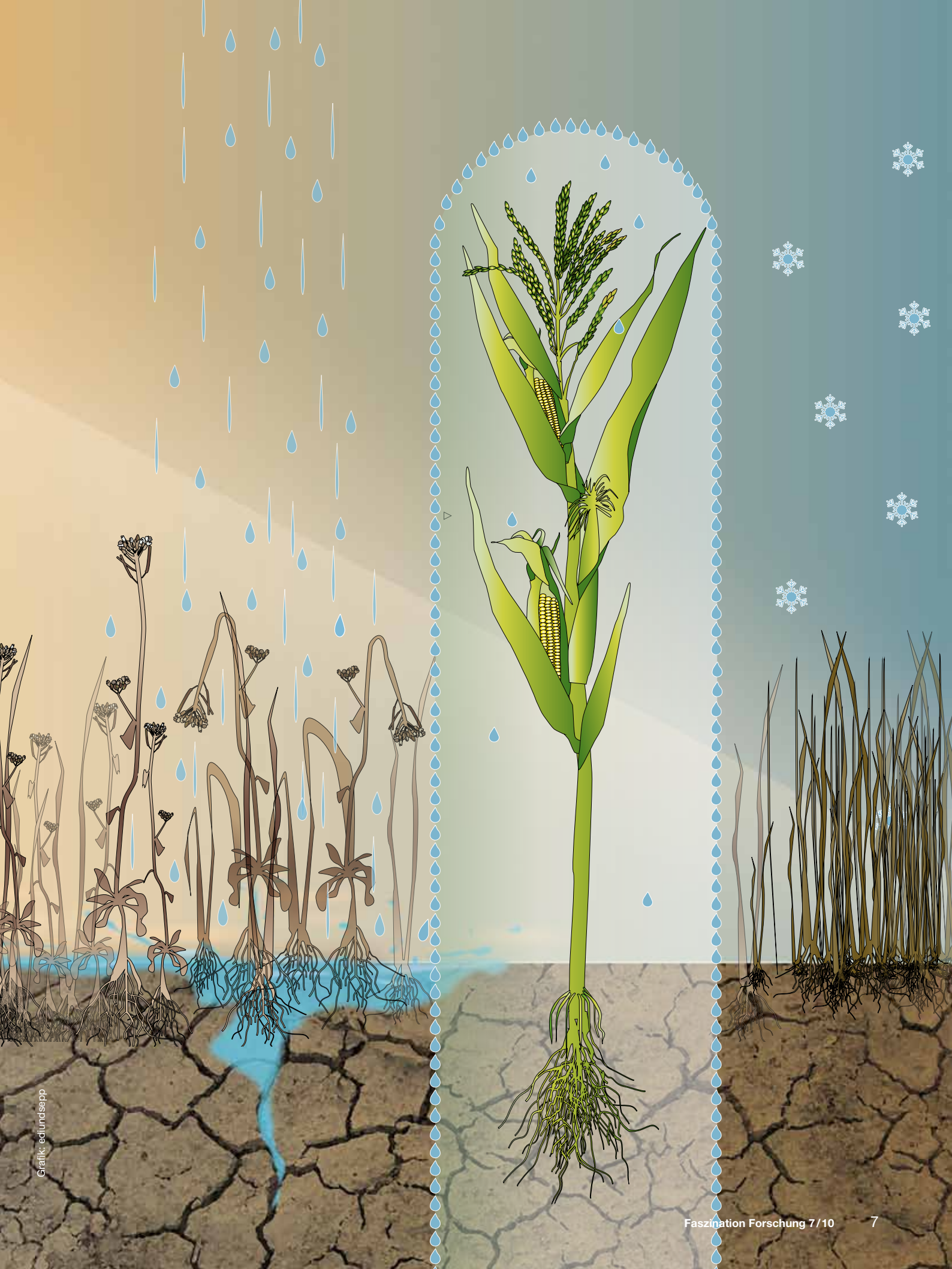
Link
www.botanik.wzw.tum.de

Pflanzen im Stress

Trockenheit, Kälte, Überschwemmungen: Pflanzen sind vielen Stressoren ausgesetzt. Forscher der TUM untersuchen die Reaktionen von Pflanzen auf Stress. Sie helfen, Nutzpflanzen zu züchten, die auch unter widrigen Bedingungen hohen Ertrag bringen



Grafik: edlundsepp

Grundlagenforschung unter standardisierten Bedingungen: In einer Vegetationskammer wachsen die Versuchspflanzen in kontrolliertem Klima

Das Klima verändert sich. Viele Regionen leiden zunehmend unter Hitze und Trockenheit – mit gravierenden Folgen für die Landwirtschaft. In aller Welt arbeiten Forscher daran, Pflanzen an die veränderten Bedingungen anzupassen, um die Versorgung des Menschen mit Nahrungsmitteln zu sichern. Wissenschaftler der TU München haben jetzt Rezeptorproteine identifiziert, die eine zentrale Bedeutung für die pflanzliche Reaktion auf abiotische Stressfaktoren haben.

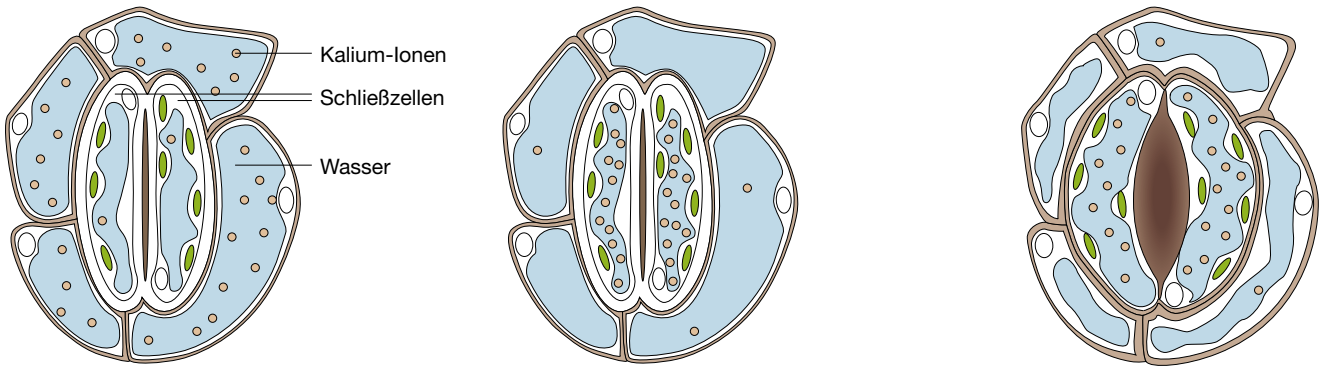
Hitze, Trockenheit, Wassermangel – solche Bedingungen bedeuten für die meisten Pflanzen Stress. Solange die widrigen Verhältnisse nur ein paar Tage lang anhalten, ist das kein Problem. Die Pflanzen können ihren Stoffwechsel auf „Wassersparmodus“ umstellen und sich vor Schäden schützen. Dabei spielt das Phytohormon Abscisinsäure (ABA) eine wichtige Rolle. Diesen endogenen Botenstoff bilden Pflanzen auch unter normalen Bedingungen ständig in geringer Menge vor allem in Zellen nahe den Leitgefäßen, die Wasser und Nährstoffe transportieren. Über diese Gefäße wird das Hormon in der Pflanze verteilt und sorgt für ein geregeltes Wachstum.

Forscher erkunden Signalwege

In Stresssituationen aber steigt die Produktion von ABA stark an. Besonders angekurbelt wird sie dann in den Schließzellen, bohnenförmigen Zellen, die jeweils zu zweit eine winzige Pore umschließen, die Spaltöffnung (Stoma). Diese Stomata in der Oberfläche der ▷

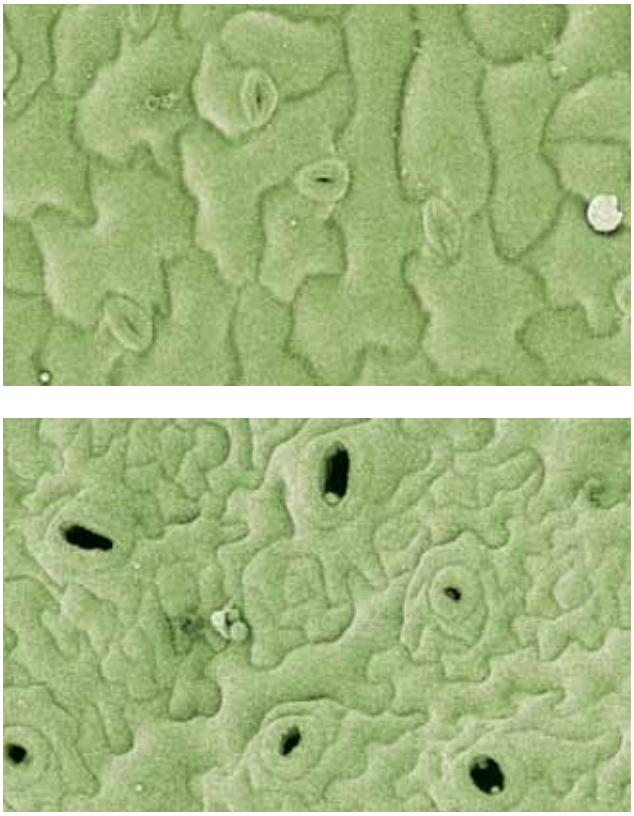
Dr. Alexander Christmann ist einer von vielen Forschern weltweit, die wissen möchten, wie sich Pflanzen gegen Trockenstress schützen können

Fotos: Eckert / Heddergott, TUM



1 2 3

Zwei Schließzellen mit den umliegenden Epidermiszellen bilden einen sogenannten Spaltöffnungsapparat (1). Sie befinden sich in großer Zahl meist ausschließlich an der Unterseite eines Blattes. Wenn Licht auf das Blatt trifft, steigt die Fotosyntheserate. Bei der Fotosynthese wird Kohlendioxid in Wasser und Sauerstoff umgewandelt. Diese Gase können durch die Spaltöffnungen diffundieren. Dafür müssen die Schließzellen jedoch erst einen Spalt bilden: Dazu werden Kalium-Ionen in die Schließzellen transportiert (2). Wasser aus der Epidermis strömt wegen des entstandenen osmotischen Drucks nach, die Schließzellen dehnen sich aus und der Spalt öffnet sich (3). Bei Wasserdefizit produziert die Pflanze in verstärktem Maße Abscisinsäure, die einen Kalium-Ausstrom verursacht. Das verringert den osmotischen Druck, die Schließzellen erschlaffen und werden von den Epidermiszellen zusammengedrückt – der Spalt wird geschlossen



Der Spaltöffnungsapparat befindet sich meist an der Unterseite eines Blattes. Unter dem Mikroskop erkennt man geöffnete und geschlossene Schließzellen

oberirdischen Pflanzenteile – oft mehrere Hundert pro Quadratmillimeter – dienen dem Gasaustausch (CO_2-Aufnahme, O_2-Abgabe) und der Transpiration. Bei Wasserknappheit schließen sie sich, indem die Schließzellen erschlaffen und von benachbarten Zellen zusammengedrückt werden. An diesem Prozess ist die Abscisinsäure maßgeblich beteiligt. „Bei Trockenheit gibt ein bisher unbekannter Sensor ein Signal, das die Enzyme für die ABA-Bildung aktiviert“, erklärt Dr. Alexander Christmann vom Lehrstuhl für Botanik am TUM-Wissenschaftszentrum Weihenstephan. „Die für die ABA-Bildung verantwortlichen Gene werden vermehrt exprimiert, der ABA-Level steigt auf etwa das 50-Fache an. Das ist die Voraussetzung dafür, dass die physiologischen Anpassungsreaktionen starten können.“

Eine Erhöhung des endogenen ABA-Spiegels steht damit am Anfang der Reaktionsabläufe, mit denen Pflanzen auf Hitze, Trockenheit oder eine erhöhte Salzkonzentration des Bodens antworten. Als Nächstes stellen sie ihren gesamten Stoffwechsel drastisch um; weit mehr als 1000 Gene sind daran beteiligt, schätzt Christmann. Diese Prozesse führen – aus wissenschaftlich-analysierender Perspektive – zu recht unübersichtlichen Verhältnissen. Diverse Signalwege werden parallel aktiviert, beeinflussen sich gegenseitig und sind daher nur mühsam zu verfolgen. Darum ließen sich diejenigen Reaktionen, die letztlich zur ABA-Wirkung führen, bisher nicht klar erkennen. Den TUM-Botanikern ist ▷

Grafik: ediundsepp; Bilder: TUM

Foto: Eckert/Heddergott, TUM

In den Plexiglasröhren, die jede einzelne Versuchspflanze umfassen, sammeln sich die Samen, die die Wissenschaftler mit dieser Methode Pflanze für Pflanze entnehmen können

Isotherme Titrationskalorimetrie

Mithilfe der Kalorimetrie lassen sich die thermischen Eigenschaften biologisch relevanter Moleküle untersuchen. Speziell für die thermische Analyse von Bindungsprozessen dient die isotherme Titrationskalorimetrie (ITC). Treten zwei Komponenten in Wechselwirkung, wird entweder Wärme abgegeben oder absorbiert. Bei einer ITC-Messung wird zu einem Reaktionspartner in der Messzelle der andere Partner schrittweise zugegeben (titriert). Die dabei abgegebene oder absorbierte Wärmemenge steht in direktem Verhältnis zu neu entstandenen Bindungen zwischen den Partnern.

es geglückt, Licht in das Dunkel zu bringen: Sie haben die Rezeptoren identifiziert, an die ABA bindet. Im Prinzip war bekannt, wie die Abscisinsäure den Verschluss der Spaltöffnungen herbeiführt: Zum Erschlaffen der Schließzellen kommt es, weil sich in den äußeren Zellmembranen Ionenkanäle öffnen und zunächst Anionen, anschließend dann in größerem Umfang Kationen ausgeschleust werden. Als passive Reaktion wird Wasser mitgezogen – die Schließzellen schrumpfen. Verantwortlich für das Öffnen der Ionenkanäle sind Kinasen, die normalerweise inaktiv sind, weil sie von bestimmten Phosphatasen blockiert werden. Wenn, etwa bei Trockenstress, der Abscisinsäurespiegel ansteigt, wird ABA durch Rezeptorproteine erkannt, die sich dann mit den Phosphatasen zu Komplexen verbinden. Die Phosphatasen verlieren damit ihren Kinasen-hemmenden Effekt. Die nun aktivierten Kinasen bewirken das Öffnen der Ionenkanäle.

Die TUM-Botaniker haben in ihren von der DFG und der EU mit insgesamt 475.000 Euro geförderten Studien eines der Rezeptorproteine, an das ABA bindet, als Interaktionspartner der Phosphatasen gefunden bzw. in seiner Funktion erkannt: RCAR1, Regulatory Component of the ABA-Receptor 1. Den Erfolg teilen sie mit kalifornischen Kollegen, die ein nahe verwandtes Rezeptorprotein gleichzeitig entschlüsselten, ihm aber einen anderen Namen gaben: PYR1. Damit haben die beiden Arbeitsgruppen die Voraussetzung geschaffen, den ABA-Signalweg vollständig aufzuklären. Wenn das gelingt, stehen die Chancen gut, Nutzpflanzen wie Getreide so „aufzurüsten“, dass sie schwierigere Bedingungen tolerieren und dennoch gute Erträge erbringen.

Wie so oft in der Wissenschaft, kam der Erfolg auf einem Umweg. Eigentlich waren die Weihenstephaner Botaniker auf der Suche nach Interaktionspartnern der Phosphatasen, mit denen sie seit Langem arbeiten. In Hefezellen entdeckten sie mehrere interessante Moleküle, darunter auch zwei Proteine, die als geeignete Partner erschienen. Diese Proteine ließen sie in Bakterienkulturen exprimieren, isolierten sie und mischten sie mit Phosphatasen. Nach Zugabe von ABA zeigte sich, dass besonders einer der beiden Komplexe aus Protein und Phosphatase eine starke Bindung mit ABA einging. Zum Nachweis dieser Interaktion diente eine elegante Methode: die isotherme Titrationskalorimetrie (siehe Kasten). Sie misst winzigste Temperaturveränderungen, die auftreten, wenn Moleküle miteinander reagieren. Die notwendige Ausstattung und entsprechende Expertise lieferten TUM-Kollegen vom Forschungscampus Garching: Am dortigen Lehrstuhl für Biochemie gehört das Verfahren zur Routine.

Pflanzen mit hoher Stresstoleranz züchten

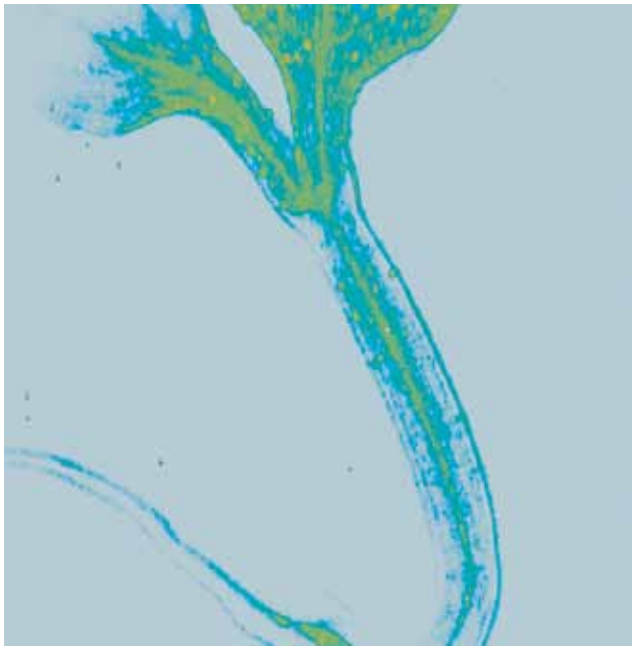
Eine Datenbankrecherche ergab, dass die beiden getesteten RCAR-Proteine zu einer Familie von 14 Mitgliedern aus sehr ähnlich strukturierten ABA-Bindungsproteinen gehören. Als Reaktionspartner kommen neun Phosphata-

Im Labor des Lehrstuhls für Botanik in Weihenstephan werden ausgewählte genetische Eigenschaften verschiedener Linien durch Kreuzung zusammengeführt. Die Freilegung des Fruchtknotens aus den winzigen, noch geschlossenen Blütenknospen der Ackerschmalwand

sen infrage. Deshalb wollen die Forscher weitersuchen – vielleicht finden sie ja eine noch günstigere Kombination, einen Komplex aus RCAR-Protein und Phosphatase mit besonders starker Affinität für ABA, der deshalb schon auf geringe Konzentrationen des Hormons reagiert. Dann kann man gezielt solche Pflanzen aufspüren, die mit dieser Kombination in ihren Blättern ausgestattet sind, ihre Spaltöffnungen also frühzeitig schließen, damit weniger Wasser verlieren und Trockenheit besser vertragen. Geeignete Pflanzen lassen sich dann züchterisch weiterentwickeln. „Es geht nicht unbedingt darum, transgene Pflanzen zu generieren", betont Christmann. „Sondern wir wollen auch die in der Natur in Form zahlreicher und unterschiedlich stressresistenter Ökotypen vorhandene Vielfalt nutzen."

Versuchspflanze am TUM-Lehrstuhl ist, wie üblich in Botanik und Pflanzengenetik, die Ackerschmalwand *(Arabidopsis thaliana)*. Sie ist in unzähligen Varietäten fast auf der ganzen Welt zu Hause, angepasst an ganz unterschiedliche Bedingungen. In dem riesigen Genpool muss „nur" der richtige Genotyp gefunden und gezielt mit züchterischen Methoden weiter optimiert werden, der von Natur aus besonders empfindlich auf ABA reagiert. Da die Proteinausstattung landwirtschaftlicher Nutzpflanzen auf sehr ähnliche Abläufe und Signalwege schließen lässt, stehen die Chancen gut, dass an Arabidopsis gefundene Erkenntnisse sich etwa auf Getreide übertragen lassen. Deshalb wollen die TUM-Wissenschaftler in Zukunft mit Pflanzenzüchtern kooperieren.

Die Grundlagenforschung aber findet im Institut statt. Dort im Keller wächst, blüht und fruchtet die Ackerschmalwand unter standardisierten Bedingungen. Die Vegetationskammern mit Pflanzen in allen Entwicklungsstadien sind 16 Stunden am Tag beleuchtet, die Temperatur beträgt tagsüber 22 °C und wird nachts auf 16 °C gesenkt. Altpflanzen, rund 40 bis 50 cm hoch, stecken jeweils in einer oben offenen Röhre aus Plexiglas, deren unterer Rand den Stängel umfasst. Dort sammeln sich die feinen Samen und können Pflanze für Pflanze entnommen werden. Einzelne Blätter junger Pflanzen sind an eine an der Universität Würzburg entwickelte Messapparatur angeschlossen, die den ▷



Forscher der TUM machen die Aktivität des Stresshormons Abscisinsäure sichtbar: Gestresste, transgene Reporterpflanzen (hier ein Keimling der Ackerschmalwand) zeigen das Muster der Hormontätigkeit durch Bildung des Glühwürmchen-Enzyms Luciferase an. Eine lokale Anhäufung des Hormons macht sich als starkes Leuchten bemerkbar

Bild: TUM

erfordert eine ruhige Hand (Bilder 1 – 3). Schließlich wird der Pollen einer Spenderpflanze auf die Narbe des Fruchtknotens aufgetragen (Bild 4) und zwei bis drei Wochen später können Samen mit einer neuen Genkombination für weitere Untersuchungen geerntet werden

Fotos: Eckert / Heddergott, TUM

Wissenschaftler messen die Wasserversorgung eines Blattes mithilfe eines an der Universität Würzburg entwickelten Drucksensors. Gut mit Wasser versorgte Blätter besitzen einen hohen Innendruck (Turgor), ein Absinken des Druckes zeigt Wassermangel an

Foto: Eckert/Heddergott, TUM

hydrostatischen Druck im Blattgewebe bestimmt. Die Werte geben Aufschluss über die Wasserversorgung des Blattes und indirekt auch Hinweise auf den Öffnungsgrad der Spaltöffnungen. Der lässt sich auch mittels Wärmebildkamera direkt sichtbar machen: Sind die Stomata offen, findet Transpiration statt und die Blattoberfläche bleibt kühl, geschlossene Spaltöffnungen lassen die Temperatur steigen. So können die Wissenschaftler feststellen, wie empfindlich einzelne Pflanzen auf Trockenstress reagieren: Wann schließen sie, einem Stressor ausgesetzt, ihre Spaltöffnungen? Reagiert ein Exemplar frühzeitig, könnte es ein Kandidat sein für das Herauszüchten trockenresistenter Pflanzen.

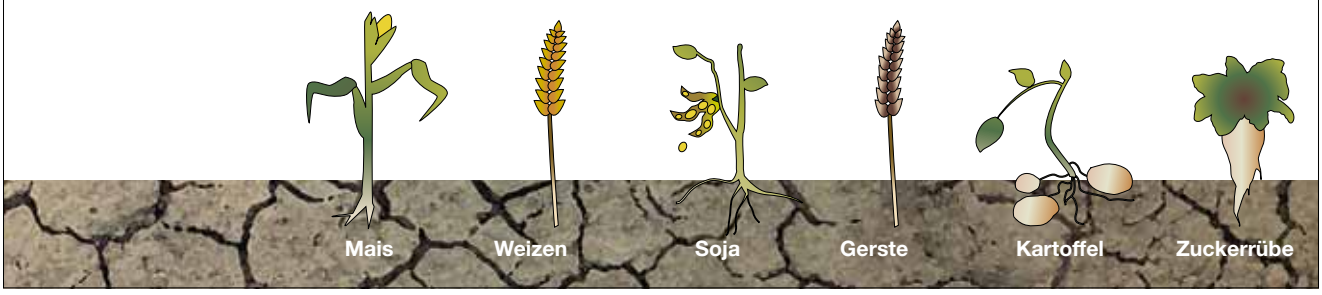
Glühwürmchengen lässt Pflanzen leuchten

Weitere Arbeiten widmen sich dem konkreten Mechanismus, über den die Pflanzenzellen das Signal der Trockenheit in eine gesteigerte ABA-Produktion übersetzen. Ein von den Wurzeln wahrgenommener Wassermangel wird in einer sehr schnellen Reaktion als hydraulisches Signal an alle Teile der Pflanzen gemeldet, die daraufhin sofort die Biosynthese von ABA ankurbeln. Doch was geschieht zwischen dem hydraulischen Signal und der ABA-Wirkung, welche biochemischen Prozesse laufen ab? Um Antworten auf solche Fragen zu finden, fahnden die Forscher in einer Vielzahl selbst produzierter Mutanten der Ackerschmalwand nach solchen Individuen, die auf das Stresssignal hin besonders viel ABA produzieren. Pfiffig die Art, wie sie das testen: Sie bauen den Pflanzen das Gen ein, das Glühwürmchen zum Leuchten bringt, plus eine Promotorsequenz, die durch ABA aktiviert wird. Je mehr ABA eine Pflanze bildet bzw. je empfindlicher sie auf ABA reagiert, desto heller erstrahlt sie. Manche Pflanzen bringen es auf ein rund zehnmal so helles Leuchten wie normale Exemplare. An solchen Reporterpflanzen wollen die Wissenschaftler herausfinden, welche Mutation in welchem Gen dieses Phänomen bedingt.

Ihre für die landwirtschaftliche Praxis relevante Grundlagenforschung hat die Botaniker aus Weihenstephan auch in den neu eingerichteten bayerischen Forschungsverbund FORPLANTA gebracht, der im August 2010 seine Arbeit unter dem Motto „Pflanzen fit für die Zukunft“ begonnen hat. Zunächst drei Jahre lang fördert das bayerische Wissenschaftsministerium die Studien zur Stressresistenz von Pflanzen mit insgesamt 1,5 Millionen Euro. Beteiligt sind neben der TUM die Universität Erlangen-Nürnberg, die LMU München, die Universität Würzburg und die Hochschule für Philosophie München. Die naturwissenschaftlichen Projekte untersuchen die Anpassungsfähigkeit von Pflanzen an insbesondere durch den Klimawandel hervorgerufene Stressoren. Langfristiges Ziel ist es, Nutzpflanzen durch gezielte Veränderung zu ertüchtigen und so ihren Ertrag unter veränderten Klimabedingungen zu sichern und zu steigern. Ein begleitendes geisteswissenschaftliches Projekt analysiert die kulturell-ethischen Aspekte der Debatte um die Grüne Gentechnik. *Sibylle Kettembeil*

Ertragsverlust durch biotischen (z. B. Schädlinge oder Unkrautbewuchs) und abiotischen Stress (z. B. Trockenheit, Hitze oder Kälte)

	Mais	Weizen	Soja	Gerste	Kartoffel	Zuckerrübe
Rekordernte *(kg/ha)*	19300	14500	7390	11400	94100	121000
Mittlere Ernte *(kg/ha)*	4600	1800	1610	2050	28300	42600
Mittlerer Verlust *(biotisch)*	1950	730	666	765	17775	17100
Mittlerer Verlust *(abiotisch)*	12700	11900	5120	8590	50900	61300
Abiotisch *(% Rekordernte)*	65,8	82,1	69,3	75,4	54,1	50,7



Grafik: ediundsepp