

Lichtabhängige Schutzmechanismen gegen UV-B-Schäden bei Pflanzen.

Eckard Wellmann

Höhere Pflanzen sind allgemein in der Lage, UV-absorbierende Pigmente in äußeren Zellschichten auszubilden (CALDWELL et al., 1983). Bei diesen sich aus dem Phenylpropanstoffwechsel ableitenden Sekundärstoffen handelt es sich um eine umfangreiche Gruppe recht unterschiedlicher Verbindungen von den Hydroxizimtsäure-Estern, wie der häufigen Chlorogensäure, bis hin zu den flavonoidartigen Pigmenten wie Flavonolen, Flavonen oder acylierten (d.h. mit Hydroxizimtsäuren veresterten) Anthocyanen, die alle im Gemisch in der Zelle auftreten können und als wohl wichtigste Funktion zur Abschirmung des potentiell schädigenden kurzwelligen Anteils der Sonnenstrahlung beitragen.

Diese Pigmente werden durch Genregulation über verschiedene endogene und exogene Faktoren induziert. Häufig ist Licht über die verschiedenen Rezeptoren der pflanzlichen Photomorphogenese (Phytochrom, Blaulicht-Rezeptor, UV-B-Rezeptor) ausschlaggebend für die Pigmentbildung (WELLMANN, 1983). Die Lichtregulation dieser Pigmente erfolgt in verschiedenen Pflanzen oder selbst in verschiedenen Geweben desselben Organs recht unterschiedlich (BEGGS et al., 1986). Unter natürlichen Strahlungsbedingungen sind häufig mehrere Photorezeptoren in komplexem Zusammenwirken für die Pigmentbildung verantwortlich (DUELL-PFAFF and WELLMANN, 1982). Diese Zusammenhänge sind in Abb. 1 angedeutet.

In Abb. 1 wird auch auf die Beziehung der Photoreaktivierung – des zweiten wichtigen, ebenfalls lichtabhängigen UV-Schutzmechanismus – zur Pigmentbiosynthese hingewiesen. Die Bildung von Thymindimeren in DNA-Molekülen und damit die Blockierung der Genaktivität ist als besonders empfindlicher und gravierender UV-Schaden anzuse-

hen. Auf diese Weise wäre also auch die Ausbildung der UV-Schutzpigmente unterbunden. Zur Beseitigung der Thymindimeren verfügen die Organismen allgemein über das Enzym Photolyase, das nach Aktivierung durch blau-violettes Licht durch sog. Photoreaktivierung den Ausgangszustand der DNA wieder herstellt (SUTHERLAND, 1981). Als die bei Pflanzen wohl bedeutensten UV-Schutzmechanismen sollen hier Pigmentbildung und Photoreaktivierung hinsichtlich der Regulation, Funktionsweise sowie der Leistungsfähigkeit auch im Hinblick auf das „Ozonproblem“ betrachtet werden.

1. Regulation und Absorptionseigenschaften flavonoidartiger Pigmente

Abbildung 2 zeigt den Biosyntheseweg der Flavonoide. Die Regulation erfolgt über eine mit dem Energiefluß oder der Energiefluenz korrelierte Neusynthese aller beteiligten Enzyme. Wie bereits erwähnt, kann die Synthese durch Phytochrom oder (und) den Blaulichtrezeptor reguliert sein (BEGGS et al., 1986). Als aktive Anpassung an die UV-Strahlung der Umgebung ist die durch UV selbst gesteuerte Pigmentbildung von besonderem Interesse. Für diese durch einen noch unbekanntem UV-B-Rezeptor induzierte Flavonoidsynthese wurde in vielen der bisher untersuchten Systeme (WELLMANN, 1985) eine in etwa lineare Fluenzabhängigkeit, also über einen weiten Bereich gleichbleibende, hohe Quantenwirksamkeit, beobachtet. So demonstriert Abb. 3, daß eine Verdopplung bzw. Vervielfachung der UV-Fluenz zu entsprechender Zunahme beteiligter Enzymaktivitäten sowie daraufhin auch der akkumulierten Pigmentmengen führt. Ersichtlich ist auch, daß die maximale Akkumulationsrate der Flavonoide bereits nach etwa 10 h erreicht ist, daß die Pflanze also innerhalb eines Tages in der Lage ist, ihren „UV-Schirm“ der Umgebungsstrahlung anzupassen.

Höchste spektrale Wirksamkeit wurde für alle bisher untersuchten Systeme übereinstimmend zwischen 290 und 300 nm bei praktisch fehlender Wirksamkeit von Strahlung oberhalb 340 nm gefunden (Abb. 4). Die spektrale Wirksamkeit nimmt also bei den stärker schädigend wirkenden Wellenlängen (Protein-, Nukleinsäureabsorption) zu.

Flavonoide weisen eine gute Absorption im UV-Bereich auf, wobei allerdings nur wenige dieser Verbindungen eine der potentiellen Schädigungswirkung entsprechende, also gerade im UV-B ($\lambda = 280-320$ nm), höchste Absorption zeigen (Abb. 5). Die durch den UV-B-Photorezeptor induzierbaren Flavonole wie z.B. Kaempferol und seine Glycoside absorbieren unterhalb 320 nm ausgesprochen schlecht. Da in der Regel jedoch ein breites Spektrum von Flavonoiden und Phenylpropanverbin-

Lichtabhängige UV-Schutzmechanismen

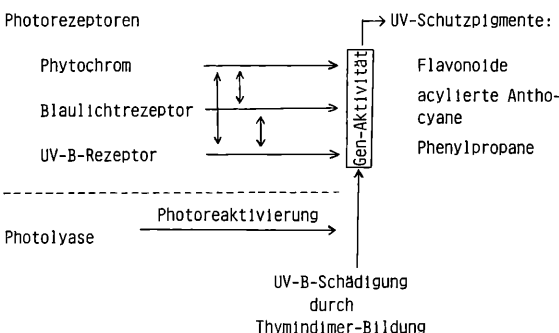
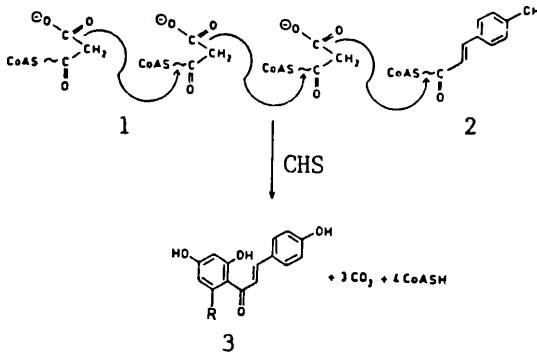
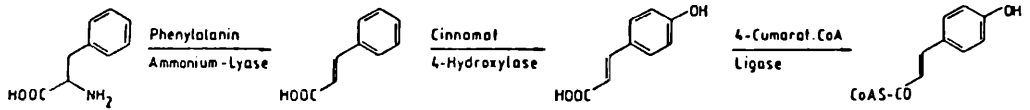


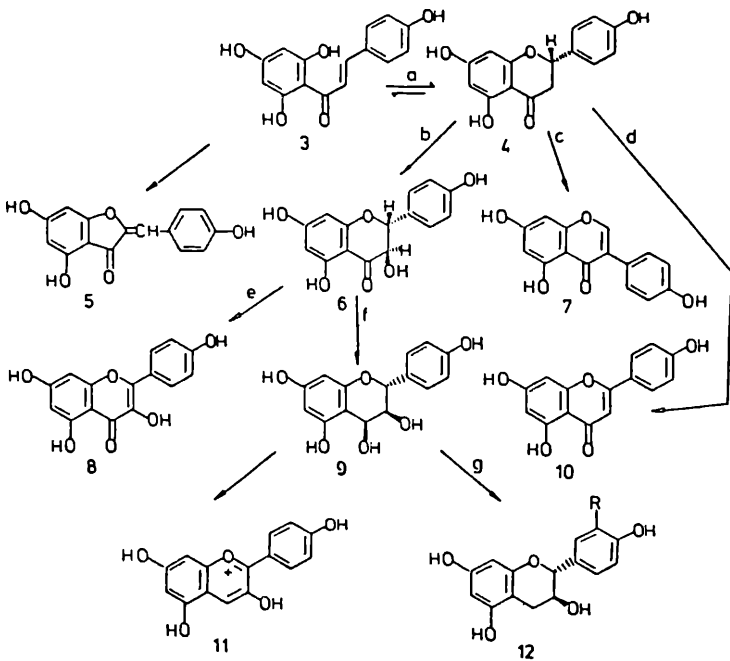
Abbildung 1

Beziehungen zwischen den verschiedenen dem UV-Schutz dienenden Lichtreaktionen.



- (1) Malonyl-CoA
- (2) 4-Coumaroyl-CoA
- (3) Chalkon

CHS : Chalkon-Synthase



- (4) Flavanon
 - (5) Auron
 - (6) Dihydroflavonol
 - (7) Isoflavon
 - (8) Flavonol
 - (9) Flavan-3,4-diol
 - (10) Flavon
 - (11) Anthocyanidin
 - (12) Catechin
- (a) Chalkon-Isomerase
 - (b) Flavanon 3-Hydroxylase
 - (c) "Isoflavon-Synthase" (wahrscheinlich zwei Enzyme)
 - (d) Flavon-Synthase
 - (e) Flavonol-Synthase
 - (f) Dihydroflavonol 4-Reduktase
 - (g) Flavan 3-ol-Synthase

Abbildung 2

Biosyntheseweg der Flavonoidglykone unter Angabe der beteiligten Enzyme.

dungen in derselben Zelle induziert wird, ist eine gute Abschirmung über den gesamten UV-Bereich gewährleistet (Abb. 6). Dabei ist zu bedenken, daß neben Nucleinsäuren und Proteinen auch weitere im längerwelligen absorbierende Zellkomponenten strahlungsempfindlich sind, so daß Schutzpigmente bis hin in den Blaubereich ausgebildet werden.

2. Wirkungen von UV-Stress auf die Flavonoid-synthese: Hemmung der Schutzpigmentbildung und Induktion von „Stresspigmenten“

Man kann davon ausgehen, daß Proteine ($\lambda_{max} = 280 \text{ nm}$) und Nucleinsäuren ($\lambda_{max} = 260 \text{ nm}$) die wichtigsten primär durch UV-Schädigung betroffenen Moleküle darstellen. Besonders gravierend wirken sich DNA-Schäden auf den Organismus aus, da hier der Ausfall eines einzigen Moleküls (Gens) die Funktionsfähigkeit der Zelle ausschalten kann. Als vorwiegend DNA-Schaden werden

Thymindimere gebildet, wodurch natürlich auch die Gene der Enzyme der Flavonoidbiosynthese betroffen sind, was dann zum Ausfall der wohl wichtigsten UV-Schutzreaktion führen muß.

Wir haben einen solchen negativen UV-B-Effekt auf die Flavonoidbiosynthese in Senfkotyledonen genauer analysiert (WELLMANN et al., 1984). In diesem System erfolgt die Flavonoidbildung – Anthocyan in der unteren und Flavonol in der oberen Epidermis – durch Phytochrom. Zur Induktion einer beträchtlichen Anthocyanbildung genügt eine kurze Bestrahlung mit Rotlicht (günstigstes Photo-gleichgewicht für Phytochrom) oder auch Weißlicht. Eine anschließende UV-B-Bestrahlung führt zur Hemmung dieses Effekts. Der UV-Schaden läßt sich recht einfach und auch quantitativ genau bestimmen, indem jeweils die größere Kotyledone eines Keimlings in Höhe der Mittelrippe halbiert wird und eine Hälfte des Organs zur UV-Bestrahlung, die zweite als Kontrolle dient. Das isolierte

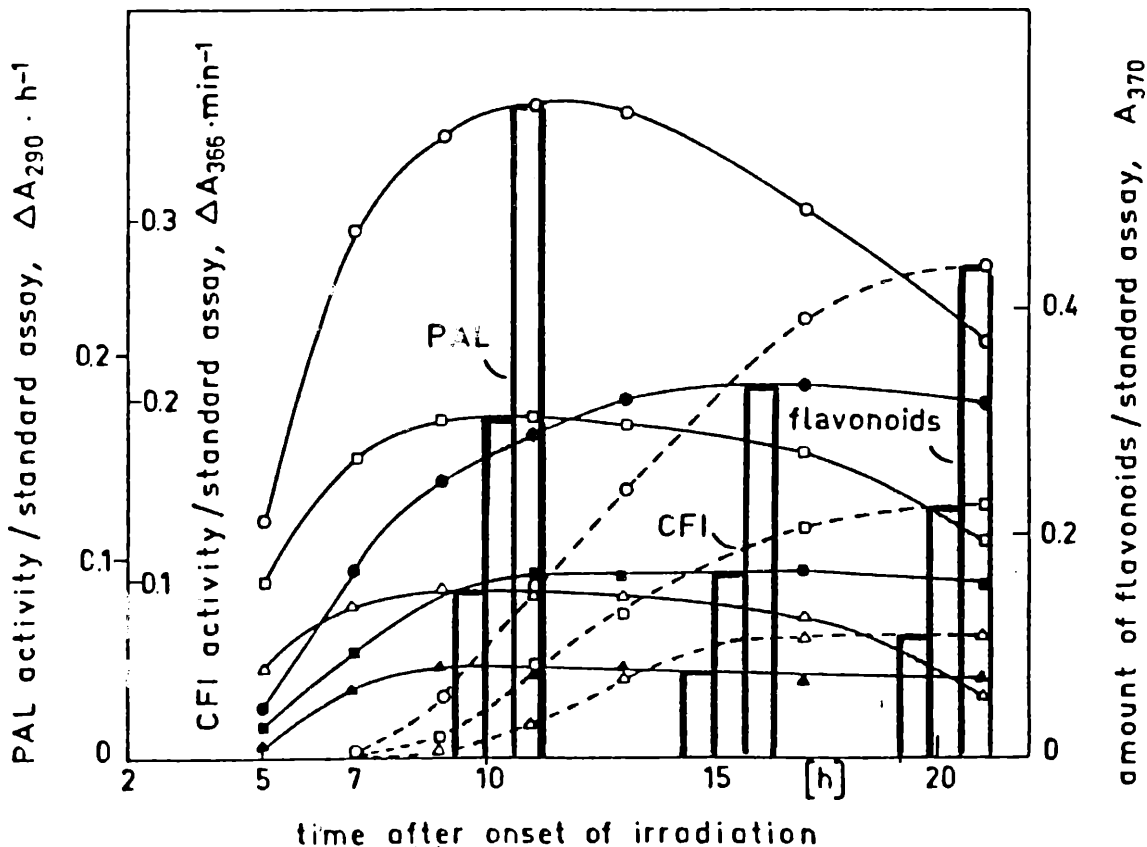


Abbildung 3

Akkumulationskurven für Flavonoide und zwei beteiligte Enzyme in Abhängigkeit von der UV-Dosis in Zellkulturen von Petersilie.

Zum Zeitpunkt 0 h wurde für 5 min. (Dreiecke), 10 min. (Quadrate) bzw. 20 min. (Kreise) mit einer Standard UV-Quelle (320-385 nm) bestrahlt (nach WELLMANN, 1975).

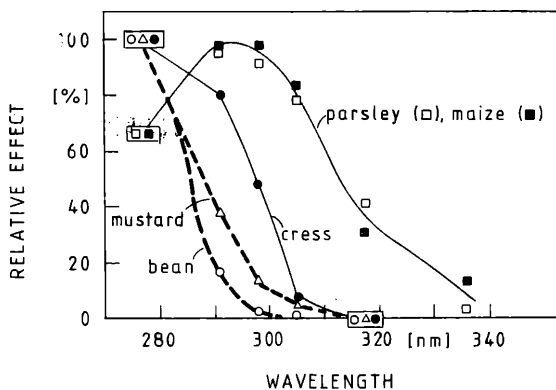


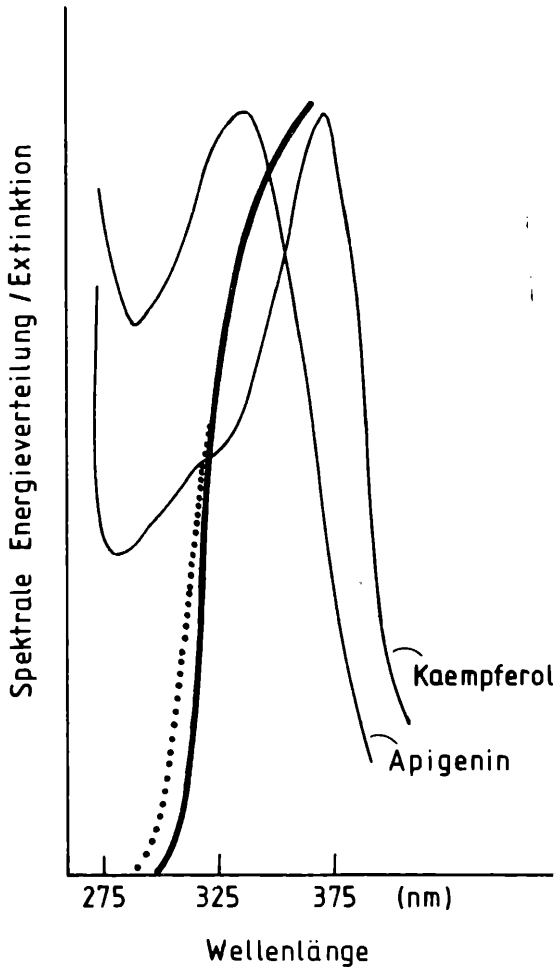
Abbildung 4

UV-Wirkungsspektren für die Flavonoidbildung in Zellkulturen von Petersilie (parsley), die Anthocyanbildung in Maiskoleoptilen (maize), die Wachstumshemmung bei Kressekeimlingen (cress), die Hemmung der phytochrominduzierten Anthocyanbildung in Senfkotyledonen (mustard) sowie die Isoflavonoidbildung in Bohnenblättern (bean) (nach WELLMANN, 1983).

Organ zeigt denselben Effekt wie an der intakten Pflanze. Abb. 7 zeigt, wie mit der Zunahme der UV-B-Fluenz die Fähigkeit zur Anthocyanbildung abnimmt. Das Wirkungsspektrum für diesen UV-Schädigungseffekt (Abb. 4) deckt sich mit dem Absorptionsspektrum von Nukleinsäuren. Da die UV-Wirkung vollständig durch Blau-Violettstrahlung rückgängig gemacht werden kann (s. Abschnitt 3), also „photoreaktivierbar“ ist, liegt es nahe, als

primären UV-Schaden die Bildung von Thymindimeren anzunehmen. Wir konnten inzwischen zeigen, daß auch die Flavonolbildung in der oberen Epidermis der Senfkotyledonen bei ähnlich empfindlicher Reaktion durch UV-B gehemmt wird.

Wir haben einen weiteren, offensichtlich ebenfalls auf Thymindimerbildung zurückgehenden UV-Schaden an einem System analysiert, das Einblick in die *in vivo* Verhältnisse nach Einwirkung von UV-B-Strahlung erlaubt (BEGGS et al., 1985). In Bohnenblättern ruft UV-B-Strahlung die Bildung von Isoflavonoiden hervor, eine Stressreaktion, die u. a. auch nach Infektion erfolgt. Dieser UV-Effekt ist wiederum photoreaktivierbar, d.h. durch Blau-Violettbestrahlung aufhebbar. Das Wirkungsspektrum ($\lambda_{\max} < 280$ nm) ist vereinbar mit einer DNA-Absorption (Abb. 4). Ganz deutlich wird damit der Unterschied dieser UV-Stressreaktion zu der über einen UV-B-Photorezeptor regulierten (normalen Photomorphose) Flavonoidbildung, die sich durch hohe Quantenwirksamkeit noch bei 320-330 nm auszeichnet und natürlich nicht „photoreaktivierbar“ ist. In beiden Fällen wird zwar eine über Genaktivierung regulierte Flavonoidbiosynthese durch UV induziert, jedoch nur bei der UV-Photomorphose gelten die Kriterien für einen aktiven UV-Schutzmechanismus. Dieses Beispiel macht deutlich, daß nicht jede unter UV-Einfluß zu beobachtende Zunahme UV-absorbierender Pigmente als UV-Schutzreaktion interpretiert werden sollte. Die Akkumulation von Flavonoiden und anderen Sekundärstoffen in stark geschädigten, später oft absterbenden Zellen dürfte eher eine Funktion als In-



fektionsschutz für das umgebende intakt gebliebene Gewebe darstellen.

Das UV-Stressphänomen der Isoflavonoidbildung in Bohnenblättern ermöglicht es, mit einer recht einfachen Meßmethode den UV-Schaden zu quantifizieren und gleichzeitig auch auf die Leistungsfähigkeit der Photoreaktivierungsreaktion zu schließen. Wir haben jetzt damit begonnen, in diesem System parallel auch Thymindimer-Mengen zu bestimmen. Erste Ergebnisse zeigen unter variierten UV-Bestrahlungen eine gute Korrelation zwischen Isoflavonoid- und Dimerbildung.

3. Photoreaktivierung von UV-Schäden der DNA

Auf die Funktionsweise und die essentielle Bedeutung der Photoreaktivierung wurde bereits hingewiesen. Es kann gezeigt werden, daß der am natürlichen Standort vorliegende UV-B-Anteil der Sonnenstrahlung zu einer wahrscheinlich auf Thymindimerbildung zurückgehenden Hemmung der Anthocyanbiosynthese in Senfkotyledonen führt. Ein solcher Schaden wird jedoch nicht manifest, wenn die zur Photoreaktivierung notwendige Blau-Violettstrahlung parallel einwirkt. Selbst der Effekt einer infolge unrealistisch starken Ozonabbaus zu

Abbildung 5

Absorptionsspektren der Flavonoide Kaempferol und Apigenin sowie spektrale Energieverteilung des Sonnenlichts im kurzwelligen Grenzbereich.

Die gepunktete Linie deutet die Strahlungsverhältnisse bei extremer Reduktion der Ozonschicht (50 % Abbau) an.

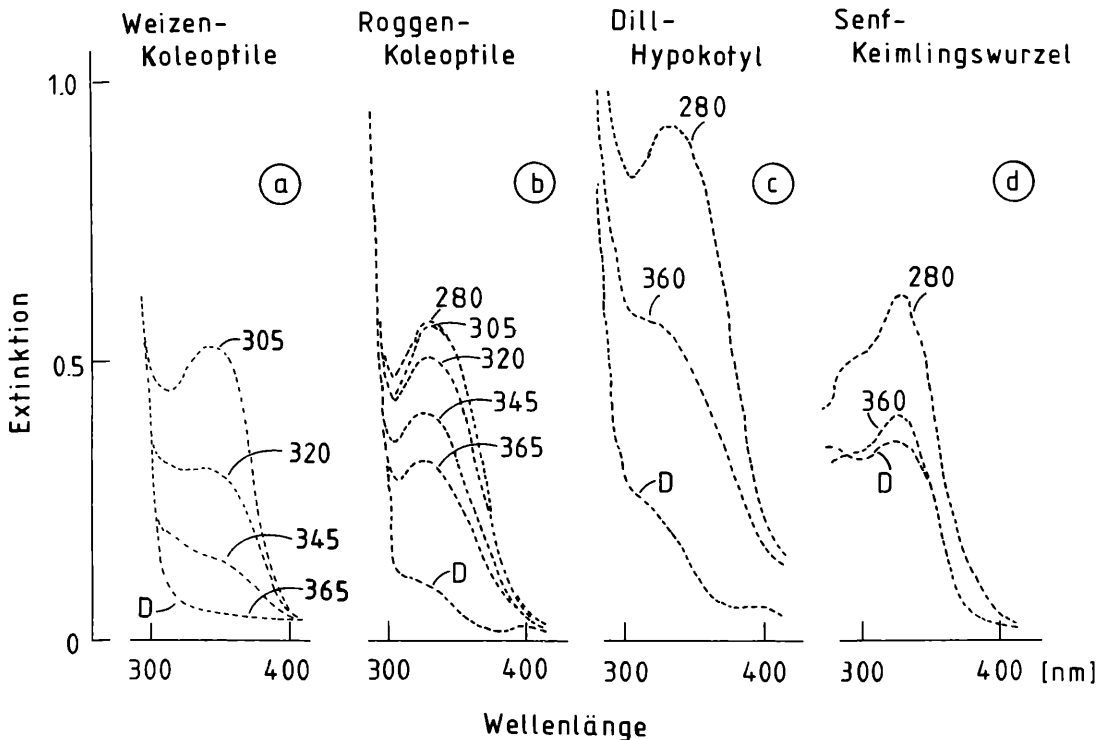
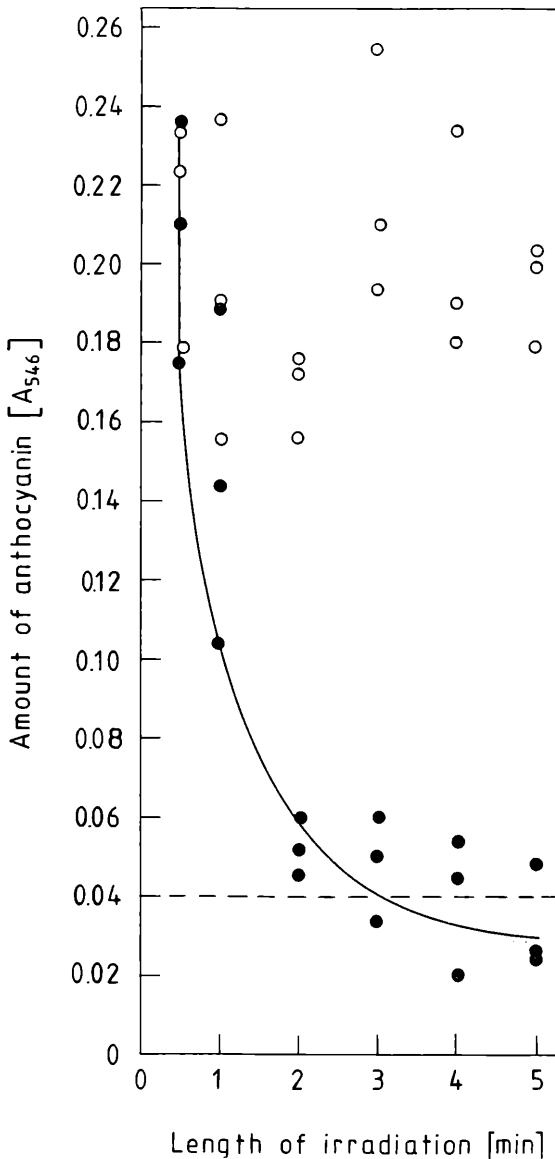


Abbildung 6

Spektrale Wirksamkeit von UV auf die Bildung UV-absorbierender Pigmente in Keimlingsorganen verschiedener Pflanzenarten.

Die Bestrahlung erfolgte 1 d nach Keimung unter verschiedenen UV-Kantenabsorptionsgläsern (Schott, Mainz). Die Keimlinge von Weizen (a) wurden 1 h unter einer UV-B-Lampe (Philips TL40W/12 kombiniert mit Osram L40W/73; 8 Wm^{-2}) bestrahlt. Die Keimlinge von Roggen (b) wurden für 5 h, die von Dill und Senf für 9 h dem Sonnenlicht ausgesetzt (August, wenig bewölkt). Am Folgetag wurde aufgearbeitet. Die Zahlen an den Absorptionskurven bezeichnen die jeweils eingesetzten Filter unter Angabe der Wellenlänge, bei welcher der Transmissionsgrad 50 % beträgt.

**Abbildung 7****UV-B-Wirkung auf die durch Hellrot induzierte Anthocyanbildung in Senfkotyledonen**

10 Kotyledonenhälften pro Ansatz wurden 5 min. mit Rotlicht und anschließend für verschiedene Zeiten mit UV-B unter einer Philips TL40W/12-Lampe bei $1,5 \text{ Wm}^{-2}$ bestrahlt und nach 24 h Aufbewahrung im Dunkeln extrahiert. Jeweils eine Kotyledonenhälfte desselben Keimlings diente als Kontrolle (offenes Symbol) (nach WELLMANN et al., 1984).

Tabelle 1**Einfluß verschiedener Lichtqualitäten auf die UV-Hemmung der Phytochrom-induzierten Anthocyanbildung in Senfkotyledonen.**

Strahlungsquellen waren Philips TL40W/12 UV-B-Lampen ($1,5 \text{ Wm}^{-2}$) und Standard-Lichtfelder für Rot ($6,7 \text{ Wm}^{-2}$), Blau (7 Wm^{-2}) und UV-A (Osram L40W/73 Lampen, $7,8 \text{ Wm}^{-2}$).

Bei jedem dieser Versuche wurde Anthocyan 24 h nach der UV-B-Bestrahlung gemessen. (Nach WELLMANN et al., 1984)

Bestrahlungsprogramm	Anthocyan (A 546)		
5 min Rot + 10 min UV-B + 1 h Blau	0.055	0.015	0.045
5 min Rot + 10 min UV-B + 1 h Rot	0.03	0.01	0.03
5 min Rot + 10 min UV-B + 1 h UV-A	0.16	0.195	0.195
5 min Rot + 10 min UV-B + 1 h Sonne	0.15	0.28	0.32
5 min Rot + 10 min UV-B + Dunkel	0.01	0.02	0.025

erwartenden UV-B-Einstrahlung wird (wenigstens bei Einwirkung von einigen Stunden) noch vollständig durch die Photoreaktivierungsreaktion kompensiert (Tab. 1).

Die Leistungsfähigkeit dieses Schutzmechanismus im Rahmen unseres zweiten Modellsystems, der UV-induzierten Isoflavonoidbildung in Bohnenblättern, wird aus Abb. 8 deutlich. Auch hier wurde ein potentieller UV-B-Schaden vorgegeben, der weit über einen durch Sonnenstrahlung erreichbaren Effekt hinausgeht. Der zur vollständigen Photoreaktivierung bereits ausreichende Energiefluß der Blaubestrahlung liegt noch um eine Größenordnung niedriger als der Energiefluß des entsprechenden Spektralbereichs des Sonnenlichts.

4. Schlußfolgerungen im Hinblick auf das Ozonproblem

Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, daß eine infolge Ozonabbaus auftretende Zunahme von UV-B-Strahlung (praktisch nur $\lambda < 310 \text{ nm}$, s. Abb. 5) nicht wesentlich zu einer vermehrten Ausbildung von UV-Schutzpigmenten beitragen würde. Der verantwortliche UV-B-Photorezeptor weist zwar maximale Quantenwirksamkeit bei etwa 290 bis 300 nm auf, zeigt jedoch auch zwischen 310 und 330 nm noch eine hohe Empfindlichkeit, so daß in Anbetracht des mit zunehmenden Wellenlängen steil ansteigenden Energieflusses der Sonnenstrahlung der Spektralbereich von $\lambda < 310 \text{ nm}$ noch wenig ins Gewicht fällt. Pflanzen dürften also nicht in der Lage sein, sich kurzfristig einem veränderten UV-Strahlungsklima, wie es nach Zerstörung der Ozonschicht zu erwarten wäre, anzupassen. Damit stellt sich in diesem Zusammenhang die Frage nach der Leistungsfähigkeit bestehender UV-Schutzfunktionen, worüber bisher allerdings keinerlei quantitative Aussagen möglich sind.

Alle bisherigen Ergebnisse sprechen für eine recht hohe Kapazität der Photoreaktivierungsreaktion bei Pflanzen. Als besonderes, bisher nicht kalkulierbares Risiko erhöhter UV-B-Strahlung ist die an unserem Modellsystem demonstrierte Zerstörung wichtiger UV-Schutzmechanismen zu sehen. Auch das für die Reparatur von Thymindimerschäden verantwortliche Enzym Photolyase unterliegt einer Neusynthese (seine Regulation ist bei Pflanzen nicht untersucht), die – wie Genaktivität allgemein – durch UV über Dimerbildung hemmbar ist. Ein Ausfall dieses Enzyms würde dann bei UV-Einstrahlung mit Sicherheit den Tod der Zellen zur Folge haben.

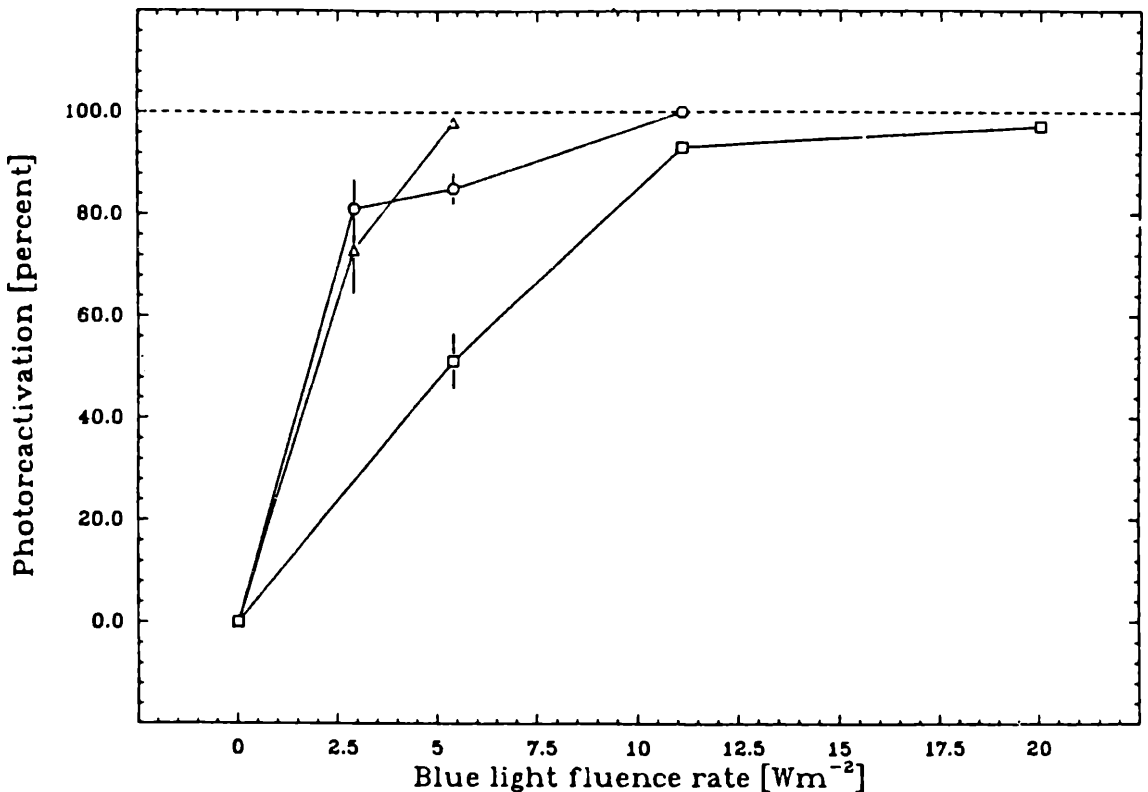


Abbildung 8

Photoreaktivierung der UV-induzierten Bildung von Coumestrol in Bohnenblättern. Die Blätter wurden für 14 h mit UV-B-Lampen (Philips TL40W/12) bei 1.5 Wm^{-2} (Δ), 1.9 Wm^{-2} (\circ) und 2.8 Wm^{-2} (\square) und gleichzeitig mit Blaulicht variierter Strahlungsstärke behandelt. Nach der Bestrahlung wurden die Pflanzen für weitere 24 h bis zur Aufarbeitung im Rotlicht (6.7 Wm^{-2}) aufbewahrt. Eine Photoreaktivierung von 0 % entspricht der bei alleiniger UV-Bestrahlung gebildeten Coumestrolmenge, die von 100 % dem Leerwert unbestrahlter Blätter (nach BEGGS et al., 1985).

5. Literatur

BEGGS, C.J., STOLZER-JEHLE, A. and WELLMANN, E. (1985):

Isoflavonoid formation as an indicator of UV-stress in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaves. The significance of photorepair in assessing potential damage by increased solar UV-B radiation. – *Plant Physiol.* 79: 630-634.

BEGGS, C.J., WELLMANN, E. and GRISEBACH, H. (1986):

Photocontrol of flavonoid biosynthesis; in: R. KENDRICK, G.H.M. KRONENBERG, eds., *Photomorphogenesis in plants*, pp. 467-499, Martin Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht.

CALDWELL, M.M., ROBBERECHT, R. and FLINT, S.D. (1983):

Internal filters: Prospects for UV-acclimation in higher plants. – *Physiol. Plant.* 58: 445-450.

DUELL-PFAFF, N. and WELLMANN, E. (1982):

Involvement of phytochrome and a blue light receptor in UV-B induced flavonoid synthesis in parsley (*Petroselinum hortense* Hoffm.) cell suspension cultures. – *Planta* 156: 213-217.

SUTHERLAND, B.M. (1981):

Photoreactivation. – *BioScience* 31: 439-444.

WELLMANN, E. (1975):

UV dose-dependent induction of enzymes related to flavonoid biosynthesis in cell suspension cultures of parsley; *FEBS Letters* 51: 105-107.

WELLMANN, E. (1983):

UV radiation in photomorphogenesis; in: H. MOHR, W. SHROPSHIRE jr., eds., *Photomorphogenesis, Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 16B*, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York. pp. 745-756.

WELLMANN, E. (1985):

UV-B-Signal/Response-Beziehungen unter natürlichen und artifiziiellen Lichtbedingungen. – *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 98: 99-104

WELLMANN, E., SCHNEIDER-ZIEBERT, U. and BEGGS, C.J. (1984):

UV-B inhibition of phytochrome-mediated anthocyanin formation in *Sinapis alba* L. cotyledons. Action spectrum and the role of photoreactivation. – *Plant Physiol.* 75: 997-1000.

Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. Eckard Wellmann
Biologisches Institut II der
Universität Freiburg
Schänzlestr. 1
D - 7800 Freiburg

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Laufener Spezialbeiträge und Laufener Seminarbeiträge \(LSB\)](#)

Jahr/Year: 1988

Band/Volume: [3_1988](#)

Autor(en)/Author(s): Wellmann Eckard

Artikel/Article: [Lichtabhängige Schutzmechanismen gegen UV-B-Schäden bei Pflanzen 86-91](#)