

Abschlussbericht Teilprojekt 8

Effiziente Nutzung von Wasser und Bor bei Raps und Mais

Projektverbund

BayKlimaFit 2 – Starke Pflanzen im Klimawandel

Finanziert durch

Bayerisches Staatsministerium für
Umwelt und Verbraucherschutz
Rosenkavalierplatz 2
81925 München

Projektnehmer

Technische Universität München
TUM School of Life Sciences, Professur für Crop Physiology
Prof. Dr. Gerd Patrick Bienert
Alte Akademie 12
85354 Freising
Tel.: 08161 71 3961
Fax: 08161 71 3243
E-Mail: patrick.bienert@tum.de
Web: <https://www1.ls.tum.de/cropphys/startseite/>

Berichtszeitraum:

1. Juni 2021 bis 31. Oktober 2024



finanziert durch
Bayerisches Staatsministerium für
Umwelt und Verbraucherschutz



Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	2
Abkürzungsverzeichnis.....	4
1 Kurzzusammenfassung	5
2 Einführung.....	6
3 Zielstellung	8
3.1 Arbeitspaket AP1 – Identifizierung von gekoppelten Wassernutzungs- und Bor-Effizienz-QTL und -mechanismen in Raps.....	8
3.2 Arbeitspaket AP2 – Identifizierung von wassernutzungs- und Bor-effizienten Maislinien	8
3.3 Arbeitspaket AP3 – Identifizierung von Bor-Verbindungen, welche ein gesundes Pflanzenwachstum auch bei klimabedingt limitierenden Bedingungen wie Wasserknappheit und Trockenstress fördern	9
4 Ergebnisse und Diskussion	9
4.1 Arbeitspaket AP1 – Identifizierung von gekoppelten Wassernutzungs- und Bor-Effizienz-QTL und -mechanismen in Raps.....	9
4.1.1 Material und Methoden	9
4.1.2 Ergebnisse	13
4.1.3 Diskussion und Verwertbarkeit der Ergebnisse	17
4.1.4 Stellungnahme zum Projekterfolg.....	18
4.2 Arbeitspaket AP2 – Identifizierung von wassernutzungs- und Bor-effizienten Maislinien	19
4.2.1 Material und Methoden	19
4.2.2 Ergebnisse	20
4.2.3 Diskussion und Verwertbarkeit der Ergebnisse	22
4.2.4 Stellungnahme zum Projekterfolg.....	23
4.3 Arbeitspaket AP3 – Identifizierung von Bor-Verbindungen, welche ein gesundes Pflanzenwachstum auch bei klimabedingt limitierenden Bedingungen wie Wasserknappheit und Trockenstress fördern	23
4.3.1 Material und Methoden	23
4.3.2 Ergebnisse	25
4.3.3 Diskussion und Verwertbarkeit der Ergebnisse	28
4.3.4 Stellungnahme zum Projekterfolg.....	29
4.4 Aktualisierter Zeitplan.....	30
4.5 Einordnung der Projektergebnisse mit Bezug zum Klimawandel unter Berücksichtigung der Bayerischen Klima-Anpassungsstrategie	30

5	Veröffentlichungen	32
6	Projektkooperation mit universitären Forschergruppen.....	34
7	Industriebeteiligung.....	39
8	Zusammenfassung	39
9	Ausblick.....	42
	Literaturverzeichnis.....	44

Abkürzungsverzeichnis

A: Teilarbeitspaket

AP: Arbeitspaket

B: Bor

BBCH: Die BBCH-Skala gibt Auskunft über das Entwicklungsstadium einer Kulturpflanze. Die Abkürzung steht für die Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Bundessortenamt und Chemische Industrie.

cm: Zentimeter

DH: doppelt haploid / doppelhaploiden

FN: Fruhstorfer Nullerde

g: Gramm

ICP-MS: Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (inductively coupled plasma mass spectrometry)

kg: Kilogramm

mg: Milligramm

QTL: Quantitative Trait Locus / Quantitative Trait Loci (Genomposition/en eines quantitativ vererbten Merkmals)

Z: Projektziel

1 Kurzzusammenfassung

Ziel des Projektes war es für die Anwendung relevantes Wissen zu generieren, welches erlaubt, zukünftig gezielt genetisch determinierte pflanzliche Bor (B)/Wassereffizienzmechanismen für die Raps- und Maissortenzüchtung verfügbar zu machen, und diese mit einem optimierten Bor-Düngemittelmanagement im Feld zu kombinieren, um eine gesunde Wurzel- und Sprossentwicklung im Frühsommer in Bayern, selbst bei klimabedingt limitierenden Bedingungen wie Wasserknappheit oder Trockenstress, zu erzielen. Zu diesem Zweck wurden nicht triviale hoch kontrollierte Wachstumsbedingungen im Gewächshaus erfolgreich etabliert, die genau diese Forschungsansätze erlauben.

Bei Mais konnten erste genetische Unterschiede in der Antwort auf einen B-Mangel bei Wasserknappheit identifiziert werden. Im Falle von Raps konnte das Projekt auf eine bereits genetisch charakterisierte doppelhaploide Rapspopulation aufbauen, welche aus einer kontrastierenden B-effizienten und B-ineffizienten Rapselterlinie generiert wurde. Unter den getesteten Rapslinien fanden sich solche, die besonders effizient und ineffizient auf Bormangel reagieren und zwar in Abhängigkeit der Wasserverfügbarkeit. Neben unterschiedlichen, genetisch festgelegten, pflanzlichen Strategien, unter diesen Bedingungen eine gewisse Fertilität aufrechtzuerhalten, konnten potentielle Genompositionen für unterschiedliche Fertilitätsparameter identifiziert werden. Das so identifizierte genetische Material steht für Züchtungsstrategien klimaangepasster, ressourceneffizienter und ertragsstabiler Sorten bereit.

Parallel dazu wurde evaluiert, welches Potential unterschiedlicher B-Verbindungen besitzen, um als Düngemittel entwicklungsspezifische B-Bedarfe bei Raps im reproduktiven Wachstum effektiv zu decken, unabhängig von einer im Zuge des Klimawandels prognostizierten zunehmenden eingeschränkten Wasserverfügbarkeit (Frühjahrstrockenheit). Hierbei konnte Borax als eine B-Verbindung mit vorteilhaften Auswirkungen auf die Blütenentwicklung mit ausreichend Wasser versorgten Pflanzen identifiziert werden. Unter wasserlimitierten Bedingungen konnte dagegen bei keiner der getesteten B-Verbindungen eine gesteigerte Fertilität festgestellt werden. Gleichzeitig konnte gezeigt werden, dass der B-Ernährungsstatus von blühenden Rapspflanzen einen signifikanten Einfluss auf die Blütenattraktivität für unterschiedliche Bestäubergruppen hat und sich damit auf den Bestäubungserfolg und letztendlich auch wieder auf den Ertrag auswirkt.

Das facettenreiche Projekt leistete einen wichtigen Beitrag zum besseren Verständnis von Prozessen, die eine effiziente Nutzung von Wasser und Bor bei Raps erlauben und damit zu einer potentiellen zukünftigen Stärkung der Ertragsstabilität im Rapsanbau im Rahmen der sich verändernden Klimaverhältnisse in Bayern.

2 Einführung

Der prognostizierte Klimawandel in Europa bringt neben einer Erwärmung auch das häufigere Auftreten von z.T. kontrastierenden Wetterextremen innerhalb einer einzigen Wachstumsperiode mit sich. Die Erfahrungen der letzten Jahre bestätigen dies auch für Bayern: auf niederschlagsreiche Winter folgen anhaltende Trockenperioden im Frühjahr. Diese Wetterabfolge macht die Wasser- und Nährstoffakquirierung vor allem für Pflanzen wie Winterraps (*Brassica napus*) und Sommerungen wie z. B. Mais (*Zea mays*) zu einer Herausforderung mit potentiell folgenschweren Konsequenzen für den Ertrag. Etablierte Höchstleistungssorten sind an solche Bedingungen nur bedingt angepasst. Mobile Nährstoffe wie Nitrat, Sulfat und Bor (B) werden bis zum Frühjahr ausgewaschen und können bei anschließenden Trockenperioden, während den Nährstoffhochbedarfszeiten, die Pflanzenwurzeln aufgrund des ausbleibenden Bodenwassermassenflusses nicht mehr erreichen. Bor ist einer der am häufigsten im Mangel vorliegenden und aktiv ‚verwalteten‘ Mikronährstoffe in Kulturpflanzen [1]. Damit spielt im Besonderen seine Verfügbarkeit unter diesen Bedingungen für die spätere Ertragsbildung bei B-Bedarfern wie z. B. Raps eine kritische Rolle. Eintretender B-Mangel führt zu einer rapiden Inhibierung des Wurzelwachstums. Das damit verbundene Ausbleiben der weiteren Durchwurzelung des Bodens bewirkt, dass benötigtes und bereits limitiert vorliegendes Wasser sowie weitere Nährstoffe weniger aufgenommen werden können. Somit entsteht ein „*circulus vitiosus*“ bei einer verminderten Wasser- und/oder B-Verfügbarkeit von Pflanzen: Wasserknappheit führt zu B-Mangel, welcher die Wasseraufnahme und die Wasserverteilung in Pflanzen zusätzlich vermindert, was wiederum den B-Mangel verstärkt und letztendlich in einer Abwärtsspirale endet, in der sich der physiologische Zustand der Pflanzen immer weiter verschlechtert. Zellentwicklungsdefekte führen des Weiteren dazu, dass sich Leitgewebe in der Wurzel und im Spross nicht mehr funktionell ausdifferenzieren. Solch de-differenzierte Gewebe können nicht mehr effizient zur Aufnahme von Wasser und Nährstoffen sowie deren Verteilung innerhalb der Pflanze beitragen. Die gewebespezifischen Schädigungen und Wurzelwachstumsarretierungen sind irreversibel und können durch eine erneute B-Düngung nicht rückgängig gemacht werden, sodass der Wasser- und Nährstofftransport auch zu späteren Vegetationszeitpunkten beeinträchtigt bleibt.

Auf molekularer Ebene ist B essentiell für die Vernetzung von Zellwandbestandteilen und entsprechend von besonderer Bedeutung für die Stabilität, die Fruchtbarkeit und die Abwehrkraft gegenüber Pathogenen [2]. Unabhängig vom stark variierenden B-Bedarf während des vegetativen Wachstums (hoher B-Bedarf bei Raps/Zuckerrübe/Leguminosen, intermediärer B-Bedarf bei Mais und niedriger B-Bedarf bei Getreiden wie Gerste) sind alle Kulturpflanzen während der reproduktiven Phase höchst anfällig für B-Mangel [2]. So werden zum Beispiel häufig B-unterversorgte Maisschläge in Deutschland beobachtet [3]. Der im vegetativen Wachstumsstadium latent fortschreitende B-Mangel bei Mais resultiert letztendlich in einem verminderten Kornertrag [4]. Dies liegt an der Tatsache, dass B-Mangel während der reproduktiven Wachstumsphase aller Samenpflanzen aufgrund einer gestörten Pollenentwicklung häufig zu einer männlichen Sterilität führt oder junge Blütenknospen komplett nekrotisieren und absterben (Knospenwelke bei Raps) [2,5]. Im Folgenden werden bei Raps keine Samen in den Schoten gebildet. Selbst bei bestehender Fertilität kann es anschließend zu einem

vorzeitigen Schotenabwurf kommen. Im Extremfall ist ein signifikanter Ertragseinbruch möglich [2,6]. Genotypen, die unter klimabedingten B-Mangelbedingungen trotzdem einen stabilen Ertrag erzielen, werden als B-effizient / B-nutzungseffizient bezeichnet [2,6]. Systematische Züchtungsansätze, welche auf B-effiziente bzw. gekoppelte Wassernutzungs- und B-effiziente Sorten abzielen, würden somit eine nachhaltige Strategie darstellen, um eine ertragsstabile Produktion von Lebensmitteln in dem sich ändernden Klimakontext sicherzustellen. Teilprojekt 8 zielt darauf ab, Wissen zu generieren, welches genau für solche Züchtungsansätze benötigt wird. Fatalerweise wird ertragsschädigender B-Mangel, welcher sich im Inneren der Pflanze oder unterirdisch im Wurzelsystem manifestiert, durch die landwirtschaftliche Diagnostik, als solcher, meist nicht ans Tageslicht gebracht. Dementsprechend werden Ertragseinbußen nicht auf B-Mangel zurückgeführt.

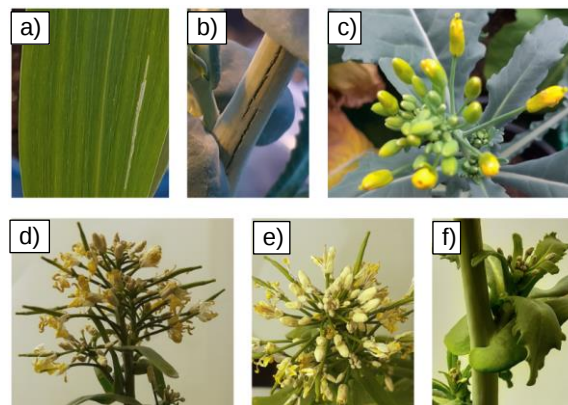


Abbildung 1: Bormangelsymptome an Mais (B73) und Raps (CR3153): a) Maisblatt mit Nekrose, b) Wachstumsrisse am Rapsstängel, c) sich nicht öffnende Rapsblüten mit herausstehender Narbe, d) traubiger Rapsblütenstand und e) welke Petalen und Sepalen sowie eingetrocknete Knospen (Knospenwelke) bei Raps, f) Knospenwelke in den sekundären Blütenständen von Raps (Fotos: J. Tölle).

Neben einer erforderlichen züchterischen Anpassung der Sorten an den Klimawandel selbst, ist ein damit verbundenes angepasstes Düngemittelmanagement notwendig. Speziell angepasst B-Düngerformulierungen oder Applikationen, welche speziell die klimabedingte Wasserverfügbarkeit im jeweiligen Bodentyp berücksichtigen, sind nicht Bestandteil gängiger Düngepraktiken. Der Zusammenhang zwischen Wassernutzungs- und B-Effizienz findet in der Praxis kaum Beachtung. Ob schnell oder langsam pflanzenverfügbare B-Verbindungen, oder eine Kombination beider, eine ausreichende B-Versorgung im zu erwartenden Klimakontext und vor allem bei Bodentrockenheit sicherzustellen können, ist Gegenstand aktueller Forschung. Dieses Projekt setzt sowohl an den Kulturpflanzen selbst als auch am System Boden an, um Wissen über die effiziente Nutzung von Wasser und Bor bei Raps und Mais unter sich ändernden Klimabedingungen zu generieren. Entsprechende B- und Wassermangelsituationen und -symptome (Abbildung 1) wurden im Rahmen des Teilprojektes 8 gezielt in Mais- und Rapspflanzen simuliert und untersucht.

3 Zielstellung

Hauptziel des Projektes war es für die Anwendung relevantes Wissen zu generieren, welches erlaubt, zukünftig gezielt 1) genetisch determinierte gekoppelte B- und Wassereffizienzmechanismen für die Züchtung ertragsstabiler Sorten verfügbar zu machen und dies mit 2) einem optimierten B-Düngemittelmanagement zu kombinieren, um eine gesunde Wurzel-, Spross- und Blütenentwicklung im Frühjahr/Sommer, selbst bei klimabedingt limitierenden Bedingungen wie Wasserknappheit oder Trockenstress, sicher zu stellen.

Um diese Erhöhung der Ertragsstabilität zu erreichen, wurden drei synergistisch konzipierte Arbeitspakete (AP) bearbeitet.

3.1 Arbeitspaket AP1

Identifizierung von gekoppelten Wassernutzungs- & B-Effizienz-QTL und -mechanismen in Raps, welche zur Züchtung optimierter Sorten herangezogen werden können

Arbeitspaket AP1 umfasste die Identifizierung von molekularen und physiologisch gekoppelten Wassernutzungs- und B-Effizienzmechanismen in Raps (Projektziel Z1), sowie deren zugrundeliegende Genomabschnitte bzw. Gene (Projektziel Z2) mittels QTL-Analyse.

Um Projektziel Z1, die Identifizierung von Wassernutzungs- und B-Effizienzmerkmalen in Raps zu erreichen, sollte ein Wachstumsscreen mit einer neu generierten noch nicht publizierten Raps doppelhaploiden (DH)-Population, welche aus einer Kreuzung einer B-ineffizienten und B-effizienten Elternlinie [6] generiert wurde, durchgeführt werden. In der DH Population und deren Eltern, welche bei unterschiedlichen Wasserverfügbarkeitsstufen und unter B-Mangelbedingungen kultiviert werden sollten, sollten physiologische, elementare sowie Biomasse- und Ertragsparameter (Spross: Frisch- & Trockengewicht, Anzahl geöffneter Blüten, Schotenansatz, Spross: Makro- und Mikronährstoffkonzentrationen) bestimmt werden. Projektziel Z2 umfasste die Identifizierung von gekoppelten Wassernutzungs- und B-Effizienz-Marker, -Loci und -Genen in Raps für die zuvor bestimmten Merkmale mittels QTL-Bestimmung.

3.2 Arbeitspaket AP2

Identifizierung von Wassernutzungs- und B-effizienten Maislinien und Faktoren, die zu dieser gekoppelten Effizienz beitragen

Arbeitspaket AP2 verfolgte Projektziel Z3, nämlich die Identifizierung von Wassernutzungs- und B-effizienten Maislinien und Faktoren (Projektziel Z4), die zu dieser gekoppelten Effizienz beitragen. Zu diesem Zweck war eine Datenerhebung für molekulare, physiologische, elementare sowie Biomasse-Parameter (Spross: Frisch- & Trockengewicht, Makro- und Mikronährstoffkonzentrationen; spez. Wurzelsystemarchitekturparameter, Expressionsmuster

von Markergenen für B- und Wasserstatus) in neun selektierten Maislinien geplant, welche 1) Teil des “DROPS Diversity Panels” [7] sind, 2) zugleich die Eltern einer von KWS-generierten Multi-parent Advanced Generation InterCross [MAGIC] DH Population darstellen und 3) ebenfalls von weiteren BayKlimaFit-2 Projekten untersucht wurden. Die B-Effizienz dieser Linien sollte im Rahmen von Versuchen bei unterschiedlichen Wasserverfügbarkeitsstufen und unter suffizienter bzw. defizienter B-Ernährung evaluiert werden.

3.3 Arbeitspaket AP3

Identifizierung von praxistauglichen B-Verbindungen, welche ein gesundes Pflanzenwachstum auch bei klimabedingt limitierenden Bedingungen wie Wasserknappheit und Trockenstress fördern

AP3 umfasste die Screening-basierte Identifizierung und Charakterisierung von praxistauglichen B-Verbindungen, welche als Düngemittel entwicklungsspezifische B-Bedarfe effektiv decken und somit eine gesunde Wurzel-, Spross- und Blütenentwicklung in Raps selbst bei klimabedingt limitierenden Bedingungen wie Wasserknappheit oder Trockenstress fördern (Projektziel Z5). Zu diesem Zweck wurde die B-ineffiziente Rapsakzession *CR3153* auf selektierten B-Verbindungen bei unterschiedlichen Schweregraden des B-Mangels im Boden und bei unterschiedlichen Wasserverfügbarkeitsstufen bis zur Schotenbildung kultiviert. Auswirkungen auf die Fertilität sowie auf weitere physiologische, elementare sowie Biomasse-Parameter (Spross: Frisch- & Trockengewicht, Makro- und Mikronährstoffkonzentrationen; Anzahl geöffneter Blüten, Schotenansatz; Blattfarb- und spezifische Wurzelsystemarchitekturparameter) sollten phänotypisiert werden.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Arbeitspaket AP1

Identifizierung von gekoppelten Wassernutzungs- & B-Effizienz-QTL und -mechanismen in Raps, welche zur Züchtung optimierter Sorten herangezogen werden können

4.1.1 Material und Methoden

Ziel des AP1 war es, eine genotypisierte Raps DH-Population (nicht publiziert) und ihre Eltern, *CR2267* (B-effizient) und *CR3153* (B-ineffizient), hinsichtlich ihren Wassernutzungseffizienz in Kombination mit ihrer B-Effizienz zu überprüfen, um mittels einer sich anschließenden QTL-Kartierung diesen Parametern zugrunde liegende Genomabschnitte zu identifizieren. Die Quantifizierung der Ausprägung der gekoppelten Wassernutzungs- & B-Effizienzmerkmale in der DH-Population in Relation zu Variationen bekannter genetischer Marker sollte die Identifizierung von Chromosomenabschnitten erlauben, welche für die Ausprägung

der entsprechenden Effizienzen verantwortlich sind. Der experimentell nicht triviale Gewächshausgroßversuch mit 198 DH-Linien und deren Eltern in biologischen Replikaten (insgesamt >2100 Pflanzen), bedurfte mehrerer unvorhersehbarer Anpassungen an die Gegebenheiten und Regularien des TUM-Gewächsauszentrums „Dürnast“. Folgende Parameter hatten zusätzliche experimentellen Adaptationen erfordert, um eine genau definierte B-Verfügbarkeit für die Pflanzen zu gewährleisten und damit den Versuchsverlauf verzögert: 1) Vernalisationsbedingungen sowie 2) Regularien, die Anpassungen des etablierten Standardprotokolls in der Düngung und dem Pflanzenschutz erforderten. Die genauen Versuchsbedingungen wurde mit den Eltern der DH-Population, *CR3153* (B-ineffizient, Sommerraps) und *CR2267* (B-effizient, Semityp), etabliert.

Zunächst wurden die Eltern *CR3153* und *CR2267* [6] auf ihre Wassernutzungseffizienz unter B-Mangelbedingungen hin untersucht („Elternversuch“). Dafür wurden diese bei 2,5 mg B/kg FN-Substrat (+B) und 0,25 mg B/kg FN-Substrat (-B) Bedingungen kultiviert. Das verwendete FN-Sondersubstrat (Fruhstorfer Nullerde [FN], Hawita-Gruppe) musste zunächst gekalkt werden, um den gewünschten pH-Wert von 6,3 einzustellen. Da es sich bei dem FN-Substrat um eine Nullerde mit einem geringen Nährstoffgehalt insbesondere von B mit < 0,1 mg B/kg Substrat handelt, wurden die für ein optimales Pflanzenwachstum notwendigen Mikro- und Makronährstoffe in ausreichender Menge (modifizierte Hoagland Nährstofflösung) appliziert, wobei die B-Konzentration einmalig für ausreichend (+B) bzw. Mangelsymptome-induzierend (-B) eingestellt wurde. Im Verlauf des Versuches wurden die Pflanzen wiederholt mit Nährstoffen, mit Ausnahme von B, versorgt, um deren Nährstoffbedarf während der Wachstumsperiode zu decken. Ab dem Entwicklungsstadium der Blütenknospenbildung wurde für einen Teil der Pflanzen die Wasserversorgung reduziert, um eine Wasserlimitierung, wie bei einer Frühjahrstrockenheit, zu simulieren (Wasserverfügbarkeitsstufe „trocken“), während der andere Teil der Pflanzen mit einer optimalen Wasserversorgung (Wasserverfügbarkeitsstufe „feucht“) als Kontrolle unter den jeweiligen B-Konzentrationen weiter bis zur Blüte kultiviert wurde. Diese Wasserverfügbarkeitsstufen wurden durch Wiegen der Töpfe auf einen bestimmten volumetrischen Wassergehalt eingestellt. Gegossen wurde mit B-freiem Reinstwasser.

Der Blühbeginn jeder Einzelpflanze wurde dokumentiert und die Infloreszenzen des Haupttriebes und der Seitentriebe 4 Tage und 7 Tage nach Blühbeginn phänotypisiert. Folgende Parameter wurden quantifiziert: die Anzahl offener turgider (gesunder) Blüten, geöffneter Blüten mit deformierten Kronblattspreiten, geschlossener Blüten mit überständiger Narbe, grüner Blütenknospen, nekrotischer Blütenknospen, vorzeitig aufgeplatzter Blütenknospen („cauliflower-like“) sowie die Anzahl an Seitentriebe mit den beschriebenen Blühphänotypen (Abbildung 2). Am zweiten Phänotypisierungstermin (7 Tage nach Blühbeginn) wurde zusätzlich die Anzahl an Schoten und Blüten mit verblichenen Kronblättern („alte“ Blüten) dokumentiert und Blattproben für eine Elementanalyse mittels ICP-MS und Messung der ¹³C-Diskriminierung zur Bestimmung der Wassernutzungseffizienz wurden geerntet. Ca. 9 Tage nach Blühbeginn wurde das Trockengewicht des Sprosses bestimmt.

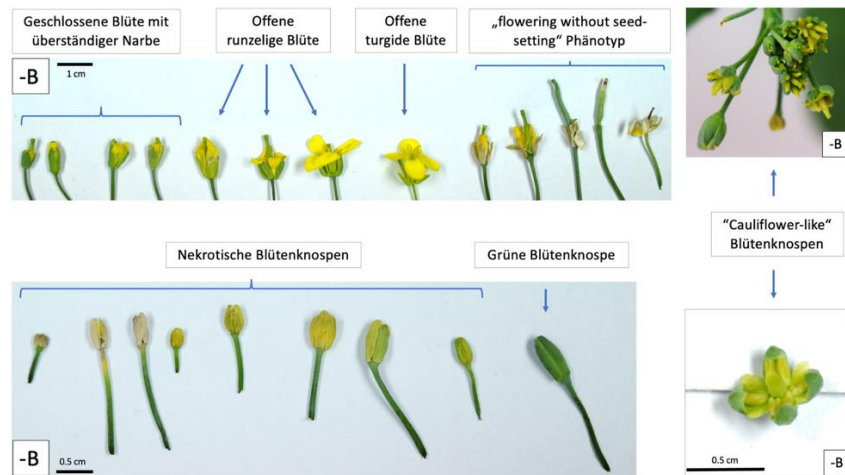


Abbildung 2: Unterschiedliche Blüten(knospen)phänotypen unter B-Mangel (-B) bei Raps (Fotos: J. Tölle).

Für den Wachstumsscreen der DH-Linien („DH-Linien Versuch“) zur Identifizierung von Wassernutzungs- und B-Effizienzmerkmalen wurden in Keimungsversuchen 198 DH-Linien mit der höchsten Keimungsrate aus über 250 DH-Linien ausgewählt. Diese wurden in 41 Anzuchtplatten (77 Töpfe (4x4 cm) pro Platte) mit mindestens 15 Töpfen pro DH-Linie bzw. Elternteil (*CR2267*, *CR3153*) und unter B-limitierenden Bedingungen (0,25 mg B/kg FN-Substrat) in der Vernalisation ausgesät. Dafür wurde das verwendete FN-Substrat wie zuvor beschrieben gekalkt, die für ein optimales Pflanzenwachstum notwendigen Mikro- und Makronährstoffe in ausreichender Menge (modifizierte Hoagland Nährstofflösung) appliziert und die gewünschte B-Konzentration einmalig eingestellt. Nach der Vernalisation wurden die Pflanzen in 13 cm Ø Töpfe mit 350 g FN-Substrat vereinzelt (10 biologische Replikate pro DH-Linie bzw. 30 biologische Replikate pro Elternteil). Hierfür wurde das FN-Substrat in Töpfe eingewogen und die Pflanzen aus den Anzuchtplatten transferiert. Anschließend wurden die für ein optimales Pflanzenwachstum notwendigen Mikro- und Makronährstoffe in adäquater Menge appliziert, wobei keine weitere B-Applikation in der B-limitierenden Bedingungen erfolgte. Zu der im FN-Substrat vorhandenen Konzentration von < 0,1 mg B/kg FN-Substrat wurde insgesamt 0,02 mg B/kg FN-Substrat appliziert. Die B-Konzentration wurde gezielt unterhalb der ursprünglich geplanten B-limitierenden Konzentration von 0,25 mg B/kg FN-Substrat gehalten, um verschiedene B-Kontaminationsquellen (z. B. Polleneintrag ins Gewächshaus, Pflanzenschutzmittel, etc.) entgegenzuwirken und B-limitierende Bedingungen während des gesamten Versuches zu garantieren.

Zusätzlich wurden sowohl die Elternlinien als auch sechs ausgewählte DH-Linien, die zuvor in unabhängigen Versuchen als B-effizient bzw. als B-ineffizient eingestuft worden waren, auf B-suffizientem FN-Substrat (2,5 mg B/kg FN-Substrat) als Kontrollen kultiviert, sodass auf 10 Gewächshaustischen > 2100 Pflanzen in einem Random-Block Design verteilt wuchsen (Abbildung 3). Im Verlauf des Versuches wurden die Pflanzen wiederholt mit Nährstoffen, mit Ausnahme von B, versorgt, um deren Nährstoffbedarf während der Wachstumsperiode zu decken.



Abbildung 3: Rapspflanzen kultiviert im Gewächshaus unter B-limitierenden Bedingungen (Foto: G. P. Bienert).

Ab dem Entwicklungsstadium der Blütenknospenbildung wurde bei der Hälfte der Pflanzen die Wasserversorgung reduziert, um eine Wasserlimitierung, wie bei einer Frühjahrstrockenheit, zu simulieren (Wasserverfügbarkeitsstufe „trocken“), während die andere Hälfte der Pflanzen mit einer optimalen Wasserversorgung (Wasserverfügbarkeitsstufe „feucht“) als Kontrolle unter den jeweiligen B-Konzentrationen weiter bis zur Blüte kultiviert wurde (jeweils fünf biologische Replikate pro DH-Linie und Wachstumsbedingung und 15 biologische Replikate pro DH-Elternteil und Wachstumsbedingung). Ein volumetrischer Wassergehalt von $< 10\%$ wurde für die Wasserverfügbarkeitsstufe „trocken“ und $> 10\%$ für die Stufe „feucht“ vorgesehen und mittels Bodenfeuchtesensor regelmäßig kontrolliert. Die Bewässerung erfolgte manuell mit B-freiem (mittels ICP-MS Messungen analysiert) vollentsalzten Wasser.

Der Blühbeginn jeder Einzelpflanze wurde notiert und die Infloreszenzen des Haupttriebes und der Seitentriebe 4 bzw. 5 Tage und 14 bzw. 15 Tage nach Blühbeginn phänotypisiert (quantifizierte Parameter entsprechen denen des „Elternversuches“: s. oben). 111 Tage nach Blühbeginn wurden Blattproben für die ICP-MS-basierte Bestimmung von Nährstoffkonzentrationen genommen und die Pflanzen geerntet. Zusätzlich wurde die Hauptsprosslänge, die Anzahl der Schoten der Hauptinfloreszenz, die Länge der Seitentriebe sowie die Anzahl der Seitentriebe mit Schoten und die Trockenmasse der Pflanzen bestimmt. Blattproben von drei biologischen Replikaten je DH-Linie und Wasserverfügbarkeitsstufe („feucht“, „trocken“) wurden für die Elementanalyse gepoolt. Die Messung verschiedener essentieller Makro- (z. B. Phosphor, Kalium, Magnesium) und weiterer Mikronährstoffe neben B (z. B. Zink, Eisen, Mangan) mittels ICP-MS wurde durchgeführt, um B-unabhängige Nährstoffmangelversorgungen der Pflanzen auszuschließen. Zusätzlich wurden vor dem Beginn des Experimentes und nach der Ernte der Pflanzen Substratproben auf deren Nährstoffgehalte hin analysiert. Die Ergebnisse zeigen, dass die Pflanzen während des Versuches mit ausreichenden Nährstoffmengen, mit Ausnahme von B, versorgt waren.

Die QTL-Kartierung für die bonitierten Parameter wurde unter Verwendung des Pakets „R_qtl“ der Statistiksoftware R durchgeführt. Beim Einlesen der phänotypischen und genotypischen Daten wurde das Mapmaker Format verwendet. Die Verwendung von „R_qtl“ wurde angelehnt an den Leitfaden von Broman und Sen [8] durchgeführt. Für die genotypischen Daten wurden 334 Individuen der DH-Population mit insgesamt 13.709 Markern genotypisiert. Die Marker wurden in einer Marker-Map mit 1643 Markern und 19 Kopplungsgruppen angeordnet, sodass Intervalle mit einer Länge von 1-5 cM entstanden. Die Erstellung der

Marker-Map wurde von Eva Heinrich und Antje Schierholt durchgeführt. Windows QTL Cartographer diente zur Ermittlung der QTLs.

4.1.2 Ergebnisse

Während sich die Eltern der DH-Rapspopulation in ihrer B-Effizienz im vegetativen Wachstumsstadium unterscheiden [6], waren die Auswirkungen unterschiedlichen Wasserverfügbarkeiten auf die Ernährungsphysiologie und die Produktivität vor allem im reproduktiven Wachstumsstadium bisher nicht bekannt. In AP1 wurde die B-Effizienz während der Entwicklungsstadien „Entwicklung der Blütenanlagen“ bis „Fruchtbildung“ zusätzlich mit der Wassernutzungseffizienz für beide Akzessionen untersucht („Elternversuch“). Auch während der Blüte zeigte sich, dass *CR2267* B-effizient ist. Unter B-limitierenden Bedingungen konnte *CR2267* vier Tage nach Blühbeginn offene turgide (gesunde) Blüten entwickeln, während *CR3153* zwar offene Blüten, aber nur mit deformierten Kronblattspreiten (B-Mangelsymptom) bildete (Abbildung 4A). Unter B- und zusätzlicher Wasserlimitierung (WL) bildete die B-effiziente Akzession *CR2267* jedoch keine turgiden Blüten mehr aus. Sieben Tage nach Blühbeginn entwickelte *CR2267* Schoten unter B-limitierenden Bedingungen, während *CR3153* keine Schoten aufwies (Abbildung 4B). B-limitierende Bedingungen senkten die B-Konzentration im Blatt signifikant verglichen mit einer ausreichenden B-Versorgung. Unter B-limitierenden Bedingungen zeigte sich zudem, dass nur für die B-ineffiziente *CR3153* eine zusätzliche Wasserlimitierung die Blatt-B-Konzentration reduzierte (Abbildung 4C). Die Wassernutzungseffizienz kann indirekt über die Delta ^{13}C Diskriminierung abgeschätzt werden, da die Delta ^{13}C Diskriminierung und Wassernutzungseffizienz negativ korreliert sind [9]. Da die Delta ^{13}C Diskriminierung von *CR3153* weniger ausgeprägt war als bei *CR2267*, und dies insbesondere unter B-limitierenden und nicht wasserlimitierenden Bedingungen (Abbildung 4D), scheint *CR3153* besser als *CR2267* mit der Wasserlimitierung in unseren Testbedingungen zurecht zu kommen. Dieser Versuch zeigte kontrastierende Ergebnisse für mehrere B-Effizienz- und Wassernutzungseffizienzparameter zwischen *CR3153* und *CR2267*. Somit waren diese Parameter geeignet, Wassernutzungs- und B-Effizienz QTL in der aus diesen Eltern resultierenden DH-Population zu identifizieren.

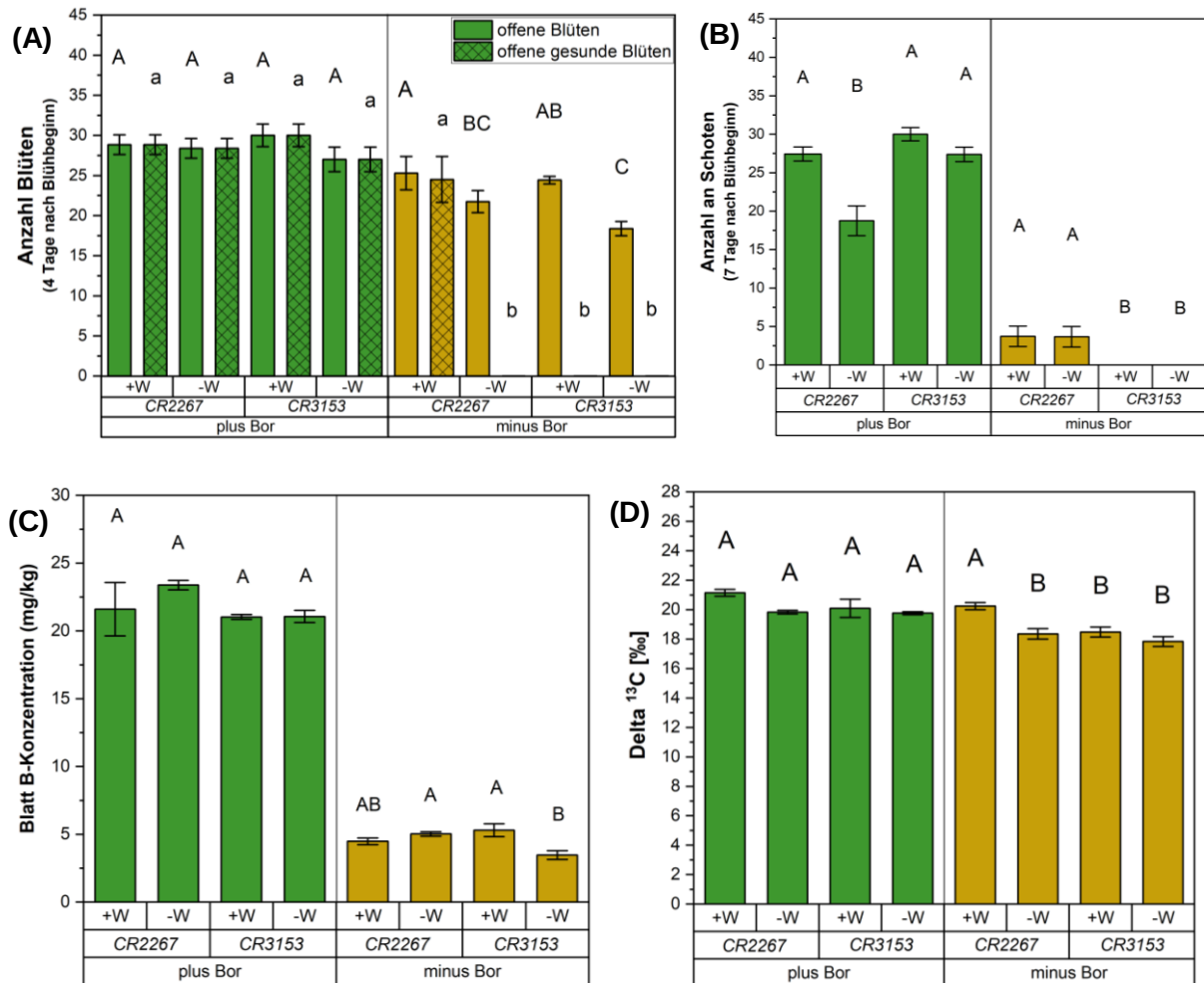


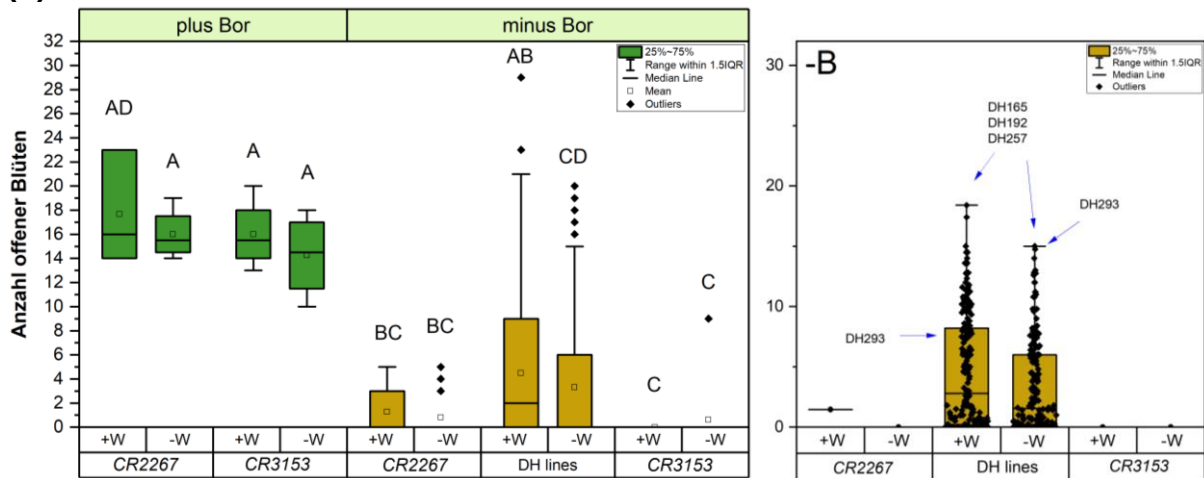
Abbildung 4: (A) Anzahl der offenen und offenen turgiden (gesunden) Blüten des Hauptsprosses 4 Tage nach Blühbeginn und (B) Anzahl der Schoten des Hauptsprosses 7 Tag nach Blühbeginn, (C) B-Konzentrationen in Blättern der Haupttriebes und (D) Delta ^{13}C Diskriminierung der elterlichen Rapsakzessionen CR2267 (B-effizient) und CR3153 (B-ineffizient), kultiviert auf B-ausreichenden (plus Bor) und B-Mangelbedingungen (minus Bor), im Vergleich zu feuchten (+W) und trockenen (-W) Bedingungen. Unterschiedliche Buchstaben zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen den Akzessionen und Wasserverfügbarkeitsstufen innerhalb einer B-Konzentration (für (A): Großbuchstaben für die Anzahl der offenen Blüten, Kleinbuchstaben für die Anzahl offenen turgiden (gesunden) Blüten). ($p < 0.05$, 2-Weg-ANOVA, post hoc Tukey Test); (für (A) und (B): $n = 6-8$, für (C) und (D): $n = 4$); Fehlerbalken = Standardfehler des Mittelwertes.

Im „DH-Linien Versuch“ hatte bei dem Parameter „Anzahl offener Blüten im Hauptspross“ 4 bis 5 Tage nach Blühbeginn die Höhe der B-Versorgung sowie die Trockenstressapplikation einen signifikanten Einfluss: Gegenüber optimal versorgten Pflanzen verringerte sich die Anzahl der Blüten signifikant mit einer limitierenden B-Versorgung und die Anzahl der offenen Blüten reduzierte sich ebenfalls signifikant über alle 990 Pflanzen der 198 DH-Linien gemittelt, wenn die Pflanzen nicht mehr mit ausreichend Wasser versorgt wurden (Abbildung 5A,

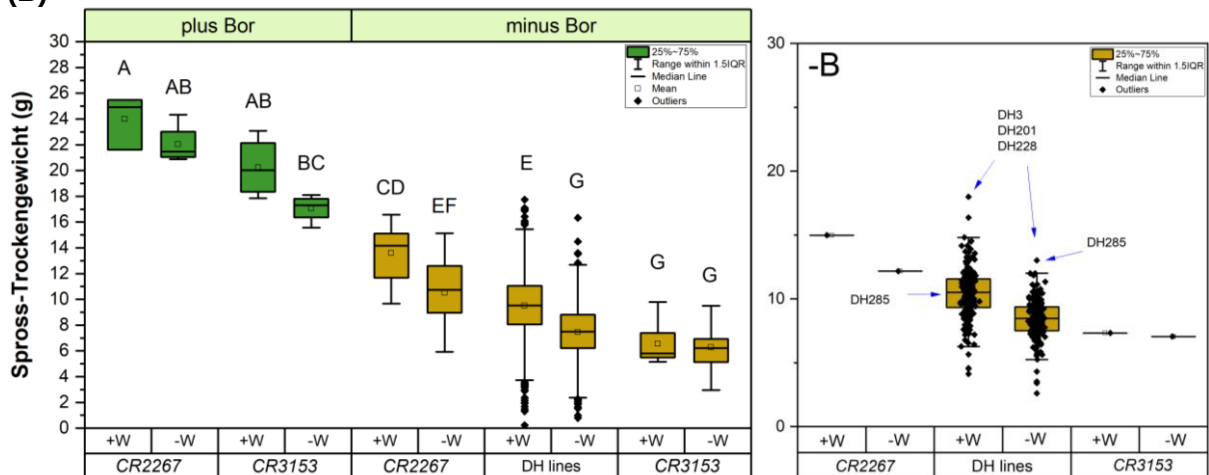
links). Während das Sprosstrockengewicht sowohl durch die B-Versorgung als auch die Wasserbedingungen „feucht“ bzw. „trocken“ signifikant beeinflusst wurde (Abbildung 5B, links) ist die B-Konzentration im Blatt hauptsächlich von der B-Versorgung im Substrat abhängig (Abbildung 5C, links). Unabhängig von der Wasserverfügbarkeit lagen das Trockengewicht und die Blatt B-Konzentration der elterlichen Akzessionen, welche unter ausreichender B-Versorgung angezogen wurden, signifikant höher als das der Pflanzen, die unter limitierenden B-Bedingungen kultiviert wurden. Zusätzlich verringerte die Trockenstressapplikation bei allen DH-Linien die Biomasseakkumulation im Spross signifikant gegenüber den ausreichend mit Wasser versorgten Pflanzen.

Zusätzlich zu den Ergebnissen gemittelt über die DH-Population innerhalb einer Wasserverfügbarkeitsstufe konnten DH-Linien identifiziert werden, die unter B-limitierenden Bedingungen für einzelne Parameter „besser“ abschnitten als andere DH-Linien. Zu unterscheiden sind dabei einerseits DH-Linien, die sowohl unter feuchten Bedingungen als auch unter Wasserlimitierung z. B. mehr offene Blüten, ein höheres Sprosstrockengewicht oder eine höhere Blatt-B-Konzentration aufwiesen als andere DH-Linien. Zum anderen gab es DH-Linien, die unter feuchten Bedingungen im Vergleich der DH-Linien im Mittelfeld lagen und unter Wasserlimitierung sehr gut im Vergleich der DH-Linien abschnitten, sich also effizient unter Wasserlimitierung hinsichtlich der einzelnen Parameter entwickelten, z. B. mehr offene Blüten, ein höheres Sprosstrockengewicht oder eine höhere Blatt-B-Konzentration aufwiesen als unter „feuchten“ Bedingungen (Abbildung 5A, B und C, rechts). Die weiteren Messungen von Nährstoffelementen (z.B. Phosphor, Kalium, Magnesium) werden weiterhin ausgewertet.

(A)



(B)



(C)

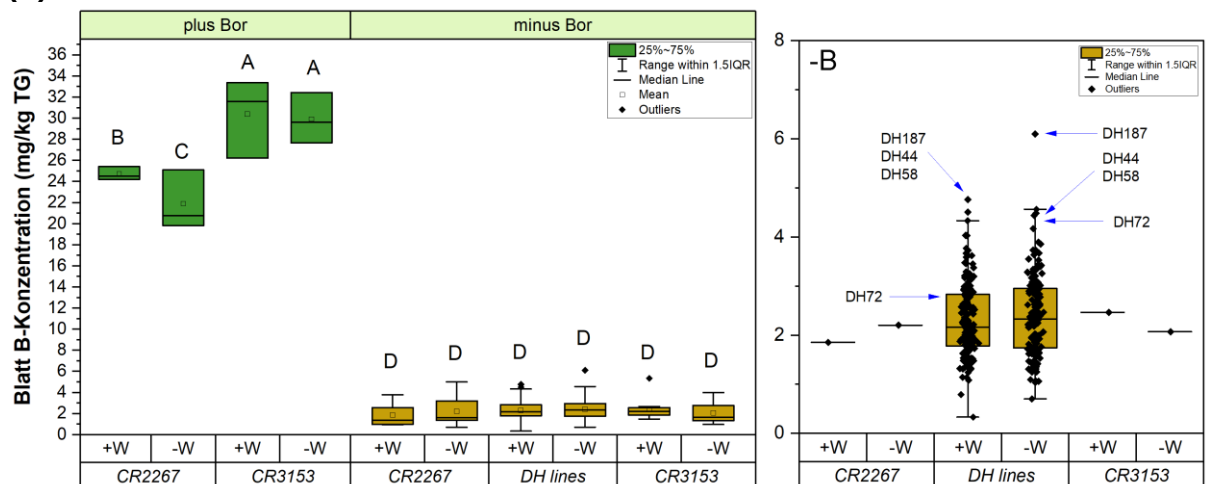


Abbildung 5: (A) Anzahl offener Blüten des Hauptsprosses 4 bis 5 Tage nach Blühbeginn, (B) Sprosstrockengewicht und (C) Blatt B-Konzentration (mg/kg Trockengewicht (TG)) der elterlichen *Brassica napus* Akzessionen CR2267 (B-effizient) und CR3153 (B-ineffizient) sowie der 198 DH-Linien kultiviert auf B ausreichenden (plus Bor) und B-Mangelbedingungen

(minus Bor, -B) im Vergleich von feuchten (+W) und trockenen (-W) Bedingungen. Linke Abbildungen: Unterschiedliche Großbuchstaben zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen den Genotypen, B-Konzentrationen im Substrat und Wasserverfügbarkeitsstufen (für (A) und (C): $p < 0.05$, 3-Weg-ANOVA, post hoc Tukey test; für (B): $p < 0.05$, Kruskal-Wallis 3-Weg-ANOVA, post hoc Dunn's test). (ausreichende B-Versorgung: $n = 3-4$; limitierende B-Versorgung: CR2267, CR3153: $n = 15$, DH-Linien: $n = 990$). Rechte Abbildungen: Statistik mit Mittelwert der jeweiligen DH-Linie/der elterlichen Akzession (CR2267, CR3153: jeweils $n = 14-15$, 171-198 DH-Linien: jeweils $n = 4-5$); Fehlerbalken repräsentieren den Bereich des 1,5-fachen Interquartilen Abstands (IQR).

Für Parameter, deren Ausprägung zwischen den DH-Linien kontrastierten, wurden im Anschluss eine QTL-Bestimmung durchgeführt. Es zeigte sich, dass diese Merkmale quantitative Merkmale darstellen und mehrere Genomabschnitte diese Parameter in Abhängigkeit von den Wachstumsbedingungen beeinflussen. Einige Hotspots bei der Verteilung der QTL konnten auf den Kopplungsgruppen bzw. Chromosomen C06, A07 und C08 identifiziert werden. Auf Kopplungsgruppe A09 konnten zwei kleine QTL-Zentren festgestellt werden. Des Weiteren scheinen B-Effizienz und Wassernutzungseffizienz in unterschiedlichen Rapsentwicklungsstadien durch unterschiedliche QTL bestimmt zu werden. Die durch QTL Analyse identifizierten Genomregionen werden im weiteren Projektverlauf hinsichtlich potentieller B-Effizienz und Wassernutzungseffizienz beeinflussender Gene analysiert.

4.1.3 Diskussion und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Unterschiede in der B-Effizienz zwischen den Rapsakzessionen CR2267 und CR3153 und somit deren Einstufung als B-effizient und B-ineffizient wurden bei einer Wachstumsdauer von 28 Tagen nach Aussaat erfasst [6]. Die unterschiedlichen B-Effizienzen wurden im unter 4.1.1 beschriebenen Versuch des Arbeitspaketes AP1 auch während des reproduktiven Wachstums beobachtet und damit für den gesamten Wachstumszyklus bestätigt („Elternversuch“). Des Weiteren zeigten die 198 DH-Linien unterschiedliche Merkmalsausprägungen aufgrund der eingestellten B- und Wasserbedingungen („DH-Linien Versuch“). Bestimmte Parameter wurden als geeignete Indikatoren für die Bestimmung des Merkmals Trockenstresstoleranz (z. B. das Sprosstrockengewicht) unter B-Mangelbedingungen identifiziert. Entsprechend der dem Projekt zugrunde liegenden Arbeitshypothese konnten einige DH-Rapslinien identifiziert werden (Abbildung 5), die unter kombinierter Wasser- und B-Limitierung in Bezug auf Biomasse- als auch Blütenparameter nicht wesentlich schlechter abschnitten als die unter optimaler B-Versorgung gewachsenen Elternlinien CR2267 und CR3153. Dies legt nahe, dass gekoppelte Wassernutzungs- und B-Effizienz Merkmale in der DH-Population genetisch kodiert sind und die zugrunde liegenden Genomabschnitte mittels QTL-Analysen zu identifizieren sein sollten. Interessanterweise wies keine der identifizierten Genomregionen potentielle B-Transporter auf, die für eine effektivere B-Aufnahme oder -Verteilung unter B-Mangelbedingungen verantwortlich sein könnten. Dies deutete darauf hin, dass die kodierten B-Effizienzmechanismen auf einer erhöhten B-Nutzungseffizienz und nicht auf einer erhöhten B-Transporteffizienz gründen. Agrarisch wäre dieses Merkmal von Vorteil, da eine z. B. erhöhte B-Aufnahmekapazität, wie sie in anderen Rapsorten beschrieben wurde

[10], wenig Vorteil bringt, wenn kein B mehr im Boden verfügbar ist; ein geringer Bedarf an B jedoch schon.

Dieses Wissen bietet das Potential für eine Erhaltung bzw. Erhöhung der Erträge in der Rapssamenproduktion in Bayern auch unter sich verändernden Umweltbedingungen. Die im Rahmen des Projekts identifizierten Wassernutzungs- und B-Effizienzgenomabschnitte ermöglichen neue Züchtungsansätze für Rapsorten, die besser mit klimabedingt limitierenden Bedingungen wie Wasserknappheit und Trockenstress im Frühjahr/Sommer zurecht kommen und eine gesunde Wurzel-, Spross- und Blütenentwicklung sicherstellen und damit ertragsstabiler sind.

Die DH-Population wurden hinsichtlich ihrer Fähigkeit Biomasse unter B-Mangelbedingung bzw. ausreichender B-Versorgung in frühen vegetativen Entwicklungsstadien (vor Entfaltung des 8 Laubblattes) aufzubauen in zusätzlichen umfangreichen Wachstumsversuchen charakterisiert. Über eine vergleichende Datenanalyse soll noch untersucht werden, ob DH-Linien mit identifizierten gekoppelten Wassernutzungs- und B-Effizienzmerkmalen während des Blühstadiums identisch sind zu denjenigen DH-Linien, welche bereits im frühen Entwicklungsstadium eine B-Effizienz aufweisen, oder ob unabhängige QTL für diese Parameter verantwortlich sind. Ersteres würde dafür sprechen, dass B-Effizienz während der Rapsblüte schon im vegetativen Stadium determiniert wird. Dies hätte für die Züchtung von B-effizienten Hochleistungssorten den Vorteil, dass weniger Genomregionen eingekreuzt werden müssten.

4.1.4 Stellungnahme zum Projekterfolg

Die Etablierung eines definierten und wiederholbaren bei Blühbeginn eintretendem B-Mangels, wie er bei Frühjahrstrockenheit auf dem Feld eintritt, und das für eine Population von mehreren tausenden Pflanzen in einem Boden-Substrat-basierten Wachstumssystem unter Verwendung einer torfbasierten „Nullerde“ im Gewächshaus war ein großer Arbeitserfolg des Projektes. Wir konnten zeigen, dass das von uns entwickelte System, welches nun der Forschungsgemeinschaft zur Verfügung gestellt wird, ideal geeignet ist, um B-Mangel oder Trockenstress oder deren Kombinationsstress im reproduktiven Wachstumsstadium bei Raps darzustellen und deren Auswirkungen auf elementarer, molekularer, genetischer und physiologischer Ebene detailliert zu quantifizieren. Damit wurden die Versuche zur Identifizierung von Wassernutzungs- und B-Effizienzmechanismen und QTL in der DH Raps Population in einer simulierten Frühjahrstrockenheitssituation zu einem vollen Erfolg und lieferten vielversprechende Ergebnisse.

Wie in Abschnitt 4.1.3 beschrieben liegen unsere Daten für die züchterische Verwertbarkeit bereit. Gleichzeitig resultierten unsere Versuchsansätze in einer äußerst detaillierten entwicklungsabhängigen, physiologischen und phänotypischen Beschreibung unterschiedlicher B-Mangelsymptomentwicklungen bei Rapsinfloreszenzen, wie sie unter B-Mangel und/oder wasserlimitierten Wachstumsbedingungen auftreten können. Dies erlaubt es Landwirten und Landwirtinnen zukünftig Symptome im Feld leichter einzuordnen und Entscheidungen über Düngemaßnahmen gezielter zu treffen.

Auf die ursprünglich geplante vergleichende Analyse von Expressionsmustern von B- und Wasserstatusmarkergenen wurde verzichtet, da sich im Verlauf des Projektes herausgestellt

hatte, dass diese genetischen Marker in den von uns verwendeten Versuchen nur qualitative Marker (starker B-Mangel: „Ja“ vs. „Nein“) darstellten, aber keine quantitative Aussage über Abstufungen der Stressschweregrade zugelassen haben. Des Weiteren hätten die diversen morphologische Ausprägungen der unterschiedlich gestressten Pflanzen keine Aussage darüber erlaubt, ob eine unterschiedliche Expression durch unterschiedlich schweren Stress oder durch nichtvergleichbares pflanzliches Gewebe hervorgerufen wird.

Das ambitionierte Folgeziel, nämlich bereits während der Projektlaufzeit züchterisch nutzbare Wassernutzungs- und B-Effizienzmarker bzw. die den QTL zugrunde liegenden Gene durch Feinkartierungs- und revers-genetische Ansätze zu identifizieren, wurde noch nicht erreicht. Die notwendige Datengrundlage wurde aber während des Projektes generiert und die Durchführung dieser Folgestudien wird derzeit vorbereitet.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass alle experimentellen Arbeitspakete erfolgreich abgeschlossen wurden und das formulierte Hauptprojektziel, nämlich die Identifizierung von Wassernutzungs- und B-Effizienzmechanismen und QTL Loci erreicht wurde. Die Arbeiten stellen aus unserer Sicht einen signifikanten Fortschritt für den „State-of-the-Art“ in diesem Forschungsgebiet dar.

Die Daten dieses Arbeitspakets werden gerade für zwei Publikationen in einschlägigen Fachzeitschriften vorbereitet (siehe Abschnitt 5 Veröffentlichungen: Geplante Publikationen).

4.2 Arbeitspaket AP2

Identifizierung von Wassernutzungs- und B-effizienten Maislinien und Faktoren, die zu dieser gekoppelten Effizienz beitragen. Vergleich zu B-effizienten Raps-Akzessionen

4.2.1 Material und Methoden

Im Arbeitspaket AP2 sollte die B-Mangeltoleranz in Maislinien, deren Trockenstresstoleranz bereits bekannt ist [7], bestimmt werden. Die Maislinien *B106*, *B107*, *F888*, *F1890*, *PHG83*, *Lo1056*, *Lo1270* und *Lo1290* unterscheiden sich hinsichtlich ihres Ertrages unter wasserlimitierenden Bedingungen [7] und sind deswegen die Eltern einer von KWS SAAT generierten *Multi-parent Advanced Generation InterCross* (MAGIC) DH-Population, welche zur QTL-Bestimmung herangezogen wurde. Die Maislinie *B73*, deren Genom als erstes Maisgenom vollständig sequenziert wurde, liegt im Mittelfeld der anderen acht Maislinien hinsichtlich ihrer Trockenstresstoleranz [7] und wurde vom Projektnehmer hinsichtlich ihrer B-Effizienz schon erforscht. In einem Röhrengefäßversuch, unter kontrollierten Klimaschrankbedingungen, wurde die B-Effizienz zunächst von den drei ausgewählten Maislinien *F888* (trockenstressintolerant), *PHG83* (trockenstresstolerant) und *B73* untersucht („Mais-Röhrengefäßversuch“). Röhrengefäßversuche zeichnen sich dadurch aus, dass sie aufgrund einer Substratsäule von ca. 25 cm Tiefe und 9 cm $\varnothing$ den Wurzeln ein räumlich nicht limitiertes Wachstum bis zum 6 Blattstadium ermöglichen. Dieser Versuch wurde auf FN-Substrat mit ausreichender B-Versorgung (+B) (16 mg B/kg FN-Substrat) und unter B-Mangelbedingungen (-B) (< 0,1 mg B/kg

FN-Substrat) und mit einer Wasserversorgungsstufe, die sich als tendenziell trockener zeichnet, durchgeführt (gravimetrischer Wassergehalt von ca. 22 %). Die Vorbereitung des Substrats (Kalken, Nährstoffapplikation) erfolgte analog zum AP1, aber aufgrund der kürzeren Wachstumsdauer von 3 Wochen nur einmalig vor der Aussaat. Da die B-Effizienz der untersuchten Maislinien unbekannt ist und Mais im Vergleich zu hoch-B-Bedarfern wie Raps einen geringen B-Bedarf während der vegetativen Wachstumsphase aufweist, wurde für die -B-Behandlung kein zusätzliches B gedüngt. Die Bewässerung erfolgte mit B-freiem Reinstwasser. 24 Tage nach Aussaat wurden verschiedene Parameter erfasst und quantifiziert. Um die B-Effizienz in Kombination mit der Trockenstresstoleranz in *B106*, *B107*, *F888*, *F1890*, *PHG83*, *Lo1056*, *Lo1270*, *Lo1290* und *B73* zu bestimmen, wurden die Linien ebenfalls auf FN-Substrat mit ausreichender Borversorgung (+B) (16 mg B/kg FN-Substrat) und unter B-Mangelbedingungen (-B) (< 0,1 mg B/kg FN-Substrat) im Gewächshaus angezogen („Mais Gewächshausversuch“). In Kombination mit dem B-Mangel wurden die Maispflanzen mit den Wasserverfügbarkeitsstufen „feucht“ und „trocken“ bis zum 5. Laubblattstadium kultiviert. 21 Tage nach Aussaat erfolgte die Erfassung des Phänotyps jeder Pflanze: sichtbare B-Mangelinduzierte Blattnekrosen (Abbildung 1a) wurden dokumentiert und die Trockenmasse des Gesamtsprosses wurde bestimmt. Zur Dokumentation des volumetrischen Wassergehaltes wurden Bodenfeuchtesensoren eingesetzt. Die Bewässerung erfolgte für die Pflanzen in Töpfen (13 cm ø) auf B-freien Anzuchtschalen und mit Reinstwasser. In diesen beschriebenen Versuchen konnten im vegetativen Wachstumsstadium unter B-limitierenden Bedingungen auf FN-Substrat erfolgreich typische B-Mangelsymptome in Form von Blattnekrosen 3 Wochen nach der Aussaat induziert werden (Abbildung 1a). Die Wurzeln pro Pflanze wurden aus dem Substrat ausgewaschen, gescannt und mit einer Software zur automatischen Bestimmung von Wurzelarchitekturparametern analysiert und ausgewertet. Bei Kultursubstraten, die aus natürlichen Provenienzen stammen, wie das FN-Substrat, können Unterschiede in absoluten Nährstoffkonzentrationen zwischen unterschiedlichen Chargen auftreten. Fatalerweise musste im weiteren Verlauf des Projektes festgestellt werden, dass die seit 10 Jahren konstant sehr niedrige B-Konzentration in neu bestellten FN-Substratchargen nun erhöht vorliegen mussten. Obwohl in Laboranalysen zertifizierter Firmen die B-Konzentration einzelner Chargen noch immer unter der Nachweisgrenze lagen (< 0,1 mg B/kg FN-Substrat) waren nur minimale bis keine visuellen B-Mangelsymptome bei Mais (*B73*) im vegetativen Stadium bis 9 Wochen nach Aussaat zu beobachten. Die B-Verfügbarkeit in erworbenen FN-Substratchargen war ausreichend, um den geringen B-Bedarf von Mais im frühen vegetativen Wachstumsstadium vollständig zu decken. Im Folgenden wurden im regelmäßigen Austausch mit der substratherstellenden Firma unterschiedliche FN-Substratchargen getestet, sowohl durch Laboranalysen in der Fremdanalysevergabe, als auch mittels eigener detaillierter Phänotypisierung von Raps- und Maispflanzen. Letztlich konnte eine FN-Substratcharge identifiziert werden, die bei der Maislinie *B73* unter B-limitierenden Bedingungen 6 Wochen nach Aussaat im vegetativen Stadium erfolgreich Blattnekrosen als B-Mangelsymptome induziert.

4.2.2 Ergebnisse

In AP2 wurde die B-Effizienz in der vegetativen Wachstumsphase für drei ausgewählte Maislinien untersucht („Mais Röhrengefäßversuch“), wobei die Linie *PHG83* trockenstresstolerant,

die Linie *F888* trockenstressintolerant und die Linie *B73* im Mittelfeld der Trockenstresstoleranz liegt. In diesem Versuch fiel das Sprosstrockengewicht der Linie *B73* signifikant höher aus als bei der Linie *F888*. Unter B-Mangelbedingungen reduzierte sich das Sprosstrockengewicht von *F888* signifikant zur ausreichenden B-Behandlung. Dagegen reduzierte sich das Sprosstrockengewicht der Linien *B73* und *PHG83* nicht durch eine B-Mangelbedingung im Vergleich zur ausreichenden Behandlung (Abbildung 6A). Beim Wurzeltrockengewicht verhielt es sich ähnlich. Wurde das Wurzeltrockengewicht innerhalb einer Linie zwischen der B ausreichenden (+B) und der B-Mangelbedingungen (-B) verglichen, so hatte die B-Limitierung nur einen signifikanten Einfluss auf das Gewicht bei der trockenstressintoleranten Linie *F888*. Linie *PHG83* und *B73* verzeichneten hingegen keine Reduktion ihres Wurzeltrockengewichtes durch eine B-Mangelbedingung im Vergleich zur ausreichenden B-Versorgung (Abbildung 6B). Hinsichtlich der Gesamtwurzellänge gab es genotypische Unterschiede zwischen den Maislinien und den B-Konzentrationen.

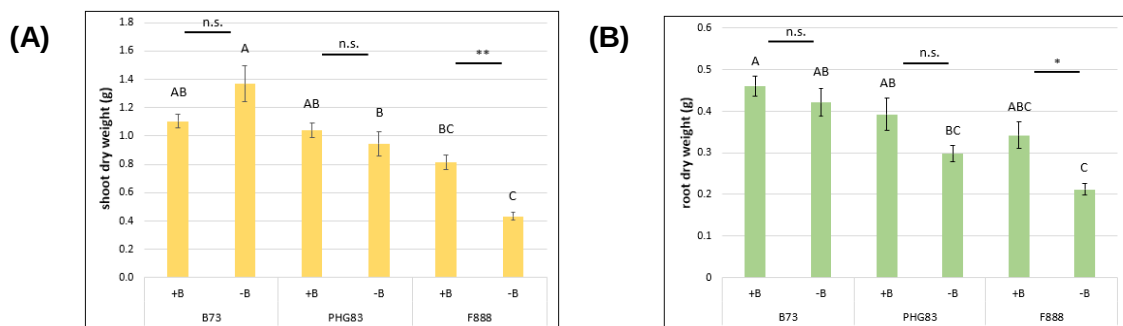


Abbildung 6: Spross- (A) und Wurzel- (B) trockenengewicht der Maislinien *B73* (eher trockenstresstolerant), *PHG83* (trockenstresstolerant) und *F888* (trockenstressintolerant) 24 Tage nach Aussaat kultiviert auf B ausreichenden (+B) und B-Mangelbedingungen (-B). Unterschiedliche Großbuchstaben zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen den Linien und B-Konzentrationen ($p < 0.05$, 2-Weg-ANOVA, post hoc Tukey Test); (t-Test zwischen B-Konzentrationen: n.s.: nicht signifikant, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$; $n = 3-4$); Fehlerbalken = Standardfehler des Mittelwertes.

Auch im „Mais Gewächshausversuch“, in dem die neun Maislinien in der vegetativen Wachstumsphase auf unterschiedlichen B-Konzentrationen und Wasserverfügbarkeitsstufen untersucht wurden, zeigten sich die gleichen Unterschiede beim Sprosstrockengewicht wie beim „Mais Röhrengefäßversuch“ für die Linien *B73*, *PHG83* und *F888* bei jeder Faktorkombination (+B WW, +B WL, -B WW, -B WL). So hatte *B73* ein höheres Sprosstrockengewicht als *PHG83*, welches wiederum höher als das von *F888* war. Im Gewächshausversuch wiesen die Linien *B73* und *B106* das höchste Sprosstrockengewicht über alle Behandlungsvarianten auf. Linie *B73* und *B106* waren jedoch auch die einzigen Linien, die unter feuchten Bedingungen eine signifikante Reduktion des Sprosstrockengewichtes unter ausreichender B-Versorgung im Vergleich zu B-Mangelbedingungen zeigten. Unter der trockenen Wasserverfügbarkeitsstufe zeigte sich nur eine tendenzielle, aber keine signifikante Reduktion des Sprosstrockengewichtes (Abbildung 7). Im „Mais Röhrengefäßversuch“, der unter tendenziell trockeneren Bedingungen durchgeführt wurde, konnte keine Reduktion des Sprosstrockengewichtes für

die Linie *B73* festgestellt werden, das Gewicht war unter B-limitierenden Bedingungen sogar tendenziell erhöht (Abbildung 6).

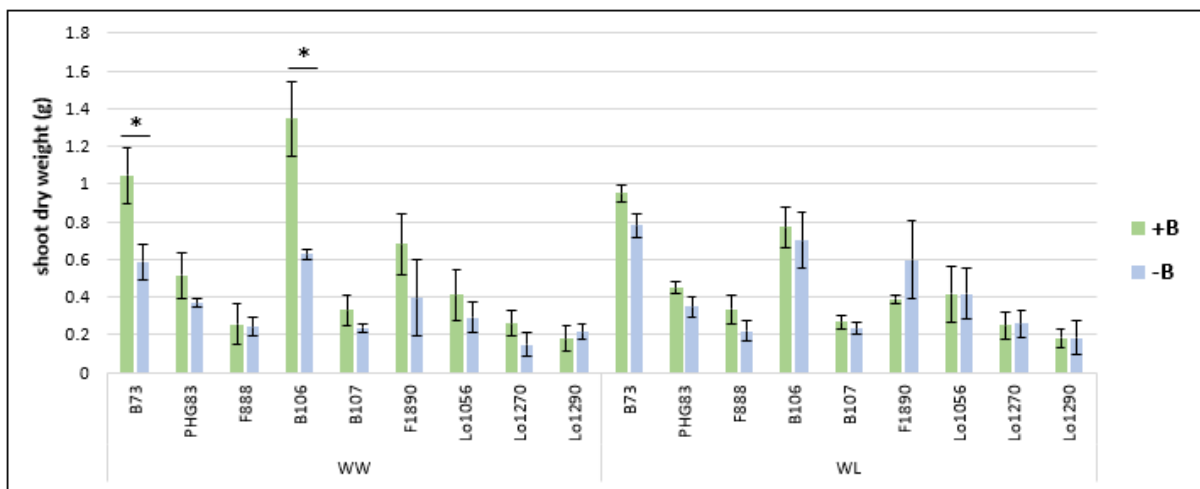


Abbildung 7: Sprosstrockengewicht von neun Maislinien (*B73*, *PHG83*, *F888*, *B106*, *B107*, *F1890*, *Lo1056*, *Lo1270*, und *Lo1290*) 21 Tage nach Aussaat auf feuchten (well-watered, WW) und trockenen (water-limited, WL) Bedingungen, jeweils im Vergleich von B ausreichenden (+B) und B-Mangelbedingungen (-B); (t-Test zwischen B-Konzentrationen: *: $p < 0.05$; $n = 3-4$); Fehlerbalken = Standardfehler des Mittelwertes.

4.2.3 Diskussion und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Der „Mais Röhrengefäßversuch“ zeigte, dass *B73* und *PHG83* Trockenstress- und B-Mangel-toleranter als die Linie *F888* sind. Diese während der Jugendentwicklung bis 3 Wochen nach Aussaat (ca. 5. Laubblattstadium) erzielten Ergebnisse stimmen mit der Trockenstressklassifizierung von Milet *et al.* [7] überein, wo der Kornertrag als Basis für die Unterscheidung in trockenstresstolerante und -intolerante Maislinien herangezogen wurde. Die übereinstimmenden Ergebnisse deuten darauf hin, dass die genetisch kodierten Trockenstresstoleranz-mechanismen in den untersuchten Maislinien bereits in der Frühentwicklung und nicht erst in späteren Entwicklungsphasen zu Tage treten. Damit ließen Untersuchungen in dieser frühen vegetativen Wachstumsphase Rückschlüsse potentiell auch auf die Physiologie und das Wachstum in späteren Entwicklungsabschnitten zu. Experimentell wäre dies von großem Vorteil. Eine Ausnahme bildete die Linie *B106*, welche im „Mais Gewächshausversuch“ eine große Trockenmasse ausbildet, während sie bei Milet *et al.* [7] nicht als trockenstresstolerant auffiel.

Arbeitspaket AP2 war aufgrund der Anzahl auswertbarer biologischen Replikate und der damit statistischen Aussagekraft der Ergebnisse limitiert. Die Linien *B73* und *B106* zeigten innerhalb der Behandlungsvarianten das homogenste Wachstum über die biologischen Replikate hinweg. Weitere Ergebnisse in Hinblick auf die Identifizierung von wassernutzungs- und B-effizienten Maislinien wurden in einer Projektkooperation erzielt und sind näher im Abschnitt: Projektkooperation mit der universitären Forschungsgruppe von Prof. Schön (TUM) - Teilprojekt 10 „Trockentoleranz durch bessere Wassernutzung“ beschrieben.

4.2.4 Stellungnahme zum Projekterfolg

Durch unvorhersehbare Veränderung der B-Menge im Anzuchtsubstrat im Verlaufe der Experimente und durch die Notwendigkeit neue Versuchsbedingungen zu etablieren, entstand ein signifikanter Zeitverlust für den Verlauf des Arbeitspakets AP2, welches damit nur z. T. abgeschlossen wurde. Die Teilarbeitspakete A5 und A6 konnten nicht wie geplant vollständig beendet werden. Folglich wurde Projektziel Z3, die Bestimmung von physiologischen, elementaren sowie Biomasse- und Ertragsparametern in Mais in Abhängigkeit von der Wasser- und B-Verfügbarkeit zur Identifizierung von B-effizienten Maislinien nur teilweise erreicht. Die anschließend geplante Identifizierung von in Raps und Mais übereinstimmenden molekularen und physiologischen B- und Wassereffizienzmerkmalen und -mechanismen (Projektziel Z4) steht noch aus. Dennoch sind die in Kapitel 4.2.2 gezeigten Ergebnisse sowie die Ergebnisse aus dem Kooperationsversuch mit Teilprojekt 10 (Abschnitt 6.2) vielversprechend und zeigen, dass die untersuchten Maislinien nicht nur in ihrer Trockenstresstoleranz variieren, sondern auch verschiedene B-Effizienzen hinsichtlich ihrer Biomasseproduktion im vegetativen Wachstumsstadium und ihrer B-Aufnahmefähigkeiten ab der Blüte aufzeigen. Aufbauend auf diesen Daten, sollen noch weitere Wachstumsscreens mit der Erfassung von molekularen, physiologischen, elementaren sowie Biomasse-Parametern zur Identifizierung von Wassernutzungs- und B-effizienten Maislinien durchgeführt werden, um Faktoren, die zu dieser gekoppelten Effizienz beitragen, identifizieren zu können.

4.3 Arbeitspaket AP3

Identifizierung von praxistauglichen B-Verbindungen, welche ein gesundes Pflanzenwachstum auch bei klimabedingt limitierenden Bedingungen wie Wasserknappheit und Trockenstress fördern

4.3.1 Material und Methoden

Im Arbeitspaket AP3 sollen B-haltige Verbindungen identifiziert werden, die Rapspflanzen im Feld bei einer Frühjahrstrockenheit potentiell effektiv B zur Verfügung stellen.

Im Rahmen von Wachstumsscreens wurde die B-ineffiziente Sommerrapsakzession *CR3153* auf FN-Substrat, welches analog zum AP1 vorbereitet wurde, ausgesät. Die Pflanzen wurden unter B-limitierenden Bedingungen (0,25 mg B/kg FN-Substrat) und ausreichender B-Versorgung (2,5 mg B/kg FN-Substrat) mit einer einmaligen B-Gabe zur Aussaat angezogen. Folgende B-Verbindungen wurden in der einmaligen B-Gabe verwendet und untersucht: Borsäure, Borax (Natriumtetraborat-Decahydrat), Zinkborat, pulverisiertes Colemanit (wasserhaltiges Calcium-Borat mit drei zusätzlichen Hydroxygruppen) und pulverisiertes Ulexit (wasserhaltiges Calcium-Natrium-Borat). Nährstoffapplikationen (ohne B) erfolgten wiederholt während des Versuchsverlaufes. Die Bewässerung der Pflanzen (in Töpfen, 13 cm Ø und auf B-freien Anzuchtschalen) erfolgte mit Reinstwasser.

In einem ersten Wachstumsscreen sollte der konzentrationsabhängige Effekt der einzelnen B-Verbindungen auf das Wachstum bei Raps bei der Wasserverfügbarkeit „feucht“ untersucht werden. Für die Testung jeder B-Verbindung und applizierter B-Menge (0,25 versus

2,5 mg B/kg FN-Substrat) wurden 12 biologische Replikate in der Wasserverfügbarkeitsstufe „feucht“ analysiert. In einem weiteren Wachstumsscreen mit den gleichen B-Verbindungen wurde die Hälfte der 12 biologischen Replikate pro B-Verbindung und applizierter B-Menge zusätzlich der Wasserverfügbarkeitsstufe „trocken“ ab der sichtbaren Blütenknospenbildung ausgesetzt. Der volumetrische Wassergehalt des FN-Substrates und damit die Wasserverfügbarkeitsstufen wurden durch Wiegen der Töpfe eingestellt. Für die Beurteilung der „Wirksamkeit“ der B-Verbindungen auf die Entwicklung der Pflanzen wurde in beiden Versuchen die Infloreszenz 4 bzw. 5 Tage und 14 bzw. 15 Tage nach Blühbeginn phänotypisiert (Parameter analog zu AP1). Ebenso wurden Blattproben 14 Tage nach Blühbeginn zur Elementanalyse mittels ICP-MS genommen, um den B-Ernährungsstatus der Pflanzen zu bestimmen. Zehn Wochen nach Aussaat bzw. 3,5 Wochen nach Blühbeginn wurde die Hauptsprosslänge und das Sprosstrockengewicht quantifiziert. Die Analyse der Wurzelarchitektur (u.a. Feinwurzellänge) wurde mit einer Software zur automatischen Bestimmung von Wurzelarchitekturparametern durchgeführt und das Trockengewichtes bestimmt. Da sich in den in Abschnitt 4.3.2 beschriebenen Versuchen zeigte, dass Borax Gaben das kräftigste und fertilsten Pflanzenverhalten bewirkte, wurde in einem dritten Wachstumsscreen analysiert, warum Borax im Vergleich zu Borsäure auf B-Mangelbedingungen in Kombination mit der feuchten Wasserverfügbarkeitsstufe zu kräftigeren Pflanzen während der Infloreszenz führte, obwohl Borsäure von allen untersuchten B-Verbindungen unmittelbar pflanzenverfügbar ist. In diesem Versuch wurde *CR3153* mit ausreichender B-Versorgung (+B) (2,5 mg B/kg FN-Substrat) und unter B-Mangelbedingungen (0,25, 0,4 und 0,6 mg B/kg FN-Substrat) mit einer einmaligen B-Gabe von Borsäure, Borax oder pulverisiertem Colemanit (als langsam verfügbare B-Verbindung) zur Aussaat angezogen. Bei 0,4 und 0,6 mg B/kg FN-Substrat ist *CR3153* in der Lage Blüten auszubilden und wenige Schoten zu produzieren, jedoch signifikant weniger als unter einer ausreichenden B-Versorgung. Zielparameter bei diesem Versuch war die B-Aufnahme und Translokation in verschiedene Pflanzenorgane (Blätter, Blüten, Knospen und Schoten), um die Unterschiede im Blühphänotyp zwischen den B-Verbindungen genauer zu untersuchen und potentiell mit absoluten B-Konzentrationen zu korrelieren. Zudem wurden mehrere Sets von Pflanzen unter den verschiedenen Behandlungen angezogen, um zu vier verschiedenen Entwicklungszeitpunkten (4-Blattstadium, sichtbare Blütenknospenbildung am Hauptspross, Blühbeginn des Hauptsprosses und weiterer Blühverlauf) die B-Konzentration der genannten Pflanzenorgane mittels ICP-MS zu messen. Zusätzlich wurde ein Teil der Pflanzen ab der Blütenknospenbildung der Wasserverfügbarkeitsstufe „trocken“ ausgesetzt. Zusätzlich wurde das Wurzelsystem zum 4-Blattstadium und während der Blüte untersucht. Die Bestimmung des Wurzeltrockengewichtes sowie die Analyse der Wurzelarchitektur (u.a. Gesamtwurzellänge) erfolgt derzeit mit einer Software zur automatischen Bestimmung von Wurzelarchitekturparametern.

Die Versuche zeigten, dass die B-Verfügbarkeit einerseits durch Eigenschaften des FN-Substrates, aber auch durch die Löslichkeit der B-Verbindungen selbst bestimmt werden. Beide Parameter wirken sich wiederum auf die Wurzelsystementwicklung und damit die Effektivität der Pflanzen aus, B quantitativ aus dem Boden aufzunehmen. Dies sollen weitere Versuche zum Verständnis der Löslichkeit der B-Verbindungen klären mit einem besonderen Fokus auf die Wurzelentwicklung. Zu diesem Zweck wurde das Pflanzenwachstum im frühen vegetativen Entwicklungsstadium auf einem Gellan-basierten festen MS Medium, welches mit unterschiedlichen B-Verbindungen in unterschiedlichen Konzentrationen und in unterschiedlicher

Positionierung versetzt wurde, bis zu 9 Tage nach Aussaat untersucht. Dieser Versuch wurde mit *Arabidopsis thaliana* Ökotypen durchgeführt, da die Analyse dieser, im Vergleich zu Raps, kleinen Modellpflanze, welche aber sehr nah mit Raps verwandt ist, in einem in vitro Versuchsaufbau viel effektiver durchgeführt werden kann. Die Arbeitsgruppe verfügt über viel Expertise und Wissen über Ökotyp-spezifische B-abhängige Wurzeleigenschaften und B-Effizienzen in *A. thaliana*. Dieses Medium erlaubt in Hinblick auf die B-Verfügbarkeitsanalyse die Eigenschaften des Mediums von der Löslichkeit der B-Verbindung zu trennen, da Gellan-basiertes Medium keine nennenswerte Affinität zu Borsäure und Boraten hat und diese damit hoch mobil sind. Unterschiedliche Wurzelsystemarchitekturparameter wurden quantifiziert und Wurzelproben für eine Bestimmung der relativen Genexpression mittels quantitativer Polymerase-Kettenreaktion (qPCR) von bestimmten B-Mangel-Markergenen in -80 Grad Celsius eingefroren. Es ist geplant, diese qPCR-Analysen nach Abschluss des Projektes noch durchzuführen.

4.3.2 Ergebnisse

Im Arbeitspaket AP3 sollten aus fünf verschiedenen B-Verbindungen (Borsäure, Borax, Zinkborat, Colemanit und Ulexit) diejenigen identifiziert werden, die Rapspflanzen im Feld bei einer Frühjahrstrockenheit effektiv B zur Verfügung stellen. Im Rahmen des zweiten Wachstumsscreens konnte 5 Tage nach Blühbeginn gezeigt werden, dass sich die B-Verbindung Borax signifikant positiv auf die Parameter „Anzahl offener turgider (gesunder) Blüten“ und „Anzahl grüner Blütenknospen“ unter B-limitierenden und feuchten Wasserbedingungen im Vergleich zu den anderen B-Verbindungen auswirkte (Abbildung 8).

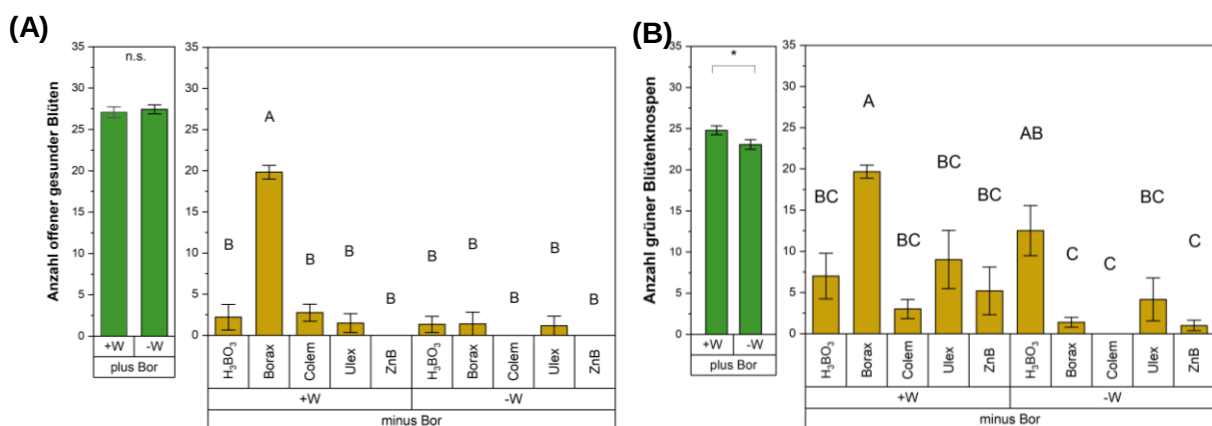


Abbildung 8: (A) Anzahl der offenen turgiden (gesunden) Blüten und (B) der grünen Blütenknospen des Hauptsprosses von Rapspflanzen 5 Tage nach Blühbeginn kultiviert auf B ausreichenden (plus Bor) und B-Mangelbedingungen (minus Bor) appliziert mittels fünf verschiedener B-Verbindungen (Borsäure (H_3BO_3), Borax, Colemanit, Ulexit, Zinkborat (ZnB)), im Vergleich von feuchten (+W) und trockenen (-W) Bedingungen. Pflanzen auf +B: zeigen keinen signifikanten Unterschied zwischen den B-Verbindungen je Parameter und wurden summiert innerhalb einer Wasserverfügbarkeitsstufe (t-Test zwischen Wasserverfügbarkeitsstufen: n.s.: nicht signifikant, *: $p < 0.05$; $n = 29-30$). Pflanzen auf -B: Unterschiedliche Großbuchstaben zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen den

B-Verbindungen und Wasserverfügbarkeitsstufen ($p < 0.05$, 2-Weg-A-NOVA, post hoc Tukey test; $n = 4-6$); Fehlerbalken = Standardfehler des Mittelwertes.

Auch auf die Biomasseakkumulation wirkte sich die Applikation der leicht wasserlöslichen B-Verbindung Borax positiv aus und führte zum höchsten Sprossstrockengewicht und dem längsten Feinwurzelsystem unter B-Limitierung und der Wasserverfügbarkeitsstufe „feucht“ (Abbildung 9). Dies deutet darauf hin, dass Rapswurzeln unter Bormangel und in der Anwesenheit bestimmter Borspezies mit einem gesteigertem Wurzelwachstum reagieren, um durch eine verstärkte Durchwurzelung des Bodens mehr Bor im Boden erschließen zu können. Langsam verfügbare B-Verbindungen wie z.B. Ulexit, aber auch eine reduzierte Wasserversorgung führen jedoch zu einem verlangsamten Wurzelwachstum.

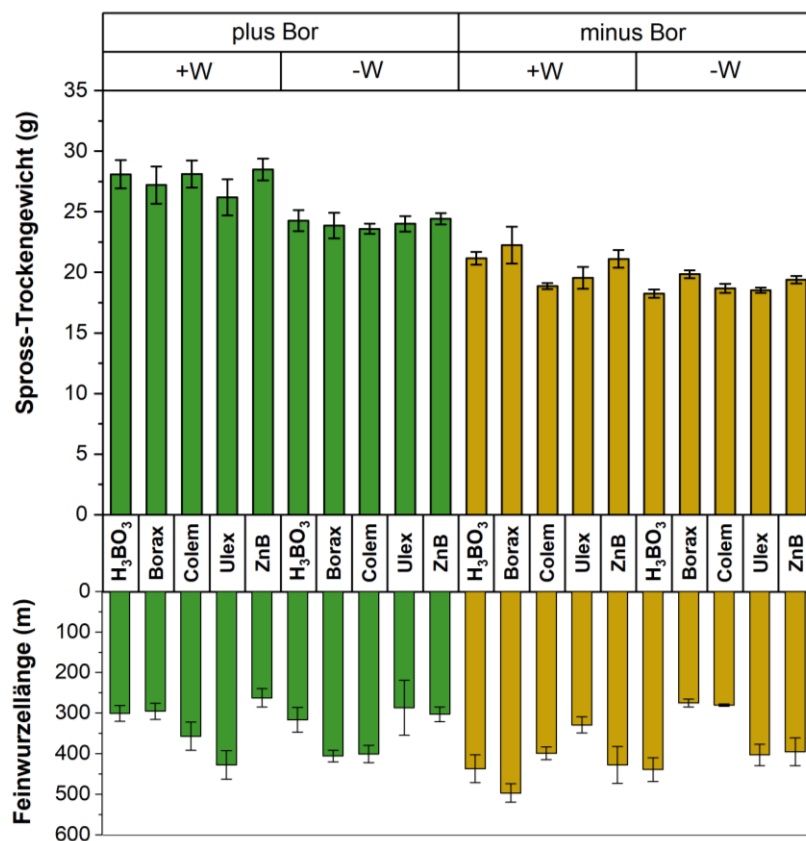


Abbildung 9: Sprossstrockengewicht und Feinwurzellänge ($< 0,3$ mm Durchmesser) von Rapspflanzen 77 Tage nach Aussaat (CR3153) kultiviert auf B ausreichenden (plus Bor) und B-Mangelbedingungen (minus Bor) appliziert mittels fünf verschiedener B-Verbindungen (Borsäure (H_3BO_3), Borax, Colemanit, Ulexit, Zinkborat (ZnB)), im Vergleich von feuchten (+W) und trockenen (-W) Bedingungen. (Spross: $n = 4-6$, Wurzeln: $n = 3$). Fehlerbalken = Standardfehler des Mittelwertes.

Anhand der gemessenen Parameter zeigte sich, dass unter B-limitierenden Bedingungen und der feuchten Wasserverfügbarkeitsstufe Borax als einzige B-Verbindung in der Lage war

die Produktivität von Rapspflanzen zu erhöhen. Unter B-Mangelbedingungen und der trockenen Wasserverfügbarkeitsstufe, wie sie in diesem Versuch eingestellt wurde, konnte keine B-Verbindung zu einer gesteigerten Produktivität bzw. Fertilität der Rapspflanzen führen.

Die mittels ICP-MS gemessene B-Konzentration der Blattproben zeigte, dass unter B-limitierenden Bedingungen die löslichen B-Verbindungen Borsäure und Borax zu den höchsten B-Konzentrationen führten, unabhängig von der Wasserverfügbarkeitsstufe (Abbildung 10).

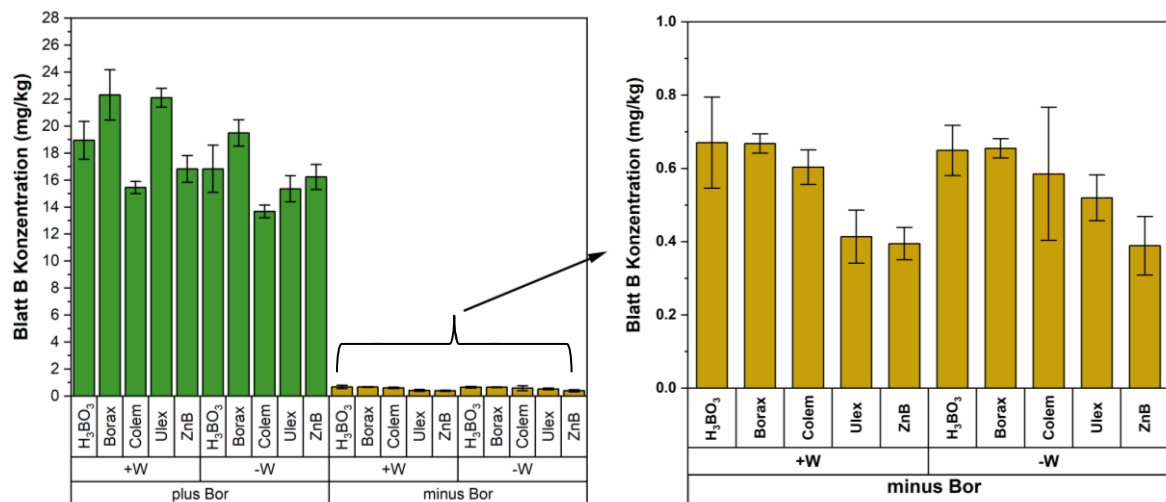


Abbildung 10: Bor (B)-Konzentration von Blattproben des Hauptsprosses während der Blüte von Rapspflanzen (CR3153) kultiviert auf B ausreichenden (plus Bor) und B-Mangelbedingungen (minus Bor) appliziert mittels fünf verschiedener B-Verbindungen (Borsäure (H₃BO₃), Borax, Colemanit, Ulexit, Zinkborat (ZnB)), im Vergleich von feuchten (+W) und trockenen (-W) Bedingungen. (n = 3); Fehlerbalken = Standardfehler des Mittelwertes.

Im dritten Wachstumsscreen sollte ergründet werden, warum Borax besser auf B-Mangelbedingungen in Kombination mit der feuchten Wasserverfügbarkeitsstufe zu gesünderen Pflanzen während der reproduktiven Wachstumsphase führt als Borsäure, das von allen untersuchten B-Verbindungen unmittelbar pflanzenverfügbar ist. Zielparameter bei diesem Versuch war die B-Konzentration in verschiedenen Pflanzenorganen, um die Unterschiede im Blühphänotyp zwischen den B-Verbindungen erklären zu können. So zeigte sich vor Blühbeginn, dass die B-Konzentration in den Blütenknospen auf der B-Mangelkonzentration 0,25 mg B/kg FN-Substrat unter Borsäure höher als von Borax ist (Abbildung 11). Zudem wurde unter diesen B-Mangelbedingungen im vegetativen Blattstadium, also vor der Blüte, mehr B pro gesamter Pflanzenbiomasse aufgenommen als bei Borax, während in der Blüte die Pflanzen auf Borax mehr B in die gesamte Pflanze aufgenommen haben (mg B/trockene Pflanze). Dies würde die Hypothese bestätigen, dass bei Borsäuregabe das meiste Bor bereits vor der Blütenbildung durch den vegetativen Pflanzenkörper aus dem Boden aufgenommen wurde und während der Blüte nicht mehr ausreichend im Boden verfügbar ist. Diese Hypothese wird durch zurzeit stattfindende Messungen der B-Konzentration in Blättern und verschiedenen Blütenteilen weiter untersucht.

Die Ergebnisse des MS-Medium Versuches zeigen, dass die Gesamtwurzellänge von *A. thaliana* Pflanzen 9 Tagen nach Transfer auf die verschiedenen Wachstumsbedingungen

(ausreichende vs. defiziente B-Versorgung) bei Borax auf B-Mangelbedingungen länger ist als bei Borsäure. Mittels der Bestimmung der relativen Genexpression von bestimmten B-Mangel-Markergenen wird der Unterschied im Wachstum unter den verschiedenen B-Verbindungen nach Ende des Projektablaufs weiter ergründet werden.

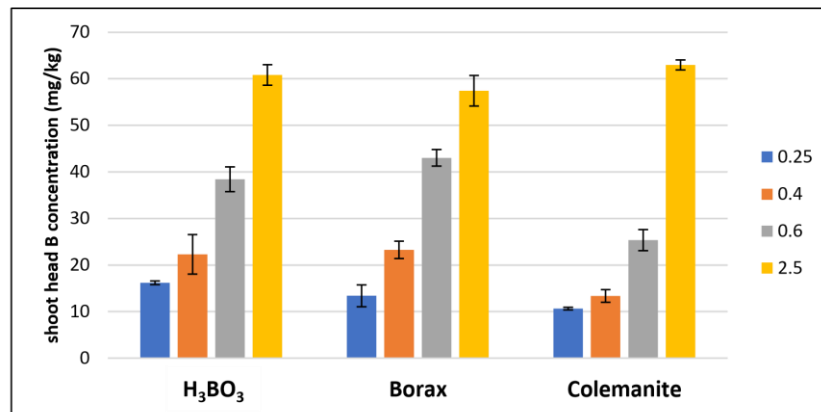


Abbildung 11: Bor (B)-Konzentration in grünen Blütenknospen und Knospenstielen (shoot head) des Hauptsprosses von Rapspflanzen vor der Blüte kultiviert auf B ausreichenden (2,5 mg B/kg FN-Substrat) und drei verschiedenen B-Mangelkonzentrationen (0,25, 0,4 und 0,6 mg B/kg FN-Substrat) appliziert mittels drei verschiedener B-Verbindungen (Borsäure (H₃BO₃), Borax, Colemanit); Fehlerbalken = Standardfehler des Mittelwertes.

4.3.3 Diskussion und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Projektziel Z5 ist die Identifizierung und Charakterisierung von praxistauglichen B-Verbindungen, welche als Düngemittel entwicklungsspezifische B-Bedarfe unabhängig von einer im Zuge des Klimawandels prognostizierten zunehmenden eingeschränkten Wasserverfügbarkeit (Frühjahrsstrockenheit) effektiv decken und somit eine gesunde Wurzel-, Spross- und Blütenentwicklung in Raps, selbst bei klimabedingt limitierenden Bedingungen wie Wasserknappheit oder Trockenstress, fördern.

Die durchgeführten Versuche zielten darauf ab, die unterschiedlichen B-Verbindungen anhand ihrer Pflanzenverfügbarkeit zur Blüte einer bewertenden Einstufung zu unterziehen. Verglichen zur ausreichenden B-Versorgung (2,5 mg B/kg FN-Substrat) wurde unter B-limitierenden Bedingungen (0,25 mg B/kg FN-Substrat) bei allen getesteten B-Verbindungen B-Mangelsymptome in der Blüte der Rapsakzession CR3153 beobachtet, wobei jedoch die leicht lösliche B-Verbindung Borax die fertilsten Rapspflanzen mit den wenigsten Mangelsymptomen hervorbrachte, während Pflanzen mit langsam löslichen B-Verbindungen Colemanit, Ulexit und Zinkborat starke B-Mangelsymptome aufwiesen (z. B. deformierte Kronblattspreiten). Die positiven Auswirkungen von Borax gegenüber den anderen B-Verbindungen konnten jedoch nur unter B-Mangelbedingungen und der feuchten Wasserversorgungsstufe erzielt werden. Unter B-Mangelbedingungen und der trockenen Wasserversorgungsstufe resultierten alle B-Verbindungen in starken B-Mangelsymptomen. Warum das leicht

lösliche Borax, dessen B-Form Borat im Substrat erst noch in die pflanzenverfügbarere Borsäure umgewandelt werden muss, zu fertileren Rapspflanzen unter B-Mangelbedingungen führt als eine direkte Gabe von Borsäure bleibt zu klären: Eine Hypothese ist, dass Pflanzen auf Borsäure unter diesen niedrigen Substrat-B-Konzentrationen das verfügbare B schon im vegetativen Entwicklungsstadium und zu Beginn der Blütenknospenentwicklung aufgenommen haben, sodass während der Blüte nicht mehr genügend B im FN-Substrat vorhanden ist. Hingegen Borax, welches im vegetativen Stadium quantitativ weniger aufgenommen wurde, bei Blühbeginn noch in höherer Konzentration im Boden den Pflanzen zur Verfügung steht. Colemanit ist eine langsam lösliche B-Verbindung, sodass zu Blühbeginn noch genügend B der Pflanze im Boden zur Verfügung stehen sollte, dieses aber nicht in ausreichenden Mengen pflanzenverfügbar vorliegt, um die Blütenknospen und Knospenstiele mit ausreichend B zu versorgen (Abbildung 11).

Die Versuche zeigten, dass die B-Verfügbarkeit einerseits durch Eigenschaften des FN-Substrates, aber auch durch die Löslichkeit der B-Verbindungen selbst bestimmt werden. Beide Parameter wirken sich wiederum auf die Wurzelsystementwicklung und damit die Effektivität der Pflanzen aus, B quantitativ aus dem Boden aufzunehmen. Dies sollen weitere Versuche zum Verständnis der Löslichkeit der B-Verbindungen klären mit einem besonderen Fokus auf die Wurzelentwicklung. Zu diesem Zweck wird *CR3153* im frühen vegetativen Entwicklungsstadium auf einem Gellan-basierten festen Hoagland Medium, welches mit unterschiedlichen B-Verbindungen in unterschiedlichen Konzentrationen und in unterschiedlicher Positionierung versetzt wurde, bis zu 5 Tage nach Aussaat kultiviert. Unterschiedliche Wurzelsystemarchitekturparameter sollen in einer Zeitreihe quantifiziert werden. Dieses Medium erlaubt in Hinblick auf die B-Verfügbarkeitsanalyse die Eigenschaften des Mediums von der Löslichkeit der B-Verbindung zu trennen, da Gellan-basiertes Medium keine nennenswerte Affinität zu Borsäure und Boraten hat und diese damit hoch mobil sind.

Die Ergebnisse dieses Arbeitspaketes zeigen, dass die löslichen B-Verbindungen, insbesondere Borax, effektivere Düngewirkung hinsichtlich der Fertilität und Vitalität der Rapspflanzen zeigen als die langsam löslichen B-Verbindungen.

4.3.4 Stellungnahme zum Projekterfolg

Alle Experimente des Arbeitspaketes AP3 wurden während der Projektlaufzeit vollumfänglich abgeschlossen. Leider wurde im Hinblick auf das Projektziel Z5, nur die anvisierte Charakterisierung, aber nicht die Identifizierung von praxistauglichen B-Verbindungen erreicht, welche als Düngemittel entwicklungsspezifische B-Bedarfe unabhängig von einer im Zuge des Klimawandels prognostizierten zunehmenden eingeschränkten Wasserverfügbarkeit (Frühjahrsstrockenheit) effektiv decken und somit eine gesunde Wurzel-, Spross- und Blütenentwicklung in Raps, selbst bei klimabedingt limitierenden Bedingungen wie Wasserknappheit oder Trockenstress, fördern.

Während die Auswirkungen aller B-Verbindungen auf pflanzliche relevante Entwicklungsparameter im Detail in den verschiedenen Versuchsbedingungen im Gewächshaus charakterisiert wurden, konnte in keinem der hier verfolgten Versuchsansätze eine B-Verbindung die Fertilität signifikant gegenüber den anderen B Verbindungen unter limitierter Wasserverfüg-

barkeit und B-Mangel steigern. Während unsere Ausgangshypothese, dass eine B-Verbindung alleine vorteilhafte Eigenschaften besitzt, nicht verifiziert werden konnte, werden sich Folgeforschungen auf eine Kombination mehrere B-Verbindungen in unterschiedlichen Formulierungen fokussieren, um dem agrarischen Ziel näher zu kommen.

Die Daten dieses Arbeitspakets werden gerade für eine Publikation in einer einschlägigen Fachzeitschrift vorbereitet (siehe Abschnitt 5 Veröffentlichungen: Geplante Publikationen).

4.4 Aktualisierter Zeitplan

Im Folgenden ist der detaillierte Projektzeitplan inklusive der kostenneutralen Projektverlängerungslaufzeit (KNLV) mit Teilarbeitspaketen (A) innerhalb der Arbeitspakete (AP) sowie die angestrebten Projektziele (Z) und das Personal, welches die einzelnen Aufgaben bewerkstelligt hat, dargestellt. Im Zeitplan sind die Aufgaben innerhalb der Arbeitspakete und das durchführende Personal, in hellblauer und magentafarbener Farbe markiert. Die projektbedingten Änderungen, sind in blauer Schraffur sowie dunkelroter und pinker Vollfarbe gekennzeichnet.

AP1	Experimente & Analysen (Ph.D. / Nichtwissenschaftl. Mitarbeiter*in)	Jahr 1 (01.06.21 - 31.05.22)	Jahr 2 (01.06.22 - 31.05.23)	Jahr 3 (01.06.23 - 31.05.24)	KNLV (01.06.24 - 31.10.24)
A1	Wachstums-Screen zur Identifizierung von Wassernutzungs- und B-Effizienz QTLs in der DH Raps Population + Analyse				
A2	Datenerhebung in Raps (A1) zum/zur Spross Frisch- & Trockengewicht, Anzahl geöffneter Blüten, Schotenansatz, Spross Makro- und Mikronährstoffkonzentrationen, Expressionsmuster von B und Wasser-Status Marker-Genen				
A3	QTL Analyse zur Identifizierung von Raps Wassernutzungs- und B-Effizienz QTL Loci-, Marker-, und Kandidaten-Genen & Vergleich von B-Effizienz und gekoppelten Wassernutzungs- und B-Effizienz QTLs + Markersuche für gekoppelte Wassernutzungs- und B-Effizienz QTLs in Raps				
Z1	Bestimmung von physiologischen, elementaren sowie Biomasse- und Ertrags-Parametern in Raps in Abhängigkeit von der Wasser- und der Borverfügbarkeit				X
Z2	Identifizierung von gekoppelten B- und Wassereffizienz-Mechanismen, -Marker-, -Loci und -Gene in Raps für die in A2 bestimmten Merkmale mittels QTL Bestimmung und anschließender Analysen				X
AP2		Jahr 1	Jahr 2	Jahr 3	KNLV
A4	Wachstums-Screen zur Identifizierung von Wassernutzungs- und B-Effizienz Parameter in 8 Maiszüchtlinien + Analyse				
A5	Datenerhebung in Mais (A4) zum/zur Spross Frisch- & Trockengewicht, Spross Makro- und Mikronährstoffkonzentrationen, Blattfarbe- und spez. Wurzelsystemarchitekturparameter, Expressionsmuster von B- und Wasser Status Marker-Genen				
A6	Vergleichende Analyse von B-Effizienz und gekoppelten Wassernutzungs- und B-Effizienz Merkmalen und Mechanismen in Raps und Mais				
Z3	Bestimmung von physiologischen, elementaren sowie Biomasse- und Ertrags-Parametern in Mais in Abhängigkeit von der Wasser- und der Borverfügbarkeit				X
Z4	Identifizierung von in Raps und Mais übereinstimmenden molekularen und physiologischen B- und Wassereffizienz Merkmalen und Mechanismen				X
AP3		Jahr 1	Jahr 2	Jahr 3	KNLV
A7	Wachstums-Screen von Raps auf unterschiedlichen B-Verbindungen				
A8	Datenerhebung an den Raps Pflanzen (A7) zum/zur Spross Frisch- & Trockengewicht, Anzahl geöffneter Blüten, Schotenansatz, Spross Makro- und Mikronährstoffkonzentrationen, Expressionsmuster von B und Wasser-Status Marker-Genen, Wurzelsystemarchitekturparameter				
Z5	Identifizierung von praxistauglichen B-Verbindungen, welche als Düngemittel entwicklungsspezifische B-Effizienzmerkmale in Abhängigkeit von einer Klima-prognostizierten Wasserverfügbarkeit (Frühjahrstrockenheit) effektiv komplementieren				X

4.5 Einordnung der Projektergebnisse mit Bezug zum Klimawandel unter Berücksichtigung der Bayerischen Klima-Anpassungsstrategie

Wie bereits beschrieben, bringt der Klimawandel in Europa und Bayern neben einer Erhöhung der Durchschnittstemperatur und einer Akkumulation von sogenannten „heißen Tagen“ mit Spitzen über 30°C auch das häufigere Auftreten von kontrastierenden Wetterextremen innerhalb einer einzigen Wachstumsperiode mit sich. Die Erfahrungen der letzten Jahre in

weiten Teilen Frankens, aber auch in der Münchner Schotterebene und den niederbayerischen Gäuböden bestätigen dies: Auf niederschlagsreiche Winter folgen anhaltende z. T. extreme Trockenperioden im Frühjahr/Sommer. Diese Wetterabfolge macht die Wasser- und Nährstoffakquirierung vor allem für Pflanzen wie Winterraps und Sommerungen wie Mais zu einer Herausforderung mit potentiell folgenschweren Konsequenzen für den Ertrag. Mobile und hoch ertragsrelevante Minerale wie B können bis zum Frühjahr ausgewaschen werden und die Pflanzenwurzeln bei anschließenden Trockenperioden, während den Hochbedarfszeiten für Nährstoffe, aufgrund des ausbleibenden Bodenwassermassenflusses nicht mehr erreichen. Etablierte Höchstleistungssorten sind an solche wasser- und nährstofflimitierenden Bedingungen nur sehr bedingt angepasst und das Vorläuferelitezuchtmaterial besitzt wohl nur wenig genetische Variation für diese Merkmale. Im Gegensatz enthalten Landsorten und älteres Genbankmaterial mit seiner breiten genetischen Variation ein natürliches Reservoir allelischer Diversität wohl auch für speziellere Anpassungen an Umweltverhältnisse wie Trockenheit oder B-Mangel [6]. Aufgrund bisher fehlender Konzepte zur effizienten Nutzung genetischer Ressourcen, insbesondere für komplex vererbte Merkmale wie B-Effizienz, ist deren Diversität züchterisch bisher kaum gezielt genutzt, vor allem wohl auch, weil die Identifizierung und Charakterisierung von Mikronährstoffeffizienzen bisher eher marginalem wissenschaftlichen und ökonomischen Interesse unterlagen.

Das Projekt wurde konzipiert, um genau diese Herausforderung anzugehen und anwendungsbezogenen Erkenntnisgewinn zu generieren. Das Projekt baute auf umfangreiche und weit fortgeschrittene Vorarbeiten sowie auf etablierte experimentelle Tools auf und hatte Zugriff auf wertvolle genetische Ressourcen, wie z. B. eine neu erstellte geno- und phänotypisierte DH-Rapspopulation. Die Strategie, genetische Variation eines natürlichen Reservoirs allelischer Diversität zu benutzen, steht im Einklang mit der Entscheidung Bayerns, auf transgene Pflanzen in der Landwirtschaft zu verzichten. Die detaillierte genotypische und phänotypische Charakterisierung der DH-Rapspopulation aus den B-ineffizienten und B-effizienten Eltern ermöglichte die Identifizierung von Genomregionen, die potentiell mit B-Effizienz bei Wasserknappheit während der anfälligen Blütenentwicklung assoziiert sind und stellt damit einen klassischen „Pre-Breeding“-Ansatz dar. Durch genombasierte Züchtungsverfahren kann die aufgezeigte genetische Variation für die Züchtung verbesserter stresstoleranter Sorten zugänglich gemacht werden und die gewonnenen Erkenntnisse in Form neuer und klimaangepasster Sorten in die Praxis übertragen werden. Die Züchtung von B- und wassernutzungsoptimierter neuer Sorten, stellt zudem eine nachhaltige sowie umwelt- und ressourcenchonende Strategie dar.

Das Projekt hat in innovativer Weise in einem Forschungskonzept die Untersuchung zweier Herausforderungen, mit denen die Landwirtschaft auch in Bayern im Zuge des Klimawandels vermehrt konfrontiert ist, verbunden: Ressourcen- und Wassereffizienz, zwei zentrale Nachhaltigkeitsfaktoren in dem sich ändernden Klimakontext. Bisher wurde Nährstoffeffizienz meist unter dem Gesichtspunkt einer guten Wasserbilanz der Pflanzen untersucht. Zukünftig wird es essentiell sein bei Fragen der Pflanzenernährung in Hinblick auf den Ertrag und die Ertragsstabilität, verstärkt weitere limitierende Faktoren wie Wasserknappheit oder Trockenstress zu berücksichtigen. Die Versuchsansätze und Ergebnisse des Projekts wie die erstmalige Identifizierung von B- und Wassereffizienz-Mechanismen und Genomregionen in Raps besitzen ein hohes wissenschaftliches Potential, da sie einen signifikanten Fortschritt

für den ‚State-of-the-Art‘ in diesem Forschungsgebiet darstellen und gleichzeitig hohe Praxisrelevanz, da diese zur Züchtung von verbesserten Sorten beitragen können. Neben dem züchterischen Aspekt, der Nutzbarmachung natürlicher genetisch-kodierter Mechanismen, hatte das Projekt weitere Anwendungsbezüge anvisiert, welche potentiell die klimabedingten Auswirkungen von B-Mangel- und Trockenstress auf die Ertragsstabilität abmildern und damit zur Anpassung von Kulturpflanzenproduktion an den Klimawandel beitragen: Unsere äußerst detaillierte Beschreibung unterschiedlicher B-Mangelsymptomentwicklungen bei Rapsinfloreszenzen ab der Blütenknospenbildung, wie sie unter B-Mangel und wasserlimitierten Wachstumsbedingungen auftreten können, wird es Landwirten und Landwirtinnen erlauben zukünftig Symptome im Feld leichter einzuordnen und Entscheidungen über effektive Düngemaßnahmen gezielter zu treffen. Die Untersuchungen zur Effektivität unterschiedlicher B-Verbindungen trägt zu dem Ziel bei, das Düngemanagement detaillierter und besser auf die Bedarfe der Pflanzen in Abhängigkeit der Wasserverfügbarkeit abzustimmen und arbeitet dementsprechend „Precision Farming“-Strategien zu. Dementsprechend arbeiteten die so konzipierten Arbeitspakete und Projektziele gleich mehreren Handlungszielen der Bayerischen Klima-Anpassungsstrategie bzw. dem Maßnahmenkatalog zur Klimaanpassung in der Landwirtschaft (Pflanzen und Weinbau, PW_01, PW_04, PW_13, P_24, PW_32, PW_33) zu [12]. Zudem gab unser Projekt eindeutige Hinweise auf die Bedeutung der Wechselwirkung zwischen Bestäuberanzahl und einer ausreichenden Nährstoffversorgung für den Fruchtansatz bei fremdbestäubten Pflanzen wie Raps und hob damit die zusätzlichen ökologischen Herausforderungen für die Pflanzenernährung und den Ertragsaufbau im Kontext des Klimawandels in der Landwirtschaft hervor.

5 Veröffentlichungen

2024

Tölle JB, Bienert GP (2024): Effiziente Nutzung von Wasser und Bor bei Raps – Optimale Borverfügbarkeit steigert die Trockenresistenz der Pflanze. Der Pflanzenarzt, Vol. 11-12, S. 6-9.

Tölle JB, Alcock TD, Heinrich E, Schierholt A, Schäufele R, Bienert GP (2024): Identification of QTL controlling fertility parameters of oilseed rape (*Brassica napus* L.) under water- and boron limited growth conditions. DGP-Konferenz, Bonn, 02.-04.09.2024, Vortrag

Bienert GP (2024): Effiziente Nutzung von Wasser und Bor bei Raps und Mais. Abschlussveranstaltung Projektverbund „BayKlimaFit 2 – Starke Pflanzen im Klimawandel“, München, 01.07.2024, Posterpräsentation

Bienert GP (2024): Effiziente Nutzung von Wasser und Bor bei Raps und Mais. Abschlussveranstaltung Projektverbund „BayKlimaFit 2 – Starke Pflanzen im Klimawandel“, München, 01.07.2024, Vortrag

2023

Bienert GP (2023): Wie nährstoffeffiziente Kulturpflanzen besser mit Trockenheit zurechtkommen – Beispiel Boreffizienz. Hans Eisenmann-Akademie Veranstaltungsreihe „Starke Pflanzen im Klimawandel“, Freising, 19.01.2023, Vortrag

Tölle JB, Alcock TD, Bienert GP (2023): *Brassica napus* cultivated under boron deficiency and drought stress – a vicious circle. Internationales SFB924-Symposium “Plant Biology of the Next Generation”, Freising, 12.-14.04.2023, Posterpräsentation

Tölle JB, Alcock TD, Bienert GP (2023): Identification of interlinked boron deficiency and drought stress mechanisms and their underlying genes in *Brassica napus*. HEFagrar Symposium, Freising, 25.04.2023, Posterpräsentation

Tölle JB, Alcock TD, Schäufele R, Bienert GP (2023): Identification of physiological responses to combined boron and water limitation in *Brassica napus*. Internationale Konferenz “Boron 2023: International Conference on 100 Years of Results on Boron Research in Plants“, Hohenheim (Stuttgart), 22.-23.09.2023, Posterpräsentation

Tölle JB, Bienert GP (2023): An appropriate choice of the boron fertilizer species under boron deficiency results in an advantageous performance of *Brassica napus* plants on well-watered but not on water-limited conditions. Internationale Konferenz “Boron 2023: International Conference on 100 Years of Results on Boron Research in Plants“, Hohenheim (Stuttgart), 22.-23.09.2023, Posterpräsentation

Tölle JB, Alcock TD, Schäufele R, Bienert GP (2023): Identification of physiological responses to combined boron and water limitation in *Brassica napus*. DGP-Konferenz, Hohenheim (Stuttgart), 25.-27.09.2023, Posterpräsentation

Tölle JB, Bienert GP (2023): An appropriate choice of the boron fertilizer species under boron deficiency results in an advantageous performance of *Brassica napus* plants on well-watered but not on water-limited conditions. DGP-Konferenz, Hohenheim (Stuttgart), 25.-27.09.2023, Posterpräsentation

2022

Tölle JB, Alcock TD, Bienert GP (2022): *Brassica napus* cultivated under Boron deficiency and drought stress – a vicious circle. DGP-Konferenz, Raitenhaslach/Burghausen, 04.-05.10.2022, Posterpräsentation.

Bienert, P. (2022): Boron efficiency mechanisms in *Brassica napus* & *Arabidopsis thaliana*.- LIBST seminar Université catholique de Louvain, Belgium, 19.05.2022

Bienert, P. (2022): Nährstoffe oder Gift? Die Bedeutung von Bor, Arsen und anderen Halbmetallen für Landwirtschaft und Ernährung. TUM@Freising, 26.04.2022

Bienert P. (2022): Boron efficiency mechanisms in *Brassica napus* & its little sister *Arabidopsis thaliana*, eingeladener Vortrag für wissenschaftliches Kolloquium Humboldt-Universität zu Berlin, 07.02.2022

2021

Bienert, G. P. (2021): Metalloids: The Yin and Yang for crop production and healthy nutrition – molecular mechanisms regulating metalloid efficiency, Plant Biology Seminar 22.11.2021, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Bienert, G. P. (2021): Effiziente Nutzung von Wasser und Bor bei Raps und Mais. Auftaktveranstaltung PV BayKlimaFit 2, 08.07.2021, Vortrag

Bienert, G. P. (2021): Effiziente Nutzung von Wasser und Bor bei Raps und Mais. Auftaktveranstaltung PV BayKlimaFit 2, 08.07.2021, Posterpräsentation

Geplante Publikationen:

Alcock TD, Flügge C, Heinrich E, Schierholt A, Tölle JB, Bienert GP et al. (2025): Identification of novel major QTL controlling shoot performance of oilseed rape (*Brassica napus* L.) in response to boron starvation by an automated plant phenotyping system approach. *Geplanter wissenschaftlicher Fachartikel*

Tölle JB, Bienert GP (2025): An appropriate choice of the boron fertilizer species results in an advantageous performance of oilseed rape (*Brassica napus* L.) plants on well-watered but not on water-limited growth conditions. *Geplanter wissenschaftlicher Fachartikel*

Tölle JB, Alcock TD, Heinrich E, Schierholt A, Schäufele R, Bienert GP (2025): Identification of QTL controlling fertility parameters of oilseed rape (*Brassica napus* L.) under water- and boron limited growth conditions. *Geplanter wissenschaftlicher Fachartikel*

Tölle JB, Prucker P, Saumweber J, Leonhardt SD, Bienert GP (2025): Influence of the micro-nutrient boron on the flowering and yield performance of oilseed rape (*Brassica napus* L.) and its effect on pollination and pollinators. *Geplanter wissenschaftlicher Fachartikel*

6 Projektkooperation mit universitären Forschergruppen

6.1 Projektkooperation mit der universitären Forschungsgruppe von Prof. Leonhardt (TUM, Professur für *Plant-Insect Interaction*) - Teilprojekt 5 „Fruchtansatz sichern durch Artenvielfalt“

Teilprojekt 8 kooperierte aktiv mit Teilprojekt 5 der Arbeitsgruppe Leonhardt („Fruchtansatz sichern durch Artenvielfalt“). B-Mangel hat einen negativen Einfluss auf die Fertilität und den Fruchtansatz bei Pflanzen wie Raps. Es ist bekannt, dass B-Mangel in einem „flowering without seed setting“ Phänotyp resultiert [11]. Auf Seiten der Pflanze wurde gezeigt, dass durch B-Mangel die Blüten- und Pollenentwicklung sowie das Pollenschlauchwachstum beeinträchtigt ist [5]. Ziel des Kooperationsprojektes war es herauszufinden, ob der B-Ernährungsstatus der blühenden Rapspflanze einen Einfluss auf die Bestäuberattraktivität, das Bestäuberspektrum bzw. den Bestäubererfolg und damit auf den Ertrag hat.

In diesem Zusammenhang wurde die im Teilprojekt 5 zu untersuchende Rapssorte (*Daktari*) durch das Teilprojekt 8 zunächst auf deren B-Effizienz untersucht. *Daktari* wurde auf FN-Substrat unter B-limitierender ($< 0,1$ mg B/kg FN-Substrat) und ausreichender B Versorgung (2,5 mg B/kg FN-Substrat) mit der B-effizienten und B-ineffizienten Raps-Akzession *CR2267* und *CR3153* im Wachstum verglichen. Physiologische und Biomasse-Parameter wurden während des vegetativen Wachstums bestimmt und entsprechend eine Effizienzeinstufung vorgenommen. *Daktari* zeigte, wie die B-ineffiziente Akzession *CR3153*, ein signifikant geringeres Spross- und Biomassewachstum unter B-Mangelbedingungen 28 Tage nach Aussaat verglichen zu einer ausreichenden B-Versorgung und wurde damit ebenfalls als B-ineffiziente Rapssorte eingestuft (Abbildung 12).

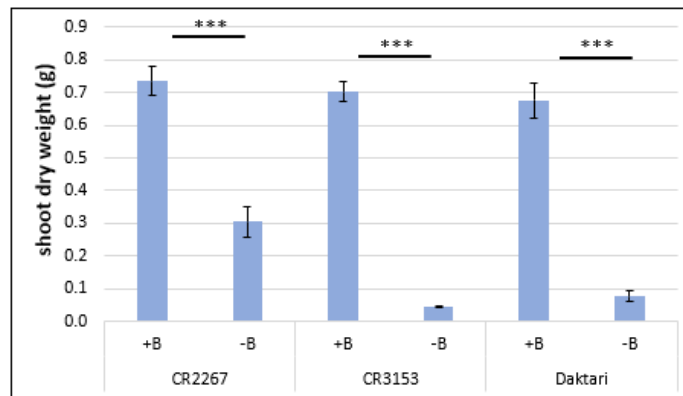


Abbildung 12: Sprosstrockengewicht der Rapsakzessionen *CR2267* (B-effizient), *CR3153* (B-ineffizient) und *Daktari* (B-ineffizient) 28 Tage nach Aussaat kultiviert auf ausreichendem Bor (+B) und Bor-Mangelbedingungen (-B), (t-Test, ***: $p < 0.001$; $n = 12$ für *Daktari*, $n = 27-36$ für *CR2267* und *CR3153*); Fehlerbalken = Standardfehler des Mittelwertes.

Im Anschluss wurde *Daktari* sowie *CR2267* und *CR3153* in einem Kooperationsfreilandversuch (360 Pflanzen) beforcht. Es wurde untersucht, ob der B-Status der Pflanzen während der Blüte einen Einfluss auf den Anteil des bestäuberbedingten Ertrags bzw. auf die Spezieszusammensetzung der Bestäuber hat. Frühere nicht systematische Beobachtungen hatten darauf hingedeutet, dass *CR2267* und *CR3153* einen unterschiedlichen „Bedarf“ für Bestäuber unter B-limitierenden Wachstumsbedingungen für einen effektiven Samenansatz haben. Wenn diese Beobachtung bestätigt werden würde, könnte die DH-Raps-population aus Teilprojekt 8 potentiell dazu genutzt werden QTL zu identifizieren, welche dem unterschiedlichen Bedarf für Bestäuber unter B-limitierten Bedingungen zugrunde liegt. Der Kooperationsversuch wurde im November 2022 im Gewächshaus gestartet, damit die Pflanzen gleichzeitig im April/Mai 2023 zur saisonalen Rapsblüte im Feld zu blühen begannen. Die Vorbereitung des FN-Substrates (Kalken, Nährstoffapplikation) erfolgte analog zum AP1. Die Nährstoffapplikation, mit Ausnahme der B-Applikation, erfolgte mehrfach während des Versuchsverlaufes. Die Sorte *Daktari* (Winterraps) wurde Mitte November 2022 ausgesät, *CR2267* (Semityp) und *CR3153* (Sommerraps) wurden Anfang Januar 2023 ausgesät (13 cm Ø Töpfe). Die Pflanzen wurden jeweils drei Wochen nach Aussaat in eine Vernalisationskammer transferiert und für 10 (*Daktari*) bzw. 4 (*CR3153* und *CR2267*) Wochen weiter kultiviert. Anschließend kamen die Pflanzen bis zum Blühbeginn Anfang April wieder in ein Gewächshaus. Zu

Blühbeginn wurden die Pflanzen an drei Standorten auf dem Gelände des TUM-Gewächshauszentrums „Dürnast“ (Freising) neben und in Blühwiesen verteilt, um dort das Bestäuberverhalten über zwei Wochen zu dokumentieren. Zusätzlich wurden die Pflanzen wie in AP1 hinsichtlich potentieller B-Mangelsymptome an mehreren Terminen phänotypisiert. Anschließend wurden die Pflanzen im Gewächshaus bis zur Samenbildung kultiviert um u. a. die Parameter Schoten- und Samenanzahl als Bestäuberleistungsergebnis zu erfassen. Die Rapspflanzen für diesen Versuch wurden zunächst unter B-limitierenden Bedingungen bei einer Konzentration von 0,25 mg B/kg FN-Substrat und einer ausreichenden B Versorgung von 2,5 mg B/kg FN-Substrat kultiviert. Damit über den Bestäuberaktivitätsbeobachtungszeitraum von zwei Wochen die dem B-Mangel ausgesetzten Pflanzen zwar unter B-Mangel leiden, aber zumindest visuell nahezu symptomfrei sind (um nicht an visueller Attraktivität, zumindest für den menschlichen Betrachter, gegenüber Bestäubern zu verlieren, siehe Abbildung 1 und Abbildung 2), wurde die B Menge im Anzuchtsubstrat durch eine B-Applikation vor der Blüte (Anfang April) auf 0,4 mg B/kg FN-Substrat erhöht. Diese B-Bedingung wurde in einem B-Düngesteigerungsversuch vorab als optimal identifiziert.

Die Ergebnisse zeigen eindeutig, dass für den jeweiligen Beobachtungszeitraum die B-effiziente Akzession *CR2267*, die die geringste Anzahl an Blüten mit deformierten Kronblattspreiten unter B-limitierenden Bedingungen aufwies (Abbildung 13B), im Vergleich mit den beiden B-ineffizienten Rapsakzession gleichzeitig auch die geringste Reduktion hinsichtlich der Anzahl an Besuchen drei der vier beobachteten Bestäubergruppen (Fliegen, Hummeln, Wildbienen) hatte (Abbildung 13A). Lediglich die Anzahl der Besuche der Honigbienen nahm um ungefähr 40 Prozent ab. Bei den beiden B-ineffizienten Akzessionen *Daktari* und *CR3153* reduzierte sich die Anzahl der beobachteten Individuen an den Hauptinfloreszenzen von B-limitierten Pflanzen dagegen deutlich für alle vier Bestäubergruppen (Fliegen, Hummeln, Wildbienen, Honigbienen) im jeweiligen Beobachtungszeitraum, verglichen zu der beobachteten Bestäuberanzahl an den Hauptinfloreszenzen von Pflanzen mit einer ausreichenden B-Versorgung (Abbildung 13A). Dies könnte durch eine geringfügig erhöhte Anzahl offener Blüten mit deformierten Kronblattspreiten (B-Mangelsymptom) bzw. einer reduzierten Anzahl offener turgider (gesunder) Blüten an Pflanzen auf B-Mangelbedingungen gegenüber den ausreichenden mit B-versorgten Pflanzen erklärt werden (Abbildung 13B).

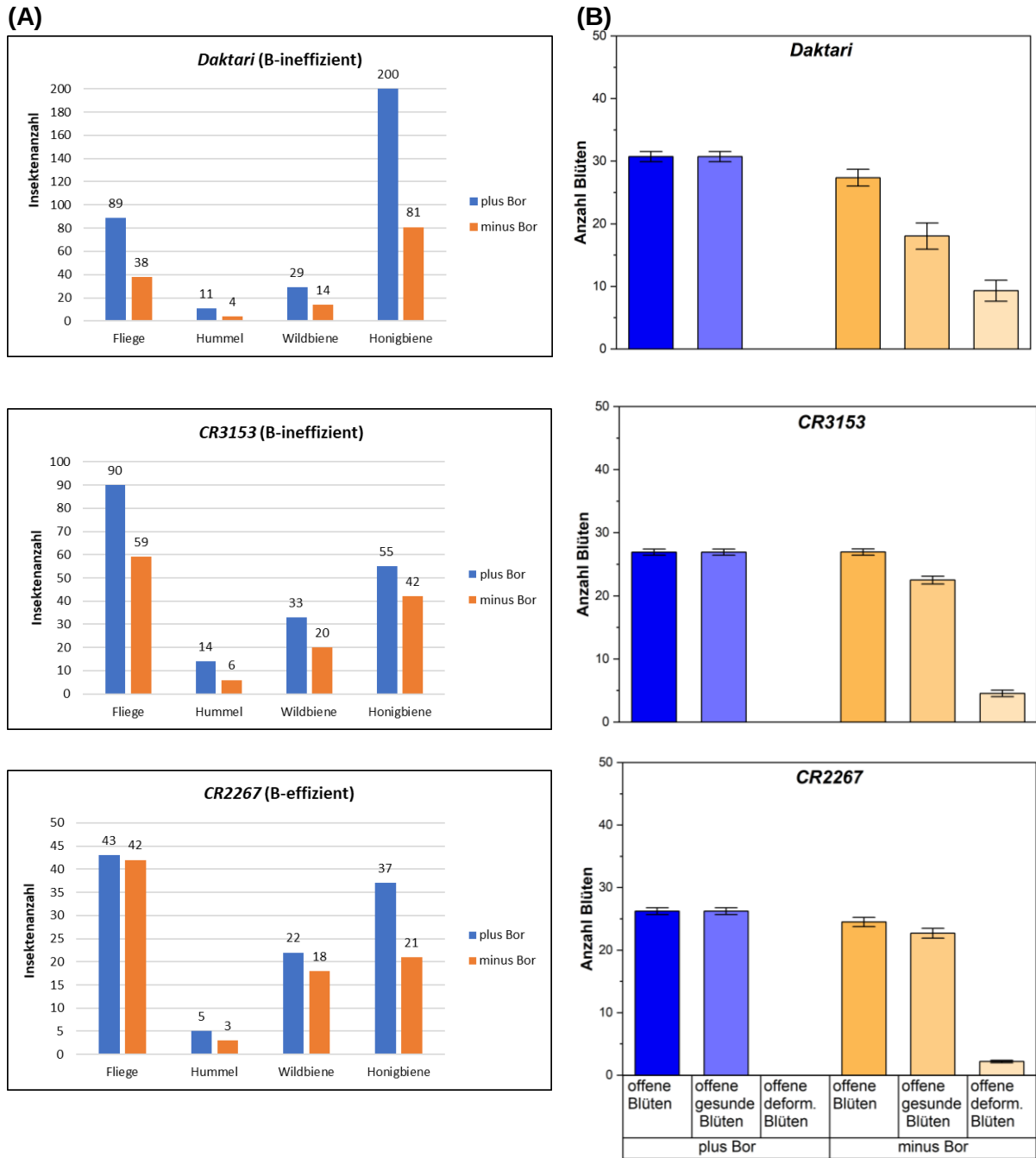


Abbildung 13: (A) Gesamtanzahl der beobachteten Individuen der rapstypischen Insektenbestäubergruppen Fliege, Hummel, Wildbiene und der Honigbiene an den Hauptsprossinfloreszenzen während des jeweiligen Gesamtbeobachtungszeitraumes und **(B)** Anzahl offener Blüten, aufgeteilt in offene turgide (gesunde) Blüten und offene Blüten mit deformierten Kronblattspreiten, des Hauptsprosses 4-5 Tage nach Blühbeginn der Rapsakzessionen CR2267 (B-effizient), CR3153 (B-ineffizient) und Daktari (B-ineffizient), kultiviert auf ausreichenden B (plus Bor) und B-Mangelbedingungen (minus Bor). (Die Akzession Daktari wurde an 9 Tagen, CR3153 an 8 Tagen und CR2267 an 6 Tagen bezüglich der Bestäuberaktivität beobachtet); Fehlerbalken = Standardfehler des Mittelwertes.

Neben der Bestäuberbeobachtung wurde auch der Fruchtsatz untersucht. Um den Einfluss der Bestäuber zu messen, d. h. die Fremdbestäubung durch Bestäuberinsekten (Rapspflanzen sind zu 1/3 Fremdbefruchter), wurden den Blütenständen des Hauptsprosses eines Teiles der Pflanzen Tüten übergestülpt, sodass sich diese Pflanzen nur selbst bestäuben konnten. Anhand der Anzahl der Samen pro Hauptspross je Pflanze zeigte sich, dass eine Fremdbestäubung durch Bestäuber in der Regel zu einer erhöhten Anzahl an Samen führte (Abbildung 14). Trotz der geringen Anzahl an offenen Blüten mit deformierten Kronblattspreiten bei der B-effizienten Akzession *CR2267*, im Vergleich zu den beiden B-ineffizienten Akzessionen (Abbildung 13) resultierte dies nicht in einer höheren Samenproduktion unter B-Mangelbedingungen verglichen zu der ausreichend mit B versorgten Variante. Auch die über Insekten vermittelte Bestäubung führte bei *CR2267* zu keiner höheren Samenproduktion (Abbildung 14). Bestäuber unter B-Mangelbedingungen führen zu einer tendenziell höheren Samenzahl am Hauptspross der B-ineffizienten Rapsakzessionen, was darauf hinweist, dass Bestäuber die Samenproduktion auch unter B-Mangelbedingungen fördern, allerdings ohne ausreichende statistische Signifikanz. Diese Ergebnisse könnten darauf hindeuten, dass das Vorhandensein einer Bestäubervielfalt einen Ertragsvorteil bei Raps darstellt, auch wenn dieser unter B-Nährstoffmangelbedingungen und vermutlich unter Trockenheit leidet. Eindeutig sind die Ergebnisse dahingehend, dass die Kombination aus Bestäuberaktivität und einer ausreichenden B-Versorgung besonders relevant für die Ertragssicherheit bei Raps war. Weiterer Forschungsbedarf ist jedoch notwendig. Weitere Kooperationsfolgeprojekte sind durch die Professuren für *Plant-Insect Interaction* (TUM) und *Crop Physiology* (TUM) geplant.

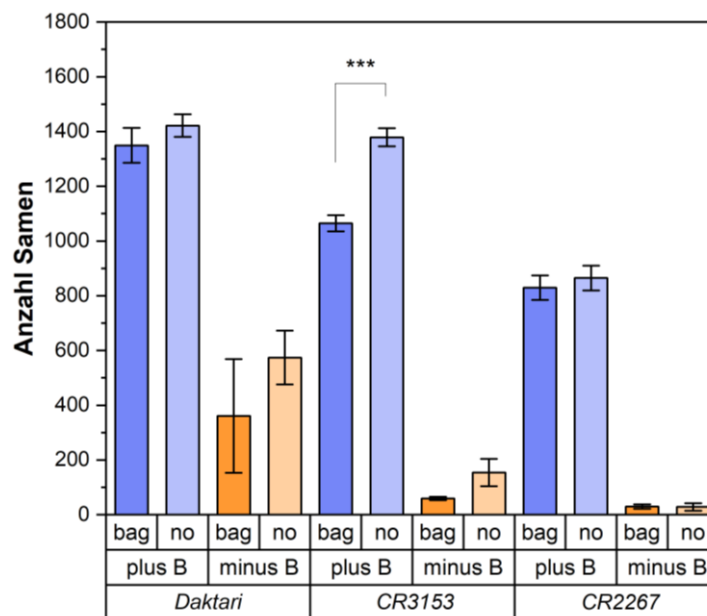


Abbildung 14: Anzahl der Samen des Hauptsprosses der Rapsakzessionen *CR2267* (B-effizient), *CR3153* (B-ineffizient) und *Daktari* (B-ineffizient), kultiviert auf B ausreichenden (plus Bor) und B-Mangelbedingungen (minus Bor) im Vergleich der Selbstbestäubung (mit Tüte, „bag“) und der Fremdbestäubung durch Bestäuberinsekten (keine Tüte, „no“). (t-Test: ***: $p < 0.001$; mit Tüte: $n = 4-10$, keine Tüte: $n = 10-24$); Fehlerbalken = Standardfehler des Mittelwertes.

6.2 Projektkooperation mit der universitären Forschungsgruppe von Prof. Schön (TUM) - Teilprojekt 10 „Trockentoleranz durch bessere Wassernutzung“

Gemeinsames Ziel war durch komplementäre Untersuchungen an den gleichen 9 Maislinien (AP2) genetische und physiologische Faktoren zu identifizieren, welche eine Steigerung der Wassernutzungseffizienz unter den sich verändernden Umweltbedingungen des Klimawandels erlauben. Teilprojekt 8 quantifizierte Nährstoffkonzentrationen und -gehalte in Körnerproben der Maislinien, die von Teilprojekt 10 auf zwei Feldern angebaut und in Hinblick auf deren Trockentoleranz hin untersucht wurden. Ein Feld war den natürlichen Wetterverhältnissen ausgesetzt, während die Wasserversorgung des zweiten Feldes durch einen Rain-Out-Shelter kontrolliert begrenzt wurde. Bei den Körnerproben handelte es sich um gepoolte Körner aller Maiskolben innerhalb einzelner Parzellen der 9 Maislinien, in dreifacher Wiederholung und für beide Wasserverfügbarkeiten. Besonders die B-Nährstoffdaten in Maiskörnern stachen hervor. Bor war eines der Elemente, dessen Konzentration im Korn am stärksten durch den Wassermangel betroffen war: Durchschnittlich waren die B-Konzentrationen um mehr als die Hälfte unter Wassermangelbedingungen (Rain-Out-Shelter) im Vergleich zu gut bewässerten Bedingungen reduziert. Des Weiteren konnten eindeutige genotypische Unterschiede in den Körner-B-Konzentrationen festgestellt werden. Insbesondere Linie *Lo1056* war in der Lage, die Korn-B-Konzentration unter Wasserlimitierung aufrechtzuerhalten. Diese Versuche zeigten, dass sich die Maislinien nicht nur in ihrer Trockenstresstoleranz, sondern auch in ihrer B-Akquirierungs- und/oder innerpflanzlichen Umverlagerungsfähigkeit unterscheiden und damit mittelfristig in anvisierten Folgeforschungsprojekten geeignet sind, molekulare, physiologische und genetische Wassernutzungs- und B-Effizienzmechanismen und zugrunde liegende QTL in Mais zu identifizieren und zu charakterisieren.

Die interdisziplinären Kooperationen mit anderen Teilprojekten im Projektverbund erlaubten spezifische Aspekte der Wasser- und Nährstoffnutzungseffizienz in synergistischer Weise aufzudecken und zu verstehen. Der vom Staatsministerium ausdrücklich unterstützte Austausch von arbeitsgruppenspezifischen Expertisen, Daten, verwendetem Pflanzenmaterial und Ergebnissen war in diesem Projektverbund für die Wissensgenerierung besonders erfolgsbringend.

7 Industriebeteiligung

Es bestanden keine Industriebeteiligungen im Teilprojekt 8.

8 Zusammenfassung

Der prognostizierte Klimawandel in Europa bringt neben einer Erwärmung auch das häufigere Auftreten von kontrastierenden Wetterextremen innerhalb einer einzigen Wachstumsperiode mit sich. Niederschlagsreiche Winter gefolgt von anhaltenden Trockenperioden im

Frühjahr machen z. B. die Wasser- und Nährstoffakquirierung für viele Ackerkulturen zu einer Herausforderung mit potentiell folgenschweren Konsequenzen für den Ertrag. Höchstleistungssorten sind an solche Umweltbedingungen nur begrenzt angepasst. Mobile Nährstoffe wie Nitrat, Sulfat und Bor (B) werden bis zum Frühjahr ausgewaschen und können bei anschließenden Trockenperioden, während den Hochbedarfszeiten für diese Nährstoffe, die Pflanzenwurzeln aufgrund des ausbleibenden Bodenwassermassenflusses nicht mehr erreichen. Im Besonderen die B-Verfügbarkeit spielt unter diesen Bedingungen für die spätere Ertragsbildung eine kritische Rolle. Bor ist einer der am häufigsten im Mangel vorliegenden und aktiv „verwalteten“ Mikronährstoffe in Kulturpflanzen. Der B-Status einer Pflanze und damit deren optimale landwirtschaftliche Produktivität hängt unwiderruflich vom Wasserstatus ab und *vice versa*. B-Mangelbedingte Ertragsverluste nehmen trotz eines modernen B-Düngemanagements in der Landwirtschaft in Folge des Klimawandels zu. Bei Trockenheit erreicht vorhandenes B im Boden die Wurzel nur schlecht. Eintretender B-Mangel führt zu einer rapiden Inhibierung des Haupt- und Seitenwurzelwachstums. Das damit verbundene Ausbleiben der weiteren Durchwurzelung des Bodens bewirkt, zusammen mit der durch den B-Mangel hervorgerufenen Schädigungen der Leitbahnen, dass benötigtes und bereits limitiert vorliegendes Wasser sowie weitere Nährstoffe weniger effizient aufgenommen und transportiert werden können.

Ziel dieses Teilprojekts war es für die Anwendung relevantes Wissen zu generieren, welches erlaubt, zukünftig gezielt genetisch determinierte gekoppelte B- und Wassereffizienzmechanismen in Mais und Raps für die Züchtung ertragsstabiler Sorten verfügbar zu machen und dies mit einem klimaangepassten B-Düngemittelmanagement zu kombinieren, um eine gesunde Wurzel-, Spross- und Blütenentwicklung, selbst bei klimabedingt limitierenden Bedingungen wie Trockenstress, sicherzustellen.

Um wassernutzungs- und/oder B-effizienten Mais zu identifizieren, wurden neun ausgewählte Linien, die sich in verschiedener Hinsicht für die Fragestellung eignen, bei unterschiedlichen Wasserverfügbarkeitsstufen bzw. unter B-suffizienter oder B-Mangelbedingungen sowie in Kombinationsstressexperimenten im Gewächshaus kultiviert. Die vergleichende Analyse des Sprossbiomasseaufbaus, Wurzelsystemarchitekturparameter sowie Makro- und Mikronährstoffkonzentrationen in den Körnern ergaben, dass sich die Maislinien nicht nur in ihrer Trockenstresstoleranz, sondern auch in ihrer B-Akquirierungs- und innerpflanzlichen Umverlagerungsfähigkeit sowie ihren B-Mangelreaktionen genotypisch unterscheiden. Damit stellen diese Genotypen und die daraus generierte DH-MAGIC-Population ein potentiell geeignetes Ausgangsmaterial für einen zukünftigen Identifizierungsansatz genetischer Wassernutzungs- und B-Effizienzmechanismen und zugrundeliegende QTL in Mais dar, so wie er in diesem Projekt mit der DH-Rapspopulation durchgeführt wurde.

Um molekular und physiologisch gekoppelte Wassernutzungs- und B-Effizienzmechanismen in Raps zu identifizieren, wurde in einem Gewächshausversuch eine Wachstumssituation für Frühjahrstrockenheit unter limitierter B-Versorgung an einer DH-Rapspopulation mit 198 DH-Linien sowie deren Elternakzessionen *CR2267* (B-effizient) und *CR3153* (B-ineffizient) erfolgreich simuliert. DH-Linien wurden identifiziert, die sich unter kombinierter Wasser- und B-Limitierung in Bezug auf Biomasseaufbau und Blütenfertilitätsindikatoren nicht wesentlich von den Elternlinien, welche unter optimaler Wasser- und B Verfügbarkeit wuchsen, unter-

schieden haben. Dies deutet darauf hin, dass gekoppelte Wassernutzungs- und B-Effizienzmechanismen in der DH-Population vorliegen und genetisch kodiert sind. Im Folgenden konnte durch eine QTL-Analyse Genomabschnitte erfolgreich identifiziert werden, welche mit Biomasseparametern, dem Nährstoffhaushalt und Blütenfertilitätsindikatoren korrelieren. Diese genomischen Loci bzw. deren zugrunde liegenden und noch zu identifizierenden Gene stehen damit Züchtern für die züchterische Verwertung zur Verfügung. Gleichzeitig generierte dieser Versuchskomplex eine äußerst detaillierte entwicklungsabhängige, physiologische, und phänotypische Beschreibung unterschiedlicher B-Mangelsymptomentwicklungen bei Rapsinfloreszenzen, wie sie unter B-Mangel und wasserlimitierten Wachstumsbedingungen auftreten. Dies erlaubt es Landwirten zukünftig, Symptome im Feld besser einzuordnen und Entscheidungen über Düngemaßnahmen gezielter zu treffen. Folgestudien werden eine Aussage darüber erlauben, ob die unterschiedlichen Infloreszenzphänotypen unterschiedliche „Schweregrade“ des B-Mangels repräsentieren, oder, ob diese genetisch begründeten unterschiedliche Strategien in Raps darstellen, um unter Wasser- und B-limitierenden Bedingungen trotzdem eine möglichst große, qualitative hochwertige und keimfähige Samenanzahl zu produzieren. Parallel zu dem gekoppelten Wasser- und B-Stress während der reproduktiven Phase, wurde die DH-Rapspopulation auch unter nur B-Mangelbedingungen in der frühen Keimlingsentwicklung in Kooperation analysiert. Der Vergleich beider Studien wird eine Aussage darüber erlauben, ob ausgeprägte B-Effizienzen während früher Entwicklungsphasen einen Hinweis auf B-Effizienzen während der reproduktiven Phase geben können. Sollte dies zumindest partiell der Fall sein, würde dies die Identifizierung von Genotypen mit gekoppelten Wassernutzungs- und B-Effizienzmechanismen wesentlich erleichtern und beschleunigen.

Komplementär zu den Untersuchungen am System Pflanze, wurde am System Boden die Düngewirkung der potentiell schnell bzw. langsam pflanzenverfügbaren B-Verbindungen Borsäure, Borax, Zinkborat, Ulexit und Colemanit unter B-Mangelbedingung und Wasserlimitierung an der B-Mangelsensitiven Rapsakzession *CR3153* während der Blüte in Gefäßversuchen getestet. Es zeigte sich in detaillierten B-Aufnahme- und Wachstumsversuchen, dass die applizierten B-Verbindungen aufgrund der verschiedenen schnellen Pflanzenverfügbarkeit, entweder durch deren Löslichkeit oder durch Komplexbildungen im Boden, in unterschiedlichen Entwicklungsstadien quantitativ unterschiedlich aufgenommen wurden und damit während der Blütenknospenbildung nur noch bedingt und in Abhängigkeit der absoluten Düngengebe zur Bildung fertiler Blüte zur Verfügung standen. Folglich resultierten unterschiedliche Schweregrade des B-Mangels, unterschiedliche B-Mangelsymptome während der Rapsblüte und damit eine variierende Reduktion der Fertilität. Die Effektivität von Borax, die B-Mangel anfälligen Rapsakzession *CR3153* während der Blüte effizient mit B zu beliefern, war unter nicht wasserlimitierten Bedingungen auffallend. Obwohl das leicht lösliche Borax vor der Aufnahme in Pflanzen noch in die ebenfalls leicht lösliche Borsäure umgewandelt wird, führte eine Boraxgabe, im Vergleich zu einer Borsäurebodengabe, zu einem fertileren Blühphänotyp. Vermutlich ist dies durch eine geringere Verfügbarkeit im Vorblüte-Wachstumsstadium begründet, sodass das im vegetativen Wachstumsstadium nicht aufgenommene B während der Blütenbildung zur Verfügung steht. Unter B-Mangel- und trockenen Wachstumsbedingungen resultierte keine der applizierten B-Verbindung in einer gesteigerten Fertilität. Folge

studien in unterschiedlich landwirtschaftlich genutzten Bodentypen, welche andere B-Komplexierungsgrade und Wasserkonduktivitäten besitzen, müssen folgen, um Handlungsempfehlungen für eine effektive B-Düngung aussprechen zu können.

Des Weiteren konnte in einem interdisziplinären Versuchsansatz gezeigt werden, dass der B-Ernährungsstatus von Raps während der Blüte zwar keinen Einfluss auf das Bestäuber-spektrum hatte, dafür aber die Attraktivität der Blüten für Bestäuber (Anzahl der Bestäuberbesuche pro Zeiteinheit) unter „visuell“ latentem B-Mangel eindeutig reduziert war. Tendenziell führten Bestäuber unter B-limitierten Wachstumsbedingungen zu einer höheren Samenzahl am Hauptspross B-ineffizienter Rapsakzessionen gegenüber Blüten, bei denen nur Selbstbestäubung möglich war. Eindeutig sind die Ergebnisse dahingehend, dass vor allem eine ausreichende B-Versorgung in Kombination mit Bestäuberaktivität besonders relevant für die Ertragssicherheit bei Raps sind.

Insgesamt konnte das Projekt die starken negativen und sich gegenseitig verstärkenden Auswirkungen von kombinierter B- und Wasserlimitierung auf die Fertilität und Pflanzenproduktivität vor allem bei Raps klar aufzeigen. Um dem entgegenzuwirken wurden 1) Mais- und Rapsgenotypen identifiziert, 2) potentielle Anpassungsmechanismen und QTL in Raps aufgedeckt, 3) B Düngeverbindungen beschrieben, 4) und ökologische Rahmenbedingungen (Bestäuber) festgestellt, die in genau diesen Umwelten ertragsstabiler sind bzw. zu einer gesteigerten Ertragsstabilität beitragen können. Dieses Wissen stellt eine solide Grundlage für einerseits die Entwicklung neuer Sorten sowie andererseits angepasster Anbaupraktiken in sich verändernden Umweltbedingungen dar.

9 Ausblick

Das in diesem Projekt generierte Wissen ist von Nutzen für sowohl die Züchtung von klimangepassten Genotypen mit einer gesteigerten B- und Wassereffizienz als auch für ein optimiertes B-Düngemittelmanagement im Feld, was in Kombination eine gesunde Wurzel-, Spross- und Ertragsentwicklung, selbst bei klimabedingt suboptimalen Wachstumsbedingungen, fördern sollte. Vor allem die Ergebnisse der Untersuchungen an Raps zeigen eindeutig, dass in dessen Genpool das Potential für die Anpassung an klimabedingt limitierende Bedingungen wie Wasserknappheit und durch Wasserknappheit induzierte B-Mangelbedingungen zur Blütezeit kodiert ist. Es besteht jedoch weiterer Forschungsbedarf, um die gewonnenen Erkenntnisse zukünftig weiter züchterisch und wissenschaftlich zu nutzen und um Rapsorten mit einer gesunden Blütenentwicklung unter diesen limitierenden Bedingungen züchten zu können. Die Identifizierung und Funktionsanalyse einzelner Gene hinsichtlich von Wassernutzungs- und B-Effizienzmechanismen innerhalb der jetzt identifizierten QTL beim Raps, durch Feinkartierungen und molekulargenetische Folgestudien, sowie eine analoge Identifikation und Charakterisierung bei Mais, bedarf noch weiterer intensiver Forschungsansätze bis diese in Pflanzenzuchtprogramme integriert werden können und schließlich als Wassernutzungs- und B-effiziente Raps- bzw. Maissorten auf dem Feld stehen. Weiterhin muss

analysiert werden, ob die züchterische Verwendung der identifizierten genetischen Ressourcen neben den vorteilhaften Allelen gleichzeitig nachteilhafte Allele in Höchstleistungssorten überträgt.

Komplementär zu den Untersuchungen am System Pflanze wurde am System Boden die Düngewirkung unterschiedlicher B-Verbindungen unter Kombinationsstressbedingungen untersucht. Unsere Daten zeigen, dass eine kontinuierliche Pflanzenverfügbarkeit von B ausschlaggebend für eine gesunde Entwicklung einer fertilen Infloreszenz ist. Während unsere Ergebnisse sehr detailliertes Wissen über die entwicklungsabhängige Aufnahme und innerpflanzliche Verteilung unterschiedlicher B Verbindungen in Abhängigkeit der Wasserverfügbarkeit generiert haben, konnte keine der B-Verbindungen die Fertilität von Rapspflanzen unter wasserlimitierenden Bedingungen signifikant steigern. Es bleibt zu untersuchen, ob eine Kombination aus schnell und langsam verfügbaren B-Verbindungen es potentiell erlaubt, die Fertilität bei wasserlimitierenden Bedingungen zu erhalten oder zumindest nur minimal zu erniedrigen, und welche exakte quantitative und qualitative Formulierung, Granulierungsart und -größe sowie Ausbringmethode für diese am geeignetsten ist. Des Weiteren werden analoge Untersuchungen auf unterschiedlichen landwirtschaftlichen Böden durchgeführt werden müssen, da neben der Wasserverfügbarkeit die Bodenart selbst einen hohen Einfluss auf die B-Verfügbarkeit hat.

Zusammen dienen unsere erarbeiteten Ergebnisse als wichtige Grundlage für weiterführender Projekte, die eine Erhöhung der Ertragsstabilität von Raps unter wasser- und nährstofflimitierenden Bedingungen zum Ziel haben.

Literaturverzeichnis

- [1] Wimmer MA, Abreu I, Bell RW, Bienert MD, Brown PH, Dell B, Fujiwara T, Goldbach HE, Lehto T, Mock HP, von Wirén N, Bassil E, Bienert GP (2020): Boron: an essential element for vascular plants. *New Phytol.* 226: 1232-1237.
- [2] Brdar-Jokanovic (2020): Boron Toxicity and Deficiency in Agricultural Plants. *Int. J. Mol. Sci.* 21: 1424.
- [3] www.yara.de/siteassets/crop-nutrition/media/produktbroschuren-de/brochures/leaflet-yaramila-mais-pro.pdf/
- [4] Lordkaew S, Dell B, Jamjod S, Rerkasem B (2011) Boron deficiency in maize. *Plant Soil* 342: 207-220
- [5] Marschner P (2012): Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. 3. Ausgabe. Elsevier Verlag. ISBN: 978-0-12-384905-2, S. 233 ff.
- [6] Pommerrenig B, Junker A, Sanchez Abreu I, Bieber A, Fuge J, Willner E, Bienert MD, Altmann T, Bienert GP (2018): Identification of rapeseed (*Brassica napus*) cultivars with a high tolerance to boron deficient conditions. *Front Plant Sci.* 9: 1142.
- [7] Millet EJ, Welcker C, Kruijer W, Negro S, Coupel-Ledru A, Nicolas SD, Laborde J, Bauland C, Praud S, Ranc N, Presterl T, Tuberosa R, Bedo Z, Draye X, Usadel B, Charcosset A, Van Eeuwijk F, Tardieu F (2016): Genome-Wide Analysis of Yield in Europe: Allelic Effects Vary with Drought and Heat Scenarios. *Plant Physiol.* 172: 749-764.
- [8] Broman, Karl W.; Sen, Saunak (2009): A Guide to QTL Mapping with R/qlt. New York, NY: Springer New York.
- [9] Hubick K, Farquhar G (1989): Carbon isotope discrimination and the ratio of carbon gained to water lost in barley cultivars. *Plant, Cell and Environ.* 12: 795-804.
- [10] Hua Y, Zhang D, Zhou T, He M, Ding G, Shi L, et al. (2016): Transcriptomics-assisted quantitative trait locus fine mapping for the rapid identification of a nodulin 26-like intrinsic protein gene regulating boron efficiency in allotetraploid rapeseed. *Plant Cell Environ* 39: 1601-1618.
- [11] Verwaaijen B, Alcock TD, Spitzer C, Liu Z, Fiebig A, Bienert MD, Bräutigam A, Bienert GP (2023) The *Brassica napus* boron deficient inflorescence transcriptome resembles a wounding and infection response. *Physiol Plant.* 175: e14088d.
- [12] Bayerische Klima-Anpassungsstrategie (2016), Bayerisches Staatsministerium für Umwelt und Verbraucherschutz (Hrsg.)