

Genetische Variabilität von Sommergerste unter Trockenstress in einem Rain Out Shelter

Genetic variability of spring barley concerning resistance to drought stress under a rain out shelter

Gabriela Reichenberger^{1*}, Chris-Carolin Schön² und Markus Herz¹

Abstract

As tolerance against drought stress becomes more and more an important challenge for breeders, it is necessary to identify and validate methods to screen and select for resistance to drought stress in barley. For this purpose a collection of 74 spring barley accessions was tested for the variability of important physiological parameters as chlorophyll content in green leaves, canopy temperature, carbon isotope discrimination and different agronomic parameters as protein content, thousand kernel weight, yield etc. Under drought stress, simulated in a rain out shelter, genotypes show significant differences concerning most of these parameters. Stress was set at the heading of the plants. In a second trial the barley genotypes were chemically treated with a 5% potassium iodide solution to induce drought stress under the conditions of a breeder's nursery. The so called chemical desiccation is an easy and cost efficient way to simulate drought stress. In comparison with the data of the desiccation under the rain out shelter it is possible to show correlations between these two different experiments. For genetic studies a couple of SNP markers are used to assess polymorphism between the barley cultivars. At the end of the project an association mapping approach will be performed to identify correlations between the genotype and the phenotype under drought stress.

Keywords

Association study, carbon isotope discrimination, chemical desiccation, tensiometer

Einleitung

Durch die ständig wachsende Weltbevölkerung ist es notwendig, immer mehr Nahrungsmittel zu produzieren. Aufgrund der begrenzten Anbaufläche müssen die Erträge der bebauten Flächen gesteigert werden. Daraus folgt, dass Verlustquellen, die den Ertrag senken minimiert werden müssen.

Eine ernst zu nehmende Bedrohung stellt der Klimawandel dar. Die Sommer werden zunehmen wärmer und weniger Niederschlagsreich. Einen Vorgeschmack lieferte der

heiße Sommer 2003. Das Pflanzenwachstum war in diesem Sommer in Europa um rund ein Viertel reduziert. Der von Versicherungswirtschaftlern geschätzte durchschnittliche Wertverlust durch diese Dürreperiode liegt in Deutschland bei rund 1,3 Mrd. Euro. Dieser Verlust muss letztendlich von den Verbrauchern durch erhöhte Lebensmittelpreise getragen werden (BRONOLD et al. 2009).

Da Pflanzen zum Großteil aus Wasser bestehen, muss eine ausreichende Wasserversorgung gewährleistet sein. So enthält das Protoplasma im Durchschnitt 80-95% Wasser. Es ist verständlich, dass ein geregelter Stoffwechsel nur bei ausreichender Wasserversorgung ablaufen kann (STEU-BING und SCHWANTES 1987). Ist eine Pflanze nicht ausreichend mit Wasser versorgt und leidet dadurch unter Trockenstress, führt das zu schwerwiegenden Auswirkungen in verschiedensten Stoffwechselwegen. Die erste Reaktion von Pflanzen, Trockenstress entgegenzuwirken, besteht darin, die Stomata zu schließen um weiteren Wasserverlust durch Transpiration zu vermeiden. Infolge dessen kann kein Gasaustausch mehr stattfinden, was zu einer sinkenden CO₂-Assimilation und letztendlich aufgrund verminderter Photosyntheseleistung, Energieabgabe in Form von Wärme, Chlorophyllabbau und der Nichtbildung von Assimilaten zu reduziertem Pflanzenwachstum führt (RAGHAVENDRA und SAGE 2011).

Je nach Zeitpunkt des Trockenstresses (früh: vor der Blütezeit; spät: während und nach der Blütezeit) reagieren die Pflanzen auf unterschiedliche Art und Weise. Bei frühem Stress ist die effektivste Lösung den Stress zu umgehen die „phänologische Flucht“ (REYNOLDS et al. 2005). Dabei verkürzt die Pflanze die Wachstumsperiode und beginnt früher mit der Blütezeit. Bei spätem Stress ist es fraglich, ob die Pflanzen durch die Veränderung von *Ppd* und *Vrn* Allelen den Zeitpunkt des Ährenwachstums verzögern. Dies resultiert in phänologischen Veränderungen, die mit einer erhöhten Trockenstressgewöhnung einhergehen (REYNOLDS et al. 2005).

Um auf Trockenstress selektieren zu können müssen zunächst relevante Selektionsmerkmale identifiziert werden. Darunter fallen phänologische, morphologische und physiologische Eigenschaften der Pflanzen. Um diese Merkmale auch in großen Populationen erfassen zu können, sollten

¹ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, am Gereuth 6, D-85354 FREISING

² Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung, TU München, Emil-Ramann-Straße 4, D-85354 FREISING

* Ansprechpartner: Gabriela REICHENBERGER, gabriela.reichenberger@lfl.bayern.de



die technischen Methoden einfach umzusetzen, schnell durchführbar und finanziell vertretbar sein. Diese Anforderungen gelten allgemein für alle Selektionsmerkmale. In der Pflanzenzüchtung wird bei der Selektion auf Trockenstress häufig nur auf ein Merkmal selektiert, da die Betrachtung mehrerer Merkmale oft sehr zeitaufwendig und kostenintensiv ist. Um effektiv auf Trockenstresstoleranz zu züchten ist die Beobachtung mehrerer Merkmale unabdingbar, da die Beobachtung eines einzelnen Merkmals keine zuverlässigen Ergebnisse liefert. Das kommt daher, dass sich die Merkmalsausprägung infolge von Wassermangel und je nach Stressintensität und -dauer, sowie dem Alter der Pflanze und unter anderen Umweltbedingungen ändert.

Verminderte Wasseraufnahme aus dem Boden führt auch zu verminderter Nährstoffaufnahme. Dabei lässt sich der N-Gehalt in den Pflanzen leicht durch sogenannte N-Tester wiedergeben. Durch eine Transmissionsmessung kann der Chlorophyllgehalt in grünen Blättern abgeschätzt werden. Über das Erlangen von Informationen über die Messmethodik, die phänotypische Reaktion der Pflanzen auf Trockenstress, sowie Informationen über die Genetik der Pflanzen soll es über Kreuzung und Selektion gelingen die Grundlage für leistungsfähige neue Sorten bereit zu stellen.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial und Feldversuche

Die vorliegende Studie an Sommergerste wurde in drei aufeinanderfolgenden Jahren von 2009 bis 2011 mit 57 bzw. 78 Sorten und Stämmen durchgeführt. Das Sortiment setzt sich aus Sorten unterschiedlichster Herkunft zusammen. Die meisten Sorten stammen aus Deutschland, darunter sind viele alte deutsche Sorten. Ein Großteil des Sortiments stammt aus Ländern mit trockenen und heißen Sommern. Weiter sind DH-Linien, einige Nacktgersten und Sorten und Stämme von bayerischen Züchtern ausgewählt worden (*Tabelle 1*).

Um einen Vergleich zwischen trockengestressten und nicht gestressten Pflanzen sicherzustellen wurde das gesamte Sortiment in verschiedenen Umwelten unter unterschiedlichen Bedingungen angebaut.

Tabelle 1: Herkünfte der im Testsortiment enthaltenen Sorten
Table 1: Origin of the tested cultivars

Herkunft	Anzahl	Beispiele
Deutschland, darunter alte Sorten	36	Power, Steina Ursula
Von bayerischen Züchtern	13	Steward, Br8993a3
Länder mit heißen, trockenen Sommern	16	Mackay (AUS), Pamela Blue (ETH), Borema (BRA)
DHs aus Aspen×Arg. Mutante 6519	6	
Nacktgersten	5	Lotos, Lawina, Emperor
Standards (stressanfällig)	4 je Wh	Barke, Aspen

Tabelle 2: Beschreibung der Feldversuche

Table 2: Description of field trials (number of replications and varieties at each site/treatment)

Jahr	ROS		Kontrolle		Frankendorf		Strassmoos		Chemical Desiccation	
	Wh	Sorten	Wh	Sorten	Wh	Sorten	Wh	Sorten	Wh	Sorten
2009	3	78	2	72	2	78	2	78	2	40
2010	3	57	2	57	2	57	2	57	2	40
2011	3	78	2	78	2	78	2	78	2	78

Trockenstress wurde zum Einen unter natürlichen Bedingungen in einem Rain Out Shelter (ROS) simuliert, zum Anderen chemisch induziert. Bei dieser werden die Pflanzen unmittelbar nach dem Ährenschieben mit einer 5%igen Kaliumiodidlösung einmalig besprüht. Als Reaktion auf diese Behandlung schließen die Pflanzen ihre Stomata und nehmen kein weiteres Wasser aus dem Boden auf wodurch ein sogenannter chemischer Trockenstress induziert wird. Als unbehandelte Kontrolle wurde das Sortiment in unmittelbarer Nähe zum ROS (Kontrolle), in Frankendorf und in Strassmoos jeweils in zwei Wiederholungen angebaut. Die Wiederholungen wurden immer komplett randomisiert. In *Tabelle 2* sind die Anbauorte, die jeweiligen Wiederholungen pro Jahr und die Anzahl der Sorten dargestellt.

Die drei Vergleichsstandorte verfügen über unterschiedliche Bodeneigenschaften. Die Kontrolle verfügt über einen Boden, der es ermöglicht ausreichend Wasser zu speichern und zur Verfügung zu stellen. Strassmoos (StM) weist einen leichten, sandigen und sehr steinigen Boden auf. Dieser verfügt über eine schlechte Wasserspeicherkapazität. Frankendorf (FD) liegt im Erdinger Moos. Dieser Standort bietet einen schweren, humosen Boden mit hoher Wasserspeicherkapazität und ausgezeichneter Nährstoffversorgung. Der Boden auf dem das Rain Out Shelter errichtet ist besitzt eine hohe Wasserkapazität und verfügt über einen ausreichenden Nährstoffgehalt.

Rain Out Shelter

Das Rain Out Shelter (ROS, Rollgewächshaus) ist ein Folien- oder Rollgewächshaus, das mittels Rollen auf Schienen hin und her bewegt werden kann (*Abbildung 1*). Somit ist es möglich durch Sensoren das Haus bei Regen und starkem Wind über den Bestand zu fahren. Die Sensoren sind so programmiert, dass sich das Haus bei den ersten Regentropfen schließt bzw. über den Bestand fährt. Ebenso schließt sich das Haus bei einer Windgeschwindigkeit von $12\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ die Zeitdauer von 60 s anhalten muss.

Das Rollgewächshaus besitzt ein Eigengewicht von ca. 10 t und wird innerhalb von 180 s über den Bestand gefahren. Die Ausmaße des Hauses betragen $12\times 32\text{ m}$.



Abbildung 1: Rollgewächshaus (Rain Out Shelter)
Figure 1: Rain out shelter

Ergebnisse und Diskussion

Die Bodenfeuchte wurde mit Tensiometern gemessen. Diese wurden im ROS und in der unbehandelten Kontrolle nahe dem Rollgewächshaus in den Tiefen von 20, 40, 60, 80 und 100 cm installiert. Gemessen wurde drei Mal wöchentlich während der Vegetationsperiode.

Die Ergebnisse der Tensiometerauswertung sind in *Abbildung 2* dargestellt. Es wird repräsentativ nur die Tiefe von 60 cm dargestellt. Mit dargestellt ist die Bewässerung der Pflanzen zu Beginn der Vegetationsperiode. Tensiometerwerte werden in mbar angegeben. Aufgrund des gemessenen Unterdrucks sind diese Werte negativ. Liegt der Unterdruck zwischen -200 und -500 mbar wird von moderatem Trockenstress gesprochen. Ab einem Unterdruck von -500 mbar leiden Pflanzen unter sehr starkem Trockenstress. Wasser ist ab diesem Wert nur noch in Fein- und Feinstporen des Bodens enthalten und nicht mehr Pflanzenverfügbar. Dar-

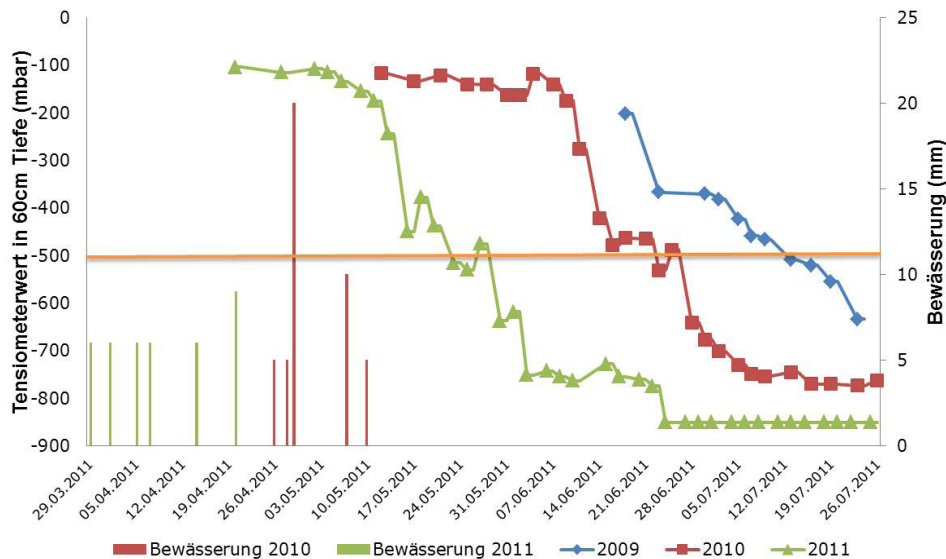


Abbildung 2: Tensiometerwerte in 60 cm Bodentiefe in den Jahren 2009 bis 2011 im ROS und Bewässerung in den einzelnen Jahren
Figure 2: Data of tensiometers in 60 cm soil depth in 2009, 2010 and 2011 in the ROS, and irrigation treatments in the three test years

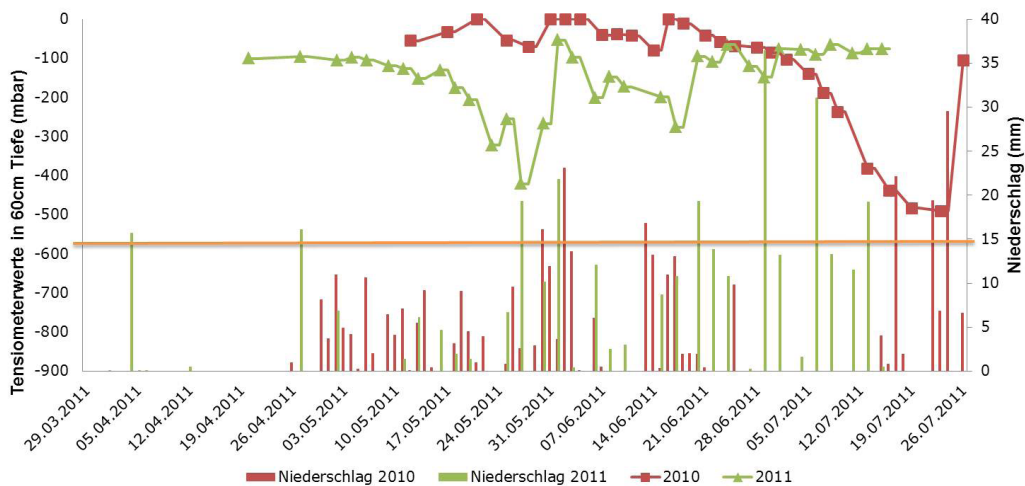


Abbildung 3: Tensiometerwerte in 60 cm Bodentiefe in den Jahren 2009 bis 2011 in der Kontrolle und Niederschläge während der Vegetationsperiode
Figure 3: Data of tensiometers in 60 cm soil depth in 2009, 2010 and 2011 in the the control environment, and precipitation during the growing period

gestellt ist dieser Wert durch die schwarze Linie in der *Abbildung*. In *Abbildung 2* ist die Verschiebung der Linien in den einzelnen Jahren deutlich zu erkennen. Es gelang jedes Jahr den Trockenstress zu einem früheren Zeitpunkt zu setzen. Ziel war es, zum Ährenschieben starken Trockenstress zu simulieren. Dies ist im Jahr 2009 nicht gelungen, da das Ährenschieben zwischen dem 4. und 20. Juni lag und starker Trockenstress erst ab 19. Juli gegeben war. Im Jahr 2010 gelang es bei einigen Sorten zum Ährenschieben Trockenstress zu erzeugen, da ab 21. Juni von starkem Trockenstress gesprochen werden kann und das Ährenschieben zwischen 9. und 28. Juni lag. Frühe Sorten hatten zum Ährenschieben noch keinen Stress. Dagegen gelang es im Jahr 2011 bei allen Sorten zum Ährenschieben starken Trockenstress zu erzeugen. Der Stresszeitpunkt konnte auf den 25. Mai gelegt werden während das Ährenschieben zwischen dem 23. Mai und dem 13. Juni lag.

Im Vergleich sind in *Abbildung 3* die Tensiometerwerte und Niederschläge in der Kontrolle dargestellt. Es ist deutlich zu erkennen, dass die Pflanzen über die gesamte Vegetationsperiode hinweg ausreichend mit Wasser versorgt waren. Ausgenommen einer ausgeprägten Trockenperiode im Jahr 2010 von Ende Juni bis Mitte Juli. Diese führte in Verbindung mit sehr hohen Temperaturen zu einer rapiden Austrocknung des zuvor mehr als ausreichend mit Wasser gesättigten Bodens.

Die Reaktion der Pflanzen auf die extremen Bedingungen im Jahr 2010 ist in *Abbildung 4* deutlich erkennbar. Abgebildet sind die SPAD Werte (Minolta SPAD-502 Chlorophyllmeter) gemittelt über alle Sorten an den jeweiligen Standorten im Verlauf eines Jahres.

Die Witterungsverhältnisse im Jahr 2010 führten dazu, dass die SPAD-Werte der Kontrolle deutlich niedriger sind als im ROS. Erkennbar ist dies bereits ab Ende Mai. Die starken Regenfälle in diesem Jahr wirken sich ebenso wie eine ausgeprägte Trockenheit auf den Chlorophyllgehalt der Pflanzen aus. Die chemisch behandelten Pflanzen reagieren

unmittelbar nach der Behandlung mit einem deutlichen Chlorophyllabbau. Dies ist auch im Jahr 2011 deutlich zu sehen. In diesem Jahr verhalten sich die Pflanzen der Kontrolle und des ROS erwartungsgemäß. Die Werte im ROS liegen deutlich unter den Werten der unbehandelten Kontrolle. Betrachtet man einzelne Sorten spiegelt sich dieses Bild wieder. Im Jahr 2011 nimmt die Zahl von Sorten zu, deren SPAD-Werte von ROS und chemischem Versuch vergleichbar sind. Dies spräche dafür, dass die *chemical desiccation* durchaus eine plausible Methode ist, um Trockenstress zu simulieren.

Jedoch müssen diese Ergebnisse noch bestätigt werden. Es scheint, als würden der Sorteneinfluss und die Witterung eine ausschlaggebende Rolle spielen. Deutliche Unterschiede zwischen gestressten und nicht gestressten Pflanzen sind auch in *Abbildung 5* zu sehen.

Dargestellt sind die Unterschiede zwischen den Pflanzen im ROS und den Pflanzen in den unbehandelten Kontrollen. Jede Spalte repräsentiert eine Sorte. Blau bedeutet, dass der Wert im ROS ist höher als am jeweiligen Kontrollstandort.

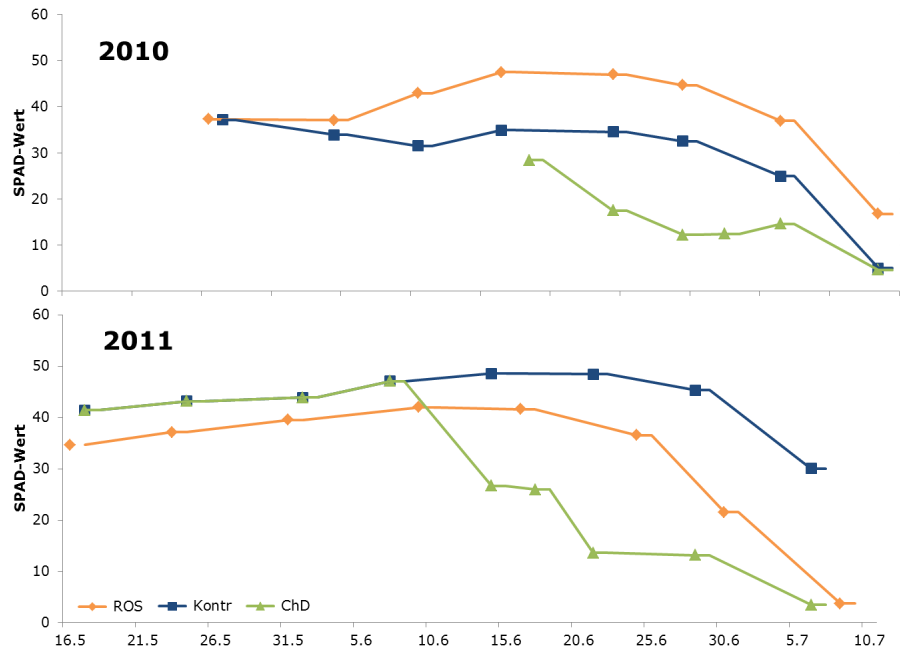


Abbildung 4: SPAD Mittelwerte über alle Sorten im ROS, der Kontrolle und der chemisch gestressten Variante im Verlauf der Vegetationsperiode (dargestellt sind die Jahre 2010 und 2011)

Figure 4: Mean SPAD measurements over all varieties in the ROS, the control and chemical desiccated variant (data are shown for 2010 and 2011)

Tabelle 3: Sorten- und Standortunterschiede an den jeweiligen Standorten bei ausgewählten Merkmalen

Table 3: Differences of environments and varieties with regard to different parameters

Merkmal ¹	Sorte						Sorte×Ort
	σ ² ROS	σ ² FD	σ ² K	σ ² StM	σ ² ChD	σ ²	
ÄS	**	**	**	**	**	**	**
PH	**	**	**	**	**	**	*
TKG	**	*	**	**	**	**	**
SPAD	*	*	**	**	*	n.s.	*
PROT	**	**	**	**	**	**	**

¹ ÄS, Ährenschieben; PH, Wuchshöhe; TKG, 1000 Korngewicht; PROT, Proteingehalt; **, signifikant bei $P < 0.01$; *, $P < 0.05$; n.s., nicht signifikant

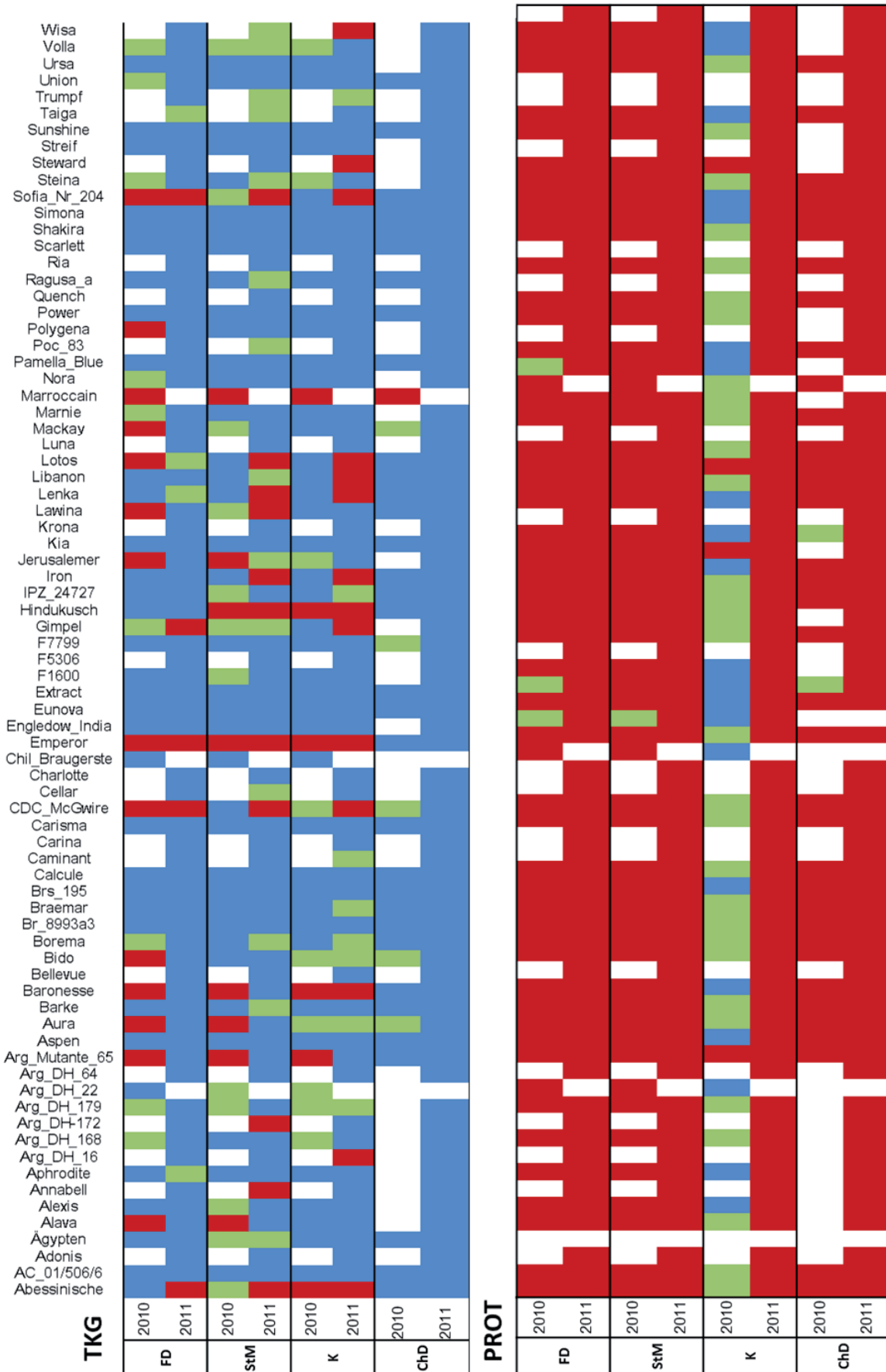


Abbildung 5: Qualitative Unterschiede von Tausendkorngewicht (TKG) und Proteingehalt im Korn (PROT) zwischen den Pflanzen im ROS und den Kontrollstandorten. Jede Spalte repräsentiert eine Sorte; blau: Wert im ROS höher; rot: Wert im ROS niedriger; grün: Werte im ROS gleich.

Figure 5: Qualitative differences of 1000 kernel weight (TKG) and protein content (PROT) between plants in the ROS and control environments. Each column represents one variety; blue: value in ROS higher; red: value in ROS lower; green: value in ROS similar.

Rot bedeutet, der Wert ist niedriger. Grün bedeutet, die Werte sind ähnlich. Es wird deutlich, dass das Tausendkorngewicht im ROS bei nahezu allen dargestellten Sorten höher ist als an den Kontrollstandorten. Im Gegensatz dazu sinken die Proteingehalte unter Trockenstress. Mit Ausnahme der Pflanzen in der Kontrolle 2010. Dies ist wie aus den Tensiometerwerten hervorgeht auf die nachteiligen Witterungsbedingungen zurückzuführen.

Die ersten statistischen Ergebnisse sind in folgender Tabelle aufgeführt. In *Tabelle 3* wird deutlich, dass an allen Standorten signifikante Sortenunterschiede erkennbar sind. Einzig die SPAD-Werte beim chemischen Versuch zeigen keine signifikanten Sortenunterschiede. Alle Sorten reagierten somit in gleicher Weise auf die Behandlung mit Kaliumiodid. Das wird in weiteren Auswertungen noch genauer untersucht.

Schlussfolgerung

Die Ergebnisse dieser Studie sind ermutigend für die weitere statistische Auswertung. Es sind deutliche Unterschiede bei einzelnen Merkmalen zwischen gestressten und nicht gestressten Pflanzen erkennbar. Das Jahr 2010 mit dem aufgetretenem Trockenstress in der Kontrolle stellt eine sehr gute Vergleichsmöglichkeit für den Versuch im Rain Out Shelter dar. Der Stress in dieser Kontrolle wurde nicht kontinuierlich herbeigeführt, sondern trat plötzlich auf. Die Pflanzen im Rollgewächshaus dagegen können sich kontinuierlich an den austrocknenden Boden gewöhnen. Daher vermutlich auch die besseren Werte bei vielen Parametern. Für eine umfassende statistische Auswertung sind ausreichend Daten vorhanden. Diese Daten werden in einer Assoziationsstudie unter Einbeziehung der Daten aus dem Jahr 2012 mit ca.

3500 SNP-Markern verrechnet, um trockenstressrelevante Genomregionen ausfindig zu machen. Um zu einer soliden Bewertung der Anwendbarkeit der einzelnen Messmethoden zu kommen, bedarf es weiterer experimenteller Ergebnisse zur Absicherung der Ergebnisse. Dies wird im Zuge der abschließenden Assoziationsstudie erfolgen.

Danksagung

Diese Studie wurde in enger Zusammenarbeit zwischen den Autoren und Volker Mohler, Günther Schweizer, und der AG Gerstenzüchtung an der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft sowie Prof. Urs Schmidhalter, Lehrstuhl für Pflanzenernährung, TUM Wissenschaftszentrum Weihenstephan durchgeführt. Die finanzielle Förderung erfolgte mit Mitteln des Bayerischen Staatsministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten.

Literatur

- RAGHAVENDRA AS, SAGE R, 2011: C₄ photosynthesis and related CO₂ concentrating mechanisms. *Advances in Photosynthesis and Respiration* 32. Springer Science+Business Media BV.
- BRONOLD B, HAVERKAMP S, MAYER-BOSSE A, SCHWARZ H, 2009: SystemAgro: Nachhaltige Ernteversicherung als Antwort auf den Klimawandel. *MUNICH RE Special and Financial Risks SFR Agro*.
- REYNOLDS MP, MUJEEB-KAZI A, SAWKINS M, 2005: Prospects for utilising plant-adaptive mechanisms to improve wheat and other crops in drought- and salinity-prone environments. *Ann Appl Biol* 146, 239-259.
- STEUBING L, SCHWANTES HO, 1987: *Ökologische Botanik: Einführung in die angewandte Botanik*. UTB, Stuttgart.

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält Abbildungen in Farbe und kann über die Homepage der Jahrestagung (<http://www.raumberg-gumpenstein.at/>) - Downloads - Fachveranstaltungen/Tagungen - Saatzüchertagung - Saatzüchertagung 2012) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.