

Der Crassulaceen- Säurestoffwechsel (CAM), eine ökologische Anpassung der Photosynthese, gezeigt an Pflanzen der Vegetation Madagaskars

von Manfred Kluge, Darmstadt

Vortrag, gehalten am 29. April 1998

Der CAM: Ausweg aus einer Zwickmühle

Dem oberirdischen Teil der Landpflanzen wird durch das meist beträchtliche Wasserdampfsättigungsdefizit der umgebenden Atmosphäre unvermeidlich Wasserdampf entzogen (Transpiration). Bei den Kormophyten hat sich im Verlauf der Evolution die homoiohydre Lebensweise durchgesetzt, also die Fähigkeit, die Hydratur des Pflanzenkörpers trotz der hohen "Saugkraft" der Atmosphäre möglichst

konstant zu halten. Dies hat den Vorteil, daß die Pflanze nahezu über die Gesamtdauer des Lichtangebotes photosynthetisch aktiv bleiben und so eine höhere Produktivität entfalten kann. Strukturelle Voraussetzung für die homoiohydre Lebensweise ist die Abgrenzung des Pflanzenkörpers gegenüber der Atmosphäre durch eine vor exzessiver Transpiration schützende Epidermis. Die Epidermis der Assimilationsorgane ist von den in ihrer Weite regelbaren Spaltöffnungen (Stomata) durchbrochen, durch die sich nahezu der gesamte mit der Photosynthese und dem Wasserhaushalt verknüpfte Gasaustausch vollzieht, besonders die Aufnahme von CO_2 und die Abgabe von Wasserdampf. Die Epidermis mit ihren Stomata verhilft der Pflanze zwar zur Möglichkeit, ihre Hydratur regeln zu können, doch stürzt sie die Pflanze gleichzeitig auch in ein gaswechselphysiologisches Dilemma. Weil nämlich das Konzentrationsgefälle des CO_2 als treibende Kraft für die CO_2 -Diffusion aus der Umgebung in das Innere der Photosyntheseorgane äußerst gering ist, muß der stomatäre Diffusionswiderstand niedrig gehalten, indem die Stomata möglichst weit geöffnet werden; sonst wäre effektive CO_2 -Aufnahme aus der Umgebung behindert.

Für die Transpiration gilt jedoch gerade das Gegenteil. Zwischen dem weitgehend mit Wasserdampf gesättigten Inneren der Photosyntheseorgane und der meist eine viel geringere Wasserdampfsättigung aufweisenden umgebenden Atmosphäre besteht nämlich ein sehr steiles Konzentrationsgefälle, d.h.

eine große treibende Kraft für die Diffusion von Wasserdampf. Um die Transpiration zu drosseln, müßte der Diffusionswiderstand erhöht, d.h. die Stomata sollten geschlossen werden. Es liegt auf der Hand, daß diese Zwickmühlensituation, in der sich die homoiohydren Pflanzen bei der Regulation ihres Wasserhaushalts befinden, um so gravierender wird, je angespannter die Wasserversorgung der Pflanze an ihrem Standort ist. Es ist eines der spannendsten Kapitel der Ökophysiologie der Pflanzen, zu beobachten, welche Auswege sich im Verlauf der Evolution herausgebildet haben, um das Gaswechselfeldilemma zu umgehen oder es wenigstens abzumildern.

Einer dieser Auswege ist der Crassulaceen-Säurestoffwechsel (engl. **Crassulacean Acid Metabolism**, CAM). Dieser Stoffwechselweg stellt eine biochemische Variante der photosynthetischen Kohlenstoffassimilation dar (zusammenfassende Darstellungen über den CAM z.B. KLUGE 1999, KLUGE & TING 1978, LÜTTGE 1987, OSMOND 1978, WINTER & SMITH 1996). Er wurde Anfang des 19. Jahrhunderts bei *Bryophyllum calycinum* (syn. *Kalanchoe pinnata*), einem Vertreter der Crassulaceen, entdeckt (daher CAM), kommt aber, wie wir heute wissen, bei 32 Familien höherer Pflanzen (einschließlich bestimmter Farngewächse) vor. Man darf annehmen, daß der CAM polyphyletisch entstanden ist, im Verlauf der Evolution mehrfach unabhängig voneinander "erfunden" wurde.

Ein stark vereinfachtes Schema des CAM ist in Abb. 1 gezeigt. Beim CAM wird externes CO_2 vor allem in der Nacht aufgenommen. Dazu werden die Stomata nachts geöffnet, wenn die Atmosphäre weitgehend mit Wasserdampf gesättigt und deshalb der mit der CO_2 -Aufnahme verquickte transpirations-

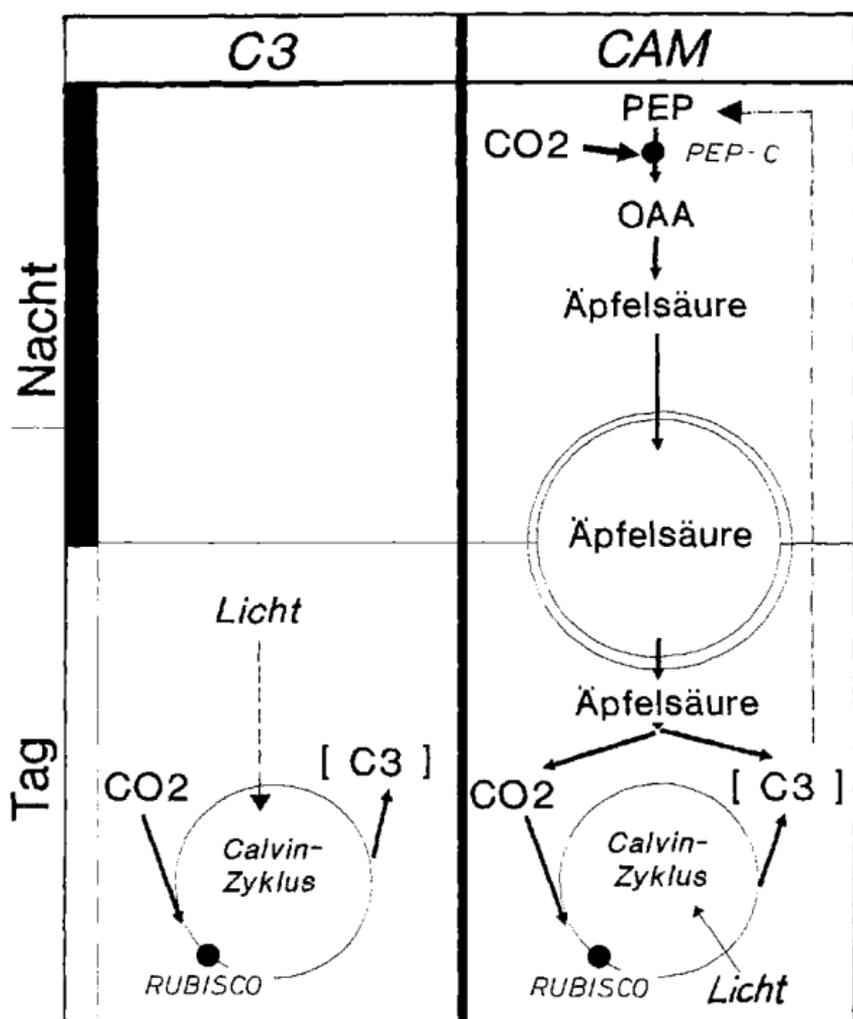


Abb. 1: Stark vereinfachte Schemata des Kohlenstoff-Flusses bei der C3-Photosynthese (links) und beim CAM (rechts). PEP-C: Phosphoenolpyruvat-Carboxylase; RUBISCO: Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase/Oxygenase (nach KLUGE & VINSON 1995)

bedingte Wasserverlust geringer ist als dies, bei gleichem Öffnungszustand der Stomata, am Tage der Fall wäre. Das nächtlich aufgenommene CO_2 wird durch das Enzym PEP-Carboxylase (PEPC) fixiert und in Form der dabei entstehenden Äpfelsäure in den Vakuolen zwischengespeichert. Am folgenden Tag wird das CO_2 wieder freigesetzt und nun der lichtabhängigen sekundären CO_2 -Fixierung durch die RUBISCO zugeführt. Die RUBISCO ist das Startenzym des Calvinzyklus und leitet damit die eigentliche photosynthetische Assimilation des nächtlich aufgenommenen CO_2 ein. Dank dieser doppelten CO_2 -Fixierung, mit Zwischenspeicherung von CO_2 als Äpfelsäure, ist es möglich, tagsüber die Stomata geschlossen zu halten und so die zu diesem Zeitpunkt potentiell hohe Transpiration zu drosseln, ohne dabei die Photosynthese auszuhungern. Abb. 2 zeigt den für eine CAM-Pflanze im gut bewässerten Zustand typischen Verlauf des CO_2 -Austauschs, des Verhaltens der Stomata, des Stärke- und des Äpfelsäuregehaltes in den Blättern. Der wassersparende Effekt des CAM ist beträchtlich. Abb. 3 zeigt, daß eine CAM-Pflanze mit vorwiegend nächtlicher CO_2 -Fixierung pro 1g photosynthetisch assimilierten Kohlenstoffs durch Transpiration nur ca. 150 g H_2O verliert, während dieser Verlust bei einer Pflanze mit "normaler" C3-Photosynthese ca. 1000 g beträgt. Die Abb. 3 zeigt aber auch, daß sich das diurnale Muster des CO_2 -Austauschs stark ändern kann, und zwar sowohl phänotypisch bei einem Individuum einer bestimmten Pflanzenart

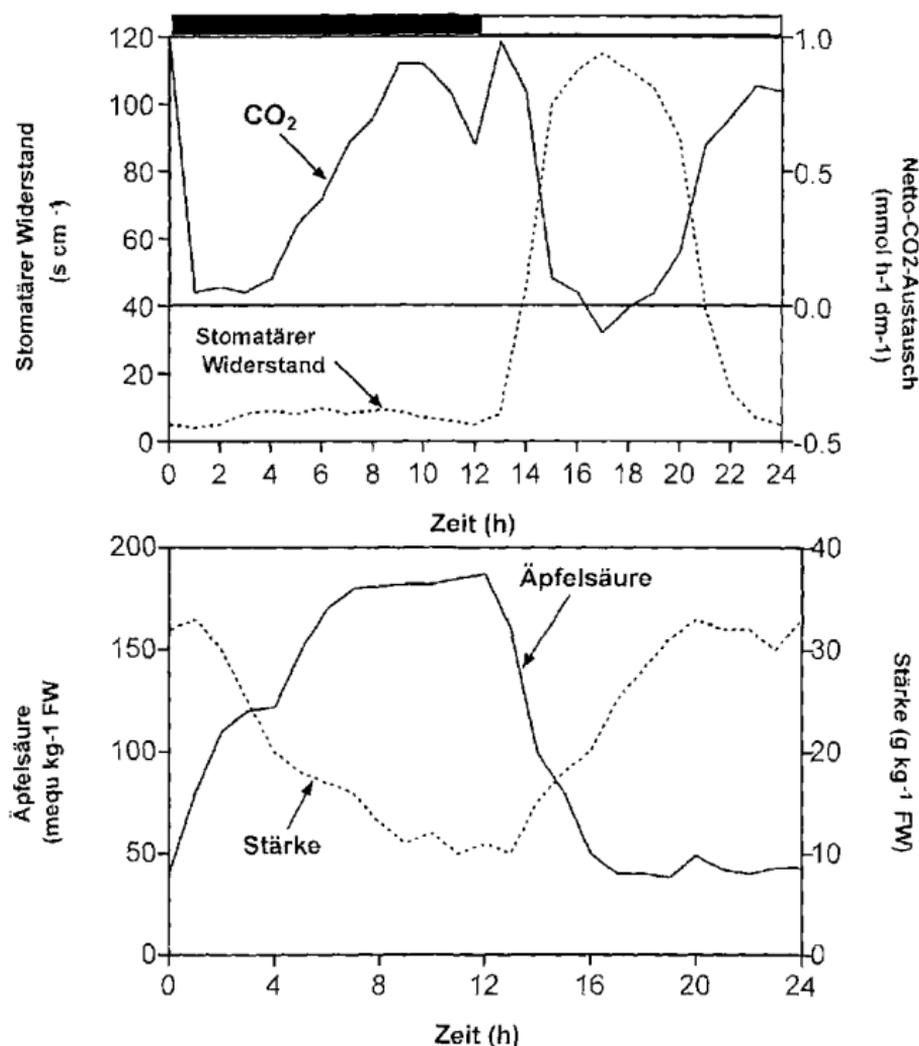


Abb. 2 Der diurnale Verlauf (leicht schematisiert) einiger CAM-Phänomene, wie sie von einer typischen CAM-Pflanze, hier *Kalanchoe daigremontiana*, in gut bewässertem Zustand, bei für die Pflanze optimalen Temperaturen (hier 15°C in der Nacht, 25°C am Tage) und hinreichender Beleuchtung (ca. 300 μmol Lichtquanten $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) gezeigt wird. Oben: Netto-CO₂-Austausch und Stomatärer Widerstand. Unten: Äpfelsäure- bzw. Stärkegehalt im CAM durchführenden Blattgewebe. Der dunkle Balken über dem Diagramm zeigt die Dauer der Nacht an. Positive Werte beim CO₂-Austausch: Netto-CO₂-Aufnahme; negative Werte: Netto-CO₂-Abgabe

(phänotypische Plastizität des zeitlichen CAM-Musters), als auch genotypisch bedingt zwischen Arten (genotypische Variabilität des zeitlichen CAM-Musters). Die wesentlichen äußeren Faktoren, welche die phänotypische Plastizität des CAM prägen, sind Verfügbarkeit von Wasser, Temperatur und Licht.

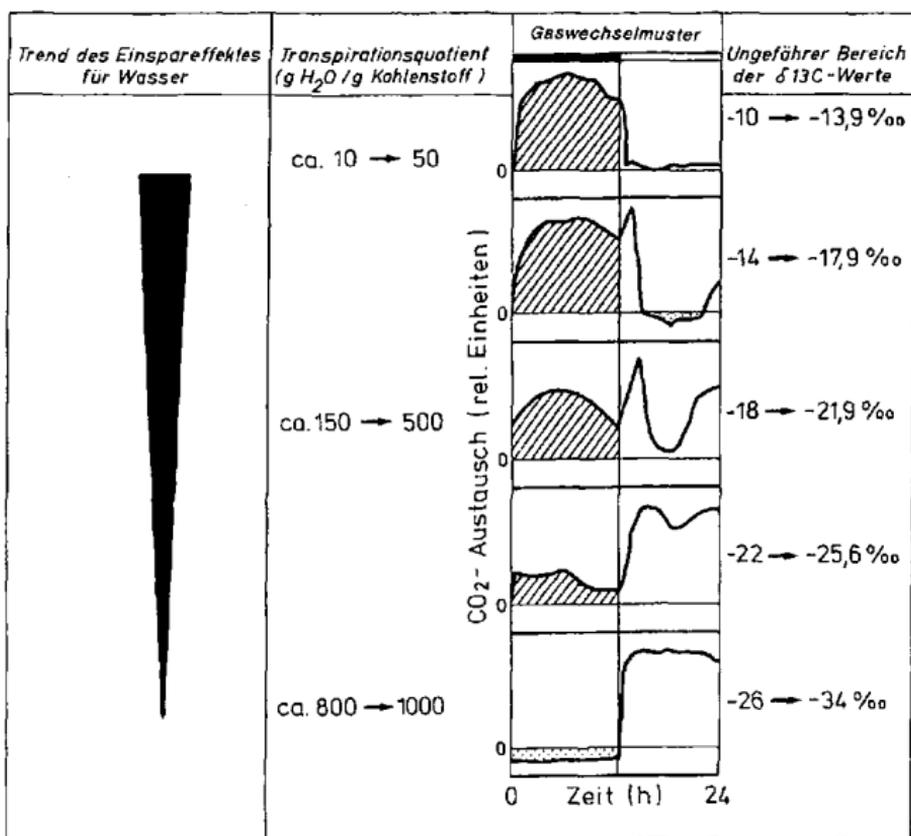


Abb. 3: Schematische Darstellung des Zusammenhanges zwischen den beim CAM auftretenden diurnalen Mustern des CO₂-Austauschs, den zugehörigen Bereichen der δ¹³C-Werte sowie dem mit der CO₂-Fixierung verquickten transpiratorischen Wasserverbrauch (Transpirationsquotient). Die Übergänge zwischen den einzelnen Zuständen sind in Wirklichkeit fließend und nur aus Gründen der Übersichtlichkeit hier so scharf abgegrenzt gegenübergestellt. Schraffierte Flächen: Nächtliche Netto-CO₂-Aufnahme (nach KLUGE & VINSON 1995)

Die im Rahmen von phänotypischer Plastizität oder genotypischer Variabilität anzutreffenden zeitlichen CAM-Muster reichen von CO_2 -Fixierung mit Öffnen der Stomata ausschließlich während der Nacht bis hin zu CO_2 -Fixierung fast ausschließlich am Tage, so daß die betreffende Pflanze praktisch C3-Photosynthese durchführt und die Fähigkeit, CAM durchzuführen hier kaum noch erkennbar ist. Zwischen diesen beiden extremen CAM-Mustern sind alle Übergänge möglich. Es ist verständlich, daß sich das zeitliche CAM-Muster auch auf das Ausmaß der Wassereinsparung beim Kohlenstoffwerb auswirkt. Die Einsparung ist am größten, wenn CO_2 ausschließlich in der Nacht aufgenommen wird und die Stomata tagsüber geschlossen bleiben, und umgekehrt, wobei auch hier wieder viele Abstufungen möglich sind.

Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte als Index für CAM-Verhalten von Pflanzen *in situ*

Wenn es darum geht, den Wert des CAM als ökologische Anpassung für eine Pflanze am natürlichen Standort zu erkunden, ist es wichtig, etwas über die zeitlichen Muster des CAM-Verhaltens unter den gegebenen äußeren Bedingungen zu erfahren. Man kann dies durch direkte Messung des Gaswechsels am natürlichen Standort erreichen, und es gibt inzwischen viele eindrucksvolle Beispiele solcher Freilandmessungen an CAM-Pflanzen (siehe u.a. WINTER & SMITH 1996). Leider sind derartige Messungen wegen des beträchtlichen apparativen,

logistischen und zeitlichen Aufwandes, der trotz der heute verfügbaren verfeinerten Meßtechnik immer noch sehr beträchtlich ist, kaum geeignet, etwas über das langfristige Verhalten der Photosynthese bei möglichst vielen Vertretern der Vegetation eines gegebenen Standortes zu erfahren. Hierfür benötigt man einfache "Screening"-Verfahren. Ein solches ist die massenspektrometrische Bestimmung des Mengenverhältnisses der stabilen Kohlenstoffisotope ^{12}C und ^{13}C im Pflanzenmaterial, die sich selbst noch an Herbariummaterial durchführen läßt. Im CO_2 der Atmosphäre kommt ^{12}C zu 98.89%, ^{13}C hingegen zu 1.11% vor. RUBISCO reagiert leichter mit ^{12}C als mit ^{13}C (starke Diskriminierung von ^{13}C), so daß Pflanzenmaterial, welches über C3-Photosynthese hergestellt wurde, relativ arm an ^{13}C ist. Bei der PEP-Carboxylase hingegen ist die Vorliebe für ^{12}C weniger ausgeprägt (i.e. die Diskriminierung von ^{13}C geringer). Daher ist Pflanzenmaterial, welches durch PEPC vermittelte primäre CO_2 -Fixierung hergestellt wurde, relativ reich an ^{13}C . Das $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnis in Biomaterial wird als $\delta^{13}\text{C}$ -Wert angegeben:

$$\delta^{13}\text{C} (\text{‰}) = \left[\left(\frac{^{13}\text{C}/^{12}\text{C} \text{ der Probe}}{^{13}\text{C}/^{12}\text{C} \text{ des Standards}} \right) - 1 \right] \times 1000$$

(als Standard dient ein fossiler Kalk definierter Herkunft)

Bei über die PEPC hergestelltem Pflanzenmaterial liegt der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert im Bereich von -10 bis -15‰, bei über die RUBISCO hergestelltem Material dagegen bei -25 bis -34‰. Im Falle des CAM bedeuten

$\delta^{13}\text{C}$ Werte, die weniger negativ als -15‰ sind, daß die betreffende Pflanze das atmosphärische CO_2 ausschließlich über die PEPC, also während der Nacht fixiert hat. Je höher der Anteil der am Tage ablaufenden, also von der RUBISCO katalysierten CO_2 -Fixierung ist, um so negativer wird hingegen der $\delta^{13}\text{C}$ Wert. Werte um -25‰ und darunter bedeuten schließlich, daß Fixierung von externem CO_2 nur am Tage stattfindet, die Pflanze den externen Kohlenstoff also mittels C3-Photosynthese erwirbt. Da, wie oben erläutert, der Wasserhaushalt der CAM-Pflanzen an das Verhalten bei der CO_2 -Fixierung gekoppelt ist, sagen die $\delta^{13}\text{C}$ Werte letztlich auch etwas über das Ausmaß der Wassereinsparung bei der Photosynthese aus: je stärker negativ die Werte, um so geringer der Einspareffekt: Die Zusammenhänge zwischen Gaswechsellmuster beim CAM, den $\delta^{13}\text{C}$ Werten und der Wassereinsparung sind in Abb. 3 dargestellt.

CAM bei Vertretern der madagassischen Pflanzenwelt

Die Frage nach der ökophysiologischen Relevanz des CAM für das Überleben von Pflanzen an wasserarmen Standorten ist in der Forschung immer noch aktuell. Besonders gilt es, die Hypothese zu überprüfen, daß sowohl phänotypische Plastizität als auch genotypische Variabilität des CAM für die Eroberung ökologischer Nischen von Bedeutung und eine der Ursachen für Diversität der Arten und Wuchsformen bei CAM-Pflanzen ist (LÜTTGE 1996).

Wir haben daher einschlägige Untersuchungen an Vertretern der Vegetation Madagaskars durchgeführt, wobei uns hier vor allem der Vergleich des CAM-Verhaltens von Vertretern der Gattungen *Kalanchoe* (Familie Crassulaceae) sowie *Angraecum* (Familie Orchidaceae) beschäftigen soll. Madagaskar war für uns ein besonders interessantes Forschungsfeld, weil sich diese Insel einerseits durch einen legendären Reichtum an Endemiten auszeichnet, über deren ökophysiologisches Verhalten noch recht wenig bekannt ist, andererseits bietet Madagaskar ein komplexes Mosaik verschiedenster klimatischer und edaphischer Faktoren und damit vielfältige ökologische Gradienten auf relativ kleinem Raum (RAUH 1973), welche Anpassungserscheinungen der Photosynthese besonders deutlich werden lassen.

Untersuchungen an der Gattung *Kalanchoe* (Crassulaceae)

Betrachten wir zunächst die Gattung *Kalanchoe*, wo bei einem ihrer Vertreter der CAM entdeckt wurde (siehe oben) und andere Arten (z.B. *K. daigremontiana*, *K. tubiflora*, *K. blossfeldiana*) zu den Modellpflanzen bei der Erforschung des CAM gehören. Die Gattung umfaßt 170 Arten, von denen ca. 2/3 endemisch in Madagaskar sind und der Rest vor allem in Afrika verbreitet ist. Unter den *Kalanchoe*-Arten finden sich die verschiedensten Wuchsformen, von zarten, dünnblättrigen und relativ kleinen Pflanzen bis hin zu ausgesprochenen Blattsukkulenten, die manchmal mächtige, bis zu 5 m hohe Pflanzen-

gestalten darstellen, welche viele Jahre alt werden können. Untersuchungen im Labor haben uns gezeigt, daß wohl alle *Kalanchoe*-Arten potentiell in der Lage sind, CAM durchzuführen, wobei manche Arten auf Änderungen der äußeren Bedingungen, z.B. Dürre, sehr flexibel reagieren (z.B. *K. porphyrocalyx*, Abb. 4), während andere Arten stereotyp CAM mit ausschließlich nächtlicher CO₂-Fixierung zeigten, unabhängig davon, ob die Pflanzen gut mit Wasser versorgt waren oder nicht. Eine umfangreiche Erhebung von $\delta^{13}\text{C}$ -Werten an Pflanzenmaterial, das an verschiedensten Standorten in Madagaskar und Afrika gesammelt wurde (KLUGE & BRULFERT 1996, KLUGE *et al.* 1991, 1992) zeigte dann einige interessante Zusammenhänge zwischen CAM-Verhalten *in situ*, Wuchsform und Standortpräferenz. Wie in Tab. 1 gezeigt, lassen sich drei Gruppen von *Kalanchoe*-Arten unterscheiden, die wir hinsichtlich des vorwiegend praktizierten Modus der Photosynthese der einfacheren Beschreibung willen hier einmal als "Extremer CAM-Typ", "Intermediärer CAM-Typ" und "C3-Typ" bezeichnen wollen. Der C3-Typ zeichnet sich durch $\delta^{13}\text{C}$ -Werte negativer als -25‰ aus, mit relativ geringer intraspezifischer Variabilität der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte (Variabilität innerhalb einer Art), was anzeigt, daß die betreffenden Pflanzen am natürlichen Standort, obwohl potentiell dazu in der Lage, keinen Gebrauch vom CAM machen, sondern das CO₂ praktisch nur tagsüber, d.h. direkt über den C3-Weg der Photosynthese fixieren. Darüber hinaus zeigen die Pflanzen des C3-Typs zartblättrige Wuchsform,

und sie besiedeln feuchte Standorte (epiphytische Habitate feuchter und kühler Bergwälder im Osten und Norden Madagaskars, schattige Felsspalten, u.a.), wo die Gefahr der Austrocknung und damit die Erfordernis, Wasser zu sparen, recht gering ist.

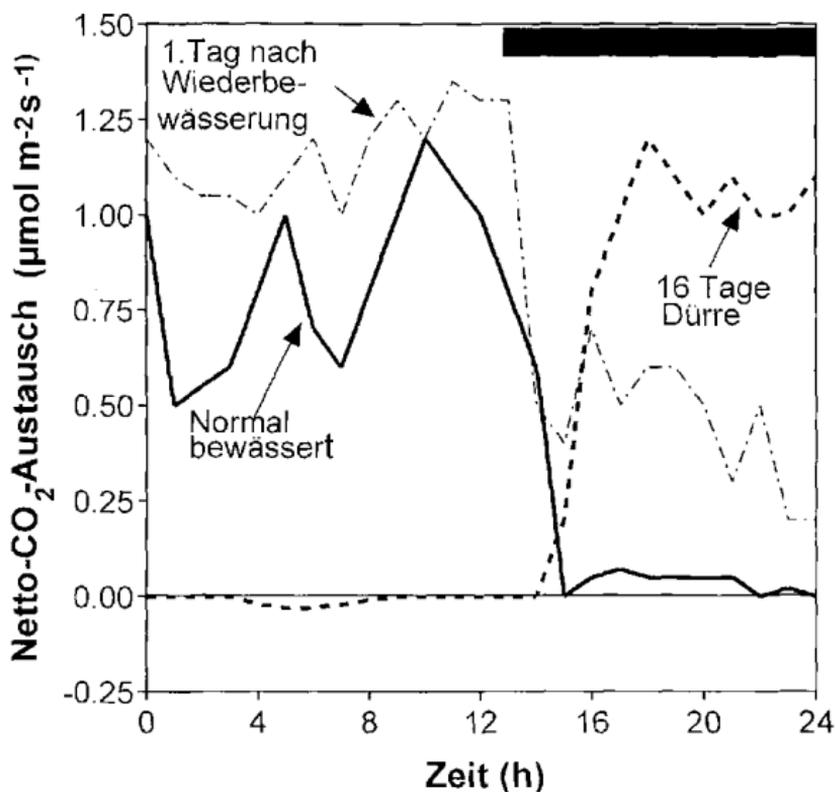


Abb. 4: Ein Beispiel hoher phänotypischer Plastizität im CAM-Verhalten, gezeigt an *Kalanchoe porphyrocalyx*, unter Laborbedingungen (Licht und Temperatur wie in der Legende zu Abb.2 ausgeführt). In gut bewässertem Zustand nimmt die Pflanze CO₂ praktisch nur am Tage auf. Bei Dürrebelastung schaltet sie zum CAM (mit CO₂-Aufnahme ausschließlich während der Nacht) um. Bereits wenige Stunden nach Wiederbewässerung ist die CO₂-Fixierung am Tage wieder hergestellt, wobei im Vergleich zum Ausgangszustand ein höheres Maß an Dunkel-CO₂-Fixierung (also CAM) erhalten bleibt. *In situ* gehört *Kalanchoe porphyrocalyx* zum C3-Typ im Sinne der Tabelle 1.

Taxonomische Zuordnung (nach BOIETAU & MANNONI)	Sektion I (Kitchingia)	Sektion II (Bryophyllum)	Sektion III (Eukalanchoe)
Bereich der $\delta^{13}\text{C}$-Werte	negativer als -25 ‰	zwischen -18 und -25 ‰	weniger negativ als -17 ‰
CAM-Verhalten	C3 -Typ	Intermediärer CAM-Typ	Extremer CAM-Typ
Wuchsform	Krautige Pflanzen, relativ dünnblättrig	Meist krautige Blattsukkulenten	Extreme, oft mächtige Blattsukkulenten
Vorkommen	Epiphytisch und terrestrisch in den feuchten Klimazonen Madagaskars; feuchte Mikrohabitate	Klimazonen mit regelmäßigem Wechsel von feuchter und trockener Jahreszeit; Mikrohabitate mit wechselnder Dürrebelastung	Semiaride Klimazonen Madagaskars mit oft langandauernder Dürre; besonders wasserarme Mikrohabitate

Tab. 1: Übersicht über die Gruppierung der Arten innerhalb der Gattung *Kalanchoe* nach taxonomischen Merkmalen, CAM-Verhalten der Arten, Wuchsform und Verbreitung.

Dem C3-Typ, der übrigens nur wenige Arten umfaßt, steht der extreme CAM-Typ gegenüber, ausgezeichnet durch $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von ca. -11 bis -17 ‰, was zeigt, daß CO_2 nur nachts fixiert, also die CAM-Variante mit größtmöglichem Wasserspareffekt durchgeführt wird. Die betroffenen Pflanzen repräsentieren ausgesprochene Blattsukkulenten, sind oft mit weiteren xeromorphen Merkmalen (z.B. Behaarung der Blätter, dicke Cuticula, Reduktion der Blattgröße u.a.) ausgestattet und besiedeln Standorte, wo Wasser jahreszeitlich bedingt oder durch

Eigentümlichkeiten das Mikrohabitats auch langfristig sehr knapp ist. Zum extremen CAM-Typ gehören z.B. alle *Kalanchoe*-Arten, welche in den trockensten Landstrichen Madagaskars (Süden und Süd-Westen der Insel; mit mehrmonatigen Trockenperioden) siedeln. Bei den *Kalanchoe*-Arten dieser Kategorie ist auch die intraspezifische Variabilität der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte (Variabilität innerhalb einer Art) sehr gering, was für schwach ausgeprägte Plastizität des CAM-Verhaltens spricht.

Zwischen dem extremen CAM-Typ und dem C3-Typ steht der intermediäre CAM-Typ, mit $\delta^{13}\text{C}$ -Werten zwischen -18 bis -25% , die anzeigen, daß neben der nächtlichen CO_2 -Aufnahme auch eine solche am Tage stattfindet, mit stark schwankenden relativen Anteilen am Gesamtgewinn an Kohlenstoff (vgl. Abb. 3). Beim intermediären CAM-Typ zeigen die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte hohe intraspezifische Variabilität, was für hohe phänotypische Plastizität des CAM-Verhaltens bei den Vertretern dieser Gruppe spricht. Die betreffenden Pflanzen besiedeln Standorte, bei denen sich Niederschläge und Trockenperioden in nicht zu großen Abständen abwechseln, so daß die Pflanzen entsprechend dem Wechsel in der ökophysiologischen Belastung schnell von moderatem CAM (relativ hoher Anteil von CO_2 -Aufnahme am Tage) zu extremem CAM (CO_2 -Aufnahme nur in der Nacht) umschalten können.

Die spezifische Standortpräferenz der drei soeben diskutierten *Kalanchoe*-Typen spiegelt sich nicht nur

in der großräumigen Verteilung innerhalb Madagaskars wider, sondern auch in der Besiedlung von Mikrohabitaten eines enger begrenzten Standortes. Ein interessantes Beispiel hierfür bieten die *Kalanchoe*-Arten des Mount Angavokely, ein Inselberg des zentralen Hochlandes Madagaskars. Dort kommen drei sich hinsichtlich des CAM unterschiedlich verhaltende *Kalanchoe*-Arten vor: *K. campanulata* gehört zum C3-Typ und wächst in feuchten Felsspalten und schattigem Gebüsch, wo kaum Gefahr von Austrocknung besteht. *K. synsepala* besiedelt den nahezu nackten Fels, also ein extrem wasserarmes Mikrohabitat; diese Pflanze verkörpert den extremen CAM-Typ. *K. miniata* schließlich wächst im lichten Gebüsch und hat ihre Vegetationsperiode vor allem am Übergang von der feuchten zur trockenen Jahreszeit mit häufig wechselnder Dürrebelastung; entsprechend gehört diese Pflanze zum intermediären CAM-Typ.

CAM-Verhalten und molekulare Taxonomie stimmen in der Gattung *Kalanchoe* sehr gut überein

Bei der Auswertung unserer CAM-Daten waren wir überrascht, festzustellen, daß sich die auf den CAM-Mustern beruhende Gruppierung der *Kalanchoe* – Arten erstaunlich gut mit einer taxonomischen Gruppierung der Arten in drei Sektionen deckt (Tab. 1), die von Pierre Boiteau bereits vor Jahrzehnten aufgrund klassischer morphologischer Merkmale

vorgeschlagen wurde (vgl. BOITEAU & ALLORGE-BOITEAU 1995). Das heißt: die den C3-Typ verkörpernden Arten gehören weitgehend zur Sektion I (Kitchingia), die Arten mit intermediärem CAM vorwiegend zur Sektion II (Bryophyllum) und die mit extremem CAM zur Sektion III (Eukalanchoe). Damit deutete sich bereits an, daß die Diversität des CAM-Verhaltens in der Gattung *Kalanchoe* auch eine genotypische Komponente haben muß.

Dies veranlaßte uns, noch einen Schritt weiter zu gehen und zu untersuchen, ob sich die auf ökophysiologischer und klassisch-taxonomischer Ebene abzeichnende Gruppierung auch auf molekularer Ebene, also im Bereich der DNA widerspiegelt. Zunächst haben wir bei *Kalanchoe*-Arten Sequenzpolymorphismus der DNA mit Hilfe der RAPD-PCR (**R**andom **A**rbitrarily **P**rimer **D**irected - **P**olymerase **C**hain **R**eaction) untersucht. Bei dieser Methode wird doppelsträngige DNA zunächst in Einzelstränge zerlegt und diese mit zufällig zusammengestellten kurzen Nukleotidketten ("Zufalls-Primer") hybridisiert, die dann als Starter ("Primer") für eine DNA-Polymerase dienen. Für die DNA einer jeden Pflanzenart entsteht dabei ein spezifisches Muster verschieden langer DNA-Fragmente. Diese Fragmentmuster werden hinsichtlich ihrer Ähnlichkeit analysiert und das Ergebnis dieses Vergleiches wird in Form von phylogenetischen Stammbäumen dargestellt. Die Abb. 5 zeigt ein solches mittels RAPD-PCR erhaltenes Dendrogramm von Vertretern der

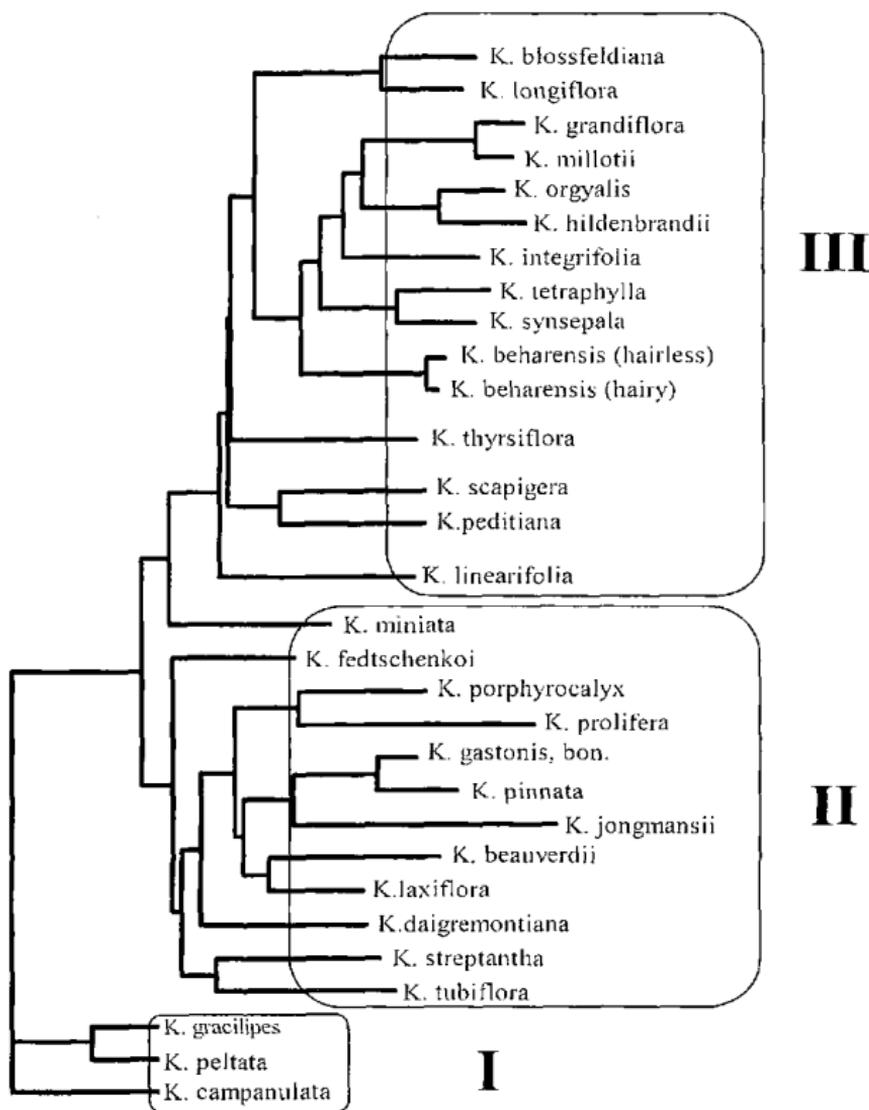


Abb. 5: Stammbaum von einigen *Kalanchoe*-Arten, der aufgrund der Neighbour joining-Methode unter Verwendung der RAPD-PCR-Daten berechnet wurde, mit *K. campanulata* als Außengruppe. Bei der Wahl anderer Außengruppen oder Berechnungsmethoden ergaben sich weitgehend ähnliche Stammbäume wie der hier gezeigte. Die römische Numerierung der in Blöcken zusammengefaßten Cluster kennzeichnet die zu den drei taxonomischen Sektionen I bis III (vgl. Tab. 1 und Text) gehörenden Arten: I = Sektion Kitchingia; II = Sektion Bryophyllum, III = Sektion Eukalanchoe (aus GERRIG *et al.* 1997).

Gattung *Kalanchoe*. In dem Dendrogramm bilden die untersuchten Arten deutlich drei Cluster, die sich mit den drei oben besprochenen taxonomischen Sektionen der Gattung und damit auch mit der auf dem CAM-Verhalten basierenden Gruppierung decken (GEHRIG *et al.*, 1997). Das Dendrogramm untermauert zudem die schon aus klassisch-taxonomischen Merkmalen abgeleitete Hypothese, daß die Sektion I die phylogenetisch ursprünglichste, die Sektion III hingegen die phylogenetisch am stärksten abgeleitete ist (BOITEAU & ALLOGRE-BOITEAU 1995, vgl. GEHRIG *et al.* 1997).

Die RAPD-Methode birgt gewisse Unsicherheiten, weil hier zur Feststellung von Übereinstimmung oder Unähnlichkeiten der DNA von interessierenden Pflanzenarten die Länge der DNA-Fragmente als Merkmal dient. Streng genommen müßte immer überprüft werden, ob bei verschiedenen Pflanzenarten erhaltene DNA-Fragmente gleicher Länge tatsächlich auch die gleichen Nukleotidsequenzen aufweisen und damit wirklich homolog sind. Das läßt sich aber wegen des großen Aufwandes kaum durchführen, wenn viele Arten verglichen werden sollen.

Um die RAPD-Daten abzusichern, haben wir kürzlich ein weiteres Verfahren angewandt, nämlich den Vergleich von Nukleotidsequenzen der ITS-(Internal-Transcribed Spacer)-Regionen der DNA-Abschnitte, welche die ribosomale RNA codieren. Auf diesen Abschnitten werden codierende Regionen durch nicht codierende "Spacer" getrennt, die in ihrer

Nukleotidsequenz sehr variabel und daher geeignet sind, Unterschiede selbst zwischen näher verwandten Organismen festzustellen. Im Gegensatz zur RAPD-Methode, bei der Fragmentlängen als Marker dienen, werden bei der Analyse der ITS-Regionen Nukleotidsequenzen verglichen und als Marker für das Berechnen von Stammbäumen herangezogen. Die Ergebnisse unserer einschlägigen Untersuchungen an *Kalanchoe*-Arten werden demnächst im Detail veröffentlicht, weshalb hier die Feststellung genügt, daß die Analysen der ITS-Sequenzen die RAPD-Daten voll bestätigt haben. Auch bei den ITS-Sequenzen ergaben sich nämlich drei Cluster, die sich weitgehend mit den RAPD-Clustern und der in Tab. 1 gezeigten taxonomischen und ökophysiologischen Gruppierung decken.

Auch die Ergebnisse der ITS-Analysen sagen aus, daß die Sektion I die phylogenetisch ursprünglichste, die Sektion III hingegen die abgeleitetste ist, was übrigens auch die Ansicht stützt, daß die C3-Photosynthese im Vergleich zum CAM phylogenetisch ursprünglicher ist (RAVEN & SPIVER, 1996). Außerdem zeigen unsere ITS-Daten, daß die afrikanischen *Kalanchoe*-Arten durchwegs zur Sektion III gehören und dort einen eigenen Cluster bilden. Dies wiederum läßt den Schluß zu, daß das Zentrum der phylogenetischen Radiation der Gattung *Kalanchoe* in Madagaskar liegt und diese sich erst relativ spät in das kontinentale Afrika ausgebreitet hat.

Untersuchungen an Orchideen

Wir haben bei unseren Untersuchungen über die Verbreitung des CAM bei Pflanzen der Vegetation Madagaskars auch Orchideen einbezogen und uns auch hier auf eine bestimmte Gattung, nämlich *Angraecum*, konzentriert. Es kann hier nicht auf alle Einzelheiten eingegangen werden (siehe hierzu KLUGE *et al.*, 1997), doch es sei zusammenfassend Folgendes festgehalten: Wie bei der Gattung *Kalanchoe* decken die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte den ganzen Bereich von ca. -11 bis ca. -32‰ ab, also den Bereich vom extremen CAM bis zum Kohlenstoffwerb rein über C3-Photosynthese, wobei einerseits zwischen den einzelnen Arten signifikante Unterschiede auftreten, die Werte andererseits aber auch innerhalb der Art in gewissen Grenzen schwanken. In anderen Worten, auch bei der Gattung *Angraecum* beobachten wir sowohl genotypische Variabilität als auch phänotypische Plastizität des CAM. Aus den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten der *Angraecum*-Arten läßt sich ablesen, daß *in situ* 50% der rund 30 untersuchten Arten C3-Photosynthese durchführen, 20% intermediären CAM (CO_2 -Aufnahme sowohl in der Nacht als auch am Tage, und 30% extremen CAM mit ausschließlich nächtlicher CO_2 -Fixierung). Auch hier zeigte sich die bereits für *Kalanchoe* beschriebene Übereinstimmung des Photosyntheseverhaltens mit den klimatischen Eigenschaften des Standortes, vom dem die jeweiligen Proben stammten. Arten wasserarmer Habitats erwiesen sich als moderate oder extreme CAM-

Pflanzen, während die Besiedler mehr oder weniger permanent feuchter Habitats C3-Photosynthese bevorzugen. Es ist nicht verwunderlich, daß sich gerade unter den epiphytischen *Angraecum*-Arten besonders viele CAM-Pflanzen finden, denn selbst in Regenwäldern mit häufigen Niederschlägen sind Epiphyten immer wieder Wassermangelstreß ausgesetzt (siehe z.B. GOH & KLUGE 1989). Wir sind gerade dabei, unsere Untersuchungen über den CAM bei *Angraecum* auf die molekulare Ebene auszudehnen, wie dies für das Beispiel *Kalanchoe* gezeigt wurde.

Schlußfolgerungen

Unsere Untersuchungen über den CAM bei Pflanzen der Vegetation Madagaskars zeigt augenfällig, daß es sehr nützlich ist, bei der Analyse ökologischer Anpassungen verschiedene Ebenen in die Betrachtung einzubeziehen, in diesem Falle die ökophysiologische Ebene (Verhalten der Photosynthese), die pflanzengeographische Ebene (groß- und kleinräumige Verbreitung der Pflanzen), die taxonomische und schließlich die molekulare Ebene. Die verschiedenen Ansätze und Methoden schließen einander nicht aus, sondern ergänzen sich. Diese Feststellung erscheint mir deshalb wichtig, weil es heute noch keineswegs selbstverständlich ist, daß z.B. bei ökologischen oder taxonomischen Fragestellungen molekulare Ansätze akzeptiert werden, und weil auf molekularbiologischer Seite die Ergebnisse

klassisch-biologischer Ansätze oft unberücksichtigt bleiben. Wie unser Beispiel *Kalanchoe* zeigt liefert aber gerade erst die mehrere Ebenen berücksichtigende Synopsis allgemeinere Erkenntnisse.

LÜTTGE (1996) postulierte, daß sowohl genotypische Diversität des Photosyntheseverhaltens (also Unterschiede zwischen Arten), als auch funktionell bedingte Plastizität des Photosyntheseverhaltens innerhalb einer bestimmten Art wichtige Faktoren für biologische Anpassungsfähigkeit und damit für den ökologischen Erfolg eines Taxons sind. Unsere Untersuchungen untermauern die Richtigkeit dieser Auffassung. Sowohl für die Gattung *Kalanchoe* als auch für *Angraecum* darf angenommen werden, daß die hier anzutreffende große Diversität an Arten und Wuchsformen zu einem gewichtigen Teil auf einem komplexen Zusammenspiel mehrerer Komponenten beruht. Zu diesen gehören einerseits die erwähnte genotypische Variabilität und phänotypische Plastizität der Photosynthese, andererseits aber auch das besonders komplexe Mosaik in der Konstellation äußerer Faktoren, welches durch die in dieser Hinsicht besonders große Diversität der Mikro- und Makrohabitate Madagaskars hervorgebracht wird (GUILLAUMET 1984, RAUH 1973). Dieses Zusammenspiel dürfte auch einer der Gründe dafür sein, daß Madagaskar für die beiden Gattungen zum phylogenetischen Radiationszentrum wurde.

Danksagungen

Die hier vorgestellten Untersuchungen wären nicht möglich gewesen ohne die intensive Mitarbeit von Dr. Hans Gehrig (TU Darmstadt), der die molekularbiologische Untersuchungen durchgeführt hat, Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Hubert Ziegler (TU München), dem wir die Analysen der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte verdanken, Dr. Jeanne Brulfert (Université Paris Sud), die an den Arbeiten vor Ort in Madagaskar und bei der Sichtung von Material des Herbars des Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris beteiligt war, Dr. Lucile Allorge-Boiteau (CNRS, Paris), der wir Zugang zu einem unveröffentlichten Manuskript ihres Vaters, Pierre Boiteau, über die Taxonomie der Gattung *Kalanchoe* und sehr hilfreiche Diskussionen verdanken. Wir danken dem Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris für das großzügige Überlassen von Herbarmaterial für $\delta^{13}\text{C}$ -Analysen, der Deutschen Forschungsgemeinschaft für materielle Förderung unserer Arbeit und dem Deutschen Akademischen Austauschdienst für Förderung von Aufhalten des Autors an der Universität Antananarivo (Madagaskar).

Literatur

- GEHRIG H., RÖSICKE H. & KLUGE M. 1997: Detection of DNA polymorphism in the genus *Kalanchoe* by RAPD-PCR fingerprint and its relationships to infrageneric taxonomic position and ecophysiological photosynthetic behaviour of the species. *Plant Sciences* 125, 41-51.
- GUILLAUMET J.-L. 1984: The vegetation: an extraordinary diversity. In: A. JOLLY, P. OBERLÉ & R. ALBIGNAC (éds.). *Key environments: Madagascar*. Pergamon Press. Oxford, New York, 1-26
- KLUGE M. 1999: C4-Photosynthese und CAM In: HÄDER (Hrsg.): *Photosynthese*. Thieme Verlag, pp. 194-215.
- KLUGE M. & BRULFERT J. 1996: Crassulacean acid metabolism in the genus *Kalanchoë*: Ecological, Physiological and Biological Approaches. In: K. WINTER, A.P. SMITH, J.A.C. SMITH (eds) *Crassulacean Acid Metabolism. Biochemistry, Ecophysiology and Evolution*. Springer Verlag, Heidelberg, 324-335.
- KLUGE M., BRULFERT J., RAVELOMANANA D., LIPP J. & ZIEGLER H. 1991: Crassulacean acid metabolism in *Kalanchoë* species collected at various climatic zones of Madagascar: a survey by $\delta^{13}\text{C}$ analysis. *Oecologia* 88, 407-414.
- KLUGE M., RAZANOELISOA B. & BRULFERT J. 1992: In situ studies of Crassulacean acid metabolism in *Kalanchoë beharensis* DRAKE DEL CASTILLO, a plant from the semi-arid south of Madagascar. *New Phytologist* 120, 323-334.
- KLUGE M. & TING I.P. 1978: *Crassulacean Acid Metabolism. Ecological Studies Vol. 30*, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
- KLUGE M. & VINSON B. 1995: Der Crassulaceen-Säurestoffwechsel bei Orchideen Madagaskars: Analyse einer ökologischen Anpassung der Photosynthese. *Rundgespräche der Kommission für Ökologie*, Bd. 10 "Tropenforschung", Verlag Dr. Friedrich Pfeil, München, pp. 159-171

- KLUGE M., VINSON B. & ZIEGLER H. 1997: Ecophysiological studies on orchids of Madagascar: Incidence and plasticity of crassulacean acid metabolism in species of the genus *Angraecum* Bory, *Plant Ecology* 135, 43-57.
- LÜTTGE U. 1987: Carbon dioxide and water demand: Crassulacean acid metabolism (CAM), a versatile ecological adaptation exemplifying the need for integration in ecophysiological work *New Phytol* 106/10, 593-629.
- LÜTTGE U. 1996: *Clusia*: Plasticity and Diversity in a Genus of C3/CAM Intermediate Tropical Trees In: Crassulacean acid metabolism K. WINTER; J.A.C. SMITH (eds.) Springer, Heidelberg Berlin New York, 296-310.
- OSMOND C.B. 1978: Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 29, 379-414.
- RAUH W. 1973: Über die Zonierung und Differenzierung der Vegetation Madagaskars In: Tropische und subtropische Pflanzenwelt. Publ. d. Akad. d. Wissenschaften. F. Steiner Verlag, Mainz, 117-146.
- WINTER K. 1985: Crassulacean acid metabolism In: J. BARBER & N.R. BAKER (eds.): Photosynthetic mechanisms and the environment. Elsevier, 329

Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. Manfred Kluge
Institut für Botanik der
Technischen Universität Darmstadt
Schnittspahnstr. 10
D-64287 Darmstadt

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Schriften des Vereins zur Verbreitung naturwissenschaftlicher Kenntnisse Wien](#)

Jahr/Year: 2002

Band/Volume: [137_140](#)

Autor(en)/Author(s): Kluge Manfred

Artikel/Article: [Der Crassulaceen-Säurestoffwechsel \(CAM\), eine ökologische Anpassung der Photosynthese, gezeigt an Pflanzen der Vegetation Madagaskars. 311-336](#)

