

# **Mechanistische Bewertung von Eisentoxizitätsresistenz von Nassreis im Feldanbau im Mekong-Delta, Vietnam**

Diplomarbeit zur Erlangung des akademischen Grades

Dipl. Biologin

An der Fakultät für Biologie  
Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Vorgelegt von Sabine Stürz

Betreuer: Prof. Dr. F. Asch, Universität Hohenheim  
Prof. Dr. D. Bartels, Universität Bonn

## Erklärung

Ich versichere, diese Arbeit selbständig verfasst, keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt und die Stellen der Arbeit, die anderen Werken nach Wortlaut oder Sinn entnommen wurden, kenntlich gemacht zu haben.

Diese Arbeit hat in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegen.

Bonn, den 30. November 2007

Sabine Stürz

Unterschrift

## Danksagung

Mein Dank gebührt in erster Linie Prof. Folkard Asch für die Ermöglichung und Betreuung dieser Arbeit, seinen Zuspruch und seine ständige Erreichbarkeit. Für die Begutachtung danke ich Prof. Dorothea Bartels. Dank geht an Prof. Mathias Becker im Besonderen für seine tatkräftige organisatorische Unterstützung meines Auslandsaufenthaltes. Ein besonderer Dank geht an Dr. Frédéric Gay für seine Bereitschaft diese Arbeit zu unterstützen, seine Besuche, sein Verständnis und seine Hilfe. Selbstverständlich danke ich den Mitarbeitern des Cuu Long Delta Rice Research Institutes für die freundliche Aufnahme und die großzügige Zurverfügungstellung von Labor und Versuchsfeldern. An dieser Stelle genannt seien Dr. Cao Van Phung, der mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand und Miss Van für ihre liebenswürdige Assistenz. Meinen Dank aussprechen möchte ich Le Xuan Thai und mit ihm dem Mekong Delta Development Research Institute für das Interesse an meiner Arbeit und die Bereitstellung von dem benötigten Saatgut. Dicker Dank geht an Christian für seinen Zuspruch, seine Fahrdienste und sein offenes Ohr, an Frank für seine Hilfe in der Not und an Lilli und Brigitte für ihre freundliche Unterstützung im Labor. Für die finanzielle Unterstützung und somit Ermöglichung dieser Arbeit bedanke ich mich bei der Eiselen-Stiftung, für die freundliche Beihilfe bei Formalitäten danke ich dem SANSED-Projekt.

## Inhaltsverzeichnis

Danksagung.....	4
Inhaltsverzeichnis.....	5
Abbildungsverzeichnis.....	7
Tabellenverzeichnis.....	9
1 Einleitung .....	10
1.1 Eisen als Mikronährelement .....	10
1.1.1 Aufnahme und Transport.....	10
1.1.2 Funktionen.....	12
1.1.3 Speicherung .....	13
1.2 Eisen im Boden .....	13
1.2.1 Bedingungen der Eisenreduktion .....	13
1.2.2 Merkmale eisentoxischer Böden .....	13
1.3 Eisentoxizität .....	14
1.3.1 Symptome und Stressantworten.....	14
1.3.2 Adaptionsmechanismen .....	16
1.3.3 Variabilität der Genotypen und Selektionsmethoden für Eisentoxizitätsresistenz.....	18
1.4 Reisanbau im Mekong-Delta/Vietnam .....	19
2 Material und Methoden .....	21
2.1 Hydrokulturversuch .....	21
2.1.1 Pflanzenmaterial .....	21
2.1.2 Anzucht und Versuchsaufbau .....	22
2.1.3 Probennahme .....	24
2.1.4 Analyse.....	24
2.2 Feldversuch .....	24
2.2.1 Pflanzenmaterial .....	25
2.2.2 Versuchsaufbau .....	25
2.2.3 Probennahme .....	26
2.2.4 Analyse.....	26
2.2.5 Bestimmung des Fe-Gehaltes des Bodens .....	26
3 Ergebnisse .....	27

3.1 Hydrokulturversuch .....	27
3.1.1 Symptome und Fe-Konzentration .....	28
3.1.2 Fe-Verteilung.....	31
3.1.3 Wurzelbelag .....	35
3.2 Feldversuch .....	38
3.2.1 Symptome und Fe-Konzentration .....	39
3.2.2 Vergleich von Hydrokultur- und Feldversuch.....	42
3.3 Bodenanalyse .....	43
4 Diskussion .....	45
4.1 Hydrokulturversuch .....	45
4.1.1 Symptome und Fe-Konzentration .....	46
4.1.3 Wurzelbelag .....	48
4.1.4 Vergleich der Sorten im Hydrokulturversuch.....	49
4.2 Feldversuch .....	50
4.2.1 Symptome und Fe-Konzentration .....	50
4.2.2. Vergleich der Sorten im Feldversuch .....	51
5 Vergleich von Hydrokultur- und Feldversuch .....	52
6 Schlussfolgerung .....	55
Literaturverzeichnis.....	56

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Modell für die Aufnahme von Eisen bei höheren Pflanzen .....	11
Abbildung 2: Aufbau des Hydrokultursystems .....	23
Abbildung 3: Stickstoffversorgung der Hydrokultur .....	23
Abbildung 4: a) Untereinheit (schematisch); b) Tag der Aussaat; c) nach 3 Wochen .....	25
Abbildung 5: Symptome im Hydrokulturversuch (0, 1000, 2000ppm) .....	29
Abbildung 6: Fe-Konzentrationen der Blätter im Hydrokulturversuch in $\text{mg g}^{-1}$ (0, 1000, 2000ppm) .....	30
Abbildung 7: Fe-Konzentration der Blätter in $\text{mg g}^{-1}$ und Bronzing Score im Hydrokulturversuch (2000ppm) .....	31
Abbildung 8: Verteilung der Trockenmasse in mg auf Wurzel, Stängel und Blätter im Hydrokulturversuch (2000ppm) .....	32
Abbildung 9: Verteilung des Fe-Gehalts in mg auf Wurzel, Stängel und Blätter im Hydrokulturversuch (2000ppm) .....	33
Abbildung 10: Verteilung der relativen Fe-Konzentration in $\text{mg g}^{-1}$ auf Wurzel, Stängel und Blätter im Hydrokulturversuch (2000ppm) .....	33
Abbildung 11: Verteilung der Trockenmasse in % auf Wurzel, Stängel und Blätter im Hydrokulturversuch (2000ppm) .....	34
Abbildung 12: Verteilung des Fe-Gehalts in % auf Wurzel, Stängel und Blätter im Hydrokulturversuch (2000ppm) .....	35
Abbildung 13: Fe-Belag der Wurzeln in $\text{mg g}^{-1}$ im Hydrokulturversuch (alle Behandlungen) .....	36
Abbildung 14: Trockenmasse der Wurzel [mg] und Wurzelbelag [ $\text{mg ml}^{-1}$ ] im Hydrokulturversuch (alle Behandlungen) .....	37
Abbildung 15 : Wurzelbelag in $\text{mg g}^{-1}$ und Fe-Konzentration in der gesamten Pflanze in $\text{mg g}^{-1}$ im Hydrokulturversuch (2000ppm) .....	38
Abbildung 16: Symptome im Feldversuch auf Plot 1 (niedrige Fe-Toxizität) und Plot 2 (hohe Fe-Toxizität) .....	40
Abbildung 17: Fe-Konzentrationen in $\text{mg g}^{-1}$ im Feldversuch auf Plot 1 (niedrige Fe-Toxizität) und Plot 2 (hohe Fe-Toxizität) .....	41

Abbildung 18: Fe-Konzentration der Blätter in $\text{mg g}^{-1}$ und Bronzing Score im Feldversuch am Standort mit höherer Eisentoxizität (Plot 2) .....	42
Abbildung 19: Fe-Konzentration in $\text{mg g}^{-1}$ und Boniturwerte von a) Hydrokulturversuch (1000ppm), b) Feldversuch (Plot 1), c) Hydrokulturversuch (2000ppm) und d) Feldversuch (Plot2) .....	43



## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung der verwendeten Sorten nach Sensitivität gegenüber reduziertem Eisen.....	22
Tabelle 2: Pflanzenhöhe, Anzahl der Blätter und Trockenmasse der Pflanzen des Hydrokulturversuchs mit Standardfehler (0, 1000, 2000ppm Fe <sup>2+</sup> ).....	27
Tabelle 3: Pflanzenhöhe, Anzahl der Bestockungstrieb und Trockenmasse mit Standardfehler im Feldversuch auf beiden Standorten (niedrige Toxizität: Plot 1; hohe Toxizität: Plot 2) .....	39
Tabelle 4: Fe-Konzentrationen im Boden in ppm (Plot 1 und 2) .....	44
Tabelle 5: Einordnung und Bewertung der Sorten nach Symptomen, Fe-Aufnahme und Wurzelbelag im Hydrokulturversuch (2000ppm).....	50
Tabelle 6: Einordnung und Bewertung der Sorten nach Symptomen, Fe-Aufnahme und Wurzelbelag im Feldversuch (Plot 2) .....	51
Tabelle 7: Vergleich der Gesamtbilanz der Sorten in Hydrokultur- und Feldversuch und Ergebnissen der Vorversuche.....	53

# 1 Einleitung

## 1.1 Eisen als Mikronährelement

Eisen ist ein essentielles Nährelement für Pflanzen und wird aufgrund seiner relativ geringen Konzentration im Gewebe in die Kategorie der Mikronährstoffe eingeteilt. Als Bestandteil einiger am Elektronentransfer beteiligter Enzyme spielt es eine wichtige Rolle bei physiologischen Prozessen wie Photosynthese, Atmung und N<sub>2</sub>-Fixierung und ist somit für den Stoffwechsel der Pflanze essentiell.

### 1.1.1 Aufnahme und Transport

Die Aufnahme von Eisen in die Pflanze ist ein hoch regulierter Prozess, der zum einen den für das optimale Wachstum nötigen Bedarf decken und zum anderen eine übermäßige Aufnahme vermeiden muss. Für die optimale Versorgung gilt es für die Pflanze eine Eisenkonzentration von  $10^{-9}$  –  $10^{-4}$  M aufrecht zu erhalten (Guerinot und Yi, 1994). Obwohl das vierthäufigste Element der Erdkruste, ist Eisen in seiner für Pflanzen aufnehmbaren ionischen Form von Fe<sup>2+</sup> und Fe<sup>3+</sup> aufgrund der sehr geringen Löslichkeit von den meist vorliegenden Eisenoxiden in gut belüfteten, pH-neutralen Böden nur in Konzentrationen von weniger als  $10^{-15}$  M verfügbar. Gleichzeitig erfordern die reduzierenden, radikalbildenden Eigenschaften von Fe<sup>2+</sup> und Fe<sup>3+</sup> eine Vermeidung von deren Akkumulation.

Durch verschiedene Mechanismen verbessern Pflanzen die Löslichkeit und somit die Verfügbarkeit von Eisen. Hierbei werden zwei grundsätzlich verschiedene Strategien angewandt. Der Mechanismus der Gräser wird als Strategie II beschrieben, der aller übrigen höheren Pflanzen als Strategie I. Strategie I - Pflanzen zeigen Veränderungen sowohl auf morphologischer als auch auf physiologischer Ebene. So zielen die morphologischen Veränderungen, wie die verstärkte Entwicklung von Seitenwurzeln und die Ausbildung von Transferzell-ähnlichen Strukturen in der Rhizodermis, auf eine Vergrößerung der Wurzeloberfläche, während die physiologischen Antworten auf eine verbesserte Löslichkeit des Eisens ausgerichtet sind. Dies geschieht durch die verstärkte

Ausscheidung von Protonen zur Azidifizierung der Rhizosphäre, durch die Sekretion von organischen Säuren zur Chelatisierung des Eisens und die Reduktion von  $\text{Fe}^{3+}$  zu  $\text{Fe}^{2+}$  durch Plasmamembran-gebundene Fe(III)-Reduktasen. Durch die Ansäuerung der Bodenlösung wird die Löslichkeit von  $\text{Fe}^{3+}$  mit jeder pH-Einheit um das 1000fache gesteigert (Olsen *et al.*, 1981). Der wichtigste Schritt, die Reduktion von  $\text{Fe}^{3+}$  zu dem löslicheren  $\text{Fe}^{2+}$  erfolgt durch eine NADH- oder NADPH-abhängige Chelat-Fe(III)-Reduktase (Holden *et al.*, 1994), deren Aktivität bei Eisenmangel gesteigert wird. Der anschließende Transport in die Wurzel durch IRT1, ein Mitglied der ZIP Metall-Transporter Familie, konnte für *Arabidopsis* nachgewiesen werden (Vert *et al.*, 2002). Gräser, als Strategie II-Pflanzen, bilden als Antwort auf Eisenmangel Chelatoren aus nicht in Proteinen zu findenden Aminosäuren wie z.B. Mugineinsäure. Diese Chelatoren werden als Phytosiderophore (PS) bezeichnet. Sie binden  $\text{Fe}^{3+}$  mit hoher Affinität in der Rhizosphäre und werden als  $\text{Fe}^{3+}$ -PS-Komplexe über ein spezifisches Transportsystem in die Wurzel transportiert (Abb.1).

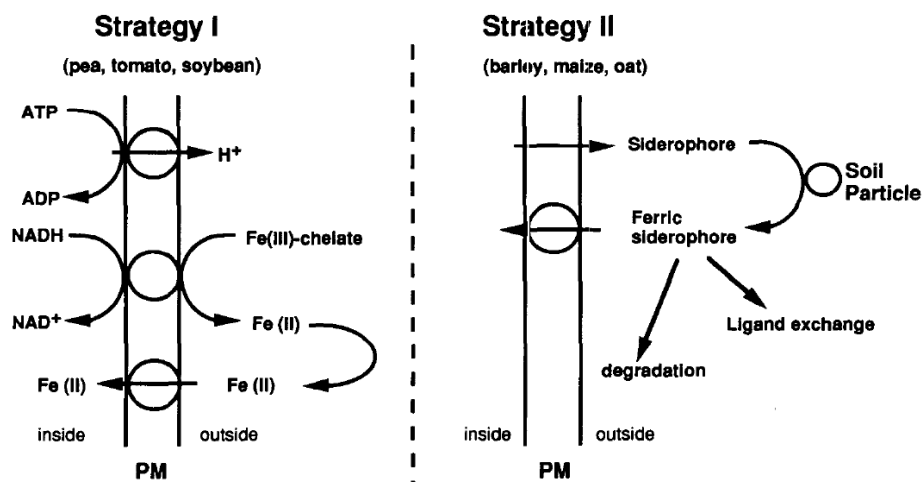


Abbildung 1: Modell für die Aufnahme von Eisen bei höheren Pflanzen (Guerinot und Yi, 1994)

Neuere Forschungsergebnisse verweisen auf eine Sonderrolle von Reis bei der Einteilung nach Strategie I und II-Pflanzen. Obwohl nach der ursprünglichen Einteilung die Eisenaufnahme von Reis der Strategie II zugerechnet wurde, fand man in Reis zusätzlich zu den  $\text{Fe}^{3+}$ -Phytosiderophoren ein dem *IRT1* von *Arabidopsis* homologes Transportergen (Bughio *et al.*, 2002). Die Fähigkeit zur

direkten Aufnahme von  $\text{Fe}^{2+}$  wird als Anpassung an ein Wachstum in überstauten Böden gedeutet (Ishimaru *et al.*, 2006).

Nach der Aufnahme von  $\text{Fe}^{2+}$  in den Symplasten der Wurzel erfolgt zunächst die Oxidation zu  $\text{Fe}^{3+}$ . Nach der Komplexierung diffundiert  $\text{Fe}^{3+}$  in der überwiegenden Form als Eisen-Citrat-Komplex in Richtung Xylem und wird von dort in die Blätter transportiert. Vom genauen Mechanismus ist bislang wenig bekannt. Jedoch scheint Reis auch hier eine Sonderrolle einzunehmen. Aufgrund der hohen Konzentration von zweiwertigem Eisen in überstauten Böden und dessen übermäßiger Aufnahme durch die Wurzel, scheint es in seiner reduzierten Form als  $\text{Fe}^{2+}$  auf symplastischem Weg den Casparischen Streifen zu passieren und im Xylem dem Transpirationstrom zu den Blättern zu folgen.

### 1.1.2 Funktionen

Eisen ist ein wichtiger Bestandteil einiger Enzyme, die am Elektronentransport beteiligt sind. Etwa 80% des Eisens in der gesamten Pflanze sind in den Chloroplasten lokalisiert. Die beiden wichtigsten Gruppen von eisenhaltigen Enzymen sind die Hämproteine und Eisen-Schwefelproteine. Hämproteine enthalten Häm als prostetische Gruppe, ein Porphyrin-Molekül mit einem koordinativ gebundenen zentralen Fe-Ion, das durch Valenzwechsel an der Elektronenübertragung teilnimmt. Zu den Hämproteinen gehören die Cytochrome, die Bestandteil des Redox-Systems in Chloroplasten und Mitochondrien sind, Leghämoglobin, Katalase und Peroxidasen. Die Aktivität von Katalase und Peroxidasen in Blättern wird als Indikator für die Eisenversorgung der Pflanzen angesehen (Marschner, 1995). Eisen-Schwefelproteine enthalten Eisen, das an die Thiolgruppe von Cysteinresten des Apoproteins gebunden ist. Beispiele sind Ferredoxin, ein wichtiger Elektronenüberträger in zahlreichen Stoffwechselprozessen, Isoenzyme der Superoxiddismutase und Aconitase (Marschner 1995). Als Bestandteil des Nitrogenaseenzymkomplexes ist Eisen an der biologischen Stickstofffixierung beteiligt. Eine weitere wichtige Rolle spielt Eisen bei der Biosynthese von Chlorophyll, da es an der Synthese der Porphyrine beteiligt ist (Taiz und Zeiger, 2000). Das erste sichtbare Anzeichen von Eisenmangel sind ein verringerter Chlorophyllgehalt und einem

„Ausbleichen“ der Blätter.

### 1.1.3 Speicherung

Pflanzenzellen speichern überschüssiges Eisen in einem Eisen-Protein-Komplex, dem Phytoferritin. 24 identische Proteinuntereinheiten bilden eine Hohlkugel und lagern 5400 bis 6200 Eisenatome als  $\text{Fe}^{3+}$ -Oxid-Phosphat-Komplex ein (Taiz und Zeiger, 2000). Die Bildung von Phytoferritin wird über die Konzentration an freiem Eisen in der Zelle reguliert. Die Freisetzung des Eisens erfolgt wahrscheinlich über den Abbau der Proteinhülle (Taiz und Zeiger, 2000). Phytoferritin findet sich nicht nur in den Chloroplasten, sondern auch in Xylem, Phloem und im Samen (Marschner, 1995).

## 1.2 Eisen im Boden

Eisentoxizität als Stressfaktor bei der Produktion von Nassreis resultiert aus einer hohen Konzentration an reduziertem Eisen im Boden. Aufgrund der Flutung von Reisfeldern entstehen nach kurzer Zeit durch aerobe Atmung von Wurzeln und Mikroorganismen anoxische Bedingungen im Boden, die im weiteren Verlauf eine mikrobielle Reduktion von  $\text{Fe}^{3+}$  zu  $\text{Fe}^{2+}$  begünstigen.

### 1.2.1 Bedingungen der Eisenreduktion

Durch die im Vergleich zu Luft stark eingeschränkte Diffusion von Sauerstoff in Wasser wird der vorhandene Sauerstoff in überstauten Böden anhängig von der Temperatur mehr oder weniger rasch von aeroben Mikroorganismen und Wurzeln verbraucht. Anaerobe Mikroorganismen breiten sich unter Nutzung von alternativen Elektronenakzeptoren aus. Mit sinkendem Redoxpotential des Bodens werden zunächst  $\text{NO}_3^-$  und Mn-Oxide, im weiteren Verlauf  $\text{Fe}^{3+}$  und  $\text{SO}_4^{2-}$  reduziert. Die  $\text{Fe}^{2+}$ -Konzentration der Bodenlösung ist abhängig von der Dauer der Überflutung, dem pH und dem Gehalt an organischer Substanz und  $\text{Fe}^{3+}$  (Dobermann und Fairhurst, 2000).

### 1.2.2 Merkmale eisentoxischer Böden

Die kritische Konzentration für das Auftreten von Eisentoxizität beträgt  $>300 \text{ mg Fe}^{2+} \text{ L}^{-1}$  im Boden (Dobermann und Fairhurst, 2000). Dennoch variieren die

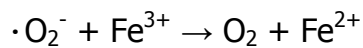
kritischen Konzentrationen für das Auftreten von Eisentoxizität stark. Die beobachteten Konzentrationen reichen von 10 bis 1000 mg Fe<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> (Kirk, 2004) und implizieren somit eine Abhängigkeit der Eisentoxizität von anderen Faktoren als der Fe-Konzentration der Bodenlösung allein. Toxizitätssymptome und Ertrag auf eisentoxischen Böden werden in Zusammenhang mit der P, K und Zn Düngung (Montas Ramirez *et al.*, 2002), dem pH-Wert (Dobermann und Fairhurst, 2000) und der Konzentration von Atmungshemmern wie H<sub>2</sub>S (Tanaka *et al.*, 1966) gebracht. 3 Hauptgruppen eisentoxischer Böden werden unterschieden (Kirk, 2004; Becker und Asch, 2005): 1) sulfatsaure Böden mit außergewöhnlich hohen Konzentrationen von Fe<sup>2+</sup> in der Bodenlösung, die sich aus der besonderen Mineralogie des Bodens ergeben, 2) schlecht drainierte sandige Böden in Tälern, die durch unterirdischen Abfluss sedimentreiches Wasser des höher gelegenen Umlands aufnehmen, 3) tonigere, saure und eisenhaltige Böden in Sedimenten aus stark verwitterten Böden.

### 1.3 Eisentoxizität

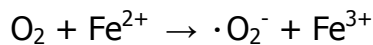
Eisentoxizität ist einer der bedeutendsten abiotischen Stressfaktoren bei der Produktion von Nassreis. Bedingt durch hohe Konzentrationen an reduziertem Eisen in der Bodenlösung und dessen übermäßiger Aufnahme durch die Wurzel, kommt es zu beträchtlichen Ertragseinbußen. Diese belaufen sich in der Regel auf 15-30%, bei massiver Toxizität kann es jedoch auch zum kompletten Ernteausfall kommen (Abifarin, 1988).

#### 1.3.1 Symptome und Stressantworten

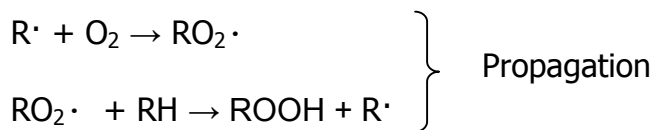
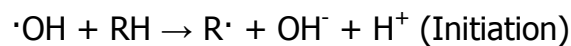
In der Zelle kommt es bei hohen Konzentrationen von Fe<sup>2+</sup> zur Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies und somit zu oxidativem Stress. Fe<sup>2+</sup> katalysiert die Disproportionierung von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zum äußerst reaktiven Hydroxylradikal ( $\cdot\text{OH}$ ) und zum Hydroxid-Ion (OH<sup>-</sup>). Diese Reaktion ist bekannt als Fenton-Reaktion. Das Superoxidationradikal ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) ist in der Lage das entstehende Fe<sup>3+</sup> zu Fe<sup>2+</sup> zu reduzieren und somit die Entstehung von weiteren  $\cdot\text{OH}$  voranzutreiben (Becana *et al.*, 1998). Die Summe dieser Reaktionen wird als Haber-Weiss-Reaktion bezeichnet:



Bei dem bei starker Eisentoxizität im Überschuss vorhandenen zweiwertigen Fe kann letztere Reaktion unter Bildung von Superoxidationradikalen in umgekehrter Richtung ablaufen (Marschner, 1995):



Auf diesem Weg trägt Fe ebenso wie weitere Schwermetall und andere Umweltstressfaktoren, wie Strahlung, Trockenheit und Kälte, über die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies zur Zerstörung von Membranen, Proteinen und Nukleinsäuren bei. Man geht davon aus, dass die Zerstörung von Membranen unter Peroxidation von Fettsäuren über die folgende Kettenreaktion verläuft (Thompson und Legge, 1987):



Auch bei  $\cdot\text{O}_2^-$  geht man von einer schädigenden Wirkung auf Membranen aus, da sich dieses besonders reaktiv in hydrophober Umgebung, wie dem Inneren von Membranen zeigt (Thompson und Legge, 1987). Die Schädigung von Proteinen durch Radikale verläuft über den Angriff auf Aminosäurereste. In an BSA durchgeführten Studien zeigten sich besonders Tryptophan, Tyrosin, Histidin und Cystein sensitiv gegenüber  $\cdot\text{O}_2^-$  und  $\cdot\text{OH}$  (Davies et al., 1987). Die so verursachten strukturellen Veränderungen der Proteine führen zu Konformationsänderungen, Funktionsverlust und/oder zur Anfälligkeit gegenüber Proteolyse. Weiterhin geht man davon aus, dass Radikale den Chlorophyllgehalt über eine oxidative Spaltung reduzieren (Price und Hendry, 1991). Die Schädigung von DNA verläuft über einen Angriff der Basen und der Desoxyribose (Valko et al., 2004). Man geht davon aus, dass weder  $\cdot\text{O}_2^-$  noch  $\text{H}_2\text{O}_2$  an diesem Vorgang beteiligt sind, sondern lediglich  $\cdot\text{OH}$  mit DNA reagiert. Ein weiterhin möglicher Mechanismus bei der Schädigung von DNA ist die Aktivierung von Nukleasen durch  $\cdot\text{OH}$ , die über einen enzymatischen Abbau die

DNA zerstören (Halliwell und Aruoma, 1991).

Auf der anderen Seite ist Fe Bestandteil von antioxidativen Enzymen wie Katalase und Peroxidasen. Das in den Enzymen enthaltene Fe steht für die Fenton-Reaktion nicht zur Verfügung, kann jedoch unter Einfluss von aktiviertem Sauerstoff freigesetzt werden (Becana *et al.*, 1998).

Typisches Symptom ist eine Bronzefärbung der Blätter. Diese beginnt bei älteren Blättern mit dem Auftreten von kleinen braunen Punkten, die sich von der Blattspitze zur Basis hin ausbreiten. Im weiteren Verlauf verfärbt sich das Blatt von der Spitze aus gelb-orange und vertrocknet. Abhängig vom Grad der Toxizität kann es zur orange-braun Färbung des gesamten Blattes kommen. In Abhängigkeit vom betroffenen Entwicklungsstadium der Pflanze kann es zu weiteren Beeinträchtigungen von Wachstum und Entwicklung kommen. So führt Eisentoxizität in frühen Stadien zu einer reduzierten Bildung von Bestockungstrieben (Abraham und Pandey, 1989), Niedrigwuchs und verringerter Biomasseakkumulation (Abu *et al.*, 1989). In der späten vegetativen und frühen reproduktiven Phase kann es zu einer geringeren Rispenbildung (Singh *et al.*, 1992) und verspäteten Blütenbildung kommen (Ayotade, 1979).

### 1.3.2 Adaptionsmechanismen

Zur Anpassung an eisentoxische Böden und hohe Fe-Konzentrationen in der Pflanze hat Reis verschiedene Mechanismen entwickelt. Auf physiologischer Ebene können 3 Haupttypen zur Vermeidung und/oder Toleranz von Eisentoxizität unterschieden werden (Becker und Asch, 2005):

Oxidation von Fe in der Rhizospäre und Ausschluss an der Wurzelmembran

Immobilisierung von aktivem Fe

Toleranz von Fe im Symplasten

Pflanzen, die eine oxidative Schädigung durch eine verringerte Aufnahme von Fe vermeiden, werden den „Excludern“ zugeordnet. Wie viele Wasserpflanzen bildet Reis ein der Sauerstoffversorgung der Wurzeln dienendes Interzellulärsystem, das Aerenchym. Luft tritt durch die Stomata ein und der



Sauerstoff erreicht über Partialdruckunterschiede durch das Aerenchym die Wurzeln. Während viele Landpflanzen nur unter Sauerstoffmangel über die Induzierung der ACC-Synthase und die Produktion von ACC und Ethylen ein Aerenchym ausbilden, entsteht dieses bei Reis unabhängig von Umweltreizen (Taiz und Zeiger, 2000; Liao und Lin, 2001). Dennoch scheinen auch Reispflanzen bei hohen  $\text{Fe}^{2+}$ -Konzentrationen in der Bodenlösung mit einer Erhöhung der Ethylenproduktion zu reagieren (Peng und Yamauchi, 1993). Der nicht bei der Wurzelatmung verbrauchte Sauerstoff diffundiert durch Interzellularräume in den die Wurzel umgebenden Boden (Ando et al., 1983). Besonders in der Nähe der Wurzelspitze kann so das Redoxpotential der Rhizosphäre deutlich erhöht und  $\text{Fe}^{2+}$  oxidiert werden (Flessa und Fischer, 1992). Auf diese Weise kann der Gehalt an  $\text{Fe}^{2+}$  in der Bodenlösung verringert werden und das oxidierte Fe wird als rotbrauner Belag von vornehmlich  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  auf der Oberfläche der Wurzel sichtbar. Möglicherweise stellt der Wurzelbelag zusätzlich eine physische Barriere für das verbleibende reduzierte Fe dar (Tanaka et al., 1966). Fe, das diese oxidative Barriere überwinden konnte, gelangt in den Apoplasten der Wurzel. Um in das Leitgewebe aufgenommen zu werden, ist aufgrund des Casparischen Streifens die Passage einer Membran unumgänglich. Der Transport von Fe in den Symplasten wurde unter 1.1.1 bereits erläutert. Über den genauen Mechanismus der Aufnahme bei hohen Konzentrationen ist wenig bekannt. Dennoch ist davon auszugehen, dass hier eine weitere Barriere besteht und die Pflanze die Aufnahme an der Membran beschränken kann. Ein starkes Indiz für diese Vermutung ist die verstärkte Fe-Aufnahme nach der Behandlung mit dem Respirationsinhibitor KCN (Tadano, 1975). Dies deutet auf eine aktive Aufnahme und somit auf die Möglichkeit diese Aufnahme zu begrenzen.

Die Immobilisierung von aktivem Fe und anschließende Ansammlung im Gewebe von Wurzel, Stängel und Blatt gilt als weiterer Mechanismus zur Vermeidung von Eisentoxizität. Zur Speicherung von überschüssigem Fe dient das Phytoferritin. In diesem Eisen-Protein-Komplex ist Fe metabolisch inaktiv. Unter eisentoxischen Bedingungen werden gewöhnlich in den Wurzeln hohe Fe-Konzentrationen gefunden. Als Hinweis auf die Speicherung von

überschüssigem Fe in der Wurzel gilt der Fund einer geringeren Verlagerung von der Wurzel zu den Blättern in eisentoleranten Reissorten (Audebert und Sahrawat, 2000). Da sich ein hoher pH im Apoplasten aufgrund eines hohen pH-Optimums der  $\text{Fe}^{3+}$ -Reduktase als hinderlich bei der Aufnahme von Fe in den Symplasten erwies (Kosegarten et al., 1999), ist auch eine Immobilisierung und Einlagerung im Gewebe von Stängel und Blatt denkbar.

Die Toleranz von hohen Fe-Konzentrationen im Symplasten stellt möglicherweise den wichtigsten Adaptionsmechanismus dar. Da auch in toleranten Sorten häufig eine hohe Fe-Konzentration in den Blättern zu finden ist, ist davon auszugehen, dass hier die Vermeidung von Eisenstress durch Ausschluss oder Immobilisierung an bzw. in der Wurzel gegenüber der Toleranz in der Pflanze nur eine untergeordnete Rolle spielt (Jayawardena *et al.*, 1977). Unter der hier beschriebenen Toleranz sind zum einen die Bindung von Fe im Symplasten in metabolisch inaktive Formen (Phytoferritin, Chelate) und in Strukturen die kontrollierte Oxidations-/Reduktionsreaktionen erlauben, zum anderen die Detoxifizierung reaktiver Sauerstoffspezies zu verstehen. Detoxifizierungsmechanismen können in enzymatische und nicht-enzymatische Mechanismen unterteilt werden: die nicht-enzymatischen Antioxidantien umfassen Ascorbat, Glutathion, Tocopherol, Flavonoide, Alkaloide und Carotinoide, zu den antioxidativen Enzymen zählen Superoxiddismutase, Peroxidasen und Katalase (Bartels und Sunkar, 2005).

### 1.3.3 Variabilität der Genotypen und Selektionsmethoden für Eisentoxizitätsresistenz

Eine Strategie zur Vermeidung von Ernteschäden durch Eisentoxizität ist die Nutzung resistenter Genotypen. Da sowohl der Zeitpunkt des Auftretens als auch das Ausmaß des Stresses nicht nur von der Sorte, sondern in starkem Umfang auch von den Umweltbedingungen abhängig sind (Becker und Asch, 2005), ist eine zielgerichtete Sortenanpassung vor Ort unabdingbar. Trotz des Wissens über verschiedene Resistenzstrategien (Vermeidung/Toleranz, Includer/Excluder) der Reispflanzen, basieren die Methoden zur Selektion toleranter Pflanzen meist auf den Symptomen der Blätter und dem Ertrag. Gewächshausversuche auf den Philippinen identifizierten 479 von 6140

getesteten Sorten als „relativ tolerant“ gegenüber hohen  $\text{Fe}^{2+}$ -Konzentrationen im Boden (Lantin und Neue, 1989). In Westafrika durchgeführte Versuche charakterisierten mehr als 50% der getesteten Sorten als tolerant gegenüber Eisentoxizität auf Grundlage der Toleranz des Blattgewebes. Weiterhin wurde hier eine gute Übereinstimmung der Sortentoleranz in Hydrokultur und Boden gefunden (Yamanouchi und Yoshida, 1981).

Vorarbeiten zu vorliegenden Arbeit haben Methoden zur Erkennung unterschiedlicher Strategien der Eisentoxizitätsresistenz entwickelt (Asch *et al.* 2005; Aung, 2006), die allerdings bisher nur unter kontrollierten Bedingungen in Hydrokultur getestet wurden. Diese erlauben im Gegensatz zu den üblichen Feld- bzw. Topfversuchen den Zugriff auf Wurzel und Wurzelbelag. Dabei wurden sowohl Toleranzmechanismen, also die Aufnahme von Eisen in sensible Gewebe ohne Schadsymptomausbildung, als auch Resistenzmechanismen, die auf Vermeidung von überhöhten Eisenkonzentrationen im Gewebe durch eine verstärkte Abscheidung von Eisenoxid auf der Wurzeloberfläche, als relevante Mechanismen zur Überwindung von Eisentoxizität identifiziert. Eine Übertragung auf Feldbedingungen sowie eine Bewertung der Aussagekraft dieser Bewertungsmethoden mit einem unabhängigen Satz Genotypen standen noch aus. Parallel zu diesen Arbeiten unter kontrollierten Bedingungen, wurden auf potentiell eisentoxischen sulfatsauren Böden im Mekong-Delta Abschätzungen von Ertragsverlusten für etwa 25 einheimische Sorten durchgeführt, die allerdings nur die späten, reproduktiven Stadien der Reispflanzen betrachtet haben und keine Rückschlüsse auf zugrunde liegende Mechanismen zulassen. Im Rahmen der Diplomarbeit wurden in Zusammenarbeit mit dem Cuu Long Delta Rice Research Institut (CLRRI) diese und 3 weitere einheimischen Reissorten auf ihre Eisentoxizitätsresistenz im Vergleich zu internationalen Referenzsorten untersucht und anhand des Vergleichs von Feld- und Hydrokulturversuchen die entwickelten Bewertungsmethoden überprüft.

#### 1.4 Reisanbau im Mekong-Delta/Vietnam

Das Mekong-Delta im Südwesten Vietnams ist eine Flachlandregion mit einer

Höhe von weniger als 2m über dem Meeresspiegel. Das Klima im Delta ist tropisch mit zwei zu unterscheidenden Jahreszeiten, Regen- (Mai-Oktober) und Trockenzeit (November-April). Die Durchschnittstemperatur beträgt 27°C. Der jährliche Niederschlag mit etwa 1600mm fällt zu 90% während der Regenzeit. Reis stellt die dominierende Nutzpflanze dar und wird auf etwa 2 Millionen ha angebaut. Mit 3 Ernten pro Jahr und einer jährlichen Produktion von 16,2 Millionen Tonnen trägt das Mekong-Delta ca. 50% zur gesamten Reisproduktion Vietnams (Bui, 2000) und somit zu dessen Stellung als weltweit zweitgrößter Reisexporteur (Nguyen, 2006) bei. Sulfatsaure Böden bedecken etwa 1,6 Millionen ha bzw. 40% des gesamten Mekong-Deltas (Minh *et al.*, 1997). Diese sind unter anderem charakterisiert durch einen niedrigen pH und hohe Fe-Konzentrationen und schaffen somit gemeinsam mit der jährlichen Überflutung des Gebietes durch die ausgeprägten Niederschläge und den Überlauf des Mekongs die Voraussetzungen für eine Schädigung der Reisernte durch Eisentoxizität.

## 2 Material und Methoden

Von März bis Juli 2007 wurden unter tropischen Klimabedingungen ein Hydrokultur- und ein Feldversuch zur Eisentoxizitätsresistenz von Nassreis am Cuu Long Delta Rice Research Institute (CLRRI) in O Mon im Mekong-Delta im Süden Vietnams durchgeführt.

### 2.1 Hydrokulturversuch

Im Zeitraum von Ende März bis Anfang Mai 2007 wurde im Gewächshaus des CLRRI ein Hydrokulturversuch zur Untersuchung der Resistenzmechanismen von 13 einheimischen und 2 bereits getesteten Reissorten gegenüber reduziertem Eisen in der Nährlösung durchgeführt. Hierfür wurde ein an der Universität Bonn entwickelter Versuchsaufbau verwendet. Die mittlere Lufttemperatur während der Durchführung betrug 30,9°C, das Temperaturminimum lag bei 27,0°C, das Maximum bei 36,6°C. Die mittags bestimmte Temperatur der Nährlösung betrug zwischen 30 und 31°C.

#### 2.1.1 Pflanzenmaterial

Im Hydrokulturversuch wurden insgesamt 15 Sorten Nassreis (*O. sativa*), die sich in vorangegangenen Versuchen als tolerant, moderat-tolerant bzw. sensitiv hinsichtlich ihrer Reaktionen auf Eisentoxizität erwiesen hatten, verwendet. Das Saatgut von 9 dieser Sorten wurde vom Mekong Delta Development Research Institute, Can Tho zur Verfügung gestellt, 4 weitere im Mekong Delta genutzte Sorten lieferte das CLRRI. Die 2 Referenzsorten (*Sahel108*, *Tox4004-8-1-2-3*) wurden vom Institut für Nutzpflanzenforschung und Ressourcenschutz der Universität Bonn bereitgestellt (Tab.1).

**Tabelle 1: Einteilung der verwendeten Sorten nach Sensitivität gegenüber reduziertem Eisen**

Fe-tolerant	moderat tolerant	Fe-sensitiv
MTL420*	MTL468*	MTL465*
MTL442*	MTL469*	MTL471*
MTL508*	OM2395#	MTL509*
AS996#		MTL510*
OM576#		
OM2517#		
Tox4004-8-1-2-3°		
Sahel108°		

\*: Mekong Delta Development Research Institute, University of Can Tho

#: Cuu Long Delta Rice Research Institute, O Mon

°: Institut für Nutzpflanzenforschung und Ressourcenschutz, Universität Bonn

### 2.1.2 Anzucht und Versuchsaufbau

Das Saatgut wurde über Nacht in *Aqua dest.* vorgequollen und 3 Tage auf Filterpapier in Petrischalen vorgekeimt. Anschließend wurden die Keimlinge in mit gereinigtem Sand gefüllte Pflanzschalen gesetzt und dort für weitere 6 Tage bis zur Überführung in die Hydrokultur angezogen. Als Hydrokulturmedium wurde eine Yoshida-Lösung (Yoshida *et al.*, 1976) verwendet. Diese beinhaltete 40mg L<sup>-1</sup> N (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>), 10mg L<sup>-1</sup> P (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O), 40mg L<sup>-1</sup> K (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 40mg L<sup>-1</sup> Ca (CaCl<sub>2</sub>), 40mg L<sup>-1</sup> Mg (MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O), 0,5mg L<sup>-1</sup> Mn (MnCl<sub>2</sub> x 4H<sub>2</sub>O), 0,05mg L<sup>-1</sup> Mo ((NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub> x Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> x 4H<sub>2</sub>O), 0,2 mg L<sup>-1</sup> B (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>), 0,01mg L<sup>-1</sup> Zn (ZnSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O), 0,01mg L<sup>-1</sup> Cu (CuSO<sub>4</sub> x 5H<sub>2</sub>O) und 2mg L<sup>-1</sup> Fe (FeCl<sub>3</sub> x 6H<sub>2</sub>O) und wurde auf pH 5 eingestellt.

Die Pflanzen wurden in das Hydrokultursystem (Abb.2), bestehend aus 6 Kisten (6,5L; 37cm x 26,5cm)<sup>1</sup> mit jeweils 60 miteinander verbundenen und im Ganzen entnehmbaren PVC-Röhren (9cm Länge; 3,6cm Durchmesser),

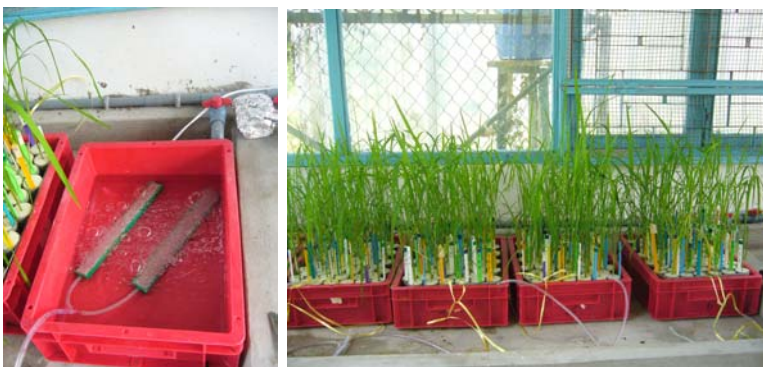
<sup>1</sup> Gütersloher Baubedarf GmbH & Co. KG „Betrieb und Umwelt“, 33332 Gütersloh

überführt und mit zur Hälfte eingeschnittenen Ceaprenstopfen<sup>2</sup> (3,6cm Durchmesser; Höhe 3cm) in den Röhren fixiert, so dass lediglich die Wurzeln in Kontakt zur Nährlösung standen.



**Abbildung 2: Aufbau des Hydrokultursystems**

10 Tage nach Ansetzen des Saatgutes wurden in jede Kiste je 4 Einzelpflanzen der 15 Sorten vollständig randomisiert angeordnet und eine 25%ige Nährlösung zugegeben. Nach 5 Tagen wurde die Nährlösung der 15 Tage alten Pflanzen ausgetauscht und durch eine 50%ige ersetzt. Nach weiteren 6 Tagen wurde Nährlösung erneut ausgetauscht und die nun 3 Wochen alten Pflanzen erhielten eine 100% Nährlösung. Die Nährlösung wurde nun wöchentlich erneuert, wobei nach 2 Wochen der Nährlösung der 5 Wochen alten Pflanzen zweiwertiges Eisen in Form von  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  zugefügt wurde. Die Nährlösung von je 2 Kisten wurde mit Fe-Konzentrationen von 2000, 1000 und 0ppm versetzt. Um das Redoxpotential der Lösung auf einem niedrigen Niveau zu halten und somit der Oxidation des Eisens entgegen zu wirken, wurden die Kisten mit jeweils 2 Durchströmsteinen ausgestattet und die Lösung alle 2 Stunden für 15min mit Stickstoffgas durchperlt (Abb.3).



**Abbildung 3: Stickstoffversorgung der Hydrokultur**

<sup>2</sup> Greiner Bio-One GmbH, 42719 Solingen

Im Alter der Pflanzen von 39 Tage wurden Bonitur und Ernte durchgeführt.

### 2.1.3 Probennahme

39 Tage nach der Aussaat wurde zunächst eine visuelle Bonitur der Eisentoxizitätssymptome anhand des Prozentsatzes der betroffenen Blattfläche durchgeführt. Hierzu diente eine nach Asch *et al.* (2005) an Eisentoxizität angepasste Erweiterung des *Standard Evaluation System for scoring for leaf blast lesions* des *International Network for the Genetic Evaluation of Rice* (INGER; IRRI, 1996) mit folgenden Prozentzahl/Boniturwert Kombinationen: 0-9=1; 10-19=2; 20-29=3; 30-39=4; 40-49=5; 50-59=6; 60-69=7, 70-79=8; 80-89=9; 90-100=10 (totes Blatt).

Weiterhin wurden die Höhe der Pflanzen und die Anzahl der Blätter bestimmt. Je 2 Pflanzen wurden zusammen genommen, deren Wurzeln zur Entfernung und anschließenden Quantifizierung des Wurzelbelags für 5min in 15mL 0,5M HCl gewaschen und anschließend mit *aqua dest.* gespült. Die Wurzelbelaglösung wurde bis zur Analyse gekühlt aufbewahrt. Wurzeln, Stängel und Blätter von jeweils 2 zu einer Probe vereinten Pflanzen wurden getrennt und bis zur Bestimmung des Trockengewichts und des Eisengehalts getrocknet.

### 2.1.4 Analyse

Wurzeln, Stängel und Blätter der Pflanzen wurden bis zu konstantem Gewicht getrocknet und das Trockengewicht bestimmt. Das Pflanzenmaterial wurde mit je 1mL mit Selen versetzter HNO<sub>3</sub> (3,5g Se/1L HNO<sub>3</sub>) und 5mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> für insgesamt 4h mit je 1h bei 120°C, 220°C, 320°C und 400°C gekocht. Nach dem Aufschluss wurde der Eisengehalt der Pflanzengewebe sowie die Eisenkonzentration der Wurzelbelaglösung mittels Atomabsorptions-Spektrometer (Perkin Elmer 3110) bestimmt.

## 2.2 Feldversuch

Zwischen Anfang Mai und Anfang Juli 2007 wurde auf dem Versuchsgelände das CLRRI ein Feldversuch zur Validierung der im Hydrokulturversuch



gewonnen Ergebnisse durchgeführt. Hierzu wurden die bereits getesteten Reissorten auf zwei Feldern mit einem unterschiedlichen Grad an Eisentoxizität ausgebracht. Die Aussaat fand zu Beginn der Regenzeit statt. Zwischen Mai und Juli ist im Mekong-Delta von einer durchschnittlichen Höchsttemperatur von 32°C und von einer durchschnittlichen Mindesttemperatur von 25°C auszugehen.

### 2.2.1 Pflanzenmaterial

Es wurden die gleichen Sorten wie im Hydrokulturversuch verwendet. Von Sahel108 standen aufgrund einer äußerst geringen Keimungsrate nicht genügend Pflanzen zur Verfügung, so dass diese aus der Bewertung der Ergebnisse ausgeschlossen wurden.

### 2.2.2 Versuchsaufbau

2 Felder mit einem Unterschied in der Konzentration an reduziertem Eisen in der Bodenlösung wurden in jeweils 4 x 15 Untereinheiten angelegt und die 15 Sorten darauf mit je 4 Wiederholungen zufällig angeordnet. Jede Untereinheit hatte eine Abmessung von 1m x 1m und wurde durch einen Bewässerungsgraben bzw. einen kleinen Erdwall von den sie umgebenden Untereinheiten abgegrenzt. Das Saatgut wurde 4 Tage vorgekeimt und in 25 (5 x 5) Pflanzlöchern je Untereinheit mit je 2 Samen pro Pflanzloch auf das Feld gebracht (Abb.4).

55 Tage nach der Aussaat wurden Bonitur und Entnahme der Pflanzenproben durchgeführt.

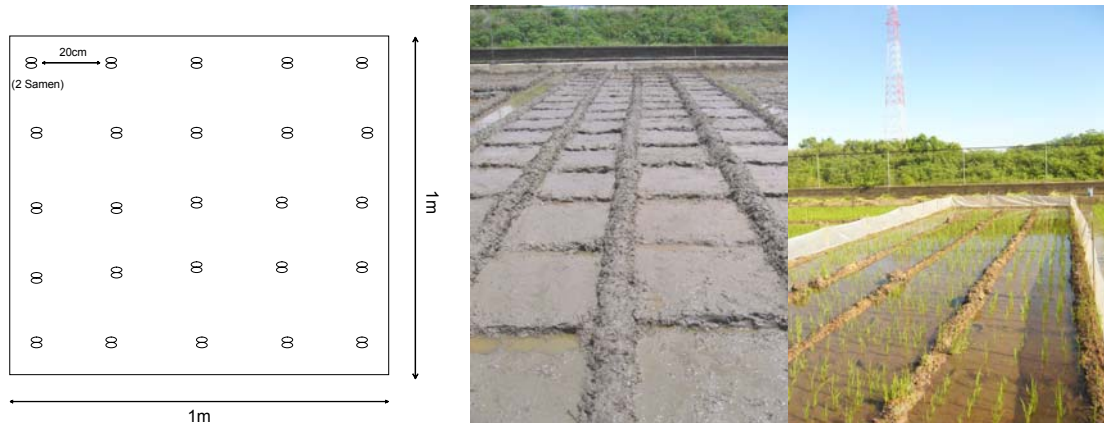


Abbildung 4: a) Untereinheit (schematisch); b) Tag der Aussaat; c) nach 3 Wochen

### 2.2.3 Probennahme

55 Tage nach der Aussaat wurden die Proben entnommen. Je Untereinheit wurden 3 für die Untereinheit repräsentative Pflanzen ausgewählt, deren Eisentoxizitätssymptome nach dem bereits beschriebenen System bewertet und die oberirdischen Pflanzenteile abgeschnitten. Anschließend wurden die Höhe der Pflanzen und die Anzahl der Tiller bestimmt, Blätter und Stängel getrennt und bis zu konstantem Gewicht getrocknet.

### 2.2.4 Analyse

Zunächst wurde das Trockengewicht von Blättern und Stängeln bestimmt. Für die Eisenbestimmung wurden die Blätter mit der Hand zerrieben, um eine Eisenkontamination durch den Abrieb einer Mühle zu vermeiden. Mit 4mL HNO<sub>3</sub> je Probe wurden bei 180°C Druckaufschlüsse durchgeführt und der Eisengehalt der Blätter am Atomabsorptions-Spektrometer (Perkin Elmer 1100B) bestimmt.

### 2.2.5 Bestimmung des Fe-Gehaltes des Bodens

Je Feld wurden mit einem Bohrstock 10 repräsentative Bodenproben entnommen. Hierzu wurden auf 10 gleichmäßig über das Feld verteilten Untereinheiten jeweils 3 Proben entnommen und diese zu einer Mischprobe vereint. Diese wurden getrocknet, gemahlen, gesiebt (2mm) und mit DTPA extrahiert. Hierfür wurden 10g Boden mit 20ml Extraktionslösung (0,005M Diethylentriaminpentaessigsäure, 0,1M Triethanolamin, 0,1M CaCl<sub>2</sub>, eingestellt auf pH 7,3) für 2h auf einem Horizontalschüttler geschüttelt. Anschließend wurde die Suspension gefiltert und das Filtrat am Atomabsorptions-Spektrometer (Perkin Elmer 3110) auf Fe analysiert.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Hydrokulturversuch

Pflanzenhöhe, Anzahl der Blätter und Trockengewicht zeigten deutlich größere Unterschiede zwischen den einzelnen Sorten als zwischen den verschiedenen Behandlungen (Tab.2). Da sich die Behandlung mit  $\text{Fe}^{2+}$  lediglich über die letzten 4 Tage des Versuchs erstreckte, konnte dessen Einfluss auf das Wachstum nicht sichtbar werden. Die durchschnittliche Höhe betrug zwischen 19,8cm (MTL420) und 53,8cm (MTL471), die durchschnittliche Anzahl der Blätter belief sich auf Werte zwischen 4,5 (MTL420) und 7,6 (MTL509) und die Gesamttrockenmasse betrug zwischen 44mg (MTL420) und 450mg (MTL471). Besonders deutlich zeigten sich die Wachstumsunterschiede zwischen den einzelnen Sorten bei der Trockenmasse. So akkumulierte MTL420 im Durchschnitt der Behandlungen nur etwa 20% der Trockenmasse von MTL471.

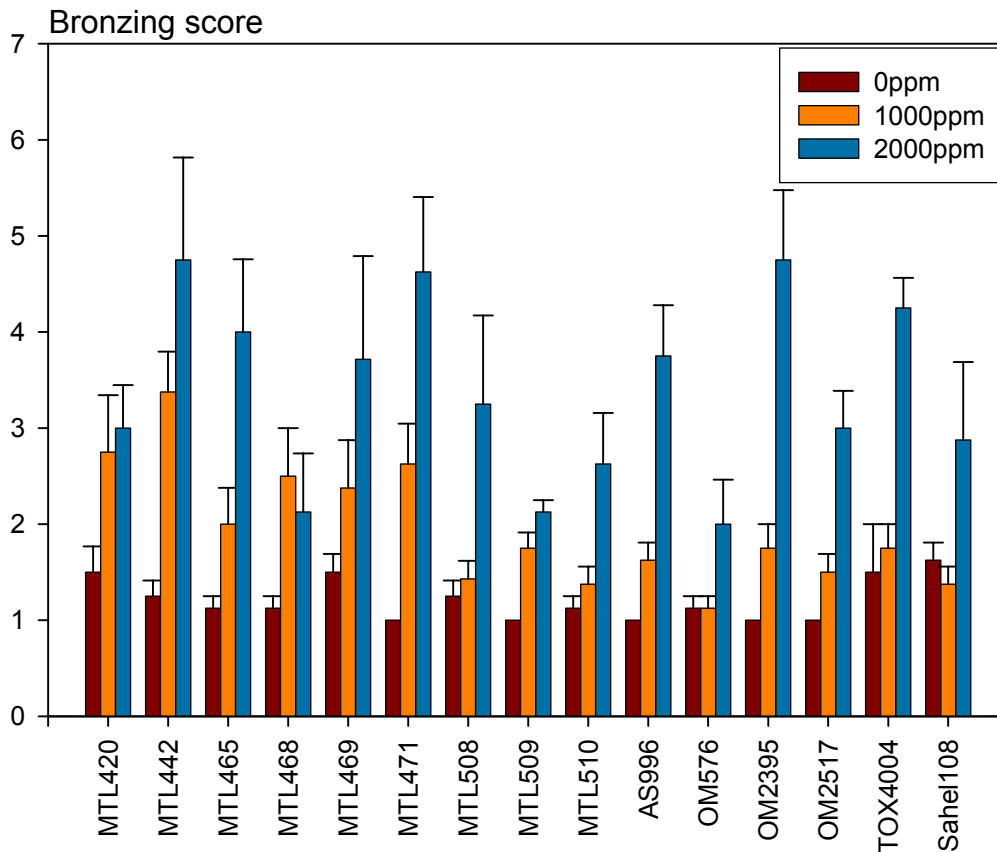
**Tabelle 2: Pflanzenhöhe, Anzahl der Blätter und Trockenmasse der Pflanzen des Hydrokulturversuchs mit Standardfehler (0, 1000, 2000ppm  $\text{Fe}^{2+}$ )**

		Pflanzenhöhe [cm]	Anzahl der Blätter	Trockenmasse [mg]
MTL420	0ppm	26,3 ± 2,9	5,3 ± 0,3	58 ± 17
	1000ppm	34,5 ± 3,3	6,1 ± 0,3	116 ± 28
	2000ppm	19,8 ± 1,3	4,5 ± 0,3	44 ± 4
MTL442	0ppm	43,1 ± 1,5	7,1 ± 0,1	198 ± 22
	1000ppm	43,5 ± 2,8	7,1 ± 0,1	287 ± 23
	2000ppm	45,3 ± 2,1	6,6 ± 0,2	280 ± 21
MTL465	0ppm	48,6 ± 2,1	7,1 ± 0,2	243 ± 40
	1000ppm	43,8 ± 3,5	6,4 ± 0,4	204 ± 55
	2000ppm	41,0 ± 4,4	6,1 ± 0,5	184 ± 28
MTL468	0ppm	37,3 ± 3,0	6,1 ± 0,4	147 ± 37
	1000ppm	38,4 ± 2,9	6,1 ± 0,2	168 ± 21
	2000ppm	31,8 ± 2,9	6,1 ± 0,2	109 ± 15
MTL469	0ppm	34,4 ± 2,4	5,6 ± 0,3	93 ± 3
	1000ppm	35,8 ± 2,0	6,1 ± 0,4	139 ± 23
	2000ppm	32,1 ± 2,6	5,4 ± 0,3	92 ± 25
MTL471	0ppm	43,0 ± 3,4	7,3 ± 0,2	379 ± 44
	1000ppm	53,4 ± 1,6	7,5 ± 0,2	445 ± 24
	2000ppm	53,8 ± 1,1	7,1 ± 0,1	379 ± 27
MTL508	0ppm	34,0 ± 3,5	6,5 ± 0,3	171 ± 20
	1000ppm	34,8 ± 4,1	6,6 ± 0,3	192 ± 38
	2000ppm	29,3 ± 3,3	5,9 ± 0,2	130 ± 28
MTL509	0ppm	50,9 ± 2,8	7,6 ± 0,2	359 ± 69
	1000ppm	49,0 ± 1,8	7,5 ± 0,2	424 ± 28
	2000ppm	47,3 ± 1,5	7,3 ± 0,2	357 ± 21

MTL510	0ppm	28,5 ± 3,6	6,1 ± 0,2	137 ± 14
	1000ppm	34,4 ± 2,6	6,5 ± 0,2	172 ± 26
	2000ppm	31,4 ± 3,3	5,9 ± 0,2	146 ± 19
AS996	0ppm	48,8 ± 1,8	7,3 ± 0,2	242 ± 15
	1000ppm	46,1 ± 2,5	7,3 ± 0,2	225 ± 46
	2000ppm	37,4 ± 4,5	6,3 ± 0,3	117 ± 48
OM576	0ppm	50,9 ± 2,2	7,3 ± 0,3	318 ± 22
	1000ppm	52,0 ± 1,5	7,5 ± 0,2	378 ± 38
	2000ppm	52,4 ± 1,2	6,9 ± 0,1	373 ± 35
OM2395	0ppm	46,4 ± 3,8	6,6 ± 0,3	231 ± 50
	1000ppm	51,5 ± 3,6	7,3 ± 0,3	347 ± 62
	2000ppm	46,3 ± 3,1	6,6 ± 0,2	225 ± 46
OM2517	0ppm	48,5 ± 1,6	7,0 ± 0,3	234 ± 75
	1000ppm	49,3 ± 3,1	7,0 ± 0,3	350 ± 69
	2000ppm	53,0 ± 1,6	6,8 ± 0,1	277 ± 43
TOX4004	0ppm	47,1 ± 5,7	7,1 ± 0,4	351 ± 80
	1000ppm	39,9 ± 4,1	6,9 ± 0,2	241 ± 36
	2000ppm	46,0 ± 2,4	6,9 ± 0,1	285 ± 37
Sahel108	0ppm	22,5 ± 3,0	5,1 ± 0,4	69 ± 23
	1000ppm	29,4 ± 3,2	5,6 ± 0,4	101 ± 26
	2000ppm	25,3 ± 2,0	5,6 ± 0,3	76 ± 15

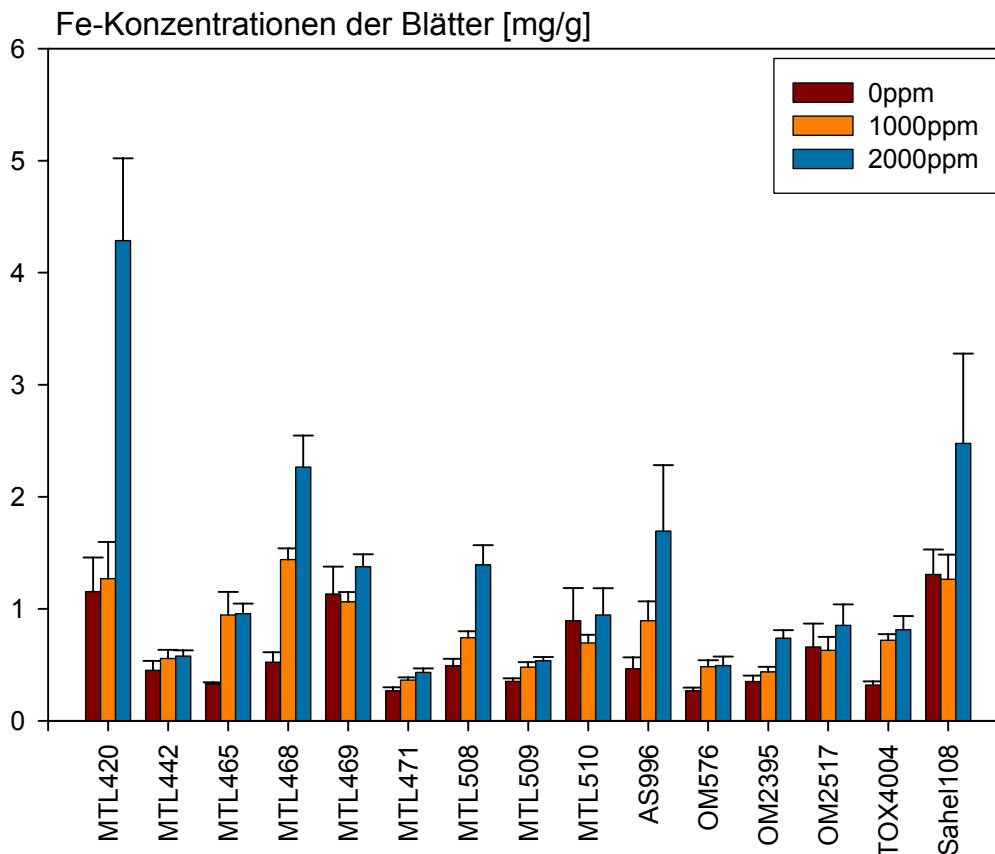
### 3.1.1 Symptome und Fe-Konzentration

Zunächst wurde die Ausprägung der Eisentoxizitätssymptome bei den 15 Sorten in den Behandlungen 0ppm, 1000ppm und 2000ppm quantifiziert (Abb.5). In der Kontrolle zeigten sich durchschnittliche Werte von 1 (MTL471, MTL509, AS996, OM2395, OM2517) bis 1,6 (Sahel108), bei der Behandlung mit 1000ppm Fe<sup>2+</sup> reichte die Skala von 1,125 (OM576) bis 3,375 (MTL442) und bei der 2000ppm Behandlung von 2 (OM576) bis 4,75 (MTL442, OM2395). Somit war mit der Steigerung der Fe<sup>2+</sup>-Konzentration in der Nährlösung eine eindeutige Zunahme der Symptome zu verzeichnen. Lediglich Sahel108 zeigte eine unerwartet schwächere Symptomausprägung bei der Bandlung mit 1000ppm Fe<sup>2+</sup> in Vergleich zur Kontrolle. Dies lag jedoch im Bereich des berechneten Standardfehlers. Die stärksten Symptome konnten bei MTL442, MTL471 und OM2395 beobachtet werden. Auch die als tolerant eingestufte Referenzsorte TOX4004 erreichte einen relativ hohen Wert von 4,25. MTL468, MTL509 und OM576 zeigten auch bei einer Fe<sup>2+</sup>-Konzentration von 2000ppm nur schwache Symptome.



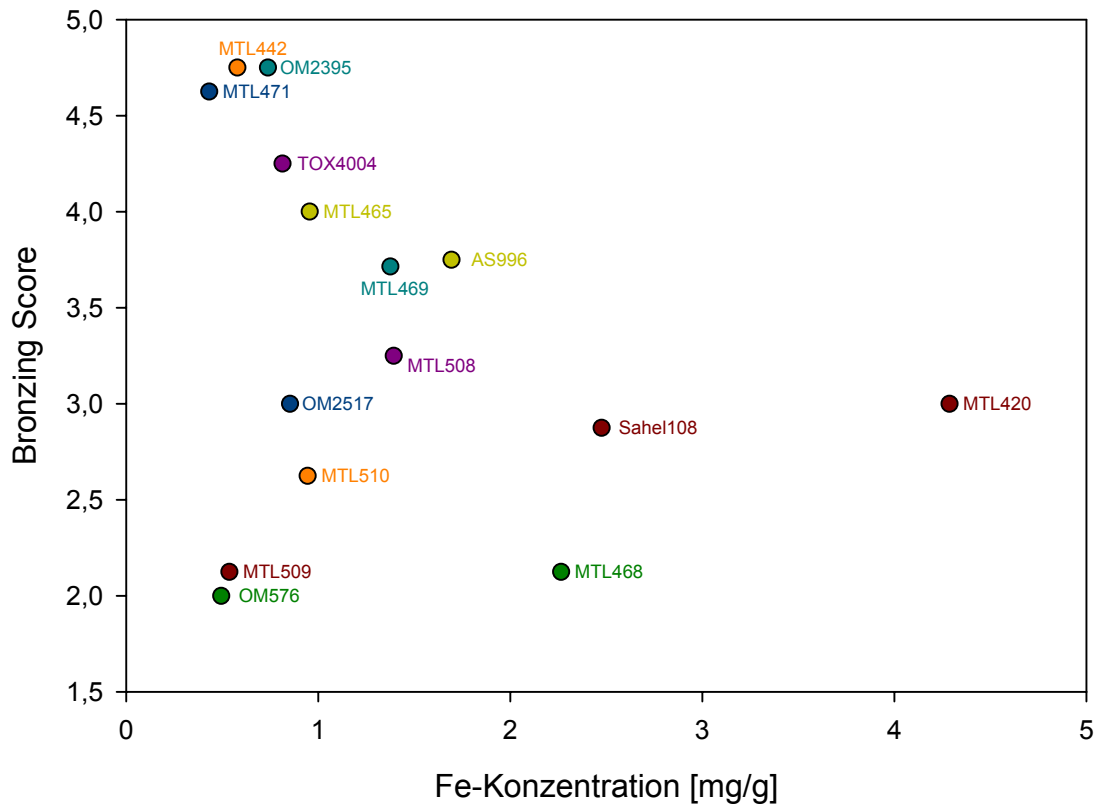
**Abbildung 5: Symptome im Hydrokulturversuch (0, 1000, 2000ppm)**

Die Fe-Konzentration der Blätter wurde bestimmt (Abb.6). Diese nahm relativ zur Fe-Konzentration der Nährlösung zu. Lediglich MTL469, MTL510, OM2517 und Sahel108 zeigten in der 1000ppm-Behandlung höhere Fe-Konzentrationen als in der Kontrolle. Diese Abweichung lag jedoch im Bereich des Standardfehlers. In den Blättern der Kontrollpflanzen fanden sich zwischen  $0,27\text{mg g}^{-1}$  (OM576) und  $1,31\text{mg g}^{-1}$  (Sahel108) Fe. Bei der 1000ppm-Behandlung wurden Konzentrationen zwischen  $0,36\text{mg g}^{-1}$  (MTL471) und  $1,44\text{mg g}^{-1}$  (MTL468) festgestellt und für die 2000ppm-Behandlung  $0,43\text{mg g}^{-1}$  (MTL471) bis  $4,29\text{mg g}^{-1}$  (MTL420). Die höchsten Konzentrationen fanden sich bei MTL420, Sahel108 und MTL468. Bei MTL442, MTL471, MTL509 und OM576 hingegen waren die Fe-Konzentrationen der Blätter der 2000ppm-Behandlung relativ gering und lagen dicht an den Ergebnissen der Kontrollpflanzen.



**Abbildung 6:** Fe-Konzentrationen der Blätter im Hydrokulturversuch in  $\text{mg g}^{-1}$  (0, 1000, 2000ppm)

In der Gegenüberstellung von Fe-Konzentrationen und Boniturwerten (Abb.7) wird die unterschiedliche Reaktion der Genotypen auf Fe im Blattgewebe ersichtlich. Während z.B. OM2517 und MTL420 mit dem gleichen Bronzingwert von 3,0 deutliche Unterschiede in den Fe-Konzentrationen von  $0,85 \text{ mg g}^{-1}$  bzw.  $4,29 \text{ mg g}^{-1}$  aufweisen, zeigen MTL442 und MTL509 trotz ähnlicher Fe-Konzentration in den Blättern ( $0,58 \text{ mg g}^{-1}$  bzw.  $0,54 \text{ mg g}^{-1}$ ) mit Bronzingwerten von 4,8 und 2,1 sehr unterschiedliche Symptome.



**Abbildung 7: Fe-Konzentration der Blätter in  $\text{mg g}^{-1}$  und Bronzing Score im Hydrokulturversuch (2000ppm)**

### 3.1.2 Fe-Verteilung

Auffällig ist der trotz großer Unterschiede in der Trockenmasse (Abb.8) sehr ähnliche Fe-Gehalt in den Blättern (Abb.9). Die Schwankungen liegen hier zwischen  $0,08\text{mg}$  (MTL469) und  $0,14\text{mg}$  (MTL468). Weiterhin zeigt sich in den Blättern der Fe-Gehalt unabhängig von der Trockenmasse. MTL469 und MTL468 mit einer großen Differenz im Fe-Gehalt liegen in der Trockenmasse mit  $54,6\text{mg}$  und  $61,8\text{mg}$  sehr dicht beieinander. Im Gegenzug zeigen die Sorten mit der höchsten (MTL471;  $224,1\text{mg}$ ) und mit der niedrigsten Trockenmasse (MTL420;  $45,4\text{mg}$ ) mit  $0,10\text{mg}$  bzw.  $0,11\text{mg}$  nur eine sehr geringe Abweichung im absoluten Fe-Gehalt. Die niedrigste Fe-Konzentration in Relation zur Trockenmasse (Abb.10) fand sich bei MTL471 mit  $0,43\text{mg g}^{-1}$ , gefolgt von OM576 mit  $0,50\text{mg g}^{-1}$ . Die höchste Konzentration in den Blättern wurde für MTL420 mit  $4,29\text{mg g}^{-1}$  und Sahel108 mit  $2,48\text{mg g}^{-1}$  nachgewiesen.

In den Stängeln reichte der Fe-Gehalt von  $0,09\text{mg}$  bei MTL468 bis  $0,56\text{mg}$  bei OM2395 und zeigte somit eine sehr viel größere Variation als der Fe-Gehalt der

Blätter. Dennoch erwies sich auch hier der Fe-Gehalt als unabhängig von der Trockenmasse. Die höchste Fe-Konzentration im Verhältnis zur Trockenmasse des Stängels fand sich bei Sahel108 mit  $9,14\text{mg g}^{-1}$  und AS996 mit  $8,56\text{mg g}^{-1}$ ; OM576 mit  $1,29\text{mg g}^{-1}$  und OM2517 mit  $1,15\text{mg g}^{-1}$  sind die Sorten, in denen die niedrigsten Konzentration gefunden wurden.

In den Wurzeln fand sich sowohl der größte Anteil des Eisens als auch die stärkste Korrelation zwischen Trockengewicht und Fe-Gehalt. Der Gehalt reichte von der kleinsten Wurzel mit einem Gewicht von  $4,1\text{mg}$  und einem Fe-Gehalt von  $0,09\text{mg}$  bis zur schwersten Wurzel mit  $45,5\text{mg}$  Trockenmasse und  $2,43\text{mg}$  Fe. In relativer Betrachtung zeigten OM2395 mit  $66,54\text{mg g}^{-1}$  und MTL442 mit  $59,58\text{mg g}^{-1}$  die höchsten Konzentrationen, die niedrigsten fanden sich bei MTL510 mit  $9,48\text{mg g}^{-1}$  und MTL471 mit  $9,59\text{mg g}^{-1}$ .

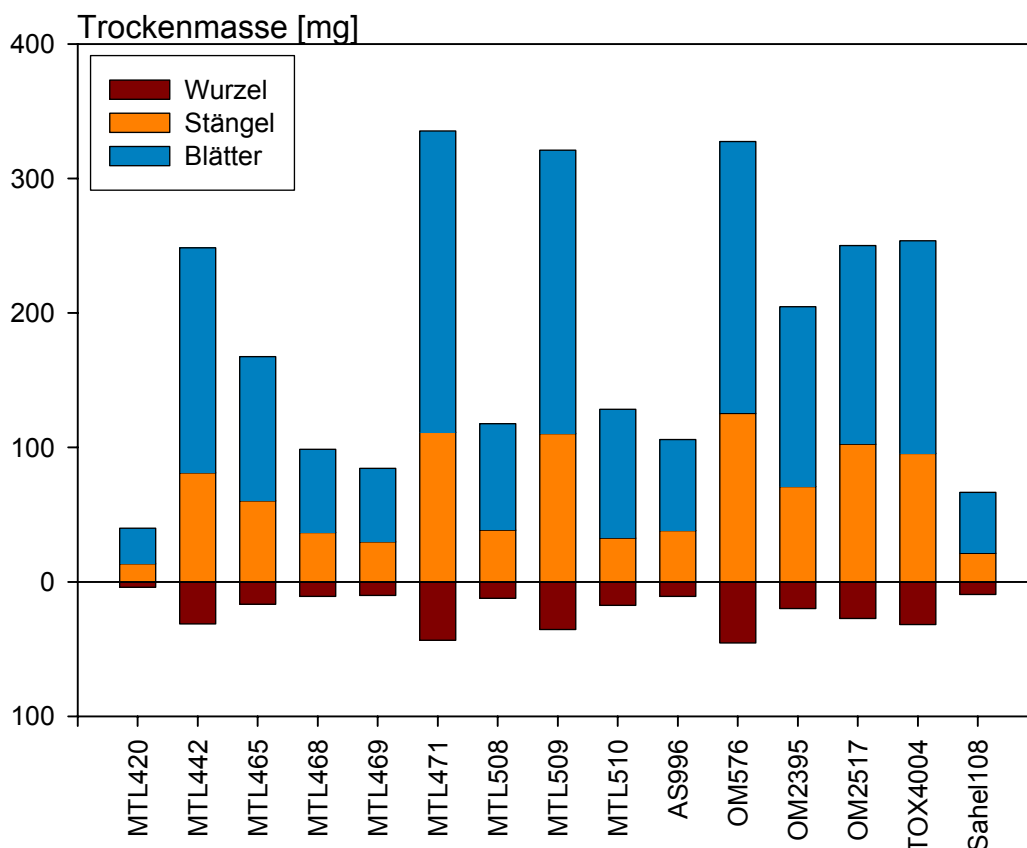


Abbildung 8: Verteilung der Trockenmasse in mg auf Wurzel, Stängel und Blätter im Hydrokulturversuch (2000ppm)



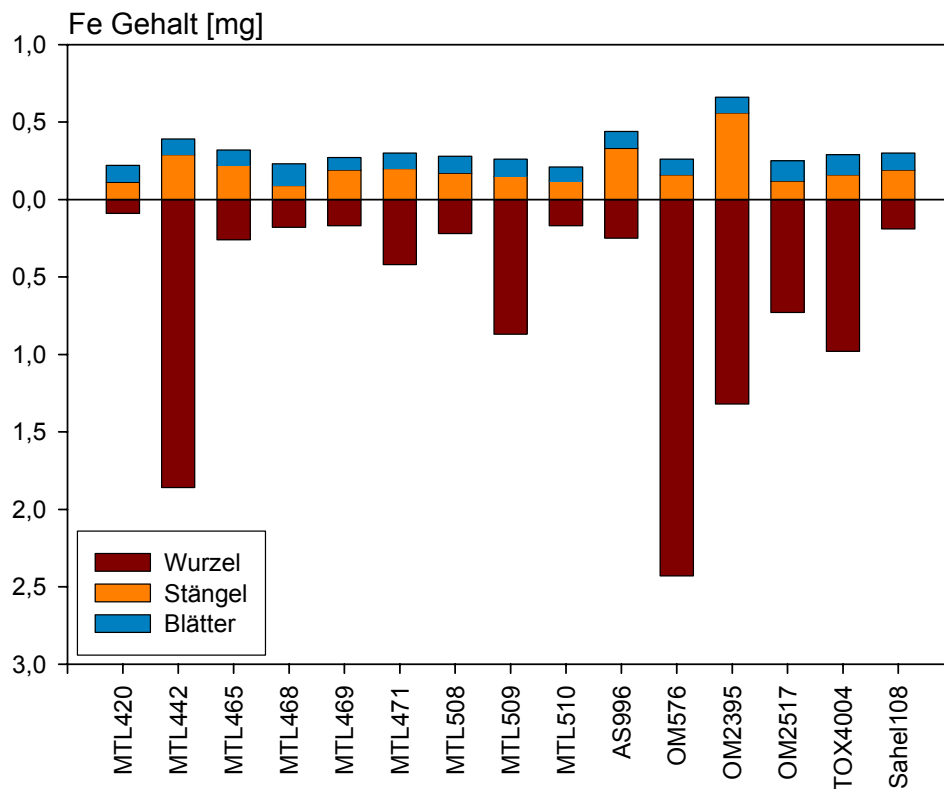


Abbildung 9: Verteilung des Fe-Gehalts in mg auf Wurzel, Stängel und Blätter im Hydrokulturversuch (2000ppm)

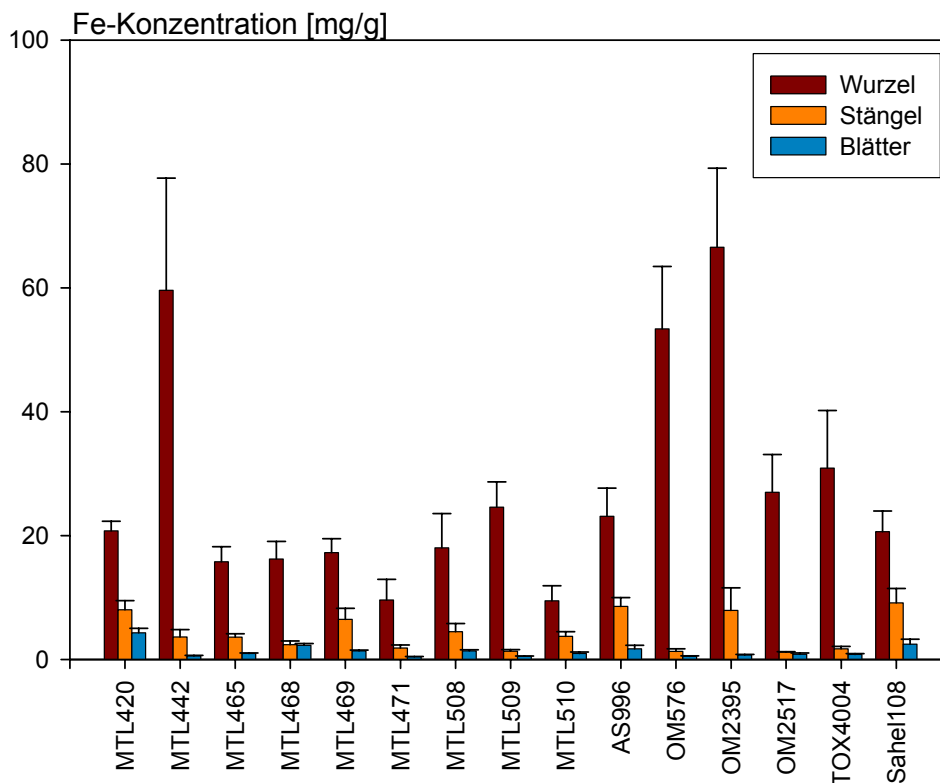
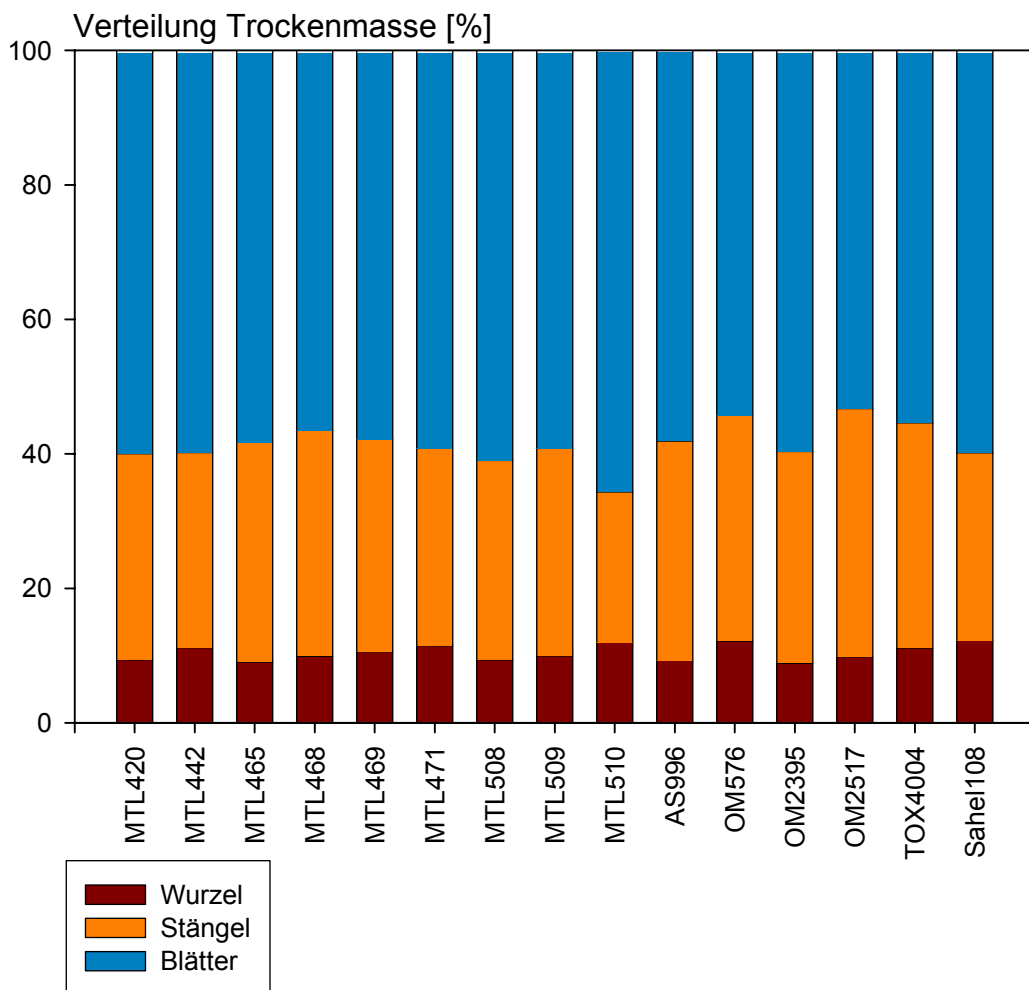


Abbildung 10: Verteilung der relativen Fe-Konzentration in  $\text{mg g}^{-1}$  auf Wurzel, Stängel und Blätter im Hydrokulturversuch (2000ppm)

Der Gehalt an Eisen in der Pflanze wies trotz konstanter Verteilung der Trockenmasse (Abb.11) große Unterschiede in der Verteilung zwischen Wurzel, Stängel und Blätter auf (Abb.12). So fand sich in MTL442 und OM576 mit 82,7% bzw. 90,3% ein überdurchschnittlich hoher Anteil des Eisens in der Wurzel. In AS996 mit 47,8% und MTL469 mit 43,2% befand sich ein Großteil des Eisens der Gesamtpflanze im Stängel, bei der Verteilung des Fe-Gehaltes auf die Blätter lagen MTL420 mit 35,5% und MTL468 mit 34,1% an der Spitze.



**Abbildung 11: Verteilung der Trockenmasse in % auf Wurzel, Stängel und Blätter im Hydrokulturversuch (2000ppm)**

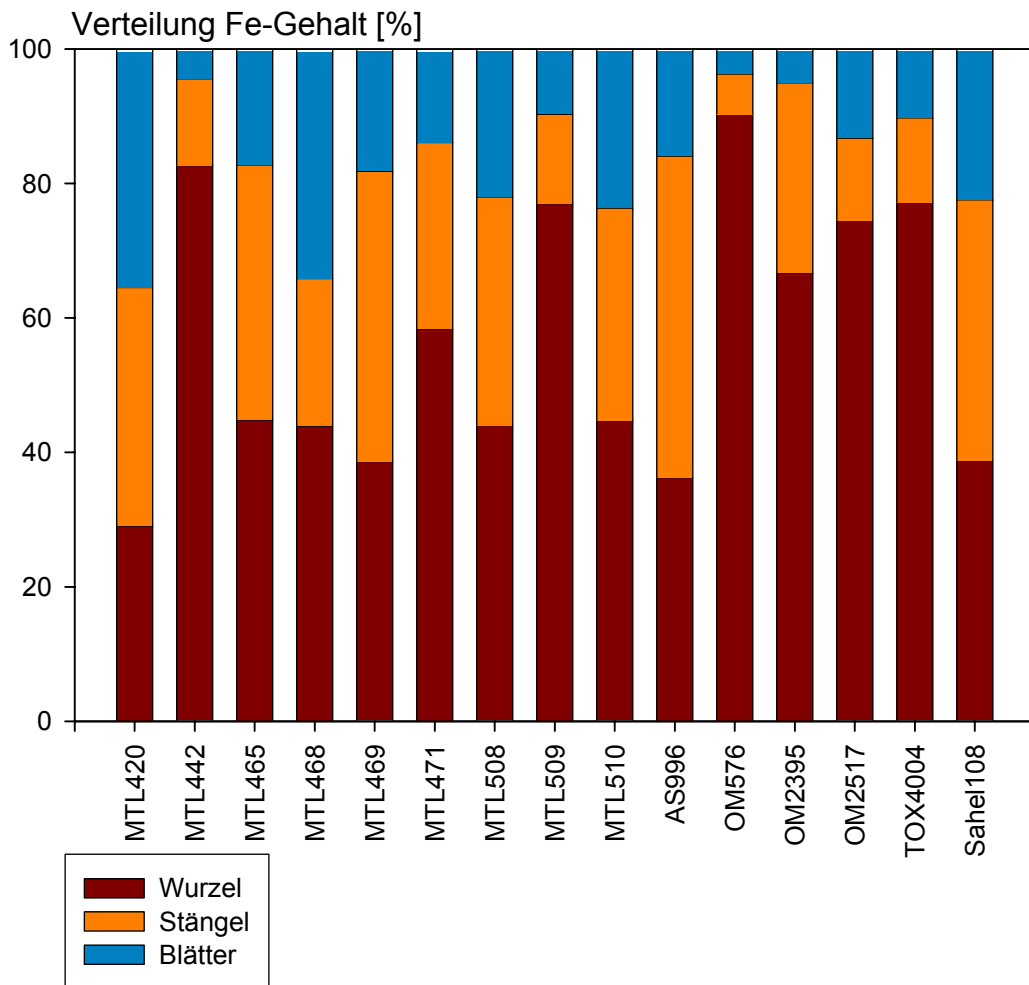
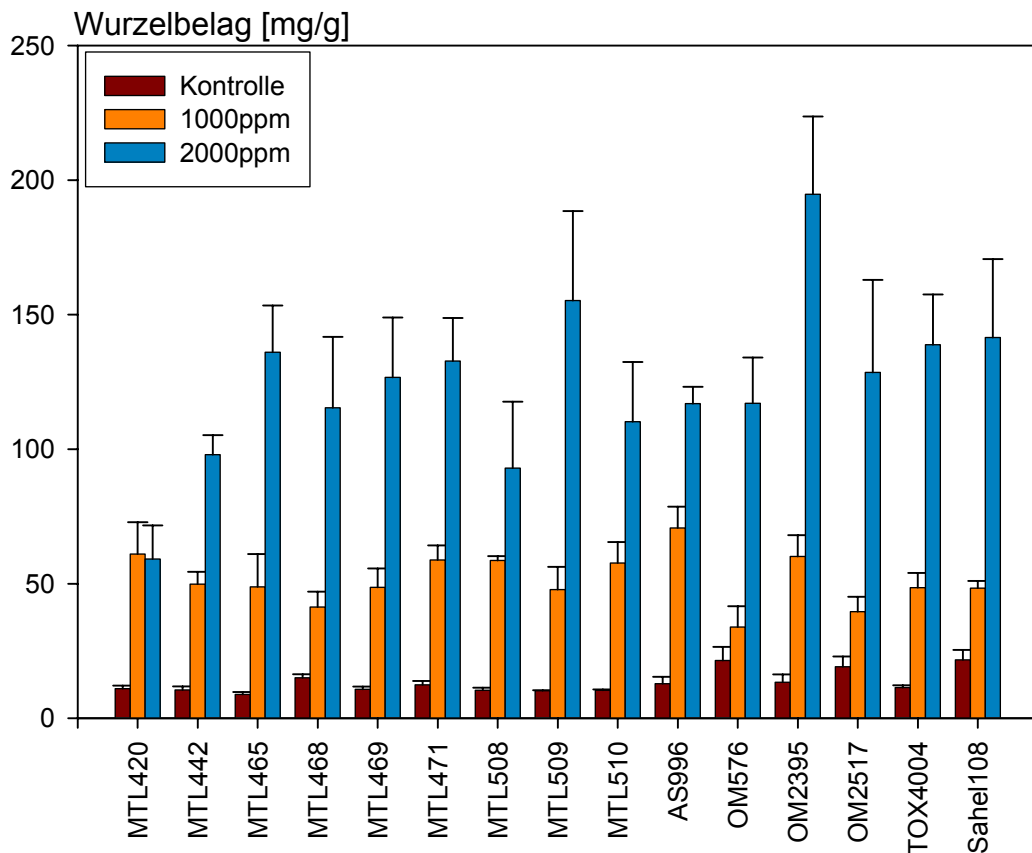


Abbildung 12: Verteilung des Fe-Gehalts in % auf Wurzel, Stängel und Blätter im Hydrokulturversuch (2000ppm)

### 3.1.3 Wurzelbelag

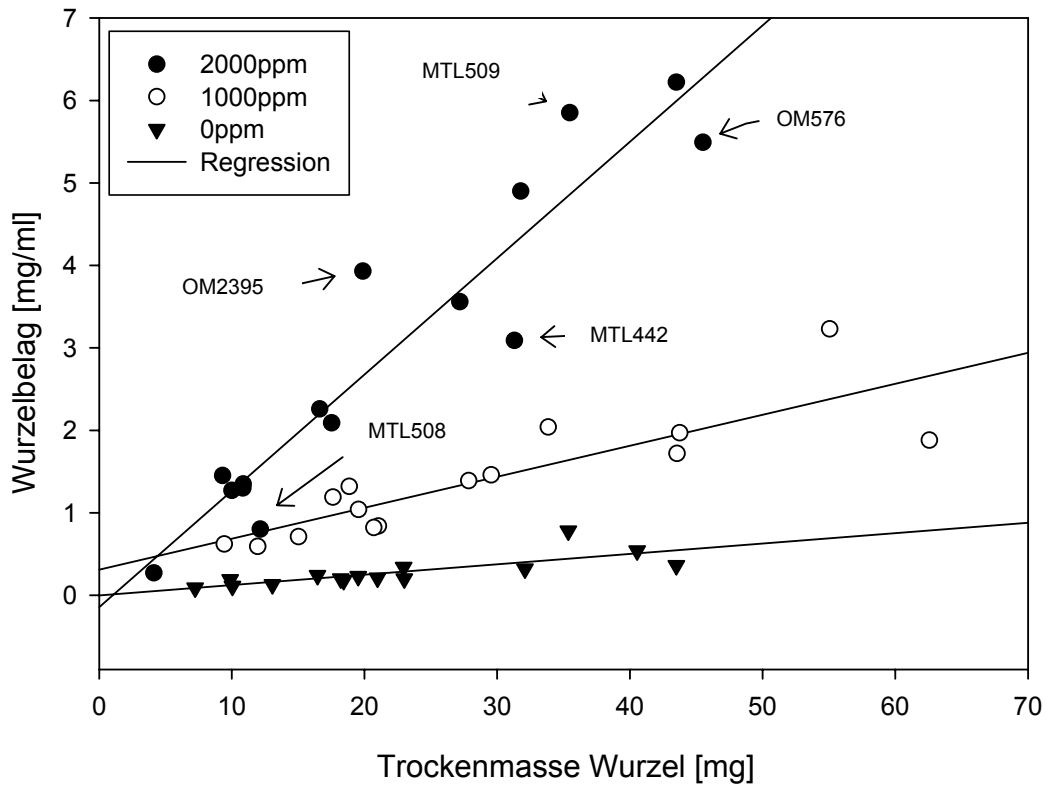
Die Oxidation von  $\text{Fe}^{2+}$  zu  $\text{Fe}^{3+}$  an der Oberfläche der Wurzel führt zur Bildung eines Belags aus  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ . Im Hydrokulturversuch wurde der Fe-Belag mit 0,5M HCl von den Wurzeln entfernt und der Fe-Gehalt quantifiziert (Abb.13). Die im Folgenden als Wurzelbelag umschriebenen Werte sind auf den Fe-Gehalt des Belags aus  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  in Relation zur Wurzelmasse zu beziehen. Erwartungsgemäß nahm mit der Erhöhung der  $\text{Fe}^{2+}$ -Konzentration in der Nährlösung der Wurzelbelag zu. In der Kontrolle wurden Beläge von  $8,8\text{mg g}^{-1}$  (MTL465) bis  $21,6\text{mg g}^{-1}$  (Sahel108) gefunden; die Behandlung mit 1000ppm  $\text{Fe}^{2+}$  ergab Werte von  $33,9\text{mg g}^{-1}$  (OM576) bis  $70,7\text{mg g}^{-1}$  (AS996). Der meiste Belag fand sich in der Behandlung mit 2000ppm bei OM2395 ( $194,7\text{mg g}^{-1}$ ), MTL509 ( $155,2\text{mg g}^{-1}$ ) und Sahel108 ( $141,4\text{mg g}^{-1}$ ). MTL420 ( $59,2\text{mg g}^{-1}$ ),

MTL508 ( $93,0\text{mg g}^{-1}$ ) und MTL442 ( $98,0\text{mg g}^{-1}$ ) stellten die Sorten mit den geringsten Ablagerungen.



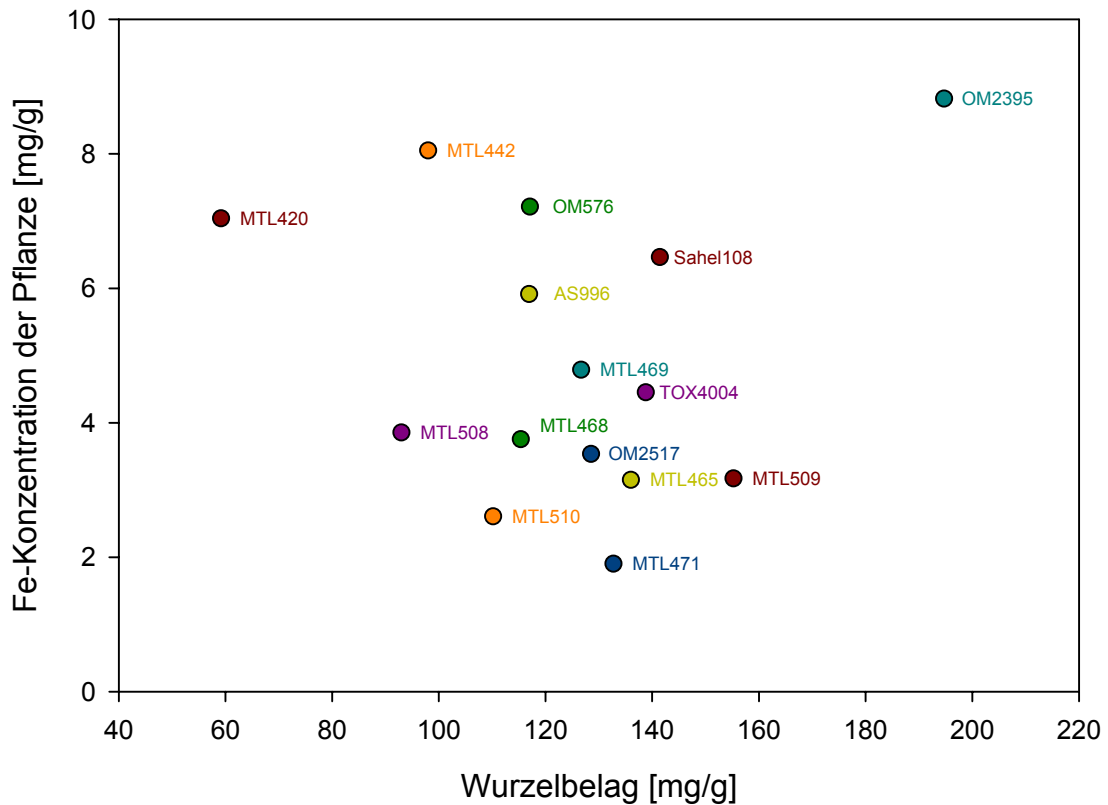
**Abbildung 13: Fe-Belag der Wurzeln in  $\text{mg g}^{-1}$  im Hydrokulturversuch (alle Behandlungen)**

Die starke Abhängigkeit des Wurzelbelages (hier als  $\text{mg Fe}$  im Belag pro  $\text{ml}$  Spüllösung) von der Masse bzw. der Oberfläche der Wurzel zeigt sich in Abbildung 14. Mit der Zunahme der Fe-Konzentration in der Nährlösung erhöhte sich zum einen der Wurzelbelag, zum anderen die Streuung der Ergebnisse. Die größten Abweichungen von der Regressionsgeraden fanden sich in der Behandlung mit  $2000\text{ppm Fe}^{2+}$  bei OM2395, MTL509, OM576, MTL442 und MTL508. Während OM2395 und MTL509 mit  $20\text{mg}$  bzw.  $36\text{mg}$  Wurzelrockenmasse und  $3,9\text{mg ml}^{-1}$  bzw.  $5,9\text{mg ml}^{-1}$  Wurzelbelag im Vergleich mit den übrigen Sorten relativ viel Wurzelbelag akkumulierten, war der Wurzelbelag bei OM576 ( $45\text{mg}; 5,5\text{mg ml}^{-1}$ ), MTL442 ( $31\text{mg}; 3,1\text{mg ml}^{-1}$ ) und MTL508 ( $12\text{mg}; 0,8\text{mg ml}^{-1}$ ) relativ gering.



**Abbildung 14: Trockenmasse der Wurzel [mg] und Wurzelbelag [mg ml<sup>-1</sup>] im Hydrokulturversuch (alle Behandlungen)**

Anhand der Gegenüberstellung von Wurzelbelag und Fe-Konzentration in der gesamten Pflanze (Abb.15) konnte keine Abhängigkeit zwischen beiden Parametern festgestellt werden. Die höchste Fe-Konzentration (8,8mg g<sup>-1</sup>) bei dem meisten Belag pro g Wurzeltrockenmasse (194,7 mg g<sup>-1</sup>) wurde für OM2395 bestimmt. MTL420, MTL508, MTL510 und MTL471 zeigten in Relation zum Wurzelbelag eine unterdurchschnittliche Fe-Aufnahme. Relativ große Mengen an Wurzelbelag und eine geringe Fe-Konzentration wurden für MTL471, MTL465 und MTL509 bestimmt, wenig Belag bei einer hohen Fe-Konzentration in der Pflanze zeigte dagegen MTL442.



**Abbildung 15 : Wurzelbelag in  $\text{mg g}^{-1}$  und Fe-Konzentration in der gesamten Pflanze in  $\text{mg g}^{-1}$  im Hydrokulturversuch (2000ppm)**

### 3.2 Feldversuch

Bei dem an zwei Standorten mit unterschiedlichem Level an Eisentoxizität durchgeführten Feldversuch zeigten die Pflanzen Unterschiede in Pflanzenhöhe, Anzahl der Bestockungstriebe und Trockenmasse sowohl zwischen den Sorten als auch zwischen den beiden Standorten (Tab.3). Bei der Pflanzenhöhe wurden für Plot 1 (niedrigere Toxizität) bei den meisten Pflanzen höhere Werte gemessen. Diese lagen zwischen 55,2cm (OM2517) und 64,0cm (MTL469). 4 Sorten (MTL442, MTL471, MTL509, AS996) waren höher auf Plot 2 (höhere Toxizität). Hier reichten die Werte von 50,6cm (MTL510) bis 68,0cm (MTL471) und zeigten somit eine breitere Streuung als die für Plot 1 gemessenen Werte. Die Anzahl der Bestockungstriebe lag mit Ausnahme von MTL510 und TOX4004 höher auf Plot 2. Auf Plot 1 reichte die durchschnittliche Anzahl von 13,3 (MTL465) bis 19,5 (OM2517), auf Plot 2 von 14,3 (MTL510) bis 27,7 (MTL471). Die Trockenmasse des Sprosses lag bei der Hälfte der Sorten auf Plot 1 höher als auf Plot 2. Auf Plot 1 reichten die Werte von 4,90g (MTL509) bis 7,12g

(MTL469), auf Plot 2 von 3,71g (MTL510) bis 10,00g (MTL471). Auffällig ist auch hier die breitere Verteilung der Werte auf Plot 2.

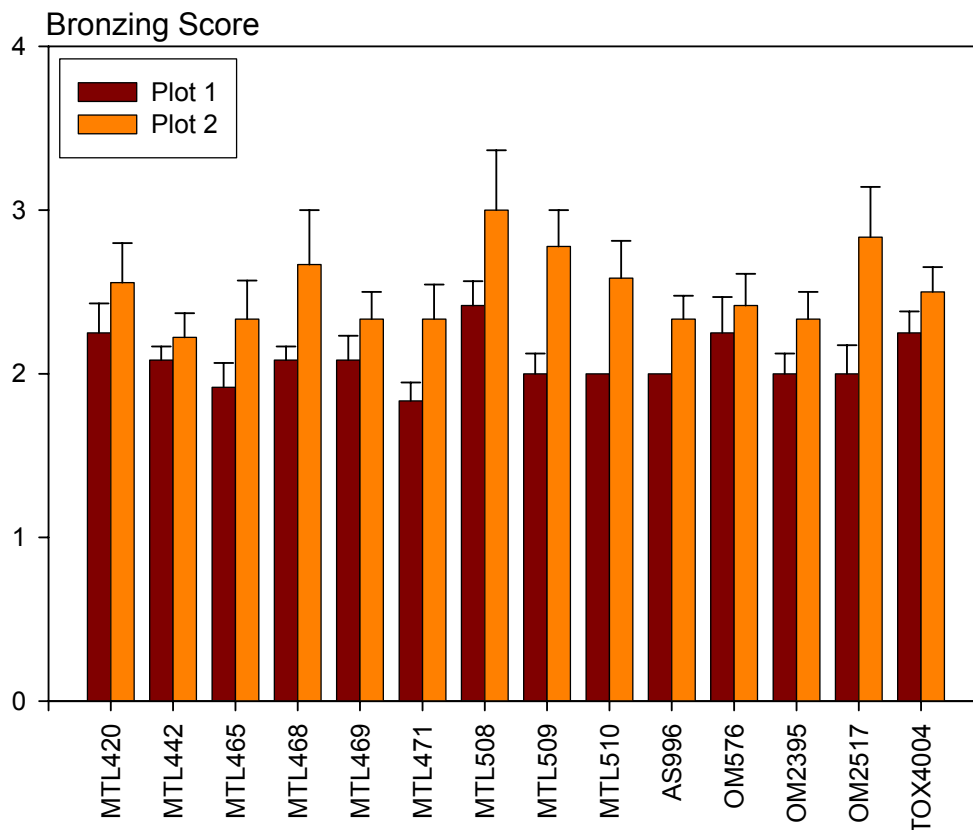
**Tabelle 3: Pflanzenhöhe, Anzahl der Bestockungstrieb und Trockenmasse mit Standardfehler im Feldversuch auf beiden Standorten (niedrige Toxizität: Plot 1; hohe Toxizität: Plot 2)**

	Plot	Pflanzenhöhe [cm]	Bestockungstriebe	Trockenmasse [g]
MTL420	1	62,5 ± 2,1	15,8 ± 1,3	6,40 ± 0,38
	2	59,9 ± 2,6	23,0 ± 2,3	7,68 ± 0,71
MTL442	1	56,7 ± 0,9	16,3 ± 1,6	5,61 ± 0,37
	2	62,1 ± 1,7	19,0 ± 1,4	6,50 ± 0,54
MTL465	1	63,0 ± 1,8	13,3 ± 1,2	5,90 ± 0,69
	2	57,8 ± 2,1	14,4 ± 2,4	5,59 ± 0,39
MTL468	1	63,6 ± 1,3	13,7 ± 1,0	6,25 ± 0,46
	2	61,9 ± 2,4	14,7 ± 0,6	4,95 ± 0,49
MTL469	1	64,0 ± 1,6	14,5 ± 0,8	7,12 ± 0,38
	2	63,8 ± 1,5	17,8 ± 0,8	5,96 ± 0,52
MTL471	1	61,2 ± 1,2	13,6 ± 0,8	5,90 ± 0,43
	2	68,0 ± 1,7	27,7 ± 4,5	10,00 ± 0,81
MTL508	1	58,6 ± 2,2	15,5 ± 1,7	5,09 ± 0,59
	2	51,0 ± 3,0	21,5 ± 2,7	4,09 ± 0,58
MTL509	1	55,5 ± 1,6	15,3 ± 1,2	4,90 ± 0,32
	2	59,2 ± 1,5	18,4 ± 2,4	6,83 ± 0,59
MTL510	1	57,4 ± 1,5	14,4 ± 1,9	5,15 ± 0,33
	2	50,6 ± 2,1	14,3 ± 1,5	3,71 ± 0,49
AS996	1	60,8 ± 1,0	14,3 ± 1,5	6,40 ± 0,50
	2	61,1 ± 1,5	19,1 ± 2,5	6,92 ± 0,71
OM576	1	62,8 ± 1,3	17,3 ± 1,2	6,26 ± 0,48
	2	55,4 ± 2,0	27,5 ± 3,1	6,31 ± 0,61
OM2395	1	59,2 ± 2,2	14,6 ± 1,9	6,09 ± 0,72
	2	58,2 ± 1,1	18,0 ± 2,4	7,29 ± 0,45
OM2517	1	55,2 ± 1,1	19,5 ± 1,6	6,90 ± 0,30
	2	54,7 ± 2,6	20,5 ± 5,3	6,31 ± 1,14
TOX4004	1	57,9 ± 1,8	15,8 ± 1,2	5,31 ± 0,37
	2	52,0 ± 1,6	15,1 ± 1,7	4,48 ± 0,71

### 3.2.1 Symptome und Fe-Konzentration

Die Symptome waren am Standort mit der höheren Eisentoxizität (Plot 2) durchweg stärker ausgeprägt (Abb.16). Auf Plot 1 reichten die Boniturwerte von 1,83 (MTL471) bis 2,42 (MTL508), auf Plot 2 von 2,22 (MTL442) bis 3,00 (MTL508). Die größte Differenz zwischen beiden Standorten zeigten OM2517 und MTL509 mit den gleichen Boniturwerten von 2,0 auf Plot 1 und 2,8 auf Plot 2. Die geringsten Unterschiede zeigten MTL442 mit Boniturwerten von 2,1 (Plot

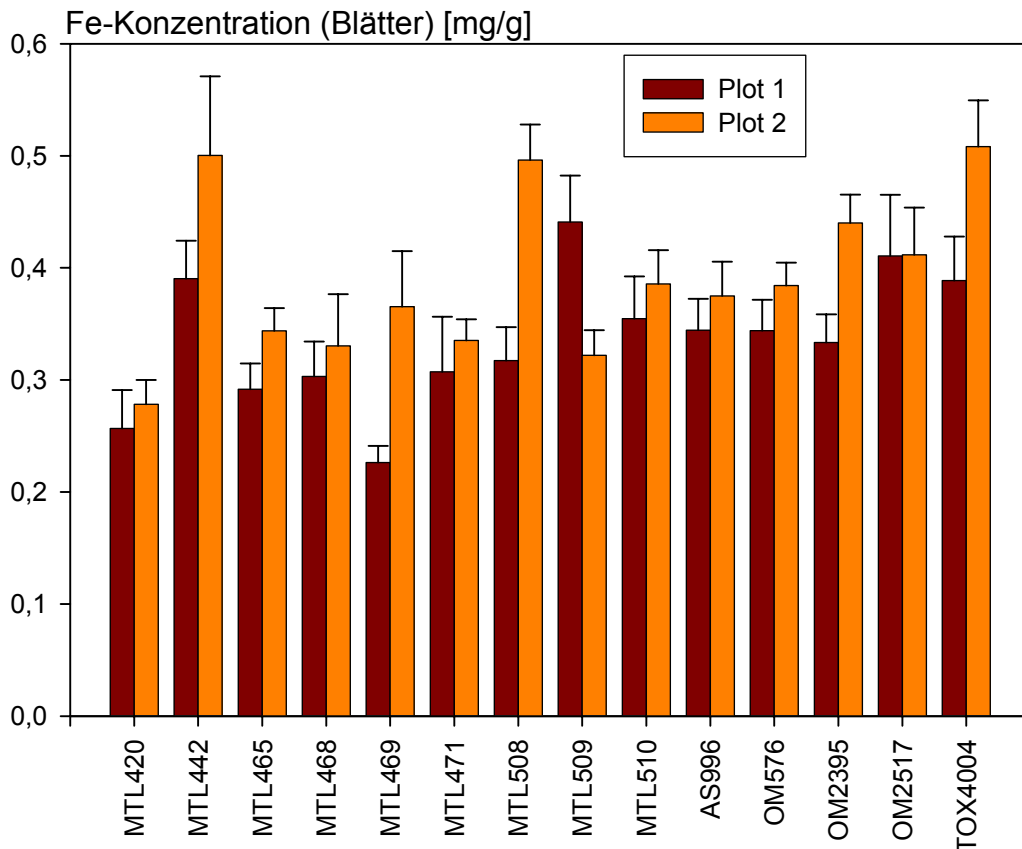
1) und 2,2 (Plot 2) und OM576 mit Werten von 2,3 (Plot 1) und 2,4 (Plot 2).



**Abbildung 16: Symptome im Feldversuch auf Plot 1 (niedrige Fe-Toxizität) und Plot 2 (hohe Fe-Toxizität)**

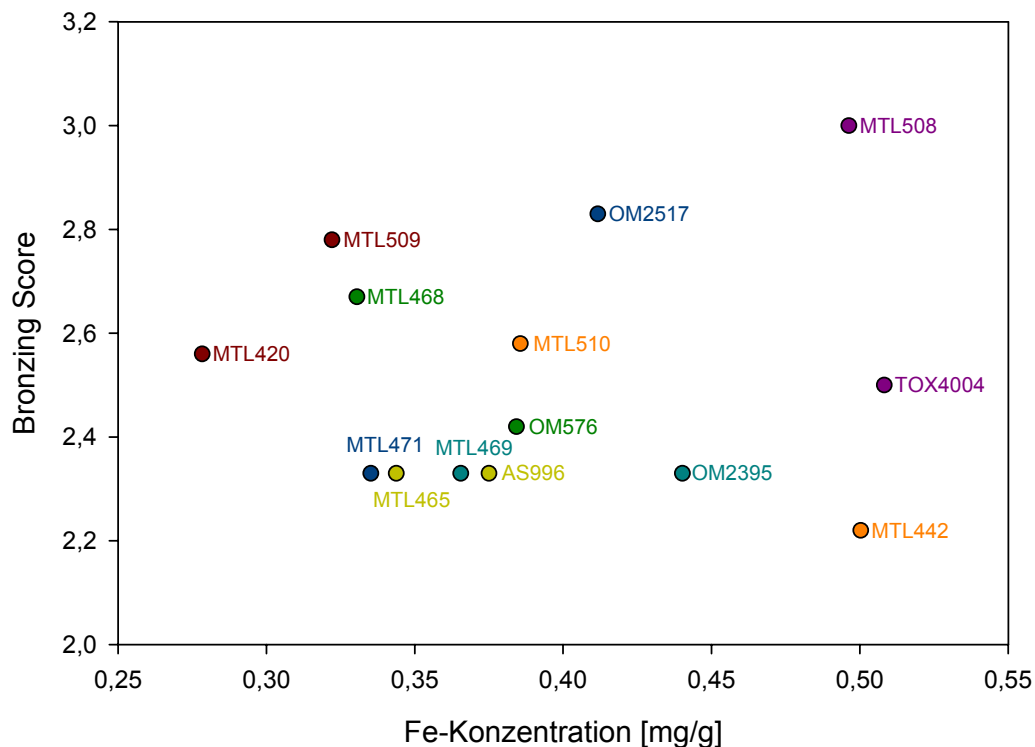
Auch bei der Fe-Konzentration der Blätter wurden für Plot 2 mit der höheren Eisentoxizität höhere Werte gemessen (Abb.17). Lediglich bei MTL509 lag der Wert von Plot 2 unter der Konzentration von Plot 1. Auf Plot 1 lagen die Konzentrationen zwischen  $0,26 \text{ mg g}^{-1}$  (MTL420) und  $0,44 \text{ mg g}^{-1}$  (MTL509), auf Plot 2 zwischen  $0,28 \text{ mg g}^{-1}$  (MTL420) und  $0,51 \text{ mg g}^{-1}$  (TOX4004). Die größte Differenz zwischen beiden Standorten wurde bei MTL508 mit Fe-Konzentrationen von  $0,32 \text{ mg g}^{-1}$  und  $0,50 \text{ mg g}^{-1}$  und bei MTL469 mit  $0,23 \text{ mg g}^{-1}$  und  $0,37 \text{ mg g}^{-1}$  bestimmt. Die geringsten Unterschiede zwischen den beiden Standorten fanden sich bei MTL420 mit  $0,26 \text{ mg g}^{-1}$  bzw.  $0,28 \text{ mg g}^{-1}$  und bei OM2517 mit  $0,41 \text{ mg g}^{-1}$  auf Plot 1 und 2.





**Abbildung 17: Fe-Konzentrationen in  $\text{mg g}^{-1}$  im Feldversuch auf Plot 1 (niedrige Fe-Toxizität) und Plot 2 (hohe Fe-Toxizität)**

Auch im Feldversuch wird in der Gegenüberstellung von Fe-Konzentrationen und Boniturwerten (Abb.18) die unterschiedliche Reaktion der Genotypen auf Fe im Blattgewebe ersichtlich. Während MTL420 und MTL510 mit dem gleichen Boniturwert von 2,6 Unterschiede in den Fe-Konzentrationen von  $0,28 \text{ mg g}^{-1}$  bzw.  $0,39 \text{ mg g}^{-1}$  aufweisen, zeigen MTL442 und MTL508 trotz gleicher Fe-Konzentration von  $0,50 \text{ mg g}^{-1}$  in den Blättern mit Boniturwerten von 2,2 und 3,0 sehr unterschiedliche Symptome.



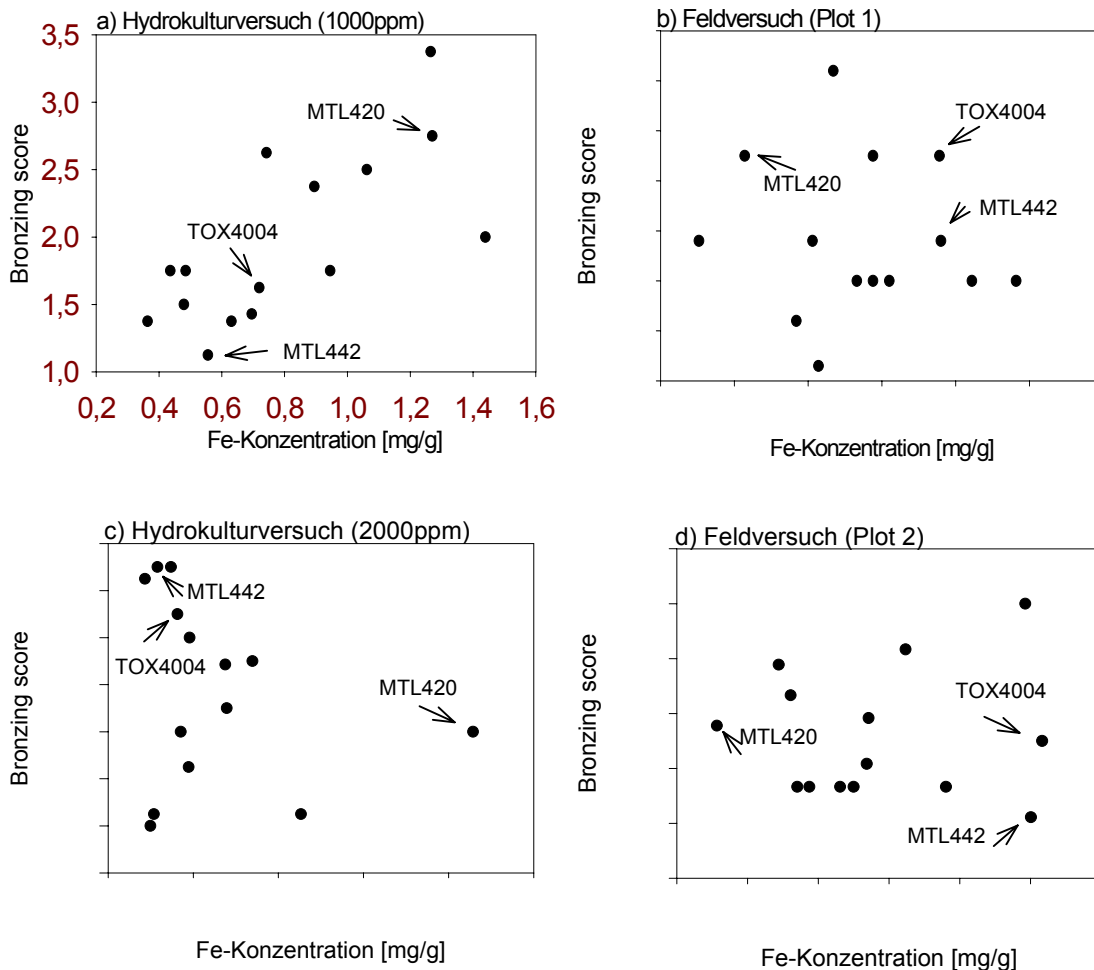
**Abbildung 18: Fe-Konzentration der Blätter in  $\text{mg g}^{-1}$  und Bronzing Score im Feldversuch am Standort mit höherer Eisentoxizität (Plot 2)**

### 3.2.2 Vergleich von Hydrokultur- und Feldversuch

Auffällig in der Gegenüberstellung von Hydrokultur- und Feldversuch (Abb.19) ist vor allem die sehr viel niedrigere Skalierung der Auftragung von Fe-Konzentration und Bronzing Score. Während im Hydrokulturversuch Symptome bis 4,75 bonitiert wurden, wurde im Feld nur ein Höchstwert von 3,0 erreicht. Ein ähnliches Bild zeichnet sich bei den Fe-Konzentrationen ab. In der Hydrokultur wurde in den Blättern eine Höchstkonzentration von  $4,28 \text{ mg g}^{-1}$  erreicht, im Feldversuch dagegen nur  $0,51 \text{ mg g}^{-1}$ .

Der Vergleich der Ergebnisse von Hydrokultur- und Feldversuch zeigt wenige Übereinstimmungen. Während z.B. die Referenzsorte TOX4004 im Hydrokulturversuch relativ zu den übrigen Sorten in der mit  $2000 \text{ ppm Fe}^{2+}$  versetzten Nährlösung wenig Fe akkumulierte, befindet sie sich bei der Nährlösung mit  $1000 \text{ ppm Fe}^{2+}$  im Mittelfeld. Im Feldversuch dagegen fand sich bei TOX4004 im Vergleich zu den übrigen Sorten eine hohe Fe-Konzentration. Bei den Symptomen liegt TOX4004 im Feldversuch auf Plot 2 im Vergleich im

Mittelfeld. Dieses Ergebnis stimmt mit dem des Hydrokulturversuchs mit 1000ppm  $\text{Fe}^{2+}$  überein, nicht jedoch mit dem Ergebnis der aus der mit 2000ppm  $\text{Fe}^{2+}$  versetzten Nährlösung.



**Abbildung 19: Fe-Konzentration in  $\text{mg g}^{-1}$  und Boniturwerte von a) Hydrokulturversuch (1000ppm), b) Feldversuch (Plot 1), c) Hydrokulturversuch (2000ppm) und d) Feldversuch (Plot2)**

### 3.3 Bodenanalyse

Die Bodenanalyse ergab für den Standort mit der niedrigeren Eisentoxizität (Plot 1) einen Gehalt von 305,4ppm (Tab.4). Der Fe-Gehalt am Standort mit der höheren Eisentoxizität wurde auf 332,4ppm bestimmt. Weiterhin zeigte sich bei der Fe-Konzentration auf Plot 1 eine größere Heterogenität der über das Feld verteilten Proben.

**Tabelle 4: Fe-Konzentrationen im Boden in ppm (Plot 1 und 2)**

Probennummer	Fe [ppm] Plot 1	Fe [ppm] Plot 2
1	275,6	336,4
2	326,8	333,6
3	300,8	334,8
4	305,6	322,8
5	317,2	331,6
6	331,6	339,6
7	290,0	339,2
8	308,8	327,6
9	275,6	326,8
10	322,0	331,6
Mittelwert	<b>305,4</b>	<b>332,4</b>
Standardfehler	6,3	1,7

## 4 Diskussion

Eisentoxizität ist einer der wichtigsten abiotischen Stressfaktoren für Nassreis und in weiten Teilen der Welt für die Limitierung der Produktion verantwortlich. Die Ertragsverluste variieren in Abhängigkeit vom Ausmaß der Toxizität des Bodens und der Toleranz der Reissorte in der Regel von 15 bis 30%, können jedoch auch zum totalen Ausfall der Ernte führen (Audebert und Sahrawat, 2000). Die Selektion von Sorten mit herausragender Toleranz ist ein wichtiger Bestandteil der Forschung zur Reduzierung von Eisentoxizität (Sahrawat, 2004). Zum gegenwärtigen Zeitpunkt basieren die Selektionsmethoden meist auf den Symptomen der Blätter und dem Ernteertrag, nicht jedoch auf Resistenzmechanismen wie dem Ausschluss oder der Toleranz des Eisens (Asch *et al.*, 2005). In einem neu entwickelten Hydrokultursystem zur Selektion resistenter Genotypen kann eine große Anzahl von Sorten schnell, kostengünstig und mit Zugang zu Wurzel und Wurzelbelag untersucht werden. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Überprüfung der Übertragbarkeit der Ergebnisse dieser Selektionsmethode auf Feldbedingungen. Hierzu wurden 13 einheimische Reissorten und 1 bzw. 2 Referenzsorten im Feld und in der Hydrokultur untersucht und die Ergebnisse verglichen. Weiterhin konnten Aussagen über Sensitivität und Resistenz und mögliche Adaptionsmechanismen der untersuchten Sorten getroffen werden.

### 4.1 Hydrokulturversuch

Im Hydrokulturversuch zeigten sich Unterschiede in Pflanzenhöhe, Anzahl der Blätter und Trockengewicht zwischen Pflanzen, die mit Nährlösungen unterschiedlicher Fe-Konzentration behandelt wurden. Das Trockengewicht von 12 der 15 Sorten war bei den mit 1000ppm Fe<sup>2+</sup> behandelten Pflanzen höher als bei den übrigen Behandlungen. Dies ist wahrscheinlich auf Unterschiede bei der Belichtung der Pflanzen zurückzuführen, da in dem lediglich an den Seiten verglasten Gewächshaus keine gleichmäßige Belichtung gewährleistet werden konnte. Weiterhin zeigte sich hier bereits eine große Variabilität der Genotypen, da MTL420 und Sahel108 erheblich kleiner waren als z.B. MTL471 oder MTL509.

#### 4.1.1 Symptome und Fe-Konzentration

Eine mehr oder weniger starke Ausprägung der Eisentoxizitätssymptome wird aufgrund von Hinweisen auf eine Korrelation zu Ertragsverlusten (Audebert und Sahrawat, 2000) zur Einteilung in sensitive und tolerante Genotypen genutzt. Demnach können MTL509 und OM576 mit den geringsten Symptomen bei den Behandlungen mit 1000ppm bzw. 2000ppm  $\text{Fe}^{2+}$  den toleranten Genotypen zugeordnet werden. MTL508, MTL510, TOX4004 und Sahel108 zeigten in der 1000ppm  $\text{Fe}^{2+}$ -Nährlösung nur eine geringe Abweichung hinsichtlich der Symptome von der Kontrolle. Dies kann als Toleranz gegenüber niedrigen Fe-Konzentrationen gedeutet werden. Dass diese Sorten bei starker Toxizität zum Teil sehr ausgeprägte Symptome zeigten (z.B. TOX4004), verweist auf nur bei geringen Konzentrationen wirksame Adaptionsmechanismen. MTL420 und MTL468 erwiesen sich bei 1000ppm  $\text{Fe}^{2+}$  als sensitiv, zeigten jedoch keine bzw. nur eine geringe Steigerung der Symptome bei 2000ppm  $\text{Fe}^{2+}$ . Hier ist von einem an extreme Fe-Konzentrationen angepassten Adaptionsmechanismus auszugehen. MTL442 und MTL471 zeigten sich sowohl bei 1000ppm als auch bei 2000ppm  $\text{Fe}^{2+}$  sensitiv.

Anhand der Fe-Konzentrationen der Blätter werden bei den Sorten zwischen Includer- und Excluder-Strategien unterschieden. MTL442, MTL471, MTL509 und OM576 zeigten mit der Erhöhung der Fe-Konzentration in der Nährlösung nur eine sehr geringe Steigerung der Fe-Konzentration in den Blättern und können somit den Excludern zugeordnet werden. Bei MTL469 und MTL510 wurden in der Behandlung ohne zusätzliches  $\text{Fe}^{2+}$  relativ zu den übrigen Sorten hohe Fe-Konzentrationen gemessen, diese erhöhten sich jedoch nicht bzw. kaum mit der Zugabe von  $\text{Fe}^{2+}$  zur Nährlösung. Auch hier kann von einer Excluder-Strategie ausgegangen werden, wobei diese erst unter eisentoxischen Bedingungen zum tragen kommt. Dies steht im Einklang mit Ergebnissen von Tadano (1976). Dieser beschreibt den Übergang von einer aktiven Eisenaufnahme zu einem aktiven Eisenausschluss bei einer Fe-Konzentration von 10-50ppm Fe. Als Includer bewertet werden MTL420, MTL468 und Sahel108 aufgrund der Akkumulierung von großen Mengen an Fe.

Durch den Vergleich von Symptomen und Fe-Konzentrationen der Blätter

können Verknüpfungen zwischen sensitiven/toleranten Genotypen und Includer/Excluderstrategien hergestellt werden. In Abbildung 7 wurden die durchschnittlichen Fe-Konzentrationen der Blätter von den mit 2000ppm Fe<sup>2+</sup> behandelten Pflanzen den Werten der visuellen Bonitur gegenübergestellt. Includer mit relativ hoher Fe-Konzentration in den Blättern, wie z.B. MTL420, Sahel108 und MTL468, können demnach sowohl sensitiv (MTL420) als auch tolerant sein (MTL468). Gleiches gilt für Sorten mit Excluderstrategie. OM576 und MTL509 werden nach den vorliegenden Ergebnissen den tolerant, MTL442, OM2395 und MTL471 den sensitiven Excludern zugeordnet. Aus der Gegenüberstellung lässt sich schlussfolgern, dass kein Zusammenhang zwischen Fe-Konzentration der Blätter und Symptomen besteht und somit die Sensitivität bzw. Toleranz der Reispflanzen gegenüber Fe<sup>2+</sup> eher von Mechanismen wie der Speicherung von Fe im Gewebe, der Verhinderung der Aufnahme in den Symplasten durch einen hohen pH im Apoplasten und die enzymatische Spaltung reaktiver Sauerstoffspezies als durch den Ausschluss von Fe in der Rhizospäre bestimmt wird.

#### 4.1.2 Fe-Verteilung

Betrachtet man die Fe-Konzentration der gesamten Pflanze, zeichnet sich aufgrund der hohen Konzentration in den Wurzeln ein gänzlich anderes Bild ab. Die Sorten mit der höchsten Fe-Konzentration sind MTL442, OM576 und OM2395 und müssen somit trotz der geringen Fe-Konzentration in den Blättern auf der Ebene der Gesamtpflanze als Includer bewertet werden. MTL471 und MTL510 zeichnen sich durch die geringste Fe-Aufnahme aus und werden somit ebenso wie bei der Bewertung der Blattkonzentration den Excludern zugeordnet. Bei allen Sorten findet sich die höchste Fe-Konzentration in der Wurzel, die Konzentrationen in Stängeln und Blättern sind vergleichsweise gering. Tadano (1976) fand mit steigender Fe-Konzentration einen geringeren prozentualen Fe-Anteil in den Blättern, den entsprechend höheren Anteil in Wurzeln. Diese bei hohen Fe-Konzentrationen verringerte Translokation von Wurzeln zu Blättern wurde durch KCN aufgehoben, was auf eine aktive Speicherung von überschüssigen Fe in der Wurzel zur Vermeidung von Eisentoxizität schließen

lässt. Eine weitere mögliche Erklärung für die geringe Fe-Konzentration der Blätter ist die hohe Luftfeuchtigkeit bzw. das niedrige atmosphärische Dampfdruckdefizit im Gewächshaus. Man geht davon aus, dass sich bei einem hohen Dampfdruckdefizit und somit einer gesteigerten Transpiration der akropetale Fe-Transport erhöht (Asch *et al.*, 2005).

Bei der Verteilung des Fe-Gehalts auf Wurzel, Stängel und Blätter gilt es die Trockenmasse zu beachten, da sich gerade der Gehalt der Wurzel als abhängig von der Trockenmasse erwies und somit die größeren Pflanzen einen höheren prozentualen Anteil des Eisens in der Wurzel akkumulierten. Dennoch erlauben Unterschiede in der Fe-Verteilung auf Wurzel, Stängel und Blätter Rückschlüsse auf Adaptionsmechanismen wie der Vermeidungsstrategie durch Speicherung von überschüssigem Fe im Gewebe von Wurzel oder Stängel oder auch der Toleranz im Symplasten des Blattes. Der hohe prozentuale Fe-Anteil in den Wurzeln von MTL442 und OM576 deutet auf eine Vermeidungsstrategie durch Fe-Akkumulation in der Wurzel (Tadano, 1976); der relative hohe Fe-Anteil im Stängel bei MTL469 und AS996 verweist auf eine Speicherung in dessen Gewebe (Smith, 1984). In den Blättern von MTL420, MTL468 und Sahel108 ergibt sich der hohe Fe-Anteil aus einem zu den übrigen Sorten ähnlichen Gehalt und einer geringen Biomasse und resultiert in einer hohen Konzentration. Dennoch zeigten die Sorten keine überdurchschnittlichen Symptome, MTL468 erhielt den zweitniedrigsten Boniturwert. Dieses Resultat der geringen Symptome trotz einer hohen Fe-Konzentration im Blatt steht im Einklang mit Ergebnissen von Jayawardena *et al.* (1977) und spricht für die Vermeidung von Eisenstress durch einen Ausschluss aus dem Blattsymplasten bzw. einen Toleranzmechanismus durch Detoxifizierung des Eisens in MTL468.

#### 4.1.3 Wurzelbelag

Als weiterer Mechanismus zur Vermeidung von Eisentoxizität gilt eine verstärkte Oxidation von  $Fe^{2+}$  in der Rhizosphäre (Dobermann und Fairhurst, 2000). Im Hydrokulturversuch wurden eindeutige Unterschiede zwischen den Sorten beim gebildeten Wurzelbelag gemessen. Dennoch konnte kein Zusammenhang zwischen dem Wurzelbelag und der aufgenommenen Menge an Eisen festgestellt werden. Die Sorte mit der größten Menge an Wurzelbelag, OM2395,



zeigte gleichzeitig die höchste Fe-Konzentration auf der Ebene der Gesamtpflanze. MTL471 mit der niedrigsten Fe-Konzentration war durch einen Wurzelbelag im mittleren Bereich gekennzeichnet. Möglicherweise kann in der Hydrokultur aufgrund der erhöhten Diffusion die Oxidation von  $\text{Fe}^{2+}$  an der Oberfläche der Wurzel weniger effektiv den Gehalt an  $\text{Fe}^{2+}$  in der direkten Umgebung verringern, als in der Rhizosphäre des Bodens. Dieser Effekt könnte weiterhin durch die Durchsprudlung und die hohe Fe-Konzentration der Nährlösung verstärkt werden. Demnach wäre die Methode der Hydrokultur zur Untersuchung des Wurzelbelags zu überdenken. Weiterhin wäre denkbar, dass die Relevanz des Wurzelbelags für die Vermeidung von Eisentoxizität überschätzt wurde, und den übrigen Adaptionsmechanismen wie der Immobilisierung von aktivem Fe und der Toleranz von Fe im Symplasten die tragende Rolle bei der Vermeidung bzw. Toleranz von Eisentoxizität zukommt. Ein vergleichbares Ergebnis lieferten bereits die Versuche von Jayawardena *et al.* (1977). Dennoch ist in der aktuelleren Literatur die Bildung eines Wurzelbelags als Mechanismus zur Vermeidung von Eisentoxizität anerkannt (Dobermann und Fairhurst, 2000; Becker und Asch, 2005). Diese Auffassung sollte in Frage gestellt und durch weitere Untersuchungen überprüft werden.

#### 4.1.4 Vergleich der Sorten im Hydrokulturversuch

Anhand der Einordnung der Sorten auf Grundlage der Symptome, Fe-Aufnahme und des Wurzelbelags in sensitive und tolerante Genotypen bzw. Includer- und Excluderstrategen kann eine Sortenbewertung im Hinblick auf die Reaktion unter eisentoxischen Bedingungen vorgenommen werden (Tab.5). Im Hydrokulturversuch zeigte sich in der Gesamtbilanz MTL509 als am besten angepasste Sorte. Auch MTL510 und OM576 erwiesen sich als gut adaptiert. MTL471 zeichnete sich durch eine sehr geringe Fe-Aufnahme und starke Symptome aus, MTL468 durch schwache Symptome und eine sehr hohe Fe-Konzentration in den Blättern. Diese beiden Sorten scheinen aufgrund ihrer extremen Reaktionen für eine weiterführende Untersuchung der Resistenzmechanismen auf Zellebene interessant. Am schlechtesten mit den extremen Bedingungen umzugehen vermochte MTL420. Weiterhin zeigten MTL442, AS996 und Sahel108 eine negative Gesamtbilanz.

**Tabelle 5: Einordnung und Bewertung der Sorten nach Symptomen, Fe-Aufnahme und Wurzelbelag im Hydrokulturversuch (2000ppm)**

	Symptome	Fe-Aufnahme (Blätter)	Fe-Aufnahme (Pflanze)	Wurzelbelag	Gesamt
MTL420	0	--	-	--	--
MTL442	--	++	--	-	-
MTL465	-	0	+	+	0
MTL468	++	--	0	0	0
MTL469	-	0	0	0	0
MTL471	--	++	++	0	+
MTL508	0	0	0	-	0
MTL509	++	++	+	+	++
MTL510	+	0	++	0	+
AS996	-	0	-	0	-
OM576	++	++	-	0	+
OM2395	--	+	--	++	0
OM2517	0	+	0	0	0
TOX4004	-	+	0	+	0
Sahel108	0	--	-	+	-

**++/+: (sehr) schwache Symptome, (sehr) niedrige Fe-Aufnahme, (sehr) starker Wurzelbelag, (sehr) positive Gesamtbilanz**

**--/: (sehr) starke Symptome, (sehr) hohe Fe-Aufnahme, (sehr) schwacher Wurzelbelag, (sehr) negative Gesamtbilanz**

**0: mittlere Symptomausprägung, mittlere Fe-Aufnahme, mittlerer Wurzelbelag, mittlere Gesamtbilanz**

## 4.2 Feldversuch

Im Feldversuch wurden bei Pflanzenhöhe, Anzahl der Bestockungstriebe und Trockenmasse Unterschiede zwischen den beiden Standorten unterschiedlicher Toxizität festgestellt. Beachtenswert erscheint die breitere Streuung der Ergebnisse am Standort der höheren Toxizität, da nach der Bodenanalyse die Fe-Konzentration auf Plot 1 (niedrigere Toxizität) die breitere Streuung aufwies, die Fe-Konzentration auf Plot 2 (höhere Toxizität) dagegen konstant war. Ob die größeren Unterschiede in Pflanzenhöhe, Anzahl der Bestockungstriebe und Trockenmasse auf Plot 2 auf den Einfluss der höheren Fe-Konzentration im Boden zurückzuführen ist, bleibt ungewiss und bedarf weiterer Klärung.

### 4.2.1 Symptome und Fe-Konzentration

Anhand der Gegenüberstellung von Fe-Konzentration und Symptomen kann auch im Feldversuch zwischen sensitiven und toleranten Genotypen und zwischen Includer- und Excluderstrategien unterschieden werden. Demnach sind MTL471 und MTL465 aufgrund ihrer geringen Symptome und der relativ niedrigen Fe-Konzentration in den Blättern unter Feldbedingungen den

toleranten Excludern zuzuordnen. Weitere Excluder sind die sensitive Sorte MTL509 und MTL420 mit der niedrigsten Fe-Konzentration und Boniturwerten im mittleren Bereich. MTL442, TOX4004 und MTL508 mit den höchsten Fe-Konzentrationen stellen Includer dar, die zum einen im sensitiven (MTL508), tolerantan (MTL442) oder im mittleren Bereich (TOX4004) liegen können.

#### 4.2.2. Vergleich der Sorten im Feldversuch

Zusammenfassend sind im Feldversuch die Stressantworten von MTL420, MTL465 und MTL471 als positiv hinsichtlich der Symptome und der Fe-Aufnahme zu bewerten (Tab.6). Als schlecht an die gegebenen eisentoxischen Bedingungen im Feld angepasst erwiesen sich MTL508, MTL509 und OM2517.

**Tabelle 6: Einordnung und Bewertung der Sorten nach Symptomen, Fe-Aufnahme und Wurzelbelag im Feldversuch (Plot 2)**

	Symptome	Fe-Aufnahme (Blätter)	Gesamt
MTL420	0	++	+
MTL442	++	--	0
MTL465	+	+	+
MTL468	-	+	0
MTL469	+	0	0
MTL471	+	+	+
MTL508	--	--	--
MTL509	--	+	-
MTL510	0	0	0
AS996	+	0	0
OM576	+	0	0
OM2395	+	-	0
OM2517	--	-	--
TOX4004	0	--	-

**++/+: (sehr) schwache Symptome, (sehr) niedrige Fe-Aufnahme, (sehr) positive Gesamtbilanz**

**--/ -: (sehr) starke Symptome, (sehr) hohe Fe-Aufnahme, (sehr) negative Gesamtbilanz**

**0: mittlere Symptomausprägung, mittlere Fe-Aufnahme, mittlere Gesamtbilanz**

## **5 Vergleich von Hydrokultur- und Feldversuch**

Der Vergleich der Ergebnisse beider Versuche lieferte Erkenntnisse über Gültigkeit und Aussagekraft der beiden derzeit angewandten Methoden zum Screening von Eisentoxizitätsresistenz. Im Feldversuch wurden die Pflanzen am Standort der höheren Toxizität über einen Zeitraum von 51 Tagen einer Eisenbelastung von etwa 330ppm ausgesetzt, im Hydrokulturversuch über 4 Tage einer Fe-Konzentration von maximal 2000ppm. Im Vergleich zum Hydrokulturversuch wurden im Feld sowohl niedrigere Boniturwerte vergeben, also auch geringere Fe-Konzentrationen gemessen. Somit führte die niedrigere Belastung im Feld trotz des längeren Versuchszeitraums zu einem geringeren Grad an Eisentoxizität. Aufgrund der größeren Variabilität der Stressantworten in der Hydrokultur scheint dieser Versuchansatz die präziseren Ergebnisse zu liefern.

Die niedrigere Eisentoxizität im Feld führte weiterhin zu verschiedenen Ergebnissen hinsichtlich der Einordnung der Sorten in sensitive und tolerante Genotypen bzw. Includer- und Excluderstrategen (Tab.7). In der Gesamtbewertung der Sorten in Hydrokultur und Feldversuch finden sich nur wenige Übereinstimmungen. Selbiges gilt für den Vergleich mit den Ergebnissen aus Vorversuchen. Die MTL-Sorten und AS996 wurden bereits in einem Versuch zu Abschätzung von Ertragsverlusten durch Eisentoxizität bewertet<sup>3</sup>, TOX4004 und Sahel108 wurden im Vorfeld unter kontrollierten Bedingungen getestet (Kpongor, 2003; Aung, 2006). Die Bewertungen der OM-Sorten beruhen auf Erfahrungen durch den Anbau auf potentiell eisentoxischen sulfatsauren Böden im Mekong-Delta<sup>4</sup>. Diese Ergebnisse zeigen weder mit den Ergebnissen des Hydrokulturversuchs noch mit denen des Feldversuchs Übereinstimmung. Hieraus wird die starke Abhängigkeit der Reaktion der Sorten auf eisentoxische Bedingungen im Hinblick auf Umweltfaktoren (Audebert und Sahrawat, 2000), Entwicklungsstadium der Pflanzen (Tadano, 1976) und gemessenen Parametern ersichtlich.

---

<sup>3</sup> Le Xuan Thai (2006): persönliche Mitteilung

<sup>4</sup> Cao Van Phung (2007): persönliche Mitteilung

**Tabelle 7: Vergleich der Gesamtbilanz der Sorten in Hydrokultur- und Feldversuch und Ergebnissen der Vorversuche**

	Hydrokulturversuch	Feldversuch	Vorversuche
MTL420	--	+	+
MTL442	-	0	+
MTL465	0	+	-
MTL468	0	0	0
MTL469	0	0	0
MTL471	+	+	-
MTL508	0	--	+
MTL509	++	-	-
MTL510	+	0	-
AS996	-	0	+
OM576	+	0	+
OM2395	0	0	0
OM2517	0	--	+
TOX4004	0	-	+
Sahel108	-	n.b.	+

**++/+: (sehr) positive Gesamtbilanz, resistent**

**--/ -: (sehr) negative Gesamtbilanz, sensitiv**

**0: moderat sensitiv**

**n.b.: nicht bestimmt**

Im Allgemeinen wird neben den weniger stark ausgeprägten Unterschieden zwischen den Sorten ein Screening im Feld zusätzlich durch Schwierigkeiten bei der Auswahl der Versuchsflächen erschwert, da Versuchsfelder mit deutlicheren Unterschieden in ihrem Grad an Eisentoxizität selten die Bedingung ihrer Vergleichbarkeit hinsichtlich Nährstoffversorgung, Bodentyp und klimatischen Gegebenheiten erfüllen und sich eine künstliche Schaffung eisentoxischer Bedingungen im Feld durch Zugabe von reduzierten Eisen als unwirksam erwies (Aung, 2006). Der Hydrokulturversuch erlaubt weiterhin den Zugang zur Wurzel und zum Wurzelbelag, ermöglicht ein Screening im frühen vegetativen Stadium und stellt eine kostengünstige und arbeitsminimierende Alternative zum Feldversuch dar. Dennoch ist aufgrund der begrenzten Vergleichbarkeit der durchgeführten Versuche keine verlässliche Schlussfolgerung zur Validität des Hydrokulturversuchs möglich und eine weitere Überprüfung dieser Methode scheint unumgänglich. Ein möglicher Ansatz zu einer weiteren Überprüfung der Aussagekraft des Hydrokulturversuchs wäre die parallele Durchführung von Hydrokultur- und Topfversuchen mit Böden verschiedener Toxizitätsstufen unter genauester Berücksichtigung der Nährstoffversorgung. Durch die Verwendung von in ihrem Toxizitätsgrad sehr unterschiedlichen Böden im Topfversuch ließen

sich die Problematik der geringen Variabilität im Feldversuch umgehen und gleichzeitig die Vergleichbarkeit der klimatischen Bedingungen gewährleisten. Weiterhin bedarf es Klärung, ob und inwieweit die Reaktion der Pflanzen auf eine kurze und intensive Stressperiode von 4 Tagen und 2000ppm Fe<sup>2+</sup> mit der Stressantwort auf eine schwächere Fe-Belastung über einen längeren Zeitraum zu vergleichen ist.

## **6 Schlussfolgerung**

Sowohl in der Hydrokultur als auch im Feldversuch konnten sensitive und tolerante Genotypen sowie Includer und Excluder unterschieden werden. In der Hydrokultur wurden MTL508, MTL509 und OM576 den toleranten Sorten zugeordnet, MTL420, MTL442 und AS996 den sensitiven. Im Feld dagegen zeigten sich MTL420, MTL465 und MTL471 tolerant, MTL508, MTL509 und OM2517 zeigten sich sensitiv. Die unterschiedlichen Ergebnisse beruhen möglicherweise auf dem niedrigeren Grad der Toxizität im Feld. Eine zuverlässige Aussage zur Validität des Hydrokulturversuchs ist somit nicht möglich und eine weitere Überprüfung notwendig. Für die Untersuchung von Böden mit größeren Unterschieden in der  $\text{Fe}^{2+}$ -Konzentration unter Gewährleistung einer Vergleichbarkeit der Standortbedingungen scheinen Topfversuche geeignet. Weiterhin sollte die Vergleichbarkeit einer kurzen und intensiven Stressperiode wie der im Hydrokulturversuch gegebenen mit den im Feld vorherrschenden Bedingungen überprüft werden.

Zwischen Wurzelbelag und Fe-Aufnahme konnte kein Zusammenhang festgestellt werden. Möglicherweise kann der Einfluss der Wurzelbelagbildung auf die Fe-Aufnahme in der Hydrokultur aufgrund der erhöhten Diffusion nicht wirksam werden. Dies gilt es zu überprüfen. Die bei den Excludern verzeichnete geringere Fe-Aufnahme beruht wahrscheinlich auf dem Ausschluss an der Wurzelmembran. Weiterhin wurde bestätigt, dass Menge des aufgenommenen Fe und Symptomausprägung in keinem ursächlichen Zusammenhang stehen.

## Literatur

- Abifarin, A. O. (1988): Grain yield loss due to iron toxicity. WARDA (West African Rice Development Association) Tech. Newsl. 8 (1), 1-2.
- Abraham, M. J., Pandey, D. K. (1989): Performance of selected varieties and advanced generation genotypes in rainfed lowland iron-toxic soil. Int. Rice Res. Newsl. 14, 21.
- Abu, M. B., Tucker, E. S., Harding, S. S., Sesay, J. S. (1989): Cultural practices to reduce iron toxicity in rice. Int. Rice Res. Newsl. 14, 19.
- Ando, T., Yoshida, S., Nishiyama, I. (1983): Nature of oxidizing power of rice roots. Plant Soil 72, 57-71.
- Asch, F., Becker, M., Kpongor, D. S. (2005): A quick and efficient screen for resistance to iron toxicity in lowland rice. J. Plant Nutr. Soil Sci. 168, 1-10.
- Audebert, A., Sahrawat, K.L. (2000): Mechanisms for iron toxicity tolerance in lowland rice. J. Plant. Nutr. 23, 1877-1885.
- Aung, T. (2006): Physiological mechanisms of iron toxicity tolerance in lowland rice. M.Sc. Thesis, University of Bonn, Germany.
- Ayotade, K. A. (1979): Reaction of some rice varieties to iron toxicity in flooded strongly acid ferralitic soil in Nigeria. WARDA (West African Rice Development Association) Tech. Newsl. 1, 11.
- Bartels, D., Sunkar, R. (2005): Drought and salt tolerance in plants. Crit. Rev. Plant Sci. 24, 23-58.
- Becana, M., Moran, J.F., Iturbe-Ormaetxe, I. (1998): Iron-dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. Plant Soil 201, 137-147.
- Becker, M., Asch, F. (2005): Iron toxicity in rice – conditions and management concepts. J. Plant Nutr. Soil Sci. 168, 558-573.
- Bughio, N., Yamaguchi, H., Nishizawa, N.K., Nakanishi, H., Mori, S. (2002): Cloning an iron-regulated metal transporter from rice. J. Exp. Bot. 53, 1677-1682.



Bui B. B. (2000): Genetic improvement of rice varieties for the Mekong Delta of Vietnam: Current status and future approaches. Proceedings of the Conference on Rice Research and Development in Vietnam for the 21<sup>st</sup> Century – Aspects of Vietnam – India Cooperation. CLRRI, 123, 130.

Davies, K.J.A., Delsignore, M.E., Lin, S.W. (1987): Protein damage and degradation by oxygen radicals. J. Biol. Chem. 262, 9902-9907.

Dobermann, A., Fairhurst, T. (2000): Rice. Nutrient disorders and nutrient management. The International Rice Research Institute, Manila, The Philippines.

Flessa, H., Fischer, W.R. (1992): Plant-induced changes in the redox potentials of rice rhizospheres. Plant Soil 143, 55-60.

Halliwell, B., Aruoma, O.I. (1991): DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. FEBS Lett. 281, 9-19.

Holden, M.J., Luster, D.G., Chaney, R.L. (1994): Enzymatic iron reduction at the root plasma membrane: partial purification of the NADH-Fe chelat reductase. In: IRRI – INGER (1996): Standard evaluation system for rice. 4<sup>th</sup> ed., International Rice Research Institute, Manila, The Philippines.

Ishimaru, Y., Suzuki, M., Tsukamoto, T., Suzuki, K., Nakazono, M., Kobayashi, T., Wada, Y., Watanabe, S., Matsubashi, S., Takahashi, M., Nakanishi, H., Mori, S., Nishizawa, N.K. (2006): Rice plants take up iron as an Fe<sup>3+</sup>-phytosiderophore and as Fe<sup>2+</sup>. Plant J. 45, 335-364.

Jayawardena, S. D. G., Watabe, T., Tanaka, K. (1977): Relation between root oxidizing power and resistance to iron toxicity in rice. Crop Sci. Plant Breed. Soc. J. 22, 38-47.

Kirk, G. (2004): The biogeochemistry of submerged soils. John Wiley & Sons, Chichester, UK., 214-215.

Kosegarten, H.U., Hofmann, B., Mengel, K. (1999): Apoplastic pH and Fe<sup>3+</sup> reduction in intact sunflower leaves. Plant Physiol 121, 1069-1079.

Kpongor, D. S. (2003): Developing a standardized procedure to screen lowland rice (*Oryza sativa*) seedlings for tolerance to iron toxicity. M.Sc. Thesis, University of Bonn, Germany.

- Lantin, R. S., Neue, H. U. (1989): Iron toxicity: a nutrient disorder in wetland rice. 17th Irrigated Rice Meeting. Brazil. 26-30 Sep. 1989. *Lavoura-Arrozeira* 42, 3-8.
- Liao, C.-T., Lin, C.-H. (2001): Physiological adaptations of crop plants to flooding stress. *Proc. Natl. Sci. Council.* 25, 148-157.
- Marschner, H. (1995): Mineral nutrition of higher plants. Academic press, London.
- Minh, L.Q., Tuong, T.P., van Mensvoort, M. E. F., Bouma, J. (1997): Tillage and water management for riceland productivity in acid sulfate soils of the Mekong delta, Vietnam. *Soil Tillage Res.* 42, 1-14.
- Montás Ramírez, L., Claassen, N., Amílcar Ubiera, A., Werner, H., Moawad, A.M. (2002): Effect of phosphorus, potassium and zinc fertilizers on iron toxicity in wetland rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Soil* 239, 197-206.
- Nguyen C. T., Singh, B. (2006): Trend in rice production and export in Vietnam. *Omonrice* 14, 111-123.
- Olsen, R.A., Clark, R.B. und Bennett, J.H. (1981): The enhancement of soil fertility by plant roots. *Am. Scientist* 69, 378-384.
- Peng, X.X., Yamauchi, M. (1993): Ethylen production in rice bronzing leaves induced by ferrous iron. *Plant Soil* 149, 227-234.
- Price, A.H., Hendry, A.F.: Iron-catalysed oxygen radical formation and its possible contribution to drought damage in nine native grasses and three cereals. *Plant Cell Environ.* 14, 477-484.
- Sahrawat, K. L. (2004): Managing iron toxicity in lowland rice: The role of tolerant genotypes and plant nutrients. In: *Rice is life: Scientific perspectives for the 21st century. Proceedings of the World Rice Research Conference, 2004, Japan*, 452-454.
- Singh, B. P., Das, M., Prasad, R. N., Ram, M. (1992): Characteristics of Fe-toxic soils and affected plants and their correction in acid Haplaquents of Meghalaya. *Int. Rice Res. Newsl.* 17, 18-19.
- Smith, B. N. (1984): Iron in higher plants: Storage and metabolic role. *J. Plant Nutr.* 7, 759-766.

- Tadano, T. (1975): Devices of rice roots to tolerate high iron concentration in growth media. *Jpn. Agr. Res. Quart. (JARQ)* 9, 34-39.
- Tadano, T. (1976): Studies on the methods to prevent iron toxicity in lowland rice. *Mementos of the Faculty of Agriculture Hokkaido University* 10, 22-68.
- Taiz, L., Zeiger, E. (2000): *Physiologie der Pflanzen*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg/Berlin.
- Tanaka, A., Loe, R., Navasero, S.A. (1966): Some mechanisms involved in the development of iron toxicity symptoms in the rice plant. *Soil Sci. Plant Nutr.* 12, 158-164.
- Thompson, J.E., Legge, R.I. (1987): The role of free radicals in senescence and wounding. *New Phytol.* 105, 317-344.
- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J. (2004): Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol. Cell. Biochem.* 266, 37-56.
- Vert, G., Grotz, N., Dédaldéchamp, F., Gaymard, F., Guerinot, M.L., Briat, J.-F., Curie, C. (2002): IRT1, an Arabidopsis transporter essential for iron uptake from the soil and for plant growth. *Plant Cell* 14, 1223-1233.
- Yamanouchi, M., Yoshida, S. (1981): Physiological mechanisms of rice's tolerance for iron toxicity. Paper presented at the IRRI Saturday Seminar, June 6, 1981. The International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
- Yoshida, S., Forno, D.A., Cock, J.H., Gomez, K.A. (1976): *Laboratory manual for physiological studies of rice*. Ed 3. International Rice Research Institute, Los Baños, The Philippines.