

Untersuchungen zur Sämlingsentwicklung unter simulierten Trockenstressbedingungen bei *Lolium perenne*

A. Schum, E. Wünsche

Julius Kühn-Institut, Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, OT Groß Lüsewitz,
Rudolf-Schick-Platz 3, 18190 Sanitz
Annegret.schum@jki.bund.de

1 Einleitung und Problemstellung

Mit dem prognostizierten Klimawandel werden für den mitteleuropäischen Raum ausgeprägte Trockenperioden während des Frühjahrs und Frühsommers vorausgesagt. Daher ist die Verfügbarkeit von Futter- und Rasengräsern mit erhöhter Trockentoleranz von zunehmender Bedeutung. Als Voraussetzung für eine züchterische Verbesserung der Stresstoleranz wird ein breites Spektrum genetischer Ressourcen von *Lolium perenne* in einem Verbundprojekt unter Freiland-, Rain-out Shelter-, Gewächshaus- und Laborbedingungen umfassend in Hinblick auf Trockentoleranzeigenschaften phänotypisiert. Das Spektrum der Untersuchungen umfasst dabei auch Keimungsversuche unter simulierten Trockenstressbedingungen. Mit der vergleichenden Evaluierung der Keimung und der Sämlingsentwicklung bei eingeschränkter Wasserverfügbarkeit sollen genotypische Unterschiede in dem gegenüber Trockenheit besonders sensiblen juvenilen Entwicklungsstadien bei *Lolium perenne* erfasst und mit den Ergebnissen der anderen Untersuchungssysteme korreliert werden.

2 Material und Methoden

Die Keimungsteste werden mit 50 aufgrund von Feldbeobachtungen unterschiedlich auf Trockenstress reagierenden *Lolium*-Akzessionen sowie *Festuca*- und *Festulolium*-Referenzsorten durchgeführt. Für die Methodenentwicklung wurden 6 Sorten von *Lolium perenne* ('Activa', 'Arvicola', 'Forza', 'Honroso', 'Respect', 'Toronto'), 2 von *Festuca arundinacea* ('Belfine', 'Lipalma'), 2 von *Festuca pratensis* ('Cosmolit', 'Preval') sowie 2 *Festulolium* Kultivare ('Hykor', 'Lifema') verwendet. Die Keimungsteste werden in Petrischalen auf feuchtem Filtrierpapier durchgeführt, wobei Trockenstress unterschiedlicher Stärke durch Lösungen von PEG 6000 in gestaffelter Konzentration (0, 10, 15, 20, 25%) simuliert wurde. Die Versuche wurden sortenweise nacheinander durchgeführt und dabei jeweils 25 Karyopsen in 8 Wiederholungen pro Variante ausgelegt. Die Inkubation erfolgte im schwachen Licht bei einer Belichtungsdauer von 16 Stunden und einer Temperatur von 20°C, sowie 15 °C in der Dunkelphase. Die Entwicklung der Samen wurde nach 10 und 20 Tagen ausgewertet.

Für das Screening der 50 *Lolium perenne* Akzessionen wird die Sämlingsentwicklung nach 20 Tagen Inkubationszeit erfasst und 5 Kategorien zugeordnet: (1) Wurzeln und Primärblatt vorhanden, (2) Wurzeln und Koleoptilen vorhanden, (3) lediglich Wurzeln vorhanden, (4) nur Koleoptilen vorhanden, (5) keine Keimung. Zudem werden unter den verschiedenen Bedingungen herangewachsene Sämlinge in 30 ml Plastikröhrchen mit Nährlösungen unterschiedlichen Wasserpotentials überführt und dabei in Schaumstoffstopfen fixiert. Auf diese Weise lässt sich insbesondere die weitere Wurzelentwicklung bei reduzierter Wasserverfügbarkeit verfolgen.

Die statistische Auswertung erfolgte mittels GLM-Prozedur und Tukey HSD Test von SAS 9.2.

3 Ergebnisse und Diskussion

Erwartungsgemäß behinderte sinkende Wasserverfügbarkeit – also steigende PEG-Konzentrationen – die Keimung zunehmend. Die Wurzelentwicklung ging generell bei allen PEG-Konzentrationen der Koleoptilentwicklung voraus. Die Grafiken A und B der Abb. 1 zeigen die mittlere Anzahl an Samen, die nach 10 und 20 Tagen Inkubationszeit Keimwurzeln und Koleoptilen entwickelt hatten. Es wird deutlich, dass höhere PEG-Konzentrationen die Keimung nicht vollständig unterbinden, sondern auch verzögern. Während bei der Kontrolle und den niedrigen PEG-Konzentrationen von 10 und 15 % die maximalen Keimungsraten bereits nach 10 Tagen erreicht sind, sind bei den höheren Konzentrationen von 20 und 25 % noch beträchtliche Zunahmen während der nächsten 10 Tage zu verzeichnen. Daher muss für das Genotypenscreening die für Keimprüfungen übliche Inkubationszeit von 10 auf 20 Tage verlängert werden. Auffällig sind die großen Standardabweichungen bei den hohen PEG Konzentrationen. Diese sind darauf zurückzuführen, dass sich die Samenkeimung hier eventuell aufgrund innerartlicher Allelopathie stets auf einige Petrischalen beschränkte, während in anderen die Keimung vollständig unterblieb. Aus diesem Grund ließen sich auch bei augenfälligen Unterschieden der Keimungszahlen nicht immer statistisch signifikante Unterschiede nachweisen.

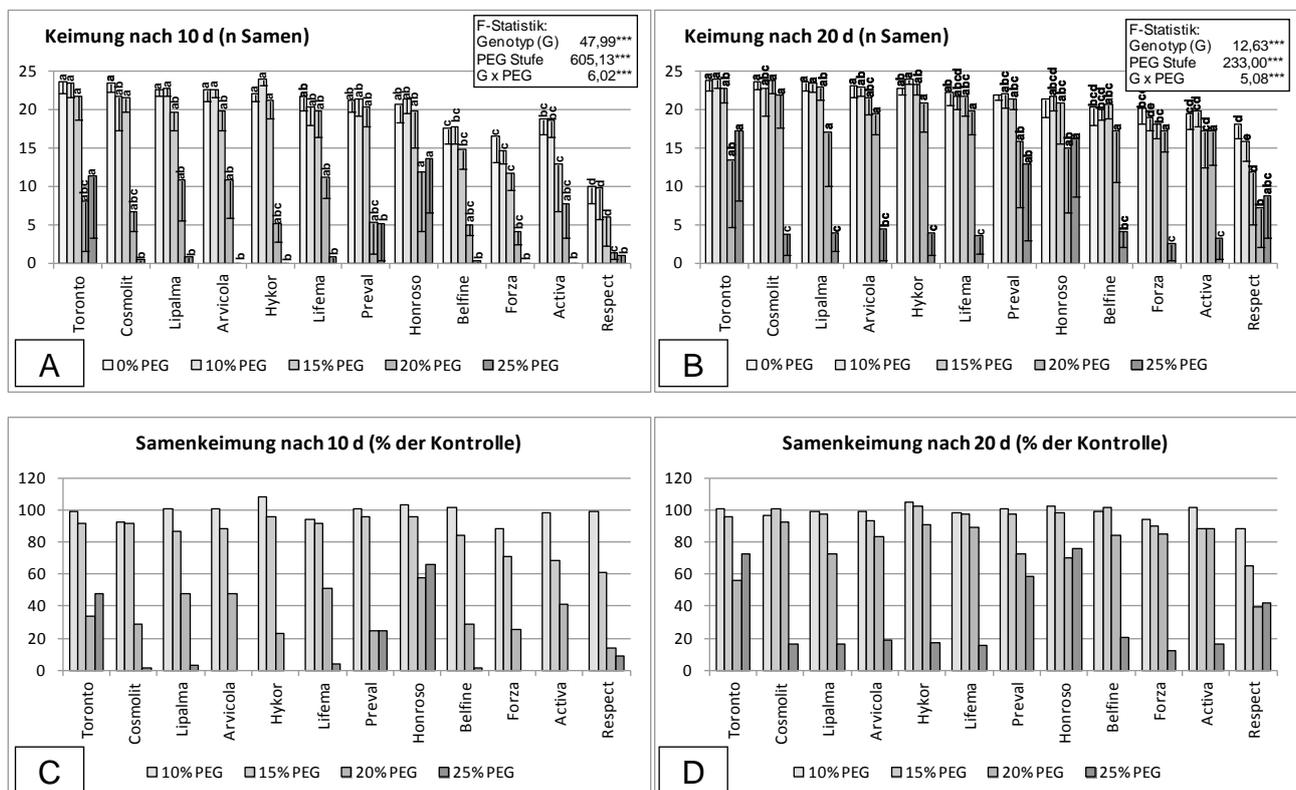


Abb. 1: Samenkeimung verschiedener Grassorten bei fortschreitend reduzierter Wasserverfügbarkeit nach 10 und 20 Tagen Inkubationszeit. Säulen innerhalb einer PEG-Konzentrationsstufe, die mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnet sind, unterscheiden sich nach Tukeys HSD Test signifikant ($p=0,05$). Die prozentualen Werte der unteren Grafiken (C und D) wurden aus den in den oberen Grafiken (A und B) dargestellten Mittelwerten berechnet.

Es zeigte sich, dass das Ausmaß der Keimungsbeeinträchtigung durch PEG je nach Genotyp unterschiedlich ist. Zu berücksichtigen ist die generell unterschiedliche Keimfähigkeit der Sorten, so dass die Genotyp spezifische Reaktion durch Berechnung der Keimungsraten in Relation zur jeweiligen Kontrolle (0% PEG) in den Grafiken C und D der Abb. 1 verdeutlicht wird. Generell setzt eine

Keimungshemmung erst ab einer PEG-Konzentration von 15 % ein. Die beste Differenzierung zwischen den Genotypen ist bei einer PEG Konzentration von 25 % gegeben. Insbesondere die Weidelgrassorten 'Toronto' und 'Honroso' zeigten auch noch bei 25 % PEG eine gute Keimfähigkeit. Ein Zusammenhang zwischen Keimungsverhalten unter Trockenstress und den geprüften botanischen Spezies lässt sich aufgrund der bisherigen Ergebnisse nicht feststellen. Die *Festuca* Sorten 'Cosmolit', 'Belfine', 'Lipalma' und 'Preval' sowie die *Festulolium* Sorten 'Hykor' und 'Lifema', welchen als adulte Pflanzen im Vergleich zu *Lolium* eine höhere Trockenresistenz zugesprochen wird, zeigten bei den Keimungsversuchen unter simulierten Trockenstressbedingungen keine durchgängig höhere Toleranz.

Es wurde weiterhin geprüft, ob durch die unterschiedliche Keimkraft verschiedener Saatgutchargen Genotyp-abhängige Reaktionen in Hinblick auf simulierten Trockenstress überlagert werden. Abb. 2 zeigt die relativen Keimungsraten (% der jeweiligen Kontrolle) in 25% PEG nach 20 Tagen Inkubationszeit. Es wird deutlich, dass innerhalb einer Sorte die Keimfähigkeit unter Trockenstress tatsächlich mit der Saatgutprobe variiert. So war die Keimungsbeeinträchtigung in 25% PEG bei den vier überprüften Chargen von 'Preval' deutlich größer und die der Charge b von 'Arvicola' geringer als in der in Abb. 1 dargestellten Prüfung. Die bereits in den vorherigen Versuchen positiv auffälligen Sorten 'Toronto' und 'Honroso' zeichneten sich jedoch auch hier durch regelmäßig hohe Keimungszahlen aus. Das bedeutet, dass Ergebnisse von Keimungsprüfungen unter simulierten Trockenstress nur einen ersten Hinweis auf gegebene Toleranzen darstellen können und anhand weiterer Saatgutchargen zu verifizieren sind.

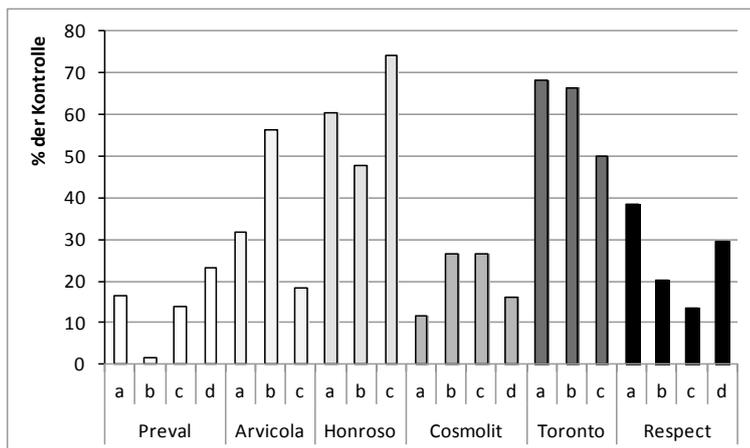


Abb. 2: Relative Keimungsraten unterschiedlicher Saatgutchargen ausgewählter Genotypen in Gegenwart von 25 % PEG 6000.

Versuche mit 30% PEG ergaben, dass bei dieser Konzentration offensichtlich der Toleranzrahmen überschritten ist. Bei keiner der bislang geprüften Akzessionen wurde hier noch eine Keimung beobachtet. Aufgrund der dargestellten Ergebnisse werden für das Genotypenscreening neben der Kontrolle PEG-Konzentrationen von 15, 20 und 25 % verwendet. Durch die Klassifizierung in verschiedene Entwicklungsstadien ergeben sich neben den eigentlichen Keimungsraten spezifische Profile für jeden Genotyp, die einen Sortenvergleich nicht nur hinsichtlich der Keimfähigkeit sondern auch hinsichtlich der Entwicklungsgeschwindigkeit ermöglichen (Abb. 3).

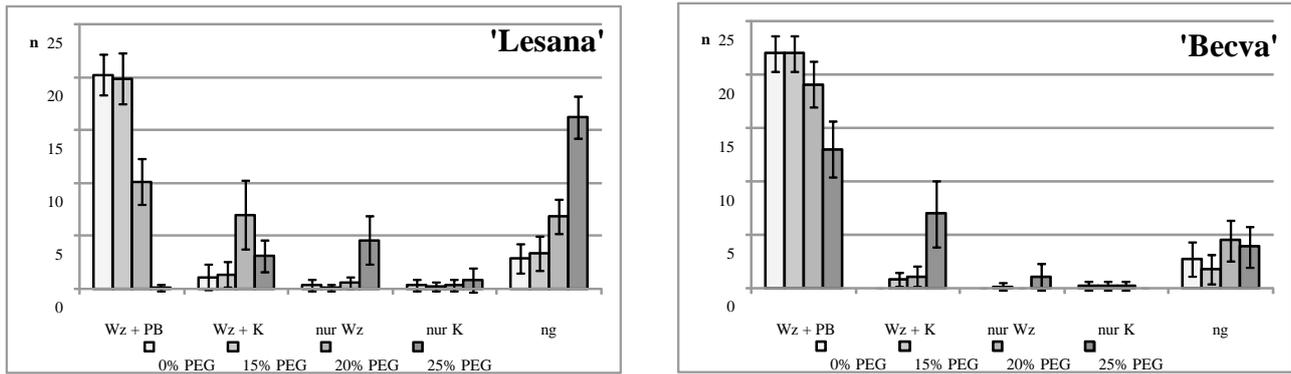


Abb.3: Keimungs- und Entwicklungsprofile von zwei *Festulolium* Sorten bei sinkender Wasserverfügbarkeit nach 20 Tagen Inkubationszeit.

Erste vergleichende Untersuchungen zeigten eine starke Beeinträchtigung der Wurzelentwicklung unter Wassermangelstress. Diese manifestiert sich sowohl in der Gesamtlänge als auch in der Verzweigungsrate (Abb. 4). Im Rahmen des Genotypenscreenings soll ein Hauptaugenmerk auf die Identifikation von Genotypen mit einer für Trockenstressbedingungen vorteilhaften Modulation der Wurzelarchitektur gelegt werden. Die Stimulierung von Wurzelwachstum und Induktion von Seitenwurzeln durch Trockenstress werden als Mechanismus von Trockentoleranz diskutiert ([2], [1]).

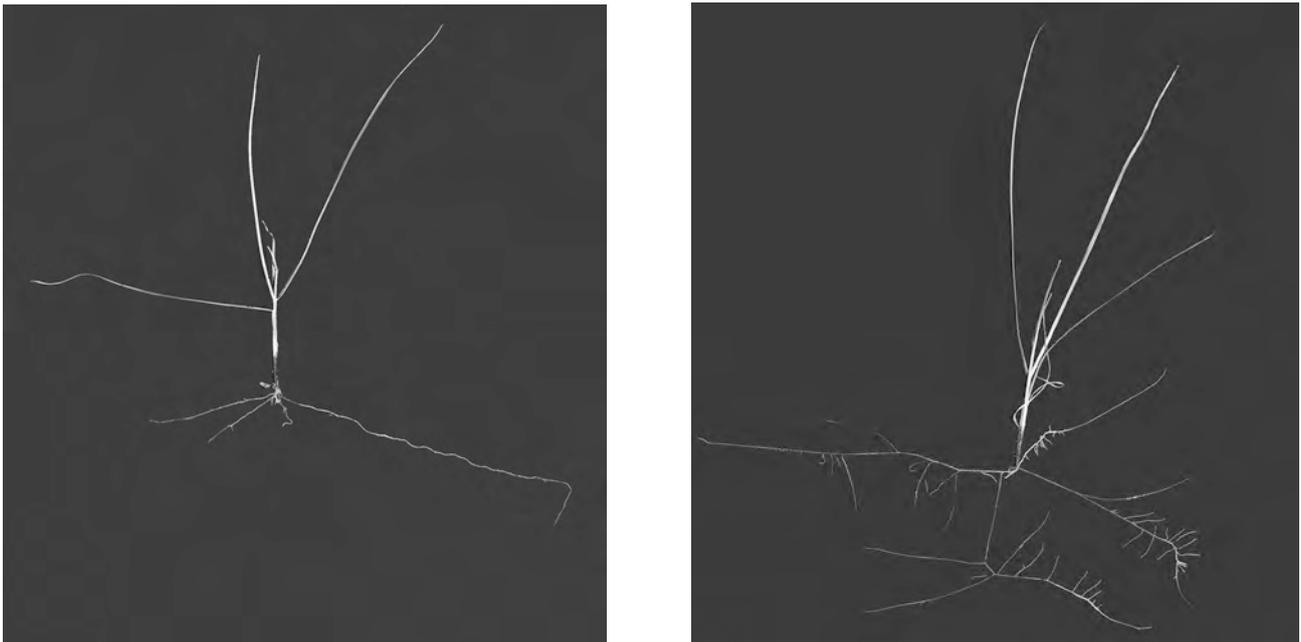


Abb. 4: Wurzelentwicklung von Sämlingen (GR8611) in Nährlösungen unter Wassermangelstress (links mit 20 % PEG 6000) im Vergleich zur Kontrolle (rechts)

4 Schlussfolgerungen

Steigende PEG Konzentrationen führen zu einer kontinuierlichen Beeinträchtigung der Keimfähigkeit von *Lolium*, *Festuca* und *Festulolium* Genotypen. Eine Keimungshemmung setzt erst ab PEG Konzentrationen von 15% ein, höhere Konzentrationen führen zu deutlichen Keimungsverzögerungen. Daher muss für verlässliche Aussagen über die Keimfähigkeit unter simulierten Trockenstressbedingungen die für Keimprüfungen übliche Inkubationszeit von 10 auf 20 Tage verlängert werden. Die beste Differenzierung der Genotypen war bei PEG Konzentrationen von 25% gegeben, bei 30% wurde bei keiner der geprüften Sorten noch eine vollständige Keimung beobachtet. Es konnten Ge-

notyp bedingte Unterschiede der Keimfähigkeit unter simuliertem Trockenstress nachgewiesen werden, jedoch wird für eine endgültige Charakterisierung von Toleranzen die Berücksichtigung verschiedener Saatgutchargen erforderlich sein.

5 Danksagung

Die dargestellten Arbeiten wurden im Rahmen eines durch die Innovationsförderung des BMELV finanzierten Verbundprojektes zwischen der Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung (GFP) und wissenschaftlichen Institutionen (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft LfL Freising, Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung IPK Gatersleben, Julius Kühn-Institut JKI Quedlinburg) durchgeführt.

6 Literatur

- [1] HODGE, A., BERTA, G., DOUSSAN, C., MERCHAN, F. and CRESP, M. (2009): Plant root growth, architecture and function. *Plant and Soil* 321, 153-187.
- [2] MALAMY, J.E. (2005): Intrinsic and environmental response pathways that regulate root system architecture. *Plant, Cell & Environment* 28, 67-77.