

Chlorophyllfluoreszenz und Wassergehalt einer Fusionsnachkommenschaft von *P. tremula* x *P. tremuloides* und *Populus nigra* unter Trockenheit

Anne Hennig¹, Steffen Fehrenz¹, Daniel Weber²

¹ Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt, Abt. Waldgenressourcen, 34346 Hann. Münden; ² Daniel-Weber-Biomonitoring, Heinrich-Hoffmann-Str. 5, 60528 Frankfurt

Die Verfügbarkeit von Wasser ist beim Anbau von Bäumen auf einer Kurzumtriebsplantage (KUP) ein entscheidender Faktor. Einerseits kann eine Trockenperiode während der Anlagephase zu hohen Ausfällen führen. Andererseits soll die Anlage von KUP auf Marginalstandorten erfolgen, um eine Konkurrenz mit der Nahrungsmittelproduktion auszuschließen. Diese Flächen weisen allerdings häufig neben einer verringerten Nährstoffverfügbarkeit auch eine unzureichende Wasserversorgung auf. Um eine wirtschaftliche Produktion zu ermöglichen, ist die Züchtung trockenoleranter Sorten für den Anbau in KUP erforderlich.

Da für die Photosynthese Wasser als Elektronendonator benötigt wird, kann sich ein Defizit im Wasserhaushalt direkt auf die Photosynthese auswirken und die Fluoreszenz des Chlorophyll a-Moleküls im Reaktionszentrum des Photosystems II beeinflussen [1]. Die Messung der Chlorophyllfluoreszenz kann als nicht-invasives, frühzeitiges Diagnosewerkzeug beispielsweise zur Identifikation von leistungsstarken Klonen eingesetzt werden. Sie ermöglicht einen detaillierten Einblick in die Effizienz der einzelnen Bestandteile der Photosynthesekette, wie z.B. in den für die Elektronenversorgung der photosynthetischen Elektronentransportkette verantwortlichen wasserspaltenden Komplex [1, 2].

Die verschiedenen Pappelarten und Hybriden besitzen unterschiedliche Eigenschaften. Während die Hybride *Populus tremula* x *Populus tremuloides* (Hybridaspes) an den Boden geringe Ansprüche hinsichtlich des Wasser- und Nährstoffgehaltes stellt [3], zeigt die Art *Populus nigra* eine gute Vermehrbarkeit über Steckhölzer, eine für den Anbau in KUP ebenfalls wichtige Eigenschaft. Da diese Arten durch klassische Kreuzung schwer zu erhalten sind, wurden Protoplastenfusionen zwischen der Hybride *P. tremula* x *P. tremuloides* und der Art *Populus nigra* durchgeführt.

Material und Methoden:

Pflanzen des Hybriden *P. tremula* x *P. tremuloides* (Klon 'Münden 2') und der Art *P. nigra* wurden in vitro etabliert, anschließend Protoplasten isoliert und diese einem elektrischen Feld ausgesetzt (durchgeführt von der Fa. Phytowelt, Köln). Die Fusionsprodukte wurden an drei Mikrosatelliten-Loci analysiert und *P. tremula* x *P. tremuloides* zugeordnet (durchgeführt vom von Thünen Institut, Institut für Forstgenetik, Großhansdorf).

Die Pflanzen wurden in Erde überführt und bis zu einer Größe von durchschnittlich 37 cm kultiviert. Anschließend wurde die Wasserversorgung der Pflanzen eingestellt.

Die Messung der Chlorophyllfluoreszenz wurde an Tag 5 nach der letzten Wassergabe mit einer Pocket PEA (Hansatech Ltd. England) durchgeführt. Die Daten wurden mit einer optimierten und ergänzten Spezialsoftware (Biolyzer, Prof. R. Strasser, Genf & Daniel-Weber-Biomonitoring, Frankfurt) aufbereitet und eine differentielle Fluoreszenzkinetik (ΔW_k) durch Subtraktion der zwischen 50 Mikrosekunden und 2,0 Millisekunden normalisierten Messkurven graphisch aufgetragen (jeweils nicht bewässert minus bewässerte Kontrolle). Aktivitätsunterschiede des Wasserspaltekomplex lassen sich im Bereich zwischen 300 und 600 μ s ablesen.

Um den Wasserstatus der Pflanzen zu bestimmen wurde der Relative Blattwassergehalt durch Wiegen (Frischgewicht, Turgeszenzgewicht, Trockengewicht) an Tag 7, 19 und 26 nach der letzten Wassergabe bestimmt.

Ergebnisse und Diskussion:

Trockenstress bei Pflanzen kann zuverlässig durch das Messen der von Blättern emittierten Chlorophyllfluoreszenz erkannt werden. Abbildung 1 zeigt die differentielle Kinetik ΔW_k am Tag 5 nach der letzten Wassergabe (Abb. 1 a) und der Relative Wassergehalt nach 26 Tagen Trockenheit (Abb. 1 b) von 10 Linien (14-01 bis 14-10) einer Fusionsnachkommenschaft. Zusätzlich wurden die Daten für den Ausgangsklon der Fusion (18-03) und den triploiden Klon 'Austria' (18-01) aufgetragen.

Eine typische Erhöhung der Chlorophyll a-Fluoreszenz in der differentielle Fluoreszenzkinetik unter Hitze- und Trockenstress konnte z.B. auch von Oukarroum et al. [1] und Guissé et al. [4] beobachtet werden.

Obwohl für alle Fusionslinien das gleiche Ausgangsmaterial in den Protoplastenfusionen eingesetzt wurde, unterscheiden sich die einzelnen Linien zum Teil stark in ihren Relativen Blattwassergehalten und in ihrer differentielle Fluoreszenzkinetik voneinander. Ursache für die erhaltenen Unterschiede könnte die unterschiedliche chromosomatische Zusammensetzung der Genome sein. Bei der Protoplastenfusion könnten einzelne Chromosomen oder Chromosomenabschnitte nicht übertragen worden sein. Dies könnte zu einer unterschiedlichen Trockentoleranz führen.

Eine deutlich erhöhte Chlorophyllfluoreszenz konnte bereits nach 5 Tagen Trockenheit in den Linien 14-06, 14-07, 14-08 und 14-09, sowie dem Klon 'Austria', beobachtet werden (Abb. 1 a).

In einem Vergleich mit dem Relativen Blattwassergehalt (siehe Abb. 1 b) zeigte sich, dass die Linien 14-07, 14-08, 14-09 und der Klon 'Austria' nach 26 Tagen Exposition die geringsten Blattwassergehalte aufwiesen. Umgekehrt besaßen Linien, deren Chlorophyllfluoreszenz am Tag 5 nicht erhöht war, einen deutlich höheren Relativen Wassergehalt. Insgesamt konnte eine Korrelation zwischen der differentielle Chlorophyllfluoreszenz zum Zeitpunkt 300 μ s und dem Relativen Blattwassergehalt von -0,60 nachgewiesen werden (Abb. 1 c)

In diesem Versuch konnte gezeigt werden, dass verschiedene Linien aus Protoplastenfusionsexperimenten, für welche die selben Ausgangsklone eingesetzt wurden, unterschiedlich auf Trockenheit hinsichtlich ihres Relativen Blattwassergehaltes reagierten und sich dies bereits teilweise nach 5 Tagen in einer erhöhten Chlorophyllfluoreszenz nach 300 μ s im Vergleich zu den entsprechenden bewässerten Kontrollpflanzen zeigte. Die Analyse der differentielle Fluoreszenzkinetik während der ersten 2 Millisekunden einer insgesamt eine Sekunde dauernden Messung kann einen Hinweis auf trockenolerante Sorten bereits nach wenigen Tagen Wassermangel geben, wobei auch genetisch ähnliches Material unterschiedlich reagiert.

Ausblick:

Die differentielle Fluoreszenzkinetik stellt nur einen Teilaspekt der durch die Messung der Chlorophyllfluoreszenz gewonnenen Informationen dar. Es lassen sich eine Vielzahl unterschiedlichster Parameter aus den Punkten der Messkurven bestimmen, mit der sich z.B. die photosynthetische Leistungsfähigkeit, der Wirkungsgrad der Photosysteme oder das Verhältnis von transportierten Elektronen pro absorbiertem Lichtquant berechnen lassen. Zusätzliche Parameter zur frühzeitigen Erkennung trockenoleranter Sorten können identifiziert werden.

Weiterhin sollten einzelne Linien, die trockenolerant waren bzw. sensibel auf Trockenheit reagierten, mit Mikrosatelliten hinsichtlich des Fehlens einzelner Chromosomen bzw. -abschnitte untersucht werden.

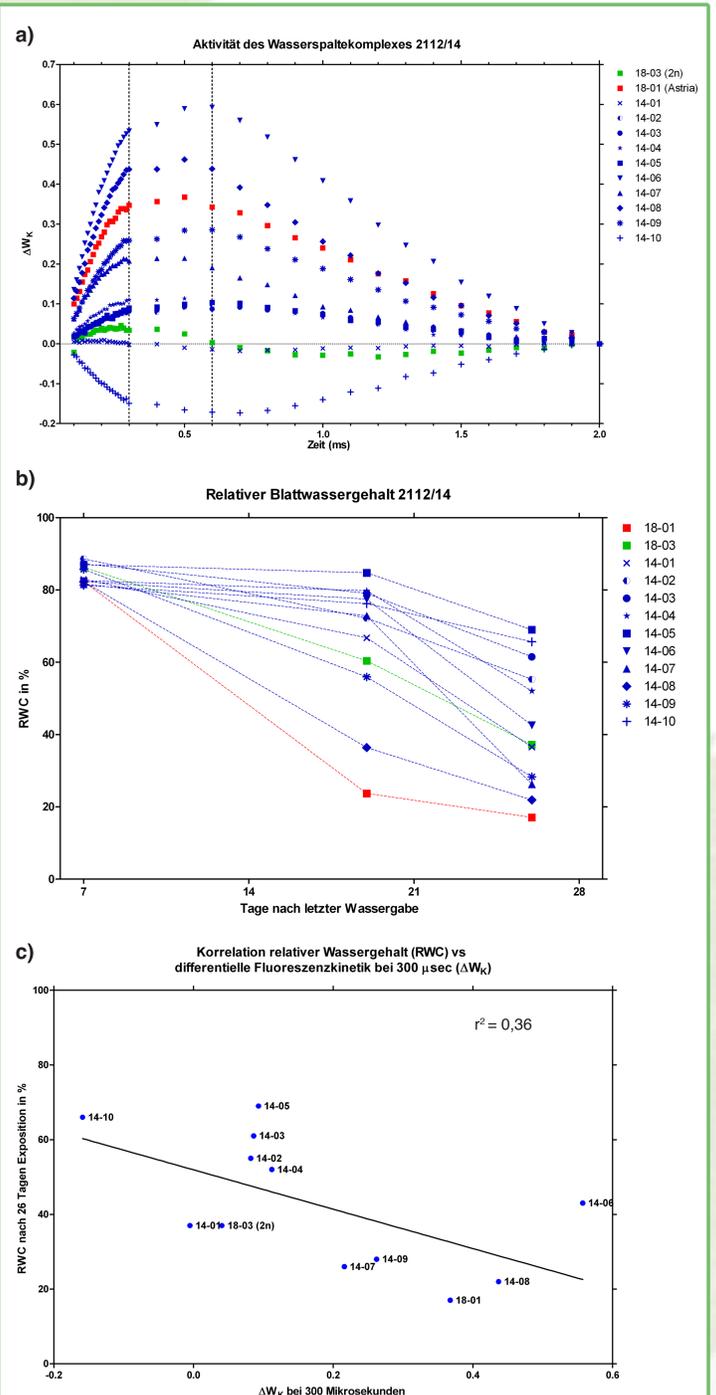


Abb. 1:
a) Differentielle Fluoreszenzkinetik im initialen Bereich der Photosynthesekette nach 5 Tagen Exposition
b) Relativer Blattwassergehalt nach 26 Tagen Exposition
c) Korrelation der differentielle Fluoreszenzkinetik und des Relativen Blattwassergehaltes

Der Versuch wurde im Rahmen des Projektes ZÜEND durchgeführt, das von der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. finanziert wird. Besonderer Dank gilt Silvia Köhler und Tina Wetzel für die optimale Betreuung der in vitro-Kulturen.

Literatur:

- [1] Oukarroum, A.; El Madidi, S.; Schanser, G.; Strasser, R. (2007): Probing the response of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. Environmental and Experimental Botany 60:438 - 446
- [2] Weber, D.; Fehrenz, S.: Chlorophyllfluoreszenz als Diagnosewerkzeug zur Quantifizierung von photosynthetischen Leistungsparametern bei Pappeln und Weiden. Posterbeitrag zum FastWOOD Symposium 2011
- [3] Mohrdiek, O. (1977): Hybridaspes auf Grenzertragsböden. Forstarchiv 48:158 - 163
- [4] Guissé, B.; Srivastava, A.; Strasser, R.J. (1997): The polyphasic rise of the chlorophyll a fluorescence (OKJIP) in heat-stressed leaves. Archs. Sci. Genève 48:147 - 160

