versuche wurden auch mit einem Rhizobacterium-Isolat, *Pseudomonas fluorescens* Bf7-9 in Algerien zur Bekämpfung von *Orobanche crenata* und *O. foetida* durchgeführt (Zermane et al. 2007).

Bodensterilisation durch Heißdampf-Injektion oder durch Erhitzen des Bodens mit Gasflammen wurde auf Tabakfeldern im Elsaß mit Erfolg erprobt. Diese Verfahren sind aber viel zu teuer.

Suizid-Keimung (Keimung in Abwesenheit eines Wirtes) der *Orobanche*-Samen kann durch Struktur-Analoga der Strigolactone ausgelöst werden.

Nijmegen-1 (Synthese durch die Arbeitsgruppe Zwanenburg an der Universität Nijmegen) wurde für die Feldausbringung konfektioniert und nach vorheriger Beregnung (für die Konditionierung der *Orobanche*-Samen) auf die Felder gesprüht. Mit bis zu 92 % Reduzierung des *Orobanche*-Befalls bei einmaliger Behandlung war dies sehr erfolgreich (Wegmann 2000, 2005)



Die Anwendung von Nijmegen-1 scheitert an den hohen Kosten für die Zulassung durch die Behörden.

Suizid-Keimung kann aber auch durch Trap Crops erfolgen, das sind Pflanzen, die die Keimung der *Orobanche*-Samen stimulieren, aber nicht parasitiert werden können. In einem mehrjährigen Versuch mit Flachs (*Linum usitatissimum*) auf einem sehr stark befallenen Tabakfeld in Altenheim, Baden-Württemberg, konnte das Samenpotential schon im ersten Jahr auf die Hälfte, in den nachfolgenden Jahren sehr bedeutend reduziert werden (Wegmann 2005). Der Flachs wird nach der Tabakernte ausgesät, und im Frühjahr abgefräst. Da fast alle Pflanzenwurzeln Strigolactone ausscheiden, wird man weitere Trap Crops ausfindig machen, mit denen man die verschiedenen *Orobanche* spp. bekämpfen kann (siehe z.B. Fernández-Aparicio 2008 und Fernández-Aparicio et al. 2008).

Langfristig besteht die beste *Orobanche*-Bekämpfung in der Züchtung resistenter Kulturpflanzen. Dies ist natürlich nur bei Kulturpflanzen möglich, bei denen Resistenzfaktoren bekannt sind, die der Züchter verwenden kann. Resistenz kann sich auf ganz unterschiedlichen Ebenen der *Orobanche*-Entwicklung auf der Wirtspflanze manifestieren.

Der Resistenz-Faktor „low stimulant“ vermeidet die *Orobanche*-Samenkeimung. Dieser schwache Resistenzfaktor hat für die Kulturpflanze den Nachteil, dass sie dann auch keine Mycorrhiza etablieren kann (siehe 5.5.1.).

Wenn sich im Wurzelexsudat der Kulturpflanze Keimungsinhibitoren für die *Orobanche* befinden, wäre dies auch ein Resistenzfaktor. Wie in dieser Arbeit gezeigt, könnte die Benzoesäure (siehe 3.6.6.6) eine solche Rolle spielen.

Wenn die Radicula auf eine Wirtswurzel trifft, heftet sie sich mit einem Appressorium an die Wurzel an und bildet ein Haustorium. Es gibt aber Beobachtungen, dass die Radicula gar nicht eindringen kann, z.B. *Orobanche cumana* an mehrjährige *Helianthus* spp. (Mikroskopische Beobachtungen von Edward Teryokhin in Wegmanns Department 1997, unveröffentlicht). Vermutlich spielen Inhibitoren der Polygalacturonase eine Rolle, mit der die Radicula die Mittellamelle des Wurzelgewebes auflöst und so eindringen kann.

Wenn das Haustorium eingedrungen ist, können in der Wirtswurzel Abwehrreaktionen in Gang gesetzt werden. Die Synthese von Phytoalexinen (Wegmann 1986, Wegmann et al. 1991), wenn sie schnell genug und in genügender lokaler Konzentration stattfindet, kann das eingedrungene *Orobanche*-Gewebe vergiften (Nekrose-Bildung).

Im weiteren Verlauf können sich Polysaccharid-Schleime, Lignine und Suberine ablagern, die den Zugang zum Xylem blockieren (Übersicht bei Pérez-Luque et al. 2008). Das *Orobanche*-Gewebe stirbt ab, weil die Wasser-versorgung unterbrochen ist.

Manche Kulturpflanzen besitzen keine guten Resistenzfaktoren, wie z.B. *Nicotiana tabacum* und *Vicia faba*. In diesen Fällen lohnt sich manchmal die Suche unter kreuzbaren wilden Verwandten der Kulturpflanzen, oder der Gentransfer eines Resistenzfaktors. Ideal wären hochresistente Kulturpflanzen, die gleichzeitig die *Orobanche*-Samen im Boden zur Keimung stimulieren, weil sie das *Orobanche*-Samen-Potential eliminieren würden.

Bei der Resistenzzüchtung darf nicht vergessen werden, dass auch der Parasit anpassungsfähig ist. Bei *Orobanche crenata* ist bekannt, dass beim Zellteilungsmechanismus ungewöhnlich viele Chromosomenaberrationen auftreten (Cubero 2003). Nicht nur dadurch kann sich der Parasit an immer neue Wirte anpassen, sondern weil er als Fremdbestäuber auch zahlreiche Hybriden bildet. Dies mag der Grund dafür sein, dass *Orobanche crenata* fast alle Leguminosen parasitiert.

Die Sonnenblume wird spezifisch von *Orobanche cumana* angegriffen. Erfolgreiche Resistenzzüchtung war möglich, weil bei *Helianthus annuus* gute

Resistenzfaktoren bekannt sind. *Orobanche cumana* hat aber besonders in den Anbaugebieten in Südost-Europa immer neue Pathotypen (die Rassen A – H) entwickelt (Păcureanu-Joița et al. 2006), die die Resistenz zunichte gemacht haben. Nur die konsequente züchterische Kombination von zwei unabhängigen Resistenzfaktoren kann dieses Problem lösen (Wegmann 2004). Păcureanu hat beim 9<sup>th</sup> World Congress on Parasitic Plants eine Sonnenblumensorte vorgestellt, die diesen Kriterien genügt.

Was zeichnet die „erfolgreichen“ Parasiten im Vergleich zu den seltenen, „erfolglosen“ Parasiten aus? Einige Aspekte sollen diskutiert werden.

Die landwirtschaftlichen Schädlinge wachsen alle in Monokulturen, die meist auch von Unkräutern freigehalten werden. Sie werden von den Wurzelexsudaten der Wirtspflanzen stimuliert, keimen aus und parasitieren nur auf dieser Pflanzenspecies. Die Konditionierungsphase ist für diese Orobanchen kein Problem, weil die Felder bewässert werden, falls es nicht regnet.

Die Radiculae entwickeln nach der Keimung der Orobanchen in wenigen Tagen eine beträchtliche Länge, die den Anschluss an eine Wirtswurzel mit hoher Wahrscheinlichkeit sicherstellt.

Die Landwirtschaftsschädlinge entwickeln eine riesige Samenzahl, die sich als Samenpotential im Boden anhäuft. Wenn eine einzige *Orobanche ramosa*-Pflanze nur 100.000 Samen produziert, und im nächsten Jahr nur 0.1 % dieser Samen auskeimen, wären dies immer noch 100 *Orobanche*-Pflanzen in der unmittelbaren Umgebung der *Orobanche*. Eine viel geringere Keimungsrate reicht also aus, um einen heftigen Befall der Wirtspflanze zu verursachen! Die übrigen Samen keimen später, manchmal Jahrzehnte später aus, wenn sie geeignete Bedingungen finden. Wegmann (pers. Mitteilung) hat ein dokumentiertes Beispiel dafür, dass *Orobanche ramosa* in Schwegenheim, Rheinland-Pfalz, auf Tabak 60 Jahre später aufgetreten ist, als dort wieder Tabak gepflanzt wurde.

*Orobanche ramosa* wurde in der vorliegenden Dissertation als Vertreter der schädlichen Orobanchen mit untersucht. Mindestens 96 % Keimungsrate und schnellwachsende lange Keimschläuche waren im Laborversuch charakteristisch.

Können sich *Orobanche* spp. der Spontanflora auf Kulturpflanzen ausbreiten?

Dazu gibt es zwei Beispiele. *Orobanche foetida* war früher nur in der Spontanflora der Iberischen Halbinsel bekannt. Durch Mutation hat sich diese *Orobanche* an Ackerbohne (*Vicia faba*) und Kichererbse (*Cicer arietinum*) in Tunesien (Román et al. 2007), in Marokko an Wicken (*Vicia sativa*) angepasst (Rubiales et al. 2005).

Durch Hybridisierung mit *Orobanche ramosa* wurde *Orobanche lavandulacea* zum Tabakschädling in Bulgarien (Schuchardt et al. 1998).

Charakteristik der seltenen Orobanchen:

Starke Abhängigkeit von klimatischen Bedingungen. Naturschutzgebiete werden nicht bewässert.

Weniger Samen, weil die Blütenstände nicht so viele Blüten besitzen wie die schädlichen Arten.

Reduzierung der Zahl reifer Samen durch Insektenbefall der Stängel. Die Keimungsraten zeigen nur die Keimung intakter Samen.

Kurze Radiculae (Keimschläuche) mit einer sehr geringen Wahrscheinlichkeit, dass eine Wirtswurzel erreicht wird.

Sehr enge Wirtsspezifität im Vergleich zu den Schädlingen.

Keimungshemmstoffe in der Rhizosphäre (Benzoessäure).

Suizidkeimung durch die Begleitflora. Dafür gibt es Hinweise in der vorliegenden Dissertation. Die Suizidkeimung verhindert den Aufbau eines Samenpotentials, das in späteren, klimatisch günstigen Jahren, zur Massenkeimung und damit zum Massenauftreten der *Orobanche* führt.

Zur Erhaltung der seltenen *Orobanche*-Arten wird vorgeschlagen, dass Naturschutzgebiete mit *Orobanche*-Vorkommen im Frühjahr bewässert werden, damit die Konditionierung und Keimung eintreten kann.

Zur Erhaltung der Orobanchen ist es vielleicht auch gerechtfertigt, ein Insektizid gegen minierende Insekten einzusetzen.

## 6. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

Bei umfangreichen Exkursionen wurden in Rumänien 13 der 22 dort heimischen *Orobanche*-Arten gefunden und ihre Fundorte studiert: *Orobanche alba*, *O. arenaria*, *O. caryophyllacea*, *O. coerulescens*, *O. elatior*, *O. gracilis*, *O. lucorum*, *O. lutea*, *O. minor*, *O. purpurea*, *O. reticulata*, *O. salviae* und *O. teucriti*. In Baden-Württemberg wurden von 21 der dort heimischen Arten 11 gefunden: *Orobanche alsatica*, *O. arenaria*, *O. caryophyllacea*, *O. elatior*, *O. hederiae*, *O. lutea*, *O. mayeri*, *O. minor*, *O. picridis*, *O. purpurea* und *O. teucriti*. Man muss feststellen, dass sowohl die Zahl der Fundorte als auch die Zahl der an Fundorten gezählten *Orobanche*-Pflanzen auf einen generellen Rückgang der Orobanchen in der Spontanflora hindeuten, der auf Veränderungen der natürlichen Bedingungen zurückgeführt werden kann.

Durch die Aufnahme der geographischen Koordinaten mit einem GPS-System wurden die Fundorte sehr genau definiert. Solche Daten sind in der bisherigen Literatur nicht vorhanden.

Die Klimaerwärmung spielt eine untergeordnete Rolle, sie wäre prinzipiell für die Orobanchen förderlich. Aus den gesammelten und ausgewerteten Wetterdaten für die Frühlingsmonate der vergangenen 3-4 Jahre an vier Fundorten ergab sich eine deutliche Tendenz zur Erwärmung und höheren Niederschlägen in den Monaten März bis Mai. Die Niederschläge sind über die Monate und Tage ungleichmäßig verteilt. In trockenen Frühlingsmonaten sind die Bedingungen für die Konditionierung und Keimung nicht gegeben.

Seltene *Orobanche* spp. haben biologische Nachteile im Vergleich zu den wenigen Landwirtschaftsschädlingen. Sie bilden weniger Samen, weil sie kleinere Blütenstände haben. Durch Insektenbefall (in Sibiu, Gârgovăț und in Hemsbach beobachtet) haben sie einen Teil der Samen durch Insektenfraß verloren, oder ein großer Teil der Samen war taub, weil sie bei der Reifung nicht mehr mit Wasser und Nährstoffen versorgt werden konnten. Dies zeigte sich bei den Keimungsversuchen unter standardisierten Laborbedingungen und wurde durch elektronenmikroskopische Untersuchungen bestätigt. Einige der

*Orobanche* spp. der Spontanflora (*Orobanche arenaria*, *O. gracilis* und *O. teucriti*) entwickeln nur kurze Radiculae (Keimschläuche), mit denen sie nur eine sehr geringe Chance haben, Kontakt mit einer Wirtswurzel zu bekommen und ein Haustorium zu entwickeln. Ihre Keimung mit zu kurzem Keimschlauch ist eine Suizidkeimung. Wie weit diese Eigenschaften auf mangelnden Genaustausch in den kleinen und isolierten Fundgebieten zurückzuführen sind, konnte nicht untersucht werden.

Wegen dieser biologischen Nachteile ist nicht zu befürchten, dass die seltenen Arten zu Landwirtschaftsschädlingen werden. Der Übergang zum Landwirtschaftsschädling könnte nur durch mutative Anpassung (*Orobanche foetida*) oder durch Hybridisierung (*Orobanche lavandulacea*) erfolgen.

Zahlreiche Keimungsversuche mit Wurzelexsudaten der jeweiligen Wirtspflanze, auch unter Zusatz potentieller Keimungsinhibitoren, oder Gibberellin, das möglicherweise das Längenwachstum der Keimschläuche fördern könnte, wurden durchgeführt. Das synthetische Keimungsstimulans GR 24 wurde in parallelen Versuchsreihen eingesetzt. Dabei hat sich herausgestellt, dass mehrere *Orobanche* spp. (*O. elatior*, *O. lutea* gar nicht, *O. hederiae* fast nicht) zur Keimung stimuliert werden. Dies ist deshalb von Bedeutung, weil GR 24 sehr häufig als Standard bei Keimungsexperimenten eingesetzt wird. Bei allen Keimungsexperimenten wurde die schädliche Art *Orobanche ramosa* zum Vergleich einbezogen.

Zur Erforschung allelopathischer Wechselwirkungen mit der Begleitflora wurden zahlreiche Analysen mittels HPLC mit UV/VIS-Diodenarray-Detektor und GC-MS durchgeführt. Bei etwa der Hälfte der untersuchten Wurzelexsudate und auch der Begleitflora war Benzoesäure ein wesentlicher Bestandteil. Ihre Identität wurde durch die Retentionszeit bei der HPLC-Trennung und durch das Absorptionsspektrum abgesichert. Keimungshemmstoffe der Zimtsäurefamilie konnten nicht nachgewiesen werden. Die Keimungshemmung wurde in den standardisierten Keimungsversuchen nachgewiesen. Dabei wurden aber deutliche Arten-Unterschiede in der Empfindlichkeit gegen Keimungsinhibitoren festgestellt.

Viel bedeutender als die Keimungshemmung wird die Suizidkeimung durch Wurzelexsudate der Begleitflora eingeschätzt. Fast alle Pflanzenwurzeln exsudieren Strigolactone, stimulieren die Keimung der *Orobanche*-Samen, werden dann aber nicht parasitiert. Dadurch wird im Boden kein Samenpotential aufgebaut, das in den nachfolgenden Jahren unter (zufällig) günstigen Bedingungen auskeimen könnte.

Aufgrund von Beobachtungen bei den Keimungsversuchen, dass Pilze aus dem Innern des Samens herauswachsen, wurden elektronenmikroskopische Untersuchungen durchgeführt, und nachdem dabei endophytische Ascomyceten gesehen wurden, wurde auch deren molekulargenetische Identifizierung durchgeführt. Es handelt sich zweifelsfrei um *Alternaria tenuissima* strain IA 285 und *Cladosporium* sp. Ob diesen Pilzen eine Rolle bei der Samenkeimung zukommt (Cézard 1969) bedarf weiterer Untersuchungen.

Erstmals wurden Strigolactone aus den Wurzelexsudaten von Wirtspflanzen von Orobanchen aus der Spontanflora isoliert und mit Hilfe der HPLC-Tandem-Massenspektrometrie identifiziert. Dabei wurden bekannte Strukturen in bisher nicht untersuchten Wirtspflanzen gefunden, aber auch Hinweise auf weitere Strigolactone, deren Strukturen noch nicht aufgeklärt sind. Diese Analysen haben gezeigt, dass die Wurzelexsudate spezifische Zusammensetzung von Strigolacton-Komponenten enthalten. Dies ist von großer Bedeutung, weil es die Hypothese stützt, dass die Wirtsspezifität der Orobanchen durch die Zusammensetzung der Strigolactone im Wurzelexsudat bestimmt wird.

REM-Analysen der Samenschalen-Oberfläche wurden durchgeführt. Dabei sollte geprüft werden, ob die Feinstruktur der Samenoberfläche zur Art-Identifizierung geeignet ist. Nach den vorliegenden Untersuchungen ist dies nicht der Fall. Lediglich die Unterscheidung der beiden Sektionen *Orobanche* und *Trionychon* (*Phelipanche*) ist eindeutig. Die Strukturen der Samenoberflächen bleiben im Boden lange erhalten. Deshalb war die Methode von verschiedenen Autoren vorgeschlagen worden, die Identifizierung der Samen aus dem Boden vorzunehmen, um landwirtschaftlich wichtige Entscheidungen treffen zu können (Auswahl der Kulturpflanze, Maßnahmen zur *Orobanche*-Bekämpfung).

## 7. BIBLIOGRAPHIE

1. Aalders A.J.G. & Pieters R. (1985) In vitro testing with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride of *Orobanche crenata* seed metabolism, FABIS Newsletter 13: 35-37
2. Aber M. (1984) Étude histo-cytologique et physiologique du couple *Orobanche crenata* Forsk. – *Vicia faba*. Thèse doctoral du Université Marie et Pierre Curie, Paris (Supervisor: Prof. Sallé)
3. Aber M., Fer A. & G. Sallé (1983) Étude du transfert des substances organiques de l'hôte (*Vicia faba*) vers le parasite (*Orobanche crenata* Forsk.). Transfer of organic substances from the host plant *Vicia faba* to the parasite *Orobanche crenata* Forsk. Zeitschrift für Pflanzenphysiologie 112: 297-308
4. Abu Sbaih H.A. & Jury S.L. (1994) Seed micromorphology and taxonomy in *Orobanche* (Orobanchaceae). Flora Mediterranea 4: 41-48
5. Abu-Irmaileh B.E. & Labrada R. (2006) The problem of *Orobanche* spp. in Africa and Near East. Integrated Pest Management, Weed Management: 1-10
6. Ågren J. (1996) Population size, pollinator limitation, and seed set in the self-incompatible herb *Lythrum salicaria*. Ecology 77: 1779-1790
7. Akiyama K. & Hayashi H. (2006) Strigolactones: Chemical signals for fungal symbionts and parasitic weeds in plant roots. Annals of Botany 97: 925-931
8. Akiyama K. (2007) Chemical identification and function analysis of apocarotenoids involved in the development of arbuscular mycorrhizal symbiosis. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry 71: 1405-1414
9. Akiyama K., Matsuzaki K.-I. & Hayashi H. (2005) Plant sesquiterpenes (including strigolactones) induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*. Nature 435: 824-827
10. Al-Menoufi O.A. (1982) Studies on *Orobanche* ssp. 1. Self inhibition of *O. crenata* seed germination. Alexandria Journal of Agricultural Research 31: 311-322
11. Al-Menoufi O.A., Adam M.A. & El-Safwani N.A. (1996) Biological and chemical inhibition of *Orobanche* seed germination. In: Moreno M.T., Cubero J.I., Berner D., Joel D., Musselman L.J. & Parker C. (eds) Advances in Parasitic Plant Reserarch, Proceedings of the 6<sup>th</sup> Parasitic Plant Congress, Cordoba: 417-423
12. Altschul S.F., Madden T.L., Schäffer A.A., Zhang J., Zhang Z., Miller W. & Lipman D.J. (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acid Research 25: 3389-3402
13. Amsellem Z., Zidack N.K., Quimby jr. P.C. & Gressel J. (1999) Long term dry preservation of active mycelia of two mycoherbicidal organisms. Crop Protection 18: 643-649

14. Andary C. (1994) Chemotaxonomical study of the genus *Orobancha*. In: Pieterse A.H., Verkleij J.A.C. & ter Borg S.J. (eds) *Biology and Management of Orobancha*. Proceedings of the Third International Workshop on *Orobancha* and related *Striga* research, Amsterdam
15. Andronache A. (2006) Cercetări morfologice și histo-anatomice referitoare la unele plante semiparazite și parazite din flora României. Teză de Doctorat (cond.șt.C.Toma), Universitatea „Al.I.Cuza” Iași
16. Anghel Gh., Nyárády A., Păun M., Grigore St. (1975) *Botanica*, Editura Didactică și Pedagogică, București
17. Antoniow J.F. & Pierpoint W.S. (1978) Purification of a tobacco leaf protein associated with resistance to virus infection. *Biochemical Society Transaction* 6: 248-250
18. Antonova T.S. (1994) Biochemical aspects of the development of new virulent forms in the Moldavian population (race C) of *Orobancha cumana* Wallr. against the background of resistant sunflower cultivars. In: Pieterse A.H., Verkleij J.A.C. & ter Borg S.J. (eds) *Biology and Management of Orobancha*. Proceedings of the Third International Workshop on *Orobancha* and related *Striga* research, Amsterdam, The Netherlands
19. Antonova T.S., Schuchardt B. & Wegmann K. (1996) The time course of enzymes exuded from *Orobancha cumana* radicles. In: Moreno M.T., Cubero J.I., Berner D., Joel D., Musselman L.J. & Parker C. (eds) *Advances in Parasitic Plant Research*, Proceedings of the Sixth International Parasitic Weed Symposium, Cordoba, Spain
20. Antonova T.S. & ter Borg S.J. (1996), The role of peroxidase in the resistance of sunflower against *Orobancha cumana* in Russia. *Weed Research* 36: 113-121
21. Ardelean A. (1999) *Flora și vegetația din Valea Crișului Alb - de la izvoare până la ieșirea din țară*. „Vasile Goldiș” University Press, Arad
22. Ardelean A. (2006) *Flora și vegetația județului Arad*. Editura Academiei Române, București: 251-252
23. Ardelean A. & Mohan Gh. (2006) *Botanică sistematică*. „Vasile Goldiș” University Press, Arad
24. Attawi F.A.J. (1977) *Morphologisch-anatomische Untersuchungen an Haustorialorganen von Orobancha-Arten*. Dissertation Universität Gießen
25. Awad A.A., Sato D., Kusumoto H., Kamioka K., Takeuchi Y. & Yoneyama K. (2006) Characterization of strigolactones, germination stimulants for the root parasitic plants *Striga* and *Orobancha*, produced by maize, millet and sorghum. *Plant Growth Regulation*
26. Baccarini A. & Melandri B. (1967) Studies on *Orobancha hederæ*, physiology, pigments and CO<sub>2</sub> fixation. *Physiologia Plantarum* 20: 245-250
27. Bäcker M. (1997) *Exoenzyme der Keimschläuche parasitischer Samenpflanzen der Familie Scrophulariaceae*. Diplom-Arbeit Tübingen (Supervisor: Prof. Wegmann)

28. Barber D.A. & Gunn K.B. (1974) The effect of mechanical forces on the exudation of organic substances by the roots of cereal plants grow under sterile conditions. *New Phytologist* 73: 39-45
29. Bar-Nun N. & Mayer A.M. (1993) Preconditioning and germination of *Orobanche* seeds: Respiration and protein synthesis. *Phytochemistry* 34: 39 – 45
30. Bar-Nun N., Ben-Hod G., Lavi E. & Mayer A.M. (1996) Purification of pectin methylesterase from *Orobanche aegyptiaca* seeds. *Phytochemistry* 41: 403- 406.
31. Bartoc P. (1969) Plante folosite în scopuri medicinale în comunele și satele de lângă Carei. *Comunicări de botanică*, VIII, București: 125-143
32. Baumann I. (1996) Exoenzyme der Keimschläuche der parasitischen Samenpflanzen *Striga hermonthica* (Del.) Benth. und *Orobanche ramosa* L. (Scrophulariaceae). Diplomarbeit Universität Tübingen (Supervisor: Prof. Wegmann)
33. Bayrhuber H. & Uhlich K. (1998) *Linder Biologie*, Schroedel Verlag, Hannover
34. Beck von Mannagetta G. (1930) *Orobanchaceae*. In: Engler A (ed) *Das Pflanzenreich, Regni vegetabilis conspectus*, vol. IV. Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig
35. Beck-Mannagetta G. (1890) *Monographie der Gattung Orobanche*. In: Luerssen C. & Haenlein F.H. (eds.): *Bibliotheca Botanica* 19. Cassel: Theodor Fischer Verlag
36. Bedi J.S. & Donchev N. (1991) Results of mycoherbicide control of sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) under glasshouse and field conditions. In: Ransom J.K., Musselman L.J., Worsham A.D. & Parker C. (eds) *Proceedings of the 5th International Symposium on Parasitic Weeds*. CIMMYT, Nairobi, S. 76-82
37. Beldie Al. (1979) *Flora României. Determinator ilustrat al plantelor vasculare*. II. Editura Academiei R.S. România: 120-123
38. Ben-Hod G, Losner D., Joel D.M.& Mayer A.M. (1993) Pectin methylesterase in calli and germinating seeds of *Orobanche aegyptiaca*. *Phytochemistry* 32: 1399-1402
39. Ben-Hod G., Bar-Nun N., Tsaban S. & Mayer A.M. (1997) Inhibitors of polygalacturonase in calli of *Orobanche aegyptiaca*. *Phytochemistry* 45: 1115-1121
40. Bergmann C. (1992) *Allelopathische Induktion der Keimung von Orobanche crenata*. Dissertation Universität Tübingen (Supervisor: Prof. Wegmann)
41. Bergmann C., Wegmann K., Frischmuth K., Samson E., Kranz A., Weigelt D., Koll P. & Welzel P. (1993) Stimulation of *Orobanche crenata* seed germination by (+)-strigol and structural analogues. Dependence on constitution and configuration of the germination stimulants. *Journal of Plant Physiology* 142: 338-342
42. Berner D.K., Winslow M.D., Awad A.E., Cardwell K.F., Mohan Raj D.R. & Kim S.K. (1997) *Striga Research Methods - A manual*, International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria:25-35

43. Besserer A., Puech-Pagès V., Kiefer P., Gomez-Roldan V., Jauneau A., Roy S., Portais J.-C., Roux C., Bécard G. & Sejalon-Delmas N. (2006) Strigolactones at a concentration of  $10^{-13}$  M activate mitochondrial activity in *Gigaspora rosea*, *Glomus intraradices* and *Gl. claroideum*. *PloS Biol.* 4: 1239-1247
44. Bischof F. (1984) Untersuchungen zur Bestimmung der Keimfähigkeit von Samen einiger *Orobanche*-Arten. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Sonderheft X*: 105-107
45. Bischoff F. & Koch W. (1973) Comparative studies of extracellular fungal laccases. *Applied and Environmental Microbiology*, 48: 848-854
46. Blaga G., Filipov F., Rusu I., Udrescu S. & Vasile D. (2005) *Pedologie*. Editura Academic Press, Cluj - Napoca
47. Borza Al. (1968) *Dictionar etnobotanic*. Editura Academiei R.S.R.
48. Borcherd C. (1993) *Geographische Landeskunde von Baden-Württemberg*, Stuttgart: Landeszentrale für politische Bildung Baden-Württemberg
49. Boşcaiu N., Coldea G. & Horeanu C. 1994. Lista Roşie a plantelor vasculare dispărute, periclitare, vulnerabile și rare din flora României. *Ocotirea Naturii* 38(1): 45-56
50. Breuning T. & Demuth S. (1999) Rote Liste der Farn und Samenpflanzen Baden-Württembergs. Herausgeber: Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg
51. Brooks M.E. (1995) Untersuchungen zur Enzymausschüttung der Keimschläuche der parasitischen Blütenpflanzen *Orobanche crenata* Forsk. und *Striga hermonthica* L. Kuntze (Scrophulariaceae). Diplomarbeit Universität Tübingen (Supervisor: Prof. Wegmann)
52. Brooks W.D., Bevinaketti H.S. & Powell D.R. (1985) The absolute structure of (+)-strigol. *Journal of Organic Chemistry* 50: 3779-3781
53. Brown R., Greenwood A.D., Johnson A.W., Long A.G. & Tyler G.J. (1951) The stimulant involved in the germination of *Orobanche minor* Sm. 2. Chromatographic purification of crude concentrates. *Biochemical Journal* 48: 564-568
54. Brown R., Johnson A.W., Robinson E. & Tyler G.J. (1952) The *Striga* germination factor. 2. Chromatographic purification of crude concentrates. *Biochemical Journal* 50: 596-600
55. Buck L. & Axel R. (1991) A novel multigene family may encode odorant receptors: A molecular basis for odor recognition. *Cell* 65: 175-187
56. Buia Al. (1961) Fam. Orobanchaceae. In: T. Savulescu, & Nyarady E.I. *Flora R.P.România, VIII*, Editura Academiei R.P.Române: 33-71
57. Buiuc M. & Vulcan M. (1997) *Topoclimatele pe Dealul Guşteriţei – Fântâna Rece*, Universitatea Lucian Blaga, Sibiu

58. Burescu P. (1998) Lista roșie a plantelor din nord-vestul României. Fitotaxoni noi și rari. În Flora României rouge des plantes du Nord/ouest/ de la Roumanie. Des nouveaux phytotaxons et des espèces rares dans la flore de la Roumanie. Aletheia, Stud. Cercet. - Rev. Ști. Biolog. Interdisc., Univ. Oradea 9: 204-209
59. Butler L.G. (1995) Chemical communication between the parasitic weed *Striga* and its crop host. A new dimension of allelochemistry. In: Inderjit, Dakshini K.M.M. & Einhellig F.A. (eds) Allelopathy – Organisms, Processes, and Applications. ACS Symposium Series No. 582: 158-168
60. Buttler K.P. & Harms K.H. (1998) Florenliste von Baden-Württemberg
61. Caspary R. (1854) Über Samen, Keimung, Specien und Nährpflanzen der Orobanchen: 577-588
62. Carlón L., Gómez Casares G., Láinz M., Moreno Moral G. & Sanchez Pedraja O. (2001) A propósito de algunas *Orobanche* (Orobanchaceae) del noroeste peninsular y de su tratamiento en FLORA IBERICA vol. XIV. Jardín Botánico Atlántico Documentos No. 1
63. Carlón L., Gómez Casares G., Láinz M., Moreno Moral G., Sanchez Pedraja O. & Schneeweiss G.M. (2005) Más, a propósito de algunas *Orobanche* L. y *Phelipanche* Pomel (Orobanchaceae) de oeste del Palearctico. Jardín Botánico Atlántico Documentos No. 3
64. Cézard R. (1969) Présence de Mycorrhizes endotrophes chez les Orobanchées. Bulletin de l'École Nationale Supérieure Agronomique de Nancy, Tome XI, Fascicule I-II: 36-40
65. Cézard R. (1973) Quelques aspects particuliers de la biologie des Orobanches. In : Proceedings of the Symposium on Parasitic Weeds, Malta: 55-67
66. Chater O.A. & Webb D.A. (1972) Orobanchaceae. In: Tutin T.G., Heywood V.H., Burges N.A., Moore D.M., Valentine D.H., Walters S.M. & Webb D.A. (eds) Flora Europaea 3, Cambridge University Press, Cambridge: 285-293
67. Chen, J.-P. (1991) Biologische und chemische Untersuchungen über die Ursachen der Resistenz von Lein (*Linum usitatissimum*) gegen *Orobanche*. Diplomarbeit Universität Tübingen (Supervisor: Prof. Wegmann)
68. Ciocârlan V. (2000) Flora Ilustrată a României. Pteridophyta et Spermatophyta. Editura Ceres, București: 716 – 723
69. Ciutina V. (2004) Biometeorologie și Bioclimatologie, Editura Mirton, Timișoara: 88-110
70. Claussen M. (2003) Klimaänderungen: Mögliche Ursachen in Vergangenheit und Zukunft. In: Beitragserie Klimaänderung und Klimaschutz, UWS 15: 21-29
71. Cook C.E., Wichard L.P., Turner B., Wall M.E. & Egley G.H. (1966) Germination of witchweed (*Striga lutea* Lour.): Isolation and properties of a potent stimulant. Science 154: 1189-1190

72. Cook C. E., Wichard L. P., Wall M. E., Egley G. H., Coggon P., Luhan P. A. & McPhail A. T. (1972) Germination stimulants. II. The structure of strigol – A potent seed germination stimulant for witchweed (*Striga lutea* Lour.). *Journal of the American Chemical Society* 94: 6198-6199
73. Cristea V., Gafta D. & Pedrotti F. (2004) *Fitosociologie*. Editura Presa Universitară Clujeană
74. Croes A.F. (1994) Germination of *Orobanche aegyptiaca* and *Orobanche crenata* stimulated in vitro by isolated roots: a comparative study. In: Pieterse A.H., Verkleij J.A.C. & ter Borg S.J. (eds) *Biology and Management of Orobanche*. Proceedings of the Third International Workshop on *Orobanche* and related *Striga* research. Amsterdam: 157-168
75. Croes A.F., Schapendonk W., Jansen F., Stommen P., Bentsink L., Zwanenburg B. & Wullems G. J. (1994) *Orobanche* seed germination by isolated roots. In: Pieterse A.H., Verkleij J.A.C. & ter Borg S.J. (eds) *Biology and Management of Orobanche*. Proceedings of the Third International Workshop on *Orobanche* and related *Striga* research, Amsterdam 1993
76. Cubero J.I. (1996) Cytogenetics in Orobanchaceae: A Review. In: Moreno M.T., Cubero J.I., Berner D., Joel D., Musselman L.J. & Parker C. (eds) *Advances in Parasitic Plant Research*, Proceedings of the Sixth International Parasitic Weed Symposium, Cordoba, Spain: 76-96
77. Cubero J.I. (2003) Phylogeny of the genus *Orobanche* inferred from cpDNA sequence variation. COST 849 Meeting, Athen
78. De Luque A.P., Galindo J.C.G., Macias F.A. & Jorrín J. (2000) Sunflower sesquiterpene lactone models induce *Orobanche cumana* seed germination. *Phytochemistry* 53 : 45-50
79. de Pamphilis C.W. (1995) Genes and Genomes. In: Press M.C & Graves J.D. (eds.) *Parasitic Plants*. London: Chapman & Hall: 177–205
80. Deif H.A.R., Al-Menoufi O.A. & Ahmed M.F. (2000) A taxonomic study on the populations of three common species of the genus *Orobanche* L. (Orobanchaceae) in Egypt. 2. Macro- and micromorphology of the seeds and their taxonomic implications. In: Nordernstam B., El Ghazaly G. & Kassas M. (eds) *Plant Systematics for the 21th Century*. Portland Press, London: 251-266
81. Demuth S. (1990) Über einige seltene *Orobanche*-Arten an der Badischen Bergstraße. In: 24. Hessischer Floristentag, Band XIII, Heft 1: 2-7
82. Demuth S. (1992) Über einige seltene *Orobanche*-Arten (Orobanchaceae) in Baden-Württemberg. *Carolinaea* 50: 57-66
83. Demuth S., Kleinsteuber A., Lange D., Philippi G., Siegmund S., Voggesberger M. & Wörz A. (1996) *Die Farn- und Blütenpflanzen Baden-Württembergs*, Band 5, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart: 361-399

84. Dihoru G. & Dihoru Alexandrina (1994) Plante rare, periclitare și endemice în Flora României - Lista roșie. Acta Bot. Horti Bucureștiensis /1993-1994/: 173-197.
85. Dirar H.A. (1995) Bacteria that scavenge germination stimulants? Haustorium 30: 1
86. Dixon R.A., Dey P.M. & Lamb C.J. (1983) Phytoalexins - enzymology and molecular biology. Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology 55: 1-136
87. Dor E., Lati R. & Hershenhorn J. (2006) Interaction between *F. oxysporum* f. sp. *orthoceras* and *Fusarium solani* - two *Orobanche cumana* biocontrol agents. Abstracts COST 849 Meeting, Oeiras, Portugal: 21
88. Dörr I. & Kollmann R. (1974) Strukturelle Grundlage des Parasitismus bei *Orobanche*. I. Wachstum der Haustorialzellen im Wirtsgewebe. Protoplasma 80: 245-259.
89. Dörr I. & Kollmann R. (1975) Strukturelle Grundlage des Parasitismus bei *Orobanche*. II. Die Differenzierung der Assimilatleitungsbahnen im Haustorialgewebe. Protoplasma 83: 185-199
90. Dörr I. & Kollmann R. (1976) Strukturelle Grundlage des Parasitismus bei *Orobanche*. III. Die Differenzierung des Xylemanschlusses bei *Orobanche crenata*. Protoplasma 89: 235-249
91. Dörr I. & Kollmann R. (1995) Symplastic sieve element continuity between *Orobanche* and its host. Botanica Acta 108: 47-55
92. Drăgulescu C. & Bude M.C. (1999) Dinamica vegetației din Rezervația "Dealul Zakei" (Jud.Sibiu). Acta oecologica, vol.6, nr. 1-2: 45-52
93. Drăgulescu C. (2003) Cormoflora județului Sibiu. Ed. Pelecanus, Brașov: 313-314
94. Economou G. & Lyra D. (2006) Marine algae as a means for *Orobanche* biocontrol. Abstracts, COST 849 meeting, Oeiras, Portugal: 38
95. Economou G., Lyra D., Shirakoglou K. & Fasseas K. (2007) Induced germination of *Orobanche ramosa* seeds by *Ascophyllum nodosum*. Phytoparasitica 35: 367-375
96. Evidente A., Fernández-Aparicio M., Andolfi A., Rubiales D. & Motta A. (2007) Trigoxazonane, a monosubstituted trioxazonane from *Trigonella foenum-gracum* root exudate, inhibits *Orobanche crenata* germination. Phytochemistry 68: 2487-2492
97. Fahmy G. M., Tantawy H. & El-Abd El-Ghani M.M. (1996) Distribution, host range and biomass of two species of *Cistanche* and *Orobanche cernua* parasitizing the roots of some Egyptian xerophytes. Journal of Arid Environments 34: 263-276
98. Fernández-Aparicio Ruiz, M. (2008) Control de jopa y enfermedades foliares en leguminosas mediante resistencia genética y prácticas culturales. Tesis Doctoral, Universidad de Cordoba : 79-100
99. Fiehr O., Kopka J., Thrathaway R.N. & Willmitzer I. (2000) Identification of uncommon plant metabolites bound on calculation of elemental composition using gas chromatography and quadrupole mass spectrometry. Analytical Chemistry 72: 3573-3580

100. Foley M.J.Y. (2001) *Orobanchae*. In: Paiva J., Sales F., Hedge I.C., Aedo C., Aldasoro J. Castroviejo S., Herrero A. & Velajos M. (eds) *Flora Iberica* 14. CSIC, Madrid: 32-72
101. Gilli A. (1980) Neue *Orobanchae*-Fundorte auf den Kanarischen Inseln. Feddes Report 91: 115
102. Goga I.D. (2007) Contribuție la flora Depresiunii Bozovici. In: *Analele Grădinii Botanice Universitare Macea, Macea-Arad*, 1: 116-140
103. Gollberg J., Jousson P., Nordstrøm A., Sjøstrøm M. & Moritz T. (2004) Design of experiments: an efficient strategy to identify factors influencing extraction and derivatization of *Arabidopsis thaliana* samples in metabolomic studies with gas chromatography/mass spectrometry. *Analytical Biochemistry* 331: 283-295
104. Gomez-Roldan V., Fermas S., Brewer P.B., Puech-Pagès V., Dun E.A., Pillot J.-P., Letisse F., Matusova R., Danoun S., Portais J.-C., Bouwmeester H., Bécard G., Beveridge C.A., Rameau C. & Rochange S.F. (2008) Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature* 455: 189-194
105. Gonsior G. (2005) Pathogenitätsfaktoren und induzierte Resistenz in der Interaktion von *Orobanchae ramosa* L. und *Nicotiana tabacum* L. Dissertation Universität Hohenheim (Supervisor: Prof. Sauerborn)
106. Gonzalez-Verdejo C.-I., Barandiaran X., Moreno M.T., Cubero J.I. & Di Pietro A. (2005) An improved axenic system for studying pre-infection development of the parasitic plant *Orobanchae ramosa*. *Annals of Botany* 96: 1121-1127
107. Greilhuber J. & Weber A. (1975) Aneusmaty in *Orobanchae gracilis*. *Plant Systematics and Evolution* 124: 66-77
108. Griggs R.F. (1940) The ecology of rare plants, *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 67: 575-594
109. Grințescu I. (1985) *Botanica*. Editura Științifică și Enciclopedică București: 254-339
110. Hahlbrock K. & Schell D. (1989) Physiology and molecular biology of phenylpropanoid metabolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 40: 347-369
111. Haidar M.A., Bibi W. & Abdel-Khalek N. (1995) Effect of wheat and barley residues on branched broomrape (*Orobanchae ramosa*) growth and development in potatoes. In: *Brighton Crop Protection Conference – Weeds*: 871 – 876
112. Hantel M., Kraus H., Schönweise C.-D. (1987) Climate definition. In: Fischer G. (Editor), *Landolt-Börnstein Numerical Data and Functional Relationships in Science and Technology*, Subvolume c1, *Climatology*, Springer Verlag, Berlin: 1-28
113. Harloff H.-J. & Wegmann K. (1987) An approach to the osmotic adaptation of *Orobanchae*. In: Mutter W., Rapp R., Safayhi H. & Schubert R. (eds) *Proceedings of MoBBEL, 2nd Internat. Autumn Meeting, Niederhasslach, France*: 66-70

114. Harloff, H.-J. (1991) Die Bedeutung des Mannitstoffwechsels für die osmotische Anpassung in *Orobanche ramosa* und *Orobanche crenata*. Dissertation Universität Tübingen (Supervisor: Prof. Wegmann)
115. Harloff H.J. & Wegmann K. (1993) Evidence for a mannitol cycle in *Orobanche ramosa* and *Orobanche crenata*. *Journal of Plant Physiology* 141: 513-520
116. Hauck C. & Schildknecht H. (1990) Separation of enantiomers of the germination stimulant strigol on cellulose triacetate and determination of their biological activity. *Journal of Plant Physiology* 136: 126-128
117. Hauck C. (1990) Ein hochaktives Keimungsstimulans für Samen von Schmarotzerpflanzen der Arten *Striga hermonthica* und *Striga asiatica* aus Wurzelexsudaten der Hirse *Sorghum bicolor* L. Dissertation Universität Heidelberg (Supervisor: Prof. Schildknecht)
118. Hauck C., Müller S. & Schildknecht H. (1992) A germination stimulant for parasitic flowering plants from *Sorghum bicolor*, a genuine host plant. *Journal of Plant Physiology* 139: 474-478
119. Hayat M.A. (2000) Electron microscopy: Biological applications. New York and Cambridge University Press
120. Heather J.B., Mittal R.S.D. & Shi C.J. (1974) The total synthesis of dl-strigol: *Journal of the American Chemical Society* 96: 1976-1977
121. Hennig W. (1981) Fixation for electron microscopy. New York, Academic Press
122. Hershenthorn J., Dor E., Alperin B., Lati R., Eizenberg H., Lande T., Andary G., Graph S., Kapulnik Y. & Vining S. (2006) Integrated broomrape control - resistant lines, chemical and biological control and sanitation - can we combine them together? Abstracts COST 849 Meeting, Oeiras, Portugal: 36
123. Hess D. (1999) Pflanzenphysiologie. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart
124. Heywood V.H. (ed) (1993) Flowering Plants of the World. B.T. Batsford Ltd. London
125. Holappa L.D. & Blum U. (1991) Effects of exogenously applied ferulic acid, a potential allelopathic compound, on leaf growth, water utilization, and endogenous abscisic acid levels of tomato, cucumber, and bean. *Journal of Chemical Ecology* 17: 865-886
126. Hsiao A.I., Worsham A.D. & Moreland D E. (1988) Effects of chemicals often regarded as germination stimulants on seed conditioning and germination of resistance to *Orobanche cumana* in sunflower. *Phytopatology* 83:1250-1252
127. Hupfer P. (1996) Unsere Umwelt: Das Klima: Globale und lokale Aspekte. Teubner Verlag: 18-189
128. Izard C. (1957) Sur la germination de l'*Orobanche* parasite du tabac. *Bulletin de la Société Française pour Physiologie Végétale* 3: 92-93
129. Jinga V., Iliescu H., Stănescu V. & Grădilă M. (2006) Control of broomrape on tobacco crops in Romania. Abstracts COST 849 Meeting, Oeiras, Portugal: 39-40

130. Joel D.M. (1987) Identification of *Orobanche* seeds. In: Weber H.-C. & Forstreuter W. (eds) Parasitic Flowering Plants. Proceedings of the Forth International Symposium on Parasitic Flowering Plants, Philipps-Universität Marburg: 437-444
131. Joel D.M. (1988) *Orobanche cumana*, a new adventive weed in Israel. *Phytoparasitica* 16: 375
132. Joel D.M. (1988) A key for the identification of *Orobanche* seeds. *Phytoparasitica* 16: 376-377
133. Joel D. (1991) Seed conditioning and its role in *Orobanche* seed germination In: Wegmann K. & Musselman L.J. (eds) Progress in *Orobanche* Research, Proceedings of the International Workshop on *Orobanche* Research, Obermarchtal, Germany: 147-156
134. Joel D.M. & Losner-Goshen D. (1994) Early host-parasite interaction: models and observations of host root penetration by the haustorium of *Orobanche*. In: Pieterse A.H., Verkleij J.A.C. & ter Borg S.J. (eds) Biology and Management of *Orobanche*. Proceedings of the Third International Workshop on *Orobanche* and related *Striga* research, Amsterdam: 237-247
135. Joel D.M., Portnoy V. & Katzir N. (1996) Identification of single tiny seeds of *Orobanche* using RAPD analysis. *Plant Molecular Biology Reporter* 14: 243-248
136. Joel D.M. & Portnoy V.H., (1998) The angiospermous root parasite *Orobanche* L. (Orobanchaceae) induces expression of a pathogenesis related (PR) gene in susceptible tobacco roots. *Annals of Botany* 81(6): 779-781
137. Johnson A.W., Rosebery G. & Parker C. (1976) A novel approach to *Striga* and *Orobanche* control using synthetic germination stimulants. *Weed Research* 16: 223-227
138. Johnson A.W., Gowda G., Hassanali A., Knox J., Monaco S., Razavi Z. & Rosebery G. (1981) The preparation of synthetic analogues of strigol. *Journal of the Chemical Society, Perkin I*: 1734-1743
139. Jones M. (1989) Studies into the pollination of *Orobanche* species in the British Isles. (2nd) International Workshop on *Orobanche* Research, Obermarchtal: 6-17
140. Jones M. (1989) Taxonomic and ecological studies on the genus *Orobanche* in the British Isles. PhD Thesis University of Liverpool
141. Kebreab E. & Murdoch A.J. (1999) Effect of temperature and humidity on the longevity of *Orobanche* seeds. *Weed Research* 39: 199-211
142. Keyes W.J., Taylor J.V., Apkarian R.P. & Lynn D.G. (2001) Dancing together. Social controls in parasitic plant development. *Plant Physiology* 127: 1508-1512
143. Kharrat M., Habile M.H., Linke K.H. & Hadder .T (1992) First report of *Orobanche foetida* Poiret on faba bean in Tunisia. *FABIS Newsletter* 30: 46-43
144. Klein O. & Kroschel J. (2002) Biological control of *Orobanche* spp. with *Phytomyza orobanchia*, a review. *Biocontrol* 47: 245-277

145. Knuth P. (1899) Handbuch der Blütenbiologie, II. Band, Teil 2. Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig: 210-212
146. Koch L. (1878) Die Entwicklung des Samens der *Orobanche*. Jahrbücher der Wissenschaftlichen Botanik 11: 218 -261
147. Koch L. (1883) Untersuchung über die Entwicklung der *Orobanche*. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 1: 188-202
148. Koch L. (1887) Die Entwicklungsgeschichte der Orobanchen mit besonderer Berücksichtigung ihrer Beziehungen zu den Kulturpflanzen, Heidelberg
149. Kuijt J. (1969) The Biology of Parasitic Flowering Plants. Berkeley, CA: University of California Press, USA
150. Labrada R. (2000) An overview of parasitic weed control. In: The III. International Weed Control Congress, Brasilia
151. Linke K.-H., Sauerborn J. & Saxena M. (1989) *Orobanche* Field Guide. University of Hohenheim
152. Linke K.-H., Scheibel C., Saxena M.C. & Sauerborn J. (1992) Fungi occurring on *Orobanche* spp. and their preliminary evaluation for *Orobanche* control. Tropical Pest Management 238: 127-130
153. Lopez-Granados F. & Garcia-Torres L. (1999) Longevity of crenate broomrape (*O. crenata*) seed under soil and laboratory conditions. Weed Science 47:161-166
154. Lopez-Granados F. & García-Torres L. (1996) Effects of environmental factors on dormancy and germination of crenate broomrape (*O. crenata*). Weed Science 44: 284-289
155. Losner-Goshen D., Portnoy V.H., Mayer A.M. & Joel D.M. (1998) Pectolytic activity by the haustoria of the parasitic plant *Orobanche* L. (Orobanchaceae) in host roots. Annals of Botany 81: 319-326
156. Macías F.A., García-Díaz M., Carrera C., Pérez-de-Luque A., Rubiales D. & Galindo J.C.G. (2005) Synthetic studies on germination stimulants of *Orobanche* species. In: The Fourth World Congress on Allelopathy, Australia
157. Macías A.F., García-Díaz D. M, Jorrín J. & Galindo J.C.G. (2006) Playing with chemistry: studies on *Orobanche* spp. germination stimulants. In: Reigosa M.J., Pedrol N. & González L. (eds) Allelopathy: A Physiological Process with Ecological Implications: 495-510
158. Mathews S. (2005) Phytochrome evolution in green and nongreen plants. Journal of Heredity 96: 197-204
159. Matusova R., Van Mourik T.& Bouwmeester J. (2004) Changes in the sensitivity of parasitic weed seeds to germination stimulants. Seed Science Research 14: 335-344
160. Mauseth J.D. (1991) Botany. An Introduction to Plant Biology. Saunders College Publishing: 731-737

161. McAlpine G.A., Raphael R.A., Shaw A., Taylor A.W. & Wild H.-J. (1974) Synthesis of the germination stimulant ( $\pm$ )-strigol. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*: 834-835
162. Menges E.S. (1991) Seed germination increases with population size in a fragmented prairie species. *Conservation Biology* 5: 158-164
163. Mohan Gh., Ardelean A. & Georgescu M. (1993) Rezervații și monumente ale naturii din România. Casa de Editură și Comerț SCAIUL, București: 50-114
164. Müller S. (1991) Keimungsstimulantien für Samen von Schmarotzerpflanzen der Arten *Alectra vogelii* und *Striga gesnerioides* aus Wurzelexsudaten von *Vigna unguiculata* (L.) Dissertation Universität Heidelberg (Supervisor: Prof. Schildknecht)
165. Müller S., Hauck C. & Schildknecht H. (1992) Germination stimulants produced by *Vigna unguiculata* Walp cv. Saunders Upright. *Journal of Plant Growth Regulations* 11: 77-84
166. Mullis K., Faloona F. & Scharf S. (1986) Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 51: 263-273
167. Musselman L.J. & Mann W.F. (1976) A survey of surface characteristics of seeds of Scrophulariaceae and Orobanchaceae using scanning electron microscopy. *Phytomorphology* 26: 370-378
168. Musselman L.J., Parker C. & Dixon N. (1981) Notes on autogamy and flower structure in agronomically important species of *Striga* (Scrophulariaceae) and *Orobanche* (Orobanchaceae). *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* 56: 329-343.
169. Musselman L.J. (1994) Taxonomy and spread of *Orobanche* In: Pieterse A.H., Verkley J.A.C. & ter Borg S.J. (eds) *Biology and Management of Orobanche*. Proceedings of the Third International Workshop on *Orobanche* and related *Striga* research, Amsterdam, The Netherlands
170. Nakagawa T., Sakurai T., Nishioka T. & Touhara K. (2005) Insect sex-pheromone signals mediated by specific combinations of olfactory receptors. *Science* 307: 1638-1642
171. Negrean G. (2001) Lista roșie a plantelor din România existente în pajiști (inclusiv endemite și subendemite). Pp. 30-58. In: G. Coldea, G. Negrean, I. Sârbu & A. Sârbu. 2001. Ghid pentru identificarea și inventarierea pajiștilor seminaturale din România. București Edit. Alo: 58
172. Negrean G. (2006) Lista roșie a plantelor din România existente în pajiști (inclusiv endemite și subendemite) (Tracheophyta). Alcătuită de G. Negrean după literatură și informații proprii. In: G. Mohan & A. Ardelean, Parcuri și rezervații naturale din România; București: Edit. Victor B Victor: 323-342

173. Nickrent D.L., Duff R.J., Colwell A.E., Wolfe A.D., Young N.D., Steiner K.E. & dePamphilis C.W. (1997) Molecular phylogenetic and evolutionary studies of parasitic plants. In: Soltis D.E., Soltis P.S., Doyle J.J. (eds.) *Molecular Systematics of Plants II. DNA Sequencing*. Boston: Kluwer Academic Publishers: 211–241
174. Novopokrovski I.V. (1958) Fam. Orobanchaceae. In: *Flora U.R.S.S.*, XXIII: 2-117
175. Okazawa A., Trakulnaleamsai C., Hiramatsu H., Fukusaki E., Yoneyama K., Yasusomo T. & Kobayashi A. (2004) Characterization of photoreceptors from *Orobanche minor* Sm. *Proceedings of the 8th IPSS Symposium, Durban, Southafrica*
176. Olmstead R.G., dePamphilis C.W., Wolfe A.D., Young N.D., Elisons W.J. & Reeves P.A. (2001) Disintegration of the Scrophulariaceae. *American Journal of Botany* 88: 348–361
177. Oltean M., Negrean G., Popescu A., Roman N., Dihoru G., Sanda V. & Mihăilescu S. (1994) Lista roșie a plantelor superioare din România. In: M. OLTEAN (coord.), *Studii, sinteze, documentații de ecologie*, Acad. Română, Institutul de Biologie București, nr. 1: 1-52
178. Parker C. & Riches C.R. (1993) *Parasitic Weeds of the World: Biology and Control*. Wallingford, Oxon, UK: CAB International: 332
179. Pârveu M. (2000) *Ghid practic de fitopatologie*. Editura Presa Universitară Clujeană: 60- 166
180. Păcureanu-Joița M., Procopovici E. & Raranciuc S. (2006) Resistance and the development of virulent *Orobanche cumana* races in sunflower crop in Romania. *Abstracts COST 849 Meeting, Oeiras, Portugal*: 17
181. Pătruț D.I. & Imbrea I.M. (2005) *Botanică sistematică*. Cormobionta, Editura Eurobit, Timișoara: 206
182. Peppermann jr. A.B. & Blanchard E.J. (1985) Improvements in the synthesis of strigol and its analogs In: Thompson A.S.C. (ed) *The Chemistry of Allelopathy. Biochemical Interactions among Plants*. ACS Symposium Series 268: 415-425
183. Pérez-de-Luque A., González-Verdejo C.I., Lozano M.D., Dita M.A., Cubero J.I., González-Melandi P., Risueno M.C. & Rubiales D. (2006) Protein cross-linking, peroxidase and  $\beta$ -1,3-endoglucanase involved in resistance of pea against *Orobanche crenata*. *Journal of Experimental Botany* 57: 1461-1469
184. Pérez-de-Luque A., Moreno M.T. & Rubiales D. (2008) Host plant resistance against broomrapes (*Orobanche* spp.) : defense reactions and mechanisms of resistance. *Annals of Applied Biology* 152: 131-141
185. Pieterse A.H. (1991) The effect of nitrogen fertilizers on the germination of seeds of *Striga hermonthica* and *Orobanche crenata*. In: Wegmann K. & Musselman L.J. (eds) *Progress in Orobanche Research*. *Proceedings of the International Workshop on Orobanche research*, Obermarchtal.Universität Tübingen: 115-124

186. Polunin O. (1971) Pflanzen Europas. BLV Bestimmungsbuch, München: 1267-1269
187. Pop E. & Sălăgeanu N. (1965) Monumente ale naturii din România. Editura Meridiane, București: 56-60
188. Price W.P., Bouton C.E., Gross P., McPherson A.B., Thompson N.J. & Weis E.A. (1980) Interactions among three trophic levels: Influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annual Reviews on Ecological Systems* 11: 41-65
189. Privat G. (1960) Recherches sur les Phanérogames parasites (Études d'*Orobanche hederæ* Duby). *Analele Științelor Naturii, Botanica Biologie Vegetala* 4: 721-871
190. Press M. & Graves J. (1995) Parasitic Plants. Chapman & Hall, London
191. Pujadas A. (2002) *Orobanche* L. In: Lopez J. A., Catalan P. & Saez L.I. (eds) Plantas Parasitas de la Peninsula Iberica y Baleares. Mundi Prensa, Madrid
192. Pusch J. (1996) Die Sommerwurzarten des ehemaligen Kreises Artern, Schutzreport 12: 6-62
193. Qasem J.R. (2006) Parasitic weeds and allelopathy: from the hypothesis to the proof. In: Reigosa M.J., Pedral N. & Gonzalez L. (eds) Allelopathy. A Physiological Process with Ecological Implications: 565-637
194. Racoviță A. (1959) Contribuții la cunoașterea plantelor gazdă și stimulente ale lupoaiei ramificate (*O. ramosa* L). *Lucrările Institutului de Cercetări Alimentare, București, IV*
195. Rasmussen A.J. & Einhellig A.F. (1977) Synergistic inhibitory effects of p-coumaric and ferulic acids on germination and growth of grain sorghum. *Journal of Chemical Ecology* 3: 197-205
196. Rätzel S. & Uhlich H. (2004) *Orobanche benkertii*, sp. nova (Orobanchaceae. Vent.) und weitere *Orobanche*-Sippen aus dem Nordwest-Kaukasus. *Feddes Repertorium* 115: 189-211
197. Rogojanu V. & Perju T. (1979) Determinator pentru recunoașterea dăunătorilor plantelor cultivate. Editura Ceres, București: 23, 143-160
198. Röhner G. & Schwöbel H. (2006) Sommerwurzarten an der Bergstraße, Hemsbach
199. Román B., Satovic Z., Alfaro C., Moreno M.T., Kharrat M., Pérez-de-Luque A. & Rubiales D. (2007) Host differentiation in *Orobanche foetida* Poir. *Flora* 202: 201-208
200. Román B., Hernández R., Pujadas-Sálva A.J., Cubero J.I., Rubiales D. & Satovic Z. (2007) Genetic diversity in two variants of *Orobanche gracilis* Sm. [var. *gracilis* and var. *deludens* (Beck) A. Pujadas] (Orobanchaceae) from different regions of Spain. *Electronic Journal of Biotechnology* 10: 221-229
201. Romanova V., Teryokhin E. & Wegmann K. (2001) Investigation of intraspecific taxonomy in *O. cernua* Loef. by the method of biological tests. In: Fer A., Thalouarn P., Joel D.M., Musselmann L.J., Parker C. & Verkleij J.A.C.(eds),

- Proceedings of the 7th International Symposium on Parasitic Weeds, Nantes: 80
202. Rubiales D., Sadiki M. & Román B. (2005) First report on *Orobanche foetida* on Common Vetch (*Vicia sativa*) in Morocco. *Plant Disease* 89: 528
  203. Sala F. (2005) *Agrochimie*. Editura Marineasa, Timișoara: 18-36
  204. Sanger F., Nicklen S. & Coulson A.R. (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Biochemistry* 74: 5463-5467
  205. Sârbu A. (2001) *Asociație Grădinilor Botanice din România*, Editura: Alo București: 9- 39
  206. Sârbu I., Ivănescu L., Ștefan N. & Mănzu C. (2001) *Flora Ilustrată a plantelor vasculare din estul României*. Vol. II, Editura Universității „Al. I. Cuza”, Iași:152-155
  207. Sato D., Awad A.A., Chae H. J., Yokota T., Sugimoto T., Takeuchi T. & Yoneyama K. (2003) Analysis of strigolactones, germination stimulants for *Striga* and *Orobanche* by high-performance liquid chromatography / tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 1162-1168
  208. Sauerborn J. (1989) The influence of temperature on germination and attachment of the parasitic weed *Orobanche* spp. on lentil and sunflower. *Angewandte Botanik* 63: 543-550
  209. Săvulescu O. (1967) *Patologie vegetală*. Editura Didactică și Pedagogică, București: 576-578
  210. Schneeweiß G.M. (2004) *Phylogeny and Evolution of holoparasitic Orobanche (Orobanchaceae)*. Dissertation Universität Wien
  211. Schneeweiss G.M., Colwell A., Park J.-M., Jang C.-G. & Stuessy T. F. (2004) Phylogeny of holoparasitic *Orobanche* (Orobanchaceae) inferred from nuclear ITS sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30: 465-478
  212. Schneeweiss G.M., Palomeque T., Colwell A.E & Weiss-Schneeweiss H. (2004) Chromosome numbers and karyotype evolution in holoparasitic *Orobanche* (Orobanchaceae) and related genera. *American Journal of Botany* 91: 439-448
  213. Schneider-Binder E. (1983) Die Flora des Steppenreservates am Zakelsberg. In: Muzeul Brukenthal Sibiu -Studii și comunicări, seria Șt. Nat. 25: 153-176
  214. Schuchardt B., Teryokhin E. & Wegmann K. (1998) Broomrapes of tobacco in Bulgaria. In: K.Wegmann, L.J.Musselman & D.M.Joel (eds). *Current Problems of Orobanche Researches*, Proceedings 4th International *Orobanche* Workshop, Albena, IWS, General Toshevo 1998:181-186
  215. Seybold S. (2006) *Flora von Deutschland und angrenzender Länder*. 93. Auflage. Quelle & Meyer Verlag, Wiebelsheim
  216. Shah D.O. (1969) Interaction of uranyl ions with phospholipid and cholesterol monolayers. *Journal of Colloid and Interface Science* 29: 210-215
  217. Shomer-Ilan A. (1992) Enzymes with pectinolytic and cellulolytic activity are excreted by the haustorium of *Orobanche aegyptiaca*. *Phytoparasitica* 20: 343
  218. Shomer-Ilan A. (1993) Germinating seeds of the root parasite *Orobanche aegyptiaca*

- Pers. excrete enzymes with carbohydrase activity. *Symbiosis* 15: 61-70
219. Shomer-Ilan A. (1994) Enzymes that degrade cell wall components are excreted by the haustorium of *Orobancha aegyptiaca* Pers. In: Pieterse A.H., Verkleij J.A.C. & ter Borg S.J. (eds) *Biology and Management of Orobancha*. Proceedings of the Third International Workshop on *Orobancha* and related *Striga* research, Amsterdam: 255-260
  220. Shomer-Ilan A. (1999) Proteolytic activity of germinating *Orobancha aegyptiaca* seeds controls the degrading level of its own excreted pectinase and cellulose. *Phytoparasitica* 27: 111
  221. Siame B.A., Weerasuriya Y., Wood K., Ejeta G. & Butler L.G. (1993) Isolation of strigol, a germination stimulant for *Striga asiatica*, from host plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41: 1486-1491
  222. Singh J.N. & Rai T.B. (1971) Studies on the physiology of host-parasite relationship in *Orobancha*. II. Growth and mineral nutrition of host and parasite. *Physiologia Plantarum* 25: 425-431
  223. Sinha-Roy S.P. & Chakraborty D.P. (1976) Psoralen, a powerful germination inhibitor. *Phytochemistry* 15: 2005-2006
  224. Spurr A.R. (1969) A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *Journal of Ultrastructural Research* 26: 31-43
  225. Strahler A.H. & Strahler A.N. (2005) *Physische Geographie*. UTB 8159. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer: 196
  226. Sugimoto Y. & Ueyama T. (2008) Production of (+)-5-deoxystrigol by *Lotus japonicus* root culture. *Phytochemistry* 69: 212-217
  227. Sumălan R. (2002) *Fiziologie vegetală*, Editura Eurobit, Timișoara: 55-56
  228. Sunderland N. (1960) The production of the *Striga* and *Orobancha* germination stimulants by maize roots. *Journal of Experimental Botany* 11: 236-245
  229. Șerbănescu-Jitariu G. & Toma C. (1980) *Morfologia și anatomia plantelor*, Editura Didactică și Pedagogică, București
  230. Ștefureac Tr. & Ungurean L. (1985) Consideration critiques sur quelques taxones du genre *Orobancha* L. *Revue roumaine de Biologie, serie Biologie Vegetale*, 30, nr.1
  231. Tarnavski I.T., Șerbănescu-Jitariu G., Mitroi-Rădulescu N. & Rădulescu D. (1990) *Monografia polenului florei din România*. Vol. III, Editura Academiei Române: planșe și 63-64
  232. ter Borg S.J. (1987) Quantitative and qualitative aspects of interaction between *Rhinanthus* and *Orobancha* species and their hosts. In: Weber H.-C. & Forstreuter W. (eds) *Proceedings of the Fourth International Symposium on Parasitic Flowering Plants*, Marburg: 109-120
  233. Teryokhin E.S. (1991) *Orobancha* research in the USSR. In: Wegmann K. & Musselman L.J. (eds) *Progress in Orobancha Research*, Proceedings of the International Workshop on *Orobancha* Research, Obermarchtal. Eberhard-Karls-Universität

Tübingen: 30-34

234. Teryokhin E.S. (1997) Weed Broomrapes: systematics – ontogenesis – biology – evolution. Aufstieg-Verlag, Augsburg, Germany
235. Toma C., Andronache A. & Gostin I. (2007) Researches Regarding the Histo-Anatomy and Floral Morphogenesis in some *Orobanchae* L. Species. In: Analele științifice ale Universității ”Al. I. Cuza” Iași, Seria II, a (Biol. veget.), tom LIII: 11-25
236. Tsanuo M.K., Hassanali A., Hooper A.M., Khan Z., Kaberia F., Pickett J.A. & Wadhams L.J. (2003) Isoflavones from the allelopathic aqueous root exudates of *Desmodium uncinatum*. *Phytochemistry* 64: 265-273
237. Uhlich H., Pusch J. & Barthel K.-J. (1995) Die Sommerwurzarten Europas. Die neue Brehm-Bücherei Bd. 618. Westarp Wissenschaften, Magdeburg
238. Umehara M., Hanada A., Yoshida S., Akiyama K., Arite T., Takeda-Kamiya N., Magome H., Kamiya Y., Shirasu K., Yoneyama K., Kyojuka J. & Yamaguchi S. (2008) Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature* 455: 195-200
239. Ungurean L. & Serbănescu-Jitariu G. (1973) Some morphoanatomical aspects of *Orobanchae ramosa*. Offprint from Symposium on Parasitic weeds. E.W.R.C., Malta, Univ. Press: 132-139
240. Ungurean L., Serbănescu Jitaru G. & Mitroiu N. (1981) Contributions à l'organogenèse florale et la microsporogenèse chez *Orobanchae ramosa*. *Revue roumaine de Biologie, serie Biologie vegetale*, 26.nr.1: 41-43
241. Ungurean L. (1985) Cercetări monografice asupra speciilor genului *Orobanchae* din România, Teză de Doctorat, Universitatea București
242. Vail S.L., Dailey jr. O.D., Connick jr. W.J. & Pepperman jr. A.B. (1985) Strigol syntheses and related structure-bioactivity studies. In: Thompson A.C. (ed) *The Chemistry of Allelopathy. Biochemical Interactions among Plants*. ACS Symposium Series 268: 445-456
243. Vallance K.B. (1950) Studies on the germination of the seeds of *Striga hermontica* I. The influence of moisture-treatment, stimulant dilution, and after-ripening on germination. *Annals of Botany* 14: 347-363
244. Vallance K.B. (1951) Studies on the germination of the seeds of *Striga hermontica* II. The effect of the stimulating solution on respiration. *Journal of Experimental Botany* 2: 31-40
245. Van Hezewijk M. (1994) Germination ecology of *Orobanchae crenata* – Implications for cultural control. Doctoral Thesis, Vrije Universiteit Amsterdam (Supervisor: Prof. Verkleij)
246. Van Hezewijk M.J., Van Beem A.P., Verkleij J.A.C. & Pieterse A.H. (1993) Germination of *Orobanchae crenata* seeds, as influenced by conditioning temperature and period. *Canadian Journal of Botany* 71: 786-792

247. Van Hezewijk, M. J., Van Beem A.P. & Verkleij J.A.C. (1994) Seasonal changes in germination response of buried seeds of *Orobanche crenata* Forsk. Weed Research 34: 369-276
248. Van Hezewijk M.J. & Verkleij J.A.C. (1996) The effect of nitrogenous compounds on in vitro germination of *Orobanche crenata* Forsk. Weed Research 36: 395-404
249. Van't Slot K.A.E. & Knogge W. (2002) A dual role for microbial pathogen-derived effector proteins in plant disease and resistance. Critical Reviews in Plant Sciences 21(3): 229-271
250. Vanc F. (2005) Potențialul termic și hidric al zonei Miniș Cladova. Analele Universității din Oradea, seria Geografie, tom XV: 109-114
251. Visser J.H. (1989) Germination requirements of some root-parasitic flowering plants. Naturwissenschaften 76: 252-261
252. Visser J.H. & Botha P.J. (1974) Chromatographic investigation of the *Striga* seed germination stimulant. Zeitschrift für Pflanzenphysiologie 72: 352-358
253. Visser J.H. (1975) Germination stimulants of *Alectra vogelii* Benth. seed. Zeitschrift für Pflanzenphysiologie 74: 464-469
254. Vurro M. (2004) Use of natural amino acids for *Orobanche* control. COST 849 Meeting Naples
255. Walter M.H. (1992) Regulation of lignification in defense. In: Boller T. & Meins F. (eds) Genes Involved in Plant Defense. New York: Springer-Verlag: 327-352
256. Weber H.-C. (1993) Parasitismus von Blütenpflanzen. Wissenschaftliche Buchgemeinschaft, Darmstadt
257. Weber H.-C. & Forstreuter W. (eds. 1987) Parasitic Flowering Plants. Proceedings of the 4th International Symposium on Parasitic Flowering Plants. Marburg
258. Wegmann K. (1986) Biochemistry and osmoregulation and possible biochemical reasons of resistance against *Orobanche*. In: ter Borg S.J. (ed) Proceedings of a Workshop on Biology and Control of *Orobanche*, LH/VPO Wageningen, The Netherlands: 107-113
259. Wegmann, K., Von Elert E. & Bergmann C. (1989) Biochemistry of *Orobanche*-host systems. Integrated Pest Management in Tropical and Subtropical Cropping Systems, Bad Dürkheim, Germany: 619-624
260. Wegmann, K., Von Elert E., Harloff J. & Stadler M. (1991) Tolerance and resistance to *Orobanche*. In: Wegmann K. & Musselman L.J. (eds) Progress in *Orobanche* Research, Proceedings of the International Workshop on *Orobanche* Research, Obermarchtal, Germany: 318-321.
261. Wegmann K. (1994) Physiology of host/*Orobanche* interactions. In: Pieterse A.H., Verkleij J.A.C. & ter Borg S.J. (eds) Biology and Management of *Orobanche*. Proceedings of the Third International Workshop on *Orobanche* and related *Striga* research, Amsterdam: 49-56

262. Wegmann K. (1996) Biochemistry of host/parasite relations in: Moreno M.T., Cubero J.I., Berner D., Joel D., Musselman L.J. & Parker C. (eds) *Advances in Parasitic Plant Research, Proceedings of the 6th International Symposium on Parasitic Weeds*, Cordoba
263. Wegmann K. (1999) Die *Orobanche* und Möglichkeit der Bekämpfung im deutschen Tabakbau. *Der Deutsche Tabakbau* 78(6):11-13
264. Wegmann K. (2000) *Orobanche* control in tobacco with germination stimulant Nijmegen-1. Report on the activities of the CORESTA Phytopathology Subgroup *Orobanche*. CORESTA-Kongress in Lissabon
265. Wegmann K. (2004) The nature of known and less known factors of *Orobanche* resistance. COST 849 Meeting Bucureşti
266. Wegmann K. (2005) Stimulation of false germination in soil. COST 849 Meeting Newe-Yaar, Israel
267. Wegmann K. (2006) Germination physiology as target for *Orobanche* control. COST 849 Meeting in Lissabon, Portugal
268. Wegmann K. (2007) *Ecological Biochemistry*. "Vasile Goldiș" University Press, Arad
269. Welzel P., Frischmuth K., Bergmann C. & Wegmann K. (1994) Structure and activity relations of strigol analogues: Results and conclusions. In: Pieterse A.H., Verkleij J.A.C. & ter Borg S.J. (eds) *Biology and Management of Orobanche*. Proceedings of the Third International Workshop on *Orobanche* and related *Striga* research, Amsterdam: 198-208
270. Westwood J.H. (2005) Characterization of the *Orobanche-Arabidopsis* system for studying parasite-host interactions. In: *The Fourth World Congress on Allelopathy*, Australia
271. Whitney P.J. (1973) Transport across the region of fusion between bean (*Vicia faba*) and broomrape (*Orobanche crenata*) In: *Symposium on Parasitic Weeds*, EWRC in Malta: 154-166
272. Whitney P.J. & Carsten C. (1981) Chemotropic response of broomrape radicles to host root exudates. *Annals of Botany* 48: 991-921
273. Winterhoff W. (1993) *Die Pflanzenwelt des NSG Eriskircher Ried am Bodensee*. Herausgegeben von der Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg: 204-206
274. Xie X., Kusumoto D., Takeuchi Y., Yoneyama K., Yamada Y. & Yoneyama K. (2007) 2'-Epi-orobanchol and solanacol, two unique strigolactones, germination stimulants for root parasitic weeds, produced by tobacco. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 8067-8072
275. Xie X., Yoneyama K., Kusumoto D., Yamada Y., Takeuchi Y., Sugimoto Y. & Yoneyama K. (2008) Sorgomol, germination stimulant for root parasitic plants, produced by *Sorghum bicolor*. *Tetrahedron Letters* 49: 2066-2068

276. Xie X., Yoneyama K., Kusumoto D., Yamada Y., Yokota T., Takeuchi Y. & Yoneyama K. (2008) Isolation and identification of alectrol as (+)-orobanchyl acetate, a novel germination stimulant for root parasitic plants. *Phytochemistry* 69: 427-431
277. Yasuda N., Sugimoto Y., Kato M., Inanaga S. & Yoneyama K. (2003) (+)-Strigol, a witchweed seed germination stimulant, from *Menispermum dauricum* root culture. *Phytochemistry* 62: 1115-1119
278. Yokota T., Sakai H., Okuno K., Yoneyama K. & Takeuchi Y. (1998) Alectrol and orobanchol, germination stimulants for *Orobanche minor*, from its host red clover. *Phytochemistry* 49: 1967-1973
279. Yoneyama K., Takeuchi Y. & Yokota T. (2001) Production of clover broomrape seed germination stimulants by red clover requires nitrate but is inhibited by phosphate and ammonium. *Physiologia Plantarum* 112: 25-30
280. Yoneyama K., Takeuchi Y., Sato D., Sekimoto H. & Kokoka T. (2004) Determination and quantification of strigolactones. Proceedings of the 8th International Parasitic Weed Symposium, Durban, South Africa
281. Yoneyama K., Yoneyama K., Takeuchi Y., Sekimoto H. (2007) Phosphorus deficiency in red clover promotes exudation of orobanchol, the signal for mycorrhizal symbionts and germination stimulant for root parasites. *Planta* 225: 1031-1038
282. Young N.D., Steiner K.E. & dePamphilis C.W.. (1999) The evolution of parasitism in Scrophulariaceae/Orobanchaceae: plastid gene sequences refute an evolutionary transition series. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 86: 876–893
283. Zahariadi C. & Anghel Gh. (1955) *Orobanche brassicae* Novokr. Un parazit nou pentru flora R.S.România. Comunicările Academiei R.S.România, tom. V
284. Zăpîrţan M. (2001) Conservarea florei spontane prin înnulţire in vitro. Ed. ALC Media Group, Cluj-Napoca: 12-75
285. Zermane N., Kroschel J. & Souissi T. (2003) Natural antagonists of *Orobanche* spp. in Tunisia with potential as biocontrol agents, COST 849 Meeting, Atena
286. Zermane N., Souissi T., Kroschel J. & Sikora R. (2007) Biocontrol of broomrape (*Orobanche crenata* Forsk. and *Orobanche foetida* Poir. by *Pseudomonas fluorescens* isolate Bf7-9 from the faba bean rhizosphere). *Biocontrol Science and Technology* 17: 483-497
287. Zlatan M., Brebu P. & Bârliba L.L. (2004) Sistem de poziţionare geodesic. Editura Politehnica, Timişoara, 2004: 1-50
288. Zwanenburg B., Mangnus E.M. & Thuring J.W.J.F. (1994) Strigol analogues: design, synthesis and biological activity. In: Pieterse A.H., Verkleij J.A.C. & ter Borg S.J. (eds) *Biology and Management of Orobanche*. Proceedings Third International Workshop on *Orobanche* and related *Striga*, Amsterdam: 187-197

## 8. HERBARIEN

- Herbarul J. Bielz, E. Krauss, G. Hergotta, V. Klotz – Muz.  
Brukenthal Sibiu, Șt. nat. Nr. inv. 81.099-81100
- Herbarul M. Fuss (incl. Herb. Cryptogam. și Herb. Norm.  
Transs.) - Muzeul Brukenthal Sibiu, Șt. nat. Nr. inv. 22.825-22853
- Herbarul I. Pop - Muz. Brukenthal Sibiu, Șt. nat. Nr. inv. 106.928-  
106937
- Herbarul G.A. Kayser - Muz. Brukenthal Sibiu, Șt. nat. Nr.  
inv. 21.700-31706
- Herbarul J. Lerchenfeld - Muz. Brukenthal Sibiu, Șt. nat. Nr. inv.  
74862-74866,34.736
- Herbarul Simbovics - Muz. Brukenthal Sibiu, Șt. nat. Nr. inv.  
76.418
- Herbarul E.I. Nyarady - Muz. Brukenthal Sibiu, Șt. nat. Nr. inv.  
141.005-141.115
- Herbarul Erika Schneider-Binder - Muz. Brukenthal Sibiu, Șt. nat.  
Nr. inv. 165.556-165.566
- Herbarul K. Ungar - Muz. Brukenthal Sibiu, Șt. nat. Nr. inv.  
41,626-41705
- Herbarul Grădinii Botanice “Al. Borza” a Universității “Babeș-Bolyai” Cluj-  
Napoca
- Herbarul Simonkai L. - Muz. Țării Crișurilor, Oradea
- Herbarul Muzeului Orasenesc Carei Nr. 116
- Herbarul Grădinii Botanice Universitare Macea

## 9. EIGENE PUBLIKATIONEN AUS DER DISSERTATION

Höniges A., Ardelean A. & Wegmann K. (2007)  
Ecological and physiological investigations on *Orobanche* species in the spontaneous flora of Romania.  
9<sup>th</sup> World Congress on Parasitic Plants, Charlottesville, 3.-7. Juni 2007.  
Electronic publication <http://www.cpe.vt.edu/wcopp/index.html>.

Höniges A., Wegmann K. & Ardelean A. (2007)  
Studiu comparativ al speciilor locale de *Orobanche* din flora spontană a României și a celor din Baden-Württemberg  
Genesis Nr. 14: 29-33.

Höniges A. (2007)  
Al IX-lea Congres Mondial al Plantelor Parazite  
În: Școala Generală "Sfânta Ana" Sântana, Anuar Nr. 5: 108-110,  
Editura Gutenberg Univers, Arad, ISBN 978-973-7776-89-1

Höniges A., Wegmann K. & Ardelean A. (2008)  
Studii comparative între speciile de *Orobanche* din ecosisteme naturale terestre și cele din ecosisteme antropice.  
Anale Grădinii Botanice Universitare Macea 2: 49-76.  
Vasile Goldiș University Press ISSN: 1843-1542

Höniges A., Ardelean A. & Wegmann K. (2008)  
Physiological aspects of *Orobanche* species in the spontaneous flora of Romania.  
Studii Universitatis 2008.  
Studia Universitatis, Seria Științele Vieții 18: 153-158.  
Vasile Goldiș University Press

Höniges A., Wegmann K. & Ardelean A. (2008)  
*Orobanche* resistance in sunflower.  
HELIA (im Druck)

## **AKADEMISCHE LEHRER**

Meine akademischen Lehrer waren:

Gheorghe Acatrinei  
Aurel Ardelean  
Vlad Artenie  
Adriana Barna  
Ioan Coroiu  
Constantin Crăciun  
Vasile Cristea  
Manuela Dordea  
Ion Iordache  
Mihai Isac  
Dumitru Mititelu  
Mihai Mititiuc  
Gheorghe Mustață  
Cosmin Nicolaie  
Ionel Petcu  
Ioan Petrescu  
Constantin Pistică  
Ioan Pop  
Corina Roșioru  
Corneliu Tabără  
Constantin Toma  
Nicolae Tomescu  
Mihai Trifu  
Klaus Wegmann

## LEBENS LAUF

Ana Höniges (geb. Tiron) geboren am 09.12.1963 in Coşbuc, Rumänien  
Seit 1987 verheiratet mit Josef Höniges, 2 Kinder.

### Schule und Studium

- 1978-1982 Besuch des Lyzeums für Gesundheitswesen in Bistrița,  
Bacalaureat (Abitur) 1982.
- 1982-1986 Studium der Fachrichtung Naturwissenschaften und Landwirtschaft  
an der „Al. I. Cuza“- Universität in Iași.  
Licențiat (Naturwissenschaften).
- 1993-1997 Studium der Fachrichtung Biologie an der Babeş-Bolyai-Universität  
in Cluj (Klausenburg).  
Diplom (Biologie) 1997.
- 2000 Staatsexamen für das Höhere Lehramt.  
Mehrere Fortbildungskurse in Didaktik und Schulverwaltung

### Berufstätigkeit

- 1996-1998 Fachleiterin Biologie an der „Sfânta Ana“ - Schule in Sanktanna.
- 1998-2002 Stellvertretende Direktorin der „Sfânta Ana“ - Schule in Sanktanna.
- Seit 2002 Direktorin der „Sfânta Ana“ - Schule in Sanktanna (Sântana).

### Forschung

- 2000-2004 Koordinatorin des europäischen Projekts “Die Sorge der europäischen Schulen für die Erhaltung des Biosphärenreservats Donau-Delta” im Rahmen des Sokrates-Programms, Comenius-Aktion 1, finanziert durch die Europäische Union.
- 2001 Vorsitzende des Workshops im UNESCO-Blue-River-Project.
- Seit 2007 Beteiligung am Forschungsprojekt “Integrierte Strategien zur Begrenzung nachteiliger Wirkungen von Trockenheit, Hitze und *Orobanche*-Befall auf Sonnenblume” (Projekt PN II 51044).

Die vorliegende Dissertation “Ökologische und Physiologische Studien über *Orobanche*-Arten in Natürlichen Ökosystemen” wurde in der Zeit von 2005-2008 in der Fakultät für Naturwissenschaften der Vasile-Goldiș-Universität Arad und der Fakultät für Chemie und Pharmazie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Klaus Wegmann und Herrn Prof. Dr. Aurel Ardelean durchgeführt.

