

Zur Rolle der endogenen Abscisinsäure bei Wassermangel in Reben

von

H. DÜRING und A. SCIENZA¹⁾

The role of endogenous abscisic acid during water stress in grapes

S u m m a r y . — Investigations were carried out in order to find out if the diurnal course of transpiration is correlated with changes in the abscisic acid (ABA) content in the leaves of grapes (cv. Riesling) and to study the effect of water deprivation on ABA-content of grape vines (cv. Riesling) and their longitudinal growth.

1. Increases of the ABA-content from 10 to 12 a.m. and from 16 to 18 p.m. were correlated with a decrease in the rate of transpiration whereas a decrease of the ABA-content from 14 to 16 p.m. was correlated with an increase of transpiration. The regulation of stomatal transpiration is supposed to have its origin in changes of hydration in the leaves during a day.

2. The ABA-content in stems of wilting grape vines was markedly higher than that of leaves, so that there might be a translocation of ABA from the leaves to the stem where ABA induces an inhibition of longitudinal growth.

3. ABA seems to be involved in two mechanisms of adaption during water stress: smaller deficiencies are regulated by stomatal movements, whereas severe water deprivation induces shortening of transpiration by limiting longitudinal growth.

Einleitung

Ein Überleben unter wechselnden Umweltbedingungen wird für viele Pflanzen erst durch Anpassungsvorgänge möglich, zu deren Induktion ein sensibles Regulationssystem erforderlich ist. Einen solchen seit langem bekannten Adaptationsmechanismus besitzen die meisten höheren Pflanzen in ihren Stomata, deren Bedeutung in der Regulation des Gaswechsels und in der Ausdehnung oder Einschränkung der Transpiration zur Aufrechterhaltung einer optimalen Plasmahydratation liegt (WALTER und KREB 1970). Wenn auch die Prinzipien der hierbei zugrunde liegenden interzellulären Steuerung erst teilweise in den letzten Jahren aufgedeckt wurden, so besteht doch schon heute kein Zweifel darüber, daß den Phytohormonen, im besonderen den Abscisinen und Cytokinen, eine hervorragende Bedeutung zukommt (MILBORROW 1974). WRIGHT und HIRON (1969) konnten als erste zeigen, daß in welkenden Weizenpflanzen die Abscisinsäure-(ABS-)Gehalte um das 40fache ansteigen, und da zudem Applikationen von ABS auf die Blätter verschiedener Pflanzen zu einer raschen Schließung der Stomata führten (MITTELHEUSER und VAN STEVENINCK 1969, JONES und MANSFIELD 1970, CUMMINS 1973), gilt es heute als erwiesen, daß ABS direkt an der Schließung der Stomata beteiligt ist. Auf der anderen Seite induzieren Cytokine die stomatäre Öffnung (LIVNÉ und VAADIA 1965) und stimulieren damit die Transpiration (LUKE und FREEMAN 1968). Auch bei Reben konnten LOVEYS und KRIEDEMANN (1973) inzwischen die schnelle Reaktion der ABS auf Veränderungen des Wasserpotentials demonstrieren und eine Korrelation zwischen der stomatären Resistenz und dem endogenen ABS-Gehalt nachweisen (LOVEYS und KRIEDEMANN, im Druck). In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, ob eine Beziehung zwischen dem Tagesgang der Transpiration und dem ABS-Gehalt der Blätter be-

¹⁾ DR. A. SCIENZA, Istituto Coltivazioni Arboree, Univ. Cattolica S.C. Piacenza, Italien.

steht, und ob die in welkenden Pflanzen zunehmenden ABS-Gehalte zu einer Einschränkung des Längenwachstums führen.

Material und Methoden

Extraktion

Die ABS-Analyse basiert im Prinzip auf den Angaben MILBORROW's (1967), die durch die von RAPP und ZIEGLER (1971) entwickelte Methodik ergänzt wurden (Einzelheiten: DÜRING 1972). Das Pflanzenmaterial wurde gewogen und in einem Methanol-Wasser-Gemisch (80 : 20 v/v) homogenisiert. Nach einer Aufbewahrungsdauer von je 24 Stunden bei 5 °C wurden die festen Substanzen von der flüssigen Phase im Nutschtrichter getrennt und mit einem Methanol-Wasser-Gemisch erneut extrahiert. Nach Einengung der vereinigten Methanol-Wasser-Extrakte am Rotationsverdampfer wurde die verbleibende wässrige Lösung auf pH 3,5 eingestellt und die ABS durch Ausschütteln in eine Ätherphase überführt. Diese wurde mit einer NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt, welche nach Ansäuerung (pH 3,5) erneut mit peroxidfremem Äther ausgezogen wurde.

Dünnschichtchromatographische Isolierung

Der mit N₂ eingedampfte Extrakt wurde auf Kieselgelplatten (Kieselgel GF 254 mit Fluoreszenzindikator F 254, Firma Merck) mit einem „Chromatocharger“ (Firma Camag) streifenförmig aufgetragen, was zu sehr präzisen Trennungen bei Verwendung des Fließmittels Benzol : Essigsäureäthylester : Eisessig 75 : 20 : 5 (v/v) führte. Nach Ermittlung der ABS bei R_f 0,25 durch paralleles Chromatographieren mit synthetischer ABS (Firma Schuchardt, München) konnte die phyto gene ABS in 0,005 n H₂SO₄-CH₃OH spektralphotometrisch mit synthetischer und natürlicher ABS verglichen und mittels einer Eichkurve auch mengenmäßig erfaßt werden. Die mitgeteilten ABS-Gehalte sind Mittelwerte aus vier Wiederholungen mit einer Streuung von maximal 10%.

Messung der Transpiration

Zur Messung der Transpiration wurden mit getrocknetem „Silica Blaugel“ (Firma Grace, Bad Homburg) gefüllte Glasschalen (ϕ 5 cm, Höhe 3 cm) mit Hilfe von Klammern und einer Dichtung an die Unterseite der Blätter geheftet. Nach 2 h wurde von der Gewichtszunahme des Silica-Gels infolge Wasseraufnahme auf die Transpiration geschlossen. Der nach ALLEWELDT (mündl. Mitteilung) etwa 10% umfassende Anteil der kutikulären Transpiration wurde hierbei miterfaßt. Die Ergebnisse, umgerechnet in mg/h/100 cm², stellen Mittelwerte aus 3 Wiederholungen dar. Weitere Einzelheiten zur Versuchsanstellung werden im Zusammenhang mit den Ergebnissen mitgeteilt.

Ergebnisse und Diskussion

1. Transpiration und ABS-Gehalt

Der tägliche Rhythmus der Transpiration ist bei den einzelnen *Vitis*-Arten und -Sorten sehr unterschiedlich (GEISLER 1961) und wird darüber hinaus durch einzelne Umweltfaktoren modifiziert (ALLEWELDT 1967). Hierbei dürfte der Lufttemperatur die größte Bedeutung zukommen (BOSIAN 1964). Grundsätzlich steigt die Transpiration nach sehr geringen nächtlichen Werten tagsüber an, doch kann dieser Rhythmus durch hohe Mittagstemperaturen verbunden mit einem relativen Wassermangel unterbrochen werden, die zu einer Einschränkung der Transpiration durch Stomataschluß führen (GREULACH 1973). Wenn solche Stomatabewegungen und Veränderungen der Transpirationsintensität im Tagesablauf auftreten und die Stomataregulation — wie einleitend erwähnt — durch Veränderungen des ABS-Niveaus er-

folgt, ist zu erwarten, daß die ABS-Gehalte der Blätter im Verlaufe des Tages zu bzw. abnehmen. Um dieser Frage nachzugehen, wurde bei der am 5. Juli 1974 an Freilandpflanzen der Sorte Riesling auf der Unterlage SO4 durchgeführten Untersuchung die Transpirationsintensität ausgewachsener Blätter mittlerer Insertionshöhe von 8.00 bis 18.00 Uhr gemessen und mit dem ABS-Gehalt vergleichbarer Blätter in Beziehung gesetzt. Die Ergebnisse sind in Abb. 1 und Tabelle 1 dargestellt. Man erkennt, daß die Transpiration von ca. 1.200 mg/100 cm²/h in der Zeit von 10—12 Uhr absinkt und im Anschluß daran bis 16 Uhr auf fast 1.700 mg/100 cm²/h ansteigt.

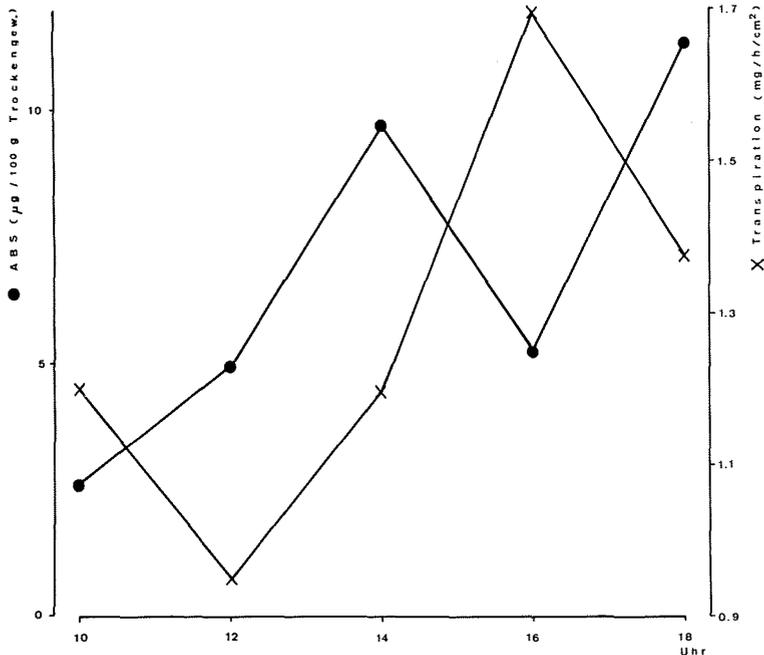


Abb. 1: ABS-Gehalt und Transpiration von Rebenblättern, Sorte Riesling, zu verschiedenen Tageszeiten.

ABA content and transpiration of vine leaves, cv. Riesling, at different times of day.

Tabelle 1

Die Transpiration von Blättern der Sorte Riesling von 8—18 Uhr im Freiland am 5. 7. 1974
Transpiration of leaves of the cv. Riesling, from 8 a.m. to 6 p.m. in a field experiment on 5 July 1974

Uhrzeit	Transpiration mg/h/100 cm ² Messung			\bar{x}	σ
	1	2	3		
8—10	1.209	1.188	1.197	1.198	±0,007
10—12	1.117	0.839	0.892	0.949	±0,112
12—14	1.134	1.229	1.219	1.194	±0,040
14—16	1.724	1.855	1.508	1.695	±0,125
16—18	1.389	1.488	1.243	1.373	±0,087

Von 16—18 Uhr ist dann ein erneuter Abfall der Transpiration festzustellen. Der Tagesgang der Transpiration zeigt also ein Minimum von 10—12 Uhr und ein Maximum von 14—16 Uhr. Die parallel dazu ermittelten ABS-Gehalte ergeben folgendes Bild: Die zunächst geringen ABS-Gehalte (10 Uhr) steigen bis zu einem ersten Maximum (14 Uhr) um etwa das 4fache an, sinken bis 16 Uhr um die Hälfte wieder ab und erreichen um 18 Uhr ein zweites Maximum.

Vergleicht man den Verlauf der Transpiration mit dem ABS-Gehalt der Blätter, so scheinen folgende Zusammenhänge vorstellbar: Von 8—10 Uhr befindet sich die Transpiration bei geöffneten Stomata und entsprechend geringen ABS-Gehalten offenbar im Gleichgewicht mit der Wassernachlieferung. Von 10—12 Uhr verschlechtern sich dann die Hydratationsverhältnisse. Die ABS-Gehalte verdoppeln sich und bewirken eine Schließung der Stomata (LOVEYS und KRIEDEMANN 1973), die Transpiration erreicht ihren Tagestiefpunkt. Obwohl nun von 12—14 Uhr die Transpiration wieder auf etwa das Niveau des Vormittags ansteigt, nimmt die ABS bis 14 Uhr zu. Nun ist offenbar eine vorübergehende Stabilisierung der Hydratation eingetreten, denn bis 16 Uhr sinken die ABS-Werte ab und gleichzeitig nimmt die Transpiration deutlich zu. Um 16 Uhr ist dann bei intensiver Transpiration das Gleichgewicht zwischen Wassernachlieferung und Wasserabgabe erneut gefährdet, so daß es wiederum zu ABS-Zunahmen kommt, die eine Schließung der Stomata und eine Abnahme der Transpiration zur Folge haben.

Die Ergebnisse zeigen somit, daß die Transpirationsintensität und mit ihr die ABS-Gehalte im Verlaufe des Tages Änderungen unterworfen sind, die den Zusammenhang zwischen Stomatabewegung und ABS-Gehalt indirekt bestätigen. Längst bevor es zu sichtbaren Welkeerscheinungen der Blätter kommt, scheint der Zustand der Hydratation in den Blättern ABS-Zunahmen zu induzieren, die ihrerseits über den Mechanismus der Stomataschließung eine ausgeglichene Wasserbilanz der Blätter garantieren.

2. Wassermangel und Wachstumshemmung

Wassermangel führt bei vielen Mesophyten zu Wachstumsdepressionen, die als Anpassungsvorgang an ein vermindertes Wasserangebot gewertet werden können. Da in den Versuchen LOVEYS' und KRIEDEMANN'S (1973) während einer mehrtägigen Streßsituation bedingt durch Wassermangel der ABS-Gehalt der Rebblätter bis zur Wiederherstellung einer ausgeglichenen Wasserbilanz zunahm, liegt die Vermutung nahe, daß es sich bei der streßinduzierten Wachstumshemmung um einen Effekt der vermehrt gebildeten ABS handeln könne. Zur Untersuchung dieser Frage blieben einjährige Reben der Sorte Riesling unter Langtagbedingungen (Licht: 6—20 Uhr) und Temperaturen von 25 °C (Tag) bzw. 20 °C (Nacht) in Klimaschränken 6 Tage lang unbewässert. In dieser Zeit wurden die Wachstumsgeschwindigkeit und die ABS-Gehalte des Sprosses bestimmt. Wie sich aus Abb. 2 ergibt, nimmt die Wachstumsgeschwindigkeit rasch ab und kommt bereits am 4. Tag völlig zum Erliegen. Die ABS-Gehalte der Sprosse nehmen in dieser Zeit um mehr als das Zweieinhalbfache zu und erreichen am 5. Tag einen Wert, der den Kontrollwert zu Versuchsbeginn um das Fünfeinhalbfache übertrifft. Eine Wiederbewässerung der welken Reben am 5. Tag ließ die ABS-Gehalte bereits nach drei Stunden um mehr als die Hälfte sinken. Ähnliche Werte wurden auch am folgenden Tag ermittelt. Eine Wiederaufnahme des Längenwachstums wurde nach der Bewässerung bis zum Versuchsabschluß nicht beobachtet.

Diese Ergebnisse lassen einen Zusammenhang zwischen Wassermangel, Wachstumsdepression und ABS vermuten; eine weitere, getrennte Untersuchung der ABS

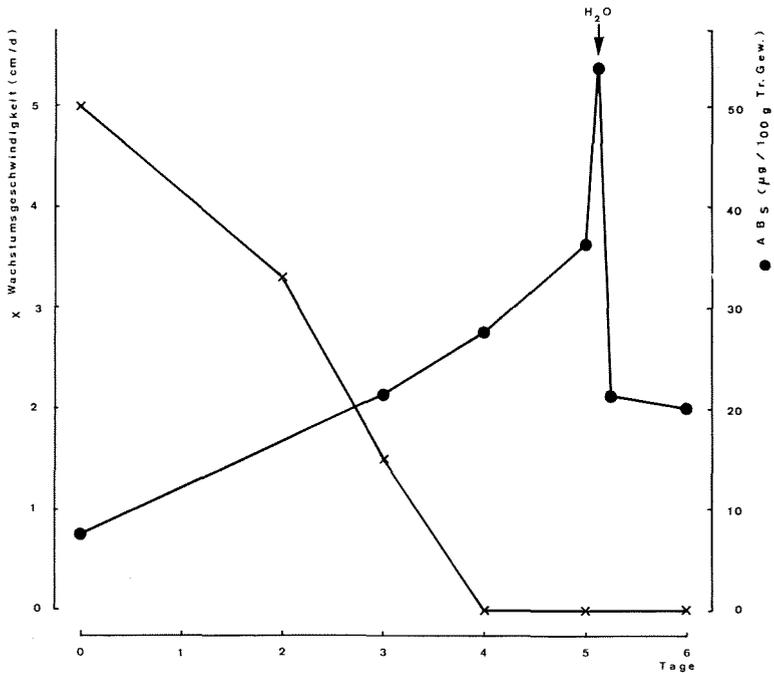


Abb. 2: ABS-Gehalt und Wachstumsgeschwindigkeit der Sproßachsen bei Wassermangel (1jährige Reben der Sorte Riesling).
ABA content and growth rate of the shoot axes at water deficiency (1-year-old vines of the cv. Riesling).

in Blättern und Sproßachsen von Reben der Sorte Riesling, die unter den o. a. Bedingungen wuchsen, sollte diese Vermutung bestätigen (Tabelle 2).

Aus Tabelle 2 geht hervor, daß infolge Wassermangel zwar eine ABS-Zunahme in den Blättern um fast 50% erfolgt, doch liegen die Zunahmen in den Sproßachsen deutlich darüber (+140%). Es scheint demnach vorstellbar, daß eine durch Wassermangel ausgelöste ABS-Akkumulation im Sproß zur Einstellung des Längenwachstums führt.

Zusammenfassend läßt sich aus diesen Versuchen ableiten, daß die ABS durch Einschränkung der Transpiration zur Wiederherstellung der optimalen Hydratation beiträgt. Neben der Regulation relativ geringfügiger und kurzfristiger Veränderungen der Hydratation in den Blättern leitet die ABS aber möglicherweise auch länger-

Tabelle 2

Die Abscisinsäuregehalte in Blättern und Sproßachsen der Sorte Riesling nach einem 6-tägigen Aussetzen der Bewässerung
ABA content in leaves and shoot axes, cv. Riesling, after a 6-day interruption of irrigation

Tag	ABS (µg/100 g Tr. Gew.)	
	Blätter	Sproßachsen
0	9	10
6	13	24

fristige Adaptationsmaßnahmen, wie die Einstellung des Sproßlängenwachstums, ein und ermöglicht durch eine Begrenzung des Sproßwachstums und damit der Blattfläche eine Einschränkung der Transpiration. Allerdings muß es weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, den Kausalzusammenhang zwischen der ABS und der Einstellung des Sproßwachstums zu erhellen. Darüber hinaus wird vermutet, daß es durch einen ABS-Ferntransport (Phloem) auch im Bereich der Wurzeln zu einer Regulation des Wasserhaushaltes kommt (LÜTTGE 1973), da ABS die Wasserpermeabilität der Wurzelzellen erhöhte (GLINKA und REINHOLD 1971) und den Ionenfluß in das Wurzelxylem erniedrigte (CRAM und PITMAN 1972). Die Wirkungsweise der ABS bei der Regulation des Wasserhaushaltes ist also offenbar keineswegs auf die Stomata beschränkt, sondern umfaßt, möglicherweise in einem feedback Blatt-Wurzel (LÜTTGE 1973), Transpiration, Wasseraufnahme sowie Adaptationen morphogenetischer Art.

Zusammenfassung

Die vorliegenden Untersuchungen hatten das Ziel, einen vermuteten Zusammenhang zwischen Transpiration und ABS-Gehalt der Blätter von Reben im Verlaufe des Tages zu ermitteln und den Einfluß des Wassermangels auf die ABS-Gehalte des Sprosses und dessen Längenwachstum festzustellen.

1. Ansteigende ABS-Gehalte waren von 10 bis 12 und von 16 bis 18 Uhr mit Abnahmen der Transpiration, abnehmende ABS-Gehalte von 14 bis 16 Uhr dagegen mit zunehmender Transpiration verbunden. Dies läßt auf eine Regulation der stomatären Wasserabgabe als Folge veränderter Hydratationsverhältnisse der Blätter im Verlaufe des Tages schließen.
2. Da in den Sproßachsen welkender Reben höhere ABS-Akkumulationen festgestellt wurden als in den Blättern, wird eine Translokation der ABS in die Sproßachsen angenommen, die zu einer Hemmung des Sproßlängenwachstums führt.
3. Die ABS scheint auf zwei Ebenen eine Adaptation der Rebe an Veränderungen der Wasserbilanz zu bewirken: Ein relativ begrenzter Wassermangel wird über den stomatären Mechanismus gesteuert, ein längerfristiger und gravierender Wassermangel führt darüber hinaus zu Einschränkungen des Wasserverbrauchs durch Einstellung des Längenwachstums.

Literaturverzeichnis

- ALLEWELDT, G., 1967: Physiologie der Rebe. Forschungsergebnisse der Jahre 1961—1964. *Vitis* 6, 63—81.
- BOSIAN, G., 1964: Assimilations- und Transpirationsbestimmungen an Reben im Freiland mit klimatisierten Küvetten. *Wein-Wiss.* 19, 264—271.
- CRAM, W. J. and PITMAN, M. G., 1972: The action of abscisic acid on ion uptake and water flow in plants. *Austral. J. Biol. Sci.* 25, 1125—1132.
- CUMMINS, W. R., 1973: The metabolism of abscisic acid in relation to its reversible action on stomata in leaves of *Hordeum vulgare* L. *Planta* 114, 159—167.
- DÜRING, H., 1972: Der Jahresgang der Abscisinsäure in vegetativen Organen von Reben (*Vitis vinifera* L. cv.) und seine Beeinflussung durch Thermo- und Photoperiodismus. Diss. Univ. Hohenheim.
- GEISLER, G., 1961: Untersuchungen zum Pfropfeinfluß auf die Transpiration im Zusammenhang mit der Unterlagenzüchtung bei Reben. *Züchter* 31, 8—14.
- GLINKA, Z. and REINHOLD, L., 1971: Abscisic acid raises the permeability of plant cells to water. *Plant Physiol.* 48, 103—105.
- GREULACH, V. A., 1973: *Plant function and structure*. Macmillan Co., New York.
- JONES, R. F. and MANSFIELD, T. A., 1972: Effects of abscisic acid and its esters on stomatal aperture and the transpiration ratio. *Physiol. Plant.* 26, 321—327.

- LIVNÉ, A. and VAADIA, Y., 1965: Stimulation of transpiration rate in barley leaves by kinetin and gibberellic acid. *Physiol. Plant.* 18, 658—664.
- LOVEYS, B. R. and KRIEDEMANN, P. E., 1973: Rapid changes in abscisic acid-like inhibitors following alterations in vine leaf water potential. *Physiol. Plant.* 28, 476—479.
- — and — — : Internal control of stomatal physiology and photosynthesis. I. Stomatal regulation by endogenous abscisic acid. (Im Druck.)
- LUKE, H. H. and FREEMANN, T. E., 1968: Stimulation of transpiration by cytokinins. *Nature* 217 873—874.
- LÜTTGE, U., 1973: *Stofftransport der Pflanzen*. Springer-Verlag, Berlin.
- MILBORROW, B. V., 1967: The identification of (+)-abscisin II ((+)-dormin in plants and measurement of its concentrations. *Planta* 76, 93—113.
- — , 1974: The chemistry and physiology of abscisic acid. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25, 259—307
- MITTELHEUSER, C. J. and VAN STEVENINCK, R. F. M., 1969: Stomatal closure and inhibition of transpiration induced by (RS)-abscisic acid. *Nature* 221, 281—282.
- RAPP, A. und ZIEGLER, A., 1971: Nachweis von Abscisinsäure in Weinreben. *Vitis* 10, 111—119.
- WALTER, H. und KREEB, K., 1970: *Die Hydratation und Hydratur des Protoplasmas der Pflanzen und ihre öko-physiologische Bedeutung*. Springer-Verlag, Wien.
- WRIGHT, S. T. C. and HIRON, R. W. P., 1969: (+)Abscisic acid, the growth inhibitor induced in detached wheat leaves by a period of wilting. *Nature* 224, 719—720.

Eingegangen am 2. 9. 1974

Dr. H. DÜRING
BFA für Rebenzüchtung
Geilweilerhof
6741 Siebeldingen