

Diss. ETH Nr. 10789

**Zusammenhang zwischen der Resistenz gegen Braunrost
(*Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici*)
und der Ertragsbildung bei Winterweizen
(*Triticum aestivum* L.)**

ABHANDLUNG
Zur Erlangung des Titels
Doktors der Naturwissenschaften
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZÜRICH

vorgelegt von

SILVANO ORTELLI
Dipl. Ing. Agr. ETH
geboren am 13. September 1963
von Castel San Pietro (TI)

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. J. Nösberger, Referent
Prof. Dr. P. Stamp, Korreferent
Dr. M. Winzeler, Korreferent

Zürich 1994

INHALTSVERZEICHNIS

I	ZUSAMMENFASSUNG	1
II	SUMMARY	3
III	EINLEITUNG	5
IV	1. KAPITEL: Mikroskopische Untersuchungen über den Infektionsverlauf von Braunrost auf resistenten, nah isogenen Winterweizenlinien und ihrem anfälligen, rekurrenten Elter 'Arina'	7
V	2. KAPITEL: Kornertag und Source-Sink-Verhältnis von braunrostresistenten, nah isogenen Winterweizenlinien und ihrem anfälligen, rekurrenten Elter 'Arina'	21
VI	3. KAPITEL: Zusammenhang zwischen reduziertem Kornertag, Gaswechsel und Wurzelaktivität von braunrostresistenten, nah isogenen Winter- weizenlinien und ihrem anfälligen, rekurrenten Elter 'Arina'	35
VII	GESAMTDISKUSSION	48
VIII	SCHLUSSFOLGERUNGEN	52
IX	KONSEQUENZEN FÜR DIE ZÜCHTUNG	52
X	LITERATURVERZEICHNIS	53
	VERDANKUNGEN	59
	CURRICULUM VITAE	60

I ZUSAMMENFASSUNG

Resistente Sorten weisen beim Auftreten von Pilzkrankheiten ohne eine Fungizidbehandlung bedeutend höhere Erträge auf als anfällige. Tritt der Krankheitsbefall jedoch nicht auf, so ist der Ertrag der resistenten Zuchtstämme oft geringer als bei anfälligen. Ziel dieser Arbeit war es, die Ursachen des unterschiedlichen Ertragspotentials von resistenten bzw. anfälligen Pflanzen zu erfassen. Als Vergleichspflanzen wurde die Winterweizensorte 'Arina' als rekurrenter, anfälliger Elter und sechs ihrer braunrostresistenten, nah isogenen Linien (NIL's) aus zwei unabhängig voneinander entwickelten Rückkreuzungspopulationen gewählt. Die NIL's trugen das aus *Aegilops umbellulata* stammende Braunrostresistenzgen *Lr9*.

In einem ersten Teil der Arbeit wurde die Wirkung der rassenspezifischen Braunrostresistenz von *Lr9* untersucht. Keimpflanzen wurden dafür mit zwei Braunrostisolaten inokuliert, die auf *Lr9* avirulent waren. Der Infektionsverlauf und die Abwehrreaktionen wurden mit Hilfe der Epifluoreszenzmikroskopie beobachtet. Die Orientierung der Uredosporen-Keimschläuche und die Differenzierung des Appressoriums über den Spaltöffnungen war bei den anfälligen und resistenten Pflanzen vergleichbar. Die weitere Entwicklung des Braunrostes wurde auf dem anfälligen Wirt durch keine Abwehrreaktion gehemmt. Der Zuwachs der Haustorienmutterzellen (HMC) verlief exponentiell. Die Sporulation des Pilzes setzte 7 bis 8 Tage nach der Inokulation ein. Auf den resistenten NIL's starben die Wirtszellen in der Nähe der ersten Haustorienmutterzelle als Folge einer hypersensitiven Reaktion 24 bis 44 Stunden nach der Inokulation ab. Bevor das Wachstum des Pilzes zum Stillstand kam wurden nur wenige HMC pro Infektionsstelle gebildet. Dies zeigt, dass es sich bei *Lr9* nicht um eine morphologische oder funktionelle Resistenz, sondern um eine physiologische Resistenz handelt.

In zweijährigen Freilandversuchen an der Eidg. Forschungsanstalt für landw. Pflanzenbau Zürich-Reckenholz (FAP-Reckenholz) (440 m ü.M.) wurde die Ertragsbildung der braunrostanfälligen Sorte 'Arina' und ihrer NIL's verglichen. Die NIL's hatten eine gute, phänotypische Ähnlichkeit und eine ähnliche, phänologische Entwicklung wie ihr rekurrenter, anfälliger Elter 'Arina'. Zum Zeitpunkt der Blüte und der Milchreife war ihr oberirdischer Biomassenertrag mit dem von 'Arina' vergleichbar. Unterschiede in der TS-Produktion entstanden erst nach der Milchreife. Bei der Reife wiesen die NIL's einen um 5% bis 14% tieferen Kornerntrag auf als 'Arina' (58.8 q TS ha⁻¹). Im Durchschnitt betrug die Ertragsreduktion 11.5%. Der tiefere Ertrag der NIL's kam durch eine um 3% bis 11% kleinere Kornzahl pro Fläche und ein um 2% bis 7% kleineres Einzelkorngewicht zustande. Die Faktoren eines limitierten Kornwachstums wurden durch eine Begrenzung der Kornzahl pro Ähre und damit einer Reduktion der Sink-Kapazität untersucht. Ein kleineres Angebot an

Assimilaten und eine reduzierte Assimilateinlagerungsfähigkeit beeinträchtigten das Kornwachstum der NIL's.

Zur Untersuchung der Ursachen der tieferen Kornzahl pro Fläche und des reduzierten Korngewichts der NIL's wurde der Gaswechsel der Fahnenblätter nach dem Ährenschieben unter Feldbedingungen gemessen. Anhand einer Bodenapplikation der Markerelemente Rubidium (Rb) und Strontium (Sr) wurde die Wurzelaktivität von 'Arina' und ihren NIL's in unterschiedlichen Bodentiefen untersucht. Die braunrostresistenten NIL's wiesen am Vormittag eine zu 'Arina' vergleichbare Nettophotosyntheserate auf. Im Tagesverlauf nahm dagegen die CO₂-Assimilation der NIL's stärker ab als bei 'Arina'. Am Nachmittag assimilierten die NIL's je nach Entwicklungsstadium 7% bis 20% weniger als 'Arina'. Die Abnahme der Nettophotosyntheserate war bei der Kornfüllung sehr eng mit der Reduktion der stomatären Leitfähigkeit (g_s) korreliert. Die Reduktion der stomatären Leitfähigkeit hatte eine Reduktion des interzellulären CO₂-Gehaltes zur Folge. Dies deutete auf einen möglichen, kausalen Zusammenhang zwischen der Reduktion der stomatären Leitfähigkeit und der reduzierten CO₂-Assimilation hin. Die zwischen Schossen und Milchreife um 15.2% bis 20.3% kleinere Sr-Aufnahme (in 25 bis 40 cm Bodentiefe) und die bei der Milchreife um 12.4% kleinere Rb-Aufnahme (in 10 cm Bodentiefe) der NIL's im Vergleich zu ihrem rekurrenten, anfälligen Elter 'Arina' widerspiegelte eine reduzierte Wurzelaktivität. Diese könnte während Zeiten mit erhöhtem Wasserdampfdruck-Defizit für eine limitierte Wasserversorgung der oberirdische Biomasse verantwortlich gewesen sein. Die Reduktion der g_s könnte als typisches Zeichen eines Wasserstress direkt mit der kleineren Wurzelaktivität zusammenhängen. Eine beeinträchtigte Wasserversorgung und eine dadurch reduzierte CO₂-Assimilation kann das tiefere Ertragspotential der resistenten NIL's erklären. Die kleinen Unterschiede der ertragsbildenden Parameter innerhalb und zwischen den Rückkreuzungspopulationen zeigen, dass, falls "drag genes" für die Ertragsdepression verantwortlich sind, diese sehr eng gekoppelt mit *Lr9* vererbt werden. Es ist jedoch wahrscheinlich, dass *Lr9* einen direkten negativen Einfluss auf die Ertragsbildung hat.

II SUMMARY

Resistant wheat cultivars have higher yields than susceptible ones when exposed to fungal diseases without any fungicide treatment. However, in absence of the disease, resistant cultivars often have a reduced yield as compared to susceptible ones. The aim of this work was to investigate the causes of the different yield potential of resistant and susceptible cultivars. The winter wheat cultivar 'Arina' as the susceptible, recurrent parent and six of its leaf rust resistant near isogenic lines (NIL's) developed from two independent back-crossing populations were chosen as test plants. The NIL's carried the leaf rust resistant gene *Lr9* introduced from *Aegilops umbellulata*.

In the first part of this work, the effect of the race specific wheat leaf rust resistance gene *Lr9* on the disease development was investigated. Seedlings were inoculated with two leaf rust isolates avirulent on *Lr9*. Pathogenesis and host response was studied by means of epifluorescence microscopy. The orientation of uredospore germ tubes and appressoria differentiation over the stomata were similar on both susceptible and resistant plants. The development of the fungus in the susceptible host was not inhibited by any detectable host resistance reaction and exhibited an exponential production of the haustorial mother cells (HMC). Fungal sporulation took place 7 to 8 days after inoculation. Host cells of the resistant NIL's close to the HMC died 24 to 44 hours after inoculation due to a hypersensitive reaction. Before ceasing its growth, the fungus formed only few HMC. This shows that *Lr9* is a physiological type of resistance rather than a morphological or functional one.

Growth and yield parameters of the leaf rust susceptible cultivar 'Arina' and its resistant NIL's were compared during a field trial period of two years at the Swiss Federal Research Station for Agronomy in Zürich-Reckenholz (FAP-Reckenholz) (440 m above sea level). The NIL's and 'Arina' had a similar phenotypic and phenologic development. The above ground biomass of the susceptible and resistant plants was similar at anthesis and at milk ripeness. Differences in the dry matter production appeared only after milk ripeness. At maturity, the NIL's had a 5% to 14% lower grain yield than 'Arina' (58.8 q ha⁻¹ TS). The reduced yield was due to a 3% to 11% lower grain number and to a 2% to 7% lower single grain weight. The factors affecting the grain growth were investigated by reducing the grain number per ear. The grain growth of the NIL's was limited by both a lower assimilate supply and a lower sink capacity.

In order to study the causes of the reduced grain growth, the gas exchange of flag leaves was measured after ear emergence under field conditions. The root activity of 'Arina' and its NIL's was estimated by the application of the tracer elements Rubidium (Rb) and Strontium (Sr) at

two different soil depths. In the morning the net assimilation was similar for both 'Arina' and the leaf rust resistant NIL's. However, during the day CO₂ assimilation decreased more rapidly for the NIL's than for 'Arina'. In the afternoon, the NIL's had a 7% to 20% lower net assimilation than 'Arina' depending on the growth stage. The decrease of net assimilation was during grain filling closely related to the reduction of stomatal conductance leading to a drop in the intercellular CO₂ concentration. This suggested a possible causal relation between reduction of stomatal conductance and reduced CO₂ assimilation. A reduced root activity of the NIL's as compared to its susceptible, recurrent parent 'Arina' could be assessed by measuring the uptake of both tracer elements Rubidium and Strontium. The Strontium uptake of the NIL's at 25 to 40 cm depth was 15.2% to 20.3% lower than in 'Arina' (measured between stem elongation and milk ripeness). The Rubidium uptake of the NIL's at 10 cm depth was 12.4% lower than in 'Arina' (measured at milk ripeness). The reduced root activity could cause a limited water supply of the above ground biomass during periods with elevated water vapour pressure deficit. The reduction of stomatal conductance, typically indicating water stress conditions, might be caused by the reduced root activity. A limited water supply and the resulting drop in the CO₂ assimilation might explain the lower grain yield potential of the resistant NIL's. The little differences in yield parameters within and between the back-cross populations suggest that if any "drag genes" are responsible for yield reduction, they should be closely linked to the *Lr9* gene. It is however probable that the *Lr9* itself has a negative influence on yield formation.

III EINLEITUNG

In der Landwirtschaft, besonders im Getreidebau, wurden in den letzten Jahren hohe Anforderungen an einen umweltschonenden Anbau gestellt. Ein reduzierter Einsatz von chemischen Hilfsmitteln lässt sich im Brotgetreideanbau durch die Züchtung krankheitsresistenter Sorten erreichen. Die genetische Resistenz der Pflanze verkleinert dabei die durch Pflanzenpathogene bedingten Ertragsausfälle und sichert einen ökonomisch vertretbaren Ertrag. Resistenzzüchtung stellt daher die wichtigste Grundlage für neue ökologische Anbaumethoden wie die "integrierte Produktion" oder den "biologischen Landbau" dar.

Resistente Sorten weisen beim Auftreten von Pilzkrankheiten ohne eine Fungizidbehandlung bedeutend höhere Erträge auf als anfällige Sorten. Tritt die Krankheit jedoch nicht auf, so ist nach Erfahrungen der Getreidezüchter der Ertrag der resistenten Zuchtstämme oft geringer als jener anfälliger Sorten. Die Arbeiten von GRIFFEY und ALLAN (1986), THE *et al.* (1988) und KNOTT (1993) bestätigen den negativen Zusammenhang zwischen der Braun- bzw. Schwarzrostresistenz und der Ertragsleistung von Weizen. Obwohl diese Ertragsdepression mehrmals beschrieben wurde, blieben ihre ertragsphysiologischen Ursachen weitgehend unbekannt. Ziel dieser Arbeit war es, die Ursachen des unterschiedlichen Ertragspotentials von resistenten bzw. anfälligen Pflanzen zu erfassen. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse sollen dazu beitragen, die negative Korrelation zwischen Ertragsleistung und Krankheitsresistenz in der Züchtung zu überwinden.

Nah isogene Linien (NIL's) bilden ein gutes Modell zur Untersuchung der ertragsphysiologischen Unterschiede zwischen resistenten und anfälligen Getreidepflanzen. An der Eidg. Forschungsanstalt für landw. Pflanzenbau, Zürich-Reckenholz (FAP-Reckenholz) wurde 1979 ein umfangreiches Rückkreuzungsprogramm zur Entwicklung einer krankheitsresistenten Multilinie der Sorte 'Arina' gestartet (FRIED *et al.*, 1992). 'Arina' wurde während der 80-iger Jahre zur wichtigsten Brotgetreidesorte der Schweiz. Sie weist ausgezeichnete Backeigenschaften und eine gute Ertragsleistung auf. Sie ist aber anfällig gegen Braunrost. Nach McVEY (1992) trägt 'Arina' keines der wichtigsten Hauptresistenzgene gegen den Braunrost. Nach sieben Rückkreuzungen waren die braunrostresistenten NIL's morphologisch kaum von 'Arina' zu unterscheiden. Molekularbiologische Untersuchungen mit DNA-Markern haben gezeigt, dass sich das Genom der braunrostresistenten NIL's von demjenigen von 'Arina' nur minimal unterscheidet (SCHACHERMAYR *et al.*, 1994). Zwischen 'Arina' und den zwei untersuchten NIL's waren nur 4 bzw. 16 von rund 2'000 Banden unterschiedlich. Diese Resultate zeigen einen sehr hohen Grad an Isogenität zwischen 'Arina' und den braunrostresistenten NIL's. Das

Pflanzenmaterial eignete sich deshalb sehr gut für vergleichende ertragsphysiologische Untersuchungen. Für die vorliegenden Untersuchungen wurden 'Arina', als rekurrenter, anfälliger Elter und sechs braunrostresistente NIL's aus dem Rückkreuzungsprogramm der FAP-Reckenholz als Vergleichspflanzen ausgewählt. Die NIL's tragen das aus *Aegilops umbellulata* stammende Braunrostresistenzgen *Lr9* (MCINTOSH, 1988) und waren F8-Linien der siebten Rückkreuzung (R.L. 6010 / 7 * 'Arina'). In mehreren Ländern Europas, inklusive Schweiz, sind Virulenzen gegenüber diesem Gen nur selten aufgetreten (DENISSEN und VAN DER PUTTEN, 1991; POINSO and OLLIVIER, 1988; CASULLI und PASQUINI, 1992; STUCHLIKOVA, 1992; unveröffentlichte Ergebnisse der FAP-Reckenholz). *Lr9* bildet deshalb europaweit ein interessantes Hauptresistenzgen gegen Braunrost.

Im ersten Teil der Arbeit wurde die Auswirkung des *Lr9*-Gens auf den Infektionsverlauf von Braunrost mikroskopisch untersucht. Dabei wurden Faktoren, die zur Krankheitsresistenz führen, in Bezug auf ihre mögliche Wechselwirkung mit der Ertragsbildung diskutiert. Im zweiten Teil wurde das Ausmass der Ertragsdepression sowie der Unterschied der Ertragsparameter der NIL's und 'Arina' in Parzellenversuchen unter Feldbedingungen bestimmt. Anhand der Reduktion der Sink-Kapazität, durch Beschränkung der Kornzahl pro Ähre, wurden die Faktoren, die das Kornwachstums der NIL's limitieren, untersucht. Im dritten Teil der Arbeit wurde zur näheren Charakterisierung der Source-Sink-Verhältnisse der Gaswechsel der Fahnenblätter unter Feldbedingungen nach dem Ährenschieben bestimmt. Als mögliche Erklärung der beeinträchtigten Source-Aktivität der NIL's wurde durch Applikation von Markerelementen die Wurzelaktivität in verschiedenen Bodenschichten ermittelt. Die Resultate zeigen, dass die braunrostresistenten NIL's ein deutlich kleineres Ertragspotential haben als 'Arina'. Sowohl die Sink-Kapazität als auch die Source-Aktivität war reduziert. Die kleinere Assimilationsrate der NIL's stand im Zusammenhang mit einer reduzierten Wurzelaktivität, die bei trockenem und warmem Wetter zu Wasserstress führte.

IV MIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN INFektionsVERLAUF VON BRAUNROST AUF RESISTENTEN, NAH ISOGENEN WINTERWEIZEN-LINIEN UND IHREM ANFÄLLIGEN, REKURRENTEN ELTER 'ARINA'

Zusammenfassung

Der Infektionsverlauf von Braunrost wurde auf der anfälligen Sorte 'Arina' und zwei braunrostresistenten, nah isogenen Linien (NIL's) mit dem Resistenzgen *Lr9* untersucht. Keimpflanzen wurden mit zwei Braunrostisolaten inokuliert, die auf *Lr9* avirulent waren. Der Infektionsverlauf und die Abwehrreaktionen wurden mit Hilfe der Epifluoreszenzmikroskopie beobachtet.

Die Orientierung der Uredosporen-Keimschläuche und die Differenzierung des Appressoriums über den Spaltöffnungen war bei den anfälligen und resistenten Pflanzen vergleichbar. Die weitere Entwicklung des Braunrostes wurde auf dem anfälligen Wirt durch keine Abwehrreaktion gehemmt. Der Zuwachs der Haustorienmutterzellen (HMC) verlief exponentiell. Die Sporulation des Pilzes setzte 7 bis 8 Tage nach der Inokulation ein. Auf den resistenten NIL's starben die Wirtszellen in der Nähe der ersten Haustorienmutterzellen als Folge einer hypersensitiven Reaktion 24 bis 48 Stunden nach der Inokulation ab. Bevor das Wachstum des Pilzes zum Stillstand kam wurden meist nur eine bis drei HMC pro Infektionsstelle gebildet.

Einleitung

Der Infektionsverlauf der Getreideroste kann in verschiedene Phasen eingeteilt werden. Während trockenen, warmen Tagen landen die Rostsporen auf der Blattoberfläche und keimen während der Nacht bei hoher Feuchtigkeit und einem Temperaturbereich von 10 °C bis 22 °C (KRAMER und EVERSMEYER, 1992). Durch die Fähigkeit, sich nach der Topographie der Blattoberfläche zu orientieren, wächst der Keimschlauch quer zur Blattachse bis zur nächsten Spaltöffnung (ALLEN *et al.*, 1991; HOCH *et al.*, 1987). Dort differenziert sich ein Haftorgan (Appressorium), das dem Pilz das Eindringen in die Spaltöffnung ermöglicht. Nach der Bildung eines substomatären Vesikels wächst die primäre Hyphe im interzellulären Raum und nach der Differenzierung einer Haustoriummutterzelle (HMC) dringt das Haustorium, das Ernährungsorgan, in eine erste Wirtszelle ein. Von der HMC entwickelt sich ebenfalls eine sekundäre Hyphe, die ihrerseits eine zweite HMC mit dem entsprechenden Haustorium bildet. Die Anzahl Haustorien pro Kolonie nimmt auf einem anfälligen Wirt exponentiell zu. Wenn eine optimale Ernährung des Pilzes gewährleistet ist, beginnt die reproduktive Phase. Schon nach wenigen Tagen werden die makroskopischen Symptome der Krankheit, die Uredolager, auf der Blattoberfläche sichtbar. Tausende von Sporen werden entwickelt und sind in der Lage, innerhalb von 7 bis 10 Tagen einen neuen Zyklus zu durchlaufen.

Die Resistenz gegen Rostpilze kann an verschiedenen Stellen dieses komplexen Infektionsprozesses eingreifen. HART (1929) unterscheidet eine morphologische (z.B. Beschaffenheit der Blattoberfläche), funktionelle (z.B. Stomata-Schluss) und physiologische Resistenz (z.B. Stoffwechselfvorgänge und Hypersensitivität). Jede dieser Resistenzarten könnte sich durch eine Beeinflussung der stomatären Leitfähigkeit oder der biosynthetischen Aktivitäten negativ auf die Ertragsphysiologie der Getreidepflanze auswirken.

In dieser Arbeit wurde die rassenspezifische Braunrostresistenz durch das Resistenzgens *Lr9* anhand isogener Linien der Sorte 'Arina' untersucht, um Einblicke in die möglichen Ursachen des niedrigeren Ertragspotentials der braunrostresistenten Pflanzen zu erhalten. Keimpflanzen der Sorte 'Arina' und zwei ihrer braunrostresistenten, nah isogenen Linien (NIL's) wurden künstlich mit zwei Braunrostisolaten inokuliert und der Infektionsverlauf mikroskopisch verfolgt. Die verschiedenen Resistenzfaktoren werden in Bezug auf ihre Beziehung zur Ertragsbildung diskutiert.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial

Als kompatibles bzw. inkompatibles Wirt-Parasit-System wurde die Winterweizensorte 'Arina' als anfälliger, rekurrenter Elter und zwei braunrostresistente NIL's mit dem aus *Aegilops umbellulata* stammenden Resistenzgen *Lr9* ausgewählt. Die zwei NIL's wurden aus zwei unabhängig voneinander entwickelten Rückkreuzungspopulationen ausgewählt und tragen die Nummern FAP 75'220 bzw. FAP 75'223. Sie waren F8-Linien der siebten Rückkreuzung mit dem *Lr9*-Genspender R.L. 6010 (R.L. 6010 / 7 * 'Arina'). Unter krankheitsfreien Bedingungen wiesen sie in mehrjährigen Feldversuchen einen um 10% kleineren Körnerertrag auf als 'Arina' (ORTELLI *et al.*, 1992).

Zwanzig Keimlinge wurden in mit Erde gefüllte Kunststofföpfe (Höhe 8 cm, Durchmesser 6 cm) in der Klimakammer angezogen. Die Tag/Nachttemperatur betrug 20/16 °C, die relative Tag/Nachtluftfeuchtigkeit 85/99 %. Die Photoperiode betrug 16 Stunden bei einer photosynthetisch aktiven Strahlung von 360 $\mu\text{Mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ mit einem stufenweisen Übergang während je einer Stunde morgens und abends. Zum Schutz gegen Fremdinfectionen wurden die Töpfe in durchsichtige Cellophansäcke eingepackt. Während der ganzen Versuchszeit wurden die Töpfe mit einer Nährlösung versorgt, die 1g l⁻¹ Lonzin (Lonza, Basel, Schweiz) enthielt.

Vermehrung und Gewinnung des Pathogens

Zwei Braunrostisolate (FAP 89'033 und FAP 90'039) wurden für die Inokulation verwendet. Die Isolate wurden aufgrund einer Virulenzanalyse der Eidg. Forschungsanstalt für landw. Pflanzenbau Zürich-Reckenholz (FAP-Reckenholz) ausgelesen. Sie waren auf 'Arina' virulent, auf *Lr9* jedoch avirulent. Beide Isolate wurden auf der anfälligen Sorte 'Molésón' unter den oben beschriebenen Bedingungen vermehrt. Die Sporen wurden sieben bis zehn Tage nach der Inokulation gesammelt, in einem Exsikkator getrocknet und für die Inokulation der Versuchspflanzen verwendet.

Inokulationstechnik

Die Primärblätter der Keimlinge wurden 10 Tage nach der Saat infiziert. Die Cellophansäcke wurden entfernt und die Blätter mit einer Sporensuspension (Trägersubstanz: Soltrol 170, Phillips Petroleum, Paris, Frankreich) besprüht. Um eine regelmässige Inokulation zu erreichen, standen die Pflanzen auf einer sich konstant drehenden Scheibe. Die Pflanzen wurden nach dem Besprühen eine Stunde lang belüftet, so dass das Oel verdampfen konnte. Danach wurden je zwei Töpfe in Kunststoffschalen (20 x 20 x 4 cm) unter eine sporendurchlässige Kunststoffhaube gestellt.

Probennahme und Probenaufbereitung

Die Primärblätter wurden 6, 12, 24, 44, 72, 96, 120, 144 und 192 Stunden nach der Inokulation geerntet und für die Fluoreszenzmikroskopie vorbereitet. Es wurde eine Kombination der von ROHRINGER *et al.* (1977) und KUCK *et al.* (1981) beschriebenen Methoden verwendet. Die Blätter wurden während 2 Stunden bei 45 °C in eine Lösung von 70 Vol.% Chloroform und 30 Vol.% Methanol gelegt. Danach wurden sie während 4 Stunden bei 55 °C in einer Lactophenol/Ethanol-Lösung (1:2) bis zum vollständigen Ausbleichen gehalten. Nun wurden sie zweimal mit der oben beschriebenen Chloroform-Methanol-Lösung gespült. Die Blätter wurden dann in einer Lösung von 70 Vol.% Chloroform, 29.9 Vol.% Methanol und 0.1 Vol.% Leucophor BMB (Sandoz, Basel, Schweiz) während 30 Sekunden angefärbt und anschließend 3 mal in einer Chloroform-Methanol-Lösung gewaschen. Die Proben wurden in einer Lösung von 50 Vol.% Glycerol und 50 Vol.% Wasser mit einer Spur Lactophenol als Konservierungsmittel gelagert. Diese Methode erlaubte die gleichzeitige Betrachtung der Pilzentwicklung und der Nekrotisierung der Wirtszellen. Eine optimale Beobachtung der Haustorien war hingegen nicht gewährleistet.

Mikroskopiertechnik

Die Proben wurden unter einem Umkehrmikroskop "Diaphot" von Nikon mit einer Epifluoreszenz-Ausrüstung betrachtet. Dabei wurde eine permanente UV-Lichtquelle von 365 nm, ein Anregfilter UV 330-380, ein dichroischer Spiegel DM 400 sowie ein Sperrfilter BA 420 verwendet. Für die Photographie wurden Kodak Tageslichtfilme mit einer Empfindlichkeit von 400 ASA eingesetzt. Der Verlauf der Anzahl gekeimter Sporen, der Anzahl Keimschlauchverzweigungen, der Anteil der Sporen die erfolgreich ein Appressorium ausbildeten, sowie die Anzahl von Haustoriummutterzellen (HMC) pro Infektionsstelle wurden beobachtet. Die Fläche der nekrotischen, autofluoreszierenden Stellen wurde mit Hilfe eines Hämatocytenrasters bestimmt.

Ergebnisse

Keimung der Sporen und Bildung des Appressoriums

Die Uredosporen beider Isolate hatten bereits 6 Stunden nach der Inokulation gekeimt. Die Keimschläuche wuchsen auf allen Genotypen vorwiegend quer zur Blattachse (Abb. 1A). Sobald die Keimschläuche auf ein Stoma trafen, stellten sie das Wachstum ein und bildeten ein Appressorium (Abb. 1B). Unter dem Fluoreszenzmikroskop wiesen die Strukturen des Pilzes eine stärkere, blaue Fluoreszenz auf als die Zellen des Wirtes. Organe mit hoher biosynthetischer Aktivität wiesen eine intensivere Fluoreszenz auf. So waren die Keimschläuche und die Appressorien bei 100-facher Vergrößerung als fluoreszierende Schläuche über der Blattfläche bzw. als stark leuchtende Punkte über den Spaltöffnungen erkennbar. Innerhalb von 24 Stunden nach der Inokulation wiesen praktisch alle Sporen einen Keimschlauch auf. Bei jedem Blattnerv wurden ganz kurze Seitensprosse angelegt (Abb. 1A). Eigentliche Verzweigungen der Keimschläuche waren in den ersten 48 Stunden nach der Inokulation selten (Abb. 1B). Nach 48 Stunden stieg der Anteil verzweigter Keimschläuche an (Fig. 1). Auf Blättern der Linie FAP 75'223 zeigte sich eine leicht erhöhte Anzahl Verzweigungen der Keimschläuche.

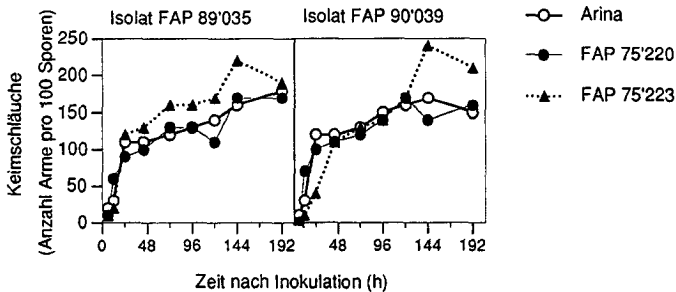


Fig. 1: Anzahl Verzweigungen (Seitenarme) der Keimschläuche von 100 Sporen der Braunrostisolate FAP 89'035 und FAP 90'039 auf den Primärblättern der Sorte 'Arina' und ihren braunrostresistenten, nah isogenen *Lr9* Linien (FAP 75'220 und FAP 75'223) in Abhängigkeit der Zeit nach der Inokulation.

Die Appressorienbildung war auf 'Arina' und den braunrostresistenten NIL's vergleichbar (Fig. 2). Die ersten Appressorien wurden zwischen 6 und 12 Stunden nach der Inokulation gebildet. Innerhalb 44 Stunden nach der Inokulation bildeten 50% bis 65 % der Sporen ein Appressorium aus. Vier Tage nach der Inokulation hatten annähernd 100 % der Sporen ein Appressorium.

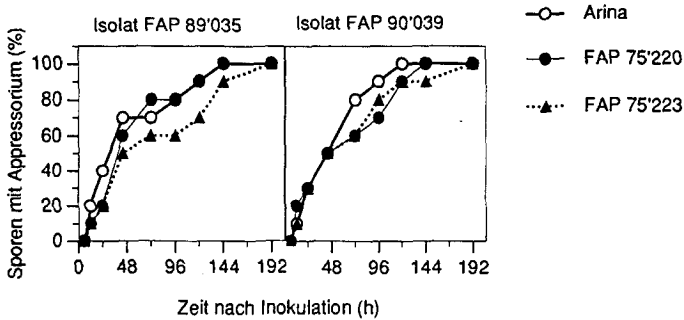


Fig. 2: Verlauf der Anzahl Sporen mit Appressorium der Braunrostisolate FAP 89'035 und FAP 90'039 auf den Primärblättern der Sorte 'Arina' und ihren braunrostresistenten, nah isogenen Lr9 Linien (FAP 75'220 und FAP 75'223) in Abhängigkeit der Zeit nach der Inokulation.

Entwicklung der Haustoriummutterzellen (HMC)

Unter dem Fluoreszenzmikroskop war die HMC als stark fluoreszierende Zelle interzellulären Raum des Blattes zu erkennen (Abb. 1C und 1D). Ein Septum grenzte Hyphe von der HMC deutlich ab. Von der HMC aus wurde ein Haustorium in Mesophyllzellen des Wirtes gebildet. Gleichzeitig entwickelte die HMC eine sekundäre Hyphe, die später zu einem zweiten Haustorium in den Mesophyllzellen führte. Die ersten HMC wurden auf 'Arina' zwischen 24 und 44 Stunden nach der Inokulation beobachtet. 120 Stunden nach der Inokulation stieg die Anzahl HMC des Isolates FAP 89'035 linear. Zwischen 120 und 144 Stunden nach der Inokulation war der Zuwachs der Anzahl HMC pro Kolonie drastisch (Fig. 3). Schon 196 Stunden nach der Inokulation wurden für das Isolat FAP 89'035 rund 110 HMC pro Kolonie gefunden. Das Isolat FAP 90'039 zeigte einen raschen und stärkeren Zuwachs der HMC; bereits 196 Stunden nach der Inokulation wurden rund 110 HMC pro Kolonie gezählt. Dies kann als eine stärkere Aggressivität dieses Isolates interpretiert werden. Diese Ergebnisse widerspiegeln die hohe Braunrostanfälligkeit von 'Arina'. Die Entwicklung des Pilzes wurde durch keine Abwehrreaktion gehemmt und in der Nähe der Infektionen wurden keine nekrotischen Zellen beobachtet. Die optimale Ernährungslage (Abb. 2A) begünstigte vermutlich die reproduktive Entwicklung des Pilzes, die bis 8 Tage nach der Inokulation zu den ersten makroskopischen Symptomen der Krankheit führte. Die Abbildung 2B stellt den Zeitpunkt dar, in dem die Uredolager die Epidermiszellen der Blätter sprengten.

Im Gegensatz zu 'Arina' fand bei den resistenten NIL's zwischen 24 und 28 Stunden nach der Inokulation eine Einlagerung von autofluoreszierenden Substanzen rund um die infizierte Stomata statt (Abb. 2C). Diese Fluoreszenz wurde ausschließlich im Zusammenhang mit

pilzlichen Strukturen gefunden und deutet nach ROHRINGER *et al.* (1977) auf die Nekrotisierung der infizierten Wirtszellen hin. Bereits 96 Stunden nach der Inokulation betrug die nekrotische Fläche pro Infektionsstelle auf den *Lr9* NIL's rund $10'000 \mu\text{m}^2$ (Abb. 2D). Die Nekrotisierung verlief dabei meistens parallel zu den Blattnerven. Gleichzeitig wurden auf der Blattoberfläche makroskopisch erkennbare braune Flecken sichtbar. Diese Erscheinungen kennzeichnen die typischen hypersensitiven Abwehrreaktionen der Pflanzen gegen pilzliche Infektionen (FREYTAG und HAHLBROCK, 1992). Die Anzahl HMC in den autofluoreszierenden Geweben war begrenzt und schwer von den gelben Wirtszellen zu unterscheiden. Wie bei SOUTHERTON und DEVERALL (1989) wurden bei beiden Isolaten meist nur eine bis drei HMC pro Infektionsstelle gebildet, bevor das Wachstums des Pilzes voll eingestellt wurde (Fig. 3).

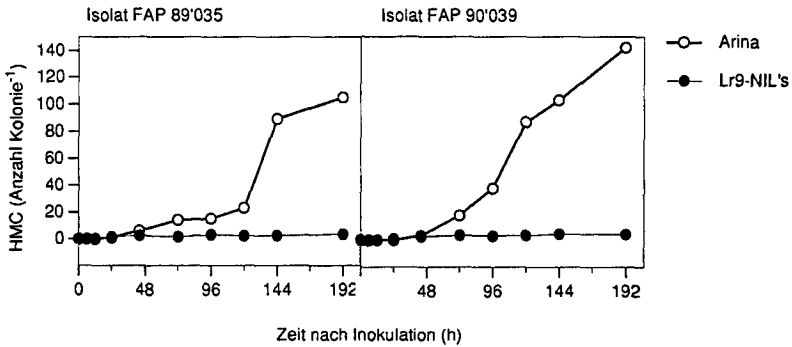


Fig. 3: Verlauf der Anzahl Haustoriummutterzellen (HMC) pro Kolonie der Braunrostisolate FAP 89'035 und FAP 90'039 auf den Primärblättern der Sorte 'Arina' und ihren braunrostresistenten, nah isogenen *Lr9* Linien (*Lr9*-NIL's=Mittel von FAP 75'220 und FAP 75'223) in Abhängigkeit der Zeit nach der Inokulation.

Leer - Vide - Empty

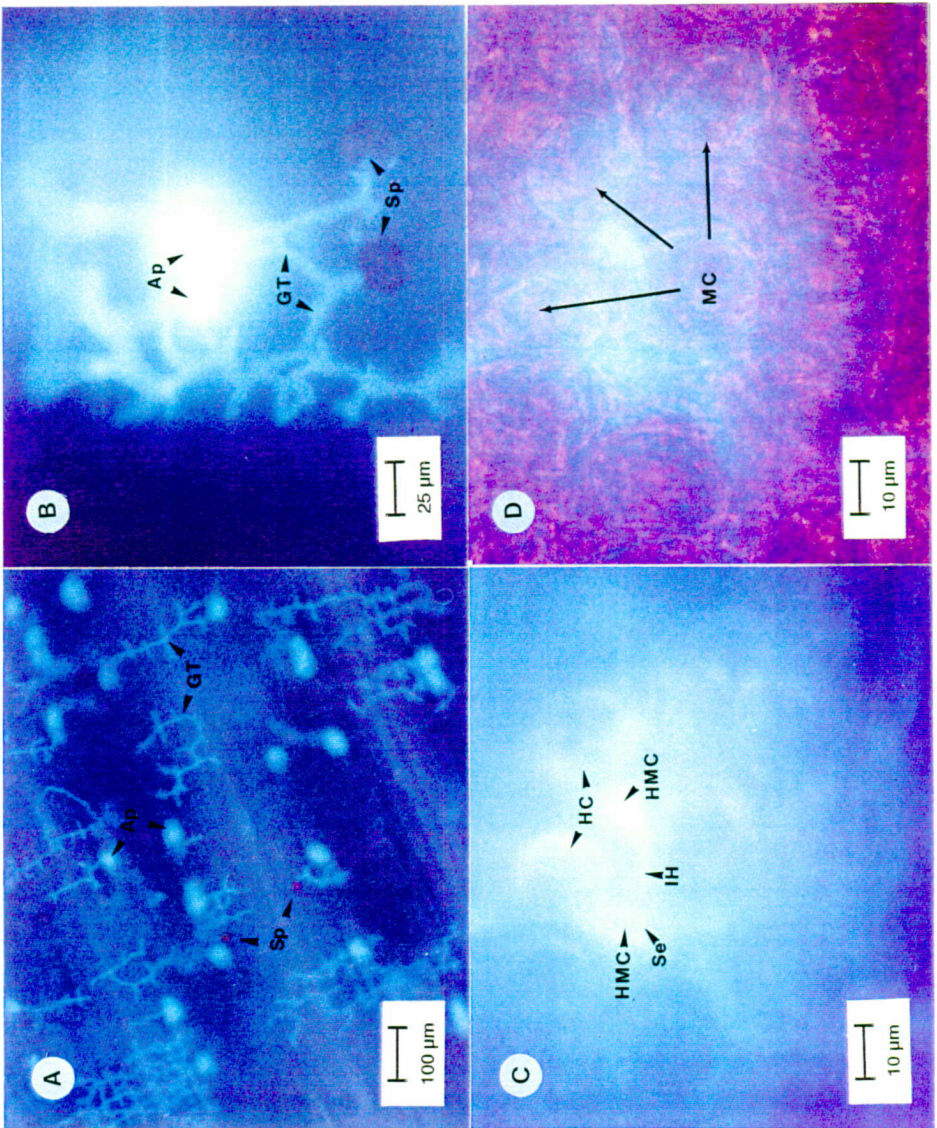


Abb. 1: Epifluoreszenzmikroskopische Aufnahmen des Infektionsverlaufs von *Puccinia recondita* f.sp. *tritici* auf Weizenkeimlingen. (A-B) Oberflächliches Wachstum und (C-D) interzelluläres Wachstum. (A) Orientierung und Wachstum der Keimschläuche und Differenzierung der Appressorien auf der braunrostresistenten Linie FAP 75'223, 18 Stunden nach der Inokulation. (B) Keimung der Uredosporen, Verzweigungen der Keimschläuche und Differenzierung der Appressorien auf 'Arina', 96 Stunden nach der Inokulation. (C) Ein Septum grenzt die HMC von der Hyphe (hier 96 Stunden nach der Inokulation) deutlich ab. (D) Das Haustorium betätigt die angrenzende Mesophyllzelle (gleiches Bild wie C mit zusätzlichem Licht). Von der Haustoriummutterzelle entwickelt sich eine sekundäre Hyphe, die ihrerseits eine HMC mit dem entsprechenden Haustorium bildet. Sp=Spore, GT=Keimschlauch, Ap=Appressorium, IH=interzelluläre Hyphe, Se=Septum, HMC=Haustoriummutterzelle, HC= von Haustorien betätigte Wirtszellen, MC=Mesophyllzelle.

Leer - Vide - Empty

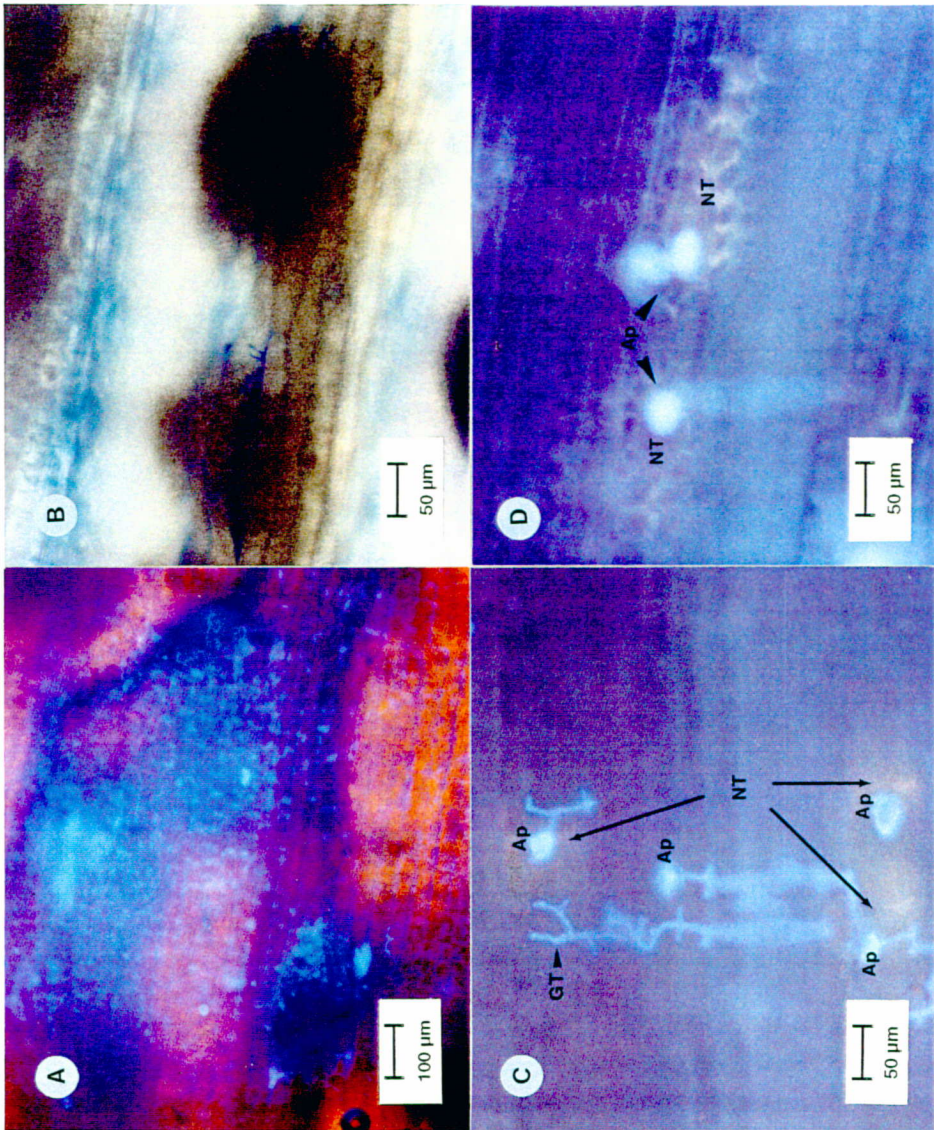


Abb. 2: (A-B) Entwicklung von *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* auf den Keimlingen des anfälligen Wirts 'Arina', bzw. (C-D) auf den Keimlingen ihrer braunrostresistenten, nah isogenen Linie FAP 75'220. (A) Die interzellulären Hyphen, hier 8 Tage nach der Inokulation, haben sich stark verbreitet und hunderte von Haustoriummutterzellen (kleine leuchtende Punkte) gewährleistet die Ernährung des Pilzes. (B) Die Uredolager sprengen die Epidermis des Blattes auf. Es treten die ersten makroskopischen Symptome der Krankheit auf. (C) Nach der Penetration des Blattes, hier 36 Stunden nach der Inokulation, wird das Wachstum des Pilzes durch die Nekrotisierung der Mesophyllzellen (gelb-orange Autofluoreszenz) gehemmt. (D) Die Nekrotisierung der Mesophyllzellen verläuft meistens parallel zur Blattachse und erreicht, hier 96 Stunden nach der Inokulation, eine Fläche von rund 10'000 µm². GT=Keimschlauch, Ap=Appressorium, NT=nekrotisches Gewebe.

Diskussion

Sowohl auf den Keimblättern der anfälligen Sorte 'Arina' als auch auf jenen ihrer braunrostresistenten NIL's war der Braunrost in der Lage in die Spaltöffnungen einzudringen. Auf 'Arina' verlief der Zuwachs der Anzahl HMC pro Infektionsstelle explosionsartig. Auf beiden *Lr9* Linien hingegen beobachtete man 24 bis 44 Stunden nach der Inokulation die Nekrotisierung der Wirtszellen in der Nähe der Infektionsstellen. Nur wenige HMC wurden gebildet, bevor das Wachstum des Pilzes zum Stillstand kam. Dies zeigt, dass das *Lr9*-Gen die Entwicklung des Braunrostes sehr früh hemmt und den Übergang in die reproduktive Phase vollständig verhindert.

Die Orientierung der Uredosporen-Keimschläuche, sowie die Differenzierung des Appressoriums war auf den Primärblättern von anfälligen bzw. resistenten Pflanzen vergleichbar. Diese wichtigen Wachstumsparameter der Rostpilze werden durch die chemische Zusammensetzung der Blattoberfläche und vor allem durch deren topographische Beschaffenheit (HOCH und STAPLES, 1987) gesteuert. Nach HOCH *et al.* (1987) sind die Rostpilze durch Wahrnehmung des topographischen Aufbaus der Blattnervatur (tigmotropische Reaktion) in der Lage quer zur Blattachse zu wachsen. Hindernisse von 0.25 bis 1 μm Höhe im Abstand von 0.5 bis 6.7 μm gewährleisteten eine optimale Orientierung der Keimschläuche. Die Differenzierung des Appressoriums weist beim Braunrost nach ALLEN *et al.* (1991) ein markantes Optimum bei einer Hindernishöhe von 0.4 bis 0.8 μm auf. RUBIALES und NIKS (1992) fanden, dass die Braunrostresistenz von Linien von *Hordeum chilense* auf der Unfähigkeit des Pilzes beruht, durch tigmotropische Stimuli die Spaltöffnungen zu finden. Dies wird durch das Vorhandensein von Wachskristallen über den Spaltöffnungen erklärt (RUBIALES *et al.*, 1992). Eine derartige morphologische Resistenz könnte durch die Veränderung des Diffusionswiderstandes der Stomata den Gaswechsel und damit die Ertragsbildung der Getreidepflanze beeinflussen. Da nun in dieser Arbeit eine erfolgreiche Orientierung der Keimschläuche und die Differenzierung der Appressorien über den Stomata der resistenten NIL's erfolgte, können Änderungen in der Morphologie der Blattoberfläche, bedingt durch *Lr9*, ausgeschlossen werden. Diese Ergebnisse bestätigen die Befunde von JACOBS (1989) und von SOUTHERTON und DEVERALL (1989) nach denen bei Braunrost die Differenzierung des Appressoriums durch rassenspezifische Resistenzgene nicht beeinträchtigt wird.

HART (1929) beschrieb, dass die Spaltöffnungen von schwarzrostresistenten Weizensorten sich später am Morgen öffneten und früher am Abend schlossen als die von anfälligen. Es wurde deshalb angenommen, dass der stomatäre Ausschluss ein Resistenzmechanismus gegen Schwarzrost sei. Dieser als funktionelle Resistenz bezeichnete Mechanismus könnte direkte Auswirkungen auf die Leitfähigkeit der Stomata haben und dadurch die

Ertragsbildung negativ beeinflussen. Die Reaktion der *Lr9* NIL's auf den Braunrost durch nekrotische Mesophyllzellen wurde erst nach der Bildung der ersten HMC im interzellulären Raum beobachtet. Damit kann bei *Lr9* eine funktionelle Resistenz über den Stomata-Schluss ausgeschlossen werden. Im Gegensatz zu Schwarzrost dringt der Braunrost bei Dunkelheit durch geschlossene Spaltöffnungen in die interzellulären Räume des Wirtes ein (ROMIG und CALDWELL, 1964; SOUTHERTON und DEVERALL, 1989). Einer der dafür verantwortlichen Faktoren ist die Fähigkeit, unter hohen interzellulären CO₂ Konzentrationen zu wachsen (YIRGOU und CALDWELL, 1968).

Bei den *Lr9* NIL's starben infolge der hypersensitiven Reaktion die Wirtszellen in der Nähe der HMC 24 bis 44 Stunden nach der Inokulation ab. Bei TIBURZY *et al.* (1990) betrug die Zeitspanne von der Bildung des ersten Haustoriums von Schwarzrost bis zur Reaktion der Pflanze je nach Genotyp 4.6 bis 8.1 Stunden. Es wurde aber noch nicht bewiesen, ob die Nekrotisierung die direkte Ursache oder nur eine sekundäre Erscheinung der Resistenz ist. Der biochemische Ablauf der Nekrotisierung ist ebenfalls noch nicht vollständig geklärt. Nach der Infektion einer avirulenten Rasse stellt man eine Erhöhung der Enzymaktivitäten des Phenylpropan-Stoffwechsels und vor allem von zwei seiner Schlüsselenzyme fest: die Phenylalanin-Ammonium-Lyase (PAL) und die 4-Cumarat:CoA-Ligase (4CL) (MOERSCHBACHER *et al.*, 1988; FRITZEMEIER *et al.*, 1987). Gleichzeitig werden Callose und Produkte des Phenylpropan Stoffwechsels v.a. Phenole und Lignin-ähnliche Substanzen in den Zellwänden nahe der Infektionsstelle eingelagert (SOUTHERTON und DEVERALL, 1990c). Dank der *in situ* mRNA-Hybridisierungstechnik konnten CUYPERS *et al.* (1988) zeigen, dass die Gene für PAL und 4CL Synthese rund um die nekrotisierten Zellen aktiv wurden. Durch die Applikation von PAL-Inhibitoren erzielten u.a. TIBURZY und REISENER (1990) und CARVER *et al.* (1991) eine Zunahme der Anfälligkeit gegenüber avirulenten Rassen von Schwarzrost bzw. Mehltau. Dies wurde als Bestätigung angesehen, dass der Phenylpropan-Stoffwechsel eine zentrale Funktion für die Resistenz der Pflanze übernimmt. Der erhöhte Verbrauch an Energie und Assimilaten für die Bildung von Gerüstsubstanzen führte bei SMEDEGAARD-PETERSEN und STÖHLEN (1981) bei der Inokulation der Gerste mit einer avirulenten Mehltaurasse zu einer kurzfristigen Erhöhung der Respiration um 80 %. Die wiederholte Inokulation mit avirulenten Mehltaurassen sowie mit saprophytischen Pilzen bewirkte eine Reduktion des Körnerertrages im Vergleich zur nicht infizierten Kontrolle um 7% bzw. 9 %, ohne Krankheitssymptome hervorzurufen (SMEDEGAARD-PETERSEN, 1989). Da bei den *Lr9* NIL's die typischen Anzeichen einer hypersensitiven Abwehrreaktion beobachtet wurden, kann angenommen werden, dass auch bei dieser Braunrostresistenz die oben beschriebenen Reaktionen ablaufen. Der Verbrauch an Energie und Assimilaten für diese Vorgänge könnten das Ertragspotential der NIL's negativ beeinflussen.

Wie die Abbildungen 2C und 2D zeigen, könnte in der inkompatiblen Wirt-Parasit Beziehung die Ertragsbildung neben einem erhöhten Bedarf an ATP und Gerüstsubstanzen auch durch die Beeinträchtigung der photosynthetisch aktiven Blattfläche beeinflusst werden. Bei der Inokulation einer *Lr9* Linie mit einer avirulenten Braunrostrasse beobachteten SOUTHERTON und DEVERALL (1989) einen Anteil von 14% befallener Spaltöffnungen mit einer nekrotischen Fläche von je $10 \cdot 230 \mu\text{m}^2$. Die gesamte Nekrotisierung der Blattfläche dürfte bei 3'000 Spaltöffnungen pro cm^2 4% bis 5% betragen. Die Reduktion der aktiven Blattfläche und die Beeinträchtigung der stomatären Leitfähigkeit der befallenen Spaltöffnungen könnten zur einer entsprechenden Reduktion der Photosynthese führen. Da in der Regel alle Blätter von Braunrost befallen werden, könnte diese Reduktion höchstens durch die Spelzen kompensiert werden.

Das Braunrostresistenzgen *Lr9* hatte eine starke Wirkung auf die Entwicklung des Braunrostes. Dank hypersensitiven Reaktionen der Pflanze konnte der Braunrost nur wenige HMC in den Wirtsgeweben bilden bevor sein Wachstum zum Stillstand kam. Dies zeigt, dass die Resistenz des rassenspezifischen Resistenzgen *Lr9* als physiologische Resistenz bezeichnet werden kann (HART, 1929). Die Wechselwirkungen zwischen Ertragsbildung und Krankheitsresistenz können dadurch vielfältig sein und ein direkter Zusammenhang zwischen dem niedrigen Ertragspotential und der Braunrostresistenz ist nicht auszuschliessen. Die ertragsphysiologischen Prozesse der Getreidepflanze, die dabei beeinflusst werden, sind noch unbekannt. Die in der Folge beschriebenen Feldversuche sollen zeigen, welche Unterschiede in den Ertragsparametern, in den Source-Sink Beziehungen, im Gaswechsel und in der Wurzelaktivität von 'Arina' und ihren braunrostresistenten NIL's bestehen.

V KORNERTRAG UND SOURCE-SINK-VERHÄLTNIS VON BRAUNROST-RESISTENTEN, NAH ISOGENEN WINTERWEIZENLINIEN UND IHREM ANFÄLLIGEN, REKURRENTEN ELTER 'ARINA'

Zusammenfassung

In dreijährigen Freilandversuchen wurde die Ertragsbildung der braunrostanfälligen Sorte 'Arina' und sechs braunrostresistenten nah isogenen Linien (NIL's) mit dem Resistenzgen *Lr9* untersucht. Je drei *Lr9* NIL's stammten aus zwei unabhängig voneinander entwickelten Populationen.

Die NIL's hatten eine gute phänotypische Ähnlichkeit und eine vergleichbare phänologische Entwicklung wie ihr rekurrenter, anfälliger Elter 'Arina'. Zum Zeitpunkt der Blüte und der Milchreife war ihr oberirdischer Biomassenertrag mit dem von 'Arina' vergleichbar. Unterschiede in der TS-Produktion entstanden erst nach der Milchreife. Bei der Reife wiesen die NIL's einen um 5% bis 14% tieferen Kornertrag auf als 'Arina' (58.8 q TS ha⁻¹). Im Durchschnitt betrug die Ertragsreduktion 11.5%. Der tiefere Ertrag der NIL's kam durch eine um 3% bis 11% kleinere Kornzahl pro Fläche und ein um 2% bis 7% kleineres Einzelkorngewicht zustande. Dies widerspiegelte sich in der Reduktion des Ernteindex.

Der Einfluss einer erhöhten Assimilatzufuhr auf das Kornwachstum wurde durch eine Reduktion der Kornzahl pro Ähre untersucht. Ein kleineres Angebot an Assimilaten und eine reduzierte Assimilateinlagerungsfähigkeit beeinträchtigten das Kornwachstum der NIL's. Die kleinen Unterschiede der ertragsbildenden Parameter bei der Reife innerhalb und zwischen den zwei *Lr9* Populationen deutet auf einen möglichen, direkten Zusammenhang zwischen der Ertragsdepression und der Braunrostresistenz hin.

Einleitung

Die Züchtung krankheitsresistenter Weizensorten führt durch einen reduzierten Einsatz von chemischen Hilfsmitteln sowohl zu ökologischen als auch ökonomischen Vorteilen. Leider kann, bei vergleichbaren agronomischen Eigenschaften, eine negative Korrelation zwischen der Krankheitsresistenz und der Ertragsleistung der Getreidepflanze bestehen (THE *et al.*, 1988; FRIED *et al.*, 1992; Knott, 1993).

Zur Charakterisierung und Quantifizierung der "Kosten" der Resistenz, konzentrierten sich bisherige Untersuchungen auf zwei Ebenen. Einerseits wurden die Resistenzmechanismen untersucht und die energetischen Kosten der Abwehrreaktionen geschätzt. Andererseits wurde der Einfluss von rassenspezifischen Resistenzgenen auf die Ertragsbildung der gesunden Pflanze geprüft.

SMEDEGAARD-PETERSEN und STØLEN (1981) stellten nach einer Infektion von Gerste mit einer avirulenten Mehltaurasse eine Steigerung der Respiration zum Zeitpunkt der Ausbildung des ersten Haustoriums fest. In Weizenblättern konnte durch die Inokulation mit avirulenten Rostrassen eine markante Aktivitätssteigerung des Phenylpropanoid-Stoffwechsels beobachtet werden (SOUTHERTON und DEVERALL, 1990a; MOERSCHBACHER *et al.*, 1988). Gleichzeitig konnte die Bildung von Phenolen, Lignin und Kallose in der Nähe der Infektionsstellen nachgewiesen werden (SOUTHERTON und DEVERALL, 1990b; SOUTHERTON und DEVERALL, 1990c; TIBURZY *et al.*, 1990). Die erhöhte Respiration führte unter kontrollierten Bedingungen bei der Gerste zu einer Reduktion des Kornertrages um 7% (SMEDEGAARD-PETERSEN und STØLEN, 1981). SCHÖNBECK *et al.* (1987) bestätigten diese Ergebnisse für die Wirt-Parasit-Systeme Gerste-*Erysiphe graminis* und für Kopfsalat-*Bremia lactucae*.

Der Einfluss von rassenspezifischen Resistenzgenen auf den Ertrag von Getreide wurde in mehreren Arbeiten untersucht. THE *et al.* (1988) stellten unter rostfreien Bedingungen einen um 4% tieferen Kornertrag von schwarzrostresistenten gegenüber -anfälligen, nah isogenen Weizenlinien fest. Im Vergleich zum rekurrenten Elter betrug die Ertragsdepression 7%. Bei KNOTT (1993) hatten in den genetischen Background von 'Marquis' eingebaute Schwarzrost-Resistenzgene eine durchschnittliche Ertragsdepression von 11.5% zur Folge. Bei GRIFFEY und ALLAN (1986) war das gleichzeitige Vorhandensein von Braunrost- und Gelbrost-Resistenzgenen mit grossen Ertragsdepressionen verbunden. Dagegen unterschieden sich nach JØRGENSEN und JENSEN (1990) mehltaur resistente und -anfällige, isogene Gerstenlinien nicht wesentlich in ihren Ertragsleistungen. ZEVEN und WANINGE (1986) fanden ebenfalls keine relevanten Unterschiede zwischen 16 braunrostresistenten, nah isogenen Weizenlinien und dem rekurrenten Elter Thatcher. Aus dieser Arbeit geht aber nicht hervor, ob die Versuche

unter krankheitsfreien Bedingungen durchgeführt wurden. Diese widersprüchlichen Ergebnisse sind teilweise durch die unterschiedlichen Wirt-Parasit-Systeme und durch die Unterschiede des genetischen Backgrounds erklärbar. Zudem spielt die Herkunft der Resistenzgene eine wichtige Rolle, denn auch andere Merkmale des Genspenders können eng gekoppelt mit der Resistenz vererbt werden ("drag gen effect") (ZEVEN und WANINGE, 1986; FRIED und WINZELER, 1990).

In diesem Kapitel wurden die Auswirkungen der Einkreuzung des Braunrostresistenzgens *Lr9* in einen hauptgenfreien Background untersucht. Die Analyse mehrerer Linien zweier unabhängig voneinander gezüchteter Rückkreuzungspopulationen diente der Erfassung möglicher "drag gen effects". Neben dem Ertrag wurden auch ertragsphysiologische Parameter erhoben, die die tiefere Ertragsleistung von resistenten Linien erklären könnten. Sowohl eine reduzierte Assimilatproduktion bzw. -verteilung als auch eine limitierte Sink-Kapazität trugen zu einer Ertragsreduktion der resistenten Linien bei.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial

Als Vergleichspflanzen wurden die Winterweizensorte 'Arina' als rekurrenter, anfälliger Elter und sechs ihrer braunrostresistenten, nah isogenen Linien (NIL's) ausgewählt. Die NIL's trugen das aus *Aegilops umbellulata* stammende Braunrostresistenzgen *Lr9* und waren F8-Linien der siebten Rückkreuzung mit dem *Lr9*-Genspender R.L. 6010 (R.L. 6010 / 7 * 'Arina'). Um einen eventuellen "drag gen effect" zu erfassen, wurden je drei *Lr9* NIL's aus zwei unabhängig voneinander entwickelten Populationen gewählt. Die Linien FAP 75'192, FAP 75'219 und FAP 75'220 wurden als *Lr9*-A und die Linien FAP 75'171, FAP 75'193 und FAP 75'223 als *Lr9*-B gekennzeichnet.

Allgemeine Versuchsbedingungen

Die Versuche wurden zwischen 1990 und 1992 an der Eidg. Forschungsanstalt für landw. Pflanzenbau Zürich-Reckenholz (FAP-Reckenholz) (440 m ü.M.) durchgeführt. Alle Versuche wurden jeweils zwischen Ende September und Mitte Oktober in Drillsaat angelegt. Die Fläche der Parzellen betrug 8.25 m² (1.32 m x 6.25 m). Eine Parzelle bestand aus 6 Reihen mit einem Reihenabstand von 22 cm. Die Saatedichte betrug 350 keimfähige Körner pro m². Durch eine dreimalige Fungizidbehandlung (DC 31 (TOTTMANN und MAKEPEACE, 1979) "Orbit", Dr. R. Maag AG, Dielsdorf, Schweiz; DC 41 "Tiptor" und DC 59 "Alto Elite", Sandoz Agro AG, Basel, Schweiz) konnten die Versuche frei von sichtbaren Krankheiten gehalten werden. Phosphor und Kalium wurden in allen Versuchen gemäss Normdüngung der Eidgenössischen Forschungsanstalten aufgedüngt. Die N-Düngung (Ammonsalpeter) wurde 1990 in 2 (Bestockungsgabe, DC 25; Schossergabe, DC 32) und 1991 und 1992 in 3 Gaben (3. Gabe beim Ährenschieben, DC 50) aufgeteilt (Bestockungsgabe=110 kg N - N_{min} ha⁻¹, Schossergabe=30 kg N ha⁻¹, Ährenschiebergabe=30 kg N ha⁻¹). Eine Lagerung wurde mit einem Stütznetz verhindert.

Versuch für die Wachstumsanalyse und die Ertragsbestimmung

Die sechs NIL's und 'Arina' wurden 1990 und 1991 in 4 bzw. 6 Wiederholungen in einer zufällig verteilten Blockanlage gesät. Es wurden Teilernten bei der Vollblüte (DC 65), bei der Milchreife (DC 75) und bei der Totreife (DC 91) durchgeführt. Pro Erntetermin wurde eine Teilparzelle aus den mittleren vier Reihen pro Parzelle geerntet (1990, 50 cm=0.44 m²; 1991, 80 cm=0.70 m²). Davon wurde eine 10% bis 20%ige Stichprobe in Ähren, Halme (inkl. Blattscheide), grüne Fahnenblätter, grüne restliche Blätter und dürre Blätter zerlegt. Die Blattfläche der Fahnenblätter, sowie der restlichen Blätter wurde mit einem automatischen Blattflächemessgerät (Li-Cor Li-300, Lincoln, Nebraska, USA bzw. LTD mit Laufband, Delta-T-Devices Ltd, Burvel, Cambridge, England) gemessen. Die einzelnen Fraktionen wurden 1h bei 105 °C und anschliessend bei 65 °C bis zur Gewichtskonstanz für die

Bestimmung der Trockensubstanz getrocknet. Bei der Totreife wurde die ganze Teilparzelle verarbeitet und die Anzahl Ähren pro Fläche, die Anzahl Körner pro Ähre, der Kornertrag und das Tausendkorngewicht (TKG) bestimmt. Der Zeitpunkt des Ährenschiebens (bei 50% der Triebe 2/3 der Ähren geschoben) wurde festgehalten.

Versuch zur Bestimmung des Wachstumspotentials der Körner

Die Linien FAP 75'220 und FAP 75'223 (je eine zufällig ausgewählte Linie pro Population) und 'Arina' wurden 1992 in einem zufällig verteilten Blockversuch mit 5 Wiederholungen angelegt. Pro Parzelle wurden bei der Blüte (DC 60-65) 35 ähnliche Ähren bezeichnet. Es handelte sich um Ähren mittlerer Grösse mit je 16 gut entwickelten Ährchen die gleichzeitig die Blüte erreichten. Drei Wochen nach der Vollblüte (DC 65) wurden 24 der bezeichneten Ähren in 4 Verfahren aufgeteilt. Zur Limitierung der Sink-Kapazität wurden einzelne Körner mit der Pinzette entfernt, woraus die folgende 4 Verfahren entstanden:

- a: Kontrolle: intakte Ähre
- b: 24 Körner: 12 Ährchen mit je zwei proximalen Körnern
- c: 18 Körner: wie b minus 25 % der proximalen Körner
- d: 12 Körner: wie b minus 50% der proximalen Körner

Die Ähren wurden bei der Totreife (DC 91) geerntet und von Hand gedroschen. Nach der Trocknung (48 h bei 65 °C) wurde das TKG der proximalen Körner bestimmt.

Statistische Methoden

Die Homogenität der Mittelwerte wurde anhand einer Varianzanalyse geprüft. In den Tabellen und Figuren werden die Irrtumswahrscheinlichkeit (P) in Prozent, der Variationskoeffizient der Residuen (CV) und der mittlere Fehler (mF) der Varianzanalyse bzw. des Mittelwertes dargestellt. Zusätzlich wurden Regressionsrechnungen zur Auswertung der Daten eingesetzt. Die statistische Berechnung erfolgte mit Hilfe des Programmpaketes Superanova (Abacus Concepts Inc., Berkeley, California, USA).

Ergebnisse

Kornertrag und Wachstumsanalyse

Die braunrostresistenten NIL's waren morphologisch kaum von ihrem anfälligen Elter 'Arina' zu unterscheiden. Die phänologische Entwicklung war einheitlich und ausgeglichen. 1990 und 1991 schoben alle Linien innerhalb von vier, bzw. drei Tagen die Ähren. Das Ährenschieben der NIL's fand dabei verteilt um den Mittelwert von 'Arina' statt.

Bei der Blüte bestanden zwischen den NIL's der *Lr9-A* und der *Lr9-B* Gruppe signifikante Unterschiede in der gesamten Blattmasse. Mit $170.5 \text{ g TS m}^{-2}$ hatten die *Lr9-B* NIL's im Durchschnitt 8.3% mehr Blattmasse als die der *Lr9-A* NIL's ($157.4 \text{ g TS m}^{-2}$). 'Arina' lag mit $165.7 \text{ g TS m}^{-2}$ zwischen den beiden Gruppen.

Der Fahnenblattflächenindex war bei der Blüte und der Milchreife für 'Arina' und die NIL's vergleichbar (Tab. 1). Der Restblattflächenindex war hingegen bei der Milchreife für die *Lr9-A* NIL's um 16% und für die *Lr9-B* NIL's um 7% tiefer als bei 'Arina'. Dieser Unterschied entstand durch eine unterschiedliche Blattalterung zwischen Blüte und Milchreife. Der Restblattflächenindex nahm in dieser Zeit bei den *Lr9-A* und *Lr9-B* NIL's um 39.2% ab. 'Arina' reduzierte im gleichen Zeitraum den Restblattflächenindex nur um 32.2%. Der gesamte Blattflächenindex war bei der Milchreife bei den *Lr9-A* NIL's um 9.2% und bei den *Lr9-B* NIL's um 4.6% tiefer als bei 'Arina'.

Bei der Blüte war die oberirdische Trockensubstanz der *Lr9-A* NIL's und *Lr9-B*-NIL's um 3.3% bzw. 4.7% höher als bei 'Arina' (Fig. 4). Diese Unterschiede der Gruppenmittel waren

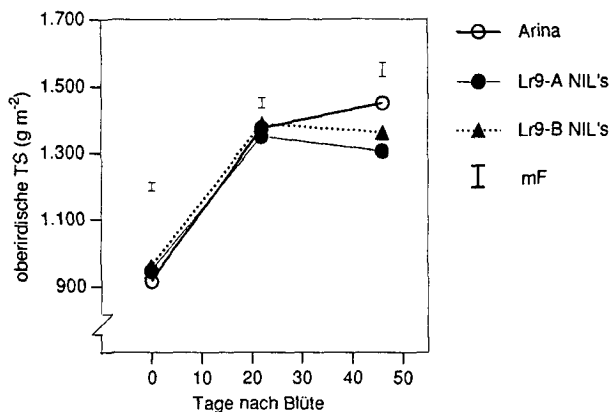


Fig. 4: Oberirdische Trockensubstanzproduktion von 'Arina' und von braunrostresistenten, nah isogenen Linien aus zwei unabhängigen Populationen (*Lr9-A* und *Lr9-B* NIL's) bei der Blüte (DC 65), 22 Tage nach der Blüte (Milchreife, DC 75) und 46 Tage nach der Blüte (Vollreife, DC 91). Mittelwerte der Versuche von 1990 und 1991 (für 'Arina' n=10, für *Lr9-A* NIL's und *Lr9-B* NIL's n=30).

Tabelle. 1: Blattflächenindizes von 'Arina' und von braunrostresistenten, nah isogenen Linien aus zwei unabhängigen Populationen (L9-A und L9-B NIL's) bei der Blüte (DC 65) und bei der Milchreife (DC 75). Mittelwerte der Versuche von 1990 und 1991 (für 'Arina' n=10, für L9-A und L9-B NIL's n=30). mF=mittlerer Fehler des Mittelwertes, mF-Anova= mittlerer Fehler der Varianzanalyse, P=Irrtumswahrscheinlichkeit in %, CV= Variationskoeffizient der Residuen.

	Arina ±mF	L9-A NIL's ±mF	L9-B NIL's ±mF	mFAnova (n=10)	P	CV
.....m ² m ⁻²						
Fahnenblattflächenindex						
Blüte	1.01 ±0.063	1.02 ±0.030	1.06 ±0.031	0.046	47.4%	14.0%
Milchreife	1.02 ±0.048	1.09 ±0.024	1.03 ±0.031	0.040	22.0%	11.9%
Restblattflächenindex						
Blüte	3.32 ±0.257	3.09 ±0.116	3.44 ±0.109	0.159	5.1%	15.4%
Milchreife	2.25 ±0.112	1.88 ±0.050	2.09 ±0.058	0.095	0.1%	14.9%
gesamter Blattflächenindex						
Blüte	4.33± 0.308	4.11 ±0.131	4.49 ±0.132	0.182	5.6%	13.4%
Milchreife	3.27± 0.137	2.97 ±0.069	3.12 ±0.080	0.121	5.0%	12.4%

jedoch statistisch nicht signifikant. Es fiel aber auf, dass alle NIL's bei der Blüte eine grössere oberirdische Biomasse hatten als 'Arina'. Der Vergleich der einzelnen NIL's mit 'Arina' zeigte, dass die beiden NIL's *Lr9-A* NIL FAP 75'219 mit 989 g TS m⁻² und *Lr9-B* NIL FAP 75'171 mit 993 g TS m⁻² eine um 8.1% bzw. 8.5% signifikant höhere oberirdische Biomasse hatten als 'Arina' (915 g TS m⁻², mF=21.36). Bei der Milchreife war die oberirdische TS-Produktion aller *Lr9-A* und *Lr9-B* Linien mit 'Arina' vergleichbar. Durchwegs signifikante Unterschiede zwischen 'Arina' und den NIL's entstanden zwischen der Milchreife und der Reife (Fig. 4). Bei 'Arina' nahm in dieser Zeit die oberirdische TS noch leicht zu, während sie bei den NIL's tendenzmässig abnahm. Das Ährgewicht der *Lr9-A* und *Lr9-B* NIL's nahm in dieser Zeit 24.4% bzw. 15.6% weniger zu als bei 'Arina' (Tab.2). Das Gewicht der restlichen Pflanzenteile nahm hingegen um 13.9% bzw 18.5% mehr ab. Als Folge davon wiesen bei der Reife die *Lr9-A* und *Lr9-B* NIL's 9.9% bzw. 6.1% weniger oberirdische TS auf als 'Arina'.

Die *Lr9-A* und *Lr9-B* NIL's hatten im Durchschnitt einen um 12.2% bzw. 10.7% kleineren Kornerntrag als 'Arina' (Tab. 3). Keine der einzelnen NIL's erreichte den Ertrag von 'Arina'. Den höchsten Ertrag der NIL's hatte die *Lr9-B* Linie FAP 75'171 mit 55.7 q TS ha⁻¹. Nur bei dieser Linie war der Ertragsunterschied zu 'Arina' (58.8 q TS ha⁻¹) nicht signifikant (mF=1.84). Alle anderen Linien hatten einen um 11% bis 14% signifikant tieferen Kornerntrag als 'Arina'.

Fig. 5 zeigt die positive Korrelation zwischen Kornzahl und Ertrag. 90% der Variation des Ertrages liess sich durch die Kornzahl pro Fläche erklären. Die Kornzahl ihrerseits war mit der Ährenzahl positiv korreliert ($r^2=0.86^*$). Gemäss Streuungserlegung bestanden jedoch zwischen den einzelnen Linien bei der Reife keine signifikanten Unterschiede in der Kornzahl pro Ähre, bzw. pro Fläche (Tab. 3). Dies war auf die relativ kleinen Unterschiede im Vergleich zur Streuung der Triebzahl innerhalb der Versuche zurückzuführen.

'Arina' wies sowohl die höchste Anzahl Körner pro Fläche als auch die schwersten Körner auf. Das TKG der NIL's lag im Vergleich zu 'Arina' um 2% bis 7% tiefer. Im Mittel hatten die *Lr9* Linien ein um 4.1% signifikant kleineres TKG. Die *Lr9* Linien wiesen mit 39.1% einen signifikant kleineren Ernteindex auf als 'Arina' (40.5%).

Wachstumspotential der Körner

Die intakten Ähren (Kontrollverfahren) der drei untersuchten Genotypen wiesen durchschnittlich 42 Körner auf. Die proximalen Körner von 'Arina' erzielten dabei ein TKG von 49.7 g TS (Fig. 6). Das TKG der NIL's war 7.2% für die *Lr9-A* Linie FAP 75'220 und 9.4% für die *Lr9-B* Linie FAP 75'223 signifikant tiefer als beim anfälligen, rekurrenten Elter. Bei 24 Körnern pro Ähre stieg das TKG der proximalen Körner im Vergleich zur Kontrolle um 5.0% für 'Arina' und um 6.0%, bzw. 5.8% für die *Lr9-A* und *Lr9-B* NIL's an. Das höchste

Tabelle. 2: Ährgewicht und Gewicht der übrigen oberirdische Pflanzenteile von 'Arina' und von braunrostresistenten, nah isogenen Linien aus zwei unabhängigen Populationen (L79-A und L79-B NIL's) bei der Blüte (DC 65), bei der Milchreife (DC 75) und bei der Vollreife (DC 91). Mittelwerte der Versuche von 1990 und 1991 (für 'Arina' n=10, für die L79-A und L79-B NIL's n=30). mF=mittlerer Fehler des Mittelwertes, mFAnova= mittlerer Fehler der Varianzanalyse, P=Irrtumswahrscheinlichkeit in %, CV= Variationskoeffizient der Residuen.

	Arina mF	L79-A NIL's mF	L79-B NIL's mF	mFAnova (n=10)	P	CV
 TS (g m ⁻²).....					
Ährgewicht						
Blüte	109.8 ±3.83	115.2 ±1.79	115.0 ±2.57	3.29	28.4%	9.1%
Milchreife	374.8 ±25.96	384.3 ±11.89	368.7 ±13.50	10.71	14.0%	9.0%
Reife	719.1 ±11.80	644.7 ±13.71	659.6 ±12.13	21.49	2.2%	10.3%
Übrige oberirdische Pflanzenteile						
Blüte	805.3 ±18.16	830.0 ±12.99	842.8 ±14.74	22.10	30.8%	8.4%
Milchreife	997.6 ±35.86	964.7 ±22.27	1017.6 ±24.55	24.26	2.5%	7.7%
Reife	730.0 ±15.15	659.9 ±18.12	700.6 ±14.09	22.38	2.3%	10.3%

Tabelle 3: Ertragsstruktur von 'Arina' und von braunrostresistenten, nah isogenen Linien aus zwei unabhängigen Populationen (Lr9-A und Lr9-B NIL's) bei der Vollreife (DC 91). Mittelwerte der Versuche von 1990 und 1991. (für 'Arina' n=10, für den Lr9-A und Lr9-B NIL's n=30). mF=mittlerer Fehler des Mittelwertes, mF_{Anova}= mittlerer Fehler der Varianzanalyse, P=Irrtumswahrscheinlichkeit in %, CV=Variationskoeffizient der Residuen.

	Arina ±mF	Lr9-A NIL's ±mF	Lr9-B NIL's ±mF	mF _{Anova} (n=10)	P	CV
Korntrag (dt TS ha ⁻¹)	58.8 ±1.12	51.6 ±1.18	52.5 ±1.04	1.82	0.6%	10.9%
Kornzahl pro Ähre (Anzahl Ähre ⁻¹)	28.4 ±0.39	27.5 ±0.44	28.1 ±0.35	0.52	58.1%	5.9%
Ährenzahl pro Fläche (Anzahl m ⁻²)	482 ±9.7	456 ±10.8	454 ±7.9	14.83	22.3%	10.2%
Kornzahl pro Fläche (Anzahl m ⁻²)	13683 ±290	12474 ±264	12751 ±231	401.77	6.4%	10.0%
Tausendkorngewicht (TKG) (g)	43.0 ±0.77	41.4 ±0.27	41.1 ±0.31	0.45	0.2%	3.4%
Ernteindex (%)	40.5 ±0.35	39.6 ±0.30	38.6 ±0.33	0.49	0.1%	3.9%

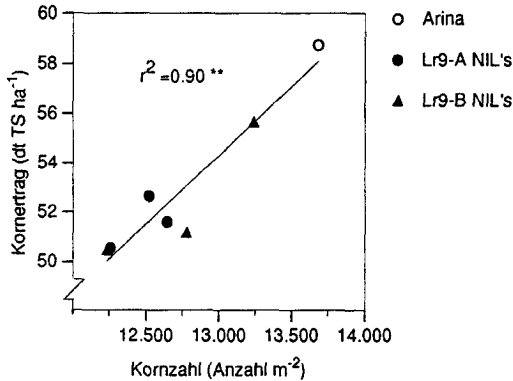


Fig. 5: Regression zwischen Kornzahl und Korntrag von 'Arina' und von braunrostresistenten, nah isogenen Linien aus zwei unabhängigen Populationen (*Lr9-A* und *Lr9-B* NIL's). Mittelwerte der Versuche von 1990 und 1991 (4 bzw. 6 Wiederholungen).

gemessene TKG der *Lr9-A* und *Lr9-B* NIL's lag im Vergleich zu 'Arina' (52.2 g TS) mit 49.2 g TS bzw. 47.6 g TS signifikant 5.7%, bzw. 7.8% tiefer. Mit der weiteren Abnahme der Kornzahl pro Ähre nahm das TKG der proximalen Körner leicht ab. Bei 18 bzw. 12 Körnern pro Ähre wurden die Deckspelzen sehr hart und beeinflussten die Form der Karyopse. Dies schränkte möglicherweise das Wachstums des Kornes ein. Ähnliche Beobachtungen machten die Züchter bei Ähren, die für Kreuzungen präpariert wurden (HANS und MICHAEL WINZELER, FAP-Reckenholz, pers. Mitteilung).

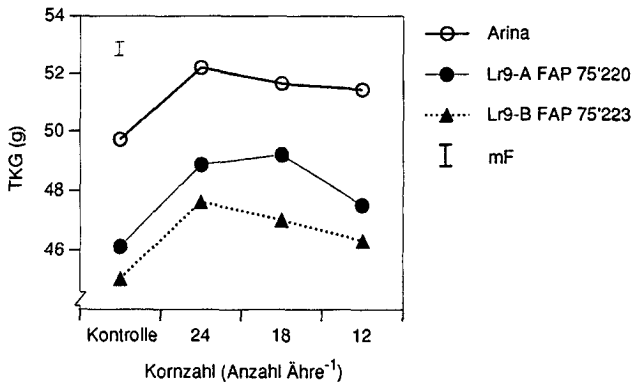


Fig. 6: Einfluss der Reduktion der Kornzahl auf das TKG der proximalen Körner von 'Arina' und von zwei braunrostresistenten, nah isogenen Linien (*Lr9-A* FAP 75'220 und *Lr9-B* FAP 75'223) aus zwei unabhängigen Populationen. Für 'Arina' n=10, für *Lr9-A* NIL's und *Lr9-B* NIL's n=5.

Diskussion

Die Einkreuzung des Braunrostresistenzgens *Lr9* hatte negative Auswirkungen auf die Ertragsleistung. Trotz vergleichbarer phänologischer Entwicklung und höherer oberirdischer Biomassenerträge bei der Blüte zeigten alle sechs untersuchten NIL's aus zwei Populationen einen um 5% bis 14% tieferen Ertrag als ihr anfälliger, rekurrenter Elter 'Arina'. Im Durchschnitt betrug die Ertragsdepression 11.5% (Tab. 3). Diese Ertragsdepression bestätigte den von GRIFFEY und ALLEN (1986), THE *et al.* (1988), DRIJEPONDT *et al.* (1990) und KNOTT (1993) beobachteten negativen Zusammenhang zwischen Braunrost- bzw. Schwarzrostresistenz und Ertrag. Die Ertragsdepression war in ihrem Ausmass mit den oben genannten Arbeiten vergleichbar. In der Literatur werden mehrere mögliche Erklärungen für die abweichenden Eigenschaften von isogenen Linien vorgeschlagen. Nach BRINKMAN und FREY (1977) werden mit dem Resistenzgen auch eng mit ihm gekoppelte Spendergene vererbt. Dieses Phänomen wurde "hitch-hike" oder "linkage drag" genannt. Nach ZEVEN (1984) und ZEVEN und WANINGE (1986) werden bei der Wahl der Kreuzungspflanzen immer kräftige, gesunde Pflanzen von den Züchtern ausgewählt. Dadurch bleiben angepasste Genkomplexe des Genspenders und die mit ihnen eng gekoppelten Gene in den resistenten NIL's erhalten. Die Expression von unerwünschten Genen oder Genkomplexen des Spenders kann sich auf die Ertragsbildung der NIL's negativ, aber auch positiv auswirken, wie BRINKMAN und FREY (1977) bei NIL's von Hafer mit eingekreuzten Resistenzgenen gegen den Kronenrost aus der Wildform *Avena sterilis* zeigen konnten. In der vorliegenden Arbeit zeigen die signifikanten Unterschiede in der Blattmasse, die zwischen den zwei Populationen bei der Blüte festgestellt wurden, dass "linkage drag" bzw. "drag genes" eine gewisse Rolle bei der Züchtung der *Lr9* NIL's von 'Arina' gespielt haben. Die kleine Variabilität der Ertragsparameter bei der Reife innerhalb und zwischen den *Lr9*-Populationen zeigt, dass, falls "drag genes" für die Ertragsdepression verantwortlich sind, diese eng gekoppelt mit *Lr9* vererbt werden. Es ist jedoch wahrscheinlich, dass *Lr9* einen direkten negativen Einfluss auf die Ertragsbildung hat. Dies umso mehr, als Untersuchungen mit molekularen Markern zeigten, dass sich das Genom der NIL's von demjenigen von 'Arina' nur minimal unterscheidet (SCHACHERMAYR *et al.*, 1994). Zwischen 'Arina' und den zwei untersuchten NIL's waren nur 4 bzw. 16 von rund 2'000 Banden unterschiedlich.

Das um 11.5% kleinere Ertragspotential der braunrostresistenten NIL's war das Ergebnis einer um 5.6% reduzierten Anzahl Körner pro Fläche (Tab. 3). Auch die enge positive Korrelation zwischen Kornzahl und Ertrag ($r^2=0.90^{**}$, Fig. 5) zeigt den grossen Einfluss des Kornansatzes auf die Limitierung des Ertrags. Die NIL's wiesen trotz des höheren Ährgewichtes bei der Blüte tiefere Kornzahlen pro Fläche bei der Reife auf (Tab. 2 und Tab. 3). Dagegen hatte 'Arina' mit dem kleinsten Ährgewicht bei der Blüte die höchste

Kornzahl. Damit wurde der in der Literatur beschriebene positive Zusammenhang zwischen Ährengewicht bei der Blüte und Kornzahl bzw. Ertrag bei der Reife (SLAFER und ANDRADE, 1991; SLAFER *et al.*, 1990; THORNE und WOOD, 1987) nicht festgestellt. Als mögliche Erklärung für einen reduzierten Kornansatz kommt eine reduzierte Assimilat-Zufuhr zu den Blüten oder jungen Kornanlagen in Frage. Ein um den Blütezeitpunkt reduziertes Assimilatangebot hat nach FISCHER und STOCKMAN (1980), WINZELER *et al.* (1989) und GRABAU *et al.* (1990) eine Reduktion des Kornansatzes der Ähre zur Folge. Allerdings war die Blattfläche der NIL's und 'Arina' bei der Blüte vergleichbar. Deshalb könnte ein reduziertes Assimilatangebot bei den NIL's nur auf einer tieferen Photosyntheserate beruhen.

Die braunrostresistenten NIL's wiesen im Vergleich zu 'Arina' gleichzeitig eine reduzierte Kornzahl und ein signifikant tieferes TKG auf. BRINKMAN und FREY (1977) stellten dagegen beim Vergleich von kronenrostresistenten, nah isogenen Haferlinien mit ihrem rekurrenten Elter eine Kompensation zwischen den einzelnen Ertragskomponenten fest. Die Ursachen der Unabhängigkeit der Ertragskomponenten und die Faktoren, die das Kornwachstum der braunrostresistenten *Lr9* NIL's limitierten, schienen deshalb eine zentrale Rolle zur Erklärung der Ertragsdepression zu spielen. Eine partielle Entfernung der generativen Organe einer Ähre hat nach JENNER (1980) eine Zunahme des Assimilatangebots für die restlichen Körner zur Folge. Dies kann nach BROCKLEHURST (1977) zu einer Zunahme der Anzahl Endospermzellen der Körner führen. Da die Assimilateinlagerungsfähigkeit der Körner proportional zur Anzahl der Endospermzellen steigt (BROCKLEHURST, 1977; BROCKLEHURST *et al.*, 1978; SCHNYDER und BAUM, 1992), ermöglicht nur eine Reduktion der Kornzahl der Ähre am Ende der Endospermzellendifferenzierung eine klare Unterscheidung zwischen Source- und Sink-limitiertem Kornwachstum. Eine Reduktion der Kornzahl der Ähre drei Wochen nach der Blüte, d.h. nach Abschluss der Endospermzellendifferenzierung (HUBER und GRABE, 1987), bewirkte eine Zunahme des Gewichts der proximalen Körner von 'Arina' und ihren *Lr9* Linien FAP 75'220 und FAP 75'223 um 5% bis 6% (Fig. 6). Das Kornwachstum schien folglich sowohl bei 'Arina' als auch bei den NIL's in den letzten Wochen der Kornfüllung durch das Assimilatangebot limitiert zu werden. Jedoch konnte selbst durch die Entfernung von Körnern bei den *Lr9* Linien das TKG von 'Arina' nicht erreicht werden. Dies zeigt, dass die potentielle Korngröße bei den NIL's kleiner war als bei 'Arina'. Die Kompensation der kleineren Kornzahl pro Fläche der NIL's durch das TKG wurde deshalb sowohl durch das Assimilatangebot, als auch durch die Assimilateinlagerungsfähigkeit der Körner verhindert. Die kleinere Assimilateinlagerungsfähigkeit der Körner der NIL's könnte auf ein reduziertes Assimilatangebot während der Endospermzellen-Differenzierung hinweisen, da nach BROCKLEHURST (1977) die Verfügbarkeit von Assimilaten die Endospermzellteilung beeinflusst. Die kleinere Assimilateinlagerungsfähigkeit der Körner der NIL's könnte auch auf eine beeinträchtigte Wasserversorgung nach der Blüte hinweisen. Nach SCHNYDER und

BAUM (1992) ist das Gewicht des reifen Korns eng mit seinem frühzeitig festgelegten maximalen Wassergehalt korreliert, der nach einer raschen Wassereinlagerungsphase 10 bis 14 Tage nach der Blüte erreicht wird. Eine Störung des Wasserhaushalts der Pflanze zu diesem Zeitpunkt führt nach BROCKLEHURST *et al.* (1978) zu einer reduzierten Assimilateinlagerungsfähigkeit der Körner.

Der Verlauf der oberirdischen TS während der Kornfüllung weist ebenfalls auf eine beeinträchtigte Assimilat-Produktion der NIL's hin. Unterschiede in der TS-Produktion zwischen den NIL's und 'Arina' entstanden nämlich erst nach der Milchreife (Fig. 4). In dieser Zeit nahm die Ährentrockensubstanz der NIL's im Durchschnitt um rund 20% weniger zu als bei 'Arina'. Gleichzeitig nahm das Gewicht der restlichen Pflanzenteile um rund 16% mehr ab (Tab. 2). Dies lässt auf einen erhöhten Beitrag von gespeicherten Kohlenhydraten zur Kornfüllung als Kompensation einer beeinträchtigten Assimilation schliessen. Das reduzierte Assimilatangebot bei den *Lr9* NIL's dürfte nur zum Teil auf die schnellere Seneszenz der unteren Blätter zurückzuführen sein, da diese Unterschiede mindestens partiell durch die um 4% grösseren Fahnenblattflächenindizes hätten kompensiert werden können (Tab. 1). Es ist deshalb möglich, dass eine reduzierte Photosyntheserate pro Einheit Blattfläche für das kleinere Assimilatangebot der NIL's mitverantwortlich ist

Die Daten dieser Versuche zeigen, dass ein limitiertes Assimilatangebot und eine beeinträchtigte Wasserversorgung die Ertragsleistung der NIL's beeinflussen können. Im nächsten Teil der Arbeit wurde zur Überprüfung dieser Hypothesen der Gaswechsel der Fahnenblätter und die Wurzelaktivität der braunrostresistenten NIL's und deren rekurrentem Elter 'Arina' untersucht.

VI ZUSAMMENHANG ZWISCHEN REDUZIERTEM KORNERTRAG, GASWECHSEL UND WURZELAKTIVITÄT VON BRAUNROSTRESISTENTEN, NAH ISOGENEN WINTERWEIZENLINIEN UND IHREM ANFÄLLIGEN, REKURRENTEN ELTER 'ARINA'

Zusammenfassung

Zur Untersuchung der Ursachen des tieferen Kornertrags von braunrostresistenten, *Lr9* nah isogenen Linien (NIL's) der Winterweizensorte 'Arina', wurde 1991 der Gaswechsel der Fahnenblätter nach dem Ährenschieben unter Feldbedingungen gemessen. 1992 wurde anhand einer Bodenapplikation der Markerelemente Rubidium (Rb) und Strontium (Sr) die Wurzelaktivität von 'Arina' und ihren NIL's in zwei verschiedenen Bodentiefen untersucht.

Die braunrostresistenten NIL's wiesen am Vormittag eine zu 'Arina' vergleichbare Nettophotosyntheserate auf. Im Tagesverlauf nahm dagegen die CO₂-Assimilation der NIL's stärker ab als bei 'Arina'. Am Nachmittag assimilierten die NIL's 7% bis 20% weniger als 'Arina'. Die Abnahme der Nettophotosyntheserate war bei der Kornfüllung sehr eng mit der Reduktion der stomatären Leitfähigkeit (g_s) korreliert. Die Reduktion der stomatären Leitfähigkeit hatte eine Reduktion des interzellulären CO₂-Gehaltes zur Folge. Dies deutet auf einen möglichen kausalen Zusammenhang zwischen der Reduktion der stomatären Leitfähigkeit und der reduzierten CO₂-Assimilation hin.

Die zwischen Schossen und Milchreife um 15.2% bis 20.3% kleinere Sr-Aufnahme (in 25 bis 40 cm Bodentiefe) und die bei der Milchreife um 12.4% kleinere Rb-Aufnahme (in 10 cm Bodentiefe) der NIL's im Vergleich zu ihrem rekurrenten, anfälligen Elter 'Arina' widerspiegelt eine reduzierte Wurzelaktivität. Diese könnte während Zeiten mit erhöhtem Wasserdampfdruck-Defizit die Wasserversorgung der oberirdischen Biomasse limitiert haben. Die Reduktion der g_s könnte als typisches Zeichen eines Wasserstress direkt mit der kleineren Wurzelaktivität zusammenhängen.

Einleitung

Braunrostresistente, nah isogene Linien (NIL's) der Sorte 'Arina' wiesen einen um 11.5% tieferen Kornerntrag auf als ihr anfälliger, rekurrenter Elter (Versuche 1990/91, Tab. 3). Dafür verantwortlich war sowohl eine kleinere Kornzahl pro Fläche als auch ein reduziertes Wachstum des Einzelkorns. Das Kornwachstum schien sowohl durch das Assimilatangebot als auch durch seine Assimilateinlagerungsfähigkeit limitiert zu werden. Das reduzierte Assimilatangebot könnte neben einer Beeinträchtigung der Kornfüllung auch einen negativen Einfluss auf die Kornzahl und auf die potentielle Korngrösse ausgeübt haben. Ein um den Blütezeitpunkt reduziertes Assimilatangebot hat nach FISCHER und STOCKMAN (1980), WINZELER *et al.* (1989) und GRABAU *et al.* (1990) eine Reduktion des Körneransatzes der Ähre zur Folge. Nach BROCKLEHURST (1977) beeinflusst das Assimilatangebot auch die Teilung der Endospermzellen des Korns und dadurch auch das TKG. In den Freilandversuchen vom 1990/91 deutete der Verlauf der Verteilung der oberirdischen Trockensubstanz darauf hin, dass die photosynthetische Leistung pro Einheit Blattfläche für das reduzierte Assimilatangebot verantwortlich sein dürfte. Eine der häufigsten Ursachen für eine reduzierte Photosynthese ist Wasserstress (HENSON *et al.*, 1989a; HEITHOLT *et al.*, 1991; GRANT, 1992). Ein gestörter Wasserhaushalt könnte sich somit indirekt über die Beeinflussung des Assimilatangebots auf Kornansatz und Kornwachstum auswirken (BROCKLEHURST *et al.*, 1978). Er könnte aber auch direkt das Kornwachstum beeinflussen, denn nach SCHNYDER und BAUM (1992) ist der maximale Wassergehalt der Körner nach der Blüte eng korreliert mit dem Korngewicht bei der Reife.

Zur näheren Untersuchung der Ertragsdepression der resistenten *Lr9* NIL's wurde 1991 der Gaswechsel von 'Arina' und zwei ihrer braunrostresistenten, nah isogenen Linien nach dem Ährenschieben unter Feldbedingungen gemessen. Zur näheren Charakterisierung der Wechselwirkungen zwischen Gaswechsel und Wasserhaushalt der Pflanze wurde 1992 durch Applikation der Markerelemente Rubidium (Rb) und Strontium (Sr) in den Boden die Aktivität der Wurzeln in zwei verschiedenen Bodenschichten untersucht. Es zeigte sich, dass die reduzierte Ertragsleistung der NIL's mit einer verminderten Wurzelaktivität zusammenhängt. Dadurch entstand vor allem an trockenen, heissen Tagen bei den NIL's ein Wasserstress, der sich negativ auf die Assimilation auswirkte.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial

Als Vergleichspflanzen wurden die Winterweizensorte 'Arina' als rekurrenter, anfälliger Elter und zwei ihrer braunrostresistenten, nah isogenen Linien (NIL's) ausgewählt. Die NIL's trugen das aus *Aegilops umbellulata* stammende Braunrostresistenzgen *Lr9*. Die zwei NIL's wurden aus zwei unabhängig voneinander entwickelten Rückkreuzungspopulationen ausgewählt und tragen die Nummern FAP 75'220 bzw. FAP 75'223. Sie waren F8-Linien der siebten Rückkreuzung mit dem *Lr9*-Genspender R.L. 6010 (R.L. 6010 / 7 * 'Arina').

Allgemeine Versuchsbedingungen

Die Versuche wurden 1991 und 1992 an der Eidg. Forschungsanstalt für landw. Pflanzenbau Zürich-Reckenholz (FAP-Reckenholz) (440 m ü.M.) durchgeführt. Versuchsanlage und Pflegemaßnahmen waren gleich wie bei den Versuchen des 2. Kapitels (Seite 24).

Gaswechsellmessungen

Die NIL's und 'Arina' wurden 1991 in 6 Wiederholungen in einer zufällig verteilten Blockanlage gesät. Der Gaswechsel der intakten Fahnenblätter wurde nach dem Ährenschieben mit einem LCA-2 Gaswechsellmesssystem (Analytical Development CO., Hoddesdon, Herts, UK) im Freiland gemessen. Die Messungen wurden nur an wolkenlosen Tagen mit einer photosynthetisch aktiven Strahlung von 1'100 bis 1'300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durchgeführt. Dies war am 12.6.91 (Ährenschieben, DC 57), am 22.6.91 (Ende Blüte, DC 69), am 2.7.91 (Milchreife, DC 75) und am 6.7.91 (Teigreife, DC 85) gewährleistet. In die Cuvette (2.5 cm x 2.5 cm) wurde ein mittleres Stück des Fahnenblattes eingespannt und die Blattoberseite senkrecht zur Sonne exponiert. Pro Parzelle wurden 3 bis 5 Blätter nacheinander gemessen und pro Tag so viele Messungen wie möglich durchgeführt (DC 57: 45 Messungen, DC 69: 111 Messungen, DC 75: 65 Messungen und DC 85: 124 Messungen). Die Witterungsbedingungen während der Versuchsperiode sind in Fig.7 dargestellt. Ende Mai herrschte bereits sommerliches Wetter. Der Regen Anfang Juni konnte den Wassergehalt des Bodens nicht wesentlich erhöhen. Beim Ährenschieben war deshalb der Wassergehalt des Bodens unter Winterweizen 32 mm Wassersäule unter der Feldkapazität (Lysimeterdaten der Wetterstation der FAP-Reckenholz). Erst die Niederschläge vor der Blüte brachten den Wassergehalt des Bodens auf 8 mm Wassersäule über der Feldkapazität. Durch eine regenfreie Periode und hohe Temperaturen sank der Wassergehalt bei der Kornfüllung (Milch- und Teigreife) auf 27 mm bzw. 51 mm unter die Feldkapazität.

Bestimmung der Wurzelaktivität

Die NIL's und 'Arina' wurden 1992 in einem zufällig verteilten Blockversuch mit 5 Wiederholungen angebaut. Der zeitliche Verlauf der Wurzelaktivität in verschiedenen

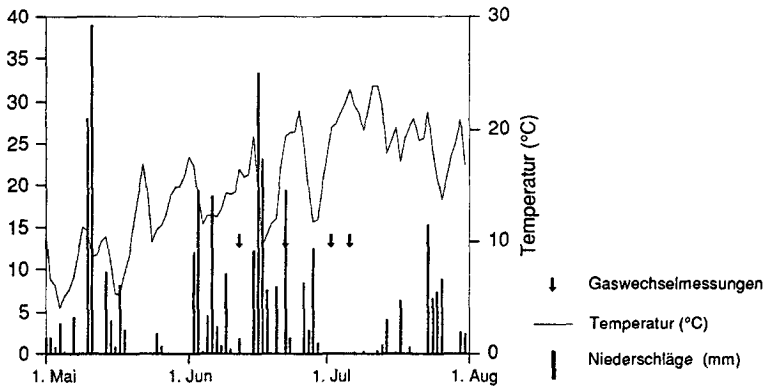


Fig. 7: Niederschläge, Temperatur und Zeitpunkt der Gaswechsellmessungen während der Versuchsperiode im Jahre 1991 (Daten der Wetterstation der FAP in Zürich-Reckenholz).

Bodentiefen wurde durch eine Applikation der Markerelemente Rubidium (Rb) und Strontium (Sr) bestimmt. Diese Elemente werden von der Pflanze komplementär zu Kalium, bzw. Calcium aufgenommen und erfüllen alle Voraussetzungen für einen Einsatz als Markerelement (PINKERTON und SIMPSON, 1979). Dazu gehört eine tiefe, natürliche Bodenkonzentration beider Elemente. Nach der Applikation sind sie im Boden relativ immobil und auch in angereicherter Menge haben sie keine phytotoxische Wirkung. Zusätzlich können beide Elemente in sehr kleinen Mengen in der Pflanze quantitativ nachgewiesen werden. Der Einsatz von Strontium zur Untersuchung der Wurzelaktivität ist bei PINKERTON und SIMPSON (1979) weitgehend beschrieben. FITTER (1986) setzte beide Markerelemente zusammen mit Lithium erfolgreich zur Beschreibung der Wurzelaktivität verschiedener Arten einer Naturwiese ein.

Die Markerelemente wurden beim Schossen (5.5.92, DC 30), beim Ährenschieben (21.5.92, DC 47) und bei der Wasserreife der Körner (17.6.92, DC 71) in den Boden appliziert. Jede Applikation wurde in einer Teilparzelle von 1 m Länge durchgeführt. Bei jedem Applikationszeitpunkt wurden 16 ml einer Lösung von 0.12 N ClRb, resp. $\text{Cl}_2\text{Sr} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in drei Aliquoten von je 5.33 ml zwischen der 2. und 3., 3. und 4. und 4. und 5. Reihe in der Mitte der Parzelle mit einer Lanze in den Boden injiziert. Rubidium wurde bei allen drei Terminen in 10 cm Tiefe appliziert. Strontium wurde beim Schossen in 40 cm Tiefe appliziert. Beim Ährenschieben und bei der Wasserreife konnte Strontium nur in 25 cm Bodentiefe appliziert werden, da der trockene Boden ein tieferes Einführen der Sonde verhinderte. Die

Ernten zur Untersuchung der in die oberirdischen Pflanzenteile aufgenommenen Markermengen erfolgten am 12.5.92 (DC 32) für den ersten, am 1.6.92 (DC 55) für den zweiten und am 25.6.92 (DC 80) für den dritten Applikationstermin. Dafür wurden 20 cm der 3. und 4. Reihe in der Mitte jeder Teilparzelle geerntet. Nach der Trocknung (1 h bei 105 °C, 48 h bei 65 °C) wurden 250 mg fein gemahlenes Pflanzenmaterial bei 540 °C während 6 h verascht. Die Asche wurde bei 70 °C in 2 ml 20%-iger HCL aufgelöst. Nach der Zugabe von 1 ml CsCl (63.34 g l⁻¹) wurde die Lösung mit H₂O auf 50 ml verdünnt und durch eine 0.8 µm-Membran filtriert. Sr wurde mit Hilfe von ICP (Inductively Coupled Plasma atomic emission spectrometer, Liberty 200, Varian Australia, PTY LTD, Australia), Rb durch Atomemission (Atomspektrometer 5'100, Perkin Elmer Corp., CT, Norwalk, USA) bestimmt. Zur Analyse des Pflanzenwachstums wurden bei den oben erwähnten Ernteterminen und zusätzlich beim Ährenschieben (21.5.92, DC 47), bei der Wasserreife der Körner (16.6.92, DC 71) und bei der Teigreife (8.7.92, DC 85) Teilernten durchgeführt. Pro Erntetermin wurden je 50 cm der 2. und 5. Reihe (d.h. 0.22 m²) geerntet und davon eine Stichprobe von rund einem Drittel der Frischgewichts zur Bestimmung der Trockensubstanz wie oben beschrieben getrocknet. Für die einzelnen Applikationszeitpunkte wurde als Mass für die Wurzelaktivität die von der Pflanze in die oberirdischen Teile aufgenommene Markermenge pro Flächeneinheit berechnet. Bei der Vollreife (27.7.92, DC 91) wurde eine Teilparzelle von 0.44 m² geerntet und davon die Ertragsparameter bestimmt. Da für die Markerelemente und die oberirdische TS keine relevanten Unterschiede zwischen den NIL's FAP 75'220 und FAP 75'223 bestanden, wurden die Mittelwerte der NIL's mit 'Arina' verglichen.

Statistische Methoden

Die Homogenität der Mittelwerte wurde anhand der Varianzanalyse geprüft. In den Tabellen und Figuren wird die Irrtumswahrscheinlichkeit (P) in Prozent und der mittlere Fehler (mF) der Varianzanalyse dargestellt. Bestanden grosse Unterschiede in der Anzahl Beobachtungen (n), wurden die mittleren Fehler der Mittelwerte oder die Vertrauensintervalle für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% angegeben. Zusätzlich wurden Regressionsrechnungen zur Auswertung der Daten eingesetzt. Die statistische Berechnung erfolgte mit Hilfe des Programmpaketes Superanova (Abacus Concepts Inc., Berkeley, California, USA).

Ergebnisse

Gaswechsel der Fahnenblätter

Die Nettophotosyntheserate (A) der Fahnenblätter von 'Arina' und ihren NIL's nahm im Mittel zwischen Ährenschieben und Teigreife kontinuierlich ab (Fig. 8). Die am Vormittag (10^{00} - 12^{30} h) gemessenen Werte nahmen von durchschnittlich $18.4 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ beim Ährenschieben auf durchschnittlich $13 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bei der Teigreife ab. Zwischen Ährenschieben und Milchreife war die Photosyntheserate der NIL's und 'Arina' am Vormittag vergleichbar. Bei der Teigreife hatte FAP 75'220 am Vormittag signifikant tiefere Werte als 'Arina'. Die Nettophotosyntheserate war in allen Entwicklungsstadien am Nachmittag (13^{30} - 16^{30} h) generell kleiner als am Vormittag. Die im Tagesverlauf beobachtete Abnahme der Photosyntheserate war bei den braunrostresistenten Linien besonders ausgeprägt. Die Abnahme der Assimilation der NIL's vom Vormittag (10^{00} - 13^{30} h) zum Nachmittag (13^{30} - 16^{30} h) betrug im Mittel 20.6% beim Ährenschieben, 13.3% Ende Blüte, 19.6% bei der Milchreife und 12.8% bei der Teigreife. Bei 'Arina' nahm hingegen A nur um 9.7%, 12.2%, 7.4% bzw. 4.9% ab. Die NIL's assimilierten bei allen Entwicklungszeitpunkten am Nachmittag weniger CO_2 als 'Arina'. Die Unterschiede zwischen den resistenten Linien und ihrem anfälligen Elter betrugen 7% bis 20% und waren während der Kornfüllung (Milch- und Teigreife) und, für die Linie FAP 75'220 auch beim Ährenschieben, statistisch gesichert. Bei der Blüte hingegen waren sie statistisch nicht gesichert.

Die Transpiration (E) und die stomatäre Leitfähigkeit (g_s) waren am Vormittag für die NIL's und 'Arina' bei allen Entwicklungsstadien vergleichbar (Fig.8). Am Nachmittag hingegen waren E und g_s bei den NIL's tiefer als bei 'Arina'. Für E waren diese Unterschiede nur bei der Milch- und Teigreife signifikant. Die g_s der NIL's war beim Ährenschieben um 17.4%, bei der Milchreife um 22.5% und bei der Teigreife um 28.2% signifikant tiefer als bei 'Arina'.

Bei der Milch- und Teigreife bestand für die NIL's ein enger linearer Zusammenhang zwischen der stomatären Leitfähigkeit und der Photosyntheserate (Fig. 9). Für 'Arina' war dieser Zusammenhang zwischen g_s und A jedoch nicht signifikant.

Figur 10 stellt den Tagesverlauf des Gaswechsels bei der Teigreife dar. In diesem Entwicklungsstadium war die Photosyntheserate der Linie FAP 75'220 bereits am Vormittag signifikant tiefer als bei 'Arina' (Fig. 8). Für beide NIL's konnte zwischen 13^{30} h und 14^{30} h eine drastische Reduktion von A beobachtet werden. Beide NIL's wiesen um 10^{00} h eine zu 'Arina' vergleichbare Transpiration auf. Zwischen 10^{00} h und 11^{45} h führte die relativ hohe Transpiration und stomatäre Leitfähigkeit, zusammen mit einer in diesem Entwicklungsstadium bereits reduzierten photosynthetischen Kapazität, zu einem hohen interzellulären CO_2 -Gehalt. Nach 11^{45} h nahm bei den NIL's die stomatäre Leitfähigkeit ab.

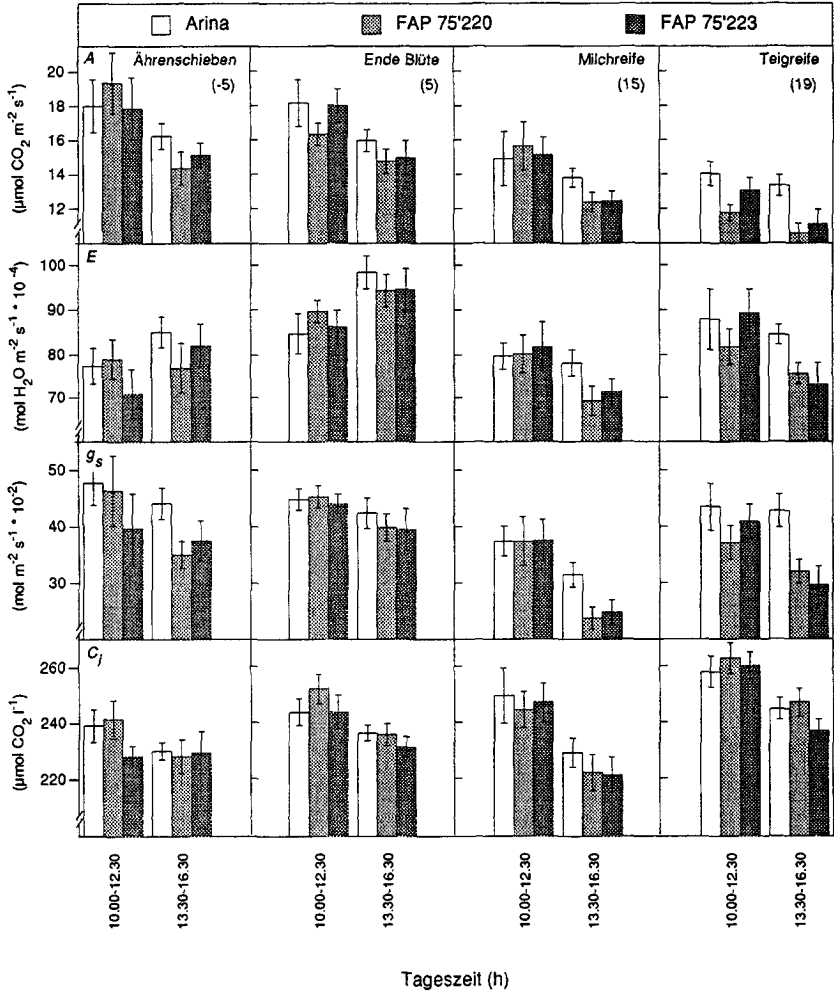


Fig. 8: Photosyntheserate (A), Transpirationsrate (E), stomatäre Leitfähigkeit (g_s) und interzellulärer CO_2 -Gehalt (C_i) der Fahnblätter von 'Arina' und von den braunrostresistenten, nah isogenen Linien FAP 75'220 und FAP 75'223 in Abhängigkeit des Entwicklungsstadiums und der Tageszeit. In Klammern=Tage vor, bzw. nach der Blüte, I=Vertrauensintervalle der Mittelwerte bei P=5%.

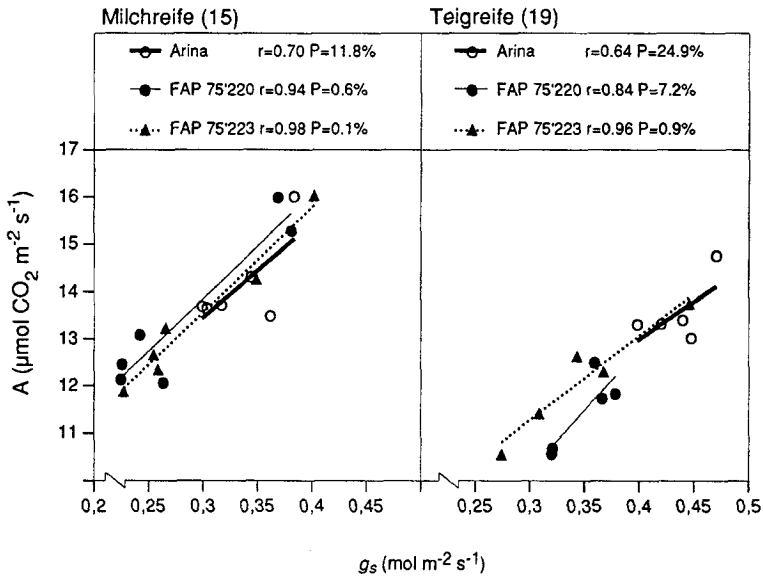


Fig. 9: Regression zwischen der stomatären Leitfähigkeit g_s (mol m⁻² s⁻¹) und der Nettophotosyntheserate A (μmol CO₂ m⁻² s⁻¹) der Fahnblätter gemessen bei der Milchreife (DC 75) und bei der Teigreife (DC 85) für 'Arina' und für den braunrostresistenten, nah isogenen Linien FAP 75'220 und FAP 75'223). In Klammern=Tage nach der Blüte, r =Korrelationskoeffizient, P =Irrtumswahrscheinlichkeit in %.

Der interzelluläre CO₂-Gehalt fiel deshalb zwischen 11⁴⁵ h und 13³⁰ h um 8.6% ab. 'Arina' zeigte eine maximale Assimilation um 11⁴⁵ h, und hatte am Nachmittag eine deutlich höhere Rate als die NIL's. Die stomatäre Leitfähigkeit nahm bei 'Arina' nur leicht ab. Die Abnahme der Transpiration war dadurch weniger ausgeprägt als bei den *Lr9* NIL's. Bei der relativ hohen CO₂-Assimilation nahm der C_i jedoch deutlich ab.

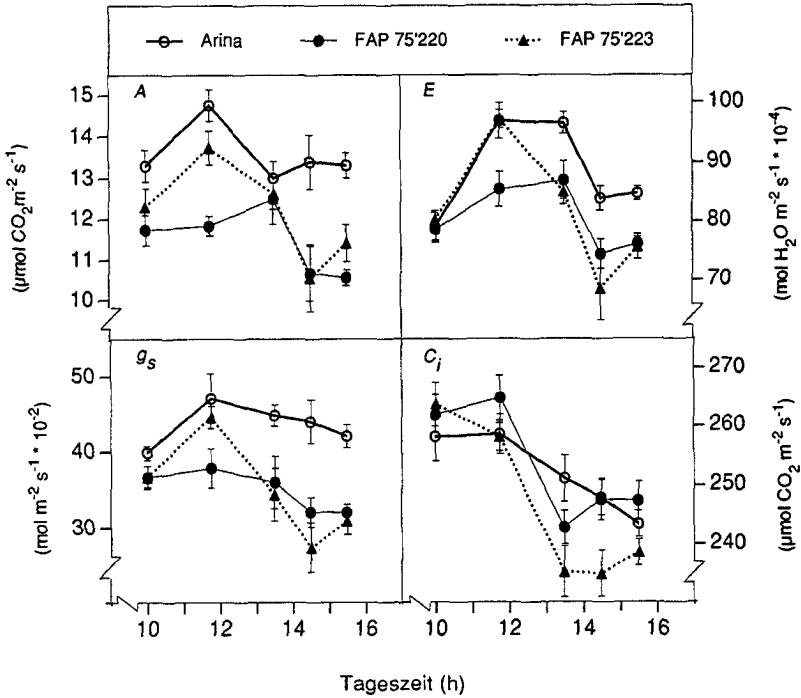


Fig. 10: Tagesverlauf der Photosyntheserate (A), der Transpirationsrate (E), der stomatären Leitfähigkeit (g_s) und des interzellulären CO_2 -Gehaltes (C_i) der Fahnblätter von 'Arina' und von den braunrostresistenten, nah isogenen Linien FAP 75'220 und FAP 75'223 bei der Teigreife (19 Tage nach der Blüte). I=mittlerer Fehler der Mittelwerte.

Wurzelaktivität

Die von den Pflanzen aufgenommenen Rubidium- und Strontiummengen variierten in Abhängigkeit des Applikationszeitpunktes und des Genotyps, was auf zeitlich, räumlich und genotypisch bedingte Veränderungen der Wurzelaktivität hindeutet (Fig. 11). Beim Schossen (23 Tage vor der Blüte) wiesen 'Arina' und ihre braunrostresistenten NIL's eine hohe Rubidiumaufnahme auf. Sie war bei den NIL's um 27.5% höher als bei 'Arina'. Dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant. Im Verlauf der Entwicklung nahm die Rubidiumaufnahme ab, was auf eine Reduktion der Wurzelaktivität in 10 cm Bodentiefe schliessen lässt. Diese Abnahme war vor allem für die NIL's zwischen 23 und 2 Tagen vor der Blüte drastisch. Bei der Milchreife (22 Tage nach der Blüte) war die Rubidiumaufnahme der NIL's signifikant um 12.4% tiefer als bei 'Arina'.

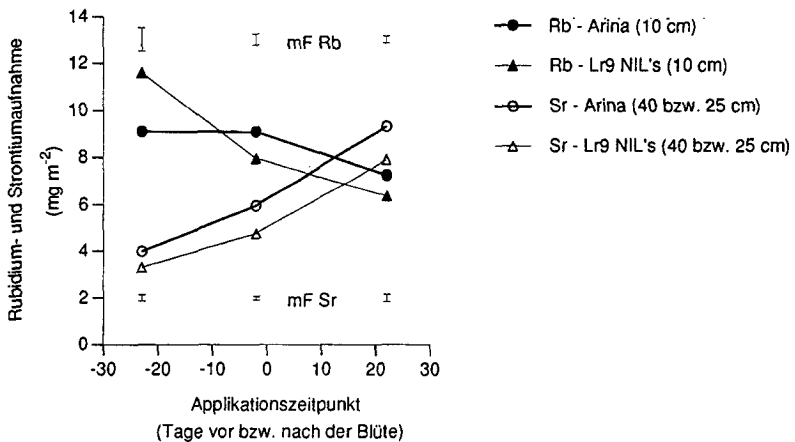


Fig. 11: In die oberirdische Biomasse aufgenommene Menge (mg m^{-2}) von Rubidium (Rb) (Applikation in 10 cm Bodentiefe) und Strontium (Sr) (Applikation in 40 bzw. 25 cm Bodentiefe) bei 'Arina' und den braunrostresistenten, nah isogenen Linien (Lr9 NIL's=Mittel der Linien FAP 75'220 und FAP 75'223) in Funktion des Applikationszeitpunktes (Anzahl Tage vor, bzw. nach der Blüte) ($n=10$).

Im Gegensatz zur Rubidiumaufnahme nahm die Strontiumaufnahme während der Versuchsperiode zu (Fig. 11). Bei jedem Erntezeitpunkt hatten die NIL's eine signifikant kleinere Strontiumaufnahme als 'Arina'. Beim Schossen, wo das Strontium in 40 cm Bodentiefe appliziert wurde, war die Strontiumaufnahme bei den NIL's um 17.3% tiefer als bei 'Arina'. Zwei Tage vor der Blüte und 22 Tage nach der Blüte (Applikation in 25 cm Bodentiefe) hatten die NIL's eine 20.3% bzw. 15.2% kleinere Strontiumaufnahme als 'Arina'.

Zwischen den NIL's und 'Arina' bestanden zwischen 23 Tagen vor und 22 Tagen nach der Blüte keine signifikanten Unterschiede in der oberirdischen Trockensubstanz (Fig. 12). In dieser Zeit nahm die oberirdische Biomasse der drei untersuchten Genotypen von rund 400 g TS m⁻² auf 1400 g TS m⁻² zu. Danach nahm sie für 'Arina' noch leicht zu, während bei den NIL's bereits 35 Tage nach der Blüte eine geringe Abnahme zu beobachten war. Bei der Reife wiesen die NIL's und 'Arina' die gleiche Biomasse auf. Bei der Reife hatten die NIL's mit 58.3 g TS ha⁻¹ einen um 6.3% kleineren Korntrag als 'Arina' (62.2 g TS ha⁻¹). Bei diesem einjährigen Versuch war dieser Unterschied jedoch nicht signifikant.

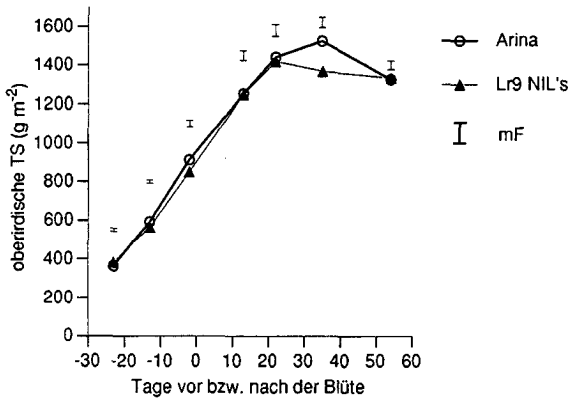


Fig. 12: Oberirdische Trockensubstanzproduktion von 'Arina' und von den braunrostresistenten, nah isogenen Linien (Lr9 NIL's= Mittel der Linien FAP 75'220 und FAP 75'223) in Funktion der Anzahl Tage vor, bzw. nach der Blüte (n=10).

Diskussion

Die Photosynthese der Fahnenblätter war in der Regel am Vormittag für die NIL's und 'Arina' vergleichbar (Fig. 8). Dies zeigt, dass zwischen 'Arina' und den NIL's keine Unterschiede in der Kapazität der CO₂-Fixierung bestanden. Am Nachmittag waren die Nettophotosyntheseraten der NIL's 7% bis 20% kleiner als bei 'Arina'. Bei der Milch- und Teigreife war die Reduktion von A in einem engen Zusammenhang mit einer Abnahme von g_s ($0.84 < r < 0.98$) (Fig. 9). Die Abnahme von g_s führte bei den NIL's zu einer Reduktion von C_i (Fig. 8 und Fig. 10). Dies weist nach FARQUHAR und SHARKEY (1982) auf eine Limitierung der Photosynthese durch die stomatäre Leitfähigkeit hin. Die Abnahme der stomatären Leitfähigkeit wird generell als eine Reaktion der Pflanze auf Wassermangel betrachtet. HENSON *et al.* (1989a) stellten bei Gaswechselformen an trockenheitsgestressten oder gut bewässerten Lupinepflanzen ähnliche Verläufe fest wie für 'Arina' (gut bewässerte Pflanzen) und für die *Lr9* NIL's (gestresste Pflanzen). Während am Vormittag die stomatäre Leitfähigkeit zwischen gestressten und bewässerten Pflanzen vergleichbar war, reduzierten Pflanzen mit Wasserstress die stomatäre Leitfähigkeit im Laufe des Tages, so dass die Assimilation am Nachmittag kontinuierlich abnahm. Bei den gut bewässerten Pflanzen blieb die g_s und A , ähnlich wie für 'Arina', konstant auf höheren Werten.

Die Ursachen einer gestörten Wasserversorgung der braunrostresistenten NIL's könnten in der im Vergleich zu 'Arina' geringeren Wurzelaktivität liegen. Insbesondere die um rund 15% bis 20% geringere Wurzelaktivität in den tieferen Bodenschichten (Fig. 10) könnte bei trockenen Verhältnissen am Nachmittag die Wasserversorgung der Pflanze beeinträchtigen und zur Abnahme der Transpiration und der stomatären Leitfähigkeit führen. Einen indirekten Beweis dieser Hypothese wird von der Gaswechselformen Ende Blüte geliefert. Zu diesem Zeitpunkt war der Wassergehalt des Bodens unter Winterweizen dank reichlichen Niederschlägen (Fig.7) 8 mm Wassersäule über der Feldkapazität (Lysimeterdaten der Wetterstation der FAP-Reckenholz). Dies gewährleistete vermutlich trotz der geringeren Wurzelaktivität eine optimale Wasserversorgung für die NIL's. Die Transpiration und stomatäre Leitfähigkeit war deshalb bei den NIL's auch am Nachmittag mit 'Arina' vergleichbar (Fig. 8). Auch die Photosynthese der NIL's war zu diesem Messzeitpunkt am Nachmittag nicht von 'Arina' unterschiedlich. Bei den anderen drei Messzeitpunkten hingegen war der Wassergehalt zwischen 27 mm und 51 mm Wassersäule unter der Feldkapazität. Bei diesen Messzeitpunkten war die stomatäre Leitfähigkeit der NIL's am Nachmittag signifikant kleiner als bei 'Arina' (Fig. 8).

Die Stickstoffaufnahme wurde im Gegensatz zur Wasserversorgung nur leicht durch die reduzierte Wurzelaktivität beeinflusst. Die NIL's und 'Arina' unterschieden sich nicht signifikant in der gesamten oberirdisch aufgenommenen Stickstoffmenge (Ergebnisse nicht

dargestellt). Unterschiede in der Stickstoffaufnahme wurden vermutlich durch die optimale Stickstoffdüngung und durch die Streuung des Stickstoffgehaltes im Boden überdeckt.

Die reduzierte Aufnahme der Markerelemente bei den NIL's wurde nicht durch ein reduziertes Wachstum bewirkt, denn zwischen 23 Tagen vor und 22 Tagen nach der Blüte bestanden keine signifikanten Unterschiede in der oberirdischen Trockensubstanz zwischen den NIL's und 'Arina' (Fig. 12). Wie bei der Wachstumsanalyse der Versuche 1990/91 entstanden die Unterschiede in der oberirdischen Trockensubstanzverteilung zwischen 'Arina' und den NIL's erst nach der Milchreife. Dies weist darauf hin, dass vor der Milchreife die Trockensubstanzbildung nicht durch Wassermangel beeinträchtigt wurde. Erst nach der Milchreife häuften sich Tage mit Trockenheit und hohen Temperaturen (Fig. 7). Die reduzierte Assimilation der NIL's bedingt durch eine geringe, stomatare Leitfähigkeit wirkte sich deshalb erst nach der Milchreife auf die oberirdische Trockensubstanz aus (Fig. 12). Die in den Versuchen 1990/91 (2. Kapitel) beobachtete, reduzierte Kornfüllung der NIL's (Tab.3, Fig. 6) kann deshalb durch eine reduzierte Photosyntheseleistung pro Einheit Blattfläche, bedingt durch Wasserstress, erklärt werden.

Die reduzierte Wurzelaktivität der NIL's könnte sich jedoch bereits vor der Milchreife, insbesondere um den Blütezeitpunkt, über eine reduzierte Wasser- oder Assimilatversorgung der Blütenanlagen bzw. jungen Fruchtknoten negativ auf Kornansatz und Kornbildung auswirken. Dass zumindest an einzelnen Tagen vor der Milchreife Wasserstresssymptome auftreten können zeigen die Messungen beim Ährenschieben (Fig. 8). Nach FISCHER und STOCKMAN (1980), WINZELER (1985), WINZELER *et al.* (1989) und GRABAU *et al.* (1990) hat ein kleineres Assimilatangebot um den Blütezeitpunkt, erreicht durch Beschattung oder durch tiefere CO₂-Gehalte der Umgebungsluft, einen stark negativen Einfluss auf den Kornansatz der Ähre. Nach BROCKLEHURST (1977) hat eine partielle Entfernung der Fruchtknoten vor der Blüte durch die Erhöhung des Assimilateangebots einen positiven Effekt auf die Anzahl Endospermzellen der restlichen Körner zur Folge. Dies führt vermutlich zu einer erhöhten Assimilateinlagerungsfähigkeit. Indirekt kann deshalb Wasserstress um den Blütezeitpunkt durch die Reduktion des Assimilatangebots die Assimilateinlagerungsfähigkeit des Korns einschränken (BROCKLEHURST *et al.*, 1978). Ein begrenztes Wasserangebot könnte auch den Wassergehalt der jungen Karyopsen beeinträchtigen. Dies hat nach SCHNYDER und BAUM (1992) einen negativen Einfluss auf das Gewicht der reifen Körner. Die reduzierte Wurzelaktivität der NIL's dürfte folglich mitverantwortlich sein für die im 2. Kapitel festgestellte limitierte Assimilateinlagerungsfähigkeit der Körner der NIL's.

VII GESAMTDISKUSSION

Die Einkreuzung des aus der Wildform *Aegilops umbellulata* stammenden Braunrostresistenzgens *Lr9* in den hauptgenfreien, anfälligen Elter 'Arina' hatte eine Ertragsdepression um durchschnittlich 11.5% zur Folge (Tab. 3). Gemäss Literatur könnte die Expression von unerwünschten Genen oder Genkomplexen des Spenders, die gekoppelt mit dem Resistenzgen vererbt werden ("linkage drag"), sich negativ auf die Ertragsleistung der NIL's ausgewirkt haben (ZEVEN, 1984). Je nach Kopplungsgrad mit dem Resistenzgen, und dank der konsequenten Selektion der agronomisch besten Typen, sind bei der Züchtung von NIL's jedoch auch positive Effekte auf die Ertragsbildung zu erwarten. Dieses wurde von BRINKMAN und FREY (1977) bei NIL's von Hafer mit eingekreuzten Resistenzgenen gegen den Kronenrost aus der Wildform *Avena sterilis* gezeigt. Signifikante Unterschiede in der Blattmasse zwischen den zwei *Lr9* Rückkreuzungspopulationen zum Zeitpunkt der Blüte (2. Kapitel) zeigten, dass "linkage drag" bzw. "drag genes" eine gewisse Rolle bei der Züchtung der NIL's von 'Arina' gespielt haben. Alle sechs in dieser Arbeit untersuchten *Lr9* NIL's wiesen jedoch ein tieferes Ertragspotential auf als 'Arina'. Die kleine Variabilität der untersuchten Ertragsparameter innerhalb und zwischen den *Lr9* Rückkreuzungspopulationen (Tab. 3) zeigte, dass, falls solche "drag genes" für die Ertragsdepression verantwortlich sind, diese sehr eng gekoppelt mit *Lr9* vererbt werden. Andererseits zeigten die grosse phänotypische Ähnlichkeit, die vergleichbare phänologische Entwicklung und die bis zum Zeitpunkt der Milchreife vergleichbaren oberirdischen Biomassenerträge (Fig 4.) eine enge genetische Verwandtschaft zwischen den NIL's und 'Arina'. Dies wird durch Untersuchungen mit molekularen Markern bestätigt, die zeigen, dass sich das Genom der NIL's von demjenigen von 'Arina' nur minimal unterscheidet (SCHACHERMEYR *et al.*, 1994). Daraus wurde der Schluss gezogen, dass *Lr9* einen direkten negativen Einfluss auf die Ertragsbildung hat.

Der kleinere Ertrag der *Lr9* NIL's resultierte aus einer um 5.6% reduzierten Anzahl Körner pro Fläche (Tab. 3, Fig. 5) und einem um 4.1% tieferen TKG (Tab. 3, Fig. 6). Damit konnte die üblicherweise bei Getreide auftretende Kompensation von Kornzahl und Einzelkorngewicht nicht festgestellt werden. Als Ursache wurde sowohl ein reduziertes Assimilatangebot während der Kornfüllung, als auch eine reduzierte Einlagerungsfähigkeit der Körner festgestellt (Fig. 6). Unterschiede in der oberirdischen Trockensubstanzverteilung zwischen 'Arina' und den NIL's entstanden erst nach der Milchreife (Fig. 4.). In dieser Zeit nahm die Ährentrockensubstanz der NIL's im Durchschnitt rund 20% weniger zu als bei 'Arina'. Gleichzeitig nahm das Gewicht der restlichen Pflanzenteile um rund 16% mehr ab (Tab. 2). Dies lässt auf einen erhöhten Beitrag von gespeicherten Kohlenhydraten schliessen, als Kompensation einer reduzierten Assimilation der Fahnenblätter. Bei der Milch- und

Teigreife war die Assimilation am Nachmittag im Vergleich zu 'Arina' um 19.6% bzw. 12.8% reduziert (Fig. 8). Die Abnahme der Photosyntheserate im Tagesverlauf war bei den NIL's in einem engem, linearen Zusammenhang mit einer Reduktion der stomatären Leitfähigkeit (Fig. 8, 9 und 10). Dieser Rückgang der stomatären Leitfähigkeit, als Reaktion der Pflanze auf Wasserstress, hängt mit einer geringeren Wurzelaktivität zusammen. Bei trockenen Verhältnissen beeinträchtigte insbesondere die um 15% bis 20% geringere Wurzelaktivität in den tieferen Bodenschichten (Fig. 11) im Verlaufe des Nachmittags die Wasserversorgung der NIL's und führte zu einer Reduktion der Photosynthese. Dies reduzierte die Menge an Assimilaten für die Kornfüllung und führte zu einer Reduktion des TKG (Tab. 3, Fig. 6). Zusätzlich könnte die kleinere Wurzelaktivität der NIL's um den Blütezeitpunkt, über eine reduzierte Wasser- oder Assimilatversorgung der Blütenanlagen bzw. der jungen Fruchtknoten, zu einem geringeren Kornansatz geführt haben (Tab. 3) und für die kleinere Assimilateinlagerungsfähigkeit des Korns (Fig. 6) verantwortlich gewesen sein (BROCKLEHURST, 1977; BROCKLEHURST *et al.*, 1978; FISCHER und STOCKMAN, 1980; WINZELER *et al.*, 1989; GRABAU *et al.*, 1990; SCHNYDER und BAUM, 1992).

Aus Fig. 11 und 12 geht hervor, dass sich trotz vergleichbarer oberirdischer Biomasseproduktion die Wurzelaktivität von 'Arina' und den NIL's schon beim Schossen (23 Tage vor der Blüte) in den unteren Bodenschichten signifikant unterschied. Im Gegensatz dazu hatten die NIL's beim Schossen in 10 cm Bodentiefe eine hohe Wurzelaktivität (Fig. 11). Im Verlaufe der Entwicklung nahm diese jedoch stark ab. Diese Ergebnisse zeigen, dass die NIL's ein kleineres, flacheres Wurzelsystem ausbildeten als 'Arina'. Die von den Züchtern (HANS und MICHAEL WINZELER, FAP-Reckenholz, pers. Mitteilung) bei den NIL's festgestellte geringere Standfestigkeit könnte ebenfalls durch das grössere Spross-Wurzel Verhältnis und durch ein flacheres Wurzelwerk verursacht sein.

Mehrere Experimente weisen darauf hin, dass die Reduktion der stomatären Leitfähigkeit bei Wasserstress durch ein hormonelles Wurzelsignal gesteuert wird. Über die Natur dieses Signals bestehen heute noch Kontroversen. Während u.a. HENSON *et al.* (1989b), ZHANG und DAVIES (1989) und TARDIEU *et al.* (1991) einen deutlichen Zusammenhang zwischen g_s und Abscisinsäure-(ABA)-Gehalt des Xylemsafts beobachteten, fanden BLACKMAN und DAVIES (1985) und MUNNS und KING (1988) keinen Hinweis, dass die durch Trockenheit stimulierte ABA-Nachlieferung der Wurzeln die Abnahme des g_s bewirken sollte. Nach BLACKMAN und DAVIES (1985) dürften dabei Cytokinine als "Promotoren" der Stomataöffnung eine wichtige Rolle spielen. Es wurde vorgeschlagen, dass die stomatäre Leitfähigkeit im Tagesverlauf durch die Cytokinin-Nachlieferung der Wurzeln (allgemein als Ort ihrer Synthese anerkannt) geregelt wird. Bei den *Lr9*-Linien dürfte sich eine reduzierte Cytokinin-Nachlieferung eines schon kleineren Wurzelsystems stärker auf die stomatäre Leitfähigkeit niederschlagen und bei

einem erhöhten Wasserbedarf am Nachmittag die frühzeitige Schliessung der Stomata der NIL's bewirken. Ein reduzierter Pool endogener Cytokinine als Folge eines grösseren Verhältnisses zwischen Spross-Trockensubstanz und Wurzelaktivität könnte auch einen Einfluss auf das kleinere, potentielle Korngewicht der NIL's gehabt haben. Cytokinine könnten durch ihre stimulierende Wirkung auf die Zellteilung (KRİKORIAN *et al.*, 1987) eine wichtige Rolle bei der Endospermzellenentwicklung spielen. Ein Indiz dafür ist die hohe Cytokinin-Konzentration, die in Weizen-, bzw. Mais-Körnern unmittelbar nach der Blüte beobachtet wurde (GALE, 1979; VAN STADEN, 1983). Ein kleinerer Pool endogener Cytokinine könnte deshalb eine kleinere Anzahl Endospermzellen zur Folge haben, was nach BROCKLEHURST (1977) und nach SCHNYDER und BAUM (1992) zu einem reduzierten TKG führt.

Der Zusammenhang zwischen Braunrostresistenz und schwächerer Wurzelaktivität bleibt unklar. Bereits 1929 berichtete HART, dass schwarzrostresistente Weizensorten ihre Stomata später am Vormittag öffneten und früher am Nachmittag schlossen als anfällige. Da der Erreger des Schwarzrostes durch die Stomata in das Wirtsgewebe eindringt, wurde vorgeschlagen, dass die Schliessung der Spaltöffnungen ein Resistenzmechanismus sei. Dieser Mechanismus wurde "funktionelle" Resistenz genannt. Unter den von HART (1929) untersuchten Sorten befand sich 'Webster', eine Sorte die neben Schwarzrost- und Gelbrost-Resistenzgenen auch das Braunrostresistenzgen *Lr2* trägt. GRIFFEY und ALLEN (1986) beobachteten bei der Entwicklung von gelbrostresistenten NIL's der Sorte 'Lemhi 53' eine negative Korrelation zwischen der Ertragsleistung und dem Resistenzniveau dieser Linien gegenüber Braunrost. Insbesondere bei der Rückkreuzung der Gelbrostresistenz aus 'Webster', führte die gleichzeitige Beibehaltung der Braunrostresistenz zu einer Reduktion des Ertrags um mehr als 20% im Vergleich zum anfälligen rekurrenten Eltern 'Lemhi 53'. Die Schliessung der Stomata kann jedoch nicht in direkten Zusammenhang mit der Braunrostresistenz gesetzt werden, denn nach YIRGOU und CALDWELL (1968) ist *P. recondita* in der Lage durch geschlossene Spaltöffnungen in den Wirt einzudringen. Es ist folglich nicht auszuschliessen, dass auch das *Lr2* Gen durch die Beeinträchtigung der stomatären Leitfähigkeit als Folge einer kleineren Wurzelaktivität zu Ertragsdepressionen führte.

Das grössere Spross-Wurzel Verhältnis der *Lr9* NIL's könnte die Folge eines zur Abwehr des Braunrostes erhöhten Energiebedarfs während der Jugendphase der Getreidepflanze sein. Der frühzeitige Saatzeitpunkt sowie die milden Winter während den drei Versuchsjahren haben dazu geführt, dass bereits vor dem Schossen, d.h. vor der Fungizidbehandlung, die unteren Blätter von 'Arina' mit Braunrostpusteln bedeckt wurden. Folglich wurden die NIL's bereits im Frühjahr einer gewissen Inokulumsdichte ausgesetzt. Zusätzlich können trotz der Fungizidbehandlung, die Auslösung von Abwehrreaktionen durch landende Sporen vor der

Blüte und während der Kornfüllung nicht vollständig ausgeschlossen werden. Die *Lr9* NIL's reagierten im Keimlingsstadium auf eine Braunrostinfektion 24 bis 44 Stunden nach der Inokulation mit der Nekrotisierung der Wirtszellen in der Nähe der Infektionsstellen (Abb. 2C und 2D). Dank dieser hypersensitiven Reaktion konnte der Braunrost in den Wirtsgewebe nur wenige Haustoriummutterzellen bilden (Abb. 3), was zur Resistenz der NIL's führte. Während der hypersensitiven Abwehrreaktion beobachteten SOUTHERTON und DEVERALL (1990a) und MOERSCHBACHER *et al.*, (1988) eine Steigerung des Stoffwechsels. Dies führt nach SMEDEGAARD-PETERSEN und STØLEN (1981) zu einer erhöhten Respiration. Der für die Resistenz erhöhte Verbrauch an Energie und Assimilaten für die Bildung von Gerüstsubstanzen (SMEDEGAARD-PETERSEN, 1989) könnte ein Ungleichgewicht zu Ungunsten des Wurzelwachstums zur Folge haben. Die Reduktion der photosynthetisch aktiven Blattfläche durch Nekrotisierung rund um die Infektionsstellen (Abb. 2C und 2D) dürften nicht entscheidend zur Ertragsreduktion der NIL's beigetragen haben, da die Messungen des Gaswechsel zeigten, dass die photosynthetische Kapazität der Fahnenblattfläche am Vormittag in der Regel mit 'Arina' vergleichbar war (Fig. 8).

VIII SCHLUSSFOLGERUNGEN

Der Einbau des Braunrostresistenzgens *Lr9* in 'Arina' führte im Mittel zu einer Reduktion des Ertrags um 11.5%. Diese Ertragsdepression kam durch eine reduzierte Anzahl Körner pro Fläche und ein reduziertes TKG zustande. Eine kleinere Wurzelaktivität der NIL's führte bei heißen, trockenen Tagen zur Abnahme der stomatären Leitfähigkeit und dadurch zu einer tieferen CO₂-Assimilation. Eine reduzierte Wasser- und Assimilatversorgung der resistenten NIL's kann den kleineren Kornansatz und das tiefere TKG erklären.

IX KONSEQUENZEN FÜR DIE ZÜCHTUNG

Die Einkreuzung des Braunrostresistenzgens *Lr9* in den genetischen Background von 'Arina' durch wiederholte Rückkreuzungen hatte komplexe negative Auswirkungen auf die Ertragsbildungsprozesse zur Folge. In den Rückkreuzungspopulationen konnte der Ertrag des anfälligen Elters nicht erhalten oder gar verbessert werden, sondern man stellte eine Ertragsreduktion um durchschnittlich 11.5% fest. Das Fehlen der positiven Korrelation zwischen Preanthesiswachstum und Kornzahl bzw. Kornertrag (SLAFER *et al.*, 1990) beeinträchtigt die Selektion ertragsreicher *Lr9* NIL's nach optischen Kriterien im Zuchtgarten. Neben dem Ertrag wurden auch weitere wichtige, agronomische Merkmale des anfälligen Elters negativ beeinflusst. Insbesondere wurde die Standfestigkeit beeinträchtigt, die vermutlich durch ein schwächeres Wurzelsystem begründet ist. Der negative Einfluss auf Ertrag und Standfestigkeit ermöglichte keinen Einsatz der NIL's im praktischen Anbau. Das entwickelte Material ist jedoch wertvoll für die weitere Verwendung im Zuchtprogramm. Das Resistengen *Lr9* muss dabei jedoch in ein breites Spektrum ertragsreicher, standfester Linien eingekreuzt werden, damit der negative Einfluss von *Lr9* auf die Ertragsbildung kompensiert werden kann.

X LITERATURVERZEICHNIS

- ALLEN, E.A., B.E. HAZEN, H.C. HOCH, Y. KWON, G.M.E. LEINHOS, R.C. STAPLES, M.A. STUMPF, und B.T. TERHUNE. 1991. Appressorium formation in response to topographical signals by 27 rust species. *Phytopathology* 81:323-331.
- BLACKMAN, P.G., und W.J. DAVIES. 1985. Root to shoot communication in maize plants of the effects of soil drying. *Journal of Experimental Botany* 162:39-48.
- BRINKMAN, M.A., und K.J. FREY. 1977. Yield-component analysis of oat isolines that produce different grain yields. *Crop Science* 17:165-168.
- BROCKLEHURST, P.A.. 1977. Factors controlling grain weight in wheat. *Nature* 266:348-349.
- BROCKLEHURST, P.A., J.P. MOSS, und W. WILLIAMS. 1978. Effects of irradiance and water supply on grain development in wheat. *Annals of Applied Botany* 90:265-276.
- CARVER, T.L.W., M.P. ROBBINS, und R.J. ZEYEN. 1991. Effects of two PAL inhibitors on the susceptibility and localized autofluorescent host cell responses of oat leaves attacked by *Erysiphe graminis* DC. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 39:269-287.
- CASULLI, F., und M. PASQUINI. 1992. Virulence of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in Italy. Proceedings 8th European and Mediterranean Cereal Rusts and Mildews Conference, Weißenstephan, Germany. *Vorträge für Pflanzenzüchtung* 24:87-89.
- CUYPERS, B., E. SCHMELZER, und K. HAHNBROCK. 1988. In situ localization of rapidly accumulated phenylalanine ammonia-lyase mRNA around penetration sites of *Phytophthora infestans* in potato leaves. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 1:157-160.
- DENISSEN, C.J.M., und P.E.L. VAN DER PUTTEN. 1991. Pathogenicity of wheat leaf rust (*Puccinia recondita* f. sp. *tritici*) in the Netherlands. *Cereal Rusts and Mildew Bulletin* 19:20-26.
- DRIJEPOND, S.C., Z.A. PRETORIUS, D. VAN LILL, und F.H.J. RIJKENBEG. 1990. Effect of *Lr34* resistance on leaf rust development, grain yield and baking quality in wheat. *Plant Breeding* 105:62-68.
- FARQUHAR, G.D, und T.D. SHARKEY. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* 45:317-345.
- FISCHER, R.A., und J.M. STOCKMAN. 1980. Kernel number per spike in wheat: responses to preanthesis shading. *Australian Journal of Plant Physiology* 7:169-180.
- FITTER, A.H.. 1986. Spatial and temporal patterns of root activity in a species-rich alluvial grassland. *Oecologia* 69:594-599.

- FREYTAG, S., und K. HAHNBROCK. 1992. Abwehrreaktionen von Pflanzen gegen Pilzbefall. *Biologie in unserer Zeit* 22:135-142.
- FRIED, P.M., und H. WINZELER. 1990. Variation of characters in near-isogenic lines of wheat with added genes for leaf rust resistance. *Euphytica* 45:87-92.
- FRIED, P.M., P. STRECKEISEN, H. WINZELER, M. WINZELER, H.R. FORRER, und W. SAURER. 1992. Development of a multiline for cereal rusts and powdery mildew resistance. Proceedings 8th European and Mediterranean Cereal Rusts and Mildews Conference, Weihenstephan, Germany. Vorträge für Pflanzenzüchtung 24:295-298.
- FRITZEMEIER, K.H., C. CRETIN, E. KOMBRINK, F. ROHWER, J. TAYLOR, D. SCHEEL, und K. HAHNBROCK. 1987. Transient induction of phenylalanine ammonia-lyase and 4-coumarate:CoA ligase mRNAs in potato leaves infected with virulent or avirulent races of *Phytophthora infestans*. *Plant Physiology* 85:34-41.
- GALE, M.D.. 1979. Genetic variation for hormonal activity. In: SPIERTZ J.H.J and KRAMER T. (ed.). *Crop physiology and cereal breeding*. Wageningen: Centre for Agricultural Publishing and Documentation. Pp. 29-34.
- GRABAU, L.J., D.A. VAN SANFORD, und Q.W. MENG. 1990. Reproductive characteristics of winter wheat cultivars subjected to postanthesis shading. *Crop Science* 30:771-774.
- GRANT, R.F.. 1992. Interactions between carbon dioxide and water deficits affecting leaf photosynthesis - Simulation and testing. *Crop Science* 32:1313-1321.
- GRIFFEY, C.A., und R.E. ALLAN. 1986. Effectiveness of stripe rust resistance among Lemhi 53 spring wheat near-isogenic lines. *Crop Science* 26:489-493.
- HART, H.. 1929. Relation of stomatal behavior to stem-rust resistance in wheat. *Journal of Agricultural Research* 39:929-948.
- HEITHOLT, J.J., R.C. JOHNSON, und D.M. FERRIS. 1991. Stomatal limitation to carbon dioxide assimilation in nitrogen-stressed and drought-stressed wheat. *Crop Science* 31:135-139.
- HENSON, I.E., C.R. JENSEN, und N.C. TURNER. 1989a. Leaf gas exchange and water relations of lupins and wheat I. Shoot responses to soil water deficits. *Australian Journal of Plant Physiology* 16:401-413.
- HENSON, I.E., C.R. JENSEN, und N.C. TURNER. 1989b. Leaf gas exchange and water relations of lupins and wheat III. Abscisic Acid and Drought-induced stomatal closure. *Australian Journal of Plant Physiology* 16:429-442.
- HOCH, H.C., und R.C. STAPLES. 1987. Structural and chemical changes among the rust fungi during appressorium development. *Annual Review of Phytopathology* 25:231-47.

- HOCH, H.C., R.C. STAPLES, B. WHITEHEAD, J. COMEAU, und E.D. WOLF. 1987. Signaling for growth orientation and cell differentiation by surface topography in *Uromyces*. *Science* 235:1659-1662.
- HUBER, A.G., und D.F. GRABE. 1987. Endosperm morphogenesis in wheat: termination of nuclear division. *Crop Science* 27:1252-1256.
- JACOBS, TH.. 1989. Germination and appressorium formation of wheat leaf rust on susceptible, partially resistant and resistant wheat seedlings and on seedlings of other *Gramineae*. *Netherland Journal of Plant Pathology* 95:65-71.
- JENNER, C.F.. 1980. Effects of shading or removing spikelets in wheat: testing assumptions. *Australian Journal of Plant Physiology* 7:113-121.
- JØRGENSEN, J.H., und H.P. JENSEN. 1990. Effect of "unnecessary" powdery mildew resistance genes on agronomic properties of spring barley. *Norsk landbruksforskning*. Supplement 9:125-130.
- KNOTT, D.R.. 1993. Agronomic and quality characters of near- isogenic lines of wheat carrying genes for stem rust resistance. *Euphytica* 68:33-41.
- KRAMER, C.L., und M.G. EVERSMEYER. 1992. Effect of temperature on germination and germ-tube development of *Puccinia recondita* and *P. graminis* urediniospores. *Mycological Research* 96:689-693.
- KRIKORIAN, A.D., K. KELLY, und D.L. SMITH. 1987. Hormones in tissue culture. In: DAVIES, P.J. (ed.). *Plant Hormones and their role in plant growth and development*. Martinus Nijhoff Publishers Dordrecht, The Netherlands. Pp. 593-613.
- KUCK, K.H., R. TIBURZY, G. HÄNSSLER, und H.J. REISENER. 1981. Visualization of rust haustoria in wheat leaves by using fluorochromes. *Physiological Plant Pathology* 19:439-441.
- MCINTOSH, R.A.. 1988. Catalogue of gene symbols for wheat. *Proceedings 7th Int. Wheat Genetics Symposium*, Cambridge, England. MILLER, T.E., and R.M.D. KOEBNER (ed.). 2:1225-1323.
- MCVEY, D.V.. 1992. Genes for rust resistance in international winter wheat nurseries XII trough XVII. *Crop Science* 32:891-895.
- MOERSCHBACHER, B.M., U.M. NOLL, B.E. FLOTT, und H.J. REISENER. 1988. Lignin biosynthetic enzymes in stem rust infected, resistant and susceptible near-isogenic wheat lines. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 33:33-46.
- MUNNS, R., und R.W. KING. 1988. Abscisic acid is not the only stomatal inhibitor in the transpiration stream of wheat plants. *Plant Physiology* 88:703-708.

- ORTELLI, S., M. WINZELER, H. WINZELER, P.M. FIED, und J. NÖSBERGER. 1992. Reduzierter Körnerertrag bei braunrostresistenten isogenen Winterweizen-Linien: Ertragsphysiologische Grundlagen. Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften 5:155-158.
- PINKERTON A., und J.R. SIMPSON. 1979. The use of stable strontium as a chemical tracer for root penetration. Australian Journal of Agricultural Research 30:239-250.
- POINSO, B., und B. OLLIVIER. 1988. Virulence of *Puccinia recondita tritici* on some near isogenic lines in southern France in 1986-1987. Proceedings 7th European and Mediterranean Cereal Rusts Conference, Vienna, Austria. ZWATZ, B. (ed.). Pp. 116-118.
- ROHRINGER, R., W.K. KIM, D.J. SAMBORSKI, und N.K. HOWES. 1977. Calcofluor: an optical brightener for fluorescence Microscopy of fungal plant parasites in leaves. Phytopathology 67:808-810.
- ROMIG, R.W., und R.M. CALDWELL. 1964. Stomatal exclusion of *Puccinia recondita* by wheat peduncles and sheaths. Phytopathology 54:214-218.
- RUBIALES, D., und R.E. NIKS. 1992. Low appressorium formation by rust fungi on *Hordeum chilense* lines. Phytopathology 82:1007-1012.
- RUBIALES, D., M.C. RAMIREZ, und R.E. NIKS. 1992. Poor stoma recognition by rust fungi on some *Hordeum chilense* genotypes. Vorträge für Pflanzenzüchtung 24:26-27.
- SCHACHERMAYR, G., H. SIEDLER, M.D. GALE, H. WINZELER, M. WINZELER, und B. KELLER. 1994. Identification and localization of molecular markers linked to the *Lr9* leaf rust resistance gene of wheat. Theoretical and Applied Genetics 88:110-115.
- SCHNYDER, H., und U. BAUM. 1992. Growth of the grain of wheat (*Triticum aestivum* L.). The relationship between water content and dry matter accumulation. European Journal of Agronomy 1:51-57.
- SCHÖNBECK, F., G. GRUNENWALDT-STÖCKER, und T. WILDE. 1987. Zur Auswirkung von Resistenzreaktionen auf Pflanzenwachstum und Ertrag in inkompatiblen Wirt-Parasit-Systemen. Journal of Phytopathology 118:32-49.
- SLAFER, G.A., und F.H. ANDRADE. 1991. Changes in physiological attributes of the dry matter economy of bread wheat (*Triticum aestivum*) through genetic improvement of grain yield potential at different regions of the world - A review. Euphytica 58:37-49.
- SLAFER, G.A., F.H. ANDRADE, und E.H. SATORRE. 1990. Genetic-improvement effects on pre-anthesis physiological attributes related to wheat grain yield. Field Crops Research 23:255-264.

- SMEDEGAARD-PETERSEN, V. 1989. Energy costs of plant response to infection. In: Plant-Microbe interactions. Molecular and genetic perspectives. KOSUGE, T., and E.W. NESTER (ed.). 3:182-197.
- SMEDEGAARD-PETERSEN, V., und O. STØLEN. 1981. Effect of energy-requiring defense reactions on yield and grain quality in a powdery mildew-resistant barley cultivar. *Phytopathology* 71:396-399.
- SOUTHERTON, S.G., und B.J. DEVERALL. 1989. Histochemical studies of the expression of the *Lr9*, *Lr20* and *Lr28* alleles for resistance to leaf rust in wheat. *Plant Pathology* 38:190-199.
- SOUTHERTON, S.G., und B.J. DEVERALL. 1990a. Changes in phenylalanine ammonia-lyase and peroxidase activities in wheat cultivars expressing resistance to the leaf-rust fungus. *Plant Pathology* 39:223-230.
- SOUTHERTON, S.G., und B.J. DEVERALL. 1990b. Changes in phenolic acid levels in wheat leaves expressing resistance to *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 37:437-450.
- SOUTHERTON, S.G., und B.J. DEVERALL. 1990c. Histochemical and chemical evidence for lignin accumulation during the expression of resistance to leaf rust fungi in wheat. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 36:483-494.
- STUCHLIKOVA, E. 1992. Transfer of *Lr9*, *Lr19*, and *Lr24* into productive winter wheat cultivars. *Proceedings 8th European and Mediterranean Cereal Rusts and Mildews Conference, Weihenstephan, Germany. Vorträge für Pflanzenzüchtung* 24:214-215.
- TARDIEU, F., N. KATERJI, O. BETHENOD, J. ZHANG, und W.J. DAVIES. 1991. Maize stomatal conductance in the field: its relationship with soil and plant water potentials, mechanical constraints and ABA concentration in the xylem sap. *Plant, Cell and Environment* 14:121-126.
- THE, T.T., B.D.H. LATTER, R.A. MCINTOSH, F.W. ELLISON, P.S. BRENNAN, J. FISHER, G.J. HOLLAMBY, A.J. RATHJEN, und R.E. WILSON. 1988. Grain yields of near-isogenic lines with added genes for stem rust resistance. *Proceedings 7th Int. Wheat Genetics Symposium, Cambridge, England. MILLER, T.E., and R.M.D. KOEBNER (ed.).* 1:901-906.
- THORNE, G.N., und D.W. WOOD. 1987. Effects of radiation and temperature on tiller survival, grain number and grain yield in winter wheat. *Annals of Botany* 59:413-426.
- TIBURZY, R., und H.J. REISENER. 1990. Resistance of wheat to *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*: Association of the hypersensitive reaction with the cellular accumulation of lignin-like material and callose. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 36:109-120.

- TIBURZY, R., U. NOLL, und H.J. REISENER. 1990. Resistance of wheat to *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*: Histological investigation of resistance caused by the *Sr5* gene. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 36:95-108.
- TOTTMANN, D.R., und R.J. MAKEPEACE. 1979. An explanation of the decimal code for the growth stages of cereals, with illustrations. *Annals of Applied Botany* 93:221-234.
- VAN STADEN J.. 1983. Seeds and cytokinins. *Physiologia Plantarum* 58:340-346.
- WINZELER, M.. 1985. Genotypische Unterschiede in der Verwendung von Reservekohlenhydraten für die Kornfüllung bei Sommeweizen (*Triticum aestivum* L.). Dissertation ETH Zürich Nr.7750.
- WINZELER, M., PH. MONTEIL, und J. NÖSBERGER. 1989. Grain growth of tall and short spring wheat genotypes at different assimilate supplies. *Crop Science* 29:1487-1491.
- YIRGOU, D., und R.M. CALDWELL. 1968. Stomatal penetration of wheat seedlings by stem and leaf rusts in relation to effects of carbon dioxide, light, and stomatal aperture. *Phytopathology* 58:500-507.
- ZEVEN, A.C.. 1984. The isogenicity of near-isogenic lines of wheat. *Vorträge für Pflanzenzüchtung* 6:103-114.
- ZEVEN, A.C., und J. WANINGE. 1986. The degree of phenotypic resemblance of the near-isogenic lines of the wheat cultivar Thatcher with their recurrent parent. *Euphytica* 35:665-676.
- ZHANG, J., und W.J. DAVIES. 1989. Abscisic acid produced in dehydrating roots may enable the plant to measure the water status of the soil. *Plant, Cell and Environment* 12:73-81.

VERDANKUNGEN

Viele Erfahrungen und Gefühle, die ich in den letzten 4 Jahren gesammelt habe, werden mich in Zukunft immer begleiten.

Als erstes denke ich an die Arbeit in meinen Feldversuchen und an die Mithilfe in der Gruppe der Getreidezüchtung der FAP. Ohne die freundliche Hilfe von Nelly, Ursi, Martin, Klaus, Hans, Richi, Fried, Michael, Christian, Salvador, Philippe, Irene, Sacha, Christine, Sepp, Beat, Susi, Res mit seinem Harem und noch von vielen vielen anderen wäre diese Arbeit unmöglich gewesen. Der menschliche Kontakt gehört sicher zu meinen besten Erinnerungen.

Die Betreuung von Semester- und Diplomarbeiten hat mir immer Spass gemacht und ich habe den Eindruck, dass ich davon am meisten profitiert habe. Vito, Urs, Andrea, Jean-Philippe und Michel haben mich immer wieder motiviert und neue Impulse gegeben. Viele von ihnen gesammelte Daten sind integraler Teil dieser Diss.

Die ganze Nö-Gruppe hat mich trotz meiner sporadischen Präsenz freundlich aufgenommen und wissenschaftlich, geistlich, technisch und nicht zuletzt sportlich (Sola Staffette und "Tschutten") betreut. Meinen Bürokollegen/innen möchte ich besonders für die Freundschaft und die reichliche sprachliche Unterstützung danken. Dabei hat auch Hildi bei der sorgfältigen Korrektur der Manuskripte beigetragen.

Ein besonderer Dank geht an Herrn Nösberger. Während diesen Jahren gab er mir volle Freiheit bei der Gestaltung meiner Arbeit innerhalb seiner Gruppe, und durch seine konstruktive Kritik verstand er, wenn nötig, mich auf einen guten Weg zu lenken.

Michael und Hans Winzeler waren von der Planung der Versuche bis zur Korrektur dieser Arbeit immer mit guten Ideen und Ratschlägen beteiligt. Ihre Kreativität, ihre Kritikfähigkeit und ihre Kraft werden für mich ein Vorbild bleiben.

Herrn Peter Stamp und Michael Winzeler möchte ich besonders für die Übernahme des Korreferates danken.

Consuelo ti ringrazio per il prezioso supporto datomi durante tutti questi anni.

CURRICULUM VITAE

Silvano Ortelli,

von Castel San Pietro, Ticino

- | | |
|--------------------|--|
| 13. September 1963 | geboren in Mendrisio (Kanton Tessin) als Sohn des Odilio Ortelli und der Annamaria, geb. Mondia |
| 1969-1977 | Primar- und Sekundarschule in Castel San Pietro und Mendrisio |
| 1977-1982 | Gymnasium in Mendrisio, Abschluss mit Matura Typus C |
| 1982-1988 | Studium an der Abteilung für Landwirtschaft der ETH Zürich |
| 1988 | Diplom als Ing. Agr. ETH, Fachrichtung Pflanzenproduktion |
| 1989 | Mitarbeiter der Arbeitsgemeinschaft zur Förderung des Futterbaues (AGFF) in Zürich-Reckenholz |
| 1990-1993 | wissenschaftlicher Mitarbeiter und Assistent am Institut für Pflanzenwissenschaften der ETH Zürich |
| seit 1990 | verheiratet mit Consuelo Rigamonti |