

**Abiotischer Stress in Weizenblättern:  
Reaktionen im Photosynthese-Apparat in Relation  
zum Stressmetabolismus**

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Fakultät für Agrarwissenschaften  
der Georg-August-Universität Göttingen

vorgelegt von  
Elke Grimme  
geboren in Göttingen

Göttingen, im Dezember 2006

D7

1. Referentin/Referent: Prof. Dr. Andreas von Tiedemann

2. Korreferentin/Korreferent: Prof. Dr. Reto J. Strasser

Tag der mündlichen Prüfung: 25.01.2007



Süß ist die Erinnerung an vergangene Mühen. (Cicero, Euripides)

<b>I. INHALTSVERZEICHNIS.....</b>	<b>IV</b>
<b>II. ABKÜRZUNGEN UND SYMBOLE.....</b>	<b>VII</b>
<b>1. EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
1.1. PHYSIOLOGISCHE BLATTFLECKEN.....	3
1.2. ZIELE DIESER ARBEIT .....	4
1.3. OXIDATIVER STRESS, SAUERSTOFFSPEZIES UND ANTIOXIDATIVES SCHUTZSYSTEM PFLANZLICHER ZELLEN .....	5
1.3.1. Oxidativer Stress in Pflanzen .....	5
1.3.2. Quellen reaktiver Sauerstoffspezies.....	6
1.3.2.1. ROS-Bildung in Chloroplasten – Photosynthese und Elektronentransport .....	7
1.3.2.2. ROS-Bildung in Mitochondrien - Elektronentransport.....	11
1.3.2.3. Fenton-Reaktion und Haber-Weiss-Reaktion .....	12
1.3.3. Schadwirkungen und Schutzwirkungen der ROS.....	13
1.3.3.1. Schadwirkungen der ROS auf Pflanzen .....	14
1.3.3.2. Schutzwirkungen .....	15
1.3.4. Antioxidativer Schutz, Abwehrmechanismen der Pflanzen .....	15
1.3.4.1. Enzymatische Entgiftung von reaktiven Sauerstoffspezies .....	15
1.3.4.2. Nichtenzymatische Entgiftung von reaktiven Sauerstoffspezies .....	17
1.4. STRESSFAKTOREN .....	18
1.4.1. Ozon als pflanzlicher Schadstoff .....	18
1.4.2. UV-B-Strahlung .....	20
1.5. FUNGIZIDE .....	22
1.5.1. Triazole.....	23
1.5.2. Strobilurine .....	24
1.6. HANDYPEA UND CHLOROPHYLL-FLUORESZENZ.....	25
1.6.1. Grundlagen.....	26
1.6.1.1. Die Chlorophyll-Fluoreszenz als Messgröße der Photosynthese .....	26
1.6.1.2. Fluoreszenzkinetik.....	28
1.6.1.3. Schnelle Kinetik der Chlorophyll-Fluoreszenz-Induktion .....	30
1.6.1.4. O-J-I-P – Stufen und photochemische Reaktionen .....	32
1.6.2. JIP-Test .....	35
1.6.2.1. Energieflüsse im Photosystem II .....	36
1.6.2.2. Spezifische Energieflüsse .....	39
1.6.2.3. Phänomenologische Energieflüsse .....	40
1.6.2.4. Relative variable Fluoreszenz .....	41
1.6.2.5. Weitere JIP-Test - Parameter .....	41
1.6.2.6. Ausgewählte JIP – Parameter dieser Arbeit.....	43
1.6.3. Präsentationen von JIP-Test-Parametern – Biolyzer-Programm .....	45
1.6.3.1. Radarplot.....	45
1.6.3.2. Pipeline-Modelle, Membran- und Blattmodell.....	46
1.6.3.3. $Q_A$ reduzierende und nicht- $Q_A$ reduzierende Reaktionszentren .....	47
1.6.3.4. Relative variable Fluoreszenz .....	49
<b>2. MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>52</b>

2.1. FELDVERSUCHE GÖTTINGEN.....	52
2.1.1. Standort.....	52
2.1.2. Produktionstechnik.....	52
2.1.3. Winterweizensorten.....	55
2.1.4. PLS-Bonituren.....	55
2.1.5. Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen – Feldversuche.....	55
2.1.6. Probenahme.....	57
2.1.7. Kornertrag.....	57
2.2. LANDESSORTENVERSUCH WINTERWEIZEN NORTHEIM 2004.....	57
2.3. MONITORING 2003 UND 2004.....	58
2.4. FEUCHTEKAMMER-TEST ZUR BESTIMMUNG VON BLATTFLECKEN.....	60
2.5. GEWÄCHSHAUSVERSUCHE.....	60
2.5.1. Pflanzenanzucht.....	60
2.5.2. Fungizidapplikation.....	61
2.5.3. Stressoren im Gewächshaus.....	61
2.5.3.1. Ozonbehandlung.....	62
2.5.3.2. Lichtbehandlung.....	62
2.5.4. Chlorophyll-Fluoreszenz.....	63
2.5.5. Probenahme.....	63
2.6. BLATTANALYSEN.....	63
2.6.1. Enzymextrakt-Gewinnung.....	64
2.6.2. Messungen zu Enzymaktivitäten.....	64
2.6.2.1. Ascorbat-Peroxidase-Aktivität.....	64
2.6.2.2. Katalase-Aktivität.....	64
2.6.2.3. Peroxidase-Aktivität.....	65
2.6.2.4. Superoxid-Dismutase-Aktivität.....	65
2.6.3. Bestimmung der Proteinmenge.....	66
2.6.4. Messung der Lipidperoxidation.....	66
2.6.5. Nachweis der Wasserstoffperoxid-Mengen mit Guaiacol.....	67
2.6.6. Bestimmung der Membranpermeabilität.....	67
2.7. CHEMIKALIEN.....	68
2.8. STATISTISCHE AUSWERTUNG.....	68
<b>3. ERGEBNISSE.....</b>	<b>69</b>
3.1. WITTERUNGSVERLAUF 2003 UND 2004.....	69
3.1.1. Wetterbedingungen Herbst, Winter und Frühjahr 2002, 2003 und 2004.....	69
3.1.2. Witterung von April – Juli 2003 und 2004 im Vergleich zum Jahresmittel.....	70
3.1.3. Witterung während der Messzeiträume 2003 und 2004.....	71
3.2. ENTSTEHUNG PHYSIOLOGISCHER BLATTFLECKEN.....	72
3.2.1. Blattverbräunungen in den Blattbeugen.....	74
3.2.2. Nekrotisierte Chlorosen.....	77
3.2.3. Pollenekrosen.....	79
3.3. STRESS-CHARAKTERISIERUNG VON WEIZENPFLANZEN IM FELD.....	81
3.3.1. Bonitur-Ergebnisse physiologischer Blattflecken.....	82
3.3.1.1. PLS-Bonitur im Monitoring.....	82

3.3.1.2. PLS-Bonitur in Göttinger Feldversuchen 2003 und 2004 .....	84
3.3.2. Sortenvergleich.....	86
3.3.2.1. Chlorophyll-Fluoreszenz.....	86
3.3.2.2. Blattanalysen .....	96
3.3.3. Witterungseinflüsse .....	100
3.3.3.1. Chlorophyll-Fluoreszenz.....	100
3.3.3.2. Blattanalysen .....	105
3.4. STRESSPHYSIOLOGISCHE WIRKUNGEN DER FUNGIZIDE .....	108
3.4.1. Entstehung von PLS-Flecken .....	108
3.4.2. Chlorophyll-Fluoreszenz.....	111
3.4.3. Blattanalysen .....	122
3.4.4. Kornerträge.....	126
3.5. FUNGIZIDEINFLUSS AUF OZON INDUZIERTEN STRESS IM GEWÄCHSHAUS .....	127
3.5.1. Chlorophyll-Fluoreszenz.....	127
3.5.1.1. Fungizideffekt .....	128
3.5.1.2. Ozoneffekt .....	132
3.5.2. Blattanalyse .....	137
3.6. EINFLUSS VON LICHTSTRESS AUF CHLOROPHYLL-FLUORESZENZ .....	143
3.6.1. Einfluss unterschiedlicher Lichtspektren .....	143
3.6.2. Sortenvergleich.....	146
<b>4. DISKUSSION .....</b>	<b>149</b>
4.1. AUFTRETEN UND BEDEUTUNG VON PLS IN WINTERWEIZEN.....	149
4.2. CHARAKTERISIERUNG DER STRESSTOLERANZ VERSCHIEDENER WEIZENSORTEN.....	155
4.2.1. Chlorophyll-Fluoreszenz.....	155
4.2.2. Blattanalyse – Stressphysiologische Parameter .....	158
4.2.3. Lichtstress .....	159
4.3. FUNGIZIDEFFEKTE AUF DIE STRESSPHYSIOLOGIE.....	162
4.3.1. Feld.....	162
4.3.2. Gewächshaus.....	164
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>168</b>
<b>6. LITERATUR .....</b>	<b>172</b>
<b>7. ANHANG.....</b>	<b>182</b>

## II. Abkürzungen und Symbole

%	Prozent
°C	Grad Celcius
μ	Mikro ( $10^{-6}$ )
φ	Phi
ψ	Psi
ABS	absorbierte Lichtmenge pro Zeiteinheit oder absorbierter Lichtflux
AOT 40	kumulative Ozondosis oberhalb des Schwellenwertes von 40 ppb
APX	Ascorbat-Peroxidase
ATP	Adenosintriphosphat
Chl	Chlorophyll a
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
cs	gemessene Blattfläche (cross section)
Cu	Kupfer
DI	dissipierte Energiemenge
DNA	Desoxyribonucleinsäure
dt	Dezitonne (100 kg)
e	Elektron
EC	Entwicklungsstadium
Epoxicon	Epoxiconazol
ET	Elektronentransport
ETC	Elektronentransportkette (electron transport chain)
F	Fahnenblatt
F-1	1. Blattetage unter dem Fahnenblatt
F-2	2. Blattetage unter dem Fahnenblatt
Fd	Ferredoxin
Fe	Eisen
FM	Frischmasse
F <sub>M</sub>	maximale Fluoreszenz nach Dunkelanpassung
F <sub>O</sub>	Grundfluoreszenz nach Dunkelanpassung
g	Gramm
gBf	grüne Blattfläche
h	Stunde
h <sub>v</sub>	Lichtenergie
H <sup>+</sup>	Wasserstoff
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid

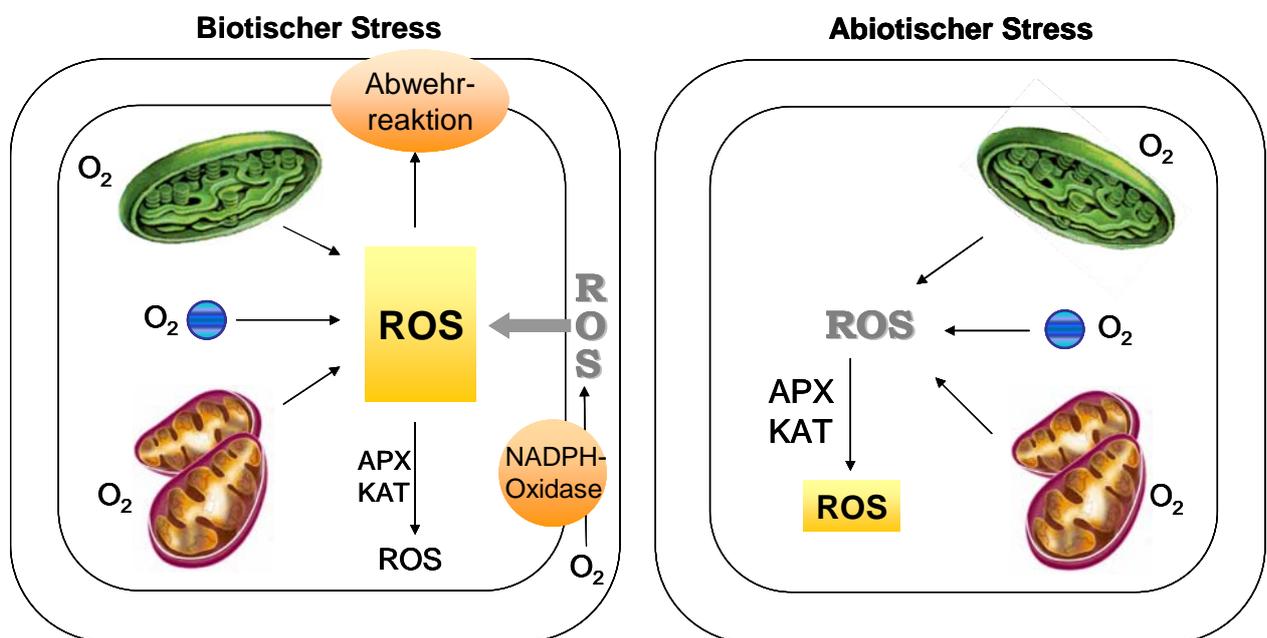
ha	Hektar
HR	Hypersensitive Reaktion
I	Fluoreszenzintensität nach 30 ms
J	Fluoreszenzintensität nach 2 ms
JIP	Stufen der schnellen Chlorophyll-Fluoreszenz
JT	Juwel Top
K	Kontrolle
KAS	Kalkammonsalpeter
KAT	Katalase
kg	Kilogramm
klux	Kilolux
KM	Kresoxim-Methyl
Kö/m <sup>2</sup>	Körner pro Quadratmeter
l	Liter
LHC	Lichtsammelkomplex
m	Meter
max	maximal
MDA	Malondialdehyd
min	Minute
mM	Millimolar (10 <sup>-3</sup> )
mmol	Millimol
Mn	Mangan
MW	Mittelwert
n	Anzahl der Wiederholungen
N	Niederschlag
NADP	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat
NADPH	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (reduzierte Form)
nm	Nanometer
nmol	Nanomol (10 <sup>-9</sup> mol)
O	Stufe O mit Grundfluoreszenz
OEC	Wasserspaltender Enzymkomplex (oxygen evolving complex)
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
O <sub>3</sub>	Ozon
*O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Superoxid-Radikal-Anion
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Singulett-Sauerstoff
<sup>3</sup> O <sub>2</sub>	Sauerstoff im Triplettzustand
*OH	Hydroxylradikal

OH <sup>-</sup>	Hydroxylanion
Op	Opera
Oz	Ozon
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
P	Stufe P der maximalen Fluoreszenz
P680	Reaktionszentrum von Photosystem II
pH	Negativer dekadischer Logarithmus der H <sup>+</sup> -Konzentration
Phe	Pheophytin
PLS	Physiologische Blattflecken
POX	Peroxidasen
ppb	parts per billion
ppm	parts per million
PQ	Plastoquinon
PS I, PS II	Photosystem I und II
PVP	Polyvinylpyrrolidone
Pyracl	Pyraclostrobin
Q <sub>A</sub> , Q <sub>B</sub>	Plastoquinon A und B
QoI	Äußerer Quinon-Inhibitor
R <sup>2</sup>	Bestimmtheitsmaß
RC	Reaktionszentrum
rel	relativ
ROOH	Peroxide
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
s	Sekunde
SOD	Superoxid-Dismutase
Stdabw	Standardabweichung
TBA	Thiobarbitursäure
TR	Energieflux zum Reaktionszentrum (Trapping)
TS	Trockensubstanz
TyrZ	primärer Elektronendonator von Photosystem II
U	Umdrehung
ü. NN	über Normal Null
unit	Enzymaktivitätseinheit
UV	Ultraviolettes Licht
V	Relative variable Fluoreszenz
W	Watt
WW	Winterweizen

XOD	Xanthinoxidase
Zn	Zink

## 1. Einleitung

Pflanzen sind im Lauf ihrer Entwicklung verschiedenen abiotischen und biotischen Umwelteinflüssen ausgesetzt, denen sie aufgrund ihrer Immobilität nur durch Anpassung begegnen können. Tesche (1995) unterteilt diese Umweltfaktoren in chemische, physikalische und biologische Einflüsse. Klimatelemente wie Temperatur und UV-Strahlung sowie Bodenbeschaffenheit, z.B. Struktur und Nährstoffgehalt gehören zu den physikalischen Umweltfaktoren, dagegen werden Inhaltsstoffe von Boden und Luft wie Schwermetalle und Ozon zu den chemischen Umweltfaktoren gezählt. Physikalische und chemische Einflüsse sind abiotische Umwelteinflüsse, denen die Pflanzen ausgesetzt sind. Zu den biotischen Umweltfaktoren gehören ökologische Komponenten wie Mikroorganismen und deren Wirkung und / oder Interaktionen mit Pflanzen. Die Pflanzen haben ein komplexes und spezialisiertes Netzwerk zur Erfassung, Weiterleitung und Verarbeitung von Signalen ausgebildet, das ihnen die optimale Anpassung an den sich permanent ändernden Umwelteinflüssen ermöglicht. Führen die äußeren Einflüsse jedoch zur Beeinträchtigung des Stoffwechsels oder der Entwicklung der Pflanzen, wird der Zustand als Stress bezeichnet (Mohr & Schopfer 1992).



**ROS** = Fließgleichgewicht der ROS

Abbildung 1: Entstehung reaktiver Sauerstoffspezies in Pflanzenzellen während biotischem und abiotischem Stress (Mittler 2002), verändert. Chloroplasten grün; Peroxisomen blau; Mitochondrien braun; APX Ascorbat-Peroxidase; KAT Katalase; ROS Reaktive Sauerstoffspezies.

Nach Mehdy et al. (1996) reagieren Pflanzen auf Stress mit der Produktion von radikalen Sauerstoffspezies (reactive oxygen species, ROS), diese Art des Stresses wird auch oxidativer Stress bezeichnet. Dabei dienen ROS als Kontrollmoleküle, um Prozesse wie programmierten Zelltod, abiotische Stressantwort und Pathogenabwehr zu signalisieren. Mittler (2002) zeigt die unterschiedlichen Reaktionen innerhalb der Zellen auf biotischen und abiotischen Stress auf (Abbildung 1).

In Pflanzenzellen können auf verschiedene Arten ROS entstehen. Neben den Organellen wie Chloroplasten, Mitochondrien und Peroxisomen können auch Peroxidasen der Zellwände oder membrangebundene NADPH-Oxidasen Quellen reaktiver Sauerstoffspezies darstellen. Bei biotischem Stress kann nach Abwehr von Pathogeninfektion die Bildung des toxischen Sauerstoffradikals Superoxidradikal-Anion ( $*O_2^-$ ) in Abhängigkeit von NADPH erfolgen, wie von Doke (1985) an Kartoffeln gezeigt. Während die Aktivität des Enzyms der NADPH-Oxidase gesteigert wird, werden die Aktivitäten von Radikal-Entgiftungsenzymen wie Ascorbat-Peroxidase (APX) und Katalase (KAT) unterdrückt. Die reaktiven Sauerstoffspezies besitzen somit in Abwehrreaktionen gegen Pathogene zunächst antimikrobielle Eigenschaften (Mehdy et al. 1996). Abiotischer Stress hingegen steigert die Produktion der reaktiven Sauerstoffspezies in Chloroplasten und Mitochondrien (Mittler 2002). Im Fließgleichgewicht (steady state level) der ROS ist die Entstehung und Entgiftung reaktiver Sauerstoffspezies ausgeglichen. Bei biotischem Stress wird das Fließgleichgewicht durch APX und KAT in Richtung der ROS verschoben, bei abiotischem Stress wird durch APX und KAT ein Gleichgewicht der Sauerstoffderivate in den Zellen aufgebaut.

Sich ändernde Umweltbedingungen verlangen sowohl strukturelle als auch funktionelle Anpassungen der Pflanzenzellen an diese Bedingungen. In dieser Arbeit werden Reaktionen von Weizenpflanzen auf eine abiotische Blattfleckenkrankheit gezeigt. Neben makroskopisch sichtbaren Veränderungen werden enzymatische Anpassungen in Stresssituationen (Wu & Tiedemann 2002) und physiologischen Anpassungsmöglichkeiten des Photosynthese-Apparates (Strasser et al. 2004) als Messgrößen der Umweltbelastungen auf Pflanzen untersucht. Die Photosynthese wird mittels Chlorophyll-Fluoreszenz beschrieben, da es diese ermöglicht, Teilprozesse im Bereich des Elektronentransportes des Photosystems II in den Chloroplasten quantitativ zu erfassen. Früherkennungen von Pflanzenschäden durch Stress vor ersten sichtbaren Symptomausprägungen können somit aufgezeigt werden.

### 1.1. Physiologische Blattflecken

Seit einigen Jahren treten Blattflecken an Getreide auf, die keinem biotischen Schaderreger zugeordnet werden können. Als Ursache werden ungünstige Umwelt-Genotyp-Interaktionen vermutet, die nach dem Schossen zu unspezifischen, dunkelbraunen Nekrosen auf den oberen Blattetagen führen (Abbildung 31). Bei Wintergerste können diese nichtparasitären, abiotischen, oder auch als physiologische Blattflecken (physiological leaf spots; PLS) bezeichneten Symptome, zu drastisch verminderten Kornqualitäten und gravierenden Ertragseinbußen von bis zu 45% führen (Baumer et al.). Auf Weizenblättern treten PLS ohne Begrenzung punktförmig mit oder ohne chlorotischem Hof auf und / oder zeigen sich auf der Blattbeuge als großflächige nekrotische Blattverbräunungen. Der Fleckenbildung geht vermutlich eine sehr komplexe Schadensentwicklung voraus, da das Auftreten von PLS bzw. der Befall abhängig von Sorte und Witterung ist. Abiotisch verursachter Stress durch vorherrschende Wetterbedingungen oder Bodeneigenschaften führt zu einem Defizit oder Überschuss eines für die Pflanze wichtigen Faktors, dem die Pflanze durch Anpassung begegnen kann. Schafft es die Pflanze nicht, sich anzupassen, erleidet sie einen Schaden. Zahn (2005) vermutet als Hauptfaktor für PLS die Strahlung, da an lichtzugewandten Blättern die Schäden zuerst auftreten, während beschattete Blätter und Blattunterseiten schadfrei sind. Bei starkem Lichteinfall kann es unter Umständen zu oxidativem Stress in Pflanzenzellen kommen, wenn die durch erhöhte Lichtabsorption anfallenden Elektronen während der Photosynthese nicht vollständig umgesetzt werden können. Dadurch kommt es während des Photosyntheseprozesses zur Bildung toxischer Sauerstoffspezies, die zum Zelltod führen können, falls es zu unzureichender Entgiftung der Sauerstoffradikale durch antioxidativ wirkende Enzyme kommt. Wu & Tiedemann (2004) berichten, dass das Zusammenwirken verschiedener Stressfaktoren wie Ozon und hohe Lichtintensitäten zu oxidativem Stress führen. Über hierbei verursachte irreversible Membranschäden der Pflanzenzellen kommt es zum Zelltod und damit zur Ausbildung von unspezifischen Läsionen. Diese Membranschädigungen zählen zu den Hauptursachen der Entwicklung von PLS. Mikroskopische Aufnahmen an Gerste zur Entstehung nichtparasitärer Blattflecken führen auch bei Schnitzler et al. (1998) zu der Annahme, dass neben Strahlung Schadgase eine Rolle beim Absterben einzelner oder auch Gruppen von Blattzellen spielen.

Nach Wu & Tiedemann (2002) kann durch die Applikation von strobilurin- und azolhaltigen Fungiziden oxidativer Stress in Pflanzen reduziert werden, da die von den behandelten Pflanzen in geringen Mengen aufgenommenen Fungizidwirkstoffe das antioxidative Schutzsystem aktivieren und somit mehr pflanzentoxische Sauerstoffradikale entgiftet werden.

Zu den physiologischen Blattflecken werden auch Pollennekrosen gezählt, die ab Blühbeginn auf den oberen Blattetagen anzutreffen sind. Diese Blattflecken bilden sich dort auf dem Blatt, wo Wasser zusammenläuft und Pollen sich nach Ausschüttung anhäufen können.

## **1.2. Ziele dieser Arbeit**

Pflanzen reagieren mit einer Vielzahl von Antworten auf Stress. So zeigen sich physiologische Blattflecken im Getreide, deren Auslöser mit oxidativem Stress beschrieben wird (Kapitel 1.1.). Mit der Aufklärung (einiger) solcher Stress-Reaktionen beschäftigt sich diese Arbeit, wobei das Hauptziel war, Pflanzenstress anhand von Aktivitäten antioxidativ wirkender Enzyme und der Chlorophyll-a-Fluoreszenz zu charakterisieren. Experimentell wurden zum einen enzymatische Schutzmechanismen gegen oxidativen Stress sowie der Photosynthese-Apparat als Quelle reaktiver Sauerstoffspezies von Winterweizenpflanzen untersucht, die in Feldversuchen unter gegebenen Umweltbedingungen bei standortüblicher Versorgung geführt wurden. Zum anderen stand die Analyse von physiologischen und photosynthetischen Abläufen in der Pflanze als Reaktion auf das Schadgas Ozon und Stress durch UV-Strahlung im Mittelpunkt des Interesses, wobei diese Pflanzen im Gewächshaus kultiviert wurden.

In beiden Versuchsansätzen wurden zusätzlich Einflüsse von Fungiziden auf oxidativen Stress und auf das antioxidative Schutzsystem in pflanzlichen Geweben untersucht.

Bei der Aufklärung dieser Versuchsziele sollte vor allem die Chlorophyll-Fluoreszenz-Methode näher beschrieben werden.

### **Im Rahmen dieser Arbeit sollten folgende Fragen geklärt werden:**

1. Wie ist das Vorkommen und welche Bedeutung haben physiologische Blattflecken in Winterweizen?
2. Gibt es Sortenunterschiede in Bezug auf oxidativen Stress und die antioxidativen Schutzsysteme von Weizenpflanzen, die gleichen Bedingungen im Feld ausgesetzt sind?
3. Welchen Einfluss haben Fungizide auf die Ausbildung physiologischer Blattflecken, auf den Photosyntheseapparat und auf den Stressmetabolismus von Weizenpflanzen?

4. Welche Auswirkungen haben vorherrschende Umweltbedingungen und induzierter oxidativer Stress auf die Stressphysiologie von Weizenpflanzen?
5. Können die Aussagen der Chlorophyll-Fluoreszenzmessungen und Blattanalysen in Beziehung gesetzt werden?

### **1.3. Oxidativer Stress, Sauerstoffspezies und antioxidatives Schutzsystem pflanzlicher Zellen**

Die folgende Literaturübersicht beginnt mit der Definition von oxidativem Stress und gibt einen Überblick über Quellen und Wirkungen reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) in pflanzlichem Gewebe. ROS weisen eine Bi-Funktionalität im Pflanzengewebe auf, neben schützender Wirkung kann es auch zu Schädigungen durch ROS kommen. Pflanzenzellen haben verschiedene Schutzmechanismen gegen die toxischen Wirkungen der Sauerstoffspezies ausgebildet. Anschließend werden die für diese Arbeit wichtigen Entgiftungsmechanismen vorgestellt, dabei handelt es sich um unterschiedliche Enzymaktivitäten, die zum antioxidativen Schutzsystem der Pflanzen gehören.

#### **1.3.1. Oxidativer Stress in Pflanzen**

Oxidativer Stress wird definiert als Ungleichgewicht zwischen Erzeugung und Entgiftung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS). Zu den ROS zählen Superoxid-Radikal-Anionen ( $^{\bullet}\text{O}_2^-$ ), Wasserstoffperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), Hydroxylradikal ( $^{\bullet}\text{OH}$ ), Singulett-Sauerstoff ( $^1\text{O}_2$ ) und andere Peroxide (ROOH). Diese Sauerstoffderivate sind sehr reaktionsfreudig und entstehen als Nebenprodukte im üblichen Stoffwechsel verschiedener Zellorganellen. Bereits unter Normalbedingungen ist im Zellmilieu aufgrund der Präsenz von Sauerstoff nach Alscher et al. (1997) eine „stetige oxidative Bedrohung der zellulären Strukturen und Prozesse“ vorhanden. Oxidativer Stress ist für Pflanzen weder vermeidbar noch verzichtbar, allein der Prozess der Photosynthese führt zur Produktion von ROS (Zimmermann & Zentgraf 2004). Reaktive Sauerstoffspezies können zu unspezifischen Oxidationen von Biomolekülen wie Proteinen, Lipiden und DNA im lebenden Gewebe führen (Scandalios 1993), wobei diese Schäden wiederum zum Zelltod führen können (Mittler 2002). Unter Einfluss negativer Umwelteinflüsse (Stress) können ROS in verstärktem Maß gebildet und / oder mit verringerter Effizienz entsorgt werden, wobei biotischer Stress das ROS-Niveau in den Zellwänden steigert, abiotischer Stress hingegen im Zellinneren agiert (Alscher et al. 1997). Pflanzenzellen haben Abwehrmechanismen gegen diese ROS entwickelt, so dass Schäden

abgewendet werden können. Stressbedingungen allerdings führen zu erhöhter ROS-Bildung mit der Folge, dass die Abwehrmechanismen wie auch Zellschäden zunehmen (Blohhina et al. 2003).

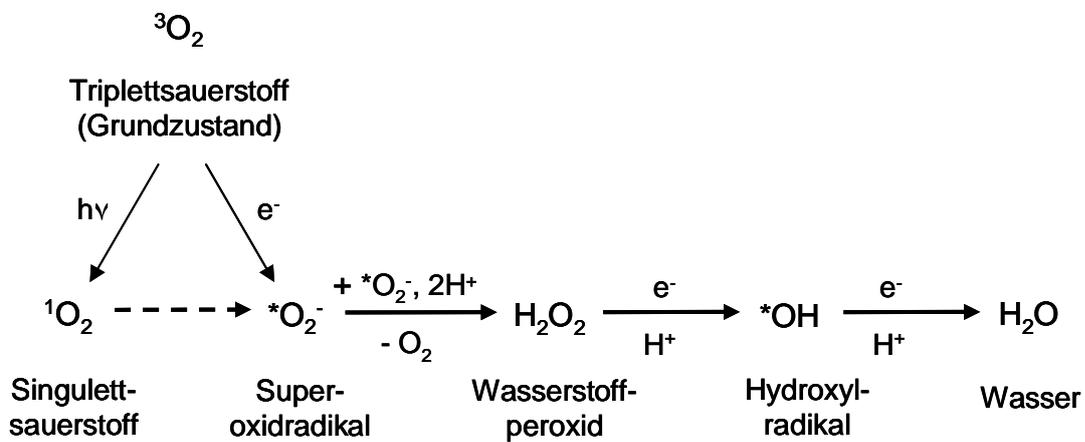
### 1.3.2. Quellen reaktiver Sauerstoffspezies

Die Entstehung von ROS ist vielfach beschrieben worden (Elstner 1990a, Foyer et al. 1994b, McKersie 1996, Fleschin et al. 2000, Mittler 2002). Die Pflanzenzelle bietet viele potentielle Quellen zur Bildung von reaktiven Sauerstoffderivaten, wobei selektiv die für diese Arbeit bedeutenden ROS-Quellen in Tabelle 1 dargestellt sind.

Tabelle 1: ROS-Erzeugung in Pflanzen nach Mittler (2002), verändert

ROS-Erzeugung	Zellkompartimente	ROS
Photosynthese, Elektronentransport, PS I und PS II	Chloroplasten	$^*O_2^-$
Atmung, Elektronentransport	Mitochondrien	$^*O_2^-$
Angeregtes Chlorophyll	Chloroplasten	$^1O_2$

Nach McKersie (1996) gibt es zwei unterschiedliche Mechanismen Sauerstoff in Pflanzenzellen zu aktivieren:



Formel 1: Aktivierung und Reduktion von Sauerstoff (Scandalios 1993, Klotz 2003)

- Eine Art der Sauerstoffaktivierung ist die Reduktion von Sauerstoff (Formel 1). In den photosynthetisch aktiven Geweben Palisadenparenchym, Schwammparenchym und Schließzellen ist die Sauerstoffkonzentration besonders hoch, daher sind diese Gewebe einer höheren Belastung durch oxidativen Stress ausgesetzt. „Normaler“ Sauerstoff liegt als Bi-Radikal im Tripletzustand ( $^3O_2$ ) vor und ist verhältnismäßig reaktionsträge. Die Sauerstoffaktivierung kann auf physikalischem und chemischem

Weg erfolgen (Elstner 1990b). Durch physikalischen Energietransfer kann das Sauerstoffmolekül in den reaktionsfreudigen Singulettzustand ( $^1\text{O}_2$ ) überführt werden. Bei der Entstehung von Singulett-Sauerstoff ( $^1\text{O}_2$ ) ändert sich lediglich die Spinrichtung im Sauerstoffmolekül von parallel zu antiparallel. Chemische Reduktionen des Sauerstoffs verändern die Elektronenanzahl, daher können drei weitere Sauerstoffspezies gebildet werden: Superoxid-Radikal-Anionen ( $^*\text{O}_2^-$ ), Wasserstoffperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) und Hydroxylradikale ( $^*\text{OH}$ ).

- Beim zweiten Wege der Sauerstoffaktivierung kommt es zur ROS-Bildung während verschiedener Stoffwechselvorgänge. Dabei können sie als Reaktionspartner dienen (z.B. Polymerisation von Lignin), oder aber als Folge von chemischem oder biologischem Stress bei Funktionsstörungen von Enzymen oder Elektronentransportsystemen gebildet werden (McKersie 1996).

Die im Rahmen dieser Arbeit wichtigen ROS-Quellen Chloroplasten, Mitochondrien, Fenton- und Haber-Weiss-Reaktion werden nun vertieft vorgestellt.

### **1.3.2.1. ROS-Bildung in Chloroplasten – Photosynthese und Elektronentransport**

Chloroplasten sind linsenförmige Zellorganellen grüner Pflanzen, die von einer Doppelmembran umgeben sind, wobei die innere Membran nach Innen ausgestülpt ist und ein System, das Thylakoid, als Stapel Grana genannt, bildet. Außerdem befindet sich im Innern der Chloroplasten das Stroma, eine wässrige, proteinreiche Flüssigkeit. Die Hauptaufgabe der Chloroplasten liegt in der Photosynthese.

Nach Zimmermann und Zentgraf (2004) sind Chloroplasten der Hauptort für die Entstehung reaktiver Sauerstoffspezies. Der photosynthetische Apparat ist in der Lage, die aufgeführten, beschriebenen Sauerstoffradikale zu produzieren (Foyer et al. 1994b). Die meisten Pflanzen nehmen mehr Lichtenergie auf, als umgesetzt werden kann (Zimmermann & Zentgraf 2004). So werden außerhalb der Elektronentransportkette alternative Elektronenakzeptoren benutzt wie molekularer Sauerstoff und Chlorophyllmoleküle, um überschüssige Elektronen oder Energie abzugeben.

Während der Photosynthese kommt es nach McKersie (1996) während des Elektronentransports in der Thylakoidmembran an unterschiedlichen Stellen zur Sauerstoffradikalbildung (Abbildung 2).

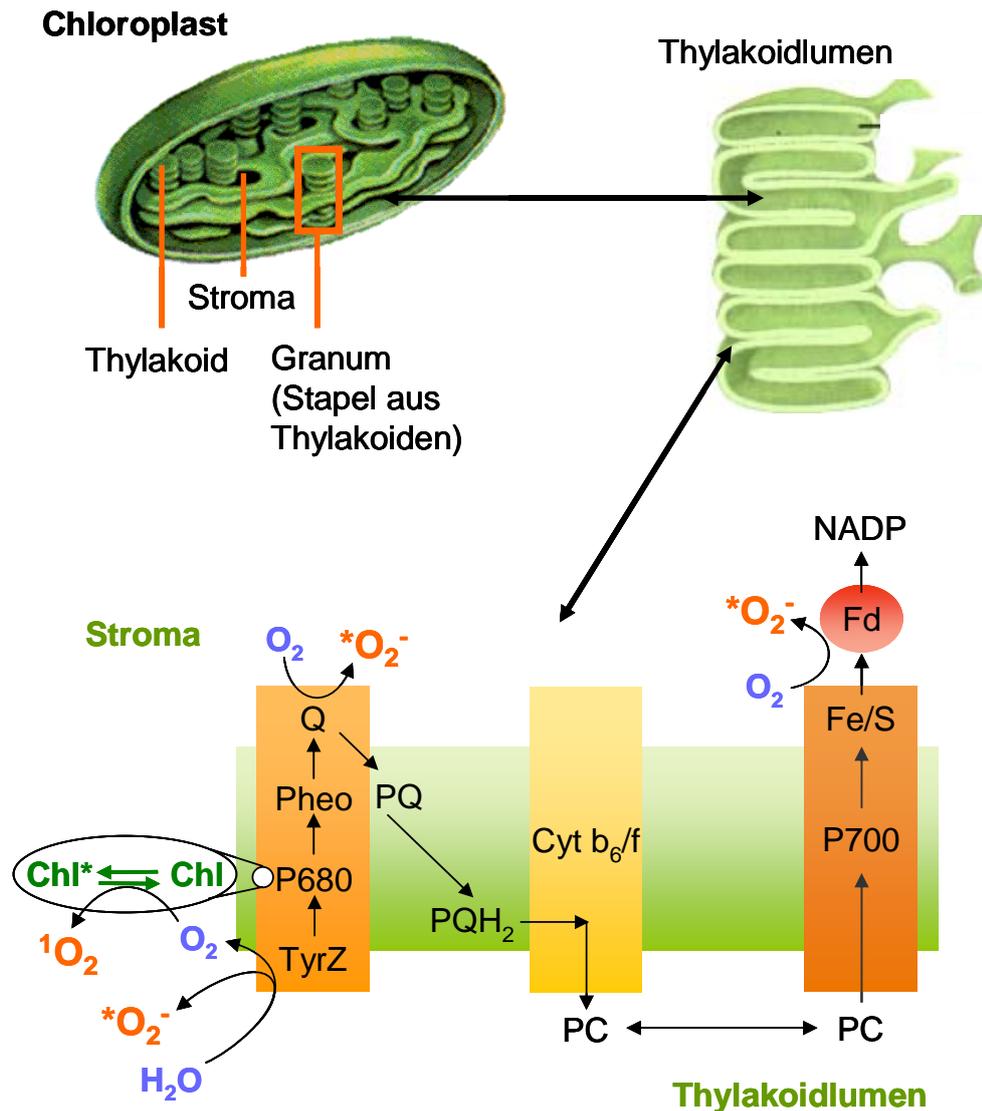


Abbildung 2: Elektronentransport während der Photosynthese in der Thylakoidmembran mit Sauerstoffradikalbildung nach McKersie (1996), verändert. Abkürzungen: Chl, Chlorophyll a; TyrZ, wasserspaltender Komplex und Elektronendonator von Chl a; Q, Quinon, PQ, Plastoquinon; Cyt  $b_6/f$ , Cytochrom- $b_6/f$ ; Fd, Ferredoxin; PC, Plastocyanin; Fe/S, Eisen-Schwefel-Protein; PS I, PS II, Photosysteme I und II. Erklärung siehe Text

### Chlorophyll - angeregtes Chlorophyll

In grünen Pflanzen läuft die Photosynthese in den Chloroplasten ab. Der erste Schritt der Photosynthese besteht in der Lichtabsorption durch Photorezeptormoleküle (Pigmente), die Strahlung definierter Wellenlängen absorbieren (Voet & Voet 1992, Richter 1998) und für einen photochemischen Prozeß nutzbar machen (Richter 1998). In zwei verschiedenen supramolekularen Reaktionskomplexen der Thylakoidmembran, Photosystem I und Photosystem II, wird absorbierte Strahlungsenergie wirksam. Diese Lichtsammelkomplexe

(LHC, auch Antennenkomplexe genannt) leiten die absorbierte Lichtenergie an die im Photosystem enthaltenen spezifischen Kernkomplexe, den Reaktionszentren (Holzwarth et al. 2006). Eine wichtige Gruppe photosynthetischer Pigmente bilden die Chlorophylle (Chl), die zusätzlich Bestandteil der Reaktionszentren der Photosysteme sind. Die Lichtabsorption bewirkt eine Elektronenanregung in Pigmentmolekülen wie Chlorophyll ( $\text{Chl}^*$ ) im LHC, aus dem reaktionsträgen Grundzustand (Singulett  $^0\text{S}$ ) geht das Antennenmolekül in den angeregten Zustand ( $^1\text{S}$ ) und nachfolgend in den sehr reaktiven Triplettzustand ( $^1\text{T}$ ) über (Whitmarsh & Govindjee). Ist die Nutzung der durch die photosynthetisch aktiven Pigmente absorbierten Energie allerdings verhindert oder vermindert, kann es zur ROS-Bildung kommen. Dabei können Chlorophyllmoleküle im Triplettzustand den sehr reaktiven Singulett-Sauerstoff ( $^1\text{O}_2$ ) bilden, indem Anregungsenergie auf molekularen Sauerstoff übertragen wird. Das angeregte Chlorophyllmolekül ( $\text{Chl}^*$ ) fällt nach Energieabgabe in den Grundzustand (Chl) zurück (Salin 1987).

### Wasserspaltender Enzymkomplex (OEC) - Wasseroxidation

Das PS II höherer Pflanzen besteht aus einem Chlorophyll-Protein-Komplex, der zur Wasserspaltung fähig ist. Das für die Wasseroxidation zuständige manganhaltige Enzym Tyrosin durchläuft während der Wasserspaltung fünf Redoxstufen, wobei vier Elektronen dem Komplex entzogen werden und dem angeregten Chlorophyll im Reaktionszentrum II (P680) zugeführt werden (Abbildung 3).

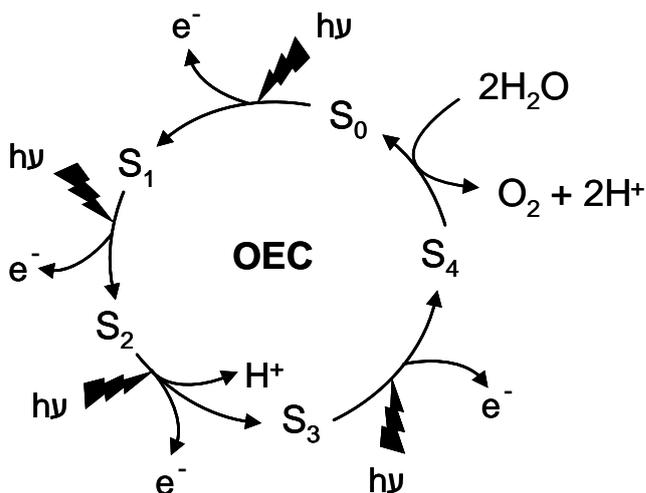


Abbildung 3: Schema der schrittweisen Oxidation des wasserspaltenden Enzymkomplexes (oxygen evolving complex; OEC).  $S_n$  zeigt im sog. Kok-Zyklus (Kok et al. 1970) die einzelnen Intermediate der fortschreitenden Oxidationszustände auf, wobei  $n$  die Werte 0 - 4 annimmt und somit die Anzahl der gespeicherten Oxidationsäquivalente im OEC wiedergibt.

Dabei wird der wasserspaltende Enzymkomplex durch die Absorption von vier Lichtquanten zunächst schrittweise oxidiert ( $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$  und  $S_4$ ), wobei der Komplex unter Wasserspaltung zum Sauerstoff vom oxidierten  $S_4$ -Zustand zurück in den Grundzustand  $S_0$  „klappt“ (Elstner 1990b, Elstner 1990a, Dismukes 2001, Mitani et al. 2003). Während dieser lichtinduzierten Oxidation (Joliot et al. 1969) werden vier Elektronen vom OEC (Oxygen Evolving Complex) abgegeben, die durch Wasserspaltung im letzten Schritt dem Prozess wieder zugeführt werden. Die von Elstner (1990a) aufgeführten Redoxstufen während der Wasseroxidation zeigen gebundene Sauerstoffspezies während der Elektronenlieferung ins angeregte Chlorophyll des Reaktionszentrums P680. Pazar berichtet, dass Hydroxylradikale ( $^*OH$ ) nach homolytischer Spaltung von Wasser durch ionisierende Strahlung auftreten können.

### Photosystem I - Mehler-Reaktion

Im Photosystem I kann die so genannte Mehler-Reaktion zur Reduktion von Sauerstoff führen (Asada 1999). Kommt es im zellulären Metabolismus zu ungenügenden Konzentrationen von Elektronenakzeptoren, kann es unter anderem durch Autoxidation (Reaktion einer Substanz mit Luftsauerstoff) von Substraten wie Ferredoxinen (Fd) im PS I zu einer Übertragung von einem Elektron auf ein Sauerstoffmolekül kommen, mit der Folge der Bildung des Superoxid-Anion-Radikals ( $^*O_2^-$ ).



Diese reduzierende Seite des PS I trägt vor allem unter begrenzten NADP-Bedingungen zur Bildung von Superoxidradikalen bei. NADP kann der auslösende Faktor sein, wenn der Calvin-Zyklus NADPH nicht in dem Maße oxidiert, wie das PS I Elektronen liefert (McKersie 1996).

### Entgiftungsreaktionen

Aus den bisher dargestellten Reaktionen zeigt sich, dass während des komplexen Ablaufs der Photosynthese die reaktiven Sauerstoffspezies  $^*O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $^*OH$  und  $^1O_2$  produziert werden.

Letztlich können auch Entgiftungsmechanismen der Pflanze dazu führen, dass weitere Radikale gebildet werden. So entsteht im Chloroplasten während der Photosynthese bei hohen Lichteinflüssen durch Elektronenübertragung auf  $O_2$ -Moleküle das sehr reaktive Superoxidradikal ( $^*O_2^-$ ). Dieses wird im weiteren Verlauf enzymatisch durch Superoxid-

Dismutase (SOD) entgiftet, es entsteht Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ). Im Chloroplastenstroma, im Cytosol und im Mitochondrium dient die Ascorbat-Glutathion-Redoxkette (auch Halliwell-Asada-Zyklus genannt; Abbildung 5) für den schadlosen Abbau von  $H_2O_2$  (Foyer et al. 1994a, Asada 1999) .

### **1.3.2.2. ROS-Bildung in Mitochondrien - Elektronentransport**

Eine weitere für diese Arbeit wichtige ROS-Quelle bildet der Elektronentransport während der Atmung in den Mitochondrien.

Mitochondrien sind Zellorganellen mit Doppelmembranen, von denen die inneren Membranen nach innen gestülpte Falten und Fächer bilden, Cristae genannt. Die Hauptfunktion des Mitochondriums ist es, im Rahmen der Zellatmung unter Sauerstoffverbrauch ATP, die universelle Energiewährung der Zelle, zu liefern. Die Radikalbildung während der mitochondrialen Atmungskette wird an dieser Stelle aufgezeigt, da eine Beeinflussung dieses Komplexes nach dem Einsatz von Strobilurin-Fungiziden zu erwarten ist, die in dieser Arbeit eingesetzt wurden.

Die Hauptquelle der mitochondrialen ROS-Produktion unter normalen metabolischen Bedingungen ist der Komplex III (Abbildung 4). Elektronen werden vom Komplex I und II auf das Ubiquinon (Coenzym Q) übertragen. Die reduzierte Form des Coenzym Q ( $QH_2$ , Ubiquinol) wird bei der Übertragung eines Elektrons auf Cytochrom-c zum instabilen Semiquinonanion ( $Q^{\cdot-}$ ).  $Q^{\cdot-}$  kann das Elektron auf molekularen Sauerstoff übertragen, es entsteht  $^{\cdot}O_2^-$ , welches im Zuge der enzymatischen Entgiftung durch SOD zu  $H_2O_2$  reduziert wird.

Beim Vergleich der toxischen Schädigungen der Radikale zeichnet sich das Hydroxylradikal ( $^{\cdot}OH$ ) durch seine ganz besonders hohe Reaktivität aus, da es mit fast allen organischen Verbindungen reagiert. Aufgrund des hohen schädigenden Potentials werden zwei weitere Möglichkeiten der Bildung dieses Radikals aufgeführt.

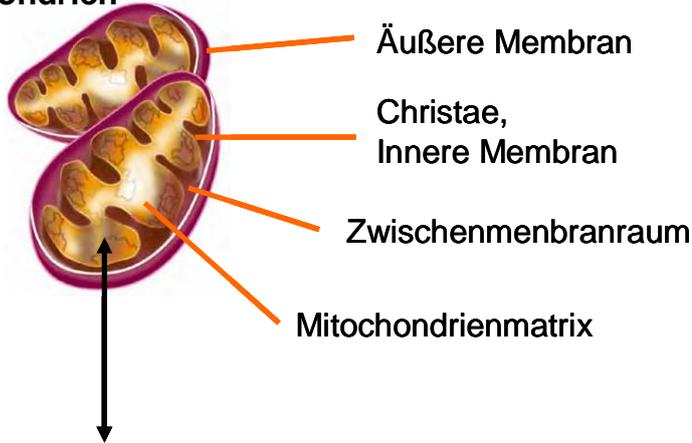
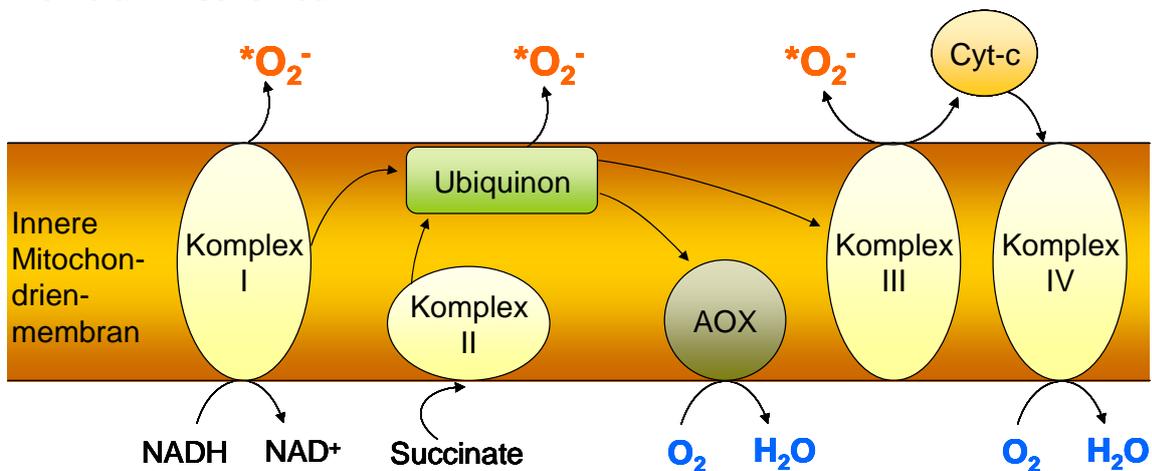
**Mitochondrien****Membranzwischenraum****Mitochondrienmatrix**

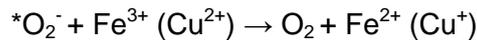
Abbildung 4: Bildung von mitochondrialen reaktiven Sauerstoffspezies während des Elektronentransportes nach Mittler (2002), verändert. Abkürzungen: AOX, Alternative Oxidase; Cyt-c, Cytochrom-c; Komplex I, NADH-Dehydrogenase; Komplex II, Succinat-Dehydrogenase; Komplex III, Cytochrom-Reduktase; Komplex IV, Cytochrom-Oxidase; Ubiquinon, Coenzym Q.

**1.3.2.3. Fenton-Reaktion und Haber-Weiss-Reaktion**

Die erste Reaktion zur Produktion des sehr toxischen Hydroxylradikal  $*OH$  ist die Einelektronenreduktion von  $H_2O_2$ , katalysiert durch Übergangsmetallionen wie Eisen, die als Chelate vorliegen (Fenton-Reaktion) (Blokchina et al. 2003).



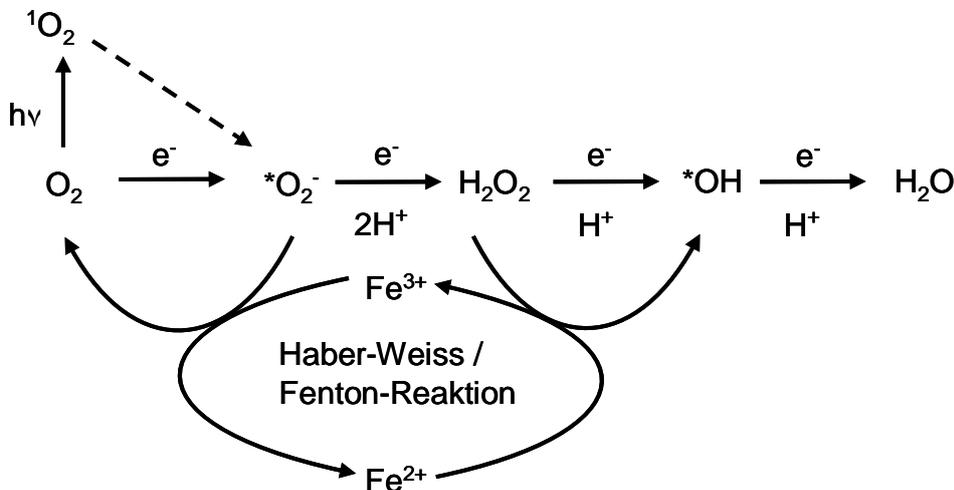
Die oxidierten Metallionen ( $\text{Fe}^{3+}$ ) werden durch  $^*\text{O}_2^-$  wieder zu  $\text{Fe}^{2+}$  reduziert.



Die Kombination der beiden Gleichungen ergibt die Haber-Weiss-Reaktion, die durch Eisen katalysiert wird (Elstner 1990a). Dieses ist die zweite Reaktion in der das sehr toxische Hydroxylradikal gebildet wird.



Eine zusammenfassende Aufstellung der gegenseitigen ROS-Umwandlungen mit dem Hervorheben der Hydroxylradikal-Bildung, abgeleitet vom molekularen Sauerstoff, liefern (Vranová et al. 2002):



Formel 2: Bildung reaktiver Sauerstoffspezies durch Aktivierung und Reduktion von Sauerstoff nach Vranová (2002), verändert

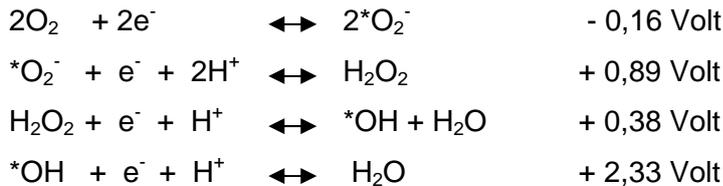
Neben den Darstellungen zur Entstehung von ROS soll im Folgenden auf die Schädigung der Pflanze durch erhöhte ROS und die Schutzwirkungen von ROS eingegangen werden.

### 1.3.3. Schädigungen und Schutzwirkungen der ROS

Reaktive Sauerstoffspezies besitzen neben schädigendem Potential für Zellbestandteile auch Signalfunktionen zum Schutz der Zellen (Dat et al. 2000, Grant & Loake 2000, Vranová et al. 2002). Die schädigende Wirkung der reaktiven Sauerstoffspezies auf pflanzliche Zellen ist auf deren Reaktivität zurückzuführen.

### 1.3.3.1. Schädwirkungen der ROS auf Pflanzen

Die Reaktivität der ROS wird anhand der Redoxpotentiale bestimmt. Die vier unten aufgeführten reaktiven Sauerstoffradikale besitzen unterschiedliche Redoxpotentiale. Je stärker elektropositiv das Redoxpotential einer Verbindung, umso größer ist die Tendenz, einen elektronegativen Reaktionspartner zu oxidieren (und umgekehrt), und desto stärker ist die Reaktivität. Folgende Redoxpotentiale gelten für folgende aktivierte Sauerstoffverbindungen (Elstner 1990b, Elstner 1990a, Asada 1999):



Das durch univalente Reduktion von Sauerstoff erzeugte Superoxid-Anion-Radikal ( $^*\text{O}_2^-$ ) ist wenig reaktiv. Das schädigende Potential dieses Radikals wird der Reduktion von Übergangsmetallen zugeschrieben, so dass vor allem Phenole, Chinone und Hämproteine durch  $^*\text{O}_2^-$  geschädigt werden.

Bei der Reduktion von Peroxiden durch  $^*\text{O}_2^-$  entsteht  $^*\text{OH}$ , das stärkste in der Biologie bekannte Oxidans.  $^*\text{OH}$  reagiert sofort nach der Bildung mit Molekülen in unmittelbarer Umgebung des Entstehungsortes (Sutherland 1991). Spezifische Abwehrmechanismen sind folglich ineffizient, nur eine Verhinderung der Bildung von  $^*\text{OH}$  kann das Risiko unkontrollierter oxidativer Schäden vermindern.

$\text{H}_2\text{O}_2$  ist membranpermeabel, wirkt cytotoxisch und hat die längste Halbwertszeit aller ROS, so dass es als schwaches Oxidationsmittel eingestuft wird. Neben der Oxidation von Thiolgruppen in Proteinen bzw. reduziertem Glutathion ist es auch zur direkten Reaktion von Ketonen befähigt. Obgleich  $\text{H}_2\text{O}_2$  nicht sehr reaktiv ist, muss es entgiftet werden, da sonst mit reduzierten Metallionen ( $\text{Fe}^{2+}$ ) über die Fenton-Reaktion  $^*\text{OH}$  gebildet werden können (Grant & Loake 2000).

$^1\text{O}_2$  reagiert mit Additionsreaktionen auf konjugierte Doppelbindungen, Alkenen und Dienen in Biomolekülen, wie sie z.B. in ungesättigten Fettsäuren vorkommen. Dieser Singulett-Sauerstoff gilt als Initiator der Lipidperoxidation.

### **1.3.3.2. Schutzwirkungen**

Neben den schädigenden Wirkungen gibt es Signalwirkungen der ROS (Dat et al. 2000) zum Schutz der Pflanze vor Pathogen-Infektionen (Baker & Orlandi 1995, Chamnongpol et al. 1998) wie auch nach Ozon- oder Starklichtbehandlung. Das Signal zur pflanzlichen Abwehr liefert im so genannten „oxidativen Burst“ eine massive Akkumulation von reaktiven Sauerstoffspezies. Bei Pathogenbefall können die ROS direkt toxisch gegenüber pilzlichen als auch bakteriellen Pathogenen wirken, sowie katalytische Funktionen bei der Vernetzung von Zellwandproteinen und phenolischen Verbindungen der Zellwand ausüben (Rad v. et al. 2003). Die Verstärkung der Zellwand in Folge der Vernetzungsreaktionen führt zu einer erhöhten Resistenz gegenüber den von Pathogenen generierten zellwandabbauenden Enzymen. Der oxidative Burst steht in engem Zusammenhang mit der hypersensitiven Reaktion (HR) (Voegelé). Bei dieser Abwehrreaktion kommt es direkt am Infektionsort zu lokal begrenztem Absterben pflanzlicher Zellen (hypersensitiver Zelltod), dadurch wird die weitere Ausbreitung des Pathogens in unbefallenes Gewebe verhindert. Zelltod im Verbund ist makroskopisch sichtbar als Nekrose.

Für Pflanzen stellt die Bi-Funktionalität der ROS einen Balanceakt dar, denn einerseits muss durch das Einschalten von Entgiftungsmechanismen der schädigenden ROS-Wirkung entgegengewirkt werden, andererseits darf die Induktion von Signalsequenzen durch ROS nicht zu früh gestoppt werden (Bräuning 2002).

### **1.3.4. Antioxidativer Schutz, Abwehrmechanismen der Pflanzen**

Die Entstehung von ROS im aeroben Stoffwechsel ist unvermeidlich. Zum Schutz vor deren bereits aufgeführten toxischen Wirkungen haben aerob lebende Zellen vielfältige Mechanismen zur Deaktivierung der ROS entwickelt. Dabei kann die ROS-Entgiftung sowohl auf enzymatischem als auch auf nicht-enzymatischem Wege erfolgen. Für die in der Arbeit verwendeten Methoden sind die enzymatischen Entgiftungen reaktiver Sauerstoffspezies von besonderer Bedeutung.

#### **1.3.4.1. Enzymatische Entgiftung von reaktiven Sauerstoffspezies**

Unter normalen Bedingungen kommt es zu einem Gleichgewicht zwischen der Bildung reaktiver Sauerstoffspezies und deren Entgiftung durch Enzyme wie z.B. Superoxid-Dismutasen (SOD), Ascorbat-Peroxidasen (APX), Peroxidasen (POX) und Katalasen (KAT).

Aufgrund ihrer Funktionen werden die Enzyme auch als Antioxidantien bezeichnet. Oxidativer Stress entsteht immer nur dann, wenn die ROS-Generierung die Kapazität der Antioxidantien übersteigt.

Eine Zusammenstellung der an der ROS-Entgiftung in Pflanzen beteiligten Enzyme nach Fleschin et al. (2000) wird bei Mittler (2002) mit den Zellkompartimenten aufgezeigt, in denen die Deaktivierung der Sauerstoffspezies stattfindet. Tabelle 2 zeigt eine Aufstellung der für die Arbeit relevanten antioxidativen Enzyme.

Tabelle 2: Enzymatische ROS-Entgiftung in Pflanzen nach Alscher et al. (2002) und Mittler (2002), verändert

Enzymatische ROS-Entgiftung	Zellkompartimente	ROS
Superoxid-Dismutase (SOD)  Cu-ZnSOD FeSOD MnSOD	Chloroplasten, Cytosol, Peroxisomen Chloroplasten Mitochondrien, Peroxisomen	*O <sub>2</sub> <sup>-</sup>
Ascorbat-Peroxidase (APX)	Chloroplasten, Cytosol, Mitochondrien, Peroxisomen, Apoplast	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Katalase (KAT)	Peroxisomen	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Peroxidasen (POX)	Zellwand, Cytosol, Vakuole	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>

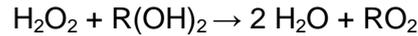
Von den Superoxid-Dismutasen existieren drei Isoenzyme, die sich durch den metallischen Co-Faktor im aktiven Zentrum unterscheiden (Alscher et al. 2002): Kupfer- und Zinkionen (Cu-ZnSOD), Eisenionen (FeSOD) oder Manganionen (MnSOD). Superoxid-Dismutasen beschleunigen die Disproportionierung des Superoxidanions in Wasserstoffperoxid und Sauerstoff.



Die Akkumulation von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> muss verhindert werden, da es zusammen mit dem \*O<sub>2</sub><sup>-</sup> zur Entstehung der extrem reaktiven Hydroxylradikale (\*OH) führen kann (Kapitel 1.2.2.3.). Das entstandene H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kann durch KAT bzw. POX abgefangen werden.



Peroxidase (POX)



In den Chloroplasten sind Peroxidasen für die Entgiftung von Wasserstoffperoxid von besonderer Bedeutung, in den Peroxisomen hingegen übernimmt Katalase den Abbau vom schädlichen  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Willekens et al. 1997). Die in dieser Arbeit untersuchten Guaiacol-Peroxidasen entgiften Wasserstoffperoxid, welches vorrangig als Substrat dient, z.B. bei der Biosynthese von Lignin und Ethylen oder beim Abbau von Indolelessigsäure (Asada 1992).

Fleschin et al. (2000) führen ferner noch eine NADPH abhängige Abwehr von Sauerstoffradikalen auf. Nach Keetmann (2000) trägt der erhöhte Bedarf an NADPH bei der ROS-Entgiftung dazu bei, die Komponenten der Elektronentransportkette der Photosysteme länger oxidiert zu halten, so dass die Wahrscheinlichkeit einer anhaltenden Radikalbildung aufgrund von Elektronenstau verringert wird.

Gechev et al. (2002) führen Stresstoleranz auf ein erhöhtes antioxidatives Potential zurück, das über vermehrte Expression oder gesteigerte Aktivität antioxidativ wirkender Enzyme erklärt werden kann. Induzierte Stresstoleranz wird dabei in Abhängigkeit der angewandten Dosis von Wasserstoffperoxid beschrieben. Außerdem wird in diesem Zusammenhang gezeigt, dass ein Konzentrationsanstieg von  $\text{H}_2\text{O}_2$  zu einer dosisabhängigen Steigerung der cytosolischen APX-Expression führt (Morita et al. 1999, Gechev et al. 2002).

#### **1.3.4.2. Nichtenzymatische Entgiftung von reaktiven Sauerstoffspezies**

Neben den enzymatischen Antioxidantien gibt es auch nichtenzymatische Substanzen, die antioxidativ wirken. Eine ausführliche Beschreibung der nichtenzymatischen Entgiftung liefern Mittler (2002) und Fleschin et al. (2000).

Für diese Arbeit wichtig ist der Prozess des ungefährlichen Abführens der angestauten Energie von Triplett-Zuständen der Pigmente. Xanthophylle sind aufgrund ihrer Molekülstruktur zu strahlungsloser Energiedissipation in Form von Wärme fähig. Dieser Prozess ist auch als Auslöschchen (Quenching) der angeregten Zustände bekannt. Singulett-Sauerstoff ( $^1\text{O}_2$ ), der mit Carotinoiden und  $\alpha$ -Tocopherol reagiert, wird auf diese Weise deaktiviert.

## 1.4. Stressfaktoren

In der vorliegenden Arbeit werden die Stressfaktoren Ozon und UV-B-Strahlung in ihrer Wirkung auf pflanzliches Gewebe beschrieben, da diese zusätzlich oxidativen Stress in der Pflanze auslösen können, bzw. auf ein Maß heben können, das Pflanzenzellen geschädigt werden.

### 1.4.1. Ozon als pflanzlicher Schadstoff

Ozon wird über die Spaltöffnungen der Blattorgane passiv aufgenommen. Nach dem Eintritt gelangt das Gas in die substomatäre Höhle und in den Bereich des Schwammparenchyms. In der wässrigen Phase der Zellwände kann sich Ozon mit Sauerstoffspezies verbinden, so wird z.B. das in der Haber-Weiss-Reaktion entstandene Hydroxylanion ( $\text{OH}^-$ ) mit Ozon zum Hydroxylradikal ( $\text{HO}_2^\cdot$ ) umgesetzt, aus dem das Superoxidradikal ( $^*\text{O}_2^-$ ) entsteht (Rao et al. 2000):



Zelluläre Membranen sind erstes Ziel und Hauptangriffsorte des Luftschadstoffes Ozon, dabei sind Membranmoleküle wie Lipide (Membranschädigung) und Pigmente (Photosynthesehemmung), die C=C-Doppelbindungen enthalten, Hauptangriffspunkte des Schadgases.

Schädigungen der Biomembranen durch Ozonolyse (Addition von Ozon an eine Doppelbindung) führen einerseits zur Bildung von Wasserstoffperoxid  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Rao et al. 2000), aber auch zu Änderungen der Membranpermeabilität der Zellen (Nouchi 1993, Tiedemann & Pfähler 1994). Es folgen Störungen des Ionengleichgewichts, welche charakteristisch für anfänglichen Blattschaden sind. Die Reaktion von Ozon mit den besonders anfälligen ungesättigten Fettsäuren der Membranlipide führt zu Ketonen und den sogenannten „Criegee-Zwitterionen“.



Bei der Addition von Säuren, Wasser und Alkoholen mit den Ozonolyseprodukten entstehen Peroxide, die Bindungen zwischen den Fettsäureresten herbeiführen. Es kommt zu Funktionsverlust der Biomembranen durch mangelnde Fluidität.

Der in Abbildung 5 aufgeführte Kreislauf zur Entgiftung von Ozon nach Smidt (2004) zeigt gleichzeitig die Entstehung toxischer Sauerstoffradikale auf.

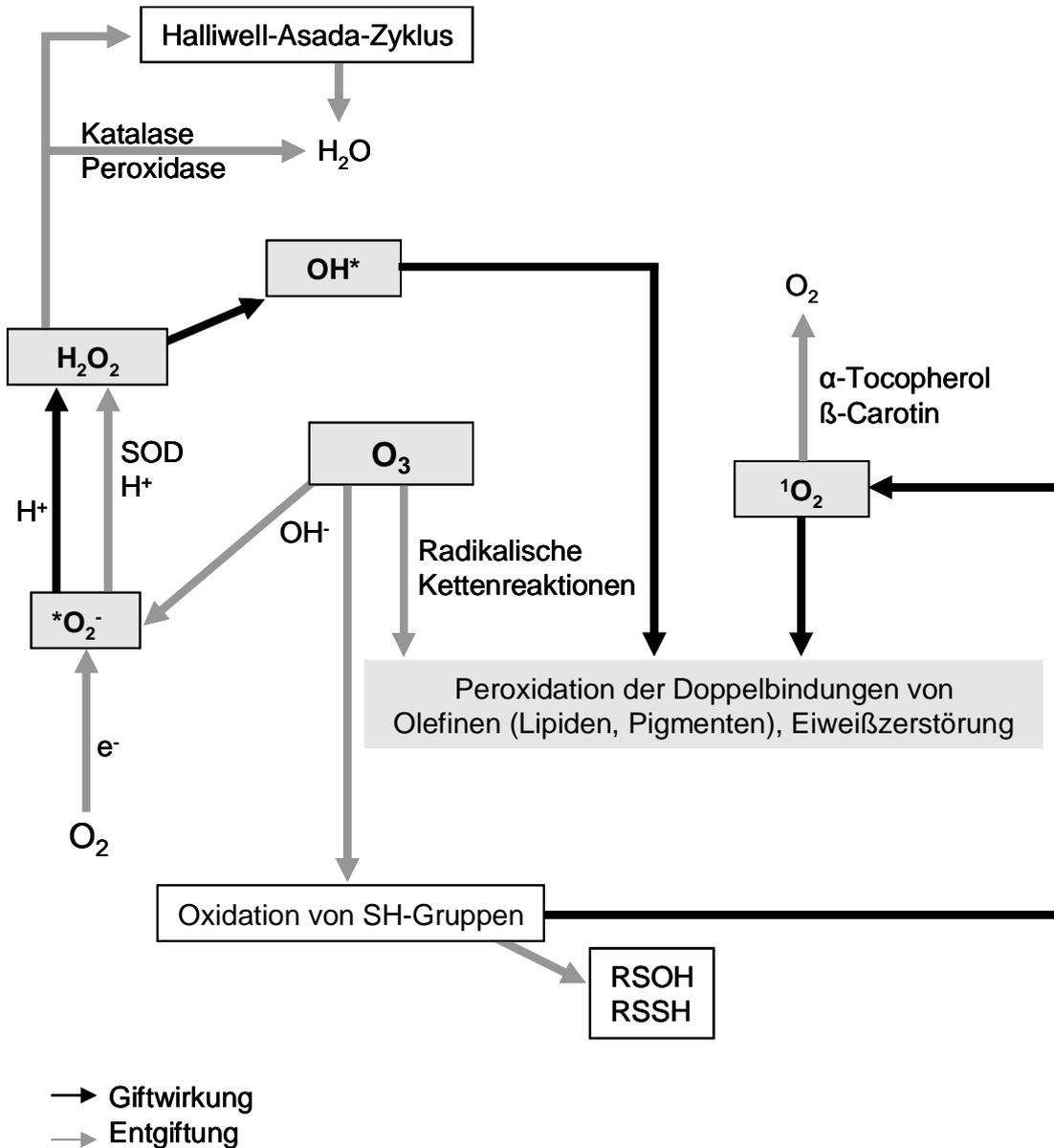


Abbildung 5: Entgiftung von Ozon nach Smidt (2004), verändert. Abkürzungen: SH, RSOH, RSSH, unterschiedliche Enzyme mit verschiedenen Schwefelrestgruppen;  $e^-$ , Elektron;  $O_2$ , Sauerstoff;  $^*O_2^-$  Superoxidradikal;  $H^+$ , Wasserstoff;  $OH^-$ , Hydroxyl; SOD; Superoxid-Dismutase;  $H_2O_2$ , Wasserstoffperoxid;  $OH^*$ , Hydroxylradikal;  $O_3$ , Ozon;  $^1O_2$ , Singulett-Sauerstoff

Ozon wird durch die Oxidation olefinischer Doppelbindungen der Biomembranen abgebaut, ehe es das Cytosol oder die Chloroplasten erreicht. Etwa 80 % des Ozons werden auf diesem Wege im Blatt entgiftet. Außerdem kann Ozon Schwefelwasserstoffgruppen (SH-Gruppen) von Enzymen oxidieren. Bei auftretenden Störungen oder Ungleichgewichten, die durch Ozoneinfluss entstehen können, aktiviert die Pflanze ihr antioxidatives Abwehrsystem.

Es kommt zum Anstieg verschiedener Enzymaktivitäten wie SOD und APX, die die gebildeten Sauerstoffspezies entgiften.

Die Änderungen des Stoffwechsels unter erhöhten Ozonwerten sind auch an gesteigerter Atmung, Verminderung von Reservestoffen und reduzierter Photosyntheseleistung messbar (Smidt 2004). Konzentrationen von Luftschadstoffen, die zu Pflanzenschäden führen, werden als Schwellenwerte oder „critical levels“ bezeichnet. Als Ozon-Grenzwert dient der AOT 40 Wert (accumulated exposure over a threshold of 40 ppb), der von der Europäischen Union erstellt wurde (Fuhrer et al. 1997). AOT 40 bedeutet die kumulative Ozondosis oberhalb des Schwellenwertes von 40 ppb. Dabei liegt der Schwellenwert zum Schutz der Vegetation bei  $65 \mu\text{g}/\text{m}^3$  als Mittelwert aus 24 h, bzw. bei  $200 \mu\text{g}/\text{m}^3$  als max. Stundenmittelwert. Das bedeutet, die Stundenmittelwerte oberhalb der Schwelle von 40 ppb werden addiert und dürfen über die Vegetationsperiode von 3 Monaten den Wert von 3000 ppbh nicht überschreiten. Der Umrechnungsfaktor  $F$  ( $\mu\text{g}/\text{m}^3 * F = \text{ppb}$ ;  $20^\circ\text{C}$ ) für den Luftschadstoff Ozon beträgt  $1 \mu\text{g}/\text{m}^3 = 0,51 \text{ ppb}$  (Smidt 2004).

Die für Versuchszwecke in dieser Arbeit angewandten Ozonkonzentrationen in Gewächshausversuchen führen nicht zu makroskopisch sichtbaren Schäden wie die in Abbildung 6 dargestellten Wasserflecken (water logging), wässrig hellgrüne Läsionen an Blättern, die sich später in Nekrosen umwandeln (Tiedemann 1993, Elstner & Hippeli 1995).



Abbildung 6: Schädigungen der Pflanzen durch Ozon führen zum Auftreten von Wasserflecken in Blättern (water logging, links), die zu Nekrosenbildung führen (rechts).

### 1.4.2. UV-B-Strahlung

Für Pflanzen hat die UV-B-Strahlung im Wellenlängenbereich von 280 nm bis 320 nm, die aufgrund der Abnahme des stratosphärischen Ozons zunimmt, eine Reihe negativer

Wirkungen (Foyer et al. 1994b, Smidt 2004). Es kommt zur Chlorophyllzerstörung, die Photosyntheseaktivität nimmt ab, Disulfidbrücken in Proteinen können gespalten werden und eine erhöhte DNA-Reparaturaktivität durch eine, bei zu starker Belastung, fehlerhafte Transkription und Bildung von Thymin-Dimeren innerhalb eines DNA-Stranges oder zwischen den beiden DNA-Strängen sind die Folgen. Von Wu & Tiedemann (2004) durchgeführte Lichtversuche an Gerste bei verschiedenen Wellenlängen zeigten, dass PLS-Flecken vermehrt unter dem blauen Lichtspektrum auftraten.

Pflanzliche Mechanismen, die verhindern, dass überschüssige Lichtenergie aktivierte Sauerstoffverbindungen bildet, zählen neben der thermischen Deaktivierung von angeregter Energie die Chlorophyllfluoreszenz (Golombek 2003). Wird einem Molekül (Chlorophyll) Energie in Form von elektromagnetischer Strahlung zugeführt, so wird diese Energie im Molekül transformiert. UV-Licht und sichtbares Licht führen dazu, dass Elektronen aus ihren Orbitalen herausgelöst und in leere, unbesetzte Orbitale mit höherem Energiegehalt gehoben werden (Jablonski-Diagramm siehe (Anonymus, Testa, Elstner 1990b)). Dieser angeregte Zustand ist energetisch jedoch sehr ungünstig und instabil, das Elektron fällt wieder in sein ursprüngliches Orbital zurück und die Energie wird als Wärme oder als langwellige elektromagnetische Strahlung frei. Die Erscheinung der freiwerdenden elektromagnetischen Strahlung, die im sichtbaren Bereich des Lichtspektrums liegt, wird als Fluoreszenz bezeichnet (Weiss). Die Fluoreszenz wie auch die thermische Entwertung der Energie tragen dazu bei, dass bei lichtgesättigter Photosynthese weniger schädliche Sauerstoffverbindungen entstehen (Golombek 2003). Eine weitere pflanzliche Schutzfunktion gegenüber exzessivem Licht wird den Carotinoiden zugesprochen. Doege (1999) spricht von einer enormen Bedeutung der Carotinoide für die Photosynthese beim Schutz vor Photooxidation der Thylakoidmembran und insbesondere der Reaktionszentren. Anregungsenergie des Chlorophylls wird dabei auf Carotinoide anstatt in die Photochemie übertragen, die angeregten Carotinoide wiederum geben diese Anregungsenergie als Wärmestrahlung ab. Zusätzlich ist die Anreicherung bestimmter Carotinoide wie Zeaxanthin in der lipiden Phase der Thylakoidmembran zu nennen, die unter anderem zu einer Abnahme der Membranfluidität und zu einer Reduzierung der Lipidperoxidation führen kann (Doege 1999). Versuche an Algen zeigen allerdings, dass schon niedrige Intensitäten der UV-B-Strahlung zu Störungen der Starklichtregulation führen (Richter). Letztlich hat die Pflanze die Möglichkeit als Schutz vor kurzweiligem Licht die Blattmorphologie und Blattanatomie zu verändern (Jungblut 1995).

## 1.5. Fungizide

Wu & Tiedemann (2002) zeigen in Fungizidversuchen an Sommergerste unter Ozonstress, dass Fungiziden ein Einfluss auf die Stressphysiologie der Pflanzen zuzusprechen ist. Diese so genannten nichtfungiziden oder sekundären Wirkungen sind bedeutend für die Ausbildung physiologischer Blattflecken von Getreidepflanzen.

Die in dieser Arbeit in Feldversuchen eingesetzten Fungizide Jewel Top und Opera sind Mischpräparate, welche aus den Wirkstoffen Epoxiconazol (125 g/l), Kresoxim-Methyl (125 g/l) und Fenpropimorph (150 g/l) bzw. Epoxiconazol (50 g/l) und Pyraclostrobin (133 g/l) zusammengesetzt sind.

Das eingesetzte drei Komponenten-Fungizid Jewel Top zeigt quasi-systemisches Eigenschaften, d.h. gleichmäßige Nachlieferung des Wirkstoffs in die Pflanze über einen längeren Zeitraum, und systemisches Wirkstoffverhalten, d.h. Wirkstoffe werden in die Pflanze aufgenommen und dort verlagert (Oerke & Steiner 2003). In der Suspension liegt Epoxiconazol als fester Wirkstoff und in Fenpropimorph gelöst vor. Gelöstes Epoxiconazol wird sehr schnell von den Blättern aufgenommen, und vom Applikationsort bis hin zu den Blattspitzen verlagert, wobei Fenpropimorph die Aufnahme in die Pflanze aktiv unterstützt. Kresoxim-Methyl wie auch die festen Wirkstoffpartikel von Epoxiconazol bleiben nach dem Antrocknen der Spritzbrühe auf dem Blatt haften und geben über einen langen Zeitraum hinweg nach und nach Aktivsubstanzen an die Pflanze ab. Von Kresoxim-Methyl selbst wird nur ein relativ geringer Anteil durch die Spaltöffnungen in die Pflanze aufgenommen, der Großteil verteilt sich in der windstillen Luftschicht rund um die gesamte Pflanze. Im Weizen ist Jewel Top mit protektiver (vorbeugend) und kurativer (nach erfolgter Infektion) Wirkung zur Bekämpfung von pilzlichen Schaderregern wie Echter Mehltau, Halmbruch, Septoria, DTR, Roste und Fusarium zugelassen.

Opera zeigt an Gerstenpflanzen Wirkungen, die über die erfolgreiche Bekämpfung von Pilzkrankheiten wie echter Mehltau, Rhynchosporium-Blattflecken, Netzflecken und Zwergrost hinausgehen, da auch gegen unspezifische Blattverbräunungen wie physiologische Blattflecken, Wirkungen erzielt werden. Nach Baumer et al. sind es vor allem Fungizide mit Azolkomponenten, die bei termingerechter Applikation den Schaden von PLS mindern. Laut Produktbeschreibung von Opera aktiviert dieses Mischpräparat das enzymatische Schutzsystem der Pflanze mit Folge der erhöhten Stresstoleranz gegenüber Umwelteinflüssen. Opera zeigt protektive wie auch kurative Wirkungen. Der im Präparat enthaltene lipophile Wirkstoff Pyraclostrobin bildet auf der Blattoberfläche Wirkstoffdepots, aus denen sich der Wirkstoff auf der Blattoberfläche verteilt und das Blatt durchdringt. Das sofortige und andauernde Wirkungsverhalten von Epoxiconazol in Opera entspricht dem von

Juwel Top. Im Weizen wird das Mischpräparat Opera gegen DTR-Blattdürre, Roste und Septoria-Arten eingesetzt.

Fungizide werden aufgrund ihrer unterschiedlichen Wirkungsweisen in Pilzen in verschiedene Gruppen eingeteilt (Heitefuß 2000). In Gewächshausversuchen wurden die Einzelkomponenten der beiden im Feldversuch eingesetzten Kombipräparate untersucht. Epoxiconazol gehört zu der Fungizid-Wirkstoffgruppe der Triazole, wobei diese der Gruppe der Demethylierungs-Inhibitor-Fungiziden (DMI-Fungizid) angehören. Die Wirkstoffe Pyraclostobin und Kresoxim-Methyl hingegen gehören zu der Wirkstoffgruppe der Strobilurine, die zu den QoI-Fungiziden (Quinon-Outside-Inhibitor, äußerer Quinon-Inhibitor) gezählt werden. Der im Juwel Top befindliche Wirkstoff Fenpropimorph der Wirkstoffgruppe Morpholine wurde nicht näher untersucht, Verhalten und Wirkungsweise dieses Fungizidgruppe sind von Müller (1986) beschrieben.

### 1.5.1. Triazole

Die zu den DMI-Fungiziden (Demethylierungs-Inhibitor) gehörende Wirkstoffgruppe Triazole, zu dem der getestete Wirkstoff Epoxiconazol gehört, hemmen in Pilzen die von Lanosterol ausgehende Ergosterol-Biosynthese, indem das C14-demethylierende Enzym blockiert wird (Wassmann 2002). Ergosterol ist ein essentieller Bestandteil der Pilzzellmembran. Eine Akkumulation von Lanosterol führt zu Wachstumshemmungen.

Ein Einfluß von Triazolfungiziden auf pflanzliches Gewebe (auch nichtfungizide, physiologische oder sekundäre Nebenwirkungen genannt) wurde von Gerhard (2001) beschrieben. Der pflanzliche Wuchsstoffhaushalt entspricht dem im pilzlichen Pathogen. Der Einfluß der Wirkstoffe vom Triazoltyp auf den Hormonhaushalt der Pflanzen wird sehr ausführlich von Siefert & Grossmann (1996) beschrieben, eine Übersicht über nichtfungizide Wirkungen von Triazolverbindungen zeigt Gerhard (2001).

Die Wirkung der Triazole auf die Konzentration der Abscisinsäure ist für diese Arbeit hervorzuheben. Die Öffnung der Stomata wird anhand des Gehaltes an Abscisinsäure reguliert. Triazole können die Konzentration der Abscisinsäure vorübergehend erhöhen, es kommt zum Verschluss der Stomata mit zwangsläufiger Reduktion der Transpiration. Das Verschließen der Blattstomata führt auch zum verminderten Einlass von Schadgasen wie Ozon sowie zu einer erhöhten Stresstoleranz gegenüber Trockenheit, Hitze und Kälte. Langzeiteffekte von Triazolen in pflanzlichen Geweben hingegen zeigen eine Konzentrationsabnahme der Abscisinsäure, so dass es zu entgegengesetzten Effekten kommt.

Des Weiteren greifen Triazolwirkstoffe hemmend in die Biosynthese des Ethylens ein (Siefert & Grossmann 1995), an die die Biosynthese der Polyamine gekoppelt ist. Polyamine werden bei blockierter Ethylenbiosynthese vermehrt gebildet, denen u.a. die Fähigkeit der Membranstabilisation und der Antioxidantienwirkung zugesprochen wird, um z.B. Ozonschäden vorzubeugen. Reduzierte Ethylenkonzentrationen im Gewebe führen außerdem zur Erhöhung von Cytokininkonzentrationen. Das Seneszenz verzögernde Hormon Cytokinin fördert in zunehmenden Konzentrationen die Chlorophyllbiosynthese.

Triazolapplikationen führen auch zu intensivierter, grüner Blattpigmentierung, die aufgrund einer erhöhten Anzahl von Parenchymzellen und damit einer gesteigerten Chloroplastenkonzentration pro Blattflächeneinheit erklärt wird.

Letztlich weisen Siefert & Grossmann (1996) auf eine stimulierende Wirkung von antioxidativ wirksamen Substanzen (z.B. Tocopherol) und antioxidativ wirkenden Schutzenzymen (SOD, POX und KAT) hin. Eine Bestätigung der letzten Aussage liefern Wu & Tiedemann (2002) in Fungizidversuchen an Sommergerste unter Ozonstress.

### **1.5.2. Strobilurine**

Die in den Versuchen eingesetzten Mischpräparate enthalten zusätzlich Pyraclostrobin oder Kresoxim-Methyl, die zu der Wirkstoffgruppe der Strobilurine gehören. Strobilurine werden zu den QoI-Fungiziden (Quinon-Outside-Inhibitor, äußerer Quinon-Inhibitor) gezählt, da sie in die mitochondriale Atmungskette des Pilzes eingreifen (Abbildung 4). Am Komplex III des Elektronentransports wird die Elektronenübertragung von der Cytochrom-Reduktase zum Cytochrom-c gehemmt, die ATP-Bildung in den Mitochondrien vom pilzlichen Gewebe wird verhindert (Heitefuß 2000). Da dieser Komplex auch in Pflanzenzellen enthalten ist, ist eine Beeinflussung der Atmung in pflanzlichen Mitochondrien nach dem Einsatz von Strobilurin-Fungiziden zu erwarten (Köhle et al. 2002).

Strobilurine greifen wie die Azole hemmend in die Ethylenbildung in pflanzlichem Gewebe ein. Mehr Cytokinin ist die Folge, damit verbunden kommt es zu geringerem Chlorophyllverlust bzw. verzögerter Seneszenz (Köhle et al. 1997).

Außerdem fördern Strobilurine zusätzlich die Assimilation von Kohlendioxid (CO<sub>2</sub>), Wachstum und Ertrag werden dadurch gesteigert, gleichzeitig wird respiratorisch freigesetztes CO<sub>2</sub> begrenzt. Als Ursache für die Änderungen des Gasstoffwechsels in der Pflanze kommt es beim Einsatz des Strobilurins Kresoxim-Methyl zu deutlicher Hemmung der Dunkelatmung.

Köhle et al. (2002) berichten, dass der Einsatz von Strobilurinen zu erhöhtem Zellverlust führt, messbar anhand erhöhten Ionenverlusts in Blättern.

Nach Prigge (2005) kommt es durch Pyraclostrobin zu einer Steigerung der Chlorophylldichte, eine vermehrte Photosynthese ist die Folge (Grossmann & Retzlaff 1997, Grossmann et al. 1999). Die Arbeit von Gerhard (2001) zeigt 15 % höhere Elektronentransportraten der Photosynthese nach Strobilurin-Applikation auf. Die gesteigerte Bildung antioxidativ wirkender Enzyme, sowie der verminderte Abbau von Blattproteinen, ganz im Sinne der Minderung von oxidativem Stress in pflanzlichen Geweben, wurden ebenfalls beschrieben.

### 1.6. HandyPea und Chlorophyll-Fluoreszenz

Zur Früherkennung von Pflanzenschäden durch Stress vor ersten Symptomausprägungen können Ausmaß und Verlauf der Chlorophyll-Fluoreszenz als Indikatoren für den Zustand der Pflanze dienen (Schinner 2001). Mit Hilfe der Chlorophyll-Fluoreszenz ist es möglich, das Photosynthesevermögen einer Pflanze zu untersuchen. Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen zur schnellen Kinetik wurden mit dem HandyPea (Plant Efficiency Analyzer) der Firma Hansatech (Norfolk, England) durchgeführt.



Abbildung 7: Blattclips zur Abdunklung von Blattabschnitten (links) und das HandyPea-Gerät (rechts) mit konstantem, aktinischem, gesättigtem Licht während 1 Sekunde aus 3 x 650 nm LED's, maximale Intensität von  $3500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Daten zur Chlorophyll-Fluoreszenz können nach der Auswertung Aussagen über anfängliche Beeinträchtigungen der Pflanzen vor sichtbaren Schäden aufzeigen.

### 1.6.1. Grundlagen

Im grünen Blatt gilt der Farbstoff Chlorophyll als optisch dominierende Substanz. Chlorophyll besitzt ein typisches Absorptions- und Fluoreszenzspektrum (Günther et al. 1999). Die blauen und roten Lichtanteile werden stark absorbiert, der grüne Bereich hingegen wird nur schwach absorbiert, d.h. der grüne Lichtanteil wird größtenteils reflektiert, der Stoff erscheint grün. Die Einstrahlung von vorwiegend rotem und blauem Licht regt die Chlorophyll-Fluoreszenz an, wobei das Fluoreszenzspektrum nach Anregung durch blaue und rote Strahlung ein identisches Maximum im roten Spektralbereich besitzt (Mohr & Schopfer 1992).

#### 1.6.1.1. Die Chlorophyll-Fluoreszenz als Messgröße der Photosynthese

Teilprozesse der Photosynthese im Bereich des Elektronentransports im Photosystem II der Chloroplasten können über die von den Chlorophyllmolekülen abgegebene Rotfluoreszenz erfasst werden. Dies basiert auf der Annahme, dass sich durch eingestrahktes Licht in den PS II – Antennen ein „Exzitonensee“ bildet (siehe Topfmodell, Abbildung 8), dessen Höhe vom Gleichgewicht eingestrahkter Lichtenergie zu Exzitonenausflüssen aus den Antennen heraus bestimmt wird (Schinner 1997).

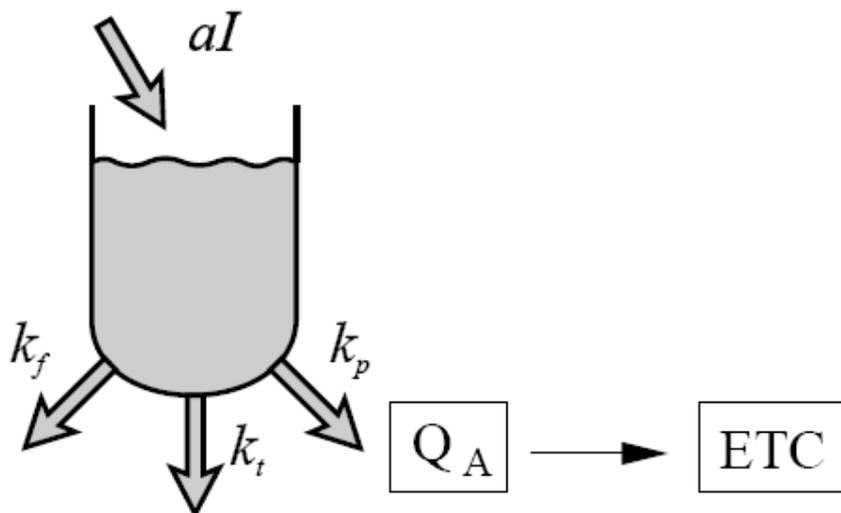


Abbildung 8: Das Topfmodell zur Entstehung der Chlorophyll-Fluoreszenz (Hansen et al. 2006). Abkürzungen:  $aI$ , Lichtquanten;  $k$ , Ratenkonstanten;  $f$ , Fluoreszenz;  $t$ , Wärme;  $p$ , Photochemie;  $Q_A$ , Quinon A; ETC, Elektronentransportkette

Die Antenne von PS II wird bei diesem Modell als Topf betrachtet, in dem hereinfliegende Lichtquanten Exzitone (S1-Zustände) erzeugen, die thermisch, photochemisch und als

Abstrahlung von Fluoreszenz deaktiviert werden. Diese Vorgänge zeigen sich in den Ratenkonstanten  $k_t$ ,  $k_p$  und  $k_f$ . Die Intensität der Fluoreszenz spiegelt unter der Annahme der konstanten Ratenkonstante  $k_f$  den Pegelstand im Exzitonensee wieder.

Die Chlorophyll-Fluoreszenz ist somit ein Maß für die photosynthetische Kapazität und den Zustand des Photosystems, und dient als Indikator für den Anregungs- und Redoxzustand der photosynthetischen Elektronentransportkette (Richter 1998).

Der photosynthetische Elektronentransfer im PS II ist in Abbildung 9 aufgezeigt.

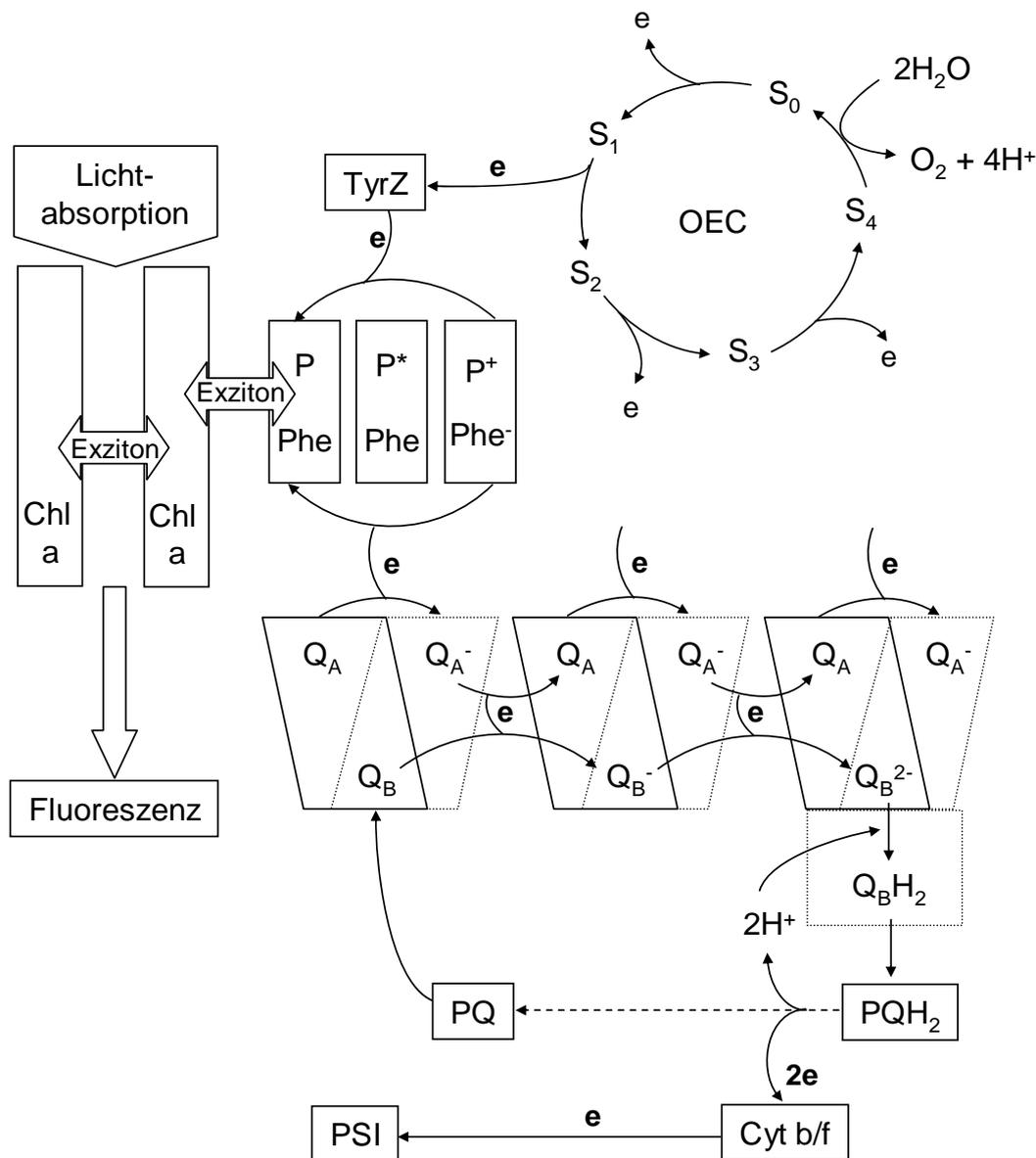


Abbildung 9: Schematisches Diagramm zum Elektronentransfer im Photosystem II nach Stirbet et al. (1998), verändert. Chl a = Chlorophyll a; OEC = wasserspaltender Enzymkomplex (oxygen evolving complex); TyrZ = primärer Elektronendonator vom Reaktionszentrum P680; P = Reaktionszentrum P680 im Photosystem II; P\* = erster angeregter Singulettzustand von P680; P+ = oxidiertes primäres Elektronendonator P680; Phe = Pheophytin, primärer Elektronenakzeptor; QA und QB = sekundärer und tertiärer

Elektronenakzeptor Quinon A und Quinon B; PQ = Plastoquinon-Pool; Cyt b/f = Elektronenakzeptor Cytochrom b<sub>6</sub>/f; PS I = Photosystem I; e = Elektron

Die Elektronentransportkette (ETC) besteht aus verschiedenen festen und beweglichen Proteinen in und an der Thylakoidmembran (Hansen et al. 2006), ausgehend vom wasserspaltendem Enzymkomplex (OEC), der Elektronen über den primären Elektronendonator von P680 (TyrZ) an das Reaktionszentrum II (P) liefert. Durch Lichtabsorption von Chlorophyllmolekülen wird das Reaktionszentrum P680 (P) energetisch angeregt und Elektronen an den primären Elektronenakzeptoren Pheophytin (Phe) weitergeleitet. In Abbildung 9 sind die während der Übertragung von Elektronen in der ETC verschiedenen Redoxstufen der Elektronenakzeptoren Pheophytin (Phe) und Quinon (Q<sub>A</sub> und Q<sub>B</sub>) im Elektronentransport dargestellt. Durch den Elektronentransfer werden Protonen vom Stroma ins Lumen transportiert, wobei ein pH-Gradient aufgebaut wird.

Unter normalen Bedingungen liegt der Prozentsatz der über die Fluoreszenz abgegebenen Anregungsenergie zwischen 3 % und maximal 7 % bei intakten, photosynthetisch aktiven Blättern (Schinner 1997). Verschiedene Prozesse beeinflussen die Größe der Fluoreszenz. Dabei steht der Redoxzustand von Q<sub>A</sub> (sekundärer Elektronenakzeptor der Elektronentransportkette, Quinon A) an erster Stelle, der zwischen 0 (Grundfluoreszenz) und 1 (maximale Fluoreszenz) liegt (Hansen et al. 2006). Reduziertes Q<sub>A</sub> erhöht sich durch die Ladungstrennung und wird abgebaut durch den Elektronenfluß in der Elektronentransportkette. Wird unter Stress die Gewinnung chemischer Arbeit gestört, steigt der Fluoreszenzanteil an.

### 1.6.1.2. Fluoreszenzkinetik

Die zeitliche Veränderung der Rotfluoreszenz eines dunkel adaptierten Blattes nach Beleuchtung wird Fluoreszenzkinetik genannt. Bei Zimmertemperatur stammt die Fluoreszenz nach Baker & Webber (1987) vorwiegend vom PS II. Vorteile der Fluoreszenz-Induktion liegen in der hohen Sensitivität und der schnellen und einfachen Messung mit wichtigen Informationen über den photosynthetischen Apparat (Lazar 1999). Das auftretende Fluoreszenzsignal zeigt einen charakteristischen Kurvenverlauf, dessen Ursache in der Photosynthese des Blattes zu finden ist. Während ein totes Blatt nur eine zeitlich konstante Fluoreszenz aufweist, zeigt eine lebende, photosynthetisch aktive Probe eine variable Fluoreszenz, die eng mit dem physiologischen Zustand der Pflanze verknüpft ist. Die in Abbildung 10 dargestellte Fluoreszenz-Induktionskurve stellt die gemessene Fluoreszenzintensität als Zeitfunktion fortlaufender Beleuchtung dar. Dabei zeigt die Kinetik

den Verlauf der Fluoreszenzintensität während des Anlaufens der Lichtreaktion. Diese findet in den Chloroplasten der Pflanzenzelle statt, genauer in der Thylakoidmembran.

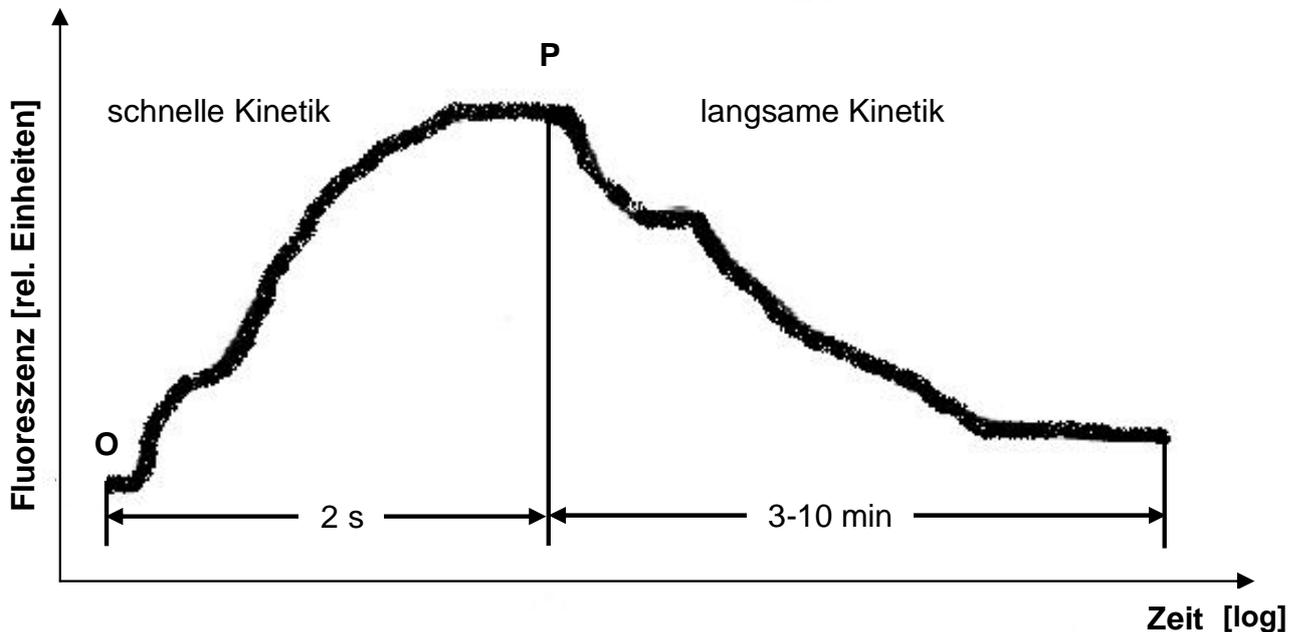


Abbildung 10: Induktionskinetik der prompten Chlorophyllfluoreszenz eines Blattes nach Dunkeladaptation gemessen mit einem PAM-Fluorimeter nach Buschmann & Grumbach (1985) verändert. O = Grundfluoreszenz ( $F_0$ ); P = maximale Fluoreszenz ( $F_M$ )

Mit der Belichtung der dunkel adaptierten Probe durch einen Lichtblitz beginnt die Aktivierung von enzymatischen Prozessen der Lichtreaktion. Dabei kommt es zu Veränderungen der Gleichgewichtszustände, die Lichtreaktion betreffende Prozesse beeinflussen sich gegenseitig, die Fluoreszenz nimmt zunächst zu. Während des Fluoreszenzanstiegs (nach Belichtung) wird die gesamte Elektronentransportkette reduziert bis zur Akzeptorseite von Photosystem I. Dort kommt es zunächst zum Elektronenstau, da die Enzyme, die den Elektronentransfer von Ferredoxin zu NADPH katalysieren, im Dunkeln inaktiv sind (Abbildung 2). Die einige Sekunden dauernde Aktivierung führt letztlich zur Elektronenabnahme, die ETC wird weniger reduziert ( $Q_A$  wird oxidiert) und der Fluoreszenzanteil sinkt.

Anhand des Fluoreszenzsignals können Rückschlüsse auf folgende Prozesse gezogen werden (Hansen et al. 1991, Hansen et al. 2006):

- Rückwirkung der Reduktion der Elektronenakzeptoren  $Q_A$  und  $Q_B$  auf die Ladungstrennung
- Aufbau einer elektrischen Spannung über der Thylakoidmembran (pH-Gradienten)
- Rückwirkung dieser Spannung auf die Ladungstrennung im Photosystem II
- Thermische Deaktivierung in der Antenne von PS II

Der Verlauf der Fluoreszenz nach maximaler Intensität P (Abbildung 10) wird langsame Kinetik genannt, über Minuten sinkt die Fluoreszenzstrahlung auf ein konstantes Niveau. Etwa drei bis zehn Minuten dauert es bis alle Komponenten der Photosynthese optimal synchron arbeiten und die Chlorophyll-Fluoreszenz auf einen Bruchteil des Ausgangswertes der maximalen Fluoreszenz (P) zurückgegangen ist.

In dieser Arbeit geht es nur um den Teil des Fluoreszenz-Verlaufs, der unter dem Begriff „schnelle Kinetik der Chlorophyll-Fluoreszenz-Induktion“ (Abbildung 10; O-P) zusammengefasst wird, da das HandyPea nur die schnelle Kinetik erfasst.

### 1.6.1.3. Schnelle Kinetik der Chlorophyll-Fluoreszenz-Induktion

Strasser et al. (2004) befassen sich eingehend mit der schnellen Kinetik der Chlorophyll-Fluoreszenz einer dunkel adaptierten photosynthetischen Probe bei Raumtemperatur, die konstantem, sättigendem, aktinischem Licht ausgesetzt wurde. Das für die Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen ausgewählte HandyPea-Fluorimeter kann die Probe 1 Sekunde mittels 3 x 650 nm LED's (Abbildung 7) und einer maximalen Lichtintensität von 3500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  belichten. Während der Belichtung werden mit dem hoch zeitauflösenden HandyPea die Fluoreszenzdaten aufgezeichnet, die Datenerfassung verteilte sich in dieser Arbeit auf 10  $\mu\text{s}$ -Einheiten innerhalb der ersten 2 ms und jede darauf folgende ms. Die ermittelte Induktionskurve zur schnellen Kinetik (Abbildung 11) zeigt unter hohem Lichteinfluss bei logarithmischer Zeitskala einen Fluoreszenzverlauf mit zwei Stufen zwischen der anfänglichen (O-Stufe) und maximalen Fluoreszenz (P-Stufe) nach 2 ms und 30 ms, wobei:

- O ( $F_O$ ) = Grundfluoreszenz, gemessen mit dem HandyPea nach 20  $\mu\text{s}$
- J ( $F_J$ ) = Fluoreszenzstrahlung nach 2 ms
- I ( $F_I$ ) = Fluoreszenzintensität nach 30 ms
- P ( $F_M$ ) = maximale Fluoreszenz nach Belichtung mit gesättigter Lichtintensität
- $t_{FM}$  = Zeitpunkt t an dem die maximale Fluoreszenz erreicht wurde
- area = Fläche über der Kurve bis  $F_M$

Die Grundfluoreszenz *in vivo* im Dunkeln bedeutet, dass alle Reaktionszentren der Photosysteme „offen“ sind, d.h. sich im oxidierten Redoxzustand befinden. Somit liegt der primäre Akzeptor der Elektronentransportkette Pheophytin (Phe) und die folgenden Quinon-Akzeptoren ( $Q_A$  und  $Q_B$ ) im Dunkeln nach Abbau des Protonengradienten über der Thylakoidmembran oxidiert vor (Abbildungen 9 und 13; Phe,  $Q_A$ ,  $Q_B$ ). Bei sättigender Belichtung erreicht das Fluoreszenzsignal innerhalb weniger Hundert Millisekunden einen maximalen Peakwert, der abhängig von der Lichtstärke ist.

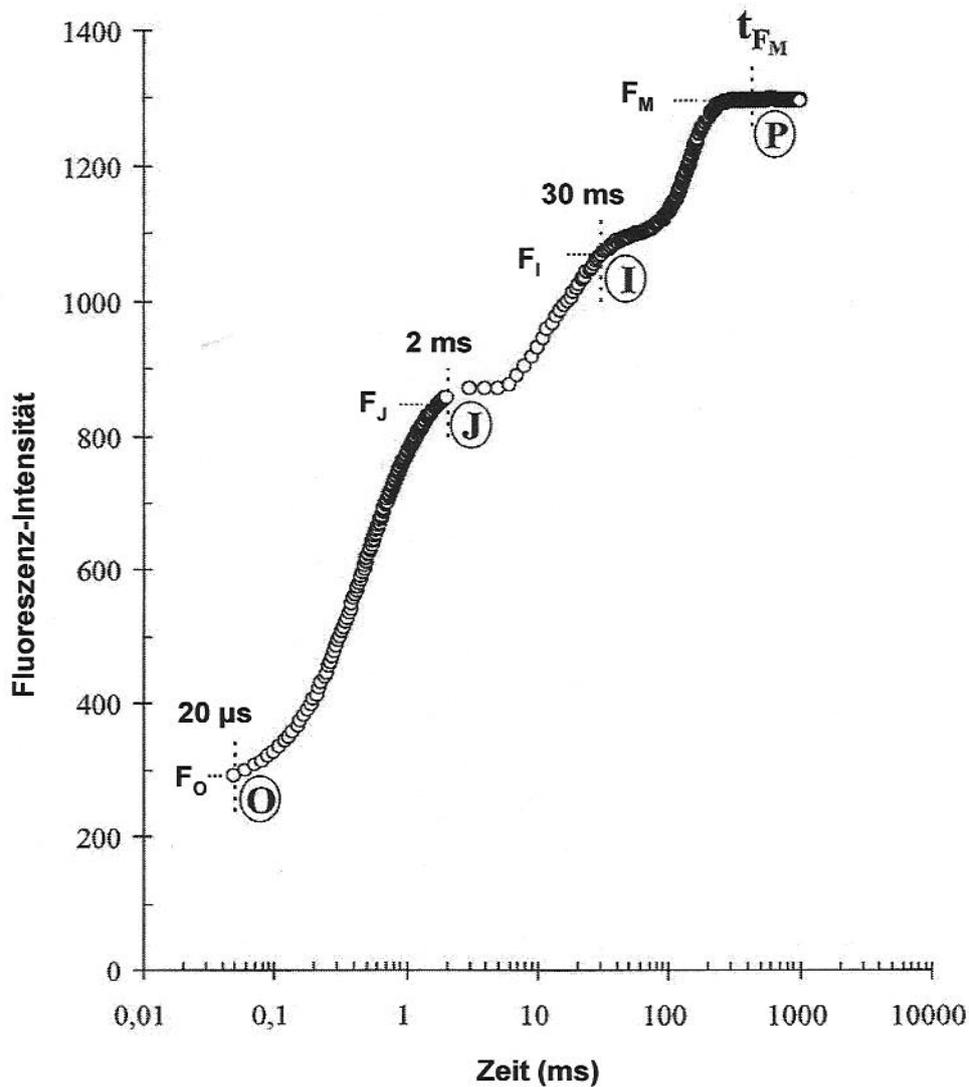


Abbildung 11: Induktionskurve höherer Pflanzen mit typischem Fluoreszenzverlauf bei logarithmischer Zeitskala von  $20 \mu\text{s}$  bis 1 s (Strasser 2001, Strasser et al. 2004)

Der Anstieg zu einem Maximalwert reflektiert die stufenweise Erhöhung der Fluoreszenzstrahlung. Gleichzeitig werden die Elektronenakzeptoren im PS II mehr und mehr reduziert bis zur Akzeptorseite von Photosystem I. Da dort die Aktivierung der Elektronenakzeptoren der ETC zum Teil einige Sekunden dauert, kommt es zum Elektronenstau. Die Anregungsenergie geht zurück zu den Antennenkomplexen der Reaktionszentren und erzeugt dort eine erhöhte Fluoreszenz. Die maximale Fluoreszenz  $F_M$  der P-Stufe der O-J-I-P-Kurve wird nur erreicht, wenn die Belichtung des dunkel adaptierten Blattes unter Lichtsättigung erfolgt. In diesem Zustand sind die in Abbildung 13 aufgeführten Quinon-Elektronenakzeptoren ( $Q_A$ ,  $Q_B$ ) wie auch Pheophytin (Phe) reduziert ( $\text{Phe}^-$ ,  $Q_A^-$ ,  $Q_B^{2-}$ ).

Die in Abbildung 11 aufgeführten Stufen (O-J-I-P) in der Induktionskurve zeigen sich unter bestimmten Voraussetzungen zu bestimmten Zeitpunkten.

Stufe	<b>O</b>	<b>J</b>	<b>I</b>	<b>P</b>
Zeit	0,05	2	30	300 ms

Abbildung 12: O-J-I-P-Stufen der Fluoreszenz-Induktionskurve mit zugehörigen Zeitpunkten

Diese nach bestimmten Zeiten auftretenden wichtigen Merkmale der schnellen Kinetik der Fluoreszenz können verschiedenen physiologischen Stadien der Lichtreaktion zugeordnet werden (Mohr & Schopfer 1992, Strasser et al. 1999).

#### 1.6.1.4. O-J-I-P – Stufen und photochemische Reaktionen

Die Ursache für die O-J-I-P-Stufen der schnellen Kinetik liegen in unterschiedlichen Redoxzuständen von PS II während des Elektronentransports zu Beginn der Lichtreaktion (Strasser & Strasser 1995). Dabei geht es während des Elektronentransportes ausschließlich um die Redoxzustände der Elektronenakzeptoren Pheophytin (Phe) und Quinon ( $Q_A$  und  $Q_B$ ). Toth et al. (2005) zeigen auf, dass es kein oder nur unbedeutendes Plastoquinon-Quenching *in vivo* gibt.

Die nach Strasser & Stirbet (2001) aufgeführte Abbildung 13 stellt drei Modelle für den Energietransfer innerhalb der photosynthetischen Einheit vor, die die Induktionskurvenverläufe erklären. Die von Ihnen aufgeführten Redoxzustände der Elektronenakzeptoren beziehen sich auf die schnelle wie auch verzögerte Fluoreszenz. Diese Arbeit jedoch befasst sich ausschließlich mit der schnellen Fluoreszenz, so dass nur auf diese zugehörigen Redoxstadien der Akzeptoren des Photosystems II eingegangen wird.

1. Modell: Jedes einzelne Modell ist abhängig von den definierten Redoxzuständen der Elektronenakzeptoren, wobei im ersten Modell der Anstieg der Fluoreszenz auf die Reduktion des primären Quinon-Akzeptors von  $Q_A$  zu  $Q_A^-$  zurückzuführen ist. Ist  $Q_A$  vollständig reduziert (geschlossen =  $Q_A^-$ ), wird die maximale Fluoreszenz erreicht, der Elektronenfluss kommt zum Erliegen. Die zugehörigen Redoxzustände für das erste Modell sind



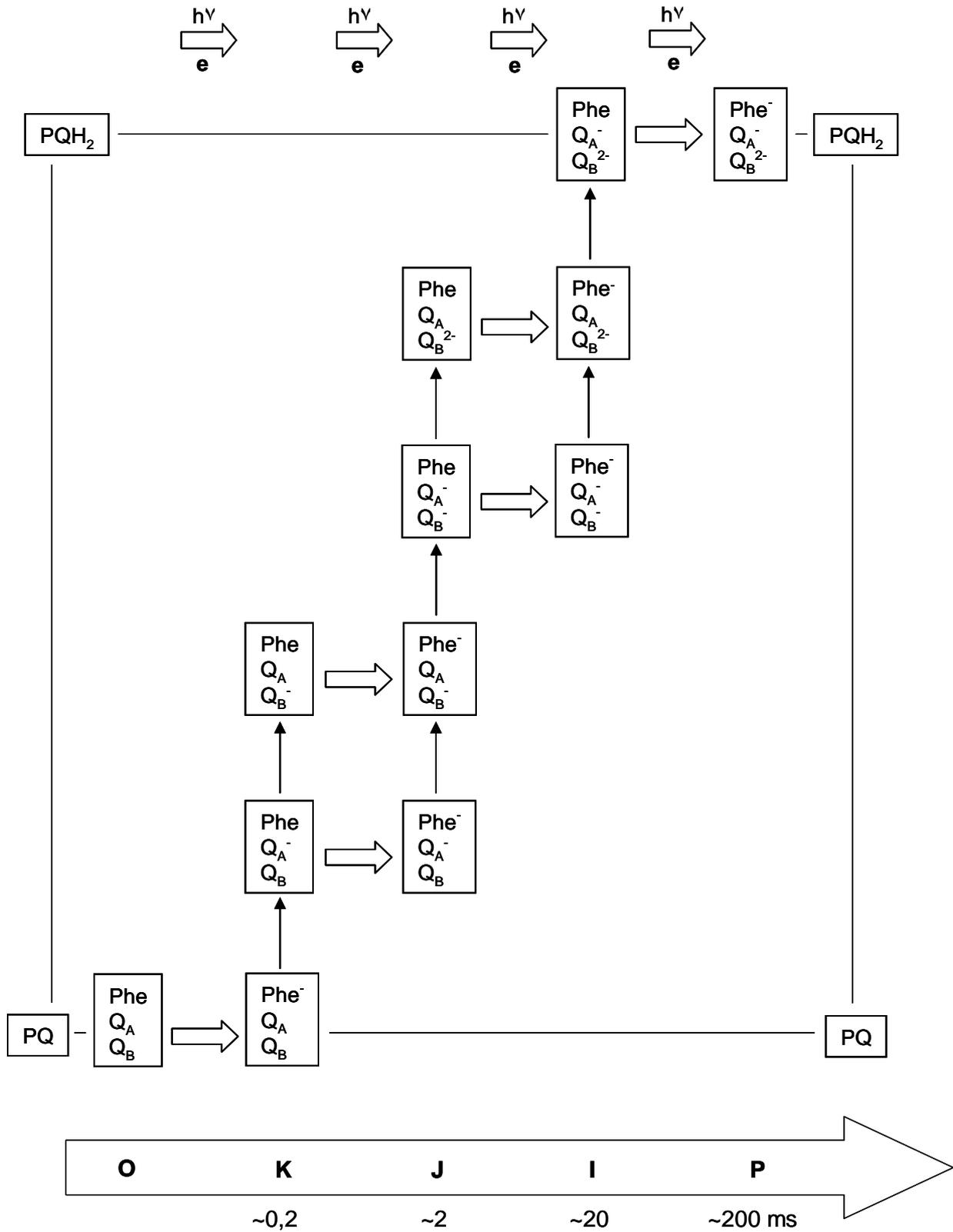


Abbildung 13: Reaktionsschema der Elektronenakzeptoren des Elektronentransfers im Photosystem II in Bezug zur schnellen Fluoreszenzkinetik O-(K)-J-I-P nach Strasser & Stirbet (2001), verändert. Erklärungen siehe Text

2. Modell: Im zweiten Modell ist Phe<sup>-</sup> verantwortlich für den Anstieg der Fluoreszenz, d.h. nur bei Vorhandensein von reduziertem Pheophytin sind die PS II Zentren vollständig geschlossen. Die Redoxzustände für die Fluoreszenzmaxima im zweiten Modell sind



wobei Phe<sup>-</sup>Q<sub>A</sub><sup>-</sup>Q<sub>B</sub><sup>2-</sup> in diesem Modell die höchste Fluoreszenz aufweist und als P-Stufe der O-J-I-P-Kurve bezeichnet werden kann.

3. Modell: Das dritte Modell ist ein Mix aus dem ersten und zweiten Modell. Wie im ersten Modell beschrieben ist auch hier die Voraussetzung, dass Q<sub>A</sub><sup>-</sup> für den Anstieg der Fluoreszenz verantwortlich ist, allerdings wird hier berücksichtigt, dass die Redoxformen mit zusätzlich reduziertem Pheophytin einen doppelten Fluoreszenzertrag aufweisen.

Mit der Reduzierung der aufgezeigten Elektronenakzeptoren wird auch der Plastoquinon-Pool (PQ) im aufgeführten Zeitabschnitt vollständig zu PQH<sub>2</sub> reduziert.

Dieser Arbeit liegt das allgemein benutzte Modell 1 zugrunde.

Den Fluoreszenzmaxima der dreiphasigen Induktionskurve (Abbildung 11) werden Veränderungen der Redoxzustände der Elektronenakzeptoren während der ETC zugeschrieben. Nach Strasser & Govindjee (1992) reflektiert die J-Stufe die Akkumulation von Q<sub>A</sub><sup>-</sup>Q<sub>B</sub>, die I-Stufe zeigt die Anhäufung von Q<sub>A</sub><sup>-</sup>Q<sub>B</sub><sup>-</sup> und die P-Stufe zeigt Parallelen zur Q<sub>A</sub><sup>-</sup>Q<sub>B</sub><sup>2-</sup> auf (Abbildungen 11 und 13). Demnach spiegelt die O-J-Phase der Induktionskurve (Abbildung 11) die Reduktion von Q<sub>A</sub> zu Q<sub>A</sub><sup>-</sup> wider (Neubauer & Schreiber 1987) und bezieht sich auf primäre photochemische Reaktionen im PS II (Lu & Zhang 1999). Strasser (1997) führt den O-J-Anstieg auf die Teilschließung von Reaktionszentren zurück, die J-I-Steigung beschreibt er mit der Schließung der verbleibenden Zentren. Nach Schansker et al. (2005) reflektiert die J-I-Phase die Reduktion des Plastoquinon-Pools, Neubauer & Schreiber (1987) und Schreiber und Neubauer (1987) sehen Parallelen zur Donorseite von PS II (Aktivität der Wasserspaltung). Der Verlauf von der I- zur P-Stufe der OJIP-Kurve reflektiert nach Lu & Zhang (1999) das Vorhandensein von sich schnell und langsam reduzierenden PQ-Zentren als auch die unterschiedlichen Redoxzustände der Reaktionszentren des PS II. Schansker et al. (2005) ziehen Parallelen zur Reduktion der Elektronenakzeptoren von PS I, Schreiber & Neubauer (1987) sowie Strasser (1997) deuten das Anwachsen der Induktionskurve von I-P mit der abnehmenden Plastoquinonpool Reduktion. Die J-P-Phase wird als Thermalphase bezeichnet (Neubauer & Schreiber 1987), diese ist abhängig von der Messtemperatur. Außerdem wird von einer weiteren frühen Bande, der K-Bande der Induktionskurve, berichtet, die nach etwa 200 µs auftreten kann, wenn Pflanzen hohen Temperaturen

ausgesetzt und gestresst werden (Srivastava et al. 1997, Lazar & Pospisil 1999, Susplugas et al. 2000). Die Ursache für die K-Bande liegt laut Strasser (1997) in der Hemmung des Elektronendonors OEC zum primären Elektronendonator TyrZ des Reaktionszentrums P680 des PS II (siehe Abbildung 9). Sobald die K-Bande erscheint, wird die Steigung der Induktionskurve steiler und der Elektronentransport größer. Der Grund dafür ist, dass das wasserspaltende System die Schrittmacherreaktion ist. Wird diese Reaktion abgekoppelt, können andere Elektronen aus der Umgebung einfließen. Dieser interne Elektronenpool ist aber beschränkt, entleert sich, die Folge ist ein geringerer Elektronentransport gegenüber dem intakten wasserspaltenden Enzymkomplex (OEC). Somit wird die K-Bande auch als experimenteller Trick angesehen, um mit einer kurzfristigen Elektronentransport-Steigerung die Abkopplung des OEC-Systems zu messen.

In der Natur kommt es zum Auftreten der K-Bande, wenn Pflanzen hohen Temperaturen ausgesetzt und gestresst werden (Lazar & Pospisil 1999).

### 1.6.2. JIP-Test

Basierend auf die O-J-I-P-Daten, die mit dem HandyPea ermittelt wurden, wurde ein Test anhand des schnellen Kinetikverlaufs, namens JIP-Test, entwickelt (Strasser & Strasser 1995). Diese Auswertungsergebnisse liefern hinreichende Informationen über Struktur, Gestalt und Funktion des Photosynthese-Apparates der jeweiligen Probe. Nach Strasser et al. (2000) können die während der ersten Sekunde gespeicherten Fluoreszenzdaten der schnellen Kinetik (O-J-I-P-Parameter) für die Berechnung vieler phänomenologischer und biophysikalischer Vorgänge einer photosynthetischen Probe herangezogen werden, um den physiologischen Zustand der Probe aufzuzeigen. Für den JIP-Test sind bestimmte Voraussetzungen aufgestellt worden:

- In abgedunkelten Blättern liegt  $Q_A$  oxidiert vor, ebenso ist der PQ-Pool im oxidierten Redoxzustand.
- Die Reduktion von  $Q_A$  bestimmt den Fluoreszenzverlauf von O zu P.
- Die J-Stufe stellt die einfache Reduktion (single turnover) von  $Q_A$  dar.
- Dass die J-Stufe geringer als  $F_M$  ist liegt daran, dass  $Q_A^-$  während des Elektronentransports reoxidiert wird.
- Die Fläche über der Induktionskurve bis  $F_M$  (area, Abbildung 11) ist proportional zur Anzahl der Elektronen, die durch die Elektronentransportkette fließen. Während

dieses Prozesses wird  $Q_A$  reduziert, reoxidiert, reduziert usw. bis die P-Stufe der Fluoreszenz-Induktionskurve erreicht ist.

Die Basis für den von Strasser & Strasser (1995) entwickelten JIP-Test liefern die Energieflüsse in Biomembranen im Photosyntheseapparat. Kombiniert mit Messungen zur schnellen Kinetik der flüchtigen Chlorophyll-Fluoreszenz liefert der JIP-Test Berechnungen zu Energieflüssen und deren Energieleistungen. Strasser & Stirbet (2001) zeigen Wechselbeziehungen der Fluoreszenz-Signale zu Energieflüssen im Photosystem II auf, wobei die Energieflüsse als Modell in photosynthetischen Apparaturen aufzufassen sind. Der JIP-Test wie auch die Theorie (Strasser & Strasser 1995) unterscheidet zwischen spezifischen Energieflüssen (pro Reaktionszentrum, RC) und phänomenologischen Energieflüssen (pro angeregter gemessener Blattfläche oder Antennengröße = excited cross section, CS).

Im Folgenden werden die zugehörigen JIP-Parameter vorgestellt.

#### 1.6.2.1. Energieflüsse im Photosystem II

Strasser et al. (2000) verwenden nach der Theorie der Energieflüsse in Biomembranen im Photosyntheseapparat (Strasser 1978) folgende Bezeichnungen:

- **ABS** ist die absorbierte Lichtmenge pro Zeiteinheit oder Lichtfluss im Antennenkomplex, die benötigt wurde, um Chlorophyll a in den angeregten Zustand (Chl a\*) zu überführen.
- **DI** beschreibt den dissipierten Energiefluss, der beim Übergang vom angeregten Zustand des Chlorophylls a (Chl a\*) in den Grundzustand (Chl a) als Wärme und Fluoreszenz abgegeben wird.
- **TR** „Trapping-Energiefluss“ ist die Restmenge (80 %) am Energieflux, der beim Übergang vom angeregten Zustand (Chl a\*) in den Grundzustand (Chl a) an das Reaktionszentrum (P680) abgegeben wird, und für die Photochemie genutzt wird. Die Trapping-Energie wird durch die Reduktion vom primären Quinone-Akzeptor ( $Q_A$  in  $Q_A^-$ ) in Redoxenergie umgewandelt.
- **ET** gibt den Energiefluss an, der zum Erzeugen des Elektronentransports genutzt wird und weiter geleitet wird von  $Q_A^-$  nach  $Q_B$ , PQ, b/f und PSI zur  $CO_2$ -Fixierung. Bei der Re-Oxidation von  $Q_A^-$  in  $Q_A$  wird der Elektronentransport erzeugt (siehe Kapitel 1.5.1.4., 1. Modell).

Bei Betrachtung der primären Photochemie reflektiert die gemessene Chlorophyll-Fluoreszenz das Stressmanagement der Pflanzen unter gegebenen Umwelteinflüssen. Unter

Berücksichtigung der von Strasser et al. (2000) vorgestellten Energieflüsse der Anregungsenergie im Photosystem II ist zu anfänglicher Belichtung der Pflanzen folgendes Photosynthese-Modell vorstellbar:

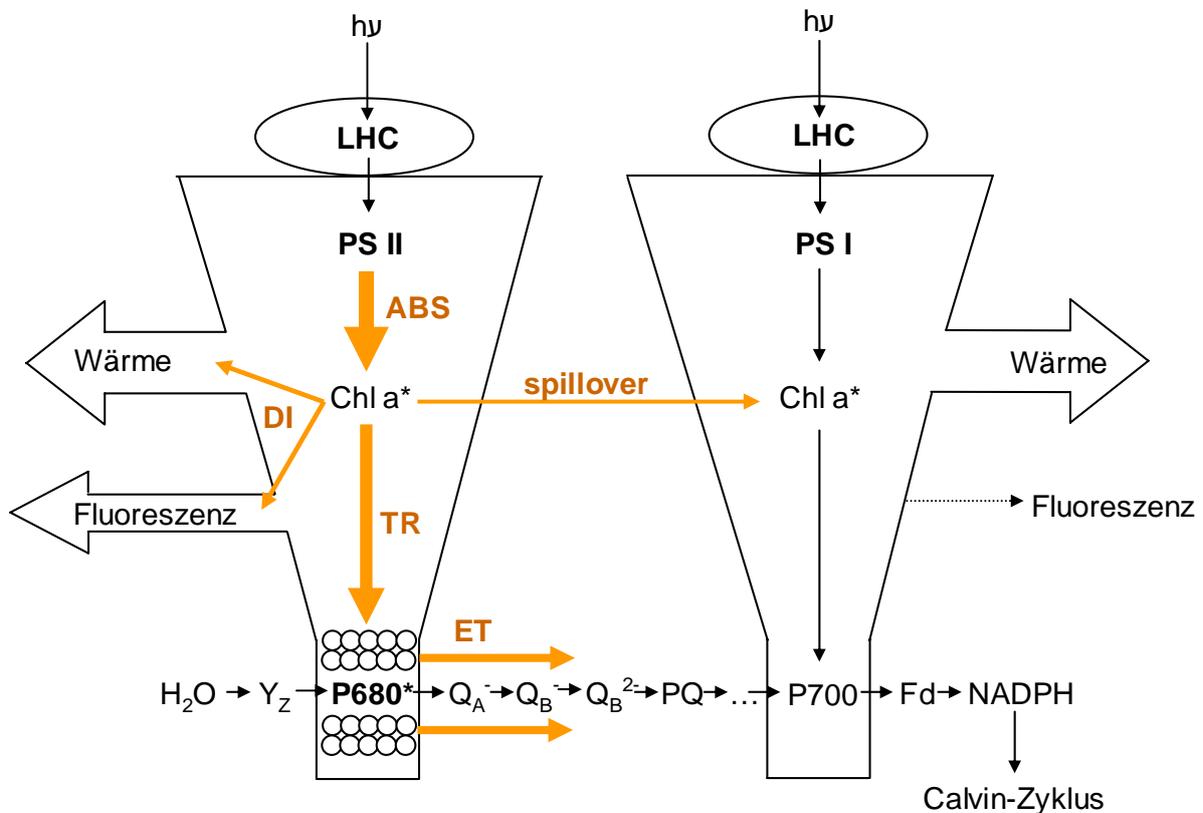


Abbildung 14: Schematische Darstellung der Energieumwandlung und des Elektronentransports der Photosynthese (Schreiber & Bilger 1994) mit Parametern der schnellen Chlorophyll-Fluoreszenz-Kinetik, die die Energieflüsse der Anregungsenergie im PS II (Strasser et al. 2000) zum Zeitpunkt der anfänglichen Fluoreszenz  $F_0$  (20  $\mu$ s Belichtung) darstellen (Abkürzungen siehe Text und Abkürzungsverzeichnis)

Lichtenergie ( $h\nu$ ) fließt durch Absorptionsvorgänge in die Pigmente des Photosyntheseapparates, Chlorophyll wird durch das absorbierte Licht angeregt ( $\text{Chl}^*$ ). Dort wird die Energie verteilt:

- Übertragung der Anregungsenergie von Photosystem II zu Photosystem I (spillover)
- Abgabe der Energie als Wärme (thermische Deaktivierung, DI)
- Abstrahlung eines einzelnen Lichtquants, Fluoreszenz (elektromagnetische Strahlung, DI)
- Abgabe der Energie an das Reaktionszentrum des Photosystems P680 (Trapping, TR)
- Indirekt als Phosphoreszenz über einen Triplettzustand, wobei es zur Spinumkehr kommt (nicht mit aufgeführt).

Die Abgabe der Anregungsenergie wird in erster Linie über den photosynthetischen Elektronentransport für chemische Arbeit genutzt. Der Prozentsatz des über die Fluoreszenz abgegebenen Lichtes an der Dissipation liegt bei intakten, photosynthetisch aktiven Blättern bei maximal 7 %. Zusätzlich kann es zur Übertragung der Anregungsenergie von PS II zu PS I, dem so genannten spillover, kommen (Veeranjaneyulu et al. 1991, Trissl & Wilhelm 1993). Die Phosphoreszenz ist unter normalen physiologischen Bedingungen kaum nachweisbar und wird in dieser Arbeit nicht weiter verfolgt. Theoretisch kann anhand der Theorie der Energieflüsse in Biomembranen die absorbierte Energie zusätzlich zwischen verschiedenen Pigmentkomplexen fließen (Coupling) oder zwischen einzelnen Photosyntheseeinheiten (Grouping) wandern (Strasser 1985). Auf diese theoretischen Möglichkeiten der Energiemigration wird in der vorliegenden Arbeit ebenfalls nicht weiter eingegangen.

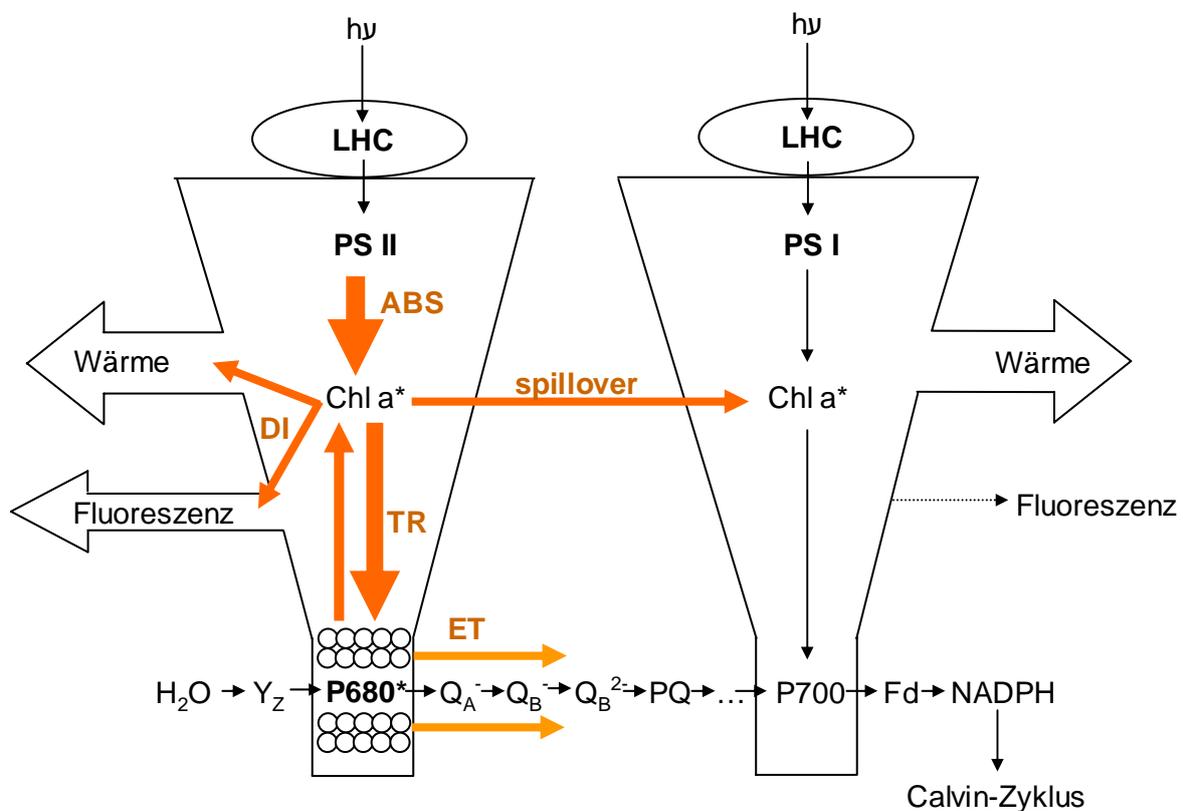


Abbildung 15: Schematische Darstellung der Energieumwandlung und des Elektronentransports der Photosynthese (Schreiber & Bilger 1994) mit Parametern der schnellen Chlorophyll-Fluoreszenz-Kinetik, die die Energieflüsse der Anregungsenergie im PS II (Strasser et al. 2000) zum Zeitpunkt der maximalen Fluoreszenz  $F_M$  (1 s Belichtung) darstellen (Abkürzungen siehe Text).

Die ins Reaktionszentrum (P680) weitergeleitete Anregungsenergie wird auf Elektronen, die unter normalen Umständen der wasserspaltende Enzymkomplex liefert, übertragen. Diese angeregten Elektronen gelangen in die Elektronentransportkette, es kommt zur Reduktion der Elektronenakzeptoren. Das Verhältnis von Anregungsenergie und Elektronentransport ist innerhalb der ersten Sekunden zunächst nicht ausgeglichen, bei Belichtung mit konstantem,

aktinischem und sättigendem Licht von einer Sekunde kommt es zu Störungen im Elektronentransport (Abbildung 15).

Im Reaktionszentrum kommt es zum Energiestau (P680\*). Um Schäden des Reaktionszentrums abzuwenden, kann die Anregungsenergie von P680\* zu den Antennenkomplexen Chl\* zurückfließen, der „Exzitonensee“ im Topfmodell (Abbildung 8) wird größer. Die Wahrscheinlichkeit, dass Anregungsenergie vermehrt als Fluoreszenz verloren geht, steigt.

Basierend auf die Theorie von Energieflüssen in Biomembranen (Strasser 1978) wird zwischen spezifischen Energieflüssen (RC) und phänomenologischen Energieflüssen (CS) unterschieden. Die Berechnungen nach dem JIP-Test (Strasser & Strasser 1995) liefern Aussagen über diese beiden benannten Energieflüsse.

### 1.6.2.2. Spezifische Energieflüsse

Die spezifischen Energieflüsse besitzen als Bezugsgröße die Reaktionszentren. Sie werden beschrieben mit **ABS/RC**, von Chlorophyllmolekülen absorbierter Photonenfluss pro Reaktionszentrum, **TR<sub>O</sub>/RC**, Trapping-Energiefluss oder auch Exzitonfluss pro Reaktionszentrum eines dunkel adaptierten Blattes, **ET<sub>O</sub>/RC**, Elektronentransport pro Reaktionszentrum eines dunkel adaptierten Blattes, und **DI<sub>O</sub>/RC**, dissipierter Energiefluss pro Reaktionszentrum eines dunkel adaptierten Blattes (Abbildung 14). Es ist möglich, dass unter Stressbedingungen einige Reaktionszentren verändert sind, so dass die Reduktion von Q<sub>A</sub> zu Q<sub>A</sub><sup>-</sup> ausbleibt. In diesem Fall bezieht sich TR<sub>O</sub>/RC nur auf die aktiven Reaktionszentren, bei denen es zur Reduktion des primären Elektronenakzeptors Q<sub>A</sub> kommt. Das Gleiche gilt auch für die anderen beiden spezifischen Energieflüsse.

Werden die spezifischen Energieflüsse miteinander in direkte Beziehung gesetzt, kommt es nach Strasser & Strasser (1995) zur Anwendung des in Abbildung 16 aufgeführten vereinfachten Modells. Für die Ausbeute der primären Photochemie steht der Parameter **TR<sub>O</sub>/ABS (= φ<sub>PO</sub>)**; die Energie, die photochemisch nicht genutzt wird und dissipiert verbirgt sich hinter dem Parameter **DI<sub>O</sub>/ABS (= φ<sub>DO</sub>)**; die Wahrscheinlichkeit Elektronen in der Elektronentransportkette nach Q<sub>A</sub><sup>-</sup> zu bewegen wird als **ET<sub>O</sub>/TR<sub>O</sub> (= ψ<sub>O</sub>)** bezeichnet und die Fähigkeit absorbierter Photonen, Elektronen in die Elektronentransportkette zu befördern wird als **ET<sub>O</sub>/ABS (= φ<sub>EO</sub>)** beschrieben. Die Beziehungen zwischen den gemessenen Fluoreszenzsignalen, die hinter den beschriebenen Parametern stecken, sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

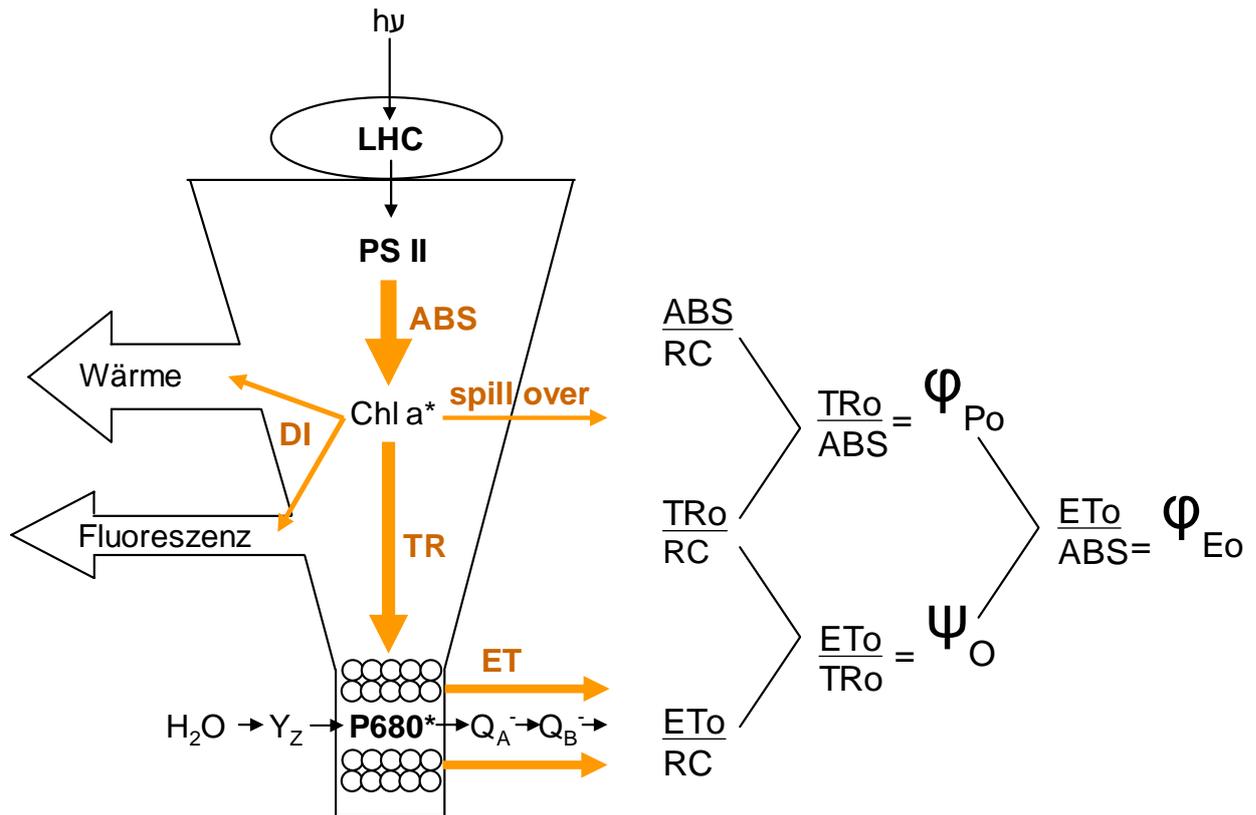


Abbildung 16: Vereinfachtes Modell der Energieflüsse im Photosynthese-Apparat im Chloroplasten (Strasser & Strasser 1995), verändert nach Schreiber & Bilger (1994), mit Beziehungen zwischen den spezifischen Energieflüssen. ABS = im Antennenkomplex absorbierte Lichtmenge; DI =dissipierte Energie (Wärme, Fluoreszenz); TR = Trapping Energie zur Reduktion von  $Q_A^-$ ; ET = Elektronentransport jenseits  $Q_A^-$ ;  $\Phi_{Po}$  =  $\Phi_{Po}$ ;  $\Psi_o$  =  $\Psi_o$ ;  $\Phi_{Eo}$  =  $\Phi_{Eo}$ . Erklärungen siehe Text.

### 1.6.2.3. Phänomenologische Energieflüsse

Bei den phänomenologischen Energieflüssen gilt als Bezugsgröße die nach dem Abdunkeln gemessene belichtete Blattfläche im Blattclip. Da die gemessene Blattfläche aber auch eine Tiefe hat, wird das angeregte Stück Gewebe von der Oberfläche bis in die Tiefe „Cross Section“ (CS) genannt. Es gibt zwei Wege diese cross sections zu berechnen: Einerseits kann die anfängliche Fluoreszenz ( $F_o$ ) zur Berechnung benutzt werden, die phänomenologischen Energieflüsse werden in diesem Fall mit  $CS_o$  gekennzeichnet. Entsprechend der Parameterbeschreibung  $ABS/CS_o$  (Lichtabsorptionsfluss pro cross section nach anfänglicher Fluoreszenz) werden die drei weiteren Ausdrücke  $TR_o/CS_o$  (maximaler Trappingfluss),  $ET_o/CS_o$  (maximaler Elektronentransport) und  $DI_o/CS_o$  (dissipierter Anregungsenergiefluss) erklärt. Im zweiten Fall wird die maximale Fluoreszenz ( $F_M$ ) als Bezugsgröße herangezogen, die phänomenologischen Energieflüsse sind mit  $CS_M$

gekennzeichnet. Die Beschreibung der Parameter **ABS/CS<sub>M</sub>**, **TR<sub>O</sub>/CS<sub>M</sub>**, **ET<sub>O</sub>/CS<sub>M</sub>** und **DI<sub>O</sub>/CS<sub>M</sub>** bezieht sich auf die gemessene Blattfläche mit maximaler Fluoreszenz. Die Fluoreszenz-Emissionen sind proportional zur Lichtintensität und zum Chlorophyllgehalt.

#### 1.6.2.4. Relative variable Fluoreszenz

Zur Beschreibung der relativen variablen Fluoreszenz gibt es folgende Möglichkeiten:

- $V_t = (F_t - F_O) / (F_M - F_O)$  gibt die relative variable Fluoreszenz während der O-P-Phase an, wie viel  $Q_A$  zu  $Q_A^-$  wiederholt reduziert wurde (multiple turnover). Aufgrund des Elektronentransports wird der Elektronenakzeptor  $Q_A$  zunächst reduziert ( $Q_A^-$ ), nachfolgend oxidiert ( $Q_A$ ), wieder reduziert usw. Dieser Parameter wird multiple turnover genannt.
- $W_t = V_t / V_J = (F_M - F_O) / (F_{2ms} - F_O)$  zeigt im Bereich bis 2 ms (O-J-Phase) den Anteil wiederholter  $Q_A$  Reduktion an.
- $V_J = (F_{2ms} - F_O) / (F_M - F_O)$  liefert eine Aussage über den Anteil der PS II Reaktionszentren, der den multiplen turnover Bereich (wiederholte Reduktion) von  $Q_A^-$  nach 2 ms beschreibt.  $V_J$  steigt mit wachsender Reduktion des Plastoquinon-Pools an.  $(1-V)$  ist entsprechend die Fraktion der Reaktionszentren, in denen  $Q_A$  reoxidiert wurde, bzw. in denen Elektronen während der 2 ms weitergeleitet wurden.
- $V_I = (F_{30ms} - F_O) / (F_M - F_O)$  drückt den Anteil variabler Fluoreszenz nach 30 ms (I-P-Phase) aus und liefert eine Aussage über die PS I Aktivität.

Mit variabler Fluoreszenz zu bestimmten Zeitpunkten kann ein weiterer Ausdruck beschrieben werden:

- $dv/dt_o = (4(F_{0,3ms} - F_O) / (F_M - F_O))$  bestimmt das Maß, mit der die Schließung (Reduktion) der Reaktionszentren erfolgt. Dabei kommt es zu Wechselbeziehungen zwischen Trapping-Energie und Elektronentransport, denn TR steigert die Anzahl geschlossener Reaktionszentren und ET mindert diese.

#### 1.6.2.5. Weitere JIP-Test - Parameter

Mit der Induktionskurve und den von Strasser & Stirbet (2001) beschriebenen O-J-I-P-Stufen (Abbildung 11) können zwei weitere Parameter ermittelt werden: Die benötigte Zeit zur Erzeugung der maximalen Fluoreszenz ( $t_{FM}$ ) nach Belichtung einer dunkel adaptierten Probe, und die Fläche über der Kurve bis  $F_M$  (**area**), mit der Änderungen im Elektronentransport

beschrieben werden können. Außerdem lassen sich aus den Umfängen von  $F_O$  und  $F_M$  noch mehrere Eigenschaften ableiten, wie auch Tabelle 3 zeigt:

- Die variable Fluoreszenz ( $F_V = F_M - F_O$ ) ist ein berechneter Parameter der OJIP-Analyse.  $F_V$  beschreibt die Zunahme der Fluoreszenz von anfänglicher bis maximaler Fluoreszenz.
- $F_V/F_M = (F_M - F_O)/F_M$  ist das Maß der Effizienz, mit der die Anregungsenergie aus den Antennenkomplexen von offenen Reaktionszentren des PS II übernommen wird. Störungen photochemischer Lichtnutzung können mit diesem Ausdruck aufgedeckt werden. Außerdem ist  $F_V/F_M$  ein Maß für die maximale Quantenausbeute der primären Photochemie vom Photosystem II. Mögliche photoinhibitorische Schäden im PS II können an diesem Parameter erklärt werden, in ungestörten Systemen beträgt  $F_V/F_M$  0,75-0,85. Absenkungen der photosynthetischen Leistungsfähigkeit dienen der Stressfrüherkennung.  $F_V/F_M$  wird auch als  $\phi_{P_0}$  beschrieben.
- $F_V/F_O = (F_M/F_O) - 1$  ist ein Indikator für die Funktionsfähigkeit des PS II. Dieser Parameter beschreibt die maximale Quantenausbeute.
- $F_O/F_M = (1 - \phi_{P_0})$  beschreibt die Ineffizienz der Reaktionszentren und beschreibt somit die Quantenausbeute für den Dissipationsfluss DIo/ABS.

Eine weitere wichtige Größe der JIP-Parameter ist die Dichte der Reaktionszentren in der gemessenen Blattfläche. Zur Berechnung werden die Fluoreszenz-Extrema  $F_O$  (anfängliche Fluoreszenz) bzw.  $F_M$  (maximale Fluoreszenz) mit ABS/RC (von Chlorophyllmolekülen absorbierte Photonen pro Reaktionszentrum; Kapitel 1.5.2.2.) in folgende Verhältnisse gesetzt:

- $RC/CS_O = F_O / (ABS/RC)$
- $RC/CS_M = F_M / (ABS/RC)$

JIP-Test Parameter, die sich der Flächenbeschreibungen der Induktionskurve widmen, sind

- $N = S_m * M_o * (1/V_J)$  ist die wiederholte Reduktion und Oxidation von  $Q_A$  (turn over number) bis zum Erreichen von  $F_M$ , wobei
- $S_m = \text{area} / (F_M - F_O)$  ein Maß für die Energie ausdrückt, die zum Schließen aller Reaktionszentren (vollständige Reduktion der Elektronentransportkette von PS II) nötig ist.

Wichtige Parameter des JIP-Tests sind diejenigen, die anhand der Absorption, Exzitonenfluss und Elektronentransport im PS II berechnet werden. Diese Parameter kombinieren funktionelle und strukturelle Kennzeichen von PS II und beschreiben den Vitalitätszustand des Blattes:

- $PI_{ABS} = (RC/ABS) * (\phi_{P_0}/(1 - \phi_{P_0})) * (\psi_O/(1 - \psi_O))$ , performance index
- $SFI_{ABS} = (RC/ABS) * \phi_{P_0} * \psi_O$ , structure function index

- $DF_{ABS} = \log PI_{ABS}$ , driving force

wobei **RC/ABS** die Dichte der Reaktionszentren pro Chlorophyll angibt.

Leistungsmerkmale des Photosyntheseapparates werden mit folgenden Parametern beschrieben:

- $\Phi_{Po}/(1 - \Phi_{Po})$  Leistungsfähigkeit der Lichtreaktion
- $\Psi_o/(1 - \Psi_o)$  Leistungsfähigkeit der Dunkelreaktion

Parameter, die eine Beziehung zwischen der Absorption von Photonen in Chlorophyllmolekülen pro gemessenem Blattabschnitt (ABS/CS) und der Fluoreszenz-Emission ( $k_F$ ) beschreiben, werden als photochemische ( $k_P$ ) und nichtphotochemische Ratenkonstante ( $k_N$ ) bezeichnet. Die nichtphotochemische Ratenkonstante ( $k_N$ ) führt zur dissipierten Energie als Wärme und Fluoreszenz. Die von der Absorption für die Photochemie benutzte Energie wird durch eine photochemische Ratenkonstante bestimmt. Die Berechnung der beiden Parameter zeigt sich mit der gemessenen emittierten Fluoreszenz folgendermaßen:

- $k_N = (ABS/CS) * k_F * (1/F_M)$
- $k_P = (ABS/CS) * k_F * ((1/F_O) - (1/F_M))$

Werden die aufgeführten Ratenkonstanten zusammengefasst, so ergibt sich der Parameter:

- **Sum k** =  $k_N+k_P = (ABS/CS) * k_F * (1/F_O)$

All diese aus der Chlorophyll-Fluoreszenz bestimmten Merkmale geben einen umfassenden Einblick in den Photosynthese-Apparat von Pflanzen.

### 1.6.2.6. Ausgewählte JIP – Parameter dieser Arbeit

Dieses Kapitel zeigt die in der Arbeit ausgewählten JIP-Parameter tabellarisch aufgelistet.

Tabelle 3: Berechnung und Beschreibung der für diese Arbeit benutzten JIP-Test-Parameter (Strasser et al. 2000, Susplugas et al. 2000, Misra et al. 2001, Strasser et al. 2004). Erläuterungen siehe Text

Parameter	Berechnung	Beschreibung
<b>Abgeleitete oder gemessene Fluoreszenzparameter</b>		
$F_O$		Grundfluoreszenz
$F_M$		Maximale Fluoreszenz
$V_J$	$(F_{2ms}-F_O)/(F_M-F_O)$	Relative variable Fluoreszenz nach 2 ms

$V_i$	$(F_{30ms}-F_o)/(F_M-F_o)$	Relative variable Fluoreszenz nach 30 ms
$dV/dt_o (=Mo)$	$4(F_{300ms}-F_o)/(F_M-F_o)$	Maß mit der die Schließung der RC's erfolgt
$Sm$	$Area/(F_M-F_o)$	Maß für die Energie, die zum Schließen der RC's notwendig ist
$N$	$Sm Mo (1-V_j)$	Maß für die Anzahl der $Q_A$ -Reduktion
<b>Spezifische Energieflüsse pro Reaktionszentrum (RC)</b>		
$ABS/RC$	$(TR_o/RC)/\phi_{P_o}$	Von Chlorophyllmolekülen absorbierte Photonen pro RC
$TR_o/RC$	$\phi_{P_o} (ABS/RC)$	Trapping-Energie pro RC
$ET_o/RC$	$(TR_o/RC) \psi_o$	Elektronentransport pro RC
$DI_o/RC$	$(ABS/RC)/(TR_o/RC)$	Dissipierte Anregungsenergie pro RC
<b>Ausbeute der Energieflüsse</b>		
$\phi_{P_o}$	$(TR_o/RC)/(ABS/RC)$	Ausbeute der primären Photochemie
$\psi_o$	$(ET_o/RC)/(TR_o/RC)$	Fähigkeit der Trapping-Energie, Elektronen weiter $Q_A^-$ zu bewegen
$\phi_{E_o}$	$(ET_o/RC)/(ABS/RC)$	Quantenausbeute, Elektronen in die Transportkette zu bewegen
$\phi_{D_o}$	$(DI_o/RC)/(ABS/RC)$	Ausbeute dissipierter Anregungsenergie
<b>Ratenkonstanten</b>		
$k_P$	$ABS/CS * k_F * (1/F_o - 1/F_M)$	Photochemische Ratenkonstante
$k_N$	$(ABS/CS) * k_F * (1/F_M)$	Nichtphotochemische Ratenkonstante
Sum k	$k_N + k_P$	Summe der Ratenkonstanten
<b>Dichte der Reaktionszentren</b>		
$RC/ABS$	$\phi_{P_o} / (TR_o/RC)$	Dichte der RC pro Chlorophyllmolekül
<b>Funktionsfähigkeit des Photosyntheseapparates</b>		
$\phi_{P_o}/(1-\phi_{P_o})$		Maß für die Lichtreaktion
$\psi_o/(1-\psi_o)$		Maß für die Dunkelreaktion
$PI_{ABS}$	$(RC/ABS) [\phi_{P_o}/(1-\phi_{P_o})] [\psi_o/(1-\psi_o)]$	Photosyntheseleistungsfähigkeit pro Chlorophyllmolekül, Performance Index

In den Graphiken und Tabellen wurden folgende Schreibweisen für die Parameter gewählt:

$$\begin{aligned}
 F_o &= F_o; & F_M &= F_M; & dV/dt_o &= dV/dt_o; & V_j &= V_j; & V_i &= V_i; & \phi_{P_o} &= \phi_{P_o}; \\
 \psi_o &= \psi_o; & \phi_{E_o} &= \phi_{E_o}; & \phi_{D_o} &= \phi_{D_o}; & k_N &= k_N; & k_P &= k_P; & TR_o/RC &= \\
 TR_o/RC; & & ET_o/RC &= ET_o/RC; & & & DI_o/RC &= DI_o/RC; & & & \phi_{P_o}/(1-\phi_{P_o}) \\
 &= \phi_{P_o}/(1-\phi_{P_o}); & \psi_o/(1-\psi_o) &= \psi_o/(1-\psi_o); & & & PI_{ABS} &= PI(ABS).
 \end{aligned}$$

### 1.6.3. Präsentationen von JIP-Test-Parametern – Biolyzer-Programm

Die Auswertungen des JIP-Tests liefert das Biolyzer-Programm, entwickelt im Bioenergetischen Labor in Genf, Schweiz. Das Programm (Maldonado-Rodriguez) liefert verschiedene Darstellungen der Daten zur schnellen Fluoreszenzkinetik. Anwendungsmöglichkeiten und Beschreibungen unterschiedlicher Daten-Präsentationen werden in diesem Kapitel erläutert, auch wenn in dieser Arbeit nur die Radarplots Anwendung finden.

#### 1.6.3.1. Radarplot

Relativwerte ausgesuchter Daten zur Chlorophyll-Fluoreszenz können im Netzdiagramm, oder auch Radarplot genannt, dargestellt werden.

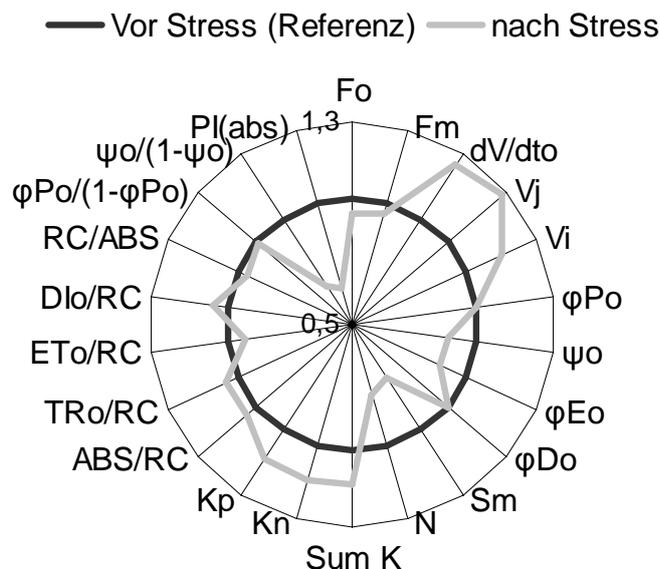


Abbildung 17: Veränderungen der Chlorophyll-Fluoreszenz zusammengefasst im Radarplot mit ausgewählten JIP-Parametern, Beispiel

Diese Darstellung ist eine für viele Photosynthese-Parameter anzuwendende Beschreibung, die Unterschiede in Struktur und Funktion von Blattproben verdeutlicht.

Die Präsentation liefert eine direkte Visualisierung vom Zustand der Probe im Vergleich. Dabei werden die zusammengefassten Werte zweier oder mehrerer Datenreihen verglichen, wobei Veränderungen in Werten relativ zu einem Referenzwert (= 1) dargestellt werden.

### 1.6.3.2. Pipeline-Modelle, Membran- und Blattmodell

Zur Visualisierung der Energieflüsse liefert das Biolyzer-Programm sogenannte Pipeline-Modelle, die Informationen über Struktur und Funktion des Photosynthese-Apparates enthalten. Es gibt zwei graphische Darstellungen (Abbildung 18), das Membranmodell (links) drückt die spezifischen Energieflüsse einer einzelnen photochemischen Einheit (pro RC) aus, die in eine Chloroplastenmembran eingebettet wurde.

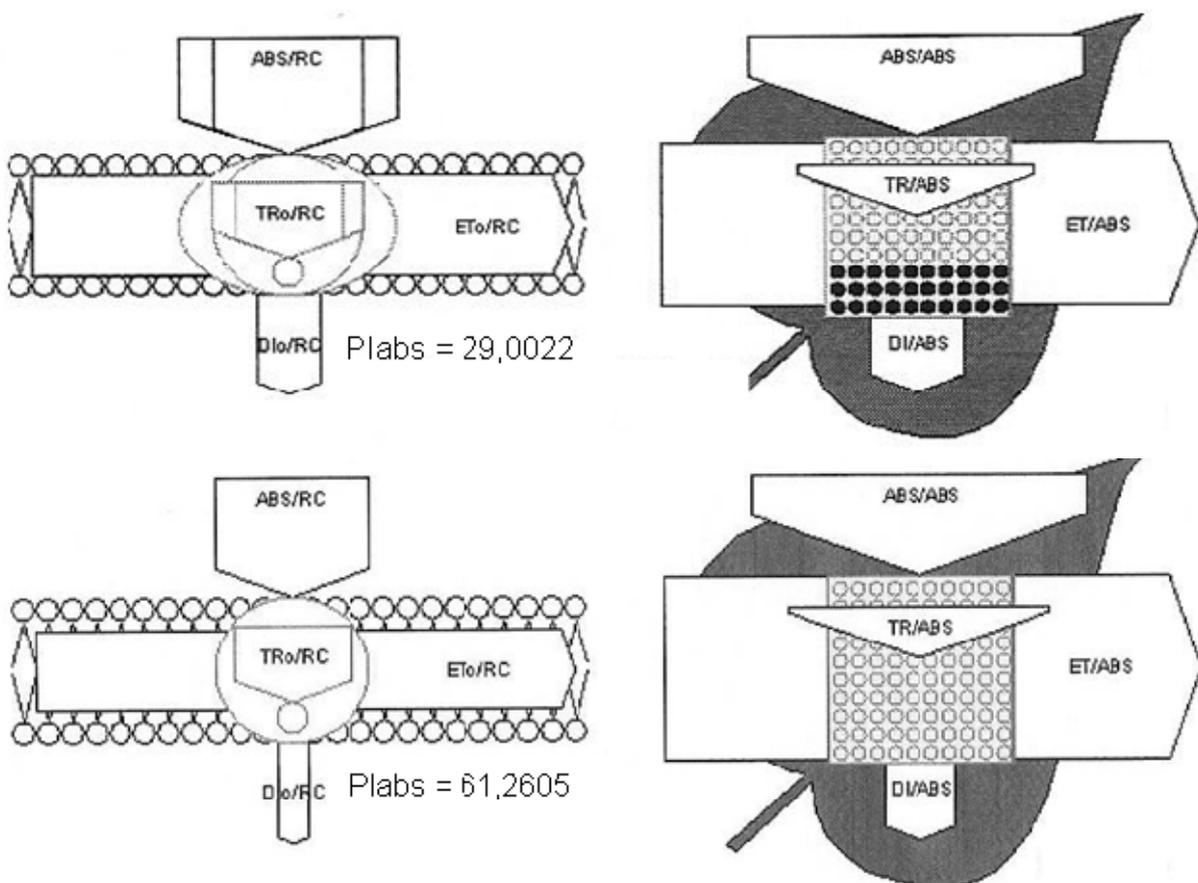


Abbildung 18: Graphische Darstellung der Energieflüsse im Photosystem II. Links die spezifischen Energieflüsse pro Reaktionszentrum im Membranmodell und rechts die phänomenologischen Energieflüsse pro Blattfläche im Blattmodell. Die relativen Analysenwerte jedes einzelnen Energieflusses bzw. jeder Aktivität werden mittels angemessener Breite des entsprechenden Pfeils ausgedrückt. Die kleinen weißen

Kreisflächen (RC/ABS) im Blattmodell zeigen aktive  $Q_A$  reduzierende Reaktionszentren, schwarze Kreisflächen demonstrieren nicht- $Q_A$  reduzierende Reaktionszentren; die Blattfarbe symbolisiert die Chlorophyll-Dichte (ABS/CS).

Das rechte Modell wird als Blattmodell bezeichnet, es zeigt die phänomenologischen Flüsse pro Blattfläche (pro CS). Diese Aufzeichnung aller hergeleiteten Energieflüsse wird bei Zeitverläufen oder beim Vergleich unterschiedlicher Umweltbedingungen benutzt. Die relativen Analysenwerte jedes einzelnen Energieflusses bzw. jeder Aktivität werden mittels angemessener Breite des entsprechenden Pfeils ausgedrückt.

Das Membranmodell (Abbildung 18 links) zeigt die durchschnittliche Antennengröße als ABS/RC an. In der oberen Darstellung zeigt dieser Parameter einerseits die Chlorophyll-Antennen im Photosystem II-Komplex mit aktiven Reaktionszentren an, die zur Reduktion von  $Q_A$  führen, und gleichzeitig die Chlorophyll-Antennen mit nicht-reduzierenden  $Q_A$ -Reaktionszentren (Kapitel 1.5.3.3.), auch stille Reaktionszentren genannt, die als abgeteilte äußere Fläche am Pfeil erscheinen. Auch in der Trapping-Energie ( $TR_O/RC$ ) der photosynthetischen Einheit und im Oval um  $TR_O/RC$  herum, welches die Dichte der aktiven Reaktionszentren ( $RC/CS_O$ ) angibt, zeigen sich äußere abgeteilte Flächen, die die stillen Reaktionszentren angeben. Diese nicht- $Q_A$  reduzierenden Reaktionszentren sind nicht in der Lage, die Anregungsenergie für die Photochemie zu speichern, sondern geben die gesamte Anregungsenergie als Wärme ab. Somit ist der Pfeil der dissipierten Energie in der oberen Darstellung breiter als im unteren Membranmodell.

Im Blattmodell (Abbildung 18 rechts) werden die photochemischen Einheiten als Kreise dargestellt. Eine geringe photosynthetische Ausbeute wird als nicht- $Q_A$  reduzierende photochemische Einheit interpretiert und als schwarze Kreisfläche demonstriert. Somit repräsentiert das Blattmodell die Flüsse der gemessenen Antennengröße, die eine quantitative Aussage photochemischer Einheiten (RC/ABS) beinhaltet. Hinter den weißen Kreisflächen verbirgt sich der Parameter RC/ABS. Auch in dieser Darstellung geben die Flächengrößen der Pfeile Auskunft über den jeweiligen Energiefluss. Das Blattmodell zeigt zusätzlich Unterschiede in der Chlorophyll-Konzentration pro gemessene Blattfläche anhand der Blattfärbung auf. Letztlich wird die Leistungsfähigkeit der Licht- und Dunkelreaktionen ( $PI_{ABS}$ ) mit dieser Darstellung aufgezeigt.

### 1.6.3.3. $Q_A$ reduzierende und nicht- $Q_A$ reduzierende Reaktionszentren

Durch einen heute noch unbekanntem Mechanismus sind die angeregten,  $Q_A$  reduzierenden Reaktionszentren (P680\*; weiße Kreisflächen im Blattmodell in Abbildung 18) zum Teil nicht

in der Lage, Elektronen an den Elektronenakzeptoren  $Q_A$  zu übertragen, sondern die Anregungsenergie direkt als Wärme abzugeben (nicht- $Q_A$  reduzierende Reaktionszentren oder auch stille Reaktionszentren genannt; schwarze Kreisflächen im Blattmodell in Abbildung 19).

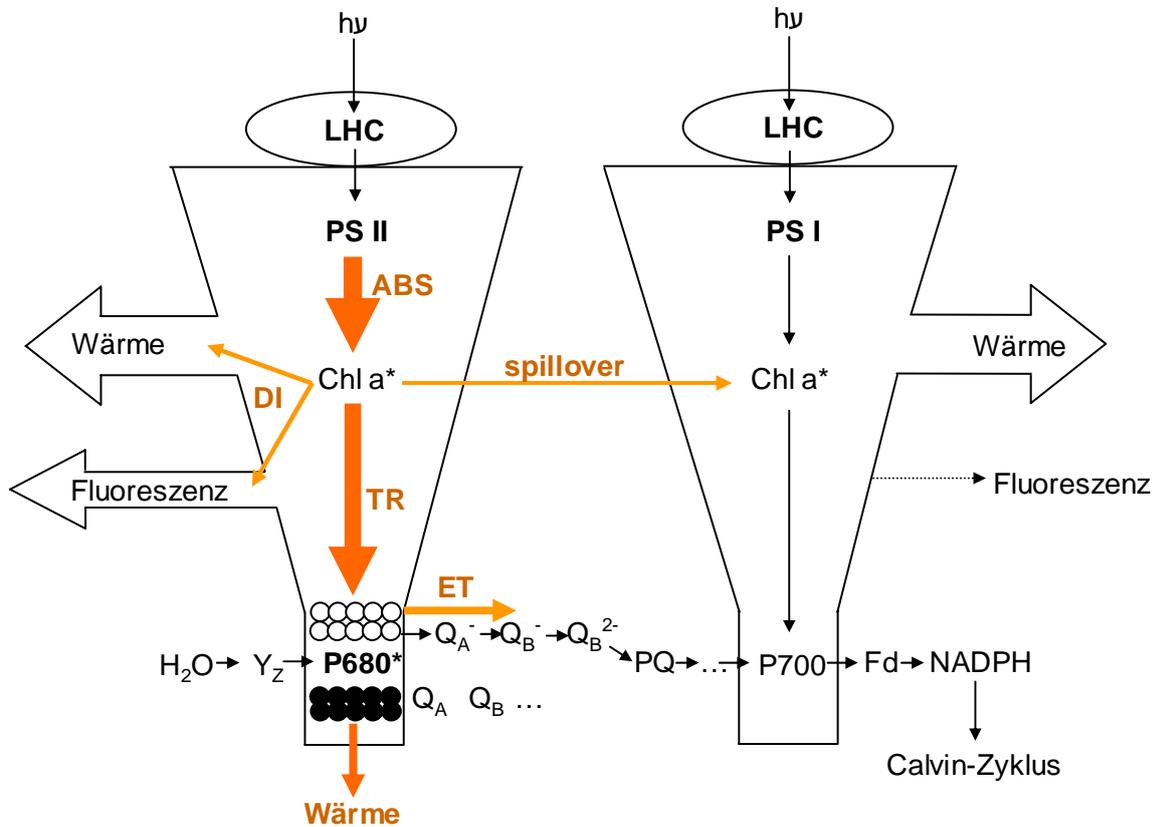


Abbildung 19: Schematische Darstellung der Energieumwandlung und des Elektronentransports der Photosynthese (Schreiber & Bilger 1994) mit Energieflüssen der Anregungsenergie im PS II (Strasser et al. 2000) und  $Q_A$  reduzierenden (weiße Kreisflächen) und nicht- $Q_A$  reduzierenden Reaktionszentren (schwarze Kreisflächen). Erklärungen siehe Text.

Die Abbildung 19 ist keine Präsentation des Biolyzer-Programms, sie dient in diesem Zusammenhang ausschließlich der weiteren Übersicht zur Darstellung des Elektronentransports.

Die Doppelfunktion der angeregten Reaktionszentren ermöglicht eine reversible Regulation der biochemischen Vorgänge, um optimale Zustände auch unter Stressbedingungen zu erreichen. Dieser Mechanismus zur Regulation der Reaktionszentren hat den Vorteil, dass die stillen, nicht- $Q_A$  reduzierenden Reaktionszentren jederzeit in aktive,  $Q_A$  reduzierende Reaktionszentren umgewandelt werden können, ohne dass es zu dauerhaften Beeinträchtigungen im Elektronentransport kommt.

Die Abbildung 19 demonstriert den Verlauf der absorbierten Lichtenergie über  $Q_A$  reduzierende Reaktionszentren. Der Elektronentransport fließt fortlaufend. Außerdem wird der Weg der Anregungsenergie, die in nicht- $Q_A$  reduzierende Reaktionszentren fließt aufgeführt. Der Elektronentransport dieser RC ist unterbrochen, die angeregte Energie wird als Wärme von den stillen RC's abgegeben.

#### 1.6.3.4. Relative variable Fluoreszenz

Die einzelnen Messwerte dunkel adaptierter Proben, die konstantem sättigendem aktinischem Licht ausgesetzt wurden, liefern nach der Erfassung mit dem hohen zeitauflösendem Pea-Fluorimeter die auch schon in Abbildung 11 aufgeführte Induktionskurve bei logarithmischer Einteilung der Zeitskala.

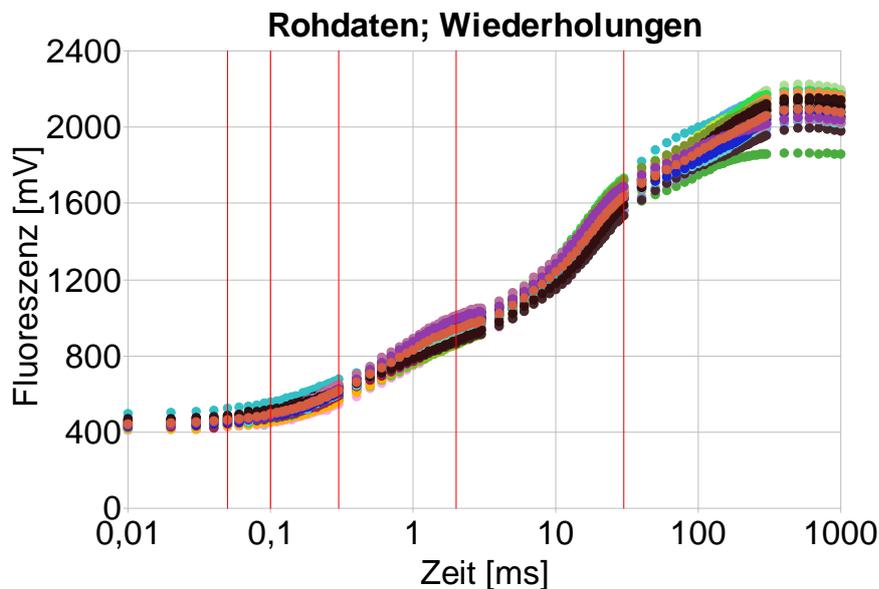


Abbildung 20: Mit dem HandyPea aufgenommener Verlauf der schnellen Chlorophyll-Fluoreszenz vieler Messungen bei logarithmischer Zeitskala

Die Mittelwerte der Rohdaten (Abbildung 20) zeigen Induktionskurven, die Unterschiede im Fluoreszenzverlauf aufweisen können. Unter hohem Lichteinfluss zeigen die Induktionskurven bei logarithmischer Zeitskala (Abbildung 21) einen Fluoreszenzverlauf mit zwei Stufen zwischen der anfänglichen und maximalen Fluoreszenz nach 2 ms und 30 ms, so dass die Fluoreszenzkurven in bestimmte OJIP-Stufen eingeteilt werden können (Kapitel 1.5.1.3.).

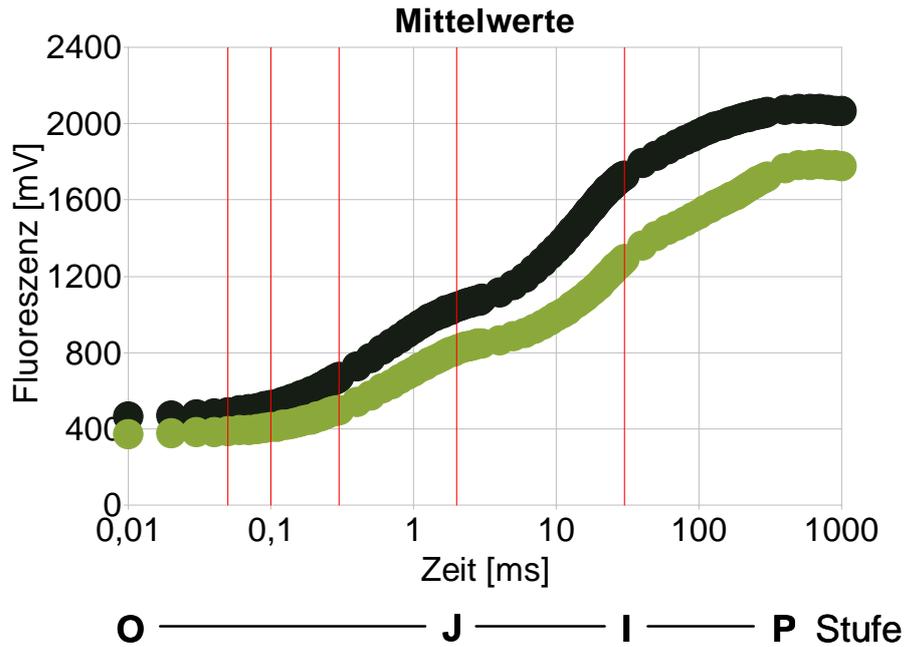


Abbildung 21: Mittelwerte der mit dem HandyPea aufgenommenen Rohdaten zur schnellen Chlorophyll-Fluoreszenz, aufgezeigt bei logarithmischer Zeitskala und mit OJIP-Phasen

Diesen Stufen können unterschiedliche Redoxzustände der Elektronenakzeptoren und photochemische Reaktionen zugewiesen werden, wie in Kapitel 1.5.1.4. beschrieben.

Die üblichen Kurvenverläufe zur Chlorophyll-Fluoreszenz werden als relative variable Fluoreszenz dargestellt, wobei im Vergleich ebenfalls Rückschlüsse auf die Redoxstufen der Elektronenakzeptoren gezogen werden können.

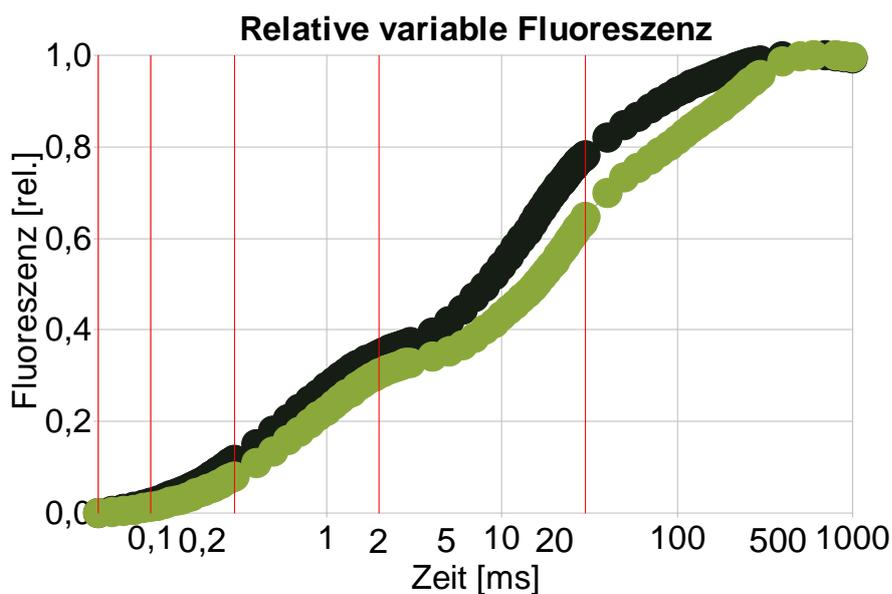


Abbildung 22: Unterschiede der relativen variablen Fluoreszenz

Wird die Abbildung 22 zur relativen variablen Fluoreszenz gesplittet (Abbildung 23), können die multiple turnover Bereiche, die mehrfache Reduktion von  $Q_A$  im Fluoreszenzbereich bis 2 ms (W-Normalisierung) und der multiple turnover Bereich während der O-P-Phase (V-Normalisierung) dargestellt werden (siehe Kapitel 1.5.2.4.).

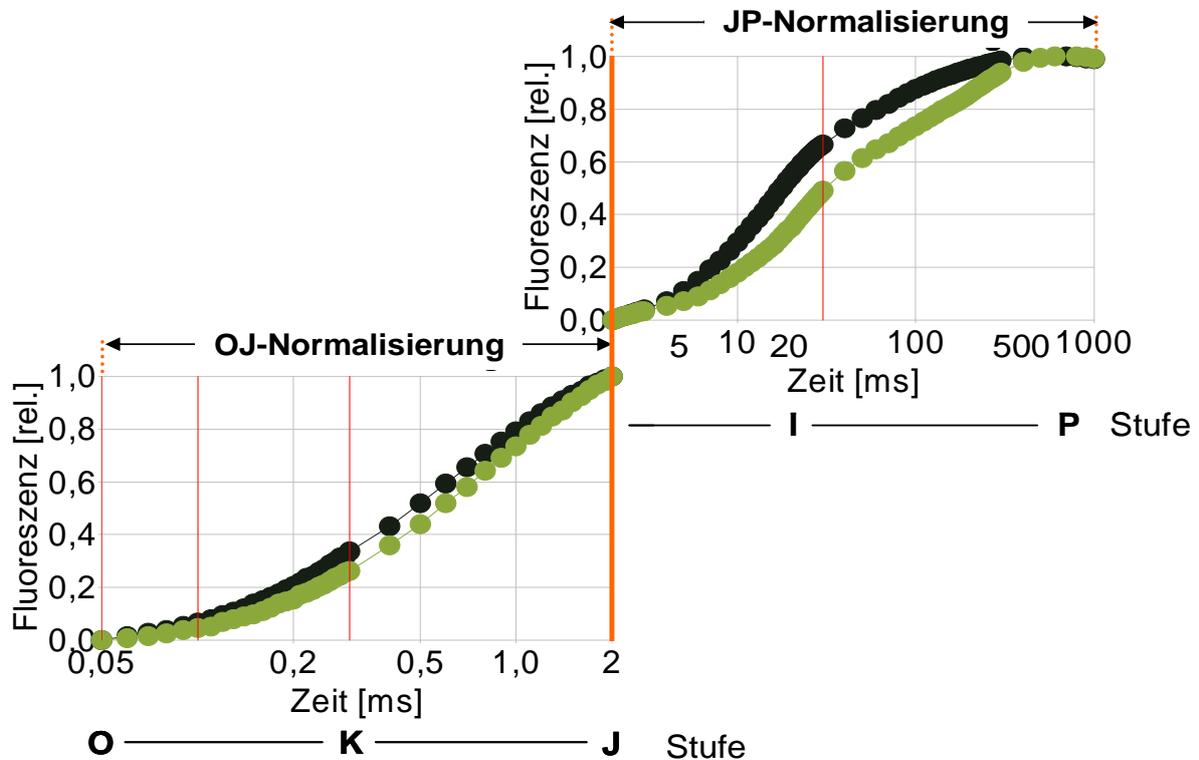


Abbildung 23: OJ-Normalisierung (O-J Phase) und JP-Normalisierung (J-P-Phase; multiple turn over von  $Q_A$ ) der relativen variablen Chlorophyll-Fluoreszenz.

## **2. Material und Methoden**

Dieses Kapitel widmet sich der technischen Umsetzung der im vorigen Kapitel dargestellten Möglichkeiten zur Erfassung von Pflanzenstress.

### **2.1. Feldversuche Göttingen**

Die Feldversuche in Göttingen wurden als Exaktversuche in vierfacher Wiederholung über zwei Jahre (2003 und 2004) durchgeführt. Sie dienten dazu, an ausgesuchten Winterweizensorten die Stressanfälligkeit für physiologische Blattflecken zu beobachten, und Unterschiede im antioxidativen sowie oxidativen Status der Pflanzen herauszuarbeiten.

#### **2.1.1. Standort**

In beiden Jahren lagen die Versuche in Göttingen-Geismar auf dem Wüsten Land, eine Versuchsfläche des Versuchsguts Reinshof der Universität Göttingen. Die Fläche liegt 149 m ü. NN

Die durchschnittliche Jahrestemperatur dieses Versuchsstandortes beträgt 8,7 °C, die Jahresniederschläge betragen im Mittel 645 mm. Die Hauptwindrichtung ist Westen, es gibt ca. 300 frostfreie Tage im Jahr und etwa 250 Vegetationstage. Die verfügbaren Feldarbeitstage belaufen sich in dieser Region auf 300 Tage.

Die Bodenart des Wüsten Landes ist ein lehmiger Verwitterungsboden mit sehr tiefen Untergründen und der Ackerzahl 82. Der Bodentyp ist Parabraunerde-Tschernosem aus dem Ausgangsgestein Lößlehm über Tonsteinersatz (NLfB 2004).

#### **2.1.2. Produktionstechnik**

Angaben zur Durchführung der Feldversuche in 2003 und 2004 sind in Tabelle 4 aufgeführt.

Herbizide, Wachstumsregler und N-Düngung wurden 2003 und 2004 flächig mit der Feldspritze bzw. Düngerstreuer ausgebracht.

Tabelle 4: Allgemeine Angaben zur Produktionstechnik auf der Versuchsfläche „Auf dem Wüsten Land“, Göttingen

	2003		2004	
Vorfrucht	WW		WW	
Sorte	Batis / Drifter / Ritmo		Batis / Drifter / Ritmo	
Saattermin	14.10.2002		01.10.2003	
Saatstärke	350 Kö/m <sup>2</sup>		350 Kö/m <sup>2</sup>	
Nmin	05.03.2003	45 kg N/ha	05.03.2004	32 kg N/ha
N-Düngung KAS	19.03.03 – EC 21	60 kg N/ha	17.03.04 – EC 21	70 kg N/ha
	25.04.03 – EC 29	70 kg N/ha	28.04.06 – EC 31	65 kg N/ha
	28.05.03 – EC 39	70 kg N/ha	03.06.04 – EC 49	70 kg N/ha
Wachstumsregler	25.04.03 - EC 29	1,0 l/ha CCC	15.04.04 – EC 29	1,1 l/ha CCC
	08.05.03 – EC 32	0,5 l/ha CCC	29.04.04 – EC 31	0,5 l/ha CCC
Herbizide (l/ha, g/ha, ml/ha)	25.04.03 - EC 29	2,5 IPU 50 Biathlon 70 Primus	28.10.03 – EC 11	3,0 + 0,4 Malibu-Pack
Insektizide (l/ha)	-	-	01.06.04 – EC 49	0,2 Sumicidin alpha

Nach den Bodenuntersuchungen auf Grundnährstoffe und Spurenelemente konnten akute Nährstoffmängel ausgeschlossen werden.

Die Versorgung des Bodens mit den Grundnährstoffen Kalk, Magnesium, Phosphor und Kalium ist nach der Beurteilung optimal. Die Spurenelemente Mangan und Kupfer sind im Boden etwas angereichert, die Zinkversorgung ist relativ niedrig.

Tabelle 5: Ergebnisse der Bodenanalyse auf Grundnährstoffe und Spurenelemente der Versuchsfläche Wüsten Land, durchgeführt vom landwirtschaftlichen Labor Dr. Janssen GmbH am 18.03.2004

Nährstoff	Angaben in	Analyse-Ergebnis	Gehalts-klasse
Kalk	pH	6,9	
Magnesium	mg / 100 g TS	9	C

Phosphor	mg / 100 g TS	6	C
Kalium	mg / 100 g TS	12	C
Mangan	mg / kg TS	341	E
Kupfer	mg / kg TS	6,5	D
Zink	mg / kg TS	3,6	B

Die in dieser Arbeit untersuchten Versuchsvarianten waren Fungizid unbehandelte Kontrollpflanzen und zwei Fungizidvarianten, wobei die Fungizid-Mischpräparate Jewel Top (1 l/ha) und Opera (1,5 l/ha) in beiden Testjahren laut Empfehlung zu EC 31-33 und zu EC 49/51 bei regional üblicher Aufwandmenge mit einer tragbaren, Druckluft betriebenen Parzellenspritze appliziert wurden. Die folgende Abbildung zeigt einen Auszug der Entwicklungsstadien (EC-Stadien) mit den zugehörigen Zeiträumen unter Feldbedingungen.

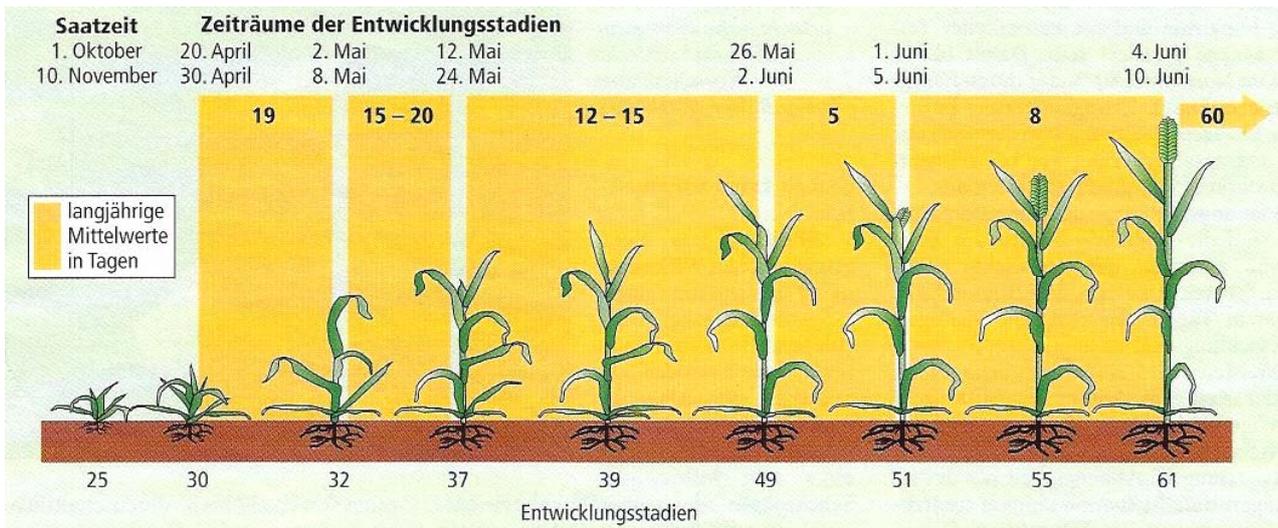


Abbildung 24: Auszug aus den Zeiträumen der Entwicklungsstadien. Die Tages- und Monatsdaten sind Zeiträume für zwei Saatzeiten, die im Raum Hannover 2002 ermittelt wurden. Die fett gedruckten Zahlen in den gelben Kästen geben langjährige Mittelwerte in Tagen an. Die Entwicklungsstadien sind am unteren Bildrand aufgeführt (Wolber 2003).

Die Definitionen der diese Arbeit betreffenden Entwicklungsstadien des Getreides zu den Untersuchungen hin werden in Tabelle 6 aufgeführt.

Tabelle 6: Auszug aus den Definitionen der Entwicklungsstadien (EC-Stadien) des Getreides (BBfLF 1979)

EC-Stadien	Definition
51-59	Beginn bis Ende Ähren-/Rispenschieben
61-69	Beginn bis Ende Blüte
71-77	Frühe bis späte Milchreife
81-91	Frühe Samenreife bis Vollreife

### 2.1.3. Winterweizensorten

Vom Göttinger Feldversuch wurden die Weizensorten Batis, Drifter und Ritmo für die Ergebnisse in der vorliegenden Arbeit ausgewählt, da diese drei Sorten unterschiedlichen Befall mit PLS aufwiesen. Im Anhang Abbildung 1 findet sich eine Tabelle mit den verwendeten Winterweizensorten, in der Qualitätsstufe, Züchter, sowie Angaben zu Reifezeit und Festigkeit gegen ausgesuchte Krankheiten (Freimann & Kauke 2004) und Versuchszweck in der vorliegenden Arbeit aufgeführt sind.

### 2.1.4. PLS-Bonituren

In den Versuchsjahren 2003 und 2004 wurden ab EC 55 (Mitte Ährenschieben), eine Woche nach der zweiten Fungizidbehandlung, einmal wöchentlich bis EC 81 (frühe Teigreife) Bonituren von physiologischen Blattflecken durchgeführt. Dazu wurde an F-, F-1- und F-2-Blättern prozentual das Auftreten von PLS sowie Pilzbefall zur gesamten grünen Blattfläche bestimmt (in Anlehnung an Brooks (1969) siehe Anhang Abbildung 2).

### 2.1.5. Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen – Feldversuche

Einmal wöchentlich im Zeitraum EC 55 bis EC 81 wurde auch die Chlorophyll-Fluoreszenz zur schnellen Kinetik mittels HandyPea gemessen. Mit dem HandyPea (Plant Efficiency Analyzer) der Firma Hansatech (Norfolk, England) wurde konstantes, aktinisches, gesättigtes Licht von 650 nm aus 3 Leuchtdioden auf ein für zuvor 25 min mit Blattclip abgedunkeltes adaptiertes Weizenblatt gegeben. Die Datenerfassung für die mit dem HandyPea-

Fluorimeter für 1 Sekunde aufgenommenen Fluoreszenzwerte verteilen sich auf 10  $\mu$ s-Einheiten innerhalb der ersten 2 ms und jede darauf folgende ms. Die Chlorophyllfluoreszenz-Bestimmung im Feld wurde immer morgens an vier intakten F-Blättern durchgeführt, ohne dass den Pflanzen bzw. Blättern Schaden zugefügt wurde.

In einem Vorversuch zur Abdunkelung der Weizenblätter mit Blattclips wurde die von Lu & Zhang (1999) angegebene Verdunkelungszeit von 30 min in zwei Testreihen im Feld überprüft. Innerhalb von 35 min sind im fünf Minuten Takt die Chlorophyll-Fluoreszenzen gemessen worden (Abbildung 25).

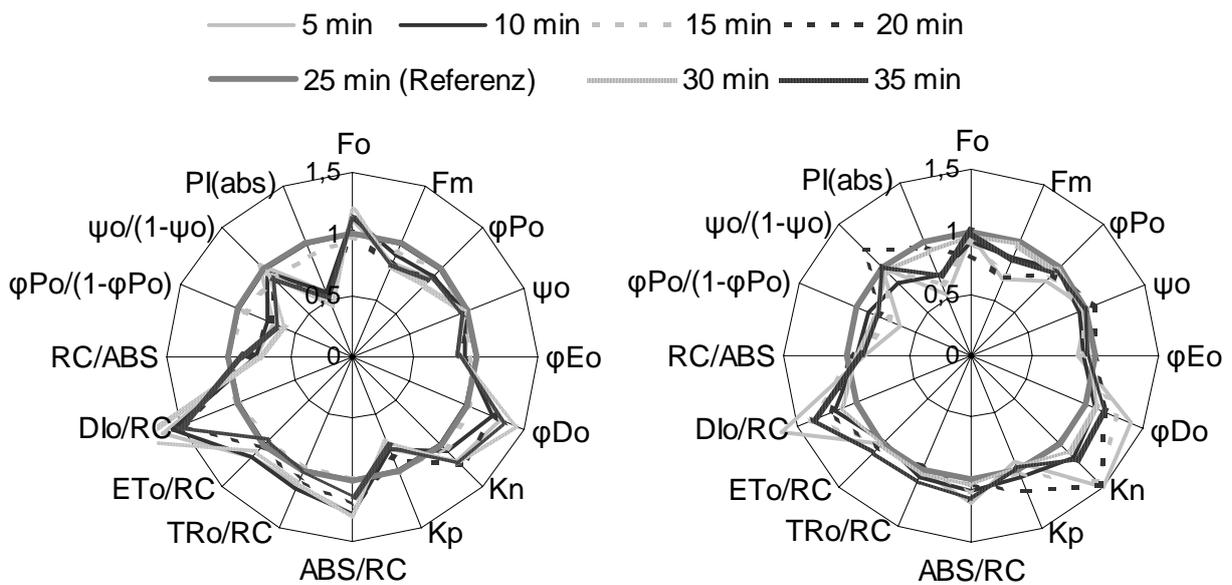


Abbildung 25: Veränderungen der Chlorophyll-Fluoreszenz mit zunehmender Abdunklungszeit der Weizenblätter in 2 Testreihen, zusammengefasst in Radarplots mit ausgewählten JIP-Parametern, wobei 25 min Abdunklung als Referenz dienen.

Im linken Radarplot ist zu erkennen, dass die photochemische Lichtnutzung ( $\phi_{Po}$ ) nach 25 min Abdunklung am höchsten ist. Dem entspricht die Funktionsfähigkeit des Photosyntheseapparates ( $PI_{ABS}$ ) und die stärkste Lichtreaktion ( $\phi_{Po}/(1-\phi_{Po})$ ). Die übrigen Messtermine zeigen einen ungünstigeren Verlauf der Photosynthese, erkennbar an der gesteigerten dissipierten Anregungsenergie ( $\phi_{Do}$ ;  $K_n$ ;  $D_{Io}/RC$ ) und den verringerten aktiven Reaktionszentren ( $RC/ABS$ ) zur  $Q_A$ -Reduktion. Die Wiederholung des Tests (rechter Radarplot) bestätigt eindeutig, dass nach 25 min Abdunklung der Blätter die höchste Photosyntheseleistung stattfindet. Aufgrund der Aussagen dieses Tests wurden die Weizenblätter 25 min vor der Messung mit Blattclips abgedunkelt.

### **2.1.6. Probenahme**

Fahnenblätter von Weizenpflanzen wurden nach der 2. Fungizidbehandlung für die Blattanalyse über alle Parzellen gleichmäßig verteilt entnommen. Je Versuchsansatz und Untersuchung wurden 6 Fahnenblätter (F-Blätter) von Haupttrieben pro Varietät gesammelt. Für die im Labor durchgeführten stressphysiologischen Untersuchungen wurden von den Feldversuchen in 2003 ab EC 55 bis EC 81, über fünf Wochen, einmal wöchentlich Blattproben zur Untersuchung entnommen, im Versuchsjahr 2004 wurden alle 3-4 Tage F-Blätter ab EC 55 ebenfalls über fünf Wochen gepflückt. Die frisch gesammelten Blätter wurden auf dem Feld in Kühlboxen aufbewahrt, im Institut sofort tiefgefroren. Der Zeitpunkt der Probenahme war immer morgens.

### **2.1.7. Kornertrag**

Zur Erfassung des Kornertrages wurde die gesamte Ernteparzelle gedroschen und gewogen. Rückstellproben von 100 g wurden im Trockenschrank für 24 h bei 100 °C getrocknet und nach Abkühlung zurückgewogen, um so die Kornerträge in dt/ha auf standardisierte 86 % Trockenmasse bzw. 14 % Feuchte zu berechnen.

## **2.2. Landessortenversuch Winterweizen Northeim 2004**

Im Versuchsjahr 2004 wurden im Landessortenversuch Winterweizen der Landwirtschaftskammer Hannover in Northeim / Höckelheim neben Bonituren zu PLS-Anfälligkeiten der im Feldversuch Göttingen vorgestellten Sorten zusätzlich Fahnenblattstellung, Anteil von Chlorosen am F-Blatt und Unterschiede physiologischer Blattflecken im Auftreten aller im Landessortenversuch vorgestellten Weizensorten aufgezeichnet. Die Beobachtungen wurden nach der 2. Fungizidgabe durchgeführt, der Exaktversuch wurde regionalüblich von der Landwirtschaftskammer geführt. Diese Beobachtungen sollten Aufschluss über mögliche PLS-Unterschiede an verschiedenen Weizensorten geben. Im Landesversuch wurden die E-Sorten Akteur, Bussard, Empire und Privileg, die A-Sorten Akratos, Alitis, Batis, Cubus, Elvis, Gaston, Magnus, Sobi, Tiger, Tommi und Türkis, die B-Sorten Buteo, Campari, Dekan, Drifter, Ephoros, Grommit, Hybrid, Limes, Ritmo, Skater, Solitär, Striker, Terrier und Tulsa und die C-Sorte Winnetou vorgestellt. Die einzelnen Weizensorten werden im Anhang Abbildung 1 näher vorgestellt.

### 2.3. Monitoring 2003 und 2004

Um das Auftreten von PLS zusätzlich an verschiedenen regionalcharakteristischen Standorten in Deutschland zu erfassen, wurde ein Monitoring an ausgewählten Weizensorten in 2003 und 2004 durchgeführt. Im Vordergrund stand der Einfluss unterschiedlicher Umweltbedingungen auf Weizen zur Ausprägung von PLS.

Die ausgewählten Standorte für das Monitoring sind in Abbildung 26 aufgeführt.



Abbildung 26: Monitoring-Standorte 2003 und 2004; Schleswig-Holstein (SH) – Böhnhusen; Mecklenburg-Vorpommern (MVP) – Walkendorf; Niedersachsen (N) – Morsum; Westfalen – Lohne und Erkelenz; Baden-Württemberg (BW) – Oberboihingen; Bayern – Oberding und Hüttendorf.

2003 ist der Standort Baden-Württemberg (BW) – Oberboihingen nicht bonitiert worden. In 2004 fehlen die Daten vom Standort Niedersachsen (N) – Morsum, da die Weizenblätter durch eine Harnstoffdüngung großflächig verätzt wurden.

Zu den drei Entwicklungszeiträumen Ährenschieben (EC 51-59) und Blüte (EC 61-69) bis zur Teigreife (EC 71-77) gab es pro Standort je einen Beprobungstermin. Das erste Jahr des Monitorings galt der allgemeinen Übersicht zur PLS-Anfälligkeit von Winterweizen. Aus diesen vorläufigen Boniturergebnissen war für die Auswahl der anfälligen und gering

anfälligen Sorten in 2004 neben der Häufigkeit des Anbaus auf den Versuchsstandorten ebenso eine hohe Anbaurrate in Deutschland entscheidend.

Zur Beprobung wurden Weizenpflanzen mit Wurzel gezogen, der Wurzelballen in feuchtes Papier und Plastik gewickelt und verschickt. Die Anzahl an Weizenpflanzen pro Sorte beschränkte sich auf 5 unbehandelte Pflanzen und 5 standortüblich mit Fungiziden behandelte Pflanzen.

Für die vorliegende Auswertung sind vier anfällige Weizensorten (Magnus, Skater, Terrier und Tommi) und zwei gering anfällige Sorten (Ritmo und Winnetou) gewählt worden. Die Verteilung der Standorte mit den ausgesuchten Weizensorten ist in Tabelle 7 aufgeführt.

Bonitiert wurden pro Sorte von 5 Haupttrieben die Blattetagen F, F-1 und F-2 auf PLS, Krankheiten und Anteil grüner Blattfläche von Kontrollpflanzen (unbehandelt) und Fungizid-behandelten Weizenpflanzen. Fungizideffekte und das zeitliche Auftreten von physiologischen Blattflecken sollten neben den PLS-Anfälligkeiten der untersuchten Sorten dargestellt werden. Die bonitierten Blattetagen sind relevant für Erträge und Qualitäten. Die Erfassung der grünen Blattfläche soll zeigen, ob die Fungizidapplikation einen Greening-Effekt verursachte.

Tabelle 7: Winterweizensorten für das Monitoring 2003 und 2004 von den Versuchsstandorten. Abkürzungen: MVP, Mecklenburg-Vorpommern; SH, Schleswig-Holstein; N, Niedersachsen; BW, Baden-Württemberg

	Bayern Oberding		Westfalen Erkelenz		MVP		SH		N	BW	Westfalen Lohne		Bayern Hüttendorf	
	03	04	03	04	03	04	03	04	03	04	03	04	03	04
Magnus	x	x				x	x	x			x	x	x	x
Ritmo			x	x	x	x		x	x	x	x	x		
Skater		x	x	x	x		x	x	x	x	x	x		x
Terrier	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Tommi	x	x		x		x		x	x	x			x	x
Winnetou	x	x		x			x			x	x	x		x

## 2.4. Feuchtekammer-Test zur Bestimmung von Blattflecken

Die Ausbildung nichtparasitärer Blattflecken besagt, dass kein biotischer Schaderreger zugeordnet werden kann. Beweise dafür liefern Auswuchsversuche nach der Methode der Feuchtekammer (Hoffmann et al. 1994). Zur Durchführung der Feuchtekammer-Tests wurden zu untersuchende Blattabschnitte für 3 Tage bei 24 °C unter UV-Licht auf feuchtem Papier in einer geschlossenen Petrischale aufbewahrt. Bei Pilzinfektionen der Blattabschnitte kommt es unter diesen Bedingungen zu Konidienbildung, sind die Blattflecken abiotischer Natur, treten keine Auswüchse nach der Inkubation bei relativ hoher Luftfeuchtigkeit auf.

Die folgenden Aufnahmen unter dem Binokular zeigen nach der Methode der Feuchtekammer keine Konidien und somit war die Ursache für die Nekrosenbildung abiotisch.

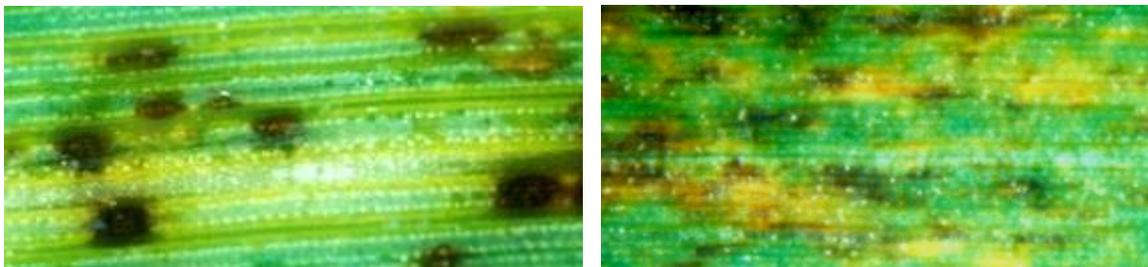


Abbildung 27: Nichtparasitäre Blattflecken nach 3 Tagen Feuchtekammer als Nachweis für die abiotische Ursache von PLS.

## 2.5. Gewächshausversuche

Parallel zu den Feldversuchen wurden Ozon- und Lichtversuche mit Sommerweizen unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus durchgeführt. Der Sommerweizen Nandu wurde für beide Versuchsansätze benutzt, Lichtversuche wurden mit der Sorte Triso erweitert. Die ausgewählte Sommerweizensorte Nandu gilt nach Lamprecht (2002) im Hinblick auf die Photosynthese-Aktivität als ozonsensitiv. Triso zeichnet sich durch gute Blattgesundheit aus.

### 2.5.1. Pflanzenanzucht

Die Pflanzen wurden einzeln in 9x9 cm Töpfe mit einer Mischung (3:1:1) aus Erde (Fruhstorfer Erde Typ T25, Struktur 1), Sand und Kompost (aus Eigenkompostierung des Instituts) im Gewächshaus kultiviert. Die Klimabedingungen im Gewächshaus betragen Temperaturen von 17-23 °C, 60-70 % relativer Luftfeuchte und einer Lichtausbeute der

Leuchtmittel SON-T plus 400 W von 8-10 klux bei 16 Stunden Tag- und 8 Nachtstunden Für optimale Wachstumsbedingungen wurden die Pflanzen bis zu zwei Mal täglich, je nach Bedarf, bewässert. Die Stickstoffgabe wurde wöchentlich mit 3 Körnern Kalkammonsalpeter pro Pflanze ab EC 31 durchgeführt. Kam es zu Befall mit echtem Mehltau (*Blumeria graminis*), wurde im Anfangsstadium Schwefel verdampft, bei fortgeschrittenem Mehltaubefall wurden die Weizenpflanzen im Abstand von einer Woche zweimal mit halber vorgeschriebener Aufwandmenge des Fungizids Zenit M (Syngenta) behandelt. Zenit M ist ein systemisch wirkendes Fungizid gegen echten Mehltau, das den Wirkstoff Fenpropidin in der Konzentration 750 g/l enthält. Es wird mit einer sehr guten Wirkung gegen bereits vorhandene Infektionen (kurativ) beschrieben und verhindert Neuinfektionen (protektiv).

### **2.5.2. Fungizidapplikation**

Die Gewächshausversuche wurden mit den Einzelwirkstoffen Epoxiconazol, Kresoxim-Methyl und Pyraclostrobin geführt. Diese Wirkstoffe sind in den in Feldversuchen eingesetzten Kombipräparaten enthalten.

Zur besseren Aufnahme der Fungizide von Gewächshauspflanzen wurden 2 Tage vor Fungizidbehandlung alle Pflanzen (auch Kontrollpflanzen) in Feuchtekammern gestellt. Die relative Luftfeuchte wurde auf 80-90 % reguliert. Zu EC 47/49 wurden die Pflanzen in der Spritzkabine behandelt, für die Pyraclostrobin- und die Epoxiconazol-Variante wurde je 1 l/ha Wirkstoff und 0,25 l/ha von Kresoxim-Methyl auf die Pflanzen appliziert. Die Ausbringung des jeweiligen Fungizids erfolgte mit Hilfe einer Einzeldüsen-spritzapparat unter Verwendung des Düsentyps 650067 (65° Spritzwinkel und 0,067 Gallonen/min (1 Gallone = 3,7852 l)) der Fa. Lechler. Der Abstand des Spritzbalkens betrug 50 cm zur Oberfläche des Pflanzenbestandes. Anschließend wurden die Pflanzen für 3 weitere Tage in die Feuchtekammer gestellt, wobei Kontroll- und die jeweiligen Fungizidpflanzen in unterschiedlichen Kabinen standen.

### **2.5.3. Stressoren im Gewächshaus**

In Gewächshausversuchen sollten Fragen zu Stressorwirkungen von Ozon und Licht auf Pflanzen sowie Fungizidwirkungen nach Ozonstress entgegen den Stressfaktoren beantwortet werden.

### 2.5.3.1. Ozonbehandlung

Drei Tage nach der Fungizidbehandlung (EC 51/55) wurde eine Hälfte der Pflanzen in Ozon-Begasungskabinen gestellt, die andere Hälfte in eine Kabine mit Aktivkohle gefilterter Reinluft. Beide Kabinen stehen in einem Klimaraum, der die in Kapitel 2.5.1. beschriebenen klimatischen Bedingungen aufweist. Nur die Lichtintensität wurde auf 15 klux erhöht. Die Ozondosierung in der Ozonkabine erfolgte für die Weizenpflanzen mit maximal 90 ppb Ozon für 7 Stunden an 5 aufeinander folgenden Tagen in der Zeit von 8.00 bis 15.00 Uhr. Die Ozongeneration erfolgte mit einem Ozongenerator (Fischer 500M) aus reinem Sauerstoff. Das entstandene Ozon wurde in die Kammer geleitet. Die Ozonkonzentration wurde mit einem UV-Absorptions-Detektor der Firma Dasibi Modell 1008-AH gemessen. Um Kabineneffekte auszuschließen, wurden die Pflanzen jeden Tag vor der Ozonbegasung umgesetzt.

### 2.5.3.2. Lichtbehandlung

Zu EC 55 wurden Sommerweizenpflanzen der Sorten Nandu und Triso unbehandelt Dauerlichtstress ausgesetzt. Die klimatischen Bedingungen glichen der Pflanzenanzucht, nur Lichtintensität und Lichtspektrum wurden variiert. Die Pflanzen wurden mit 28 klux an 15 aufeinander folgenden Tagen durchgehend bei Tag und Nacht bestrahlt. Dabei wurden zwei unterschiedliche 400 W Leuchtmittel eingesetzt: Eine Natriumhochdruckdampf Lampe SON-T agro (Philips), farbkorrigiert mit rötlichem Spektrum, und eine Metallhalogendampf Lampe HQI-T Plus (Philips), bei der das Spektrum hauptsächlich im Blaubereich liegt. Die eine Hälfte der Pflanzen wurde mit Rotlicht bestrahlt, die andere Hälfte der Pflanzen wurden dem Blaulicht ausgesetzt.

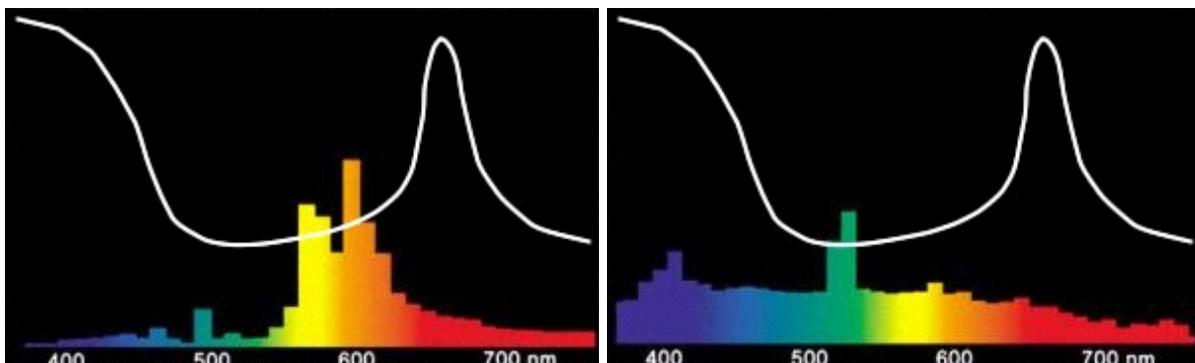


Abbildung 28: Spektralverteilung von Natriumdampf Lampen (links) und Metallhalogendampf Lampen (rechts). Die in den Strahlungsdiagrammen eingezeichnete weiße Linie entspricht der Normlinie pflanzlicher Photoaktivität.

Die Spektralverteilung der beiden Lampen zeigt deutliche Unterschiede. Die Natriumdampflampe SON-T agro (links) hat gegenüber der Metallhalogendampflampe HQI-T Plus (rechts) ein deutlich erhöhtes rotes Spektrum und einen verringerten Blaulichtanteil.

### **2.5.4. Chlorophyll-Fluoreszenz**

Die Chlorophyll-Fluoreszenz der für 25 min mit Blattclips abgedunkelten, intakten Fahnenblätter von Weizenpflanzen wurde immer morgens mit dem HandyPea bei Sättigungslicht von 650 nm gemessen.

### **2.5.5. Probenahme**

Drei und vierzehn Tage nach dem 5 Tage dauernden Ozonstress wurden zusätzlich stressphysiologische Untersuchungen an Blättern durchgeführt. Aufgrund von Platzmangel in der Ozon-Begasungskabine bzw. der Kabine mit Aktivkohle gefilterten Reinluft war die Pflanzenanzahl auf 6 Pflanzen pro Varietät und Messtermin beschränkt. Das hatte zur Folge, dass auch Blätter von Nebentrieben zu Untersuchungen herangezogen werden mussten.

- Haupttrieb: Vom Haupttrieb wurden das Fahnenblatt zur  $H_2O_2$ -Mengenbestimmung genutzt, am F-1-Blatt wurde die Enzymextraktion durchgeführt.
- Nebentrieb 1. Ordnung: Das Fahnenblatt vom Nebentrieb 1.Ordnung wurde für die Leakage-Messung verwendet.

Der Zeitpunkt der Probenahme war auch hier immer morgens.

Die so gesammelten frischen Blätter wurden den nachfolgend dargestellten stressphysiologischen Blattanalysen unterzogen.

## **2.6. Blattanalysen**

Im folgenden Abschnitt werden die Meßmethoden zur Beschreibung pflanzlicher Prozesse bei abiotischem Stress näher vorgestellt.

### 2.6.1. Enzymextrakt-Gewinnung

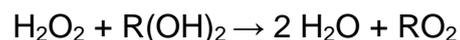
Für die Enzymextraktion wurde 0,1 g Blattgewebe mit flüssigem Stickstoff versetzt, in gefrorenem Zustand fein zermörkert und mit 2 ml 50 mM Phosphatpuffer pH 7,8 und 1 % Polyvinylpyrrolidone versetzt. Der Extrakt wurde bei 15000 U/min für 30 min bei 4 °C zentrifugiert. Der Überstand (Enzymextrakt) enthielt die löslichen Proteine und wurde für die Bestimmungen der Aktivitäten und Mengen verschiedener Enzyme herangezogen.

### 2.6.2. Messungen zu Enzymaktivitäten

Die Messungen der Enzymaktivitäten beziehen sich auf die eingewogene Frischmasse des Pflanzenmaterials.

#### 2.6.2.1. Ascorbat-Peroxidase-Aktivität

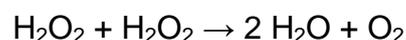
Die Aktivität der Ascorbat-Peroxidase (APX) wurde spektrophotometrisch anhand der Abnahme der Absorption bei 290 nm, verursacht durch die Oxidation von Ascorbat, bestimmt (Nakano & Asada 1981). Die Reaktionsansätze enthielten in 1 ml Gesamtvolumen 50 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> / Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – Puffer pH 7,0, 7,5 mM Ascorbinsäure, 20 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Reaktionsstarter) und 50 µl Enzymextrakt. Die Abnahme der Extinktion innerhalb einer Minute nach Reaktionsstart wurde am Küvettenphotometer Spectronic 601 bestimmt.



Die Ascorbat-Peroxidase-Aktivitäten der Proben bei 290 nm wurden mit einem Extinktionskoeffizienten von 2,8 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> berechnet.

#### 2.6.2.2. Katalase-Aktivität

Die Aktivität der Katalase wurde durch den Verbrauch von Wasserstoffperoxid bei 240 nm spektrophotometrisch verfolgt (Aebi 1983). Die Ansätze enthielten in 1 ml Gesamtvolumen 50 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> / Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – Puffer pH 7,0, 27 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Reaktionsstarter) und 50 µl Enzymextrakt. Die Extinktionsabnahme wurde direkt nach Reaktionsstart für 1 Minute am Küvettenphotometer Spectronic 601 gemessen.



Mit einem Extinktionskoeffizienten von  $39.4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  für  $\text{H}_2\text{O}_2$  bei 240 nm wurde die Aktivität ermittelt.

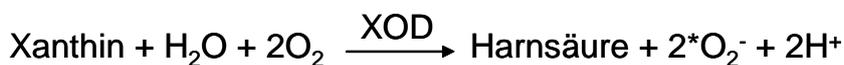
### 2.6.2.3. Peroxidase-Aktivität

Die Peroxidase-Aktivität wurde mittels Braunfärbung von Guaiacol (2-Methoxy-Phenol) colorimetrisch erfasst (Tiedemann 1997). 200  $\mu\text{l}$  Reaktionslösung zur Untersuchung enthielten 25 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4$  – Puffer pH 7,0, 22  $\mu\text{l}$  0,05 % Guaiacol, 65,4  $\mu\text{l}$  10mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  und 10  $\mu\text{l}$  Enzymextrakt. Nach 5 min Inkubation bei Raumtemperatur im Dunkeln erfolgte die photometrische Messung bei 450 nm (MRX, DYNEX-Technologies). Die Peroxidase-Aktivität wurde mittels Eichgerade, die durch Verdünnung einer 10 mmol/l Wasserstoffperoxid-Stammlösung mit 200  $\mu\text{l}$  POX-Lösung (Peroxidase aus Meerrettich, 2500 Einheiten/ml) erstellt wurde, berechnet. Die POX-Aktivität wurde in Absorptionseinheit (Absorptionsvermögen \* 1000) pro Gramm Frischmasse angegeben (units/g FM).

Die eigentliche katalytische Reaktion von Peroxidasen besteht in der Übertragung des Wasserstoffs von einem Donor auf Wasserstoffperoxid. Im Falle des Guaiacols erfolgt eine Dehydrierung des Substrats mit anschließender Übertragung des Wasserstoffs auf Wasserstoffperoxid. Dabei wird Guaiacol zu Oktadehydro-tetraquaiacol (braune Färbung) und Wasserstoffperoxid zu Wasser umgesetzt (Bergmeyer 1970).

### 2.6.2.4. Superoxid-Dismutase-Aktivität

Die von Elstner et al. (1983) beschriebene Methode zur Bestimmung der SOD-Aktivität wurde abgeändert durch das Modellsystem Xanthin / Xanthinoxidase (XOD) zur Generierung von Superoxidradikalen (Udilova 1999).



1000  $\mu\text{l}$  Inkubationslösung enthielten 100  $\mu\text{l}$  10 mM Hydroxylammonium-Chlorid-Lösung, 100  $\mu\text{l}$  0,6 mM Xanthin-Lösung, 20  $\mu\text{l}$  Enzymextrakt, 100  $\mu\text{l}$  Xanthinoxidase (1 Einheit/mg Protein) und 50  $\mu\text{M}$  Natriumphosphatpuffer pH 7,8. Diese Lösung wurde 30 min bei Raumtemperatur inkubiert.

Als Kontrolle mit maximaler Absorption wurde eine Inkubationslösung ohne Enzymextrakt angesetzt.

Für die Farbreaktion wurden 100 µl Inkubationslösung in 96-well-Mikrotiterplatten überführt und mit 100 µl 17 mM Sulfanilamid-Lösung sowie 100 µl 7 mM Naphthylethyldiamine-Dihydrochlorid versetzt. Nach folgender Inkubation von 20 min bei Raumtemperatur wurde die Absorption bei 540 nm mit dem Photometer SLT Spectra gemessen.

Bei dieser Methode wird  $\text{O}_2^-$  von Hydroxylamin oxidiert, es entsteht Nitrit, das colorimetrisch als roter Diazofarbstoff nach Reaktion mit Sulfanilamid und Naphthylethyldiamine-Dihydrochlorid sichtbar wird. Das Absorptionsmaximum liegt bei 540 nm. Die Aktivitätsmessung erfolgt indirekt durch 50 % Inhibierung der colorimetrischen Reaktion, die SOD-Aktivität wurde ausgedrückt als unit/g FM.

### 2.6.3. Bestimmung der Proteinmenge

Die Bestimmung des Gesamtproteingehalts der Blattproben nach Bradford (1976) erfolgte mit Hilfe von Coomassie Plus Protein Assay. 10 µl Enzymextraktionslösung wurden mit 300 µl Coomassie Plus Protein Assay versetzt und 5 min bei Raumtemperatur inkubiert. Der blaue Farbumschlag wurde photometrisch (SLT Spectra) bei einer Wellenlänge von 595 nm gemessen. Die Berechnung der Proteinmenge erfolgte mittels Eichgerade, die durch Verdünnung einer 1 mg/ml Rinderalbumin-Standard-Stammlösung erstellt wurde. Die errechneten Einheiten waren ng/mg FM Protein.

Bei der aufgeführten quantitativen Proteinbestimmung wird das sich verschiebende Absorptionsmaximum von Proteinen (von 465 nm ohne Protein bis 595 nm mit Protein) durch die Bindung an den Farbstoff Coomassie Blau ausgenutzt. Die Zunahme der Absorption bei 595 nm ist ein Maß für die Proteinkonzentration der Lösung.

### 2.6.4. Messung der Lipidperoxidation

Eine Bestimmungsmethode für die Lipidperoxidation ist der Thiobarbitursäure-Test (TBA-Test) nach Peever & Higgins (1989), der auf der thermischen Instabilität von Hydroperoxygruppen beruht. Die Probe wurde dazu in saurem Milieu in Gegenwart von Thiobarbitursäure erhitzt. Unter diesen Bedingungen zerfallen die Lipidhydroperoxide zu Malondialdehyd (MDA). Die Messung des MDA-Gehaltes in Blättern dient als Maß für Membranschäden.

1200 µl Inkubationslösung enthielten 400 µl Enzymextrakt und 800 µl 0,5% TBA-Lösung. Diese Lösung wurde 30 min bei Raumtemperatur inkubiert. Als Kontrolle mit maximaler

Absorption diente TBA-Lösung ohne Enzymextrakt. Die Inkubationslösung wurde in kochendem Wasser für 20 min erhitzt. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wurde die Lösung bei 15000 U/min für 10 min zentrifugiert. Für die photometrische Messung wurden 200 µl Inkubationslösung in 96-well-Mikrotiterplatten überführt und bei 535 nm mit Bio-tec-Gerät µQuant gemessen. Die ermittelten Extinktionswerte der Proben wurden um die TBA-Kontrollwerte korrigiert. Die Malondialdehyd-Konzentration der Proben wurde nach dem Lambert-Beerschen Gesetz mit einem Extinktionskoeffizienten von  $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  berechnet.

Malondialdehyd (MDA) ist ein Endprodukt der Lipidperoxidation, das ausschließlich aus mehrfach ungesättigten Lipiden entsteht. Im Laufe der Oxidation von Lipidketten mit mehreren isolierten Doppelbindungen entsteht ein Peroxylradikal. Dieses kann sich zu einem zyklischen Peroxid stabilisieren, aus dem ein bi-zyklisches Endoperoxid hervorgeht (Schönfelder 1999). Im sauren Milieu und bei hohen Temperaturen (100°C) wird aus den Endoperoxiden MDA freigesetzt. MDA wird durch seine Reaktion mit 2-Thiobarbitursäure (TBA) als roter Farbstoff nachgewiesen (Heitkamp 1999).

### **2.6.5. Nachweis der Wasserstoffperoxid-Mengen mit Guaiacol**

Die  $\text{H}_2\text{O}_2$  -Bestimmung folgte annähernd der Methode nach Tiedemann (1997). Pro Blatt wurden vier Blattscheiben (Durchmesser 7 mm) ausgestochen und in ein 1,5 ml Reaktionsgefäß gegeben. 500 µl einer Reaktionslösung aus 25 mM Phosphatpuffer pH 7,0, 440 µl/l 0,05 % Guaiacol und 350 µl Peroxidase (aus Meerrettich (2500 Einheiten/ml)) wurden hinzugefügt und zwei Stunden bei 20 °C im Dunkeln inkubiert. 250 µl der Reaktionslösung wurden mit dem Photometer MRX, DYNEX-Technologies bei 450 nm Wellenlänge gemessen. Zur Berechnung der  $\text{H}_2\text{O}_2$  -Menge wurde eine Eichgerade durch Verdünnung einer 10 mmol/l  $\text{H}_2\text{O}_2$  -Stammlösung in 200 µl POX-Lösung (Peroxidase aus Meerrettich (2500 Einheiten/ml)) erstellt. Die  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Menge wurde in µmol angegeben.

### **2.6.6. Bestimmung der Membranpermeabilität**

Die Membranpermeabilität wurde mittels der Leitfähigkeit bestimmt (Tiedemann & Pfähler 1994). 10 cm lange Blattabschnitte wurden nach der Bestimmung des Gewichts an den Schnittkanten mit heißem Wachs versiegelt, in Reagenzgläser (100 x 13 mm) gegeben und vollständig in 12 ml Bidest-Wasser getaucht. Die Reagenzgläser wurden verschlossen und für 48 h bei 4 °C im Dunkeln aufbewahrt. Die sich anschließende Leitfähigkeitsbestimmung

des Wassers führte zu der Berechnung der Ergebnisse mit der Einheit  $\mu\text{s cm}^{-1} \text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$  pro Frischmasse.

Die Membranpermeabilität als Seneszenzparameter gibt Auskunft über die Durchlässigkeit von Zellmembranen für Ionen, der physiologische Zustand des Blattes wird beschrieben. Je höher die Werte sind, desto größer die Durchlässigkeit der Membranen und desto stärker die Membranschäden.

## 2.7. Chemikalien

- Produkte vom Händler Th.Geyer Hamburg GmbH und Co. KG, Deutschland:

Polyvinylpyrrolidone (PVPP), Coomassie Plus Assay, Albumin-Standard, Methanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), Ascorbinsäure, konzentrierte Essigsäure ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), konzentrierte Salzsäure ( $\text{HCl}$ ).

- Bezogene Chemikalien der Firma Sigma-Aldrich Chemie, Deisenhofen, Deutschland:

Thiobarbitursäure, Wasserstoffperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), Guaiacol, Hydroxylammonium-Chlorid, Xanthin (2,6-Dihydroxypurine), Xanthin-Oxidase (aus Buttermilch), Naphthylethylenediamine-Dihydrochlorid, Sulfanilamid.

- Von der Firma Merck, Darmstadt, Deutschland verwendete Chemikalien:

Natriumdihydrogenphosphat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ), Dinatriumhydrogenphosphat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), Peroxidase (aus Meerrettich).

## 2.8. Statistische Auswertung

Die in der vorliegenden Arbeit angegebenen Daten wurden als Mittelwerte aus mindestens drei voneinander unabhängigen Messwerten und der zugehörigen Standardabweichung angegeben. Signifikante Unterschiede der Analysenwerte zweier unabhängiger Stichproben wurden mit dem Student'schen t-Test mit einem Signifikanzniveau von 95 % ermittelt. Bei mehreren Behandlungen wurde eine Varianzanalyse vorgenommen (Multiple Range Test, 95 % Vertrauensintervall,  $p \leq 0.05$ ). Alle Berechnungen wurden mit der Statistiksoftware Statgraphics Plus Version 5.1 durchgeführt.

### **3. Ergebnisse**

Im Hinblick auf das unterschiedliche Auftreten abiotischer Blattflecken (PLS) werden jeweils anfällige Weizensorten aufgeführt, bevor Witterungseinfluss, Sortenunterschiede und Einfluss bestimmter Stressoren auf das antioxidative Schutzsystem pflanzlicher Zellen anhand von Chlorophyll-Fluoreszenz-Messung und enzymatischer Aktivitätsleistungen herausgearbeitet werden.

Da für Feldversuche und speziell für diese Arbeit die Witterung eine besondere Bedeutung besitzt, werden zunächst die Witterungsverläufe der Versuchsjahre 2003 und 2004 aufgeführt. Das Göttinger Wetter beschreibt in dieser Arbeit exemplarisch für Deutschland die Witterungsverhältnisse in beiden Versuchsjahren, die sich extrem unterschieden.

#### **3.1. Witterungsverlauf 2003 und 2004**

Die vorgestellten meteorologischen Datensätze wurden den Monatsberichten der Wetterstation Göttingen entnommen.

##### **3.1.1. Wetterbedingungen Herbst, Winter und Frühjahr 2002, 2003 und 2004**

Der Weizen für das Versuchsjahr 2003 wurde am 14.10.2002 gedrillt. Einen Tag später fielen über vier Wochen 150 mm Niederschlag. Der Winter 02 / 03 war mit einer Abweichung von -1,5 Kelvin deutlich zu kalt. Grund dafür waren intensive Frostphasen im Dezember 02 und Januar 03, sowie eine ausgeprägte dreiwöchige trocken-kalte Großwetterlage im Februar 03. In den Wintermonaten gab es ein Sonnenscheinplus von 76 Stunden gegenüber dem langjährigen Referenzwert. Auffällig am Frühling 2003 war eine äußerst stabile Großwetterlage, die zu Niederschlagsdefizit (-68 mm), erheblich erhöhter Sonnenscheindauer (144 %) und deutlich höheren Temperaturen (+1,2 Kelvin) gegenüber dem vieljährigen Mittel führte.

Für das Versuchsjahr 2004 wurde der Weizen am 01.10.2003 gesät. Der Oktober war mit 16 Frosttagen (12 mehr als im Vorjahreszeitraum) wesentlich kälter als 2002. Nach der Saat regnete es an zehn Tagen 53 mm. Der Rest des Winters 03/04 war im Jahresvergleich zu mild und zu feucht. Intensive winterliche Phasen fehlten völlig. Es gab einen deutlichen Feuchtigkeitsüberschuss (137 %) gegenüber dem langjährigen Mittel. Der Frühling 04 war zwar wie in 03 zu warm und zu trocken, allerdings brachte er mehr Niederschlag als im Vorjahr, jedoch immer noch 14 % weniger als der langjährige Vergleichswert. Die

Sonnenscheindauer war nur um 25 % gegenüber dem vieljährigen Mittel erhöht. Der kühle Mai 04 führte den Temperaturmittelwert um +0,2 °C auf den Referenzwert.

### 3.1.2. Witterung von April – Juli 2003 und 2004 im Vergleich zum Jahresmittel

Für Feldversuche ist vor allem das Vegetationswetter von April bis Juli entscheidend, da die Witterung während dieser Wachstumsphase prägend für die Gesundheit und Vitalität der Pflanzen ist. Die Tabelle 8 zeigt Abweichungen der Monatsmittelwerte zum vieljährigen Mittel in Göttingen auf. Die Monatsmitteltemperaturen von April bis Juli 2003 waren höher als die Referenzwerte, im Versuchsjahr 2004 war nur das Mittel im April erhöht, die restlichen Monate lagen nahe am langjährigen Vergleichswert. Die Niederschläge waren in 2003 im Mai und Juni, in 2004 nur im Juni deutlich geringer als der Referenzwert. Die Summe der Sonnenstunden in 2003 waren während der aufgezeigten Vegetationsperiode deutlich höher als das vieljährige Mittel, im Versuchsjahr 2004 zeigte nur der April eine ausgeprägte Abweichung zum Referenzwert. Die Mittelwerte der Ozonmessungen in 2003 lagen eindeutig höher als im Versuchsjahr 2004, ein vieljähriger Mittelwert wird in der Literatur nicht beschrieben.

Tabelle 8: Abweichungen der Monatsmittelwerte April bis Juli von Temperatur, Niederschlag und Ozon sowie Summe der Sonnenstunden in Göttingen zum vieljährigen Mittel der Versuchsjahre 2003 und 2004

		<b>April</b>	<b>Mai</b>	<b>Juni</b>	<b>Juli</b>
<b>Mittelwerte Temperatur</b> in °C	2003	8,4	13,9	18,4	19,0
	2004	9,5	11,4	15,2	16,4
	Jahresmittel	8,0	12,6	15,7	17,1
<b>Mittelwerte Niederschlag</b> in mm	2003	41,9	42,5	58,2	62,2
	2004	40,9	57,2	63,0	90,2
	Jahresmittel	48,5	59,6	81,3	62,7
<b>Summe Sonnenstunden</b> in h	2003	228,5	233,8	321,1	245,6
	2004	212,8	185,7	212,4	215,8
	Jahresmittel	143,6	190,8	186,0	187,5
<b>Mittelwerte Ozon</b> in µg/m <sup>3</sup>	2003	107,2	102,9	116,2	102,4
	2004	98,5	87,4	93,6	91,0

Diese für Göttingen aufgezeigten Monatsmittelwerte geben generell einen Einblick in das unterschiedliche Wettergeschehen in Deutschland der beiden Versuchsjahre. Aus diesem

Grund wurde auf die Beschreibung der Witterungsverläufe der einzelnen Monitoring-Standorte verzichtet.

### 3.1.3. Witterung während der Messzeiträume 2003 und 2004

Anfang Juni nach der zweiten Fungizidgabe begann die Pflanzenentnahme zur Bonitur von PLS-Flecken von den Monitoring-Standorten aus Deutschland. Vom Göttinger Versuchsstandort wurden ab dem Zeitpunkt PLS-Bonituren durchgeführt, Blattproben zur Untersuchung des antioxidativen Schutzsystems von Weizen entnommen und die Messung der Chlorophyll-Fluoreszenz aufgezeichnet. Ob es einen Einfluss der jeweiligen Witterung am Messtag auf die Chlorophyll-Fluoreszenz gab, ist in der Literatur nicht beschrieben. In den Abbildungen 29 und 30 ist der Wetterverlauf während des Messzeitraumes in beiden Versuchsjahren dargestellt, um Unterschiede von abiotischen Umweltfaktoren aufzuzeigen.

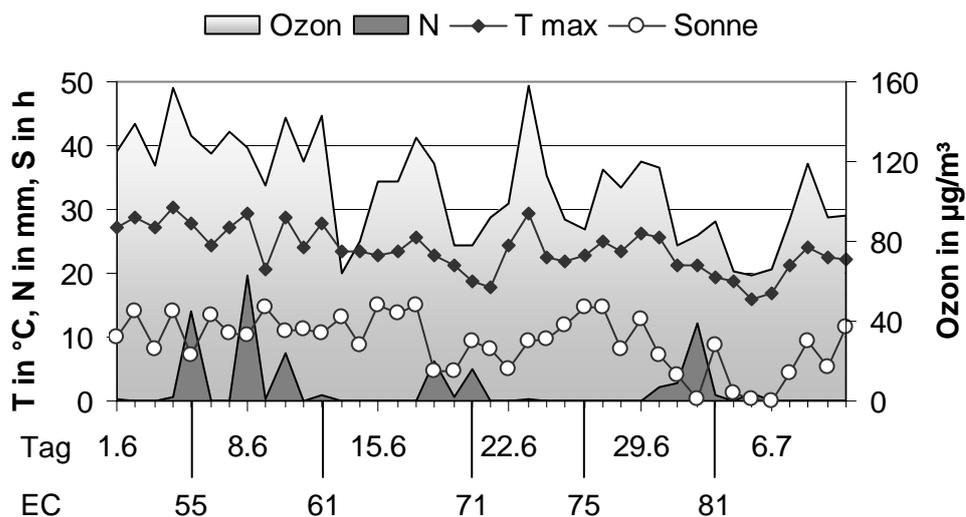


Abbildung 29: Maximale Ozon-Stundenmittelwerte, maximale Temperaturwerte (T), Niederschlagsmenge (N) und Sonnenscheinstunden (S) vom 01.06. bis 10.07.2003 während der Messreihe in Feldversuchen in Göttingen.

Der Juni 03 zeigte trotz einer etwas kühleren, zweiten Monatshälfte eine Abweichung der Monatsmitteltemperatur von +2,7 °C gegenüber dem langjährigen Mittel, in 2004 kam es im Juni zu einem Wärmedefizit von -0,5 °C. In beiden Jahren war die Monatsniederschlagsmenge im Juni zu gering, allerdings regnete es in 2004 an zwei Dritteln aller Tage, im Jahr 2003 hingegen war der Juni mit nur 10 Regentagen der 5. Monat in Folge mit einem Niederschlagsdefizit von mehr als 10 %. Die größte Abweichung erreichte die Sonnenscheindauer.

Im Juni 04 wurde trotz der vielen Regentage ein Überschuss von 114 % über dem vieljährigem Mittel gemessen, 2003 hingegen erreichte die Abweichung im Juni 173 % zum Referenzwert. Die aufgeführten bodennahen Ozonwerte sind in 2003 im Mittel höher als in 2004, in beiden Versuchsjahren jedoch wurden insgesamt keine Konzentrationen des Luftschadstoffes erreicht, die zu akuten Pflanzenschäden führten.

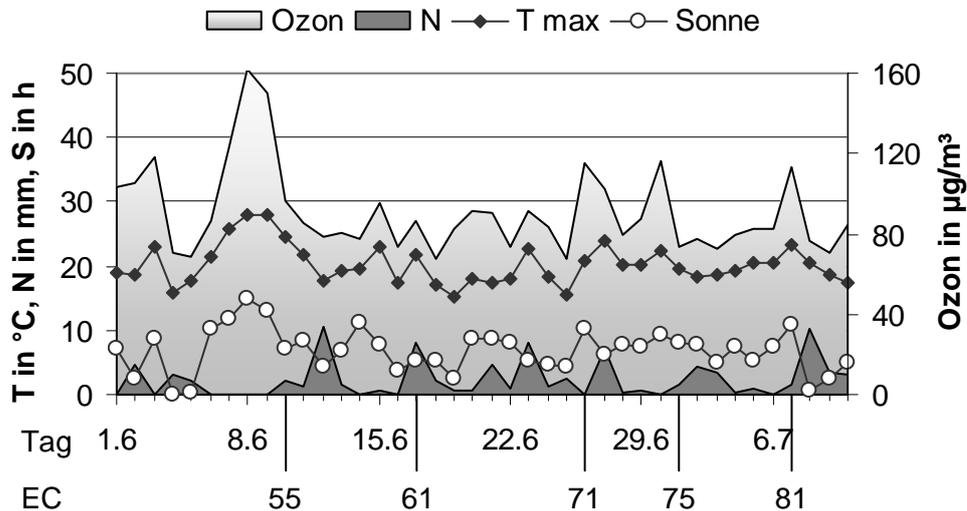


Abbildung 30: Maximale Ozon-Stundenmittelwerte, maximale Temperaturwerte (T), Niederschlagsmenge (N) und Sonnenscheinstunden (S) vom 01.06. bis 10.07.2004 während der Messreihe in Feldversuchen in Göttingen.

Welchen Einfluss die aufgezeigten sehr extremen und unterschiedlichen Witterungsbedingungen der beiden Versuchsjahre auf die Ausbildung physiologischer Blattflecken als Indikator von Pflanzenstress besaßen, wird im nächsten Kapitel beschrieben.

### 3.2. Entstehung physiologischer Blattflecken

Nichtparasitäre Blattflecken treten seit einigen Jahren nach dem Schossen an Blättern in Winterweizen auf. Diese unspezifischen dunkelbraunen Nekrosen können über das gesamte Blatt verteilt sein. Auftreten und Größe sind variabel und sortenabhängig, die Flecken sind nicht begrenzt durch Blattadern und müssen nicht zwingend einen chlorotischen Hof aufweisen.

Intensive Sonneneinstrahlung und starke Photosyntheseaktivität führen nach Tiedemann & Wu (2001) zu oxidativem Stress in Pflanzenzellen, der in Gerste Auslöser dieser Fleckenbildung ist.



Abbildung 31: Unterschiede der nichtparasitären PLS-Blattflecken an Winterweizen, Erläuterungen siehe Text.

Das linke Bild der Abbildung 31 zeigt nichtparasitäre Blattflecken an Winterweizen punktförmig über das gesamte Blatt verteilt, im Bild Mitte links ist das Auftreten der Blattflecken in der Blattbeuge zu sehen, eine perlschnurartige Anreihung von nichtparasitären Blattflecken auf der Blattmittelrippe zeigt sich auf dem Bild Mitte rechts, und im rechten Bild zeigt sich eine Anhäufung von Blattflecken im Bereich der Blattscheide. Regelmäßig durchgeführte Beobachtungen im Feld lassen trotz geringem Auftreten von PLS unterschiedliche Sortenanfälligkeiten erkennen:

Tabelle 9: Sortenunterschiede in PLS-Anfälligkeiten von Winterweizen, beobachtet im Landessortenversuch der Landwirtschaftskammer Hannover, Standort Höckelheim, EC 75, 2004

PLS anfällige Weizensorten	PLS gering-anfällige Weizensorten
Akratos, Alitis, Batis, Bussard, Buteo, Cubus, Elvis, Empire, Ephoros, Magnus, Privileg, Sobi, Terrier, Tiger, Tommi	Akteur, Campari, Dekan, Drifter, Gaston, Grommit, Hybred, Limes, Ritmo, Skater, Solitär, Striker, Türkis

Anhand der Beobachtungen in den Feldversuchen 2003 und 2004 können die in Abbildung 31 aufgeführten Unterschiede im Auftreten der aufgezeigten nichtparasitären Blattflecken im Winterweizen in drei Unterarten eingeteilt werden:

- Blattverbräunungen in den Blattbeugen (Bild Mitte links)

- nekrotisierende Chlorosen (Bild links)
- Pollennekrosen (rechten Bilder).

Die Unterscheidung dieser zu den nichtparasitären Blattflecken zählenden Flecken wird an dieser Stelle näher erläutert.

### 3.2.1. Blattverbräunungen in den Blattbeugen

Blattverbräunungen treten vor allem in den Blattbeugen auf. Von Gerhard (2001) wurde diese Blattbeuge als Blatt-Kulminationspunkt beschrieben, der Blattspreitenbereich mit der stärksten Lichtexposition. Als Ursache dieser Blattflecken werden physiologische Reaktionen auf abiotische Stressfaktoren diskutiert, daher die Bezeichnung physiologische Blattflecken (PLS).



Abbildung 32: Entstehung der Blattverbräunung auf den Blattbeugen am Beispiel der Sorte Ludwig im Versuchsjahr 2003: 1. Aufhellung der Blattbeugen, 2. Entstehung punktförmiger physiologischer Blattflecken und 3. Blattverbräunung der Blattbeugen.

An Winterweizen zeigten sich die PLS-Flecken vor allem an Blattbereichen der oberen Blätter, die, wie von Gerhard (2001) beschrieben, besonders der Sonnenstrahlung ausgesetzt waren. Die der Sonne abgewandte Blattseite hingegen wies keine Schädigung auf, wie die folgende Abbildung zeigt.

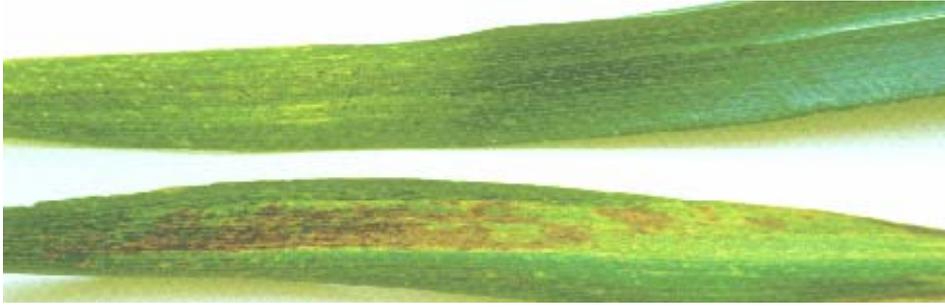


Abbildung 33: Die der Sonne zugewandten Blattfläche zeigt Blattverbräunung (unten), die der Sonne abgewandten Blattfläche (oben) zeigt keine physiologischen Blattflecken (Sorte Batis, 2003).

In Abbildung 33 war die Blattoberseite der Sonne zugewandt, es gibt aber auch Weizenpflanzen, die die Blattunterseite zur Sonne drehen, so dass auf der Blattunterseite PLS zu sehen ist. Beim Betrachten der Blätter verschiedener Weizensorten zeigen sich deutliche Unterschiede in der Blattstellung (Lienemann et al. 2003).



Abbildung 34: Nichtparasitäre Blattflecken an Winterweizen in der F-Blattbeuge auf der zur Sonne gewandten Blattfläche, hier Blattunterseite (Sorte Magnus, 2003).

Sehr anfällig für die physiologischen Blattflecken waren Weizensorten mit planophiler F-Blattstellung. Im Landessortenversuch der Landwirtschaftskammer Hannover am Standort Höckelheim wurden zu EC 59 (Ende des Ährenschiebens) im Jahr 2004 an den vorgestellten Sorten die Blattstellungen von F-Blättern in planophile und erektophile Winterweizen eingeteilt (Tabelle 10).

Die Beobachtungen zur Ausbildung von PLS zeigten, dass vor allem planophile Weizensorten mit sehr langen, gebeugten Fahnenblättern anfällig für Blattverbräunungen waren (Akratos, Alitis, Batis, Bussard, Buteo, Cubus, Empire, Ephoros, Magnus, Terrier und Tiger). Doch nicht jede in diese Kategorie eingeteilte Sorte muss diese Art nichtparasitärer Blattflecken aufweisen (Akteur, Gaston, Hybrid, Solitär und Türkis).

Tabelle 10: Winterweizen-Sortenunterschiede in F-Blattstellung, Landessortenversuch der Landwirtschaftskammer Hannover, Standort Höckelheim, EC 59, 2004

Planophile Blattstellung	Erektophile Blattstellung	
	Gebogene Fahnenblätter	Aufrechtes, in sich gedrehtes Fahnenblatt
		
Akteur, Akratos, Alitis, Batis, Bussard, Buteo, Cubus, Empire, Ephoros, Gaston, Hybred, Magnus, Solitär, Terrier, Tiger, Türkis	Dekan, Elvis, Skater, Striker, Tommi	Campari, Drifter, Grommit, Limes, Privileg, Sobi

Einen Einfluss auf die Ausbildung der Blattverbräunungen schien neben dem auftretenden Licht auch Feuchtigkeit zu haben. Die folgenden Bilder zeigen, dass auf Blattbeugen, die der Sonne zugewandt waren, Morgentau zu finden war, das restliche Blatt war frei von Morgentau.



Abbildung 35: Links Morgentau auf den Blattbeugen; Rechts wurde das Blatt gestreckt, der Morgentau ist nur auf der Blattbeuge sichtbar.

Neben den Blattverbräunungen konnte in den Feldversuchen außerdem beobachtet werden, dass einige Winterweizensorten sehr viele Chlorosen aufwiesen, die zu Nekrosen wurden.

#### 3.2.2. Nekrotisierte Chlorosen

Grundsätzlich müssen die PLS-Flecken keinen chlorotischen Hof besitzen, allerdings zeichneten einige Weizensorten sehr viele Chlorosen (Tabelle 11; Elvis, Privileg und Tommi), die nekrotisierten, so dass sich nichtparasitäre Blattflecken auch in den Chlorosen zeigten.

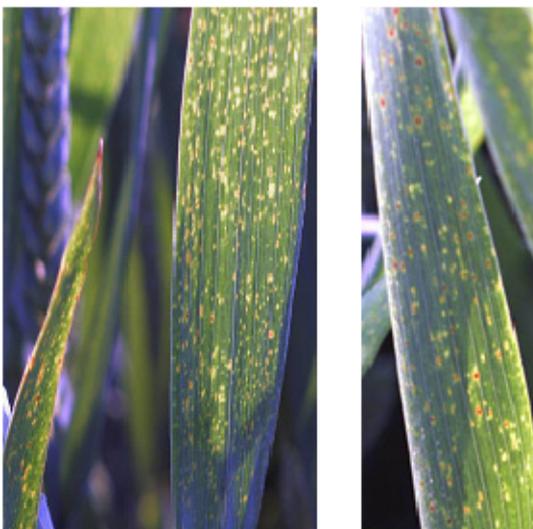


Abbildung 36: PLS und Chlorosen von Weizenblättern Privileg (links) und Tommi (rechts).

Das Auftreten von Chlorosen war zu EC 59 (Ende des Ährenschiebens) für das Jahr 2004 im Landessortenversuch der Landwirtschaftskammer Northeim, Versuchsstandort Höckelheim, am F-Blatt bonitiert worden. Aufgrund der beobachteten Beziehung, dass mit zunehmendem Anteil an Blattchlorosen die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von PLS-Flecken steigt, wurden die aufgeführten Weizensorten des Landessortenversuchs der Landwirtschaftskammer Northeim in der folgenden Tabelle in vier Kategorien eingeteilt.

Tabelle 11: F-Blatt-Bonitur der Chlorosen im Landessortenversuch Winterweizen der Landwirtschaftskammer Hannover, Standort Höckelheim im Jahr 2004 zu EC 59 (Ende des Ährenschiebens)

<b>Keine Chlorosen</b>	<b>Wenig Chlorosen</b>	<b>Viele Chlorosen</b>	<b>Sehr viele Chlorosen</b>
			
<p><b>Akteur, Solitär, Türkis</b></p>	<p><b>Akratos, Cubus, Dritter, Hybrid, Magnus, Tulsa</b></p>	<p><b>Alitis, Batis, Bussard, Buteo, Campari, Delcan, Empire, Ephoros, Gaston, Grommit, Limes, Skater, Sobi, Striker, Terrier, Tiger</b></p>	<p><b>Elvis, Privileg, Tommi</b></p>

Die Korrelationsrechnung bestätigte eine Beziehung zwischen PLS und Chlorosen: Die Korrelationskoeffizienz zwischen PLS und Chlorosen zu EC 61 beträgt 0,706 und 0,695 zu

EC 69. Die Korrelation war mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von kleiner als 5 % statistisch signifikant.

Allerdings soll an dieser Stelle nochmals darauf hingewiesen werden, dass die Chlorosen zur PLS-Bildung nicht zwingend erforderlich sind. Die folgenden Bilder zeigen die Entstehung von abiotischen Blattflecken in chlorotischem und nicht-chlorotischem Blattgewebe von Weizen.

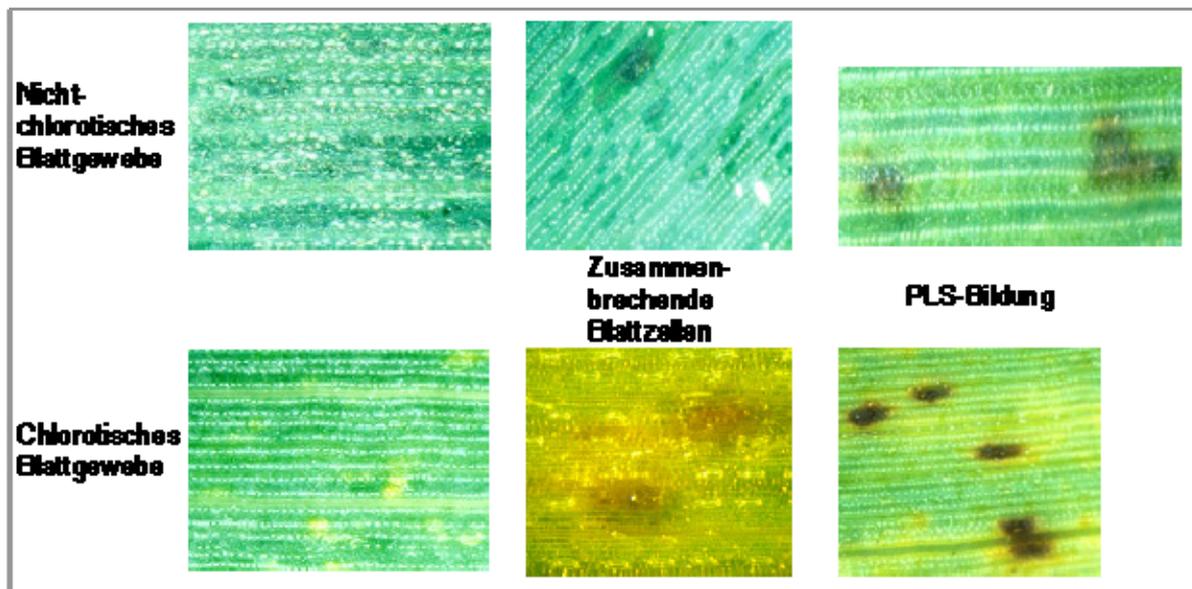


Abbildung 37: PLS-Entstehung in nicht-chlorotischem und chlorotischem Blattgewebe von Winterweizen.

Die Weizensorten Campari, Dekan, Gaston, Grommit, Limes, Skater und Striker wurden trotz starkem Auftreten von Chlorosen als gering anfällig für PLS eingestuft. Außer Gaston besitzen diese Sorten erektophile Blätter. Andererseits weisen die für nekrotisierte Chlorosen anfälligen Sorten Alitis, Batis, Bussard, Buteo, Empire, Ephoros, Terrier und Tiger bei der Voraussetzung vieler Chlorosen planophile Blattstellung auf. Mit dieser Feststellung wird deutlich, dass Licht einen großen Einfluss auf die Ausbildung von PLS besitzt.

Neben der Sortenabhängigkeit wurde beobachtet, dass das Auftreten der Chlorosen wetterabhängig ist. Außerdem wird vermutet, dass die Ausbildung der Chlorosen abhängig vom Mikro- sowie Makronährstoffgehalt des Bodens und deren Aufnahmefähigkeit in die Pflanze ist.

### 3.2.3. Pollennekrosen

Im Jahr 2004 kam es zur Ausbildung einer weiteren Art nichtparasitärer Blattflecken, den Pollennekrosen. Insbesondere dort, wo Wasser auf dem Blatt zusammenläuft

(Blattmittelrippe und Blattscheide) und sich während des Blühens Pollen nach Ausschüttung anhäufen können, traten die Flecken auf. Im Versuchsjahr 2003 wurden diese Pollennekrosen kaum beobachtet, da die Witterung zu trocken und heiß war.

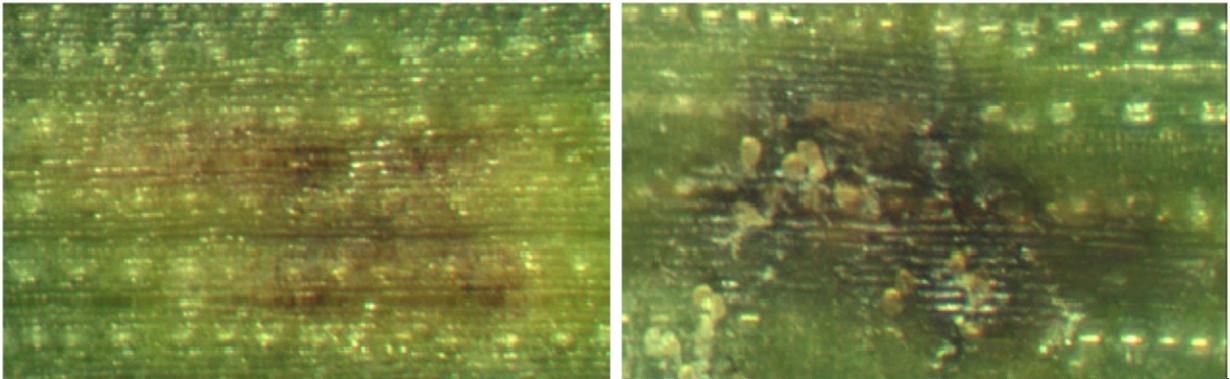


Abbildung 38: Binokular-Aufnahmen nichtparasitäre Blattflecken in Winterweizen, rechts Pollennekrosen, Versuchsjahr 2004.

Im rechten Bild der Abbildung 38 zeigen sich Blütenpollen, die mit ausreichend Feuchtigkeit (z.B. Morgentau) Keimschläuche ausbildeten.

In 2004 wurde auch beobachtet, dass abgefallene Staubbeutel wahrscheinlich aufgrund anhaftender Blütenpollen Keimschläuche ausbilden. Ob die Ausbildung von Pollenkeimschläuchen zur Bildung von PLS-Flecken führte oder ob es zu Unverträglichkeitsreaktionen zwischen Blattgewebe und Pollen kam, wurde in dieser Arbeit nicht näher untersucht.

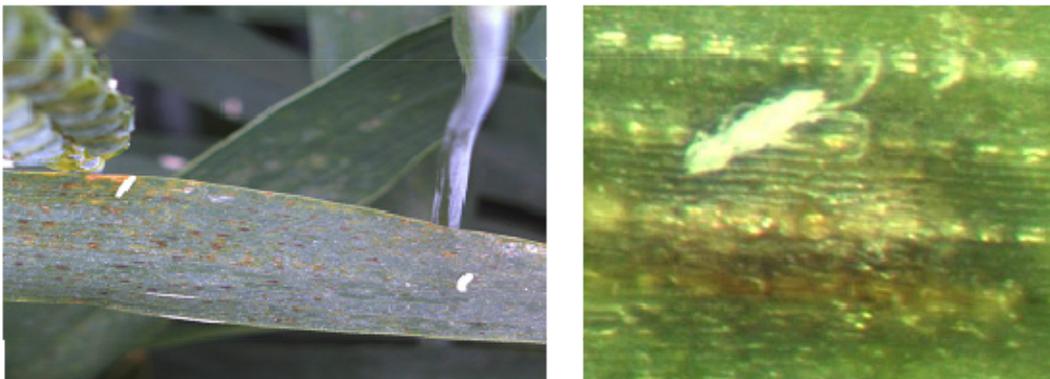


Abbildung 39: Staubbeutel auf Winterweizen-Blattgewebe, links Feldaufnahme, rechts Binokular-Vergrößerung, Versuchsjahr 2004.

Festzuhalten ist, dass für die Ausbildung von Pollennekrosen Feuchtigkeit wichtig ist. Diese Voraussetzung war im Versuchsjahr 2004 gegeben, in 2003 war es zu trocken.



Abbildung 40: Feuchtigkeit ist wichtig für die Ausbildung von Pollenekrosen, Versuchsjahr 2004

Das Auftreten von Pollenekrosen wurde während und nach der Blüte bis EC 75 für das Jahr 2004 im Landessortenversuch der Landwirtschaftskammer Northeim, Versuchsstandort Höckelheim, am F-Blatt der vorgestellten Sorten erfasst. Die Beobachtungen zeigten, dass nicht alle Sorten anfällig für Pollenekrosen waren.

Tabelle 12: F-Blatt-Bonitur der Pollenekrosen im Landessortenversuch Winterweizen der Landwirtschaftskammer Hannover, Standort Höckelheim im Jahr 2004 ab Blühbeginn bis Milchreife (EC 61 - EC 75)

Weizensorten mit Pollenekrosen	Weizensorten ohne Pollenekrosen
Drifter, Skater, Magnus, Batis, Elvis, Terrier, Tiger, Ephoros, Bussard, Empire, Tommi, Dekan, Cubus, Akteur, Akratos, Alitis, Buteo, Gaston, Grommit, Türkis, Sobi, Striker	Campari, Hybred, Limes, Privileg, Solitär, Tulsa

Unterschiede für PLS-Anfälligkeiten wurden bereits von Tiedemann & Wu (2001) an Gerstenpflanzen aufgeführt. Sie vermuten, dass diese Blattflecken eine Folge von oxidativem Stress in Pflanzenzellen sind, ausgelöst durch starke Sonneneinstrahlung. Ob auch Winterweizen solch starken oxidativen Stress erleidet, der zur Nekrosenbildung führt, und ob Unterschiede im Stressverhalten der Sorten nachzuweisen sind wurde in den nächsten Kapiteln näher beschrieben.

### 3.3. Stress-Charakterisierung von Weizenpflanzen im Feld

In diesem Kapitel werden die Boniturergebnisse aufgeführt und Zusammenhänge von PLS-Flecken zu Chlorophyll-Fluoreszenz und antioxidative Schutzmechanismen einzelner Weizensorten im Vergleich beschrieben.

### 3.3.1. Bonitur-Ergebnisse physiologischer Blattflecken

Um Weizenpflanzen anhand der PLS-Anfälligkeit genauer einschätzen zu können, wurde das Auftreten von PLS an ausgewählten Weizensorten im Monitoring bonitiert.

#### 3.3.1.1. PLS-Bonitur im Monitoring

Zur Bestimmung der PLS-Anfälligkeiten sind die im Monitoring 2003 und 2004 ermittelten Bonitur-Ergebnisse einzelner Sorten der Blattetagen F, F-1 und F-2 von Haupttrieben während des Ährenschiebens, der Blüte und der Milchreife von Kontroll- und behandelten Pflanzen zusammengefasst worden.

Tabelle 13: Statistische Auswertung der PLS-Sortenanfälligkeiten der Monitoring-Boniturdaten an F-, F-1- und F-2-Blättern (gemittelt) der Versuchsjahre 2003 und 2004 regional üblich fungizidbehandelter und unbehandelter Weizenpflanzen. Monitoring-Standorte: Schleswig-Holstein, Bönhusen; Mecklenburg-Vorpommern, Walkendorf; Niedersachsen, Morsum; Westfalen, Lohne und Erkelenz; Baden-Württemberg, Oberboihingen; Bayern, Oberding und Hüttendorf.

	Monitoring 2003			Monitoring 2004		
	Proben	% PLS F, F-1, F-2	Signi- fikanz	Proben	% PLS F, F-1, F-2	Signi- fikanz
Ritmo	288	0,059	e	360	0,089	δ
Winnetou	216	0,074	de	234	0,158	δ
Skater	318	0,129	d	384	0,357	γ
Magnus	474	0,189	c	444	0,536	β
Terrier	264	0,292	b	474	0,671	β
Tommi	156	0,449	a	474	0,960	α

Bei der Zusammenfassung der Boniturergebnisse aus 2003 und 2004 aller Standorte (Kapitel 2.3.) wurde deutlich, dass physiologische Blattflecken an Winterweizen auf den Blattetagen F, F-1 und F-2 keine Schadenshöhen erreichen, die mindernd auf Ertrag und Qualität wirken.

Trotz sehr niedriger Befallsstärken von PLS an Weizen konnten in beiden Versuchsjahren unterschiedliche PLS-Anfälligkeiten von Weizensorten dargestellt werden. Ritmo und Winnetou gehörten zu den gering anfälligen PLS-Sorten, Tommi hingegen war von den getesteten Sorten am anfälligsten für nichtparasitäre Blattflecken.

Obwohl beide Jahre extrem unterschiedliche Wettereinflüsse auf die Pflanzen aufwiesen (Kapitel 3.1.), führten sie nur zu geringem Auftreten von abiotischen Blattflecken an Winterweizen. Aufgrund der geringen Schadenshöhe von PLS an Weizen ist an dieser Stelle auf die Beschreibung der PLS-Beobachtungen von den verschiedenen Standorten aus Deutschland verzichtet worden.

Außerdem waren die Monitoring-Boniturdaten von PLS-Schäden an Weizenblättern aus 2003 und 2004 so gering, dass keine Fungizideffekte zur PLS-Minderung anhand der Bonituren dargestellt werden konnten. Dass die eingesetzten standorttypischen Fungizide jedoch eine Wirkung auf das Blattgewebe hatten, zeigen die Unterschiede der grünen Blattfläche zwischen behandelten und unbehandelten Pflanzen (Tabelle 14). Fungizide führen zu einem deutlichen Eingriff in den physiologischen Ablauf der Zellen anhand verzögerter Abreife der Blätter. Dieser Effekt wird auch Greening-Effekt bezeichnet. Neben dem Greening-Effekt kommt es durch den Fungizideinsatz zum Schutz vor pilzlichen Befall. Die grüne Blattfläche (gBf) ist ein Parameter, die abzüglich Pilzbefall, PLS-Schäden und Blattvergilbungen das Blattgrün und somit den Greening-Effekt aufzeigt.

Tabelle 14: Statistische Auswertung zur grünen Blattfläche (gBf) an F, F-1 und F-2 –Blättern (gemittelt) der Versuchsjahre 2003 und 2004 von regional üblich fungizidbehandelten und unbehandelten Weizenpflanzen zu den jeweiligen EC-Stadien. Weizensorten: Ritmo, Winnetou, Skater, Magnus, Terrier und Tommi. Monitoring-Standorte: Schleswig-Holstein, Böhnhusen; Mecklenburg-Vorpommern, Walkendorf; Niedersachsen, Morsum; Westfalen, Lohne und Erkelenz; Baden-Württemberg, Oberboihingen; Bayern, Oberding und Hüttendorf.

		<b>Monitoring 2003</b>		<b>Monitoring 2004</b>	
		% gBf F, F-1, F-2	Signi- fikanz	% gBf F, F-1, F- 2	Signi- fikanz
EC 55	Ährenbildung Kontrolle	97,843	b	97,924	z
	Ährenbildung Fungizid	99,078	a	99,133	y
EC 65	Blüte Kontrolle	94,584	z	87,167	β
	Blüte Fungizid	97,846	y	96,094	α
EC 75	Reife Kontrolle	68,321	β	44,593	a
	Reife Fungizid	84,516	α	83,572	b

Der Anteil grüner Blattfläche war im vorliegenden Monitoring nach Fungizideinsatz erhöht. Bei der Zusammenfassung aller Sorten und Standorte der einzelnen Versuchsjahre zum jeweiligen Messtermin wurden folgende Anteile an grüner Blattfläche mit und ohne Fungizid bonitiert:

Zu den drei aufgeführten Boniturterminen zeigten sich signifikante Unterschiede in der grünen Blattfläche in beiden Versuchsjahren. Zu EC 55 und 65 hatten vor allem die in den Kontrollpflanzen auftretenden Blattpilze den Hauptanteil an den statistischen Abweichungen, zur Reife hingegen wurde der Greening-Effekt sichtbar.

### 3.3.1.2. PLS-Bonitur in Göttinger Feldversuchen 2003 und 2004

Ob am Göttinger Versuchsstandort ebenfalls Unterschiede zur PLS-Anfälligkeit an Weizenpflanzen auftraten, so wie die Bonituren im Monitoring ergaben, wurde ebenfalls anhand von Boniturdaten an ausgesuchten Weizenpflanzen geklärt.

Zur Bestimmung der PLS-Anfälligkeiten sind die Blätter F, F-1 und F-2 von Haupttrieben während der Entwicklungsstadien 55, 61, 71, 75 und 81 von Kontroll- und behandelten Pflanzen pro Sorte zusammengefasst worden, um an die Monitoring-Tabelle (Tabelle 13) anknüpfen zu können.

Tabelle 15: Statistische Auswertung der PLS-Sortenanfälligkeiten der Göttinger Feldversuch-Boniturdaten von EC 55 bis EC 81 an F-, F-1- und F-2-Blättern (gemittelt) der Versuchsjahre 2003 und 2004 fungizidbehandelter und unbehandelter Weizenpflanzen (gemittelt)

	Feldversuch 2003			Feldversuch 2004		
	Wiederholungen	% PLS F, F-1, F-2	Signifikanz	Wiederholungen	% PLS F, F-1, F-2	Signifikanz
Batis	375	0,363	a	375	0,32	α
Drifter	375	0,043	b	375	0,035	β
Ritmo	375	0,053	b	375	0,016	β

Die Aussagen der Göttinger Boniturdaten von mit Fungiziden behandelten und unbehandelten F-, F-1 und F-2-Blätter zum prozentualen Anteil der PLS-Flecken entsprachen den Aussagen des Monitorings. Es zeigten sich Unterschiede in der PLS-Anfälligkeit der Weizensorten. Drifter war nach Auswertung von Boniturdaten gering PLS-anfällig, Batis zeigte signifikante Abweichungen und wurde für diese Arbeit als anfällig für

nichtparasitäre Blattflecken eingestuft. Die weiterhin aufgeführte Sorte Ritmo war wie Drifter gering anfällig.

Bei der Betrachtung des zeitlichen Auftretens nichtparasitärer Blattflecken am Fahnenblatt von Kontrollpflanzen in beiden Versuchsjahren, schwankten die abiotischen Blattflecken mit zunehmendem Blattalter. Der Anteil an Pilzkrankheiten am Blatt (als Beispiel hierfür ist der Befallsdruck mit Septoria am F-Blatt in Tabelle 16 mit aufgeführt) stieg mit fortschreitender Blattrife, die grüne Blattfläche nahm ab.

Tabelle 16: Unterschiede des prozentualen Anteils physiologischer Blattflecken, grüner Blattfläche und Septoriabefall von F-Blättern der Kontrollpflanzen Batis, Drifter und Ritmo im Zeitverlauf der Versuchsjahre 2003 und 2004 vom Göttinger Versuchsstandort

		2003					2004				
Sorte		EC 55	EC 61	EC 71	EC 75	EC 81	EC 55	EC 61	EC 71	EC 75	EC 81
Abiotische Blattflecken [%]	Batis	0,2	0,8	1,2	2,2	1,8	0	1	0,6	0,4	0,8
	Drifter	0	0	0	0,3	0	0	0,8	0	0	0
	Ritmo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
grüne Blattfläche [%]	Batis	99,8	99	98,2	95,2	87,5	99,6	99,2	98,6	97,8	92,8
	Drifter	100	100	98	92,4	61,2	100	99,6	99,6	95,8	90,4
	Ritmo	100	99,4	98,4	97,4	85,6	100	99,8	99,8	96,4	95,6
Septoria- Befall [%]	Batis	0	0	0	0	0,6	0	0,3	0,3	1	1,8
	Drifter	0	0	0,2	1,2	2,4	0	0,3	0,4	3,4	7
	Ritmo	0	0	0	0,6	1,4	0	0	0	2,6	3,4

In beiden Versuchsjahren zeichnete die Sorte Batis die meisten PLS-Flecken. Die Befallshöhen mit PLS waren zwar sehr gering, statistisch abgesicherte Sortenunterschiede konnten trotzdem abgeleitet werden (Tabelle 15). Das zeitliche Auftreten nichtparasitärer Blattflecken am Fahnenblatt von Kontrollpflanzen nahm mit zunehmendem Blattalter ab. Die Ursache für die Abnahme der PLS-Flecken vor allem in 2004 kann eine Überlagerung der PLS-Flecken von Sekundärinfektionen durch Pilze sein. Es ist möglich, dass PLS-Flecken als Eintrittspforten von Pilzkrankheiten ins Blattgewebe dienen.

Im Testjahr 2003 war das Pilzwachstum aufgrund der Witterung sehr stark eingeschränkt, eine Steigerung des Pilzbefalls konnte mit zunehmendem Pflanzenalter trotzdem ausgemacht werden. Die überwiegend feucht-warme Witterung während der Vegetationsperiode in 2004 war äußerst günstig für das Auftreten und Heranwachsen von Pilzkrankheiten.

Der Verlust an grüner Blattfläche war bei Drifter in beiden Versuchsjahren am stärksten zu beobachten und somit ein Hinweis für die schnellere Abreife gegenüber den beiden weiteren aufgeführten Weizensorten. In 2004 ging die Blattseneszenz allgemein langsamer vonstatten, Grund dafür ist der unterschiedliche Witterungseinfluss der beiden Versuchsjahre auf die Pflanzen.

Die unterschiedlichen PLS-Sortenanfälligkeiten könnten auf verschiedene bzw. veränderte Funktionszustände des Photosynthesesystems beruhen. Messverfahren wie die Chlorophyll-Fluoreszenz liefern einen Einblick in den Photosyntheseapparat der Pflanzen.

#### **3.3.2. Sortenvergleich**

Die im Folgenden aufgeführten Ergebnisse der Chlorophyll-Fluoreszenz und Blattanalyse im Sortenvergleich entstammten den Kontrollpflanzen der Sorten Batis und Drifter aus den Feldversuchen Göttingen der Versuchsjahre 2003 und 2004.

##### **3.3.2.1. Chlorophyll-Fluoreszenz**

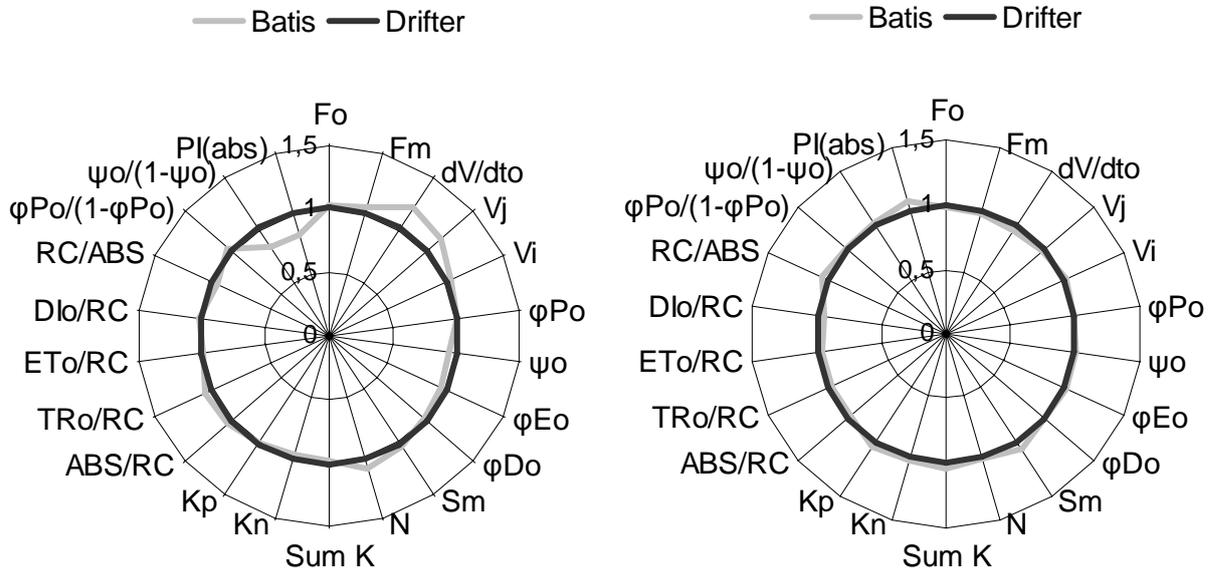
Die Messungen mit dem HandyPea erfolgten morgens einmal wöchentlich im Entwicklungszeitraum EC 55 (Mitte Ährenschieben) bis EC 81 (Anfang Teigreife) am Fahnenblatt der Haupttriebe der ausgewählten Weizensorten nach einer Abdunklungszeit mit dem Blattclip von 25 min. Die zu den jeweiligen Messterminen ermittelten Mittelwerte der Relativwerte ausgesuchter JIP-Parameter von Kontrollpflanzen der Sorten Batis und Drifter werden in diesem Kapitel als Radarplot dargestellt. Die beigefügten Auswertungen der Irrtumswahrscheinlichkeiten der ausgewählten JIP-Parameter verdeutlichen die Sortenunterschiede. Die Ergebnisse der Weizensorte Drifter dienen als Referenz.

##### **Messtermin EC 55 (Mitte Ährenschieben)**

Die aufgeführten graphischen Darstellungen der Photosynthese-Parameter zu EC 55 zeigen in beiden Versuchsjahren kaum Unterschiede in Struktur, Zustand und Funktion der Photosynthese-Apparate im Sortenvergleich.

Trotz der in 2003 aufgeführten Auffälligkeiten zwischen Batis und Drifter, die die variable Fluoreszenz,  $dV/dt_0$  und  $V_J$ , und die Dunkelreaktion  $\Psi_0/(1-\Psi_0)$  betreffen, werden keine gravierenden Sortenunterschiede der Funktionsfähigkeiten der Photosysteme II ( $PI_{ABS}$ )

aufgezeigt. Signifikant höhere Werte von  $dV/dt_0$  und  $V_j$  bei Batis geben einen Hinweis auf eine stärkere Reduktion der Elektronenakzeptoren  $Q_A$  und Plastoquinon. Ist der Plastoquinonpool reduziert, kommt es zu weniger  $Q_B$  Substrat, so dass  $Q_A^-$  die Elektronen kaum Richtung Dunkelreaktion leiten kann. Die Folge ist eine deutliche Abnahme von  $\psi_0/(1-\psi_0)$ , der JIP-Parameter, der die Dunkelreaktion beschreibt.



JIP	EC 55	2003
Fo		Sum K
Fm		Kn
$dV/dt_0$	**	Kp
$V_j$	**	ABS/RC
$V_i$		TRo/RC
$\phi_{Po}$		ETo/RC
$\psi_0$	**	Dl0/RC
$\phi_{Eo}$		RC/ABS
$\phi_{Do}$		$\phi_{Po}/(1-\phi_{Po})$
Sm		$\psi_0/(1-\psi_0)$ **
N		PI(abs)

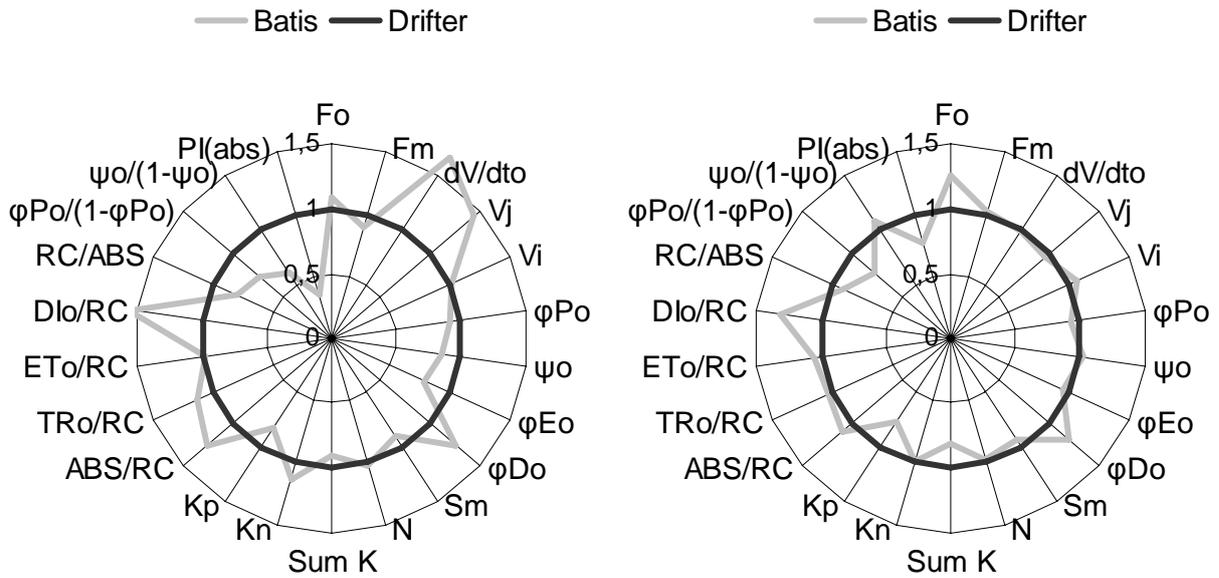
JIP	EC 55	2004
Fo		Sum K
Fm		Kn
$dV/dt_0$		Kp
$V_j$		ABS/RC
$V_i$		TRo/RC
$\phi_{Po}$		ETo/RC
$\psi_0$		Dl0/RC
$\phi_{Eo}$		RC/ABS
$\phi_{Do}$		$\phi_{Po}/(1-\phi_{Po})$
Sm		$\psi_0/(1-\psi_0)$
N		PI(abs)

Abbildung 41: Oben Radarplot ausgewählter JIP-Parameter zu EC 55 in 2003 (links) und 2004 (rechts) der Sorten Batis und Drifter (Referenz) im Vergleich. Unten Signifikanz der Sortenunterschiede ausgesuchter JIP-Parameter, wobei Unterschiede zwischen den Weizensorten \* signifikant sind bei 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit, \*\* signifikant bei 1% Irrtumswahrscheinlichkeit, bzw. \*\*\* signifikant bei 0,1 % Irrtumswahrscheinlichkeit (n = 4).

Im darauf folgenden Versuchsjahr 2004 zeigen die im Radarplot aufgeführten Mittelwerte der Relativwerte bestimmter JIP-Parameter der beiden Weizensorten zum 1. Messtermin weder signifikante Unterschiede noch eventuelle Tendenzen.

**Messtermin EC 61 (Blühbeginn)**

Anfang der Blüte können anhand der Chlorophyll-Fluoreszenzdaten eine Reihe von Unterschieden im Photosynthese-Apparat im Sortenvergleich dargestellt werden.



JIP	EC 61	2003	
Fo		Sum K	*
Fm	*	Kn	*
dV/dto	***	Kp	**
Vj	**	ABS/RC	**
Vi		TRo/RC	*
φPo	**	ETo/RC	
ψo	**	DIo/RC	***
φEo	**	RC/ABS	**
φDo	**	φPo/(1-φPo)	**
Sm		ψo/(1-ψo)	**
N		PI(abs)	***

JIP	EC 61	2004	
Fo	**	Sum K	**
Fm		Kn	
dV/dto		Kp	**
Vj		ABS/RC	
Vi		TRo/RC	
φPo	*	ETo/RC	
ψo		DIo/RC	*
φEo		RC/ABS	
φDo	*	φPo/(1-φPo)	**
Sm		ψo/(1-ψo)	
N		PI(abs)	*

Abbildung 42: Oben Radarplot ausgewählter JIP-Parameter zu EC 61 in 2003 (links) und 2004 (rechts) der Sorten Batis und Drifter (Referenz) im Vergleich. Unten Signifikanz der Sortenunterschiede ausgesuchter JIP-Parameter, wobei Unterschiede zwischen den

Weizensorten \* signifikant sind bei 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit, \*\* signifikant bei 1% Irrtumswahrscheinlichkeit, bzw. \*\*\* signifikant bei 0,1 % Irrtumswahrscheinlichkeit (n = 4).

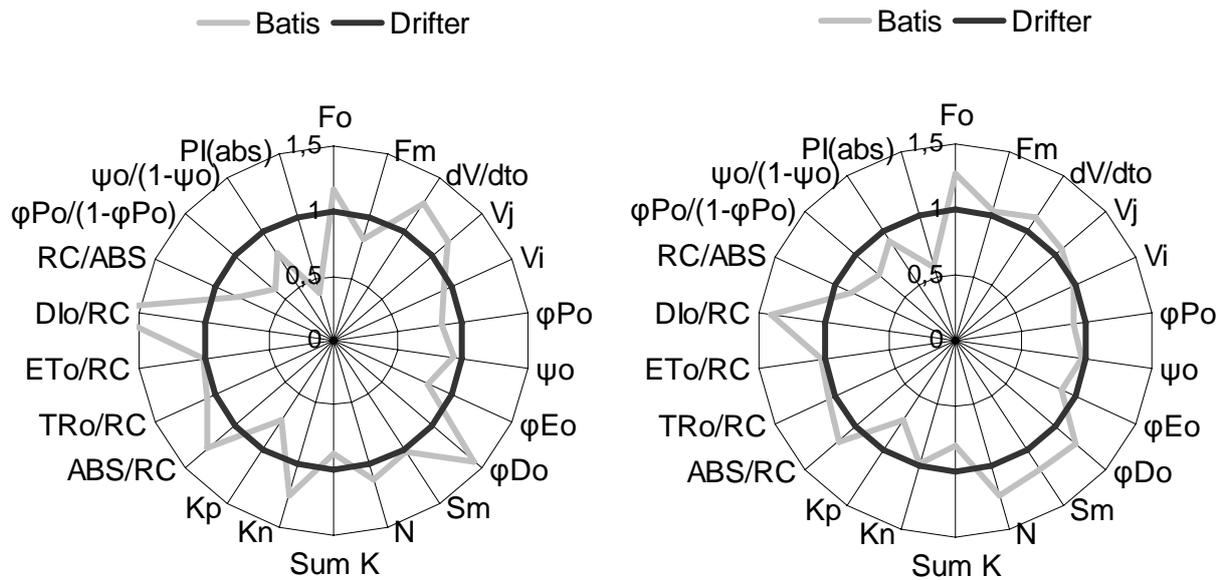
In 2003 zeigen die JIP-Parameter, die die dissipierte Energie beschreiben, wie  $\phi_{D_0}$ ,  $k_N$  und  $DI_0/RC$ , bei der PLS-anfälligeren Sorte Batis eine ausgeprägte Steigerung gegenüber der Sorte Drifter. Ein Anzeichen für stille, nicht  $Q_A$  reduzierende Reaktionszentren bei Batis liefert die Beobachtung, dass die Dichte aktiver Reaktionszentren (RC/ABS) bei Batis signifikant geringer ist, die Energieflüsse pro Reaktionszentrum (ABS/RC,  $TR_0/RC$ ,  $ET_0/RC$  und  $DI_0/RC$ ) jedoch ansteigen. Diese Auffälligkeit bedeutet, dass die stillen Reaktionszentren eine Art Kühlerfunktion besitzen, sie geben Wärme ab. Der Parameter zur Funktionsfähigkeit des Photosyntheseapparates ( $PI_{ABS}$ ) zeigt bei Batis eine deutliche Einschränkung. Die Leistung der Lichtreaktion ( $\phi_{P_0}/(1-\phi_{P_0})$ ) ist bei Drifter signifikant höher, ebenso die Leistung der Dunkelreaktion ( $\Psi_0/(1-\Psi_0)$ ). Grund für die verringerte Dunkelreaktion von Batis ist der stärker reduzierte Redoxzustand des Plastoquinonpools ( $dV/dt_0$  und  $V_J$ ).

Der zweite Messtermin in 2004 zeigt ebenfalls deutliche Unterschiede im Verlauf der Photosynthese zwischen Batis und Drifter. Die bei Batis signifikant gesteigerte dissipierte Anregungsenergie ( $\phi_{D_0}$  und  $DI_0/RC$ ) liefert eine Erklärung für die verringerte photochemische Rate ( $k_P$ ) und somit die verminderte Lichtreaktion ( $\phi_{P_0}/(1-\phi_{P_0})$ ) dieser Weizensorte zu Anfang der Blüte in 2004. Der Elektronenfluss hingegen zeigt keine signifikanten Unterschiede. Auch zeigen sich, wie im Vorjahr, erfolgreiche Optimierungen des Photosynthese-Verlaufs bei Drifter, ausgedrückt in der signifikanten Steigerung der Funktionsfähigkeit des Photosystems II ( $PI_{ABS}$ ).

#### **Messtermin EC 71 (Kornbildung)**

Auffällig an diesem Messtermin sind die beibehaltenen Abweichungen der JIP-Parameter zwischen den Sorten wie zu EC 61 im Vorjahr gezeigt, wenn auch statistisch gesehen mit Unterschieden.

In 2003 weisen die JIP-Parameter zur Beschreibung der dissipierten Energie ( $\phi_{D_0}$ ,  $k_N$  und  $DI_0/RC$ ) zu diesem Messtermin bei Batis einen statistisch deutlichen Verlust von Anregungsenergie gegenüber der Sorte Drifter auf. Somit ist zur Kornbildung die Funktionsfähigkeit des Photosyntheseapparates ( $PI_{ABS}$ ) bei Batis deutlich verringert, ebenso die Leistung der Lichtreaktion ( $\phi_{P_0}/(1-\phi_{P_0})$ ). Aus dem Radarplot (Abbildung 43) kann deutlich abgelesen werden, dass Batis höhere Energieflüsse pro RC bei gleichzeitigem Verlust aktiver Reaktionszentren (RC/ABS) im Vergleich zu Drifter aufweist.



JIP	EC 71	2003	
Fo		Sum K	
Fm	**	Kn	**
dV/dto		Kp	*
Vj		ABS/RC	*
Vi		TRo/RC	
φPo	*	ETo/RC	
ψo		DIo/RC	*
φEo	*	RC/ABS	*
φDo	*	φPo/(1-φPo)	*
Sm		ψo/(1-ψo)	
N		PI(abs)	*

JIP	EC 71	2004	
Fo	**	Sum K	**
Fm		Kn	
dV/dto		Kp	*
Vj		ABS/RC	
Vi		TRo/RC	
φPo		ETo/RC	
ψo		DIo/RC	
φEo		RC/ABS	
φDo		φPo/(1-φPo)	
Sm	*	ψo/(1-ψo)	
N	*	PI(abs)	

Abbildung 43: Oben Radarplot ausgewählter JIP-Parameter zu EC 71 in 2003 (links) und 2004 (rechts) der Sorten Batis und Drifter (Referenz) im Vergleich. Unten Signifikanz der Sortenunterschiede ausgesuchter JIP-Parameter, wobei Unterschiede zwischen den Weizensorten \* signifikant sind bei 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit, \*\* signifikant bei 1% Irrtumswahrscheinlichkeit, bzw. \*\*\* signifikant bei 0,1 % Irrtumswahrscheinlichkeit (n = 4).

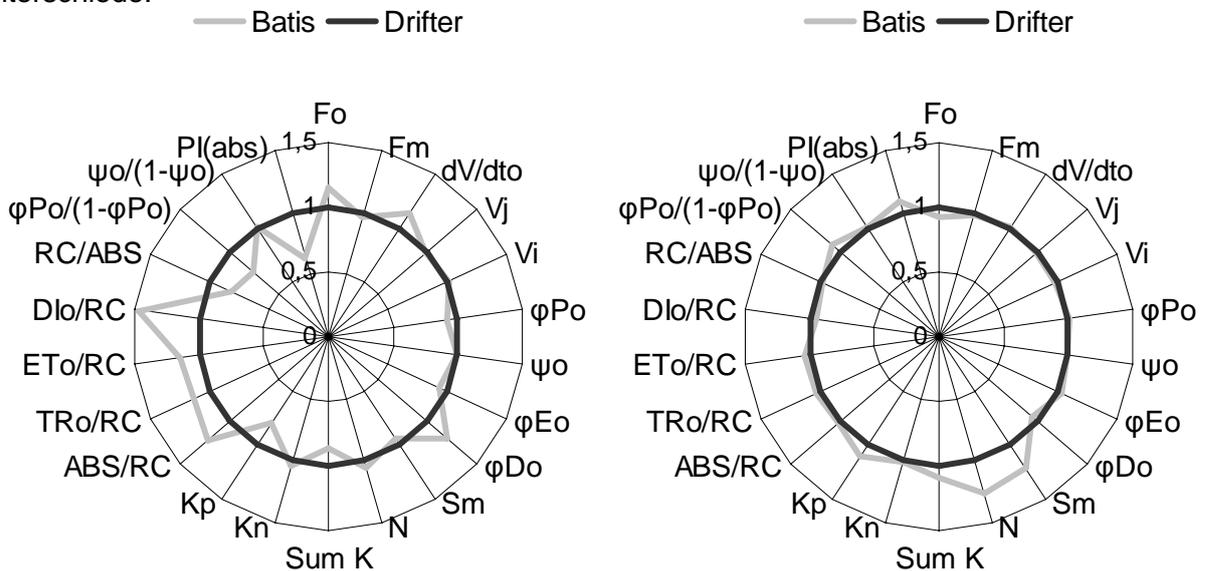
Diese Tatsache gibt einen Hinweis auf Einschränkungen des Photosystems II bei Batis, damit wird die geringere Ausbeute der Photochemie ( $\phi_{Po}$ ) erklärt. Außerdem zeigt Batis tendenziell höhere Werte an  $dV/dt_o$  und  $V_j$  auf, ein Hinweis auf einen stärker reduzierten Plastoquinonpool, der zu einer Einschränkung von  $Q_B$  führt, und somit die Reoxidation von  $Q_A$  beeinflusst. Diese Tatsache führt dazu, dass nicht genügend Elektronen für die Dunkelreaktion vorhanden sind,  $\Psi_o/(1-\Psi_o)$  ist bei Batis tendenziell geringer als bei Drifter.

In 2004 weisen die deutlich erhöhte Grundfluoreszenz ( $F_o$ ) und die signifikant verringerte photochemische Rate ( $k_p$ ) in diesem EC-Stadium auf mögliche Schäden im Photosystem II

bei Batis hin. Dafür spricht auch, dass die Energieflüsse pro Reaktionszentrum bei Batis höher sind, die aktiven Reaktionszentren (RC/ABS) hingegen abnehmen. Außerdem weist der signifikante Unterschied von JIP-Parameter N im Sortenvergleich auf deutlich mehr Elektronen im Photosystem II bei Batis hin, die zur Reduktion der Elektronenakzeptoren nötig sind. Insgesamt zeigt Drifter einen verbesserten Photosyntheseverlauf auf, welches sich in erhöhter Funktionsfähigkeit des Photosystems II ( $PI_{ABS}$ ) ausdrückt.

### Messtermin EC 75 (Milchreife)

Die Darstellung der Radarplots zum Messtermin EC 75 in 2003 und 2004 zeigen deutliche Unterschiede.



JIP	EC 75	2003	
Fo	*	Sum K	*
Fm		Kn	
dV/dto		Kp	*
Vj		ABS/RC	*
Vi		TRo/RC	*
$\phi Po$	*	ETo/RC	
$\psi$		DIo/RC	**
$\phi Eo$		RC/ABS	*
$\phi Do$	**	$\phi Po/(1-\phi Po)$	*
Sm		$\psi/(1-\psi)$	
N		PI(abs)	*

JIP	EC 75	2004	
Fo	*	Sum K	*
Fm		Kn	
dV/dto		Kp	
Vj		ABS/RC	
Vi		TRo/RC	
$\phi Po$		ETo/RC	
$\psi$		DIo/RC	
$\phi Eo$		RC/ABS	
$\phi Do$		$\phi Po/(1-\phi Po)$	
Sm		$\psi/(1-\psi)$	
N	*	PI(abs)	

Abbildung 44: Oben Radarplot ausgewählter JIP-Parameter zu EC 75 in 2003 (links) und 2004 (rechts) der Sorten Batis und Drifter (Referenz) im Vergleich. Unten Signifikanz der

Sortenunterschiede ausgesuchter JIP-Parameter, wobei Unterschiede zwischen den Weizensorten \* signifikant sind bei 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit, \*\* signifikant bei 1% Irrtumswahrscheinlichkeit, bzw. \*\*\* signifikant bei 0,1 % Irrtumswahrscheinlichkeit (n = 4).

Während in 2003 weiterhin Sortenunterschiede auftreten, sind in 2004 kaum welche auszumachen.

Eine deutliche Steigerung von  $F_o$  in Batis ist in 2003 zu erkennen, in Verbindung mit einer Reduktion von  $k_p$  ist eine Unausgeglichenheit am PS II möglich. Allerdings tritt zu EC 75 keine Einschränkung der Dunkelreaktion bei Batis gegenüber Drifter auf, so dass es nicht zu Elektronenstau kommt. Auf Einschränkungen des Elektronenflusses gibt der Radarplot keine Hinweise. Von einem Schaden am PS II kann aufgrund des Funktionsverlustes des Photosynthese-Apparates ( $PI_{ABS}$ ) nicht ausgegangen werden, da zu diesem Messtermin, wie auch schon zu EC 61 und EC 71 gezeigt, aufgrund ansteigender Energieflüsse pro Reaktionszentrum und abnehmender aktiver Reaktionszentren (RC/ABS) bei Batis stille, nicht- $Q_A$  reduzierende Reaktionszentren entstehen, die Anregungsenergie als Wärme abgeben. Der signifikant verminderte  $PI_{ABS}$  Parameter bei Batis weist auf eine verringerte Funktionsfähigkeit des Photosynthese-Apparates hin.

In 2004 ist auffällig, dass Batis deutlich mehr Elektronen zur Reduktion der Elektronenakzeptoren (N) benötigt als Drifter. Diese Tatsache kann kaum anhand von unterschiedlichem Elektronenfluss zwischen den Sorten erklärt werden.

#### **Messtermin EC 81 (Anfang Teigreife)**

Die Fluoreszenzdaten zu Anfang Teigreife zur Differenzierung der Weizensorten in Bezug auf Struktur, Zustand und Funktion des jeweiligen Photosynthese-Apparates zeigen in beiden Versuchsjahren kaum Gemeinsamkeiten. In 2003 weist die Abnahme der Energieflüsse pro Reaktionszentrum und die gleichzeitige Zunahme aktiver Reaktionszentren (RC/ABS) in Batis auf nicht- $Q_A$  reduzierende Reaktionszentren hin, die in diesem Fall Optimierungsfunktionen erfüllen. Signifikante Sortenunterschiede in Funktion des Photosynthese-Apparates können nicht ausgemacht werden, auch wenn tendenziell die Licht- und Dunkelreaktion in Batis geringer erscheint. Signifikante Unterschiede im Elektronenfluss gibt es nur beim Parameter  $V_i$ , wobei es in diesem Fall zur stärkeren Reduktion des Elektronenakzeptors Plastoquinon kommt.

In 2004 zeigen die Parameter  $dV/dt_o$ ,  $V_J$  und  $\Psi_o/(1-\Psi_o)$  deutliche Abweichungen zwischen Batis und Drifter. Signifikant höhere Werte von  $dV/dt_o$  und  $V_J$  bei Drifter geben einen Hinweis

auf eine stärkere Reduktion des Plastoquinonpools, sodass Elektronen nicht in die Dunkelreaktion weitergeleitet werden. Von daher ist Dunkelreaktion ( $\Psi_o/(1-\Psi_o)$ ) signifikant geringer bei Drifter.

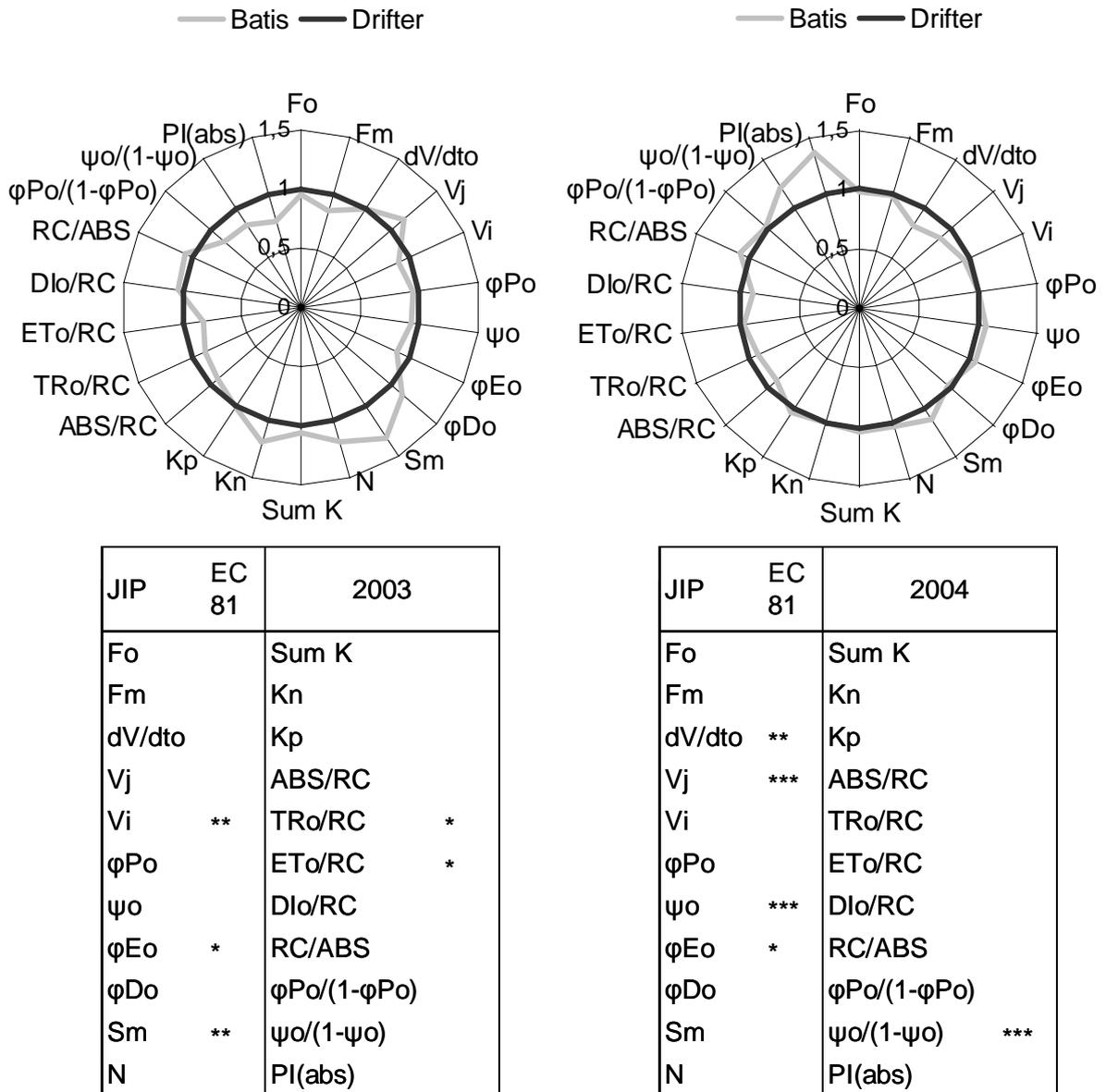


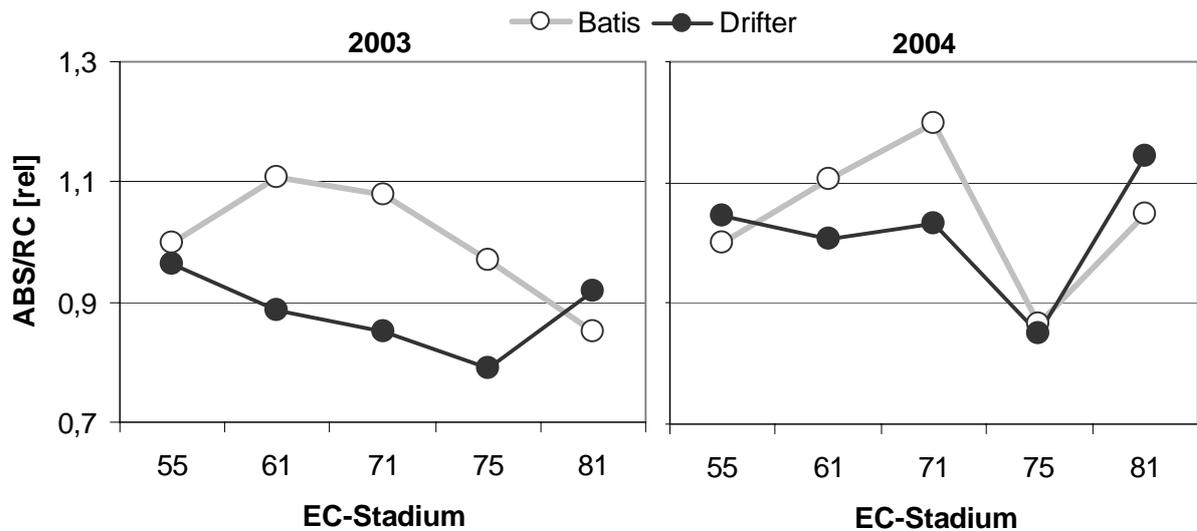
Abbildung 45: Oben Radarplot ausgewählter JIP-Parameter zu EC 81 in 2003 (links) und 2004 (rechts) der Sorten Batis und Drifter (Referenz) im Vergleich. Unten Signifikanz der Sortenunterschiede ausgesuchter JIP-Parameter, wobei Unterschiede zwischen den Weizensorten \* signifikant sind bei 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit, \*\* signifikant bei 1% Irrtumswahrscheinlichkeit, bzw. \*\*\* signifikant bei 0,1 % Irrtumswahrscheinlichkeit (n = 4).

### EC 55 – EC 81

An ausgewählten JIP-Parametern (ABS/RC, DIo/RC und PI<sub>ABS</sub>) sollen die Sortenunterschiede von Batis und Drifter zusammengefasst über den gesamten

Messzeitraum graphisch verdeutlicht werden. Die in Liniendiagrammen dargestellten relativen Chlorophyll-Fluoreszenz-Werte beziehen sich auf EC 55 von 2003 (Referenz = 1), die statistischen Abweichungen wurden von den Absolutwerten errechnet.

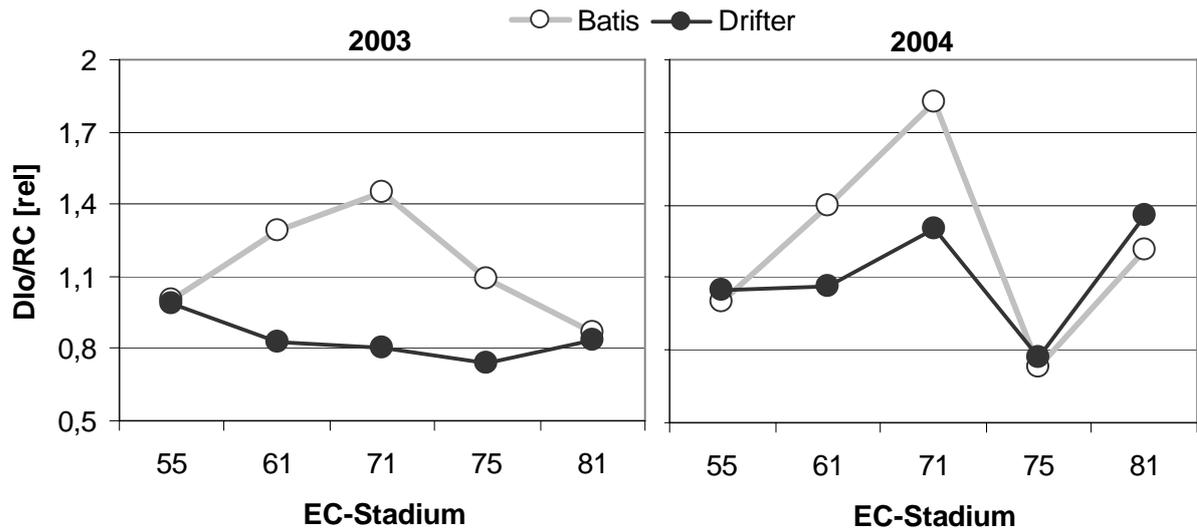
Die ausgewählten Parameter zeigen in beiden Versuchsjahren deutliche Unterschiede im Verhalten der Sorten. So weist Batis in beiden Versuchsjahren eine höhere Absorption an Photonen von Chlorophyllmolekülen pro Reaktionszentrum im Vergleich zu Drifter auf, außer zu EC 81. In diesem Stadium absorbiert Drifter eine höhere Menge an Lichtenergie.



Jahr	2003					2004				
	55		61		71		75		81	
Sorte	B	D	B	D	B	D	B	D	B	D
<b>ABS/RC</b>			a	b	a	b	a	b		

Abbildung 46: Oben relativer Verlauf (EC 55; 2003 ist Referenz) von ABS/RC der Sorten Batis (B) und Drifter (D) der Versuchsjahre 2003 und 2004 im Vergleich. Unten signifikante Unterschiede der absoluten Werte zwischen den Weizensorten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  ( $n = 4$ ).

Die dissipierte Energie pro Reaktionszentrum ( $DI_0/RC$ ) bei Batis ist ebenfalls deutlich erhöht. Das bedeutet, dass im Vergleich zu Drifter ein Überschuss an absorbierten Photonen vorliegt, die vom Photosystem II abgegeben werden und nicht in die Photochemie fließen.

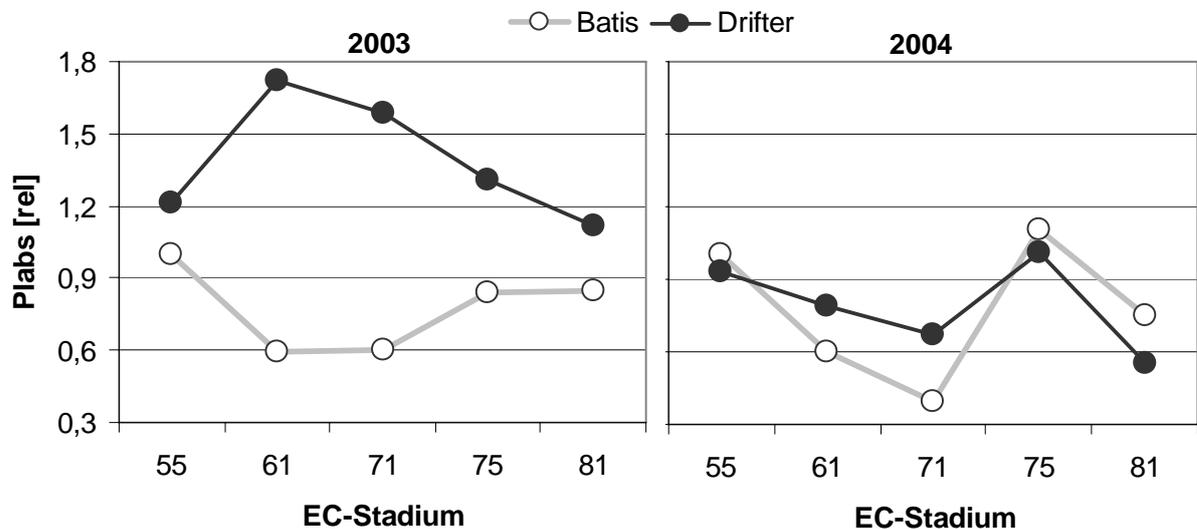


Jahr	2003				
EC	55	61	71	75	81
Sorte	B D	B D	B D	B D	B D
Dlo/RC		a b	a b	a b	

2004				
55	61	71	75	81
B D	B D	B D	B D	B D
	a b			

Abbildung 47: Oben relativer Verlauf (EC 55; 2003 ist Referenz) von  $DI_o/RC$  der Sorten Batis (B) und Drifter (D) der Versuchsjahre 2003 und 2004 im Vergleich. Unten signifikante Unterschiede der absoluten Werte zwischen den Weizensorten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  ( $n = 4$ ).

In beiden Versuchsjahren zeigt sich bei Batis ein Überangebot an Photonen ( $ABS/RC$ ). Gekoppelt mit der Nichtnutzung der Lichtenergie und dem Abführen angeregter Lichtenergie ( $DI_o/RC$ ) aus dem Photosystem heraus, kommt es zu Stress bei der Weizensorte, und somit zu verringerter Funktionsfähigkeit des Photosynthese-Apparates ( $PI_{ABS}$ ). Drifter hingegen absorbiert weniger Lichtenergie ( $ABS/RC$ ), die Dissipation ist geringer ( $DI_o/RC$ ), die Folge ist eine geringere Einschränkung des Photosynthese-Verlaufs gegenüber Batis.



Jahr	2003					2004				
	EC	55	61	71	75	81	55	61	71	75
Sorte	B D	B D	B D	B D	B D	B D	B D	B D	B D	B D
Plabs		b a	b a	b a						

Abbildung 48: Oben relativer Verlauf (EC 55; 2003 ist Referenz) von  $PI_{ABS}$  der Sorten Batis (B) und Drifter (D) der Versuchsjahre 2003 und 2004 im Vergleich. Unten signifikante Unterschiede der absoluten Werte zwischen den Weizensorten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  ( $n = 4$ ).

Die an den drei JIP-Parametern aufgeführten Sortenunterschiede (Abbildungen 46, 47 und 48) lassen den Rückschluss zu, dass Batis aufgrund gesteigerter Aufnahme von Photonen bei gleichzeitig verminderter photochemischer Lichtnutzung mehr toxische Sauerstoffradikale während des Photosynthese-Verlaufs bildet als Drifter. Mit Blick auf die PLS-Bonituren (Tabelle 15) bestätigt sich diese Vermutung. Drifter weist weniger abiotische Blattflecken auf, ein Zeichen für geringeren oxidativen Stress im Vergleich zu Batis.

### 3.3.2.2. Blattanalysen

Anhand physiologischer Blattuntersuchungen wurde der Status des antioxidativen Schutzsystems an unterschiedlich anfälligen Weizensorten für PLS untersucht. Die Aktivität der ROS-entgiftenden Enzyme Superoxid-Dismutase (SOD) und Ascorbat-Peroxidase (APX) wurden bestimmt. Weitere untersuchte Parameter für oxidativen Stress sind Blattproteinmenge und Lipidperoxidation der Blätter. Die folgenden Grafiken beziehen sich auf F-Blätter der Kontrollpflanzen der Weizensorten Batis und Ritmo aus den Versuchsjahren 2003 und 2004. Die Aufteilung der Grafiken soll zeigen, ob es Unterschiede zwischen der gering anfälligen PLS-Sorte Ritmo gegenüber der stressanfälligeren Sorte Batis gab.

#### Stressparameter: Superoxid-Dismutase (SOD) - Aktivität

Der Aktivitätsverlauf der Superoxid-Dismutase in 2003 zeigt im Verlauf außer zu EC 61 sehr geringe Unterschiede zwischen der gering anfälligen Sorte für abiotische Blattflecken Ritmo und dem anfälligerem Weizen Batis.

In 2004 weist Ritmo zu fast allen aufgeführten Entwicklungsstadien eine verminderte Aktivität gegenüber Batis auf. Die erhöhte Aktivität kann einen Hinweis darauf geben, dass Batis einen höheren Anteil an Superoxid-Radikalen entgiftet und somit mehr Wasserstoffperoxid

produziert. Ob  $H_2O_2$  im zweiten Versuchsjahr als Signal zur Alarmbereitschaft diene, kann teilweise aus deren Entgiftungsrate durch die Ascorbatperoxidase abgelesen werden.

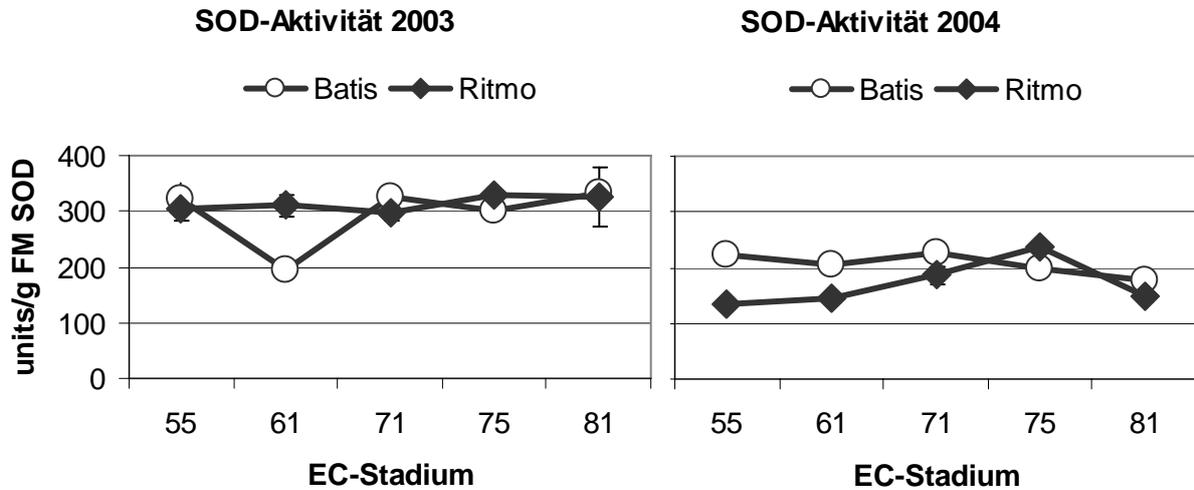


Abbildung 49: Superoxid-Dismutase- (SOD-) Aktivität in F-Blättern der Kontrollpflanzen Batis und Ritmo im Vergleich in den Versuchsjahren 2003 (links) und 2004 (rechts) im Zeitverlauf (n = 3;  $\pm$  Stdabw).

#### Stressparameter: Ascorbatperoxidase (APX)- Aktivität

Der Verlauf der  $H_2O_2$ -Entgiftung in 2003 von Batis und Ritmo unterscheidet sich einerseits durch einen späteren Abfall der APX-Aktivität in Ritmo, andererseits weist Batis eine deutlich höhere Aktivität in EC 61 und EC 71 auf.

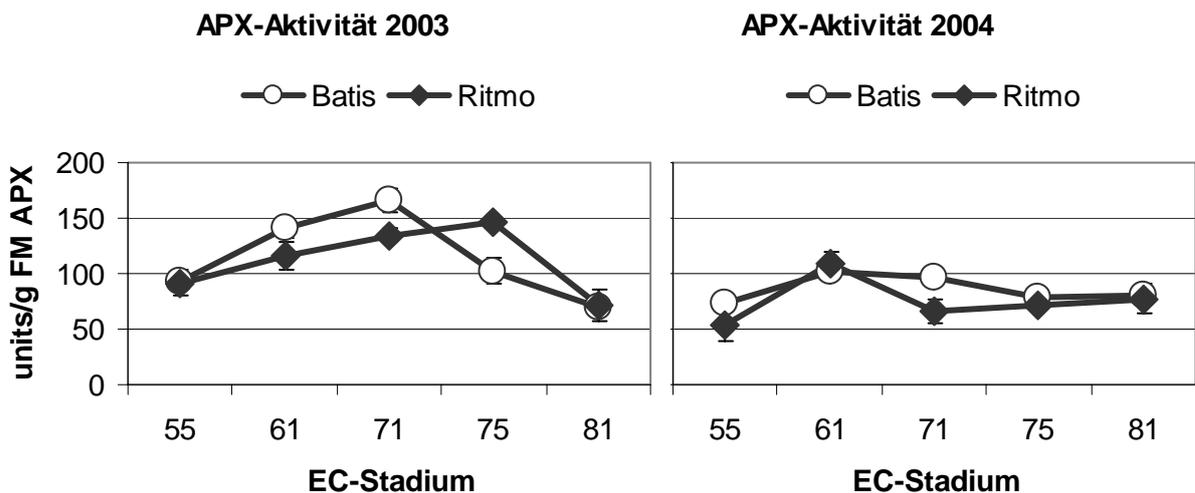


Abbildung 50: Ascorbat-Peroxidase- (APX-) Aktivität in F-Blättern der Kontrollpflanzen Batis und Ritmo im Vergleich in den Versuchsjahren 2003 (links) und 2004 (rechts) im Zeitverlauf (n = 3;  $\pm$  Stdabw).

Beim Verlauf der APX-Aktivität in 2004 können außer zu EC 71 keine Sortenunterschiede ausgemacht werden. Die Entgiftung von Wasserstoffperoxid ab Blühbeginn entspricht in etwa in beiden Sorten der Produktion von  $H_2O_2$  durch Superoxid-Dismutase. Auf der einen Seite wird mehr Wasserstoffperoxid in der stressanfälligeren Sorte Batis produziert auf der anderen Seite wird tendenziell mehr  $H_2O_2$  entgiftet.

### Stressparameter: Blattproteinmenge

Um Proteine in gelöster Form quantitativ zu bestimmen, wurde die Proteinbestimmung nach der Methode von Bradford durchgeführt. Im Sortenvergleich ist allgemein der Proteinrückgang zur Reife hin wichtig, da hier Aussagen über die Stressresistenz getroffen werden können. Die Sorte, bei der das Protein eher abnimmt, gelangt eher in die Seneszenz. Dieser Umstand ist auch als Folge weniger effizienter Stressresistenz zu deuten.

Die Ergebnisse in 2003 zeigen eine höhere Menge an löslichen Blattproteinen als in 2004.

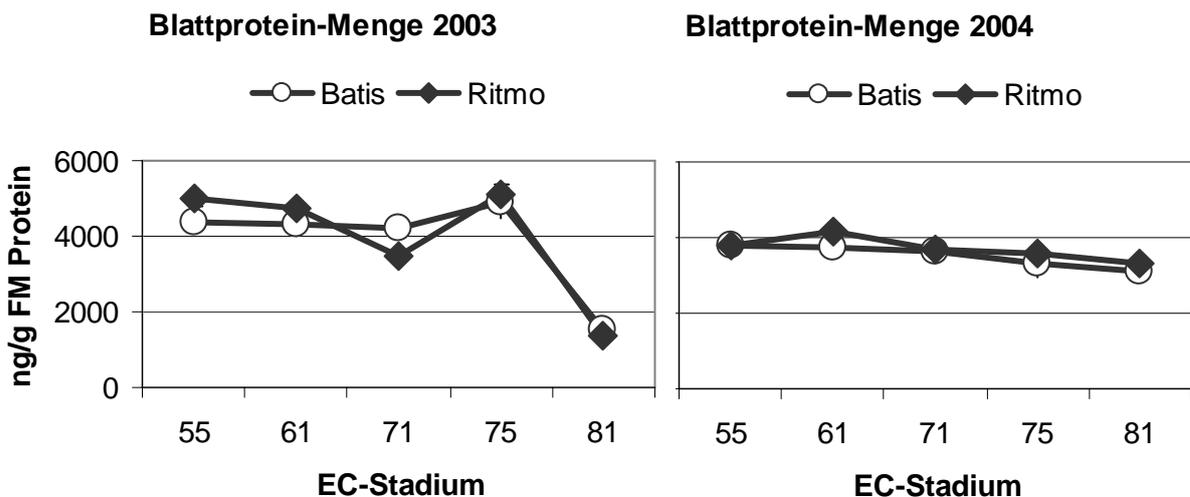


Abbildung 51: Lösliche Blattprotein-Menge in F-Blättern der Kontrollpflanzen Batis und Ritmo im Vergleich in den Versuchsjahren 2003 (links) und 2004 (rechts) im Zeitverlauf ( $n = 3$ ;  $\pm$  Stdabw).

Der Verlauf der Blattprotein-Menge im Sortenvergleich ist mit zunehmendem Blattalter in 2003 wie auch in 2004 sehr ähnlich.

Der starke Abfall der Proteinmenge von Ritmo und Batis zu EC 81 in 2003 ist ein Zeichen für die stark fortschreitende Seneszenz der Blätter. Diese Tatsache kann mittels der Bonituren zur grünen Blattfläche (Tabelle 16) erklärt werden, da die Abnahme der Proteinmenge und der Rückgang grüner Blattfläche zueinander korrelieren.

Der Abfall der Blattproteinmenge zu EC 81 in 2003 wird bestätigt durch die Bonitur der grünen Blattfläche, die ebenfalls einen sehr deutlichen Abfall in beiden Sorten zeigt. Die Seneszenz hat deutlich zugenommen im Vergleich zu EC 75.

In 2004 können keine deutlichen Unterschiede der Proteinmengen gezeigt werden, tendenziell jedoch zeigt Ritmo insgesamt höhere Proteinmengen als Batis.

### Seneszenzparameter: Lipidperoxidation

Das Endprodukt der Lipidperoxidation ist Malondialdehyd (MDA), das ausschließlich aus mehrfach ungesättigten Lipiden entsteht. Somit ist die photometrisch bestimmte Konzentration von MDA ein Maß für die stattgefundene Lipidperoxidation. Je stärker die Lipidperoxidation, desto größer die Membranschädigung.

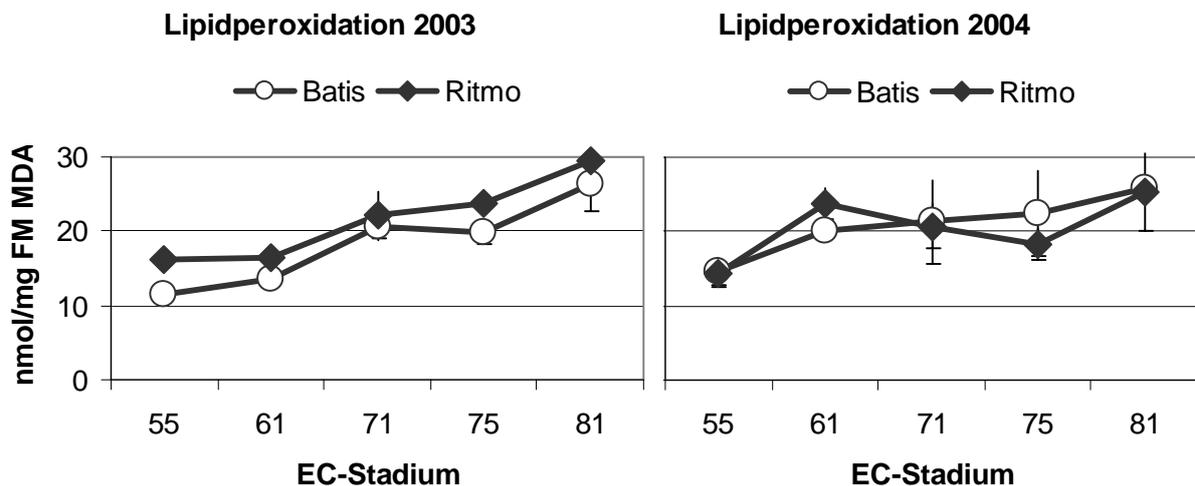


Abbildung 52: Lipidperoxidation in F-Blättern der Kontrollpflanzen Batis und Ritmo im Vergleich in den Versuchsjahren 2003 (links) und 2004 (rechts) im Zeitverlauf (n = 3; ± Stdabw).

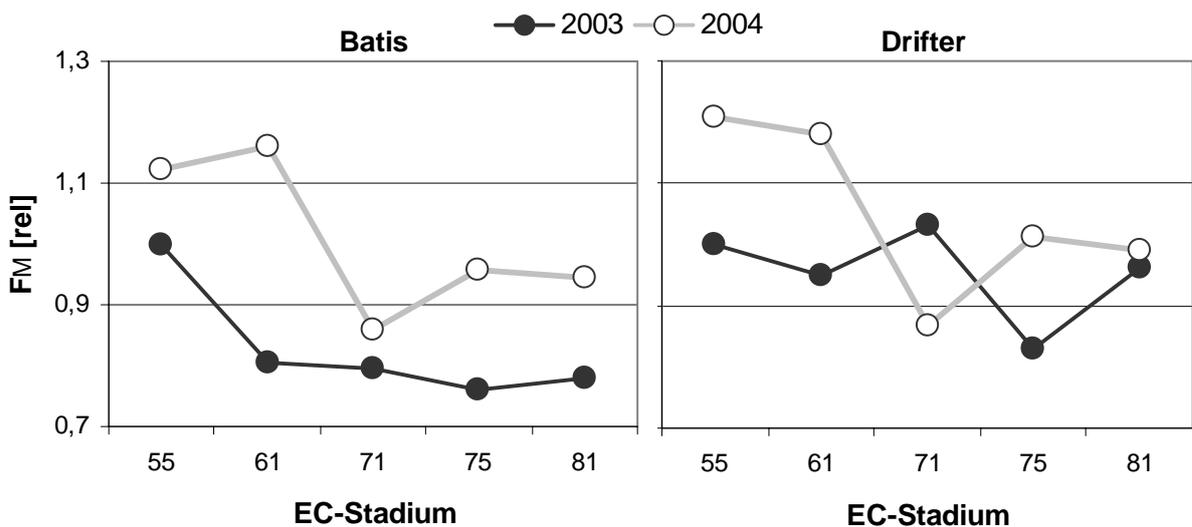
Die MDA-Gehalte nehmen mit zunehmendem Blattalter zu. Unterschiede zwischen den Sorten können aufgezeigt werden, tendenziell zeigt die geringer stressanfällige Sorte Ritmo zu fast allen EC-Stadien in 2003 höhere Lipidperoxidationen als Batis auf. Dieses Ergebnis ist in der Form nicht erwartet worden, da Gerstenversuche von (Wu & Tiedemann 2002) zeigen, dass der MDA-Gehalt mit zunehmender PLS-Häufigkeit steigt. Allerdings ist an dieser Stelle auch darauf hinzuweisen, dass die Schädigungen der PLS-Flecken in Gerste um ein Vielfaches höher liegen als im Weizen.

### 3.3.3. Witterungseinflüsse

In Kapitel 3.1. wurden die deutlichen Witterungsunterschiede der Versuchsjahre 2003 und 2004 herausgearbeitet. Welchen Einfluss die vorherrschenden Wetterverhältnisse auf die Photosynthese-Abläufe und Stressphysiologie der getesteten Weizensorten ausübte, wird in diesem Kapitel aufgezeigt.

#### 3.3.3.1. Chlorophyll-Fluoreszenz

Die aufgeführten Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen aus den Feldversuchen 2003 und 2004 entstammen den Kontrollpflanzen der Sorten Batis und Drifter. Die Messungen mit dem HandyPea erfolgten morgens einmal wöchentlich im Entwicklungszeitraum EC 55 (Mitte Ährenschieben) bis EC 81 (Anfang Teigreife) am Fahnenblatt der Haupttriebe der ausgewählten Weizensorten.



Sorte	Batis					Drifter				
	55	61	71	75	81	55	61	71	75	81
Jahr	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04
$F_M$	b a	b a		b a	b a	b a	b a	a b	b a	

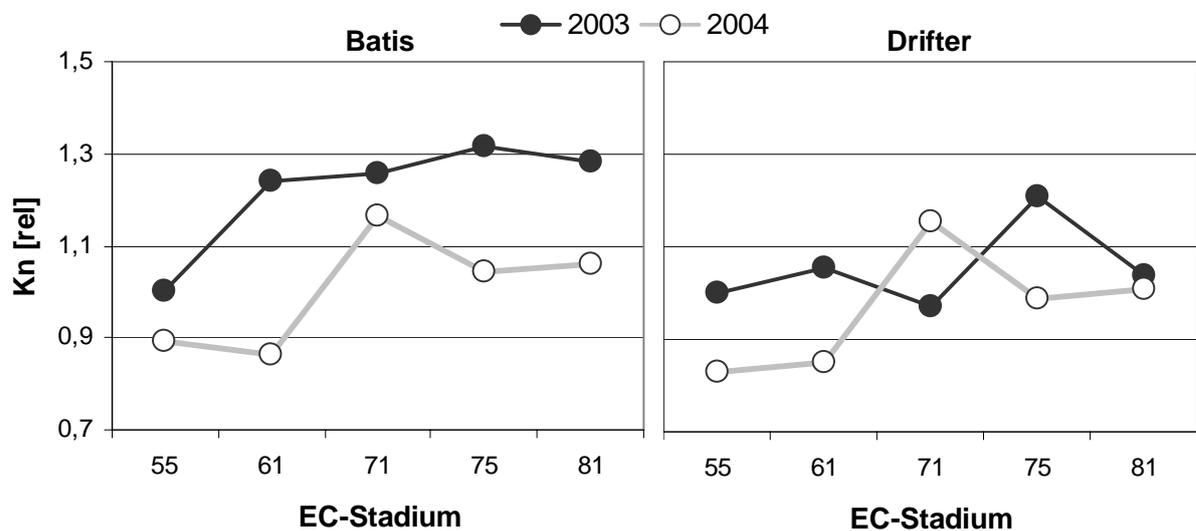
Abbildung 53: Oben relativer Verlauf von  $F_M$  der Versuchsjahre 2003 und 2004 im Vergleich der Weizensorten Batis und Drifter (EC 55; 2003 ist Referenz). Unten signifikante Unterschiede der absoluten Werte zwischen den Versuchsjahren mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  ( $n = 4$ ).

Unterschiedliche Wechselwirkungen zwischen Sorten und Witterung konnte nur für wenige Parameter beobachtet werden ( $F_M$ ,  $k_N$ ,  $S_m$  und  $PI_{ABS}$ ). Neben der graphischen Darstellung

der relativen Werte als Liniendiagramme, wobei EC 55 aus 2003 als Referenz (= 1) dient, sind die statistischen Abweichungen der Absolutwerte aufgeführt. Die ausgewählten Parameter zeigen mit Blick auf die extrem unterschiedlichen Witterungsverhältnisse einen klaren Trend in den gewählten Weizensorten. Es zeichnet sich ab, dass in einem Jahr die Verläufe in beiden Sorten ähnlich sind, im anderen Jahr gibt es deutliche Unterschiede. Dieses Verhalten ist dem Witterungseinfluss zuzuschreiben.

Der Verlauf von  $F_M$  bei Batis, bezogen auf EC 55, nimmt in 2003 zunächst stark ab, ab EC 61 verringert sich die maximale Fluoreszenz nur noch gering. In 2004 zeigt sich bei der Sorte ein deutlicher Zickzack-Trend. Dieser Verlauf in 2004 ist auch bei Drifter zu sehen, in 2003 allerdings verläuft die Kurve deutlich entgegengesetzt. Die aufgeführten statistischen Abweichungen zeigen signifikante Differenzen zwischen den Versuchsjahren zu bestimmten EC-Stadien, wobei vor allem 2004 höhere Werte aufweist.

Mit Blick auf die vorherrschenden Wetterverhältnisse in den Versuchsjahren ist auffällig, dass im extrem trockenen und heißen 2003 die Verläufe der maximalen Fluoreszenz der Sorten, bezogen auf EC 55 aus 2003, stark auseinander driften. In 2004 in dem die Witterung nicht so stark vom langjährigen Mittel abweicht, zeigt  $F_M$  einen sehr ähnlichen Verlauf im Sortenvergleich. Dieses Verhalten der Sorten auf die Witterung zeigt sich auch beim Parameter  $k_N$ , der die nicht-photochemische Ratenkonstante beschreibt.



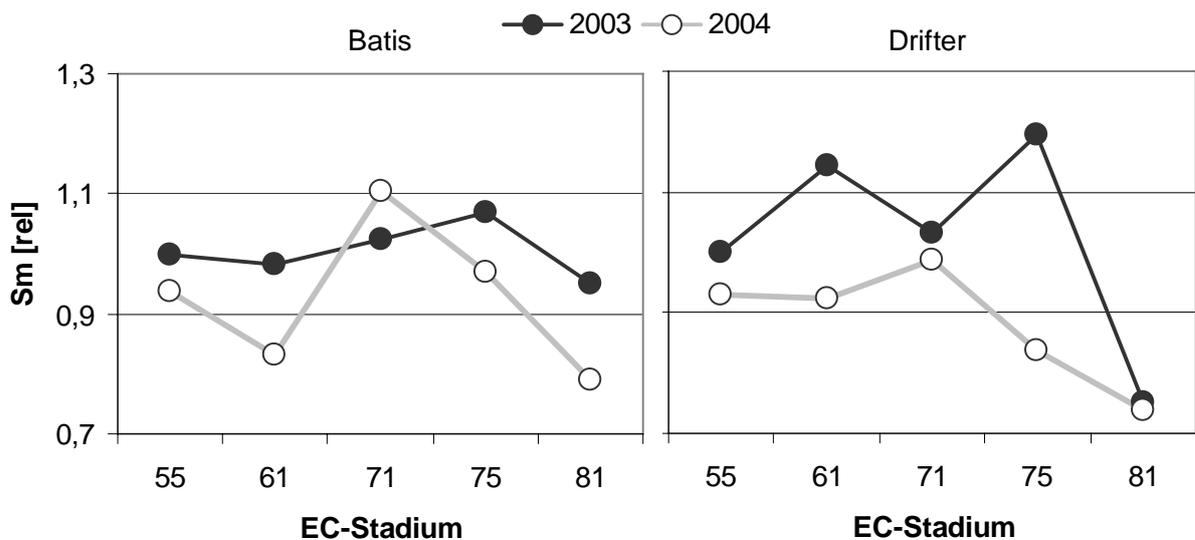
Sorte	Batis					Drifter				
	55	61	71	75	81	55	61	71	75	81
EC	55	61	71	75	81	55	61	71	75	81
Jahr	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04
$k_N$	a b	a b		a b	a b	a b	a b	b a	a b	

Abbildung 54: Oben relativer Verlauf von  $k_N$  der Versuchsjahre 2003 und 2004 im Vergleich der Weizensorten Batis und Drifter (EC 55; 2003 ist Referenz). Unten signifikante

Unterschiede der absoluten Werte zwischen den Versuchsjahren mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  ( $n = 4$ ).

In 2004 ist ein ähnlicher Trend beider Sorten zu beobachten, im Extremjahr 2003 hingegen zeigen sich deutliche Unterschiede bei der graphischen Darstellung. Während in 2003 bei Batis  $k_N$  schon zu EC 61 stark anwächst und den Level noch leicht erhöht, zeigt Drifter erst zu EC 75 eine ausgeprägt Zunahme der nicht-photochemischen Ratenkonstante, die jedoch zu EC 81 wieder abfällt. Der Blick auf die statistische Auswertung zeigt, dass  $k_N$  in 2003 zu fast allen EC-Stadien signifikant höhere Werte erzielt.

Sortenunterschiede während des Photosynthese-Prozesses im Umgang mit vorherrschenden Wetterverhältnissen können auch beim Parameter  $S_m$  dargestellt werden. Der die Elektronenkapazität der Elektronentransportkette beschreibende JIP-Parameter  $S_m$  weist bei der Darstellung als Liniendiagramm mit EC 55 aus 2003 als Referenzwert in beiden Versuchsjahren Unterschiede auf, wobei im Sortenvergleich Ähnlichkeiten im Verlauf in 2004 zwischen Batis und Drifter auszumachen sind.

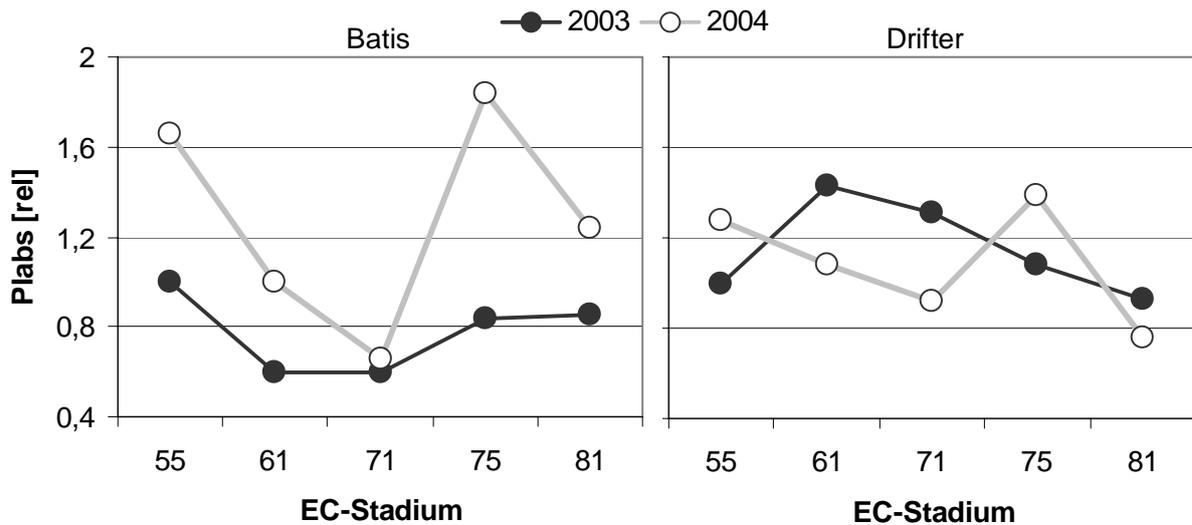


Sorte	Batis					Drifter				
	55	61	71	75	81	55	61	71	75	81
EC	55	61	71	75	81	55	61	71	75	81
Jahr	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04
<b>Sm</b>					a b		a b		a b	

Abbildung 55: Oben relativer Verlauf von  $S_m$  der Versuchsjahre 2003 und 2004 im Vergleich der Weizensorten Batis und Drifter (EC 55; 2003 ist Referenz). Unten signifikante Unterschiede der absoluten Werte zwischen den Versuchsjahren mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  ( $n = 4$ ).

Die statistische Auswertung zeigt deutlich, dass es sich bei den Abweichungen vor allem um Tendenzen handelt, signifikante Unterschiede können nur zu EC 81 bei Batis und zu EC 61 und 75 bei Drifter ausgemacht werden.

Das aufgezeigte unterschiedliche Verhalten der Sorten im Photosynthese-Prozess bei unterschiedlichen Witterungsverhältnissen erklärt den unterschiedlichen Verlauf von  $PI_{ABS}$ . Die in beiden Versuchsjahren auftretende höhere Funktionsfähigkeit des Photosynthese-Apparates ( $PI_{ABS}$ ) von Drifter zeigt eine bessere Lichtausnutzung bei dieser Weizensorte.



Sorte	Batis					Drifter				
	55	61	71	75	81	55	61	71	75	81
EC	55	61	71	75	81	55	61	71	75	81
Jahr	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04	03 04
<b>Plabs</b>	b a			b a	b a		a b			

Abbildung 56: Oben relativer Verlauf von  $PI_{ABS}$  der Versuchsjahre 2003 und 2004 im Vergleich der Weizensorten Batis und Drifter (EC 55; 2003 ist Referenz). Unten signifikante Unterschiede der absoluten Werte zwischen den Versuchsjahren mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  ( $n = 4$ ).

Vor allem im sehr sonnigen Jahr 2003 zeigt Drifter eine äußerst auffällige Anpassung des Photosynthese-Verlaufs mit hoher Ausbeute. In 2004 hingegen ist die Photosyntheseleistung vermindert, im Vergleich zu Batis allerdings bis EC 71 deutlich erhöht.

Neben den ausgesuchten JIP-Parametern, die die unterschiedlichen Einflüsse der Witterung auf die Weizensorten darstellen, weisen die Energieflüsse, RC/ABS und  $PI_{ABS}$  zu ausgesuchten Entwicklungsstadien ein sehr ähnliches Verhalten des Photosystems II in beiden Sorten auf. Zu EC 55, 61 und 75 zeigen Batis und Drifter im sonnigen Jahr 2003 gesteigerte Energieflüsse pro Reaktionszentrum bei gleichzeitig abnehmenden aktiven

Reaktionszentren (RC/ABS). Die Folge ist eine eingeschränkte Funktionsfähigkeit des Photosynthese-Apparates ( $PI_{ABS}$ ) in 2003 im Vergleich zu 2004.

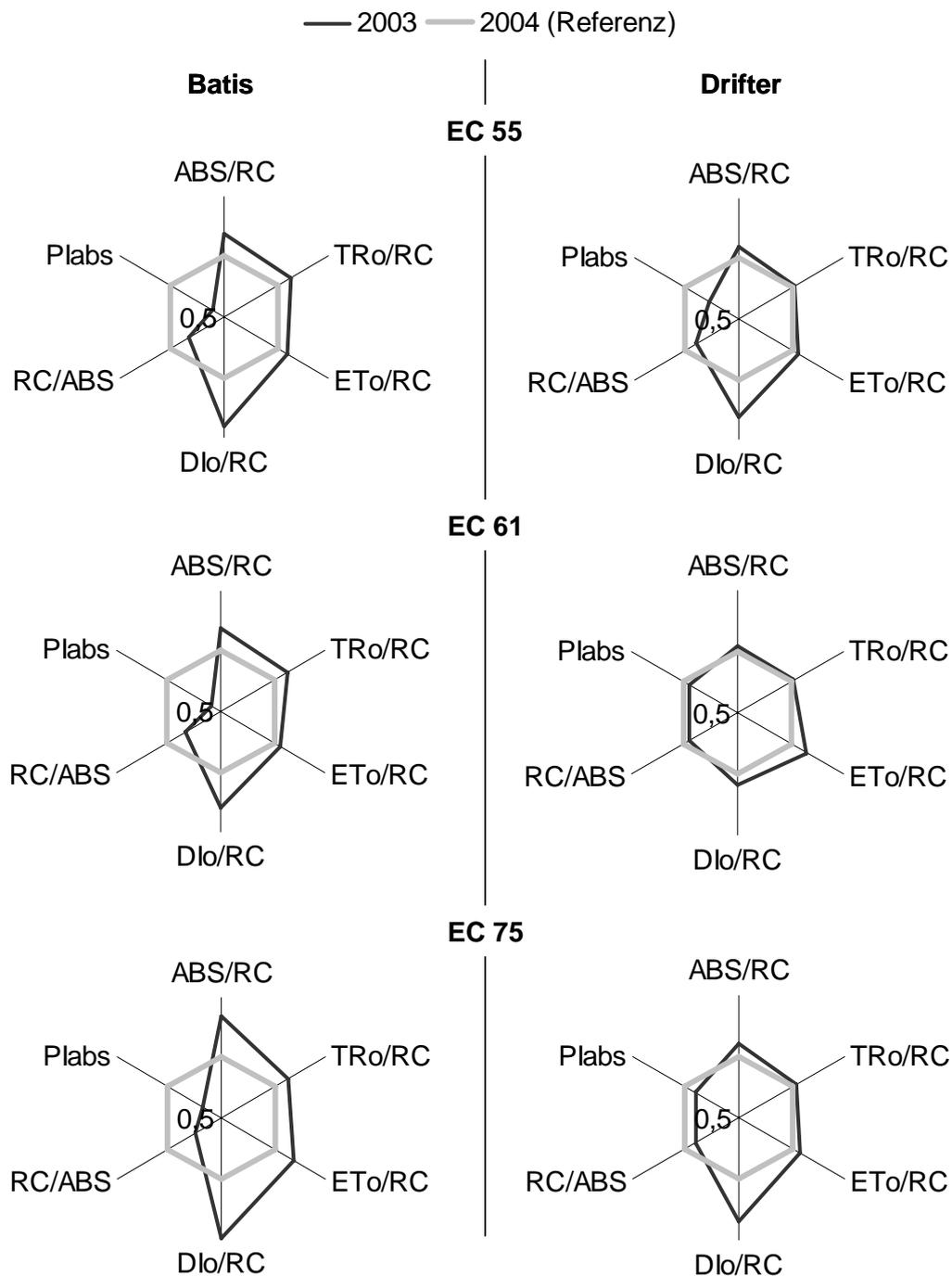


Abbildung 57: Radarplot ausgewählter JIP-Parameter zu EC 55, 61 und 75 der Versuchsjahre 2003 und 2004 (Referenz) im Vergleich der Weizensorten Batis (links) und Drifter (rechts).

Im Vergleich zu 2004 zeigt Batis in 2003 sehr deutlich die erhöhte Aufnahme von Lichtenergie pro Reaktionszentrum (ABS/RC). Als Folge wird mehr Energie getrappt

( $TR_o/RC$ ) und in die Elektronentransportkette geschickt ( $ET_o/RC$ ). Allerdings fließt nicht die gesamte absorbierte Lichtenergie in die Photochemie, überschüssige Anregungsenergie wird abgegeben ( $DI_o/RC$ ). Mit Blick auf die verminderten photosynthetisch aktiven Reaktionszentren ( $RC/ABS$ ), weist dieses Verhalten der Pflanzen auf erhöhte Anfälligkeit für oxidativen Stress hin, da neben den Elektronenakzeptoren in der photosynthetischen Transportkette bei Überschuss an angeregten Elektronen alternativ auch molekularer Sauerstoff als Elektronenakzeptor dienen kann. Insgesamt zeigt sich für Batis, dass in 2003 die Photosyntheseleistung eingeschränkt ist im Vergleich zu 2004.

Dieses Verhalten zeigt sich auch bei Drifter für das Versuchsjahr 2003, doch sind die Unterschiede nicht so ausgeprägt wie bei Batis. Die statistischen Auswertungen zu signifikanten Unterschieden zwischen den Versuchsjahren (Daten nicht gezeigt) zeigen bei Batis in 2004 zu den aufgeführten Messzeitpunkten immer signifikant geringere Energieflüsse sowie signifikant gesteigertes  $RC/ABS$  und  $PI_{ABS}$ . Drifter hingegen zeigt keine signifikanten Unterschiede.

#### **3.3.3.2. Blattanalysen**

Ausgewählte biochemische Untersuchungen der beiden unterschiedlichen Versuchsjahre sollen im Vergleich Aufschluss über das Verhältnis der Umweltbedingungen zu oxidativen Stress in Pflanzen geben.

Die folgenden Grafiken beziehen sich auf die stressphysiologischen Untersuchungen der F-Blätter von Kontrollpflanzen der Weizensorten Batis und Ritmo, aufgezeigt sind die Mittelwerte der Versuchsjahre 2003 und 2004.

#### **SOD-Aktivität der Versuchsjahre 2003 und 2004**

Das Enzym SOD hat in den Pflanzenzellen die Entgiftung der Superoxidradikale ( $*O_2^-$ ) zur Aufgabe. Je höher der Anteil an den toxischen Sauerstoffspezies, desto aktiver das Enzym (Morita et al. 1999, Gechev et al. 2002).

Eine deutliche Steigerung der SOD-Aktivität ist in beiden Sorten im extremen Witterungsjahr 2003 zu sehen (Abbildung 58). Eine Anpassung der Pflanzen an unterschiedlich vorherrschende Wettereinflüsse ist eindeutig.

Die erhöhte SOD-Aktivität in 2003 lässt den Rückschluss erhöhter Detoxifizierung von Superoxidradikalen zu. Aufgrund stärkerer Entgiftung von  $*O_2^-$  durch SOD wird im

Folgenden ein größerer Anteil an Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) produziert, welches durch APX entgiftet wird.

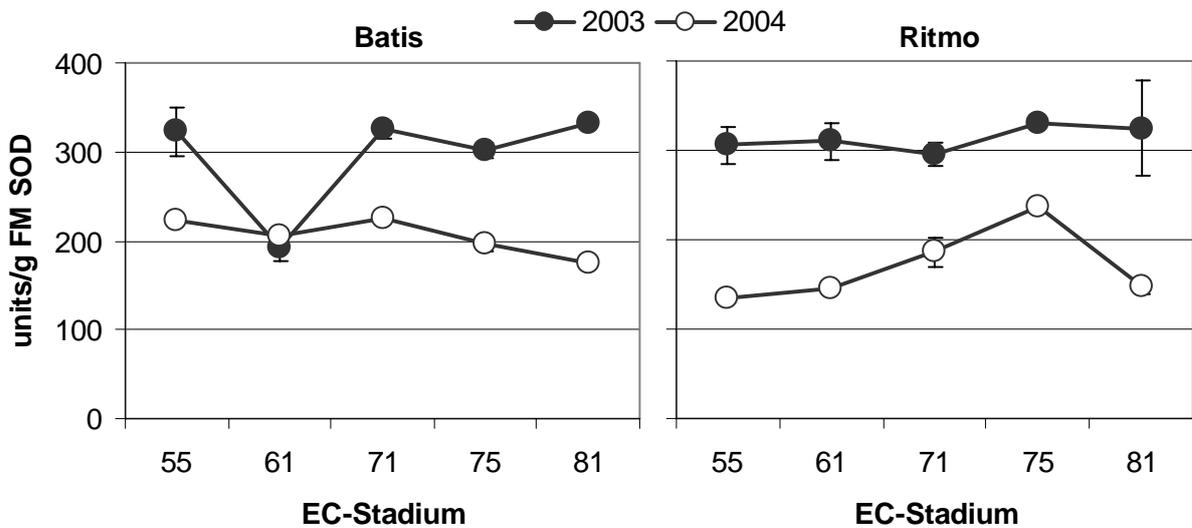


Abbildung 58: Unterschiede der Superoxid-Dismutase (SOD) -Aktivität in F-Blättern von Kontrollpflanzen der Sorten Batis und Ritmo im Zeitverlauf der Versuchsjahre 2003 und 2004 ( $n = 3$ ;  $\pm$  Stdabw).

#### APX-Aktivität der Versuchsjahre 2003 und 2004

Die Ascorbat-Peroxidase-Aktivität ist im extremen Witterungsjahr 2003 bis auf den letzten Messtermin deutlich erhöht. Die Anpassung der Pflanzen an erhöhte Wasserstoffperoxid-Produktion ist eindeutig.

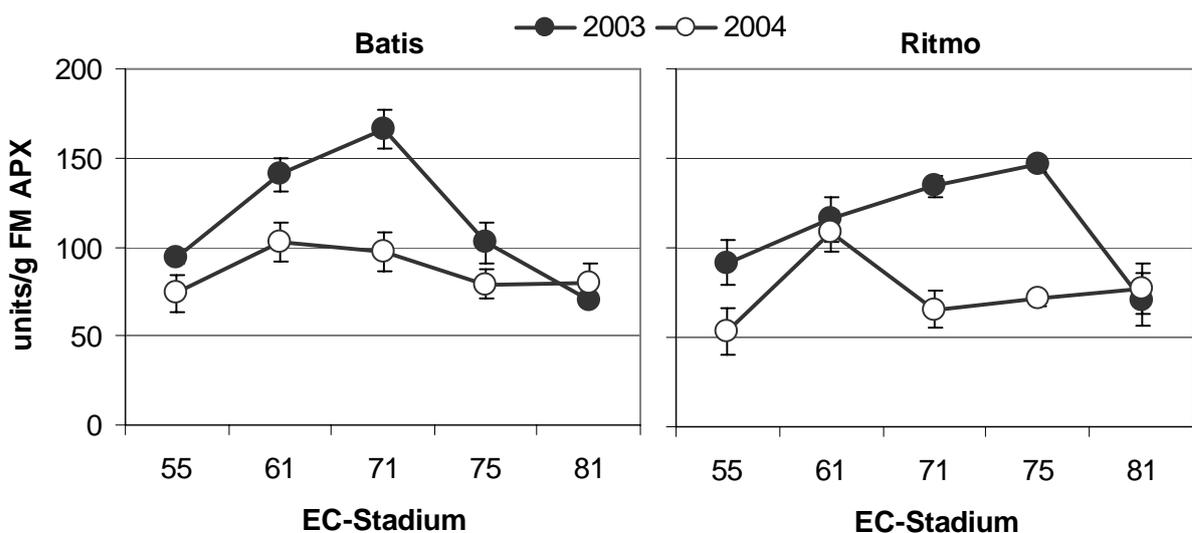


Abbildung 59: Unterschiede der Ascorbat-Peroxidase (APX) -Aktivität in F-Blättern von Kontrollpflanzen der Sorten Batis und Ritmo im Zeitverlauf der Versuchsjahre 2003 und 2004 ( $n = 3$ ;  $\pm$  Stdabw).

Die aufgeführte Abbildung 58 zeigt, dass im Versuchsjahr 2003 aufgrund der erhöhten APX-Aktivität ein erhöhter Anteil an Wasserstoffperoxid vorgelegen haben muss.  $H_2O_2$  ist ein Signalmolekül für Stress, eine verstärkte Produktion von Wasserstoffperoxid weist auf erhöhten Stress in den Pflanzen im Versuchsjahr 2003 hin.

### Blattproteinmenge der Versuchsjahre 2003 und 2004

Batis weist bis zur Milchreife (EC 81) erhöhte Blattproteinmengen im Vergleich zu 2004 auf, Ritmo zeigt in 2003 zu EC 71 bereits einen Abfall am löslichen Proteingehalt, der zu EC 75 wieder steigt und zur Milchreife hin stark absinkt. In 2004 nimmt die lösliche Blattproteinmenge mit zunehmendem Blattalter langsam aber stetig ab.

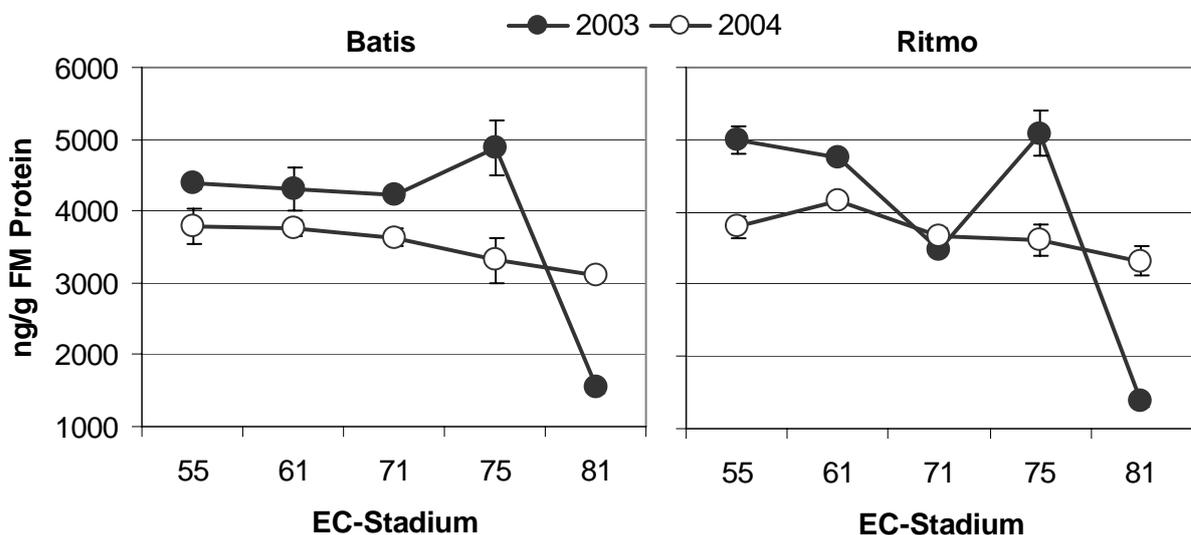


Abbildung 60: Unterschiede der Blattprotein-Menge in F-Blättern von Kontrollpflanzen der Sorten Batis und Ritmo im Zeitverlauf in der Versuchsjahre 2003 und 2004 (n = 3; ± Stdbw).

Zu EC 81 fallen die Blattproteinmengen in 2003 stark gegenüber dem Vergleichsjahr ab, das gibt einen Hinweis darauf, dass die Pflanzen im Extremjahr 2003 aufgrund Trockenheit und hoher Temperaturen schneller abreifen, die Seneszenz setzte früher ein. Zusätzlich kann die fortgeschrittene Seneszenz zu EC 81 eine Folge der höheren Anforderungen an das Schutzsystem der Pflanzen sein.

### Lipidperoxidation der Versuchsjahre 2003 und 2004

Der Gehalt an Malondialdehyd (MDA) ist im Versuchsjahr 2004 bei Batis höher als im von den Witterungseinflüssen her extremeren Jahr 2003.

Eine Erklärung für die stärkere Lipidperoxidation in 2004 ist, dass die Pflanzen aufgrund verminderter Enzymaktivitäten mehr Membranschäden aufweisen. Ritmo weist nur zu EC 61 in 2004 stärkere Lipidperoxidation auf.

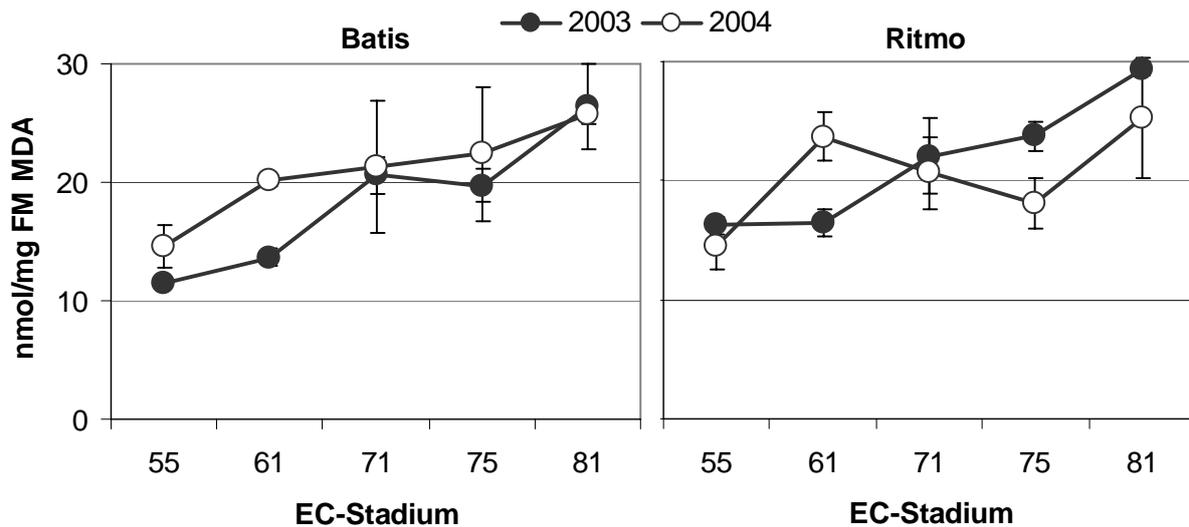


Abbildung 61: Unterschiede der Lipidperoxidation in F-Blättern von Kontrollpflanzen der Sorten Batis und Ritmo im Zeitverlauf der Versuchsjahre 2003 und 2004 (n = 3; ± Stdabw).

### 3.4. Stressphysiologische Wirkungen der Fungizide

In diesem Kapitel wird herausgearbeitet, wie Winterweizen unter Feldbedingungen auf die vorgestellten physiologischen Nebenwirkungen moderner Fungizide reagiert. Diese nichtfungiziden Wirkungen sind nach Wu & Tiedemann (2002) bedeutend für die Ausbildung physiologischer Blattflecken von Getreidepflanzen.

#### 3.4.1. Entstehung von PLS-Flecken

Sekundäre Nebenwirkungen der Fungizide Jewel Top und Opera auf die Entstehung von nichtparasitären Blattflecken werden anhand von Bonituren zur Ausbildung von PLS über einen Zeitraum von fünf Wochen nach abschließender Applikation von Fungiziden zu EC 49/51 aufgeführt. Die einmal wöchentlich durchgeführten Bonituren beginnen zu EC 55, eine Woche nach der zweiten und letzten Fungizidgabe (Abbildung 62).

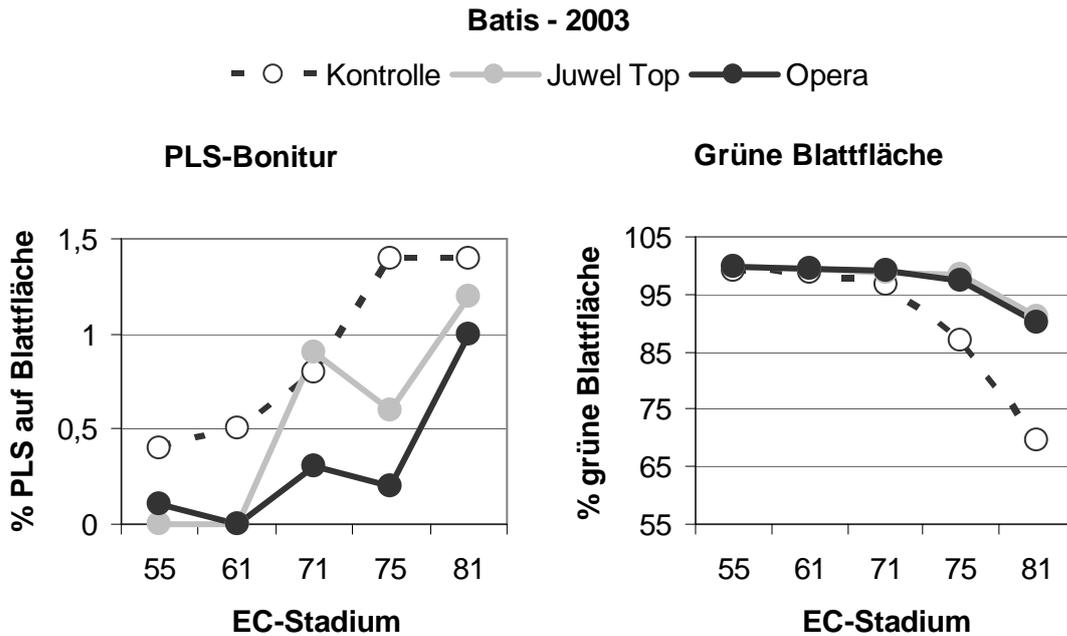


Abbildung 62: Einfluss von Fungiziden im Zeitverlauf von EC 55 (eine Woche nach Fungizidgabe) bis EC 81 (fünf Wochen nach Applikation) auf den Befall von PLS-Flecken und auf die Seneszenz der F-, F-1- und F-2-Blätter im Mittel der Weizensorte Batis in 2003, Standort Göttingen.

Neben Boniturergebnissen zur Entstehung von PLS wird auch die Bestimmung der grünen Blattfläche aufgeführt, um Seneszenz bedingte pflanzliche Vorgänge aufzuzeigen. Die gemittelten Boniturdaten der Blättertagen F, F-1 und F-2 werden an der Weizensorte Batis für die Versuchsjahre 2003 und 2004 vorgestellt.

Die Bonituren ergaben, dass Fungizidwirkungen gegen PLS in 2003 im Vergleich zur unbehandelten Fungizidvariante abzuleiten sind. Die Kontrollen zeigen trotz geringer Befallsstärke deutlich mehr nichtparasitäre Blattflecken auf.

Zu EC 61 wirkt die 2. Fungizidgabe gegen den Zelltod weiterhin an. Zu EC 71 zeigen die Blätter der Kontrollpflanzen und der Juwel Top-Variante recht deutliche PLS-Flecken, das Fungizid Opera schützt die Blätter besser gegen abiotische Blattflecken. Ab EC 75 sind die entstandenen PLS-Blattflecken sehr stark auf den Kontrollpflanzen zu finden, die Juwel Top-Variante zeigt nur die Hälfte der Blattflecken gegenüber den Kontrollpflanzen, und Opera behandelte Pflanzen weisen zu EC 75 kaum PLS-Flecken auf. Bei der Langzeitwirkung der Fungizide zeigt Opera einen größeren mindernden Einfluss als Juwel Top.

Die Bonitur der grünen Blattfläche zeigt deutlich den Greening-Effekt der Fungizide, der Einfluss der Fungizide auf das Blattgewebe wird somit bestätigt.

In 2004 zeigen die gemittelten Boniturdaten der Blättertagen F, F-1 und F-2 weniger als 1% Blattschaden auf den Blattflächen von Batis (Abbildung 63).

Ausgeprägte Fungizideffekte auf die Hemmung der PLS-Flecken sind aufgrund der minimalen Schadenshöhe im Versuchsjahr 2004 kaum auszumachen. Deutlicher hingegen ist der Greening-Effekt der behandelten Pflanzen, die Verzögerung der Blattseneszenz durch die Behandlung mit Blattfungiziden ist eindeutig.

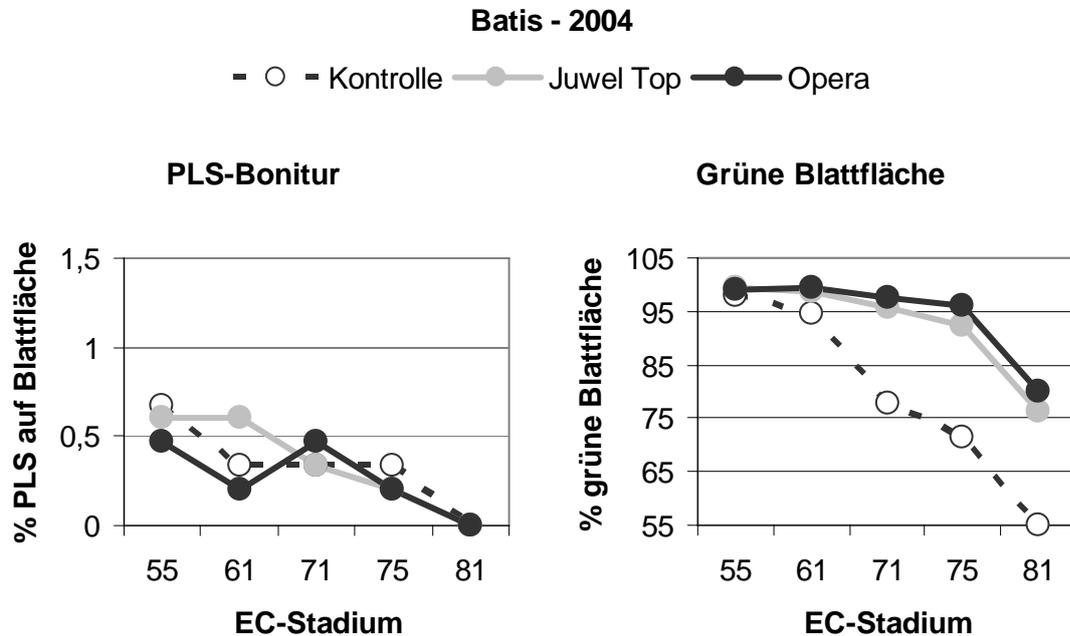


Abbildung 63: Einfluss von Fungiziden im Zeitverlauf von EC 55 (eine Woche nach Fungizidgabe) bis EC 81 (fünf Wochen nach Applikation) auf den Befall von PLS-Flecken und auf die Seneszenz der F-, F-1- und F-2-Blätter im Mittel der Weizensorte Batis in 2004, Standort Göttingen.

Auffällig ist der Abfall physiologischer Blattflecken mit zunehmendem Blattalter. Die Ursache dafür kann eine Überlagerung der PLS-Flecken durch Pilzkrankheiten sein. Die überwiegend feucht-warme Witterung während der Vegetationsperiode 2004 (Kapitel 3.1) war äußerst günstig für das Auftreten und Heranwachsen von Pilzkrankheiten. Am Beispiel vom Blattbefall mit Septoria auf den Blattetagen F, F-1 und F-2 im Mittel soll das Pilzwachstum im Zeitverlauf aufgeführt werden (Abbildung 64).

Das Pilzwachstum nimmt mit zunehmendem Blattalter zunächst zu, mit abnehmender grüner Blattfläche (Abbildung 62) jedoch nimmt auch der Blattbefall mit Septoria ab. Die fortschreitende Seneszenz der Blätter geht mit der Reduktion der Septoria-Blattdürre (Abbildung 64) in den Kontrollpflanzen einher. Auf den braunen, von der Blattspitze her welkenden Blattabschnitten waren keine Fruchtkörper von Septoria, reihig angeordnete schwarze Pyknidien, zu sehen. Die Fungizidwirkungen gegen diesen Pilz sind sehr ausgeprägt.

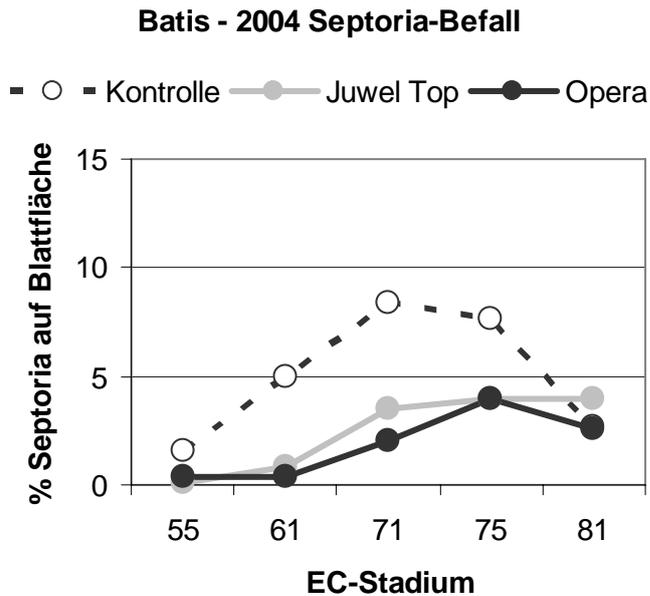


Abbildung 64: Einfluss von Fungiziden im Zeitverlauf von EC 55 (eine Woche nach Fungizidgabe) bis EC 81 (fünf Wochen nach Applikation) auf den Befall von Septoria der F-, F-1- und F-2-Blätter im Mittel der Weizensorte Batis in 2004, Standort Göttingen.

### 3.4.2. Chlorophyll-Fluoreszenz

Welche sekundären Nebenwirkungen Fungizide im Photosystem II in einem Zeitraum von fünf Wochen auslösen, und ob messbare Unterschiede zu unbehandelten Pflanzen abzuleiten sind, wird anhand der in beiden Versuchsjahren einmal wöchentlich gemessenen Chlorophyll-Fluoreszenz an Batis aufgezeigt. Die Messungen mit dem HandyPea starteten eine Woche nach der Fungizidapplikation. Gemessen wurde morgens am Fahnenblatt der Haupttriebe von EC 55 (Mitte Ährenschieben) bis EC 81 (Anfang Teigreife). Die Ergebnisse der unbehandelten Kontroll-Variante dienen als Referenz.

#### **Chlorophyll-Fluoreszenz zu EC 55 (Mitte Ährenschieben), eine Woche nach Fungizidgabe**

Im Versuchsjahr 2003 treten kaum signifikante Unterschiede zur Kontrolle auf, jedoch gibt es deutliche Unterschiede zwischen den Fungizidwirkungen von Opera und Juwel Top auf den Photosynthese-Apparat (Abbildung 65).

Die Juwel Top-Variante zeigt in 2003 gegenüber der Opera-Variante eine gesteigerte Grundfluoreszenz ( $F_0$ ) und einen deutlich höheren Verlust an angeregter Energie ( $\phi_{D_0}$  und



zu EC 55 in 2003 (links) und 2004 (rechts). Unten signifikante Abweichungen zwischen Kontrolle und Fungizidbehandlung mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  ( $n = 4$ ).

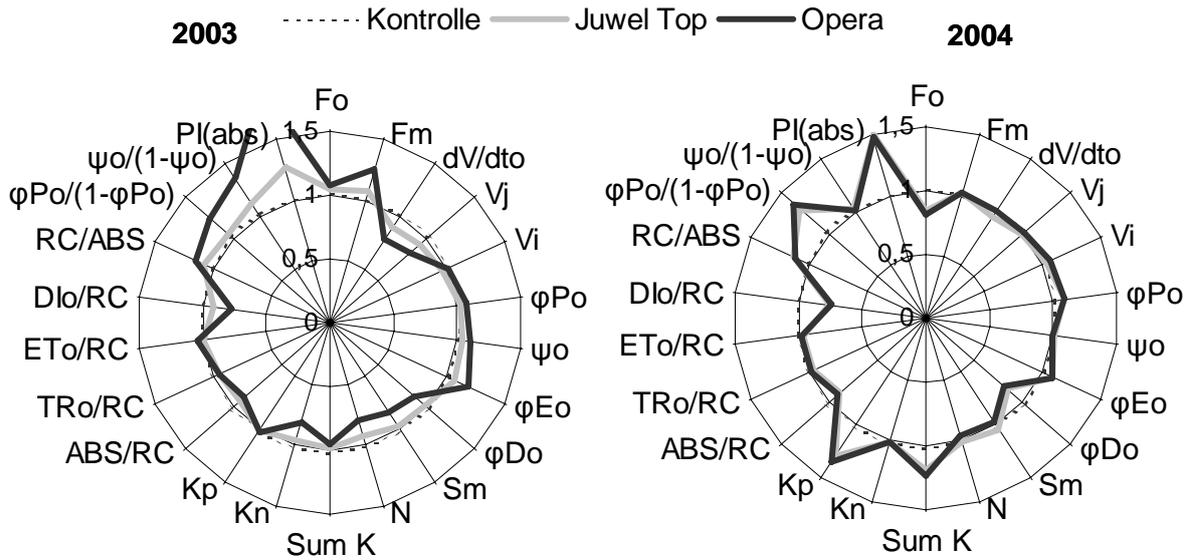
In 2004 ist ebenfalls ein Einfluss der Fungizide auf den Photosynthese-Verlauf eine Woche nach Behandlung der Pflanzen abzuleiten. In diesem Jahr zeigt Jewel Top negative Wirkungen im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle. Die Grundfluoreszenz ( $F_0$ ) ist in dieser Variante am höchsten. Diese Tatsache erklärt im Folgenden die meiste dissipierte Anregungsenergie ( $\phi_{D0}$ ) und die geringste photochemische Rate ( $k_P$ ) dieser Variante, das letztlich zur geringsten Lichtreaktion ( $\phi_{P0}/(1-\phi_{P0})$ ) führt.

### **Chlorophyll-Fluoreszenz zu EC 61 (Blühbeginn), zwei Wochen nach Fungizidgabe**

Zwei Wochen nach Behandlung der Batis-Pflanzen mit den Fungiziden Opera und Jewel Top führen in 2003 zu gleichem Verhalten gegenüber der Kontroll-Variante wie beim 1. Messtermin. Allerdings ist der Einfluss von Opera zum Teil deutlich ausgeprägter als die Wirkung von Jewel Top auf die Pflanzen (Abbildung 66).

Die Behandlungen mit Jewel Top und Opera zeigen deutliche Wirkungen auf den Photosynthese-Apparat ( $PI_{ABS}$ ). Die Parameter-Konstellationen gesteigerte  $F_M$  - und  $F_0$  - Werte bei gleichzeitig verringerten  $N$  und / oder  $Sm$ -Werten, wie nach Fungizidapplikation zu diesem Messzeitpunkt zu sehen ist, verweisen auf weniger Elektronenakzeptoren im Photosystem II. Aus dem Vergleich zu den Kontrollpflanzen ist abzuleiten, dass es nach Fungizideinsatz zu vermindertem Elektronenfluss ( $dV/dt_0$  und  $V_J$ ) kommt, die Dunkelreaktion ( $\Psi_0/(1-\Psi_0)$ ) aber gesteigert wird. Das bedeutet, dass die Fungizide zu einem verbesserten Photosynthese-Verlauf aufgrund verringerter Energieflüsse pro RC und höherer Dichte der Reaktionszentren (RC/ABS) verhelfen, bei dem weniger Elektronen ( $N$ ) zur Reduktion der Elektronenakzeptoren nötig sind. Die Verringerung dissipierter Anregungsenergie ( $DI_0/RC$ ) ist die Folge, die sich deutlich in der verminderten nicht-photochemischen Rate ( $k_N$ ) bei Opera zeigt. Hervorzuheben ist, dass Opera signifikante Unterschiede zur Kontrolle zeigt, bei Jewel Top sind im Vergleich nur Tendenzen zu sehen, die denen von Opera entsprechen.

In 2004 kommt es vierzehn Tage nach Fungizidgabe ebenfalls zum Teil zu deutlichen Unterschieden zwischen den Fungizidvarianten zur unbehandelten Kontrolle. Eine deutliche Steigerung der Photosynthese anhand erhöhter Lichtreaktion ( $\phi_{P0}/(1-\phi_{P0})$ ) ist auszumachen. Die Fungizide verringern die Grundfluoreszenz ( $F_0$ ), somit sinkt die dissipierte Anregungsenergie ( $\phi_{D0}$ ;  $DI_0/RC$ ), die photochemische Rate ( $k_P$ ) steigt und letztlich ist die photochemische Lichtnutzung ( $\phi_{P0}$ ) durch die Fungizidwirkung erhöht.



Batis EC 61	2003		
	K	JT	Op
Fo			
Fm	b	b	a
dV/dto	a	ab	b
Vj	a	ab	b
Vi			
φPo			
ψo	b	ab	a
φEo	b	ab	a
φDo			
Sm			
N	a	ab	b

Batis EC 61	2004		
	K	JT	Op
Fo	a	b	b
Fm			
dV/dto			b a a
Vj			
Vi			
φPo	b	ab	a
ψo			a ab b
φEo			
φDo	a	ab	b
Sm			
N			

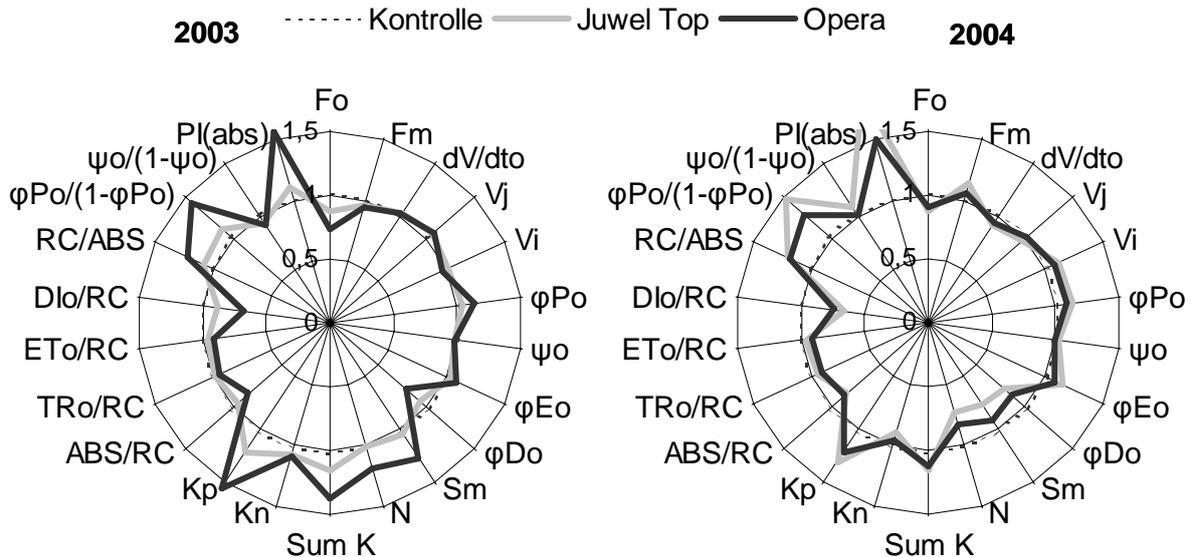
Abbildung 66: Radarplots ausgewählter JIP-Parameter der Sorte Batis zur Fungizidwirkung von Jewel Top (JT) und Opera (Op) im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (K = Referenz) zu EC 61 in 2003 (links) und 2004 (rechts). Unten signifikante Abweichungen zwischen Kontrolle und Fungizidbehandlung mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  ( $n = 4$ ).

### Chlorophyll-Fluoreszenz zu EC 71 (Kornbildung), drei Wochen nach Fungizidgabe

Die Fungizide Jewel Top und Opera haben noch drei Wochen nach Behandlung der Pflanzen von Batis einen Einfluss auf den Photosynthese-Verlauf (Abbildung 67).

Wie schon zum vorherigen Messtermin in 2003 zeigen die Behandlungen mit Jewel Top und Opera ähnliche Wirkungen auf den Photosynthese-Apparat ( $PI_{ABS}$ ), wobei Opera den stärkeren Einfluss auf den Photosynthese-Verlauf ausübt. Allerdings ist diesmal die

Fungizidwirkung zu EC 71 nur aufgrund verringerter Energieflüsse pro RC und höherer Dichte der Reaktionszentren (RC/ABS) zurückzuführen, die zu einem verbesserten Photosynthese-Verlauf führen. Außerdem zeigt sich eine gesteigerte photochemische Rate ( $k_p$ ) nach Fungizidbehandlung, die der tendenziell höheren Lichtreaktion ( $\phi_{Po}/(1-\phi_{Po})$ ) entspricht. Ein Einfluss auf den Elektronenfluss ( $dV/dt_o$ ,  $V_j$ ,  $V_i$ ) ist 3 Wochen nach Fungizidbehandlung nicht auszumachen.



Batis EC 71	Kontrolle			2003	2003		
	K	JT	Op		K	JT	Op
Fo				Sum K	b	ab	a
Fm				Kn			
dV/dto				Kp	b	ab	a
Vj				ABS/RC	a	ab	b
Vi				TRo/RC			
$\phi_{Po}$				ETo/RC			
$\psi_o$				Dlo/RC			
$\phi_{Eo}$				RC/ABS	b	ab	a
$\phi_{Do}$				$\phi_{Po}/(1-\phi_{Po})$			
Sm	b	b	a	$\psi_o/(1-\psi_o)$			
N				PI(abs)			

Batis EC 71	Kontrolle			2004	2004		
	K	JT	Op		K	JT	Op
Fo				Sum K			
Fm				Kn			
dV/dto				Kp			
Vj				ABS/RC	a	b	b
Vi	b	a	ab	TRo/RC	a	ab	b
$\phi_{Po}$	b	a	ab	ETo/RC			
$\psi_o$				Dlo/RC	a	b	ab
$\phi_{Eo}$	b	a	ab	RC/ABS	b	a	ab
$\phi_{Do}$	a	b	ab	$\phi_{Po}/(1-\phi_{Po})$	b	a	ab
Sm	a	b	ab	$\psi_o/(1-\psi_o)$			
N	a	b	b	PI(abs)			

Abbildung 67: Radarplots ausgewählter JIP-Parameter der Sorte Batis zur Fungizidwirkung von Jewel Top (JT) und Opera (Op) im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (K = Referenz) zu EC 71 in 2003 (links) und 2004 (rechts). Unten signifikante Abweichungen zwischen Kontrolle und Fungizidbehandlung mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  ( $n = 4$ ).

In 2004 ist eine sehr ähnliche Wirkung beider Fungizide in Batis auszumachen, die sich deutlich von den Kontrollpflanzen unterscheidet. Die Fungizide bewirken auch in diesem

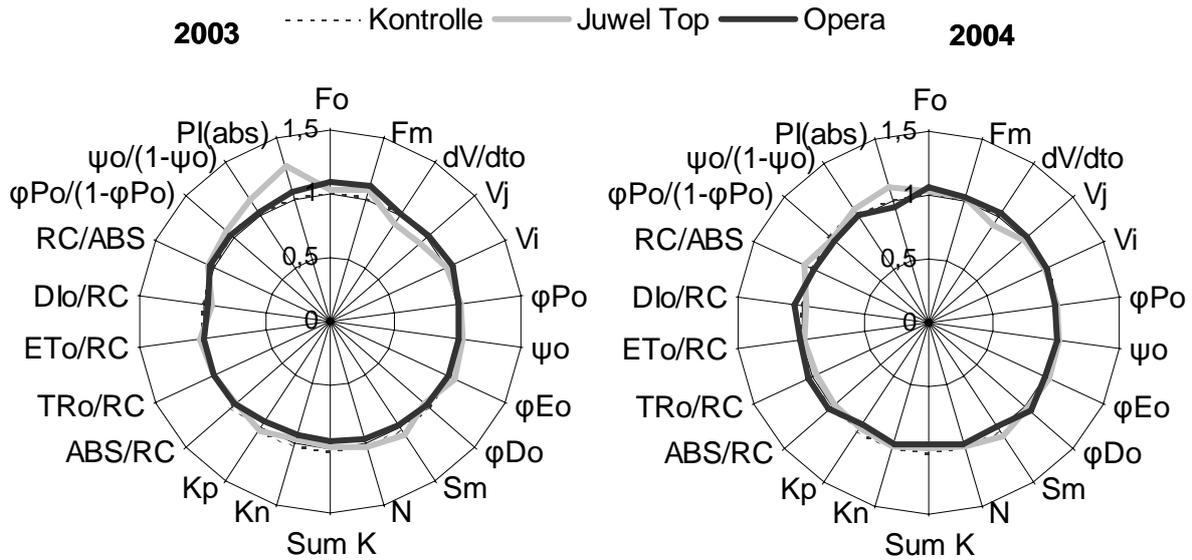
Versuchsjahr einen optimierten Verlauf der Photosynthese aufgrund stiller Reaktionszentren (RC/ABS). Es kommt zum verbesserten Transport der Elektronen in der Elektronentransportkette ( $ET_O/RC$ ), dadurch wird weniger Anregungsenergie (ABS/RC) nötig, es sinken Trapping-Energie ( $TR_O/RC$ ) und dissipierte Anregungsenergie ( $\Phi_{DO}$ ;  $DI_O/RC$ ). Außerdem kommt es zur deutlichen Abnahme von Elektronen im PS II (N), die zur Reduktion von Elektronenakzeptoren notwendig sind. Mit dem Unterschied im JIP-Parameter  $V_I$  kann eine Anreicherung des Elektronenakzeptors  $Q_B$  in oxidiertem Redoxform in den Kontrollen abgeleitet werden. Diese Tatsachen führen nach Fungizideinsatz zur erhöhten Lichtreaktion ( $\Phi_{P_O}/(1-\Phi_{P_O})$ ) und zur verbesserten photochemischen Lichtnutzung ( $\Phi_{P_O}$ ).

### **Chlorophyll-Fluoreszenz zu EC 75 (Milchreife), vier Wochen nach Fungizidgabe**

Vier Wochen nach Fungizideinsatz sind keine signifikanten Unterschiede zwischen Fungizidbehandlung und Kontrollvariante in beiden Versuchsjahren aufgetreten (Abbildung 68).

Tendenziell ist in 2003 zu diesem Messtermin noch eine Wirkung auf den Photosynthese-Apparat ( $PI_{ABS}$ ) vier Wochen nach der Pflanzenbehandlung mit Jewel Top abzuleiten, die sich anhand der Fungizidwirkung auf einen geringeren reduzierten Plastoquinonpool ( $dV/dt_O$  und  $V_J$ ) und auf die gesteigerte Dunkelreaktion ( $\Psi_O/(1-\Psi_O)$ ) mit Zunahme von Elektronen im PS II (N) erklären lässt.

In 2004 verläuft die Photosynthese nach Fungizidapplikation tendenziell wie in 2003, ein verbesserter Photosyntheseverlauf wird nach Gabe von Jewel Top sichtbar. Der Fungizideinfluss lässt sich durch verminderten Elektronenfluss ( $dV/dt_O$  und  $V_J$ ) bei Abnahme der Energieflüsse und gleichzeitiger Steigerung der Reaktionszentren (RC/ABS) erklären.



Batis EC 75	K JT Op			2003	K JT Op		
	Fo					Sum K	
Fm				Kn			
dV/dto				Kp			
Vj				ABS/RC			
Vi				TRo/RC			
phiPo				ETo/RC			
psi				DIo/RC			
phiEo				RC/ABS			
phiDo				phiPo/(1-phiPo)			
Sm				psi/(1-psi)			
N				PI(abs)			

Batis EC 75	K JT Op			2004	K JT Op		
	Fo					Sum K	
Fm				Kn			
dV/dto				Kp			
Vj				ABS/RC			
Vi				TRo/RC			
phiPo				ETo/RC			
psi				DIo/RC			
phiEo				RC/ABS			
phiDo				phiPo/(1-phiPo)			
Sm				psi/(1-psi)			
N				PI(abs)			

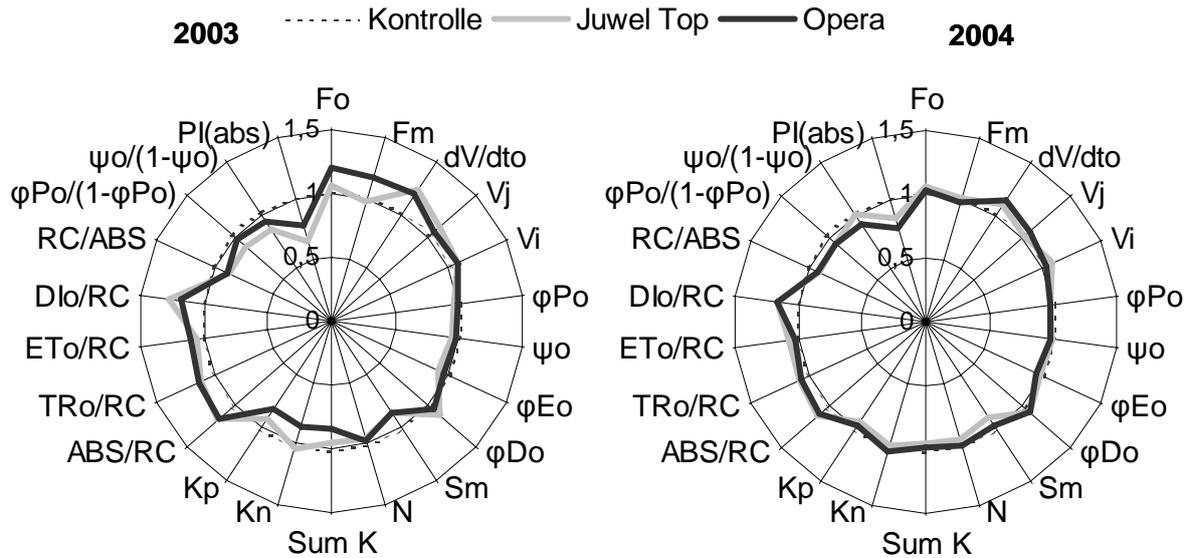
Abbildung 68: Radarplots ausgewählter JIP-Parameter der Sorte Batis zur Fungizidwirkung von Juwel Top (JT) und Opera (Op) im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (K = Referenz) zu EC 75 in 2003 (links) und 2004 (rechts). Unten signifikante Abweichungen zwischen Kontrolle und Fungizidbehandlung mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  ( $n = 4$ ).

### Chlorophyll-Fluoreszenz zu EC 81 (Anfang Teigreife), fünf Wochen nach Fungizidgabe

Die Fungizidwirkungen von Juwel Top und Opera fünf Wochen nach Applikation führen in beiden Versuchsjahren möglicherweise zu unausgeglichem Photosynthese-Verlauf.

Nach der Fungizidbehandlung ist in 2003 die Grundfluoreszenz ( $F_0$ ) erhöht und die photochemische Rate ( $k_p$ ) verringert, es kommt zu Anreicherungen von reduzierten Elektronenakzeptoren ( $dV/dt_0$  und  $V_j$ ), sowie verminderter Lichtreaktion ( $\phi_{Po}/(1-\phi_{Po})$ ) und

Dunkelreaktion ( $\Psi_o/(1-\Psi_o)$ ). In Verbindung mit verminderter Funktionsfähigkeit des Photosynthese-Apparates ( $PI_{ABS}$ ), welches sich anhand gesteigerter Energieflüsse pro Reaktionszentrum und gleichzeitiger Verringerung der Reaktionszentren-Dichte (RC/ABS) ableiten lässt, sind mögliche Unausgeglichenheiten im PS II fünf Wochen nach Fungizidbehandlung in 2003 festzuhalten. Jewel Top hat zu EC 81 einen deutlich größeren Einfluss auf den Photosynthese-Apparat von Batispflanzen im Vergleich zur Kontrollvariante, der Einfluss von Opera entspricht tendenziell dem von Jewel Top.



Batis EC 81				2003			
	K	JT	Op		K	JT	Op
Fo	b	ab	a	Sum K	a	ab	b
Fm	ab	b	a	Kn	ab	a	b
dV/dto	b	a	ab	Kp	a	ab	b
Vj	b	a	ab	ABS/RC	b	b	a
Vi				TRo/RC	b	a	a
phiPo	a	b	a	ETo/RC	ab	b	a
psi	a	b	ab	Dlo/RC	b	a	ab
phiEo	a	b	ab	RC/ABS	a	b	b
phiDo	b	a	b	phiPo/(1-phiPo)	a	b	a
Sm				psi/(1-psi)	a	b	ab
N				PI(abs)	a	b	ab

Batis EC 81				2004			
	K	JT	Op		K	JT	Op
Fo				Sum K			
Fm				Kn			
dV/dto				Kp			
Vj				ABS/RC			
Vi	b	a	ab	TRo/RC	b	a	ab
phiPo				ETo/RC			
psi				Dlo/RC			
phiEo				RC/ABS			
phiDo				phiPo/(1-phiPo)			
Sm				psi/(1-psi)			
N				PI(abs)			

Abbildung 69: Radarplots ausgewählter JIP-Parameter der Sorte Batis zur Fungizidwirkung von Jewel Top (JT) und Opera (Op) im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (K = Referenz) zu EC 71 in 2003 (links) und 2004 (rechts). Unten signifikante Abweichungen zwischen Kontrolle und Fungizidbehandlung mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  ( $n = 4$ ).

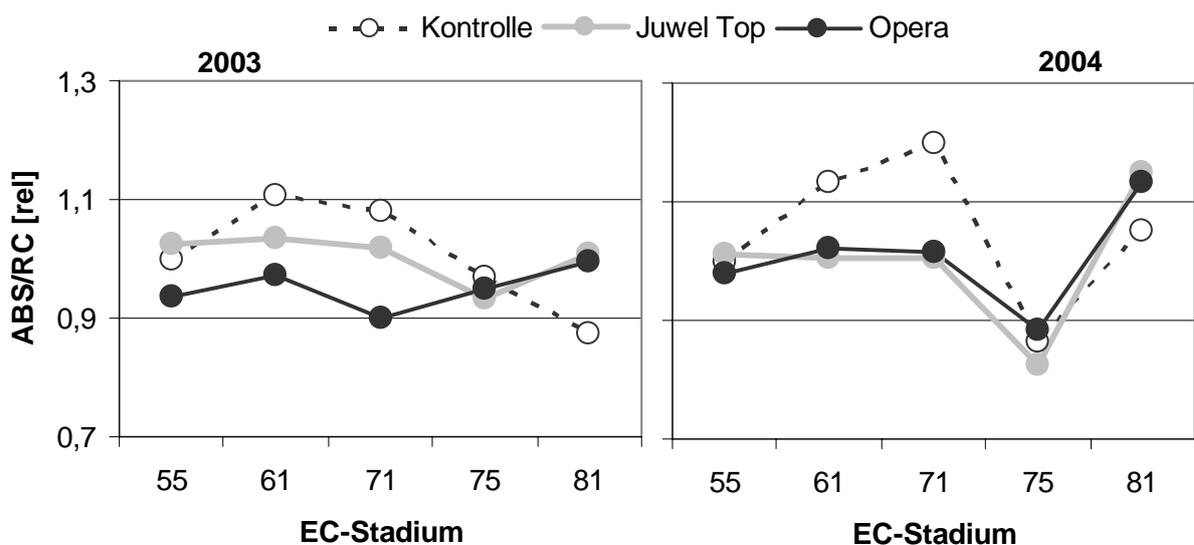
Der Einfluss der Fungizide im Folgejahr zeigt fünf Wochen nach Applikation kaum signifikante Abweichungen zur Kontrollvariante. Tendenziell haben auch in 2004 die eingesetzten Fungizide einen negativen Einfluss zu EC 81, da die Photosynthese nicht optimal verläuft. Die Fungizidvarianten zeigen signifikant erhöhte Elektronenflüsse ( $V_I$ ) und Energieflüsse ins Reaktionszentrum ( $TR_O/RC$ ) bei gleichzeitiger Abnahme der Reaktionszentren ( $RC/ABS$ ), die Lichtreaktionen ( $\phi_{P_o}/(1-\phi_{P_o})$ ) nehmen ab und die Funktionen der Photosynthese-Apparate ( $PI_{ABS}$ ) verringern sich im Vergleich zu den Kontrollpflanzen.

### Nach der Fungizidgabe EC 55 – EC 81

In Anlehnung an Kapitel 3.3.2.1 wird an dieser Stelle an den bereits vorgestellten JIP-Parametern ( $ABS/RC$ ,  $DI_O/RC$  und  $PI_{ABS}$ ) ein Überblick der Fungizidwirkungen von Batis während des Messzeitraums graphisch in Liniendiagrammen dargestellt.

Die relativen Werte der Chlorophyll-Fluoreszenz beziehen sich auf die Kontrollwerte von EC 55 (Referenz), die statistischen Abweichungen sind ebenfalls errechnet und mit aufgeführt.

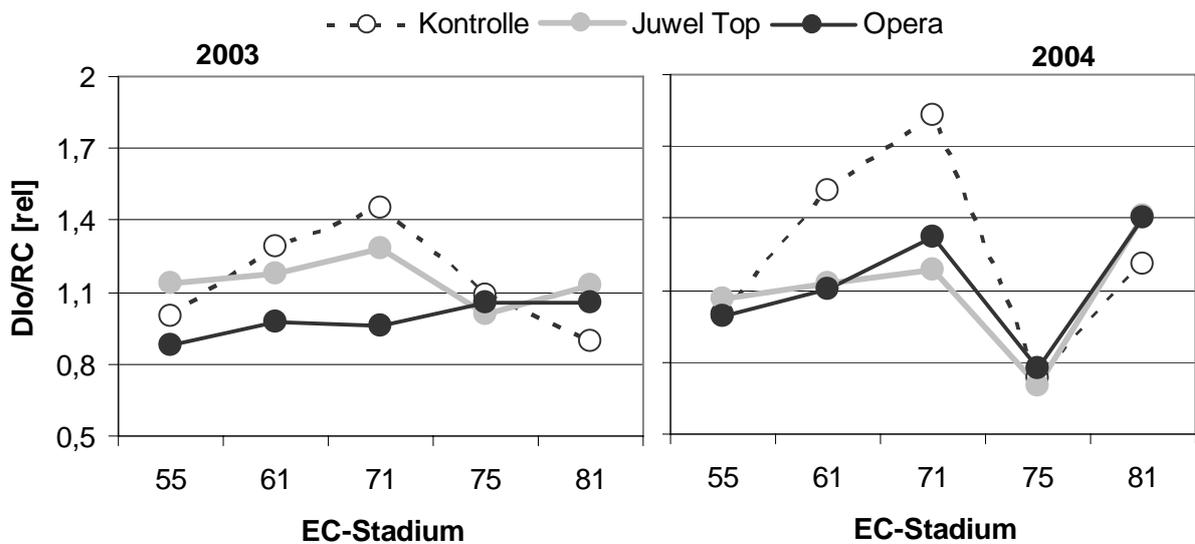
Die ausgewählten Parameter zeigen in beiden Versuchsjahren zum Teil deutliche Unterschiede nach der Fungizidapplikation im Vergleich zur unbehandelten Kontrollvariante. Die Kontrollpflanzen von Batis weisen in beiden Versuchsjahren zunächst eine höhere Absorption an Photonen von Chlorophyllmolekülen pro Reaktionszentrum ( $ABS/RC$ ) im Vergleich zu den behandelten Varianten auf (Abbildung 70).



ABS/RC	2003			2004		
	K	JT	Op	K	JT	Op
55	ab	a	b			
61	a	ab	b			
71	a	ab	b			
75						
81	b	a	a			

Abbildung 70: Oben relativer Verlauf von ABS/RC (Kontrolle; EC 55 ist Referenz) un behandelter und mit Fungiziden behandelter Weizenpflanzen der Sorte Batis der Versuchsjahre 2003 (links) und 2004 (rechts) im Vergleich. Unten signifikante Unterschiede der absoluten Werte zwischen den Fungizidvarianten Juwel Top (JT), Opera (Op) und den un behandelten Kontrollpflanzen (K) mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  ( $n = 4$ ).

Die dissipierte Energie pro Reaktionszentrum ( $DI_o/RC$ ) ist bei den Kontrollpflanzen zum Teil ebenfalls deutlich erhöht (Abbildung 71). Beim Vergleich mit den Fungizid-behandelten Pflanzen tritt bei den Kontrollen zunächst ein Überschuss an absorbierten Photonen auf, die jedoch nicht in die Photochemie fließen sondern abgegeben werden.

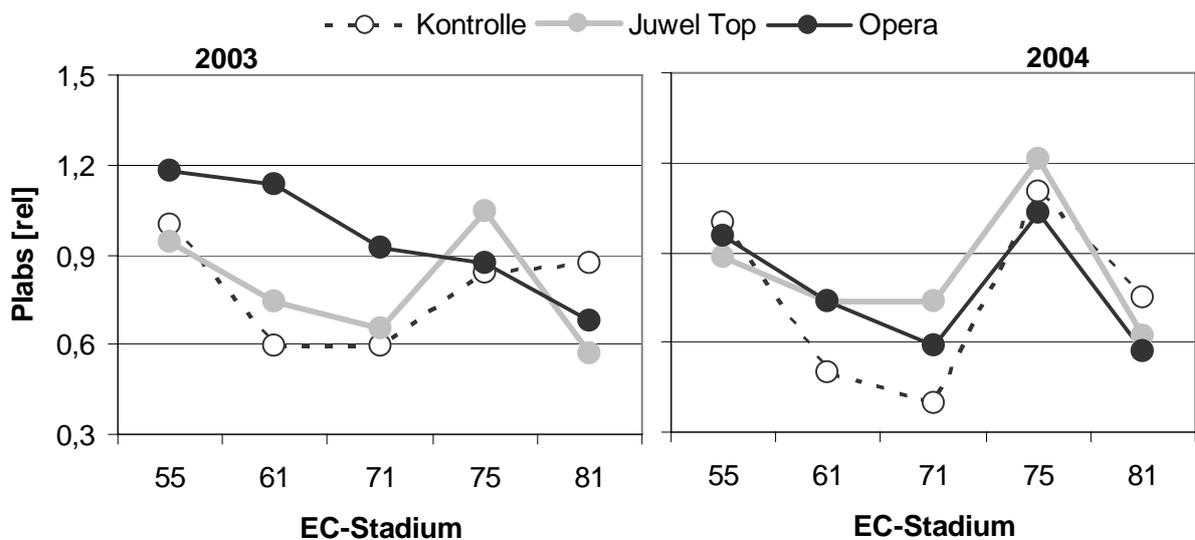


DI <sub>o</sub> /RC	2003			2004		
	K	JT	Op	K	JT	Op
55	ab	a	b			
61	ab	ab	b	a	ab	b
71						
75						
81	b	a	ab			

Abbildung 71: Oben relativer Verlauf von  $DI_o/RC$  (Kontrolle; EC 55 ist Referenz) un behandelter und mit Fungiziden behandelter Weizenpflanzen der Sorte Batis der

Versuchsjahre 2003 (links) und 2004 (rechts) im Vergleich. Unten signifikante Unterschiede der absoluten Werte zwischen den Fungizidvarianten Juwel Top (JT), Opera (Op) und den unbehandelten Kontrollpflanzen (K) mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  ( $n = 4$ ).

In beiden Messjahren zeigt sich, dass die Fungizide die Dissipation von Anregungsenergie ( $DI_0/RC$ ) zunächst zum Teil deutlich vermindern. Die Abnahme der Lichtabsorption ( $ABS/RC$ ) in Verbindung mit vermindertem Verlust von Anregungsenergie ( $DI_0/RC$ ) führt nach Fungizidapplikation zu gesteigerter Funktionsfähigkeit des Photosynthese-Apparates ( $PI_{ABS}$ ).



Plabs	2003			2004		
	K	JT	Op	K	JT	Op
55						
61	b	ab	a			
71						
75						
81	a	b	ab			

Abbildung 72: Oben relativer Verlauf von  $PI_{ABS}$  (Kontrolle; EC 55 ist Referenz) unbehandelter und mit Fungiziden behandelter Weizenpflanzen der Sorte Batis der Versuchsjahre 2003 (links) und 2004 (rechts) im Vergleich. Unten signifikante Unterschiede der absoluten Werte zwischen den Fungizidvarianten Juwel Top (JT), Opera (Op) und den unbehandelten Kontrollpflanzen (K) mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  ( $n = 4$ ).

Die für zwei Versuchsjahre dargestellten Fungizideinflüsse, bezogen auf die drei aufgeführten JIP-Parameter  $ABS/RC$ ,  $DI_0/RC$  und  $PI_{ABS}$ , lassen den Rückschluss zu, dass diese Fungizide den Photosynthese-Verlauf über einen bestimmten Zeitraum optimieren können.

### **3.4.3. Blattanalysen**

In diesem Projekt wurden zusätzlich die stressphysiologischen Leistungen der zwei modernen Fungizide Jewel Top und Opera auf das antioxidative Schutzsystem an Winterweizen in beiden Versuchsjahren untersucht. Diese Blattuntersuchungen sollten den Einfluss der Fungizide auf die Aktivität ausgewählter antioxidativer Enzyme nach der 2. Fungizidgabe erfassen. Von den Fungiziden wird erwartet, dass sie beim Auftreten von erhöhter Radikalproduktion die Aktivität der zur Verfügung stehenden Entgiftungsenzyme erhöhen und somit den Zelltod durch Radikale mindern, und / oder die Produktion toxischer Sauerstoffspezies einschränken.

Die Blattproben der Weizensorten Batis wurden im Versuchsjahr 2003 ab EC 55 eine Woche nach Fungizidgabe einmal wöchentlich genommen, so dass für die Blattanalysen 5 Termine bis EC 81 zur Verfügung standen. In 2004 erfolgte die Entnahme der Blattproben zweimal die Woche ab EC 51, 3 Tage nach Fungizidgabe bis EC 81, somit lagen neun Beprobungstermine zur Auswertung im zweiten Versuchsjahr vor. Es wurden Fahnenblätter gesammelt, an denen die Mengen von löslichen Proteinen und die Aktivität ausgewählter Radikale entgiftender Enzyme gemessen wurde, nachdem sie zunächst tiefgekühlt gelagert wurden.

#### **Superoxid-Dismutase (SOD) – Aktivität**

Die SOD-Aktivität wurde insgesamt nur schwach durch die Fungizidapplikationen beeinflusst (Abbildung 73).

Die Aktivitätsverläufe der behandelten Pflanzen gleichen in beiden Versuchsjahren überwiegend den Kontrollpflanzen. Die einzige signifikante Erhöhung der SOD-Aktivität nach Fungizidgabe zeigt sich in 2003 zu EC 71. Auffällig ist, dass in 2004 über den gemessenen Zeitraum kaum Unterschiede der SOD-Aktivität auftreten, in 2003 hingegen treten starke Aktivitätsschwankungen auf.

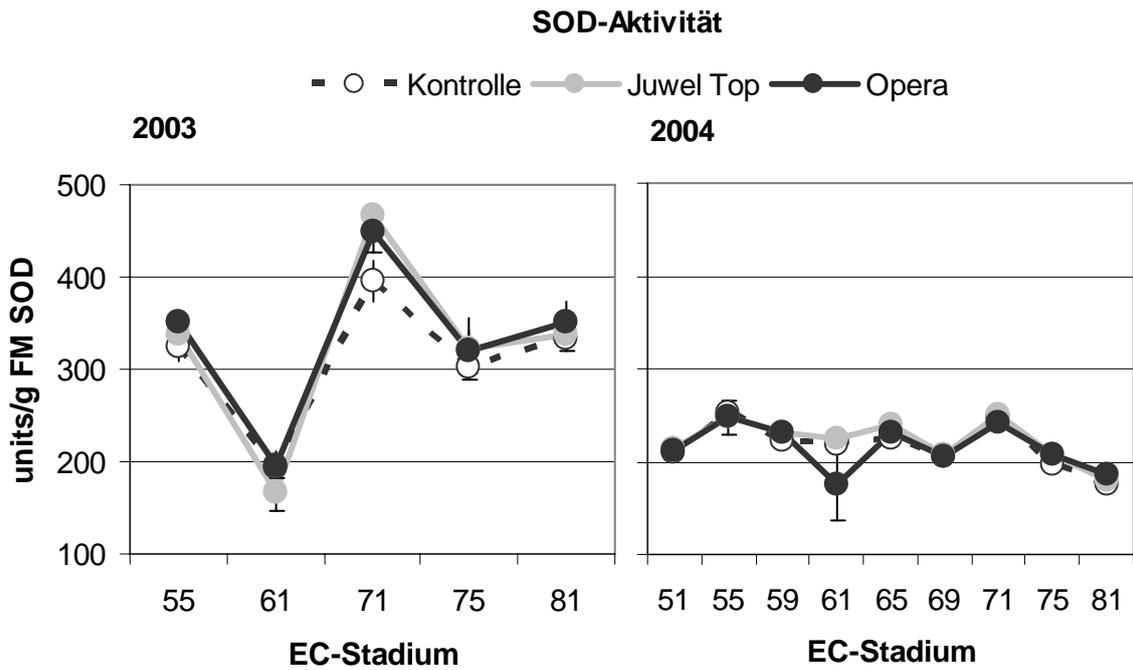


Abbildung 73: Sekundäre Fungizidwirkungen von Juwel Top und Opera im Vergleich zu unbehandelten Pflanzen (Kontrolle) auf die Superoxid-Dismutase (SOD) –Aktivität in F-Blättern von Batis im Zeitverlauf in 2003 (links) und 2004 (rechts) (n = 3; ± Stdabw).

**Ascorbatperoxidase (APX) – Aktivität**

Die Aktivitätsverläufe von APX sind in den getesteten Versuchsjahren sehr verschieden.

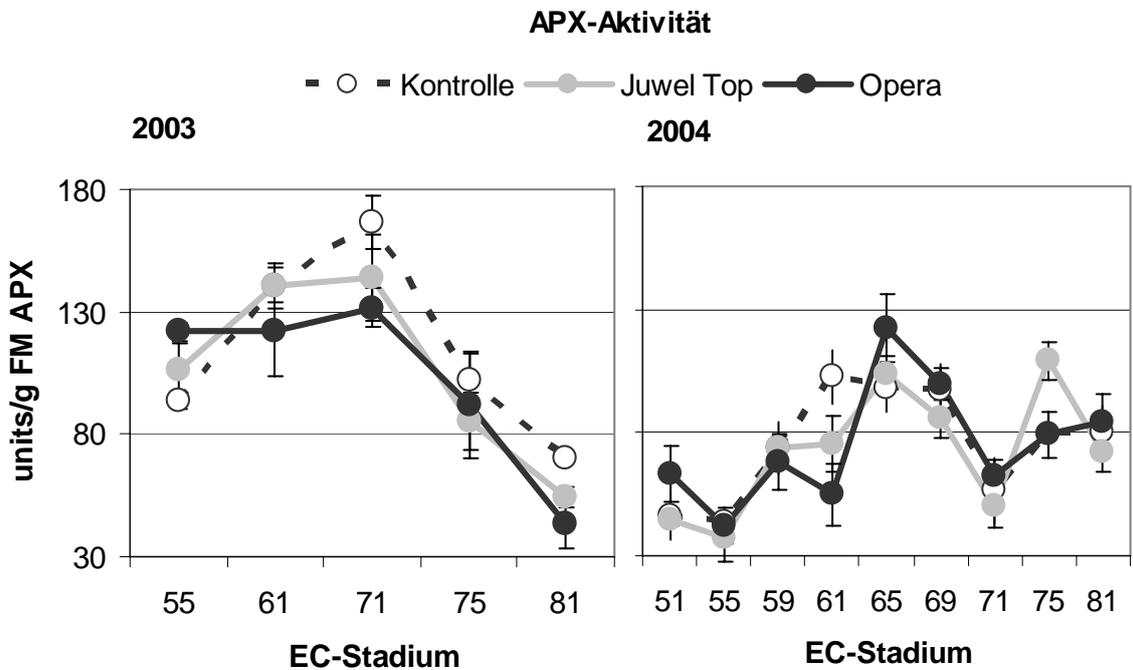


Abbildung 74: Sekundäre Fungizidwirkungen von Juwel Top und Opera im Vergleich zu unbehandelten Pflanzen (Kontrolle) auf die Ascorbatperoxidase (APX) –Aktivität in F-Blättern von Batis im Zeitverlauf in 2003 (links) und 2004 (rechts) (n = 3; ± Stdabw).

Die Ascorbatperoxidase-Aktivität steigt tendenziell in 2003 eine Woche nach der Fungizidbehandlung zu EC 55 an, fällt allerdings im weiteren Verlauf im Vergleich zu den Kontrollpflanzen ab. Die höchste APX-Aktivität ist tendenziell in der Kontrollvariante abzuleiten. Jewel Top behandelte Pflanzen zeigen bis zwei Wochen nach Fungizidgabe zu EC 61 kaum Abweichungen zu den Kontrollpflanzen, Opera weist insgesamt eine tendenziell stärkere Abnahme der APX-Aktivität im aufgeführten Entwicklungszeitraum auf.

In 2004 zeigt die APX-Aktivität ein Maximum im Blühstadium. Dieses Aktivitätsmaximum ist sehr auffällig, vor allem in Bezug zum Auftreten von Pollenekrosen. In diesem Versuchsjahr zeigte die hier aufgeführte Sorte Batis diese Art abiotischer Blattflecken, aufgrund Abwehrreaktion kann es zu erhöhter APX-Leistung kommen.

### Lösliche Blattprotein-Menge

Deutliche Fungizidwirkungen auf den Proteinabbau zwischen den einzelnen Varianten sind nicht zu erkennen. Es gibt keine signifikanten Unterschiede im zeitlichen Verlauf des Proteinabbaus zwischen den behandelten und unbehandelten Pflanzen in beiden Versuchsjahren.

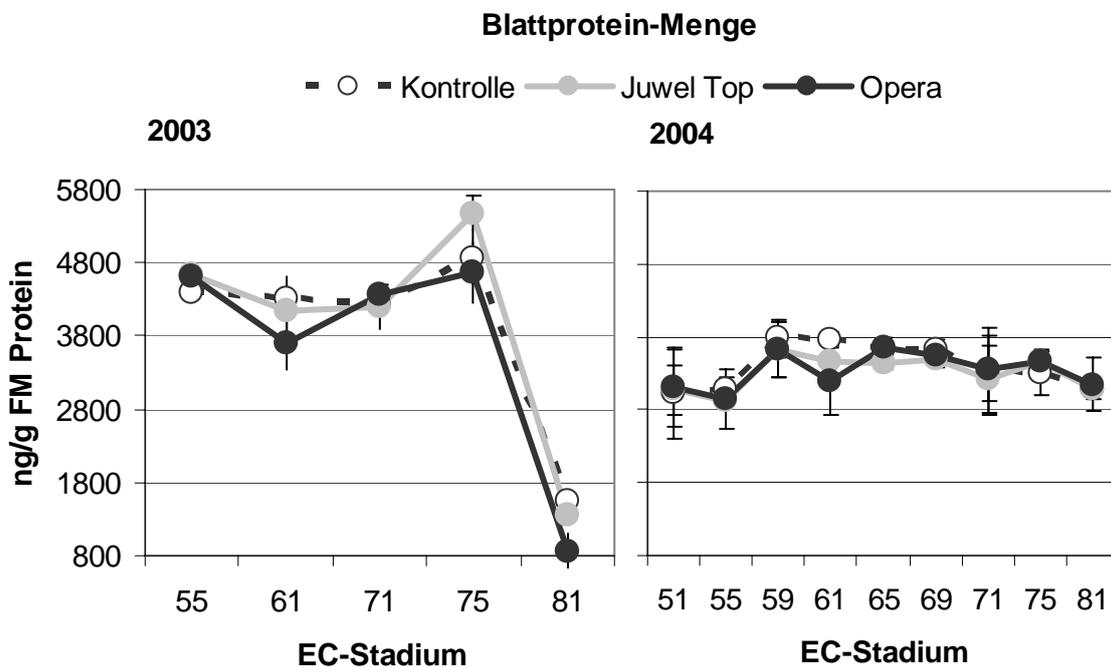


Abbildung 75: Sekundäre Fungizidwirkungen von Jewel Top und Opera im Vergleich zu unbehandelten Pflanzen (Kontrolle) auf die lösliche Blattprotein-Menge in F-Blättern von Batis im Zeitverlauf in 2003 (links) und 2004 (rechts) (n = 3; ± Stdabw).

In 2003 nimmt die Proteinmenge zu Anfang der Zeitkurve leicht ab, zu EC 75 ist ein kleiner Anstieg zu verzeichnen und zu EC 81 fallen die Kurven als Folge der Seneszenz steil ab.

In 2004 zeigt EC 59 die Höchstwerte an löslichen Proteinen auf. Der demonstrierte Zeitverlauf der löslichen Proteinmenge weist ab Blühbeginn zu EC 61 in den Kontrollpflanzen eine stetige leichte Abnahme der Blattproteinmenge auf, die mit Jewel Top behandelten Pflanzen halten über die gesamte Blühperiode einen Level an löslichen Blattproteinen, die Opera-Variante weist Schwankungen auf. Ab Mitte des Blühstadiums (EC 65) kommt es ebenfalls zur fortlaufenden Verminderung des Proteingehalts. Diese Abnahme geht mit einsetzender Seneszenz einher.

### Lipidperoxidation

Deutliche Fungizidwirkungen im Zeitverlauf gegen Lipidperoxidation sind kaum auszumachen. In 2003 zeigt der Verlauf der Lipidperoxidation mit zunehmendem Blattalter einen Anstieg der MDA-Konzentration in den Kontrollpflanzen. Die Fungizide bewirken in EC 55 eine signifikante Konzentrationserhöhung von Malondialdehyd, die sich mit zunehmendem Pflanzenalter verliert.

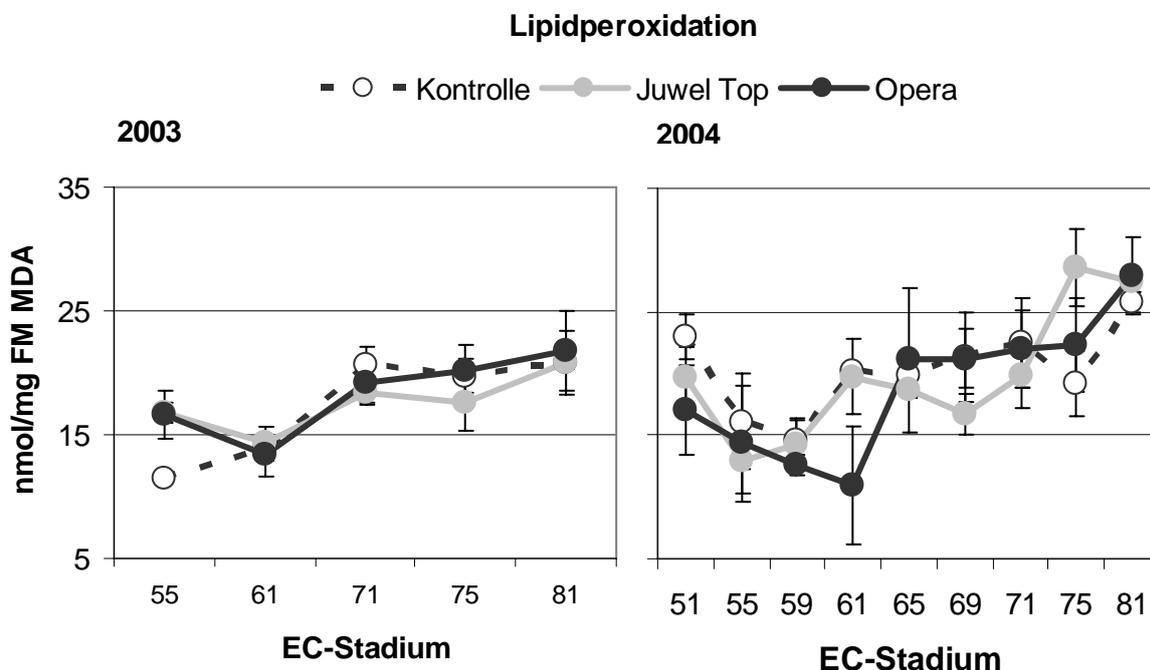


Abbildung 76: Sekundäre Fungizidwirkungen von Jewel Top und Opera im Vergleich zu unbehandelten Pflanzen (Kontrolle) auf die Lipidperoxidation in F-Blättern von Batis im Zeitverlauf in 2003 (links) und 2004 (rechts) (n = 3; ± Stdabw).

Im zweiten Versuchsjahr fällt die Lipidperoxidation zunächst und steigt ab Blühbeginn mit zunehmendem Blattalter an. Auch an dieser Stelle sei auf die Ausbildung von Pollenekrosen der Sorte Batis im Versuchsjahr 2004 hingewiesen.

#### 3.4.4. Kornerträge

Im Allgemeinen werden neben den Wirkungen der Blattfungizide auf phytopathogene Schadpilze gleichzeitig gesteigerte Kornerträge beobachtet, die über die Fungizidleistungen gegen die Blattpilze hinausgehen. Ob die durchgeführten Pflanzenschutzbehandlungen in Feldversuchen von 2003 ebenfalls zu Ertragssteigerungen geführt haben, wird in diesem Kapitel untersucht. Zum Vergleich werden an dieser Stelle die Erträge der Weizensorten Batis, Drifter und Ritmo aufgeführt.

Die Ergebnisse der Kornerträge lassen in beiden Versuchsjahren einen deutlichen Einfluss der Fungizide erkennen, da die Weizenerträge der mit Fungiziden behandelten Pflanzen signifikant höher liegen im Vergleich zu den jeweiligen Kontrollpflanzen. Es ist zu erwähnen, dass die Erträge der anfälligen PLS-Sorte Batis gegenüber den nicht anfälligen Sorten Drifter und Ritmo in allen getesteten Varianten am niedrigsten ausfallen.

Tabelle 17: Einfluss von Fungizidbehandlungen mit Jewel Top und Opera auf die Kornerträge der Weizensorten Batis, Drifter und Ritmo in 2003 und 2004. Signifikante Abweichungen zwischen Kontrolle und Fungizidbehandlung mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt; Feldversuch Göttingen.

	Ernteerträge 2003 [dt/ha]						Ernteerträge 2004 [dt/ha]					
	Batis		Drifter		Ritmo		Batis		Drifter		Ritmo	
<b>Kontrolle</b>	72,07	b	80,39	z	77,76	β	71,85	b	81,87	z	78,65	β
<b>Jewel Top</b>	77,11	a	93,67	y	98,96	α	81,43	a	95,14	y	92,65	α
<b>Opera</b>	77,80	a	93,48	y	98,25	α	78,26	a	92,77	y	87,87	α

Der Grund für den Ertragsabfall muss nicht der PLS-Anfälligkeit zuzuordnen sein, ausschlaggebend können unterschiedliche Züchtungsziele der Sorten sein. Beim A-Weizen Batis steht Qualität im Vordergrund, die B-Weizen Drifter und Ritmo stehen für hohe Ertragsleistung. Das erklärt, dass Drifter und Ritmo durch Fungizideinfluss wesentlich im Kornertrag abheben, Batis hingegen in beiden Versuchsjahren die geringsten Zuwächse an Erträgen nach Fungizidapplikation aufweist.

### **3.5. Fungizideinfluss auf Ozon induzierten Stress im Gewächshaus**

In diesem Kapitel wird die Beziehung zwischen Ozonbelastung und Symptomausprägung bei Sommerweizenpflanzen der Sorte Nandu dargestellt. Der ausgewählte Sommerweizen wurde von Lamprecht (2002) als ozonsensitiv im Hinblick auf die Photosynthese-Aktivität beschrieben. In der vorliegenden Arbeit wurden akute Symptome wie Wasserflecken, Chlorosen und Nekrosen bei der angewandten Ozonkonzentration von 85-95 ppb über 7 h an fünf aufeinander folgenden Tagen nicht erzielt, die Versuchsdurchführungen zielten auf physiologische und biochemische Effekte im Pflanzengewebe des Luftschadstoffs ab. Zu welcher Dosis-Effekt Beziehung die vorgegebene Ozonbelastung in den Pflanzen führte, wird an Kontrollpflanzen aufgezeigt. Außerdem wird die Wirkung ausgewählter Fungizidwirkstoffe in Verbindung mit Ozonstress auf den Photosynthese-Verlauf und dem Stressmetabolismus der Pflanzen untersucht.

Die zeitliche Durchführung dieser Gewächshausversuche ist für die Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen sehr entscheidend, da mit zunehmendem Entwicklungsverlauf der Pflanzen (EC 60 – EC 75) eine Abnahme der photochemischen Effizienz der Blätter einhergeht, unabhängig von der Behandlung (Simioniuc & Honermeier 2003). Ob Änderungen der Lichtnutzung der Photosynthese zum einen abhängig vom Entwicklungsstadium, zum anderen abhängig von Fungizidbehandlungen und zuletzt abhängig vom Luftschadstoff Ozon sind, soll mittels der folgenden Ergebnisse aufgezeigt werden.

#### **3.5.1. Chlorophyll-Fluoreszenz**

Zur Übersicht werden an dieser Stelle die Fungizidbehandlungen und Messungen mit dem HandyPea noch einmal mit EC-Stadium aufgeführt. Die Fungizide wurden zu EC 47/49 appliziert, 3 Tage später zu EC 51/55 (Beginn / Mitte des Ährenschiebens) erfolgte der 5-tägige Ozonstress. Vor dem Ozonstress zu EC 51/55 wurde die erste HandyPea-Messung durchgeführt. Die zweite Messung zur Chlorophyll-Fluoreszenz erfolgte 3 Tage nach 5-tägigem Ozonstress bzw. 11 Tage nach Fungizidapplikation zu EC 59/61 (Anfang Blüte). Die dritte Messung wurde zu EC 65/69 (Mitte / Ende Blüte) 14 Tage nach Ozonbehandlung bzw. 22 Tage nach Fungizidgabe genommen.

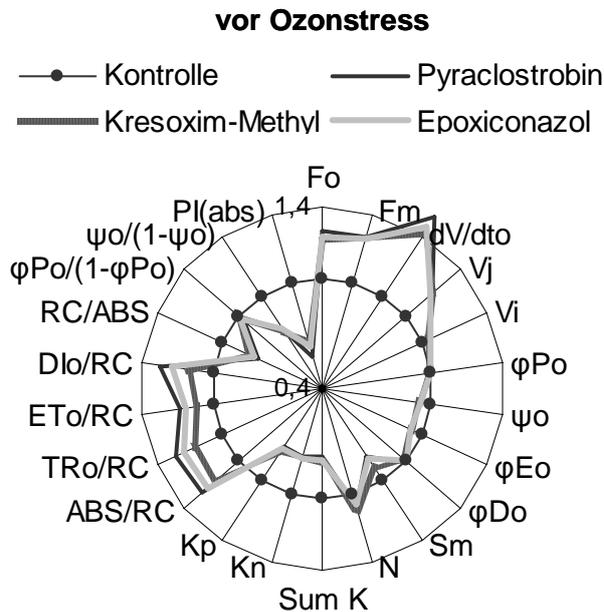
In diesem Kapitel werden sowohl die Fungizideffekte als auch die Ozonwirkung auf den Photosynthese-Apparat behandelt.

### 3.5.1.1. Fungizideffekt

Es ist deutlich zu erkennen, dass Fungizide einen Einfluss auf den Photosynthese-Verlauf besitzen und Ozon die Fungizidwirkung zum Teil aufhebt.

#### Vor Ozonstress bzw. 3 Tage nach Fungizidgabe

Die Fungizide bewirken drei Tage nach Applikation eine verminderte Lichtnutzung ( $\phi_{Po}$ ), das Photosynthese-Vermögen ( $PI_{ABS}$ ) der Pflanzen ist verringert.



	Kontrolle	Pyraclo.	KM	Epoxicon.	vor Ozonstress	Kontrolle	Pyraclo.	KM	Epoxicon.
Fo	b	a	a	a	Sum K	a	b	b	b
Fm	b	a	a	a	Kn	a	b	b	b
dV/dto	b	a	a	a	Kp	a	b	b	b
Vj	b	a	a	a	ABS/RC	b	a	a	a
Vi					TRO/RC	b	a	a	a
$\phi_{Po}$	ab	b	a	ab	ETO/RC	b	a	ab	a
$\psi_o$	a	b	b	b	Dlo/RC	b	a	a	a
$\phi_{Eo}$	a	b	b	b	RC/ABS	a	b	b	b
$\phi_{Do}$	ab	a	b	ab	$\phi_{Po}/(1-\phi_{Po})$	ab	b	a	ab
Sm					$\psi_o/(1-\psi_o)$	a	b	b	b
N					PI(abs)	a	b	b	b

Abbildung 77: Fungizidwirkung auf den Photosynthese-Verlauf von Sommerweizenpflanzen der Sorte Nandu 3 Tage nach Fungizidapplikation und vor 5-tägigem Ozonstress im Vergleich zu unbehandelten Pflanzen (Referenz). Signifikante Abweichungen zwischen den

Varianten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt ( $n = 4$ ).

Zu diesem Messzeitpunkt wird die Dunkelreaktion ( $\Psi_O/(1-\Psi_O)$ ) durch die Fungizide beeinträchtigt, Grund dafür ist eine Veränderung in der Elektronentransportkette gegenüber den Kontrollpflanzen. Beim Elektronentransport kommt es zu Anreicherungen von Elektronenakzeptoren ( $dV/dt_O$ ;  $V_J$ ) sowie zur Bildung nicht- $Q_A$  reduzierender Reaktionszentren, die Anregungsenergie als Wärme abgeben. Die nichtphotochemischen ( $k_N$ ) wie die photochemischen Raten ( $k_P$ ) sind nach Fungizidapplikation deutlich gesenkt, Grundfluoreszenz ( $F_O$ ) und maximale Fluoreszenz ( $F_M$ ) werden im Gegenzug deutlich gesteigert.

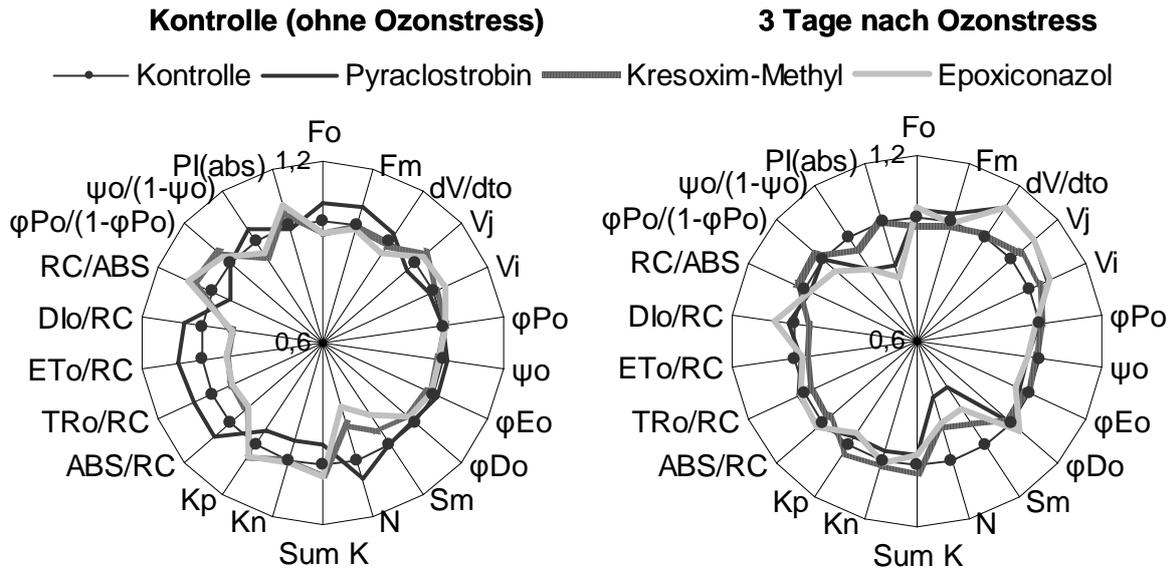
### **3 Tage nach 5-tägigem Ozonstress bzw. 11 Tage nach Fungizidgabe**

Die Ergebnisse weisen Unterschiede durch die Ozonbehandlung auf (Abbildung 78).

11 Tage nach Fungizidgabe ohne Ozonbelastung der Pflanzen zeigt die Pyraclostrobin-Variante außer im Elektronenfluss während des Elektronentransports das Verhalten vom Messtermin 3 Tage nach der Fungizidgabe (Abb. 100) gegenüber den Kontrollpflanzen. Grundfluoreszenz ( $F_O$ ) und maximale Fluoreszenz ( $F_M$ ) sind erhöht, photochemische ( $k_P$ ) und nichtphotochemische Raten sind gesenkt. Die Energieflüsse pro Reaktionszentrum steigen an bei gleichzeitiger Abnahme aktiver  $Q_A$  reduzierender Reaktionszentren (RC/ABS), das bedeutet, aktive Reaktionszentren werden umgeformt zur Wärmeabgabe und stehen der Elektronentransportkette in dem Moment nicht zur Verfügung. Die Funktionsfähigkeit des Photosystems II ist 11 Tage nach der Pflanzenbehandlung mit Pyraclostrobin vermindert.

Mit Kresoxim-Methyl und Epoxiconazol behandelte Pflanzen weisen, den Photosynthese-Verlauf betreffend, das gegenteilige Verhalten wie Pyraclostrobin auf. Es kommt zu gesteigertem Photosynthesevermögen durch die Optimierung des Photosynthese-Verlaufs aufgrund verminderter Energieflüsse und gesteigerter  $Q_A$  reduzierender Reaktionszentren (RC/ABS).

Fungizidbehandelte Pflanzen weisen nach Ozon induziertem Stress lediglich deutliche Unterschiede in der Elektronentransportkette ( $V_i$ ,  $S_m$ ,  $N$ ) gegenüber unbehandelten Pflanzen auf. Tendenziell zeigen Pflanzen mit Pyraclostrobin und Epoxiconazol behandelt 3 Tage nach 5-tägiger Ozonimmission die geringste Lichtnutzung des Photosynthese-Apparates ( $PI_{ABS}$ ).



3 Tage	ohne 5-tägigen Ozonstress		
	Kontrolle	Pyraclo. KM	Epoxicon.
Fo	b	a	b
Fm	b	a	b
dV/dto			
Vj			
Vi			
φPo	b	ab	a
ψo			
φEo			
φDo	a	ab	b
Sm			
N	a	a	ab

3 Tage	nach 5-tägigem Ozonstress		
	Kontrolle	Pyraclo. KM	Epoxicon.
Fo			
Fm			
dV/dto			
Vj			
Vi	b	a	ab
φPo			
ψo			
φEo			
φDo			
Sm	a	c	ab
N	a	b	ab

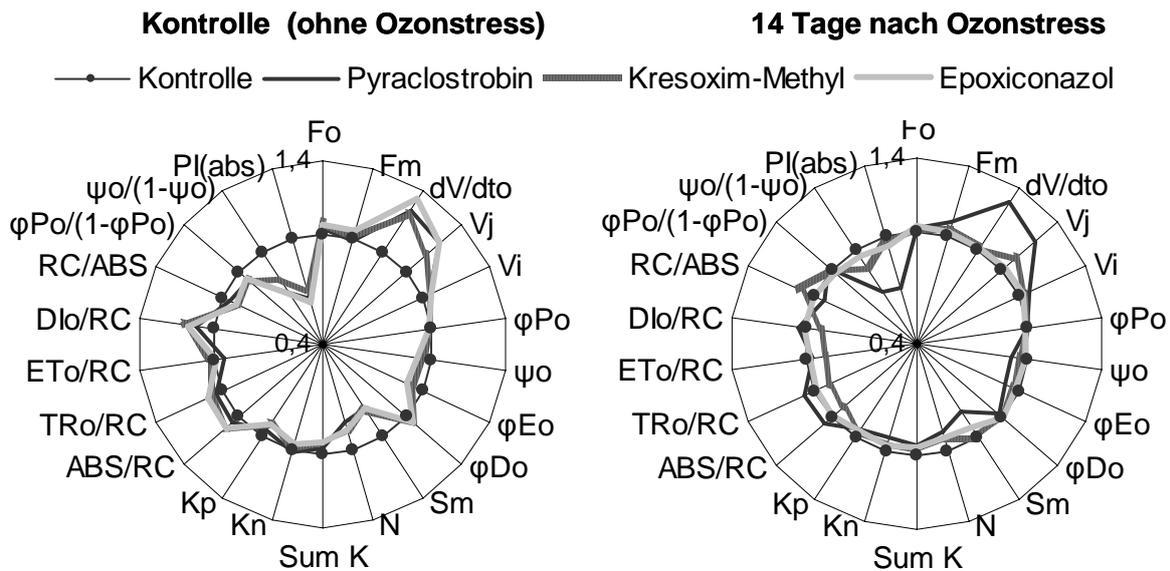
Abbildung 78: Fungizidwirkung auf den Photosynthese-Verlauf von Sommerweizenpflanzen der Sorte Nandu 3 Tage nach 5-tägigem Ozonstress bzw. 8 Tage nach Fungizidapplikation im Vergleich zu unbehandelten Pflanzen (Referenz). Signifikante Abweichungen zwischen den Varianten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt ( $n = 4$ ).

### 14 Tage nach 5-tägigem Ozonstress bzw. 22 Tage nach Fungizidgabe

Zu diesem Messtermin zeigen sich Unterschiede in den Fungizidwirkungen mit und ohne Ozonstress (Abbildung 79).

Die drei an Pflanzen getesteten Fungizide zeigen 22 Tage nach Fungizidgabe ohne Ozon induzierten Pflanzenstress sehr ähnliche Effekte gegenüber den Kontrollpflanzen.

Tendenziell erhöhte Energieflüsse gemeinsam mit verringerten  $Q_A$  reduzierten Reaktionszentren (RC/ABS) führen in den Fungizidvarianten zu Wärme abgebenden Reaktionszentren, der Elektronenfluss in die Elektronentransportkette ( $dV/dt_o$ ,  $V_i$ ,  $V_j$ ,  $N$ ,  $Sm$ ) ist nach Fungizidapplikation beeinflusst. Im weiteren Verlauf kommt es gegenüber den Kontrollpflanzen zu verminderter Dunkelreaktion ( $\Psi_o/(1-\Psi_o)$ ) und verringertem Photosynthesevermögen ( $PI_{ABS}$ ) in den Fungizidvarianten.



14 Tage	ohne 5-tägigen Ozonstress		
	Kontrolle	Pyraclo. KM	Epoxicon.
Fo			
Fm			
dV/dto			
Vj	b	a	ab a
Vi			
phiPo			
phi	a	b	ab b
phiEo			
phiDo			
Sm			
N	a	b	ab ab

14 Tage	nach 5-tägigem Ozonstress		
	Kontrolle	Pyraclo. KM	Epoxicon.
Fo			
Fm			
dV/dto			
Vj			
Vi			
phiPo			
phi			
phiEo			
phiDo			
Sm			
N			

Abbildung 79: Fungizidwirkung auf den Photosynthese-Verlauf von Sommerweizenpflanzen der Sorte Nandu 14 Tage nach 5-tägigem Ozonstress bzw. 22 Tage nach Fungizidapplikation im Vergleich zu unbehandelten Pflanzen (Referenz). Signifikante Abweichungen zwischen den Varianten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt ( $n = 4$ ).

Nach Ozonzufuhr weisen zu diesem Messtermin mit Fungiziden behandelte Pflanzen keine signifikanten Unterschiede zu den Kontrollpflanzen auf. Die Fungizidwirkung wird durch die Ozonbehandlung aufgehoben, tendenziell jedoch zeigt die Pyraclostrobin-Variante die stärksten Unterschiede zu den Kontrollpflanzen.

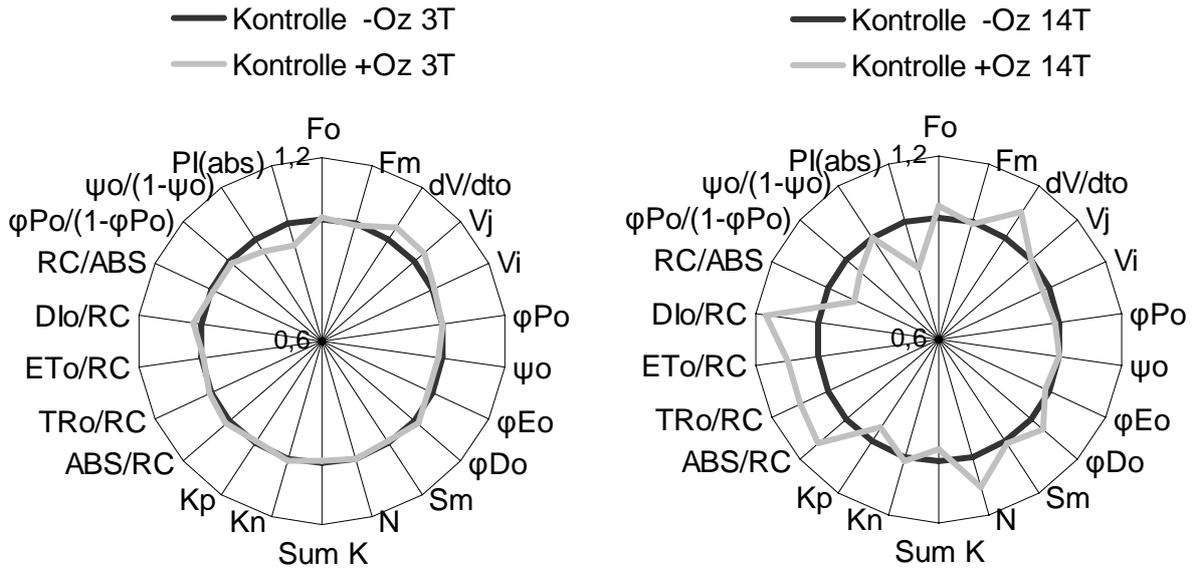
#### **3.5.1.2. Ozoneffekt**

Nach Smidt (2004) reduziert Ozon im pflanzlichen Stoffwechsel die Photosyntheseleistung. Es ist deutlich zu erkennen, dass Ozon einen Einfluss auf den Photosynthese-Verlauf besitzt.

#### **Kontrolle**

Ozon führt in den Kontrollpflanzen zu verminderter Photosynthese-Aktivität. 3 Tage nach Ozonstress zeigt sich tendenziell eine verringerte Funktionsfähigkeit von PS II ( $PI_{ABS}$ ) und ein gesteigerter Elektronenfluss ( $dV/dt_O$ ) im Vergleich zur ungestressten Kontrolle.

Zum 2. Messtermin, 14 Tage nach Ozonimmission, zeigen sich wiederum die tendenziellen Unterschiede in  $PI_{ABS}$  und  $dV/dt_O$  zwischen den aufgeführten Varianten. Außerdem kommt es in den ozongestressten Pflanzen zur Bildung von stillen, Wärme abgebenden Reaktionszentren, die Energieflüsse steigen bei gleichzeitiger Abnahme von  $Q_A$  reduzierenden Reaktionszentren (RC/ABS).



	3 T		Kontrolle	3 T	
	- Oz	+ Oz		- Oz	+ Oz
Fo			Sum K		
Fm			Kn		
dV/dto			Kp		
Vj			ABS/RC		
Vi			TRo/RC		
φPo			ETo/RC		
ψo			Dlo/RC		
φEo			RC/ABS		
φDo			φPo/(1-φPo)		
Sm			ψo/(1-ψo)		
N			PI(abs)		

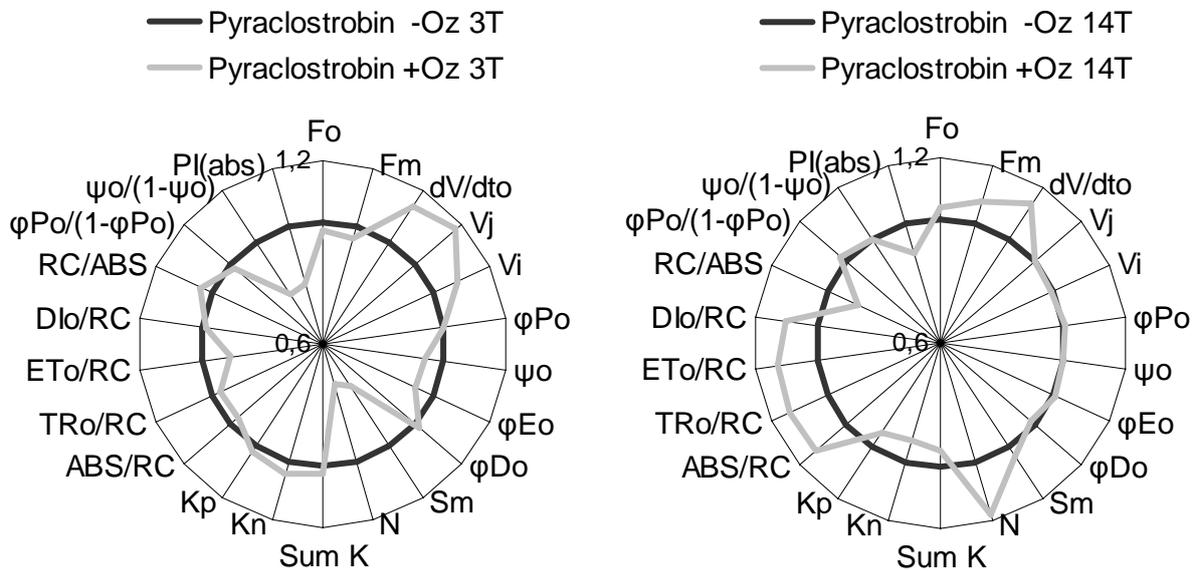
	14 T		Kontrolle	14 T	
	- Oz	+ Oz		- Oz	+ Oz
Fo			Sum K		
Fm			Kn		
dV/dto			Kp		
Vj			ABS/RC	b	a
Vi			TRo/RC	b	a
φPo			ETo/RC		
ψo			Dlo/RC	b	a
φEo			RC/ABS	a	b
φDo			φPo/(1-φPo)		
Sm			ψo/(1-ψo)		
N			PI(abs)		

Abbildung 80: Ozoneffekte auf den Photosynthese-Verlauf von unbehandelten Sommerweizenpflanzen der Sorte Nandu 3 und 14 Tage nach 5-tägigem Ozonstress im Vergleich zu ungestressten Pflanzen (Referenz). Signifikante Abweichungen zwischen den Varianten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt ( $n = 4$ ).

### Pyraclostrobin

Mit Pyraclostrobin behandelte Pflanzen weisen 3 Tage nach 5-tägiger Ozonbelastung einen signifikanten Eingriff in den Elektronentransport ( $dV/dt_o$ ,  $V_j$ ,  $V_i$ ,  $N$ ,  $Sm$ ,  $ET_o/RC$ ) auf. Dieses führt zu verminderter Dunkelreaktion ( $\Psi_o/(1-\Psi_o)$ ), die Lichtnutzung ( $PI_{ABS}$ ) wird beeinträchtigt.

14 Tage nach Ozonstress weisen die gestressten Pflanzen stille Reaktionszentren auf, Energieflüsse werden gesteigert, aktive  $Q_A$  reduzierende Reaktionszentren (RC/ABS) nehmen ab, Anregungsenergie wird als Wärme aus den Reaktionszentren abgeführt. Dieser Schutzmechanismus der Pflanzen führt zur deutlichen Abnahme der photochemischen Rate ( $k_P$ ).



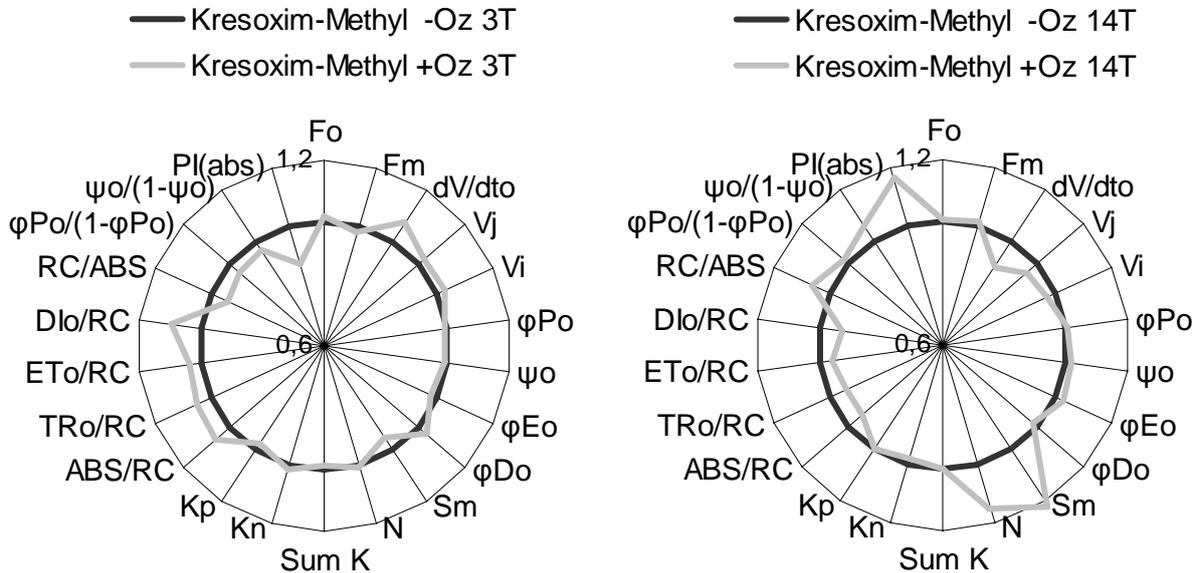
	3 T		Pyraclo- strobin	3 T	
	- Oz	+ Oz		- Oz	+ Oz
Fo			Sum K		
Fm			Kn		
dV/dto			Kp		
Vj	b	a	ABS/RC		
Vi	b	a	TRo/RC		
$\phi Po$			ETo/RC	a	b
$\psi o$	a	b	DIo/RC		
$\phi Eo$	a	b	RC/ABS		
$\phi Do$			$\phi Po/(1-\phi Po)$		
Sm	a	b	$\psi o/(1-\psi o)$	a	b
N	a	b	PI(abs)		

	14 T		Pyraclo- strobin	14 T	
	- Oz	+ Oz		- Oz	+ Oz
Fo			Sum K	a	b
Fm			Kn		
dV/dto			Kp	a	b
Vj			ABS/RC		
Vi			TRo/RC		
$\phi Po$			ETo/RC	b	a
$\psi o$			DIo/RC		
$\phi Eo$			RC/ABS		
$\phi Do$			$\phi Po/(1-\phi Po)$		
Sm			$\psi o/(1-\psi o)$		
N			PI(abs)		

Abbildung 81: Ozoneffekte auf den Photosynthese-Verlauf von Pyraclostrobin behandelte Sommerweizenpflanzen der Sorte Nandu 3 und 14 Tage nach 5-tägigem Ozonstress im Vergleich zu ungestressten Pflanzen (Referenz). Signifikante Abweichungen zwischen den Varianten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt ( $n = 4$ ).

### Kresoxim-Methyl

Mit Kresoxim-Methyl behandelte Pflanzen zeigen 3 Tage und 14 Tage nach Ozonstress nur geringe Abweichungen zur jeweiligen ungestressten Variante.



	3 T		Kresoxim-Methyl	3 T	
	- Oz	+ Oz		- Oz	+ Oz
Fo			Sum K		
Fm			Kn		
dV/dto			Kp		
Vj			ABS/RC		
Vi			TRo/RC		
φPo			ETo/RC		
ψo			DIo/RC		
φEo			RC/ABS		
φDo			φPo/(1-φPo)		
Sm			ψo/(1-ψo)		
N			PI(abs)		

	14 T		Kresoxim-Methyl	14 T	
	- Oz	+ Oz		- Oz	+ Oz
Fo			Sum K		
Fm			Kn		
dV/dto			Kp		
Vj			ABS/RC		
Vi			TRo/RC		
φPo			ETo/RC		
ψo			DIo/RC		
φEo			RC/ABS		
φDo			φPo/(1-φPo)		
Sm	b	a	ψo/(1-ψo)		
N			PI(abs)		

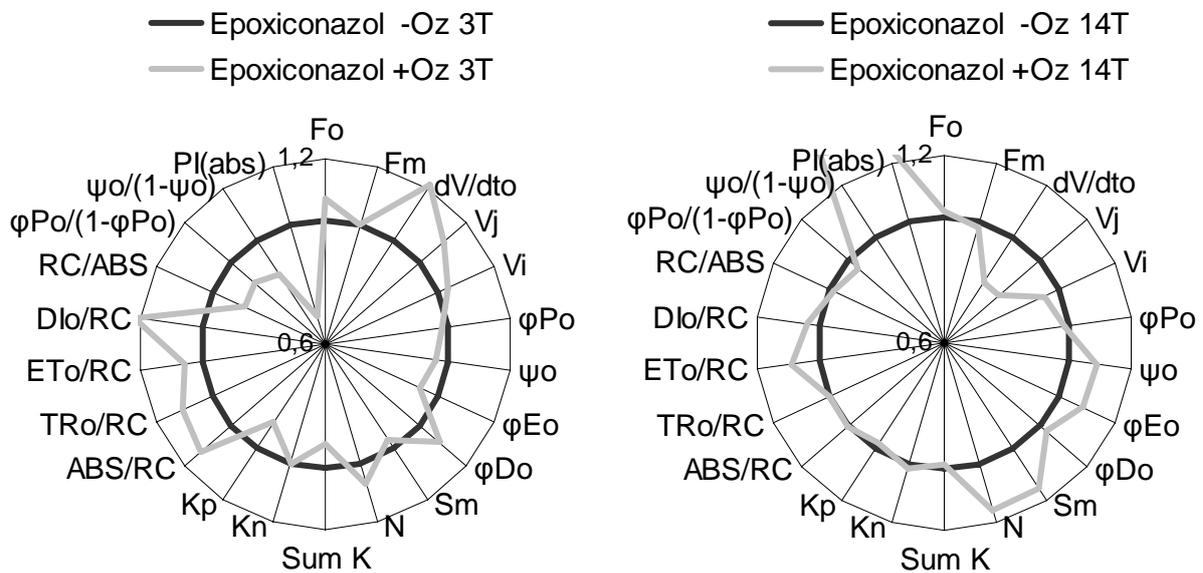
Abbildung 82: Ozoneffekte auf den Photosynthese-Verlauf von Kresoxim-Methyl behandelte Sommerweizenpflanzen der Sorte Nandu 3 und 14 Tage nach 5-tägigem Ozonstress im Vergleich zu ungestressten Pflanzen (Referenz). Signifikante Abweichungen zwischen den Varianten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt ( $n = 4$ ).

Tendenziell lassen sich 3 Tage nach Ozonimmission nicht- $Q_A$  reduzierende Reaktionszentren ausmachen mit der Folge des verminderten Photosynthese-Verlaufs ( $PI_{ABS}$ ). 14 Tage nach ozoninduziertem Pflanzenstress können tendenziell Rückschlüsse auf eine Optimierung des Photosynthese-Verlaufs ( $PI_{ABS}$ ) gezogen werden, Lichtreaktion ( $\phi_{P_o}/(1-$

$\varphi_{Po}$ ) und Dunkelreaktion ( $\Psi_o/(1-\Psi_o)$ ) werden gesteigert gegenüber der ungestressten Variante.

### Epoxiconazol

Mit Epoxiconazol behandelte Pflanzen weisen nach 5-tägiger Ozonzufuhr zu beiden Messterminen ein ähnliches Verhalten auf wie die Kresoxim-Methyl-Variante nach Ozonimmission, nur mit dem Unterschied, dass die Unterschiede zwischen gestressten und ungestressten Pflanzen nach Epoxiconazol-Behandlung ausgeprägter sind.



	3 T		Epoxi- conazol	3 T	
	- Oz	+ Oz		- Oz	+ Oz
Fo			Sum K		
Fm			Kn		
dV/dto			Kp	a	b
Vj			ABS/RC		
Vi			TRo/RC		
$\varphi_{Po}$	a	b	ETo/RC		
$\psi_o$			DIo/RC	b	a
$\varphi_{Eo}$			RC/ABS	a	b
$\varphi_{Do}$	b	a	$\varphi_{Po}/(1-\varphi_{Po})$	a	b
Sm			$\psi_o/(1-\psi_o)$		
N			PI(abs)		

	14 T		Epoxi- conazol	14 T	
	- Oz	+ Oz		- Oz	+ Oz
Fo			Sum K		
Fm			Kn		
dV/dto			Kp		
Vj			ABS/RC		
Vi			TRo/RC		
$\varphi_{Po}$			ETo/RC		
$\psi_o$			DIo/RC		
$\varphi_{Eo}$			RC/ABS		
$\varphi_{Do}$			$\varphi_{Po}/(1-\varphi_{Po})$		
Sm			$\psi_o/(1-\psi_o)$		
N			PI(abs)		

Abbildung 83: Ozonwirkungen auf den Photosynthese-Verlauf von Epoxiconazol behandelte Sommerweizenpflanzen der Sorte Nandu 3 und 14 Tage nach 5-tägigem Ozonstress im Vergleich zu ungestressten Pflanzen (Referenz). Signifikante Abweichungen zwischen den

Varianten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt ( $n = 4$ ).

Die Pflanzen zeigen 3 Tage nach Ozonbelastung gesteigerte Energieflüsse bei deutlich verminderten  $Q_A$  reduzierenden Reaktionszentren (RC/ABS). Es kommt zur Anreicherung von Elektronenakzeptoren ( $dV/dt_O$ ,  $V_J$ ,  $V_I$ ), die photochemische Rate ( $k_P$ ) nimmt ab, Lichtreaktion ( $\phi_{P_O}/(1-\phi_{P_O})$ ) wie auch Dunkelreaktion ( $\Psi_O/(1-\Psi_O)$ ) werden gesenkt im Vergleich zur ungestressten Variante, Funktionsverluste des Photosystems II ( $PI_{ABS}$ ) werden aufgeführt.

14 Tage nach Ozonstress zeigen die Pflanzen ein erhöhtes Photosynthese-Vermögen ( $PI_{ABS}$ ), die Elektronenakzeptoren zeigen keine Anhäufung der Elektronen ( $dV/dt_O$ ,  $V_J$ ,  $V_I$ ), die Dunkelreaktion ( $\Psi_O/(1-\Psi_O)$ ) wird gesteigert.

### 3.5.2. Blattanalyse

Welchen Einfluss die über den Zeitraum von 5 Tagen durchgeführte Begasung von Ozon mit der Konzentration von maximal 90 ppb über 7 Stunden täglich auf die stressphysiologischen Vorgänge im Blattgewebe besitzt, wird in diesem Kapitel näher untersucht. Außerdem wird die Wirkung ausgewählter Fungizidwirkstoffe nach erfolgter Ozonbelastung auf den Stressmetabolismus der Pflanzen beschrieben. Die Fungizide wurden drei Tage vor der Ozonbehandlung auf die Sommerweizenpflanzen Nandu appliziert. Es folgte die 5-tägige Begasung der Pflanzen mit Ozon, die Blattanalysen wurden 3 Tage und 14 Tage nach Ozonstress an frischen Blättern durchgeführt.

#### Fungizidwirkungen auf den $H_2O_2$ - Gehalt nach Ozon

Im Zeitverlauf sinkt der Wasserstoffperoxid-Gehalt deutlich ab. Wasserstoffperoxid ist nach Ozonstress zu beiden Messterminen (3T +Oz; 14T +Oz) gegenüber den ungestressten Varianten (3T -Oz; 14T -Oz) tendenziell verstärkt.

Ozonstress in Verbindung mit Epoxiconazol-Behandlung führt im pflanzlichen Metabolismus zu signifikantem Anstieg der  $H_2O_2$ -Menge. Kresoxim-Methyl behandelte Pflanzen zeigen zum ersten Messtermin eine Absenkung an Wasserstoffperoxid, zum zweiten Messtermin ist diese Fungizidwirkung nicht mehr auszumachen.

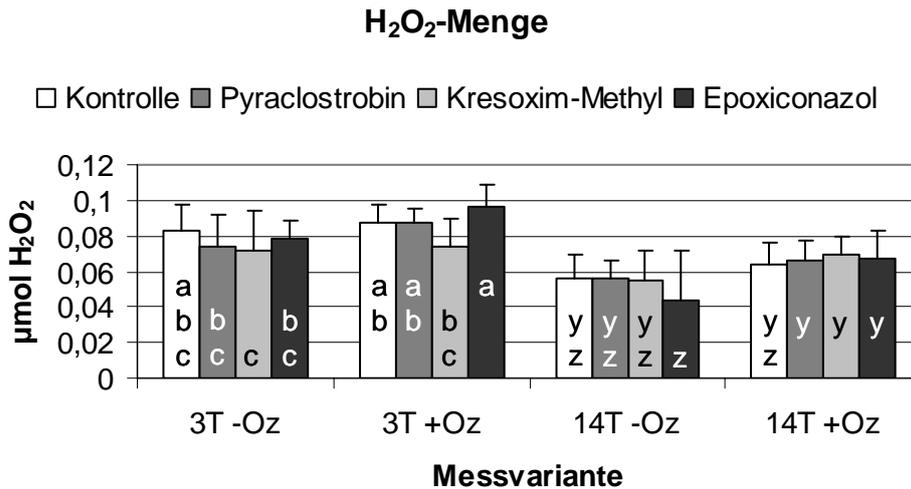


Abbildung 84: Einfluss der Fungizidwirkstoffe Pyraclostrobin, Kresoxim-Methyl und Epoxiconazol auf die H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Menge 3 Tage (3T) und 14 Tage (14T) nach 5-tägigem Ozonstress (+Oz) im Vergleich zu ungestressten (-Oz) Sommerweizenpflanzen der Sorte Nandu; F-Blatt vom Haupttrieb. Signifikante Abweichungen zwischen den Varianten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt ( $n = 5$ ;  $\pm$  Stdabw).

Auffällig ist der Fungizideinfluss zum 1. Messtermin (3T) ohne Ozon, Fungizide bewirken eine tendenzielle Abnahme der H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Menge. Zum 2. Messtermin (14T -Oz) hat nur noch Epoxiconazol diese Wirkung. Mit Ozonstress kommt es zu diesem Messzeitpunkt zur tendenziellen Steigerung der Wasserstoffperoxid-Menge im Vergleich zur Kontrolle.

### Fungizidwirkungen auf die SOD-Aktivität nach Ozon

Die Superoxid-Dismutase-Aktivität wird von den einzelnen Fungizidwirkstoffen zum Teil stark beeinflusst (Abbildung 85).

Pyraclostrobin zeigt einen ausgeprägten Aktivitätsverlust in den ungestressten Pflanzen im Vergleich zu den Kontrollpflanzen zum ersten Messtermin (3T -Oz). Die gestressten mit Pyraclostrobin behandelten Pflanzen hingegen zeigen zu diesem Messtermin deutliche Aktivitätssteigerungen zur ungestressten Fungizidvariante. Dieses Phänomen nach Stress zeichnet sich auch bei Kresoxim-Methyl behandelten Pflanzen ab.

14 Tage nach Ozonstress lässt sich ein deutlicher Aktivitätsverlust der Kontrollpflanzen und der Kresoxim-Methyl behandelten Pflanzen ableiten. Epoxiconazol behandelte Pflanzen zeigen keine signifikanten Abweichungen zu den jeweiligen Kontrollen.

### SOD-Aktivität

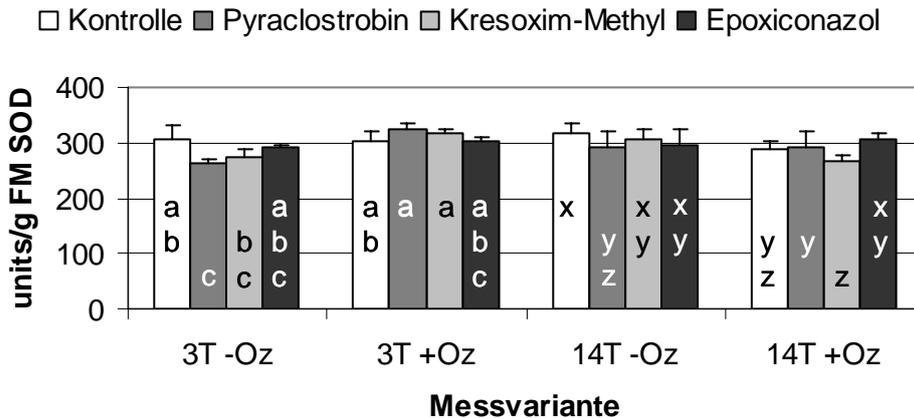


Abbildung 85: Einfluss der Fungizidwirkstoffe Pyraclostrobin, Kresoxim-Methyl und Epoxiconazol auf die Superoxid-Dismutase-Aktivität 3 Tage (3T) und 14 Tage (14T) nach 5-tägigem Ozonstress (+Oz) im Vergleich zu ungestressten (-Oz) Sommerweizenpflanzen der Sorte Nandu; F-1-Blatt vom Haupttrieb. Signifikante Abweichungen zwischen den Varianten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt ( $n = 3$ ;  $\pm$  Stdabw).

### Fungizidwirkungen auf die APX-Aktivität nach Ozon

Von den Versuchspflanzen lässt sich außer nach Pyraclostrobin-Gabe tendenziell ein Aktivitätsanstieg der Ascorbat-Peroxidase nach Ozonbehandlung ableiten.

### APX-Aktivität

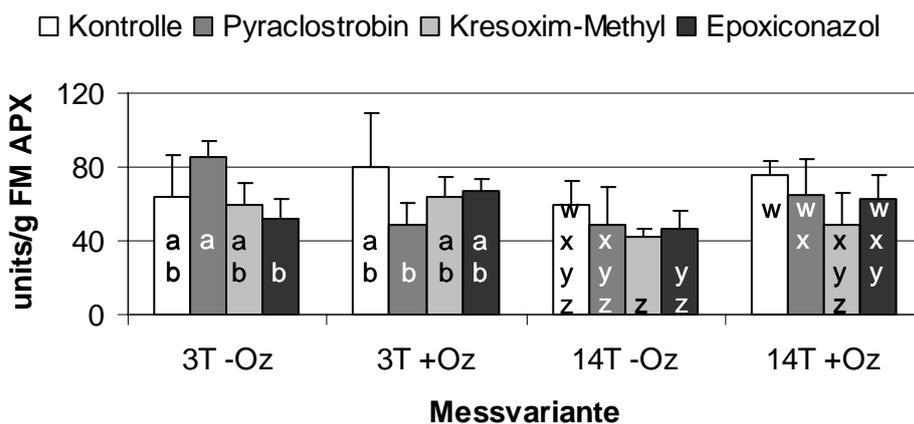


Abbildung 86: Einfluss der Fungizidwirkstoffe Pyraclostrobin, Kresoxim-Methyl und Epoxiconazol auf die Ascorbat-Peroxidase-Aktivität 3 Tage (3T) und 14 Tage (14T) nach 5-tägigem Ozonstress (+Oz) im Vergleich zu ungestressten (-Oz) Sommerweizenpflanzen der Sorte Nandu; F-1-Blatt vom Haupttrieb. Signifikante Abweichungen zwischen den Varianten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt ( $n = 3$ ;  $\pm$  Stdabw).

Drei Tage nach Ozonbehandlung fällt die Pyraclostrobin-Variante deutlich ab im Vergleich zu den ungestressten behandelten Pflanzen. Nach 14 Tagen ist eine tendenzielle Erhöhung der APX-Aktivitäten aufgrund von Ozoneinfluss abzuleiten.

### Fungizidwirkungen auf die POX-Aktivität nach Ozon

Die Ergebnisse für die unspezifische Guaiacol-abhängige Peroxidase-Aktivität zeigen sich bei beiden Messterminen (3T; 14T) sehr homogen. Im zeitlichen Verlauf sind über 50 % höhere Aktivitätswerte 14 Tage nach 5-tägigem Ozonstress im Vergleich zur Messung 3 Tage nach Ozonstress zu verzeichnen.

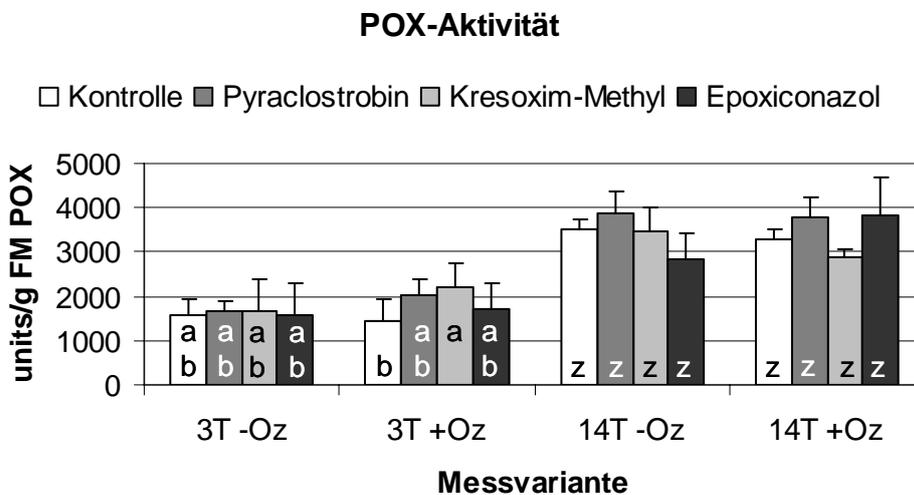


Abbildung 87: Einfluss der Fungizidwirkstoffe Pyraclostrobin, Kresoxim-Methyl und Epoxiconazol auf die Peroxidase-Aktivität (unspezifische Guaiacol-abhängige Peroxidase) 3 Tage (3T) und 14 Tage (14T) nach 5-tägigem Ozonstress (+Oz) im Vergleich zu ungestressten (-Oz) Sommerweizenpflanzen der Sorte Nandu; F-1-Blatt vom Haupttrieb. Signifikante Abweichungen zwischen den Varianten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt ( $n = 3$ ;  $\pm$  Stdabw).

Nach Fungizideinsatz treten 3 Tage nach Ozonimmission tendenziell höhere POX-Aktivitäten im Vergleich zu den ungestressten Varianten und zur Ozon behandelten Kontrolle auf. 14 Tage nach Ozonstress zeigt nur noch die Epoxiconazol-Variante eine tendenziell höhere Aktivität gegenüber der ungestressten Variante. Die mit Pyraclostrobin behandelten Pflanzen zeigen in jeder Messvariante tendenziell höhere POX-Aktivitäten im Vergleich zur jeweiligen zugehörigen Kontrolle.

### Fungizidwirkung auf die lösliche Blattprotein-Menge nach Ozon

Die Konzentration löslicher Proteine im Pflanzenextrakt zeigt 3 Tage nach Ozonstress zum Teil deutliche Abnahmen gegenüber den ungestressten Pflanzen. 14 Tage nach Ozonbelastung zeichnet sich weiterhin eine Verringerung der Blattproteinmenge im Vergleich ab.

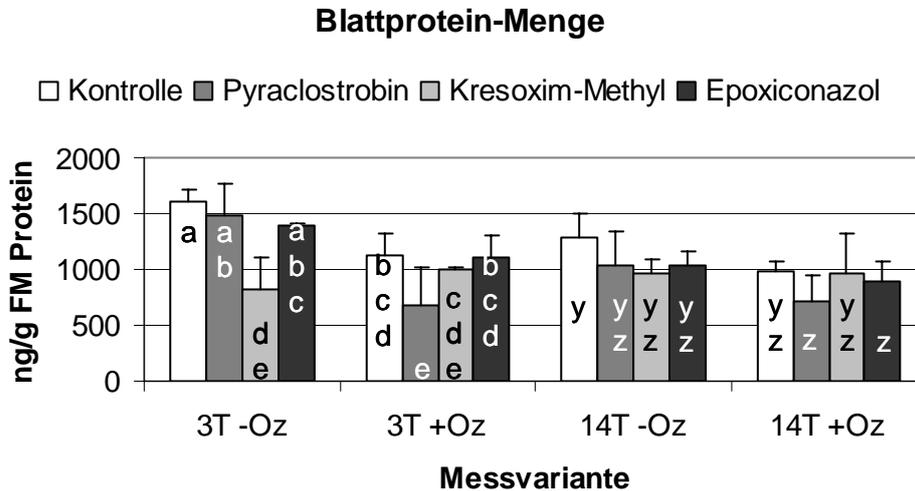


Abbildung 88: Einfluss der Fungizidwirkstoffe Pyraclostrobin, Kresoxim-Methyl und Epoxiconazol auf die lösliche Blattprotein-Menge 3 Tage (3T) und 14 Tage (14T) nach 5-tägigem Ozonstress (+Oz) im Vergleich zu ungestressten (-Oz) Sommerweizenpflanzen der Sorte Nandu; F-1-Blatt vom Haupttrieb. Signifikante Abweichungen zwischen den Varianten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt ( $n = 3$ ;  $\pm$  Stdabw).

Außer nach Einsatz von Kresoxim-Methyl kommt es bei den übrigen getesteten Varianten bei beiden Messterminen (3T; 14T) nach Ozonstress zu Abnahmen der löslichen Proteine. Signifikante Verluste der Proteinmenge zeigen sich 3 Tage nach 5-tägiger Ozonbehandlung bei den Kontrollpflanzen und der Pyraclostrobin-Variante.

Nach Applikation der Fungizide treten in allen Messvarianten geringere Proteinmengen im Vergleich zu den Kontrollpflanzen auf. Außerdem ist eine Abnahme der Proteinmenge mit zunehmendem Pflanzenalter auffällig. Nur die ungestressten mit Kresoxim-Methyl behandelten Pflanzen zeigen nach 14 Tagen tendenziell höhere Proteinmengen als zum Messtermin nach 3 Tagen ohne Ozon.

### Fungizidwirkung auf die Lipidperoxidation nach Ozon

Die durch Ozon induzierte Lipidperoxidation weist anhand des Lipidoxidationsproduktes MDA 3 Tage nach 5-tägiger Ozonbehandlung in den getesteten Varianten deutlich höhere

MDA-Gehalte auf als die ungestressten Varianten. 14 Tage nach Ozonstress treten in den mit Fungiziden applizierten Pflanzen noch tendenziell höhere MDA-Gehalte auf, die Kontrollen zeigen mit und ohne Ozon keinen Unterschied mehr.

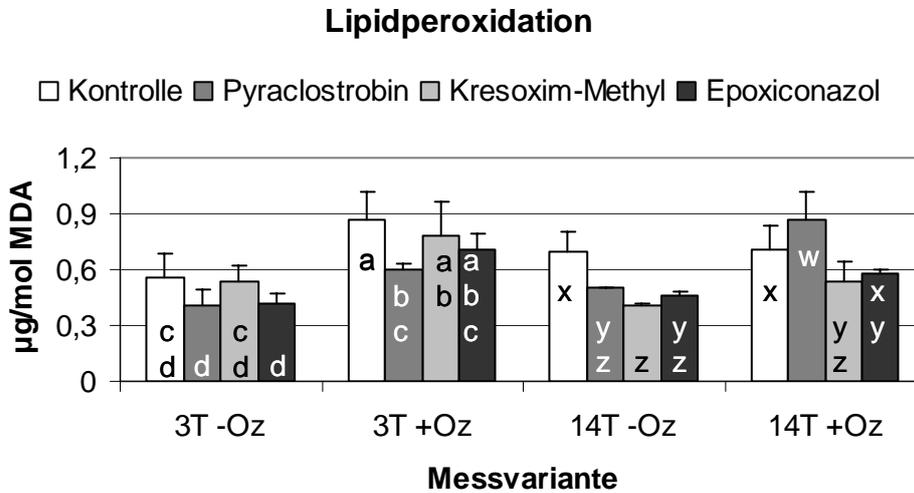


Abbildung 89: Einfluss der Fungizidwirkstoffe Pyraclostrobin, Kresoxim-Methyl und Epoxiconazol auf die Lipidperoxidation 3 Tage (3T) und 14 Tage (14T) nach 5-tägigem Ozonstress (+Oz) im Vergleich zu ungestressten (-Oz) Sommerweizenpflanzen der Sorte Nandu; F-1-Blatt vom Haupttrieb. Signifikante Abweichungen zwischen den Varianten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt ( $n = 3$ ;  $\pm$  Stdabw).

Mit Pyraclostrobin behandelte Pflanzen zeigen signifikante Unterschiede nach Ozonstress zur Kontrolle. 3 Tage nach Ozonstress kommt es zu einem ausgeprägten Abfall der Lipidperoxidation, 14 Tage nach Stress wird ein deutlicher Anstieg der MDA-Menge verzeichnet. Ohne Ozonbehandlung zeigen die mit Fungiziden behandelten Pflanzen signifikant weniger Lipidperoxidation als die Kontrolle. Dieses Ergebnis findet sich 14 Tage mit Ozon nach Behandlung der Pflanzen mit Kresoxim-Methyl wieder.

### Fungizidwirkung auf die Membranpermeabilität nach Ozon

Mit zunehmendem Pflanzenalter steigt die Membranpermeabilität an. Die eingesetzten Fungizide fördern zunächst die Durchlässigkeit der Zellmembran (3T -Oz), bei der zweiten Messung (14T -Oz) verringern die Fungizide die Leitfähigkeit der Inkubationslösung deutlich.

Nach der Ozonbegasung ist zu beiden Messterminen eine deutliche Abnahme des Ionenverlusts der mit Fungiziden behandelten Blätter zu beobachten. Epoxiconazol zeigt nach Ozonstress den stärksten Einfluss zur Abnahme der Membranpermeabilität im Pflanzengewebe.

### Membranpermeabilität

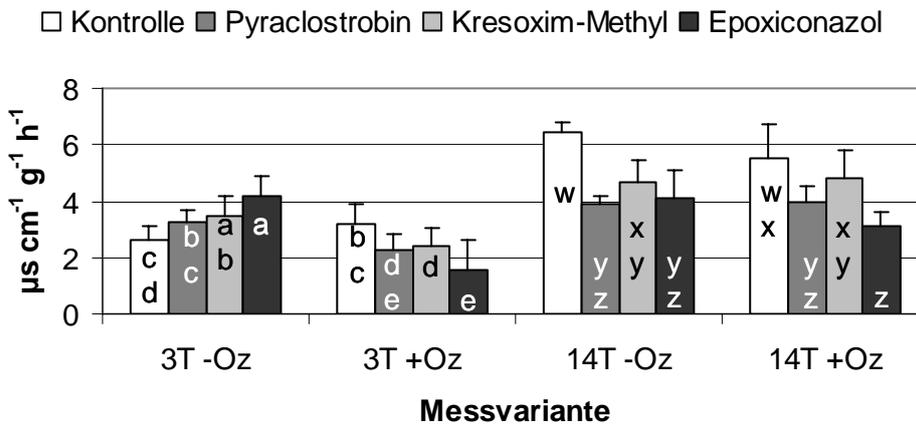


Abbildung 90: Einfluss der Fungizidwirkstoffe Pyraclostrobin, Kresoxim-Methyl und Epoxiconazol auf die Membranpermeabilität, gemessen als Leitfähigkeit 3 Tage (3T) und 14 Tage (14T) nach 5-tägigem Ozonstress (+Oz) im Vergleich zu ungestressten (-Oz) Sommerweizenpflanzen der Sorte Nandu; F-Blatt vom Nebentrieb 1. Ordnung. Signifikante Abweichungen zwischen den Varianten mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt ( $n = 6$ ;  $\pm$  Stdabw).

### 3.6. Einfluss von Lichtstress auf Chlorophyll-Fluoreszenz

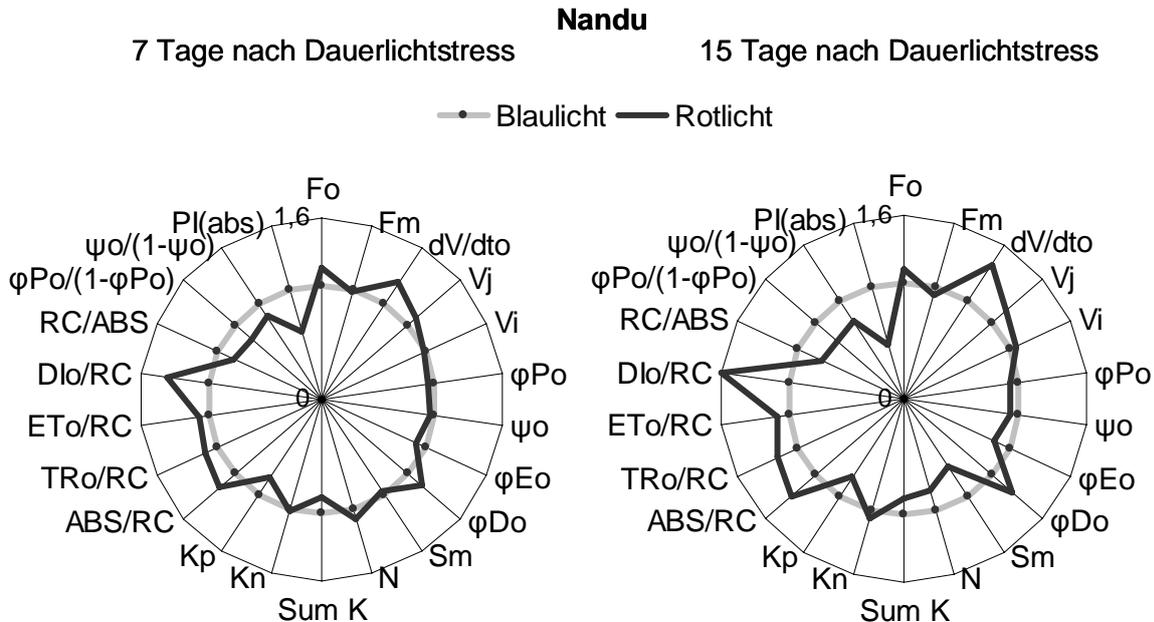
Der Dauerlicht-Stressversuch bei 28 klux Lichtintensität an Sommerweizenpflanzen soll zum einen klären, welchen Einfluss blaue und rote Lichtspektren auf die Photosynthese-Aktivität besitzen, zum anderen, ob Sortenunterschiede auf die Lichtsensitivität gezeigt werden können. In Anlehnung an die Ergebnisse zum Sortenvergleich (Kap. 3.3.2.1.) wird erwartet, dass eine hohe Aufnahme von Photonen zu Störungen im Photosynthese-Apparat führt. Dazu werden Pflanzen der Sorten Nandu und Triso zu EC 55 für 15 Tage Dauerlicht unterschiedlicher Lichtspektren ausgesetzt. Nach 7 Tagen und zu Ende der Lichtbehandlung werden die Messungen mit dem HandyPea an F-Blättern durchgeführt und im Vergleich dargestellt. Die Relativdaten der Blaulichtvariante werden in den Radarplots als Referenz aufgetragen.

#### 3.6.1. Einfluss unterschiedlicher Lichtspektren

Die Sorte Nandu zeigt zu beiden Messterminen ähnliche Lichtwirkungen auf den Photosynthese-Verlauf.

Bei Nandu führt Rotlicht in beiden Messterminen zu gesenkter Lichtnutzung im Vergleich zur Blaulichtvariante. Anregungsenergie geht als Wärme über nicht- $Q_A$  reduzierende

Reaktionszentren verloren, darauf weisen nach Rotlichtbehandlung steigende Energieflüsse bei abnehmenden aktiven Reaktionszentren (RC/ABS) hin. Es kommt zu Elektronenstau im Zuge der Elektronentransportkette, die Anreicherung von Elektronenakzeptoren ( $dV/dt_o$ ,  $V_j$ ) ist die Folge. Dieses führt zu verminderter photochemischer Rate ( $k_p$ ), Lichtreaktion ( $\phi_{P_o}/(1-\phi_{P_o})$ ) wie auch Dunkelreaktion ( $\Psi_o/(1-\Psi_o)$ ) werden gesenkt, das Photosynthese-Vermögen ( $PI_{ABS}$ ) ist beeinträchtigt.



7 Tage	Licht-stress		Nandu	Licht-stress	
	rot	blau		rot	blau
Fo	b	a	Sum K		
Fm			Kn		
dV/dto			Kp	a	b
Vj			ABS/RC		
Vi			TRo/RC		
$\phi_{P_o}$	a	b	ETo/RC		
$\psi_o$			Dlo/RC		
$\phi_{E_o}$			RC/ABS		
$\phi_{D_o}$	b	a	$\phi_{P_o}/(1-\phi_{P_o})$	a	b
Sm			$\psi_o/(1-\psi_o)$		
N			PI(abs)		

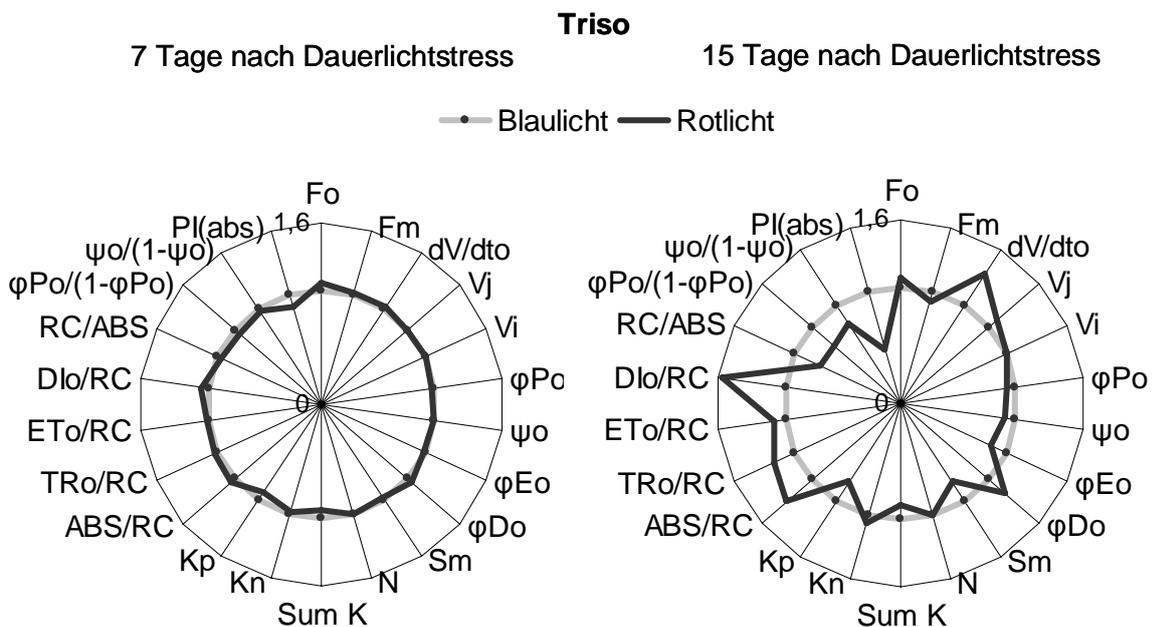
15 Tage	Licht-stress		Nandu	Licht-stress	
	rot	blau		rot	blau
Fo	b	a	Sum K	a	b
Fm			Kn		
dV/dto	b	a	Kp	a	b
Vj	b	a	ABS/RC	b	a
Vi			TRo/RC		
$\phi_{P_o}$	a	b	ETo/RC		
$\psi_o$	a	b	Dlo/RC	b	a
$\phi_{E_o}$	a	b	RC/ABS	a	b
$\phi_{D_o}$	b	a	$\phi_{P_o}/(1-\phi_{P_o})$	a	b
Sm			$\psi_o/(1-\psi_o)$	a	b
N			PI(abs)	a	b

Abbildung 91: Einfluss unterschiedlicher Lichtspektren auf den Photosynthese-Verlauf von unbehandelten Sommerweizenpflanzen der Sorte Nandu 7 Tage (links) und 15 Tage (rechts) nach täglich 24-stündiger Lichtbehandlung bei einer Lichtintensität von 28 klux. Die Lichtspektren entstammen einerseits der Natriumhochdruckdampf Lampe SON-T agro (Philips) mit rötlichem Spektrum, die verglichen wird mit der Metallhalogendampf Lampe HQT Plus (Philips), bei der das Spektrum hauptsächlich im Blaubereich liegt. Die Chlorophyllfluoreszenz-Ergebnisse zum Blaulicht dienen als Referenz. Signifikante

Abweichungen zwischen den HandyPea-Ergebnissen mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt.

Dieses Verhalten nach Rotlicht-Dauerstress im Vergleich zur Reaktion auf Blaulicht zeigt sich 7 Tage wie auch 15 Tage nach Lichtbehandlung, wobei zum 2. Messtermin die Unterschiede zwischen den Einflüssen der Lichtspektren deutlicher ausfallen.

Die zweite getestete Weizensorte Triso zeigt 15 Tage nach Lichtstress einen ähnlichen Photosynthese-Verlauf wie Nandu zu diesem Messzeitpunkt.



7 Tage	Licht-stress		Triso	Licht-stress	
	rot	blau		rot	blau
Fo			Sum K		
Fm			Kn		
dV/dto			Kp		
Vj			ABS/RC		
Vi			TRo/RC		
$\phi Po$			ETo/RC		
$\psi o$			DIo/RC		
$\phi Eo$			RC/ABS		
$\phi Do$			$\phi Po/(1-\phi Po)$		
Sm			$\psi o/(1-\psi o)$		
N			PI(abs)		

15 Tage	Licht-stress		Triso	Licht-stress	
	rot	blau		rot	blau
Fo			Sum K		
Fm			Kn		
dV/dto			Kp		
Vj			ABS/RC	b	a
Vi			TRo/RC	b	a
$\phi Po$	a	b	ETo/RC		
$\psi o$			DIo/RC	b	a
$\phi Eo$			RC/ABS	a	b
$\phi Do$	b	a	$\phi Po/(1-\phi Po)$	a	b
Sm			$\psi o/(1-\psi o)$		
N			PI(abs)		

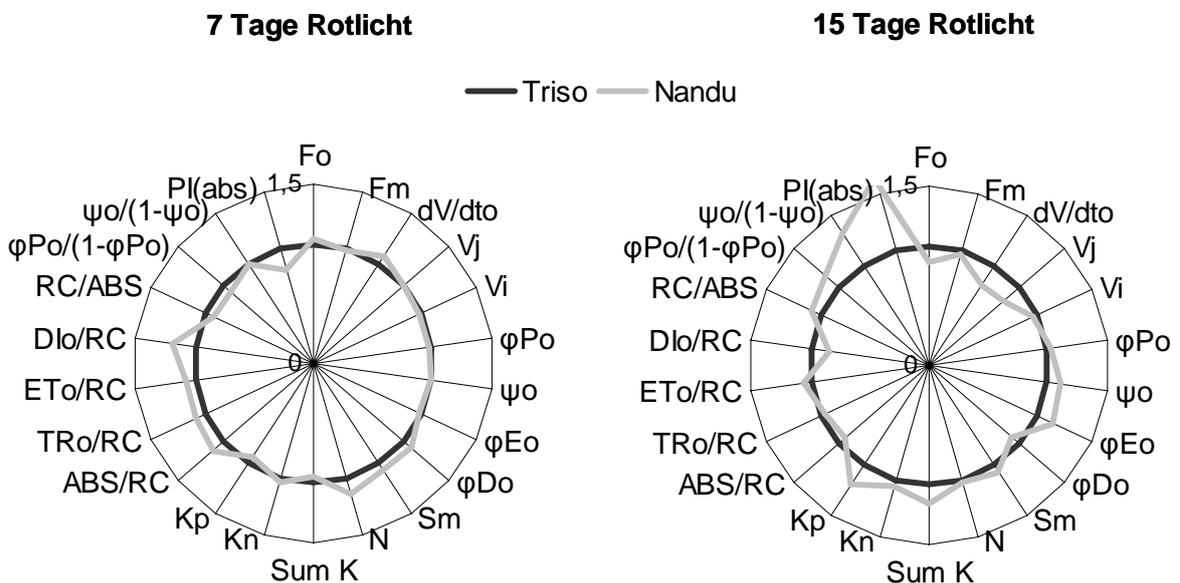
Abbildung 92: Einfluss unterschiedlicher Lichtspektren auf den Photosynthese-Verlauf von unbehandelten Sommerweizenpflanzen der Sorte Triso 7 Tage (links) und 15 Tage (rechts) nach täglich 24-stündiger Lichtbehandlung bei einer Lichtintensität von 28 klux. Die Lichtspektren entstammen einerseits der Natriumhochdruckdampf Lampe SON-T agro

(Philips) mit rötlichem Spektrum, die verglichen wird mit der Metallhalogendampflampe HQI-T Plus (Philips), bei der das Spektrum hauptsächlich im Blaubereich liegt. Die Chlorophyllfluoreszenz-Ergebnisse zum Blaulicht dienen als Referenz. Signifikante Abweichungen zwischen den HandyPea-Ergebnissen mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt ( $n = 4$ ).

Nach 7 Tagen Lichtstress bei Dauerlicht zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der Rotlicht- und Blaulichtvariante. Zu Ende der Lichtbehandlung steigen nach 15 Tagen Rotlichtstress die Energieflüsse bei sinkenden aktiven  $Q_A$  reduzierenden Reaktionszentren (RC/ABS), Anregungsenergie geht als Wärme verloren. Der Elektronentransport wird eingeschränkt ( $dV/dt_o$ ,  $V_j$ ), Licht- ( $\phi_{Po}/(1-\phi_{Po})$ ) und Dunkelreaktion ( $\Psi_o/(1-\Psi_o)$ ) sind vermindert mit der Folge des Funktionsverlustes des Photosystems II ( $PI_{ABS}$ ) im Vergleich zum induzierten Pflanzenstress nach Behandlung der Pflanzen mit höherem Blaulicht im Lichtspektrum.

### 3.6.2. Sortenvergleich

Die Auswertung dieses Versuchs zeigt, dass die ozonsensitive Sorte Nandu nicht so lichtempfindlich ist wie der Sommerweizen Triso.



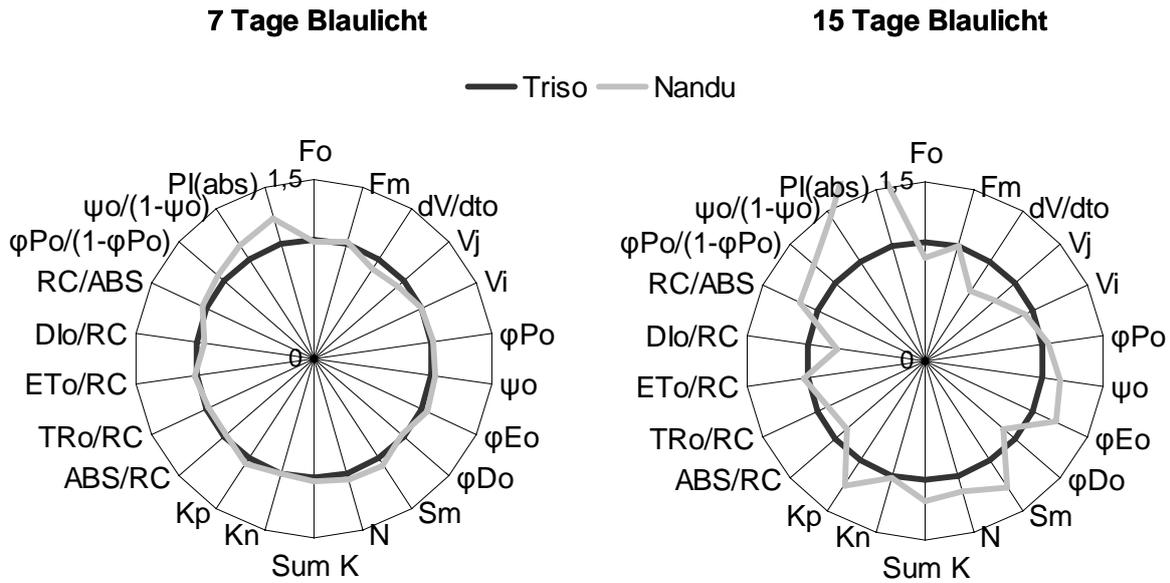
7 Tage	Dauerlicht		Rotlicht	Dauerlicht		15 Tage	Dauerlicht		Rotlicht	Dauerlicht	
	Nandu	Triso		Nandu	Triso		Nandu	Triso		Nandu	Triso
Fo			Sum K			Fo	b	a	Sum K	a	b
Fm			Kn			Fm			Kn		
dV/dto			Kp			dV/dto	b	a	Kp	a	b
Vj			ABS/RC			Vj	b	a	ABS/RC		
Vi			TRo/RC			Vi			TRo/RC		
$\phi P_o$			ETo/RC			$\phi P_o$			ETo/RC		
$\psi_o$			DIo/RC			$\psi_o$	a	b	DIo/RC		
$\phi E_o$			RC/ABS			$\phi E_o$	a	b	RC/ABS		
$\phi D_o$			$\phi P_o/(1-\phi P_o)$			$\phi D_o$			$\phi P_o/(1-\phi P_o)$		
Sm			$\psi_o/(1-\psi_o)$			Sm			$\psi_o/(1-\psi_o)$	a	b
N			PI(abs)			N			PI(abs)	a	b

Abbildung 93: Lichteinfluss auf den Photosynthese-Verlauf der Sommerweizensorten Nandu und Triso (Referenz) im Vergleich 7 Tage (links) und 15 Tage (rechts) nach täglich 24-stündiger Lichtbehandlung bei einer Lichtintensität von 28 klux. Das benutzte Lichtspektrum entstammt einer Natriumhochdruckdampflampe SON-T agro (Philips) mit 400 W. Signifikante Abweichungen zwischen den berechneten Chlorophyll-Fluoreszenz-Ergebnissen mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt ( $n = 4$ ).

Nach 7 Tagen Dauerstress der Pflanzen mit Rotlicht zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den aufgeführten Sommerweizensorten, nach 15 Tagen Rotlichtbehandlung hingegen wird deutlich, dass die Sorte Triso lichtsensitiver reagiert als Nandu.

Zum 2. Messzeitpunkt zeigt Nandu im Vergleich zu Triso ein signifikant höheres Photosynthese-Vermögen ( $PI_{ABS}$ ) aufgrund erhöhter Licht- ( $\phi P_o/(1-\phi P_o)$ ) und Dunkelreaktion ( $\psi_o/(1-\psi_o)$ ). Triso hingegen weist eine geringere photochemische Rate ( $k_p$ ) auf, da es während des Elektronentransports zu Anreicherungen von Elektronenakzeptoren ( $dV/dt_o$ ,  $V_j$ ) kommt. Somit gelangen weniger Elektronen in die Dunkelreaktion ( $\psi_o/(1-\psi_o)$ ).

Der durchgeführte Blaulichtversuch entspricht in seinen Ergebnissen dem Rotlichtversuch, nach 7 Tagen Dauerlichtbehandlung treten keine signifikanten Sortenunterschiede auf, nach 15 Tagen Lichtstress zeigt sich die Sorte Triso lichtsensitiver als der Sommerweizen Nandu.



7 Tage	Dauerlicht		Blaulicht	Dauerlicht		15 Tage	Dauerlicht		Blaulicht	Dauerlicht	
	Nandu	Triso		Nandu	Triso		Nandu	Triso		Nandu	Triso
Fo			Sum K			Fo			Sum K	a	b
Fm			Kn			Fm			Kn		
dV/dto			Kp			dV/dto	b	a	Kp	a	b
Vj			ABS/RC			Vj	b	a	ABS/RC		
Vi			TRo/RC			Vi	b	a	TRo/RC		
$\phi P_o$			ETo/RC			$\phi P_o$	a	b	ETo/RC	a	b
$\psi_o$			DIo/RC			$\psi_o$	a	b	DIo/RC		
$\phi E_o$			RC/ABS			$\phi E_o$	a	b	RC/ABS		
$\phi D_o$			$\phi P_o/(1-\phi P_o)$			$\phi D_o$	b	a	$\phi P_o/(1-\phi P_o)$	a	b
Sm			$\psi_o/(1-\psi_o)$			Sm			$\psi_o/(1-\psi_o)$	a	b
N			PI(abs)			N			PI(abs)	a	b

Abbildung 94: Lichteinfluss auf den Photosynthese-Verlauf der Sommerweizensorten Nandu und Triso (Referenz) im Vergleich 7 Tage (links) und 15 Tage (rechts) nach täglich 24-stündiger Lichtbehandlung bei einer Lichtintensität von 28 klux. Das benutzte Lichtspektrum entstammt einer HQI-T Plus Metallhalogendampflampe (Philips) mit 400 W. Signifikante Abweichungen zwischen den berechneten Chlorophyll-Fluoreszenz-Ergebnissen mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  werden durch unterschiedliche Buchstaben aufgezeigt ( $n = 4$ ).

## **4. Diskussion**

In der vorliegenden Arbeit wurden die Ursachen für die Entstehung nichtparasitärer Blattflecken (PLS) an Weizen anhand von Chlorophyll a Fluoreszenz-Messungen und Untersuchungen zur Stressphysiologie der Pflanzen bestimmt. PLS werden auf Stressreaktionen in der Pflanze zurückgeführt, bei deren Ausbildung Sauerstoffradikale (ROS) eine zentrale Rolle spielen. Dieser in der Literatur vielfach beschriebene oxidative Stress (McKersie 1996, Arora et al. 2002, Mittler 2002) kann zu Schäden an Pflanzenzellen führen. Da jede photosynthetisch aktive Pflanzenzelle neben molekularem Sauerstoff immer ROS produziert (Alscher et al. 1997, Zimmermann & Zentgraf 2004), wurden in dieser Arbeit zur Beschreibung des Photosynthese-Apparates als Quelle reaktiver Sauerstoffspezies, Messungen zur schnellen Fluoreszenz-Induktion durchgeführt. Bestimmungen der für die Photosynthese wichtigen Blattproteine, die durch Sauerstoffradikale denaturiert und abgebaut werden können, gaben ebenso Aufschluss über die Blattschädigung wie Untersuchungen zur Lipidperoxidation und Membranpermeabilität. Analysierte Messungen zu Aktivitäten von ROS entgiftenden Schutzenzymen erlaubten Rückschlüsse auf den vorliegenden oxidativen Pflanzenstress.

### **4.1. Auftreten und Bedeutung von PLS in Winterweizen**

Die Beobachtungen im Feld zeigten, dass verschiedene Arten von PLS auftreten: Nekrotisierte Chlorosen, Pollennekrosen und Verbräunungen auf den der Sonne zugewandten Blattbeugen.

Obwohl augenscheinlich unterschiedliche Auslöser für die Ausbildung dieser abiotischen Blattflecken zugrunde liegen, wird vermutet, dass die Ursache der aufgeführten Fleckenbildungen auf eine unzureichende Entgiftung pflanzentoxischer Sauerstoffradikale durch zu geringe Enzymaktivitäten zurückzuführen ist. Dass die Schäden an Blättern nicht durch Pathogene hervorgerufen wurden, wurde zweifelsfrei anhand des Feuchtekammer-Tests für nichtparasitäre Blattflecken (Kapitel 2.4.) belegt. Im Verlauf der Untersuchungen wurden immer wieder Blattproben dem Auswuchsversuch unterzogen, mit dem Ergebnis, dass keine pilzlichen Schaderreger gefunden wurden. (Zusätzlich wurde geschädigtes Blattmaterial durch den Bakteriologen Herrn Mavridis untersucht, auch er konnte keinen biotischen Schaderreger ausmachen.)



Abbildung 95: Nichtparasitäre Blattflecken an Winterweizen.

Anhand von Bodenuntersuchungen (Tabelle 5) konnte Nährstoffmangel der Pflanzen ausgeschlossen werden. Die Versorgung des Bodens der Versuchsfläche war mit den Grundnährstoffen Kalk, Magnesium, Phosphor und Kali nach der Bodenuntersuchung optimal. Die Mikronährstoffe Cu und Zn spielen wie Mn bei der Bekämpfung von ROS eine wichtige Rolle (Cu/Zn-SOD), wie Wu & Wu (1990) an Reissamen aufzeigten. Das Spurenelement Mangan lag zwar mit deutlichen Überschuss (Gehaltsklasse E) im Boden vor, Mangantoxizität jedoch tritt in der Praxis nur auf saurem Boden ( $\text{pH} \leq 6$ ) und bei Staunässe auf (Hege & Bachthaler 1987, Hock & Elstner 1995, Richter 1998). Diese grundlegenden Voraussetzungen zur Manganübersversorgung lagen nicht vor. Außerdem wurden keine typischen Schadsymptome des Mn-Überschusses wie Chlorosen und Nekrosen an Blatträndern, die auch auf Blattstiele und Stängel übergehen, beobachtet. Dieser Ausschluss der Störung der Chlorophyllsynthese deutete auf eine optimale Versorgung der Pflanze hin, so dass von einer ausreichenden Entgiftung toxischer Sauerstoffradikale via Mn-SOD (Ducic & Polle 2005) im Zellmetabolismus ausgegangen werden kann. Wie Mangan war auch der Kupfergehalt im Boden mit Gehaltsklasse D zu hoch. Doch konnte auch die von einer Kupferübersversorgung ausgehende toxische Gefahr für Pflanzen, als Chlorosen sichtbar (Yruela 2005), widerlegt werden, da Kupferionen bei steigenden Boden-pH-Werten stärker an anorganische Austauschstellen des Bodens adsorbiert werden (Hock & Elstner 1995) und somit kaum pflanzenverfügbar sind. Das dritte im Boden untersuchte Spurenelement Zink war laut eingestufte Gehaltsklasse B zu gering, Richtwerte der Uni Halle (2002) jedoch zeigten bei einem Zinkgehalt von gemessenen 3,6 mg/kg Boden eine ausreichende Zn-Versorgung der Pflanzen bei Lehmboden auf. Die bei

Zn-Mangel der Pflanzen typische streifige Vergilbungen der Blätter sowie verkleinerte Blattflächen wurden nicht beobachtet. Auf die Verabreichung von Zinkdünger ist letztlich nach Aussagen von Hock & Elstner (1995) verzichtet worden, da Schäden durch überhöhte Zinkkonzentrationen nach Ausbringung des Zinkdüngers auf Blätter möglich sind.

Die toxische Überschussversorgung der aufgeführten Spurenelemente Mn, Cu und Zn als freie Schwermetallionen im Pflanzenstoffwechsel schied demnach für die im Feld beobachtete Chlorosenbildung aus. Dass die aufgeführten Mikronährstoffe die essentiellen Funktionen im Pflanzenstoffwechsel als Elektronenakzeptoren und –donatoren erfüllten, belegte die sehr gute Anpassung von Winterweizen an oxidativen Stress. Trotz der extrem unterschiedlichen Witterungsverläufe der Versuchsjahre zeigten die aufgeführten Weizensorten nur sehr geringe Befallshöhen mit PLS. In 2004 zeichnete sich das Wetter mit einem Wechsel von Schwach- und Starklicht aus, aufgrund verminderter Aktivitäten der antioxidativen Schutzenzyme kam es zu stärkerer Ausbildung nichtparasitärer Blattflecken. Die Befallsschwelle der Blätter lag zwar über denen von 2003, die Befallsstärke von 1 % PLS wurde jedoch auch in 2004 nicht überschritten. Ertrags- und Qualitätseinbußen durch PLS wurden aufgrund des niedrigen Blattbefalls ausgeschlossen.

Die Ergebnisse zu Witterungseinflüssen (Kapitel 3.3.3.) zeigten, dass mit Hilfe der Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen (Abbildung 57) Rückschlüsse auf oxidativen Stress im pflanzlichen Gewebe gezogen werden können, in Verbindung mit den Ergebnissen zur PLS-Bonitur sogar Leistungen des antioxidativen Schutzsystems beschrieben werden können. Das bedeutet, anhand der Ergebnisse zu Reaktionen von Weizenpflanzen auf unterschiedliche Witterungseinflüsse konnte erstmals eine Korrelation von physikochemischen und enzymatischen Reaktionsketten abgeleitet werden. Sobald der photosynthetische Metabolismus die von den Photosystemen gelieferte Redoxenergie nicht mehr voll nutzen kann, kommt es neben der Abgabe von Anregungsenergie zur Übertragung überschüssiger Elektronen auf Sauerstoff, mit der Folge der Erzeugung von reaktiven Sauerstoffradikalen.

Nach Tiedemann & Wu (2001) führt starke Photosyntheseaktivität zu oxidativem Stress in der Pflanzenzelle, der in Gerste Auslöser dieser Fleckenbildung ist. Diese Arbeit zeigt, dass nicht starke sondern an die Photonenaufnahme unangepasste Photosynthese-Aktivität zu PLS führt.

Die durchgeführten Fluoreszenz-Messungen geben Auskunft über den Zustand des Photosynthese-Apparates der Proben, wobei die hier angewandte schnelle Fluoreszenz-Kinetik gleichzeitig einen Einblick in den Photosynthese-Verlauf gibt, der Rückschlüsse auf reduzierende und nicht- $Q_A$  reduzierende Photosystem-Einheiten zulässt. Mit Hilfe der

Energieflusstheorie (Strasser et al. 2000) wird die Energieübertragung von den Antennen des Photosystems II auf das Reaktionszentrum P680 (Trapping; TR) beschrieben. Ein erheblicher Teil der Anregungsenergie des Photosystems II erreicht das Reaktionszentrum P680 von PS II. Der restliche Teil der Anregungsenergie kann dissipieren (DI) in Form von Wärme und Fluoreszenz, oder es wandert Energie aus dem angeregten Chlorophyll (Chl<sup>a\*</sup>) des PS II direkt ins PS I (spillover). Kommt es zu gesteigerter Lichtabsorption, kann die Energiedissipation ansteigen, ohne dass Trapping und der folgende Elektronentransport (ET) beeinträchtigt werden. Angeregte Energie kann zur Stressbewältigung auch direkt auf Chlorophyllmoleküle übertragen werden (Arora et al. 2002), es entsteht das pflanzentoxische Sauerstoffradikal Singulett-Sauerstoff (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>). Das folgende Modell zeigt das Stressmanagement des angeregten Chlorophylls (Chl<sup>a\*</sup>) im Photosystem II nach gesteigerter Lichtabsorption mit Auftreten von Sauerstoffspezies.

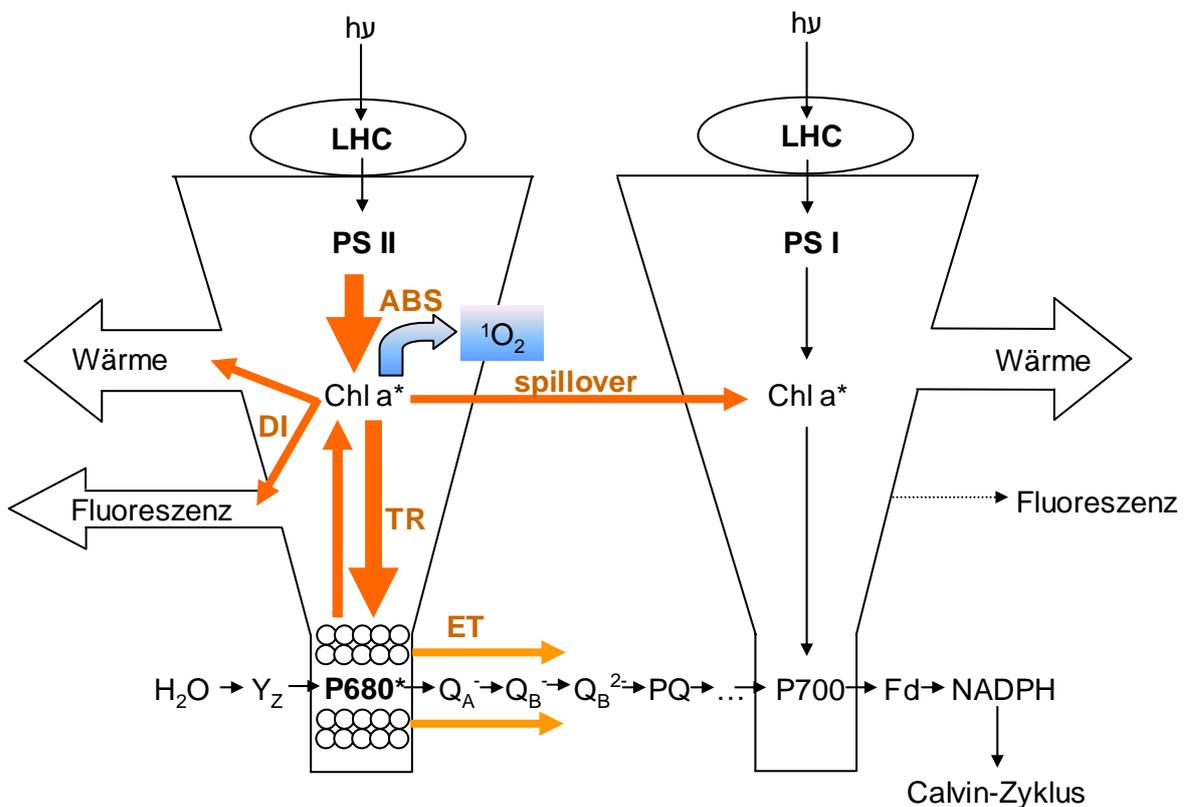


Abbildung 96: Modell I zur Energieumwandlung der Anregungsenergie (ABS) im Photosystem II (Strasser et al. 2000) während des Photosynthese-Prozesses (Schreiber & Bilger 1994) mit Bildung pflanzentoxischer Sauerstoffradikale. Abkürzungen: LHC, Lichtsammelkomplex;  $h\nu$ , Lichtenergie; PS, Photosystem; Chl  $a^*$  Chlorophyll a angeregt; ABS, absorbierte Lichtmenge; DI, dissipierte Energiemenge; TR, Trapping-Energie; ET, Elektronentransport; P680, Reaktionszentrum von Photosystem II;  $^1O_2$ , Singulett-Sauerstoff;  $Q_A$ ,  $Q_B$ , Plastoquinon A und B; PQ, Plastoquinon;  $Y_Z$ , primärer Elektronendonator von PS II; P700, Reaktionszentrum von Photosystem I; Fd, Ferredoxin;

Singulett-Sauerstoff reagiert mit ungesättigten Fettsäuren, so dass es zur Lipidperoxidation kommen kann. Beim Vergleich der Witterungseinflüsse der Versuchsjahre 2003 und 2004 auf den Photosynthese-Apparat zeigten die Untersuchungen zur Lipidperoxidation (Abbildung 61), dass Batispflanzen in 2003 weniger Membranschäden aufwiesen als im Folgejahr. Aufgrund erhöhter Enzymaktivitäten (Abbildungen 58 und 59) konnten ROS ausreichend entgiftet werden, es wurden auch keine lebenswichtigen Blattproteine (Abbildung 60) denaturiert. Aufgrund der in 2003 zwar extremen aber äußerst stabilen Großwetterlage haben die Pflanzen ihr antioxidatives Schutzsystem mit hoch regulierten Enzymleistungen angepasst. Diese Anpassungsfähigkeit der Sorten spiegelt die geringe Sortenanfälligkeit gegenüber PLS in 2003 (Tabellen 13 und 15) wider.

Der Vergleich der Fluoreszenz-Messdaten bezüglich der Witterungseinflüsse von 2003 und 2004 (Abbildung 57) verdeutlicht eine weitere Möglichkeit zur Stressbewältigung im PS II. In 2003 kann aufgrund der gesteigerten Energieflüsse ( $ABS/RC$ ;  $ET_o/RC$ ;  $TR_o/RC$ ;  $DI_o/RC$ ) in Bezug zu den abnehmenden aktiven  $Q_A$  reduzierenden Reaktionszentren ( $RC/ABS$ ) darauf geschlossen werden, dass Elektronen von den angeregten Reaktionszentren nicht an die Elektronenakzeptoren  $Q_A$  übertragen wurden, sondern dass Anregungsenergie direkt als Wärme abgeführt wurde. Dieser Prozess der Abgabe überschüssiger Anregungsenergie der Antennen direkt aus den angeregten Reaktionszentren P680 in Form von Wärme, ist ein Mechanismus, wie Pflanzen dem Stress entgegenreten und ihn vermindern können (siehe Abbildung 19; entspricht Modell II zur Energieumwandlung der Anregungsenergie (ABS) im Photosystem II).

Ein Überfluss an Elektronen kann sich letztlich bei eingeschränkten enzymatischen Schutzmechanismen pflanzentoxisch auswirken, kann aber, wie gezeigt, auch schon auf der Stufe der photosynthetischen Reaktionszentren vermindert werden. In 2003 allerdings kam es jedoch aufgrund eingeschränkter Funktionsfähigkeit des Photosynthese-Apparates ( $PI_{ABS}$ ) zu Pflanzenstress. Die verminderte photochemische Nutzung des Lichts bei gleichzeitig erhöhter Anregungsrate durch Lichtabsorption des Reaktionszentrums ( $ABS/RC$ ) führte unter den herrschenden Umweltbedingungen in 2003 zu oxidativem Stress und somit auch zu physiologischen Veränderungen gegenüber 2004. Die stressphysiologischen Untersuchungen an antioxidativen Enzymen zeigten eindeutig eine verstärkte Aktivität der Superoxid-Dismutase (Abbildung 58) und der Ascorbat-Peroxidase (Abbildung 59) in 2003, so dass auf höhere zu entgiftende Radikalmengen geschlossen werden kann. Wird diese Tatsache in Beziehung mit der Radikalbildung während des Photosynthese-Prozesses gesetzt, ist folgendes Modell abzuleiten:

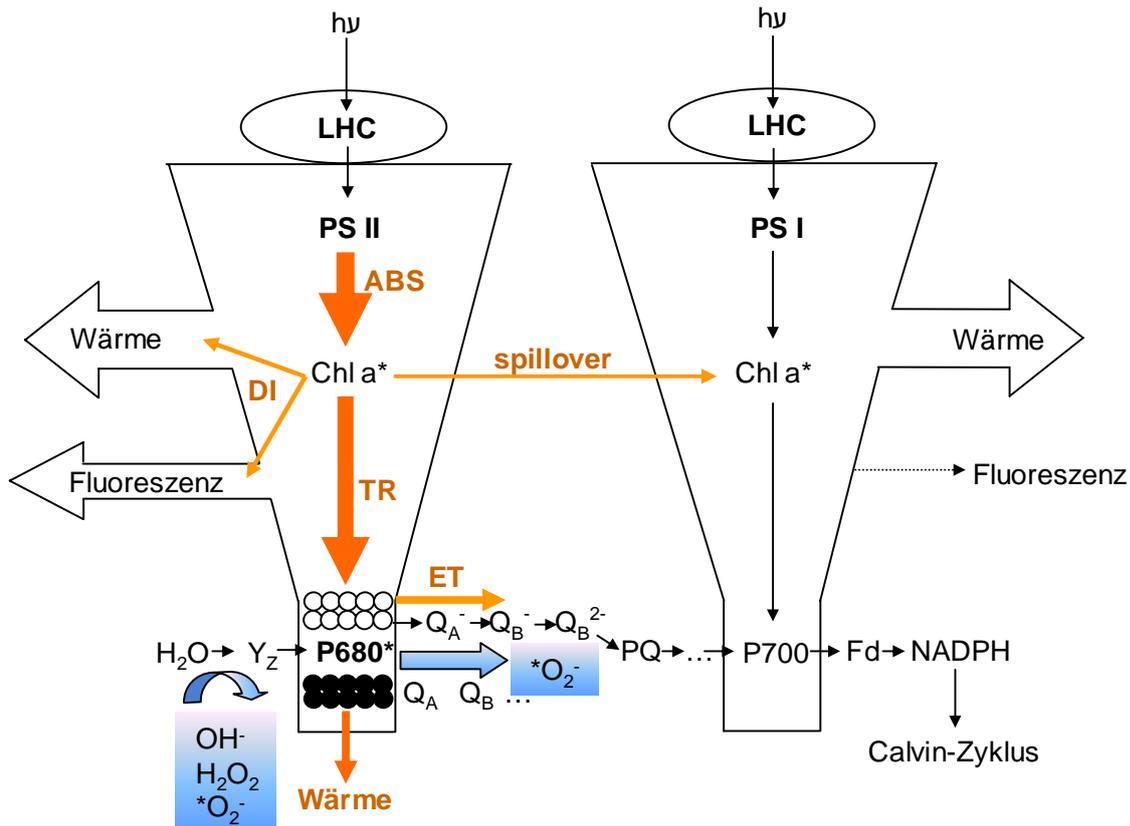


Abbildung 97: Modell III zur Energieumwandlung der Anregungsenergie (ABS) im Photosystem II (Strasser et al. 2000) während des Photosynthese-Prozesses (Schreiber & Bilger 1994) mit Bildung pflanzentoxischer Sauerstoffradikale. Abkürzungen: LHC, Lichtsammelkomplex;  $h\nu$ , Lichtenergie; PS, Photosystem; Chl a\* Chlorophyll a angeregt; ABS, absorbierte Lichtmenge; DI, dissipierte Energiemenge; TR, Trapping-Energie; ET, Elektronentransport; P680, Reaktionszentrum von Photosystem II;  $*O_2^-$ , Superoxid-Radikal-Anion;  $OH^-$ , Hydroxylanion;  $H_2O_2$ , Wasserstoffperoxid;  $H_2O$ , Wasser;  $Q_A$ ,  $Q_B$ , Plastoquinon A und B; PQ, Plastoquinon;  $Y_Z$ , primärer Elektronendonator von PS II; P700, Reaktionszentrum von Photosystem I; Fd, Ferredoxin;

Die Abbildung 57 zeigt in 2003 zum Teil signifikant gesteigerte Energieflüsse bei gleichzeitig abnehmenden  $Q_A$  reduzierenden Reaktionszentren im Vergleich zu 2004. In Bezug zur steigenden antioxidativen Enzymaktivität kommt es während des Elektronentransportes zu einer Blockade im Mechanismus. Die überschüssigen Elektronen der Wasserspaltung und die reduzierten Elektronenakzeptoren wie  $Q_A^-$ ,  $Q_B^-$ ,  $Q_B^{2-}$  reagieren mit molekularem Sauerstoff, es kommt zur Radikalbildung im Photosynthese-System.

Welche der aufgezeigten Möglichkeiten verschiedene Weizensorten sich zu Eigen gemacht haben, um den Pflanzenstress während des Photosynthese-Prozesses abzuwehren, wurde im Kapitel 3.3.2.1. beim Vergleich zweier Weizensorten aufgeführt.

## 4.2. Charakterisierung der Stresstoleranz verschiedener Weizensorten

Beim Vergleich von Weizensorten zur Stressempfindlichkeit wurden in dieser Arbeit Bonituren, Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen und Blattanalysen zur Stressphysiologie herangezogen (Kapitel 3.3.2.), um die Stresstoleranzen verschiedener Weizensorten zu beschreiben. Dabei stellte sich heraus, dass die durchgeführten Fluoreszenz-Messungen, die keine Beeinträchtigungen für die Pflanzen nach sich ziehen, und zeitaufwendige Extraktionen wie bei der Blattanalyse, in hohem Maße geeignet sind, Unterschiede in der Stresstoleranz aufzudecken. Die erhobenen Fluoreszenz-Daten, die Auskunft über den Zustand des Photosynthese-Apparates der Proben geben, wobei die hier angewandte schnelle Fluoreszenz-Kinetik gleichzeitig einen Einblick in den Photosynthese-Verlauf gibt, lässt Rückschlüsse auf reduzierende und nicht- $Q_A$  reduzierende Photosystem-Einheiten zu. Sobald der photosynthetische Metabolismus die von den Photosystemen gelieferte Redoxenergie nicht mehr voll nutzen kann, kommt es neben der Abgabe von Anregungsenergie zur Übertragung überschüssiger Elektronen auf Sauerstoff, mit der Folge der Erzeugung von reaktiven Sauerstoffradikalen.

### 4.2.1. Chlorophyll-Fluoreszenz

Bei Betrachtung der primären Photochemie reflektiert die gemessene Chlorophyll-Fluoreszenz das Stressmanagement der Pflanzen unter gegebenen Umwelteinflüssen, die unterschiedlich auf die Pflanzen wirken können. In beiden Versuchsjahren konnte die für PLS anfälligere Sorte Batis den Photosynthese-Verlauf nicht optimieren, dieses Verhalten hingegen zeigte Drifter erfolgreich auf (Kapitel 3.3.2.1.).

In 2003 zeigte Batis zu den aufgeführten EC-Stadien zum Teil erhebliche Beeinträchtigungen während des Elektronenflusses ( $dV/dt_O$ ;  $V_J$ ;  $V_I$ ), Einschränkungen in der Funktionsfähigkeit des Photosynthese-Apparates ( $PI_{ABS}$ ) waren die Folge (Abbildungen 41 - 45). Das ausgemachte häufige Auftreten von EC 61 – 75 an stillen Reaktionszentren bei Batis (Abbildungen 42 - 44) diente der Abstrahlung überflüssiger Anregungsenergie, die für die Pflanzen durch verstärkte Lichtabsorption erzeugt wurde. Mit Blick auf die PLS-Bonituren war ebenfalls abzuleiten, dass Batis überschüssige Elektronen auf molekularen Sauerstoff während der Elektronentransportkette überträgt, von daher zeigt Modell III in Abbildung 97 die Radikalbildung während des Photosyntheseverlaufs, wie für Batis vorstellbar.

In 2004 zeigten sich in beiden getesteten Weizensorten zwar keine gravierenden Störungen im Photosynthese-Verlauf, Unterschiede konnten trotzdem ausgemacht werden (Abbildungen 42, 43 und 45). Eine besondere Auffälligkeit war die erfolgreiche Optimierung

des Photosynthese-Ablaufs in Drifter zu EC 61 und EC 71. Dieses Verhalten zeigte sich, wenn die Energieflüsse pro Reaktionszentrum vermindert wurden, die aktiven Reaktionszentren (RC/ABS) hingegen zunahmen. Die Steigerung der Reaktionszentren führte in Drifter zur gesteigerten photochemischen Lichtnutzung ( $PI_{ABS}$ ). Wird dieser Optimierungsversuch von Drifter mit der Bonitur der physiologischen Blattflecken (Tabelle 15) in Zusammenhang gebracht, so zeigte sich eine erfolgreiche Strategie gegenüber oxidativen Stress, im Gegensatz zu Batis. Batis zeigte signifikant mehr PLS-Flecken.

Anhand dieser Ergebnisse zu den unterschiedlichen Reaktionen der Weizenpflanzen im Sortenvergleich konnten unterschiedliche Formen des Stressmanagements der Pflanzen aufgezeigt werden. Batis verfügt über einen Photosynthese-Verlauf in einem sehr eingeschränkten Wirkungsbereich, die Anpassungsmöglichkeiten sind sehr begrenzt. Bei einem Überschuss an angeregter Lichtenergie werden Elektronen im Überfluß angeregt, es kommt zur Übertragung der Elektronen auf Sauerstoff. Es folgt oxidativer Stress, das antioxidative Schutzsystem (Kapitel 3.3.2.2.) wird aktiviert. Diese Beeinträchtigung des Photosynthese-Apparates führt zu erhöhter Energiedissipation (Abbildung 47), ein Hinweis auf höhere Stressanfälligkeit, die auf dem Blatt als PLS-Flecken ausgedrückt wird (Tabelle 15). Drifter hingegen zeigte einen breiteren Wirkungsbereich der photosynthetischen Einheit, Anregungsenergie kann von den Reaktionszentren direkt als Wärme abgegeben werden, die Stressanfälligkeit dieser Weizensorte ist geringer.

Dieses unterschiedliche Verhalten von Weizenpflanzen während der Photosynthese (Abbildungen 46 und 47) in Bezug zum Auftreten von PLS konnte deutlich im Landessortenversuch der Landwirtschaftskammer Hannover an ausgewählten Weizensorten herausgearbeitet werden.

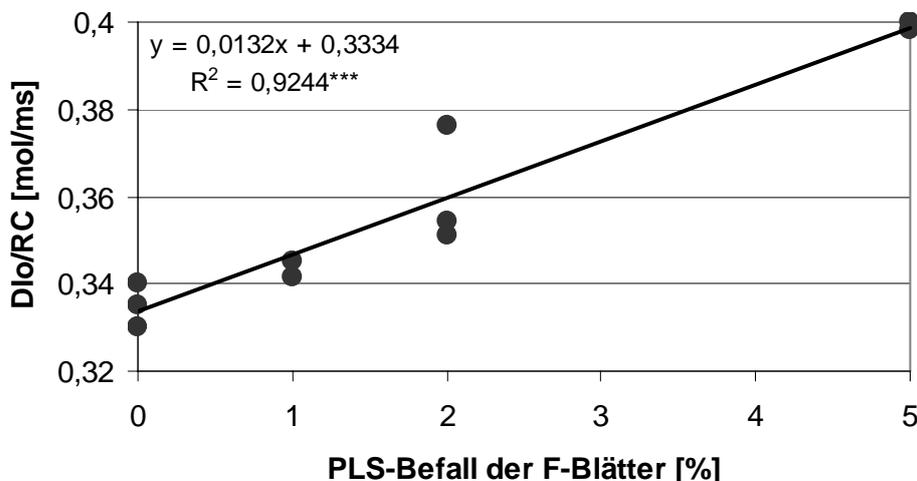


Abbildung 98: Einfluss der Sortenanfälligkeit für physiologische Blattflecken auf die Fluoreszenzabgabe. Aufgezeigt sind gemittelte Daten des Entwicklungszeitraums EC 61 –

75 des Versuchsjahres 2004 des Landessortenversuchs der Landwirtschaftskammer Hannover, Standort Höckelheim von ausgewählten Winterweizensorten (Akteur, Grommit, Hybred, Solitär und Türkis als gering PLS-anfällig eingestufte Sorten; Batis, Elvis, Magnus, Privileg und Terrier vertreten PLS anfällige Sorten).

Die gemittelten Boniturdaten und Chlorophyllfluoreszenzwerte von EC 61, 71 und 75 zeigten eine eindeutige Erhöhung der Fluoreszenzabgabe bei stärkerem PLS-Auftreten.

Die Trendgerade zeigt eine lineare Beziehung der Messwertpaare PLS-Befall und dem JIP-Parameter  $DI_0/RC$  (dissipierte Energie pro Reaktionszentrum) an, somit liegt ein korrelativer Zusammenhang zwischen den Merkmalsausprägungen vor. Ein solcher Zusammenhang ergibt sich aus dem Korrelationskoeffizienten von 0,961, der mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $< 0,1\%$  statistisch signifikant und ungleich Null ist. Somit ist eine Vorhersage anhand des Auftretens von PLS auf die Photosynthese-Leistung und deren Verlauf möglich. Anhand des Verlaufs der Photosynthese wiederum können Rückschlüsse auf die Leistung des antioxidativen Schutzmechanismus gezogen werden.

Eine weitere lineare Beziehung zeigte auch das Wertepaar PLS und  $ABS/RC$  (von Chlorophyllmolekülen absorbierte Photonen pro Reaktionszentrum). Der Korrelationskoeffizient von 0,7785 war ebenfalls mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $< 0,1\%$  statistisch signifikant.

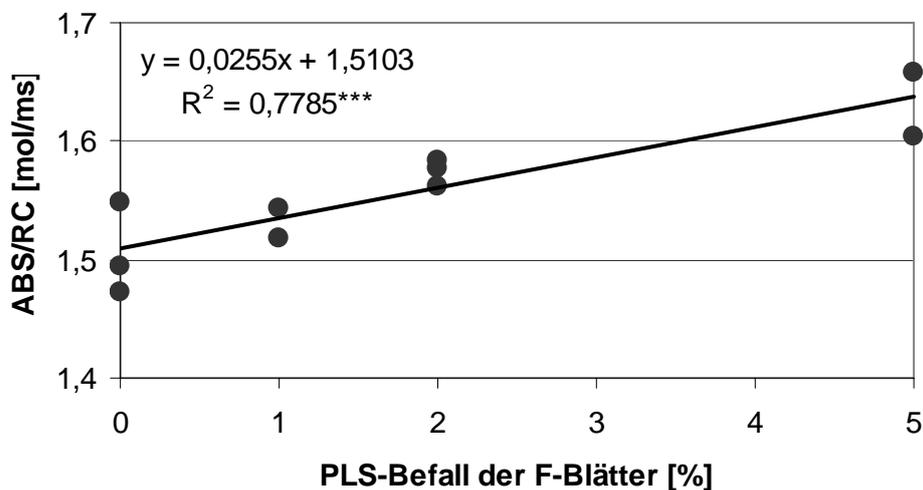


Abbildung 99: Einfluss der Sortenanfälligkeit für physiologische Blattflecken auf die Photonenabsorption. Aufgezeigt sind gemittelte Daten des Entwicklungszeitraums EC 61 – EC 75 des Versuchsjahres 2004 aus dem Landessortenversuch der Landwirtschaftskammer Hannover, Standort Höckelheim von ausgewählten Winterweizensorten (Akteur, Grommit, Hybred, Solitär und Türkis als gering PLS-anfällig eingestufte Sorten; Batis, Elvis, Magnus, Privileg und Terrier vertreten PLS anfällige Sorten).

Die ausgewählten anfälligen PLS-Sorten Batis, Elvis, Magnus, Privileg und Terrier wiesen eine höhere Absorption wie Dissipation an Anregungsenergie auf, gegenüber den gering anfälligen PLS-Weizensorten Akteur, Grommit, Hybred, Solitär und Türkis.

#### **4.2.2. Blattanalyse – Stressphysiologische Parameter**

Batis wies trotz des allgemein sehr geringen Auftretens von PLS eine höhere Stressanfälligkeit gegenüber den Weizensorten Drifter und Ritmo auf (Tabelle 15). Anhand der Bonituren der abiotische Blattflecken wurden Drifter und Ritmo als stresstolerant eingestuft. Die enzymatischen Untersuchungen von Ritmo und Batis in 2003 bestätigen die Aussagen der höheren Stressanfälligkeit von Batis. Zwar konnte in 2003 anhand der SOD-Aktivität (Abbildung 49) nicht auf eine erhöhte Entgiftung von Superoxidradikalen im Vergleich zu Ritmo verwiesen werden, allerdings ließ sich mittels der in Batis gesteigerten APX-Aktivität (Abbildung 50) zu EC 61 und EC 71 eine Akkumulation des Signalmoleküls Wasserstoffperoxid ableiten. Diese Anhäufung von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> führte zu einer erfolgreichen Schutzwirkung der Pflanzenzellen. Die verminderte Lipidperoxidation (Abbildung 52) kann ein Hinweis auf die Verstärkung der Zellwände sein, ein durch ROS-Signale ausgeführter pflanzeigener Pflanzenschutz. Die gesteigerte Lipidperoxidation der Sorte Ritmo in 2003 lässt auf die in Modell I in Abbildung 95 dargestellte Radikalbildung während der Lichtabsorption vermuten.

Letztlich lässt die anfänglich verminderte lösliche Blattprotein-Menge bei Batis den Schluss zu, dass Blattproteine aufgrund erhöhtem oxidativen Stress sehr früh in der Entwicklung denaturiert und abgebaut werden.

Beim Betrachten der enzymatischen Reaktionen in 2004 zeigte sich eine höhere SOD-Aktivität (Abbildung 49) bei Batis im Vergleich zur stresstoleranteren Sorte Ritmo. Diese Tatsache lässt auf eine erhöhte Produktion an Superoxidradikalen in Batis schließen, somit herrschte in Batis höherer oxidativer Stress. Dieser Stress führte zu erhöhtem Auftreten von PLS auf den Blättern.

Die Behauptung von Shigeoka et al. (2002), dass die Enzyme zur Entgiftung reaktiver Sauerstoffspezies co-reguliert sind, konnte in dieser Arbeit nicht dargestellt werden. Bei zunehmender APX-Aktivität konnte nicht auch generell eine Steigerung von SOD beobachtet werden (Abbildungen 49 und 50). Dass die antioxidativen Enzyme allerdings aufeinander abgestimmt sind, konnte in den Abbildungen 48 und 49 dargestellt werden. In 2003 war die Aktivität antioxidativ wirkender Enzyme deutlich erhöht.

### 4.2.3. Lichtstress

Entfernen sich Umweltbedingungen für eine Pflanzenart oder Sorte vom jeweiligen Optimum, geraten sie in Stress, es treten abiotische Schädigungen der Pflanzen auf, die katastrophale Ausmaße annehmen können. Für die Entstehung von physiologischen Blattflecken wird in der Literatur die sich ändernde Strahlung diskutiert. In dieser Arbeit wurde die Strahlung als Ursache für PLS bestätigt, da Beobachtungen im Feld zeigten, dass nur die der Sonne zugewandte Blattseite Blattverbräunungen aufwies. Nach Trepte & Winkler (2002) hat die UV-Spitzenbelastung am Erdboden aufgrund des stratosphärischen Ozonverlusts und Reflexion an Wolken langfristig zugenommen. Stress durch Überbelichtung gefährdet die Pflanzen akut durch Überenergetisierung und Bildung von reaktiven Sauerstoffradikalen. Ausgehend von dieser Gefährdung haben Pflanzen viele Vermeidungs- und Anpassungsmechanismen auf morphologischer Ebene ausgebildet.

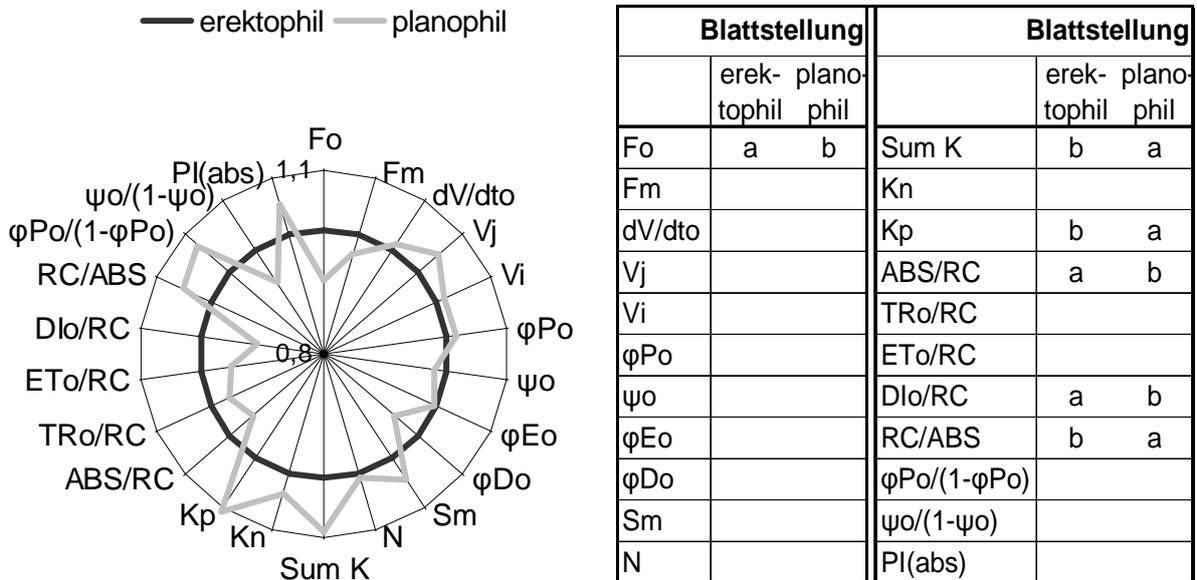


Abbildung 100: Einfluss der Blattstellung auf den Photosynthese-Verlauf ausgesuchter Winterweizensorten im Entwicklungsstadium Ende der Blüte (EC 69) des Versuchsjahres 2004 aus dem Landessortenversuch der Landwirtschaftskammer Hannover, Standort Höckelheim. Links Radarplot der Mittelwerte zur planophilen Blattstellung der Sorten Akteur, Batis, Hybred, Magnus, Solitär, Terrier und Türkis werden mit Messungen zu erektophilen Weizensorten Elvis, Grommit, Limes, Privileg und Tommi verglichen. Rechts signifikante Abweichungen unterschiedlicher Blattstellungen bei einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$ .

In Tabelle 10 wurden Blattstellungen der F-Blätter verschiedener Winterweizensorten aufgeführt, die auf dauerhafte oder dynamische Blattstellungsreaktionen bei hoher Lichtenergie hinweisen. Planophil gerichtete F-Blätter (wie Batis) besitzen auf der einen Seite eine hohe Beschattungskraft, andererseits sind sie aufgrund ihrer ausgeprägten horizontalen Blattform höherer Lichtenergie ausgesetzt als Blätter, die eine erektophile,

vertikale Ausrichtung besitzen (wie Drifter und Ritmo). Der Einfluss der Blattstellung auf den Photosynthese-Verlauf wurde einerseits bestätigt durch die aufgeführten Sortenunterschiede (Kapitel 3.3.2.1.), andererseits zeigt Abbildung 100 Unterschiede der Chlorophyll-Fluoreszenz-Messdaten planophiler und erektophiler F-Blätter ausgesuchter Weizensorten im Versuchsjahr 2004 vom Landessortenversuch Winterweizen, Standort Höckelheim.

Es zeigte sich, dass planophile Weizensorten höhere photochemische Raten ( $k_P$ ), gesteigerte Lichtreaktionen ( $\phi_{Po}/(1-\phi_{Po})$ ) und erhöhtes Photosynthesevermögen ( $PI_{ABS}$ ) aufzeigen, Dunkelreaktionen ( $\Psi_o/(1-\Psi_o)$ ) und Energieflüsse pro Reaktionszentrum hingegen abnehmen im Vergleich zu den erektophilen Sorten. Die beim durchgeführten Lichtversuch untersuchten Sommerweizensorten Nandu und Triso zeigten ebenfalls unterschiedliche F-Blattstellungen auf. Nandu gehört mit dem sehr großen Anteil an gebogenen Blättern (Bundessortenamt 1987) zu den planophilen Sorten, Triso hingegen wurde in den Beobachtungen 2001 bis 2005 eine geringe Häufigkeit von Pflanzen mit gebogenen obersten Blättern zugeschrieben (Bundessortenamt 2005) und kann als erektophile Sorte eingestuft werden. Die an den im Gewächshaus kultivierten beiden Sommerweizensorten durchgeführten Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen vor Lichtstress zu EC 51/55 (Abbildung 101) zeigten tendenziell ebenfalls den Einfluss der Blattstellung auf den Photosyntheseverlauf auf, wie schon in Abbildung 100 an Winterweizen beschrieben.

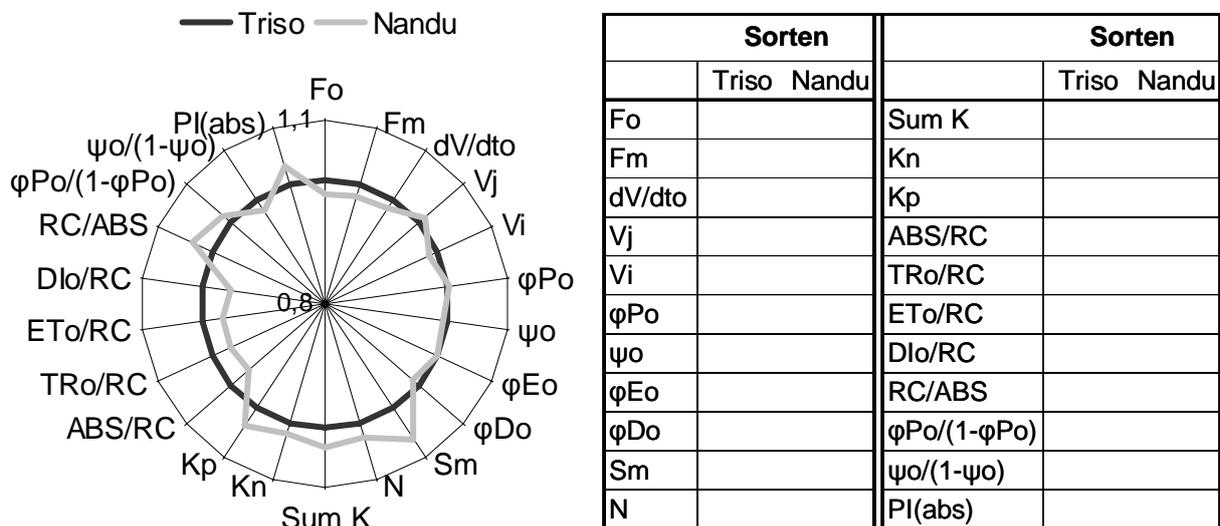


Abbildung 101: Links Radarplot zu Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen des im Gewächshaus kultivierten planophilen Sommerweizens Nandu und der erektophilen Sorte Triso (Referenz) im Vergleich vor Dauerlichtstress. Rechts signifikante Abweichungen der Sorten bei einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $p < 0,05$ .

Allerdings reagierte die Sorte Triso während des Lichtstressversuchs (Abbildungen 93 und 94) unerwartet lichtempfindlicher als die Vergleichssorte Nandu. Als Erklärung liegt die

Vermutung nahe, dass Triso schattenliebender ist. Schattenblätter zeichnen sich nach Richter (1998) durch ein schwach entwickeltes Mesophyll, jedoch ein stark entwickeltes Thylakoidsystem aus, die Dichte photosynthetischer Reaktionszentren allerdings ist gering. Dem entspricht, dass Triso beim Vergleich von Chlorophyll-Fluoreszenzmessungen vor Lichtstress zu Nandu (Abbildung 101) eine geringere Dichte aktiver Reaktionszentren (RC/ABS) bei gleichzeitig stärker ausgebildeten Antennensystemen (Energieflüsse/RC) aufwies.

Die Art und Weise der Anpassung des Photosystem II, bedingt durch übermäßige Lichteinstrahlung, die vom Chlorophyll nicht umgesetzt werden kann, sind im Anfangsstadium optisch nicht sichtbar, aber mit Hilfe von Photosynthese-Messungen (Abb. 93 und 94) eindeutig nachweisbar. Während des Dauerlichtversuchs kam es beim Sortenvergleich von Nandu und Triso zu negativen Wirkungen von Licht und Strahlung auf den Photosynthese-Apparat. Die lichtempfindlichere Sorte Triso reagierte 15 Tage nach Lichtstress mit einer Lichthemmung, aufgezeigt durch geringere Photosynthese-Aktivitäten ( $PI_{ABS}$ ). Die entstandene Hemmung der Photosynthese kann als reversibler Schutzmechanismus des photosynthetischen Systems dienen (Vass et al. 1992, Luis & Alves 2002). Bei Überforderung der für die Pflanzen entwickelten Dissipationsmechanismen während der Photosynthese kann es aber auch zu irreversiblen Schäden im Photosynthese-Apparat kommen, wie die Zerstörung von D1, eines der Core-Proteine des Photosystems II (Richter 1998). Das im Licht ständig abgebaute und neu synthetisierte D1-Protein regelt den Ab- und Aufbau des Reaktionszentrums von PS II. Dieser „Turnover“ des D1-Proteins hält die Funktionsfähigkeit des PS II aufrecht, das im Licht die Aktivität verlieren kann. Mit steigender Lichtintensität wird die Inaktivität von PS II begünstigt, im Gegenzug nimmt der Turnover zu. Unter Stressbedingungen werden deutliche Veränderungen im Umsatz des D1-Proteins beobachtet (Dannehl et al. 1995, Konopka et al. 1996). D1 wird zwar schneller synthetisiert aber noch schneller abgebaut, es kommt zum regulierten Abbau des Photosyntheseapparates. Diese reversible Hemmung von PS II ist vergleichbar mit den in der Arbeit vielfach beschriebenen nicht- $Q_A$  reduzierenden Reaktionszentren. Neben der Abgabe von angeregter Lichtenergie bzw. dem Auftreten stiller Reaktionszentren könnte demnach die Parameter-Kombination steigende Energieflüsse bei abnehmenden  $Q_A$  reduzierenden Reaktionszentren (RC/ABS) auch die Schädigung bzw. Reparatur des Reaktionszentrums des Photosystems II darstellen. Wie die reversible Photoinhibition dienen die stillen Reaktionszentren als Schutzmechanismus der Anpassung an Licht, ebenso die aufgeführte Blattstellung und unterschiedliche Steuerungsmechanismen der Lichtumsetzung wie Fluoreszenz und Energieableitungen (spillover).

Die Abbildungen 93 und 94 zeigten eindeutig, dass die Einstrahlung von Rotlicht die Lichtsättigung der Pflanzen eher übersteigt, und nicht die UV-Strahlung zur Photoinhibition führt. Die UV-Anpassungen der Pflanzen im Hinblick auf den Photosyntheseverlauf sind demnach deutlicher ausgeprägt. Nach Aussagen von Trepte & Winkler (2002) benötigten die Pflanzen in den letzten Jahren kaum eine neue UV-Anpassung, da sich langfristig die UV-Werte nur wenig veränderten. Neben zugenommener UV-Spitzenbelastung kam es infolge gesteigener Häufigkeit und optischen Dicke der Wolken zu einer Verminderung der UV-Dosis.

Dass unterschiedliche Lichtquellen zu unterschiedlichen Pflanzenreaktionen führen, wurde bereits von Wu & Tiedemann (2004) an Gerste vorgestellt. In Bezug zur Ausbildung und Entwicklung von Chlorosen und Nekrosen wurden diese Symptomausprägungen bei Rotlicht chronisch eingestuft, die Reaktionen auf Blaulicht ohne Ausprägung von Chlorosen wurden als akut beschrieben.

### **4.3. Fungizideffekte auf die Stressphysiologie**

Die sekundären, nichtfungiziden Nebenwirkungen der Wirkstoffe Epoxiconazol, Kresoxim-Methyl und Pyraclostrobin und der Fungizidpräparate Jewel Top und Opera auf oxidativen Stress und der Entstehung von nichtparasitären Blattflecken wurden in den Kapiteln 3.4 und 3.5 aufgeführt. Es konnte ein deutlicher Einfluß auf den Photosynthese-Verlauf herausgearbeitet werden.

#### **4.3.1. Feld**

Über die physiologischen Effekte strobilurinhaltiger und azolhaltiger Fungizide auf das Photosystem II ist unter Feldbedingungen derzeit wenig bekannt. Hock & Elstner (1995) vermuten als Hauptursache für die Ertragssteigerung nach Fungizidapplikation eine erhöhte und / oder längere Photosynthese der Fahnenblätter in Verbindung mit besserem Abtransport der Assimilate. Gerhard (2001) konnte in Feldversuchen mit dem verwendeten Puls-Amplituden-Modulierten Fluorometer (PAM) jedoch keine Differenzierungen unterschiedlicher Behandlungsvarianten mit der Chlorophyll-Fluoreszenz-Methode auf Photosynthese-Ebene nachweisen. Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Fluoreszenz-Messungen mit dem HandyPea zur schnellen Fluoreszenzkinetik an Fahnenblättern von Weizenpflanzen (Kapitel 3.4.2.) bestätigen die Annahme von Hock & Elstner (1995). Eine gesteigerte Photosynthese nach abschließender Fungizidbehandlung zu

EC 51 konnte in zwei Versuchsjahren über drei Wochen nachgewiesen werden. In 2003, eine Woche nach Fungizidbehandlung der Pflanzen im Feld, zeigte die Juwel Top-Variante (Abbildung 65) die geringste Lichtnutzung ( $\Phi_{P_0}$ ;  $(\Phi_{P_0}/(1-\Phi_{P_0}))$ ;  $k_P$ ) und die höchste dissipierte Anregungsenergie ( $DI_O/RC$ ) im Vergleich zu unbehandelten und mit Opera behandelten Pflanzen. Die Fluoreszenz-Messungen 14 Tage nach Fungizidgabe zeigten in beiden Versuchsjahren (Abbildung 66) ähnliche Verhaltensmuster des Photosystems II. Die Fungizide reduzierten das absorbierte Licht ( $ABS/RC$ ), gleichzeitig wurden die  $Q_A$  reduzierenden Reaktionszentren ( $RC/ABS$ ) erhöht, es ging weniger Anregungslicht ( $\Phi_{D_0}$ ;  $DI_O/RC$ ) verloren, die photochemische Lichtnutzung wurde erhöht ( $\Phi_{P_0}$ ;  $\Phi_{P_0}/(1-\Phi_{P_0})$ ) und somit die Photosynthese gesteigert ( $PI_{ABS}$ ). Dieser Fungizideffekt zur erhöhten Photosyntheseleistung konnte noch drei Wochen nach Pflanzenbehandlung zu EC 71 (Abbildung 67) in beiden Messjahren eindeutig abgeleitet werden. Vier Wochen nach Fungizidapplikation zu EC 75 konnten keine Unterschiede zwischen den Fungizidvarianten und der Kontrolle (Abbildung 68) ausgemacht werden, zu EC 81, fünf Wochen nach Applikation (Abbildung 69) kam es zu reduzierter Photosynthese in den Fungizid behandelten Pflanzen. Ursache dafür sind die geringeren  $Q_A$  reduzierenden Reaktionszentren ( $RC/ABS$ ), es wird mehr Anregungsenergie abgegeben, die Folge ist die Anreicherung von Elektronenakzeptoren. Die Photosynthese und somit die Lichtreaktion ( $PI_{ABS}$ ) wurde zu EC 81 nach Fungizidapplikation reduziert.

Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass die Fungizide neben wachstumsregulatorischen Wirkungen (Bertelsen et al. 2001) zusätzlich auf pflanzenphysiologische Vorgänge der Photosynthese einwirken. Das auffällige Photosyntheseverhalten nach Fungizidbehandlung, Reduktion von  $ABS/RC$  (Abbildung 70) und  $DI_O/RC$  (Abbildung 71) und Steigerung von  $PI_{ABS}$  (Abbildung 72), in beiden Versuchsjahren über fünf Wochen zu messen ist, obwohl sehr unterschiedliche Witterungsbedingungen herrschten, an die sich die Pflanzen anzupassen hatten. Das bedeutet, dass chemische, photochemische und / oder enzymatische Prozesse zur Metabolisierung der Fungizidwirkstoffe (Hock & Elstner 1995, Gödde 2003) gleichmäßig ablaufen und nicht wesentlich durch vorherrschende Wetterverhältnisse beeinflusst werden.

In den stressphysiologischen Untersuchungen der antioxidativen Enzymaktivitäten (Kapitel 3.4.3.) konnten kaum Fungizidwirkungen in beiden Testjahren nachgewiesen werden. Die Messungen der Aktivitäten der antioxidativen Enzyme SOD (Abbildung 73) und APX (Abbildung 74) zeigten keine auffälligen Fungizideffekte. Unterschiede der Blattprotein-Menge (Abbildung 75) der verschiedenen Behandlungsvarianten konnten nicht ermittelt werden, ebenso konnten keine deutlichen Unterschiede im Malondialdehyd-Gehalt (Abbildung 76), dem Bestimmungsparemeter der Lipidperoxidation, ausgemacht werden.

Eine Stimulierung des antioxidativen Schutzsystems der Pflanzen nach Fungizidapplikation wurde, wie schon von Schnitzler et al. (1998) an Gerste dargestellt, nicht nachgewiesen.

Die schon vielfach beschriebenen Fungizideffekte auf die gesteigerte Ertragsphysiologie der Pflanzen konnte auch in dieser Arbeit mit signifikanten Abweichungen der Behandlungsvarianten zur Kontrolle nachgewiesen werden (Tabelle 17). Auffällig ist der ähnliche Ertrag der Kontrollpflanzen einzelner Weizensorten in beiden Versuchsjahren trotz der extrem unterschiedlichen Witterungsbedingungen.

#### **4.3.2. Gewächshaus**

Der Sommerweizen wurde Praxis üblich termingerecht und nach Aufwandempfehlung mit Fungiziden behandelt. Vorversuche deuteten an, dass die Pflanzen ohne Vor- und Nachbehandlung mit Luftfeuchte kaum Fungizidwirkungen aufwiesen (Daten nicht gezeigt). Baur (2000) beobachtete eine zunehmende Wirkstoffaufnahme mit der relativen Luftfeuchtigkeit, die er auf die bessere Verfügbarkeit des Spritzbelags zurückführte, nicht auf die gesteigerte Durchlässigkeit der Kutikula. Demnach gehen hydrophile Wirkstoffe aus dem festen Belag in Lösung, während bei hydrophoben Wirkstoffen das Verteilungsgleichgewicht vom Spritzbelag verändert wird.

Es ist allgemein bekannt, dass Kammereffekte dazu führen, dass natürliche Ökosystemparameter nicht beibehalten werden können. Die Simulation biotischer und abiotischer Umweltbedingungen war für diese Fragestellung auch nicht notwendig. Die in der Natur verschiedenen möglichen Belastungen der Pflanzen durch Immissionen wurden in dem vorliegenden Kapitel 3.5. auf das Schadgas Ozon reduziert. Die in Klimakammern nach Angaben von Wu (2001) durchgeführte Ozonexposition der vorliegenden Arbeit erfolgte zwar mit naturnahen Konzentrationen, entsprach jedoch keinem natürlichen Konzentrationsverlauf. Durch die Belastung der Sommerweizenpflanzen mit definierten freilandnahen Schadgaskonzentrationen wurde der Einfluss von Ozon auf Stoffwechselfunktionen und die Wirkung von Fungiziden auf die Pflanzengesundheit gemessen. Elstner (1990b) berichtete, dass Ozon olefinische Doppelbindungen (z.B. membrangebundene Fettsäuren) angreift und mit SH-Gruppen tragenden Aminosäuren oder SH-Gruppen beinhaltenden, membrangebundenen oder löslichen Enzymen reagiert. Es wird vermutet, dass die Thioloxygenationen der membrangebundenen Enzyme zu Disulfidbrücken führen, welche den Assimilattransport stören. Bestätigt wurde diese Vermutung unter anderem von Meyer (1999) der Auswirkungen von Ozon auf Sommer- wie Winterweizen in Freilandklimakammern untersuchte und Ertragsverluste aufzeigte. Am empfindlichsten

reagierten die Pflanzen, wenn diese 14 Tage lang vier Stunden täglich einer Ozongrenzwertkonzentration von 240 Mikrogramm pro Kubikmeter Luft während und kurz nach der Blüte ausgesetzt wurden. Lamprecht (2002) bestätigte die Aussage höherer Ozonsensitivität von Weizenpflanzen, die während der Blüte exponiert wurden anhand von Messungen zur Reduktion des Chlorophyllgehalts. Nach zweiwöchiger Ozonexposition bei einer Konzentration von  $130 \mu\text{g m}^{-3}$  konnte Meyer (1999) an Pflanzen starke Chlorosen erkennen. Lamprecht (2002) stellte in ihren Untersuchungen fest, dass Blätter der unteren Blattetagen eine wesentlich stärkere Ozonsensitivität besaßen im Vergleich zu den Fahnenblättern. Mit der für die vorliegende Arbeit ausgewählten fünftägigen Ozonkonzentration von 90 ppb (täglich 7 Stunden) wurden entgegen den Aussagen von Tiedemann (1993) weder akute noch chronische Wirkungen des Schadgases auf die untersuchten Blattetagen F und F-1 erzielt, es waren keine sichtbaren Schadsymptome auf den untersuchten Blattetagen erkennbar. Mit den vorgestellten Untersuchungen wurde jedoch eine latente Ozonwirkung herausgearbeitet, da reversible Veränderungen biochemischer und physiologischer Prozesse an Kontrollpflanzen erzielt wurden. Das Ozon zunächst zu Veränderungen im pflanzlichen Metabolismus führte, zeigten die pflanzenphysiologischen Untersuchungen drei Tage nach fünftägiger Ozonexposition. Die signifikant gesteigerte Lipidperoxidation (Abbildung 89), die leichte Erhöhung der Membranpermeabilität (Abbildung 90), die signifikante Abnahme der Blattproteinmenge (Abbildung 87) und die tendenzielle Steigerung der  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Menge (Abbildung 84) an Kontrollpflanzen nach Ozonimmission gegenüber unbegasteten Pflanzen beschreiben Stressverhalten der Pflanzen (Wu 2001). Aktivitäten der unspezifischen (Guaiacol-) Peroxidase (Abbildung 87), Ascorbat-Peroxidase (Abbildung 86) und Superoxidperoxidase (Abbildung 85) zeigten kaum Veränderungen bei dem erfolgten Ozonstress. Diese Ozoneffekte an Sommerweizen drei Tage nach Ozonimmission entsprachen den Ergebnissen an Sommergerste von Wu & Tiedemann (2002). Die gesteigerte Lipidperoxidation (Abbildung 89) der getesteten Varianten zu beiden Messterminen nach Ozonstress bestätigte die Aussagen von Emberson (2003), der von einem Unvermögen der Pflanzen ausgeht, Membranschäden zu reparieren oder zu kompensieren. Durch die Schädigung von Thylakoidmembranen kommt es nach Köllner & Krause (2000) im Folgenden zur Hemmung des Elektronentransports und damit zu einer deutlichen Reduktion der Photosyntheserate. Auch diese Aussage wurde in der vorliegenden Arbeit bestätigt (Abbildung 80).

Die gewählte Schadstoffdosis führte 14 Tage nach Ozonbelastung zu geringsten Unterschieden antioxidativer Enzymaktivitäten zwischen gestressten und ungestressten Pflanzen (Abbildungen 85 – 87), somit wurde die latente Ozonwirkung bestätigt, die

reversible physiologische Veränderungen auslöst. Eine Erklärung des tendenziell abnehmenden Photosynthesevermögens der Kontrollpflanzen trotz latenter Ozonexposition (Abbildung 80) lieferten McKee et al. (2000), die von Reduktion der Photosyntheserate bei reparativen Synthesen ausgehen.

Die von Wu & Tiedemann (2002) beschriebenen Fungizidwirkungen hingegen wurden nur teilweise bestätigt (Kapitel 3.5.2.). Die für diese Arbeit durchgeführten blattphysiologischen Untersuchungen zeigten nach Ozonimmission keine signifikanten Unterschiede der H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Mengen (Abbildung 84) der Fungizidvarianten zu beiden Messterminen im Vergleich zu den Kontrollpflanzen auf. Auffällig jedoch war die tendenzielle Erhöhung des Signalmoleküls Wasserstoffperoxid nach Ozoneinfluss, wie auch bei Wu & Tiedemann (2002) vorgestellt, die der vielfach beschriebenen Akkumulation reaktiver Sauerstoffspezies wie H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bei pflanzlicher Abwehr entspricht (Mehdy et al. 1996, Chamnongpol et al. 1998, Pellinen et al. 2002, Breusegem v. & Dat 2006, Torres et al. 2006). Die drei Tage nach Ozonstress deutlich gesteigerte SOD-Aktivität (Abbildung 85) der Strobilurinvarianten konnte beim zweiten Messtermin tendenziell von Pyraclostrobin gehalten werden, die mit Kresoxim-Methyl behandelten Pflanzen allerdings wiesen einen deutlichen Abfall der Enzymaktivität auf. Diese trotz des gleichen Wirkungsprinzips unterschiedlichen Verhalten der Strobilurine lassen sich mit den verschiedenen physikalisch-chemischen Eigenschaften erklären.

Tabelle 18: Aufnahme und Verteilung von Strobilurinwirkstoffen in und auf der Pflanze (Beck 2004, Beck 2005)

	<b>Pyraclostrobin</b>	<b>Kresoxim-Methyl</b>
Aufnahme ins Blatt	sehr gering	niedrig
Redistribution über die Luft	nein	ja
Abbaustabilität im Blatt	ja	niedrig
Translaminarer Transport	niedrig	niedrig
Xylem-mobil	nein	nein
Transport zu neuen Pflanzenteilen in Weizen / Gerste	nein	nein
Phloem-mobil	nein	nein

Pyraclostrobin weist eine gewisse Abbaustabilität im Blatt auf, die bei Kresoxim-Methyl nicht zu finden ist. In den hier vorgestellten Ergebnissen hatten die getesteten Fungizidwirkstoffe keinen Einfluss auf die Enzymaktivitäten APX (Abbildung 86) und POX (Abbildung 87). Wu & Tiedemann (2002) hingegen konnten deutliche Unterschiede zwischen Fungizid behandelten

und unbehandelten Gerstenpflanzen aufführen. Auch die zunehmende Blattproteinmenge (Abbildung 88) nach Fungizidapplikation konnte in dieser Arbeit an Weizenpflanzen nicht dargestellt werden. Grund für die abweichenden Ergebnisse der beiden Arbeiten sind einerseits die verschiedenen Getreidearten mit unterschiedlichem Stressmetabolismus (Wu 2001), andererseits die unterschiedliche Art der Fungizidapplikation. Während in dieser Arbeit die Pflanzen praxisüblich behandelt wurden, benetzten Wu & Tiedemann (2002) die Blattober- wie Blattunterseite bis zum Ablaufen der Spritzbrühe von den Blättern (run-off). Dadurch kam es zu höheren Wirkstoffkonzentrationen und veränderten Fungizidwirkungen der komplett befeuchteten Blätter. Der auffällige Anstieg der Membranpermeabilität und der Aktivitäten unspezifischer Peroxidasen zum 2. Messtermin ist mit zunehmendem Blattalter und gleichzeitig zunehmender Seneszenz zu erklären.

Bei der Betrachtung der Chlorophyll-Fluoreszenz-Ergebnisse im Gewächshaus zur Fungizidleistung (Kapitel 3.5.1.1.) können keine Rückschlüsse auf die Leistungen der Fungizide unter Feldbedingungen (Kapitel 3.4.2.) gezogen werden. Das liegt vor allem an den unterschiedlichen Bedingungen, denen die Pflanzen ausgesetzt sind. Im Gewächshaus sind Pflanzen weitgehend vor ungünstigen klimatischen Einflüssen, Schädlingen und Krankheitserregern geschützt, so dass verschiedene pflanzeneigene Abwehrmechanismen vermutlich nicht aktiviert werden. Aus diesem Grund zeigen im Gewächshaus kultivierte Pflanzen andere Reaktionen als unter natürlichen Feldbedingungen (Sautter 2000).

## 5. Zusammenfassung

Ausgangspunkt für die Versuche war die Beobachtung von Blattflecken nichtparasitären Ursprungs, sogenannten PLS, an Weizen. Diese Blattschädigung wird durch oxidativen Stress hervorgerufen. In aeroben Organismen können ungünstige Umweltbedingungen bereits zu oxidativen Stress führen. Ziel der vorliegenden Arbeit war es in Feldversuchen zu überprüfen, wie Winterweizen auf vorherrschende Umweltbedingungen reagiert, und welchen Einfluss Fungizide auf die Stressphysiologie besitzen. Zusätzlich wurden in Gewächshausversuchen die Reaktionen von Ozon und Licht auf den Stressmetabolismus von Sommerweizen untersucht. Aktivitäten antioxidativ wirkender Enzyme wurden zur Beschreibung des oxidativen Pflanzenstatus ausgewählt, das angewandte Chlorophyll a-Fluoreszenz-Meßverfahren zur schnellen Kinetik sollte einen Einblick in das Verhalten von Pflanzen und die Reaktion auf Stress geben. Wesentliche Aussagen der Untersuchungen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- In Feldbeobachtungen wurde unterschiedliches Auftreten von PLS an Winterweizen ermittelt. Die Verbräunungen im Blatt-Kulminationspunkt, dem Blattspreitenbereich mit höchster Lichtexposition, konnten nur Genotypen mit planophiler Blattstellung zugeordnet werden. Für die Ausbildung von Pollenekrosen ist neben sortenspezifischen Eigenschaften die Feuchtigkeit während der Blühperiode ausschlaggebend. Die Entstehung nekrotisierter Chlorosen ist vor allem sortenabhängig.
- In Bonituren zum Auftreten von PLS konnten sowohl anfällige als auch gering anfällige Weizensorten ermittelt werden. In Feldversuchen wurden für weitere Untersuchungen der PLS anfällige Batis und die gering anfälligen Sorten Drifter und Ritmo ausgewählt.
- Die Ergebnisse zur Chlorophyll-Fluoreszenz in Feldversuchen lieferten eindeutige Erklärungen für die unterschiedliche Sortenempfindlichkeit gegenüber PLS. Die deutlichen Einblicke in die Photosyntheseprozesse als Quellen reaktiver Sauerstoffspezies zeigten unter gegebenen Umwelteinflüssen sortenspezifisches Stressmanagement der Pflanzen an. Batis (PLS anfällig) wies eine höhere Photonenabsorption auf, ein Verhalten, das auf die Übertragung überschüssiger Elektronen auf molekularen Sauerstoff während des Elektronentransports schließen ließ. Drifter hingegen konnte über nicht- $Q_A$  reduzierende Reaktionszentren überschüssige Anregungsenergie als Wärme abführen.
- In zweijährigen Untersuchungen zur Beschreibung des Stressmetabolismus zweier Winterweizensorten unter jeweilig vorherrschenden Umweltbedingungen konnte der

für PLS anfälligeren Sorte Batis eine höhere Anfälligkeit für oxidativen Stress zugeordnet werden, im Vergleich zur gering PLS-anfälligen Sorte Ritmo. In 2003 wurde anhand gesteigerter APX-Aktivität von Batis auf eine Akkumulation von  $H_2O_2$  geschlossen. Diese Anhäufung des Signalmoleküls könnte für die Verstärkung der Zellwände bei Batis verantwortlich sein. Im Folgejahr wurden anhand gesteigerter SOD-Aktivität Rückschlüsse auf erhöhten oxidativen Stress bei Batis im Vergleich zu Ritmo gezogen.

- Die Auswertungen der Daten zu Wechselwirkungen zwischen Sorte und Witterung zeigten, dass die JIP-Parameter  $F_M$ ,  $k_N$ ,  $S_m$  und  $PI_{ABS}$  eindeutig den Wittereinfluss auf den Photosynthese-Apparat beschreiben.
- Chlorophyll-Fluoreszenzmessungen zu Witterungseinflüssen zeigten im außergewöhnlich sonnigen Versuchsjahr 2003 deutlich mehr dissipierte Anregungsenergie während der Lichtabsorption als im Vergleichsjahr 2004. Mit Blick auf die zum Teil signifikant verminderte Photosyntheseleistung konnte erhöhter oxidativer Stress für Weizen in 2003 beschrieben werden.
- Anhand stressphysiologischer Untersuchungen wurde ebenfalls gesteigerter oxidativer Stress in 2003 gemessen. Die nachgewiesenen erhöhten Aktivitäten radikalentgiftender Enzyme SOD und APX zeigten deutlich die Akkumulation pflanzentoxischer Sauerstoffspezies.
- Im Feldversuch wurde ein direkter Einfluss der Fungizide Jewel Top und Opera auf den Photosyntheseverlauf belegt. Über Wochen wurde die Lichtabsorption vermindert und somit die photochemische Lichtnutzung gesteigert. Nach 5 Wochen wurde die Photosyntheseleistung vermindert im Vergleich zu unbehandelten Pflanzen.
- Blattanalysen beider Versuchsjahre zur Beschreibung antioxidativer Schutzmechanismen lieferten keinen deutlichen Einfluss der Fungizide auf die Sauerstoffradikale entgiftenden Enzymaktivitäten.
- Weitere im Feldversuch ermittelte eindeutige Leistungen der Fungizide zeigten sich in Verzögerung der Blattseneszenz und Ertragssteigerung. Die geringsten Zuwächse der Kornträge erfuhr Batis nach Fungizidbehandlung im Vergleich zu Drifter und Ritmo. Die Ursache dafür ist dem Züchtungsziel und nicht der PLS-Anfälligkeit zuzuordnen. Bei Batis, dem A-Weizen steht Qualität im Vordergrund, die B-Sorten Drifter und Ritmo stehen für hohe Ertragsleistung, die durch Fungizide gesteigert wurden.

- Die durchgeführten Bonituren zum Auftreten von PLS an Kontrollpflanzen zeigten sehr geringe Blattschäden abiotischen Ursprungs. Fungizidwirkungen zur Minderung von PLS konnten aufgrund der gemittelten Schadenshöhe von < 1 % an F-, F-1 und F-2-Blättern nicht beobachtet werden.
- Im Gewächshaus an Sommerweizen zu EC 51/55 durchgeführte Ozonversuche führten bei 5-tägiger Ozonexposition zu latenter Wirkung. Reversible Veränderungen biochemischer und physiologischer Pflanzenprozesse durch Ozon wie verminderte Photosyntheseaktivität, vorübergehendes gesteigertes Vorkommen des Signalmoleküls  $H_2O_2$ , deutlich verminderte Blattproteinmenge, verstärkte Lipidperoxidation und erhöhte Membranpermeabilität wurden nach Ozonstress im Vergleich zu unbegasteten Kontrollpflanzen ermittelt.
- Die Strobilurinvarianten Kresoxim-Methyl und Pyraclostrobin zeigten nach Ozonimmission deutlich erhöhte SOD-Aktivitäten, Epoxiconazol führte zu signifikant gesteigerter  $H_2O_2$ -Menge. Durch Ozon konnte die Wirkung der Fungizide zum Teil aufgehoben werden, deutlich erkennbar war dieser Ozoneffekt an der Membranpermeabilität,  $H_2O_2$ -Menge und an der SOD-Aktivität.
- Auffällig war trotz gleichen Wirkungsprinzips das unterschiedliche Verhalten der getesteten Strobilurinwirkstoffe im Photosyntheseablauf nach Ozonstress. Die Pyraclostrobinvariante zeigte nach Ozonexposition eine deutliche Anhäufung von Elektronen während des Elektronentransports, das sich letztlich in verminderter Photosyntheseleistung auswirkte. Kresoxim-Methyl führte zur Bildung nicht- $Q_A$  reduzierender Reaktionszentren, die Anregungsenergie als Wärme abgeben. Dadurch wurde in diesem Prozess die Photosyntheseleistung gesteigert. Die Azolvariante wies das gleiche Verhalten wie mit Kresoxim-Methyl behandelte Pflanzen auf, eine erhöhte Stresstoleranz der Pflanzen gegenüber dem Schadgas Ozon konnte aufgezeigt werden.
- In Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen zum Einfluss von Lichtstress auf zwei Sommerweizensorten wurden Sortenunterschiede zur Lichtsensitivität ermittelt. Triso reagierte mit deutlich abnehmender Photosyntheseleistung lichtempfindlicher als Nandu.
- Photosyntheseverläufe von Sommerweizen zeigten nach Stress mit rotem Dauerlicht deutlich verminderte Lichtnutzung im Vergleich zur Wirkung von blauem Dauerlicht.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass sich Weizen den vorherrschenden Umweltbedingungen sehr gut anpasst. Schon der Photosyntheseprozess als Quelle reaktiver Sauerstoffspezies bietet Anpassungsmöglichkeiten durch Verringerung der Lichtabsorption,

oxidativen Stress zu mindern. Die antioxidativen Enzymmechanismen zur Regulierung der schädigenden und / oder schützenden ROS-Wirkung zeigen erfolgreiche Aktivitätsänderungen je nach Auftreten der Sauerstoffradikale. Die erfolgreiche Entgiftung bzw. die Verhinderung der Überproduktion von ROS spiegelt sich im geringen Auftreten physiologischer Blattflecken wieder.

Die verschiedenen in dieser Arbeit angewandten Messverfahren können in der Umweltforschung und Stressphysiologie der Pflanzen eingesetzt werden. Vor allem die Chlorophyll-Fluoreszenz-Methode zur schnellen Kinetik kann ohne Probleme für Routinemessungen und große Test-Serien angewandt werden.

## 6. Literatur

- Aebi, H.E. 1983. Catalase. pp. 273-282. *In*: H.U. Bergmeyer (ed.) Methods of enzymatic analyses, Vol.3, Verlag Chemie, Weinheim.
- Alscher, R.G., J.L. Donahue & C.L. Cramer. 1997. Reactive oxygen species and antioxidants: Relationship in green cells. *Physiologia Plantarum* 100: 224-233.
- Alscher, R.G., N. Erturk & L.S. Heath. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany* 53: 1331-1341.
- Anonymus. Molecular electronic structure and photophysics.  
<http://www.monos.leidenuniv.nl/smo/index.html?basics/photophysics.htm>.
- Arora, A., R.K. Sairam & G.C. Srivastava. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science* 82: 1227-1238.
- Asada, K. 1992. Ascorbate peroxidase - a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiologia Plantarum* 85: 235-241.
- Asada, K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 601-639.
- Baker, C.J. & E.W. Orlandi. 1995. Active oxygen in plant pathogenesis. *Annual Review of Phytopathology* 33: 299-321.
- Baker, N. & A. Webber. 1987. Interactions between photosystems. *Advances in Botanical Research* 13: 2-56.
- Baumer, M., L. Hartl & A. Behn-Günther. Blattverbräunung bei Gerste - Möglichkeiten der Schadensminderung.
- Baur, P. 2000. Wirkstoffaufnahme während und nach dem Auftrocknen der Spritzflüssigkeit und der Einfluss von Temperatur und Luftfeuchte. DPG - Arbeitskreis Pflanzenschutztechnik.
- BBfLF. 1979. Entwicklungsstadien des Getreides. Merkblatt Nr. 27/1. Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Braunschweig.
- Beck, C.L. 2004. Einfluss von Fungiziden auf die Ertragsphysiologie von Weizen. Dissertation der Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn.
- Beck, C.L. 2005. Einfluss von Fungiziden auf die Ertragsphysiologie von Weizen. Dissertation der Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn.
- Bergmeyer, H.U. 1970. Methoden der enzymatischen Analyse, 2. Aufl. Akademie Verlag Berlin.
- Bertelsen, J.R., E. de Neergaard & V. Smedegaard-Petersen. 2001. Fungicidal effects of azoxystrobin and epoxiconazole on phyllosphere fungi, senescence and yield of winter wheat. *Plant Pathology* 50: 190-205.

- Blokhina, O., E. Virolainen & K.v. Fagerstedt. 2003. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a Review. *Annals of Botany* 91: 179-194.
- Blokhina, O., E. Virolainen & K.v. Fagerstedt. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany* 91: 179-194.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Bräuning, H. 2002. Ozoneffekte auf unterschiedlich tolerante Phaseolus vulgaris Varietäten - das Ascorbat-Glutathion-System und die apoplastische Stressantwort. Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fachbereiche (Biologie) der Justus-Liebig-Universität Gießen.
- Breusegem v., F. & J.F. Dat. 2006. Reactive oxygen species in plant cell death. *Plant Physiology* 141: 384-390.
- Bundessortenamt. 1987. Nandu Prüfungsbericht - Registerprüfung.
- Bundessortenamt. 2005. Triso Prüfungsbericht - Registerprüfung.
- Buschmann, C. & K. Grumbach. 1985. Physiologie der Photosynthese. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo.
- Chamnongpol, S., H. Willekens, C. Moeder, C. Langebartels, H. Sandermann, M. van Montagu, D. Inzé & W. van Camp. 1998. Defense activation and enhanced pathogen tolerance induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in transgenic tobacco. *Plant Biology* 95: 5818-5823.
- Dannehl, H., A. Herbig & D. Godde. 1995. Stress-induced degradation of the photosynthetic apparatus is accompanied by changes in thylakoid turnover and phosphorylation. *Physiologia Plantarum* 93: 179-186.
- Dat, J.F., E. Vandenabeele, E. Vranová, M. van Montagu, D. Inzé & F. van Breusegem. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 57: 779-795.
- Dismukes, G.C. 2001. Splitting Water. *Science* 292: 447-448.
- Doerge, M. 1999. Photoprotektive Mechanismen der Alge Euglena gracilis in Abhängigkeit vom Carotinoidgehalt: Untersuchungen zur nichtphotochemischen Löschung der Chlorophyll a Fluoreszenz. Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.
- Doke, N. 1985. NADPH-dependent oxygen generation in membrane fractions isolated from wounded potato tubers inoculated with *Phytophthora infestans*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 27: 311-322.
- Ducic, T. & A. Polle. 2005. Transport and detoxification of manganese and copper in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17: 103-112.
- Elstner, E.F. 1990a. Biochemie der Sauerstoffaktivierung und aktivierte Sauerstoffspezies. pp. 5-55. *In*: E.F. Elstner (ed.) *Der Sauerstoff, Biochemie, Biologie, Medizin, Bi-Wissenschaftsverlag*.

- Elstner, E.F. 1990b. Die Rolle reaktiver Sauerstoffspezies in pathologischen Prozessen. pp. 347-496. *In*: E.F. Elstner (ed.) *Der Sauerstoff, Biochemie, Biologie, Medizin., BI-Wissenschaftsverlag.*
- Elstner, E.F. & S. Hippeli. 1995. Schadstoffe aus der Luft. pp. 79-117. *In*: B. Hock & E.F. Elstner (ed.) *Schadwirkungen auf Pflanzen, Spektrum Akademischer Verlag.*
- Elstner, E.F., R.J. Youngman & W. Osswald. 1983. Superoxide dismutase. pp. 293-302. *In*: H.U. Bergmeyer (ed.), *Verlag Chemie Weinheim.*
- Fleschin, S., M. Fleschin, S. Nita, E. Pavel & V. Magearu. 2000. Free radicals mediated protein oxidation in biochemistry. *Roum Biotechnology Letters* 5: 479-495.
- Foyer, C.H., P. Descourvieres & K.J. Kunert. 1994a. Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. *Plant, Cell and Environment* 17: 507-523.
- Foyer, C.H., M. Lelandais & K.J. Kunert. 1994b. Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum* 92: 696-717.
- Freimann, G. & J. Kauke. 2004. Top-Standorte enttäuschen im Ertrag. *Land&Forst* 37: 9-13.
- Fuhrer, J., L. Skärby & M.R. Ashmore. 1997. Critical levels for ozone effects on vegetation in europe. *Environmental Pollution* 97: 91-106.
- Gechev, T., I. Gadjev, F. van Breusegem, D. Inzé, S. Dukiandjiev, V. Toneva & I. Minkov. 2002. Hydrogen peroxide protects tobacco from oxidative stress by inducing a set of antioxidative enzymes. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 59: 708-714.
- Gerhard, M. 2001. Der Einfluß strobilurinhaltiger Fungizide auf physiologische Abläufe der Ertragsbildung an Winterweizensorten. Dissertation der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München.
- Gödde, M. 2003. Einfallsreiche Entgifter. pp. 34-37. *In*: . (ed.) *Komplexe Systeme verstehen, Jahreshft 2003, Hermann von Helmholtz-Gemeinschaft Deutscher Forschungszentren e.V.*
- Golombek, S. 2003. Vorlesung "Ökophysiologie in tropischen, subtropischen und gemäßigten Klimaten". Uni Kassel.
- Grant, J.J. & G.J. Loake. 2000. Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance. *Plant Physiology* 124: 21-29.
- Grossmann, K., J. Kwiatkowski & G. Caspar. 1999. Regulation of Phytohormone Levels, Leaf Senescence and Transpiration by the Strobilurin Kresoxim-methyl in Wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Plant Physiology* 154: 805-808.
- Grossmann, K. & G. Retzlaff. 1997. Bioregulatory Effects of Fungicidal Strobilurin Kresoxim-methyl in Wheat (*Triticum aestivum*). *Pesticide Science* 50: 11-20.
- Günther, K.P., H.G. Dahn & W. Lüdeker. 1999. Laser-induced-fluorescence - A new method for precision farming? pp. 133 - 144. *In*: R.G. Bill, G. Grenzdörfer & F. Schmidt (ed.) *Sensorsysteme in Precision Farming. Tagungsband zum Workshop 27. und 28. September 1999 an der Universität Rostock.*

- Hansen, U.P., H. Dau, B. Brüning, T. Fritsch & C. Moldaenke. 1991. Linear analysis applied to the comparative study of the I-D-P-phase chlorophyll fluorescence as induced by actinic PS-II-light, PS-I-light and changes in CO<sub>2</sub>-concentration. *Photosynthesis Research* 28: 119-130.
- Hansen, U.-P., I. Schröder & H. Dau. 2006. Versuchsanleitung Biophysikpraktikum B2: Kinetische Blitzlichtspektroskopie. Christian-Albrechts-Universität Kiel.
- Hege, H.-U. & G. Bachthaler. 1987. Pflanzenernährung und Düngung Pflanzliche Erzeugung, Landwirtschaftsverlag Münster-Hiltrup.
- Heitefuß, R. 2000. Pflanzenschutz: Grundlagen der praktischen Phytomedizin. Thieme, Stuttgart.
- Heitkamp, K. 1999. Entwicklung von Detektionssystemen für die HPLC-Bestimmung von Lipidhydroperoxiden. Dissertation vom Fachbereich Chemie der Bergischen Universität-Gesamthochschule Wuppertal.
- Hock, B. & E.F. Elstner. 1995. Lehrbuch der Pflanzentoxikologie, 3. Auflage. Akademischer Verlag. 302-310 pp.
- Hoffmann, G.M., F. Nienhaus, H. Poehling, F. Schönbeck, H.C. Weltzien & H. Wilbert. 1994. Lehrbuch der Phytomedizin. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin.
- Holzwarth, A.R., M.G. Müller, M. Reus, M. Nowaczyk, J. Sander & M. Rögner. 2006. Kinetics and mechanism of electron transfer in intact photosystem II and in isolated reaction center: Pheophytin is the primary electron acceptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103: 6895-6900.
- Joliot, P., G. Barbieri & R. Chabaud. 1969. A new model of photochemical centers in system-2. *Photochemistry and Photobiology* 10: 309-329.
- Jungblut, T. 1995. UV-B-Strahlung Wirkung auf Pflanzen.  
[http://www.bayern.de/lfu/umwberat/data/archiv/uvpflanze\\_1995.htm](http://www.bayern.de/lfu/umwberat/data/archiv/uvpflanze_1995.htm).
- Keetmann, U. 2000. Untersuchungen zu den Folgen der Photosensibilisierung durch akkumulierende Tetrapyrrole in transgenen Tabakpflanzen. Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I der Humboldt-Universität Berlin.
- Klotz, L.-O. 2003. Oxidativer Stress und zelluläre Signaltransduktion. *Bioforum* 5: 302-303.
- Köhle, H., K. Grossmann, T. Jabs, M. Gerhard, W. Kaiser, J. Glaab, U. Conrath, K. Seehaus & S. Herms. 2002. Physiological effects of the strobilurin fungicide F 500 on plants. pp. 61-74. *In*: H. Lyr, P.E. Russell, H.-W. Dehne & H.D. Sisler (ed.) *Modern fungicides and antifungal compounds III*, AgroConcept GmbH, Germany.
- Köhle, H., K. Grossmann, G. Retzlaff & A. Akers. 1997. Physiologische Einflüsse des neuen Getreidefungizides Jewel auf die Ertragsbildung. *Gesunde Pflanzen* 49: 267-271.
- Kok, B., B. Forbush & M. McGloin. 1970. Cooperation of changes in photosynthetic O<sub>2</sub> evolution - I. A linear four-step mechanism. *Photochemistry and Photobiology* 11: 457-475.
- Köllner, B. & G.H.M. Krause. 2000. Changes in carbohydrates, leaf pigments and yield in potatoes induced by different ozone exposure regimes. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 78: 149-158.

- Konopka, C., R. Hollinderbräumer, V. Ebbert, H. Wietoska & D. Godde. 1996. Imbalances of D1 protein turnover during stress induced chlorosis of a declining spruce tree. *Journal of Plant Physiology* 148: 324-331.
- Lamprecht, S. 2002. Einfluss unterschiedlicher Ozon-Immisionsmuster auf das Pathosystem Weizen-*Mycosphaerella graminicola*. Dissertation der Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn.
- Lazar, D. 1999. Chlorophyll a fluorescence induction. *Biochimica et Biophysica Acta* 1412: 1-28.
- Lazar, D. & P. Pospisil. 1999. Mathematical simulation of chlorophyll a rise measured with 3-(3',4'-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea-treated barley leaves at room and high temperatures. *European Biophysics Journal* 28: 468-477.
- Lienemann, K., E.-C. Oerke & H.-W. Dehne. 2003. Infektion und Ausbreitung von *Fusarium* spp. an Weizen in Abhängigkeit der Anbaubedingungen im Rheinland. Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.
- Lu, C. & J. Zhang. 1999. Effects of water stress on photosystem II photochemistry and its thermostability in wheat plants. *Journal of Experimental Botany* 50: 1199-1206.
- Luis, P. & C.A. Alves. 2002. The phenomen of photoinhibition of photosynthesis and its importance in reforestation. *The Botanical Review* 68: 193-208.
- Maldonado-Rodriguez, R. <http://www.geocities.com/fluoromatics/mysoftware.html>.
- McKee, I.F., B.J. Mulholland, J. Craigon, C.R. Black & S.P. Long. 2000. Elevated concentrations of atmospheric CO<sub>2</sub> protect against and compensate for O<sub>3</sub> damage to photosynthetic tissue of field-grown wheat. *New Phytologist* 146: 427-435.
- McKersie, B.D. 1996. Oxidative stress. <http://www.plantstress.com/Articles/Oxidative%20Stress.htm>.
- Mehdy, M.C., Y.K. Sharma, K. Sathasivan & N.W. Bays. 1996. The role of activated oxygen species in plant disease resistance. *Physiologia Plantarum* 98: 365-374.
- Meyer, U. 1999. Untersuchungen zur Ozonsensitivität von Photosynthese, Assimilation und Ertrag bei Weizen- (*Triticum aestivum* L.) und bei Rapspflanzen (*Brassica napus* L.) definierter Entwicklungsstadien. Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität zu Köln.
- Misra, A.N., A. Srivastava & R.J. Strasser. 2001. Utilization of fast chlorophyll a fluorescence technique in assessing the salt/ion sensitivity of mung bean and *Brassica* seedlings. *Journal of Plant Physiology* 158: 1173-1181.
- Mitani, M., T. Katsurada, Y. Wakamatsu & Y. Yoshioka. 2003. Density Functional Study on the Highest and Lowest Spin States of [Mn<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>8</sub>]<sup>q+</sup> (q = 0,2,4). Internet Electronic Conference of Molecular Design: 1-11.
- Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7: 405-410.
- Mohr, H. & P. Schopfer. 1992. Physiologie der Stressresistenz. pp. 565-594. *In*: H. Mohr & P. Schopfer (ed.) *Pflanzenphysiologie*, Springer-Verlag Berlin.

- Morita, S., H. Kaminaka, T. Masumura & K. Tanaka. 1999. Induction of rice cytosolic ascorbate peroxidase mRNA by oxidative stress: the involvement of hydrogen peroxide in oxidative stress signalling. *Plant and Cell Physiology* 40: 417-422.
- Müller, F. 1986. *Phytopharmakologie - Verhalten und Wirkungsweise von Pflanzenschutzmitteln*. Ulmer, Stuttgart.
- Nakano, Y. & K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
- Neubauer, C. & U. Schreiber. 1987. The polyphasic rise of chlorophyll fluorescence upon onset of strong continuous illumination .1. Saturation characteristics and partial control by the photosystem-II acceptor side. *Zeitschrift für Naturforschung* 42: 1246-1254.
- NLfB. 2004. Lage und Charakterisierung der Bodendauerbeobachtungsflächen in Niedersachsen. Niedersächsisches Landesamt für Bodenforschung, Geozentrum Hannover.
- Nouchi, I. 1993. Changes in antioxidant levels and activities of related enzymes in rice leaves exposed to ozone. *Soil Science and Plant Nutrition* 39: 309-320.
- Oerke, E.-C. & U. Steiner. 2003. Wie funktionieren Fungizide? *Kurier online*.
- Peever, L. & V. Higgins. 1989. Electrolyte leakage, lipoxygenase and lipid peroxidation induced in tomato leaf tissue by specific and non-specific elicitors of *Cladosporium fulvum*. *Plant Physiology* 90: 867-875.
- Pellinen, R.I., M.-S. Korhonen, A.A. Tauriainen, E.T. Palva & J. Kangasjärvi. 2002. Hydrogen peroxide activates cell death and defense gene expression in birch. *Plant Physiology* 130: 549-560.
- Prigge, G. 2005. Power für Ihr Getreide. *Ecomatic*: 7-14.
- Rad v., U., C. Langebartels & J. Durner. 2003. Wie Pflanzen sich schützen. [http://www0.gsf.de/biop/aktuelle\\_berichte/archiv/pflanzenschuetzen\\_no.htm](http://www0.gsf.de/biop/aktuelle_berichte/archiv/pflanzenschuetzen_no.htm).
- Rao, M.V., J.R. Koch & K.R. Davis. 2000. Ozone: a tool for probing programmed cell death in plants. *Plant Molecular Biology* 44: 345-358.
- Richter, G. 1998. *Stoffwechselphysiologie der Pflanzen. Physiologie und Biochemie des Primär- und Sekundärstoffwechsels*. Thieme.
- Richter, M. Die Starklichtregulation von Photosystem II. <http://iabserv.biologie.uni-mainz.de/iab/Richter/forschung/starklichtregulation.htm>.
- Salin, M. 1987. Toxic oxygen species and protective systems of chloroplasts. *Physiologia Plantarum* 72: 681-689.
- Sautter, C. 2000. Verhalten von transgenen KP4-Weizen Varietäten im Feld. Kleinflächiger Feldversuch zur Abschätzung der Biosicherheit von transgenem Weizen unter natürlichen Bedingungen. Institut für Pflanzenwissenschaften, ETH Zürich.
- Scandalios, J.G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiology* 101: 7-12.

- Schansker, G., S.Z. Toth & R.J. Strasser. 2005. Methylviologen and dibromothymoquinone treatments of pea leaves reveal the role of photosystem I in the Chl a fluorescence rise OJIP. *Biochimica et Biophysica Acta* 1706: 250-261.
- Schinner, K. 1997. Weiterentwicklung und Einsatz der Fluoreszenz-Clamp-Methode für Elektronenflußvergleiche in der Photosynthese. Diplomarbeit der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.
- Schinner, K. 2001. Signalanalyse der Austauschvorgänge zwischen Photosynthese und Respiration in Hinblick auf die stickstoffformabhängige Lichtstreßresistenz. Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität Kiel.
- Schnitzler, J.P., K. Bachmann, I. Zimmer & M. Smieszek. 1998. Pflanzenphysiologische Begleituntersuchungen über die Ursachen nichtparasitärer Blattverbräunungen bei der Gerste Bayerisches Klimaforschungsprogramm BayFORKLIM, Abschlußbericht zum Projekt "13.2".
- Schönfelder, U. 1999. Der Einfluß von Cholesterol auf die UV-induzierte Peroxidation der Lipide der menschlichen Stratum corneum. Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.
- Schreiber, U. & W. Bilger. 1994. Chlorophyll fluorescence as a nonintrusiv indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. pp. 49-70. *In*: E.D. Schulze & M.M. Caldwell (ed.) *Ecophysiology of photosynthesis, Ecological studies.*, Springer, Berlin.
- Schreiber, U. & C. Neubauer. 1987. The ployphasic rise of chlorophyll fluorescence upon onset of strong continuous illumination. 2. Partial control by the photosystem II donor side and possible ways of interpretation. *Zeitschrift für Naturforschung* 42: 1255-1264.
- Shigeoka, S., T. Ishikawa, M. Tamoi, Y. Miyagawa, T. Takeda, Y. Yabuta & K. Yoshimura. 2002. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of Experimental Botany* 53: 1305-1319.
- Siefert, F. & K. Grossmann. 1995. Epoxiconazol stimuliert pflanzeneigene Abwehrenzyme gegen phytopathogene Mikroorganismen in Weizen. *Gesunde Pflanzen* 47: 175-178.
- Siefert, F. & K. Grossmann. 1996. Nichtfungizide Nebenwirkungen von Triazolverbindungen am konkreten Beispiel des Triazolfungizides Epoxiconazol. *Gesunde Pflanzen* 48: 224-230.
- Simioniuc, F. & B. Honermeier. 2003. Untersuchungen zur ertragsphysiologischen Wirkung der Fungizidapplikation beim Sommerweizen (*T.aestivum*) in einem Gefäßversuch. *Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften* 15: 179-182.
- Smidt, S. 2004. Waldschädigende Luftverunreinigungen. BWF-Dokumentation 2.
- Srivastava, A., B. Guissé, H. Greppin & R.J. Strasser. 1997. Regulation of antenna structure and electron transport in Photosystem II of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll a fluorescence transient: OKJIP. *Biochimica et Biophysica Acta* 1320: 95-106.

- Stirbet, A.D., Govindjee, B.J. Strasser & R.J. Strasser. 1998. Chlorophyll a fluorescence induction in higher plants: modelling and numerical simulation. *Journal of theoretical Biology* 193: 131-151.
- Strasser, B.J. 1997. Donor side capacity of photosystem II probed by chlorophyll a fluorescence transients. *Photosynthesis Research* 52: 147-155.
- Strasser, B.J. & R.J. Strasser. 1995. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP-test. pp. 977-980. *In: P. Mathis (ed.) Photosynthesis: From Light to Biosphere*, Kluwer Academic Publishers.
- Strasser, R.J. 1978. The grouping model of plant photosynthesis. pp. 513-524. *In: G. Akoyunoglou (ed.) Chloroplast Development*, Elsevier/North Holland.
- Strasser, R.J. 1985. Dissipative Strukturen als thermodynamischer Regelkreis des Photosyntheseapparates. *Ber. Deutsch. Bot. Ges. Bd. 98*: 53-72.
- Strasser, R.J. 2001. Analysis of fluorescence transient.: 1-47.
- Strasser, R.J. & Govindjee. 1992. On the O-J-I-P fluorescence transient in leaves and D1 mutants of *Chlamydomonas Reinhardt* II. pp. 29-32. *In: N. Murata (ed.) Research in Photosynthesis, Vol. II*, Kluwer Academic Publishers.
- Strasser, R.J., A. Srivastava & M. Tsimilli-Michael. 1999. Screening the vitality and photosynthetic activity of plants by the fluorescence transient. pp. 72-115. *In: R.K. Behl, M.S. Punia & B.P.S. Lather (ed.) Crop improvement for food security.*, SSARM, Hisar, India.
- Strasser, R.J., A. Srivastava & M. Tsimilli-Michael. 2000. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. pp. 443-480. *In: M. Yunus, U. Pathre & P. Mohanty (ed.) Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaption*, Taylor & Francis, London, GB.
- Strasser, R.J. & A. Stirbet. 2001. Estimation of the energetic connectivity of PS II centres in plants using the fluorescence rise O-J-I-P fitting of experimental data to three different PS II models. *Mathematics and Computers in Simulation* 56: 451-461.
- Strasser, R.J., M. Tsimilli-Michael & A. Srivastava. 2004. Analysis of the chlorophyll a transient. pp. 321-362. *In: G. Papageorgiou & Govindjee (ed.) Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*, *Advances in Photosynthesis and respiration*, Kluwer Academic Publishers.
- Susplugas, S., A. Srivastava & R.J. Strasser. 2000. Changes in the photosynthetic activities during several stages of vegetative growth of *Spirodela polyrhiza*: Effect of chromate. *Journal of Plant Physiology* 157: 503-512.
- Sutherland, M.W. 1991. The generation of oxygen radicals during host/plant responses to infection. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 39: 79-93.
- Tesche, M. 1995. Stress bei Pflanzen: Allgemeine und historische Aspekte. pp. 418-426. *In: B. Hock & E.F. Elstner (ed.) Schadwirkungen auf Pflanzen*, 3. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, Oxford.
- Testa, A.C. Jablonski diagram. <http://facpub.stjohns.edu/~testaa/jablonski.html>.

- Tiedemann, A.v. 1993. Zur Schädigung landwirtschaftlicher Nutzpflanzen durch Ozon: Schadsymptome und Einfluß auf pilzliche Blattkrankheiten am Beispiel des Weizens. Cuvillier Verlag Göttingen.
- Tiedemann, A.v. 1997. Evidence for a primary role of active oxygen species in induction of host cell death during infection of bean leaves with *Boytritis cinerea*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 50: 151-166.
- Tiedemann, A.v. & B. Pfähler. 1994. Growth stage-dependent effects of ozone on the permeability for ions and non-electrolytes of wheat leaves in relation to the susceptibility to *septoria nodorum* Berk. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 45: 153-167.
- Tiedemann, A.v. & Y.-X. Wu. 2001. Sauerstoffstress in Blättern. *DLG-Mitteilungen* 2: 40-42.
- Torres, M.A., J.D.G. Jones & J.L. Dangl. 2006. Reactive oxygen species signaling in response to pathogens. *Plant Physiology* 141: 373-378.
- Toth, S.Z., G. Schansker, J. Kissimon, L. Kovacs, G. Garab & R.J. Strasser. 2005. Biophysical studies of photosystem II-related recovery processes after a heat pulse in barley seedlings (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Plant Physiology* 162: 181-194.
- Trepte, S. & P. Winkler. 2002. Langfristige Veränderungen von relevanten meteorologischen Parametern mit Bezug zur solaren Strahlung am Hohenpreißenberg. *Deutscher Wetterdienst, Arbeitsergebnisse Nr. 73*.
- Trissl, H.-W. & C. Wilhelm. 1993. Why do thylakoids membranes from higher plants form grana stacks? *Trends in Biochemical Science* 18: 415-419.
- Udilova, N. 1999. Vergleichende Untersuchung von Methoden zum Nachweis von Superoxidradikalen in biologischen Modellsystemen. Dissertation der Humboldt-Universität Berlin.
- Uni-Halle. 2002. Bewertung der Bor- und Zink-Gehalte im Ackerland. [www.landw.uni-halle.de/lufa-lsa/themen/duengung/richtwerte/tab9.htm](http://www.landw.uni-halle.de/lufa-lsa/themen/duengung/richtwerte/tab9.htm).
- Vass, I., S. Styring, T. Hundal, A. Koivuniemi, E.-M. Aro & B. Andersson. 1992. Reversible and irreversible intermediates during photoinhibition of photosystem II: Stable reduced  $Q_A$  species promote chlorophyll triplet formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89: 1408-1412.
- Veeranjaneyulu, K., M. Charland, D. Charlebois & R.M. Leblanc. 1991. Photoacoustic study of changes in the energy storage of photosystem I and II during state 1-state 2 transitions. *Plant Physiology* 97: 330-334.
- Voegele, R.T. Pflanzliche Resistenz. <http://www.uni-konstanz.de/FuF/Bio/AGMendgen/Biologie/teach5sem.htm>.
- Voet, D. & J.G. Voet. 1992. Kap. 22. pp. 586-618 *Biochemie*, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim.
- Vranová, E., D. Inzé & v. Breusegem, F. 2002. Signal transduction during oxidative stress. *Journal of Experimental Botany* 53: 1227-1236.

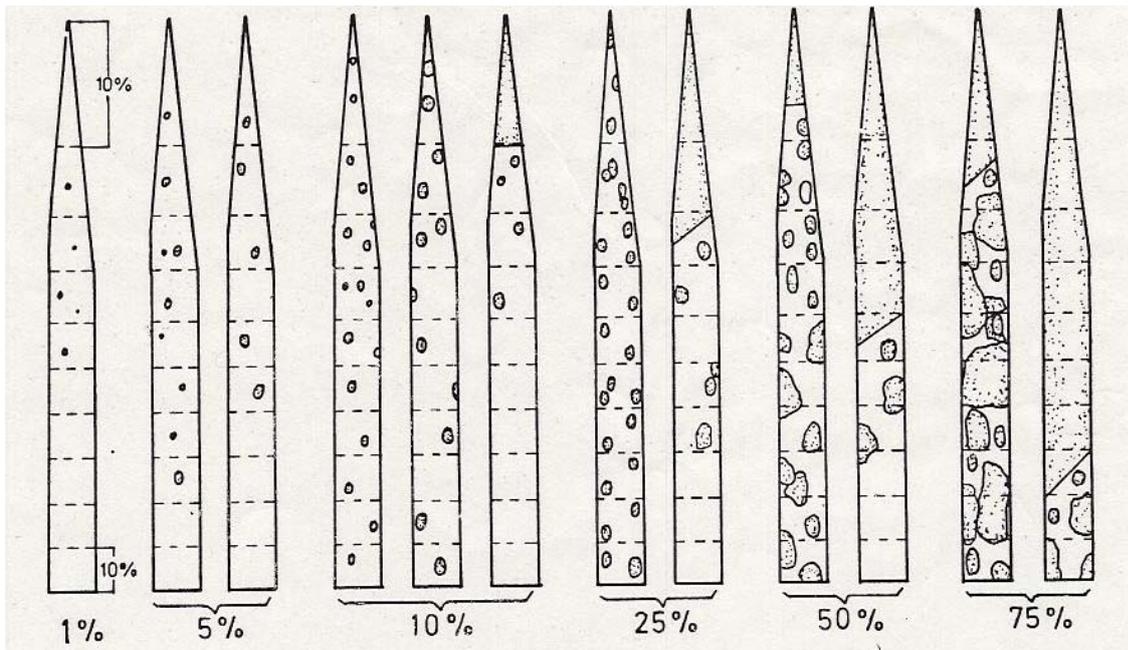
- Wassmann, S. 2002. Totalsynthese von Fungiziden des Melithiazol C-Typs. Dissertation der Gemeinsamen Naturwissenschaftlichen Fakultät der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina, Braunschweig.
- Weiss, D. Fluoreszenz. <http://www2.uni-jena.de/chemie/institute/oc/weiss/fluoreszenz.htm>.
- Whitmarsh, J. & Govindjee. The photosynthetic process. pp. 11-51. *In: G.S. Singhal, G. Renger, S.K. Sopory, K.-D. Irrgang & Govindjee (ed.) Concepts in photobiology: Photosynthesis and photomorphogenesis*, Narosa Publishers / New Delhi and Kluwer Academic / Dordrecht.
- Willekens, H., S. Chamnongpol, M. Davey, M. Schraudner, C. Langebartels, M. van Montagu, D. Inzé & W. van Camp. 1997. Catalase is a sink for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and is indispensable for stress defence in C<sub>3</sub> plants. *The EMBO Journal* 16: 4806-4816.
- Wolber, D.M. 2003. Rundumschutz ist sicher, aber oft nicht wirtschaftlich. *top agrar* 1: 74-81.
- Wu, Y.-X. 2001. Impacts of modern fungicides on the oxidative / antioxidant status in wheat and barley: Potential role in senescence, environmental stress tolerance and unspecific necroses. Dissertation of the Faculty of Agriculture and Environmental Sciences, University of Rostock.
- Wu, Y.-X. & A.v. Tiedemann. 2002. Impact of fungicides on active oxygen species and antioxidant enzymes in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) exposed to ozone. *Environmental Pollution* 116: 37-47.
- Wu, Y.-X. & A.v. Tiedemann. 2004. Light-dependent oxidative stress determines physiological leaf spot formation in barley. *Phytopathology* 94: 584-592.
- Wu, Z.-Q. & Y.-X. Wu. 1990. Effects of copper and zinc on growth and superoxide dismutase activity of rice seedlings. *Acta Phytophysiologica Sinica* 16: 139-146.
- Yruela, I. 2005. Copper in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17: 145-146.
- Zahn, M. 2005. Pflanzenphysiologische Untersuchungen der nichtparasitären Blattverbräunung der Sommergerste *Hordeum vulgare* L. Dissertation der Fakultät für Biologie der Universität Freiburg im Breisgau, Institut für Meteorologie und Klimaforschung.
- Zimmermann, P. & U. Zentgraf. 2004. Der Zusammenhang zwischen oxidativem Stress und Blattseneszenz während der Entwicklung von Pflanzen. *Gesunde Pflanzen* 56: 208-217.

## 7. Anhang

Sorte	Qualitäts- gruppe	Züchter / Vertrieb	Reifezeit	Festigkeit gegen			Verwendung der Sorten		
				Mehltau	Blatt- septoria	DTR	Bonitur NOM	Moni- toring D	Feldver- such GÖ
Akteur	E	DSV / IG-Pflanzenzucht	m	++	-	-	x		
Bussard		Lochow-Petkus	m	o	-	-	x		
Empire		Schweiger / Nickerson	sp	o	+	-	x		
Privileg		Eger / BayWa	msp	+	+	o	x		
Akratos	A	Strube/SU	m	+	+	o	x		
Alitis		Späth / Saaten-Union	m	+	o	o	x		
Batis		Strube / Saaten-Union	m	o	+	o	x		x
Cubus		Lochow-Petkus	mfr	++	-	o	x		
Elvis		Breun / BayWa	msp	+	+	-	x		
Gaston		Streng / IG-Pflanzenzucht	msp	o	+	o	x		
Magnus		Engelen / IG-Pflanzenzucht	msp	-	+	+	x	x	
Sobi		Breun / BayWa	m	++	+	-	x		
Tiger		Franck / IG-Pflanzenzucht	m	o	o	o	x		
Tommi		Nordsaat / Saaten-Union	msp	++	+	-	x	x	
Türkis		SW Seed	m	++	+	-	x		
Buteo	B	Lochow-Petkus	m	+	o	-	x		
Campari		DSV / IG-Pflanzenzucht	msp	+	o	-	x		
Dekan		Lochow-Petkus	m	++	+	o	x		
Drifter		Nickerson	m	+	--	-	x		x
Ephoros		Strube / Saaten-Union	m	o	o	<sup>1)</sup>	x		
Grommit		Monsanto	m	o	o	<sup>1)</sup>	x		
Hybrid		Hybritech / Saaten-Union	msp	++	o	o	x		
Limes		Cebeco	msp	o	o	-	x		
Ritmo		Cebeco	msp	-	-	--	x	x	x
Skater		Nickerson	m	+	o	o	x	x	
Solitär		Schweiger / IG-Pflanzenzucht	msp	++	++	+	x		
Striker		Nickerson	msp	+	+	o	x		
Terrier		Nickerson / SW Seed	msp	--	o	o	x	x	
Tulsa		Eckendorf / Saaten-Union	msp	++	+	o	x		
Winnetou	C	Firlbeck / IG-Pflanzenzucht	m	-	o	o		x	

m = mittel    msp = mittelspät    mfr = mittelfrüh    sp = spät    x = findet Verwendung  
o = durchschnittlich    + = überdurchschnittlich    - = unterdurchschnittlich    <sup>1)</sup> = noch nicht eingestuft bzw. ermittelt

Anhang Abbildung 1: In der Arbeit aufgeführte Winterweizensorten mit Qualitätsstufe, Züchter, Reifezeit, Festigkeit gegen Mehltau, Blattseptoria und DTR. Außerdem ist die Verwendung der Sorten in der Arbeit aufgezeigt.



Anhang Abbildung 2: Bonitur von PLS prozentual der Blattfläche in Anlehnung an Brooks (1969) aufgeführter Blattschädigung

## Danksagung

Ein ganz besonderer Dank gilt meinem „Doktorvater I“ Prof. Dr. A. von Tiedemann, der mir durch die Überlassung des Themas und der gewährten Freiheit bei der Durchführung dieser Arbeit ermöglichte, grenzüberschreitend zu arbeiten. Dies führte mich zu meinem „Doktorvater II“ Prof. Dr. R. J. Strasser von der Universität Genf, dem mein herzlichster Dank gilt, da er mir während der Erstellung meiner Dissertation mit Rat und Tat zur Seite gestanden hat, wo immer er sich auch in der Welt aufhielt.

Großer Dank gebührt Dr. Birger Koopmann für seine hilfreichen Anregungen sowie die Unterstützung bei der Durchsicht meiner Arbeit.

Dr. Achim Dickmanns danke ich ganz besonders herzlich für die gute und freundschaftliche Betreuung meiner Arbeit und der steten Diskussions- und Hilfsbereitschaft.

Besonderer Dank geht an Dr. G. Schansker von der Universität Genf für das Korrekturlesen und die wichtigen Anregungen und Hilfestellungen.

Vielen Dank an „meine Azubi´ne“ Ines Mosebach, mit der ich viele unterhaltsame Stunden nicht nur im Labor verbracht habe.

Weiter danke ich der Firma BASF für die Bereitstellung von fungiziden Wirkstoffen und der finanziellen Unterstützung des Projekts. Großer Dank gebührt Dr. G. Prigge für die gute und erfolgreiche Zusammenarbeit am Thema über die gesamte Zeit hinweg. Bei den Versuchstechnikern der BASF bedanke ich mich für die Unterstützung im Monitoring, die zum Teil künstlerisch geschnürten Pflanzenpakete regten zum Staunen an.

Meinen ehemaligen Kollegen der Landwirtschaftskammer Hannover, Bezirksstelle Northeim, danke ich für das entgegengebrachte Vertrauen, die Weizensorten der Landessortenversuche regelmäßig beobachten zu dürfen.

Hubertus Reintke und Frank Gremmes danke ich ganz besonders für die Unterstützung bei der Anlage und Durchführung der Feldversuche.

Vielen Dank an Eugen Hodyl und Evelin Vorbeck für die immer gewährte Hilfsbereitschaft bei jeglichen Problemen in Gewächshausversuchen und den Mitarbeitern der Werkstatt für viele kleinere und größere prompt ausgeführte Reparaturen.

Allen derzeitigen und ehemaligen Mitarbeitern danke ich für das angenehme Arbeitsklima, die netten Mittagspausen, Fußballspiele und Doppelkopfabende, die einen herrlichen

Ausgleich zum Arbeitsalltag dargestellten. Auch mein Mitwirken am „Film-Film 2003“ mit dem Titel: Blattflecken an Gerste – Pilzkrankheit oder Stress, bildete eine interessante Abwechslung.

Dank all den Freunden und Verwandten, die hier nicht namentlich erwähnt sind, aber die nicht weniger in ihrer Unterstützung geschätzt wurden.

Zum Schluss danke ich von ganzem Herzen meinen Eltern und meinem Bruder für die Geduld und die Unterstützung, und meinen Katzen für die kleinen netten Aufmerksamkeiten an den vielen Computer-Tagen.