

WIRKUNG VON UV-B STRAHLUNG AUF PFLANZEN

ALEXANDER BAUMANN UND ROMAN ULM

*Institut für Biologie II/ Botanik, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg,
Schänzlestraße 1, 79104 Freiburg, Deutschland*

1. Einleitung

Das Erkennen und Verarbeiten von verschiedensten Umwelteinflüssen ist von entscheidender Bedeutung für das Überleben und Wohlergehen aller lebenden Organismen. Im Gegensatz zu Tieren sind Pflanzen in der Regel ortsgebunden. Dieser Lebensstil zwingt Pflanzen dazu Änderungen in ihrer Umwelt (Strahlung, Wasser- und Nährstoffverfügbarkeit, Temperatur, Fraßfeinde, Krankheitserreger, u.a.) möglichst effektiv zu erkennen und ihnen durch Anpassung zu begegnen. Diese kann sich auf verschiedenen Stufen manifestieren. So besitzen Pflanzen zum Beispiel breitangelegte Synthesemöglichkeiten für ein Arsenal an Sekundärstoffen in der biochemischen Anpassungsstrategie. Zudem ist die Entwicklung von Pflanzen kein starr ablaufender Prozess, sondern nutzt Informationen von außen und integriert diese mit endogenen Entwicklungsprogrammen. Diese Möglichkeit der kontinuierlichen Morphogenese („Gestaltsbildung“) erlaubt Anpassung über Änderungen der Wuchsform und der Gestalt.

Licht ist einer der wichtigsten Umweltfaktoren überhaupt für Pflanzen. So ist Licht die ultimative Energiequelle, und Pflanzen haben im Laufe der Evolution die Fähigkeit optimiert, Sonnenlicht im Prozess der Photosynthese auszunützen. Zu diesem Zweck stimmen sie einen Großteil ihrer Entwicklung auf die optimale Ausnutzung des vorhandenen Lichtes ab. Es verwundert deshalb nicht, dass Pflanzen eine erstaunliche Kapazität zur Erkennung, Antizipation und Reaktion auf Fluktuationen verschiedener Parameter der Lichtumgebung entwickelt haben. Sie besitzen die Fähigkeit An- und Abwesenheit, spektrale Qualität (Wellenlänge), Photonenfluss (Intensität), Einstrahlungsrichtung und Tageslänge zu erkennen. Die Wahrnehmung über Rezeptoren und die folgende integrative Verarbeitung der eingehenden Signale ist von immenser Bedeutung zur Etablierung feinabgestimmter, adäquater Reaktionsprozesse.

Das „Sehvermögen“ von Pflanzen umfasst den Wellenlängenbereich von etwa 290-800 nm, während für das menschliche Auge etwa 400-750 nm sichtbar sind. Es lassen sich mindestens drei Typen von pflanzlichen Lichtrezeptoren unterscheiden: Rotlicht- (Phytochrome), Blaulicht-/UV-A- (Cryptochrome und Phototropine) sowie UV-B-Rezeptoren (molekular noch unbekannt). Es ist das pflanzliche „Sehen“ im Bereich der Ultraviolett (UV)-B Strahlung (280-320 nm), das in diesem Kapitel besonders beleuchtet wird.

Die im Sonnenlicht vorhandene UV-B-Strahlung stellt als Stressfaktor einen kritischen Umwelteinfluss für Pflanzen dar. So kann sie schädigend auf das genetische Material des Erbguts (DNA, Desoxyribonukleinsäure) und andere essenzielle molekulare Komponenten wirken, und dadurch das Wachstum und die Entwicklung von Pflanzen negativ beeinflussen. Da Pflanzen für die Photosynthese auf das einfallende Sonnenlicht angewiesen sind, sind sie unweigerlich immer auch UV-B-Strahlung ausgesetzt. Dies bedingte die Entwicklung von wirkungsvollen Schutz- und Reparatur-Mechanismen, wie zum Beispiel die Synthese von Sonnenschutzpigmenten und die Reparatur von Erbgutschäden. Andererseits wird UV-B Strahlung von Pflanzen auch als „nützliches“

Umweltsignal zur Steuerung gewisser Wachstums- und Entwicklungsprozesse genutzt. Dies führte in der Evolution zur Bildung einer noch weitgehend unbekannt UV-B-Sensorik und -Signalverarbeitung deren Aufklärung eines der Hauptthemen der heutigen UV-B-Forschung darstellt. Die Erforschung von UV-B Wirkungen auf Pflanzen hat eine große Tradition an der Universität Freiburg. Wir werden dieses Kapitel auf den regulatorischen Aspekt der UV-B Wirkung auf Pflanzen, mit Schwerpunkt auf neueren Ergebnissen zur UV-B Antwort der genetischen Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* (Ackerschmalwand) fokussieren. Zunächst sollen aber noch einige Hintergrundinformationen zur UV-B Strahlung gegeben werden.

2. UV Strahlung

2.1. Klassifizierung und Eigenschaften

UV-Strahlung wird in der medizinischen und biologischen Forschung konzeptuell in UV-C- (200-280 nm), UV-B- (280-320 nm) und UV-A-Strahlung (320-400 nm) unterteilt (Abb. 1). Trotz einer gewissen Willkürlichkeit dient diese Klassifizierung als nützliches Werkzeug um Effekte der UV-Strahlung auf Organismen beurteilen zu können.

Die Energie eines Lichtquants (Photon) hängt invers von seiner Wellenlänge ab. UV-C Strahlung stellt somit die UV-Strahlung mit der höchsten Energie dar. Diese Strahlung ist potentiell sehr schädlich für Organismen, wird aber durch Sauerstoff und Ozon in der Erdatmosphäre vollständig absorbiert und kann deshalb nicht bis zur Erdoberfläche vordringen. Dies war im Verlauf der Erdgeschichte nicht immer so. Bis zum Beginn der Produktion von Sauerstoff durch neuartige („oxygene“) photosynthetische Organismen vor ca. 2 Milliarden Jahren stellte solare UV-C Strahlung einen begrenzenden Faktor bei der Entwicklung des Landlebens auf der Erde dar. Es wird angenommen, dass der Aufbau von stratosphärischem Ozon, der mit der Anreicherung von atmosphärischem Sauerstoff auf annähernd heutige 21% einherging, den Zeitpunkt der Landpflanzen-Evolution vor ca. 0.5 Milliarden Jahren stark beeinflusst hat.

Die potentiell schädigende UV-B Strahlung wird durch die stratosphärische Ozonschicht (ca. 25 km über der Erdoberfläche) fast vollständig absorbiert. Photonen mit kürzeren Wellenlängen als 290 nm können auf der Erdoberfläche nicht mehr nachgewiesen werden. Die Menge an Photonen im Bereich von 290-320 nm die auf die Erdoberfläche dringen, steigt dagegen graduell mit der Wellenlänge an. Generell sind weniger als 0.5% der Sonnenenergie, die auf die Erdoberfläche trifft, der UV-B Strahlung zuzuordnen. Die Auswirkungen dieser Strahlung auf die Biosphäre der Erde sind jedoch einiges gewichtiger als der gering erscheinende Anteil suggeriert.

Die biologisch harmlosere UV-A Strahlung penetriert die Erdatmosphäre vollständig und hat einen wichtigen Einfluss auf Entwicklung und Wachstum verschiedenster Organismen. Sie wird von Pflanzen mit Hilfe von speziellen UV-A-/Blaulicht-Photorezeptoren, den Cryptochromen, erkannt und dient als Informationssignal zur Anpassung von Pflanzen an sich verändernde Lichtverhältnisse. UV-A-/Blaulicht-Photonen sind zudem bei der Photoreaktivierung, einem Reparaturmechanismus für UV-B-induzierte DNA-Schäden, von Wichtigkeit.

2.2. UV-B Strahlung an der Erdoberfläche

Variablen, die die UV-B-Strahlungsstärke auf der Erdoberfläche stark beeinflussen, sind globale Größen wie der Ozongehalt der Atmosphäre und der geographische Breitengrad mit damit

verbundenem Winkel der Sonneneinstrahlung. Daneben sind Meereshöhe, Oberflächenabstrahlung und klimatische Bedingungen, wie die Wolkenbedeckung und der Gehalt von Schwebstoffen in der Atmosphäre, von großer Bedeutung.

Messungen während der letzten Jahrzehnte zeigen, dass die stratosphärische UV-B-absorbierende Ozonschicht aufgrund von industriell produzierten Fluorchlorkohlenwasserstoffen (FCKWs) abnimmt. In die Stratosphäre gelangende FCKWs werden durch solare UV-Strahlung photolysiert und setzen Chlorradikale frei, die mit Ozon (O_3) weiter reagieren und so die Ozonschicht schädigen. Als Folge davon kann vermehrt schädigende UV-Strahlung mit einer Verschiebung zu höherenergetischen, d.h. kürzeren, Wellenlängen bis zur Erdoberfläche gelangen. Im Bereich der Antarktis bilden sich im Jahresverlauf regelrechte „Ozonlöcher“. Vorhersagen über die nächsten Jahrzehnte gehen von einer fortdauernden Reduktion der stratosphärischen Ozonschicht aus. Neuste Satelliten-Messungen lassen jedoch hoffen, dass die Geschwindigkeit der Ozonzerstörung durch FCKWs seinen vorläufigen Scheitelpunkt erreicht oder bereits überschritten hat. Es konnte gezeigt werden, dass eine weitere Zunahme der FCKW-Konzentration in der Stratosphäre gestoppt ist. Es wird davon ausgegangen, dass dies eine erste Auswirkung des Montreal Protokolls (1987) zur Bannung von atmosphärisch wirkenden FCKWs ist. Dennoch wird noch über einen langen Zeitraum geographisch stark variierend mit erhöhter UV-B Strahlung an der Erdoberfläche gerechnet werden müssen.

Neben geographisch und klimatisch bedingten Unterschieden, variiert die Intensität der UV-B Einstrahlung auf Pflanzen stark in Abhängigkeit vom jeweiligen Habitat. So kann am Waldboden bei dichtem Baumbestand die durch das Blätterdach dringende UV-B Strahlung bis auf 1-2% reduziert sein, und selbst im blätterlosen Zustand können bis zu 30% der einfallenden UV-B Strahlung absorbiert werden. Im Gegensatz hierzu müssen freistehende Pflanzen mit der gesamten zu ihnen durchdringenden UV-B Strahlung zurechtkommen. Bei ein und derselben Pflanze sind durch Beschattungseffekte wiederum große Unterschiede zwischen verschiedenen Pflanzenorganen in Abhängigkeit ihrer Position an der Sprossachse zu finden. Bei einzelnen Blättern gibt es zudem Unterschiede zwischen Blattunter- und Blattoberseite, da die in den Blattoberseiten akkumulierten UV-absorbierenden Substanzen eindringende Strahlung wirksam abschwächen können.

3. Destruktive Wirkungen des UV-B auf Pflanzen (Schwerpunkt DNA)

UV-B Strahlung hat einen weitreichenden Einfluss auf das Leben von Pflanzen. Sie ist ein Stressfaktor und erzielt einen Teil ihrer Wirkung durch die Schädigung unterschiedlicher „Ziel“-Moleküle und -Prozesse. Ein wichtiger zusätzlicher Aspekt scheint das spezifische Erkennen von UV-B Strahlung und die daraus resultierende prophylaktische Anpassung der Pflanzen zur Stressabwehr zu sein (Akklimation). Eine nicht-erschöpfende Aufzählung von UV-B Wirkungen auf Pflanzen ist in Tabelle 1 aufgeführt.

Elementare Komponenten der Zelle wie DNA, Proteine und Fettsäuren können durch Absorption von UV-B Strahlen in ihrer Funktion beeinträchtigt werden. Dies bringt eine breite Spannweite an zellulären Problemen mit sich, auf die hier im Weiteren nicht näher eingegangen wird. Unser Hauptaugenmerk gilt der Schädigung der DNA und ihrer Auswirkungen.

3.1. DNA Schaden und Reparatur

Jeder, der schon einmal einen Sonnenbrand hatte, kennt die schädigende Wirkung von UV-Strahlung. Die besondere Gefahr liegt dabei in einer dauerhaften Schädigung des Erbgutes, was Hautkrebs verursachen kann. Auch das pflanzliche Erbgut kann durch UV-B Strahlung geschädigt werden. So kann sie feste DNA-Protein und DNA-DNA Bindungen hervorrufen. Zudem führt UV-B zur Bildung von reaktiven Sauerstoffmolekülen und somit indirekt zu aberranten Modifikationen der DNA (oxidative Schädigung). Der durch UV-B verursachte Hauptschaden an der DNA resultiert aber aus der Dimerisierung benachbarter Pyrimidine (v.a. Thymin-Dimere) im DNA Molekül. Sie beruht auf der besonderen chemischen Struktur der Nukleotide die UV-Photonen im UV-B und UV-C-Bereich mit einem Maximum bei 260 nm absorbieren. Diese Modifikation der DNA kann zu einer Hemmung der für die Zellteilung notwendigen Verdopplung des Erbgutes (Replikation) und des für die Produktion von Proteinen benötigten Ableseprozesses (Transkription) führen. Eine Behinderung dieser essenziellen Prozesse bewirkt unter anderem eine Hemmung des Wachstums und im Extremfall das Absterben der betroffenen Zellen. Akkumulierte Mutationen des vegetativen Pflanzenkörpers können zudem unter Umständen an die Nachkommenschaft weitergegeben werden, da Pflanzen im Unterschied zu Tieren keine separate Keimbahn besitzen und die Differenzierung der Keimzellen erst in einer vergleichsweise späten Phase des Lebenszyklus erfolgt.

Da Pflanzen aufgrund ihrer photosynthetischen Lebensweise immer auch UV-B Strahlung ausgesetzt waren, ist es nicht verwunderlich, dass sie in ihrer Evolution hocheffektive Maßnahmen gegen schädigendes UV-B entwickelten. Dazu gehören Schutzmechanismen die eine Verminderung der ins Gewebe eindringenden UV-B Strahlung mit gleichzeitig möglichst geringer Auswirkung auf den für die Photosynthese notwendigen Lichteinfall bewirken (z.B. Sonnenschutzpigmente, veränderte Wuchsform), „Abfangmoleküle“ für reaktiven Sauerstoff, und Reparaturprozesse, die bereits entstandene Schäden beseitigen.

Alle lebende Organismen besitzen DNA-Reparatursysteme zur Eliminierung von Fehlern in der DNA-Struktur. Ein Beispiel für einen sowohl in Tieren als auch in Pflanzen vorkommenden Reparaturmechanismus ist die Nukleotid-Exzisionsreparatur (NER). Bei diesem Prozess wird eine DNA-Läsion durch spezielle Enzyme erkannt, die DNA an der Schadstelle aufgespreizt, das beschädigte Einzelstrangstück herausgeschnitten und die Lücke wieder mit neuen zum Gegenstrang komplementären Nukleotiden aufgefüllt. Menschen mit einem vererbaren Defekt in einem der beteiligten Gene leiden unter der Erkrankung Xeroderma Pigmentosum und haben eine ausgeprägte Prädisposition für Hautkrebs verursacht durch karzinogene UV-Strahlung im Sonnenlicht. Auch Pflanzen nutzen diesen vom Licht unabhängigen Prozess zur Reparatur von DNA-Läsionen. Interessanterweise sind die beteiligten Pflanzengene denen in Tieren sehr ähnlich und Defekte in diesen Genen resultieren auch in erhöhter UV-Sensitivität, die teilweise mit Wachstums- und Entwicklungsstörungen einhergeht.

Ein in Pflanzen und verschiedenen Tieren (nicht aber in Säugetieren) vorkommender lichtabhängiger Reparaturprozess ist die Photoreaktivierung, die von einer speziellen Klasse von Enzymen (sog. Photolyasen) fehlerfrei bewerkstelligt wird. Sie absorbieren Blau-/UV-A-Photonen und nutzen die Energie zum Bruch der Thymin-dimere, die bei der Absorption von UV-B Strahlung durch DNA auftreten. Pflanzenmutanten die einen Defekt in diesem DNA-Reparaturprozess aufweisen, zeigen eine erhöhte UV-Sensitivität.

Erhöhte UV-B Strahlung intensiviert zudem einen in vegetativen Pflanzenzellen nur selten auftretenden Prozess (somatische Rekombination), durch den sequenzähnliche DNA-Fragmente neu arrangiert werden können. Dies deutet darauf hin, dass dieser Mechanismus auch zur Behebung von UV-B Schäden an der DNA benutzt werden kann (Rekombinationsreparatur). Zugleich ist aber auch

zu erwarten, dass erhöhtes UV-B die Genom-Stabilität von Pflanzen-Populationen reduziert. Einen ähnlichen Effekt kann die UV-bedingte Aktivierung von Transposonen haben. Diese „hüpfenden Gene“ können sich an zahlreichen Stellen in das Genom ihres Wirtes einfügen und dadurch kodierende Sequenzen unterbrechen oder die Genregulation beeinträchtigt.

3.2. Sonnenschutz und Auswirkungen

Die Haut eines Menschen adaptiert sich an erhöhte Sonneneinstrahlung durch Bildung von Schutzpigmenten, den Melaninen. Ein ähnlicher Prozess ist bei Pflanzen zu beobachten. UV-B Strahlung aktiviert die Synthese von Schutzpigmenten, v.a. Phenylpropanoiden, welche UV-B in den äußeren Zellschichten absorbieren. Weiterhin sind gewisse Wuchsformen von Pflanzen unter anderem als Anpassung an eine sich in ihrer Stärke variierenden UV-B Strahlung zu verstehen. Beispiele hierfür sind eine gedrungene Wuchsform mit verdickten und kleineren Blättern, eine Zunahme des Verzweigungsgrades und damit der Schattenbildung sowie eine veränderte Zusammensetzung des Oberflächenwachses, welches die äußerste Schicht der Blätter bildet. Eine gesunde Pflanze ist in ihrer natürlichen Umgebung normalerweise gegen die dort vorkommende UV-B Strahlung ausreichend geschützt.

In den letzten beiden Dekaden durchgeführte Studien im Freiland zeigen, dass eine erhöhte UV-B Strahlung wahrscheinlich nur relativ geringe negative Auswirkungen auf Wachstum und Entwicklung der untersuchten Pflanzen haben wird. Die beobachteten Effekte variieren jedoch beträchtlich zwischen verschiedenen Arten und Kultivaren. Die häufigsten generellen Effekte sind eine Reduktion der Pflanzengröße, Biomasse und Blattfläche, und eine erhöhte Menge an gewissen Phenolen in den Pflanzengeweben. Verallgemeinernd aber besteht Anlass zur Hoffnung, dass eine erhöhte UV-B Strahlung sich nur geringfügig in reduzierten Ernteerträgen der meisten Nutzpflanzen unserer Breitengrade niederschlagen wird. Ein möglicherweise größerer Einfluss ist auf Ökosysteme zu erwarten. Besser an UV-B Strahlung angepasste Arten könnten im Konkurrenzkampf mit anderen Pflanzenarten einen Vorteil haben. Dies kann zu einer sich verändernden Zusammensetzung der betroffenen Pflanzengemeinschaften führen.

Untersuchungen zur Wirkung „normaler“ im Sonnenlicht enthaltener UV-Strahlung auf Pflanzen wurden ebenfalls im Freiland durchgeführt. Vergleicht man Pflanzen die im Sonnenlicht aufgezogen wurden mit Pflanzen denen der UV-Anteil durch Einsatz von Filtern vorenthalten wurde, lassen sich UV-B-spezifische Wachstums- und Entwicklungseffekte, sowie der Einfluss auf komplexe Lebensgemeinschaften bestimmen. In den meisten Fällen zeigen Pflanzen ohne UV-B ein stärkeres Wachstum, was darauf hindeutet, dass das im Sonnenlicht enthaltene UV-B in gewissem Ausmaß das Wachstum hemmt. Andererseits konnten solche Studien zeigen, dass UV-B Strahlung eine für Pflanzen positive Bedeutung bei der Abwehr von Schädlingen haben kann. UV-B Strahlung hat in vielen Pflanzen einen massiven Einfluss auf die chemische Zusammensetzung. So können die akkumulierten UV-B-absorbierenden Substanzen einerseits vor schädigender UV-B Strahlung, andererseits vor Schädlingen schützen. Gezeigt werden konnte z.B. dass sowohl Insektenbefall als auch UV-B Strahlung gleichartige chemische Prozesse in Tabakpflanzen hervorrufen, die zu einer erhöhten Abwehr gegenüber diesen Fraßfeinden führen. Daneben kann erhöhte UV-B Strahlung auch schädigend auf Pathogene wirken. Diese Beispiele zeigen, dass UV-B Strahlung für Pflanzen unter natürlichen Bedingungen ein Faktor ist, dem aufgrund seiner potentiell schädigenden Wirkung begegnet werden muss, gleichzeitig aber auch, direkt oder als Seiteneffekt, zum eigenen Vorteil genutzt werden kann.

4. Regulierende Wirkungen des UV-B auf Pflanzen

Pflanzen sind aufgrund ihrer sesshaften Lebensweise gezwungen, auf eine sich verändernde Umwelt mit adäquaten physiologischen Änderungen zu reagieren. Eingehende Informationen müssen in einem Signalverarbeitungsprozess gewichtet und miteinander „verrechnet“ werden, um schließlich zu einer feinabgestimmten Aktivierung oder Deaktivierung verschiedener Stoffwechselreaktionen zu führen. Bewerkstelligt wird dies durch ein Netzwerk von interagierenden Signaltransduktionswegen. Ausgangspunkte sind Rezeptoren deren Aktivität in Abhängigkeit der An- oder Abwesenheit ihrer Liganden reguliert werden. Diese wiederum rekrutieren weitere Signalmoleküle die als frühe Komponenten innerhalb von Signaltransduktionsketten fungieren. Häufig erfolgt eine Verstärkung des Signals und ein „Transport“ der Information vom Ort der Erkennung (z.B. Zellmembran) zum Ort der Reaktion (z.B. Zellkern).

Effekte von UV-B Strahlung auf molekularer Ebene lassen sich vereinfachend in zwei Hauptkategorien gliedern: Stress-Reaktionen, die durch Schädigungen hervorgerufen werden, und Regulations-Prozesse, die nicht auf Schädigungen basieren. Theoretisch können eine Anzahl durch UV-B ausgelöster primärer Ereignisse - an der DNA, der photosynthetischen Maschinerie, Membranen, aromatischen Aminosäuren von Proteinen, verschiedenen kleinen Molekülen (z.B. Provitamin D, Zimtsäure, Auxine), bekannten Blau-/UV-A- und Rotlichtrezeptoren, oder speziellen, molekular noch unbekanntem UV-B Photorezeptor(en) - Ausgangspunkte der UV-B Erkennung sein. Eine Verbindung zwischen solchen möglichen Primäreignissen und einer spezifischen Antwort ist in den meisten Fällen jedoch noch nicht etabliert.

4.1. UV-B Photorezeptor

Unser Hauptaugenmerk gilt der Erforschung des „Sehens“ von UV-B Strahlung mit Hilfe eines oder mehrerer speziell dafür bestimmter Photorezeptoren und der sich daran anschließenden Signalverarbeitungsprozesse in Pflanzen, die für die Regulation von spezifischen UV-B Antworten benötigt werden. Die Perzeption von UV-B Strahlung setzt spezifische Erkennungsmechanismen voraus, die auf molekularer Ebene noch weitgehend unbekannt sind.

Im Falle der Blau-/UV-A- und Rotlichtperzeption werden die entsprechenden Photonen durch bestimmte Rezeptorproteine - Phytochrome, Cryptochrome und Phototropine - besonders gut absorbiert und führen zu einer Aktivierung der jeweiligen Photorezeptoren. Diese bestehen aus Proteinen, die mit speziellen lichtabsorbierenden Molekülgruppen, den Chromophoren, verknüpft sind. Die Absorption von Lichtphotonen durch einen Chromophor bewirkt eine Änderung in der Rezeptorprotein-Struktur. Ein durch Lichtabsorption aktivierter Photorezeptor wiederum, ändert den Aktivitätslevel von weiteren Signalmolekülen im folgenden Signaltransduktionsweg. Da UV-B-Strahlung im Prinzip sowohl zur Aktivierung von Blau/UV-A-Photorezeptoren (Cryptochromen) als auch von Phytochromen führen kann, stellt sich die prinzipielle Frage, ob es spezielle UV-B-Photorezeptoren gibt und wenn ja, ob ihre Wirkung unabhängig oder abhängig von der Aktivierung anderer Photorezeptorsysteme ist.

Erste Hinweise zur Existenz eines spezifischen Photorezeptormoleküls in Pflanzen, das analog zu den bekannten Blau-/UV-A- und Rotlichtrezeptoren UV-B Photonen absorbiert und daraufhin eine UV-B-spezifische Reizkette aktiviert, lieferten zuerst Wirkungsspektren verschiedener UV-B-induzierter Effekte. Hiermit ist die Abhängigkeit der Stärke einer physiologischen Antwort von der Wellenlänge der UV-B Strahlung gemeint, d.h. es beschreibt die Photonenwirksamkeit für eine

Reaktionsgröße als Funktion der Wellenlänge. Solche Wirkungsspektren ermöglichen es, die Lage der Absorptionsgipfel des an einer physiologischen Reaktion beteiligten Photorezeptors festzulegen. Beruht der Erkennungsprozess auf einem „unspezifischen“ Effekt wie z.B. der Schädigung von Nukleinsäuren oder Proteinen, sind Photonenwirksamkeits-Maxima der gemessenen Reaktion bei einem Wellenlängenbereich zu erwarten der besonders hohe Schädigungen hervorruft (d.h. im UV-C Bereich). So sind die stärksten Protein- und DNA-Schäden bei 280 bzw. 260 nm messbar. Im Falle einer physiologischen Antwort die durch einen spezifischen UV-B Photorezeptor ausgelöst wird, sollte hingegen das Maxima im Bereich des an der Erdoberfläche vorkommenden UV-Bs zwischen 290 und 320 nm liegen. Eckard Wellmann und Mitarbeiter (Universität Freiburg) konnten für die UV-B-induzierte Pigmentsynthese (Flavonoide) in verschiedenen Pflanzensystemen eine maximale UV-B Wirkung bei ungefähr 300 nm nachweisen. Dies war ein erster Hinweis auf die Existenz eines spezifischen UV-B Photorezeptors in Pflanzen. Die Flavonoid-Akkumulation ist heute ein wohlbekannter spezifischer UV-B Effekt der durch den postulierten UV-B Photorezeptor reguliert wird. Im Gegensatz dazu, korreliert die Isoflavonoid-Bildung und die kürzlich beschriebene Induktion einer β -1,3-Glukanase - auf der Ebene von Gentranskription, Protein Synthese und enzymatischer Aktivität - mit UV-B-bedingter DNA Schädigung.

Hans Mohr und Mitarbeiter (Universität Freiburg) fanden zudem mehrere Photomorphosen die nicht durch Blau- oder Rotlicht, sondern erst durch Bestrahlung mit UV-B ausgelöst werden. Interessanterweise stellten die Autoren fest, dass die Wirkung dieser UV-B-Rezeptor-vermittelten Antwort unter der strikten Kontrolle des Phytochromsystems war, d.h. die UV-B-Wirkung konnte durch anschließende Bestrahlung mit einem Dunkelrot-Lichtpuls, welcher Phytochrome inaktiviert, verhindert werden. Da ähnliche Befunde auch für die Blaulichtwirkung auftraten, wurde die Hypothese der Koaktion der Photosensoren aufgestellt: die Lichtabsorption sowohl der UV-B- als auch der Blaulicht-Photorezeptoren moduliert die Empfindlichkeit einer Photoantwort gegenüber physiologisch aktivem Phytochrom, so dass Phytochrome also letztendlich die zentralen Signalgeber seien.

5. UV-B-Signaltransduktion

Die Kommunikation der von Pflanzen wahrgenommenen UV-B Strahlung bis zur physiologischen Antwort führt auch über „typische“ Signaltransduktionsketten, die in ein Netzwerk weiterer Signalwege eingebettet sind, bzw. Komponenten dieser Wege mitnutzen. In der Literatur beschriebene Signaltransduktionskomponenten und -mechanismen umfassen verschiedene pflanzliche Wachstumsfaktoren (Phytohormone), reversible Protein-Phosphorylierung, reaktive Sauerstoffmoleküle, Kalzium (Ca^{2+}) und Transkriptionsfaktoren (Abb. 2). Letztere stehen häufig am Ende von Signaltransduktionswegen die zu Genexpressionsänderungen im Zellkern führen. Noch sind unsere Kenntnisse über die UV-B Signaltransduktion höchstens als Stückwerk zu bezeichnen.

Ein Beispiel für eine sehr schnelle Reaktion ist die durch UV-B Strahlung innerhalb von wenigen Minuten induzierte Aktivierung von spezifischen Kinasen, so genannten Mitogen-aktivierten Protein (MAP) Kinasen. Protein-Kinasen katalysieren den Transfer von Phosphorgruppen an ihre Ziel-Proteine, welche ihrerseits spezielle zelluläre Funktionen einnehmen. Diese Phosphorylierung kann zu einer Änderung des Aktivitätszustandes dieser Proteine führen. Ein Merkmal solcher Kinasenkaskaden ist die Integration verschiedener Umweltreize. So scheinen die UV-B-aktivierten MAP Kinasen auch durch andere Signale wie Verwundung und Pathogenbefall aktiviert zu werden. Diese Kinasen agieren in einem Signalverarbeitungsnetzwerk, dessen Output zu einer gesteigerten Fitness der Pflanzen gegenüber diesen Schadereizen führt. Es wird vermutet, dass dies eine mögliche

molekulare Grundlage für das erhöhte Abwehrpotenzial UV-B-bestrahlter Pflanzen gegenüber Fraßfeinden und Pathogenen darstellt.

Ein relativ gut erforschter zellulärer Botenstoff ist das kleine Ca^{2+} -Ion. Als Antwort auf Umweltveränderungen können sich innerhalb einer Zelle spezifische Ca^{2+} -Signaturen, das heißt lokalisierte, sich zeitlich ändernde Ca^{2+} -Konzentrationsgradienten, aufbauen, die von der Zelle mit Hilfe Ca^{2+} -bindender Proteine dekodiert werden können. Obwohl in den meisten Fällen noch nicht klar ist, wie das Ca^{2+} -Signal „gelesen“ wird, kennt man eine große Anzahl von Proteine mit Ca^{2+} - oder Ca^{2+} /Calmodulin-Bindestellen die daran beteiligt sein könnten. Auch bei der UV-B-Signaltransduktion scheint Ca^{2+} als Botenstoff eine entscheidende Rolle zu spielen. Hanns Frohnmeyer und Mitarbeiter (Universität Freiburg) konnten zeigen, dass der zytosolische Ca^{2+} Gehalt nach UV-B Bestrahlung von Pflanzenzellen ansteigt und mit der Aktivierung des *Chalcon synthase*-Gens (*CHS*) korreliert, welches für ein zentrales Enzym in der Sonnenschutz-Pigmentsynthese kodiert. Ein pharmakologischer Wirkstoff, für den in tierischen Systemen eine hemmende Wirkung auf Ca^{2+} -Kanäle nachgewiesen wurde, blockiert die UV-B-induzierte Aktivierung des *CHS*-Gens.

6. UV-B-regulierte Genexpression

Ein bedeutsamer Teil der durch UV-B Strahlung bei Pflanzen ausgelösten Effekte beruht auf der Aktivierung oder Deaktivierung (Repression) von spezifischen Genen. Die Kenntnis und Analyse von „frühen“ Genen, die durch einsetzende UV-B Strahlung innerhalb von wenigen Minuten bis Stunden differenziell reguliert werden, ist eine wesentliche Komponente zur molekularen Aufklärung der UV-B Antwort.

Bei der Aktivierung eines Gens wird der entsprechende kodierende Bereich von der DNA-Doppelhelix durch eine DNA-abhängige RNA-Polymerase abgelesen und eine korrespondierende einzelsträngige RNA-Kette, die Boten-RNA (mRNA, „messenger-RNA“), erstellt (Transkription). Diese trägt die genetische Information aus dem Zellkern ins Zytoplasma (Grundplasma), dem Ort vieler wichtiger Stoffwechselreaktionen. Eine spezielle zelluläre Maschinerie, die Ribosomen, nutzen dort die mRNA als Matrize für die Synthese des zugehörigen Proteins (Translation). Dieser Vorgang beschreibt das „zentrale Dogma“ der Molekularbiologie, $\text{DNA} \rightarrow \text{RNA} \rightarrow \text{Protein}$. Das heißt, das Wissen um die Regulierung der mRNA Menge kann in vielen Fällen einen Rückschluss auf die Menge des kodierten Proteins geben.

Ein Verfahren, das die gleichzeitige Analyse des Aktivitätsniveaus von tausenden von Genen erlaubt, ist die Microarray-gestützte Genexpressionsanalyse (auch „Gene-Profilung“). Bei ihr erfolgt die Messung des „Aktivitätszustandes“ von Genen indirekt durch die Messung der Konzentration der in der Zelle vorhandenen mRNAs. Sie nutzt das Prinzip der Bindung von Nukleinsäuren an ihre Gegenstücke („Hybridisation“). Unter Microarrays („DNA-Chips“) versteht man kleine Glasplatten auf denen auf kleinster Fläche an definierten Stellen hunderttausende verschiedener kurzer einzelsträngiger DNA-Fragmente fixiert sind, die jeweils ein Gen repräsentieren. Im Idealfall sind auf einem Microarray alle Gene eines Organismus repräsentiert. So ist z.B. ein Microarray mit über 24'000 darauf repräsentierten Genen (von einer Gesamtanzahl von ca. 26'000 Genen) für *Arabidopsis* seit etwa zwei Jahren kommerziell erhältlich (Affymetrix, Inc., Santa Clara, CA).

Für eine Microarray-Analyse werden zuerst alle RNA Moleküle eines Zelltyps, Gewebes oder ganzen Organismus (je nach Fragestellung) isoliert und dann durch ein spezielles, Reverse Transkription

genanntes Verfahren in DNA umgeschrieben (sog. komplementäre DNA, cDNA), durch *in vitro* Transkription vermehrt (sog. cRNA) und markiert. Die Microarrays werden mit einer Lösung, die diese markierten cRNA-Moleküle enthält, inkubiert und anschließend so gewaschen, dass sich unspezifische Bindungen auflösen. Nur markierte cRNA die an einen ihr entsprechenden DNA-Partnerstrang gebunden ist, kann nachgewiesen werden. Die Quantifizierung erfolgt durch Abtasten des Microarrays mit Hilfe eines Laser-Scanners, der die markierte cRNA detektiert. Die Stärke der gemessenen Signale korreliert mit der Anzahl der gebundenen cRNA-Moleküle. Auf diese Weise kann man durch Verwendung mehrerer Microarrays z.B. verschiedene Behandlungen miteinander vergleichen und Aussagen über die Anzahl und Art der aktivierten oder reprimierten Gene machen (Abb. 3).

Mit Hilfe der Microarray-Technologie wurde kürzlich an der Universität Freiburg (in Zusammenarbeit mit dem Friedrich Miescher-Institut in Basel) ein breit angelegtes „Gene-Profilings“ von UV-B-regulierten Genen durchgeführt. Dies ermöglichte die Erfassung von hunderten durch UV-B innerhalb einer Stunde regulierten Genen. Es wurden Keimlinge miteinander verglichen, die entweder ohne UV-B (-UV-B, siehe Abb. 4), mit „niederenergetischem“ (+UV-B1, Wellenlängen bis ca. 295 nm; Abb. 4) oder mit „höherenergetischem“ UV-B (+UV-B2, bis ca. 280 nm; Abb. 4) bestrahlt wurden. Interessanterweise gibt es eine Anzahl an Genen, die spezifisch durch „schwaches“ UV-B reguliert wird, nicht aber, wenn der Wellenlängenbereich in Richtung kürzerwelliges UV-B ausgedehnt wird (z.B. 62 induzierte Gene 1 Std. nach Bestrahlung, Abb. 4). Dies deutet auf getrennte Signalwege hin, die jeweils durch kürzer- oder längerwellige UV-B Strahlung aktiviert werden und sich gegenseitig beeinflussen können. Diese Beobachtung unterstützt die Hypothese des Vorhandenseins eines spezifischen UV-B Photorezeptors, da die differentielle Regulation einer Untergruppe der UV-B-regulierten Gene von der schädigenden Wirkung entkoppelt ist. Ausserdem belegen Untersuchungen in Photorezeptormutanten, dass diese UV-B-Antwort nicht durch die Hauptphytochrome A und B und nicht durch die Cryptochrome 1 und 2 gesteuert sind. Diese Gene sind dementsprechend die besten Kandidaten als molekularer Output des UV-B-Photorezeptor-aktivierten Signaltransduktionweges.

Interessanterweise kodieren ca. 20% der durch UV-B innerhalb von einer Stunde aktivierten Gene für Transkriptionsfaktoren. Diese Proteine spielen bei der Regulation des Aktivitätszustandes ihrer Ziel-Gene eine wichtige Rolle und stellen hervorragende Kandidaten für UV-B-Signaltransduktionskomponenten dar.

7. Analyse von Genfunktionen mit Hilfe von Mutanten

Genetische Ansätze sind instrumental bei der Erkennung und Beschreibung von Genfunktionen. Eine Mutante mit einem Defekt in einem bestimmten Gen kann ein verändertes Aussehen oder eine veränderte Reaktion gegenüber Umwelteinflüssen aufweisen. Dies liefert wertvolle Hypothesen und Rückschlüsse auf die entsprechende Gen- und Proteinfunktion. Es gibt grundsätzlich zwei verschiedene Herangehensweisen: man ist entweder an der Funktion eines bestimmten Gens, oder aber an der Ausprägung eines ganz bestimmten Erscheinungsbilds interessiert. Im ersten Fall sucht man zuerst eine Mutante mit einem Defekt in dem gewünschten Gen und danach nach dem resultierenden Effekt der Mutation („reverse genetics“). Dies wäre der Ansatz um z.B. die mögliche Beteiligung und Funktion der UV-B-induzierten Gene aus dem Microarrayexperiment in der UV-B Antwort zu demonstrieren. Im zweiten Fall sucht man in einem so genannten genetischen Screen zuerst nach einer Mutante die ein gewünschtes Erscheinungsbild hat und danach nach dem in ihr

mutierten Gen („forward genetics“). Diese beiden Vorgehensweisen sollen anhand des HY5 Gens und der *hy5* Mutante illustriert werden.

Anfang der 80ziger Jahre wurde in einem großangelegten genetischen Screen nach *Arabidopsis*-Mutanten gefahndet, die einen Defekt bei der Umstellung von Dunkel- (Etiolierung/ Skotomorphogenese) auf Lichtwachstum (Photomorphogenese) aufweisen. Da dies normalerweise mit einer Hemmung des Längenwachstums einhergeht, wurden *Arabidopsis*-Mutanten selektiert, die nicht derart auf Weißlicht reagieren (d.h. länger sind). In einem solchen Mutanten-Screen wird Saatgut mutagenisiert (z.B. durch Strahlung oder spezielle chemische Substanzen), d.h. es werden an nicht vorhersehbaren Stellen im Genom vererbare DNA-Änderungen erzeugt. In der aus diesem Saatgut hervorgehenden Pflanzenpopulation wurde nach Keimlingen gesucht, die nicht mehr oder nur in reduziertem Ausmaß zur Photomorphogenese fähig sind. Solche Keimlinge weisen nach einsetzender Weißlichtbestrahlung im Gegensatz zu nicht-mutierten Kontrollpflanzen ein stärkeres Längenwachstum auf. Diese so genannten *hy*-Mutanten erhielten ihren Namen aufgrund ihres lang gestreckten Hypokotyls (Sprossstiel unterhalb der Keimblätter). Jene Mutanten ermöglichten die Isolierung der verantwortlichen Genmutationen und die weitere Analyse der Genfunktionen. Neben Defekten in verschiedenen Rot- und Blaulichtrezeptoren wurde in diesem Screen auch die *hy5*-Mutante entdeckt. Nachfolgende Arbeiten zeigten, dass das mutante Erscheinungsbild (sehr stark reduzierte Photomorphogenese) dieser Mutante auf einem Defekt im Transkriptionsregulator HY5 beruht. Dies legt nahe, dass HY5 ein Hauptregulator bei der Umstellung eines Keimlings von Dunkel- auf Lichtwachstum ist; was heute durch eine Anzahl zusätzlicher Ergebnisse unterstützt wird. HY5 wurde also über einen „forward genetics“-Ansatz entdeckt.

Das *HY5* Gen ist auch eines der oben genannten durch das Microarray-Verfahren identifizierten UV-B-regulierten Gene. *HY5* wird innerhalb von einer Stunde durch einsetzende Bestrahlung mit „niederenergetischem“ UV-B aktiviert. Interessanterweise zeigten unsere Experimente, dass die *hy5*-Mutante auch auf UV-B Strahlung nur sehr schwach reagiert (im Vergleich zu den unmutierten Kontrollpflanzen). Einige der durch den Microarray-Ansatz identifizierten UV-B-regulierten Gene scheinen unmittelbar durch HY5 kontrolliert zu werden, da in der *hy5*-Mutante eine UV-B-Induktion dieser Gene unterbleibt. Andere Gene hingegen werden in der *hy5*-Mutante „normal“ durch UV-B induziert. Dies deutet auf mindestens zwei unterschiedliche UV-B Signaltransduktionsmechanismen hin, nämlich einen HY5-abhängigen und einen HY5-unabhängigen Signalweg, bei denen weitere noch unbekannte Signalkomponenten beteiligt sind (Abb. 5). In diesem Fall wurde die Funktion von HY5 in der UV-B Antwort von Pflanzen durch eine „reverse genetics“-Ansatz entdeckt.

Auch UV-B Strahlung scheint bei der Umschaltung von Dunkel- auf Lichtwachstum eine regulierende Rolle zu spielen. Bestrahlt man Keimlinge zugleich mit Weißlicht und mit niederenergetischer UV-B Strahlung, so kann man eine im Vergleich zu reiner Weißlichtbestrahlung verstärkte Hypokotyllängenverkürzung und Pigmentsynthese beobachten. Diese Effekte scheinen nicht auf der unspezifischen Verursachung von DNA-Schäden zu beruhen, da Mutanten die in der DNA-Reparatur defekt sind ein der nicht-mutierten Kontrolle entsprechendes Verhalten aufweisen. Christina Suesslin und Hanns Frohnmeyer (Universität Freiburg) haben sich diesen Umstand zu Nutze gemacht, und in einem UV-B Lichtfeld nach Mutanten gesucht in denen die UV-B-bedingte Längenwachstumshemmung reduziert war. In diesem Screen wurde die *uli3*-Mutante („UV-B light insensitive“) isoliert, die in mehreren molekularen und physiologischen Antworten spezifisch auf UV-B defizitär ist, nicht aber auf andere getestete Lichtqualitäten. Das *ULI3* Gen wurde isoliert und ist primär in den äusseren Zellschichten von Pflanzen exprimiert. Aufgrund der Eigenschaften der *uli3*-Mutante kann abgeleitet werden, dass das *ULI3* Protein ein positiver Regulator der UV-B Antwort in *Arabidopsis* ist.

Verschiedene genetische Screens, wie der obige, wurden mit dem Ziel der Identifizierung des postulierten UV-B Rezeptors bereits von mehreren Arbeitsgruppen angewendet, führten aber bisher nicht zu dem gewünschten Erfolg. Bei dieser Strategie ist es notwendig einen klaren UV-B-spezifischen und nicht auf einer unspezifischen Schädigung beruhenden Effekt für die Suche nach Mutanten auszunutzen. Dieser Effekt sollte entweder eine sichtbare Änderung im Aussehen der Pflanze hervorrufen oder auf molekularer Ebene einen leicht messbaren Parameter verändern und ein Massen-Screening von tausenden von mutagenisierten Pflanzen ermöglichen.

Ein Ansatz der derzeit in unserer Arbeitsgruppe an der Universität Freiburg in Angriff genommen wird, ist das Screening nach *Arabidopsis*-Mutanten, die in der Expression UV-B-gesteuerter Gene, die mit Hilfe des beschriebenen Microarray-Verfahrens identifiziert wurden, defekt sind. Die Veränderung des Aktivitätsgrades eines Gens erfolgt über spezielle regulative DNA-Sequenzen (Kontrollsequenzen) die als Anheftungsstellen für DNA-abhängige RNA-Polymerasen fungieren und als Promotoren bezeichnet werden. Mit Hilfe von molekulargenetischen Routinereaktionen können die den Promotor umfassenden Nukleinsäuresequenzen mit beliebigen Gensequenzen fusioniert werden. Solche können z.B. für ein Enzym kodieren, welches eine relativ leicht messbare Reaktion katalysiert. Derartige künstliche Konstrukte aus Promotor und Fremdgen werden Reportergene genannt. Ein unter Molekularbiologen beliebtes Reportergen kodiert für die Luziferase, ein Enzym, das z.B. in Leuchtkäfern Licht erzeugen kann (Biolumineszenz). Dieses Reportergen kann stabil und damit genetisch vererbbar in *Arabidopsis* Pflanzen eingebracht werden (Transformation). Solche transformierten Pflanzen reagieren auf einsetzende UV-B Strahlung mit einer sich verstärkenden Lichtemission. Abb. 6 zeigt die UV-B-induzierte Lichtemission von mit dem *HY5*-Promotor-Luziferase-Konstrukt transformierten Pflanzen. Diese bilden aktive Luziferase unter der Kontrolle des durch UV-B regulierten Promotors und emittieren in der Folge Licht, das mit einer speziellen Kamera gemessen werden kann.

Das Saatgut solcher mit Reportergenen transformierter Pflanzen kann wiederum künstlich mutagenisiert werden. In einem Massen-„Screen“ wird unter diesen Pflanzen nach Mutanten gesucht, die eine quantitativ veränderte Lichtemission nach UV-B Bestrahlung gegenüber den ursprünglichen, nicht-mutierten transgenen Pflanzen aufweisen. Ist in einer der Mutanten das UV-B Photorezeptorgen oder eine andere essenzielle UV-B Signaltransduktionskomponente defekt, ist eine Blockade der UV-B-induzierten Aktivierung des Leuchtkäfergens und damit eine auf dem Ruhenniveau verbleibende Lichtemission zu erwarten. Der Vorteil dieses genetischen Ansatzes ist die Möglichkeit nach einem klaren Erscheinungsbild unter UV-B Bedingungen, die noch keine sichtbare Änderung in Pflanzen auslösen, zu screenen. Das heißt, das Problem der mit UV-B Strahlung einhergehenden Schädigung kann durch kurze Bestrahlungszeiten minimiert werden. Mit molekulargenetischen Methoden ist es schließlich möglich, mutierte Gene, die zur Ausprägung eines mutanten Erscheinungsbildes führen, zu isolieren. Die Strukturkenntnis des UV-B Photorezeptorgens würde eine sehr wichtige Grundlage zur weiteren Aufklärung der UV-B Erkennung und Signalverarbeitung darstellen.

Diese Arbeit wurde unterstützt durch ein EMBO Langzeitstipendium an R.U. Unsere Arbeitsgruppe wird finanziert durch den Wolfgang Paul-Preis der Alexander von Humboldt-Stiftung an Ferenc Nagy.

Weiterführende Literatur

Ausgewählte Originalarbeiten nur innerhalb des letzten Jahres, ansonsten siehe Literaturangaben in aufgelisteten Übersichtsartikeln.

1. Beggs, C. J., & Wellmann, E. (1994). Photocontrol of flavonoid biosynthesis. In R. E. Kendrick & G. H. M. Kronenberg (Eds.), *Photomorphogenesis in Plants*, 2nd ed. (pp. 733-751). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
2. Caldwell, M. M., Ballare, C. L., Bornman, J. F., Flint, S. D., Björn, L. O., Teramura, A. H., Kulandaivelu, G., & Tevini, M. (2003). Terrestrial ecosystems, increased solar ultraviolet radiation and interactions with other climatic change factors. *Photochem Photobiol Sci*, 2(1), 29-38.
3. Frohnmeier, H., & Staiger, D. (2003). Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. *Plant Physiol*, 133(4), 1420-1428.
4. Greenberg, B. M., Wilson, M. I., Huang, X.-D., Duxbury, C. L., Gerhardt, K. E., & Gensemer, R. W. (1997). The effects of ultraviolet-B radiation on higher plants. In: W. Wang & J. Gorsuch & J. S. Hughes (Eds.), *Plants for Environmental Studies* (pp. 1-35): CRC Press LLC.
5. Kucera, B., Leubner-Metzger, G., & Wellmann, E. (2003). Distinct ultraviolet-signaling pathways in bean leaves. DNA damage is associated with β -1,3-glucanase gene induction, but not with flavonoid formation. *Plant Physiol*, 133(4), 1445-1452.
6. Mohr, H. (1984). Criteria for photoreceptor involvement. In: H. Smith & M. G. Holmes (Eds.), *Techniques in Photomorphogenesis* (pp. 13-42): Academic Press, London.
7. Mohr, H., Drumm-Herrel, H., & Oelmüller, R. (1984). Coaction of phytochrome and blue/UV light photoreceptors. In H. Senger (Ed.), *Blue light effects in biological systems* (pp. 6-19). Berlin: Springer-Verlag.
8. Paul, N. D., & Gwynn-Jones, D. (2003). Ecological roles of solar UV radiation: towards an integrated approach. *Trends Ecol Evol*, 18(1), 48-55.
9. Rozema, J., van de Staaij, J., Björn, L. O., & Caldwell, M. (1997). UV-B as an environmental factor in plant life: stress and regulation. *Trends Ecol Evol*, 12(1), 22-28.
10. Suesslin, C., & Frohnmeier, H. (2003). An Arabidopsis mutant defective in UV-B light-mediated responses. *Plant J*, 33(3), 591-601.
11. Ulm, R., Baumann, A., Oravecz, A., Mate, Z., Adam, E., Oakeley, E. J., Schäfer, E., & Nagy, F. (2004). Genome-wide analysis of gene expression reveals function of the bZIP transcription factor HY5 in the UV-B response of Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101(5), 1397-1402.

Tabelle 1. Ausgewählte Wirkungen von UV-B auf Pflanzen. Nach Angaben in Originalarbeiten zahlreicher Autoren, modifiziert aus Greenberg et al. (1997).

UV-B Strahlungs-bedingte Schäden und ihre Wirkungen

- Veränderte Genexpression
- Degradation von Chlorophyll und Carotinoiden
- Degradation von Proteinen, z.B. Protein D1 und D2 des Photosystems II
- Hemmung der Photosynthese
- Lipidperoxidation
- Reduzierte Biomasse
- DNA-Schäden, v.a. Pyrimidine Dimere
- Wachstumshemmung
- Reduzierte Fertilität
- Reaktive Sauerstoffspezies und ihre Sekundärschäden

Anpassungen und photomorphologische (regulatorische) Antworten auf UV-B Strahlung

- Veränderte Genexpression
- Erhöhte Kapazität zur DNA-Reparatur
- Induktion von Sauerstoffradikalfängern
- Reduziertes Wachstum des Hypokotyls
- Erhöhte Blattdicke
- Expansion und Öffnung der Keimblätter (Kotyledonen)
- Öffnung der Spaltöffnungen (Stomata)
- Erhöhte Phenylpropanoid-Biosynthese (z.B. Flavonoide als Sonnenschutzfaktoren)
- Zunahme des Verzweigungsgrades

Legenden zu Abbildungen:

Abb. 1. Das Sonnenlichtspektrum. Einteilung der Strahlung in UV-C (200-280 nm), UV-B (280-320 nm) und UV-A (320-400 nm), sowie sichtbares Licht (400-750 nm), an welches sich Infrarotstrahlung (>750 nm) anschließt. Durch die Erdatmosphäre dringt Strahlung von ca. 290 nm bis in den fernen Infrarotbereich.

Abb. 2. Stark vereinfachte UV-B Signaltransduktion in Pflanzenzellen. UV-B Strahlung wird durch einen postulierten UV-B Photorezeptor perzeptiert. Die Beschaffenheit und der Aufenthaltsort dieses Rezeptors innerhalb der Pflanzenzelle sind noch unbekannt. Indirekte experimentelle Hinweise deuten auf eine Zellmembranlokalisation hin. Frühe Signaltransduktionsereignisse können unter anderem Ca^{2+} -Konzentrationsänderungen, Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies und Phosphorylierungsreaktionen beinhalten. Im Zellkern werden mit Hilfe von Transkriptionsfaktoren UV-B-regulierte Gene ein- und ausgeschaltet, und dadurch auf breiter Basis Änderungen des Genexpressionsmusters hervorgerufen. Sehr schnelle Prozesse in der Pflanzenzelle können wahrscheinlich direkt ohne eine vorherige Genaktivierung oder -deaktivierung durch UV-B-induziert werden.

Abb. 3. Überblick über die experimentelle Strategie zur Aufklärung der UV-B Signaltransduktion in Pflanzen die im Fachbereich Botanik der Universität Freiburg verfolgt wird. Ein Spektrum des verwendeten UV-B Bestrahlungsfeldes in Abhängigkeit von den benutzten Filtern ist in Abb. 4 dargestellt. Das Microarrayverfahren ist in Kapitel 4.3 näher erläutert. Der Reporter-gen-basierte genetische Mutantenscreen wird in Kapitel 4.4 erklärt. Auf die Untersuchung der Funktion von UV-B-induzierten oder -reprimierten Genen wird im Text aus Platzgründen nicht näher eingegangen.

Abb. 4. UV-B Bestrahlungsbedingungen und resultierende Genexpressionsänderungen. Links: Mit Hilfe von so genannten Kantenabsorptionsfiltern können im gleichen Bestrahlungsfeld unterschiedliche UV-B Wellenlängenbereiche eingestellt werden. Mit einem der Filter erhält man in diesem Feld ähnliche Bestrahlungsbedingungen im UV-B-Bereich wie beim Sonnenlicht (+UV-B1). Das mit diesem Filter erhaltene UV-B wird im Text als „niederenergetisches“ UV-B, das mit einem UV-durchlässigem Quarzglas erhaltene UV-B als „höherenergetisches“ UV-B bezeichnet (+UV-B2). Ein weiterer Filter absorbiert die UV-B Strahlung fast vollständig (-UV-B) und dient als Vergleichskontrolle. Rechts: Im Weißlicht angewachsene *Arabidopsis* Keimlinge wurden für 15 Min. mit UV-B bestrahlt und nach weiteren 45 Min. oder 6 Std. im Weißlicht geerntet, RNA isoliert und Microarrayexperimente durchgeführt (mit >24'000 repräsentierten Genen). Es ist die Anzahl von Genen dargestellt, die im

UV-B nach 1 bzw. 6 Std. zwei- oder mehrfach im Vergleich zur -UV-B Kontrolle aktiviert (Induktion) oder unterdrückt (Repression) werden. Es existieren mindestens 62 durch „niederenergetisches“ UV-B (+UV-B1) induzierte Gene, die im „höherenergetischen“ UV-B (+UV-B2) nicht oder schwächer induziert sind. Dies ist erstaunlich, da die +UV-B1 Strahlung im +UV-B2 Wellenlängenbereich enthalten ist. Ein Modell hierzu ist in Abb. 5 dargestellt. Nach 6 Std. sind nur noch drei durch +UV-B1 reprimierte und ein induziertes Gen zu detektieren. Dies zeigt die transiente Natur der durch +UV-B1 induzierten oder reprimierten Genexpression.

Abb. 5. Vereinfachtes Model der Transkriptionsfaktor HY5-abhängigen und -unabhängigen UV-B Signalwege in Arabidopsis. In *Arabidopsis* gibt es mindestens drei unterschiedliche UV-B Signalwege, die kurzwelligeres und langwelligeres UV-B perzeptieren und zu einer gesteigerten Expression der entsprechenden Gene führen. Der durch +UV-B2 aktivierte Signalweg wirkt antagonistisch auf den durch +UV-B1 aktivierten Signalweg. Manche Gene werden unabhängig vom Transkriptionsfaktor HY5 aktiviert, andere benötigen das funktionelle *HY5*-Gen.

Abb. 6. Luziferase-Reporterassay der UV-B Antwort. Links: Durchlichtphotoaufnahme von drei transgenen *Arabidopsis*-Keimlingen die das *HY5*-Promotor-gesteuerte Luziferase-Reportergen exprimieren. Darunter sind mit Hilfe einer speziellen Kamera (CCD-Kamera) aufgenommene Luziferaselichtemissionen vor der UV-B Bestrahlung (-UV-B) und eine Stunde nach fünfzehnminütiger +UV-B1 Bestrahlung dargestellt. *Rechts:* Zeitliche Entwicklung der Luziferaselichtemission nach einer fünfzehnminütigen Bestrahlung mit (+UV-B1) und ohne UV-B (-UV-B).











