

Institut für Pflanzenkrankheiten der  
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

---

**Einfluss unterschiedlicher Ozon-Immissionsmuster  
auf das Pathosystem Weizen-*Mycosphaerella graminicola***

**Inaugural-Dissertation**

zur

Erlangung des Grades

Doktor der Agrarwissenschaften

(Dr.agr.)

der

Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn

vorgelegt am

24.06.2002

von

**Dipl. Biol. Sybille Lamprecht**

aus Offenbach

Referent: Prof. Dr. H.W.-Dehne

Korreferent: Prof. Dr. H. Goldbach

Tag der mündlichen Prüfung : 28. Oktober 2002

D98

*„Ozon (aktiver, polarisierter Sauerstoff), O<sub>3</sub>...  
Eingeatmet greift es die Respirationsorgane an, kleinere Tiere  
werden ...rasch getötet. Es ist ein höchst energisches  
Oxidationsmittel ... Die atmosphärische Luft enthält fast immer  
Ozon, die sehr geringe Menge ist besonders groß nach heftigen  
Gewittern ...“*

**Chr. F. Schönbein, 1892**

**„Ozon [griech. das Riechende]**

O<sub>3</sub> giftige, unbeständige, stark riechende gasförmige Verbindung aus 3 Sauerstoffatomen, .... Neben Fluor ist Ozon das stärkste Oxidationsmittel. Ozon ist ein wichtiger Bestandteil der Atmosphäre. Verwendung zum Bleichen von Ölen, Fetten, Zellstoff und Textilien, zur Luftverbesserung, Reinigung von Trinkwasser und zur Desinfektion.“

**Goldmann Lexikon, Bertelsmann, 1998**

**Sybille Lamprecht**

**Einfluss unterschiedlicher Ozon-Immissionsmuster auf das Pathosystem Weizen -  
*Mycosphaerella graminicola***

Weizenpflanzen wurden in Klimakammern bei unterschiedlichen Ozon-Immissionsmustern exponiert und der Einfluss der Schadgasbelastung auf das Pathosystem Weizen-*Mycosphaerella graminicola* untersucht. Die Wirkung eines für städtische Gebiete typischen Immissionsmusters mit kurzen, hohen Spitzenkonzentrationen wurde mit der Wirkung eines für ländliche Gebiete typischen Immissionsmusters verglichen, das durch eine weitgehend gleichmäßig hohe Dauerbelastung gekennzeichnet war. Beide Immissionsmuster beinhalteten dieselbe Gesamtdosis. Untersucht wurden der Einfluss der Ozonexposition auf die Ausbildung akuter Blattschäden sowie die Wirkung auf Photosynthese, Wachstum und Ertrag. Überdies wurden der Befall und der Infektionsverlauf nach Ozonexposition und Inokulation mit *M. graminicola* überprüft.

In beiden Versuchsansätzen bedingte die Ozonexposition der Weizenpflanzen bei der untersuchten Gesamtdosis unabhängig vom Immissionsmuster erhebliche Blattschäden und eine Reduktion des Tausendkorngewichtes. Der Immissionsverlauf mit kurzen, hohen Konzentrationsspitzen verursachte stärkere Chlorosen und Nekrosen der Blätter und eine deutlichere Ertragsreduktion. Eine gleichmäßigere Dauerbelastung führte dagegen bei allen untersuchten Weizensorten zu einem stärkeren Befall der Pflanzen mit *M. graminicola*. Wurden die Weizenpflanzen vor der Inokulation bei Ozonspitzenkonzentrationen exponiert so konnte in Abhängigkeit der sortenspezifischen ozon-induzierten Nekrotisierung der Blätter ein reduzierter oder erhöhter Befall mit *M. graminicola* beobachtet werden. Die Antioxidantiengehalte der Pflanzen lassen vermuten, dass die Sortenspezifität der Ozonschädigung vor allem auf Unterschieden im genetisch bedingten antioxidativen Gesamtpotential beruht. Grundsätzlich waren unter den gegebenen Bedingungen die ozoninduzierten Schäden gravierender als solche, die durch den Befall mit *M. graminicola* verursacht wurden. Eine additive Wirkung von Ozonexposition und Infektion mit *M. graminicola* wurde lediglich in Hinblick auf die Ertragsreduktion festgestellt. Aufgrund der beschriebenen Modellversuche kann bei erhöhten troposphärischen Ozonkonzentrationen, wie sie derzeit während der Sommermonate auftreten, für Weizen eine veränderte Anfälligkeit gegenüber *M. graminicola*, eine Hemmung des Pflanzenwachstums und eine Reduktion des Ertrages angenommen werden. Das Immissionsmuster ist dabei maßgeblich für Art und Ausmaß der ozoninduzierten Schädigung der Pflanzen.

**Sybille Lamprecht**

**Effect of different ozone exposure patterns on the pathosystem wheat-*Mycosphaerella graminicola***

The impact of ozone on the pathosystem wheat-*Mycosphaerella graminicola* was investigated by exposing wheat plants to various concentrations of the air pollutant in controlled growth chambers. Furthermore, two different ozone exposure patterns with the same total dose were compared; one with short-term peak concentrations representing urban areas and the other one representing rural areas containing a relatively constant ozone concentration. The effects of ozone during day/night cycles on leaf injury due to chlorosis and necrotization as well as on photosynthetic activity, biomass and yield were investigated.

Results showed that exposure to both ozone patterns led to acute leaf injury and considerable yield reduction. These effects were strongest after exposure to the pattern with short-term peak concentrations. Ozone exposure before inoculation influenced the disease rate of *M. graminicola*. The constant concentration pattern always induced significantly higher infection rates in all cultivars tested. The effect of the short-term peak concentrations on infection rate was strongly related to the cultivar-specific susceptibility to ozone injury. The concentration of antioxidants in wheat leaves led to the assumption that the cultivar-specific susceptibility to ozone damage depends on differences in the genetically based level of antioxidants in each cultivar. An additive effect of ozone and infection with *M. graminicola* could be demonstrated only for grain weight. In general, damage caused by ozone was more significant than that caused by *M. graminicola* infections. The results of these exposure models indicate that increased tropospheric ozone, which nowadays usually occurs in summer, can inhibit plant growth, reduce yield and alter the predisposition of wheat to *M. graminicola*. Therefore, the exposure pattern seems to play a key role in the type and severity of ozone damage to plants.

---

## Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	IV
<b>1. Einleitung</b> .....	1
<b>2. Material und Methoden</b> .....	12
<b>2.1 Versuchsorganismen</b> .....	12
2.1.1 Weizen.....	12
2.1.2 <i>Mycosphaerella graminicola</i> - <i>Septoria tritici</i> .....	12
<b>2.2 Anzucht und Kultivierung</b> .....	13
2.2.1 Weizen.....	13
2.2.2 <i>Mycosphaerella graminicola</i> - <i>Septoria tritici</i> .....	14
2.2.2.1 Herstellung von Dauerkulturen.....	14
2.2.2.2 Kulturmedien.....	14
<b>2.3 Inokulation</b> .....	15
2.3.1 Herstellung der Sporensuspension.....	15
2.3.2 Inokulation.....	15
<b>2.4 Befallsbewertung</b> .....	16
<b>2.5 Lichtmikroskopische Untersuchungen des Infektionsverlaufes von <i>Septoria tritici</i></b> .....	17
2.5.1 Probenahme und Fixierung.....	17
2.5.2 Färbung.....	17
<b>2.6 Versuchsanlage zur Ozonexposition von Weizenpflanzen</b> .....	18
2.6.1 Vertikalströmungskammern.....	18
2.6.1.1 Kammertechnik.....	18
2.6.1.2 Dosier- und Messtechnik.....	19
2.6.2 Expositions-kammern Aussenanlage.....	19
2.6.2.1 Kammertechnik.....	19
2.6.2.2 Dosier- und Messtechnik.....	21
2.6.3 Ozonkonzentration/Ozonverlaufsmuster.....	21
2.6.3.1 Gleichmäßige Ozonbelastung.....	21

2.6.3.2	Ozonverlaufsmuster.....	22
<b>2.7</b>	<b>Erfassung akuter und chronischer Schadsymptome durch Ozon.....</b>	<b>23</b>
2.7.1	Akute Schadsymptome - Nekrosen.....	24
2.7.2	Chronische Schadsymptome.....	24
2.7.2.1	Chlorophyllgehalt.....	24
2.7.2.2	Photosyntheseaktivität.....	26
2.7.2.3	Biomasse.....	26
2.7.2.4	Ertrag.....	27
2.7.2.5	Kornqualität.....	27
<b>2.8</b>	<b>Bestimmung der Antioxidantiengehalte.....</b>	<b>27</b>
2.8.1	Nachweis von Dehydro-/Ascorbinsäure.....	27
2.8.2	Nachweis von $\alpha$ -Tocopherol.....	28
2.8.3	Gesamtes antioxidatives Potential.....	29
<b>2.9</b>	<b>Statistische Auswertung.....</b>	<b>30</b>
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>31</b>
<b>3.1</b>	<b>Anfälligkeit unterschiedlicher Weizensorten gegenüber <i>Septoria tritici</i>.....</b>	<b>31</b>
<b>3.2</b>	<b>Einfluss unterschiedlicher Ozon-Immissionsmuster auf Wachstum und Ertragsbildung an Weizen bei Exposition vor der Bestockung.....</b>	<b>32</b>
3.2.1	Ausbildung von Blattschäden.....	32
3.2.2	Chlorophyllgehalt und Photosyntheseaktivität.....	34
3.2.3	Biomasse und Ertrag.....	36
<b>3.3</b>	<b>Einfluss unterschiedlicher Ozon-Immissionsmuster auf Wachstum und Ertragsbildung an Weizen bei Exposition während der Blüte.....</b>	<b>39</b>
3.3.1	Ausbildung von Blattschäden.....	40
3.3.2	Chlorophyllgehalt und Photosyntheseaktivität.....	41
3.3.3	Biomasse und Ertrag.....	45
3.3.4	Wirkung auf das antioxidative Potential.....	47
3.3.4.1	Gesamtascorbinsäuregehalt.....	48
3.3.4.2	Tocopherol.....	49
3.3.4.3	Antioxidatives Gesamtpotential.....	50
<b>3.4</b>	<b>Einfluss von Ozon auf die Entwicklung von <i>Septoria tritici</i> an Weizen.....</b>	<b>51</b>

3.4.1	Einfluss zweier konstanter Ozonkonzentrationen auf die Pyknidienbildung.....	51
3.4.2	Einfluss unterschiedlicher Ozon-Immissionsmuster auf den Befall..	52
3.4.3.	Einfluss unterschiedlicher Ozon-Immissionsmuster auf den Infektionsverlauf.....	55
<b>3.5</b>	<b>Einfluss unterschiedlicher Ozon-Immissionsmuster und Befall mit <i>Septoria tritici</i> auf Wachstum und Ertragsbildung von Weizen bei Exposition während der Blüte.....</b>	<b>64</b>
3.5.1	Chlorophyllgehalt und Photosyntheseaktivität.....	64
3.5.2	Biomasse und Ertrag.....	67
3.5.3	Wirkung auf das antioxidative Potential.....	70
3.5.3.1	Gesamtascorbinsäuregehalt.....	71
3.5.3.2	Tocopherolgehalt.....	72
3.5.3.3	Gesamtes antioxidatives Potential.....	73
<b>4.</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>74</b>
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>97</b>
<b>6.</b>	<b>Literatur.....</b>	<b>100</b>



## Abkürzungen und Maßeinheiten

BBCH	Entwicklungsstadien des Weizen nach MEIER (1997)
d	day(s), Tag(e)
dpi	Tage nach Inokulation (days past inoculation)
F	Fahnenblatt
F-1	1. Blattetage unter dem Fahnenblatt
F-2	2. Blattetage unter dem Fahnenblatt
FAO	Food and Agriculture Organisation of the United Nations
Fm	maximale Fluoreszenz
Fo	minimale Fluoreszenz
Fv	variable Fluoreszenz
g	Gewicht in Gramm
Gew.%	Gewichtsprozent
h	Stunde(n)
$\lambda$	Wellenlänge [nm]
LUQS	Luftqualitätsüberwachungssystem NRW
M	Molar
MW	Mittelwert
n	Anzahl der Wiederholungen
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PAR	Photosynthetic Active Radiation
ppb	parts per billion [nl/l]
ppm	parts per million [ $\mu$ l/l]
SD	standard deviation / Standard Abweichung der Mittelwerte
SE	standard error / Standard Fehler der Mittelwerte
SPAD	Soil Plant Analysis Development
U/min	Umdrehungen pro Minute
Vol.%	Volumenprozent
VDI	Verband Deutscher Ingenieure
WK <sub>max.</sub>	Maximale Wasserkapazität

### Umrechnung der Ozonkonzentration:

Unter Normbedingungen (20 °C, 1013 hPa) ergibt sich für eine Ozonkonzentration von:

$$100 \mu\text{g}/\text{m}^3 = 47 \text{ nl/l} \quad 100 \mu\text{g}/\text{m}^3 = 47 \text{ ppb} \quad 100 \text{ ppb} = 214 \mu\text{g}/\text{m}^3$$

## 1 Einleitung

Die Bemühungen um die Gesunderhaltung von Kulturpflanzen sind so alt wie der Ackerbau selbst. Der ursprüngliche Glauben an das Übernatürliche wurde im 19. Jahrhundert von der analytischen, wissenschaftlichen Denkweise abgelöst und findet seine Fortentwicklung in der heutigen Ökosystemforschung. Ein Organismus ist danach in seiner Umwelt einer Vielzahl chemischer, physikalischer und biologischer Faktoren ausgesetzt, die seine Gesundheit und sein Wachstum mitbestimmen. Treten außergewöhnlich starke Abweichungen in Größe oder Intensität dieser Umweltfaktoren von der Norm auf, so können sie zu belastenden Stressfaktoren werden (ZOEGER et al. 1992). Stressbewältigung ermöglicht ein Überleben des Individuums, fordert jedoch ihren Preis in Form von Einbußen des Wachstums, der Entwicklung und der Reproduktion (EPSTEIN 1984). Es wird zwischen biotischem und abiotischem Stress unterschieden. Während biotischer Stress zum Beispiel durch intra- oder interspezifische Konkurrenz ausgelöst werden kann, zählen extreme Ausprägungen unbelebter Faktoren wie Temperatur, Licht, Feuchtigkeit, Nährstoffversorgung und Gaskonzentration zu den abiotischen Stressursachen. Abhängig von Art, Dauer sowie Zeitpunkt der Einwirkung können die Belastungen als prädisponierend, auslösend oder als mitbestimmend für einen anderen Zielorganismus eingeordnet werden (MANION 1981, MATYSSEK 1998). Das Zusammenwirken verschiedener Stressfaktoren führt zu einem Schadursachenkomplex, wobei je nach Ort und Zeit der eine oder andere Stressfaktor besondere Bedeutung haben kann (NIENHAUS 1989, HAVRANEK & WIESER 1998). Die Wirkung der Stresskombinationen kann additiv, antagonistisch oder synergistisch sein (AYRES 1984, SCHLEE & KÖCK 1987, VDI 2000).

### Ozon-Entstehung

Mit zunehmender Industrialisierung nahmen die anthropogenen Umweltfaktoren zu. Vor allem Immissionen, zum Beispiel Gase, Dämpfe und Rauch, gelten als wichtige abiotische Stressfaktoren, die nicht durch ackerbauliche Maßnahmen beeinflusst werden können. Dabei gilt das gasförmige Ozon ( $O_3$ ) mittlerweile als eine der Hauptkomponenten mit erheblicher direkter und indirekter Wirkung auf die Pflanzengesundheit (KRUPA & MANNING 1988, FUHRER 2000). Es ist neben Fluor das stärkste Oxidationsmittel und wird industriell als Bleichmittel und zur Desinfektion verwendet.

In der Atmosphäre unterscheidet man stratosphärisches Ozon in 12 - 30 km Höhe von troposphärischem Ozon in 0 - 12 km Höhe. Durch eine Änderung der natürlichen Ozonkonzentration in diesen beiden Schichten können schwerwiegende und langfristige Auswirkungen auf die Lebensbedingungen von Menschen, Flora und Fauna auftreten (MATYSSEK 1998). Stratosphärisches Ozon wird in erheblichem Maße durch die anthropogene Freisetzung von FCKW (Fluorchlorkohlenwasserstoff) zerstört. Dies führt zum sogenannten 'Ozonloch' über den Polkappen und damit verbunden zu einer erhöhten UV-B-Einstrahlung in die Troposphäre. Folgewirkungen für Mensch und Natur sind vor allem eine erhöhte Hautkrebsgefahr und ein verändertes Artenspektrum (TIEDEMANN 1996 b, DAVISON & BARNES 1998, SANDERMANN 2001).

In den bodennahen, troposphärischen Luftschichten dagegen tritt im Sommer immer häufiger eine Erhöhung der Ozonkonzentration auf, die als 'Sommersmog' bekannt ist. Dieses troposphärisches Ozon gilt weltweit als die großflächig bedeutsamste und am meisten pflanzenschädigende Komponente in der Luft (KRUPA et al. 2001). Seit Beginn des 20. Jahrhunderts stieg die durchschnittliche Ozonkonzentration in den mittleren Breiten der Nordhalbkugel exponentiell um 1 - 1,6 % pro Jahr an (ASHMORE & BELL 1991, MARENCO et al. 1994, STOCKWELL et al. 1997). Neben einer Zunahme der Gesamt-konzentration wird vor allem in urbanen Bereichen eine deutliche Ausprägung von Konzentrationsspitzen beobachtet, die an sonnigen Sommertagen Werte von 200 – 300  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  Ozon erreichen können (MATYSSEK 1998, STRAEHL & FILLIGER 1999, UMWELTBUNDESAMT 2000).

Auf natürlichem Weg entsteht troposphärisches Ozon in geringem Maße durch elektrische Entladungen bei Gewittern. Durch Einstromungsvorgänge aus der Stratosphäre gelangt ebenfalls ein geringfügiger Prozentsatz in tiefere Luftschichten (STRAEHL & FILLIGER 1999, SANDERMANN 2001). Der Großteil des bodennahen Ozons stammt jedoch aus anthropogenen Quellen. Das Schadgas wird nicht direkt emittiert, sondern entsteht bei der durch die Stickoxide NO und NO<sub>2</sub> katalysierten, photochemischen Oxidation von langkettigen Kohlenwasserstoffen. Reaktive, flüchtige organische Verbindungen (volatile organic compounds, VOC) sind für die Ozonbildung in den untersten Schichten der Troposphäre von ausschlaggebender Bedeutung, während in der freien Troposphäre vor allem die langlebigen Spurengase Kohlenmonoxid (CO) und Methan (CH<sub>4</sub>) für die Ozonbildung verantwortlich sind.

Die photochemische Ozonbildung in der Troposphäre wird in erster Linie von der Konzentration der Stickoxide ( $\text{NO}_x$ ) bestimmt (SYRI et al. 2001). Stickstoffmonoxid ( $\text{NO}$ ) wandelt sich in der Atmosphäre mit Luftsauerstoff ( $\text{O}_2$ ) zu Stickstoffdioxid ( $\text{NO}_2$ ) um. In den unteren Luftschichten erfolgt dann unter dem Einfluss kurzweiliger Strahlung (Sonnenlicht,  $\lambda < 400 \text{ nm}$ ) die Photolyse des  $\text{NO}_2$  zu Ozon. Der Ozonabbau findet nachts durch Reaktion der freien Sauerstoff-Radikale mit  $\text{NO}$  statt, das in diesem Falle auch als ‘ $\text{O}_3$ -Fänger’ (‘scavenger’) dient. In der Regel stellt sich in der Troposphäre ein Gleichgewicht zwischen  $\text{NO}_2$  und  $\text{O}_3$  ein. Der Ursprung der Stickoxide ist zu rund 70 % der Autoverkehr, während die VOC zu etwa 60 % von Industrie und Gewerbebetrieben freigesetzt werden (KUIK et al. 2000, UMWELTBUNDESAMT 2000). Die lokale Ozonbelastung einer Region wird folglich ganz wesentlich von der Quellencharakteristik (petrochemische Anlagen, Kfz-Verkehr und andere) bestimmt. Bei Inversionswetterlagen kann es jedoch zu Ozonansammlungen in der Atmosphäre kommen, die weite Strecken transportiert werden können. Unter bestimmten Voraussetzungen kommt es daher in emittentenerfernen, ländlichen Gebieten zu höheren mittleren Ozonkonzentrationen als in Ballungsgebieten (BENDER & WEIGEL 1995, STRAEHL & FILLIGER 1999).

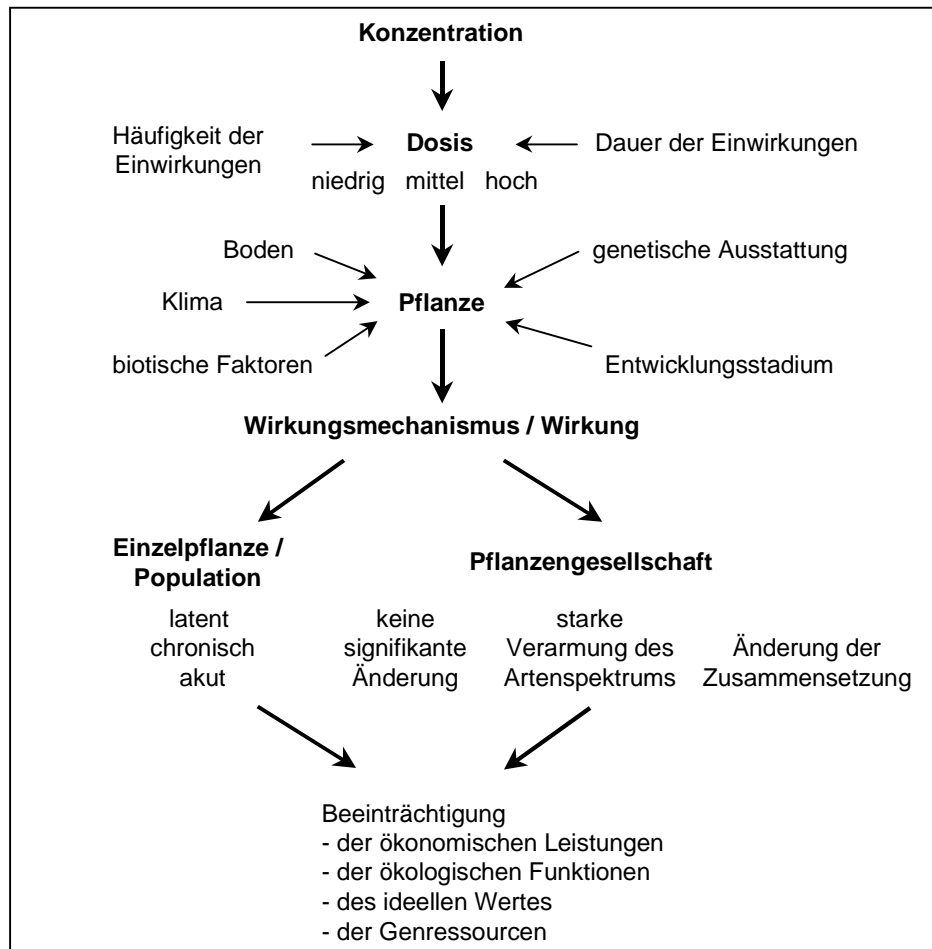
Neben dem aus den meteorologischen Bedingungen resultierenden Jahresgang weist die Ozonkonzentration aufgrund der komplexen Auf- und Abbaureaktionen ausgeprägte Tagesgänge mit erheblichen zeitlichen und örtlichen Konzentrationsschwankungen auf, wie sie bei keinem anderen phytotoxischen gasförmigen Luftschadstoff vorzufinden sind (DÄMMGEN & WEIGEL 1998). In den Ballungsräumen treten im Allgemeinen in den späten Nachmittags- bzw. frühen Abendstunden hohe Spitzenkonzentrationen auf. Ihnen folgt durch den erheblichen abendlichen Ausstoß von Stickstoffmonoxid ( $\text{NO}$ ) infolge des Autoverkehrs der fast vollständige nächtliche Ozonabbau. In ländlichen Gebieten und den Mittelgebirgslagen dagegen werden tagsüber zwar häufig niedrigere Spitzenkonzentrationen gemessen, jedoch stagnieren die Werte hier aufgrund des geringeren nächtlichen Ozonabbaus auf relativ hohem Niveau (FRANZARING et al. 2000, SYRI et al. 2001). Die unterschiedlichen Belastungssituationen und Höhenprofile in Deutschland lassen zudem einen deutlichen Nord-Süd-Gradienten erkennen. So sind der Südwesten und Süden Deutschlands infolge intensiver Sonneneinstrahlung insgesamt stärker durch hohe Ozonspitzenkonzentrationen belastet als Norddeutschland. An der Küste und im ländlichen Flachland sind insbesondere mittlere Ozonkonzentrationen zu verzeichnen (UMWELTBUNDESAMT 2000).

Die Komplexität der tatsächlichen Belastungssituation spiegelt sich in einer großen Zahl von Bewertungsmaßstäben wieder. Bei einer Vielzahl bisheriger Forschungsbemühungen fällt besonders der geringe Anteil von Untersuchungen auf, die ländliche Konzentrationsprofile mit vergleichsweise hohen nächtlichen Ozonkonzentrationen berücksichtigen. MATYSSEK (1998) unterstreicht deren Bedeutung mit dem Argument, dass die Ozonkonzentrationen während der Dämmerung in ländlichen Gebieten durchaus in einem Bereich von über 50 % der Tagesbelastung liegen können. Begründet wird dies in einem mangelnden Ozonabbau.

### **Wirkung auf Pflanzen**

Eine schädigende Wirkung des Ozons auf Pflanzen wurde bereits in den 50er Jahren des letzten Jahrhunderts erkannt (MIDDLETON et al. 1950). Wesentliche Faktoren für das Schadausmaß an der Pflanze sind die relative Empfindlichkeit der Art und Sorte, das entwicklungsphysiologische Stadium der Pflanze sowie die effektiv aufgenommene Dosis als Produkt aus Konzentration und Zeit (BENDER & WEIGEL 1995, BROADMEADOW 1998). Die Aufnahmemenge einer Pflanze kann nachts sehr hoch sein, da die Stomata bei Dunkelheit geöffnet sind und dann auch unvermeidlich Ozon aufgenommen wird. Das Zusammenwirken dieser Faktoren wird in Abbildung 1 beschrieben. Nach PÄÄKKÖNEN et al. (1997) sind die Einflussfaktoren für die Sortenempfindlichkeit jedoch noch nicht vollständig verstanden. Es wird indes ein Einfluss von physiologischen, anatomischen, biochemischen Faktoren und Umwelteinflüssen vermutet.

Der Eintritt von Ozon in die pflanzliche Zelle erfolgt, wie bei allen gasförmigen Stoffen, hauptsächlich über die Stomata. Die Aufnahmemenge wird über die Spaltöffnungsweite und die stomatäre Leitfähigkeit bestimmt (GRANDJEAN-GRIMM & FUHRER 1992, GRÜNHAGE et al. 1997). Eine Aufnahme über die Cuticula ist von untergeordneter Bedeutung (DÄMMGEN & WEIGEL 1998). Über die Stomata gelangt das Ozon in die Interzellularen des Blattmesophylls. Dort reagieren das Gas und seine oxidierenden Zerfallsprodukte primär mit den Zellwänden sowie den ihnen an der Innenseite anliegenden Zellmembranen (MATYSSEK 1998). Die Membranlipide und -proteine der Plasmamembran enthalten olefinische Doppelbindungen und Thiole, die durch Ozon oxidiert werden. In Folge dieser Membranschädigungen treten Veränderungen der pflanzlichen Biochemie und Physiologie auf. Stoffwechselstörungen und verminderte Photosyntheseleistung sind die Folgen (PELL et al. 1997, DÄMMGEN & WEIGEL 1998).



**Abb. 1:** Reaktionen von Pflanzen auf Luftverunreinigungen in Abhängigkeit von verschiedenen wirkungsbestimmenden Faktoren (in Anlehnung an GUDERIAN et al. 1985).

Makroskopisch sichtbare Ozonschäden an höheren Pflanzen sind morphologische Veränderungen (Zwergwuchs, Verkümmierungen, Blattepinastien), Verfärbungen, Chlorosen und Nekrosen. Weitere durch Ozon hervorgerufene Veränderungen an der Pflanze, wie vorzeitiger Blattfall und ein Absterben der Blüte, weisen starke Analogien zu Seneszenzeffekten auf (TIEDEMANN 1993, REICHENAUER et al. 1998, MILLER et al. 1999). Daneben konnten bei den verschiedensten landwirtschaftlichen Kulturen sowie im Waldbau Ertragseinbußen und Qualitätsminderungen in Folge der Reduktion der Nettphotosynthese durch Ozonimmissionen festgestellt werden (HEAGLE 1989, PLEIJEL et al. 1997, GUIDI et al. 2000). Nach aktuellen Schätzungen könnten allein in der niederländischen Landwirtschaft durch die Reduktion der Ozonkonzentration auf die natürliche Hintergrundkonzentration ein jährlicher Mehrgewinn von insgesamt bis zu 310 Millionen Euro erwirtschaftet werden (KUIK et al. 2000).

Für Weizen werden die direkten Ertragsverluste durch Ozon in Europa auf etwa 1,5 Milliarden Euro geschätzt (MILLS et al. 2000). In der Weltproduktion steht Weizen noch vor Mais und Reis an erster Stelle (FAO 1982). Bei einer Anbaufläche von 222 Millionen Hektar beträgt die weltweite Produktion von Weizen derzeit etwa 600 Millionen Tonnen (FAO 1994, RAJARAM 1999). Der Anteil Westeuropas an der Gesamtfläche entspricht etwa 8 % (VERREET et al. 2000). Weizen als ursprünglich in Vorderasien beheimatete Kulturpflanze wurde in Europa bereits seit dem Jahre 800 v.Chr. in unterschiedlicher Intensität zusammen mit anderen Getreidearten wie Emmer, Dinkel, Hirse und Gerste angebaut. Er ist damit eine der ältesten, heute noch angebauten Getreidearten. In Deutschland nimmt Weizen hinsichtlich der Anbaufläche und Produktion unter allen Getreidearten die Spitzenstellung ein. Züchterische Ziele werden an der monokotyledonen Pflanze jedoch bislang vor allem mit klassischen Methoden umgesetzt. Im Gegensatz zu zweikeimblättrigen Kulturpflanzen ist die biotechnologische Veränderung von Gräsern noch immer schwierig, obwohl in jüngster Zeit bei Reis und Mais deutliche Fortschritte in der Gentransformation verzeichnet werden konnten (PEERENBOOM 1996). Die Kenntnis und Ausnutzung bereits bestehender Sortenunterschiede auch in Bezug auf pflanzliche Inhaltsstoffe und Reaktionen gegenüber Umwelt- und Stressfaktoren gewinnen dadurch zusätzlich an Bedeutung. Nach einer Klassifizierung des VDI (2000), welche die relative Empfindlichkeit von landwirtschaftlichen Kulturpflanzen gegenüber Ozon beurteilt, wird Weizen neben Klee, Hafer, Kartoffeln und einigen Gemüsearten zu den besonders empfindlichen Pflanzenarten gerechnet.

Reaktive, gasförmige Immissionen können von der Pflanze durch eine Vielzahl von Reparatur- und Entgiftungsmechanismen detoxifiziert werden. Zu den wichtigsten Schutzsystemen pflanzlicher Zellen gegen aktive Sauerstoffspezies gehören Enzyme und nicht enzymatische 'Scavenger' wie Ascorbat, Glutathion, Tocopherole und Carotinoide (ELSTNER 1988, POLLE 1997, MATYSSEK 1998, SAIRAM & SAXENA 2000). Ascorbat und Glutathion spielen bei der Detoxifikation vor allem in wässrigem Milieu eine bedeutende Rolle, während Tocopherole und Carotinoide vorwiegend in der lipophilen Phase wirken (FOYER 1994, FRYER 1992, SCHMITZ & NOGA 1997).

Aktivierete Formen von Sauerstoff gelangen jedoch nicht nur von außen in die Pflanze, sondern können auch endogen, zum Beispiel bei der Biosynthese von komplexen Molekülen oder bei einem Pathogenbefall entstehen. Für Pflanzen ist daher nicht die vollständige Eliminierung dieser Stoffe notwendig, sondern die Kontrolle und Bewältigung der möglichen Auswirkungen durch Kompartimentierung, Reparatur und Entgiftung (MCKERSIE 1994, MUSSELMAN & MASSMAN, 1999). Aktive Reparatur und Entgiftung bedeuten einen hohen Bedarf an Assimilaten und Energie. Regeneration, Entgiftung und Metabolismus sind somit stark an den physiologischen Gesamtzustand der Pflanze gebunden. Dieser wird vom Genotyp und sekundären Faktoren wie Pathogenbefall, Entwicklungsstadium, Wasserversorgung und Ernährungsstatus beeinflusst (KRAUS et al. 1995, GRÜNHAGE & HAENEL 1997, MATYSSEK 1998). Unter Stresssituationen kann die Produktion von aktiven Sauerstoffspezies die Detoxifikationskapazität der Pflanze übersteigen (SCHMITZ & NOGA 1997).

Neuere Untersuchungen weisen deutlich auf Wechselwirkungen zwischen abiotischem und biotischem Stress wie Ozon und Pathogenbefall hin (ALSCHER et al. 1997, VANACKER et al. 1998, PFLEEGER et al. 1999, TIEDEMANN & FIERSCHE 2000). Pflanzeninterne Signale, die durch Ozonstress ausgelöst werden, ähneln solchen Reaktionen, die eine Infektion mit Pathogenen hervorruft (MEHDY et al. 1996, SCHRAUDNER et al. 1997). In Folge können regulatorische Antworten der Genexpression stattfinden, die ebenso auch durch eine Vielzahl anderer oxidativer Stressoren, wie beispielsweise UV-Strahlung oder Verwundung, verursacht werden (SKÄRBY et al. 1998). Es stellt sich die Frage, ob sortenspezifische Aktivitäten des antioxidativen Abwehrsystems einerseits oder die spezifische physiologische Pflanzenantwort auf eine Ozonexposition andererseits einen Konkurrenzvorteil in Hinblick auf den Pathogenbefall darstellen können.

Eine sichere Aussage über die pflanzlichen Schutzmechanismen in Bezug auf Wechselwirkungen zwischen abiotischem Stress und Pathogenbefall ist zur Zeit allerdings problematisch (MASSMAN et al. 2000). In den wenigen bisher vorliegenden Untersuchungen konnten infolge von abiotischem Stress sowohl Zu- als auch Abnahmen der Konzentration antioxidativ wirkender Metabolite bzw. Enzyme nachgewiesen werden (z.B. SKÄRBY et al. 1998). Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen unterschiedlicher Arten- und Sortenempfindlichkeit gegenüber Ozon und den Gehalten bzw. Aktivitäten dieser Antioxidantien ist bisher noch nicht nachgewiesen (TORSETHAUGEN et al. 1997, MASSMAN et al. 2000).



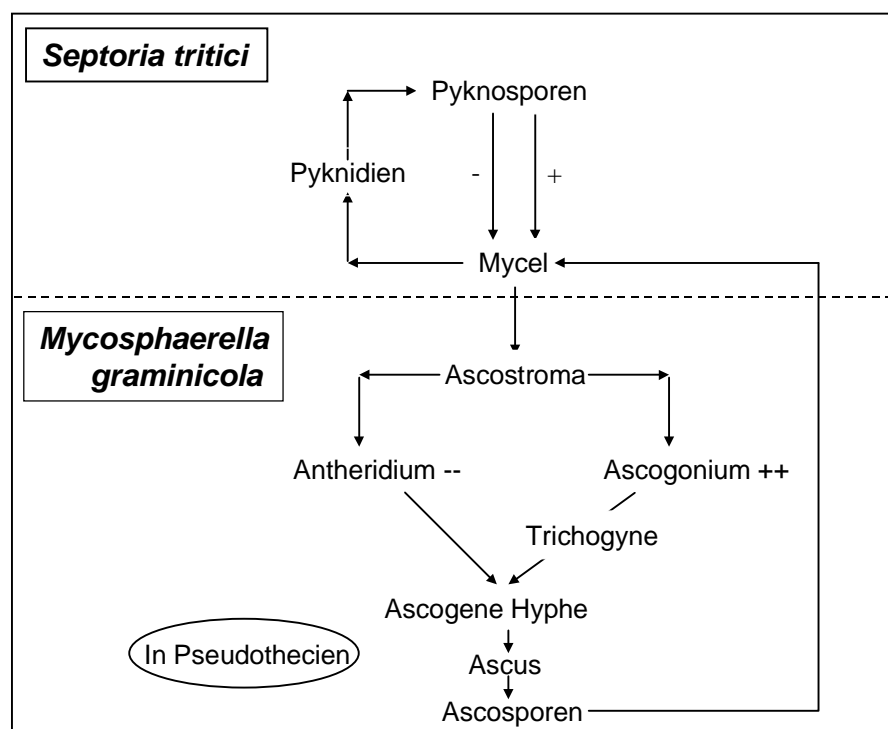
## Wirkung auf Pathogene

Änderungen der abiotischen Umweltfaktoren können sich auch auf die Prädisposition von Pflanzen gegenüber Pathogenbefall auswirken (BELL et al. 1993, COAKLEY 1995, SCHERM & YANG 1995). SANDERMANN et al. (1998) konnten ozoninduzierte Resistenzmechanismen beobachten. Eine Verstärkung der Schadwirkung abiotischer Faktoren und eine Verminderung der Kompensationsfähigkeit der Pflanzen sind jedoch ebenfalls möglich. Auch können Veränderungen an Pflanzen, die nur indirekt auf den Einfluss von Ozon zurückgeführt werden können, wesentlich schwerer erfasst werden als direkte Effekte. Hierzu zählt unter anderem auch die veränderte Anfälligkeit gegenüber biotischen Stressfaktoren wie dem Befall mit Viren, Bakterien, phytopathogenen Pilzen oder Insekten (BELL et al. 1993, MANNING & TIEDEMANN 1995, KLUMP et al. 2000, VEIT et al. 2000). Solche Auswirkungen von Ozonimmissionen wurden schon bald nach Entdeckung der akuten Pflanzenschäden durch Ozon beschrieben (MANNING et al. 1969, KRAUSE & WEIDENSAUL 1978). Besondere Bedeutung kommt hierbei den pilzlichen Krankheitserregern zu. Diese besitzen durch ihre weltweite Verbreitung und der großen Bandbreite an Wirtspflanzen eine hohe ökonomische Bedeutung.

Ozon kann auf die Wirtspflanze, den Schaderreger oder beide Organismen einwirken. In Abhängigkeit von der Pflanzenart, der Sorte, der Nährstoffversorgung, dem Zeitpunkt und der Dauer der Ozonexposition sowie dem Pathogen selbst können die Auswirkungen auf Pflanzen sehr unterschiedlich sein (BELL et al. 1993). Grundsätzlich konnte in Untersuchungen in 'Open-Top-Kammern' und in *in vitro*-Untersuchungen festgestellt werden, dass in Abhängigkeit von Erreger und Ozon-Immissionsverlauf sowohl fördernde als auch hemmende Wirkungen auf den Befall auftreten können (TIEDEMANN 1996, KAHN & KAHN 1999, TIEDEMANN & FIRSCHING 2000). Während für biotrophe Pilze eine durch Ozon reduzierte Befallsintensität angenommen wird, gehen BELL et al. (1993) davon aus, dass für nicht-biotrophe Organismen sowohl eine Erhöhung als auch eine Reduktion des Befalls möglich ist. Eine zunehmende Anfälligkeit wird vor allem auf ozonbedingte Veränderungen der pflanzlichen Membranen zurückgeführt, während eine abnehmende Anfälligkeit unter anderem mit ozoninduzierten Resistenzmechanismen begründet wird (RIST & LORBEER 1984, KANGASJÄRVI 1994). Untersuchungen zum Einfluss des Ozon-Immissionsmusters bzw. Vergleiche von typisch ländlichen und städtischen Immissionsprofilen in Bezug auf den Pathogenbefall liegen bisher nicht vor.

***Mycosphaerella graminicola* - *Septoria tritici***

Unter den pilzlichen Pathogenen hat *Septoria tritici* (ROB. ex DESM.) neben *S. nodorum* (BERK.) an dem als ozonsensitiv geltenden Weizen an Bedeutung gewonnen. Der Erreger der Blattdürre, *S. tritici*, gehört in der Abteilung *Eumycota* der Unterabteilung *Deuteromycotina* (ehem. *Fungi imperfecti*) an, die mit etwa 1800 Gattungen etwa 30 % der beschriebenen Pilze umfasst. Bei den zugehörigen Arten ist eine Hauptfruchtform (Sexualstadium) nicht bekannt oder nicht existent. Daneben werden dieser Unterabteilung auch Pilze zugerechnet, die in der Praxis meist nur in Konidienform erkannt werden oder bei denen ausschließlich die Nebenfruchtform für die Entwicklung von Bedeutung ist. Für *S. tritici* konnte die Hauptfruchtform *Mycosphaerella graminicola* (FUCKEL) SCHROETER bestimmt werden. Der Erreger befällt hauptsächlich Weizen. An Gerste, Roggen und Hafer tritt er seltener auf. Zahlreiche Wildgräser wie *Bromus* sp., *Festuca* sp. und *Poa* sp. gelten als Nebenwirte und Quellen für frühe Winterinfektionen. *M. graminicola* wird als Inokulumquelle für die Erstinfektion im Herbst angesehen, während die Folgeinfektionen im Vegetationsverlauf, und damit die höhere wirtschaftliche Bedeutung, von *S. tritici* ausgehen. Der Entwicklungszyklus des Pathogens wird in vereinfachter Form in Abbildung 2 dargestellt.



**Abb. 2:** Entwicklungsschema des Erregers der Blattdürre *Mycosphaerella graminicola* (Anamorph: *Septoria tritici*).

Der weltweit bedeutende Erreger verursacht nekrotische Blattflecken, die dunkelbraune bis schwarze Pyknidien enthalten (VERREET 1995). Der perthotrophe Pilz zerstört das Blattgewebe und führt damit zu einer Verminderung der Photosynthesefläche, daneben wird eine vorzeitige Seneszenz des Blattes bzw. der Pflanze induziert (MAGBOUL et al. 1992, ZUCKERMANN et al. 1997). Der Befall der oberen, für die Kornfüllung bedeutenden Pflanzenorgane hat häufig hohe Ertragsverluste zur Folge, die sich vor allem auf das Einzelkorngewicht auswirken (KING et al. 1983). Die Überdauerung des Pathogens erfolgt als Mycel auf Ernterückständen. Pykno­sporen werden durch Regenspritzer und Wind verbreitet. Bei anhaltender Blatt­nässe und einem Temperaturoptimum von 15 - 25 °C werden die Weizenblätter infiziert. Ursprünglich vor allem in Küstengebieten vor­kommend, wird das Pathogen in Deutschland nun auch häufiger in südlicheren Bereichen nachgewiesen (FORRER & ZADOKS 1983, MEIEN-VOGELER et al. 1994). Als Ursache der zunehmenden Verbreitung wird vor allem die geänderte landwirtschaftliche Praxis angesehen. So ist bei einer kürzeren Fruchtfolge eine deutliche Zunahme von Getreide zu beobachten. Hohe Stickstoffgaben, dichtere Pflanzenbestände, die Verwendung von Halmverkürzern und kurzstrohigen Sorten führen ebenfalls zu einer Förderung des Pathogens (DANON et al. 1982, VERREET et al. 2000). Weniger anfällige Sorten zeichnen sich unter anderem durch reduzierte Läsionenzahl und -größe, geringere Anzahl an Pyknidien und eine verlangsamte Infektionsrate aus (SHEARER 1976, EYAL et al. 1987, BALLANTYNE & THOMSON 1995, LOUGHMAN et al. 1996). Neben der Durchführung von ackerbaulichen Maßnahmen erfolgt die Bekämpfung hauptsächlich mit Fungiziden (VERREET et al. 2000). Nach einer präinokulativen Ozonexposition bei einem für städtische Randlagen typischen Immissionsmuster mit Spitzenwerten von 120 µg/m<sup>3</sup> und 180 µg/m<sup>3</sup> (7h / Tag, 7 Tage) und anschließender Inokulation von Weizen mit *S. tritici* konnte eine erhöhte Sporulation des Pathogens beobachtet werden (TIEDEMANN et al. 1990).

### **Ziele und Fragestellung**

Ziel der Arbeit war es, in Modellversuchen in Expositions­kammern Weizen unter definierten Schadgasbedingungen zu exponieren. Die Untersuchungen erfolgten in der Expositionsanlage des Landesumweltamtes NRW in Essen. Zunächst sollte geprüft werden, inwieweit die Wirkung einer Ozonexposition bei Weizen vom Konzentrationsverlauf abhängt.

Die Ozonbelastung sollte sich an Konzentrationen orientieren, die für ländliche und städtische Regionen in Mitteleuropa typisch sind und die somit bei der Erstellung von nationalen und internationalen Richt- und Grenzwerten besondere Berücksichtigung finden sollten. Wirkungen der Ozonbelastung waren anhand der sichtbaren Blattschäden, der Photosyntheseaktivität, des Wachstums und des Kornertrages zu dokumentieren. Für eine bessere Übertragbarkeit der Ergebnisse auf Praxisbedingungen galt es daneben sortenspezifische Reaktionen zu charakterisieren. Aufgrund der großen Bedeutung pilzlicher Pathogene in der Landwirtschaft, wurde in einem zweiten Schritt die Prädisposition ozonexponierter Weizenpflanzen für eine Infektion mit *Septoria tritici* untersucht. Die Wirkung der Ozonbelastung und des Befalls mit *S. tritici* sollte anhand von physiologischen Parametern sowie des Ertrages der Weizenpflanzen beurteilt werden. Weiterhin sollte die Bedeutung des Ozon-Immissionsmusters für den Befall der Weizenpflanzen mit *S. tritici* eingehend beschrieben werden. Die Bestimmung pflanzeneigener Antioxidantien sollte abschließend klären, ob Sortenunterschiede in der Ozonsensitivität bzw. der Anfälligkeit gegenüber *S. tritici* in der genetischen Ausstattung der jeweiligen Sorten mit antioxidativen Substanzen begründet sind.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Versuchsorganismen

#### 2.1.1 Weizen

Als Versuchsmaterial diente Sommerweizen (*Triticum aestivum* L.) der Sorten ‘Nandu’, ‘Picolo’ und ‘Quattro’ sowie die Winterweizen-Sorten (*Triticum aestivum* L.) ‘Contra’ und ‘Ritmo’ (Tab. 1)<sup>1</sup>.

**Tab. 1:** Merkmale der verwendeten Weizensorten (1: gering ausgeprägt, 9: stark ausgeprägt, A: Qualitätsweizen, B: Brotweizen, K: Kekswweizen; Bundessortenamt ANONYM 1996, 1999).

Sorten- Bezeichnung	Anfälligkeit für <i>M. graminicola</i>	Ertragseigenschaften			Qualitäts- gruppe
		Kornzahl pro Ähre	Tausendkorn- gewicht (TKG)	Kornertrag	
Sommerweizen					
Nandu	5	5	7	7	A
Picolo	6	6	5	8	A
Quattro	3	5	6	7	A
Winterweizen					
Contra	6	8	4	7	K
Ritmo	5	7	5	6	B

#### 2.1.2 *Mycosphaerella graminicola* - *Septoria tritici*

Es wurde in allen Untersuchungen die Nebenfruchtform *Septoria tritici* (ROB. EX DESM.) des Erregers der Blattdürre *Mycosphaerella graminicola* (FUCKEL) SCHROETER verwendet.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Das Saatgut wurde freundlicherweise von der Firma Saaten Union, Isernhagen (‘Picolo’), der Firma Saaten-Ring von Rümker KG, Geußenheim (‘Quattro’) und der Landwirtschaftskammer Rheinland (‘Contra’, ‘Nandu’, ‘Ritmo’) zur Verfügung gestellt.

<sup>2</sup> Die Isolate wurden freundlicherweise von Herrn Dr. Mielke, Biologische Bundesanstalt Braunschweig und Herrn Prof. Wolf, Georg-August-Universität Göttingen, zur Verfügung gestellt.

## 2.2 Anzucht und Kultivierung

### 2.2.1 Weizen

Die Anzucht der Weizenpflanzen erfolgte in einem Substrat aus Einheitserde (ED 73, Gebr. Patzer GmbH & Co. KG, Sinntal-Jossa) und Sand im Verhältnis 4:1. Das Gemisch besaß eine maximale Wasserkapazität von  $WK_{\max.} = 172,7$  (Gew. %). Die Körner wurden einzeln 1,5 cm tief in Hartplastikröhrchen ( $\varnothing$  4,2 cm, Höhe 20 cm) ausgesät, die zur gleichmäßigen Bewässerung am unteren Ende mit einem saugfähigen, hydrophilen Schaumstoffstopfen verschlossen wurden. Je 15 dieser Röhrchen wurden in einem Topf (24,5 x 24,5 x 24,5 cm) zusammengestellt. Durch Kultivierung des Weizens in Röhrchen sollten Wechselwirkungen zwischen den Pflanzen weitestgehend vermieden werden. Gleichzeitig hat sich das beschriebene System dahingehend bewährt, dass die Entnahme einzelner Pflanzen zur Bestimmung von Wachstums- oder Befallsparametern erleichtert wird, ohne dass dabei die Bedingungen für die übrigen Pflanzen eines Topfes in unnötigem Maße verändert werden. Eine Düngung der Pflanzen erfolgte dreimal mit Hakaphos<sup>®</sup>-Lösung (BASF, N:P:K:Mg im Verhältnis 15:10:15:2). Der Einsatz von Pflanzenschutzmitteln gegen Aphiden erfolgte bis zwei Wochen vor Ozonexposition mit Decis<sup>®</sup> (Deltamethrin, 0,05 %, Aventis). Die Bekämpfung von Echtem Mehltau erfolgte prophylaktisch entweder einmal pro Woche über Nacht mit einem Schwefelverdampfer (Kombiverdampfer Fleur ami R<sup>®</sup>, Syngenta) oder alle zehn Tage mit MilgoE<sup>®</sup> (Ethirimol, 0,2 %, Syngenta) über das Gießwasser.

Für Untersuchungen in Vertikalströmungskammern (Kap.2.6.1) wurden die Weizenpflanzen bei 18 - 20 °C und 65 - 75 % relativer Luftfeuchte in randomisierter Aufstellung im Gewächshaus angezogen. Die Beleuchtung erfolgte mit Quecksilberdampf-Lampen ( $110 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ , ca. 10.000 Lux) für 16 Stunden pro Tag. In den Expositions-kammern betrug die Tag/Nacht-Temperatur 20/18 °C bei einer relativen Luftfeuchte von 75 %. Die Anzucht der Weizenpflanzen, die in den Expositions-kammern der Außenanlage (Kap. 2.6.2) des Landesumweltamtes in Essen-Kettwig eingesetzt wurden, erfolgte ohne Kunstlicht im Gewächshaus in randomisierter Aufstellung und unter Aktivkohle gefilterter Außenluft. Die Temperatur betrug im Tagesmittel 20 - 30 °C bei einer relativen Luftfeuchte von 60 - 80 %. Während der Ozonexposition betrug die Tag/Nacht-Temperatur in den Expositions-kammern  $25/17 \text{ °C} \pm 5 \text{ °C}$ .

## 2.2.2 *Mycosphaerella graminicola* - *Septoria tritici*

### 2.2.2.1 Herstellung von Dauerkulturen

Für die Herstellung von Dauerkulturen wurden Kulturen der imperfekten Form von *Mycosphaerella graminicola* (= *Septoria tritici*) in Abständen von sechs Monaten auf synthetisch nährstoffarmen Agar übertragen und nach circa drei Wochen erneut mikroskopisch identifiziert. Bei Reinheit erfolgte die Aufbewahrung der Organismen bei 6 °C. Zur Erhaltung der Virulenz wurde nach jeder zweiten Sporenanzucht eine Wirtspassage auf jungen Weizenpflanzen durchgeführt. Ausreichend mit *S. tritici* infizierte Blätter wurden für zwei Minuten mit Natriumhypochlorid (NaOCl, 1,3 Vol.%) oberflächlich desinfiziert und nach zweimaligem Spülen mit sterilem Wasser (zwei Minuten) in einer feuchten Kammer inkubiert. Nach 24 Stunden wurden Sporen aus den Pyknidien mit einer sterilen Impföse abgenommen und auf Karottensaft-Agar übertragen. Gut angewachsene Kulturen wurden mikroskopisch überprüft und in wiederholten Wirtspassagen bis hin zur Reinkultur von *S. tritici* überimpft. Stammkulturen wurden bei -80 °C tiefgefroren.

### 2.2.2.2 Kulturmedien

Die Kulturmedien wurden bei 121 °C und 1 bar für 20 Minuten autoklaviert. Folgende Kultursubstrate fanden Verwendung:

#### Karottensaft-Agar (nach MEIEN-VOGELER 1994)

Karottensaft (Fa. Hipp)	500 ml
Aqua <small>bidest.</small>	500 ml
Agar	20 g

#### Synthetisch nährstoffarmer Agar (nach NIERENBERG 1976)

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 g
KNO <sub>3</sub>	1 g
MgSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O	1 g
KCl	0,5 g
Glucose	0,2 g
Saccharose	0,2 g
Aqua <small>bidest.</small>	ad 1000 ml
Agar	20 g

## 2.3 Inokulation

### 2.3.1 Herstellung der Sporensuspension

Das Inokulum-Material wurde von Pilzkulturen auf Karottensaft-Agar gewonnen. Zuerst wurden Dauerkulturen von *Septoria tritici*, die auf synthetisch nährstoffarmem Agar gewachsen waren, auf Karottensaft-Agar übertragen. Nach durchschnittlich 10 - 12 Tagen Inkubation bei 18 - 22 °C unter Schwarzlicht (12 h/d) bildeten die Kulturen eine ausreichende Menge an Sporen. Zu diesem Zeitpunkt wurde der vollständig mit *S. tritici* bewachsene Agar mit 15 ml sterilem Aqua <sub>demin.</sub> überschichtet. Nach 30 Minuten Queldauer konnten die Sporen mit einem sterilen Spatel vom Agar abgeschwemmt werden. Das Pilzmycel wurde anschließend durch Filtration über eine doppelte Mulllage von den Sporen abgetrennt und die Sporendichte mit einer Fuchs-Rosenthal-Kammer bestimmt. Durch Verdünnen der Sporensuspension mit sterilem Wasser wurde eine Konzentration von 10<sup>6</sup> Sporen/ml eingestellt.

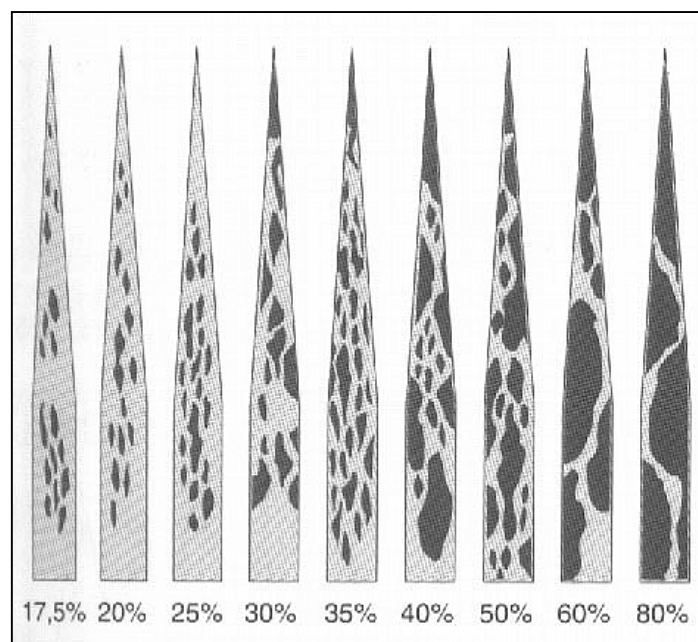
### 2.3.2 Inokulation

Die Inokulation der Weizenpflanzen mit *S. tritici* erfolgte direkt nach dem Ende der Ozonexposition. Untersuchungen in den Vertikalströmungskammern wurden vor der Bestockung, zu BBCH 14 - 22 durchgeführt, die Exposition in den Kammern der Außenanlage in Essen-Kettwig erfolgte während der Blüte, im Stadium BBCH 59 - 65. Je 100 ml der Sporensuspension wurden mit 2 Tropfen des Netzmittels TWEEN 20 (Merck) versehen. Dies entspricht etwa einer 0,04% igen Lösung. Pro Topf wurden 40 ml der Suspension mit einem Handsprüher auf die Fahnenblätter und die Blattetage F-1 aufgetragen, bis diese vollständig benetzt waren. Die Inokulation erfolgte jeweils am frühen Abend. Zur Erhaltung einer relativen Luftfeuchte von mehr als 90 % wurden die Pflanzen für die Dauer von 72 Stunden mit einer PE-Tüte (60 x 50 cm) bedeckt und in schattierten Kammern inkubiert. Zur Verbesserung der Inkubationsbedingungen erfolgte anschließend einmal täglich eine Beregnung der Weizenpflanzen für die Dauer einer halben Stunde, die zu einer vollständigen Benetzung der Pflanzen mit Wasser führte. Die Kontrollpflanzen wurden unter den gleichen Bedingungen mit sterilem Leitungswasser behandelt.



## 2.4 Befallsbewertung von *Septoria tritici*

Die durch *Septoria tritici* bedingten Blattschäden wurden mit einem nicht linearen Boniturschema nach VERREET (1985) erfasst (Abb. 3). Mit dem ersten Auftreten von Pyknidien wurde der prozentuale Anteil nekrotischer Blattfläche mit Pyknidien durch visuelle Schätzung ermittelt. Je Immissionsmuster wurden jeweils 40 Fahnenblättern über einen Zeitraum von zwei Wochen alle zwei Tage bonitiert. Zur Bestätigung der makroskopischen Diagnostik wurde stichprobenartig die Pyknidienzahl befallener Blattstücke mit Hilfe eines Binokulars ausgezählt und auf eine Blattfläche von 1 cm<sup>2</sup> hochgerechnet. Die Blattfläche wurde mit einem Blattflächenmessgerät (LI-3000A, LICOR, Nebraska, USA) an je 20 Pflanzen pro Immissionsmuster ermittelt.



**Abb. 3:** Boniturskala zur Bewertung von *Septoria tritici* an Weizenblättern (VERREET 1985).

## 2.5 Lichtmikroskopische Untersuchungen des Infektionsverlaufes von *Septoria tritici*

Für jedes Ozon-Immissionsmuster, jeden Erntezeitpunkt und jede Sorte wurden jeweils 20 - 30 Blattproben mit Hilfe eines Leitz DMRP Photomikroskops (Leica, Bensheim) ausgewertet. Das Mikroskop war mit PL Fluotar Objektiven mit 5-, 10-, 20-, 40- und 100-facher Vergrößerung ausgestattet. Für jedes Immissionsmuster wurden der prozentuale Anteil des Mycels auf der Epidermis, des Mycels im Mesophyll und der nekrotischen Mesophyllzellen bonitiert. Zusätzlich wurden Anzahl und Größe der Pyknidien bestimmt. Zur Dokumentation diente ein Videoaufsatz (HV-C20A, Hitachi) mit einer speziellen Software (Discus® Version 4.20, Hilgers, Königswinter).

### 2.5.1 Probenahme und Fixierung

Die Blattproben der Fahnenblätter wurden 1, 3, 6, 14, 21 und 28 Tage nach der Inokulation der Weizenpflanzen mit *Septoria tritici* geerntet und lichtmikroskopisch untersucht. Diese Blattproben wurden in ca. 0,5 x 0,5 cm große Stücke geschnitten und bei Raumtemperatur bis zur vollständigen Entfärbung mit Chloralhydratlösung fixiert (250 g/100 ml Aqua demin). Die vollständige Aufhellung des Blattmaterials war Voraussetzung für die spätere mikroskopische Auswertung.

### 2.5.2 Färbung

Die Beobachtung des Pilzwachstums im Blattgewebe erfolgte nach einer 1,5-stündigen Lactophenol-Anilinblau-Färbung des Blattmaterials (MCLEAN & TOMMERUP 1979). Mikroskopie und Aufbewahrung erfolgten in 50% igem Glycerinwasser.

#### Lactophenol-Anilinblau-Färbelösung:

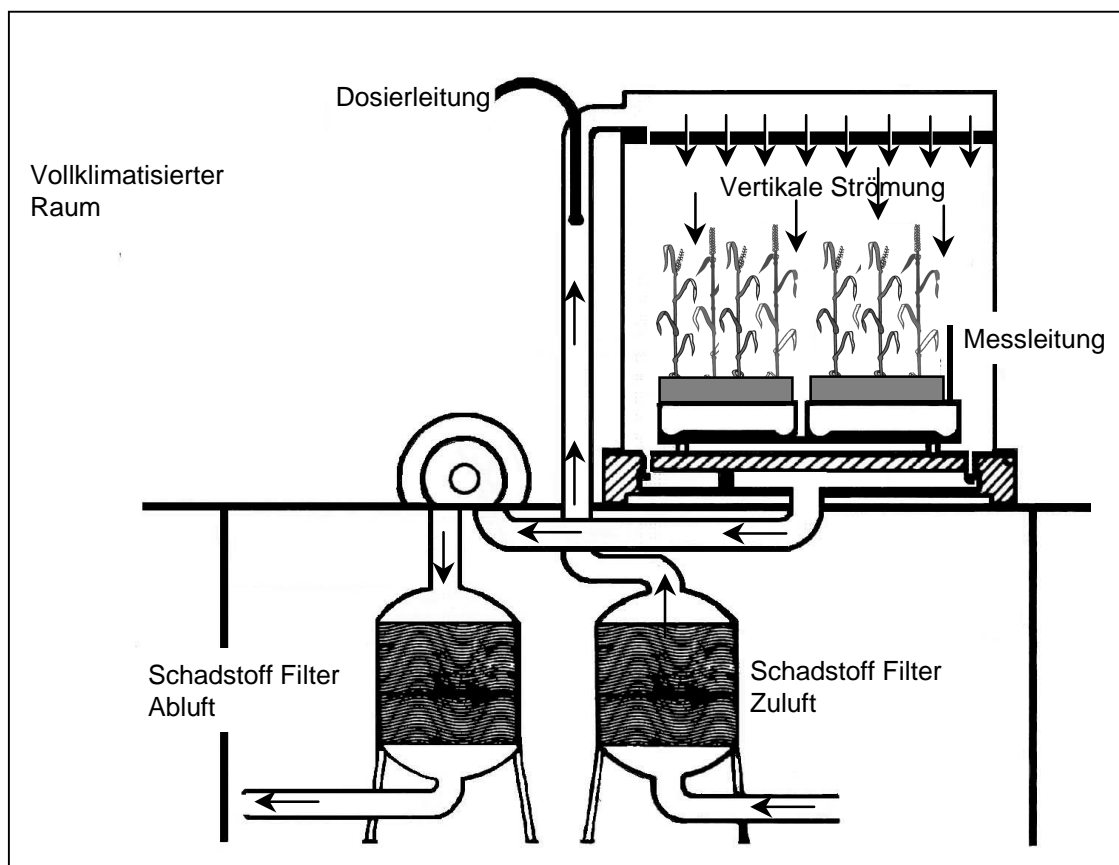
Phenol	10 ml
Glycerin	10 ml
Milchsäure	10 ml
Aqua bidest.	10 ml
Anilinblau	0,02 g

## 2.6 Versuchsanlage zur Ozonexposition von Weizenpflanzen

### 2.6.1 Vertikalströmungskammern

#### 2.6.1.1 Kammertechnik

Die Exposition von Weizenpflanzen vor der Bestockung und die Untersuchungen bei konstanten Ozonkonzentrationen ( $0\mu\text{g}/\text{m}^3$ ,  $100\mu\text{g}/\text{m}^3$ ,  $200\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) erfolgten in Vertikalströmungskammern des Landesumweltamtes NRW (Abb. 4). Im Gegensatz zu den Expositionskammern der Außenanlage in Essen-Kettwig konnten die Pflanzen in diesem Expositionssystem unter definierten Klimabedingungen exponiert werden. Dies ermöglichte die Durchführung von Expositionsversuchen auch während der Wintermonate.



**Abb. 4:** Schematischer Aufbau der Vertikalströmungskammern.

### 2.6.1.2 Dosier- und Messtechnik

Die Expositionskammern mit einem Volumen von jeweils 0,5 m<sup>3</sup> sind in einem voll klimatisierten Gewächshaus installiert. Die Zuluft wird über eine Gas- und Staubfilteranlage (Aktivkohle, Purafil®) angesaugt, die bei gleichbleibender Kohlendioxid-Konzentration für den Ausschluss von natürlichem Ozon, Stickoxiden und Schwefeldioxid sorgt. Im nächsten Schritt erfolgt die Ozonisation der Luft mit einem Ozongenerator (Verfahrenstechnische Union, Rheinbach). Durch das Einblasen der Luft über eine Lochplatte an der Oberseite der Kammern wird eine gleichmäßige Verteilung über den Kammerquerschnitt erreicht. Der Luftdurchsatz der Kammer beträgt 60 m<sup>3</sup>/h, dies entspricht einem maximalen 120fachen Luftwechsel pro Stunde. Die Messung der Ozonkonzentration der Kammerinnenluft erfolgt stündlich in Pflanzhöhe, die Abluft wird nach außen abgeleitet. Die Begasungs- und Messzyklen werden über einen Zentralrechner gesteuert und sind für jede Kammer separat einstellbar.

## 2.6.2 Expositionskammern, Außenanlage

Die Exposition von Weizenpflanzen unter verschiedenen Ozon-Immissionsmustern wurde in speziellen Freiluftkammern des Landesumweltamtes NRW in Essen-Kettwig durchgeführt.

### 2.6.2.1 Kammertechnik

Die Expositionsanlage besteht aus zwölf Sechseckkammern mit einer Grundfläche von jeweils 3,85 m<sup>2</sup>, bei einer Höhe von 2,60 m und 1,20 m Kantenlänge (Abb. 5). Das Fundament bildet eine Wanne aus Beton, auf der ein Edelstahlrahmen mit Glasscheiben montiert ist. Jede Kammer besitzt an den vier in Südrichtung exponierten Seiten manuell einstellbare Sonnenblenden. Im Inneren der Kammer dient ein Drehteller aus Gitterrostsegmenten mit einem Durchmesser von 1,50 m als Pflanzenstellfläche. Mit Hilfe einer in jeder Kammer installierten, manuell zu bedienenden Beregnungsanlage können die Luftfeuchte und die Bewässerung der Versuchspflanzen geregelt werden.

Ein unter der Decke angebrachter zweiflügeliger Rotor mit variabler Drehzahl verhindert eine Wasserdampfkondensation an den Kammerinnenwänden und sorgt für eine gleichmäßige Luftbewegung und für eine gleichförmige Verteilung des Schadgases in der Kammer. Zur Luftversorgung und -filterung dient eine neben jeder Kammer befindliche externe Filtereinheit. Die Luftaufbereitung erfolgt in folgenden Schritten: Regenabweiser, Grobstaubfilter, Ventilator, Feinstaubfilter sowie drei Sorptionsfilter aus Aktivkohle, Purafill® (Oxidation von Stickstoffmonoxid, NO zu Stickstoffdioxid, NO<sub>2</sub>) und Aktivkohle mit einer Kaliumhydroxid-Imprägnierung. Diese Imprägnierung sorgt für eine Neutralisation saurer Luftbestandteile. Eine Veränderung der Kohlendioxid-Konzentration gegenüber der Außenkonzentration kann mit dieser Filtermethode ausgeschlossen werden. Die Zuluft wird in den zentralen Bereich der Kammerdecke geführt und dort über einen Lochblechring horizontal ausgeblasen. Bei einem Kammervolumen von 10 m<sup>3</sup> wird ein maximaler Volumenstrom von 300 m<sup>3</sup>/h erzeugt. Bei einer Verweilzeit der Luft von zwei Minuten führt dies zu einem 30-fachen Luftwechsel pro Stunde. Die Abluft aller zwölf Kammern wird über einen Ventilator abgesaugt.



**Abb. 5:** Expositionskammern der Außenanlage des LUA-NRW in Essen-Kettwig.

### 2.6.2.2 Dosier- und Messtechnik

Ozon wird mit einem O<sub>3</sub>-Generator (OG 5, Verfahrenstechnische Union, Rheinbach) aus reinem Sauerstoff synthetisiert und zusammen mit der Zuluft in die Kammern geblasen. Sämtliche Dosier- und Messleitungen verlaufen in beheizten Leitungskanälen. Die Probenluft aus den Kammern wird über Teflonleitungen den Messgeräten zugeführt. Der Ozonanalysator (Typ 1008, Dasibi, Env. Corp. Colorado, USA) arbeitet nach dem Prinzip der UV-Lichtabsorption durch Ozonmoleküle. Der Istwert der Ozonkonzentration wird in regelmäßigen Abständen elektronisch mit dem Sollwert abgestimmt und mit einem Massendurchflussreglern eingestellt. Mit Hilfe dieser Regeltechnik können sowohl die Schadstoffkonzentrationen als auch die Expositionszeittakte in den einzelnen Kammern unabhängig voneinander eingestellt werden. Ein auf Pflanzhöhe installierter Messfühler dient der kontinuierlichen Messung von relativer Luftfeuchte, Temperatur und Strahlung im Kammerinneren und im Freiland. Neben der Ozonkonzentration werden die Konzentrationen von Schwefeldioxid und Stickoxiden regelmäßig bestimmt. Ein Einfluss von Fremdschadstoffanteilen auf die Versuchsanlage kann durch die beschriebene Vorbehandlung der Außenluft ausgeschlossen werden, die Konzentrationen dieser Stoffe liegen unter der Nachweisgrenze.

### 2.6.3 Ozonkonzentrationen/Ozonverlaufsmuster

Die Untersuchungen mit ozonbelasteten Weizenpflanzen wurden entweder in Vertikalströmungskammern bei gleichmäßiger Ozonbelastung oder in den Expositionskammern der Außenanlage bei unterschiedlichen Immissionverläufen durchgeführt. Die im folgenden beschriebenen Ozonkonzentrationen wurden angewendet.

#### 2.6.3.1 Gleichmäßige Ozonbelastung

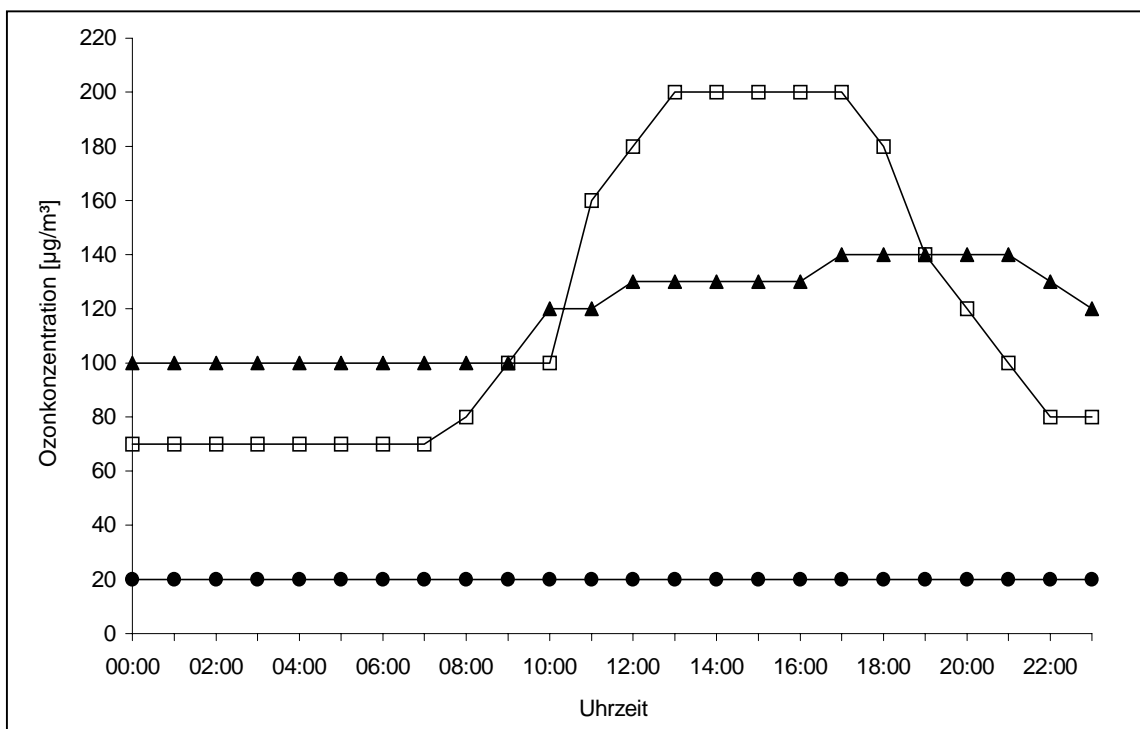
Für die Untersuchungen bei einer gleichmäßigen Ozonbelastung wurden Weizenpflanzen vor der Bestockung, zu BBCH 14 - 22, in den Vertikalströmungskammern exponiert. Pro Immissionsmuster wurden 20 Pflanzen eingesetzt. Die Exposition erfolgte für die Dauer von einer Woche unter den folgenden Ozonkonzentrationen (Tab. 2).

**Tab. 2:** Ozonbelastung in den Vertikalströmungskammern. Exposition zu BBCH 14 - 22.

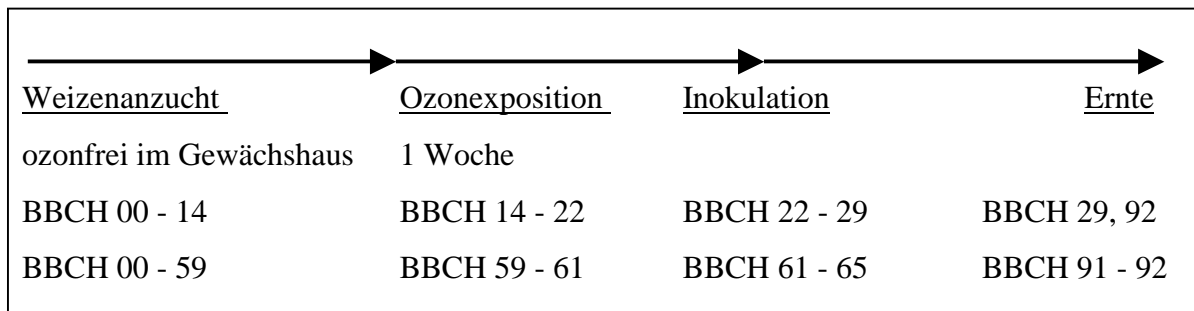
Variante	Expositionsdauer	Immissionsmuster
Kontrolle	24 h/d, 6 d	0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	24 h/d, 6 d	50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	24 h/d, 6 d	100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$

### 2.6.3.2 Ozonverlaufsmuster

Um die Ozonsituation von ländlich geprägten Regionen und städtischen Gebieten zu ermitteln, wurden die Halbstunden-Ozon-Messwerte der Monate April bis August (1996 - 1998) von sieben LUQS-Messstationen (Luftqualitätsüberwachungssystem NRW) ausgewertet. Es wurde ein für ländliche Gebiete charakteristischer Konzentrationsverlauf ausgewählt, der nachfolgend als gleichmäßige Ozondauerbelastung bezeichnet wird. Um die Wirkung unterschiedlicher Immissionsmuster mit gleicher Gesamtdosis vergleichen zu können, wurde aus den beschriebenen Messdaten ein zweites Muster berechnet. Dieses ist im Verlauf typisch für städtische Ozonbelastungssituationen und durch kurzzeitige Spitzenkonzentrationen in den Nachmittagsstunden gekennzeichnet (Abb. 6). Kontrollpflanzen erhielten eine an die natürliche Hintergrundkonzentration angepaßte gleichmäßig niedrige Ozonkonzentration von 20  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ . Diese Pflanzen werden im Folgenden als unbehandelte oder nicht exponierte Kontrollpflanzen bezeichnet.

**Abb. 6:** Tagesverlauf der Ozonkonzentrationen in den Ozonbelastungsvarianten und der Kontrolle.

Die Exposition der Pflanzen erfolgte im Vierblattstadium, zu BBCH 14 - 22, oder während der Blüte, zu BBCH 59 - 61, für die Dauer von einer Woche vor der Inokulation mit *Septoria tritici* (Abb. 7). Die Weizenpflanzen wurden bereits zwei Tage vor Beginn der Exposition in die Kammern gestellt, um eine Anpassung an die Kammerbedingungen zu erreichen. Je Immissionsmuster und Sorte wurden mindestens 90 Pflanzen eingesetzt.



**Abb. 7:** Versuchsablauf in den Expositions-kammern der Außenanlage.

## 2.7 Erfassung akuter und chronischer Schadsymptome durch Ozon

Akute Pflanzenschäden durch Ozon können bereits einige Stunden nach Expositionsbeginn auftreten. Sie beinhalten sichtbare Gewebeschäden wie Wasserflecken („water-soaked areas“) und Nekrosen, die durch das Absterben von einzelnen Zellen und Zellgeweben zustande kommen.

Chronische Pflanzenschäden durch Ozon werden durch geringe, lang anhaltende Ozonkonzentrationen hervorgerufen. Sie führen nicht in jedem Fall zu sichtbaren Schädigungen. Die Auswirkungen können stark oder weniger stark sein und sind in der Regel schwer von anderen physiologischen Effekten zu unterscheiden. Mögliche Merkmale sind Chlorosen, Wachstums- und Ertragsänderungen sowie Abweichungen in der Aktivität von biochemischen und physiologischen Prozessen.

Akute und chronische Schadsymptome wurden mit den im Folgenden beschriebenen Methoden erfaßt.



### 2.7.1 Akute Schadsymptome - Nekrosen

Akute Schadsymptome in Form von Blattnekrosen wurden als prozentualer Anteil nekrotischer Blattfläche täglich während der Ozonexposition bewertet. Die Bonitur erfolgte für jedes Immissionsmuster getrennt an je 40 Fahnenblättern und an je 40 Blättern der Blatttagen F-1 und F-2.

### 2.7.2 Chronische Schadsymptome

Chronische Schadsymptome wurden in Form von Änderungen des Chlorophyllgehaltes, der Photosyntheseaktivität, der Biomasse und des Ertrages aufgenommen.

#### 2.7.2.1 Chlorophyllgehalt

Die Bestimmung des Chlorophyllgehaltes erfolgte mit einem Chlorophyllmeter (SPAD 502, Soil Plant Analysis Development, Minolta). Zur Abgleichung der Chlorophyllmeterwerte mit dem realen Chlorophyllgehalt wurde in regelmäßigen Abständen eine Eichung mit den Werten einer photometrischen Chlorophyllgehaltsbestimmung durchgeführt.

#### Messung mit dem Chlorophyllmeter (SPAD 502)

Die Chlorophyllgehaltsbestimmungen erfolgten mit einem Chlorophyll-Meter (SPAD-502). Mit diesem Gerät kann der Chlorophyllgehalt eines Blattes schnell und nicht destruktiv direkt an der Pflanze gemessen werden. Licht der Wellenlängen 650 nm (roter Bereich, hohe Absorption durch Chlorophyll) und 940 nm (infraroter Bereich, sehr niedrige Absorption durch Chlorophyll) wird von einer im Gerät eingebauten Lichtquelle durch das Blatt gesendet und von einer gegenüber liegenden Messzelle in elektrische Signale umgewandelt. Aus dem Wert des transmittierten Lichtes und dem Kalibrierungswert wird der sogenannte SPAD-Wert berechnet. Es besteht eine lineare Korrelation ( $P < 0,001$ ) zwischen extrahiertem Chlorophyllgehalt und gemessenen SPAD-Einheiten des Chlorophyllmeters.

Chlorophyllmeter-Messungen wurden mit Beginn der Ozonexposition jeden dritten Tag an jeweils 30 Pflanzen jeder Behandlungsvariante durchgeführt. Die Messung erfolgte jeweils am Hauptstängel in der Mitte des Fahnenblattes.

Photometrische Bestimmung

Die photometrische Chlorophyllgehaltsbestimmung erfolgte mit DMSO (Di-Methyl-Sulfoxid) nach HISCOX und ISRAELSTAMM (1979) modifiziert nach ROSENKRANZ (1987). Sie diente der stichprobenartigen Überprüfung der mit dem Chlorophyllmeter gemessenen Werte (Abb. 8).

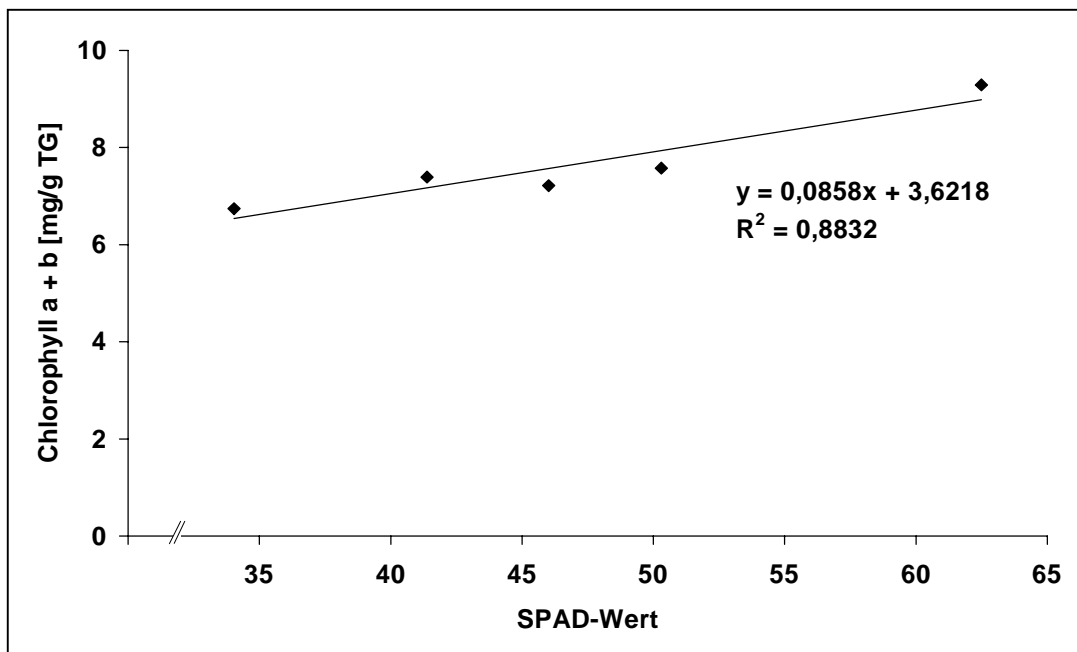
50 mg gefriergetrocknetes, zerkleinertes Blattmaterial wurde in ein Reagenzglas eingewogen, mit 5 ml DMSO überschichtet und das Reagenzglas mit Glaskugeln abgedeckt. Die Inkubation erfolgte über Nacht bei 60 °C im Dunkeln in einem Trockenschrank. Anschließend wurden die Proben im Dunkeln auf Raumtemperatur abgekühlt und die Absorption des Überstandes photometrisch bei 470 nm für Carotinoide, 647 nm für Chlorophyll a (Chl a) und 663 nm für Chlorophyll b (Chl b) gegen DMSO bestimmt (Ultraspec 3000, Pharmacia Biotech). Die Pigmentgehalte berechnen sich wie folgt (nach LICHTENTHALER 1987):

$$\text{Chl a [mg/g TG]} = ((12,25 \times E_{663}) - (2,79 \times E_{647})) \times 5 / \text{Einwaage}$$

$$\text{Chl b [mg/g TG]} = ((21,50 \times E_{647}) - (5,1 \times E_{663})) \times 5 / \text{Einwaage}$$

$$\text{Gesamtcarotinoide [mg/g TG]} = ((1000 \times E_{470}) - (1,28 \times A) - (85,02 \times B)) / 198 \\ \times 5 / \text{Einwaage}$$

$$\text{es gilt: } A = (12,25 \times E_{663}) - (2,79 \times E_{647}); B = (21,5 \times E_{647}) - (5,1 \times E_{663})$$



**Abb. 8:** Eichkurve der SPAD-Messwerte gegenüber dem photometrisch bestimmten Gesamtchlorophyllgehalt beispielhaft für die Sorte ‚Quattro‘ (linear zwischen einem SPAD-Wert von 35 - 60 bzw. 6 - 9 mg Chlorophyll/g TG).

### 2.7.2.2 Photosyntheseaktivität

Für Untersuchungen des Photosyntheseprozesses wurde ein Chlorophyll-Fluorometer (PAM 2000, Walz, Effeltrich) eingesetzt mit dem die Chlorophyllfluoreszenz der Weizenpflanzen ermittelt werden konnte. Das Gerät arbeitet nach dem Puls-Amplituden-Messprinzip (PAM). Die maximale Quantenausbeute des Photosystems II von dunkel-adaptierten Proben wird über den Quotienten aus variabler Chlorophyllfluoreszenz und maximaler Chlorophyllfluoreszenz ( $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ ) bestimmt. Die zu beprobenden Blätter wurden für die Dauer der Untersuchung in einer Blattkammer (2030-B, Walz) eingeschlossen, in der PAR-Strahlung und Temperatur kontinuierlich gemessen wurden. Die Blattkammer war über eine Glasfaseroptik mit dem Messgerät verbunden, das mit Hilfe eines angeschlossenen PC die direkte Weiterverarbeitung der Daten ermöglichte. Zur Erhöhung der Probenzahl wurden neben der bereits beschriebenen Blattkammer (2030-B, Walz) zusätzlich Blattkammer-Clipse (DLC-8, Walz) aus Aluminium zur Vorverdunklung eingesetzt.

Der Chlorophyllfluoreszenz-Parameter  $F_v/F_m$  wurde im Abstand von einer Woche an den Fahnenblättern von jeweils 20 Weizenpflanzen pro Immissionsmuster von Beginn der Exposition bis eine Woche nach Ende der Ozonexposition gemessen. Nicht ozon-exponierte Weizenpflanzen dienten als Kontrolle. Nach 30-minütiger Vorverdunkelung der Pflanzen erfolgte die Bestimmung von  $F_o$ , Dunkelfluoreszenz. Anschließend wurde das aktinische Licht eingeschaltet und die Parameter  $F_m$ , minimale Fluoreszenz, und  $F_v$ , variable Fluoreszenz, gemessen.

### 2.7.2.3 Biomasse

Die Entwicklung der Weizenpflanzen wurde während des gesamten Versuchszeitraumes einmal wöchentlich bonitiert. Die Ermittlung der Größe der Blattflächen erfolgte direkt nach der Ozonexposition mit einem Blattflächenmessgerät (LI-3000A, LI-COR, Nebraska, USA) an je 20 Pflanzen pro Immissionsmuster. Direkt nach der Ozonexposition und zur Erntereife wurden 30 - 40 Weizenpflanzen je Immissionsmuster geerntet. Die Bestimmung der oberirdischen Biomasse erfolgte nach der Trocknung im Trockenschrank bei 106 °C bis zur Gewichtskonstanz und anschließender Abkühlung auf Raumtemperatur. Halm und Ähre wurden ebenso wie Haupt- und Nebentriebe getrennt erfasst.

#### 2.7.2.4 Ertrag

Die Hauptähren und die Ähren der Nebentriebe wurden getrennt geerntet und einzeln ausgedroschen. Für die Ermittlung der Kornzahl je Ähre wurden 30 Ähren pro Behandlungsvariante ausgezählt. Die Bestimmung des Tausendkorngewichtes erfolgte für jedes Immissionsmuster an 5 x 100 Körnern. Die Kornfeuchte betrug 14,5 %.

#### 2.7.2.5 Kornqualität

Die Bestimmung der Kornqualität wurde von der Landwirtschaftskammer Rheinland - LUFA, Bonn durchgeführt. Es wurden der Gesamt-Stickstoff-Gehalt nach KJELDAHL, die Fallzahl nach HAGBERG und der Sedimentationswert nach ZELENY bestimmt.

### 2.8 Bestimmung der Antioxidantiengerhalte

Es wurden die pflanzlichen Inhaltsstoffe Ascorbinsäure und Tocopherol sowie das gesamte antioxidative Potential in den Fahnenblättern der Weizenpflanzen bestimmt. Die Probenahme erfolgte für die einzelnen Stressbehandlungen nach Sorten getrennt 2, 24, 48 und 168 Stunden nach Expositionsbeginn sowie eine Woche nach der Inokulation mit *Septoria tritici*. Je Ozon-Immissionsmuster wurden acht Fahnenblätter der Haupthalme (ca. 1g) geerntet, gewogen und in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Bis zur Aufarbeitung wurde das Blattmaterial bei -80 °C gelagert.

#### 2.8.1 Nachweis von Dehydro-/Ascorbinsäure

Die Bestimmung der L-Ascorbinsäure erfolgte enzymatisch mit dem L-Ascorbinsäure-Farb-Test der Firma Boehringer-Mannheim. Das Tetrazoliumsalz MTT (3-(4,5-Dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid) wird in Gegenwart des Elektronenüberträgers PMS (5-Methylphenaziniummethosulfat) bei pH 3,5 von L-Ascorbinsäure (L-Ascorbat) und weiteren reduzierenden Substanzen zu einem Formazan reduziert. Im Probenansatz wird die Summe der reduzierenden Substanzen gemessen.

Zur spezifischen Bestimmung wird in einem Probenleerwert-Ansatz von diesen reduzierenden Substanzen nur der L-Ascorbat-Anteil in der Probe durch Ascorbat-Oxidase (AAO) in Gegenwart von Sauerstoff oxidativ entfernt. Das entstehende Dehydroascorbat reagiert nicht mit MTT/PMS. Die Extinktion der Probe abzüglich der Extinktion des Probenleerwertes ist der L-Ascorbat-Menge in der Probe äquivalent. Der Gehalt von Dehydro-/Ascorbinsäure wurde im Anschluss auf das Probenfrischgewicht bezogen.

Tiefgefrorene Blattproben wurden in mit flüssigem Stickstoff vorgekühlte Teflon-Mahlbecher überführt. Bei einer Drehzahl von 5000 U/min wurden die Proben in einer Kugelmühle mit Hilfe einer Stahlkugel (Durchmesser 11 mm) zerkleinert. Nach vier Minuten wurde die gefrorene, pulverisierte Substanz mit 1 ml Meta-Phosphorsäure (15 % g/V) und 5 ml Aqua *bidest.* in ein Reagenzglas überführt, auf einem Reagenzglasrührer aufgerührt und anschließend bei 3000 U und 4 °C für 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde mit Kaliumhydroxid (0,1 M) auf pH 3,5 eingestellt und mit Aqua *bidest.* auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösungen wurden in ein Plastikröhrchen überführt und bis zur Messung bei -80 °C tiefgefroren.

### **2.8.2 Nachweis von $\alpha$ -Tocopherol**

Der  $\alpha$ -Tocopherol-Gehalte wurde mittels HPLC (High-Pressure-Liquid-Chromatographie) bestimmt. Die Blattproben wurden in tiefgefrorenem Zustand in mit Flüssigstickstoff vorgekühlte Teflon-Mahlbecher einer Kugelmühle überführt und bei einer Drehzahl von 5000 U/min. unter Verwendung einer Stahlkugel (Durchmesser 11 mm) vier Minuten gemahlen. Die gefrorene pulverisierte Substanz wurde mit 2 ml Pufferlösung (10 mM TRIS, 1 mM EDTA, 150 mM NaCl) und 3 ml Hexan/Isopropanol (1:2) aufgenommen und in Reagenzgläser überführt.

Die Proben wurden auf einem Reagenzglasrührer stark geschüttelt und anschließend zentrifugiert (10 min, 3000 U, 20 °C). Zur zweiten Extraktion wurde der Überstand in ein neues Reagenzglas überführt und das Pellet zweimal mit 500  $\mu$ l Hexan/Isopropanol (1:2) gespült und mit 2 ml Hexan/Isopropanol aufgenommen. Die Proben wurden wiederum gut aufgerührt und ein weiteres Mal zentrifugiert. Anschließend wurden alle Überstände vereinigt und mit Stickstoff eingengt. Die Proben wurden bis zur Analyse der Tocopherole bei -80 °C eingefroren.

Die Chromatographie der Extrakte erfolgte mit einer Lichrospher<sup>®</sup> Si-60-Säule (5 µm, 4 mm x 250 mm). Tocopherole bzw. Tocotrienole wurden bei 285 nm (Anregungswellenlänge) und 320 nm (Emissionswellenlänge) nachgewiesen, die α-, β-, γ-, δ-Tocopherole wurden anhand ihrer Fluoreszenzspektren charakterisiert. Die quantitative Bestimmung erfolgte auf der Grundlage der Fluoreszenz-Emission der Standards (Merck).

### **2.8.3 Gesamtes antioxidatives Potential**

Das antioxidative Potential ist eine Größe für den Gesamtgehalt aller Antioxidantien in Pflanzen und wird in µg Antioxidans pro 1 g Probenfrischgewicht angegeben. Die Bestimmung des antioxidativen Potentials kann im lipophilen oder hydrophilen Medium erfolgen und ergibt in Abhängigkeit der Polarität der Antioxidantien unterschiedliche Resultate.

Die Analyse der ozonexponierten Fahnenblätter von Weizen erfolgte photospektrometrisch nach MILLER & RICE-EVANS (1996). Die Methode basiert auf der Fähigkeit von Antioxidantien das ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid)) Radikal-Kation (ABTS<sup>·+</sup>) abzufangen. Als Vergleich dient das antioxidative Potential einer definierten Menge von Trolox<sup>®</sup>, dem wasserlöslichen Vitamin E-Analogon. Es wurde eine Eichkurve der Extinktion von Trolox<sup>®</sup> erstellt, anhand derer das antioxidative Potential der Probe nach der photometrischen Messung der Extinktion abgelesen werden konnte. Das antioxidative Potential wurde im Anschluss auf das Probenfrischgewicht bezogen.

Die tiefgefrorenen Blätter wurden in mit Flüssigstickstoff vorgekühlte Teflon-Mahlbecher einer Kugelmühle überführt und bei einer Drehzahl von 5000 U/min unter Verwendung einer Stahlkugel (Durchmesser 11 mm) vier Minuten gemahlen. Anschließend wurden 10 g der pulverisierten Proben mit 100 ml Hexan unter Lichtausschluss für 60 Minuten extrahiert. Der Hexanextrakt wurde abdekantiert und eingengt. Zur Messung des antioxidativen Potentials wurde der Rückstand in 10 ml Hexan aufgenommen. Die Lösungen wurden in ein Plastikröhrchen überführt und bis zur photometrischen Messung bei -80 °C tiefgefroren.

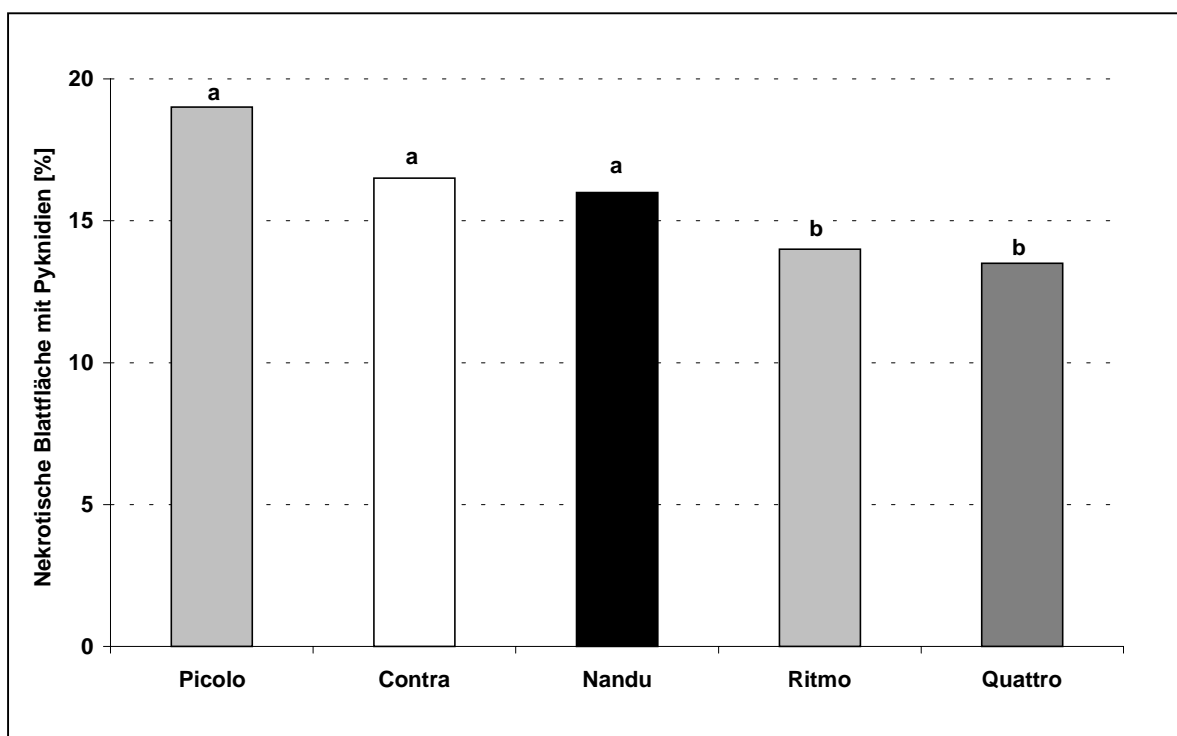
## 2.9 Statistische Auswertung

Die Verrechnung des Datenmaterials erfolgte mit dem Statistikprogramm SigmaStat<sup>®</sup> (Jandel Scientific Software, USA). Die Daten wurden mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p \leq 0,05$  auf Normalverteilung und Varianzhomogenität überprüft. Der Vergleich der Mittelwerte zweier Stichproben erfolgte mit dem t-Test nach STUDENT. Signifikante Unterschiede gegenüber den Kontrollpflanzen wurden wie folgt verdeutlicht: n.s. = nicht signifikant,  $p > 0,05$ ; \* = signifikant,  $p \leq 0,05$ ; \*\* = hoch signifikant,  $p \leq 0,01$ ; \*\*\* = höchst signifikant,  $p \leq 0,001$ . Die einfache oder multifaktorielle Varianzanalyse und die Berechnung der Grenzdifferenzen (GD) erfolgte mit dem TUKEY-Test. Der Vergleich von nicht parametrischen Daten wurde mit dem SNK-Test oder dem DUNN's-Test durchgeführt. Signifikanzen wurden durch unterschiedliche Buchstaben oder durch die Angabe der Signifikanzniveaus in den Grafiken und Tabellen markiert. Im Ergebnisteil dieser Arbeit sind die Messdaten einzelner repräsentativer Versuche dargestellt.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Anfälligkeit unterschiedlicher Weizensorten gegenüber *Septoria tritici*

Die sortenspezifische Anfälligkeit von Kulturpflanzen gegenüber Pilzkrankheiten ist neben anderen Qualitätsmerkmalen in der Bundessortenliste beschrieben. Bei *Septoria tritici* wird der Befallsverlauf weitgehend von den Infektionsbedingungen bestimmt. Relative Luftfeuchte und Temperatur sind dabei die wichtigsten Parameter. Unter Gewächshausbedingungen stimmen die Befallsreaktionen von Weizen auf den Erreger jedoch nicht immer mit der Reaktion im Freiland überein. Bei den in den vorliegenden Untersuchungen herrschenden Inokulationsbedingungen sollten daher zwei Weizensorten mit unterschiedlicher Anfälligkeit gegenüber *S. tritici* aus einer Auswahl von Sommer- und Winterweizensorten herausselektiert werden. Die Pflanzen wurden vor der Bestockung, zu BBCH 14 - 22, mit *S. tritici* inokuliert und die Befallsstärke drei bis vier Wochen später an jeweils 20 Pflanzen am 3. Blatt des Haupthalmes bonitiert.



**Abb. 9:** *Septoria tritici*-Anfälligkeit verschiedener Weizensorten, 3. Blatt im Entwicklungsstadium BBCH 14 - 22, vier Wochen nach Inokulation mit  $10^6$  Sporen/ml (DUNN'S-Test).



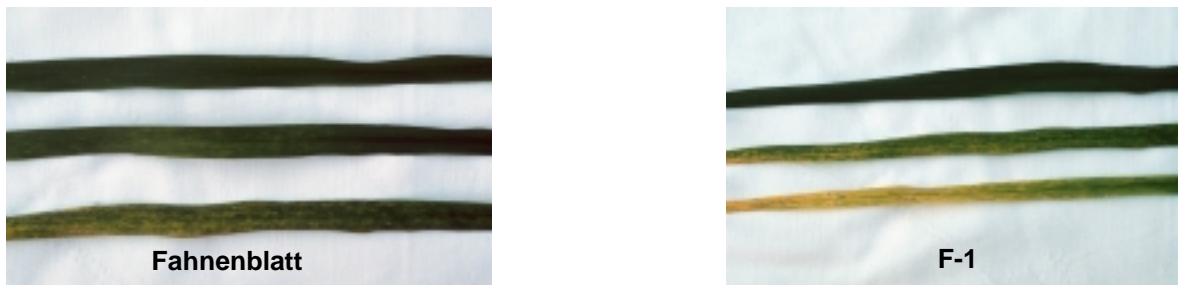
Bereits drei Wochen nach der Inokulation konnte an allen Weizensorten eine deutliche Entwicklung von Blattläsionen mit Pyknidien festgestellt werden. Der Anteil befallener Blattfläche nahm im weiteren Untersuchungszeitraum stetig zu. Vier Wochen nach der Inokulation war auf allen Sorten ein Befall von 14 - 20 % sichtbar (Abb. 9). Sortenunterschiede waren zu diesem Zeitpunkt nur für 'Ritmo' und 'Quattro' erkennbar, die einen signifikant geringeren Befall aufwiesen als die anderen untersuchten Weizensorten. Im weiteren Versuchsverlauf konnte folgende Erhöhung der *Septoria*-Anfälligkeit beobachtet werden: 'Picolo' > 'Contra' > 'Nandu' > 'Ritmo' und 'Quattro'. Die Anfälligkeit unter den beschriebenen Versuchsbedingungen entsprach somit etwa den Angaben aus der Sortenliste.

### **3.2 Einfluss unterschiedlicher Ozon-Immissionsmuster auf Wachstum und Ertragsbildung an Weizen bei Exposition vor der Bestockung**

Die Realisierung der genetischen Information einer Pflanze wird durch Umweltbedingungen wie zum Beispiel Ozon deutlich beeinflusst. Die Wirkung abiotischer Umweltfaktoren ist ebenso wie die Anfälligkeit gegenüber Krankheiten sortenabhängig. Für Ozon konnte dies bereits an verschiedenen landwirtschaftlichen Kulturen nachgewiesen werden. Zur Abdeckung eines breiten Reaktionsspektrums sollten für die Bewertung der Ozonwirkung bzw. der Kombination von Ozonwirkung und *Septoria tritici*-Befall in dieser Arbeit zwei Weizensorten verwendet werden, die neben einer unterschiedlichen *Septoria*-Anfälligkeit auch eine unterschiedliche Ozonsensitivität besitzen. Die Sommerweizensorten 'Nandu', 'Picolo' und 'Quattro' und die Winterweizensorten 'Contra' und 'Ritmo' wurden vor der Bestockung zu BBCH 14 - 22 für die Dauer von einer Woche bei Ozondauerbelastung exponiert und die Ozonwirkung anhand von makroskopisch sichtbarer Blattschädigung, Chlorophyllgehalt, Photosyntheseaktivität, Wachstum und Ertrag bestimmt.

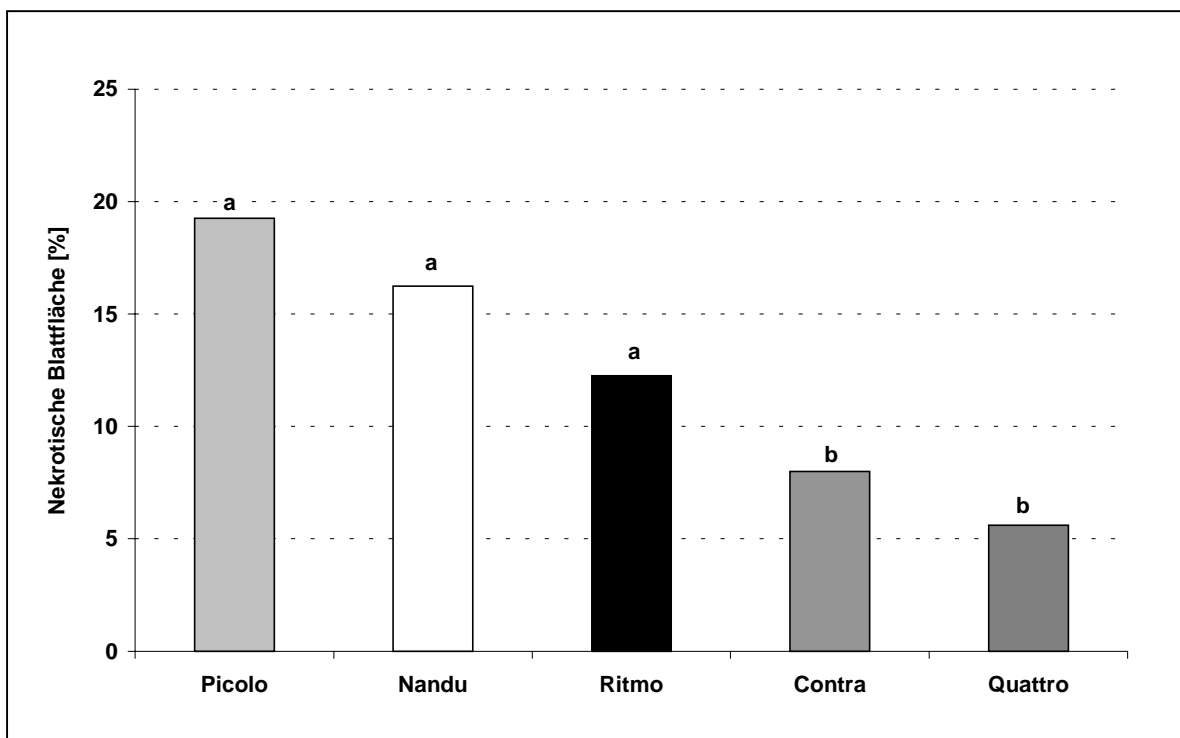
#### **3.2.1 Ausbildung von Blattschäden**

Die Bildung von Blattnekrosen gehört bei fast allen Pflanzenarten zu den ersten, makroskopisch sichtbaren Symptomen einer Ozonschädigung. Die Symptome werden anfangs als kleinflächige Chlorosen sichtbar, die im weiteren Expositionsverlauf zu größeren Bereichen flächig zusammenlaufen und nekrotisieren (Abb. 10). Es wurde untersucht, ob die Weizensorte einen Einfluss auf die Ausprägung der Nekrosen hat.



**Abb. 10:** Ozoninduzierte Chlorosen und Nekrosen an Sommerweizen der Sorte 'Picolo', von oben nach unten: unbehandelte Kontrolle, Dauerbelastung, Spitzenbelastung nach einwöchiger Exposition.

Der Anteil der nekrotischen Blattfläche des letzten und vorletzten voll entfalteten Blattes wurde am Ende der einwöchigen Ozonexposition unter Dauerbelastung bonitiert. Die Sorten 'Nandu' und 'Picolo' zeigten eine besonders starke Nekrosenbildung und damit eine hohe Ozonsensitivität (Abb. 11). Während 'Ritmo' mit einem Anteil von durchschnittlich 13 % nekrotischer Blattfläche in einem Bereich der mittleren Ozonanfälligkeit der untersuchten Sorten lag, zeigten 'Contra' und 'Quattro' nach der Ozonexposition einen signifikant niedrigeren Anteil nekrotischer Blattfläche und wurden daher als weniger ozonsensitiv eingeordnet.

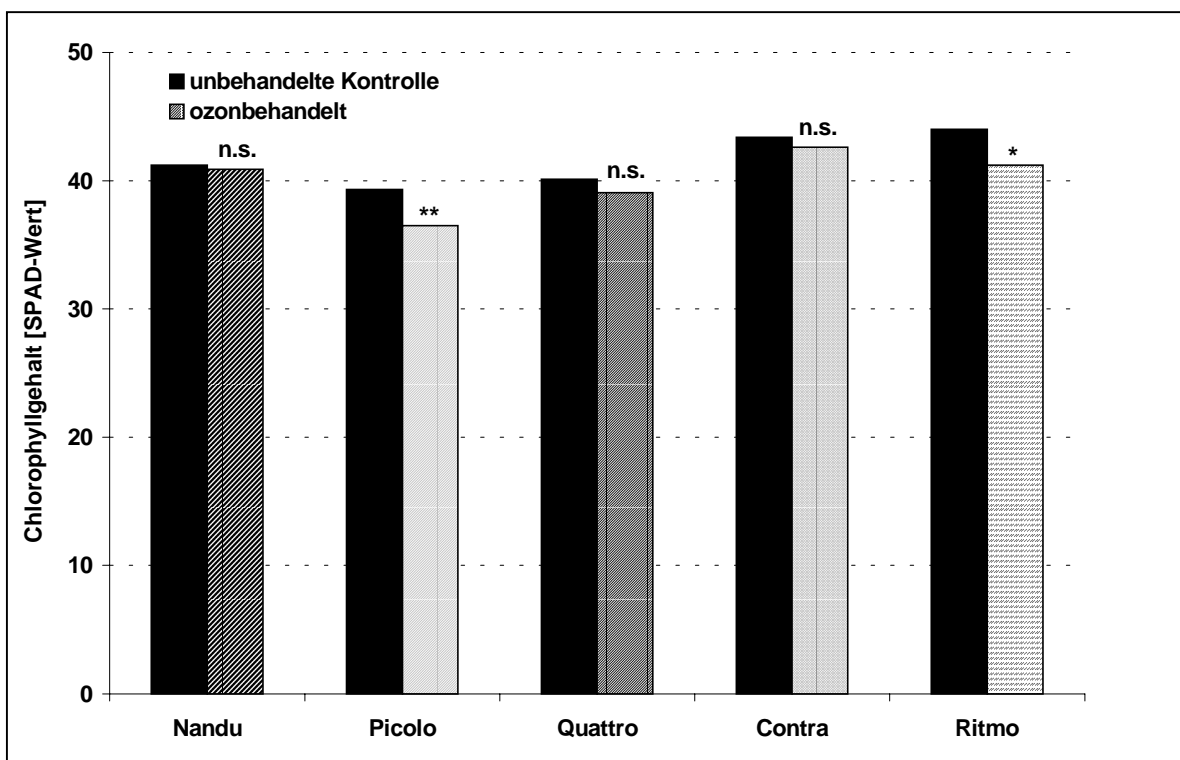


**Abb. 11:** Einfluss einer einwöchigen Ozonexposition auf die Bildung nekrotischer Blattflächen an Sommerweizen der Sorten 'Nandu', 'Picolo', 'Quattro' und den Winterweizensorten 'Contra' und 'Ritmo' (STUDENT-NEWMAN-KEULS-Test).

### 3.2.2 Chlorophyllgehalt und Photosyntheseaktivität

Die Messung der Chlorophyllpigmente diente der Charakterisierung der Schadwirkung des Ozons und sollte mögliche Auswirkungen der Ozonexposition auf die Photosyntheseleistung anzeigen. Die Ermittlung des Chlorophyllgehaltes erfolgte eine Woche nach Beginn der Ozonexposition mit einem Chlorophyllmeter in der Mitte der Blattspreite des letzten voll entfalteten Blattes.

Die Ozonexposition bewirkte nur bei den Sorten 'Picolo' und 'Ritmo' eine signifikante Verringerung des Chlorophyllgehaltes um 6 - 10 % (Abb. 12). Die Sorten 'Picolo' und 'Ritmo' wurden anhand der Wirkung von Ozon auf den Chlorophyllgehalt als sensitiv eingestuft.

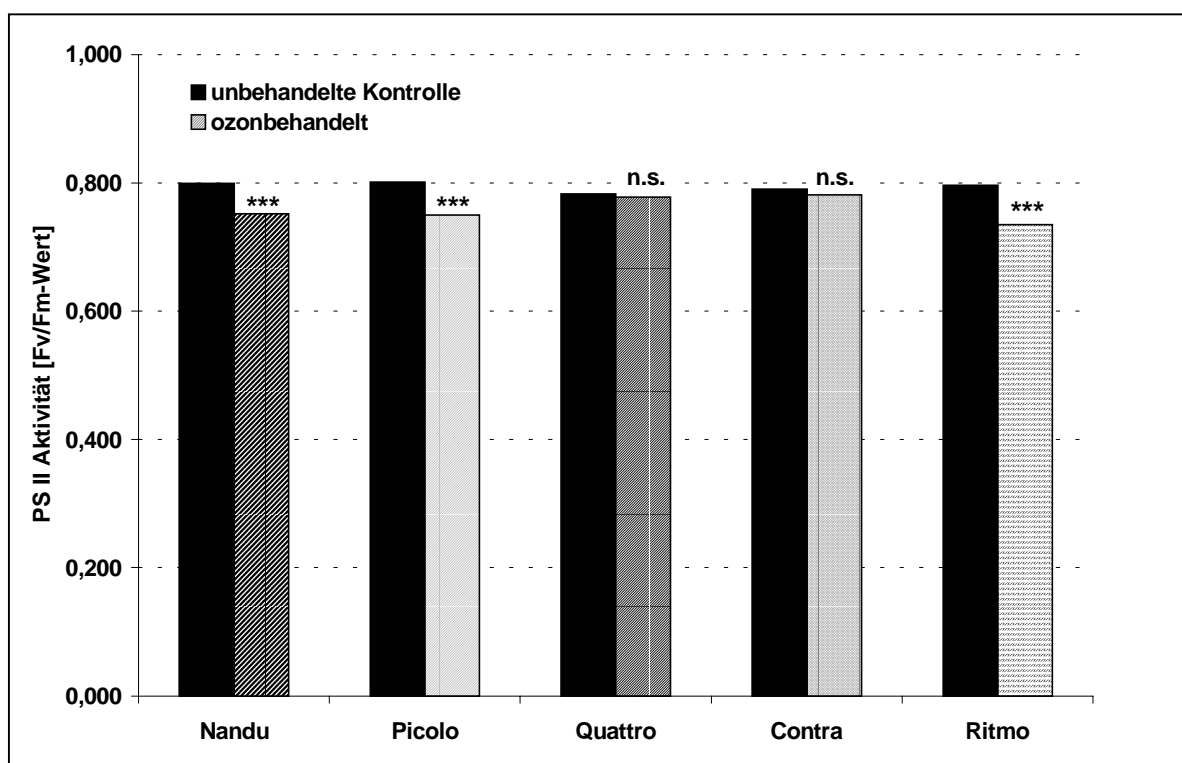


**Abb. 12:** Einfluss einer einwöchigen Ozonexposition auf den Chlorophyllgehalt (SPAD-Wert) der Sommerweizensorten 'Nandu', 'Picolo', 'Quattro' und der Winterweizensorten 'Contra' und 'Ritmo' (T-Test).

Die Photosyntheseaktivität wurde während und nach der siebentägigen Ozonexposition untersucht. Die Auswertung erfolgte über den Chlorophyllfluoreszenz-Parameter  $F_v/F_m$ , der das Verhältnis variabler Fluoreszenz zu maximaler Fluoreszenz angibt.

Ein Einfluss der Ozonexposition auf die Photosyntheseaktivität konnte erst nach sieben-tägiger Ozonexposition beobachtet werden. Während bei der Exposition von Pflanzen der Sorten 'Quattro' und 'Contra' der Fluoreszenzparameter  $F_v/F_m$  jedoch nur in geringem Maße reduziert war, konnte bei den Sorten 'Nandu', 'Picolo' und 'Ritmo' eine signifikante Verminderung von  $F_v/F_m$  um 6 - 9 % festgestellt werden (Abb. 13). Diese beruhte vor allem auf einer signifikanten Reduktion der maximalen Fluoreszenz (Tab. 3).

Im Hinblick auf die Photosyntheseaktivität wurden die Sorten 'Nandu', 'Picolo' und 'Ritmo' als ozonsensitiv eingestuft, während die Sorten 'Contra' und 'Quattro' als weniger ozonsensitiv eingeordnet wurden.



**Abb. 13:** Einfluss einer einwöchigen Ozonexposition auf die Aktivität des PS II von Sommerweizen der Sorten 'Nandu', 'Picolo', 'Quattro' und den Winterweizensorten 'Contra' und 'Ritmo' (T-Test).

**Tab. 3:** Einfluss einer einwöchigen Ozonexposition zu BBCH 14 - 22 auf die Chlorophyllfluoreszenz der Sommerweizensorten 'Nandu', 'Picolo', 'Quattro' und der Winterweizensorten 'Contra' und 'Ritmo' (T-Test).

Variante	Contra	Nandu	Picolo	Quattro	Ritmo
<b>Grundfluoreszenz</b>					
unbehandelte Kontrolle	0,291	0,284	0,343	0,293	0,259
Dauerbelastung	0,200	0,228	0,217	0,219	0,269
Signifikanz	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<b>Maximale Fluoreszenz</b>					
unbehandelte Kontrolle	1,122	1,244	1,249	1,071	1,435
Dauerbelastung	1,167	0,782	0,836	0,854	0,620
Signifikanz	n.s.	***	***	n.s.	***

### 3.2.3 Biomasse und Ertrag

Der Einfluss der siebentägigen Ozonexposition auf die oberirdische Biomasse wurde direkt nach der Exposition zu BBCH 14 - 22, und zur Vollreife, BBCH 91 - 92, bestimmt. Die Auswirkungen auf den Ertrag wurden anhand der Kornzahl je Ähre, des Tausendkorngewichtes (TKG) und des Einzelährenertrages untersucht. Daneben wurde zum Zeitpunkt der Blüte, der Erntereife und der Vollreife die Pflanzenlänge bestimmt.

Eine Reduktion der Trockenmasse um 9 - 18 % trat bei allen Weizensorten direkt nach der siebentägigen Ozonexposition auf. Im Vergleich mit den nicht exponierten Kontrollpflanzen konnte jedoch nur bei der Sorte 'Picolo' eine signifikante Reduktion beobachtet werden (Tab. 4).

**Tab. 4:** Einfluss einer einwöchigen Ozonexposition zu BBCH 14 - 22 auf die oberirdische Trockenmasse / Pflanze [g]  $\pm$  SD direkt nach der Exposition (T-Test).

Sorte	unbehandelte Kontrolle	Ozon-Dauerbelastung	Reduktion in [%]	Signifikanz
Nandu	0,61 $\pm$ 0,03	0,51 $\pm$ 0,04	16	n.s.
Picolo	0,53 $\pm$ 0,02	0,48 $\pm$ 0,03	9	*
Quattro	0,55 $\pm$ 0,14	0,50 $\pm$ 0,09	9	n.s.
Contra	0,51 $\pm$ 0,03	0,42 $\pm$ 0,15	18	n.s.
Ritmo	0,43 $\pm$ 0,06	0,36 $\pm$ 0,08	17	n.s.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Biomassebestimmung direkt nach der Ozonexposition standen die Werte, die bei der Biomassebestimmung zur Vollreife ermittelt wurden. Dort konnte bei ozonexponierten Pflanzen der Sorten ‘Nandu’ und ‘Picolo’ im Vergleich zur nicht exponierten Kontrolle eine signifikante Erhöhung der Trockenmasse festgestellt werden (Tab. 5). Die Biomasse der Haupthalme dieser beiden Sorten war dann um 8 - 18 % erhöht, für die Bestockungshalme konnte dagegen nur bei der Sorte ‘Picolo’ eine um 20 % erhöhte Trockenmasse beobachtet werden. Die Biomasse der ozonexponierten Pflanzen von ‘Quattro’ dagegen war gegenüber den Pflanzen der Kontrolle nicht signifikant verändert.

Bei der Sorte ‘Picolo’ resultierte die Ozonexposition daneben in einer signifikant erhöhten Kornzahl je Ähre und einem verringerten Tausendkorngewicht des Bestockungshalmes (TKG, Tab. 5). Bei keiner der untersuchten Weizensorten konnte ein Einfluss der Ozonexposition auf die Pflanzenentwicklung - nicht dargestellt - oder die Pflanzenlänge beobachtet werden (Tab. 5).

Zusammenfassend erwiesen sich anhand der Wirkung auf die Biomassebildung und den Ertrag damit die Sorten ‘Nandu’ und ‘Picolo’ als ozonsensitiv, während die Sorten ‘Quattro’, ‘Contra’ und ‘Ritmo’ als weniger ozonsensitiv eingeordnet wurden.

**Tab. 5:** Einfluss einer einwöchigen Ozonexposition während BBCH 14 - 22 auf die oberirdische Biomasse und den Ertrag (TM: Trockenmasse, TKG: Tausendkorngewicht; Werte  $\pm$  SD; T-Test).

Sorte BBCH	Boniturparameter	n	unbehandelte Kontrolle	Ozon- Dauerbelastung	Signifikan z
<b>Nandu</b>					
91 – 92	TM Haupthalm [g]	5	1,34 $\pm$ 0,08	1,45 $\pm$ 0,03	*
91 – 92	TM Bestockungshalm [g]	5	0,69 $\pm$ 0,06	0,66 $\pm$ 0,10	n.s.
91 – 92	Einzelährenertrag [g]		1498	1560	
91 – 92	Kornzahl je Ähre	30	38,9 $\pm$ 8,5	39,2 $\pm$ 7,1	n.s.
91 – 92	TKG Haupthalm [g]	5	38,5 $\pm$ 1,5	39,8 $\pm$ 2,9	n.s.
91 – 92	TKG Bestockungshalm [g]	5	30,4 $\pm$ 1,7	30,7 $\pm$ 1,9	n.s.
<b>Picolo</b>					
91 – 92	TM Haupthalm [g]	5	0,85 $\pm$ 0,04	1,01 $\pm$ 0,02	***
91 – 92	TM Bestockungshalm [g]	5	0,59 $\pm$ 0,02	0,71 $\pm$ 0,03	***
59 – 61	Blattlänge [cm]	40	34,8 $\pm$ 4,9	34,4 $\pm$ 6,3	n.s.
65 – 69		40	40,2 $\pm$ 2,6	38,8 $\pm$ 5,1	n.s.
91 – 92		40	57,4 $\pm$ 5,9	57,9 $\pm$ 5,4	n.s.
91 – 92	Einzelährenertrag [g]		1094	1321	
91 – 92	Kornzahl je Ähre	30	35,3 $\pm$ 7,2	41,4 $\pm$ 5,3	***
91 – 92	TKG Haupthalm [g]	5	31,0 $\pm$ 1,5	31,9 $\pm$ 1,2	n.s.
91 – 92	TKG Bestockungshalm [g]	5	29,9 $\pm$ 1,5	23,8 $\pm$ 0,4	***
<b>Quattro</b>					
91 – 92	TM Haupthalm [g]	5	1,31 $\pm$ 0,08	1,38 $\pm$ 0,14	n.s.
91 – 92	TM Bestockungshalm [g]	5	0,75 $\pm$ 0,02	0,82 $\pm$ 0,87	n.s.
59 – 61	Blattlänge [cm]	40	35,1 $\pm$ 2,6	36,5 $\pm$ 3,1	n.s.
65 – 69		40	39,0 $\pm$ 3,6	42,2 $\pm$ 2,5	n.s.
91 – 92		40	61,8 $\pm$ 4,7	61,2 $\pm$ 4,9	n.s.
91 – 92	Einzelährenertrag [g]		1494	1470	
91 – 92	Kornzahl je Ähre	30	36,7 $\pm$ 6,2	36,2 $\pm$ 6,2	n.s.
91 – 92	TKG Haupthalm [g]	5	40,7 $\pm$ 1,8	40,6 $\pm$ 2,6	n.s.
91 – 92	TKG Bestockungshalm [g]	5	31,8 $\pm$ 2,8	32,7 $\pm$ 2,6	n.s.

### **3.3 Einfluss unterschiedlicher Ozon-Immissionsmuster auf Wachstum und Ertragsbildung an Weizen bei Exposition während der Blüte**

Die Wirkung von Ozon auf Pflanzen wurde in einem Großteil der bisher veröffentlichten Untersuchungen anhand von konstanten Ozonkonzentrationen oder dem Wechsel von zwei konstanten Konzentrationen im Freiland, unter freilandnahen Bedingungen oder in Kammerversuchen bearbeitet. Während konstante Konzentrationen nur bedingt die natürliche Ozonsituation widerspiegeln, ist die Exposition im Freiland mit jahreszeitlichen und alljährlichen Schwankungen der Ozonkonzentration und damit mit einer schlechteren Reproduzierbarkeit der Untersuchungen verbunden. Die Einbeziehung der wissenschaftlichen Untersuchungen in aktuelle Richt- und Grenzwertvorgaben ist dadurch erschwert. Für die in dieser Arbeit vorgesehenen Untersuchungen wurden daher zwei Ozon-Immissionsmuster entwickelt, die bei gleicher Gesamtdosis den Vergleich zweier realitätsnaher Konzentrationsverläufe ermöglichen (Kap. 2.6.2.3). Eines der Immissionsmuster entspricht dem typischen Konzentrationsverlauf städtischer Ozonepisoden mit kurzen Konzentrationsspitzen, während das zweite Muster eine gleichmäßige Dauerbelastung darstellt, die eine ländliche Ozonbelastungssituation widerspiegelt.

Der Einfluss dieser Ozon-Immissionsmuster auf die Ausprägung akuter und chronischer Ozonschäden wurde an der in den vorangegangenen Untersuchungen ausgewählten ozonsensitiven Sommerweizensorten 'Picolo' und an der weniger sensitiven Sorte 'Quattro' untersucht. Die Pflanzen wurden während der Blüte, zu BBCH 59 - 61, für die Dauer einer Woche in Kammern exponiert. Durch die Verwendung von zwei unterschiedlich ozonsensitiven Sorten sollte ein möglichst breites Reaktionsspektrum von Weizenpflanzen abgedeckt und damit die Übertragung der Ergebnisse auf die landwirtschaftliche Praxis verbessert werden.



### 3.3.1 Ausbildung von Blattschäden

Akute, makroskopisch sichtbare Pflanzenschäden durch Ozon treten in Abhängigkeit von Dosis und Konzentration bereits kurze Zeit nach Beginn der Exposition auf. Durch die Reduktion grüner und damit photosynthetisch aktiver Blattfläche sind diese primären Schädigungen meist die Ursache für die nachfolgende Beeinflussung von Pflanzenwachstum und Ertrag. Es wurde untersucht, inwieweit das Ozon-Immissionsmuster die Bildung von Blattnekrosen beeinflusst. Die Bonitur der nekrotischen Blattfläche erfolgte täglich während der Ozonexposition an F, F-1 und F-2.

Die stärkste Nekrotisierung wurden bei beiden Weizensorten dann festgestellt, wenn die Pflanzen bei Ozonspitzenkonzentrationen exponiert wurden (Tab. 6). Bei diesem Immissionsmuster konnten am Fahnenblatt erste Nekrosen vier Tage nach Expositionsbeginn beobachtet werden. Die Blattnekrosen vergrößerten sich im weiteren Versuchsverlauf, so dass nach sechstägiger Exposition an beiden Weizensorten eine nekrotische Blattfläche von 47 - 49 % ermittelt wurde (Tab. 6). Die Exposition bei gleichmäßiger Ozondauerbelastung führte an Pflanzen beider Weizensorten ebenfalls vier Tage nach Expositionsbeginn zu ersten Nekrosen am Fahnenblatt. Der Anteil der nekrotischen Blattfläche war zu diesem Zeitpunkt jedoch deutlich geringer als 1 %. Bis zum Ende der einwöchigen Exposition stieg der Anteil der nekrotischen Blattfläche bei beiden Sorten auf 8 - 11 % an. Auf den unbehandelten Kontrollpflanzen wurden am Ende des Expositionszeitraumes teilweise seneszenzbedingte Nekrosen registriert, die sich zu diesem Zeitpunkt auf weniger als 5 % der Blattfläche erstreckten (Tab. 6). An den unteren und damit älteren Blattetagen konnte ein zeitigeres Auftreten von Blattnekrosen beobachtet werden. Die Nekrosen waren dort außerdem stärker ausgeprägt als auf den Fahnenblättern. Erste nekrotische Blattschäden an den Blättern der Blattetagen F-1 und F-2 wurden unabhängig vom Immissionsmuster bereits zwei Tage nach Expositionsbeginn festgestellt (Tab. 6).

Zusammenfassend verursachte eine Exposition der Weizenpflanzen mit Ozonspitzenkonzentrationen signifikant größere Blattnekrosen als eine Exposition bei Ozondauerbelastung. Ältere Blätter wurden frühzeitiger und stärker geschädigt als das Fahnenblatt. Hinsichtlich der Sortenempfindlichkeit konnte bei 'Picolo' eine etwas stärkere Ausprägung und eine früher einsetzende Nekrotisierung festgestellt werden als bei der Sorte 'Quattro'.

**Tab. 6:** Einfluss unterschiedlicher Ozon-Immissionsmuster auf die Ausbildung von Blattnekrosen an den Sorten 'Picolo' und 'Quattro' (n.u.: nicht untersucht; STUDENT-NEWMAN-KEULS-Test).

Sorte	Nekrotische Blattfläche [%]				
	Tage nach Expositionsbeginn				
Ozon-Behandlung	2	3	4	5	6
<b>Picolo</b>			<b><u>Fahnenblatt</u></b>		
unbehandelte Kontrolle	0 a	0 a	0 a	2 b	4 b
Dauerbelastung	0 a	0 a	0 a	2 b	11 b
Spitzenbelastung	0 a	0 a	2 b	22 c	49 c
<b>Quattro</b>					
unbehandelte Kontrolle	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
Dauerbelastung	0 a	0 a	0 a	1 b	8 b
Spitzenbelastung	0 a	0 a	2 b	14 c	47 c
<b>Picolo</b>			<b><u>F-1</u></b>		
unbehandelte Kontrolle	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
Dauerbelastung	3 b	7 b	14 b	38 b	74 b
Spitzenbelastung	10 c	31 c	45 c	67 c	91 c
<b>Quattro</b>					
unbehandelte Kontrolle	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
Dauerbelastung	2 b	4 b	14 b	32 b	67 b
Spitzenbelastung	6 c	14 c	38 b	42 b	86 c
<b>Picolo</b>			<b><u>F-2</u></b>		
unbehandelte Kontrolle	0 a	n.u.	0 a	n.u.	9 a
Dauerbelastung	11 b	n.u.	29 b	n.u.	66 b
Spitzenbelastung	38 c	n.u.	61 c	n.u.	81 b
<b>Quattro</b>					
unbehandelte Kontrolle	0 a	n.u.	0 a	n.u.	6 a
Dauerbelastung	3 b	n.u.	13 b	n.u.	61 b
Spitzenbelastung	19 b	n.u.	30 b	n.u.	79 b

### 3.3.2 Chlorophyllgehalt und Photosyntheseaktivität

Die Funktion des Chlorophylls besteht darin, Lichtenergie in der Pflanze in biochemisch verwertbare Energie umzusetzen. Die Leistungskapazität einer Pflanze wird daher vom Chlorophyllgehalt mitbestimmt. Ein Maß für die Effizienz des Photosystems II ist die Chlorophyllfluoreszenz, die daneben Hinweise zu Aktivität und Potential des Photosystems liefert. Änderungen von Chlorophyllgehalt und -fluoreszenz gelten damit als sensitive Indikatoren für Veränderungen der Pflanzenvitalität. Abweichung vom Normalverhalten können durch akute und chronische Ozonschädigungen an Pflanzen verursacht werden.

Die Messungen des Chlorophyllgehaltes wurden alle drei Tage während der Ozonexposition zerstörungsfrei an Fahnenblatt und F-1 durchgeführt. Die Chlorophyllfluoreszenz wurde einmal wöchentlich am Fahnenblatt bestimmt.

Beide Ozon-Immissionsmuster führten zu einer deutlichen Reduktion des Chlorophyllgehaltes der untersuchten Weizenblätter (Tab. 7). Dieser Rückgang des Chlorophyllgehaltes setzte sich auch nach Beendigung der Ozonexposition bis zum Abschluss der Bonitur eine Woche nach Ende der Ozonexposition fort. Eine Exposition der Pflanzen bei Spitzenkonzentrationen verursachte dabei eine deutlich stärkere Reduktion des Chlorophyllgehaltes als eine gleichmäßige Ozondauerbelastung der Pflanzen. Bei beiden Sorten führte eine sechstägige Exposition bei Spitzenkonzentrationen zu einer signifikanten Verringerung des Chlorophyllgehaltes. Pflanzen, die unter Ozondauerbelastung exponiert waren, wiesen dagegen nur einen geringfügig reduzierten Chlorophyllgehalt auf (Tab. 7).

Betrachtet man die unterschiedlichen Blattetagen, so fällt auf, dass im Fahnenblatt die Reduktion des Chlorophyllgehaltes nach Exposition bei Spitzenbelastung gegenüber den unbehandelten Kontrollpflanzen 11 - 15 % betrug, während an Blättern der Blattetage F-1 ein mit 42 - 51 % erheblich reduzierter Chlorophyllgehalt ermittelt wurde (Abb. 14 & 15). Wurden die Pflanzen bei Ozondauerbelastung exponiert, konnte für das Fahnenblatt keine signifikante Änderung des Chlorophyllgehaltes beobachtet werden, während der Chlorophyllgehalt in der Blattetage F-1 signifikant um ein Drittel reduziert war (Abb. 14 & 15). Ein Vergleich der Sorten zeigte, dass bei 'Picolo' die Chlorotisierung der Blätter und damit die Alterung etwas früher einsetzte als bei 'Quattro'.

**Tab. 7:** Einfluss des Ozon-Immissionsmusters auf den Chlorophyllgehalt (SPAD-Wert) der Fahnenblätter der Weizensorten 'Picolo' und 'Quattro' während und nach einwöchiger Exposition (STUDENT-NEWMAN-KEULS-TEST).

Sorte Ozon-Immissions- muster	Zeit nach Expositionsbeginn (Tage)					
	Ozonexposition			nach der Ozonexposition		
	1	3	6	9	12	15
<b>Picolo</b>						
unbehandelte Kontrolle	46,9 a	46,9 a	46,9 a	46,9 a	45,6 a	45,2 a
Dauerbelastung	46,9 a	47,6 a	47,2 a	43,9 a	42,7 a	41,3 a
Spitzenbelastung	47,0 a	45,8 a	40,3 b	27,8 b	22,3 b	18,8 b
<b>Quattro</b>						
unbehandelte Kontrolle	46,1 a	46,4 a	45,5 a	44,8 a	44,1 a	43,9 a
Dauerbelastung	47,1 a	46,6 a	45,9 a	43,5 a	41,0 a	44,1 a
Spitzenbelastung	45,2 a	46,9 a	41,8 b	31,3 b	24,9 b	19,6 b

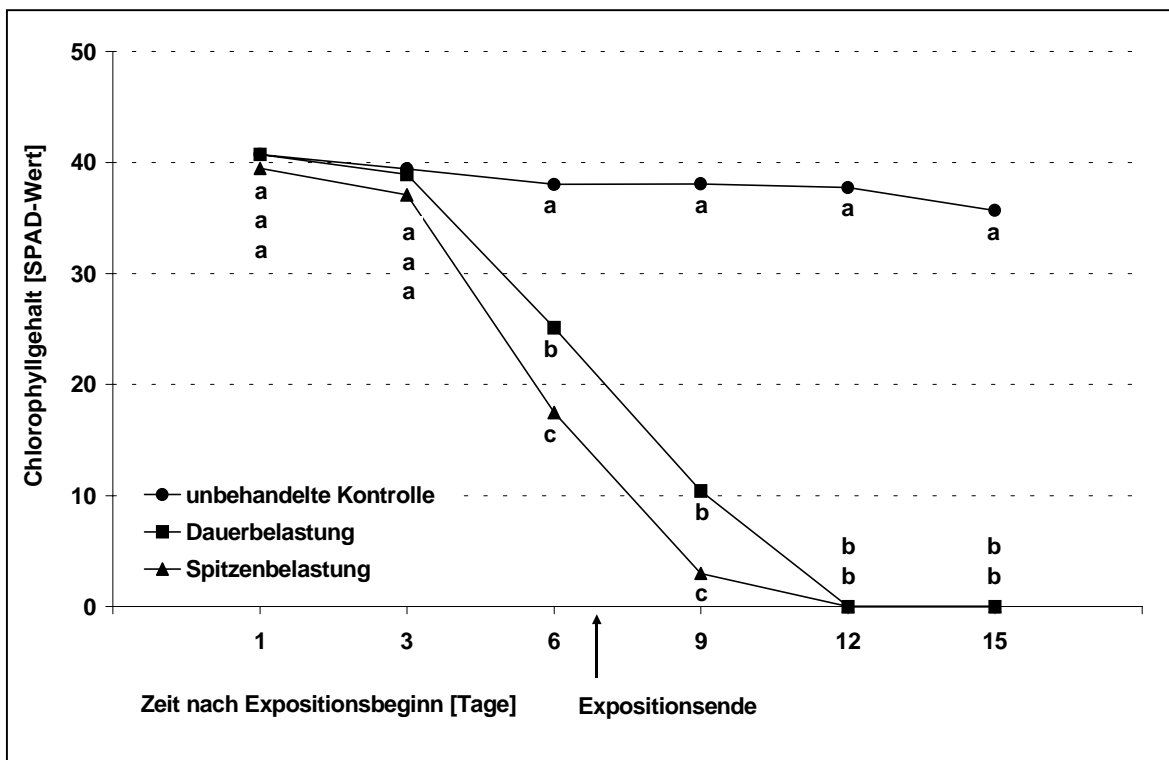


Abb. 14: Einfluss des Ozon-Immissionsmusters auf den Chlorophyllgehalt (SPAD-Wert) der Blatttage F-1 der Weizensorte 'Picolo' (STUDENT-NEWMAN-KEULS-Test).

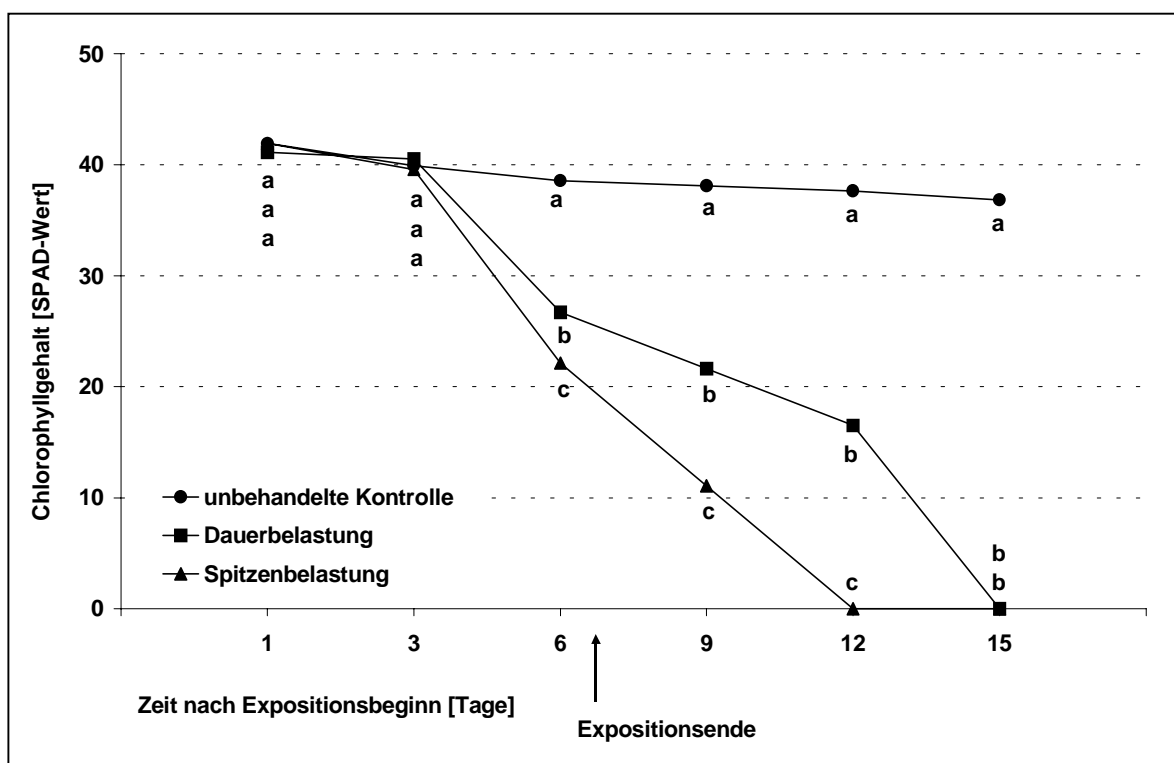


Abb. 15: Einfluss des Ozon-Immissionsmusters auf den Chlorophyllgehalt (SPAD-Wert) der Blatttage F-1 der Weizensorte 'Quattro' (STUDENT-NEWMAN-KEULS-Test).

Die Photosyntheseaktivität war eine Woche nach Expositionsbeginn bei beiden Weizensorten verringert, wie in dem reduzierten Fv/Fm-Wert deutlich erkennbar ist (Tab. 8). Eine Woche nach Ende der Expositionsperiode war bei ozonexponierten Pflanzen der Sorte ‘Picolo’ der Fv/Fm-Wert im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollpflanzen signifikant um etwa 6 % reduziert. Bei der Sorte ‘Quattro’ dagegen konnte zum selben Zeitpunkt nur nach Exposition mit Konzentrationsspitzen eine signifikante Reduktion des Fv/Fm-Wertes von 4 % gegenüber den unbehandelten Kontrollpflanzen festgestellt werden. Während die Fluoreszenzänderung bei ‘Picolo’ in einer Reduktion der maximalen Fluoreszenz (Fm) begründet ist, wurde bei ‘Quattro’ eine signifikante Erhöhung der Grundfluoreszenz (Fo) beobachtet.

**Tab. 8:** Einfluss des Ozon-Immissionsmusters auf die Photosyntheseaktivität im Fahnenblatt der Weizensorten ‘Picolo’ und ‘Quattro’ (TUKEY-Test).

Variante	Picolo			Quattro		
	Fo	Fv/Fm	Fm	Fo	Fv/Fm	Fm
<b>1 Tag nach Expositionsbeginn</b>						
unbehandelte Kontrolle	0,278 a	0,813 a	1,430 a	0,283 a	0,809 a	1,418 a
Dauerbelastung	0,277 a	0,807 a	1,525 a	0,280 a	0,817 a	1,574 a
Spitzenbelastung	0,269 a	0,813 a	1,563 a	0,290 a	0,817 a	1,559 a
<b>7 Tage nach Expositionsbeginn</b>						
unbehandelte Kontrolle	0,269 a	0,817 a	1,420 a	0,264 a	0,819 a	1,453 a
Dauerbelastung	0,265 a	0,812 a	1,456 a	0,269 a	0,818 a	1,467 a
Spitzenbelastung	0,256 a	0,809 a	1,399 a	0,278 a	0,807 a	1,441 a
<b>14 Tage nach Expositionsbeginn</b>						
unbehandelte Kontrolle	0,301 a	0,772 a	1,378 a	0,277 a	0,797 a	1,374 a
Dauerbelastung	0,294 a	0,726 b	1,210 b	0,295 a	0,793 a	1,396 a
Spitzenbelastung	0,315 a	0,734 b	1,207 b	0,312 b	0,769 b	1,341 a

### 3.3.3 Biomasse und Ertrag

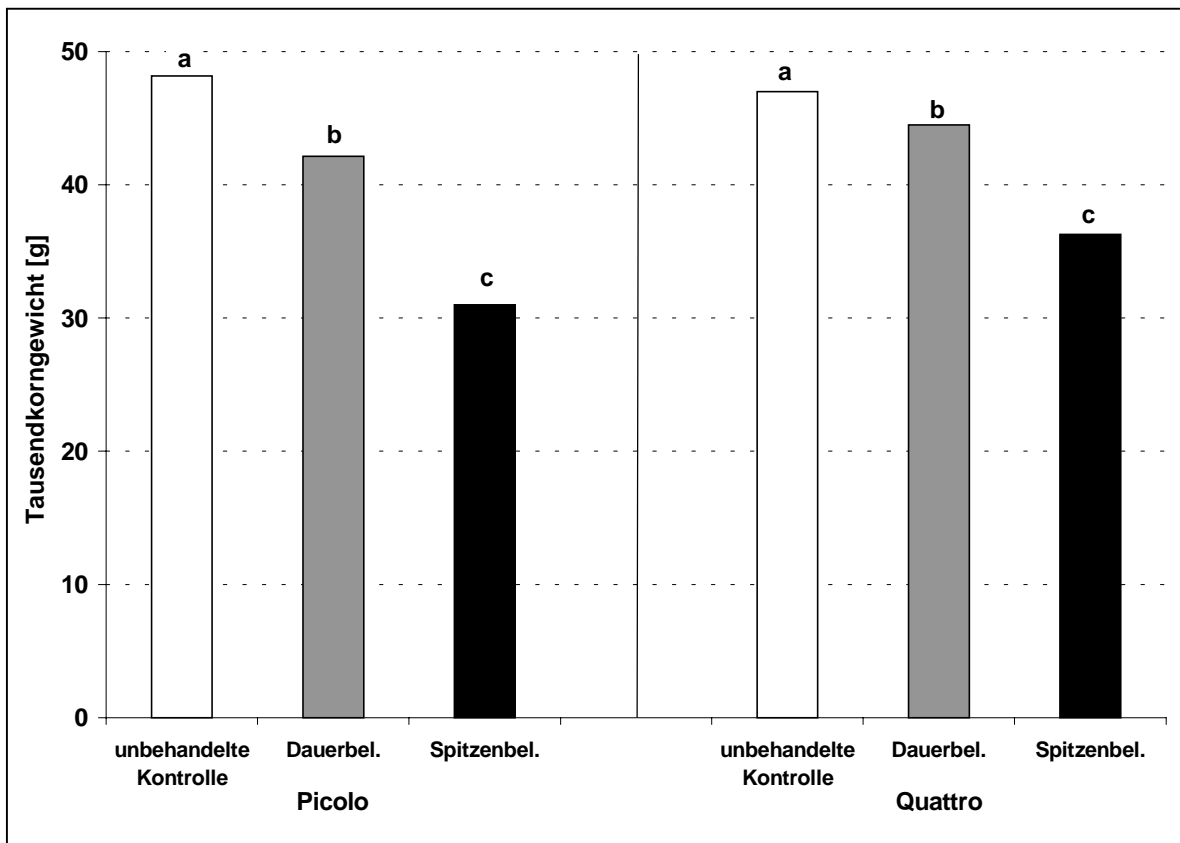
Wachstum und Ertrag von Pflanzen werden ganz wesentlich von biotischen und abiotischen Umweltfaktoren beeinflusst. Nur unter optimalen Bedingungen kann eine maximale Wuchs- und Ertragsbildung erreicht werden. Wirtschaftliche Auswirkungen von Ozonstress auf Weizenpflanzen werden daher in erster Linie über die Verminderung der grünen Blattfläche in einem reduzierten Ertrag sichtbar. In den vorhergehend beschriebenen Untersuchungen konnte ein deutlicher Einfluss von Ozon auf die Aktivität des Photosyntheseapparates festgestellt werden. Um zu prüfen, auf welche Ertragsparameter sich diese ozoninduzierten Änderungen auswirken, wurden nachfolgend die Blattfläche, die oberirdische Biomasse a) nach Exposition und b) zur Vollreife, die Kornzahl je Ähre und das Tausendkorngewicht untersucht.

Direkt nach der Expositionsperiode zu BBCH 59 - 61 wurde bei der Sorte 'Quattro' nach Ozonspitzenbelastung eine signifikante Verminderung der Blattfläche um 13 % gegenüber den nur gering ozonbelasteten Kontrollpflanzen verzeichnet (Tab. 9). Bei 'Picolo' konnte dieser Effekt nicht mit derselben Deutlichkeit festgestellt werden. Die oberirdische Biomasse der Haupthalme war dagegen direkt nach der Ozonexposition zu BBCH 59 - 61 bei beiden Weizensorten leicht reduziert. Zur Erntereife, BBCH 91 - 92, konnte bei der Sorte 'Picolo' daneben eine signifikante Reduktion des Ährentrockengewichtes der Haupt- und Bestockungshalme um 14 - 16 % nach Exposition bei Spitzen- oder bei Dauerbelastung ermittelt werden (Tab. 9). Für Weizenpflanzen der Sorte 'Quattro' konnte dieser Einfluss des Immissionsmusters nicht mit derselben Klarheit beobachtet werden (Tab. 9).

Ein Einfluss der Ozonexposition auf die Kornzahl je Ähre wurde bei keiner der beiden Weizensorten beobachtet (Tab. 9). Das Tausendkorngewicht von 'Picolo' und 'Quattro' war bei beiden Immissionsmustern durch die einwöchige Ozonexposition signifikant reduziert (Abb. 16). Die Exposition bei Ozonspitzenkonzentrationen wirkte sich gravierender aus als eine Ozondauerbelastung der Weizenpflanzen. So war das Tausendkorngewicht der Körner der Hauptähre nach Exposition bei Spitzenkonzentrationen gegenüber der unbehandelten Kontrolle um 23 - 36 % reduziert, während eine Exposition bei Dauerbelastung zu einer Reduktion des Tausendkorngewichtes von 4 - 13 % führte (Abb. 16).

**Tab. 9:** Einfluss des Ozon-Immissionsmusters auf Biomasse und Ertrag der Weizensorten 'Piccolo' und 'Quattro' (TM: Trockenmasse, TKG: Tausendkorngewicht; TUKEY-Test).

Sorte	Boniturparameter	n	Ozon-Immissionsmuster		
			unbehandelte Kontrolle	Dauerbelastung	Spitzenbelastung
<b>Piccolo</b>					
65 – 69	TM Haupthalm [g]	5	1,11 a	1,01 a	0,91 a
65 – 69	TM Bestockungshalm [g]	5	0,90 a	0,91 a	0,93 a
65 – 69	TM Hauptähre [g]	5	0,40 a	0,32 a	0,30 a
65 – 69	TM Bestockungsähre [g]	5	0,30 a	0,22 a	0,24 a
65 – 69	Blattfläche [cm <sup>2</sup> ]	40	28,73 a	29,34 a	27,70 a
65 – 69	Blattlänge [cm]	40	27,55 a	29,65 a	28,42 a
65 – 69	Blattbreite [cm]	40	1,03 a	0,99 a	1,00 a
91 – 92	TM Haupthalm [g]	5	0,74 a	0,74 a	0,75 a
91 – 92	TM Bestockungshalm [g]	5	0,68 a	0,66 a	0,66 a
91 – 92	TM Hauptähre [g]	5	1,40 a	1,18 b	1,17 b
91 – 92	TM Bestockungsähre [g]	5	0,96 a	0,83 a	0,80 b
91 – 92	Einzelährenertrag [g]		2494	2039	1567
91 – 92	Kornzahl je Ähre	30	51,0 a	50,1 a	51,2 a
91 – 92	TKG Bestockungsähre [g]	5	48,9 a	40,7 b	30,6 b
<b>Quattro</b>					
65 – 69	TM Haupthalm [g]	5	1,48 a	1,18 a	1,24 a
65 – 69	TM Bestockungshalm [g]	5	1,93 a	1,50 a	1,81 a
65 – 69	TM Hauptähre [g]	5	0,36 a	0,30 a	0,36 a
65 – 69	TM Bestockungsähre [g]	5	0,27 a	0,19 a	0,20 a
65 – 69	Blattfläche [cm <sup>2</sup> ]	40	30,75 a	31,83 a	28,84 b
65 – 69	Blattlänge [cm]	40	36,08 a	37,33 a	31,49 b
65 – 69	Blattbreite [cm]	40	1,17 a	1,17 a	1,08 b
91 – 92	TM Haupthalm [g]	5	1,09 a	1,08 a	1,07 a
91 – 92	TM Bestockungshalm [g]	5	0,83 a	0,80 a	0,73 a
91 – 92	TM Hauptähre [g]	5	1,39 a	1,32 a	1,17 b
91 – 92	TM Bestockungsähre [g]	5	0,84 a	0,77 a	0,72 a
91 – 92	Einzelährenertrag [g]		2199	2120	1645
91 – 92	Kornzahl je Ähre	30	46,3 a	45,1 a	48,8 a
91 – 92	TKG Bestockungsähre [g]	5	47,5 a	47,0 a	33,7 c



**Abb. 16:** Einfluss des Ozon-Immissionsmusters auf das Tausendkorngewicht (Hauptalm) der Weizensorten 'Picolo' und 'Quattro' (TUKEY-Test).

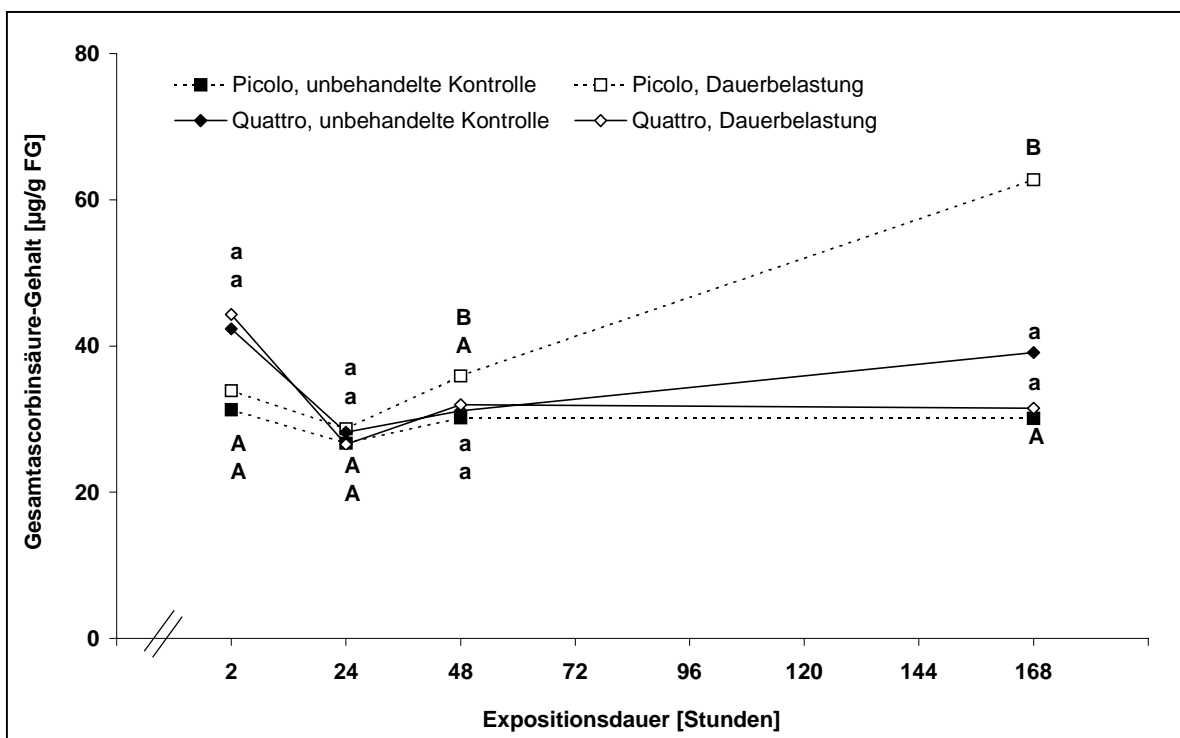
### 3.3.4 Wirkung auf das antioxidative Potential

Abiotische Umweltfaktoren beeinflussen durch die Änderung biochemischer Reaktionsabläufe weitgehend die Konzentration von Pflanzeninhaltsstoffen und die Aktivität von Enzymen. Stark oxidierende Stoffe und Verbindungen, wie zum Beispiel das Gas Ozon, können durch pflanzliche Schutzsysteme in ihrer Wirkung abgeschwächt werden. Antioxidantien wirken dabei in Form von Enzymen sowie nicht-enzymatischen Verbindungen als Reparatur- und Kompensationsmechanismen. Es wurde untersucht, ob der Antioxidantiengehalt eine geeignete Messgröße darstellt, um die Ozonsensitivität der Weizensorten 'Picolo' und 'Quattro' näher zu beschreiben. Die Antioxidantien Ascorbinsäure und Tocopherol sowie das gesamte antioxidative Potential der untersuchten Weizensorten wurde nach vorhergehender Ozonexposition untersucht. Die Probenahme der Fahnenblätter erfolgte 2, 24, 48 und 168 Stunden nach Exposition bei dem für ländliche Gebiete typischen Ozon-Immissionsmuster mit Dauerbelastung.



## 3.3.4.1 Gesamtascorbinsäuregehalt

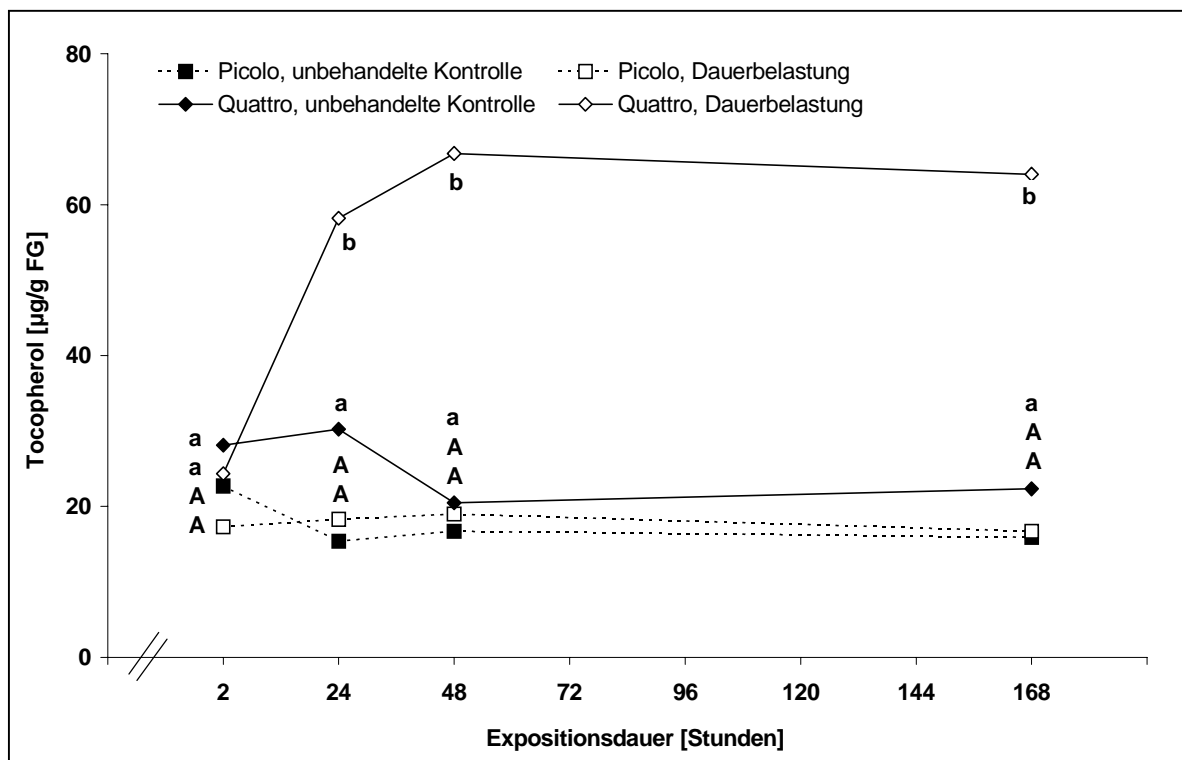
Die Untersuchung des Gesamtascorbinsäure-Gehaltes ergab je nach Sorte unterschiedliche Ergebnisse. Aus ozonexponierten Pflanzen der Sorte 'Picolo' konnte nach 48 Stunden eine um 19 % erhöhte Konzentration von Ascorbinsäure (reduziert und oxidiert) gegenüber den unbehandelten Kontrollpflanzen extrahiert werden (Abb. 17). Die Konzentration stieg im Versuchsverlauf weiter an, so dass der Gesamtascorbinsäure-Gehalt in den ozonbehandelten Pflanzen nach 168 Stunden bei 44  $\mu\text{g/g}$  Frischgewicht (FG) lag. Die Konzentration war dann gegenüber den unbehandelten Kontrollpflanzen um 45 % signifikant erhöht. Die Konzentration in den Kontrollpflanzen der Sorte 'Quattro' war am ersten Probenahmetermin etwa 35 % höher als bei 'Picolo'. Ein signifikanter Einfluss der Ozonbehandlung auf den Gesamtascorbinsäure-Gehalt konnte bei der Sorte 'Quattro' nicht festgestellt werden (Abb. 17). Während der gesamten Probenahmezeit wurde in den ozonexponierten Pflanzen und den unbehandelten Kontrollpflanzen ein Gesamtascorbinsäure-Gehalt von 27 - 44  $\mu\text{g/g}$  Frischgewicht extrahiert (Abb. 17).



**Abb. 17:** Gesamtascorbinsäure-Gehalt von Fahnenblättern der Weizensorten 'Picolo' (Großbuchstaben) und 'Quattro' (Kleinbuchstaben) während einer einwöchigen Behandlung mit Ozondauerbelastung und der unbehandelten Kontrollpflanzen (T-Test).

## 3.3.4.2 Tocopherol

Der Einfluss der Ozonexposition auf den Tocopherolgehalt im Fahnenblatt war nachweisbar sortenabhängig. In ozonexponierten Pflanzen der ozonsensitiven Sorte ‘Picolo’ betrug die Konzentration während der gesamten Expositionsperiode gleichmäßig 15 - 22  $\mu\text{g/g}$  Frischgewicht (Abb. 18). Dieser Wert entsprach in etwa dem Gehalt in den unbehandelten Kontrollpflanzen. Demgegenüber konnte bei der weniger ozonsensitiven Sorte ‘Quattro’ nach der Ozonexposition eine deutliche Änderung des Tocopherolgehaltes beobachtet werden. So wurde während der ersten 24 Stunden nach Versuchsbeginn in den exponierten Pflanzen ein signifikanter Anstieg der Tocopherolkonzentration um mehr als das Doppelte des Wertes der Kontrollpflanzen auf 58  $\mu\text{g/g}$  Frischgewicht verzeichnet (Abb. 18). Dieser Anstieg setzte sich im weiteren Versuchsverlauf fort, so dass 48 Stunden nach Expositionsbeginn eine Konzentration von 67  $\mu\text{g/g}$  Frischgewicht extrahiert werden konnte. Hervorzuheben ist, dass der Tocopherolgehalt der unbehandelten Kontrollpflanzen von ‘Quattro’ gegenüber dem von ‘Picolo’ stets etwa 8 - 10  $\mu\text{g/g}$  Frischgewicht höher lag.

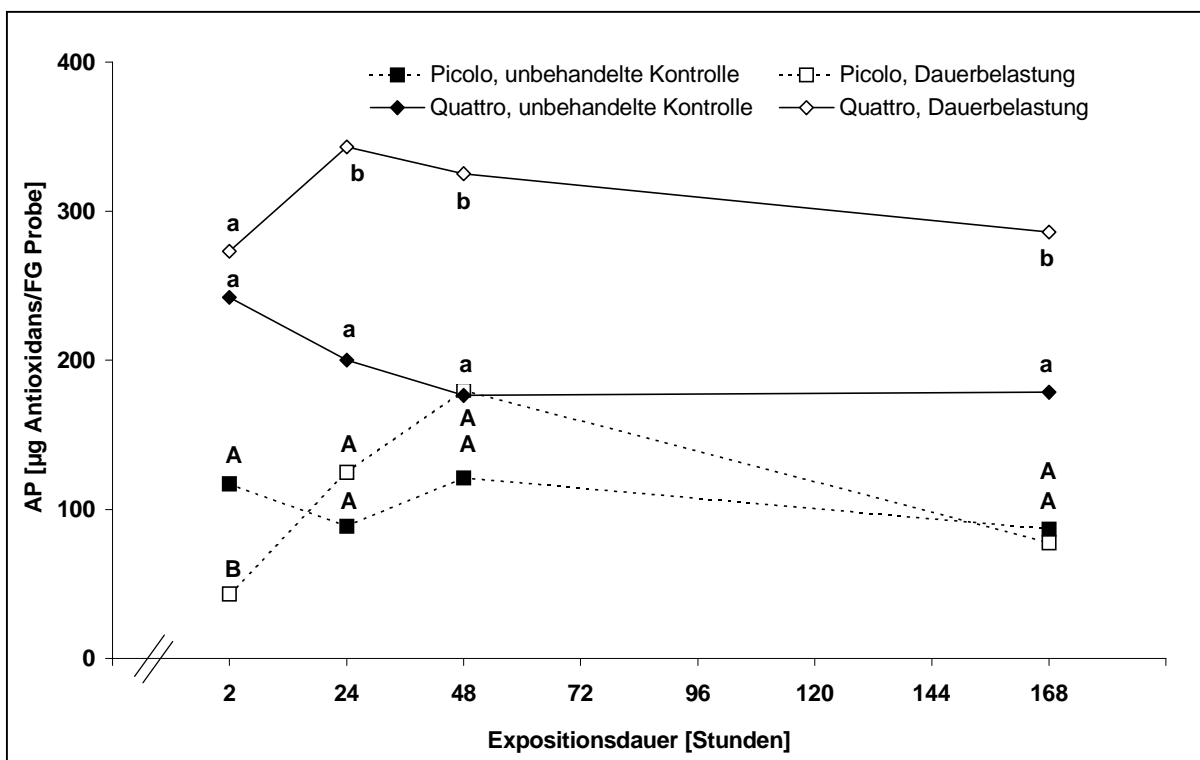


**Abb. 18:** Tocopherolgehalt von Fahnenblättern der Weizensorten ‘Picolo’ (Großbuchstaben) und ‘Quattro’ (Kleinbuchstaben) während einer einwöchigen Behandlung mit Ozondauerbelastung und der unbehandelten Kontrollpflanzen (T-Test).

## 3.3.4.3 Antioxidatives Gesamtpotential

Das antioxidative Gesamtpotential stieg bei beiden Weizensorten während der ersten 48 Stunden der Exposition stark an. Der Unterschied zu den nicht exponierten Kontrollpflanzen war jedoch nur bei der Sorte ‘Quattro’ signifikant (Abb. 19). Zum Ende des siebentägigen Expositionszeitraumes wurde bei den ozonbehandelten Pflanzen beider Weizensorten wiederum ein Rückgang des antioxidativen Gesamtpotentiales beobachtet.

Ebenso wie bei der Untersuchung der Tocopherolgehalte wurden auch deutliche Sortenunterschiede in den Konzentrationen der unbehandelten Kontrollpflanzen festgestellt. Während das antioxidative Potential in den Kontrollpflanzen von ‘Picolo’ bei 87 - 121  $\mu\text{g/g}$  Frischgewicht lag, konnte bei ‘Quattro’ eine Konzentration von 179 - 242  $\mu\text{g/g}$  Frischgewicht bestimmt werden (Abb. 19). Damit war das antioxidative Potential von ‘Quattro’ etwa doppelt so hoch wie bei der Sorte ‘Picolo’.



**Abb. 19:** Antioxidatives Gesamtpotential in Fahnenblättern der Weizensorten ‘Picolo’ (Großbuchstaben) und ‘Quattro’ (Kleinbuchstaben) während einer einwöchigen Behandlung mit Ozondauerbelastung und der unbehandelten Kontrollpflanzen (T-Test).

### 3.4 Einfluss von Ozon auf die Entwicklung von *Septoria tritici* an Weizen

Eine veränderte Prädisposition von Pflanzen gegenüber Pilzkrankheiten in Folge einer Ozonexposition ist bereits bekannt. Die bis hierhin beschriebenen Untersuchungen zeigten deutlich, dass die Wirkung von Ozon auf die physiologische Leistung der Pflanze und auf die Pflanzeninhaltsstoffe bei Weizen von dem Immissionsmuster abhängt. Daraus ergab sich die Frage, ob und in welcher Weise verschiedene Ozon-Immissionen den Infektionsverlauf, die Befallsstärke sowie den Befallsverlauf beeinflussen. Mit Hilfe makroskopischer und mikroskopischer Untersuchungen sollte ermittelt werden, ob der Befall mit *S. tritici* durch Ozon oder das Ozon-Immissionsmuster beeinflusst wird.

#### 3.4.1 Einfluss zweier konstanter Ozonkonzentrationen auf die Pyknidienbildung

Weizenpflanzen der Sorten 'Picolo' und 'Quattro' wurden zunächst vor der Bestockung, zu BBCH 14 - 22 für fünf Tage bei konstanten Ozonkonzentrationen exponiert. Im Anschluss daran erfolgte die Inokulation mit einer Sporenlösung ( $10^6$  Sporen/ml) von *Septoria tritici* und drei Wochen später die Bonitur der Anzahl der Pyknidien je Flächeneinheit ( $\text{cm}^2$ ). Auf Pflanzen, die 12 Stunden pro Tag einer Ozonkonzentration von  $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$  ausgesetzt waren, konnte eine signifikant höhere Pyknidienbildung festgestellt werden als auf den unbehandelten Kontrollpflanzen (Abb. 20). Eine Behandlung mit  $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$  Ozon führte im Vergleich mit den Kontrollpflanzen nur zu einer geringfügig höheren Pyknidienbildung.

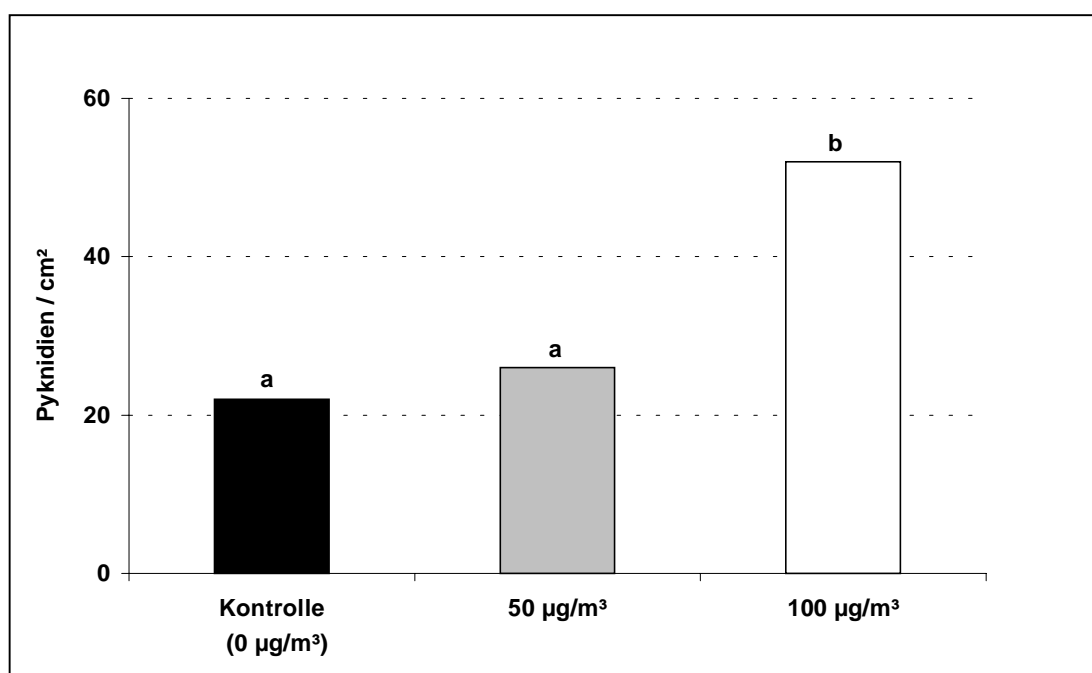


Abb. 20: Einfluss einer fünftägigen Ozonexposition bei  $0 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ,  $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$  und  $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$  auf die Pyknidienbildung von *S. tritici*, 18 Tage nach der Inokulation (DUNN'S Test).

### 3.1.1 Einfluss unterschiedlicher Ozon-Immissionsmuster auf den Befall

Für die folgenden Untersuchungen wurden Weizenpflanzen der Sorten 'Picolo' und 'Quattro' während der Blüte, zu BBCH 59 - 61, für eine Woche bei zwei unterschiedlichen Ozon-Immissionsmustern exponiert. Im Anschluss daran wurde die Inokulation mit einer Sporenlösung ( $10^6$  Sporen/ml) von *Septoria tritici* durchgeführt. Die makroskopische Befallsbonitur erfolgte jeweils an dem Fahnenblatt und an F-1. Ab dem Auftreten erster nekrotischer Läsionen mit Pyknidien wurden je Immissionsmuster jeden zweiten Tag 40 Pflanzen untersucht.

Erste Läsionen mit Pyknidien konnten drei Wochen nach der Inokulation an beiden Weizensorten beobachtet werden. Während des gesamten Boniturzeitraumes war die Befallsstärke bei der Sorte 'Picolo' stets höher als bei 'Quattro'. Der höchste Befall der Sorte 'Picolo' konnte an Pflanzen beobachtet werden, die zuvor bei Ozondauerbelastung exponiert worden waren (Abb. 21). Dort stieg der Befall von durchschnittlich 28 % Blattfläche mit Pyknidien zu Beginn des Boniturzeitraumes auf 74 % Blattfläche mit Pyknidien zum Zeitpunkt fünf Wochen nach der Inokulation. An Kontrollpflanzen traten erste Pyknidien erst 2 - 3 Tage später auf. 29 Tage nach der Inokulation konnte auf diesen Pflanzen eine Befallsstärke von 45 % beobachtet werden, die sich bis zum Ende des Boniturzeitraumes nicht mehr wesentlich veränderte. Die stark ozongeschädigten Pflanzen der Ozonbehandlung mit Spitzenkonzentrationen wiesen während des gesamten Boniturzeitraumes nur einen vergleichsweise geringen Befall von 13 - 29 % auf.

Im Vergleich zu der Sorte 'Picolo' konnte bei 'Quattro' erst mit einiger zeitlicher Verzögerung eine Ozonwirkung auf den Befall beobachtet werden. Erst 35 Tage nach der Inokulation war der Befall der ozonexponierten Pflanzen signifikant höher als auf den unbehandelten Kontrollpflanzen. Den höchsten Befall mit 23 % nekrotischer Blattfläche mit Pyknidien wiesen dann wie bei der Sorte 'Picolo' solche Pflanzen auf, die zuvor bei Ozondauerbelastung exponiert worden waren. Während des gesamten Boniturzeitraumes erreichte der Befall bei der Sorte 'Quattro' in den Ozonbelastungsvarianten und in den unbehandelten Kontrollpflanzen nicht mehr als 30 % (Abb. 22).

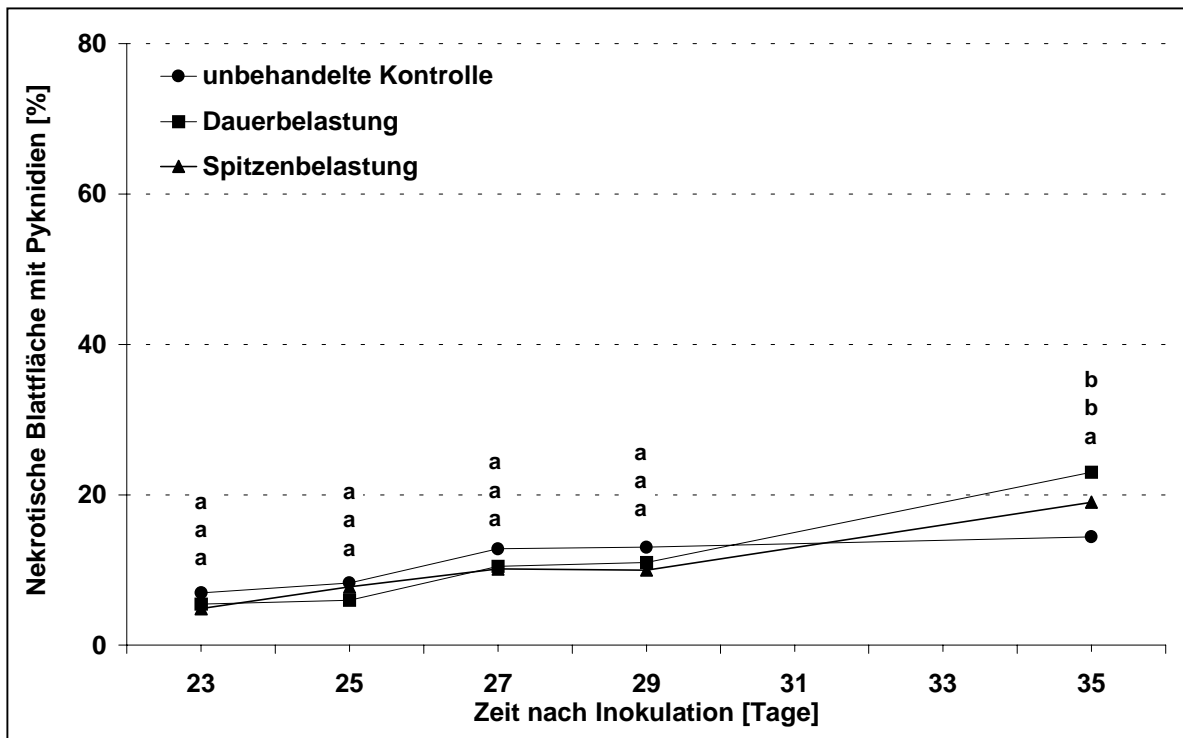


Abb. 21: Einfluss des Ozon-Immissionsmusters auf den *S. tritici*-Befall des Fahnenblattes der Weizensorte 'Picolo' (STUDENT-NEWMAN-KEULS-Test).

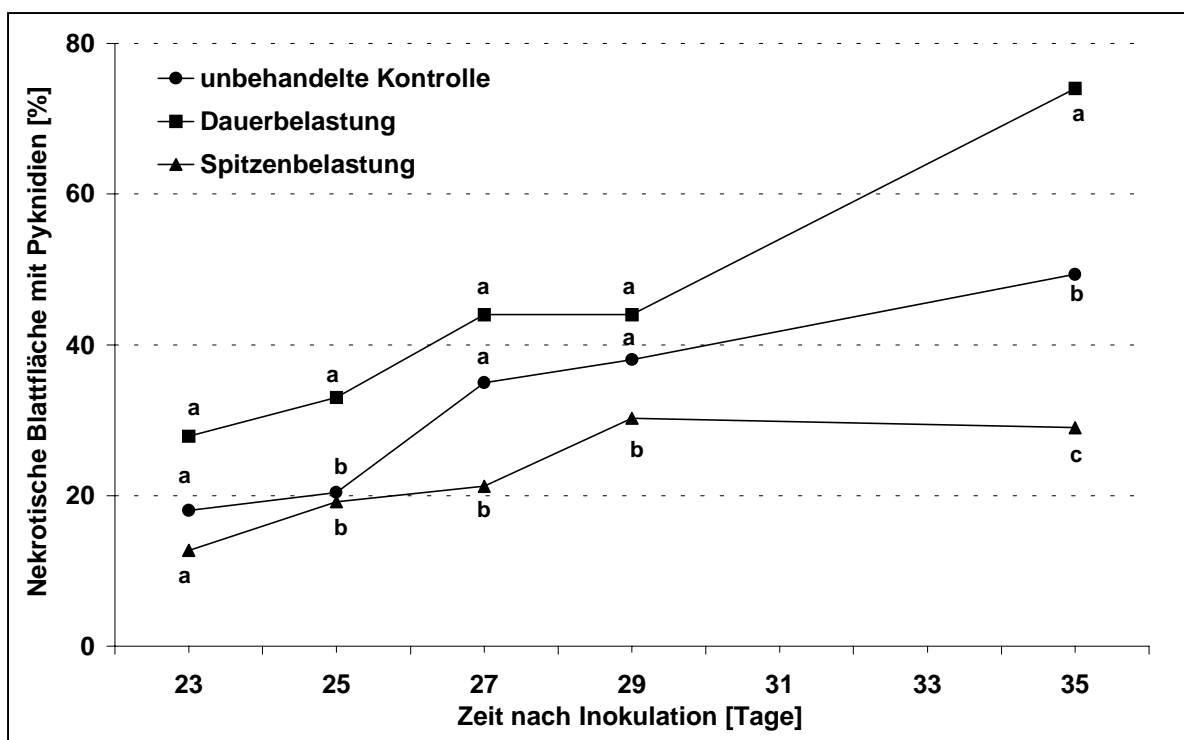
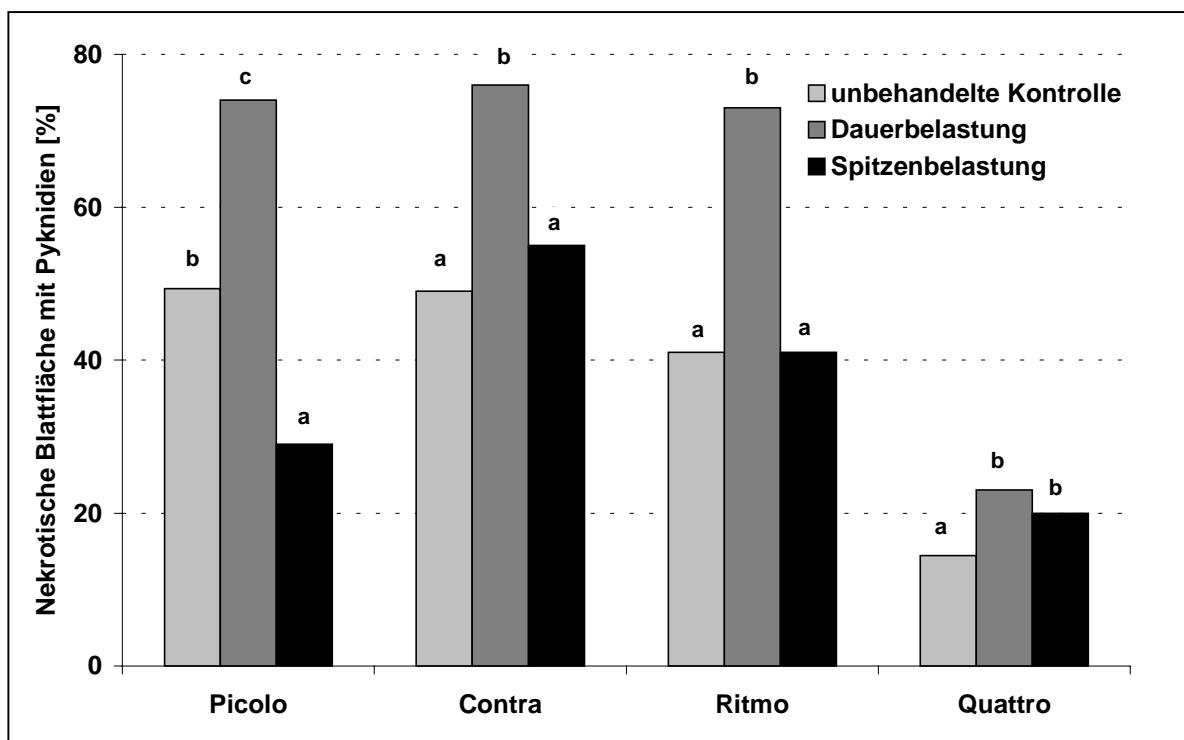


Abb. 22: Einfluss des Ozon-Immissionsmusters auf den *S. tritici*-Befall des Fahnenblattes der Weizensorte 'Quattro' (STUDENT-NEWMAN-KEULS-Test).

Der Einfluss der unterschiedlichen Ozon-Immissionsmuster auf den Befall der Weizensorten ‘Picolo’ und ‘Quattro’ mit *Septoria tritici* konnte für andere Weizensorten bestätigt werden. Bei allen untersuchten Weizensorten wurde der signifikant höchste Befall mit *S. tritici* jeweils nach Ozonexposition mit Dauerbelastung beobachtet (Abb. 23). Das Immissionsmuster mit Ozonspitzenkonzentrationen führte dagegen im Vergleich mit der nicht ozonexponierten Kontrolle in Abhängigkeit der Sorte und der Vorschädigung der Pflanzen durch Ozon sowohl zu einer Befallszunahme als auch zu einer Abnahme des Befalls.



**Abb. 23:** Einfluss des Ozon-Immissionsmusters auf den *S. tritici*-Befall des Fahnenblattes der Weizensorten ‘Picolo’, ‘Contra’, ‘Ritmo’ und ‘Quattro’ fünf Wochen nach der Inokulation (STUDENT-NEWMAN-KEULS-Test).

### 3.4.3 Einfluss unterschiedlicher Ozon-Immissionsmuster auf den Infektionsverlauf

In den vorangegangenen Untersuchungen wurde eine Förderung des Befalls mit *Septoria tritici* durch eine vorhergehende Exposition der Weizenpflanzen bei Ozondauerbelastung festgestellt. Die Intensität eines Befalls mit Schaderregern bzw. die Prädisposition der Pflanzen für einen Befall spiegelt sich in der Entwicklung der Pathogene auf der Wirtspflanze wider. Durch lichtmikroskopische Untersuchungen von infizierten Fahnenblättern sollte der Infektionsverlauf auf nicht exponierten und ozonexponierten Weizenpflanzen erfaßt werden. Hierzu wurden Weizenpflanzen der Sorten 'Picolo' und 'Quattro' während der Blüte, zu BBCH 59 - 61, für die Dauer von einer Woche ozonexponiert und anschließend mit *S. tritici* inokuliert. An verschiedenen Tagen nach der Inokulation wurden je Ozonvariante 40 Fahnenblätter geerntet und aus den daraus bereiteten Blattproben für jede Expositionsvariante jeweils 30 Proben lichtmikroskopisch untersucht. Der Infektionsverlauf von *Septoria tritici* auf den nicht exponierten Kontrollpflanzen wird nachfolgend dargestellt (Bildtafeln 1 - 3).

Die Konidiosporen von *S. tritici* erschienen länglich-gebogen, etwas spitz zulaufend, mehrfach septiert, hyalin und etwa 1,1 - 3,0 µm lang. Die Keimschlauchbildung erfolgte an den apikalen Enden der stark vakuolisierten Konidien. Sie konnte bereits nach 24 Stunden auf beiden Weizensorten beobachtet werden (Bildtafel 1 a & b). Ein Hyphenwachstum auf der Epidermis wurde ebenfalls bereits einen Tag nach der Inokulation auf beiden Weizensorten nachgewiesen. Das Wachstum erfolgte ungerichtet mit vielfachen Verzweigungen der Hyphen (Bildtafel 1 c). Während des gesamten Boniturzeitraumes war der Anteil der mit *S. tritici* besiedelten Epidermisfläche bei beiden Weizensorten sehr gering und betrug weniger als 5 %. Eine Penetration der Epidermiszellen konnte nicht beobachtet werden. Das Eindringen der Pilzhyphen in die Pflanze erfolgte über die Stomata, Appressorien wurden nicht beobachtet (Bildtafel 1 d). *S. tritici* breitete sich 14 - 21 Tage nach der Inokulation innerhalb des Blattes durch kräftiges Hyphenwachstum in den Interzellularen der Mesophyllschicht aus. Die 0,8 - 1,8 µm dicken, septierten Hyphen wuchsen mit häufigen Verzweigungen in engem Kontakt mit der pflanzlichen Zellwand zwischen den Mesophyllzellen, dabei wurde die Epidermis nicht besiedelt (Bildtafel 1 e & f). Die Ausbildung von Haustorien konnte nicht beobachtet werden.

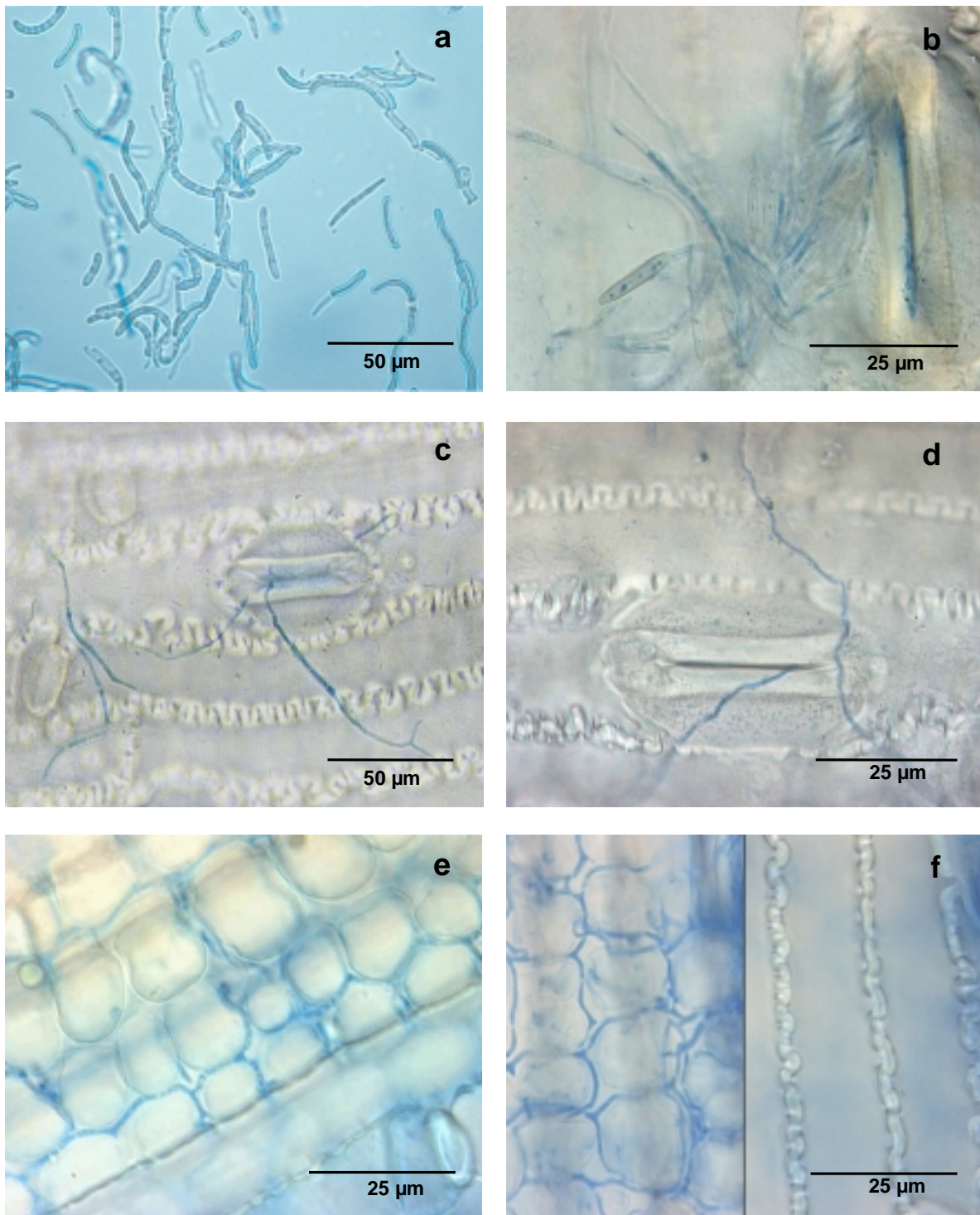


Bei dem Vergleich beider Weizensorten fiel auf, dass bei der Sorte 'Picolo' das Mesophyll etwas früher und stärker besiedelt wurde als bei der Sorte 'Quattro'. So besiedelte das Pathogen auf der Sorte 'Picolo' 28 Tage nach der Inokulation durchschnittlich etwa 47 % der gesamten Mesophyllfläche, während bei der Weizensorte 'Quattro' zu diesem Zeitpunkt im Durchschnitt 39 % der Mesophyllfläche von *S. tritici* besiedelt war.

Der Beginn der Pyknidienbildung wurde 14 - 21 Tage nach der Inokulation in einer verstärkten Besiedlung des Spaltöffnungsapparates und einer Akkumulation von Pilzhypen in der substomatären Höhle sichtbar (Bildtafel 2 a - c). Es wurde jeweils nur ein Pyknidium pro Stomata beobachtet. Ab dem 21. Tag nach der Inokulation konnten vollständig ausgereifte Pyknidien verzeichnet werden (Bildtafel 2 d). Die Fruktifikation war sieben Tage später abgeschlossen. Aufgeplatzte Pyknidien sowie entlassene Konidiosporen konnten beobachtet werden (Bildtafel 2 e & f).

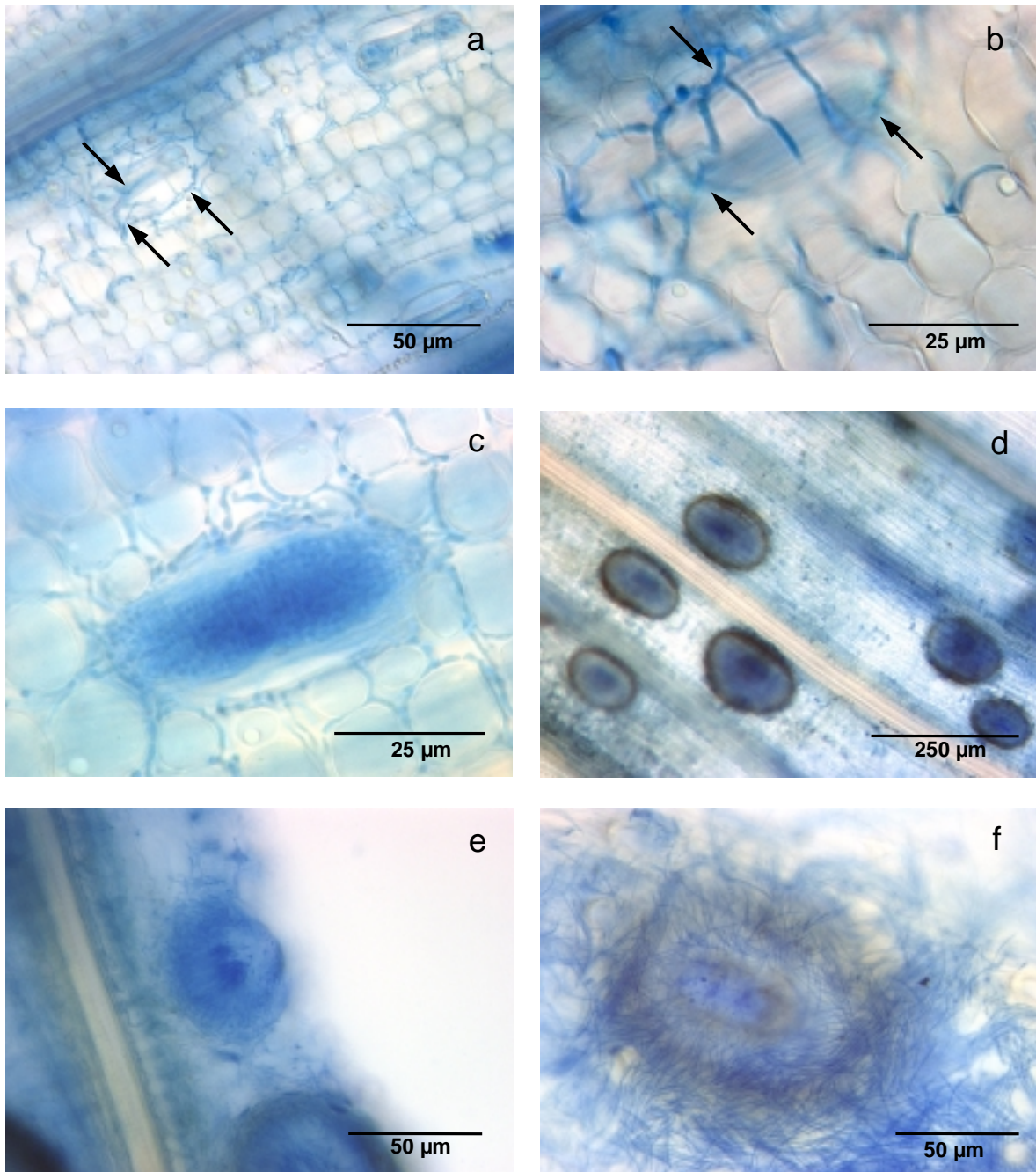
Beim Vergleich der Weizensorten war auffällig, dass die Pyknidienbildung bei 'Picolo' nach 21 Tagen bereits weiter fortgeschritten war als bei der Sorte 'Quattro'. So betrug die durchschnittliche Pyknidienzahl zu diesem Zeitpunkt bei der Sorte 'Picolo' etwa 26, während auf Blättern der Sorte 'Quattro' im Durchschnitt nur vier Pyknidien beobachtet werden konnten. Sechs Tage später war die Pyknidienzahl beider Sorten angeglichen und lag bei durchschnittlich 32 - 38 Pyknidien.

Eine Nekrotisierung der Mesophyllzellen infolge des Befalls mit *S. tritici* wurde bei beiden Weizensorten 15 Tage nach der Inokulation beobachtet (Bildtafel 3 a & b). Auf der Sorte 'Quattro' traten diese ersten Nekrosen etwas früher auf als bei 'Picolo'. Dagegen war die Nekrotisierung bei der Sorte 'Picolo' 27 Tage nach der Inokulation mit 35 % nekrotischer Mesophyllfläche etwa 1,5 mal so hoch wie bei der Sorte 'Quattro'. Ozoninduzierte Nekrosen der Mesophyllzellen wurden demgegenüber bereits 24 Stunden nach der Inokulation auf den ozonexponierten Pflanzen beobachtet. Sie konnten nur anhand des fehlenden Pilzmycels von den später auftretenden *Septoria*-induzierten Nekrosen unterschieden werden (Bildtafel 3 a - d).



**Bildtafel 1: Infektionsstrukturen von *Septoria tritici* auf Fahnenblättern von Weizen**

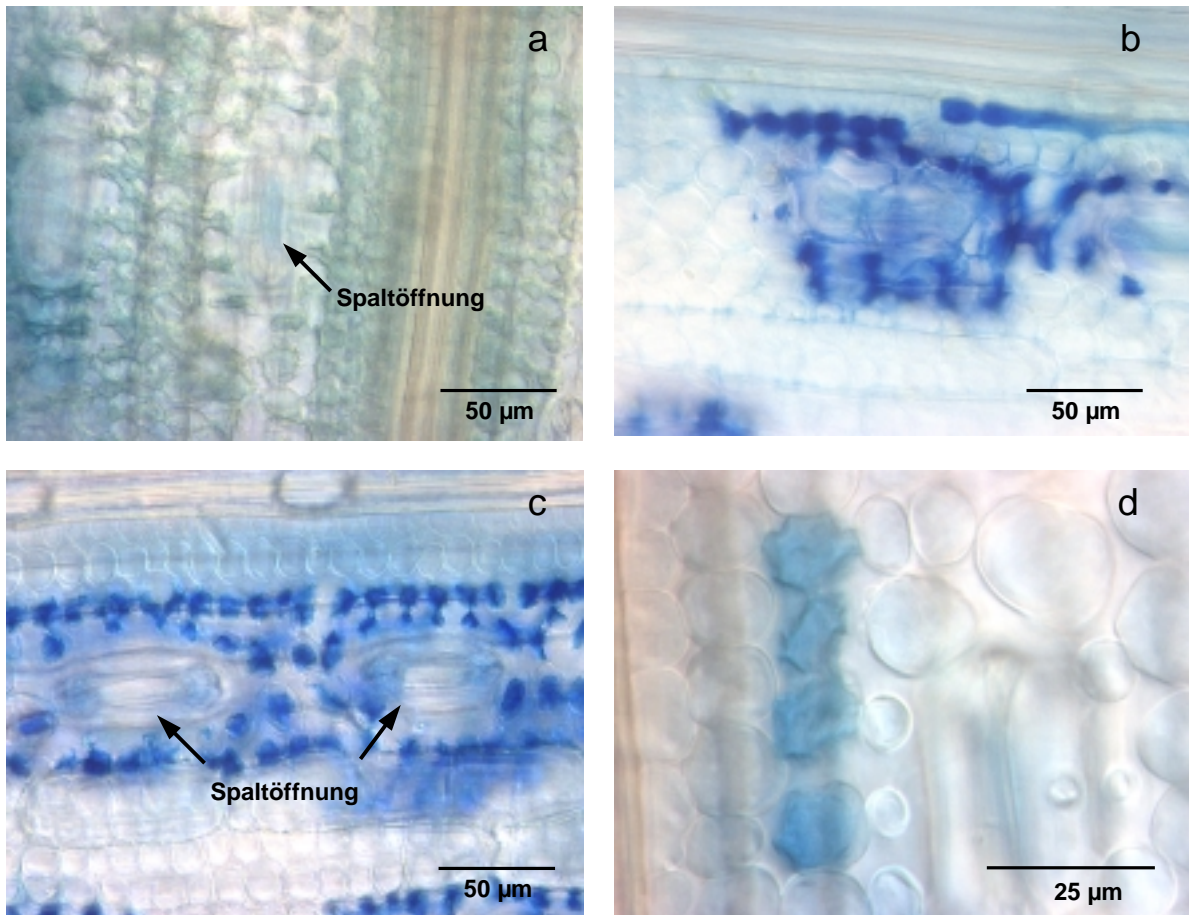
- a:** Konidiosporen (1 dpi)  
**b:** Stark vakuolierte Konidiosporen an deren apikalen Enden die Keimschlauchbildung bereits erfolgt ist (1 dpi)  
**c:** Konidiosporen und beginnendes Mycelwachstum (1 dpi)  
**d:** Spaltöffnung mit eingewachsener Pilzhyphe (1 dpi)  
**e:** Beginnende Ausbreitung der Pilzhypen in den Interzellularen des Mesophylls (21 dpi)  
**f:** Kräftiges Wachstum der Pilzhypen in den Interzellularen des Mesophylls (links). Bei Fokussierung auf die Epidermis ist kein Mycel sichtbar (rechts, 21 dpi)



**Bildtafel 2: Pyknidienbildung von *Septoria tritici* auf Fahnenblättern von Weizen**

- a & b:** Beginnende Pyknidienbildung durch Umwachsen einer Spaltöffnung –  
 ‚Boring‘ (21 dpi)
- c:** Agglomeration der Pilzhyphen in der substomatären Höhle einer Spaltöffnung  
 (21 dpi)
- d:** Pyknidien (21 dpi)
- e:** Reifes Pyknidium, seitliche Ansicht (28 dpi)
- f:** Aufgeplatztes Pyknidium mit Pykno­sporen (28 dpi)





**Bildtafel 3: Nekrosen an Fahnenblättern von Weizen**

**a & b:** *Septoria*-infiziertes Weizenblatt mit nekrotischen Mesophyllzellen an den Spaltöffnungen

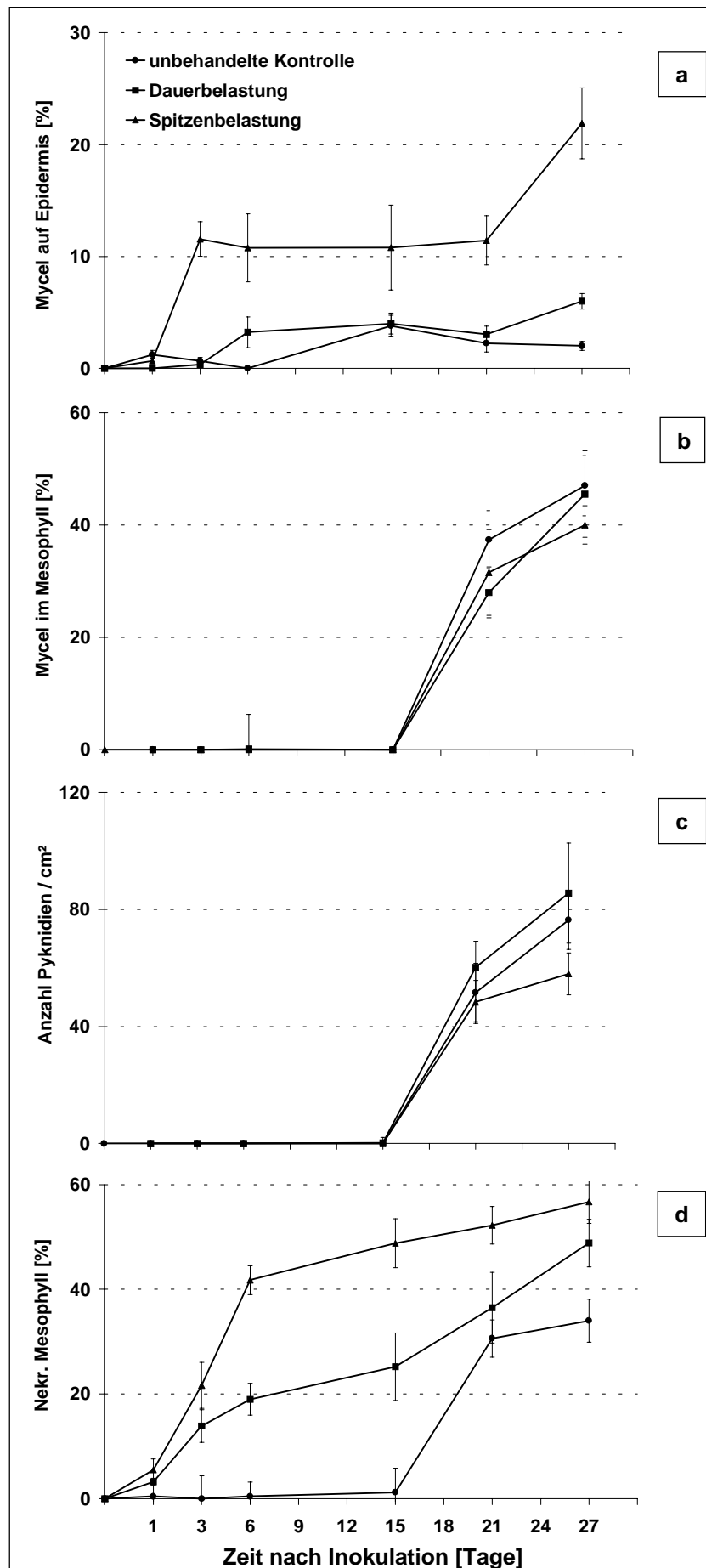
**c & d:** Ozongeschädigtes Weizenblatt mit nekrotischen Mesophyllzellen an den Spaltöffnungen

Nachfolgend wird der Infektionsverlauf auf Weizenpflanzen beschrieben, die vor der Inokulation bei zwei unterschiedlichen Ozon-Immissionsmustern exponiert worden waren. Weizenpflanzen der Sorte 'Picolo', die bei dem Immissionsmuster mit Spitzenkonzentrationen exponiert worden waren, zeigten schon drei Tage nach der Inokulation auf etwa 12 % der Epidermisoberflächen ein deutliches Mycelwachstum (Abb. 24 a). Pflanzen der nicht ozonexponierten Kontrolle und der Exposition bei Ozondauerbelastung wiesen dagegen einen niedrigeren Anteil mycelbewachsener Epidermisfläche auf (< 5 %). Bei der Sorte 'Quattro' war das Mycelwachstum deutlich langsamer. Hier konnte der für 'Picolo' beschriebene Einfluss des Ozon-Immissionsmusters mit Spitzenkonzentrationen erst elf Tage später festgestellt werden (Abb. 25 a).

Bei beiden Weizensorten war das Mesophyll 21 Tage nach der Inokulation mit *S. tritici* dicht mit Mycel durchwachsen (Abb. 24 b, Abb. 25 b). Während bei 'Picolo' kein Einfluss des Immissionsmusters auf die Ausbreitungsintensität des Pilzes im Mesophyll erkennbar war, konnte bei der Sorte 'Quattro' nach Exposition mit Ozonspitzenkonzentrationen ein im Vergleich zur nicht exponierten Kontrolle um etwa 30 % reduziertes Wachstum von *S. tritici* im Mesophyll festgestellt werden (Abb. 25 b).

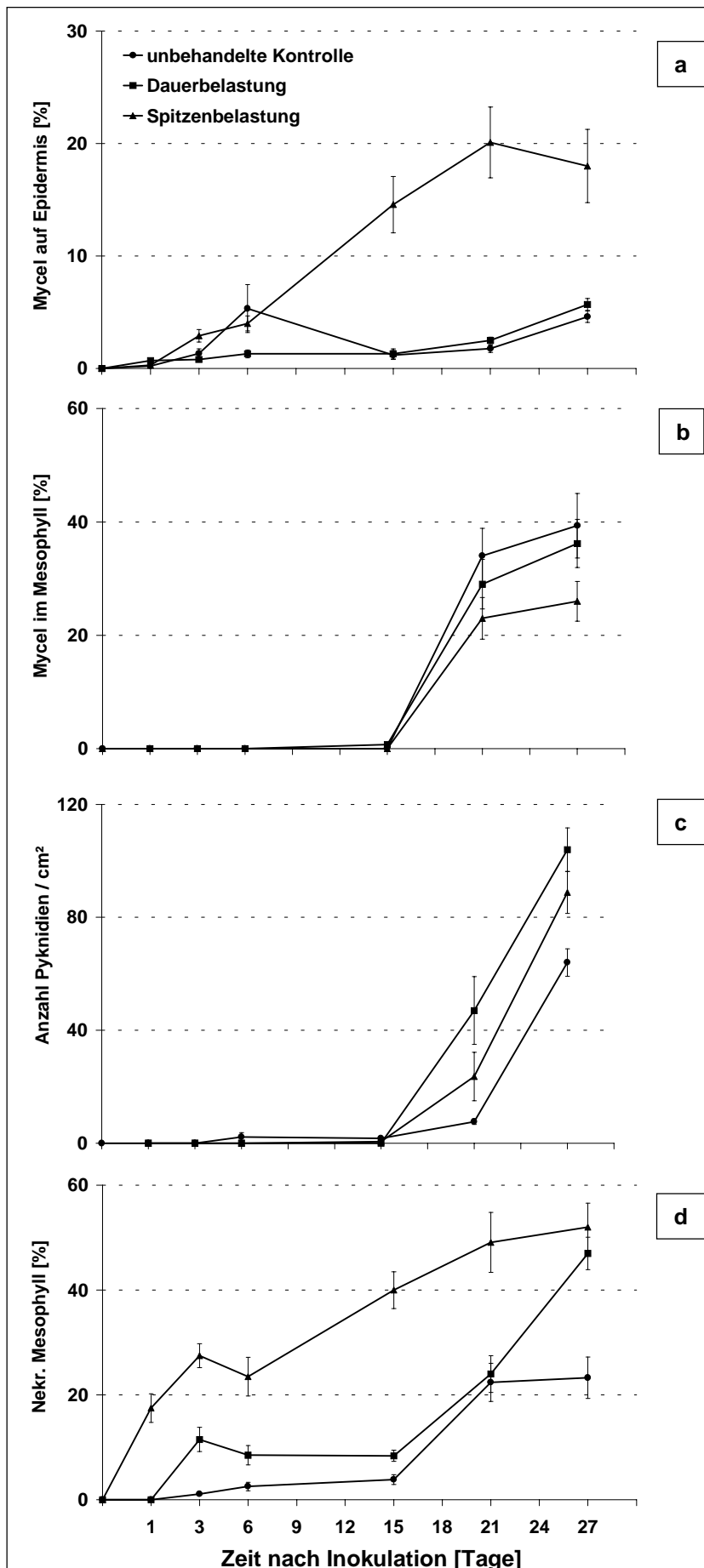
Erste Pyknidien traten auf beiden Sorten 21 Tage nach der Inokulation auf. Die höchste Pyknidienzahl wurde 27 Tage nach der Inokulation unabhängig von der Sorte mit 84 - 100 Pyknidien / cm<sup>2</sup> auf Pflanzen ermittelt, die bei Ozondauerbelastung exponiert waren (Abb. 24 c, Abb. 25 c). Bei der Sorte 'Picolo' war die Pyknidienzahl 21 Tage nach der Inokulation 2- bis 6-mal höher als bei der Sorte 'Quattro'. 27 Tage nach der Inokulation konnte dieser Sortenunterschied nicht mehr festgestellt werden. Die beiden Weizensorten unterschieden sich dann jedoch hinsichtlich der Wirkung des Ozon-Immissionsmusters auf die Pyknidienzahl. So wurde bei 'Picolo' die geringste Pyknidienzahl mit 58 Pyknidien auf Pflanzen beobachtet, die bei Ozonspitzenkonzentrationen exponiert worden waren. Bei der Sorte 'Quattro' dagegen wurde die geringste Anzahl an Pyknidien auf den Pflanzen der nicht ozonexponierten Kontrolle beobachtet.

Der größte Anteil nekrotischer Mesophyllzellen konnte mit 50 - 60 % bei beiden Sorten nach Ozonexposition bei dem Immissionsmuster mit Spitzenkonzentrationen beobachtet werden. Die Exposition bei Dauerbelastung führte bei beiden Sorten ebenfalls zu einer starken Nekrotisierung von etwa 50 %. Insgesamt war die Schädigung bei der Sorte 'Picolo' etwas größer als bei 'Quattro'.



**Abb. 24:** Mikroskopische Bonitur des Infektionsverlaufs von *Septoria tritici* auf Fahnblättern von 'Picolo' bis 28 Tage nach der Inokulation.

Prozentualer Anteil des Mycels auf der Epidermis (a), prozentualer Anteil des Mycels im Mesophyll (b), Anzahl der Pyknidien / cm<sup>2</sup> (c) und prozentualer Anteil nekrotischen Mesophylls (d); ± SE.

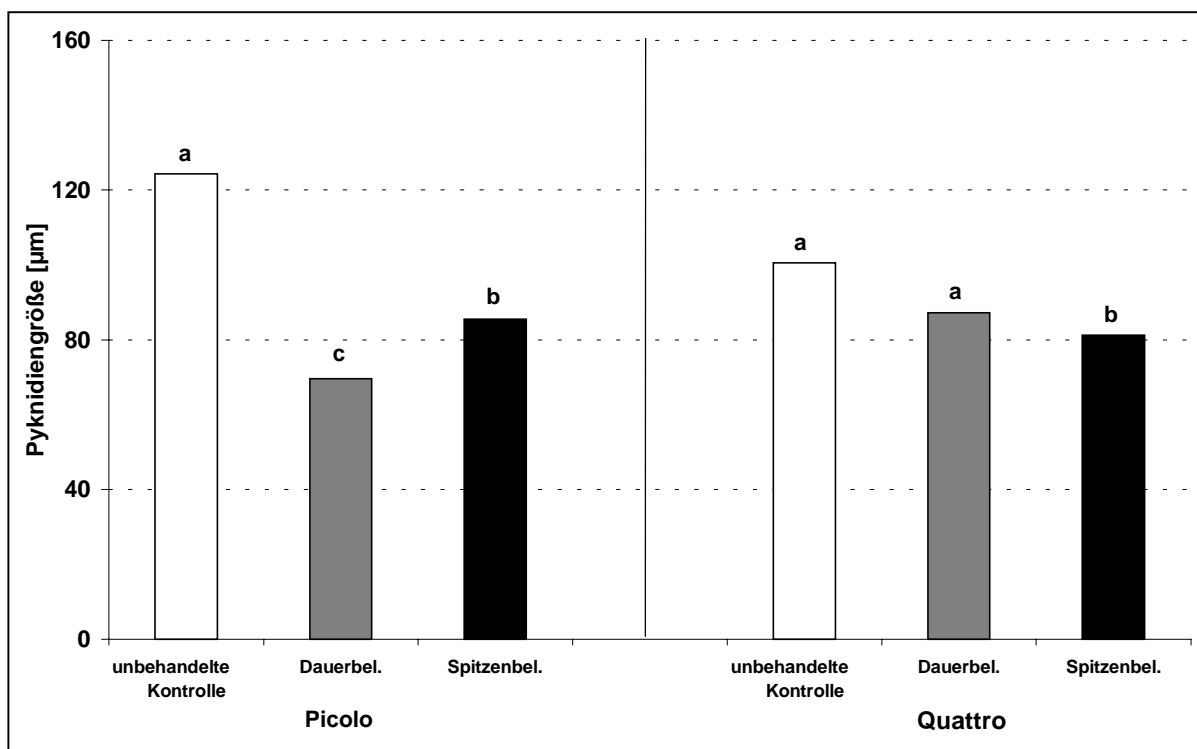


**Abb. 25:** Mikroskopische Bonitur des Infektionsverlaufs von *Septoria tritici* auf Fahrenblättern von 'Quattro' bis 28 Tage nach der Inokulation.

Prozentualer Anteil des Mycels auf der Epidermis (a), prozentualer Anteil des Mycels im Mesophyll (b), Anzahl der Pyknidien / cm<sup>2</sup> (c) und prozentualer Anteil nekrotischen Mesophylls (d);  $\pm$  SE.

Die Pyknidiengröße wird für *S. tritici* als einer der Parameter angesehen, mit dem Anfälligkeitsunterschiede der Pflanzen quantifiziert werden können. Es sollte daher untersucht werden, ob sich neben den genetisch bedingten Sortenunterschieden auch die Pflanzenreaktion auf den Ozonstress in der Pyknidiengröße widerspiegelt.

Die größten Pyknidien wurden bei beiden Weizensorten auf den Blättern der nicht exponierten Kontrollpflanzen beobachtet, während die Ozonexposition beider Sorten bei Spitzenkonzentrationen zu einer signifikanten Reduktion die Pyknidiengröße führte. Während bei der Sorte 'Quattro' nur nach Exposition bei Spitzenbelastung eine signifikante Reduktion der Pyknidiengröße ermittelt wurde, konnte bei der Sorte 'Picolo' neben dieser Wirkung eine noch stärkere Reduktion der Pyknidiengröße nach Ozonexposition bei Dauerbelastung beobachtet werden (Abb. 26).



**Abb. 26:** Durchschnittliche Pyknidiengröße auf den Weizensorten 'Picolo' und 'Quattro' 27 Tage nach Inokulation mit  $10^6$  Sporen/ml (STUDENT-NEWMAN-KEULS-Test).



### **3.5 Einfluss unterschiedlicher Ozon-Immissionsmuster und Befall mit *Septoria tritici* auf Wachstum und Ertragsbildung von Weizen bei Exposition während der Blüte**

Das Wissen um das Ausmaß und die Wirkung eines Krankheitsbefalls und die damit verbundenen Einbußen in Wachstum und Ertrag von Kulturpflanzen gehören zu den Grundlagen des Pflanzenschutzes. In den vorhergehenden Untersuchungen konnte in Folge der alleinigen Infektion mit *Septoria tritici* oder der alleinigen Ozonexposition der Weizenpflanzen eine deutliche Wirkung auf die Pflanzenleistung und die Biomassebildung festgestellt werden. In den folgenden Untersuchungen sollte der Einfluss einer Kombination aus Ozonexposition und anschließender *S. tritici*-Infektion auf die Pflanzenleistung und den Ertrag ermittelt werden.

#### **3.5.1 Chlorophyllgehalt und Photosyntheseaktivität**

Der Photosyntheseapparat bestimmt als Hauptenergie- und Baustofflieferant weitgehend das pflanzliche Wachstum und den Ertrag. Aufgrund ähnlicher makroskopischer Schadenssymptome nach Ozonexposition und Befall mit *Septoria tritici* wurde vermutet, dass der Photosyntheseapparat auch durch eine Kombination aus Ozonexposition und anschließender Infektion durch *Septoria tritici* beeinträchtigt wird.

Ein Einfluss der Kombinationsbehandlung auf den Chlorophyllgehalt (SPAD-Wert) konnte bei keiner der beiden Weizensorten festgestellt werden (Tab. 11 & Tab. 12). Es wurde lediglich eine bereits beschriebene Wirkung des Ozon-Immissionsmusters beobachtet. Die signifikante Reduktion des Chlorophyllgehaltes der bei Spitzenkonzentrationen exponierten Pflanzen ab Tag neun und damit drei Tage nach der Inokulation kann damit ausschließlich auf die Ozonwirkung zurückgeführt werden.

**Tab. 11:** Einfluss des Ozon-Immissionsmusters und eines anschließenden *S. tritici*-Befalls auf den Chlorophyllgehalt (SPAD-Wert) der Weizensorte 'Picolo' zwei bis acht Tage nach Expositionsende und Inokulation (MW: Mittelwert; TUKEY-Test).

<b>Behandlung</b>	<b>Tag 9</b>	<b>Tag 12</b>	<b>Tag 15</b>
- <i>S. tritici</i> MW	44,3 a	35,9 a	33,4 a
+ <i>S. tritici</i> MW	43,6 a	35,7 a	37,9 a
unbehandelte Kontrolle MW	45,5 a	44,1 a	44,0 a
Dauerbelastung MW	45,9 a	41,0 a	44,1 a
Spitzenbelastung MW	40,3 b	22,3 b	18,8 b
unbehandelte Kontrolle - <i>S. tritici</i>	45,8 a	44,3 a	45,0 a
Dauerbelastung - <i>S. tritici</i>	46,2 a	43,2 a	44,2 a
Spitzenbelastung - <i>S. tritici</i>	40,8 a	20,1 a	11,1 a
unbehandelte Kontrolle + <i>S. tritici</i>	45,2 a	43,9 a	43,0 a
Dauerbelastung + <i>S. tritici</i>	45,7 a	38,8 a	44,0 a
Spitzenbelastung + <i>S. tritici</i>	39,9 a	24,6 a	23,6 a
p-Wert			
<i>S. tritici</i>	0,534	0,959	0,072
Ozon	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Ozon x <i>S. tritici</i>	0,990	0,205	0,058

**Tab. 12:** Einfluss des Ozon-Immissionsmusters und eines anschließenden *S. tritici*-Befalls auf den Chlorophyllgehalt (SPAD-Wert) der Weizensorte 'Quattro' zwei bis acht Tage nach Expositionsende und Inokulation (MW: Mittelwert; TUKEY-Test).

<b>Behandlung</b>	<b>Tag 9</b>	<b>Tag 12</b>	<b>Tag 15</b>
- <i>S. tritici</i> MW	44,6 a	39,9 a	37,3 a
+ <i>S. tritici</i> MW	46,0 a	39,3 a	38,2 a
unbehandelte Kontrolle MW	47,0 a	47,0 a	45,6 a
Dauerbelastung MW	47,2 a	43,9 a	42,7 a
Spitzenbelastung MW	41,8 b	27,8 b	25,0 b
unbehandelte Kontrolle - <i>S. tritici</i>	47,0 a	46,6 a	46,0 a
Dauerbelastung - <i>S. tritici</i>	46,6 a	46,4 a	43,7 a
Spitzenbelastung - <i>S. tritici</i>	40,3 a	26,6 a	22,2 a
unbehandelte Kontrolle + <i>S. tritici</i>	46,9 a	47,4 a	45,2 a
Dauerbelastung + <i>S. tritici</i>	47,7 a	41,4 a	41,6 a
Spitzenbelastung + <i>S. tritici</i>	43,7 a	29,1 a	27,7 a
p-Wert			
<i>S. tritici</i>	0,139	0,809	0,720
Ozon	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Ozon x <i>S. tritici</i>	0,374	0,392	0,380

Der Chlorophyllfluoreszenzwert Fv/Fm wurde weder durch die *Septoria*-Infektion alleine noch durch die Kombinationsbehandlung der Weizenpflanzen mit beiden Stressoren verändert (Tab. 13). Neben einer reduzierten maximalen Fluoreszenz wurde eine Verringerung der Grundfluoreszenz beobachtet. Die Wirkung der ausschließlichen Ozonexposition auf den Fv/Fm-Wert ist daher nicht in derselben Deutlichkeit sichtbar wie bei dem unter Kap. 3.3.2 beschriebenen Expositionsversuch. Bei beiden Sorten war nur der bereits beschriebene Einfluss der Ozonexposition auf die Chlorophyllfluoreszenz messbar. So konnte in den ozongestressten Pflanzen eine signifikante Reduktion des Fv/Fm-Wert gegenüber der nicht ozonexponierten Kontrolle beobachtet werden. Die Ursache für diese Reduktion ist eine Abnahme der maximalen Fluoreszenz (Tab. 13).

Tab. 13: Einfluss des Ozon-Immissionsmusters und eines anschließenden *S. tritici*-Befalls auf die Chlorophyllfluoreszenz der Weizensorten 'Picolo' und 'Quattro', acht Tage nach Expositionsende und Inokulation (Fo: Grundfluoreszenz, Fm: maximale Fluoreszenz, Fv: variable Fluoreszenz, MW: Mittelwert; TUKEY-Test).

Behandlung	Picolo			Quattro		
	Fo	Fv/Fm	Fm	Fo	Fv/Fm	Fm
- <i>S. tritici</i> MW	0,292 a	0,789 a	1,411 a	0,289 a	0,789 a	1,396 a
+ <i>S. tritici</i> MW	0,297 a	0,763 a	1,381 a	0,293 a	0,787 a	1,419 a
unbehandelte Kontrolle MW	0,306 a	0,782 a	1,450 a	0,291 a	0,799 a	1,447 a
Dauerbelastung MW	0,295 b	0,783 a	1,391 a	0,296 a	0,782 b	1,399 a
Spitzenbelastung MW	0,283 b	0,763 a	1,347 b	0,286 a	0,784 b	1,375 a
unbehandelte Kontrolle - <i>S. tritici</i>	0,299 a	0,795 a	1,469 a	0,282 a	0,802 a	1,417 a
Dauerbelastung - <i>S. tritici</i>	0,292 a	0,788 a	1,410 a	0,299 a	0,782 a	1,374 a
Spitzenbelastung - <i>S. tritici</i>	0,285 a	0,784 a	1,354 a	0,285 a	0,794 a	1,397 a
unbehandelte Kontrolle + <i>S. tritici</i>	0,312 a	0,770 a	1,430 a	0,300 a	0,795 a	1,477 a
Dauerbelastung + <i>S. tritici</i>	0,298 a	0,777 a	1,372 a	0,292 a	0,792 a	1,424 a
Spitzenbelastung + <i>S. tritici</i>	0,281 a	0,743 a	1,339 a	0,288 a	0,788 a	1,354 a
p-Wert						
<i>S. tritici</i>	0,159	0,161	0,181	0,361	0,551	0,405
Ozon	< 0,001	0,599	0,002	0,338	0,001	0,809
Ozon x <i>S. tritici</i>	0,130	0,790	0,890	0,149	0,053	0,222

### 3.5.2 Biomasse und Ertrag

Wirtschaftliche Verluste durch einen Befall von Weizen mit *Septoria tritici* sind in der Regel vor allem in einem verminderten Ertrag begründet. Da bereits die Ozonexposition der Weizenpflanzen deutliche Ertragsminderungen verursachte, sollte untersucht werden, wie sich der ausschließliche *Septoria*-Befall und die Kombination von Ozonstress und *Septoria*-Befall auf die Biomassebildung und den Ertrag auswirken.

Bei beiden Weizensorten wurde infolge der Inokulation mit *S. tritici* eine signifikante Reduktion der oberirdischen Halmtrockenmasse um etwa 10 % ermittelt (Tab. 14 & 15). Das Tausendkorngewicht war unter diesen Bedingungen ebenfalls signifikant um 8 - 13 % reduziert. Im Vergleich dazu verursachte die Ozonexposition alleine eine Verringerung des Ährgewichtes der Haupthalme um bis zu 14 %, der Kornzahl je Ähre um etwa 8 % und ein um bis zu 28 % reduziertes Tausendkorngewicht (Tab. 14 & 15).

**Tab. 14:** Einfluss des Ozon-Immissionsmusters und der *S. tritici*-Infektion auf Biomasse und Ertrag der Weizensorte 'Picolo' (HH: Haupthalm, BH: Bestockungshalm, HÄ: Hauptähre, BÄ: Bestockungsähre, TM: Trockenmasse, MW: Mittelwert; TUKEY-Test).

Behandlung	TM HH [g]	TM HÄ [g]	TM BH [g]	TM BÄ [g]	Korn/ Ähre	TKG HH [g]	TKG BH [g]
- <i>S. tritici</i> MW	1,05 a	1,52 a	1,50 a	0,96 a	49,76 a	33,37 a	28,36 a
+ <i>S. tritici</i> MW	0,94 b	1,42 a	1,45 a	1,04 a	47,98 a	29,09 b	26,07 b
unbehandelte Kontrolle MW	1,00 a	1,52 a	1,44 a	0,99 a	50,17 a	37,04 a	30,56 a
Dauerbel. MW	1,02 a	1,58 a	1,50 a	1,03 a	48,88 a	30,11 b	26,76 b
Spitzenbel. MW	0,96 a	1,31 b	1,49 a	0,98 a	47,55 a	26,54 c	24,32 c
unbehandelte Kontrolle - <i>S. tritici</i>	1,02 a	1,55 a	1,41 a	0,98 a	50,57 a	38,05 a	30,46 a
Dauerbelastung - <i>S. tritici</i>	1,09 a	1,55 a	1,58 a	0,93 a	49,30 a	31,12 b	27,68 b
Spitzenbelastung - <i>S. tritici</i>	1,03 a	1,45 a	1,52 a	0,96 a	49,4 a	30,92 b	26,93 b
unbehandelte Kontrolle + <i>S. tritici</i>	0,98 a	1,49 a	1,47 a	1,00 a	49,77 a	36,02 a	30,67 a
Dauerbelastung + <i>S. tritici</i>	0,94 a	1,60 a	1,43 a	1,12 a	48,47 a	29,09 b	25,83 c
Spitzenbelastung + <i>S. tritici</i>	0,88 a	1,17 c	1,45 a	1,00 a	45,74 a	22,16 c	21,71 d
p-Wert							
<i>S. tritici</i>	0,041	0,073	0,336	0,105	0,069	< 0,001	< 0,001
Ozon	0,619	<0,001	0,609	0,738	0,092	< 0,001	< 0,001
Ozon x <i>S. tritici</i>	0,577	0,040	0,307	0,345	0,378	< 0,001	< 0,001

**Tab. 15:** Einfluss des Ozon-Immissionsmusters und der der *S. tritici*-Infektion auf Biomasse und Ertrag der Weizensorte 'Quattro' (HH: Haupthalm, BH: Bestockungshalm, HÄ: Hauptähre, BÄ: Bestockungsähre, TM: Trockenmasse, MW: Mittelwert; TUKEY-Test).

Behandlung	TM HH [g]	TM HÄ [g]	TM BH [g]	TM BÄ [g]	Korn/ Ähre	TKG HH [g]	TKG BH [g]
- <i>S. tritici</i> MW	1,43 a	1,79 a	1,80 a	0,96 a	46,53 a	32,05 a	30,70 a
+ <i>S. tritici</i> MW	1,31 b	1,82 a	1,66 b	0,98 a	47,58 a	28,82 b	26,93 b
unbehandelte Kontrolle MW	1,39 a	1,84 a	1,74 a	1,02 a	49,35 a	33,05 a	30,71 a
Dauerbelastung MW	1,41 a	1,85 a	1,65 a	0,98 a	45,60 b	31,20 b	29,20 a
Spitzenbelastung MW	1,31 a	1,72 b	1,80 a	0,92 a	46,20 b	27,05 c	26,55 b
unbehandelte Kontrolle - <i>S. tritici</i>	1,45 a	1,78 a	1,79 a	1,07 a	47,73 a	33,84 a	32,06 a
Dauerbelastung - <i>S. tritici</i>	1,54 a	1,87 a	1,66 a	1,00 a	45,20 a	33,15 a	30,46 a
Spitzenbelastung - <i>S. tritici</i>	1,33 a	1,72 a	1,95 a	0,83 a	46,67 a	29,16 a	29,59 b
unbehandelte Kontrolle + <i>S. tritici</i>	1,35 a	1,89 a	1,70 a	0,98 a	50,97 a	32,26 a	29,37 b
Dauerbelastung + <i>S. tritici</i>	1,27 a	1,84 a	1,64 a	0,96 a	46,03 a	29,25 a	27,93 b
Spitzenbelastung + <i>S. tritici</i>	1,29 a	1,71 a	1,66 a	1,00 a	45,74 a	24,94 a	23,51 c
p-Wert							
<i>S. tritici</i>	0,008	0,373	0,027	0,832	0,279	< 0,001	< 0,001
Ozon	0,226	<0,001	0,099	0,366	0,004	< 0,001	< 0,001
Ozon x <i>S. tritici</i>	0,138	0,124	0,167	0,178	0,210	0,102	0,015

Neben der Reduktion des Tausendkorngewichtes durch die Einwirkung der einzelnen Stressfaktoren wurde bei der Kombination von Ozonexposition und *S. tritici*-Infektion eine zusätzliche Reduktion des Tausendkorngewichtes beobachtet (Tab. 14 & 15). Nach Exposition mit Spitzenkonzentrationen führte die Kombination von Ozonexposition und *S. tritici*-Befall zu gravierenderen Ertragsverlusten als eine Exposition bei Ozondauerbelastung alleine. So war das Tausendkorngewicht des Haupthalmes nach Exposition mit Spitzenkonzentrationen und anschließender Inokulation bei 'Piccolo' gegenüber den nicht inokulierten Pflanzen um 28 % reduziert, während eine Exposition bei Ozondauerbelastung und anschließender Befall mit *S. tritici* zu einer Reduktion um 7 % führten (Tab. 14 & 15).

**Tab. 16:** Einfluss des Ozon-Immissionsmusters und der *S. tritici*-Infektion auf die Bestockungszahl der Weizensorten ‘Picolo’ und ‘Quattro’ (MW: Mittelwert; TUKEY-Test).

<b>Behandlung</b>	<b>Picolo</b>	<b>Quattro</b>
- <i>S. tritici</i> MW	1,78 a	1,82 a
+ <i>S. tritici</i> MW	1,85 a	1,94 a
unbehandelte Kontrolle MW	1,78 a	1,92 a
Dauerbelastung MW	1,85 a	1,95 a
Spitzenbelastung MW	1,82 a	1,89 a
unbehandelte Kontrolle - <i>S. tritici</i>	1,69 a	1,82 a
Dauerbelastung - <i>S. tritici</i>	1,85 a	1,98 a
Spitzenbelastung - <i>S. tritici</i>	1,80 a	1,89 a
unbehandelte Kontrolle + <i>S. tritici</i>	1,87 a	2,03 a
Dauerbelastung + <i>S. tritici</i>	1,84 a	1,92 a
Spitzenbelastung + <i>S. tritici</i>	1,84 a	1,88 a
p-Wert		
<i>S. tritici</i>	0,188	0,279
Ozon	0,584	0,427
Ozon x <i>S. tritici</i>	0,319	0,180

Neben der Ertragsmenge wurde die Kornqualität als wichtige Ertragskomponente bestimmt. Sie ergibt sich aus den Mahleigenschaften und der Backqualität des Weizens und wurde anhand des Gesamt-N-Gehaltes, der Fallzahl und des Sedimentationswertes der Körner untersucht.

Lediglich der Gesamt-Stickstoffgehalt der Sorte ‘Picolo’ war nach Ozonexposition leicht erhöht, wenn die Pflanzen zuvor bei Ozonspitzenkonzentrationen exponiert worden waren (Tab. 17). Ein Einfluss der Kombinationsbehandlung aus Ozonexposition und *Septoria*-Infektion auf die Kornqualität konnte nicht ermittelt werden.

**Tab. 17:** Einfluss des Ozon-Immissionsmusters und der Infektion mit *S. tritici* auf die Kornqualität von Sommerweizen der Sorten ‘Picolo’ und ‘Quattro’ (N: Gesamtstickstoff, Sedi-Wert: Sedimentations-Wert; TUKEY-Test).

Behandlung	Picolo			Quattro		
	Gesamt N [%]	Fallzahl	Sedi-Wert	Gesamt N [%]	Fallzahl	Sedi-Wert
- <i>S. tritici</i> MW	2,39 a	561 a	16,13 a	2,35 a	635 a	20,22 a
+ <i>S. tritici</i> MW	2,50 a	597 a	17,63 a	2,20 a	662 a	21,00 a
unbehandelte Kontrolle MW	2,29 a	577 a	17,50 a	2,17 a	621 a	18,08 a
Dauerbelastung MW	2,34 a	520 a	17,15 a	2,35 a	705 a	20,45 a
Spitzenbelastung MW	2,71 b	642 a	16,00 a	2,31 a	619 a	23,30 a
unbehandelte Kontrolle - <i>S. tritici</i>	2,13 a	560 a	16,90 a	2,18 a	621 a	17,15 a
Dauerbelastung - <i>S. tritici</i>	2,30 a	537 a	13,80 a	2,42 a	740 a	20,65 a
Spitzenbelastung - <i>S. tritici</i>	2,72 b	588 a	17,70 a	2,45 a	544 a	22,85 a
unbehandelte Kontrolle + <i>S. tritici</i>	2,44 a	595 a	18,10 a	2,15 a	621 a	19,00 a
Dauerbelastung + <i>S. tritici</i>	2,38 a	503 a	20,50 a	2,27 a	671 a	20,25 a
Spitzenbelastung + <i>S. tritici</i>	2,69 b	695 a	14,30 a	2,17 a	695 a	23,75 a
p-Wert						
<i>S. tritici</i>	0,066	0,758	0,755	0,400	0,761	0,448
Ozon	0,158	0,659	0,252	0,054	0,698	0,805
Ozon x <i>S. tritici</i>	0,429	0,578	0,933	0,595	0,886	0,132

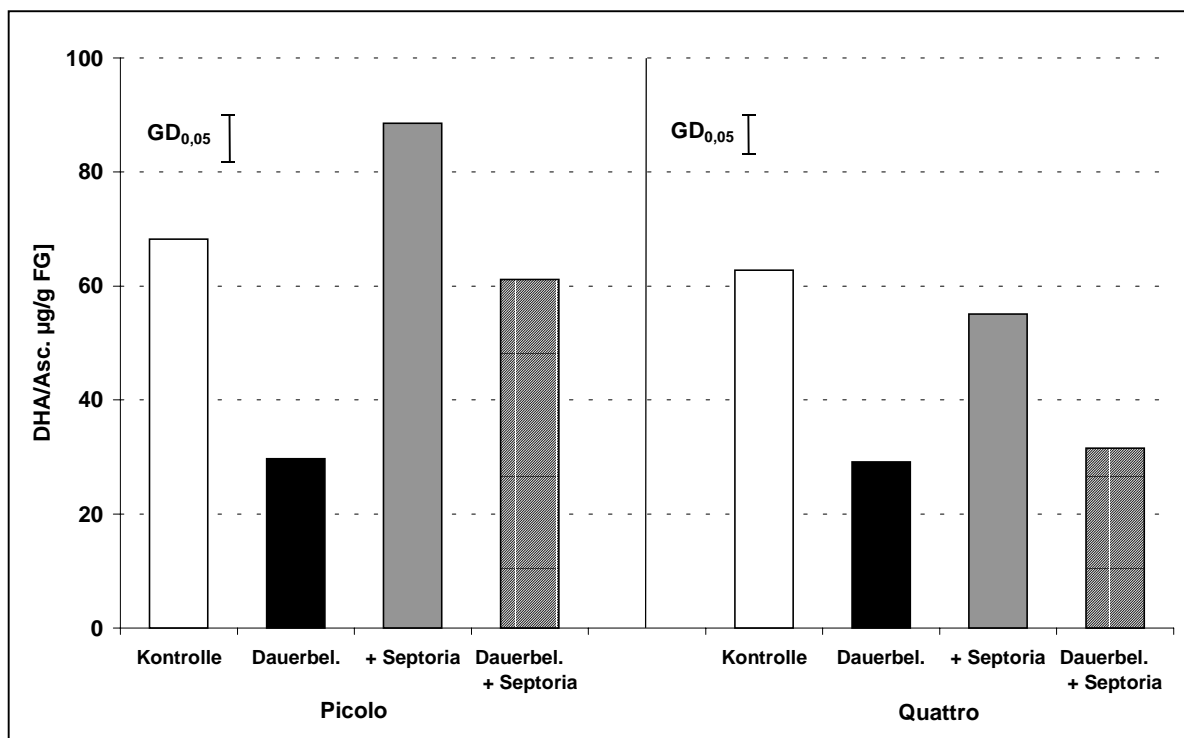
### 3.5.3 Wirkung auf das antioxidative Potential

Pflanzeninterne Mechanismen zur Pathogenabwehr existieren in vielfältiger Form. Die Bildung stark oxidativer Verbindungen ist ein solcher Signal-Mechanismus, der Abwehrreaktionen der Pflanze auslöst. Kommt es zu einer Überexprimierung dieser Verbindungen, können sie zum Schutz der pflanzlichen Zellen von Radikalfängern, sogenannten ‚scavengern‘, neutralisiert werden. Antioxidantien wie Ascorbinsäure und Tocopherole gehören neben Enzymen zu den wichtigsten Radikalfängern.

In den folgenden Untersuchungen sollte ermittelt werden, ob die Ozonsensitivität der Weizensorten ‘Picolo’ und ‘Quattro’ und ihre unterschiedliche Anfälligkeit gegenüber *Septoria tritici* in Zusammenhang mit den Gehalten von Antioxidantien oder deren stressinduzierten Änderungen steht. Die Weizenpflanzen wurden für die Dauer einer Woche bei Ozondauerbelastung exponiert und im Anschluss daran mit *S. tritici* inokuliert. Die Probenahme von Fahnenblättern erfolgte 168 Stunden nach Expositionsende und der Inokulation.

## 3.5.3.1 Gesamtascorbinsäuregehalt

Die Antioxidantiengehalte waren in Abhängigkeit Sorte und Behandlung sehr unterschiedlich. So war der Gesamtascorbinsäure-Gehalt der Sorte ‘Picolo’ eine Woche nach Ende der Exposition bei den allein ozonexponierten Pflanzen signifikant um 56 % niedriger als bei Pflanzen der nicht ozonbelasteten und nicht inokulierten Kontrolle (Abb. 29). Der Befall mit *S. tritici* alleine wirkte sich auf den Gesamtascorbinsäure-Gehalt in einer 30 %igen Erhöhung der Konzentration aus. Die Kombination aus Ozonexposition und *S. tritici*-Befall führte zu einem geringfügig reduzierten Gesamtascorbinsäure-Gehalt. Bei der Weizensorte ‘Quattro’ wurde sowohl bei alleiniger Ozonexposition und bei der Kombinationsbehandlung mit Ozonexposition und Pilzinfektion eine Verringerung des Gesamtascorbinsäure-Gehaltes um 50 % ermittelt (Abb. 29). Die ausschließliche *Septoria*-Inokulation dagegen induzierte im Vergleich mit den Kontrollpflanzen nur eine vergleichsweise geringe Reduktion des Gesamtascorbinsäure-Gehaltes von 12 %.

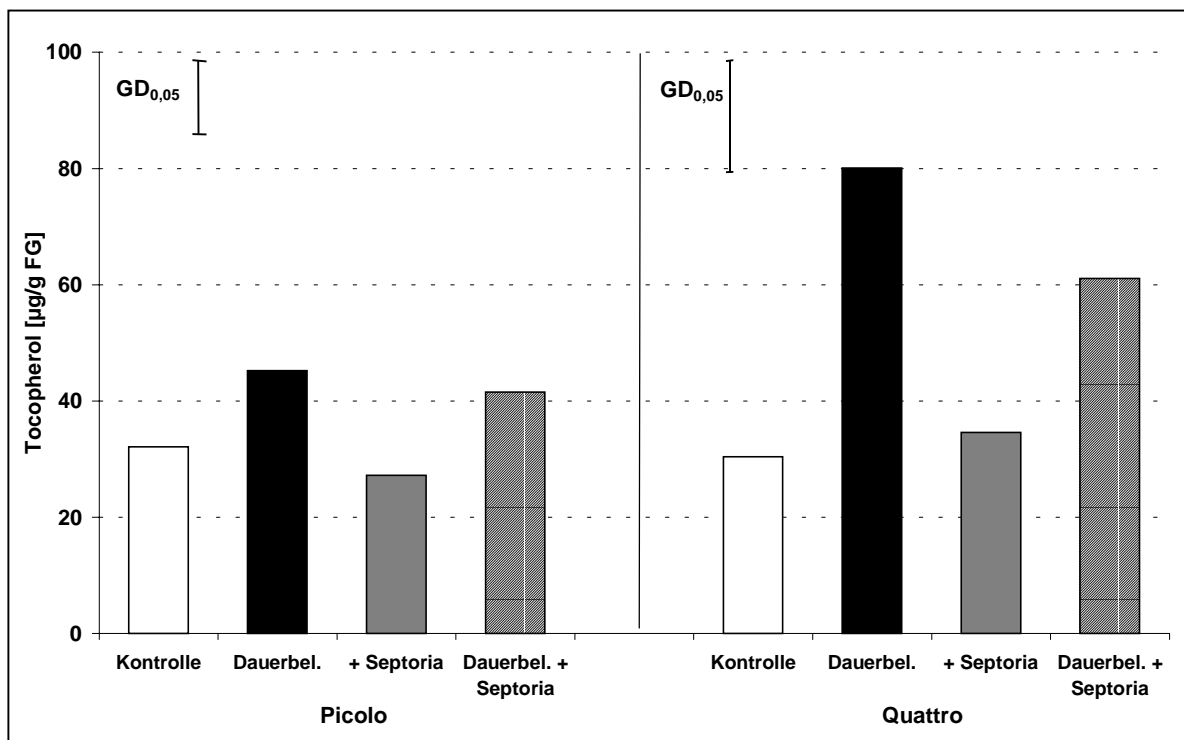


**Abb. 29:** Gesamtascorbinsäure-Gehalt [reduziert und oxidiert] in Fahnenblättern der unbehandelten Kontrollpflanzen und der ozonexponierten und *S. tritici*-infizierten Pflanzen der Weizensorten ‘Picolo’ und ‘Quattro’ eine Woche nach der Inokulation (GD: Grenzdifferenz nach TUKEY).



## 3.5.3.2 Tocopherolgehalt

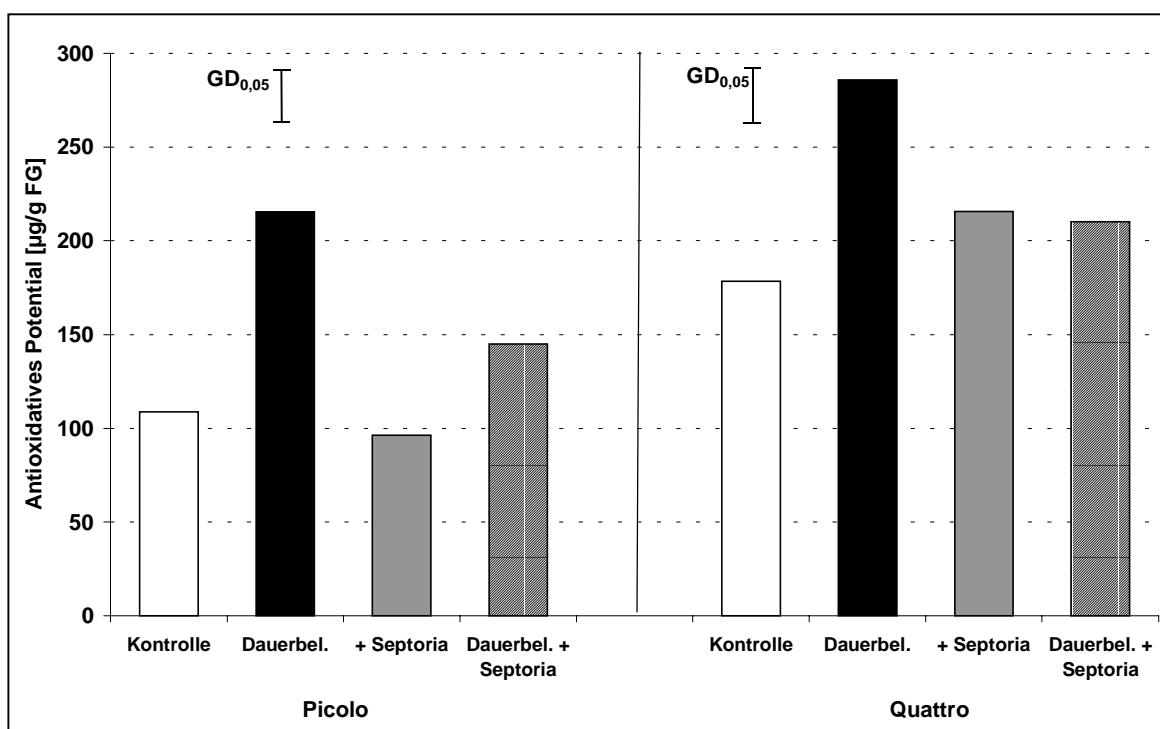
Die Untersuchung der Tocopherolgehalte ergab für beide Weizensorten eine Erhöhung der Konzentration in den Pflanzen, die bei Ozon exponiert waren oder eine Kombinationsbehandlung aus Ozonexposition und *Septoria*-Inokulation erhalten hatten (Abb. 30). Die Sorten unterschieden sich jedoch dadurch, dass die Konzentrationserhöhung des Tocopherolgehaltes unter Ozondauerbelastung bei 'Quattro' fast doppelt so hoch war wie bei den entsprechenden Pflanzen der Sorte 'Picolo'. Ein signifikanter Einfluss der alleinigen *S. tritici*-Inokulation auf den Tocopherolgehalt konnte nicht beobachtet werden.



**Abb. 30:** Tocopherolgehalt in Fahnenblättern der unbehandelten Kontrollpflanzen und der ozonexponierten und *S. tritici*-infizierten Pflanzen der Weizensorten 'Picolo' und 'Quattro' eine Woche nach der Inokulation (GD: Grenzdifferenz nach TUKEY).

## 3.5.3.3 Gesamtes antioxidatives Potential

Ebenso wie bei der Untersuchung der Tocopherolgehalte konnte auch bei diesen Untersuchungen ein erhöhtes antioxidatives Potential aus den Pflanzen der Ozonbelastungsvariante oder der Kombinationsbehandlung aus Ozonexposition und *Septoria*-Inokulation extrahiert werden (Abb. 31). Die alleinige *Septoria*-Inokulation der Pflanzen führte bei 'Picolo' zu einer 11 %igen Verminderung des antioxidativen Potentials, während bei der Sorte 'Quattro' eine geringe Erhöhung um 21 % beobachtet werden konnte. Die Kombination beider Stressfaktoren führte dagegen bei beiden Weizensorten zu einer 18 - 33 % Erhöhung des antioxidativen Potentials verglichen mit der völlig unbehandelten Kontrolle. Auffällig war, dass das gesamte antioxidative Potential der unbehandelten Kontrollpflanzen und der Belastungsvarianten bei der Sorte 'Quattro' gegenüber den Pflanzen der Vergleichssorte 'Picolo' um 33 - 124 % erhöht war.



**Abb. 31:** Antioxidatives Gesamtpotential der unbehandelten Kontrollpflanzen und der ozon-exponierten und *S. tritici*-infizierten Pflanzen der Weizensorten 'Picolo' und 'Quattro' eine Woche nach der Inokulation (GD: Grenzdifferenz nach TUKEY).

## 4 Diskussion

Auswirkungen gasförmiger Immissionen auf Agrarökosysteme sind außerordentlich komplex und werden durch zahlreiche Wechselbeziehungen zwischen wirkungsbestimmenden Faktoren beeinflusst. Für die wissenschaftliche Forschung sind infolgedessen vereinfachte Modelluntersuchungen erforderlich, in denen Pflanzen unter der Beibehaltung wesentlicher natürlicher Ökosystemparameter mit definierten freilandnahen Schadgaskonzentrationen belastet werden. Für solche Untersuchungen stehen verschiedene experimentelle Methoden zur Verfügung, die sich hinsichtlich ihrer Verwendbarkeit und Repräsentanz deutlich voneinander unterscheiden (VDI 2000). Naturnahe Expositionsverhältnisse können vor allem in sogenannten Open-Top-Kammern erreicht werden. Untersuchungen in diesen Systemen beruhen meist auf der Exposition von Pflanzen unter natürlichen oder leicht erhöhten Konzentrationsverhältnissen. Die Nachteile dieser Methode liegen in den starken Kammereffekten sowie der ausgesprochen schlechten Reproduzierbarkeit der Schadgaskonzentrationen. Ein weiteres Modellsystem zur Schadgasbelastung von Pflanzen durch Ozon sind Freiland-Klimakammern, in denen eine gut reproduzierbare Simulation und Kontrolle abiotischer und biotischer Umweltbedingungen möglich ist. In einem solchen Kammersystem wurde in der vorliegenden Arbeit die Wirkung von unterschiedlichen Ozon-Immissionsmustern allein und in Kombination mit einem anschließenden Befall durch *Mycosphaerella graminicola* an Weizenpflanzen überprüft.

Die Reaktionen von Pflanzen auf Schadgasbelastungen beruhen auf einer Abfolge von physikalischen und biochemischen Prozessen. Für die Ermittlung von Beeinträchtigungen der Pflanzengesundheit durch Schadgase sollten daher Wirkungskriterien genutzt werden, die zur Kennzeichnung einer Immissionswirkung auf Pflanzen geeignet sind. Grundsätzlich kann der direkte Einfluss auf Stoffwechselfunktionen oder die akute Blattschädigung gemessen werden. Daneben sollte jedoch auch der indirekte Einfluss auf Kriterien wie Ertrag und Qualität berücksichtigt werden, d.h. Kriterien, die unmittelbar eine Nutzungsminderung der Pflanzen angeben.

Speziell für die Landwirtschaft sind Auswirkungen von Luftverunreinigungen auf den Pflanzenertrag, die Pflanzenqualität und die Pflanzengesundheit außerordentlich bedeutsam, da Änderungen dieser Größen wirtschaftliche Konsequenzen für die Landwirtschaft und für die Volkswirtschaft insgesamt haben. Die vorliegende Studie berücksichtigt sowohl physiologische Änderungen als auch Ertrags- und Qualitätsparameter.

### **Einfluss von Ozon auf die Ausbildung akuter und chronischer Pflanzenschäden an Weizen**

Die Wirkung einer Ozonbelastung auf Pflanzen ist von einer Vielzahl von Expositionsfaktoren wie Konzentration, Dauer und zeitlichem Muster abhängig (LEE & HOGSETT 1999). Die Bedeutung der Einzelfaktoren lässt sich aufgrund der Heterogenität der Versuchsbedingungen der bisher in der Literatur beschriebenen Untersuchungen nur schwer bewerten. Eine Abhängigkeit der Ozonwirkung von der zugefügten Schadstoffdosis und der Tageszeit der Exposition ist dennoch offensichtlich. Die Ozonexposition bei Konzentrationsverläufen hatte überdies einen stärkeren Einfluss auf Weizen als eine gleichbleibende Konzentration während des Tages bei nächtlicher Absenkung auf minimale Ozonwerte (OMMEN et al. 1999). WIESER & HAVRANEK (1995) führten die hohe Bedeutung nächtlicher Ozonkonzentrationen auf die abendliche Einschränkung des pflanzlichen Metabolismus und damit auch der aktiven Pflanzenabwehr zurück. Trotz dieser Erkenntnisse wurde der Großteil der bisher beschriebenen Kammer- und Open-Top-Kammer-Untersuchungen bei stark abgesenkten Ozonkonzentrationen während der Nacht durchgeführt. Unter natürlichen Klimabedingungen können jedoch gerade während der Abendstunden noch hohe Ozonkonzentrationen in der Troposphäre gemessen werden. Ein Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit war daher die Ozonexposition der Pflanzen bei realitätsnahen Immissionsmustern, die einem natürlichen Konzentrationsverlauf folgten und auch nachts eine Konzentration von  $70 \mu\text{g}/\text{m}^3$  nicht unterschritten. Die schlechte Reproduzierbarkeit von Open-Top-Kammerversuchen wurde durch die Verwendung von Freiland-Klimakammern vermieden. Nachfolgend wird versucht, Fragen zur Ozonwirkung zweier unterschiedlicher Ozon-Immissionsmuster gleicher Gesamtdosis anhand der akuten Blattschäden, der Photosyntheseaktivität und des Ertrages zu vergleichen.

Die Ozonexposition von Weizenpflanzen führte in den hier vorgestellten Untersuchungen zu einer deutlichen Reduktion des Chlorophyllgehaltes im Blatt. Das Ozon-Immissionsmuster bestimmte dabei den Grad der Schädigung. So führte die Ozonexposition mit kurzen, hohen Spitzenkonzentrationen nach 15 Tagen bereits zu einer 50 %igen Reduktion des Chlorophyllgehaltes im Fahnenblatt, während bei gleicher Gesamtdosis und nach einer Ozonexposition der Pflanzen bei niedrigerer Dauerbelastung nur eine Verringerung des Chlorophyllgehaltes um knapp 10 % beobachtet werden konnte. Neben der direkten Hemmung der Chloroplastenproteinsynthese ist diese Reduktion vor allem auf eine frühzeitige Seneszenz der entsprechenden Blätter zurückzuführen (OJANPERÄ et al. 1992, SANDERMANN 1996). Diese äußert sich neben einer Vakuolisierung der Mesophyllzellen und einer Abnahme der Chloroplastengröße und -anzahl in einer Reduktion des Chlorophyllgehaltes (PLEIJEL et al. 1997, LU & ZHANG 1998, OJANPERÄ et al. 1998). Anhand der bisher vorliegenden Literatur konnte aufgrund der Heterogenität der beschriebenen Versuchsbedingungen noch kein Vergleich zweier unterschiedlicher Ozon-Immissionsmuster bei gleicher Gesamtdosis durchgeführt werden. In Open-Top-Kammer-Versuchen, bei denen Pflanzen unter natürlichen oder leicht erhöhten Ozonkonzentrationen exponiert wurden, konnte jedoch für verschiedene ozonsensitive land- und forstwirtschaftliche Nutzpflanzen ebenfalls ein ozonbedingter Chlorophyllabbau nachgewiesen werden (BENDER & WEIGEL 1995, PLEIJEL et al. 1998, CHERNIKOVA et al. 2000).

In den hier vorgestellten Untersuchungen fiel überdies auf, dass Blätter der unteren Blattetagen im Vergleich zu den Fahnenblättern eine wesentlich stärkere Ozonsensitivität besaßen. Eine Abhängigkeit der Schadwirkung des Ozon vom Entwicklungsstadium und dem Alter des exponierten Pflanzenorgans wurde für einzelne Baum-, Wild- und Nutzpflanzenarten auch von anderen Autoren beschrieben (YOUNGLOVE et al. 1994, MULHOLLAND et al. 1997, DAVISON & BARNES 1998, SOJA et al. 2000, BORTIER et al. 2000). Für einen Großteil dieser Arten konnten ozontolerante und weniger tolerante Entwicklungsstadien nachgewiesen werden (SOJA et al. 2000). Für die Intensität der Schädigungen sind jedoch vor allem der Zeitpunkt der Exposition und damit auch das mehr oder weniger ozonsensitive Entwicklungsstadium entscheidend (FINNAN et al. 1996).

In den vorliegenden Untersuchungen wiesen exponierte Jungpflanzen eine etwas geringere Ozonsensitivität auf als während der Blüte exponierte Weizenpflanzen. Nach einwöchiger Exposition von Jungpflanzen konnte bei niedriger Ozondauerbelastung eine signifikante Verringerung des Chlorophyllgehaltes um 6 - 10 % in den ozonsensitiven Sorten gemessen werden. Die Ozonexposition während der Blüte führte in Abhängigkeit der untersuchten Blattetage bei der Behandlung mit Dauerbelastung zu einer signifikanten Reduktion des Chlorophyllgehaltes.

Die Entwicklung bis zur Bestockung und die Anthese werden beim Weizen als empfindliche Stadien beschrieben. Diesen Entwicklungsstadien steht das Schossen als die am wenigsten ozonempfindliche Phase gegenüber (PLEIJEL et al. 1996). Betrachtet man die Ozonwirkung zum Zeitpunkt der Ernte so ist der Einfluss auf die blühenden Pflanzen von größerer Bedeutung. Als Ursache für die Ozonempfindlichkeit von Weizenpflanzen während der Blüte wird von SOJA & SOJA (1995) die während dieses Entwicklungsstadiums besonders hohe Stoffwechselaktivität vermutet. Die sich während der Entwicklung verändernde Physiologie der Pflanzen wird somit als Hauptursache der Sensitivitätsänderungen angesehen. So kann beispielsweise von jungen zu ausgereiften Blättern eine veränderte Funktionalität der Stomata beobachtet werden. Erst nach Ausbildung der Leitzellen ist die vollständige Funktionstüchtigkeit der Stomata gegeben (MUSSELMAN & MASSMAN 1999). Unter Stresssituationen wurde eine verstärkte Abscisinsäureproduktion dieser Leitzellen beobachtet, in deren Folge ein Schließen der Stomata bewirkt wurde und damit im Falle einer Ozonexposition der Ausschluss des Schadgases (HARTUNG & HEILMEIER 1993).

Die Schädigung der Chlorophyllpigmente durch Ozon führt oft unmittelbar zu negativen Auswirkungen auf die Photosyntheseleistung und den Ertrag (FARAGE & LONG 1999). Die bei einer Ozonimmission auftretenden Sauerstoffradikale greifen primär die Doppelbindungen von ungesättigten Fettsäuremolekülen, aromatischen Ringen und Sulfhydrylgruppen der pflanzlichen Zellmembranen an, z.B. der Thylakoidmembranen der Chloroplasten (RUNECKLES & CHEVONE 1992). Durch die Schädigung der Thylakoidmembranen kommt es des Weiteren zu einer Hemmung des Elektronentransportes und damit zu einer deutlichen Reduktion der Photosyntheserate (HEATH 1975, BENDER & JÄGER 1989, KÖLLNER & Krause 2000). Daneben bewirken reparative Synthesen einen erhöhten Energieverbrauch, der zu einer Limitierung von ATP und NADPH führt. In der Folge kann es zu einer weiteren Reduktion der Photosyntheserate kommen (MCKEE et al. 2000).

Der Chlorophyllfluoreszenz-Parameter  $F_v/F_m$  ist ein vergleichsweise einfach zu erfassender und aussagekräftiger Indikator einer photoinhibitorischen Schädigung des Photosyntheseapparates durch hohe Lichtintensitäten und andere Stressfaktoren (REILING & DAVIDSON 1994, GUIDI et al. 1997). Er gilt als Maß für die Effizienz, mit der die Anregungsenergie aus den Antennenkomplexen von offenen Reaktionszentren des Photosystems II übernommen wird (KITAJIMA & BUTLER 1975). Eine Verringerung der Chlorophyllfluoreszenz infolge einer Ozonexposition wurde bereits mehrfach beschrieben (SOJA & SOJA 1995, GUIDI et al. 2000, BORTIER 2000, MEYER et al. 2000). Die vorliegende Arbeit berücksichtigt daher vor allem sortenspezifische Unterschiede und geht auf die Bedeutung des Ozon-Immissionsmusters ein.

Eine Woche nach Ende der Ozonexposition mit Spitzenkonzentrationen trat sortenunabhängig eine signifikante Verminderung von  $F_v/F_m$  um etwa 5 % auf. Während jedoch die Ursache bei der im Hinblick auf Blattschäden und Ertragseinbußen wenig ozonsensitiven Sorte 'Quattro' ein Anstieg der Grundfluoreszenz ist, konnte bei der Sorte 'Picolo' ein Absinken der maximalen Fluoreszenz beobachtet werden. Ein Anstieg der Grundfluoreszenz weist auf eine Schädigung des Photosystem II hin, während ein Absinken der maximalen Fluoreszenz auf einen Anstieg der nicht-photochemischen Fluoreszenzlöschung ( $q_N$ ) und einen damit verbundenen geringeren ATP-Verbrauch im Calvin-Zyklus hindeuten kann (KRAUSE et al. 1990, KRAUSE & WEIS 1991, GUIDI 2001). Zusätzlich ist der Anstieg von  $q_N$  ein Merkmal für Seneszenzerscheinungen, die wiederum als Folge einer Ozonexposition typisch sind (LU & ZHANG 1998). Die hier beschriebenen Untersuchungen stehen damit im Gegensatz zu Beobachtungen von REICHENAUER und Mitarbeiter (1998). Diese konnten für wenig ozonsensitive Weizensorten zeigen, dass eine Ozonexposition bei 80 nmol/mol (8h/d) zu einer reversiblen Reduktion von  $F_v/F_m$  führte, während in ozonsensitiven Sorten eine irreversible Reduktion des  $F_v/F_m$ -Wertes auftrat. Dabei muss berücksichtigt werden, dass REICHENAUER und Mitarbeiter (1998) die Weizenpflanzen während der wenig ozonsensitiven Bestockung exponierten, wogegen die Pflanzen in den hier vorgestellten Untersuchungen während des ozonsensitiven Stadiums der Blüte exponiert wurden.

Während die Ozonexposition also bei der wenig sensitiven Sorte 'Quattro' in erster Linie zu einer Beeinträchtigung der Funktion des Photosyntheseapparates führte, trat die Ozonwirkung bei der sensitiven Sorte 'Picolo' in Form einer verfrühten Seneszenz zutage. Bei 'Quattro' konnte daneben nur nach Exposition bei Ozonspitzenkonzentrationen eine signifikante Wirkung auf die Chlorophyllfluoreszenz beobachtet werden, während bei der Sorte 'Picolo' beide Ozon-Immissionsmuster zu einer Reduktion der Chlorophyllfluoreszenz führten.

Negative Auswirkungen von Umweltfaktoren auf die Photosyntheseaktivität und die Assimilatbildung von Pflanzen können durch eine Abnahme der Chloroplastenfläche und der Blattgröße verstärkt werden. In den hier vorgestellten Untersuchungen mit Sommerweizen wurde nach Ozonexposition bei Spitzenkonzentrationen eine Reduktion der Blattfläche beobachtet. Auch für Fichte und Birke konnte eine solche Reduktion der Blattfläche nach Ozonexposition nachgewiesen werden (ROSENKRANZ et al. 1990, GÜNTHARDT-GOERG et al. 1993). Die Verringerung um 13 % begründete sich dabei in den eigenen Untersuchungen sowohl in einer Reduktion der Blattlänge als auch der Blattbreite. Ergebnisse aus Untersuchungen an Gerste wiesen bei einer Ozonexposition während der Anthese eine um 9 % reduzierte Blattfläche auf und lagen damit in einer ähnlichen Größenordnung (ASHMORE & ÖNAL 1984).

Ein kleineres Blatt und verfrühte Seneszenz führen in Verbindung mit ozoninduzierten Blattnekrosen zu einer deutlichen Abnahme der photosynthetisch aktiven Blattfläche. Blattnekrosen wurden in den hier beschriebenen Untersuchungen, unabhängig vom verwendeten Immissionsmuster, ab einer Gesamtdosis von 5.760 ppm h zuerst an den unteren Blattetagen sichtbar. Auf dem Fahnenblatt verursachte im Vergleich zu F-1 und F-2 erst die etwa 2,5-fache Dosis (14.400 ppm h) Nekrosen an mehr als 10 % der Blattfläche. Die betroffenen Blattbereiche wiesen anfangs typische als 'water-soaked areas' bezeichnete Blattflecken auf, im Verlauf der Exposition in größere Nekrosen übergangen. Bei der weiteren Entwicklung der Blattschäden kam der Ozonbelastung mit Spitzenkonzentrationen eine größere Wirkung zu, da die Nekrosen sich dort wesentlich schneller vergrößerten als bei einer Ozondauerbelastung gleicher Gesamtdosis.



Die Reduktion der photosynthetisch aktiven Blattfläche und der eingeschränkten Photosyntheseaktivität wirkten sich auf die Biomassebildung aus. In den vorliegenden Untersuchungen wurden an Weizen ozoninduzierte Ertragseinbußen von bis zu 36 % beobachtet. Die Ergebnisse der vorgestellten Kammerexperimente stimmen damit gut mit Untersuchungen überein, die im Rahmen des European Open-Top-Chamber-Programmes durchgeführt wurden. Diese zeigten, dass die Exposition von Sommerweizen nach der Anthese bei weitgehend natürlichen oder leicht erhöhten Ozon-Immissionen zu drastischen Ertragseinbußen von bis zu 46 % führen kann (PLEIJEL et al. 1997 a, PLEIJEL et al. 1998, GELANG et al. 2000). Für Weizen wurde dabei ein enger Zusammenhang zwischen reduziertem Wachstum und steigender Ozonkonzentration nachgewiesen (MUSSELMAN et al. 1994).

Ertragsverluste durch Ozon werden vermutlich durch eine Kombination aus beschleunigter Fahnenblattseneszenz und verminderter photosynthetischer Aktivität verursacht. Die Reduktion der grünen Blattfläche, der Chlorophyllabbau und die Blattnekrotisierungen führen ebenfalls zu einer Abnahme an Assimilaten (BENDER et al. 1994, MULLHOLLAND et al. 1998, OJANPERÄ et al. 1998). Stehen zu wenig Assimilate zur Verfügung, kann es zu einer Reduktion der Ährenanlagen, sowie zu einer verminderten Assimilateinlagerung in die Ähren kommen, in deren Folge eine Verringerung der Kornzahl und des Tausendkorngewichtes möglich sind (PLEIJEL et al. 1998). Die Kornzahl je Ähre blieb unter den hier verwendeten Versuchsbedingungen jedoch nahezu unbeeinflusst. Die Begründung ist darin zu suchen, dass die Ährenanlagen bei der Exposition während der Anthese bereits voll ausgebildet waren und sich die schlechtere Assimilatversorgung daher vor allem in einem reduzierten Korngewicht ausdrückte (AMUNDSON et al. 1987). Die gravierenden Ertragsminderungen können damit begründet werden, dass das Fahnenblatt während der Anthese eine besonders hohe Stoffwechselaktivität aufweist und sich dann eine Schädigung durch eine Ozonexposition besonders stark auswirkt (SOJA & SOJA 1995). Da das Fahnenblatt daneben den größten Anteil an Assimilaten für die Kornbildung liefert, spiegelt sich eine reduzierte photosynthetische Leistungsfähigkeit des Fahnenblattes ebenfalls im Ertrag wieder (GEISLER 1983, PLEIJEL et al. 1995 b).

Im Gegensatz zu den oben beschriebenen Ertragsminderungen konnte bei Ozonexposition der Weizenpflanzen vor der Bestockung in den hier vorgestellten Untersuchungen eine Erhöhung der Biomasse beobachtet werden. Obwohl die oberirdische Biomasse der ozon-sensitiven Weizensorten direkt nach der einwöchigen Ozonexposition deutlich reduziert war, wurde zur Vollreife der Pflanzen eine deutliche Zunahme der Halmtrockenmasse um 8 - 17 % ermittelt. Ein Zuwachs von Wachstum und Ertrag wurde auch für einige Baumarten, Gemüse und Gräser nach Exposition bei sub-toxischen Ozonkonzentrationen beschrieben werden (ENDRESS & GRUNWALD 1985, RAJPUT & ORMROD 1986, SANDERS et al. 1992, BUNGENER et al. 1999). BORTIER und Mitarbeiter (2000) führten eine erhöhte Produktion und Zuwachsrate nach Ozonstress auf eine Kompensation der ozoninduzierten verfrühten Seneszenz der Blätter zurück. Diese Annahme wird durch Beobachtungen von GUZY & HEATH (1993) gestützt, die nach Ozonexposition von Bohnen eine Steigerung der Photosyntheserate messen konnten. Trotzdem sind die genauen Mechanismen der Anpassung bisher unklar. Es wird angenommen, dass die Kompensation vor allem bei geringem Ozonstress, nicht jedoch bei hohen Ozonkonzentrationen oder lange andauerndem moderaten Stressniveau möglich ist (MUSSELMAN & MASSMAN 1999).

In Bezug auf das verwendete Immissionsmuster konnte in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen werden, dass bei gleicher Gesamtdosis die Schädigung der Weizenpflanzen durch den für städtische Gebiete typischen Konzentrationsverlauf mit kurzen, hohen Spitzenkonzentrationen wesentlich gravierender war als durch die Exposition bei gleichmäßiger Ozonbelastung mit verhältnismäßig hohen Ozonkonzentrationen am Abend und in der Nacht. Der Chlorophyllgehalt und die Chlorophyllfluoreszenz, die Bildung von Blattnekrosen und die Reduktion der Blattfläche, die Trockenmasse und das Tausend-korngewicht wurden durch eine Ozonbelastung mit Spitzenkonzentrationen wesentlich stärker beeinträchtigt als durch die gleichmäßige Dauerbelastung der Weizenpflanzen.

### **Einfluss unterschiedlicher Ozon-Immissionsmuster auf den Befall von Weizen mit *Mycosphaerella graminicola***

Die Toleranz einer Pflanze gegenüber einem bestimmten Stressfaktor kann die Toleranz gegenüber weiteren Stressfaktoren erhöhen kann, wenn beide Faktoren dieselben physiologischen und morphologischen Veränderungen hervorrufen (GODBOLD 1998).

Ein einzelner Stressfaktor, zum Beispiel eine Schadstoffbelastung, kann jedoch auch die Sensitivität der Pflanze gegenüber anderen Umweltfaktoren, wie einem Pathogenbefall, erhöhen oder maskieren (MATYSSEK 1998). Aufgrund dieser vielfältigen Interaktionsmöglichkeiten ist eine Prognose über die pflanzliche Reaktion auf eine Kombination verschiedener Stressfaktoren sehr schwierig (GUDERIAN et al. 1983). Die Voraussage wird zusätzlich erschwert, je mehr man sich von experimentellen Untersuchungsbedingungen ausgehend den realen Standortverhältnissen nähert (MATYSSEK 1998). Trotzdem ist das Abschätzen möglicher Reaktionen von großer Bedeutung für die Erstellung von Richt- und Grenzwerten, auch wenn es wie in der vorliegenden Arbeit unter Verwendung einfacher Modellannahmen erfolgt (FUHRER et al. 1989).

Eine ozoninduzierte veränderte Prädisposition von Wirtspflanzen wurde bereits für einige viröse, bakterielle, pilzliche und tierische Pathogenen beschrieben (RIEMER & WHITTAKER 1989, TIEDEMANN et al. 1991 b, MANNING & TIEDEMANN 1995, TIEDEMANN & FIRSCHING 2000, VEIT et al. 2000). In Bezug auf die zugeführte Ozonkonzentration und -dosis, die untersuchten Wirt-Pathogen-Beziehungen und den Expositionszeitpunkt sind die bisherigen Untersuchungen jedoch ausgesprochen inhomogen (SANDERMANN 2000). Für den zeitlichen Ablauf des Einwirkens von Ozon und Pathogen sind vielfältige Möglichkeiten vorstellbar. Die Schadfaktoren können einzeln, gleichzeitig oder nacheinander auftreten. Ein gleichzeitiges Auftreten von Ozonspitzenkonzentrationen und Pilzbefall ist jedoch nur in Ausnahmefällen möglich. Bei den mit Ozonspitzenkonzentrationen auftretenden Klimabedingungen ist die Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen Infektion für pilzliche Pathogene aufgrund der dann vorliegenden geringen Luftfeuchtigkeit und fehlender Benetzung der Blätter mit Wasser sehr gering (GUICHERIT & VAN DOP 1977, SANDERMANN 2000).

Demgegenüber ist die Bewertung einer postinfektionellen Ozonexposition ausgesprochen problematisch, weil eine direkte Ozonwirkung auf das Pathogen nicht getrennt von dem Einfluss der Sortenanfälligkeit gegenüber dem Krankheitserreger beurteilt werden kann (MANNING & TIEDEMANN 1995). Der in den hier vorgestellten Untersuchungen verwendete Erreger der Blattdürre, *Mycosphaerella graminicola*, zeichnet sich durch ein vorwiegend intrazelluläres Wachstum aus. Der direkte Kontakt von Pilzstrukturen mit dem Schadgas ist damit auf den Zeitpunkt vor der Penetration und die späte Phase der Pyknidienbildung beschränkt.

Als Grundlage der vorgestellten Untersuchungen wurde deshalb eine Abfolge der beiden Stressfaktoren gewählt. Eine präinfektionelle Ozonexposition erwies sich aufgrund der oben beschriebenen klimatischen Voraussetzungen als die am besten geeignete Vorgehensweise, um zusätzlich die Wirkung zweier verschiedener Immissionsmuster unter möglichst realitätsnahen Bedingungen zu vergleichen.

Die Sporenkeimung und die Besiedlung der Epidermisoberfläche verliefen auf den unterschiedlich anfälligen Weizensorten in der gleichen Intensität und bestätigt Untersuchungen wonach Sortenunterschiede in der Anfälligkeit gegenüber *Mycosphaerella graminicola* in der Regel erst nach der Penetration des Wirtsgewebes auftreten (CUNFER 1999, JØRGENSEN & SMEDEGAARD-PETERSEN 1999). Die Penetration erfolgte ausschließlich über die Stomata. Ein direktes Eindringen der 0,8 - 1,8 µm dicken Hyphen in Epidermiszellen oder die Bildung von Haustorien wurden nicht beobachtet. Es konnte für *M. graminicola* bisher nur von HILU & BEVER (1957) nachgewiesen werden (KEMA et al. 1996). Für das Eindringen durch die Stomata beschrieb CUNFER (1999) eine Verschmälerung der Hyphen auf einen Durchmesser von einem Mikrometer. Bei Erreichen der substomatären Höhle erfolgte dann wieder eine Aufweitung auf die ursprüngliche Hyphendicke. In den vorliegenden Untersuchungen wurde eine solche Veränderung der Hyphen nicht beobachtet. *M. graminicola* besiedelte zunächst den Interzellularraum des Wirtsgewebes in einem Zeitraum von etwa neun Tagen ohne makroskopisch sichtbare Veränderungen. Damit wurden Beobachtungen von VERREET (1995) bestätigt. Bei wenig anfälligen Sorten bleibt das Wachstum nach EYAL (1999) meist auf die Blattbereiche um die substomatäre Höhle herum beschränkt. Dies konnte in den eigenen Untersuchungen nicht beobachtet werden. Bei der gegenüber *M. graminicola* resistenteren Weizensorte 'Quattro' wurde jedoch ein deutlich geringerer Anteil an Pyknidien beobachtet, die zusätzlich später vollständig ausgebildet waren als bei der Vergleichssorte 'Picolo'. Die Bildung der Pyknidien in der substomatären Höhle begann damit, dass die Hyphen die Atemhöhle erst umwuchsen ('bordering'), sich dann verdichteten und in die substomatäre Höhle eindrangten (HILU & BEVER 1957, COHEN & EYAL 1993).

Die auf diese Weise gebildeten Pyknidien waren auf der resistenteren Sorte 'Quattro' dabei durchschnittlich etwa 20 % kleiner als auf der Vergleichssorte 'Picolo'. Die anfälligeren Sorte 'Picolo' wies daneben einen 2 - 3 fach höheren Anteil nekrotischer Blattfläche mit Pyknidien und eine höhere Pyknidienzahl pro Blattfläche auf als 'Quattro'.

Eine verlängerte Inkubationszeit und die Bildung von wenigen und kleineren Pyknidien werden als deutliche Hinweise auf eine geringe Anfälligkeit gegenüber *M. graminicola* angesehen (LOUGHMAN et al. 1996, CUNFER 1999). Die Pyknidiengröße sollte aufgrund vielfältiger Einflussfaktoren als Boniturparameter jedoch nur unter Berücksichtigung weiterer Resistenzmerkmale wie dem Anteil nekrotischer Blattfläche verwendet werden (SAADAOUY 1987). In den hier vorgestellten Untersuchungen konnten Pyknidiengrößen zwischen 69 - 124 µm beobachtet werden. SCHAREN (1999) gab mit 60 - 200 µm eine noch weitere Spannbreite der Pyknidiengrößen an. Die Größe der Pyknidien auf dem befallenen Organ kann mit zunehmender Dichte abnehmen (HILU & BEVER 1957, EYAL & BROWN 1976). Die Pyknidiendichte wiederum ist abhängig von den Umweltbedingungen, dem Entwicklungsstadium und dem Genotyp der Pflanze (COHEN & EYAL 1993). Die Komplexität der Wirt-Pathogen-Beziehung wird für *Mycosphaerella graminicola* auch darin erkennbar, dass trotz intensiver 25-jähriger Forschung der genaue Mechanismus der Pflanzenabwehr bzw. Toleranz gegenüber *M. graminicola* noch nicht geklärt ist (ZUCKERMAN et al. 1997, CUNFER 1999).

Gegenüber einer direkten Schadgasbelastung erwiesen sich die meisten pflanzenpathogenen Pilze im Experiment als erstaunlich tolerant und zeigten nach Beendigung der Exposition eine schnelle Erholung (MANNING & TIEDEMANN 1995). So konnte auch nach 1-6 stündiger Ozonexposition der Sporen von *Chaetomium* sp., *Stemphylium* spp. und *Alternaria* sp. bei etwa 21.000 µg/m<sup>3</sup> kein Einfluss des Schadgases auf die Sporenkeimung beobachtet werden (HIBBEN & STOTZKY 1969). Es wurde jedoch eine Einschränkung der Keimschlauchentwicklung und des Hyphenwachstums festgestellt, wenn die Pathogene bei solchen extrem hohen Ozonkonzentrationen exponiert wurden, wie sie unter natürlichen Bedingungen nicht in Kombination mit geeigneten Infektionsbedingungen auftreten (KRAUSE & WEIDENSAUL 1978, JAMES et al. 1982, TIEDEMANN & FEHRMANN 1986). Eine direkte Ozonwirkung auf Pilzkrankheiten wird aber grundsätzlich nahezu ausgeschlossen, da der Einfluss auf den Befallsverlauf in erster Linie über die Wirtspflanze erfolgt (MANNING & TIEDEMANN 1995, KRUPA et al. 2001). Die Wirkung einer präinfektionellen Ozonexposition auf den Pathogenbefall von Pflanzen ist damit maßgeblich von der Ernährungsweise und der Entwicklung des Schaderregers abhängig (MANNING & TIEDEMANN 1995).

Bei pilzlichen Pathogenen bestimmt die Ernährungs-situation die Wachstumsintensität. Sie ergibt sich aus dem Zusammenspiel von Resistenzmechanismen und Nährstoffgehalt der Pflanze. Dabei besteht eine Abhängigkeit der pflanzeigenen Resistenz von einer optimalen Stoffwechselaktivität. Diese kann durch stressbedingte Störungen der Energiebereitstellung, wie sie für Ozon bekannt sind, verändert werden (BAKER & COOK 1974). Die zugrunde liegenden Reaktionsmechanismen sind bisher kaum bekannt (KRUPA et al. 2001).

In der vorliegenden Untersuchungen mit dem perthotropen Blattdürreerreger *M. graminicola* konnte eine ozoninduzierte Erhöhung des Befalls beobachtet werden. Diese drückte sich nicht nur in einer signifikant bis zu 51 % erhöhten Befallsdichte, sondern auch in einer verkürzten Inkubationszeit aus. Beide Merkmale charakterisieren partielle Resistenzen (STATLER & PARLEVLIE 1987). In den hier aufgeführten Untersuchungen kann daher eine erhöhte ozoninduzierte Kompatibilität zwischen Erreger und Wirt vermutet werden. Die Befallsintensität war dabei stark von dem vorher zugeführten Immissionsmuster und den dadurch verursachten Blattschäden abhängig. So trat bei den vergleichsweise gering ozongeschädigten Blättern der Weizensorte 'Quattro' ein im Vergleich mit den Kontrollpflanzen erhöhter Befall mit *M. graminicola* auf. Bei der Sorte 'Picolo' verursachte die Ozonexposition mit Spitzenkonzentrationen eine sehr starke Nekrotisierung der Blätter, auf denen in der Folge ein reduzierter Befall beobachtet werden konnte. Die präinfektionelle Exposition von 'Picolo' bei Dauerbelastung führte dagegen nur zu schwach ozongeschädigten Blättern, der Befall mit *M. graminicola* war dort erhöht.

Im Gegensatz zu den perthotropen Pathogenen haben sich biotrophe Organismen in enger Koevolution mit speziellen Wirtspflanzenarten entwickelt und bilden ein komplexes System, das durch äußere Einflüsse leicht gestört werden kann (MANNING & TIEDEMANN 1995). Die Entwicklung dieser Schaderreger wird durch eine präinfektionelle Ozonexposition meist beeinträchtigt. In Abhängigkeit der Versuchsbedingungen konnte jedoch beispielsweise für verschiedene pilzliche Rostkrankheiten, auch eine ozoninduzierte Zunahmen des Befalls beobachtet werden (COLEMAN et al. 1987, BADIANI et al. 1992, TIEDEMANN 1992, MANNING & TIEDEMANN 1995). Der Befall mit nicht-biotropen Organismen wird durch eine Ozonexposition der Pflanzen vor Befallsbeginn in der Regel gefördert (BELL et al. 1993, TIEDEMANN et al. 1991, MANNING & TIEDEMANN 1995, PFLEEGER et al. 1999).

Eine präinfektionelle Ozonexposition kann zu einer Schädigung der Cuticula und damit zu einer Förderung von Pathogenen führen, die über die Cuticula in ihren Wirt eindringen (KRAUSE & WEIDENSAUL 1978, DOHMEN 1987, PERCY et al. 1994). Ein solcher Einfluss wurde in den hier vorgestellten Untersuchungen nicht erwartet, da *M. graminicola* durch offene oder geschlossene Stomata in den Wirt eindringt. Auch Sporenkeimung und Keimschlauchwachstum wurden durch die präinfektionelle Ozonexposition nicht beeinflusst. Erste ozoninduzierte Unterschiede im Infektionsprozess traten erst bei der Besiedlung der Epidermisfläche auf, die nach der Ozonexposition der Pflanzen bei Spitzenkonzentrationen deutlich schneller und stärker erfolgte als nach einer Exposition bei Dauerbelastung und bei den nicht exponierten Kontrollpflanzen. Wie in der Literatur beschrieben, verlief das Hyphenwachstum auf der Epidermis immer ungerichtet (CUNFER 1999). Der weitere Infektionsverlauf erfolgte deutlich sortenabhängig und wurde vermutlich stark von der Ozonsensitivität der getesteten Weizensorten beeinflusst. Bei der ozonsensitiven und damit stärker ozongeschädigten Sorte 'Picolo' wurde schon drei Tage nach der Inokulation mikroskopisch ein deutliches Mycelwachstum auf der Epidermis sichtbar, wenn die Pflanzen präinfektionell bei Spitzenkonzentrationen exponiert worden waren. Nach einer Exposition bei Ozondauerbelastung und bei den unbehandelten Kontrollpflanzen verlief die Ausbreitung des Mycels auf der Epidermis im Vergleich dazu sehr langsam und hatte drei Tage nach der Inokulation weniger als 5 % der Epidermisfläche erreicht. Dieselbe Reaktion wurde bei der weniger ozonsensitiven und weniger *Mycosphaerella*-anfälligen Weizensorte 'Quattro' erst 10 Tage später beobachtet. Gleichzeitig konnte bei 'Quattro' unter den beschriebenen Bedingungen eine erhöhte Pyknidienzahl festgestellt werden. Die Ozonexposition mit Spitzenkonzentrationen führte überdies bei der ozonsensitiven Sorte 'Picolo' zu einer schnelleren Seneszenz der Blätter, auf denen in der Folge eine verringerte Besiedlung des Mesophylls und eine Reduktion der Pyknidienzahl beobachtet werden konnte. Bei der Sorte 'Quattro' waren die ozoninduzierten Blattschäden nicht so umfassend, demzufolge stand dem Pathogen vergleichsweise mehr Blattfläche zur erfolgreichen Besiedlung und Ernährung zur Verfügung. Mit zunehmender Zersetzung des Wirtsgewebes nimmt auch die Überlebensfähigkeit von *M. graminicola* rasch ab (VERREET 1995). Eine mögliche Ursache für den reduzierten Befall bei 'Picolo' kann daher in der starken Schädigung des Blattgewebes nach Exposition bei Spitzenkonzentrationen gesehen werden. Diese führten zu einer deutlichen Reduktion des für *Mycosphaerella* wichtigen assimilierenden Gewebes.

Der Zusammenhang zwischen dem Zeitpunkt der Exposition im Verhältnis zu Inokulation und Befall, sowie eine Abhängigkeit des Befalls vom Grad der akuten Ozonschädigung vor der Inokulation wurde auch von MANNING & TIEDEMANN (1995) betont. Eine schnellere Besiedlung ozongeschädigten Gewebes lässt sich vor dem Hintergrund der Entwicklungsbiologie von *Mycosphaerella graminicola* gut erklären. Perthotrophe Pathogene schwächen ihren Wirt durch die Abgabe von Toxinen und/oder hydrolytischen Enzymen, wodurch die anschließende Besiedlung erleichtert und eine Ernährung über die geschädigten Zellen des Wirtes ermöglicht wird (HILU & BEVER 1957). Die Behandlung von Weizenblättern mit einem Kulturfiltrat von *M. graminicola* führte zur Ausbildung von Nekrosen, wie sie nach einer Infektion mit dem Pathogen typisch sind (HILU & BEVER 1957, KENT & STROBEL 1976). Aufgrund dessen wird für *M. graminicola* daher die Produktion eines Toxins vermutet, bisher konnte jedoch noch keine toxische Verbindung charakterisiert werden (KEMA et al. 1996, EYAL 1999 a). Bereits der Infektionsvorgang von *M. graminicola* wird durch das Vorhandensein exogener Nährstoffe stimuliert (FOKKEMA & SCHIPPERS, 1993). Ozon induziert in der Regel eine erhöhte Membrandurchlässigkeit des pflanzlichen Gewebes, in deren Folge es zu einer verstärkten Auswaschung von Nährstoffen kommt (EVANS & TING 1973, MCKERSIE et al. 1982, HEATH 1988). Dies führt zu einer verbesserten Ernährungssituation fakultativer Pathogene (RIST & LORBEER 1984). Die frei werdenden Nährstoffe, vor allem Kationen und organische Verbindungen, sind für *Mycosphaerella* schneller verfügbar und fördern die Besiedlung der Wirtspflanzen durch das Pathogen.

In Untersuchungen mit ozonexponiertem Weizen und *Septoria nodorum* konnten TIEDEMANN & PFÄHLER (1994) eine der Ozonexposition folgende erhöhte Auswaschung von Aminostickstoff nachweisen. Sie sahen darin einen möglichen Mechanismus für das verstärkte Wachstum von *S. nodorum* auf und im Wirtsgewebe. Bei makroskopisch nicht sichtbarer Ozonschädigung der Pflanzen war die erhöhte Auswaschung auf symplastische Membranen und die Cuticula beschränkt. Da *S. nodorum* die Mesophyllzellen direkt penetriert und sich nicht wie *M. graminicola* im Mesophyll durch interzelluläres Hyphenwachstum ausbreitet, kann diese Annahme aber nicht vorbehaltlos auf die hier vorgestellten Untersuchungen übertragen werden (KEMA 1996).



Die in dieser Arbeit verwendeten Ozon-Immissionsmuster verursachten makroskopisch deutlich sichtbare Blattschäden, die auf eine Störung der gesamten Zellkompartimentierung durch Ozon hinweisen. Es kann davon ausgegangen werden, dass in der Folge umfassende Membranschädigungen und eine Auswaschung von Zellbestandteilen bis in den Apoplasten möglich sind. Die Untersuchungen machen daneben deutlich, dass das Immissionsmuster nicht nur einen Einfluss auf die Ausbildung akuter Pflanzenschäden, sondern auch auf die Pflanzengesundheit insgesamt hat. Aufgrund der hohen Bedeutung von Ozonspitzenkonzentrationen auf die Ausbildung akuter Blattschäden und Ertrags-einbußen wurden diese bei der Erstellung von Bewertungsmaßstäben und Richtlinien für Ozonimmissionen bisher besonders berücksichtigt. In Europa wird derzeit beispielsweise das sogenannte Critical-Level-Konzept des AOT40 zum Schutz der Vegetation vor erhöhten Ozonkonzentrationen favorisiert (VDI 2000). Dieses beruht auf einem Schwellenwert, der als Summe der Differenzen zwischen den stündlichen Ozonkonzentrationen und 40 ppb ( $= 85 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) für alle Tageslichtstunden ( $\geq 50 \text{ W}/\text{m}^2$ ) kalkuliert wird (KÄRENLAMPI & SKÄRBY 1996). Da aber die stomatare Leitfähigkeit zu Zeiten hoher Ozonspitzenkonzentrationen in der Regel sehr niedrig und die Aufnahme von Ozon in die Pflanze gering ist, wurden in jüngster Zeit neue Modelle entwickelt, welche die mikrometeorologischen Bedingungen stärker in die Bewertung mit einbeziehen (KRUPA et al. 1995, GRÜNHAGE et al. 1997, GRÜNHAGE et al. 2000). Eine Änderung des bestehenden Konzeptes hin zu einer stärkeren Berücksichtigung niedriger Ozonkonzentrationen empfiehlt sich auch in Hinblick auf die aktuellen Ozonmessdaten. Diese zeigen, dass der Immissionsverlauf in den anbaustarken ländlichen Gebieten und im Wald in erster Linie dem einer gleichmäßigeren Dauerbelastung entspricht. Zusätzlich machen die vorliegenden Untersuchungen deutlich, dass auch in Bezug auf die Pflanzengesundheit der Wirkung niedriger Ozonkonzentrationen in Zukunft eine stärkere Berücksichtigung zugemessen werden sollte.

### **Einfluss der Kombination von Ozon und *Mycosphaerella graminicola*-Befall auf die Ausbildung akuter und chronischer Pflanzenschäden an Weizen**

Untersuchungen zur kombinierten Wirkung von Ozonimmission und Pathogenbefall auf Pflanzen liegen bisher nur in sehr geringem Maße vor, sind jedoch von großer Bedeutung für ein Abschätzen des Schadpotentials durch Ozon (KRUPA et al. 2001).

In dieser Arbeit konnten in Bezug auf die Photosyntheseaktivität und den Chlorophyllgehalt keine Wechselwirkungen ermittelt werden. Dabei muss allerdings berücksichtigt werden, dass die Weizenpflanzen durch die vorhergehende Ozonbelastung bereits stark beeinträchtigt waren. Das Tausendkorngewicht dagegen wurde sowohl durch die Ozonexposition bzw. durch den Befall mit *M. graminicola* alleine als auch durch die Kombination beider Stressfaktoren deutlich reduziert. Bei ausschließlicher Berücksichtigung der Einzelfaktoren war die Wirkung der Ozonexposition mit 5 - 28 % reduziertem Tausendkorngewicht gegenüber der Gewichtsminde rung von 8 - 13 % durch die *Mycosphaerella*-Infektion deutlich stärker. Die Kombination beider Faktoren führte zu einer nahezu additiven Wirkung und ergab eine Ertragsminderung von bis zu 39 %. Ertragsverluste infolge eines *M. graminicola*-Befalls werden für Weizen mit etwa 10 - 30 % angegeben und liegen damit im Bereich der Ertragsdefizite, die in der vorliegenden Arbeit ermittelt wurden (MANNING & TIEDEMANN 1995, HORCICKA et al. 2001). Als Ursache dieser Ertragsverluste werden ein durch die Infektion verursachter reduzierter Chlorophyllgehalt und eine reduzierte Photosyntheseaktivität diskutiert (JØRGENSEN & SMEDEGAARD-PETERSEN 1999). Die Einschränkungen in der Assimilatbildung gelten als Hauptursache der Reduktion des Kornfüllungsprozesses und damit auch der Ertragsminderungen nach einem *M. graminicola*-Befall oder einer Ozonexposition der Pflanzen (EYAL 1999 b, PLEIJEL et al. 1997).

In den hier vorgestellten Untersuchungen wurde auch die Qualität des Kornes als wichtiger Ertragsparameter bestimmt. Die Ausbildung des Getreidekorns hängt deutlich vom Stoffwechsel der Pflanzen ab. Die Qualitätseigenschaften des Kornes lassen daher bedingte Rückschlüsse auf den Zustand der Pflanze während der Kornbildungsphase zu. Ein Qualitätsmerkmal mit besonderem Stellenwert für die Ernährung ist der Proteingehalt. Der größte Proteinanteil im Korn befindet sich in der Aleuronschicht und im Embryo. Bereits vor der Kornfüllungsphase erfolgt die Einlagerung der Proteine. Ein signifikanter Einfluss des Pathogens auf den Stickstoffgehalt in den Weizenkörnern konnte in den hier vorgestellten Untersuchungen nicht beobachtet werden. Als mögliche Ursache wird die vergleichsweise späte Infektion angesehen werden, die bis zum Abschluss der Kornfüllungsphase nur einen begrenzten Befall verursacht hatte.

Die Verlagerung von Stickstoff ist auf einen sehr kurzen Zeitraum der Kornfüllungsphase beschränkt und kann durch einen Befall mit *Mycosphaerella graminicola* stark beeinträchtigt werden (VERREET 1995). Für die Wirkung von Ozon liegen dagegen bisher sehr uneinheitliche Ergebnisse über den Gehalt an Mineralstoffen, Proteinen und Kohlenhydraten vor (SKÄRBY 1984, FUHRER et al. 1990, BENDER & WEIGEL 1995, GELANG et al. 2000).

In den hier beschriebenen Untersuchungen konnte nach Ozonexposition ein um 2 - 18 % erhöhter Gesamt-Stickstoffgehalt der Körner nachgewiesen werden. Der Vergleich der unterschiedlichen Ozon-Immissionsmuster zeigte auch hier eine gravierendere Wirkung der Exposition bei Spitzenkonzentrationen als nach einer Ozondauerbelastung der Pflanzen. Durch eine Ozonbelastung wird die Zusammensetzung der Korninhaltsstoffe zugunsten eines höheren Prozentsatzes von Proteinen verändert (SLAUGHTER et al. 1989, FINNAN et al. 1996). Daher kann nach einer Ozonexposition von Weizenpflanzen generell mit einer Zunahme des Proteingehaltes und damit auch des Gesamt-Stickstoffgehaltes im Korn gerechnet werden (PLEIJEL et al. 1998, DE TEMMERMANN et al. 1999).

### **Das antioxidative Potential als mögliche Ursache für die sortenspezifische Ozon-sensitivität**

Selbst unter optimalen Wachstumsbedingungen entstehen im Stoffwechsel einer Pflanze reaktive Verbindungen und Moleküle. Eine mangelhafte Entgiftung von Radikalen kann Zell- und Gewebeschädigungen hervorrufen. Pflanzliche Zellen haben daher im Verlauf der Evolution effektive Schutzmechanismen gegen aktivierte Sauerstoffspezies entwickelt (SALIN 1987). Diese pflanzeigene Abwehr wird neben morphologischen Unterschieden wie Anzahl und Lage der Stomata als mögliche Hauptursache der spezifischen Sortenempfindlichkeit von Pflanzen gegenüber Ozon angesehen (LARSON et al. 1980, TINGEY & TAYLOR 1982).

Die Reduktion freier Radikale kann über drei unterschiedliche Mechanismen erfolgen: I. durch Vermeidung der pflanzeninternen Produktion von reaktivem Sauerstoff, II. durch Reparatur des verursachten Schadens, III. durch Abfangen der reaktiven Moleküle (WALKER & MCKERSIE 1993).

Die Fähigkeit der Reparatur von Membranen ist nur bei größeren Kohlenstoffvorräten im Blatt möglich, weshalb der Schutzmechanismus gegen reaktive Verbindungen bei fortgeschrittener Beeinträchtigung des Kohlenhydrat-stoffwechsels, wie er durch Ozon hervorgerufen wird, nicht mehr ausreichend funktionstüchtig ist (SUTTON & TINGEY 1977, DICKSON & LARSON, 1981). Unter diesen Bedingungen konkurrieren die Reparaturmechanismen mit der Biomasseproduktion um die Kohlenstoffvorräte (MATYSSEK 1998). Die Folgen für Ertrag und Biomasse wurden bereits diskutiert. Das Abfangen reaktiver Moleküle erfolgt dagegen über sogenannte antioxidative Systeme. Die Detoxifikation von Radikalen ist weniger energieaufwendig als eine Reparatur der geschädigten Zellen. Trotzdem kann es während lang andauernder Stresssituationen zu einer Auslastung des antioxidativen Systemes kommen. In der Folge treten Schädigungen am pflanzlichen Organismus auf (BREUSEGEM et al. 1999, MUSSELMAN & MASSMAN 1999). Es stellte sich die Frage, ob der genotypabhängige Mechanismus zur Abwehr interner Radikalbildung der Pflanze einen Einfluss auf die Detoxifikation von Ozonimmissionen und deren reaktiven Folgeprodukten ausübt und damit die Grundlage der beobachteten Sortenunterschiede gegenüber Ozonimmissionen ist.

Eindeutige Erkenntnisse über die einer Ozonexposition folgenden Reparatur- und Kompensationsmechanismen liegen bisher noch nicht vor (PELL et al. 1994). So konnten LANGEBARTELS und Mitarbeiter (1991) nach einer Ozonexposition von Tabakpflanzen eine Erhöhung der Konzentration von Polyaminkonjugaten in den exponierten Blättern feststellen. Andere Autoren betonten die Bedeutung einer Detoxifikation über pflanzen-eigene Abwehrsysteme wie Antioxidantien (CONKLIN & LAST 1995, RAO & ORMROD 1995, BREUSEGEM et al. 1999). Als Antioxidantien werden Enzyme und nicht-enzymatische, niedermolekulare Verbindungen wie Ascorbinsäure, Carotinoide und Toco-pherole zusammengefaßt (NOCTOR & FOYER 1998). In Untersuchungen zu Dosis-Wirkungs-Beziehungen wurde diese Art der Pflanzenabwehr bisher kaum berücksichtigt. Auch zur Wirkung niedriger, naturnaher Ozonkonzentrationen liegen nur vergleichsweise wenige Ergebnisse vor (BENDER et al. 1994, MASSMAN et al. 2000). Das Ausmaß und die Richtung der Ozonwirkung auf Antioxidantiengehalte sind daneben sehr widersprüchlich, da bisher sowohl deren Zu- als auch Abnahmen beschrieben wurden (CASTILLO & GREPPIN 1986, BENDER et al. 1994, FANGMEIER et al. 1994 b, POLLE et al. 1995, TURSCANYI et al. 2000).

Das Abschätzen einer möglichen Reaktion der Pflanze gegenüber Ozon wird auf anti-oxidativer Ebene wird außerdem dadurch erschwert, dass die Detoxifikationsfähigkeit abhängig ist vom Kompartiment (Symplast/Apoplast), der Pflanzenart und -sorte, dem Entwicklungsstadium, der Tages- und Jahreszeit, dem Klima und der Nährstoffversorgung der Pflanze (BENDER et al. 1994, GRÜNHAGE & HAENEL, 1997, PUKACKA & PUKACKI 2000). In Weizen konnten so beispielsweise deutliche diurnale Schwankungen des apoplasmatischen Ascorbinsäure-gehaltes festgestellt werden (JAKOB & HEBER 1998).

Die Schutzfunktion der Ascorbinsäure wird hauptsächlich in der direkten Detoxifikation von Radikalen im Apoplast gesehen (CHAMEIDES 1989). Daneben spielt sie eine bedeutende Rolle bei der Regeneration von oxidiertem Tocopherol und als Substrat in der Detoxifikation von Wasserstoffperoxid durch die Ascorbat-Peroxidase (TANAKA 1985, RUNCKLES & CHEVONE 1992). Das Antioxidans liegt in allen Zellkompartimenten einschließlich der Zellwand vor (SMIRNOFF & WHEELER 2000). Unter Stressbedingungen können die Konzentrationen im Chloroplasten von 20 mM auf bis zu 300 mM ansteigen (SMIRNOFF 2000).

In den hier vorgestellten Untersuchungen wurde der Gesamtascorbinsäuregehalt ermittelt, für den nur geringe natürliche Schwankungen im Tagesverlauf bekannt sind und der somit eine Maßeinheit mit geringer Anfälligkeit für mögliche Mess- und Probenahmefehler ist (BENDER et al. 1994, KOLLIST et al. 2000). Bei Bohne und Breitwegerich konnte bereits ein Zusammenhang zwischen dem Ascorbatgehalt und der Ozonresistenz verschiedener Populationen beobachtet werden (BURKEY et al. 2000, ZHENG et al. 2000). In den hier aufgeführten Untersuchungen trat ein Anstieg des Gesamtascorbinsäuregehaltes nur nach der Ozonexposition der ozonsensitiveren Weizensorte 'Picolo' auf, während bei der weniger ozonsensitiven Sorte 'Quattro' keine Änderung des von Beginn an höheren Gehaltes an dem Antioxidans sichtbar wurde. Dieses Ergebnis wird durch Untersuchungen von BENDER und Mitarbeitern (1994) bestätigt, die das Ausbleiben eines Ozoneffektes auf den Gesamtascorbinsäuregehalt in Weizen nach Exposition in Open-Top-Kammern bei einer durchschnittlichen Konzentration von 60 nl/l ( $\approx 130 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) beschrieben.

Neben Ascorbinsäure wird Tocopherol, Vitamin E, als eines der wichtigsten Antioxidantien zum Schutz des pflanzlichen Photosystems betrachtet. Das Antioxidans, das in dieser Funktion auch in der Lebensmitteltechnologie Verwendung findet, wurde bisher in den Chloroplasten aller höheren Pflanzen nachgewiesen (GARCIA-PLAZAOLA & BECERRIL 2000). Es sind vier Molekülformen bekannt ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ), von denen  $\alpha$ -Tocopherol die höchste biologische Wirksamkeit aufweist (FREYER 1992). Aufgrund hoher Lipidlöslichkeit sind Tocopherole in der Zelle hauptsächlich mit Membranen und hier wiederum mit den Thylakoidmembranen assoziiert. Diese benötigen infolge der Photo-Oxidation bei der Mehler-Reaktion einen besonderen Schutz gegenüber Radikalen (HALLIWELL & GUTTERIDGE 1989). Die Regeneration abreagierter Tocopherolradikale erfolgt mittels Reduktion durch Ascorbat und Glutathion (FRYER 1992). Abiotischer Stress wie zum Beispiel Wassermangel, Frost oder Ozonimmissionen führte bei Tomaten, Bohne und Rotbuche zu einem Anstieg der Tocopherolgehalte (WALKER & MCKERSIE 1993, BURKEY et al. 2000, GARCIA-PLAZAOLA & BECERRIL 2000).

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass auch nach Ozonexposition von Weizen eine Erhöhung des Tocopherolgehaltes im Fahnenblatt auftritt. Während die Konzentration bei der Sorte 'Quattro' innerhalb von 24 Stunden rapide zunahm, wurde bei der ozonsensitiveren Sorte 'Picolo' in den exponierten Blättern nur ein sehr geringer Anstieg des Tocopherolgehaltes ermittelt. Eine eindeutige Erklärung für derartige Arten- und Sortenunterschiede infolge einer Ozonexposition liegt bisher noch nicht vor (MASSMAN et al. 2000). In Bezug auf das antioxidative Potential zeigten sogar transgene Tabakpflanzen mit einer Überexprimierung interzellulärer antioxidativer Enzyme kaum eine höhere Toleranz gegenüber Ozon als ihre jeweiligen Wildtypen (TORSETHAUGEN et al. 1997).

MASSMAN und Mitarbeiter (2000) unterschieden im Gegensatz dazu in einem neuartigen Ansatz eine sogenannte 'passive Abwehr', die den genetisch bedingten Grundgehalt an antioxidativen Systemen angibt, von einer 'aktiven Abwehr', die stressinduziert auftrat. Letztere war verbunden mit einem erhöhten Energieverbrauch und trat erst einige Zeit nach dem Kontakt mit dem Stressor auf. Diese Einteilung bietet einen interessanten Erklärungsansatz für die in den hier vorgestellten Untersuchungen beobachteten Sortenunterschiede. Ein deutlich höherer Grundgehalt an Ascorbinsäure, Tocopherol und des gesamten antioxidativen Potentials konnte in der weniger ozonsensitiven Sorte 'Quattro' von Beginn der Probenahme an nachgewiesen werden. Dies entspräche einer höheren 'passiven Abwehr' als die ozonsensitivere Vergleichssorte 'Picolo' aufwies.

Die Bedeutung des initialen Gesamtgehaltes an antioxidativen Enzymen und Metaboliten für die Ozontoleranz von Pflanzen wurde auch von PASQUALINI und Mitarbeitern (2001) betont. Bei einer nur geringen Bedeutung des Ascorbinsäuregehaltes konnten die Autoren in ozontoleranten Tabaksorten, wie bei der hier beschriebenen ozontoleranten Weizensorte 'Quattro', einen deutlich höheren Grundgehalt an Antioxidantien feststellen als bei einer wenig ozontoleranten Vergleichssorte. Die Wirksamkeit der Ascorbinsäure als Schutz gegen erhöhte Ozonkonzentrationen tritt dann hinter dem Gesamtgehalt an antioxidativen Substanzen in den Hintergrund. Eine begrenzte Relevanz des Ascorbinsäuregehaltes wurde auch von anderen Autoren diskutiert. So betonten RANIERI et al. (1999) für unterschiedlich ozonsensitive Pappel-Kultivare eine geringe Bedeutung des Gehaltes an apoplastischem Ascorbat.

Sortenunterschiede im Hinblick auf die Ozonsensitivität und das antioxidativen Gesamtpotential sind leider häufig nicht eindeutig in ihrer Aussage. Der Einfluss von Ozon ist oft nur schwer von natürlichen Änderungen der Antioxidantienghalte zu trennen, wie sie z.B. in Verbindung mit der natürlichen Alterung auftreten. Es existieren eine Vielfalt von Ursachen, die zu einer Änderung der Antioxidantienghalte in der Pflanzen führen können. Diese werden vor allem dann deutlich, wenn berücksichtigt wird, dass die durch Alterung und durch Ozon induzierten Stoffwechselfvorgänge in Pflanzen denen durch einen mikrobiellen Pathogenangriff gleichen (SKÄRBY et al. 1998, SANDERMANN 1996, RIEDELBAUER, 2000). Kommt es durch Ozon oder seine Folgeprodukte zu Verletzungen der Zellmembran, kann also eine Reaktion ähnlich wie nach einem Pathogenbefall erfolgen (LEVINE et al. 1994, SCHRAUDNER et al. 1997). Die Bildung von Radikalen und Antioxidantien gehört ebenso dazu wie die Ausbildung lokaler Zellbarrieren, das Ausbleichen von photosynthetisch aktiven Pigmenten und die direkte Zellschädigung (KAUSS 1990, ROSEN & HALPERN 1990, VIDHYASEKARAN, 1997, MUSSELMAN & MASSMAN 1999). In der Regel wird vor allem Ethylen produziert, ein Stoff, der die Wirkung des Ozon verstärken kann und die Produktion von PR-Proteinen (pathogenesis related proteins) und Chitinasen steigert (SCHRAUDNER et al. 1994). Auf diesen Grundlagen aufbauend kann die Hypothese aufgestellt werden, dass ozoninduzierte erhöhte Gehalte an Phenolen, PR-Proteinen und anderen Signalstoffen die Pflanze gegenüber einem Angriff durch Bakterien und Pilze schützen könnten (NIKI et al. 1998). Verschiedene Autoren diskutierten daneben die Möglichkeit, dass durch die verstärkte ozoninduzierte Produktion von Polyaminen eine erhöhte Pathogenresistenz induziert werden könnte (LANGEBARTELS et al. 1991, KANGASJÄRVI et al. 1994).

Die Kombination aus einwöchiger Ozonexposition und *Mycosphaerella*-Befall führte in den vorliegenden Untersuchungen zu einem erhöhten Befall mit dem Pathogen. Daneben bewirkte die Kombinationsbehandlung mit beiden Stressfaktoren einen höheren Gesamtascorbinsäuregehalt als die alleinige Ozonexposition oder die alleinige Infektion mit *M. graminicola*. Dieser Effekt war bei der ozonsensitiven Sorte 'Picolo' besonders deutlich. Auch GONNER & SCHLOSSER (1993) konnten an Hafer nach Inokulation mit dem perthotropen Blattfleckererreger *Drechslera avenae* eine beträchtliche Erhöhung des Ascorbinsäuregehaltes beobachten. Dagegen stellten VANACKER und Mitarbeiter (1998) keinen Einfluß der Inokulation von Gerste mit dem biotrophen Pathogen *Blumeria graminis* auf den Ascorbatgehalt oder Redoxstatus der Blätter fest. Unter den hier beschriebenen Versuchsbedingungen konnte durch die Ozonexposition keine erhöhte Resistenz gegenüber *Mycosphaerella graminicola* induziert werden. Es dominierte vielmehr die pflanzenschädigende Ozonwirkung, die wiederum deutlich sortenabhängig war. Starke Sortenunterschiede in der antioxidativen Stressantwort, wie zum Beispiel der genotypabhängigen Aktivitäten von Enzymen und Isoenzymen, werden in neuerer Zeit immer wieder beschrieben (SCEBBA et al. 2001). Die Aufklärung der Wirkmechanismen wird jedoch unter anderem dadurch erschwert, dass die Synthese von Antioxidantien während der Pathogenese durch das Pathogen selber induziert werden kann, um Abwehrreaktionen der Pflanze gegen reaktive Verbindungen zu unterdrücken (VIDHYASEKARAN 1997). Daneben wird angenommen, dass reaktiver Sauerstoff in erster Linie an der Symptomausbildung und nur geringfügig an der Aktivierung der Abwehrmechanismen beteiligt ist. Die antioxidativen Aktivitäten dienen dann in erster Linie der Einschränkung der Schädigung und besitzen keine so stark protektive Wirkung wie bisher vermutet wurde (TUOMAINEN et al. 1996, VIDHYASEKARAN 1997, SKÄRBY et al. 1998).

### **Zusammenfassende Bewertung der Ozonwirkung**

Die Wirkung von Ozon auf Pflanzen kann nur eindeutig bewertet werden, wenn mögliche Wechselwirkungen mit anderen biotischen und abiotischen Umweltfaktoren unter standardisierten Bedingungen beurteilt werden. Versuche in Modellsystemen, in denen Schadgasapplikationen mit definierten Konzentrationen durchgeführt werden, stellen daher eine geeignete Methode dar, um direkte und indirekte Schadwirkungen zu analysieren. Die resultierenden Ergebnisse können dann in komplexere Modellierungssysteme eingearbeitet werden.



Die Einbeziehung verschiedener natürlicher Konzentrationsverläufe in die vergleichende Betrachtung von schadgasbelasteten und -unbelasteten Pflanzen ist von grundlegender Bedeutung für die Beurteilung ozonbedingter Veränderungen an Pflanzen. Die vorliegenden Ergebnisse belegen, dass Art und Ausmaß der makroskopisch und mikroskopisch sichtbaren Veränderungen deutlich vom Immissionsmuster, der Sorte und dem exponierten Entwicklungsstadium der Pflanzen beeinflusst werden. Das Zusammentreffen einer hohen Ozonsensitivität mit einer hohen Anfälligkeit gegenüber *M. graminicola* innerhalb einer Weizensorte kann auf gleichartige Reaktionsmechanismen der Pflanzenabwehr gegenüber dem abiotischen Ozonstress und einem Befall mit dem perthotropen *M. graminicola* hindeuten. Die vorliegenden Untersuchungen lassen vermuten, dass die sogenannte ‚passive Pflanzenabwehr‘ bei der Detoxifikation reaktiver Verbindungen eine größere Rolle spielt als bisher erwartet wurde. Bevor hieraus jedoch allgemeingültige Aussagen abgeleitet werden können, sind weitere detaillierte Untersuchungen der Antioxidantiengehalte verschiedener Weizensorten unter Ozonstress und *Mycosphaerella*-Befall notwendig. Für eine Berücksichtigung des Immissionsmusters in die vorhandenen Bewertungsmaßstäbe sind daneben weitere Untersuchungen notwendig, die neben dem Vergleich der langzeitigen Wirkung von Immissionsmustern die Wirkung kurzzeitiger Belastungsperioden oder wiederholter Ozonexpositionen berücksichtigen. In diesem Zusammenhang sind auch Untersuchungen zu einer möglichen Anpassung an niedrige Ozonkonzentrationen oder ‚memory-Effekten‘ wie sie bereits für Bäume beschrieben wurden sinnvoll. Die Abhängigkeit der Befallsstärke von *Mycosphaerella graminicola* von dem vorher zugeführten Immissionsmuster und der Weizensorten macht deutlich, dass der Immissionsverlauf auch die Ausprägung indirekter Ozonschäden stark beeinflusst.

## 5 Zusammenfassung

Erhöhte Konzentrationen bodennahen Ozons während der Sommermonate werden als Ursache für akute Pflanzenschäden und erhebliche Ertragseinbußen in der Land- und Forstwirtschaft angesehen. Die Ozonexposition kann daneben auch die Anfälligkeit von Pflanzen gegenüber Pathogenen auf verschiedene Weise verändern. Die Ergebnisse der bisher vorliegenden Untersuchungen lassen aufgrund der großen Variationsbreite der Versuchsbedingungen wie zum Beispiel der Ozonkonzentration und -dosis, der Wirt-Pathogen-Beziehung und des Expositionszeitpunktes keine verallgemeinernden Aussagen zu. Ziel der vorliegenden Arbeit war es in Modellversuchen unter standardisierten Bedingungen den Einfluss von Ozon auf das Pathosystem Weizen - *Mycosphaerella graminicola* zu überprüfen. Zusätzlich wurde bei einheitlicher Gesamtdosis ein Vergleich typisch städtischer, durch Spitzenkonzentration geprägter Immissionsverläufe mit denen typisch ländlicher, durch gleichmäßig hohe Ozonkonzentrationen geprägter Immissionsverläufe ermöglicht. Die wesentlichen Aussagen der Untersuchungen können wie folgt zusammengefasst werden:

- Eine einwöchige Ozonexposition der Weizenpflanzen führte unabhängig vom Immissionsmuster zu starken Blattnekrosen, einer geringeren Photosyntheseaktivität, einem reduzierten Ährengewicht und einer signifikanten Reduktion des Tausendkorngewichtes der exponierten Weizenpflanzen. Ein Einfluss der Ozonexposition auf die Kornzahl je Ähre oder die Kornqualität konnte unter den gegebenen Bedingungen nicht ermittelt werden. Das Immissionsmuster beeinflusste deutlich das Ausmaß der Schädigung. Die Exposition bei kurzen, hohen Konzentrationsspitzen führte zu einer stärkeren Chlorotisierung und Nekrotisierung der Blätter und zu einer stärkeren Ertragsreduktion als die Exposition der Weizenpflanzen bei Dauerbelastung.
- In Untersuchungen an fünf Sommer- und Winterweizensorten konnten sowohl ozonsensitive als auch weniger ozonsensitive Weizensorten ermittelt werden. Die Genotypen unterschieden sich deutlich in der Größe der ozoninduzierten nekrotischen Blattfläche sowie den Änderungen des Chlorophyllgehaltes, der Photosyntheseaktivität und der Biomasse- und Ertragsbildung. Für alle weiteren Untersuchungen wurde 'Picolo' als ozonsensitive Sorte ausgewählt, während die Sorte 'Quattro' als weniger ozonsensitive Sorte näher charakterisiert wurde.

- Die photometrische Bestimmung des zellulären Gesamtascorbinsäuregehaltes und die HPLC-Analyse des Tocopherolgehaltes in den Fahnenblättern ozonexponierter Weizenpflanzen und der Kontrollpflanzen ( $20 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) lieferten keine eindeutige Erklärung für die unterschiedliche Sortenempfindlichkeit der Pflanzen gegenüber Ozon oder dem Befall mit *M. graminicola*. Es wurden sowohl Zunahmen als auch Abnahmen der Konzentrationen dieser Antioxidantien beobachtet. Bei der Analyse des gesamten antioxidativen Potentials, dem in Bezug auf Schadfaktoren eine Rolle als 'passive Abwehr' zukommt, konnte aber bei der wenig ozonsensitiven Sorte 'Quattro' ein erheblich höherer Wert nachgewiesen als bei der ozonsensitiven Sorte 'Picolo'.
- In Untersuchungen, bei denen unterschiedliche Entwicklungsstadien der Weizenpflanzen exponiert wurden, konnte eine deutliche Abhängigkeit der Ozonsensitivität vom ontogenetischen Alter der Pflanzen festgestellt werden. Eine Exposition der Weizenpflanzen vor dem Schossen war mit einer Erhöhung der Biomasse zum Zeitpunkt des Abreifens verbunden, während die Exposition während der Blüte zu einem verringerten Ährengewicht und reduziertem Tausendkorngewicht der Pflanzen führte. Der Vergleich des Nekrotisierungsgrades unterschiedlicher Blattetagen bestätigte diese Beobachtung für Pflanzenteile unterschiedlichen Alters. Auf der Blattetage F-1 konnten bereits nach zwei- bis dreitägiger Ozonexposition erste Nekrosen beobachtet werden. Die Fahnenblätter derselben Pflanzen wiesen zu diesem Zeitpunkt noch keinerlei Nekrosen auf und waren bis zum Ende der Ozonexposition deutlich geringer geschädigt.
- In lichtmikroskopischen Untersuchungen wurde der Einfluss von Ozon auf die Wirtszellen, die Pilzmorphologie und den Infektionsverlauf näher untersucht. Eine ozoninduzierte Änderung der Wirtszellenmorphologie oder der Pilzmorphologie konnte nicht beobachtet werden. Dagegen wurde auf ozonexponierten Weizenpflanzen eine schnellere Entwicklung von *M. graminicola* nachgewiesen, was die Bedeutung der Ozonimmissionen für die Anfälligkeit der Weizenpflanzen gegenüber dem Blatt-dürreerreger unterstreicht.

- In Untersuchungen zum *M. graminicola*-Befall (nekrotische Blattfläche mit Pyknidien) ozonexponierter Weizenpflanzen wurde ein deutlicher Einfluss des Immissionsmusters auf die Befallsstärke nachgewiesen. So verursachte die Exposition der Pflanzen bei einer gleichmäßigen Dauerbelastung bei allen untersuchten Weizensorten den höchsten Befall. Die nekrotische Blattfläche war dann gegenüber den Kontrollpflanzen um bis zu 51 % erhöht. Zusätzlich wurde bei der Sorte 'Picolo' eine verkürzte Latenzzeit beobachtet. Nach Exposition der Pflanzen bei Ozonspitzenkonzentrationen war der Befall dagegen abhängig von dem Ausmaß der Vorschäden, die durch die Ozonexposition allein an den Blättern entstanden waren. Starke Blattschäden führten zu einem reduzierten Befall, während geringe Schäden ihn förderten. Das Ausmaß der Blattschädigung war zudem bei beiden Ozon-Immissionsmustern vom Alter der untersuchten Blattetage abhängig.
- Wechselwirkungen von Ozonexposition und anschließender *M. graminicola*-Inokulation wurden nur in Bezug auf den Ertrag beobachtet. Während das Tausendkorngewicht bei alleiniger Ozonexposition um 5 - 28 % und bei alleiniger *M. graminicola*-Infektion um 8 - 13 % reduziert war, hatte die Kombination beider Stressfaktoren eine additive Wirkung zur Folge, bei der das Tausendkorngewicht um bis zu 39 % verringert wurde.

Die vorliegenden Modellversuche zeigen, dass unter troposphärischen Ozonkonzentrationen, wie sie derzeit während des Sommerhalbjahres auftreten, eine Hemmung des Pflanzenwachstums und eine Veränderung der Anfälligkeit gegenüber Pathogenen schon bei einer einwöchigen Ozonbelastungsphase möglich ist. Es wurde dargestellt, dass die im AOT40-Konzept der neuen EU-Richtlinie 92/72/EWG zum Schutz der Vegetation noch immer besonders berücksichtigten Konzentrationsspitzen gravierendere Auswirkungen auf Wachstum und Entwicklung von Weizenpflanzen hatten als eine für ländliche Gebiete typische Dauerbelastung mit Ozon. Doch zeigen die vorliegenden Untersuchungen ebenso deutlich, dass unter den gegebenen Versuchsbedingungen die Exposition von Weizen bei gleichmäßiger Ozondauerbelastung, wie sie für ländliche Gebiete charakteristisch ist, einen schnelleren und stärkeren Befall der Pflanzen durch *M. graminicola* fördert. Änderungen der Prädisposition gegenüber Pathogenen sollten daher auch für andere Wirt-Pathogen-Beziehungen überprüft und bei der Entwicklung zukünftiger Dosis-Wirkungsmodelle und der Erstellung von Richtlinien berücksichtigt werden.

## 6 Literatur

- ALTSHULLER, A.P.** (1987): Estimation of the natural background of ozone present at surface rural locations. *JAPCA* 37, 1409-1417.
- AMUNDSON, R.G., KOHUT, R.J., SCHOETTLE, A.W., RABA, R.W. & REICH, P.B.** (1987): Correlative reductions in whole plant photosynthesis and yield of winter wheat caused by ozone. *Phytopathol.* 77, 75-79.
- ASHMORE, M.R. & BELL, J.N.B.** (1991): The role of ozone in global change. *Ann.Bot.* 67, 39-48.
- ASHMORE, M.R. & ÖNAL, M.** (1984): Modification of sulphur dioxide on the responses of *Hordeum vulgare* to ozone. *Environ.Poll.* 36, 31-43.
- AYRES, P.G.** (1984): The interactions between environmental stress injury and biotic disease physiology. *Annual Review of Phytopathology* 22, 53-75.
- BADIANI, M., PAOLACCI, A.R., ANNIBALE, A.D., SCHENONE, G.C. & SERMANI, G.G.** (1992): An ozone fumigation experiment on peach trees enclosed in open-top chambers in Central Italy. *CEC Conf. On Air Pollution and crop responses in Europe*, Tervuren, Belgium, 23-25.
- BAKER, K.F. & COOK, J.R.** (1974): *Biological control of plant pathogens*. Freeman and Company, San Francisco, 433 pp.
- BAYLES, R.A.** (1991): Varietal resistance as a factor contributing to the increased importance of *Septoria tritici* ROB. and DESM. in the UK wheat crop. *Plant Varieties and Seed* 4, 177-183.
- BECKER, K., SAURER, M., EGGER, A. & FUHRER, J.** (1989): Sensitivity of white clover to ambient ozone in Switzerland. *New Phytologist* 112, 523-243.
- BELL, J.N.B., MCNEILL, S., HOULDEN, G., BROWN, V.C. & MANSFIELD, P.J.** (1993): Atmospheric change: effect on plant pests and diseases. *Parasitology* 106, 11-24.
- BENDER, J. & JÄGER, H.J.** (1989): Wirkungen von gasförmigen Luftverunreinigungen und saurem Niederschlag auf Waldbäume: Biochemische und physiologische Wirkungsfeststellung. *Mitteilungen der Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft Hamburg*, 163, 129-178.

- BENDER, J. & WEIGEL, H.-J., WEGENER, U. & JÄGER, H.J.** (1994): Response of cellular antioxidants to ozone in wheat flag leaves at different stages of plant development. *Environ.Poll.* 84, 15-21.
- BENDER, J. & WEIGEL, H.-J.** (1995): Zur Gefährdung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen durch troposphärische Ozonkonzentrationen. *Berichte aus der Landwirtschaft* 73, 136-142.
- BJÖRKMANN, O. & DEMMIG, B.** (1987): Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170, 489-504.
- BOLHAR-NORDENKAMPF, H.R., LONG, S.P., BAKER, N.R., ÖQUIST, G., SCHREIBER, U. & LECHNER, E.G.** (1989): Chlorophyll fluorescence as a probe of photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. *Funct.Ecol.* 3, 497-514.
- BORTIER, K., DETEMMERMAN, L. & CEULEMANS, R.** (2000): Effects of ozone exposure in open-top chambers on poplar (*Populus nigra*) and beech (*Fagus sylvatica*): a comparison. *Environ.Poll.* 109, 509-516.
- BREUSEGEM, F. VAN, MONTAGU, M. VAN, INZE, D. & SLOOTEN, L.** (1999): Engineering stress tolerance in maize. 13. Forum for Applied Biotechnology Gent, Belgium. 367-373.
- BROADMEADOW, M.** (1998): Ozone and forest trees. *New Phytol.* 139, 123-125.
- BUCK, M.** (1970): Die Bedeutung des Immissionschutzes für die Vegetation. *Staub-Reinhalt.Luft* 30.
- BUNDESSORTENAMT (ANONYM, 1996, 1999):** Beschreibende Sortenliste für Getreide, Mais, Ölf Früchte, Leguminosen, Hackfrüchte. Landbuchverlagsgesellschaft mbH.
- BUNGENER, P., NUSSBAUM, S., GRUB, A. & FUHRER, J.** (1999): Growth response of grassland species to ozone in relation to soil moisture condition and plant strategy. *New Phytologist* 142, 283-293.
- BURKEY, K.O., WIE, C., EASON, G., PARTHASARATHI-GOSH, FENNER, G.P., GOSH, P.** (2000): Antioxidant metabolite levels in ozone-sensitive and tolerant genotypes of snap-bean. *Physiologia Plantarum* 110, 195-200.

- CASTILLO, F.J. & GREPPIN, H.** (1986): Balance between anionic and cationic extracellular peroxidase activities in *Sedum album* leaves after ozone exposure. Analysis by high-performance liquid chromatography. *Plant Physiol.* 68, 201-208.
- CHAMEIDES, W.L.** (1989): The chemistry of ozone deposition on plant leaves: role of ascorbic acid. *Environ.Sci.Technol.* 23, 595-600.
- CHERNIKOVA, T., ROBINSON, J.M., LEE, E.H. & MULCHI, C.L.** (2000): Ozone tolerance and antioxidant enzyme activity in soybean cultivars. *Photosynthesis Research* 64, 15-26.
- COAKLEY, M.** (1995): Biosphere change: will it matter in plant pathology ? *Canadian J.Plant Pathology* 17, 147-153.
- COHEN, L. & EYAL, Z.** (1993): The histology of processes associated with the infection of resistant and susceptible wheat cultivars with *Septoria tritici*. *Plant Pathol.* 42, 737-743.
- COLEMAN, J.S., JONES, C.G. & SMITH, W.H.** (1987): The effect on cottonwood-leaf rust interactions: Independence of abiotic, stress genotype, and leaf ontogeny. *Can.J.Bot.*65, 949-953.
- CONKLIN, P.L. & LAST, R.L.** (1995): Differential accumulation of antioxidant mRNAs in *Arabidopsis thaliana* exposed to ozone. *Plant Physiol.* 109, 203-212.
- CUNFER, B.M.** (1999): *Stagnospora* and *Septoria* pathogens of cereals: the infection process. In Ginkel, van M., McNab, A. & Krupinsky, J.: *Septoria* and *Stagnospora* diseases of cereals: a compilation of global research. CIMMYT Mexico 41-45.
- CZIHAK, G., LANGER, H. & ZIEGLER, H.** (Hrsg., 1990): *Biologie*. 4.Auflage, Springer Lehrbuch 762-828.
- DÄMMGEN, U. & WEIGEL, H.-J.** (1998): Trends in atmospheric composition (nutrients and pollutants) and their interaction with agrosystems. In El Bassam, N., Behl, R.K., Prochnow, B.J. & James, J. (Eds.): *Sustainable agriculture for food, energy and industry*, 85-93.
- DANON, T., SACKS, J.M. & EYAL, Z.** (1982): The relationships among plant stature, maturity class, and susceptibility to *Septoria* leaf blotch of wheat. *Phytopathol.* 72, 1037-1042.
- DAVISON, A. W. & BARNES, J.D.** (1998): Effects of ozone on wild plants. *New Phytol.* 139, 135-151.

- DETEMMERMAN, L.O., TRAPPENIERS, M. & VANDERMEIREN, K.** (1999): Nitrogen cycling and quality aspects of wheat during exposure to ozone and nitrogen dioxide. Air Pollution Research Report 46, 281-295.
- DICKSON, R.E. & LARSON, P.R.** (1981):  $^{14}\text{C}$  fixation, metabolic labelling patterns and translocation profiles during leaf development in *Populus deltoides*. *Planta* 152, 461-470.
- DOHMEN, G.P.** (1987): Secondary effects of air pollution: ozone decreases brown rust disease potential in wheat. *Environ.Poll.* 43, 189-194.
- ECKARDT, N.A. & PELL, E.J.** (1994):  $\text{O}_3$ -induced degradation of Rubisco protein and loss of Rubisco mRNA in relation to leaf age in *Solanum tuberosum* L.. *New Phytol.* 127, 741-748.
- ECKEY-KALTENBACH, H., ERNST, D., HELLER, W. & SANDERMANN, H. JR.** (1994): Biochemical plant responses to ozone. IV. Cross-induction of defensive pathways in parsley plants. *Plant Physiol.* 104, 67-74.
- ELSTNER, E.F.** (1988): Schadstoffe, die über die Luft zugeführt werden. In Hock, B. & Elstner, E.F. (Hrsg.): *Schadwirkungen auf Pflanzen – Lehrbuch der Pflanzentoxikologie*. 2. Auflage, BI-Wissenschaftsverlag, Mannheim.
- ENDRESS, A.G. & GRUNDWALD, C.** (1985): Impact of chronic ozone on soybean growth and biomass partitioning. *Agric.Ecosystems Environ.* 13, 9-23.
- ENQUETE-KOMMISSION (ANONYM 1992):** Klimaänderung gefährdet globale Entwicklung. Zukunft sichern - Jetzt handeln; erster Bericht der Enquete-Kommission „Schutz der Atmosphäre“, Economica-Verlag, Bonn.
- EPA.** (1996): Air quality criteria for ozone and related photochemical oxidants. U.S. EPA, Research Triangle Park NC. EPA Report No. EPA/600/P-93/004aF 2, 5-85.
- EPSTEIN, E.** (1984): Mineral stress: deficiencies and excesses. *J.Cell.Biochem.Supplement* 8B, 216.
- EVANS, L.S. & TING, I.P.** (1973): Ozone-induced membrane permeability changes. *Amer.J.Bot.* 60, 155-162.
- EWERT, F. & PLEIJEL, H.** (1999): Phenological development, leaf emergence, tillering and leaf area index, and duration of spring wheat across Europe in response to  $\text{CO}_2$  and ozone. *Eur.J.Agron.* 10, 171-184.



- EYAL, Z. & BROWN, M.B. (1976): A quantitative method for estimating density of *Septoria tritici* pycnidia on wheat leaves. *Phytopathology* 66, 11-14.
- EYAL, Z., SCHAREN, A.L., PRESCOTT, J.M. & GINKEL, M. (1987): The *Septoria* diseases of wheat: concepts and methods of disease management. CIMMYT. Mexico, D.F.
- EYAL, Z. (1999 a): *Septoria* and *Stagnospora* diseases of cereals: a comparative perspective. In Lucas, J.A., Bowyer, P. & Anderson, H.M.: *Septoria* on cereals: a study of pathosystems. Chapter 1.
- EYAL, Z. (1999 b): The *Septoria* / *Stagnospora* blotch diseases of wheat: past, present, and future. In Ginkel, van M., McNab, A. & Krupinsky, J.: *Septoria* and *Stagnospora* diseases of cereals: a compilation of global research. CIMMYT Mexico 177-182.
- FANGMEIER, A., BROCKERHOFF, U., GRÜTERS, U. & JÄGER, H.-J. (1994 a): Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Turbo) grown in open-top chambers to ozone and water stress. *Environ.Poll.* 83, 317-325.
- FANGMEIER, A., BRUNSCHÖN, S. & JÄGER, H.J. (1994 b): Time course of oxidant stress biomarkers in flag leaves of wheat exposed to ozone and drought stress. *New Phytol.* 126, 63-69.
- FARAGE P.K. & LONG, S.P. (1999): The effects of O<sub>3</sub> fumigation during leaf development on photosynthesis of wheat and pea: an *in vivo* analysis. *Photosynthesis Research* 59, 1-7.
- FINNAN, J.M., JONES, M.B. & BURKE, J.I. (1996): A time - concentration study on the effects of ozone on spring wheat (*Triticum aestivum* L.) 1. Effects on yield. *Agric.Ecosystems Environ.* 57, 159-167.
- FINNAN, J.M., JONES, M.B. & BURKE, J.I. (1998): A time-concentration study on the effects of ozone on spring wheat (*Triticum aestivum* L.). 3: Effects on leaf area and flag leaf senescence. *Agric.Ecosystems Environ.* 69, 27-35.
- FOKKEMA, N.J. & SCHIPPERS, B. (1993): Phyllosphere versus rhizosphere as environments for saprophytic colonisation. In Fokkema, N.J. & van den Heuvels, H. (Eds.): *Microbiology of the phyllosphere*. Cambridge University Press, Cambridge.
- FORRER, H.R. & ZADOKS, J.C. (1983): Yield reduction in wheat in relation to leaf necrosis caused by *Septoria tritici*. *Neth. J. Pl. Path.* 89, 87-98.

- FOYER, C.H., LELANDAIS, M. & KUNERT, K.J.** (1994): Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum* 92, 696-717.
- FRANZARING, J., TONNEIJCK, A.E.G., KOOIJMAN, A.W.N. & DUECK, T.A.** (2000): Growth responses to ozone in plant species from wetlands. *Environmental and Experimental Botany* 44, 39-48.
- FRYER, M.J.** (1992): The antioxidant effects of thylakoid Vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol). *Plant, Cell Environ.* 15, 381-392.
- FUHRER, J., EGGER, A., LEHNHERR, B., GRANDJEAN, A. & TSCHANNEN, W.** (1989): Effects of ozone on the yield of spring wheat (*Triticum aestivum* L., cv. Albis) grown in open-top field chambers. *Environ.Poll.* 60, 273-289.
- FUHRER, J., LEHNHERR, B., MOERI, P.B., TSCHANNEN, W. & SHARIAT-MADARI, H.** (1990): Effects of ozone on the grain composition of spring wheat grown in open-top field chambers. *Environ.Poll.* 65, 181-192.
- FUHRER, J., GRANDJEAN-GRIMM, A., TSCHANNEN, W. & SHARIAT-MADARI, H.** (1992): The response of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) to ozone at higher elevations. 2. Changes in yield, yield components and grain quality in response to ozone flux. *New Phytol.* 121, 211-219.
- GARCIA-PLAZAOLA, J.I. & BECERRIL, J.M.** (2000): Effects of drought on photoprotective mechanisms in European beech (*Fagus sylvatica* L.) seedlings from different provenances. *Trees* 14, 485-490.
- GEISLER, G.** (1983): Getreidearten der gemäßigten Klimazonen. In Geisler, G.: Ertragsphysiologie von Kulturarten des gemäßigten Klimas. Parey, Berlin, Hamburg, 16-47.
- GELANG, J., PLEIJEL, H., SILD, E., DANIELSSON, H., YOUNIS, S. & SELLDÉN, G.** (2000): Rate and duration of grain filling in relation to flag leaf senescence and grain yield in spring wheat (*Triticum aestivum*) exposed to different concentrations of ozone. *Physiologia Plantarum* 110, 366-375.
- GODBOLD, D.L.** (1998): Stress concepts and forest trees. *Chemosphere* 36, 859-864.
- GONNER, V.M. & SCHLOSSER, E.** (1993): Oxidative stress in interactions between *Avena sativa* L. and *Drechslera* spp.. *Physiol.Mol.Plant Pathol.*, 42, 221-234.
- GRANDJEAN-GRIMM, A. & FUHRER, J.** (1992): The response of spring wheat to ozone at high elevations. *New Phytol.* 121, 201-210.

- GRIMES, H.D., PERKINS, K.K. & BOSS, W.F.** (1983): Ozone degrades into hydroxyradical under physiological conditions. A spin trapping study. *Plant Physiol.* 72, 1016-1020.
- GRÜNHAGE, L. & HAENEL, H.D.** (1997): PLATIN (Plant-Atmosphere Interaction) 1: A model of plant-atmosphere interaction for estimating absorbed doses of gaseous air pollutants. *Environ. Poll.* 98, 37-50.
- GRÜNHAGE, L., JÄGER, H.-J., HAENEL, H.D., HANEWALD, K. & KRUPA, S.V.** (1997): PLATIN (Plant-Atmosphere Interaction) 2: Co-occurrence of high ambient ozone concentrations and factors limiting plant absorbed dose. *Environ. Poll.* 98, 51-60.
- GRÜNHAGE, L., KRAUSE, G.H.M., KÖLLNER, B., BENDER, J., WEIGEL, H.-J., JÄGER, H.-J. & GUDERIAN, R.** (2000): A new flux-orientated concept to derive critical levels for ozone to protect vegetation. *Environ. Poll.* 111, 355-362.
- GUDERIAN, R.** (1967): Reaktionen von Pflanzengemeinschaften des Feldfutterbaues auf Schwefeldioxidwirkungen. Schriftenreihe der Landesanstalt für Immissions- und Bodennutzungsschutz NKW 4, 80-100.
- GUDERIAN, R., TINGEY, D.T. & RABE, R.** (1985): Effects of photochemical oxidants on plants. In Guderian, R. (Hrsg.): Air poll by photochemical oxidants. 129-346.
- GÜNTHARDT-GOERG, M.S., MATYSSEK, R. & KELLER, T.** (1993): Birke (*Betula pendula*): Mögliche Akklimatisierung an Ozon-Stress. *Forstw.Cbl.* 112, 46-49.
- GUICHERIT, R. & VAN DOP, H.** (1977): Photochemical production of ozone in western Europe, (1971-1975) and its relation to meteorology. *Atmos.Environ.* 11, 145-155.
- GUIDI, L., NALI, C., CIOMPI, S., LORENZINI, G. & SOLDATINI, G.F.** (1997): The use of chlorophyll fluorescence and leaf gas exchange as methods for studying the different responses to ozone of two bean cultivars. *J.Exp.Bot.* 48, 173-179.
- GUIDI, L., DICAGNO, R. & SOLDATINI, G.F.** (2000) Screening of bean cultivars for their response to ozone as evaluated by visible symptoms and leaf chlorophyll fluorescence. *Environ.Poll.* 107, 349-355.
- GUIDI, L., NALI, C., LORENZINI, G., FILIPPI, F. & SOLDATINI, G.F.** (2001): Effects of chronic ozone fumigation on the photosynthetic process of poplar clones showing different sensitivity. *Environ.Poll.* 113, 245-254.
- GUZY, M.R. & HEATH, R.L.** (1993): Responses to ozone of varieties of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *New Phytol.* 124, 617-625.

- HARTUNG, W. & HEILMEIER, H.** (1993): Stomatal responses to abscisic acid in natural environments. In Jackson, M.B. & Black, C.R. (Eds.): Interacting stresses on plants in a changing climate. NATO ASI Series 116, 525-542.
- HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J.M.C.** (1989): Free radicals in biology and medicine. 2<sup>nd</sup> ed. Clarendon Press, Oxford. 237 ff.
- HEAGLE, A.S.** (1989): Ozone and crop yield. Annu. Rev. Phytopathol. 27, 397-423.
- HEATH, R.L.** (1975): Ozone. In Mudd, J.B. & Kozlowsky, T.T. (Eds.): Responses of plants to air pollution. Academic Press, New York, 23-55.
- HEATH, R.L.** (1987): The biochemistry of ozone attack on the plasma membrane of the plant cells. Rec.Adv.Phytochem. 21, 29-54.
- HEATH, R.L.** (1988): Biochemical mechanisms of pollutant stress. In Heck, W.W., Taylor, O.C. & Tingey, D.T. (Eds.): Assessment of crop loss from Air Pollutants. Elsevier, London, 259-286.
- HECK, W.W., TAYLOR, O.C. & TINGEY, D.T.** (1988): Assessment of crop loss from air pollution. New York: Elsevier.
- HESS, J.L.** (1993): Vitamin E,  $\alpha$ -tocopherol. In Alscher, R.G. & Hess, J.L. (Eds.): Antioxidants in higher plants. CRC Press Inc. Boca Raton, 111-134.
- HILU, H.M. & BEVER, W.M.** (1957): Inoculation, oversumming, and suscept-pathogen relationship of *Septoria tritici* on *Triticum* species. Phytopathol. 47, 474-480.
- HOCK, B. & ELSTNER, E.F.** (Hrsg.) (1995): Schadwirkungen auf Pflanzen. Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg.
- HOFFMANN, G.M., NIENHAUS, F., PÖHLING, H.-M., SCHÖNBECK, F., WELTZIEN, H.C. & WILBERT, H.** (1994): Lehrbuch der Phytomedizien. 3. Auflage, Blackwell Wissenschaftsverlag Berlin.
- HORCICKA, P., MARKOVA, O. & HANISOVA, A.** (2001): Effects of *Septoria* and *Pyrenophora* on reduction of winter wheat yield. Beiträge zur Züchtungsforschung, Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen 7, 55-58.
- JAKOB, B. & HEBER, U.** (1998): Apoplastic ascorbate does not prevent the oxidation of fluorescent amphibic dyes by ambient and elevated concentrations of ozone in leaves. Plant and Cell Physiology 39, 313-322.

- JAMES, R.L., COBB, F.W. JR. & PARMETER, J.R. JR.** (1982): Effects of ozone on sporulation, spore germination, and growth of *Fomes annosus*. *Phytopathol.* 72, 1205-1208.
- JØRGENSEN, H.J.L. & SMEDEGAARD-PETERSEN, V.** (1999) Host-pathogen interactions in the *Septoria*-disease complex. In Lucas, J.A., Bowyer, P. & Anderson, H.M.: *Septoria on cereals: a study of pathosystems*. Chapter 9.
- KÄRENLAMPI, L. & SKÄRBY, L.** (1996): Critical levels for ozone in Europe: testing and finalising the concepts. UN-ECE workshop report. University of Kuopio. Department of Ecology and Environmental Science, Kuopio, 1996.
- KAHN, M.R. & KAHN, M.W.** (1999): Effects of intermittent ozone exposure on powdery mildew of cucumber. *Environ.Exp.Bot.* 42, 163-171.
- KANGASJÄRVI, J., TALVINEN, J., UTRIAINEN, M. & KARJALAINEN, R.** (1994): Plant defence systems induced by ozone. *Plant, Cell & Environ.* 17, 783-794.
- KAUSS, H.** (1990): Role of the plant plasma membrane in host-pathogen interaction. In Larsson, C. & Moller, I.M. (Eds.): *The Plant Plasma Membrane*. Springer, Berlin, 320-351.
- KEMA, G.H.J. & ANNONE, J.G.** (1991): In vitro production of pycnidia by *Septoria tritici*. *Neth.J.Pl.Path.* 97, 65-72.
- KEMA, G.H.J., DAZHAO, Y., RIJKENBERG, F.H.J., SHAW, M.W. & BAAYEN, R.P.** (1996): Histology of the pathogenesis of *Mycosphaerella graminicola* in wheat. *Phytopathology* 86, 777-786.
- KENT, S.S. & STROBEL, G.A.** (1976): Phytotoxin from *Septoria nodorum*. *Transactions of the British Mycological Research Society* 67, 354-358.
- KING, J.E., COOK, R.J. & MELVILLE, S.C.** (1983): A review of *Septoria* diseases of wheat and barley. *Ann.appl.Biol.* 103, 345-373.
- KITAJIMA, M. & BUTLER, W.L.** (1975): Quenching chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone. *Biochim.Biophys.Acta* 376, 105-115.
- KLUMPP, A. BAUER, E., HUTTENLOCHER, F., VEIT, U. & GONSCHORREK, J.** (2000): Einfluss realistischer Ozonkonzentrationen auf das Sexualpheromon des Eichenwicklers (*Tortrix viridana* L.). *Mitt.Dtsch.Ges.Allg.Angew.Ent.* 12, 67-70.

- KÖLLNER, B. & KRAUSE, G.H.M.** (2000): Changes in carbohydrates, leaf pigments and yield in potatoes induced by different ozone exposure regimes. *Agric.Ecosystems Environ.* 78, 149-158.
- KOLLIST, H., MOLDAU, H., MORTENSEN, L., RASMUSSEN, S.K. & JORGENSEN, L.B.** (2000): Ozone flux to plasmalemma in barley and wheat is controlled by stomata rather than by direct reaction of ozone with cell wall ascorbate. *J.Plant Physiol.* 156, 645-651.
- KOZLOWSKY, T.T., KRAMER, P.J. & PALLARDY, S.G.** (1991): The physiological ecology of woody plants. Academic Press, San Diego.
- KRAUSE, C.R. & WEIDENSAUL, T.C.** (1978): Ultrastructure effects of ozone on the host-parasite relationship of *Botrytis cinerea* and *Pelargonium hortorum*. *Phytopathol.* 68, 301-307.
- KRAUSE, G.H., SOMERSALO, S., ZUMBUSCH, E., WEYERS, B. & LAASCH, H.** (1990): On the mechanism of photoinhibition in chloroplasts. Relationship between changes in fluorescence and activity of photosystem II. *J.Plant Physiol.* 136, 472-479.
- KRAUSE, G.H. & WEIS, E.** (1991): Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The Basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Biology* 42, 313-349.
- KRESS, L.W., MILLER, J.E. & SMITH, H.J.** (1985): Impact of ozone on winter wheat yield. *Environ.Exp.Bot.* 25, 211-228.
- KRUPA, S.V. & MANNING, W.J.** (1988): Atmospheric ozone - formation and effects on vegetation-. *Environ.Poll.* 50, 101-137.
- KRUPA, S.V. , GRÜNHAGE, L., JÄGER, H.-J., NOSAL, M., MANNING, W.J., LEGGE, A.H. & HANEWALD, K.** (1995): Ambient ozone (O<sub>3</sub>) and adverse crop response: a unified view of cause and effect. *Environ.Poll.* 87, 119-126.
- KRUPA, S.V., TONNEIJCK, A.E.G. & MANNING, W.J.** (1997): Ozone. In Flagler, R.B., Chappelka, A.H., Manning, W.J., McColl, P.M. & Shafer, S.R. (Eds.): *Recognition of Air Pollution Injury to Vegetation - A Pictorial Atlas*. Air & Waste Management Association, Pittsburgh, PA.
- KRUPA, S.V., NOSAL, M. & LEGGE, A.H.** (1998): A numerical analysis of the combined open-top chamber data from the USA and Europe on ambient ozone and negative crop responses. *Environ.Poll.* 101, 157-160.

- KRUPA, S.V., MCGRATH, M.T., ANDERSEN, C.P., BOOKER, F.L., CHAPPELKA, A.H., CHEVONE, B.I., PELL, E.J. & ZILINSKAS, B.A.** (2001): Ambient ozone and plant health. *Plant Disease* 85, 4-17.
- KUIK, O.J., HELMING, J.F.M., DORLAND, C. & SPANINKS, F.A.** (2000): The economic benefits to agriculture of a reduction of low-level ozone pollution in The Netherlands. *European Review of Agricultural Economics* 27, 75-90.
- LANGEBARTELS, C., KERNER, K., LEONARDI, S., SCHRAUDNER, M., TROST, M., HELLER, W. & SANDERMANN, H., JR.** (1991): Biochemical plant response to ozone. I. Differential induction of polyamine and ethylene biosynthesis in tobacco. *Plant Physiol.* 95, 882-889.
- LARSON, P.R., ISEBRANDS, J.G. & DICKSON, R.E.** (1980): Sink to source transition of *Populus* leaves. *Ber.Deutsch.Bot.Ges.* 93, 79-87.
- LEE, E.H. & HOGSETT, W.E.** (1999): Role of concentration and time of day in developing ozone exposure indices for a secondary standard. *J.Air & Waste Manage.Assoc.* 49, 669-681.
- LEHNHERR, B., GRANDJEAN, A., MÄCHLER, F. & FUHRER, J.** (1987): The effect of ozone in ambient air on ribulosebiphosphat carboxylase oxygenase activity decreases photosynthesis and grain yield in wheat. *J.PlantPathol.* 130, 189-200.
- LEVINE, A.R., TENHAKEN, R., DIXON, R. & LAMB, C.** (1994): H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* 79, 583-593.
- LICHTENTHALER, H.K. & BUSCHMANN, C.** (1985): Beziehungen zwischen Photosynthese und Baumsterben. *Allg.Forstzeitschrift* 39, 12-16.
- LOUGHMAN, R., WILSON, R.E. & THOMAS, G.J.** (1996): Components of resistance to *Mycosphaerella graminicola* and *Phaeosphaeria nodorum* in spring wheat. *Euphytica* 89, 377-385.
- LU, C.M. & ZHANG, J.H.** (1998): Changes in photosystem II function during senescence of wheat leaves. *Physiologica Plantarum* 104, 239-247.
- LUPTON, F.G.H.** (1966): Translocation of photosynthetic assimilates in wheat. *Ann.appl.Biol.* 57, 355-364.

- LYONS, T. M. & BARNES, J. D.** (1998): Influence of plant age on ozone resistance in *Plantago major*. *New Phytol.* 138, 83-89.
- MAGBOUL, A. M., GENG, S., GILCHRIST, D.G. & JACKSON, L.F.** (1992): Environmental influence on the infection of wheat by *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathol.* 82, 1407-1413.
- MANION, P.D.** (1981): Decline diseases of complex biotic and abiotic origin. In: *Tree Disease Concepts*. Prentice Hall, New York, 324-339.
- MANNING, W.J., FEDER, W.A. & PERKINS, I.** (1969): Ozone injury increases infection of geranium leaves by *Botrytis cinerea*. *Phytopathol.* 60, 669-670.
- MANNING, W.J. & VON TIEDEMANN, A.** (1995): Climate change: potential effects of increased atmospheric carbon dioxide (CO<sub>2</sub>), ozone (O<sub>3</sub>) and ultraviolet-B (UV-B) radiation on plant diseases. *Environ.Poll.* 88, 219-245.
- MASSMAN, W.J., MUSSELMAN, R.C. & LEFOHN, A.S.** (2000): A conceptual ozone dose-response model to develop a standard to protect vegetation. *Atmospheric Environment* 34, 745-759.
- MATYSSEK, R., GÜNTHARDT-GOERG, M.S., SAURER, M. & KELLER, T.** (1992): Impairment of gas exchange and structure in birch leaves (*Betula pendula*) caused by low ozone concentrations. *Trees* 6, 5-13.
- MATYSSEK, R.** (1998): Ozon - ein Risikofaktor für Bäume und Wälder ? *Biologie in unserer Zeit* 28, 348-361.
- MARENCO, A., H. GOUGET, N. PHILIPPE, J.-P. PAGES & F. KARCHER** (1994): Evidence of a long term increase in tropospheric ozone from Pic du Midi data series: Consequences: Positive radiative forcing. *J.Geophys.Research* 99, 16.617-16.632.
- MCKEE, I.F., MULHOLLAND, B.J., CRAIGON, J., BLACK, C.R. & LONG, S.P.** (2000): Elevated concentrations of atmospheric CO<sub>2</sub> protect against and compensate for O<sub>3</sub> damage to photosynthetic tissues of field-grown wheat. *New Phytol.* 146, 427-435.
- MCKERSIE, B.D., HUCL, P. & BEVERSDORF, W.D.** (1982): Solute leakage from susceptible and tolerant cultivars of *Phaseolus vulgaris* following ozone exposure. *Canadian Journal of Botany* 60, 73-78.
- MEIER, U.** (1997): *Growth stages of mono- and dicotyledonous plants*. Blackwell, Oxford.



- MEIEN-VOGLER, VON F.** (1994): Analysen zur Virulenz von *Septoria tritici* ROB. ex. DESM. in Weizen und Untersuchungen zur Methodik der Resistenzprüfung. Dissertation, Göttingen.
- MEYER, U., KÖLLNER, B., WILLENBRINK, J. & KRAUSE, G.H.M.** (1997): Physiological changes on agricultural crops induced by different ambient ozone exposure regimes 1. Effects on photosynthesis and assimilate allocation in spring wheat. *New Phytol.* 136, 645-652.
- MEYER, U., KÖLLNER, B., WILLENBRINK, J. & KRAUSE, G.H.M.** (2000): Effects of different ozone exposure regimes on photosynthesis, assimilates and thousand grain weight in spring wheat. *Agric.Ecosystems Environ.* 78, 49-55.
- MIDDLETON, J.T., KENDRICK, J.B. & SCHWALM, H.W.** (1950): Injury to herbaceous plants by smog or air pollution. *Plant Dis.Rep.* 34, 245-252.
- MILLS, G., F. HAYES, A. BUSE & B. REYNOLDS** (2000): Air Pollution and Vegetation. UNECE ICP-Vegetation - Annual Report 1999/2000, 27-28.
- MULHOLLAND, B.J., CRAIGON, J., BLACK, C.R. , COLLS, J.J., ATHERTON, J. & LANDON, G.** (1997): Effects of elevated carbon dioxide and ozone on the growth and yield of spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *J.Exp.Bot.* 48, 113-122.
- MULHOLLAND, B.J., CRAIGON, J., BLACK, C.R., COLLS, J.J., ATHERTON, J. & LANDON, G.** (1998): Effects of elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> on the rate and duration of grain growth and harvest index in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Global Change Biology* 4, 627-635.
- MUSSELMAN, R.C., MCCOOL, P.M. & LEFOHN, A.S.** (1994): Ozone descriptors for an air quality standard to protect vegetation. *J.Air & Waste Manage.Assoc.* 44, 1383-1390.
- MUSSELMAN, R.C. & MASSMAN, W.J.** (1999): Ozone flux to vegetation and its relationship to plant response and ambient air quality standards. *Atmospheric Environment* 33, 65-73.
- NIENHAUS, F.** (1989): Welche Rolle spielen Viren, Rickettsien, Mycoplasmen oder Pilze im Zusammenhang mit den neuartigen Waldschäden ? In: Fakten, Forschung, Hypothesen. Ursachen des Waldsterbens. Hrsg. Stiftung 'Wald in Not' 3.
- NIKI, T, MITSUHARA, I., SEO, S., OHTSUBO, N. & OHASHI, Y.** (1998): Antagonistic effect of salicylic acid and jasmonic acid on the expression of pathogenesis-related (PR) protein genes in wounded mature tobacco leaves. *Plant Cell Physiol.* 39, 295-305.

- NIRENBERG, H.I.** (1976): Untersuchungen über die morphologische und biologische Differenzierung in der *Fusarium*-Sektion *Liseola*. Mitteilungen der BBA (Berlin-Dahlem) 169, 1-117.
- NOCTOR, G. & FOYER, CHR. H.** (1998): Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annu.Rev.Physiol.PlantMol.Biol.* 49, 249-279.
- OJANPERÄ, K., SUTINEN, S., PLEIJEL, H. & SELLDÉN, G.** (1992): Exposure of spring wheat, *Triticum aestivum*, L., cv. Drabant, to different concentrations of ozone in open-top chambers: effects on the ultrastructure of flag leaf cells. *New Phytol.* 129, 39-48.
- OJANPERÄ, K., PÄTSIKKÄ, E. & YLÄRANTA, T.** (1998): Effects of low ozone exposure of spring wheat on net CO<sub>2</sub> uptake, Rubisco, leaf senescence and grain filling. *New Phytol.* 138, 451-460.
- OLLERENSHAW, J.H., LYONS, T. & BARNES, J.D.** (1999): Impacts of ozone on the growth and yield of field-grown winter oilseed rape. *Environ.Poll.* 104, 53-59.
- OLLERENSHAW, J.H. & LYONS, T.** (1999): Impacts of ozone on the growth and yield of field-grown winter wheat. *Environ.Poll.* 106, 67-72.
- OMMEN, O.E., DONNELLY, A., VANHOUTVIN, S., OIJEN VAN, M. & MANDERSCHIED, R.** (1999): Chlorophyll content of spring wheat flag leaves grown under elevated CO<sub>2</sub> concentrations and other environmental stresses within the "ESPACE-wheat" project. *European Journal of Agronomy* 10, 197-203.
- PARKER, M.L. & MURPHY, G.J.P.** (1981): Oleosomes in flag leaves of wheat; their distribution composition and fate during senescence and rust infection. *Planta* 152, 36-43.
- PARLEVLIET, J.E.** (1979): Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. *Annu.Rev.Phytopath.* 17, 203-222.
- PASQUALINI, S., BATINI, P., EDERLI, L., PORCEDDU, A., PICCIONI, C., MARCHIS, DE F. & ANTONELLI, M.** (2001): Effects of short-term ozone fumigation on tobacco plants: response of the scavenging system and expression of the glutathion reductase. *Plant, Cell, Environment* 24, 245-252.
- PELL, E.J., TEMPLE, P.J., FRIEND, A.L., MOONEY, H.A. & WINNER, W.E.** (1994): Comparison as a plant response to ozone and associated stresses: an analysis of ROPIS experiments. *J.Env.Quality* 23, 429-436.

- PELL, E.J., SCHLAGNHAUFER, C.D. & ARTECA, R.N.** (1997): Ozone-induced oxidative stress: mechanisms of action and reaction. *Physiol.Plant.* 100, 264-273.
- PENKET, S.A.** (1988): Indication and causes of ozone increase in the troposphere. In: Rowland, F.S. & Isaksen, I.S.A. (Eds.): *The changing atmosphere*. London, 91-103.
- PERCY, K.E., MCQUATTIE, C.J. & REBBECK, J.A.** (1994): Effects of air pollutants on epicuticular wax chemical composition. In Percy, K.E., Cape, J.N., Jagels, R. & Simpson, C.J. (Eds.): *Air pollutants and the leaf cuticle*, NATO ASI Series 36, 67-79.
- PEERENBOOM, E.** (1996): Wie gelangen fremde Gene in eine Zelle ? MPIZ aktuell. Max Planck Institut für Züchtungsforschung.
- PFLEEGER, T.G., DALUZ, M.A. & MUNDT, C.C.** (1999): Lack of a synergistic interaction between ozone and wheat leaf rust in wheat swards. *Environ.Exp.Bot.* 41, 195-207.
- PLAZEK, A., HURA, K., RAPACZ, M. & ZUR, I.** (2001): The influence of ozone fumigation on metabolic efficiency and plant resistance to fungal pathogens. *J.Appl.Bot.* 75, 8-13.
- PLEIJEL, H., SKÄRBY, L., OJANPERÄ, K. & SELLDÉN, G.** (1994): Exposure of oats, *Avena sativa* L., to filtered and unfiltered air in open-top chambers: effects on grain yield and quality. *Environ.Poll.* 86, 129-134.
- PLEIJEL, H., WALLIN, G., KARLSSON, P., SKÄRBY, L. & SELLDÉN, G.** (1995 a): Gradients of ozone at a forest site and over a field crop-consequences for the AOT40 concept of critical level. *Water, Air and Soil Pollution* 85, 2033-2038.
- PLEIJEL, H., KARLSSON, P., DANIELSSON, H. & SELLDÉN, G.** (1995 b): Surface wetness enhance ozone deposition to pasture canopy. *Atmospheric Environment* 29, 3391-3393.
- PLEIJEL, H., DANIELSSON, H., GELANG, J., SILD, E. & SELLDÉN, G.** (1996): Growth stage dependence of the grain yield response to ozone in spring wheat. In Knoflacher, M., Schneider, J. & Soja, G. (Eds.): *Exceedance of critical loads and levels*. Umweltbundesamt, Wien, 164-169.
- PLEIJEL, H., OJANPERÄ, K., DANIELSSON, H., SILD, E., GELANG, J., WALLIN, G., SKÄRBY, L. & SELLDÉN, G.** (1997 a): Effects of ozone on leaf senescence in spring wheat - possible consequences for grain yield. *Phyton* 37, 227-232.

- PLEIJEL, H., OJANPERÄ, K. & MORTENSEN, L. (1997 b):** Effects of tropospheric ozone on the yield and grain content of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) in the Nordic Countries. *Acta Agric. Scand. Sect.B, Soil and Plant Sci.* 47, 20-25.
- PLEIJEL, H., DANIELSSON, H., GELANG, J., SILD, E. & SELLDÉN, G. (1998):** Growth stage dependence of the grain yield response to ozone in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Agriculture, Ecosystems and Environment* 70, 61-68.
- POLLE, A., WIESER, G. & HAVRANEK, W.M. (1995):** Quantification of ozone influx and apoplastic ascorbate content in needles of Norway spruce trees (*Picea abies* L., Karst) at high altitude. *Plant Cell Environ.* 18, 681-688.
- POLLE, A. (1997):** Defence against photooxidative damage in plants. In: *Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defence*. Scandalios, J. (Eds.), 623-665.
- PUKACKA, S. & PUKACKI, P.M. (2000):** Seasonal changes in antioxidant level of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) needles exposed to industrial pollution. I. Ascorbate and thiol content. *Acta Physiol.Plant.* 22, 451-156.
- RAJARAM, S. (1999):** Historical aspects and future challenges of an international wheat program. In Ginkel, van M., McNab, A. & Krupinsky, J.: *Septoria and Stagnospora diseases of cereals: a compilation of global research*. CIMMYT Mexico 1-17.
- RAJPUT, C.B.S. & ORMROD, D.P. (1986):** Stimulation of plant growth in pumpkin by ozone. *Hortic.Sci.* 21, 498-499.
- RANIERI, A., CASTAGNA, A., PADU, E., MOLDAU, H., RAHI, M. & SOLDATINI, G.F. (1999):** The decay of O<sub>3</sub> through direct reaction with cell wall ascorbate is not sufficient to explain the different degrees of O<sub>3</sub>-sensitivity in two poplar clones. *J.Plant Physiol.* 154, 250-255.
- RAO, M.V., HALE, B.A. & ORMROD, D.P. (1995):** Amelioration of ozone-induced oxidative damage in wheat plants grown under high carbon dioxide. *Plant Physiology* 109, 421-432.
- REICH, P.B. & AMUNDSON, R.G. (1985):** Ambient levels of ozone reduce net photosynthesis in tree and crop species. *Science* 230, 566-570.
- REICH, P.B. (1987):** Quantifying plant response to ozone: a unifying theory. *Tree Physiology* 3, 63-91.

- REICHENAUER, T.G., GOODMAN, B.A., KOSTECKI, P. & SOJA, G.** (1998): Ozone sensitivity in *Triticum durum* and *T. aestivum* with respect to leaf injury, photosynthetic activity and free radical content. In Navari-Izzo, F, Hendry, G.A.F. & Rio, del L.A.: Proceedings of the Third International Conference on Oxygen, Free Radicals and Environmental Stress in Plants, Pisa, Italy, 15-18 September 1997, 104, 681-686.
- REILING, K. & DAVISON, A.W.** (1994): Effects of exposure of ozone at different stages in the development of *Plantago major* L. on chlorophyll fluorescence and gas exchange. *New Phytol.* 131, 231-239.
- RIEMER, J. & J.B. WHITTACKER** (1989): Air pollution and insect herbivores: observed interactions and possible mechanism. In E.A. Bernays (Ed.): *Insect-plant interactions*. CRC Press, Boca Raton, 73-105.
- RIEDLE-BAUER, M.** (2000): Role of reactive oxygen species and antioxidant enzymes in systemic virus infection of plants. *J. Phytopathol.* 148, 297-302.
- RIST, D.L. & LORBEER, J.W.** (1984): Moderate dosage of ozone enhance infection of onion leaves with *Botrytis cinerea* but not by *Botrytis squamosa*. *Phytopathol.* 74, 761-767.
- ROSEN, G.M. & HALPERN, H.J.** (1990): Spin trapping biologically generated free radicals: correlating formation with cellular injury. *Methods Enzymol.* 186, 611-621.
- ROSENKRANZ, J., EBEL, B. & STRATMANN, U.** (1990): Histologisch-cytologisch nachweisbare Veränderungen an Nadeln geschädigter und ungeschädigter Fichten an den regionalen Forschungsstandorten des Landes NRW. *Forschungsberichte zum Forschungsprogramm des Landes Nordrhein-Westfalen 'Luftverunreinigungen und Waldschäden'* 16.
- RUNECKLES, V.C. & CHEVONE, B.I.** (1992): Crop responses to ozone. In Lefohn, A.S. (Ed.): *Surface level ozone exposure and their effects on vegetation*, Chelsea, 189-270.
- RUNECKLES, V.C. & M. VAARTNOU** (1997): EPR evidence for superoxide anion formation in leaves during exposure to low levels of ozone. *Plant Cell Environ.* 20, 306-314.
- SAADAOU, E.M.** (1987): Physiologic specialisation of *Septoria tritici* in Morocco. *Plant Disease* 71, 153-155.

- SAIRAM, R.K. & SAXENA, D.C.** (2000): Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *J. Agronomy & Crop Science* 184, 55-61.
- SALIN, M.L.** (1987): Toxic oxygen species and protective systems of the chloroplast. *Physiologia Plantarum* 72, 681-689.
- SANDERMANN, H., LANGEBARTELS, C. & HELLER, W.** (1990): Ozon-Stress bei Pflanzen. Frühe 'Memory-Effekte' von Ozon bei Nadelbäumen. *Zeitschrift für Umweltchemie und Ökotoxikologie* 2, 14-15.
- SANDERMANN, H., ERNST, D., HELLER, W. & LANGEBARTELS, C.** (1993): Biochemical markers for stress. Detection and ecophysiology. In Schulze, E.-D. & Mooney, H.A. (Eds.): *Design and Execution of Experiments on CO<sub>2</sub> Enrichment*. Commission of the European Communities.
- SANDERMANN, H. JR.** (1996): Ozone and plant health. *Annu. Rev. Phytopathol.* 34, 347-366.
- SANDERMANN, H., ERNST, D., HELLER, W. & LANGEBARTELS, C.** (1998): Ozone: an abiotic elicitor of plant defence reactions. *Trends in Plant Science* 3, 47-50.
- SANDERMANN, H. JR.** (2000): Ozone/biotic disease interactions: molecular biomarkers as a new experimental tool. *Environ. Poll.* 108, 327-332.
- SANDERMANN, H.** (2001): *Ozon - Entstehung, Wirkung, Risiken*. C.H. Beck, München.
- SANDERS, G.E., ROBINSON, A.D., GEISSLER, P.A. & COLLS, J.J.** (1992): Yield stimulation of commonly grown cultivar of *Phaseolus vulgaris* at near ambient ozone concentrations. *New Phytol.* 122, 63-70.
- SAXE, H.** (1996): Physiological and biochemical tools in diagnosis of forest decline and air pollution injury to plants. In: Yunus, M. Iqbal, M. (Eds.): *Plant Response to Air Pollution*. John Wiley and Sons, London, 449-487.
- SCEBBA, F. SEBASTIANI, L. & VITAGLIANO, C.** (2001): Activities of antioxidant enzymes during senescence of *Prunus armeniaca* leaves. *Biologia Plantarum* 44, 41-46.
- SCHAREN, A.L.** (1999): Biology of the *Septoria* / *Stagnospora* pathogens: an overview. In Ginkel, van M., McNab, A. & Krupinsky, J.: *Septoria and Stagnospora diseases of cereals: a compilation of global research*. CIMMYT Mexico 19-22.

- SCHLEE, D. & KÖCK, M. (1987): Zur Kombinationswirkung ausgewählter Luftschadstoffe auf pflanzliche Organismen. Biol. Rundsch. 25, 35-44.
- SCHLÖSSER, E. (1997): Allgemeine Phytopathologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- SCHÖNBEIN, C.F. (1849): Beobachtungen über den bei der Elektrolyse des Wassers und dem Ausströmen der gewöhnlichen Elektrizität aus Spitzen sich entwickelnden Geruch. Libigs. Ann. Chem. 50, 616.
- SCHRAUDNER, M., ERNST, D., LANGEBARTELS, C. & SANDERMANN, H. (1992): Biochemical plant responses to ozone. III. Activation of the defence-related proteins  $\beta$ -1,3-glucanase and chitinase in tobacco leaves. Plant Physiol. 99, 1321-1328
- SCHRAUDNER, M., GRAF, U., LANGEBARTELS, C. & SANDERMANN, H. (1994): Ambient ozone can induce plant defence reactions in tobacco. Proc.R.Soc.Edinburgh 102, 55-61.
- SCHRAUDNER, M., LANGEBARTELS, C. & SANDERMANN, H. (1997): Changes in the biochemical status of plant cells induced by the environmental pollutant ozone. Physiologia Plantarum 100, 274-280.
- SHEARER, B.L. & WILCOXSON, R.D. (1976): The distribution of *Septoria* species on winter wheat plants sprayed with fungicides. Plant Disease Reporter 60, 990-995.
- SHEARER, B.L. (1978): Inoculum density-host response relationships of spring wheat cultivars to infection by *Septoria tritici*. Neth.J.PlantPathol. 84, 1-12.
- SKÄRBY, L. (1984): Changes in nutritional quality of crops. In Koziol, M.J. & Whatley, F.R. (Eds.): Gaseous air pollutants and plant metabolism. Butterwoths Scientific, London 351-359.
- SKÄRBY, L., RO-POULSEN, H., WELLBURN, F.A.M. & SHEPPARD, L.J. (1998): Impacts of ozone on forests: a European perspective. New Phytol. 139, 109-122.
- SLAUGHTER, L.H., MULCHI, C.L., LEE, E.H. & TUTHILL, K. (1989): Chronic ozone effects on yield and grain quality of soft red winter wheat. Crop Science 29, 1251-1255.
- SLAUGHTER, L.H., MULCHI, C.L. & LEE, E.H. (1993): Wheat-kernel growth characteristics during exposure to chronic ozone pollution. Environ.Poll. 81, 13-19.

- SMIRNOFF, N.** (2000): Ascorbate biosynthesis and function in photoprotection. Photoprotection of the photosynthetic apparatus: new biochemical methods, papers of a discussion meeting held at the Novartis Foundation, London, UK, 14 April, 2000 - Biological-Sciences 355, 1455-1464.
- SMIRNOFF, N. & WHEELER, G.L.** (2000): Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. Critical Reviews in Plant Sciences 19, 267-290.
- SOJA, G. & SOJA, A.M.** (1995): Ozone effects on dry matter partitioning and chlorophyll fluorescence during plant development of wheat. Water, Air and Soil Pollution 85, 1461-1466.
- SOJA, G. BARNES, J.D., POSCH, M., VANDERMEIREN, K., PLEIJEL, H. & MILLS, G.** (2000): Phenological weighting of ozone exposures in the calculation of critical levels for wheat, bean and plantain. Environ.Poll. 109, 517-524.
- STOCKWELL, W.R., KRAMM, G., SCHEEL, H.E., MOHNEN V. A. & SEILER, W.** (1997): Ozoneformation, destruction and exposure in Europe and the United States. In: SANDERMANN, H., WELLBURN, A.R. & HEATH, R.L. (Hrsg.): Forest decline and ozone, a comparison of controlled chamber and field experiments. Ecol. Studies 127, Springer, Berlin, 400 ff.
- STRAEHL, P. & FILLIGER, P.** (1999): Der Sommersmog hält uns weiterhin in Atem. Umweltschutz 2, 11-15.
- STATLER, G.D. & PARLEVLIET, J.E.** (1987): Factors related to partial resistance to leaf rust. Phytopathol. 77, 549-551.
- SUTTON, R. & TING, I.P.** (1977): Evidence for the repair of ozone-induced membrane injury. Amer.J.Bot. 64, 404-411.
- TANAKA, K., SUDA, Y., KONDO, N. & SUGAHARA, K.** (1985): O<sub>3</sub> tolerance and the ascorbate dependent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> decomposing system in chloroplasts. Plant Cell Physiol. 26, 1425-1431.
- TAUSZ, M., BYTNEROWICZ, A., WEIDNER, W., ARBAUGH, M.J., PADGETT, P., GRILL, D., SHEPPARD, L.J. & CAPE, J.N.** (1999): Changes in free-radical scavengers describe the susceptibility of *Pinus ponderosa* to ozone in southern Californian forests. Special issue: Forest growth responses to the pollution climate of the 21<sup>st</sup> century Edinburgh, UK.



- TIEDEMANN, VON A. & FEHRMANN, H.** (1986): Increased susceptibility of grapevine against *Botrytis cinerea* after fumigation with sulphur dioxide and ozone. *Weinwiss.* 3, 177-181.
- TIEDEMANN, VON A., BRÜCKNER, G. & FEHRMANN, H.** (1989): Susceptibility changes of some agricultural plants to fungal pathogens after fumigation in closed chambers. In: Payer, H.D. (Ed.): Environmental research with plants in closed chambers proceedings of an international Symposium organised by the commission of the European Communities. 449-458.
- TIEDEMANN, VON A., OSTLÄNDER, P., FIRSCHING, K.H. & FEHRMANN, H.** (1990): Ozone episodes in southern lower saxony (FRG) and their impact on the susceptibility of cereals to fungal pathogens. *Environ.Poll.* 67, 43-59.
- TIEDEMANN, VON A. & FEHRMANN, H.** (1991): Ozon: Eine Gefahr für die Kulturpflanzen. *DLG-Mitteilungen* 3, 60-62.
- TIEDEMANN, VON A., WEIGEL, H.-J. & JÄGER, H.-J.** (1991): Effects of open-top chamber fumigations with ozone on three fungal leaf diseases of wheat and the mycoflora of the phyllospere. *Environ.Poll.* 72, 205-224.
- TIEDEMANN, VON A.** (1992): Ozone effects on fungal leaf disease of wheat in relation to epidemiology. II. Biotrophic pathogens. *J.Phytopathol.* 134, 187-197.
- TIEDEMANN, VON A. & FIRSCHING, K.H.** (1993): Effects of ozone exposure and leaf age of wheat on infection process of *Septoria nodorum* Berk. *Plant Pathol.* 42, 287-293.
- TIEDEMANN, VON A. & B. PFÄHLER** (1994): Growth stage-dependent effects of ozone on the permeability for ions and non-electrolytes of wheat leaves in relation to the susceptibility to *Septoria nodorum* Berk.. *Physiol.Mol.Plant Path.* 45, 153-167.
- TIEDEMANN, VON A.** (1996): Single and combined effects of nitrogen fertilization and ozone on fungal leaf diseases on wheat. *J.Plant Dis.Protect.* 103, 409-419.
- TIEDEMANN, VON A. & FIRSCHING, K.H.** (2000): Interactive effects of elevated ozone and carbon dioxide on growth and yield of leaf rust-infected versus non-infected wheat. *Environ.Poll.* 108, 357-363.
- TIEDEMANN, VON A., FIRSCHING, K.H. & CHAKRABORTY, S.** (2000): Interactive effects of elevated ozone and carbon dioxide on growth and yield of leaf rust-infected versus non-infected wheat. Special Issue: 7<sup>th</sup> International Plant Pathology Congress (ICPP) 108, 357-363.

- TINGEY, D.T. & TAYLOR, G.E.** (1982): Variation in plant response to ozone: a conceptual model of physiological events. In Unsworth, M.H. & Ormrod, D.P.: Effects of gaseous air pollution in agriculture and horticulture, Butterworths Scientific, London, 113-138.
- TORSETHAUGEN, G., PITCHER, L.H., ZILINSAKAS, B.A. & PELL, E.J.** (1997): Overproduction of ascorbate peroxidase in tobacco chloroplast does not provide protection against ozone. *Plant Physiology* 114, 529-537.
- TUOMAINEN, J., PELLINEN, R., ROY, S., KIISKINEN, M., ELORANTA, T., KARAJALAINEN, R. & KANGASJÄRVI, J.** (1996): Ozone affects birch (*Betula pendula* ROTH) phenylpropanoid, polyamine and active oxygen detoxifying pathways at biochemical and gene expression level. *J.Plant Physiol.* 148, 179-188.
- TURCSÁNYI, E., LYONS, T., PLÖCHL, M. & BARNES, J.D.** (2000): Does ascorbate in the mesophyll cell walls form the first line of defence against ozone ? Testing the concept using broad bean (*Vicia faba* L.). *J.Exp.Bot.* 51, 901-910.
- UMWELTBUNDESAMT (ANONYM, 1999):** Hintergrundinformation: Sommersmog. Hrsg. Umweltbundesamt, Berlin.
- UMWELTBUNDESAMT (ANONYM, 2000):** Kurzbericht: Ozonsituation 2000 in der Bundesrepublik Deutschland. Hrsg. Umweltbundesamt, Berlin.
- VANACKER, H., HARBINSON, J., RUISCH, J., CARVER, T.L.W. & FOYER, C.H.** (1998): Antioxidant defense of the apoplast. *Protoplasma* 205, 129-140.
- VANACKER, H., CARVER, T.L.W. & FOYER, C.H.** (2000): Pathogen-induced changes in the antioxidant status of the apoplast in barley leaves. *Plant Physiol.* 117, 1103-1114.
- VEIT, U., KLUMPP, A. & FOMIN, A.** (2000): Chemisch-analytische Untersuchungen zur Wirkung von Ozon auf Ameisenpheromone. *Mitt.Dtsch.Ges.Allg.Angew.Ent.* 12, 227-230.
- VERREET, J.A.** (1995): Grundlagen des Integrierten Pflanzenschutzes: Das IPS-Modell Weizen. *Pflanzenschutznachrichten Bayer.*
- VERREET, J.A., KLINK, H. & HOFFMANN, G.M.** (2000): Regional monitoring for disease prediction and optimisation of plant protection measures. The IPM wheat model. *Plant Disease* 84, 816-826.

- VDI Norm 2310 Bl.6** (Anonym, 1988): Zielsetzung und Bedeutung der Richtlinien Maximale Immissions-Werte - Aim and significance of the guidelines maximum immission values. Berlin.
- VIDHYASEKARAN, P.** (1997): Fungal pathogens in plants and crops - Molecular biology and host defense mechanism. Marcel Dekker, NY, 244-263.
- WALKER, M.A. & MCKERSIE, B.D.** (1993): Role of ascorbate-glutathion antioxidant system in chilling resistance of tomato. *J.Plant Physiol.* 141, 234-239.
- WIESER, G. & HAVRANEK, W.M.** (1995): Environmental control of ozone uptake in *Larix decidua* MILL.: a comparison between different altitudes. *Tree Physiology* 15, 253-358.
- WILHELM, H.** (1987): Wie wirkt sich die Schadstoffbelastung der Luft auf die Landwirtschaft aus ? *Allgemeine Forstzeitschrift* 25/26, 647-648.
- YOUNGLOVE, T., MCCOOL, P.M., MUSSELMAN, R.C. & KAHL, M.E.** (1994): Growth-stage dependent crop yield response to ozone exposure. *Environ.Poll.* 86, 287-295.
- ZELIKOVITCH, N. & EYAL, Z.** (1989): Maintenance of *Septoria tritici* cultures. *Mycological Research* 92, 361-364.
- ZHENG, Y., LYONS, T., OLLERENSHAW, J.H. & BARNES, J.D.** (2000): Ascorbate in the leaf apoplast is a factor mediating ozone resistance in *Plantago major*. *Plant Physiology and Biochemistry* 38, 403-411.
- ZOEGER, D., BEYERSMANN, D.; RENSING, L. & HAGEMANN, M.** (1992): Stressverarbeitung in der Zelle. *Naturwissenschaftliche Rundschau* 45, 9-17.
- ZUCKERMANN, E., ESHEL, A. & EYAL, Z.** (1997): Physiological aspects related to tolerance of spring wheat cultivars to *Septoria tritici* Blotch. *Phytopathol.* 87, 60-65.

## **Danksagung**

Herrn Prof. H.-W. Dehne danke ich für die Überlassung des Themas, seine Anregungen und sein Interesse an dieser Arbeit sowie für die große Selbständigkeit, die er mir bei der Durchführung der Arbeit gewährte.

Bei Herrn Prof. H. Goldbach bedanke ich mich für die Übernahme des Korreferates und sein Interesse an meiner Arbeit.

Herrn PD Dr. E.-C. Oerke und Frau PD Dr. U. Steiner danke ich für Ihre hilfreichen Anregungen sowie die Unterstützung bei der Betreuung und der Durchsicht meiner Arbeit.

Dem Minister für Wissenschaft und Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen möchte ich meinen herzlichen Dank für die finanzielle Unterstützung im Rahmen des Abschlußstipendiums nach dem Graduiertenförderungsgesetz Nordrhein-Westfalen aussprechen.

Herrn Dr. G.H.M. Krause möchte ich für die Schaffung der materiellen Voraussetzungen zur Durchführung dieser Arbeit danken.

Bei Frau Dr. B. Köllner bedanke ich mich ganz besonders herzlich für die gute und freundschaftliche Betreuung meiner Arbeit und ihre stete Diskussions- und Hilfsbereitschaft.

Den Arbeitsgruppen 222 und 223 des Landesumweltamtes NRW in Essen danke ich für die ausgesprochen angenehme Arbeitsatmosphäre und die mir gewährte Unterstützung bei der Durchführung der vorliegenden Arbeit. Dabei hervorheben möchte ich meine KollegInnen K. Piiper, A. Bahrs, HaGe Bruder, „Brauki“ Braukmann und W. Thoerner. Bei Herrn J. Westphalen und Herrn M. Buss möchte ich mich besonders für die Betreuung der Expositionsanlage bedanken.

Frau Dr. M. Schmitz-Eiberger vom Institut für Obst- und Gemüsebau sei ganz herzlich für die Zusammenarbeit bei der Durchführung der Antioxidantienanalysen gedankt. Auch möchte ich mich bei den Mitarbeitern der Abteilung, insbesondere bei Frau Hannewald und Frau Heimes bedanken, die mir im Labor tatkräftig zur Seite standen.

Besonderer Dank gilt weiterhin Herrn Prof. A. von Tiedemann für seine Anregungen und Hilfestellungen, und seiner Arbeitsgruppe für die anregenden Diskussionen bei meinem Aufenthalt in Rostock.

Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn Prof. G. Wolf und Dr. H. Mielke für die Bereitstellung der Pilzkulturen.

Besonderer Dank geht an meine Freunde und Korrekturleser für all die wichtigen Anregungen, Kritiken und Ermunterungen, insbesondere an Thorsten, Barbara, Alex, Oboe, HaGe, Kathrin, Andreas, Hagen, Lexi und Anke. Meiner Schwester Sabine sei für Ihre unermüdlichen fachlichen und persönlichen Hilfestellungen und die ausgiebigen transatlantischen Telefongespräche während des Zusammenschreibens dieser Arbeit gedankt.

Meinen Eltern danke ich von ganzem Herzen für jegliche Unterstützung während meiner Ausbildung.