

Eisentoxizität bei Reis – Merkmalsdefinition und Erkennung

Folkard Asch – Universität Hohenheim, Institut für Pflanzenproduktion und Agrorökologie in den Tropen und Subtropen Grabenstr. 13, 70599 Stuttgart, email: fa@uni-hohenheim.de.

1 Einleitung

Nach der Salinität, stellt die Eisentoxizität einen weiteren, wichtigen akkumulativen Stress im Nassreisanbau dar. Neben Komponenten der Bestandesführung, der Landschaftsform und dem Bewässerungsmanagement im Anbaugebiet (Audebert und Sahrawat, 2000; Sahrawat, 2004) ist das genetische Material der wichtigste Faktor zur Sicherung der Produktion in potentiell eisentoxischen landwirtschaftlichen Systemen (Sahrawat *et al.*, 1996). Trotz intensiver Bemühungen war es bisher nicht gelungen, ein verlässliches Werkzeug zu finden, das Genotypen bezüglich ihrer Widerstandsfähigkeit gegenüber Eisentoxizität charakterisiert und die in ihnen verwirklichten Eigenschaften identifiziert.

2 Mögliche Anpassungen zur Erhöhung der Widerstandsfähigkeit gegen Eisentoxizität

Der Faktor, der ganz wesentlich zu den Schädigungen beiträgt, die unter Bedingungen exzessiver reduzierter Eisenkonzentrationen in der Bodenlösung an Pflanzen zu beobachten sind, ist die Bildung radikaler Sauerstoffarten, die durch hohe Fe^{2+} Konzentrationen im Gewebe erzeugt werden und massiv Membranen schädigen. Daher ist für resistente Genotypen eine generell niedrige Aufnahme von Eisen in den Spross das vordringlichste Kriterium.

Um dies zu erreichen, stehen mehrere Möglichkeiten zur Verfügung (Abbildung 1). Zum einen eine morphologische Anpassung, die besonders bei Reis, aber auch bei Bananen zu beobachten ist, das Aerenchym. Luftführende Leitungsgewebe verbinden hier den Wurzelraum mit der Atmosphäre und erlauben somit den Transport von atmosphärischem Sauerstoff in die Rhizosphäre, wo er an der Wurzeloberfläche zweiwertiges Eisen zu dreiwertigem Eisen oxidiert und damit dessen Aufnahme in den Spross verhindert (Ando, 1983). Als Alternative oder Ergänzung zur Oxidation an der Wurzeloberfläche ist auch eine erhöhte Selektivität für Fe^{2+} an der Endodermis möglich, die zu einer Oxidation zu Fe^{3+} im Apoplasten der Wurzel führen kann. Dieser Mechanismus ist allerdings nur bei relativ geringen Eisentoxizitätsniveaus wirksam. Oberhalb von $50 \text{ mg Fe}^{2+} \text{ L}^{-1}$ scheint er seine Effektivität vollständig zu verlieren (Tadano, 1976).

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, nach der Aufnahme des Eisens in die Pflanze, durch das Zurückhalten von Eisen in Wurzel – und Stängelgeweben einen Weitertransport in physiologisch aktive, sensitive Gewebe zu verringern (Audebert und Sahrawat, 2000). Einmal in die Pflanze aufgenommen, wird Fe^{2+} mit dem Transpirationsstrom akropetal verlagert. Daher sind auch Eisensymptome an Blättern unter niedriger Luftfeuchtigkeit (Trockenzeit) bereits bei viel geringeren externen Eisenkonzentrationen zu beobachten als bei hoher Luftfeuchtigkeit (Asch *et al.*, 2005a). Eine mögliche Retention von Eisen im Blattapoplasten hängt vom apoplastischen pH Wert ab (Kosegarten *et al.*, 1999). Ein Anstieg des pH Wertes unter Stress schränkt die Mobilität von Fe^{2+} im Blattapoplasten ein und fördert

möglicherweise die Oxidation zu Fe^{3+} (Nicolic und Römheld, 2001). Dies geht mit der Bildung nicht-membrangängiger Polymere einher, die die Aktivität einer plasmamembrangebundenen Eisenchelatreduktase reduzieren (Schmidt, 1999). Bei Pflanzen, die entweder nicht in Lage sind, effizient den apoplastischen pH-Wert oder die Aktivität der Eisenreduktase zu regulieren kann eine unkontrollierten Akkumulation von Fe^{2+} in den Blattzellen auftreten (Welch *et al.*, 1993).

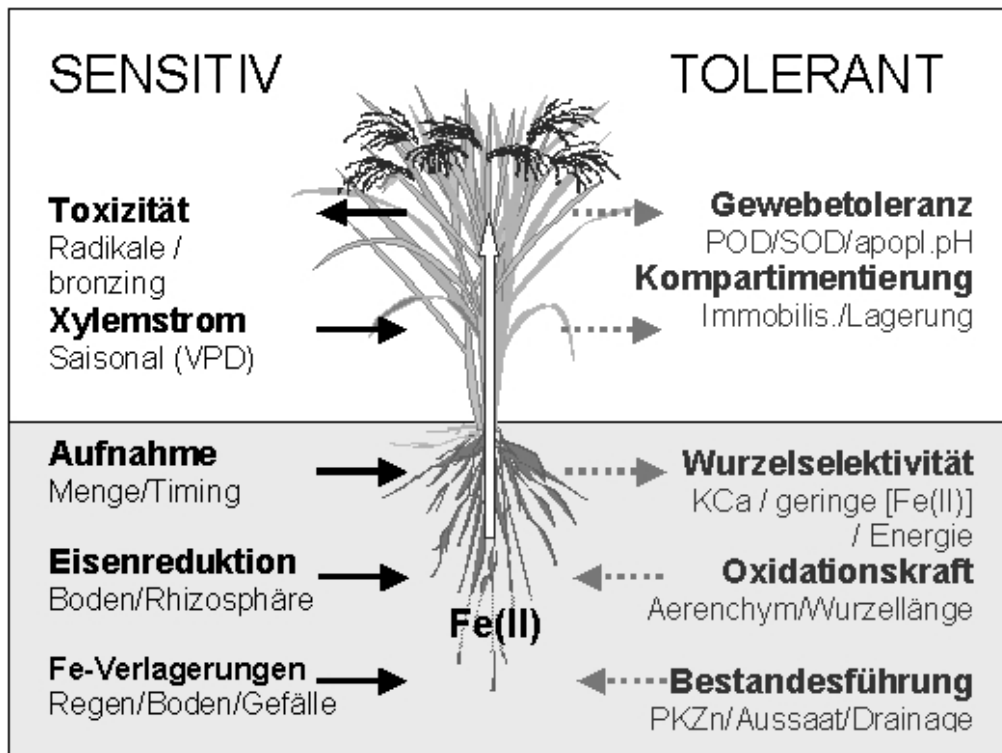


Abbildung 1 Faktoren, die das Auftreten von Eisentoxizität und die Entwicklung von Eisentoxizitätstoleranz in Reispflanzen beeinflussen (Becker und Asch, 2005). Nähere Erläuterungen im Text.

Wenn das Eisen erst einmal in den Symplasten aufgenommen wurde muss eine resistente Pflanze eine hohe Gewebetoleranz gegenüber reduziertem Eisen aufweisen. Im Symplasten wirkt Fe^{2+} in höheren Konzentrationen als Katalysator für die Bildung radikaler Sauerstoffformen. Gewebetoleranz gegen Eisentoxizität basiert auf der Möglichkeit, oxidative Membranschädigungen zu verhindern und diese reaktiven Radikalformen unschädlich zu machen (Bode *et al.*, 1995b; Becker und Asch, 2005). Dabei sind die wichtigsten Mechanismen zum einen die Einbindung und damit Kontrolle von Fe^{2+} in symplastische Strukturen wie z. B. Phytoferritin (Bienfait, 1985), zum anderen die Ausbildung von Stoffen, die reaktive Radikale abfangen und unschädlich machen können, wie z. B. Ascorbat, Gluthation, oder superoxide dismutase (SOD). Die Aktivität von SOD führt bei Reis zur Bildung von Wasserstoffperoxyd, das zwar ein weniger reaktives Radikal ist, aber als Endprodukt die Aktivität von SOD reduziert. Um also wirkungsvoll durch Eisen hervorgerufene oxidative Schäden zu verhindern, muss H_2O_2 weiter abgebaut werden, z. B. durch Catalasen oder Peroxidasen (POD) (Gupta *et al.*, 1993). Eine effiziente Kombination von SOD-POD Enzymaktivitäten hat sich als besonders wirkungsvoll bei der Gewebetoleranz von

Eisentoxizität in Reisblättern herausgestellt. Dieses Merkmal wird besonders wichtig in jungen Pflanzen, die noch kein effizientes Aerenchym ausgebildet haben oder die noch unter Verpflanzungsverletzungen leiden und keine funktionierende Ausschlussmechanismen an der Wurzel zur Verfügung haben.

3 Selektionskriterien für Eisentoxizitätstoleranz

Die Wahl des Genotyps entscheidet in potentiell eisentoxischen Systemen über Erfolg oder Misserfolg des Anbaus. Konventionelles Screening basiert auf Symptombonitur für Pflanzen, die unter definierten Stressbedingungen wachsen. Dabei werden unter Feldbedingungen Pflanzen mit geringen Symptomen bevorzugt. Mechanistisch ist hierbei nicht klar, ob es sich um Genotypen handelt, die effektiv Eisen an der Wurzel ausschließen oder um solche, die hohe Gewebekonzentration an Eisen tolerieren. Dieser Unterschied lässt sich feststellen, wenn die Eisenkonzentration in der oberirdischen Biomasse ebenfalls bestimmt wird. Eine hohe Konzentration in den oberirdischen Pflanzenteilen ohne die Ausprägung der typischen Eisentoxizitätssymptome bedeutet jedoch nicht automatisch einen hohen Grad an Gewebetoleranz. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass diese Genotypen einen effizienten Ausschlussmechanismus im Blattapoplasten oder Lagerungsmechanismus in den Stängeln entwickelt haben.

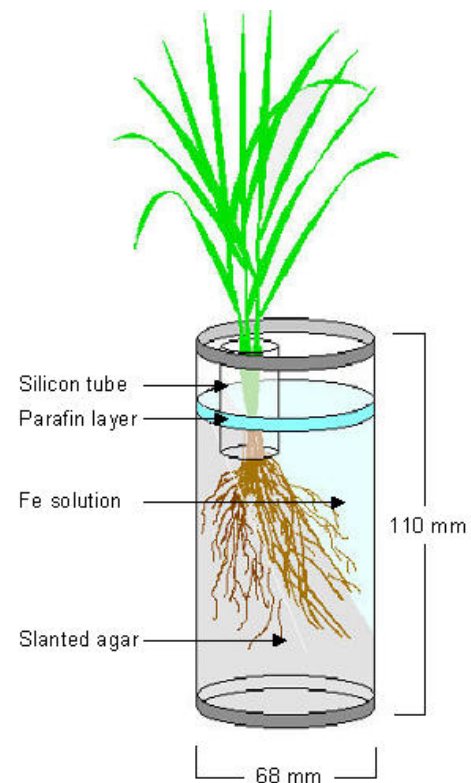
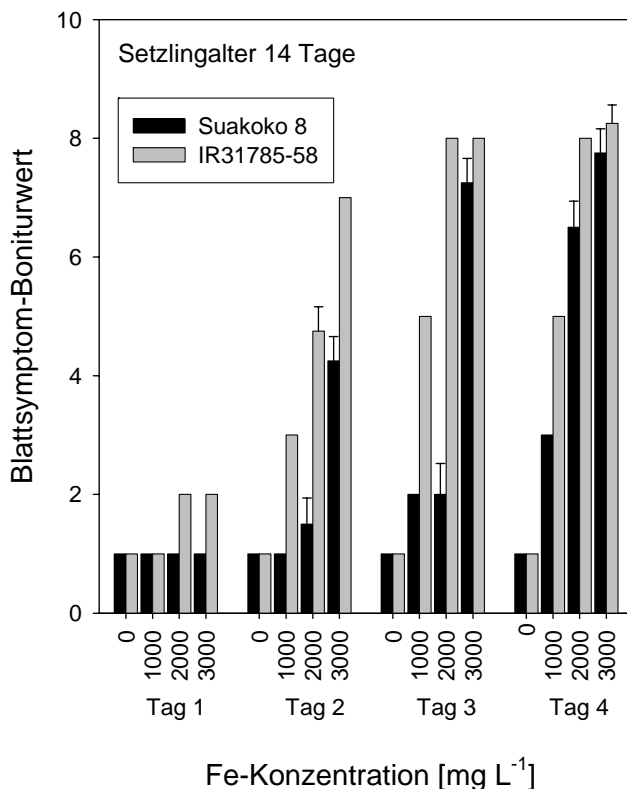


Abbildung 2 Schematische Darstellung des Aufbaus der Anzuchtöpfe für die Boniturversuche und Boniturwerte für Eisenstress induzierte Blattsymptome für zwei Nassreissorten, die 14 Tage nach Aussaat für unterschiedliche Zeit dem Stress ausgesetzt waren.

Ein großes Problem für Genotypenselektion für Eisentoleranz unter Feldbedingungen ist für die große Zahl Genotypen, die untersucht werden müssen, homogene erhöhte

Eisenkonzentrationen im Boden bereitzustellen und somit für alle vergleichbare Stressniveaus herzustellen (Audebert und Sahrawat, 2000). Gleichermaßen sieht sich "screening" in einem Hydrokultursystem dem Problem der Oxidation von Fe^{2+} zu Fe^{3+} durch atmosphärischen Sauerstoff gegenüber (Bode *et al.*, 1995a). Der auf Schrägagar basierende Aufbau, den wir für unsere "screening" Studien benutzt haben (Abbildung 2 - Asch *et al.*, 2005a), versorgte die Pflanze mit ausreichend Nährstoffen für zwei bis vier Wochen Wachstum und ermöglichte es, dem Wurzelsystem unter anaeroben Bedingungen einen starken Eisenpuls zu verabreichen, da die Paraffinschicht atmosphärischen Sauerstoff weitgehend ausschließt. Ein Eisenstress von 2000 ppm, der auf diese Weise für drei Tage angelegt wurde, erzeugte signifikant unterschiedliche Blattsymptomboniturwerte zwischen dem toleranten Genotyp Suakoko und dem sensitiven Genotyp IR31785 sowohl bei 14-Tage-alten (Abbildung 2) als auch bei 28-Tage-alten Setzlingen (Asch *et al.*, 2005a). Wenn ältere Setzlinge dem Stress ausgesetzt wurden, entwickelten sich die Blattsymptome schneller, und die Boniturwerte waren höher als bei jungen (14 Tage) Setzlingen. Diese Beobachtung wurde allerdings nicht in den Blatteisenkonzentrationen reflektiert. Einige Genotypen akkumulierten ähnliche Mengen Eisen in den Blättern, unterschieden sich aber signifikant in den Blattsymptomboniturwerten. Bei anderen wiederum akkumulierten ältere Pflanzen weniger Eisen in den Blättern, hatten aber höhere Boniturwerte. Daraus lässt sich auf unterschiedliche Aufnahmewege und Toleranzstrategien schließen. Es zeigte sich, dass einige Genotypen Eisen eher an der Wurzel ausschließen und dann konsequenterweise auf das Eisen, das den Blattsymplasten erreicht, empfindlich reagieren. Es gab andere, die Eisen an der Wurzel nur in geringem Maße diskriminieren und dann eine offensichtlich hohe Gewebetoleranz entwickeln, deren Ausprägung allerdings mit zunehmenden Alter in einigen Fällen geringer wird (die Details zu Genotypen und Mechanismen sind in Asch *et al.*, 2005a, beschrieben).

Fe^{2+} als Katalysator für radikale Sauerstoffformen

Bei übermäßiger Aufnahme von Fe^{2+} durch die Wurzel und seine akropetale Verlagerung in die Blätter, kommt es zur Bildung toxischer Sauerstoffradikale, die vor allem Zellmembranen schädigen und so physiologische Prozesse stören. Das typische sichtbare Symptom dieser Schädigungen ist das so genannte "leaf bronzing", welches substantielle Ertragseinbußen zu Folge hat, besonders wenn Eisentoxizität in der frühen vegetativen Wachstumsphase auftritt. Die beste Strategie mit diesem Problem umzugehen, ist die Nutzung verbesserter, toleranter Genotypen. In der Pflanzenzelle kann Fe^{2+} bei übermäßiger Aufnahme, die Bildung reaktiver Sauerstoffformen wie z.B. Peroxyde, Hydroxylradikale und Wasserstoffperoxyd katalysieren: $\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{O}_2^- + \text{Fe}^{3+}$ oder $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}^\circ$ (Marschner, 1995). Diese Reaktionen werden in Anwesenheit von reichlich Eisen verstärkt und Eisen selbst kann Teil von reaktiven Peroxyradikalen sein (Halliwell und Gutteridge, 1984) In Kombination mit Fettsäuren kann Fe^{2+} Peroxy-Fettsäuren formen (Peterson, 1991). Freie Radikale verursachen die Schädigungen, die unter Eisentoxizität in Geweben zu beobachten sind (Thongbai und Goodman, 2000). Sie schädigen Membranlipide (Thompson und Legge, 1987), Proteine (Chevrier *et al.*, 1988) und Nukleinsäuren irreversibel und beeinflussen die Membranladung. Die Aktivität von Phenoloxidasen wird gesteigert und oxidierte Polyphenole können in den Zellen akkumulieren (Yamauchi und Peng, 1995). Schließlich oxidieren freie Radikale Chlorophyll, was dann zu einer Reduktion des Chlorophyllgehaltes führt

4 Effekte des atmosphärischen Dampfdruckdefizits

Die Auswirkungen abiotischer Stresse werden oft durch niedrige Luftfeuchtigkeit oder besser hohe atmosphärische Dampfdruckdefizite (VPD) verstärkt (z. B. für Dürre [Asch *et al.*, 2003] und Salinität [Asch und Wopereis, 2001]). Eisentoxizität tritt in Agro-Ökosystemen von der feuchten Regenwaldzone bis zu den semi-ariden Gebieten der Sahelzone auf. Es ist daher zu erwarten, dass Eisentoxizitätseffekte für einem bestimmten Genotyp vom System und den saisonalen klimatischen Bedingungen abhängig sein werden. So haben z. B. Sahrawat und Singh, (1998) gezeigt, dass Nassreis in der Trockenzeit anders auf Eisentoxizität reagierte als in der Regenzeit. Um die Auswirkungen von VPD auf die Symptomentwicklung unserer Testsorten zu untersuchen, haben wir den VPD auf etwa 60% der ambienten Bedingungen verringert und erneut eine Bonitur durchgeführt.

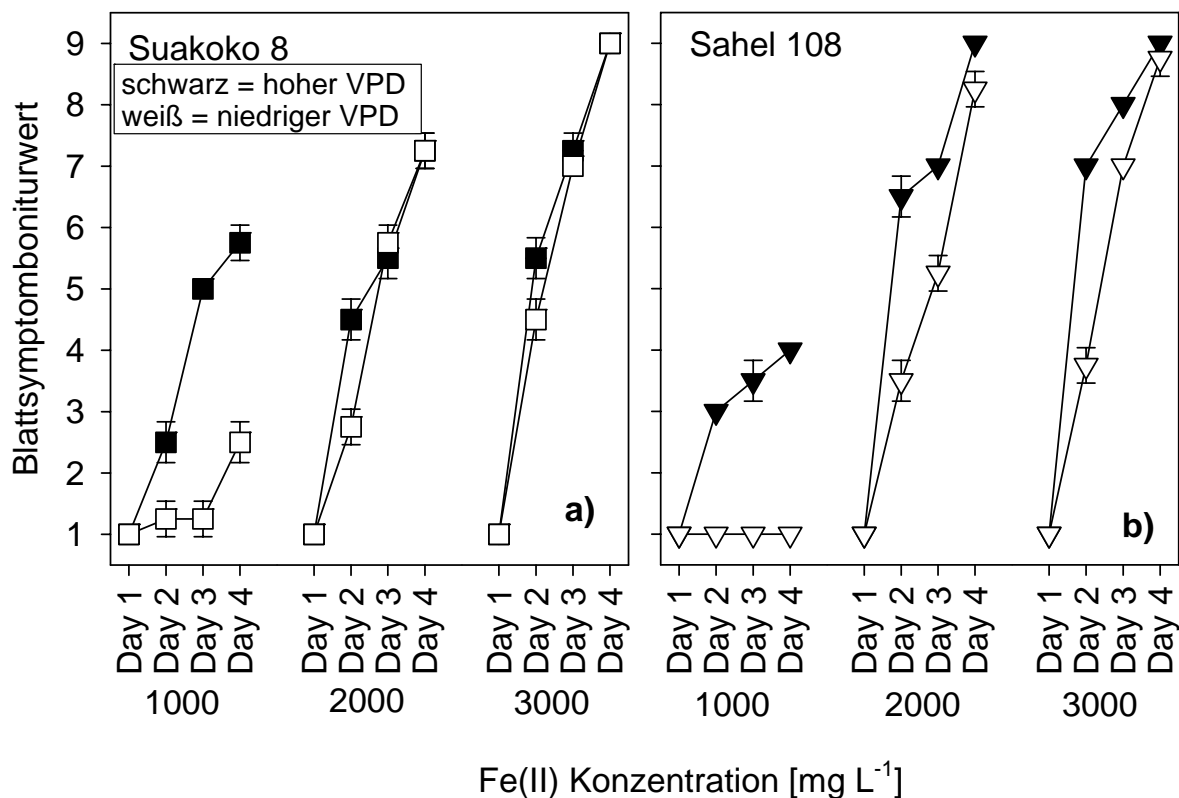


Abbildung 3 "Leaf bronzing" Boniturwerte zweier Nassreisgenotypen nach Behandlung mit unterschiedlichen Eisenkonzentrationen in der Nährlösung und zwei verschiedenen atmosphärischen Dampfdruckdefiziten. Die Pflanzen wurden 28 Tage nach Aussaat behandelt und an vier aufeinander folgenden Tagen bonitiert. Fehlerbalken = Standardfehler des Mittelwertes (n=3). Wenn keine Balken zu sehen sind war der Fehler kleiner als die Symbolgröße. (Asch *et al.*, 2005a)

Geringere VPD führten in allen Fällen zu einer langsameren Symptombildung an den Blättern der beteiligten Genotypen. Besonders bei Behandlung mit geringen externen Eisenkonzentrationen zeigte sich der mildernde Effekt niedrigen VPD's in der deutlich schwächeren Ausprägung der Blattsymptome (Abbildung 3). Dieser Einfluss verlor mit ansteigenden externen Eisenkonzentrationen an Bedeutung. Blattsymptome waren am letzten Versuchstag immer sehr ähnlich für die jeweiligen Genotypen. Bei hohen externen Eisenkonzentrationen, steigen Eisenaufnahmeraten und -gehalte proportional zur Menge an Wasser, das über Transpiration an die Atmosphäre verloren wird (Tadano und Yoshida,

1978). Daher ist es wahrscheinlich, dass sich bei hohen Transpirationsraten die akropetale Transportrate für Fe^{2+} erhöht. Erhöhte Konzentration von Fe^{2+} im Gewebe kann zu einer Akkumulation oxidierter Polyphenole führen, weil die Aktivität der Phenoloxidasen erhöht ist, die auch noch zusätzlich durch Wasserdefizite stimuliert wird (Thipyapong *et al.*, 2004). Die VPD Bedingungen aus Abbildung 3 waren gut geeignet, um zwischen den Genotypen zu unterscheiden, da sensitive Genotypen Blattsymptome schneller entwickelten und tolerante Genotypen durch den veränderten VPD nicht signifikant beeinflusst wurden.

5 "Screening" und Strategiererkennung

Insgesamt 14 Genotypen wurden mit dem oben beschriebenen System hinsichtlich ihrer Reaktion auf Eisentoxizität an zwei Wachstumsstadien bewertet. Als die Setzlinge im Alter von 14 Tagen dem Stress ausgesetzt wurden, ergab die Bewertung 7 tolerante, 5 intermediäre und 2 sensitive Genotypen. Wurde dasselbe Material zwei Wochen später dem Stress ausgesetzt, ergab die Bewertung 5 tolerante, 4 intermediäre und 5 sensitive Genotypen. Die Zusammensetzung der einzelnen Gruppen war jedoch vom einen zum anderen Zeitpunkt sehr unterschiedlich.

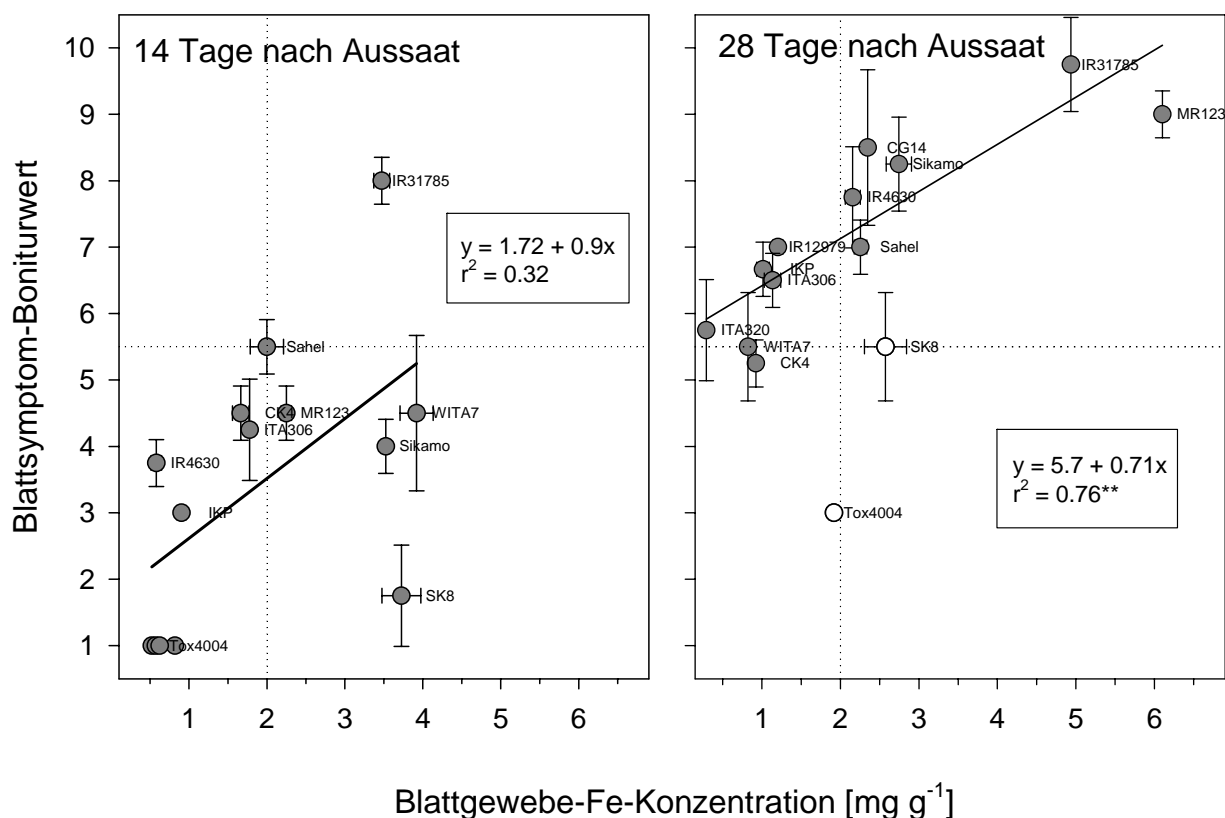


Abbildung 4 "Leaf bronzing" Boniturwerte in Relation zu Eisenkonzentrationen in oberirdischen Sprosssteilen von 14 Nassreisgenotypen. Genotypen, die mit einem offenen Symbol auf der rechten Seite dargestellt sind, wurden bei der Regressionsanalyse nicht berücksichtigt. Die Setzlinge wurden entweder 14 oder 28 Tage nach Aussaat über drei Tage unter hohen VPD Bedingungen mit 2000 ppm Fe(II) in der Nährlösung behandelt. Fehlerbalken = Standardfehler des Mittelwertes ($n=3$). Wenn keine Balken zu sehen sind, war der Fehler kleiner als die Auflösung der Achse. ** = hochsignifikant ($p < 0,01$).

Diese Veränderungen im Blattsymptomboniturwert unterschiedlicher Wachstumsstadien unterstützen die Schlussfolgerung, dass keine verlässliche Selektion auf der Basis sehr junger Setzlinge möglich ist. In einigen Fällen sind Reissetzlinge nach 14 Tagen noch nicht vollständig unabhängig von den Kornreserven und daher auch nicht physiologisch ausreichend ausgereift um Stressantworten sinnvoll bewerten zu können, weil die Pflanzen sehr niedrige Transpirations- und Assimilationsraten aufweisen (Asch *et al.*, 1999). Unter den vier-Wochen-alten Setzlingen bestätigten Suakoko8, CK4, Tox und WITA ihre Einordnung in die Gruppe der toleranten Genotypen aus Feldversuchen in Westafrika (WARDA, 1995, 2003).

Die Frage war nun zusätzlich, ob sich mit einem solch einfachen Aufbau, auch Aussagen über die Resistenzmechanismen ableiten lassen. Daher wurde für all diese Genotypen für beide Wachstumsstadien die Eisenkonzentration in den oberirdischen Sprosssteilen bestimmt, und gegen die Blattsymptomboniturwerte aufgetragen (Abbildung 4). Dabei wurde deutlich, dass jüngere Setzlinge grundsätzlich geringere Blattsymptome aufwiesen, aber höhere Eisenkonzentrationen hatten als ältere Setzlinge. Bei den älteren Setzlingen waren die Blattsymptomboniturwerte hochsignifikant, positiv linear mit den Eisenkonzentrationen im Gewebe korreliert. Dadurch konnte zwischen sensitiven "includers" (z.B. IR31785 und MR123 - Abbildung 4) und resistenten "excluders" (z. B. WITA7 und CK4) unterschieden werden, wobei die Ausschlussmechanismen entweder auf der Oxidationskraft der Wurzel (gut ausgebildetes Aerenchym) oder auf einer symplastischen Diskriminierung beruhten. Die Bewertung der Blattsymptome ermöglichte es, nach drei Tagen bei externen Konzentrationen von 2000ppm Fe²⁺ unter Bedingungen hohen VPD's eisentoxizitätsresistente Genotypen zu identifizieren. In Kombination mit Analysen der Gewebeeisengehalte war es möglich, unterschiedliche Resistenzstrategien zu erkennen (Asch *et al.*, 2005a).

6 Validierung der „screening“ – Methode unter Feldbedingungen

Ähnlich wie in dem oben beschriebenen Aufbau, hat auch ein „screening“ unter Feldbedingungen den Nachteil, dass sich die Wurzeln einer genaueren Untersuchung entziehen. So wurde im Sommer 2007 in einem Feldversuch im Mekong Delta in Vietnam versucht herauszufinden, ob das oben beschriebene Werkzeug auch unter Feldbedingungen tauglich ist. Es wurden insgesamt 15 Genotypen unter zwei kontrastierenden Eisentoxizitätsbelastungen getestet. Es wurden die Blattsymptome wie vorher beschrieben bonitiert und mit den Blatteisenkonzentrationen in Bezug gesetzt. Zusätzlich wurden die Daten noch mit einem parallel durchgeführten Gewächshausversuch verglichen.

Es zeigte sich, dass die Resistenzstrategien, die vorher beobachtet wurden (Abbildung 4) zum Teil im Vergleich eines schwach eisenbelasteten Standortes mit einem stark eisenbelasteten Standort bestätigt werden konnten (**Abbildung 5**). Bei toleranten „includers“ wie z.B. TOX 4004 stiegen zwar die Eisenkonzentrationen im Blatt an, die Boniturwerte veränderten sich dagegen kaum. Im Gegensatz dazu z. B. OM 2517 eine vietnamesische Sorte, die bei gleichbleibender Blatteisenkonzentration auf dem stärker belasteten Standort einen um 50% negativeren Boniturwert aufweist.

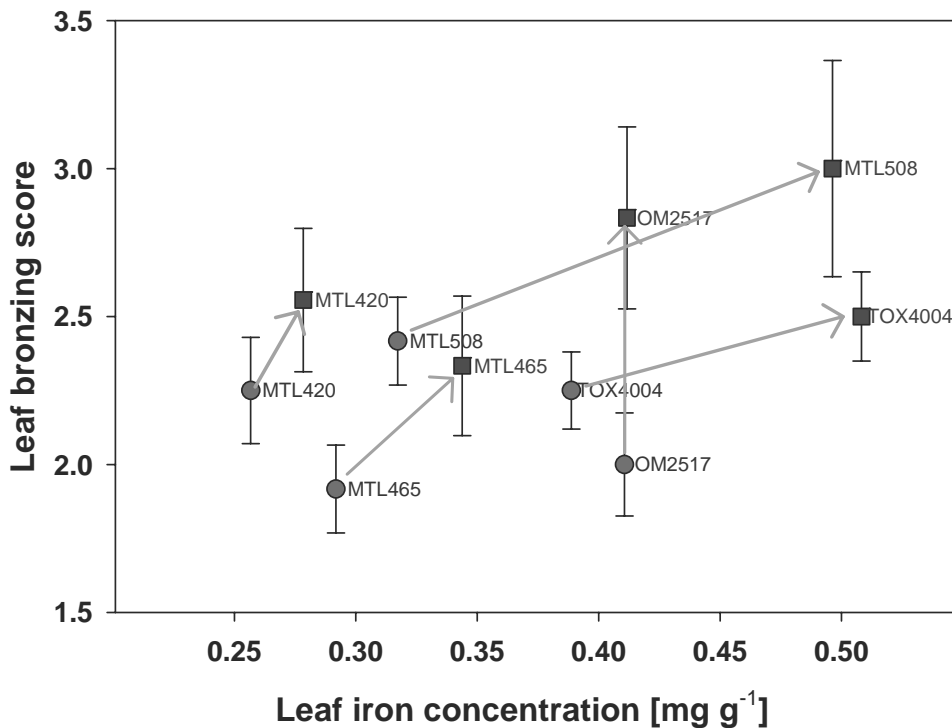


Abbildung 5 Blatteisenkonzentrationen und Blattsymptomboniturwerte für ausgewählte 5 Sorten aus dem Feldversuch in Vietnam, Sommer 2007. Kreise = schwach eisenbelasteter Standort, Quadrate = stark eisenbelasteter Standort. Die Pflanzen wurden gleichzeitig auf beiden Standorten angezogen und beprobt. Fehlerbalken = Standardfehler des Mittelwertes $p < 0.05$

Wenn man jedoch die Verteilung der Genotypen aus einem deutlich stärker toxischen Gewächshausversuch mit denen aus dem Feldversuch vergleicht, zeigt sich, dass die Methode nicht direkt übertragbar ist (Abbildung 6).

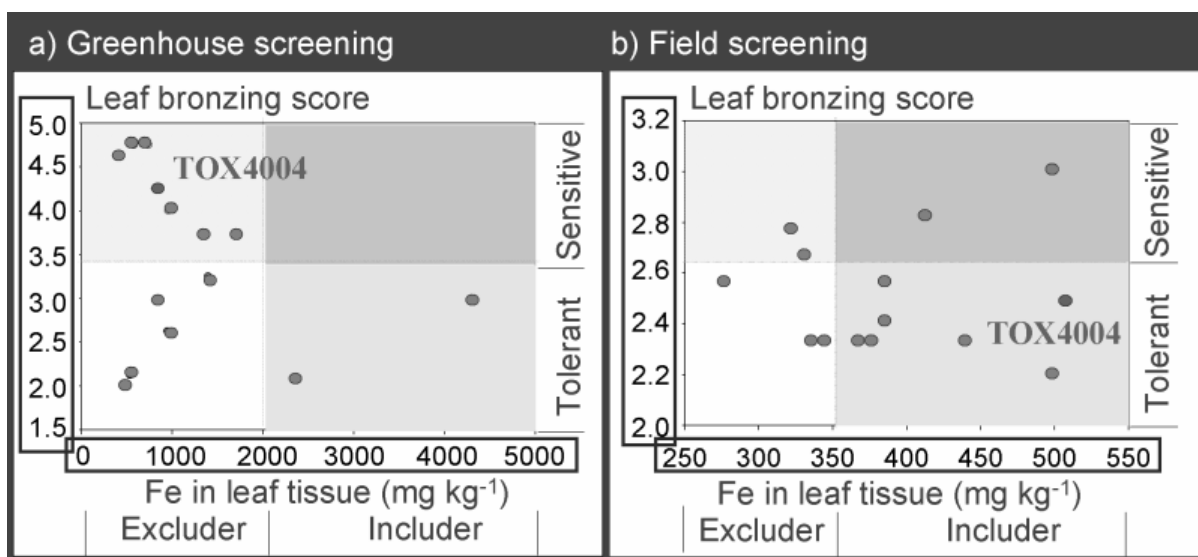


Abbildung 6 Vergleich zwischen einem (a) Gewächshausversuch mit einer Eisenbelastung von 2000ppm in einer Hydrokultur mit einen (b) Feldversuch mit einer durchschnittlichen Eisenbelastung von 350 ppm in der Bodenlösung. Als Indikatortyp wurde hier Tox4004 angeführt.

Die Pflanzen waren unter Gewächshausbedingungen deutlich mehr geschädigt. Es wurden deutlich höhere Blatteisenkonzentrationen gefunden als im Feldversuch und diese wurden sehr viel schneller erreicht. Die Sortendifferenzierung ist in beiden Fällen, Feld- und Gewächshausversuch nicht eindeutig. Vermutlich sollte für Merkmale wie „leaf bronzing score“, Blatteisenbelastung, Wurzel-Plaques Bildung u. ä. das „screening“ tatsächlich unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus erfolgen, da selbst unter nachgewiesener Eisenbelastung, Stressintensitäten, die für eine klare Differenzierung der genotypischen Strategien und Merkmale ausreichend sind, unter Feldbedingungen nicht verwirklicht werden können.

7 Der Einsatz von Bakterien zur Verbesserung der Widerstandsfähigkeit gegen Eisentoxizität bei Reis

Eine rezente Ergänzung der Forschungen über Eisentoxizität beschäftigt sich mit dem stressmildernden Einfluss von Bakterien, die mit den Wurzeln assoziiert sind. Wurzelassoziierte Bakterien sind bei der Pathogenbekämpfung seit einiger Zeit als wirkungsvolle Werkzeuge im Pflanzenschutz bekannt (Hallmann und Sikora, 1996; Berg *et al.*, 2005). Über eine eventuelle stressmildernde Wirkung solcher Bakterien auf pflanzliche Reaktionen auf abiotischen Stress ist wenig bekannt (Adhikari *et al.*, 2001). Es gibt bisher keine Berichte über Wechselwirkungen von Eisentoxizität, Pflanzensymptomen und Mikroorganismen im Wurzelraum. Wir haben von Keimwurzeln von Reissorten aus Bangladesch und Taiwan verschiedene Bakterienstämme isoliert. Vier Reisgenotypen unterschiedlicher Eisentoxizitätstoleranz (Asch *et al.*, 2005a) wurden 14 Tage in Yoshida Nährlösung angezogen (Yoshida *et al.*, 1976), eine Woche mit je einem von vier Bakterienstämmen inkubiert und im Anschluss vier Tage in einer anaeroben Nährlösung behandelt, die entweder 0 oder 1000 ppm Fe^{2+} enthielt. Es wurden die Blattsymptomboniturwerte ermittelt und die Konzentration an Eisen in den Blättern bestimmt (Abbildung 7). Es zeigte sich, dass eine Inkubation mit *Bacillus megaterium* in allen Fällen zu einer Milderung der Blattsymptome und zu einer geringeren Eisenkonzentration im Blatt führte. *Bacillus subtilis* verringerte zwar gegenüber der Kontrolle die Eisenkonzentration im Blatt, hatte aber nur wenig Einfluss auf die Blattsymptombonitur. Eine *Bacillus sp.* verringerte in TOX 4004 signifikant die Eisenkonzentration im Blatt, dieser Effekt trat aber bei keinem anderen Genotypen auf. Um eventuelle Ausschlussmechanismen untersuchen zu können, arbeiten wir zur Zeit an einer Methode, die es uns ermöglichen soll, nur verfügbares und mobiles Fe^{2+} in pflanzlichen Geweben zu messen (Asch *et al.*, 2005b). Es wäre möglich, dass der bei TOX beobachtete Effekt auf eine Oxidation an der Wurzel oder eine Retention im Stängel zurückzuführen ist. Ebenso können die bei der anderen noch nicht identifizierten Spezies von *Bacillus* beobachteten, höheren Eisenkonzentrationen im Blatt bei gleichzeitig geringen Blattsymptomboniturwerten ein Hinweis auf eine Diskriminierung am Symplasten und anschließender Oxidation im Apoplasten der Blätter sein, da die Analysemethode eine Unterscheidung zwischen Fe^{3+} und Fe^{2+} nicht zulässt.

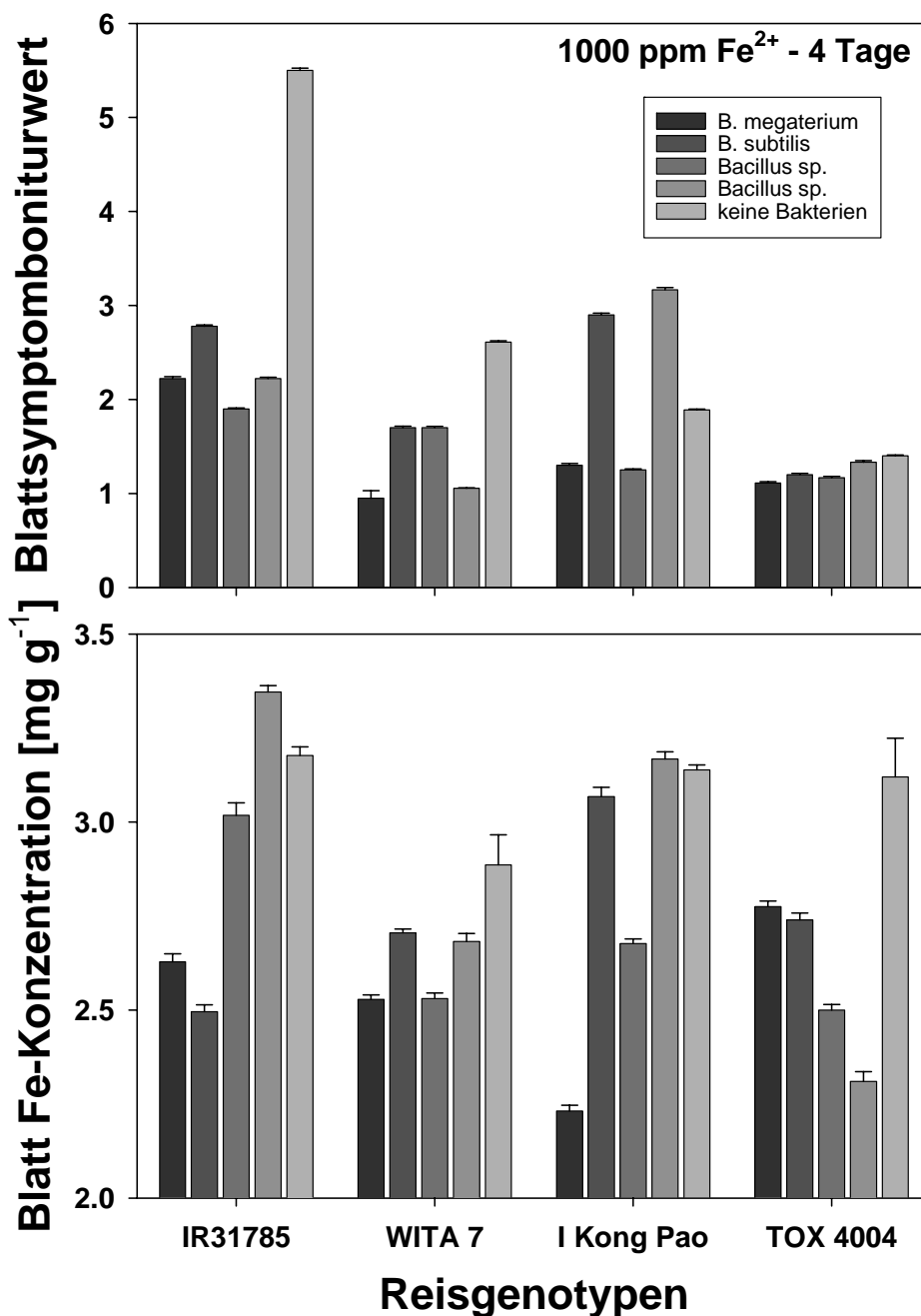


Abbildung 7 Blattsymptomboniturwerte und Eisenkonzentrationen der Blätter von vier Reisgenotypen unterschiedlicher Eisentoxizitätsresistenz nach Vorbehandlungen mit vier unterschiedlichen Bakterienstämmen sowie einer anschließenden Behandlung mit 1000ppm Fe²⁺ für vier Tage (Asch und Padgham, 2005).

Eine mögliche Anwendung dieser Ergebnisse kann in der "seed priming" Technologie angesiedelt sein (Ajouri *et al.*, 2004). Wenn man Saatgut in einer Bakterien-Nährstofflösung inkubiert, können sich daraus für den Keimling sowohl für die Resistenz gegen Unkraut als auch für die Toleranz gegen Eisentoxizität relative Vorteile ergeben. Diese gilt es unter Feldbedingungen zu testen.

8 Literatur

- Adhikari TB, Joseph CM, Yang G, Phillips DA, Nelson-Louise M.** 2001. Evaluation of bacteria isolated from rice for plant growth promotion and biological control of seedling disease of rice. *Canadian Journal of Microbiology* **47**, 916-924.
- Ajouri A, Asgedom H, Becker M.** 2004. Seed priming enhances germination and seedling growth of barley under conditions of P and Zn deficiency. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde* **167**, 630-636.
- Ando T.** 1983. Nature of oxidizing power of rice roots. *Plant and Soil* **72**, 57-71.
- Asch F, Bahrn A, Jensen CR.** 2003. Soil moisture availability and relative air humidity influence root signals of field-grown maize subjected to drought stress. In *Festkolloquium*, pp. <http://www.pitros.uni-bonn.de/downloads/poster/PDF/Asch-DGP03-Poster.pdf>. Justus-Liebig-Universität Giessen 12-13 June 2003.
- Asch F, Becker M, Kpongor D.** 2005a. A quick and efficient screen for resistance to iron toxicity in lowland rice. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **168**, 764-773.
- Asch F, Padgham J.** 2005. Root associated bacteria suppress symptoms of iron toxicity in lowland rice. In *The Global Food & Product Chain - Dynamics, Innovations, Conflicts, Strategies: international research on food security, natural resource management and rural development*, (ed. Becker K), pp. 284. Hohenheim: Universität Hohenheim, Tropenzentrum, Stuttgart, Germany.
- Asch F, Ripken C, Becker M.** 2005b. A low cost miniature method to determine iron content in samples suitable for small research laboratories. In *The Global Food & Product Chain - Dynamics, Innovations, Conflicts, Strategies: international research on food security, natural resource management and rural development*, (ed. Becker K), pp. 281. Hohenheim: Universität Hohenheim, Tropenzentrum, Stuttgart, Germany.
- Asch F, Sow A, Dingkuhn M.** 1999. Reserve mobilization, dry matter partitioning and specific leaf area in seedlings of African rice cultivars differing in early vigor. *Field Crops Res.* **62**, 191-202.
- Asch F, Wopereis MCS.** 2001. Responses of field-grown irrigated rice cultivars to varying levels of floodwater salinity in a semi-arid environment. *Field Crops Research* **70**, 127-137.
- Audebert A, Sahrawat KL.** 2000. Mechanisms for iron toxicity tolerance in lowland rice. *Journal of Plant Nutrition* **23**, 1877-1885.
- Becker M, Asch F.** 2005. Iron toxicity in rice - conditions and management concepts. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **168**, 558-573.
- Berg G, Krechel A, Ditz M, Faupel A, Ullrich A, Hallmann J.** 2005. Comparison of endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities and their antagonistic activity against plant pathogenic fungi. *FEMS Microbial Ecology* **51**, 215-229.
- Bienfait HF.** 1985. Regulated redox processes at the plasmalemma of plant root cells and their function in iron uptake. *Journal of Bioenergy and Biomembranes* **17**, 73-83.
- Bode K, Döring O, Lühje S, Böttger M.** 1995a. Induction of Iron Toxicity Symptoms in Rice (*Oryza sativa* L.). *Mitt. Inst. Allg. Bot. Hamburg* **25**, 35-43.
- Bode K, Döring O, Lühje S, Neue H-U, Böttger M.** 1995b. The Role of Active Oxygen in Iron Tolerance of Rice (*Oryza sativa* L.). *Protoplasma* **184**, 249-255.
- Chevrier N, Sarkan F, Chung YS.** 1988. Oxidative damages and repair in *Euglean gracilis* exposed to ozone. *Plant and Cell Physiology* **29**, 321-327.
- Gupta AS, Webb RP, Holaday AS, Allen RD.** 1993. Overexpression of superoxide dismutase protects plants from oxidative stress. *Plant Physiology* **103**, 1067-1073.
- Halliwell B, Gutteridge JMC.** 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemistry Journal* **219**, 1-14.

- Hallmann J, Sikora RA.** 1996. Toxicity of fungal endophyte secondary metabolites to plant parasitic nematodes and soil-borne plant pathogenic fungi. *European Journal of Plant Pathology* **102**, 155-162.
- Kosegarten H, Hofmann B, Mengel K.** 1999. Apoplastic pH and Fe³⁺-reduction in intact sunflower leaves. *Plant Physiology* **121**, 1069-1079.
- Marschner H.** 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants (2nd edn). London: Academic Press.
- Nicolic M, Römheld V.** 2001. The role of the leaf apoplast in iron nutrition of plants. In *Plant Nutrition - Food security and sustainability of agro-ecosystems*, (ed. Horst WJ), pp. 274-275. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publisher.
- Peterson DA.** 1991. Enhanced electron transfer by unsaturated fatty acids and superoxide dismutase. *Free Radicals Research Communications* **12-13**, 161-166.
- Sahrawat KL.** 2004. Iron toxicity in wetland rice and the role of other nutrients. *Journal of Plant Nutrition* **27**, 1471-1504.
- Sahrawat KL, Mulbah CK, Diatta S, Delaune RD, Patrick WH, Singh BN, Jones MP.** 1996. The role of tolerant genotypes and plant nutrients in the management of iron toxicity in lowland rice. *Journal of Agricultural Science* **126**, 143-149.
- Sahrawat KL, Singh BN.** 1998. Seasonal differences in iron toxicity tolerance of lowland rice cultivars. *International Rice Research Notes* **23**, 18-19.
- Schmidt W.** 1999. Mechanisms and regulation of reduction-based iron uptake in plants. Review. *New Phytologist* **141**, 1-26.
- Tadano T.** 1976. Studies on the methods to prevent iron toxicity in the lowland rice. *Mementos of the Faculty of Agriculture Hokkaido University* **10**, 22-68.
- Tadano T, Yoshida S.** 1978. Chemical changes in submerged soils and their effect on rice growth. In *Soils and Rice*, (ed. IRRI), pp. 399-420. Manila, The Philippines: The International Rice Research Institute.
- Thipyapong P, Melkonian J, Wolfe DW, Steffens JC.** 2004. Suppression of polyphenol oxidases increases stress tolerance in tomato. *Plant Science* **167**, 693-704.
- Thompson JE, Legge RL.** 1987. The role of free radicals in senescence and wounding. *New Phytologist* **105**, 317-344.
- Thongbai P, Goodman BA.** 2000. Free radical generation and post-anoxic injury in rice grown in an iron-toxic soil. In *Ninth International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants*, pp. 1887-1900. Stuttgart, Germany.
- WARDA.** 1995. Annual Report 1994. "Bouak., BP 2551, Ivory Coast": West Africa Rice Development Association.
- WARDA.** 2003. Painting the rice red: iron toxicity in the lowland. In *Annual Report 2001-2002*, (ed. WARDA), pp. 29-37. Bouake: West Africa Rice Development Association.
- Welch RM, Norvell WA, Schaefer SC, Shaff JE, Kochian LV.** 1993. Induction of iron(III) and copper(II) reduction in pea (*Pisum sativum* L.) by Fe and Cu status: Does the root-cell Fe(III)-chelate reductase perform a general role in regulating cation uptake? *Planta* **190**, 555-561.
- Yamauchi M, Peng XX.** 1995. Iron Toxicity and Stress-Induced Ethylene Production in Rice Leaves. *Plant and Soil* **173**, 21-28.
- Yoshida S, Forno DA, Cock JH, Gomez KA.** 1976. Laboratory manual for physiological studies of rice. Manila, Philippines: International Rice Research Institute (IRRI).