

# **Untersuchungen zur Erfassung und Bewertung der UV-Abschirmung bei Kulturvarietäten verschiedener Nutzpflanzenarten**

Dissertation zur Erlangung des  
naturwissenschaftlichen Doktorgrades  
der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von  
**Christiane Kolb**  
aus Mallersdorf/Ndb.

Würzburg, 2003

Eingereicht am:

06.02.03  
.....

Mitglieder der Promotionskommission:

Vorsitzender:

Prof. Dr. R. Hedrich  
.....

Gutachter:

Prof. Dr. M. Riederer  
.....

Gutachter:

Prof. Dr. W. Kaiser  
.....

Tag des Promotionskolloquiums:

.....

Doktorurkunde ausgehändigt am: .....

*Für Sarah und Ursi*

---

# Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Einleitung</b> .....	1
<b>1.1.</b>	<b>UV-Strahlung als abiotischer Umweltfaktor</b> .....	1
1.1.2	Schädigende Effekte der UV-Strahlung auf Pflanzen .....	2
1.1.3	Strategien zur Vermeidung und Minimierung UV-bedingter Effekte .....	3
1.1.4	Genregulation durch UV-B- Strahlung.....	6
<b>1.2</b>	<b>Phenolische Komponenten und UV-Abschirmung in verschiedenen Nutzpflanzenarten</b> .....	7
1.2.1	Phenolische Komponenten und UV-Abschirmung in Getreidearten. ....	7
1.2.2	Phenolische Komponenten in <i>Vitis vinifera</i> .....	9
<b>1.3</b>	<b>Zielsetzung</b> .....	10
<b>2.</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	12
2.1.1	Verwendete Arten .....	12
2.1.2	Versuchsanordnungen und Folienfilter .....	13
2.1.3	Gewächshäuser .....	14
2.1.4	Expositionsbedingungen im Freiland .....	16
2.1.4.1	Expositionskammern im botanischen Garten .....	16
2.1.4.2	Expositionsbedingungen in den Weinbergsanlagen.....	18
2.1.4.3	Erfassung klimatischer Parameter im Freiland.....	18
2.1.5	Versuchsansätze .....	23
2.1.5.1	Getreidearten .....	23
2.1.5.2	<i>Vitis vinifera</i> .....	26
<b>2.2</b>	<b>Methoden</b> .....	33
2.2.1	Probennahme.....	33
2.2.2	Fluorometrie .....	36
2.2.2.1	Bestimmung der optimalen Quantenausbeute des PS II.....	36



---

2.2.2.2 UV-induzierte Chlorophyllfluoreszenz zur Bestimmung der epidermalen Transmission im UV-Bereich.....	37
2.2.3 Mikroskopie.....	43
2.2.4 Chromatographie / Analytik.....	44
2.2.4.1 Analyse phenolischer Komponenten (HPLC).....	44
2.2.4.2 Zuckanalytik bei Beeren von <i>V. vinifera</i> .....	51
2.2.5 Oberflächentemperatur- Messung an Beeren von <i>V. vinifera</i> .....	52
2.2.6 Statistik.....	52
2.2.7 Boniturverfahren.....	53
2.2.7.1 <i>Hordeum vulgare</i> : Blätter.....	53
2.2.7.2 <i>Vitis vinifera</i> : Blätter.....	54
2.2.7.3 <i>Vitis vinifera</i> : Früchte.....	55
<b>3. Ergebnisse.....</b>	<b>61</b>
<b>3.1 Klimatische Bedingungen im Freiland.....</b>	<b>61</b>
3.1.1 Strahlungsbedingungen.....	61
3.1.2 Temperatur und relative Feuchte.....	65
<b>3.2 Fluorometrie.....</b>	<b>68</b>
3.2.1 Optimale Quantenausbeute des PS II.....	68
3.2.1.1 Variable Chlorophyllfluoreszenz bei Getreidearten.....	68
3.2.1.2 Variable Chlorophyllfluoreszenz bei Beeren von <i>V. vinifera</i> .....	69
3.2.2 Epidermale UV-Transmission.....	71
3.2.2.1 Beziehungen zwischen UV-A- und UV-B- Transmission.....	71
3.2.2.2 Epidermale UV-Transmission bei Getreidearten.....	74
3.2.2.3 Epidermale UV-Transmission bei Beeren von <i>Vitis vinifera</i> .....	80
<b>3.3 Lokalisation der phenolischen Komponenten.....</b>	<b>89</b>
<b>3.4 Analyse phenolischer Komponenten (HPLC).....</b>	<b>91</b>
3.4.1 Phenolische Komponenten in <i>H. vulgare</i> .....	91
3.4.2 Phenolische Komponenten in Beeren von <i>V. vinifera</i> .....	98

---

<b>3.5</b>	<b>Korrelation zwischen fluorimetrisch und chemisch-analytisch bestimmter epidermaler UV-Absorption</b> .....	115
3.5.1	Vergleich zwischen Blättern von <i>V. vinifera</i> und <i>H. vulgare</i> .....	115
3.5.2	Beeren von <i>V. vinifera</i> .....	117
<b>3.6</b>	<b>Zuckeranalytik bei Beeren von <i>V. vinifera</i></b> .....	120
3.6.1	Zusammenhang zwischen der Chlorophyllfluoreszenz $F_0$ und Zuckergehalt als Reifeindikator bei Weinbeeren.....	122
<b>3.7</b>	<b>Oberflächentemperatur von Weinbeeren</b> .....	124
<b>3.8</b>	<b>Bonituren</b> .....	126
3.8.1	Blätter von <i>H. vulgare</i> .....	126
3.8.2	Blätter von <i>V. vinifera</i> .....	127
3.8.3	Beeren von <i>V. vinifera</i> .....	129
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b> .....	133
<b>4.1</b>	<b>Getreidearten</b> .....	133
4.1.1	Phenolische Komponenten bei <i>H. vulgare</i> .....	134
4.1.2	Korrelation zwischen fluorometrisch und chemisch analytisch bestimmter epidermaler UV-Absorption ( <i>H. vulgare</i> ) .....	135
4.1.3	Optimale Quantenausbeute des PS II .....	137
4.1.4	Bewertung der Schäden in Abhängigkeit von der Strahlungsqualität ( <i>H. vulgare</i> ) .....	138
<b>4.2</b>	<b><i>Vitis vinifera</i></b> .....	138
4.2.1	Phenolische Komponenten .....	138
4.2.2	Korrelation zwischen fluorometrisch und chemisch analytisch bestimmter epidermaler UV-Absorption .....	142
4.2.3	Optimale Quantenausbeute des PS II .....	144
4.2.4	Bewertung der Schäden in Abhängigkeit von der Strahlungsqualität .....	145
4.2.4.1	Schäden an Blättern .....	145
4.2.4.2	Schäden an Beeren .....	145

---

<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>150</b>
	<b>Summary.....</b>	<b>152</b>
<b>6.</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>154</b>

## Abkürzungen

<b>A<sub>314</sub>, A<sub>360</sub>, A<sub>375</sub></b>	Gesamtabsorption phenolischer Extrakte, detektiert bei 314, 360 oder 375 nm
<b>A<sub>UVA</sub>, A<sub>UVB</sub></b>	fluorometrisch bestimmte, epidermale Absorption für UV-A- bzw. UV-B- Strahlung
<b>BBCH</b>	Bezeichnung der Entwicklungsstadien landwirtschaftlicher Nutzpflanzen, festgelegt durch die <b>B</b> iologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, <b>B</b> undessortenamt und <b>C</b> hemische Industrie
<b>CHI</b>	Chalkonisomerase
<b>CHS</b>	Chalkonsynthase
<b>DNA</b>	Desoxyribonukleinsäure
<b>F<sub>V</sub>/F<sub>M</sub></b>	variable Chlorophyllfluoreszenz
<b>GSF</b>	Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit GmbH, Oberschleißheim
<b>HPLC</b>	Hochauflösende Flüssigkeitschromatographie
<b>HZS</b>	Hydroxycimtsäurederivate
<b>H1-H6</b>	Hydroxycimtsäurederivate bei <i>V. vinifera</i>
<b>K1, K2</b>	Kaempferolderivate bei <i>V. vinifera</i>
<b>LBP</b>	Bayerische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau, Freising
<b>LWG</b>	Bayerische Landesanstalt für Wein- und Gartenbau, Veitshöchheim
<b>MESZ</b>	Mitteleuropäische Sommerzeit
<b>NBV</b>	Nicht-parasitär bedingte Blattverbräunung
<b>P</b>	Irrtumswahrscheinlichkeit
<b>PAL</b>	Phenylalanin-Ammoniumlyase
<b>PAM</b>	Puls- Amplituden- Modulations- Fluorometer
<b>PAR</b>	photosynthetisch aktive Strahlung
<b>PLS</b>	physiological leaf spots (=NBV)
<b>PPFD</b>	photosynthetische Photonenflussdichte
<b>Q1, Q2</b>	Quercetinderivate bei <i>V. vinifera</i>

---

<b>T<sub>UVA</sub>, T<sub>UVB</sub></b>	fluorometrisch bestimmte, epidermale Transmission für UV-A- bzw. UV-B- Strahlung
<b>UFGT</b>	UDP-Glucose: Flavonoid 3-O-Glucosyl-Transferase
<b>UV</b>	ultraviolett
<b>UV-A</b>	elektromagnetische Strahlung im Bereich von 315 – 400 nm
<b>UVA-PAM</b>	tragbares Puls- Amplituden- Modulations- Fluorometer zur Bestimmung epidermaler UV-A-Transmission
<b>UV-B</b>	elektromagnetische Strahlung im Bereich von 280 – 315 nm
<b>UV-B<sub>BE</sub></b>	biologisch effektive UV-B- Strahlung
<b>v/v</b>	Volumen pro Volumen
<b>w/v</b>	Gewicht pro Volumen
<b>Xenon-PAM</b>	Puls- Amplituden- Modulations- Fluorometer mit Xenon- Blitzlampe, zur Bestimmung epidermaler UV-Transmission

# 1. Einleitung

## 1.1 UV-Strahlung als abiotischer Umweltfaktor

Pflanzen sind an ihrem natürlichen Standort einer Vielzahl von Umweltfaktoren ausgesetzt. Einer der wichtigsten abiotischen Faktoren stellt die Strahlung der Sonne dar. Sie ist einerseits die entscheidende Energiequelle für die Photosynthese, andererseits beinhaltet sie auch die potentiell destruktive UV- Strahlung.

Das elektromagnetische Spektrum der die Erdatmosphäre erreichenden Strahlung reicht von 200 nm bis 3200 nm (Tevini und Häder, 1985). Der Wellenlängenbereich des elektromagnetischen Spektrums wird in die Bereiche UV-C (< 280 nm), UV-B (280 - 315 nm), UV-A (315 - 400 nm), PAR (photosynthetic active radiation, 400 - 700 nm) und Infrarot (> 700 nm) unterteilt (Tevini und Häder, 1985). Der Anteil der gesamten UV-Strahlung beträgt ca. 5 % (von Willert et al., 1995). Beim Durchtritt durch die Erdatmosphäre wird die solare Strahlung zum Teil reflektiert, absorbiert und gestreut. Von der infraroten Strahlung werden vor allem die Wellenlängen > 2000 nm von Wasserdampf und Kohlenstoffdioxid absorbiert (von Willert et al., 1995). Die vollständige Absorption der UV-C- Strahlung erfolgt schon in den obersten Atmosphärenschichten durch Stickoxide, molekularen Sauerstoff und Ozon (Foukal, 1990). Die UV-B- Strahlung wird zum Großteil von der stratosphärischen Ozonschicht absorbiert, deren Absorptionsmaximum bei 260 nm liegt und deren Absorption dann bis 310 nm stark abfällt. Messbare Strahlung erreicht die Erdoberfläche ab ca. 290 nm. Die insgesamt auf die Erdoberfläche treffende Strahlung wird als Globalstrahlung bezeichnet. Die Strahlungsleistung der Globalstrahlung ist von der geographischen Breite, der Jahres- und Tageszeit, der Standorthöhe, der Zusammensetzung der Erdatmosphäre (Spurengase, Ozon, CO<sub>2</sub>, Aerosole, Luftverschmutzungen), der Bewölkung und dem Reflexionsgrad der Erdoberfläche abhängig (Madronich, 1993) und dementsprechend großen Schwankungen unterworfen. An der Erdoberfläche liegt die UV-Strahlung zum größten Teil im Bereich von UV-A. Die Strahlungsintensität von UV-B hat sich jedoch in Folge der Ozonabnahme in den letzten Jahrzehnten global erhöht. Prognosen für die weitere Entwicklung der UV- Belastung bleiben schwierig, da in die Modellierungen viele, zum Teil unsichere Parameter einbezogen werden müssen. In neueren Modellsimulationen, in die, unter Annahme verschiedener möglicher

Entwicklungen, die Effekte der Atmosphärenchemie und -dynamik, sowie mögliche Temperaturveränderungen einbezogen wurden, wurden drei Szenarien für die zukünftigen Ozongehalte über Mitteleuropa analysiert (Reuder et al., 2001). Insgesamt wird hier davon ausgegangen, dass die Entwicklung der UV-B- Strahlung nicht mehr mit demselben ansteigenden Trend fortschreiten wird, wie er in den letzten 30 Jahren zu beobachten war. Unter der Berücksichtigung saisonaler Variationen, gehen die Autoren je nach Szenario für das Frühjahr von einem weiteren leichten Anstieg bzw. einer Beibehaltung derzeitiger Werte im Jahr 2015 aus. Besonders problematisch ist das Auftreten von „Minihole“- Ereignissen, für die in einem nur wenige Tage andauernden Zeitraum die UV-B- Bestrahlungsstärke typischerweise um etwa 40% erhöht ist, und die auch in der Zukunft vor allem im Frühjahr zu erwarten sind (Reuder et al., 2001).

### **1.1.1 Schädigende Effekte der UV-Strahlung auf Pflanzen**

Innerhalb des Spektrums der natürlichen UV- Strahlung an der Erdoberfläche besitzt die UV-B- Strahlung, aufgrund ihrer höheren Quantenenergie und der Eigenschaft von Lipiden, Nukleinsäuren und Proteinen, im UV-B- Bereich zu absorbieren, ein höheres Destruktionspotential als UV-A- Strahlung (Peak und Peak, 1983, Bornman, 1989, Strid et al., 1994, Caldwell und Flint, 1997). Als UV- sensitive Komponenten des Photosyntheseapparates wurden das Reaktionszentrum des Photosystems II, die Ribulosebisphosphat- Carboxylase- Oxygenase (RubisCo), die chloroplastidäre ATPase und die Violaxanthin- Deepoxidase beschrieben (Bornman und Teramura, 1993; Jordan, 1996, Teramura und Ziska, 1996, Vass, 1997).

Die Schädigung der DNA ist eine der wichtigsten Folgen von UV-B- Belastung. Durch direkte Photonenabsorption entstehen als Hauptprodukte Dimere benachbarter Basen. In höheren Pflanzen sind dies Cyclobutan- Pyrimidindimere (CPD, ca. 75 %) und Pyrimidin(6-4)pyrimidon-Dimere (6-4-Photoprodukte, 6-4PP, ca. 25 %), wobei letztere sich durch UV-B- Strahlung zu den Dewarisomeren umlagern (Davies, 1995; Britt, 1996). Von den möglichen CPD entstehen hauptsächlich Thymin- Dimere (Mitchell et al., 1992), bei den 6-4PP sind es Thymin- Cytosin- Dimere (Cadet et al., 1997). Auch UV-A kann die DNA über die Anregung endogener Photosensitizer und der dann folgenden Bildung reaktiver Sauerstoffspezies schädigen (Cadet et al., 1997; Davies, 1997). Das Gefahrenpotenzial der Dimere besteht vor allem in der Störung der Transkription. Die anderen durch UV- Strahlung in viel geringeren

Mengen entstehenden DNA- Schäden (Oxidations- Produkte, Photohydrate) können zu Punktmutationen führen. *Arabidopsis*- Mutanten mit defekter Reparatur UV-B- induzierter DNA-Schäden waren extrem UV- sensitiv (Harlow et al., 1994; Landry et al., 1997).

Lipidperoxidation führt zur Oxidation von ungesättigten Fettsäure- Resten, wobei UV- induzierte reaktive Sauerstoffspezies beteiligt sind, und betrifft grundsätzlich alle Membranen der Zellen (Bornman und Teramura, 1993; Jordan, 1996).

Makroskopische Auswirkungen auf das Wachstum sind die am häufigsten untersuchten UV-B- Effekte bei Pflanzen. Bei vielen verschiedenen Pflanzenarten fand man unter anderem die Reduktion der Wuchshöhe, der Biomasse und der Blattfläche (Teramura und Sullivan, 1994; Jordan, 1996; Rozema et al., 1997; Jansen et al., 1998). Dabei sind nicht nur die Auswirkungen von Art zu Art sehr unterschiedlich, sondern können auch innerhalb einer Art, zwischen den Varietäten, stark fluktuieren.

### **1.1.2 Strategien zur Vermeidung und Minimierung UV-bedingter Effekte**

In ihrer Evolution waren photoautotrophe Organismen sehr wahrscheinlich kontinuierlich mit UV- Strahlung variierender spektraler Qualität und Intensität konfrontiert und haben Strategien entwickelt, die Entstehung von UV- Schäden zu vermeiden, sowie entstandene Schäden zu reparieren (Cockel, 1998). Dazu gehören unter anderem das antioxidative System, verschiedene Mechanismen der DNA- Reparatur und die Etablierung einer effektiven UV- Abschirmung.

Durch UV-B- Strahlung können reaktive Sauerstoffspezies entstehen, die über das antioxidative System der Pflanzen unschädlich gemacht werden. Antioxidantien wie Ascorbat und Glutathion werden unter UV-B- Strahlung vermehrt gebildet und die Aktivität der Enzyme Catalase, Superoxid- Dismutase, Ascorbat- Peroxidase wird erhöht (Rao et al., 1996; Dai et al., 1997; Baumbusch et al., 1998; Mazza et al., 1999). Die Bedeutung des Antioxidations- Systems als Schutz vor UV-B- Schäden wurde durch die höhere UV- Empfindlichkeit einer *Arabidopsis*- Mutante mit erniedrigtem Ascorbatgehalt (Conklin et al., 1996) und einer Catalase- defizienten Gersten- Mutante (Mazza et al., 1999) belegt.

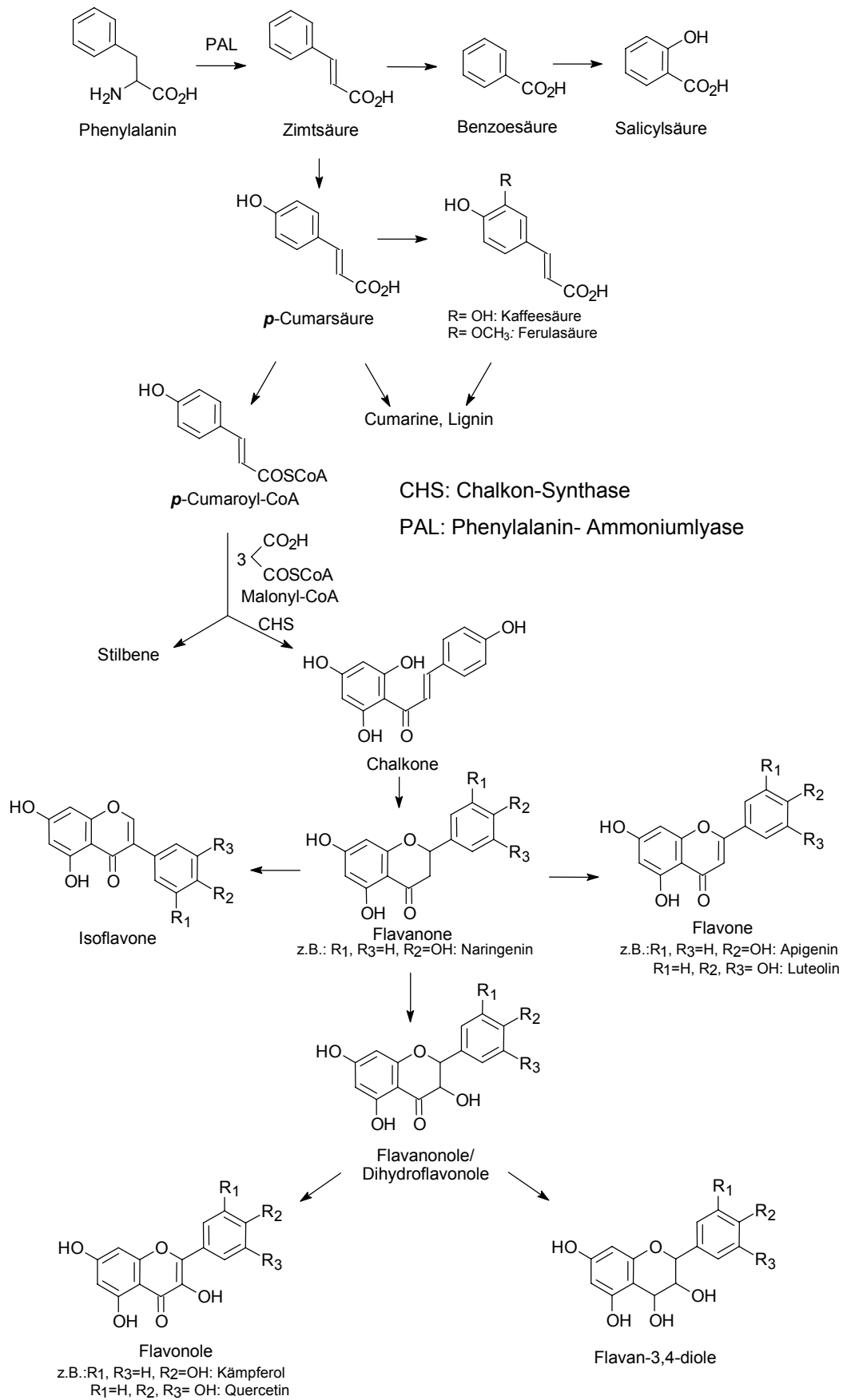
Einer der effektivsten Wege zur Reparatur von DNA- Schäden ist die Photo- reaktivierung durch Photolyase- Enzyme, die spezifisch an Cyclobutan-Pyrimidin-



Dimere (CPD) binden und den Schaden nach Absorption eines Photons in der geeigneten Wellenlänge (350-450 nm) direkt umkehren (Britt, 1999). Photoaktivierung *in vivo* hat man in vielen höheren Pflanzen gefunden (z.B. *Arabidopsis thaliana* L.: Pang und Hays, 1991; *Triticum aestivum* L.: Taylor et al., 1996; *Zea mays* L.: Stapleton et al., 1997). Neben der Photoreaktivierung existieren noch drei lichtunabhängige Reparaturwege, die letztlich alle eine Exzisionsreparatur (ER) darstellen, bei der die geschädigte Stelle aus der DNA entfernt wird und das fehlende Teilstück neu synthetisiert wird.

Eine Vielzahl experimenteller Befunde weist darauf hin, dass die Schirmfunktion kurzweilig absorbierender Pigmente eine wichtige Rolle in der Vermeidung UV-induzierter Destruktion von Zellkomponenten einnimmt (Cockell und Knowland, 1999). In höheren Pflanzen wird die UV-Abschirmung durch die Gruppe der Phenylpropanoide (Hydroxyzimtsäurederivate) und der Flavonoide übernommen (Bornmann et al., 1997). Beiden Gruppen phenolischer Pigmente ist gemeinsam, dass sie nahezu ausschließlich im UV-Bereich absorbieren und somit die Verfügbarkeit von sichtbarem Licht für die Photosynthese nicht beeinflussen. Eine effektive UV- Protektion des Blattmesophylls wird dadurch erreicht, dass die Schutzpigmente in den Vakuolen der oberen Epidermis konzentriert werden (Weissenböck et al., 1986; Hutzler et al., 1998; Grammatikopoulos et al., 1999, Markstädter et al., 2001). Überzeugende Hinweise auf die protektive Funktion der phenolischen Pigmente resultieren aus der UV- Sensitivität von Arabidopsis- Mutanten mit Defekten im Biosyntheseweg der Phenylpropanoide oder Flavonoide (Li et al., 1993; Lois and Buchanan, 1994; Landry et al., 1995).

Die Flavonoide und Hydroxyzimtsäurederivate leiten sich von der aromatischen Aminosäure Phenylalanin (Abb. 1.1) ab. Der Phenylpropanoid- Stoffwechsel (zur Übersicht: Forkmann und Heller, 1999) beginnt mit der Desaminierung der Aminosäure zur *trans*- Zimtsäure durch das Enzym Phenylalanin- Ammonium- Lyase. Aus der Zimtsäure werden durch mehrere aufeinander folgende Hydroxylierungs- und Methylierungsschritte die verschiedenen Hydroxyzimtsäuren gebildet, die nach Aktivierung durch Veresterung mit Coenzym A (CoA), wichtige Intermediate für die spezifischen Biosynthesewege der verschiedenen Phenylpropanoidderivate (z.B. Lignin, Flavonoide, Stilbene) darstellen.



**Abb. 1.1:** Übersicht über Zusammenhänge im Phenylpropanoid- bzw. Flavonoidstoffwechsel (vereinfacht).

HZS liegen in den Pflanzen zumeist entweder als wasserlösliche Ester von Zuckern, Zuckersäuren und organischen Säuren in den Vakuolen (Ibrahim und Barron, 1989) oder an Zellwandmaterial gebunden vor. Das Schlüsselenzym der Flavonoid-Biosynthese ist die Chalkonsynthase (CHS). Die CHS katalysiert die Kondensation von drei Malonyl-CoA-Estern, unter Abspaltung von je einem CO<sub>2</sub> und einem CoA, an die Säuregruppe der Hydroxyzimtsäure unter Abspaltung von CoA, und verknüpft die drei Acetat- Reste zu einem aromatischen Ring. Durch die Chalkonisomerase (CHI) wird das freigesetzte Chalkon sofort zum entsprechenden Flavanon zyklisiert. Aus dieser Struktur werden die verschiedenen Gruppen der Flavonoide, wie z.B. Flavone, Flavonole, Dihydroflavonole, Anthocyanidine etc., in mehreren Schritten synthetisiert. Durch Hydroxylierungen, Methylierungen von Hydroxylgruppen und besonders Glycosylierungen entsteht eine Vielzahl von verschiedenen flavonoiden Verbindungen.

Bei vielen krautigen Pflanzen, die per se keinen effektiven UV- Schutz haben, wird die Flavonoid- Synthese durch hohe UV- Bestrahlung stimuliert (Bornman und Teramura, 1993, Beggs und Wellmann, 1994). Die immer wieder gefundene Korrelation zwischen CHS- Aktivität und Flavonoid- Akkumulation (z.B. Chappell und Hahlbrock, 1984; Knogge und Weissenböck, 1986; Jordan et al., 1994, Mackerness et al., 1997) weist auf eine Schlüsselrolle der CHS bei der Regulation hin. Reuber et al. fanden in Roggen eine gute Übereinstimmung zwischen lichtstimulierter Flavonoidakkumulation und CHS- Aktivität, wobei sowohl die Flavonoidkonzentrationen als auch die Enzymaktivität und die Proteinkonzentration von CHS unter einer Kombination aus UV- und Schwachlicht am höchsten waren (Reuber et al., 1996a). Die Induzierbarkeit der PAL durch verschiedene Lichtqualitäten wird hingegen kontrovers diskutiert (Beggs und Wellmann, 1994, Reuber et al., 1996a).

### **1.1.3 Genregulation durch UV-B- Strahlung**

Die Voraussetzung für spezifische Genregulation durch UV-B- Strahlung ist die Perzeption durch wie auch immer geartete Komponenten der pflanzlichen Zelle. Es existieren einige Hinweise auf die Existenz eines UV-B- Rezeptors, bislang konnte er jedoch nicht identifiziert oder gar näher charakterisiert werden (zur Übersicht: Brosché und Strid, 2003). Die Diskussion, ob eine Genregulation über spezifische UV-B- Rezeptoren vermittelt wird, wie häufig vorgeschlagen (Jordan, 1996, Jenkins, 1997) oder aber die Folge einer allgemeinen Stressreaktion auf durch UV-B

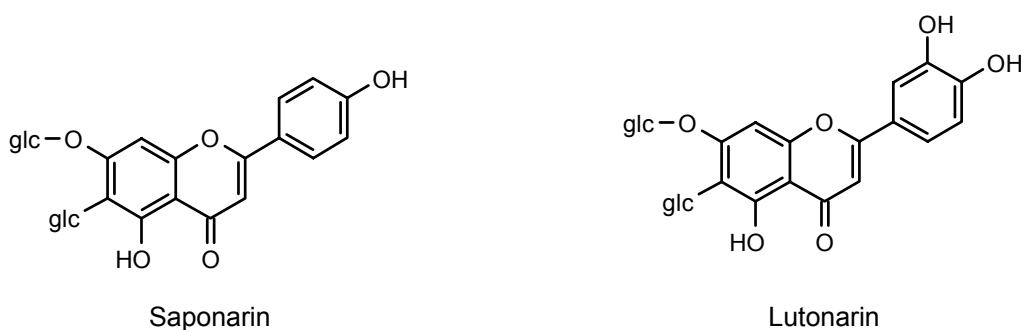
induzierbare Schädigungen ist, wird noch geführt. Neuere Arbeiten belegen, dass die Dosis, bei denen bereits Genexpression durch UV-B induzierbar war, deutlich unter der lag, die z.B. für Bildung von DNA- Läsionen benötigt wurde (Frohmeyer et al., 1999, Kalbin et al., 2001) und dass sowohl zeitliche als auch dosisabhängige Differenzen zwischen der Expression bestimmter Gene und der Entwicklung von oxidativem Stress existieren (Kalbin et al., 1997). Auch eine Involvierung der bereits bekannten Lichtrezeptoren, die für die Perzeption von rotem oder blauem Licht (Phytochrome, Cryptochrome, Phototropine) verantwortlich sind, wurde in Erwägung gezogen. Gegen eine Induzierung über das Phytochrom- System spricht, dass Mutanten von *A. thaliana*, die über kein funktionsfähiges Phytochromsystem verfügten, nach UV-B- Bestrahlung sogar eine höhere CHS- Genexpression zeigten als der Wildtyp (Wade et al., 2001). Dies deutet eher auf eine negative Regulation hin. Die CHS- Expression wird in *Arabidopsis* sowohl durch blaues Licht als auch durch UV-B- und UV-A- Strahlung induziert, wobei synergistische Effekte zwischen UV-B und UV-A einerseits und UV-B und blauem Licht andererseits beobachtet wurden (Fuglevand et al., 1996). Allerdings bestand sowohl eine normale UV-B- induzierbare Expression von CHS als auch die synergistische Verstärkung durch blaues Licht bei Mutanten, denen der CRY1 Photorezeptor fehlte; blaues Licht oder UV-A allein hingegen führte in diesen Mutanten nicht zu einer Expression (Fuglevand et al., 1996). Eine besondere Schwierigkeit bei der Identifizierung eines spezifischen Rezeptors ist die Tatsache, dass in dem fraglichen Wellenlängenbereich viele verschiedene Zellkomponenten absorbieren.

## **1.2 Phenolische Komponenten und UV-Abschirmung in verschiedenen Nutzpflanzenarten**

### **1.2.1 Phenolische Komponenten und UV-Abschirmung in Getreidearten**

In mehreren Getreidearten wurden als charakteristische Flavonoide hauptsächlich C-Glycosylflavone nachgewiesen, die als Derivate der Aglykone Luteolin und Apigenin bzw. Tricin beschrieben wurden (Fröst et al., 1977, Chopin et al., 1977, Popovici et al., 1977, Wagner et al., 1980, Harborne et al., 1986, Norbæk et al., 2000). Sie bilden den Hauptanteil an den löslichen Phenylpropanoiden. Der Anteil an löslichen Hydroxyzimtsäure- Derivaten ist zumeist deutlich geringer (Knogge und Weissenböck, 1986; Liu et al., 1995; Schmitz, 2001), hier konnten in Roggen, Gerste und Hafer *p*-Cumarsäure und Ferulasäure als Stammphenole nachgewiesen werden

(Knogge und Weissenböck, 1986; Strack et al., 1987; Liu et al., 1995). Roggen-Primärblätter weisen eine spezifische Gewebeverteilung ihrer Phenylpropanoide auf. Im Mesophyll wurden zwei Anthocyane (Busch et al., 1986) und zwei Luteolin-derivate (Schulz et al., 1985) als Hauptkomponenten nachgewiesen, in der Epidermis akkumulieren hingegen mit Isovitexin-2''-O-arabinosid und Isovitexin-2''-O-galactosid zwei Apigeninderivate (Dellamonica et al., 1983), sowie verschiedene Hydroxyzimtsäure-Derivate (Strack et al., 1987). Bei Hafer wurden in Mesophyll und Epidermis zwar dieselben Flavone gefunden, es konnte jedoch eine unterschiedliche Gewebepreferenz für die verschiedenen Komponenten festgestellt werden (Effertz und Weissenböck, 1980). Auch bei Gerste wurde in beiden Gewebetypen Flavonoidakkumulation festgestellt (Liu et al., 1995); Schmitz fand allerdings eine primäre Lokalisation der löslichen phenolischen Komponenten in der ab- und adaxialen Epidermis von Primärblättern (Schmitz, 2001).



**Abb.1.2:** Die Hauptflavonoide der Gerste

Mit Saponarin wurde ein Apigeninderivat als flavonoide Hauptkomponente in Primärblättern von *H. vulgare* bestimmt, als Nebenkomponenten fand man unter anderem Lutonarin, Isovitexin und Isoorientin (Jende-Strid, 1993; Reuber, 1996). Eine weitere Gemeinsamkeit der Gramineen besteht in dem, gegenüber dikotylen Pflanzen, verstärkten Auftreten von zellwandgebundenen Hydroxyzimtsäurederivaten (Lichtenthaler und Schweiger, 1998).

Für eine Rolle der phenolischen Komponenten bei der UV- Abschirmung in Getreidearten spricht z.B. die von Burchard et al. gefundene, strikt lineare Korrelation zwischen den Konzentrationen der epidermalen Flavonoide und der fluorimetrisch bestimmten epidermalen UV-Absorption in Roggen, die jedoch nicht für die Flavonoide aus dem Mesophyll bestand (Burchard et al., 2000). Reuber et al. fanden über ein Screening von proanthocyanidinfreien Mutanten ("*anf*") der Gerste aus der Sammlung des Carlsberg-Research-Laboratoriums in Kopenhagen (Dänemark) vier flavonoid-defiziente Mutanten-Linien (Reuber et al., 1997), und stellten in Primär-

blättern der Mutante *ant 30-287* aufgrund des reduzierten Flavonoid- Gehaltes eine höhere UV-B-Transmission der Epidermis fest, als bei der Muttervarietät (Reuber et al., 1996b).

### **1.2.2 Phenolische Komponenten in *Vitis vinifera***

In den Blättern einer weißen Varietät (Riesling x Silvaner) wurden als lösliche Hydroxyzimtsäurederivate Kaffee-, Ferula- und Coumarsäure gefunden, die als Weinsäuredepside vorlagen (Weber, 1992). Die Hauptkomponente dieser Substanzklasse stellte dabei das Kaffeeoyltartrat; sowohl Kaffeeoyl- als auch Coumaroyltartrat lagen als cis- und trans- Isomere vor. Als flavonoide Komponenten identifizierte Weber (1992) die Flavonole Quercetin, Kaempferol und Myricetin. Die Hauptkomponente stellte hier Quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucuronid, die anderen Komponenten waren in der Regel 3-O-Monoglycoside der jeweiligen Aglykone.

In den Beeren weißer Varietäten und in weißen Weinen beschriebene lösliche Hydroxyzimtsäurederivate stimmten mit den oben genannten überein (Singleton et al., 1978, Okamura und Watanabe, 1981). Für die Pigmentierung der roten und schwarzen Varietäten sind im Wesentlichen Monoglycoside der Anthocyanidine Cyanidin, Delphinidin, Petunidin, Peonidin und Malvidin verantwortlich (Mullins et al., 1992). Ihre Lokalisation ist zumeist auf wenige subepidermale Zellschichten begrenzt (Moskowitz und Hrazdina, 1981). Zusätzlich zu den Anthocyanen wurden in der Beerenhaut einer roten Varietät Quercetin- und Myricetinderivate identifiziert, wobei die Hauptkomponente das Quercetin-3-O-glucuronid war (Moskowitz und Hrazdina, 1981).

Ferner wurden in Beeren und Wein eine Vielzahl verschiedener Substanzklassen phenolischen Ursprungs nachgewiesen, darunter Procyanidine, kondensierte Tannine, Hydroxybenzoesäuren, Stilbene und Flavonole (z.B. Rapp und Ziegler; 1973; Currie et al., 1983; Jaworski und Lee; 1987; Justesen et al., 1998; Fulcrand et al., 1999; Karagiannis et al., 2000; Landrault et al., 2001). Da bei den meisten dieser Untersuchungen lebensmitteltechnologische Aspekte im Vordergrund standen, wurden entweder aus vollständigen Beeren hergestellte Extrakte oder Wein verwendet. Beides ist problematisch, da in den Beeren, außer in der Beerenhaut, die ca. 10 - 12 Zellschichten umfasst (Alleweldt et al., 1981), auch in den Kernen und in den Leitbündeln phenolische Komponenten enthalten sind (Hawker, 1972); in Wein selbst

muss zudem von starken Veränderungen der ursprünglichen Komponenten aufgrund von Oxidationen ausgegangen werden.

Für die Stilbene wurde eine spezifische Akkumulation in der Beerenhaut (Creasy und Coffee, 1988), sowie eine entwicklungsbedingt veränderbare Induzierbarkeit des Schlüsselenzyms Stilbensynthase (STS) durch UV-C nachgewiesen (Bais et al., 2000). Boss et al. stellten die Expression einer Reihe von Genen des Phenylpropanoid- bzw. Flavonoidstoffwechsels in der Beerenhaut verschiedener roter und weißer Varietäten fest (Boss et al., 1996a), wobei zwischen den Varietäten große Unterschiede auftraten. Zusammenhänge zwischen der Akkumulation phenolischer Komponenten und ihrer möglichen Bedeutung für eine UV- Abschirmung in den Beeren sind bisher nicht bekannt.

### **1.3 Zielsetzung**

Mit den Arten Gerste, Weizen, Hafer und Wein wurden ausschließlich Pflanzen von agrarwirtschaftlicher Bedeutung ausgewählt, die zudem Vertreter unterschiedlicher Lebensformen und Klassen darstellen. Dadurch sollten eventuell differierende Strategien im Umgang mit UV- induzierten Effekten verglichen werden.

Sowohl bei Gerste als auch bei Wein wurden in den letzten Jahren vermehrt Schäden beobachtet, die mit Strahlungseinflüssen in ursächlichem Zusammenhang zu stehen schienen (Obst et al., 1995; Obst und Baumer, 1998; Obst et al., 1998; Schultz et al., 1999; Mohr und Düring, 2000 a, b). Bezüglich des Auftretens der Schadsymptome bestanden Gemeinsamkeiten zwischen den beiden Arten: Die Symptome traten bevorzugt unter bestimmten klimatischen Bedingungen, nämlich nach plötzlichem Wechsel von geringen zu hohen Strahlungsintensitäten, auf, wobei primär stark exponierte Pflanzenteile geschädigt wurden. Dabei bestanden bezüglich der Sensitivität für das jeweilige Schadbild große Unterschiede zwischen Kulturvarietäten derselben Art. Bei Gerste wurde die Anfälligkeit zudem auf ein bestimmtes physiologisches Stadium der Pflanzen festgelegt. So wurden die als „nicht-parasitär bedingte Blattverbräunung“ (NBV) bezeichneten Symptome vor allem nach dem Erscheinen der obersten Blattetagen festgestellt. Eine Verwendung experimentell leicht zugänglicher Primärblätter, die in vielen vorausgegangenen Arbeiten eingesetzt wurden, war somit nicht sinnvoll. Bei Wein waren vor allem die

Beerenfrüchte betroffen, wodurch der zeitliche Rahmen für die Experimente zusätzlich limitiert wurde.

Die tatsächlich unter natürlichen Bedingungen auftretenden Relationen von sichtbarer und UV- Strahlung sind unter artifiziiellen Bedingungen nur schwer und mit großem technischen Aufwand einwandfrei zu simulieren. Unter reinen Freilandbedingungen kann jedoch die Wirkung des sichtbaren Lichts nicht von den Effekten der UV-A- und UV-B- Strahlung getrennt bewertet werden. Ein Aspekt dieser Arbeit lag in der Entwicklung einer sinnvollen Versuchsanordnung, mit der im Freiland eine Differenzierung dieser drei Bereiche des solaren Strahlungsspektrums möglich sein sollte, ohne die Bestrahlungsstärken im sichtbaren Bereich unterschiedlich zu beeinflussen. Das zu entwickelnde experimentelle Design sollte die verschiedenen Aspekte bezüglich des Auftretens der Schäden integrieren, und einen möglicherweise bestehenden UV- Einfluss darauf abklären. Im Vordergrund stand dabei, einen praxis- relevanten Bezug zwischen der Induzierbarkeit der Schäden durch die verschiedenen Lichtqualitäten und der Akklimatisationsfähigkeit der jeweiligen Varietäten zu schaffen. Der Schwerpunkt lag hierbei in der Bewertung von UV- Abschirmungseigenschaften.

Ein weiterer wichtiger Aspekt der vorliegenden Arbeit begründet sich in der Schwierigkeit, die UV- Abschirmungskapazität der Epidermis verschiedener pflanzlicher Organe in vivo bestimmen zu können. Die für ein Screening notwendigen vergleichenden Messungen unter Freilandbedingungen erfordern hohe Stichprobenanzahlen, die mit analytischen Methoden kaum zu bewältigen sind, zudem ist eine Separation der Epidermis vom übrigen Gewebe bei vielen Arten nicht durchführbar. Der Vorteil fluorometrischer Methoden zur Bestimmung der UV- Abschirmung (Bilger et al., 1997) begründet sich einerseits im geringeren methodischen und damit zeitlichen Aufwand. Zudem kann, nach einmal erfolgter Etablierung für ein bestimmtes pflanzliches System direkt am intakten Objekt gemessen werden, wodurch die Einschätzung der real auf die Gewebe einwirkenden UV- Belastung verbessert wird. Die Übertragbarkeit der Methodik, die bereits bei Blättern verschiedener Arten (z.B. Grammatikopoulos et al., 1999; Burchardt et al., 2000; Markstädter et al., 2001) eingesetzt wurde, auf andere Organe, hier speziell auf die Beerenfrüchte von *V. vinifera*, sollte experimentell überprüft werden.



## 2. Material und Methoden

### 2.1 Pflanzenmaterial und Anzuchtbedingungen

#### 2.1.1 Verwendete Arten

Stellvertretend für ein- und zweikeimblättrige Kulturpflanzen wurden Kulturvarietäten dreier Getreidearten und zweier weißer Rebsorten (*Vitis vinifera*, *Vitaceae*) untersucht. Für die Versuche an Getreide wurden je zwei Kultursorten von Gerste, Weizen und Hafer (*Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum* und *Avena sativa*; *Poaceae*) eingesetzt. Die Auswahl der Sorten erfolgte für *H. vulgare* nach der Ausprägung besonderer Anfälligkeit (cv. Ricarda) bzw. besonderer Resistenz (LBP 24727) gegen das Schadbild der nicht-parasitären Blattverbräunung (NBV). LBP 24727 ist eine Neuzüchtung der Bayerischen Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau (LBP) in Freising, die für die Entwicklung neuer, resistenter Zuchtlinien herangezogen wird. Das Saatgut wurde von der LBP zur Verfügung gestellt. Im Vergleich zu den beiden Gerstenvarietäten wurden die Sorten Triso und Thasos von *T. aestivum* bzw. Revisor und Jumbo von *A. sativa* untersucht. Bei diesen Sorten handelt es sich um je zwei in Bayern häufig angebaute Kulturvarietäten. Das Saatgut für die Versuche an Weizen und Hafer im Jahr 2000 wurde von der Bayerischen Landesanstalt für Wein- und Gartenbau (LWG) Veitshöchheim bezogen.

Für die Versuche an *Vitis vinifera* wurden zwei weiße Rebsorten verwendet, die im mainfränkischen Anbaugebiet bedeutend sind. Während Silvaner eine alte, vermutlich von *V. vinifera* ssp. *Caucasica* V. abstammende Sorte darstellt, handelt es sich bei Bacchus um eine neuere Züchtung der Bundesforschungsanstalt für Rebenzüchtung (Geilweilerhof) aus (Silvaner x Riesling) x Müller-Thurgau, die seit 1972 als geschützte Sorte unter der Nummer Gf 33-29-133 geführt wird (Ambrosi, 1991). Die Auswahl der beiden Sorten geschah mit Hinblick auf die unterschiedliche Anfälligkeit für ein Schadbild, das als „Sonnenbrand“ bezeichnet wird (s. 2.2.7.1); dabei wurde Bacchus als besonders anfällig, Silvaner als eher resistent eingestuft (pers. Mitteilung J.V. Herrmann, LWG).

## 2.1.2 Versuchsanordnungen und Folienfilter

Um die Wirkung des UV-Anteils im natürlichen Strahlungsspektrum auf die Pflanzen untersuchen zu können, wurden zwei verschiedene Versuchsanordnungen eingesetzt. Für beide Anordnungen wurden je drei Folienfilter verwendet, die aufgrund ihrer Transmissionseigenschaften ausgewählt wurden (Abb. 2.6). Die Folien waren entweder für das gesamte natürliche Spektrum durchlässig (VAB) oder aber schlossen selektiv den UV-B-Anteil (VA) bzw. das gesamte UV-Spektrum (V) aus (s. Tab. 2.1).

**Tab. 2.1:** Bezeichnung der Filterfolien und deren Eigenschaften

Folienbezeichnung	Folieneigenschaft	Schnittkante	Hersteller
Teflon (Nowoflon T 6235; 30µm)	VIS + UVA + UVB „VAB“	<280 nm	Nowofol, Siegsdorf
Polyester (Melinex 4000/401; 75µm)	VIS+ UVA „VA“	ca. 315 nm	Pützfolien, Taunusstein
LEE 226-UV-Filter	VIS „V“	ca. 400 nm	FFL Rieger, München

In Akklimatisationsexperimenten wurde das Pflanzenmaterial über einen längeren Zeitraum den durch die Folien modifizierten Strahlungsbedingungen ausgesetzt, um die langfristige Wirkung von sichtbarer und UV-Strahlung zu untersuchen. In den zeitlich kürzeren Induktionsexperimenten hingegen sollte überprüft werden, ob und in welcher Geschwindigkeit die unter UV-Ausschluss und relativ niedriger sichtbarer Strahlung gewachsenen Pflanzen sich den verschiedenen Strahlungsbedingungen anpassen.

### a) Akklimationsexperimente

Bei *Vitis vinifera* wurden die drei Folientypen über die Traubenzone direkt in die jeweiligen Versuchs-Weinberge gespannt (Abb. 2.5). Die fortlaufend durchgeführten Messungen setzten ca. zwei Wochen nach der Bespannung ein. Der gesamte Versuchszeitraum betrug zwei Monate (s. 2.1.5). Bei *Hordeum vulgare* wurden vier Wochen alte Pflanzen in die mit denselben Folientypen bespannten Expositionskammern (s. 2.1.4) überführt. Die Messungen erfolgten vier Wochen nach Überführung an unter diesen Bedingungen gewachsenen Blättern.

## **b) Induktionsexperimente**

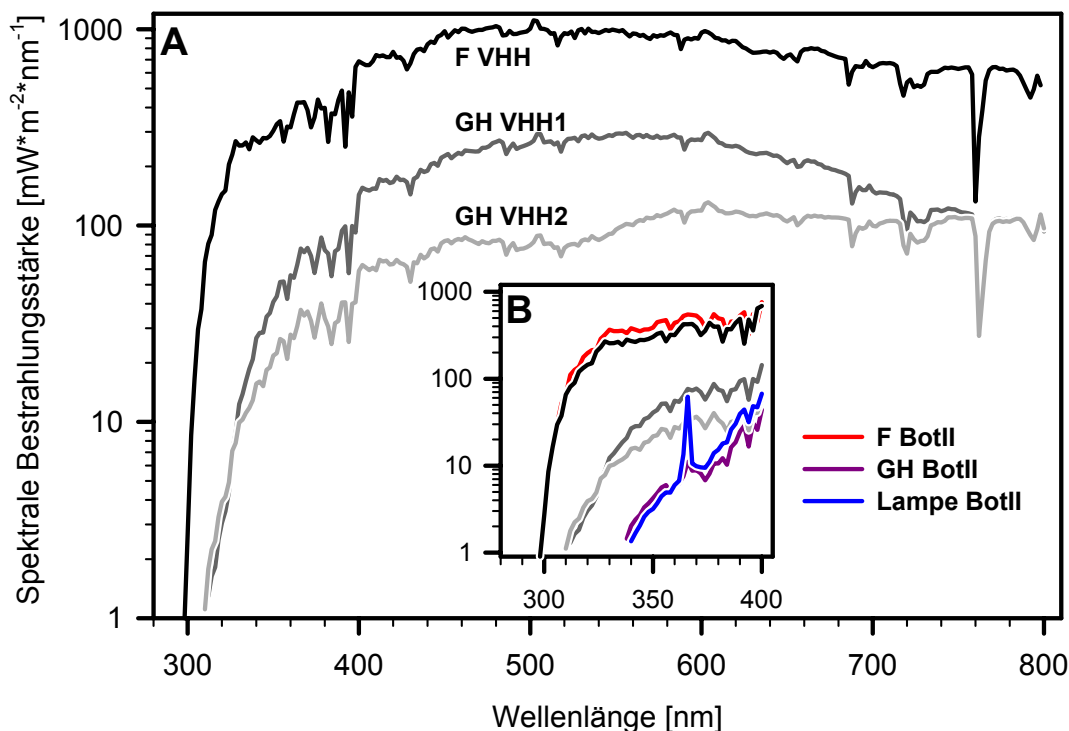
Das Pflanzenmaterial wurde hierfür in Gewächshäusern (s. 2.1.3) vorgezogen, bis ein bestimmtes physiologisches Stadium erreicht war. Der Zeitpunkt für den Beginn einer Exposition wurde nach stabilen Hochdrucklagen ausgerichtet, um zumindest für die ersten Tage gleichmäßig intensive Strahlungsbedingungen zur Verfügung zu haben. Einen bis zwei Tage vor der Überführung in die Expositions-kammern wurden alle Pflanzen bonitiert, markiert und eine Messung (s. 2.2.1) zur Bestimmung der initialen Abschirmungseigenschaften durchgeführt. Die Überführung vom Gewächshaus in die Kammern erfolgte entweder am Vorabend (nach Sonnenuntergang) oder aber am frühen Morgen des ersten Expositionstages (vor 8.00 Uhr) in einem geschlossenen Wagen. Die Verteilung der Pflanzen in den Kammern wurde so gewählt, dass sie sich nicht gegenseitig beschatten konnten. Die Pflanzen wurden morgens und abends über die Töpfe bewässert, um eine Benetzung der Blätter zu vermeiden.

Die Expositionsdauer unter den verschiedenen Strahlungsbedingungen betrug ca. eine Woche, wobei es in einigen Fällen, bedingt durch die Witterungsumstände, zu geringfügigen Abweichungen kam (s. Tab. 2.2). In diesem Zeitraum wurden mehrere Messungen und eine abschließende Bonitur durchgeführt. Im Jahr 2002 wurde von diesem Schema abweichend Induktionsexperimente im Weinberg (s. 2.1.5.2 b) durchgeführt.

### **2.1.3 Gewächshäuser**

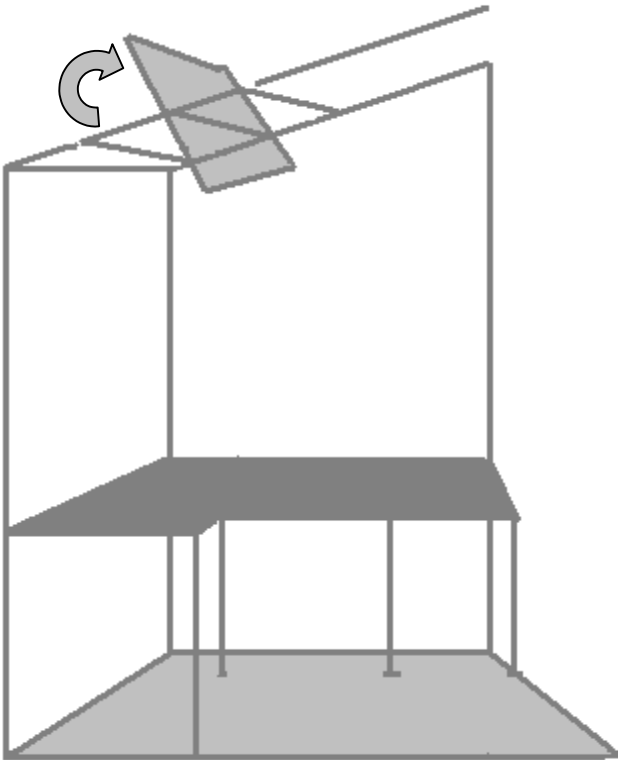
#### **(LWG Veitshöchheim, Botanik II, Würzburg)**

Im Gewächshaus der LWG in Veitshöchheim wurden die Topfreben ab März bis zum Zeitpunkt ihrer Überführung in das Versuchsgewächshaus des Lehrstuhls für Botanik II kultiviert. Zur Vermeidung von Überhitzung und hoher Strahlungsbelastung wurden bei starker Sonneneinstrahlung Lüftungs- und Beschattungseinrichtungen genutzt. Die Tagestemperatur im Gewächshaus der LWG war auf einen Sollwert zwischen 16°C und 20°C eingestellt. Die Überführung fand erst einige Tage vor der Exposition im Freiland statt. Eine Ausnahme waren die Pflanzen des Versuchs S(L) I 2000 (s. 2.1.5), die ca. einen Monat vor ihrer Exposition überführt worden waren. Die Getreidepflanzen wurden ausschließlich im Gewächshaus der Botanik II angezogen. Auch hier wurden zur Vermeidung extremer Temperaturen und Strahlungsbedingungen Beschattungs- und Lüftungseinrichtungen eingesetzt.



**Abb. 2.1:** **A** Strahlungsbedingungen im Gewächshaus der LWG Veitshöchheim am 11.05.00 mit (GH VHH 2) und ohne Beschattung (GH VHH1), sowie eine Freilandmessung (F VHH) bei klarem Himmel neben dem Gewächshaus. **B** UV-Anteil der beiden Gewächshäuser (GH BotII bzw. GH VHH 1, 2) und UV-Anteil der im Gewächshaus der Botanik II eingesetzten Lampe (Lampe BotII) im Vergleich zu Freilandmessungen (F BotII, F VHH) zu den jeweiligen Zeitpunkten der Gewächshausmessungen (GH BotII: 13.08.00).

Die Anzucht von Getreidepflanzen erfolgte in drei verschiedenen Zellen des Gewächshauses der Botanik II, wobei sich die Pflanzen eines Versuchsansatzes in derselben Zelle befanden. Die automatisch regulierbaren Parameter wurden so eingestellt, dass Temperatur, Luftfeuchte und Lichtverhältnisse der Zellen vergleichbar sein sollten. Die Sollwerte betragen für die Nachttemperatur 5-10°C und für die Tagestemperatur 15-19°C, die Beschattung erfolgte ab 60 kLux. Beide Gewächshäuser (LWG und Botanik II) waren jedoch nicht kühlbar, somit folgten die in den Zellen vorherrschenden Temperaturen ab dem Frühsommer im Wesentlichen den äußeren Klimabedingungen. Auf eine zusätzliche Luftbefeuchtung wurde wegen der Gefahr des Pilzbefalls verzichtet, die relative Luftfeuchte lag bei ca. 30-50%. Die Strahlungsbedingungen in beiden Gewächshäusern wurden mehrfach mit einem Spektroradiometer bestimmt (Abb. 2.1 und Abb. 2.6). Die Messungen im Gewächshaus der LWG wurden an verschiedenen Positionen bei vollständig geöffneter Lüftungsklappe durchgeführt (s. Abb. 2.2). Die Pflanzen wurden außerhalb des Bereichs der Klappe positioniert. Die Strahlungsbedingungen in Pflanzenposition



**Abb. 2.2:** Schematischer Schnitt durch die Gewächshauszelle der LWG mit geöffneter Lüftungsklappe; über der Klappe befindet sich zusätzlich ein Fliegengitter (nicht eingezeichnet)

entsprachen denen der Messung bei Beschattung (Abb. 2.1, VHH 2). Die Bestrahlungsstärke im UV-Bereich (280- 400 nm) betrug ca. 7% der im Freiland gemessenen und war somit höher als die im Gewächshaus der Botanik II, wo nur ca. 2% der im Freiland ermittelten Bestrahlungsstärke gemessen wurde. Von Mitte April bis Ende Mai wurden im Versuchsgewächshaus der Botanik II Lampen eingesetzt, die bei einer Unterschreitung von 30 kLux zugeschaltet wurden. Diese verursachten eine schmale Strahlungsbande bei ca. 364- 370 nm; die UV- Bestrahlungsstärke im Gewächshaus wurde dadurch geringfügig (Faktor 1,6) erhöht (Abb. 2.1).

## 2.1.4 Expositionsbedingungen im Freiland

### 2.1.4.1 Expositionskammern im botanischen Garten

Die insgesamt 6 Expositionskammern (vgl. Abb. 2.3 und Abb. 2.4) befanden sich im Botanischen Garten der Universität Würzburg auf einer Terrasse am westlichen Hang des Maintales. Sie umfassten jeweils eine Grundfläche von 3 x 1 m und waren in einem Abstand von jeweils 3 m gestaffelt angeordnet. Die Frontseite der Kammern war nach Süden ausgerichtet (Abb. 2.4). Für die Standorte wurden Holzgestelle konstruiert, die mit den oben beschriebenen Folien so bezogen wurden, dass die Dächer der Kammern sowie deren Ost-, Süd- und West-Seiten geschlossen waren (Größe und Aufbau s. Abb. 2.3). Um eine Belüftung der Kammern zu gewährleisten, wurden die Nordseiten offen gelassen und durch Folien-Segel vor diffuser UV-Strahlung abgeschirmt. Die Segel wurden auf eigenen Rahmen angebracht, die an jeder Seite 25 cm über die Kammern hinausragten und 20 cm höher waren als das Gerüst des Dachs, so dass hier ein zusätzlicher Lüftungsschlitz vorhanden war (Abb. 2.3). Je Folientyp wurden zwei Kammern errichtet (Abb. 2.4).

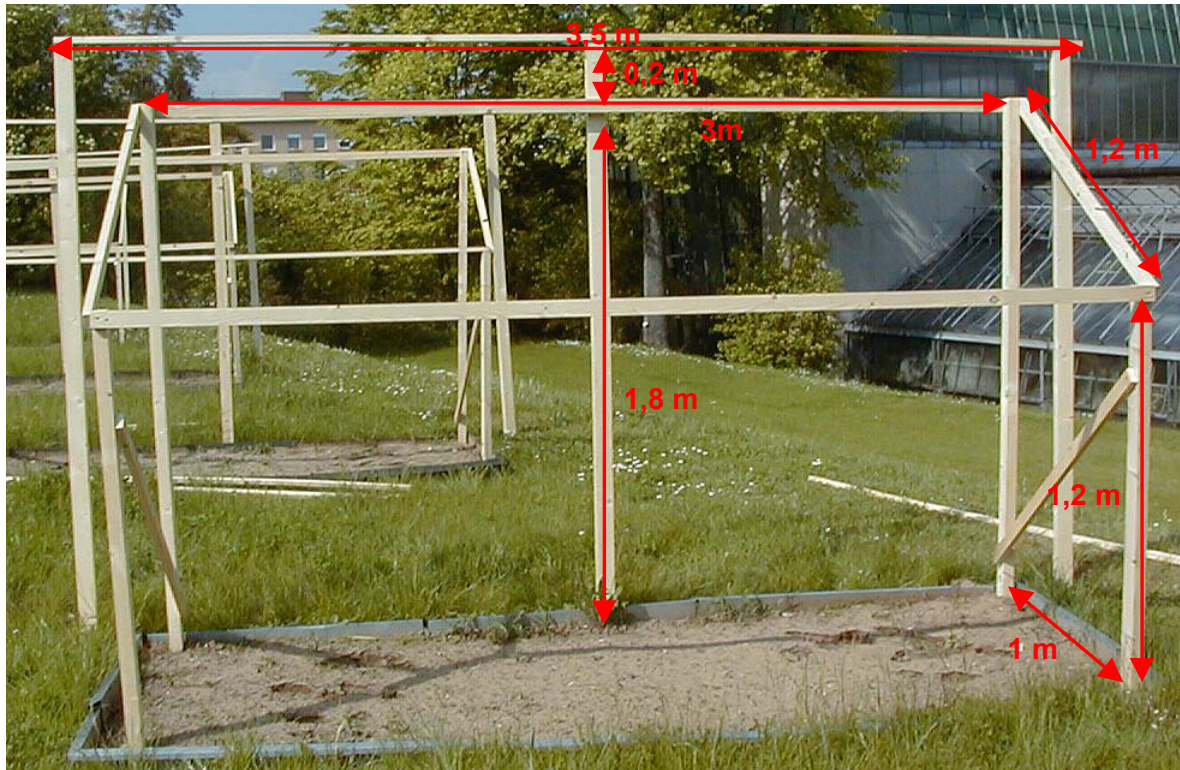


Abb. 2.3: Gerüst einer Expositions-kammer mit Abmessungen

2000:

Zelt 6	Zelt 5	Zelt 4	Zelt 3	Zelt 2	Zelt 1
VA	VAB	V	VA	VAB	V

2001:

Zelt 6	Zelt 5	Zelt 4	Zelt 3	Zelt 2	Zelt 1
V	VA	VAB	V	VA	VAB

Abb. 2.4: Übersicht über Lage und Folienbespannung der Kammern



#### 2.1.4.2 Expositionsbedingungen in den Weinbergsanlagen

Es wurde je eine Anlage für Bacchus und Silvaner ausgewählt, die aufgrund der topografischen Lage vergleichbar war. Beide Anlagen befanden sich bei Sulzfeld am Main. Die Anlagen wurden von Herrn Heinrich Hofmann (LWG, Veitshöchheim) zur Verfügung gestellt und betreut. Alle Bearbeitungs- und Pflanzenschutz-Maßnahmen, die im Versuchszeitraum durchgeführt wurden, wurden abgesprochen und protokolliert (s. Tab. 2.3, Tab. 2.4). Der Boden beider Anlagen wurde als toniger Lehm mit mittlerer Nährstoffversorgung und einem Humusgehalt von ca. 2,2% eingestuft; beide Anlagen wiesen etwa Nord-Süd-Zeilung auf (s. Abb. 2.10). Die Hangneigungen betragen ca. 3% in nordwestlicher Richtung in der Bacchus-Anlage, und ca. 10% in südwestlicher Richtung in der Silvaner-Anlage. Im Jahr 2000 wurden für das Akklimatisations-



**Abb. 2.5:** Folien in der Weinbergsanlage Bacchus

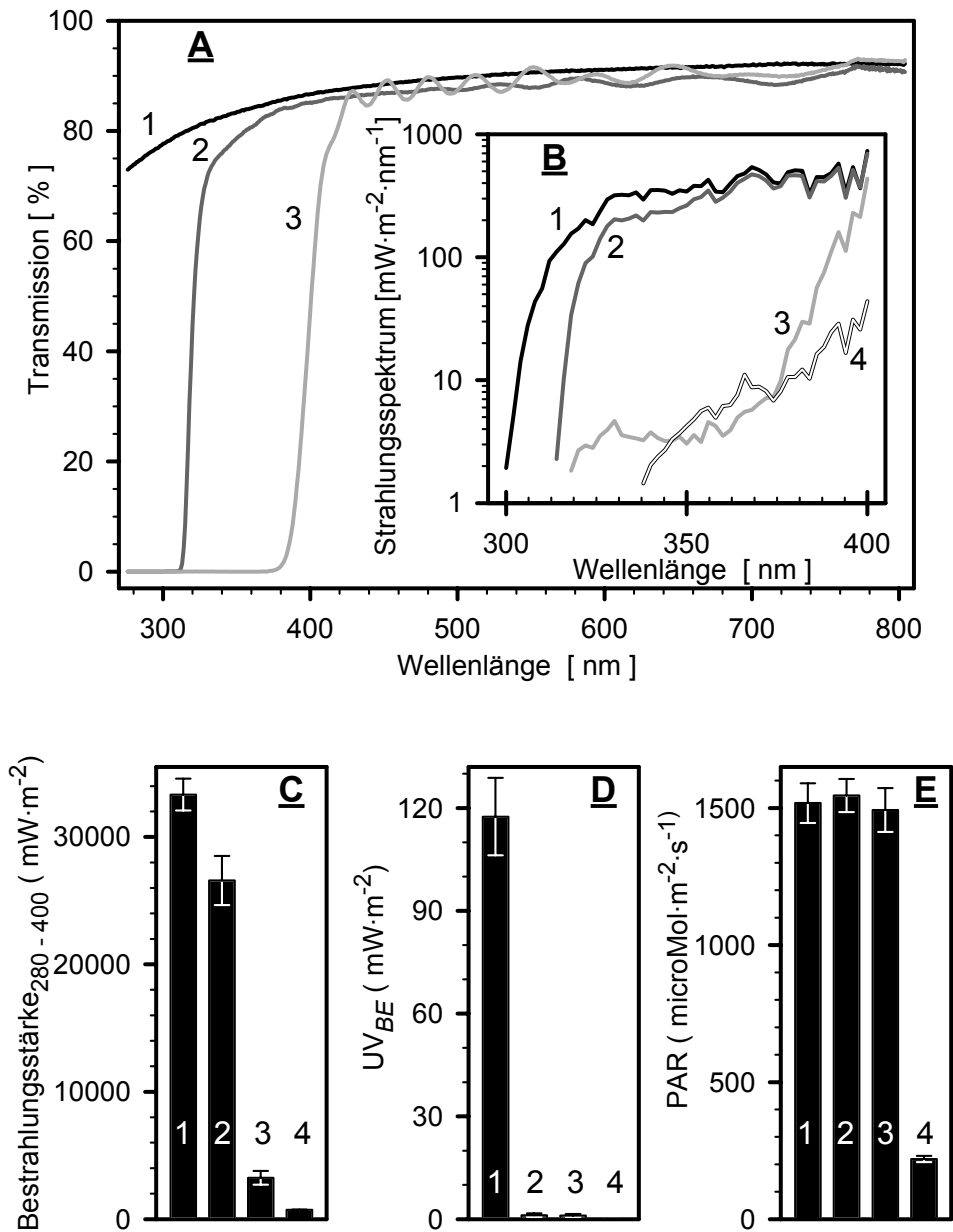
experiment (s. Tab. 2.2, 2.1.6.2b) in beiden Anlagen je Expositionstyp über 8 Pflanzen und eine Länge von ca. 11,2 m beidseitig der Zeile Folien gespannt (Abb. 2.5). Probenahme und Bonitur erfolgten jedoch nur an den 6 zentralen Pflanzen, da bei den randständigen Pflanzen Einfluss von Streustrahlung nicht ausgeschlossen werden konnte. Zusätzlich wurden je zwei Kontrollstandorte ohne Folienbespannung einbezogen (s. Abb. 2.10). Im Jahr 2002 wurden für zwei Induktionsexperimente (s. Tab. 2.2, 2.1.6.2c) in der Bacchus-Anlage je Folientyp

ca. 17 m und 12 Pflanzen überspannt, wobei nur die 10 zentralen Pflanzen beprobt wurden; auf Kontrollstandorte wurde hier verzichtet.

#### 2.1.4.3 Erfassung klimatischer Parameter im Freiland

Die spektrale Zusammensetzung der Strahlung unter den Folien im UV-Bereich wurde in den Versuchsjahren mehrfach durch Messungen mit einem Spektroradiometer (Typ OL 752-10, Optronic Laboratories, Orlando, USA) bestimmt (Abb. 2.6). Die Kalibrierung des Gerätes erfolgte gegenüber einer Standardlichtquelle (Irradiance Standard, OL 752-10E). Die vom Hersteller bezogene Kalibriereinheit war mit einer

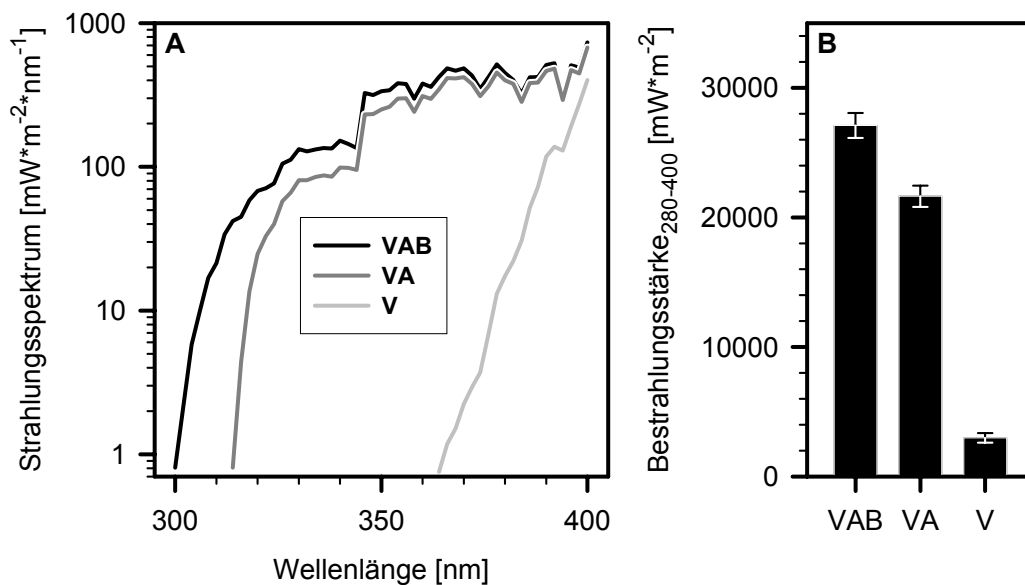
programmierbaren Stromquelle (DC Current Source OL 65A) und einem dualen Kalibrierungsmodul (Dual Source Calibration Module OL 752-150) ausgerüstet. Gemessen wurde an weitgehend wolkenlosen Tagen bei Sonnenhöchststand; dabei wurde in den Kammern an je drei Positionen ein Spektrum aufgenommen und dazu korrespondierend Außenmessungen zwischen den Kammern durchgeführt.



**Abb. 2.6:** Transmissionsspektren der verwendeten Filterfolien (1-3 s.u.) und Strahlungsbedingungen bei unbedecktem Himmel (01.08.2000; 49.8°N, 9.9°E; 200 m NN) in den Expositionskammern VAB (1), VA (2) und V (3), sowie im Gewächshaus (4). Dargestellt sind die Transmissionsspektren der verwendeten Folien (A), die spektrale Energieverteilung (B), Bestrahlungsstärken im UV-Bereich (280-400nm) (C), die biologisch effektive UV- Bestrahlungstärke UV<sub>BE</sub> (errechnet aus B mit dem allgemeinen Pflanzeninaktivierungsspektrum (Caldwell et al., 1983)) (D) und die photosynthetisch aktive Strahlung (PAR) (E). Fehlerbalken in C-E geben Standardabweichungen für  $4 < n < 9$  wieder.

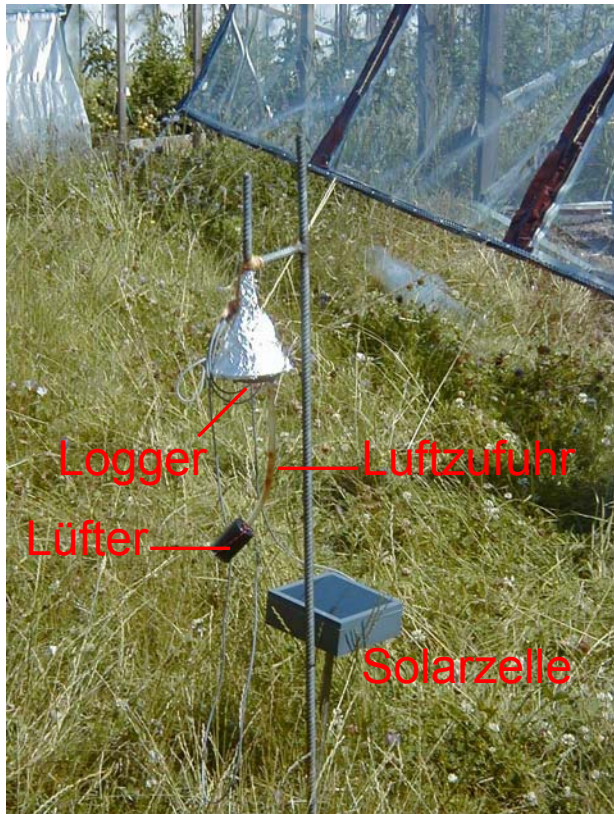


Letztere dienten als Vergleich, um die durch die Folien erreichte Abschwächung der Strahlung einschätzen zu können. Die drei Positionen in den Kammern wurden so gewählt, dass ein Spektrum direkt an der die Südseite abschließenden Folie, eines in der Mitte der Kammer und eines an der offenen Nordseite aufgenommen wurde. Im Bereich der Pflanzenpositionen konnten keine Randeffekte durch Streustrahlung festgestellt werden.



**Abb. 2.7:** Strahlungsbedingungen bei unbedecktem Himmel (29.07.2002; 49.8°N, 9.9°E; 200 m NN) unter den drei Expositionsbedingungen **VAB**, **VA** und **V** im Weinberg. Dargestellt sind die spektrale Energieverteilung (**A**) und Bestrahlungsstärken im UV-Bereich (280-400nm) (**B**). Fehlerbalken in **B** geben Standardabweichungen für  $4 < n < 9$  wieder.

Die Werte der Globalstrahlung wurden von der Messstation des Deutschen Wetterdienstes in Würzburg bezogen. Zusätzlich wurden die Bestrahlungsstärken im UV-B-, UV-A- und im sichtbaren Bereich von der Messstation des ELDONET an der 80 km entfernten Universität Erlangen (200 m NN, 49,5° N, 11° E) abgefragt (Marangoni et al., 2000). Die Strahlungsbedingungen unter den Folien im Weinberg wurden am 29.07.02 bei vergleichbaren klimatischen Verhältnissen überprüft (Abb. 2.7). Die Messungen erfolgten in Höhe der Traubenzone, wobei jeweils eine Position in der Mitte und am Rand der Bespannung ausgewählt wurde. Auch hier wurden Vergleichsmessungen außerhalb der Folien durchgeführt. Die UV-Strahlungsbedingungen unter den Folien im Weinberg waren denen in den Kammern vergleichbar: die Abschirmung der Bestrahlungsstärke im UV-Bereich (280-400nm) durch die Folien betrug im Mittel 14-18% (VAB), 31-35% (VA) und 90-92% (V).



**Abb. 2.8:** Modifizierter Datalogger mit Prozesslüfter, Solarzelle und Bestrahlungsschutz

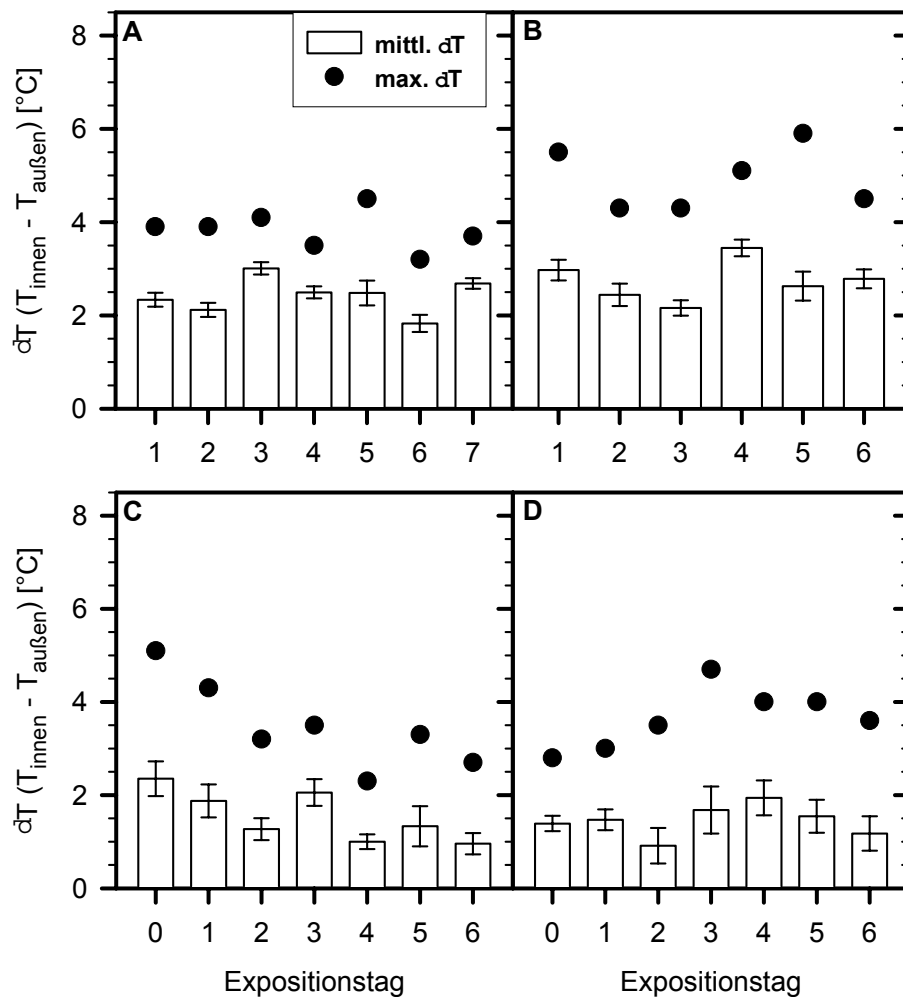
Im Freiland wurden Temperatur und relative Feuchte in den Kammern mittels zweier Datalogger (Typ Tiny Tag, Gemini Dataloggers Ltd., UK) in 30-minütigem Abstand aufgezeichnet. Die Logger wurden in einem Meter Höhe über dem Boden an der Innenseite des vorderen Pfostens der jeweiligen Kammer oder zwischen zwei Kammern angebracht (Abb. 2.8). Diese Höhe entsprach etwa der Traubenzone bzw. den oberen Blattetagen der Getreidepflanzen. Die Logger wurden wechselnd positioniert, um etwaige Unterschiede zwischen den Expositionsbedingungen zu prüfen und um die Kammer- temperatur mit der Außentemperatur zu vergleichen. In den Kammern wurde an

heißen Tagen im Zeitraum von 9.00-19.00 Uhr eine mittlere Erwärmung von 2-3,5°C gegenüber der Außentemperatur beobachtet (Abb. 2.9). Die maximalen Unterschiede betragen 3-6°C. Die Werte der relativen Luftfeuchte folgten den Außenbedingungen.

Im Versuchsjahr 2000 wurden vormittags teilweise auffällige Temperaturspitzen gemessen, die auf eine Erwärmung der Kunststoffummantelung der Messfühler bei direkter Sonneneinwirkung zurückzuführen waren. Zur Vermeidung dieses Messartefaktes wurden ab dem Versuchsjahr 2001 die Logger-Gehäuse durch mit Aluminiumfolie überzogene Trichter vor direkter Sonnenstrahlung abgeschirmt. Zusätzlich wurde die Sensorik durch einen Prozesslüfter fortwährend mit Umgebungsluft versorgt (Abb. 2.8). Die im Vorjahr beobachteten Temperaturspitzen traten mit dieser Messanordnung nicht mehr auf. Für die Stromversorgung der Lüfter wurden in der institutseigenen Werkstatt Solarzellen konstruiert, die je zwei Batterien aufluden.

In der Weinbergsanlage Bacchus befand sich eine von der LWG Veitshöchheim betriebene Klimastation, über die Luftfeuchte, Temperatur, Windgeschwindigkeit und Niederschlagsmenge vor Ort kontinuierlich erfasst wurden. Während der Induktionsversuche im Jahr 2002 wurden zusätzlich die beiden Datenlogger in Höhe der

Traubenzone unter die Folien positioniert, um das Mikroklima unter den Folien zu bestimmen. Unter den Folien wurde an heißen Tagen im Zeitraum von 9.00-19.00 Uhr eine mittlere Erwärmung von 1-2°C gegenüber der Außentemperatur beobachtet (Abb. 2.9). Die maximalen Unterschiede betrugen 2-5°C. Die relative Luftfeuchte war gegenüber den Außenbedingungen zu diesen Zeitpunkten um ca. 10% reduziert.



**Abb. 2.9:** Mittlere und maximale Temperaturdifferenz  $\Delta T (T_{\text{innen}} - T_{\text{außen}})$  jeweils im Zeitraum von 9.00-19.00 Uhr während verschiedener Induktionsversuche. Dargestellt sind die Temperaturdifferenzen zwischen den Expositionskammern und dem Freiland während der Versuche GI 2001 (A) und BI 2001 (B) bzw. zwischen den Folienstandorten und dem Freiland im Weinberg während der Induktionsversuche im Jahr 2002 (C, D). Fehlerbalken geben die Standardfehler für  $n=21$  wieder.

## 2.1.5 Versuchsansätze

Tab. 2.2: Überblick über die einzelnen Experimente:

<b>Getreide</b>			
<b>Art des Experiments</b>	<b>Versuchsnummer</b>	<b>Zeitraum</b>	<b>untersuchte Art / Varietät</b>
Akklimatisation	G A 2000 G A 2001	16.05. – 16.06.00 26.07. – 22.08.01	<i>H. vulgare</i> cv. Ricarda, cv. LBP 24727
Induktion	W/G/H I 2000	23.08. – 31.08.00	<i>T. aestivum</i> cv. Triso, cv. Thasos; <i>H. vulgare</i> cv. Ricarda, cv. LBP 24727; <i>A. sativa</i> cv. Jumbo, cv. Revisor
	G I 2001	03.07. – 10.07.01	<i>H. vulgare</i> cv. Ricarda, cv. LBP 24727
<b>V. vinifera</b>			
<b>Art des Experiments</b>	<b>Versuchsnummer</b>	<b>Zeitraum</b>	<b>untersuchte Varietäten / Organe</b>
Akklimatisation (Weinberg)	B/S A 2000	29.06. – 31.08.00	Bacchus, Silvaner; Beeren
Induktion	S(L) I 2000	12.08. – 18.08.00	Silvaner; Blätter
	B/S I 2000	17.06. – 21.06.00 Beobachtung bis 06.07.00	Bacchus, Silvaner; Beeren
	B I 2001	26.07. – 01.08.01 Beobachtung bis 24.08.01	Bacchus; Beeren
Induktion (Weinberg)	B I1 2002	29.07. – 01.08.02 Beobachtung bis 08.08.02	Bacchus; Beeren
	B I2 2002	14.08. - 19.08.02 Beobachtung bis 23.08.02	

### 2.1.5.1 Getreidearten

Die Anzucht erfolgte im Versuchsgewächshaus des Lehrstuhls für Botanik II, wobei ab Mitte April bis Ende Juni in zwei- bis dreiwöchigem Abstand fortlaufend Pflanzen nachgezogen wurden. Die Aussaat erfolgte in Containertöpfen mit einem Durchmesser von 20 cm auf Torfsubstrat Cultural F (Euflo, München). Pro Topf wurden fünfzehn (2000) bzw. zehn (2001) Karyopsen gesät, die Keimlinge wurden dann nach Erreichen

des 1-Blatt-Stadiums auf zehn (2000) bzw. auf fünf Individuen pro Topf (2001) vereinzelt. Die Pflanzen wurden täglich gegossen und einmal wöchentlich mit dem Mehrstoffdünger Flory 3 (Euflor, München; 15-10-15-2 für Stickstoff-, Phosphor-, Kalium-, Magnesiumanteil) gedüngt. Im Bedarfsfall wurden im Wechsel die Pflanzenschutzmittel Previcur N (Hoechst Schering AgrEvo GmbH\*), Saprol (Scotts Celaflor\*), Amistar (Syngenta Agro AG\*), Harvesan (DuPont\*) Confidor, Unden und Metasystox R (BayerCropscience\*) entsprechend der Angaben des Herstellers appliziert (\*s. Tab. 2.5). Dabei wurden Unden und Saprol bzw. Amistar und Harvesan jeweils gemeinsam verwendet. Previcur N und Confidor wurden nur im Jahr 2000 appliziert, Amistar, Harvesan und Metasystox R nur im Jahr 2001. Es wurde jedoch darauf geachtet, dass zwischen dem letzten Applikationstermin und dem Beginn der Induktionsversuche mindestens drei bis vier Wochen lagen. Von Mitte April bis Ende Mai wurden Lampen eingesetzt, um das übermäßige Längenwachstum der Halme und die damit verbundene Neigung zum Kippen einzudämmen (s. 2.1.3). Zusätzlich wurden in jedem Topf Haltevorrichtungen für die Pflanzen angebracht.

Für die langfristigen Akklimatisationsversuche bei Gerste wurden die Pflanzen nach vierwöchiger Voranzucht (BBCH 14- 19) im Gewächshaus in die Expositions-kammern verbracht. Die oberen Blattetagen bildeten sich in den folgenden vier Wochen unter den verschiedenen Strahlungsbedingungen aus. Die Aussaat der Pflanzen für den Versuch G A 2000 war erfolgte am 13.04.00. Am 16.06.00 wurden je Sorte und Strahlungsbedingung fünf Blätter für die Messungen entnommen. Die Aussaat für den Akklimatisationsversuch G A 2001 erfolgte am 26.06.01; am 22.08.01 wurden je Sorte und Strahlungsbedingung acht bis zehn Blätter gemessen. Die beprobte Blattetage war das sogenannte F-1-Blatt, das Blatt unter dem Fahnenblatt. In beiden Versuchen wurden je zehn Pflanzen pro Sorte und Strahlungsbedingung eingesetzt.

Die für die kurzzeitigen Induktionsexperimente verwendeten Pflanzen verblieben bis etwa zum Stadium des Ährenschiebens im Gewächshaus (BBCH 45- 51). Ab diesem physiologischen Stadium wird unter Feldbedingungen in der Regel das Schadbild der NBV an Gerste beobachtet (Dr. Baumer, Fr. Behn, LBP, Freising; pers. Mitteilung).

Die Pflanzen wurden einen bis zwei Tage vor dem Beginn der Exposition bonitiert, markiert und es wurden Proben für Messungen entnommen (s. 2.2.1). Die beprobte Blattetage war auch hier das F-1- Blatt. Es wurden ausschließlich Blätter beprobt, die

zum Zeitpunkt der Exposition bereits ausdifferenziert waren. Die Auswahl erfolgte zufällig und es wurde je Versuchstag immer nur ein Blatt von derselben Pflanze entnommen. Bonituren sollten klären, ob das Auftreten von NBV bei Ricarda auf UV-Strahlung zurückgeführt werden kann (s. 2.2.7.3).

Im Induktionsversuch im Jahr 2000 (W/G/H I 2000) wurden parallel jeweils zwei Sorten von Gerste, Hafer und Weizen untersucht. Die Aussaat der Pflanzen erfolgte am 28.06.00, die Messung der prä-expositionellen Abschirmungseigenschaften und der PS II-Aktivität an je sechs Blättern pro Sorte, sowie Markierung und Bonitur der Pflanzen wurden am 20.08.00 und am 21.08.00 durchgeführt. Am 22.08.00 wurden die Pflanzen nach 22.00 Uhr in die Expositionskammern überführt. Je Sorte und Strahlungsbedingung wurden vier Töpfe a zehn Pflanzen exponiert. Die Exposition dauerte vom 23.08.00 (=T1) bis zum 30.08.00 (=T8). In diesem Zeitraum wurden an den Tagen T1, T2, T3, T4 und T8 je Sorte und Strahlungsbedingung fünf Blätter für die Messungen entnommen. Die Pflanzen wurden insgesamt bis zum 06.09.00 in den Kammern belassen; am 28.08.00 und am 31.08.00 wurden Bonituren durchgeführt.

Der Induktionsversuch im Jahr 2001 (G I 2001) konzentrierte sich auf die beiden Varietäten von Gerste. In diesem Versuchsjahr wurde die Probennahme bereits vor der Exposition festgelegt, indem alle insgesamt zur Verfügung stehenden Blätter und ihre Verteilung auf Pflanzen und Töpfe bestimmt wurden. Jede Pflanze wurde mit einem Nummerncode versehen, über den dann mittels Zufallsgenerator die zu beprobenden Blätter ausgewählt wurden. Die Aussaat der Pflanzen erfolgte am 26.04.01; abweichend von den anderen Versuchsansätzen wurde hier gedämpfter Kompost gemischt mit Staudenerde als Substrat verwendet. Die Messung der prä-expositionellen Abschirmungseigenschaften und der PS II-Aktivität an je zehn Blättern pro Sorte, sowie Markierung und Bonitur der Pflanzen wurden am 01.07.01 und am 02.07.01 durchgeführt. Am 02.07.01 wurden die Pflanzen nach 22.00 Uhr in die Expositionskammern überführt. Je Sorte und Strahlungsbedingung wurden sechs Töpfe a fünf Pflanzen exponiert, außerdem wurden je Sorte zehn Pflanzen im Gewächshaus belassen, an denen am letzten Expositionstag eine Vergleichsmessung durchgeführt wurde. Die Exposition dauerte vom 03.07.01 (=T1) bis zum 10.07.01 (=T8) und an den Tagen T1 mit T7 der Exposition wurde an zehn Blättern je Sorte und Strahlungsbedingung PS II-Aktivität und UV-A-Transmission mit den tragbaren Geräten (s. 2.2.2) gemessen. Die destruktive Probennahme für Messungen mit der Xenon-PAM (s.

2.2.2.2) reduzierte sich auf drei Zeitpunkte: zur Bestimmung der prä-expositionellen Abschirmungseigenschaften (=T0), einer Messung nach drei Tagen Exposition und einer Messung an je sechs Blättern von den während des Expositionszeitraumes im Gewächshaus belassenen Pflanzen an T7. Die Messungen an den Tagen T1 mit T3 und T4 mit T7 fanden immer an denselben, zuvor gekennzeichneten Blättern statt. Am 10.09.01 wurde eine abschließende Bonitur durchgeführt (s. 2.2.5).

### **2.1.5.2 *Vitis vinifera***

Die Untersuchungen wurden sowohl an getopften, im Gewächshaus angezogenen zwei- bis dreijährigen Pflanzen, als auch an Rebstöcken in zwei bewirtschafteten Weinbergen nahe Sulzfeld a. Main durchgeführt.

#### **Pflanzen der Induktionsversuche (2000 und 2001):**

B/S I 2000: Es handelte sich um zweijährige Pfropfreben der Sorten Bacchus und Silvaner. Als Unterlage diente eine Kreuzung von *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia*, die als „SO4“ (Selektion Oppenheim Nr. 4) bezeichnet wird und eine der wichtigsten Unterlagensorten Deutschlands darstellt. Die Reben wurden auf zwei Augen zurückgeschnitten, über den Winter in Mulch eingeschlagen und bei ca. 1°C und 95-100% relativer Feuchte gelagert. Ab Ende März 2000 erfolgte die Kultivierung der Reben im Versuchsgewächshaus der Landesanstalt für Wein- und Gartenbau, Veitshöchheim. Beim Eintopfen erfolgte eine Behandlung mit BIO 1020. Hierbei handelt es sich um ein auf Gerstenkörner angezogenen Pilz (*Metharhizum anisopliae*/ TAENSA Inc., Monheim), der gegen die Larven des Dickmaulrüsslers eingesetzt wird. Sie wurden mit Einheitserde Typ T (Einheitserde Werkverband, Sinntal-Jossa) in Containertöpfe (zwischen 15 und 20 cm Durchmesser) getopft. Eine Düngung erfolgte etwa alle vier Wochen mit dem Mehrstoffdünger Hakaphos-blau (15+10+15+4 für Stickstoff-, Phosphor-, Kalium-, Magnesiumanteil; Compo, Münster), einmal wöchentlich wurde über einen Verdampfer Schwefel (Fluka) appliziert. Insgesamt wurden 50 Pflanzen je Sorte im Gewächshaus der LWG vorgezogen. Da jedoch nur 18 der Bacchus- bzw. 12 der Silvaner-Reben Gescheine bildeten, konnten nur diese im Versuch B/S I 2000 (s. Tab. 2.2) verwendet werden. Diese Pflanzen wurden am 14.06.00 in einem geschlossenen Wagen in das Versuchsgewächshaus des Lehrstuhls für Botanik II überführt. Am 15.06.00 (=T0) erfolgten Freistellung, Bonitur, Markierung und die erste Probennahme. Am 17.06.00 (=T1) wurden die Pflanzen zwischen 7 und 8

Uhr in die verschiedenen Expositions-kammern (s. da) auf dem Gelände des botanischen Gartens überführt. Je Strahlungsbedingung wurden sechs Bacchus- und vier Silvanerpflanzen exponiert. Am 18.06.00 (=T2), 19.06.00 (=T3), 21.06.00 (=T5) und am 06.07.00 (=T21) wurde je Pflanze eine Beere für die fluorimetrischen Messungen entnommen, sowie jeweils eine parallele Probe für analytische Verfahren eingefroren (s. auch 2.2.1). Das physiologische Stadium der Beeren zum Zeitpunkt des Expositionsbeginns entsprach ca. BBCH 75.

S(L) I 2000: Die verbleibenden 38 Silvaner- Reben wurden für den Versuch S(L) I 2000 herangezogen. Sie wurden am 17.07.00 in das Versuchsgewächshaus der Botanik II gebracht. Am 11.08.00 (T0) erfolgte die prä-expositionelle Messung und im Anschluss daran die Überführung (23:00 Uhr) in die Expositions-kammern. Von den insgesamt 38 Rebstöcken wurden 30 im Freiland auf die drei unterschiedlichen Strahlungsbedingungen verteilt, 8 verblieben als Kontrollpflanzen im Gewächshaus. Einen Tag nach Beendigung der Exposition wurde an diesen Pflanzen eine weitere Messung durchgeführt. Der Versuch wurde im Rahmen einer Zulassungsarbeit (M. Käser, 2001) bearbeitet, die Veröffentlichung der Daten erfolgte bereits (Kolb et al., 2001).

B I 2001: Die aus dem Jahr 2000 stammenden 32 Bacchus- Reben wurden weiterhin in der LWG betreut. Sie wurden auf vier Augen geschnitten, verblieben über den Winter im Freien und wurden ab März im Gewächshaus der LWG kultiviert (weitere Behandlung s.o.). Im Jahr 2001 setzten 24 der nun dreijährigen Pflanzen Fruchtstände an und wurden im Versuch B I 2001 eingesetzt. Die Pflanzen wurden am 16.07.01 in das Versuchsgewächshaus der Botanik II überführt. Aufgrund vereinzelter Auftretens von *Oidium*- Befall wurde am 20.07.01 und am 24.07.01 mit Thiovit (Syngenta Agro AG) behandelt. Befallene Pflanzenteile wurden entfernt. Die Markierung, Bonitur und Freistellung der Rispen erfolgte am 24.07.01. Für die Verteilung der Pflanzen auf die Kammern wurden die je Pflanze verfügbaren Fruchtstände gezählt und markiert. Jede Rispe erhielt einen Nummerncode. Da die Anzahl der Rispen pro Pflanze zwischen 1 und 8 schwankte, wurden die Pflanzen so zugeordnet, dass je Strahlungsbedingung zwischen 23 und 27 Rispen an acht Pflanzen zur Verfügung standen. Für die Bestimmung der prä-expositionellen Eigenschaften (=T0) wurden am 25.07.01 je Pflanze eine Beere entnommen, danach wurden die Reben zwischen 22.00 und 23.00 Uhr in die Expositions-kammern überführt. Das physiologische Stadium der Beeren zum

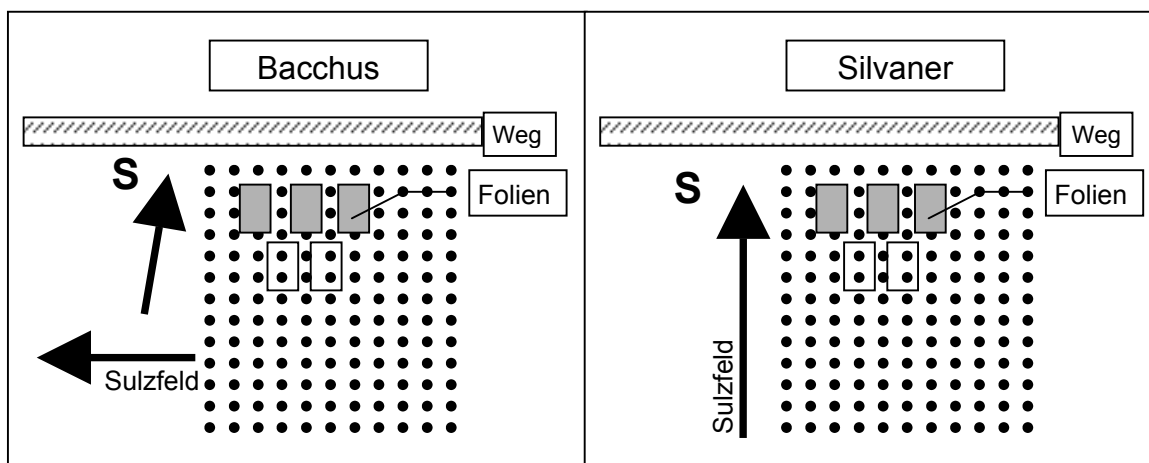


Zeitpunkt des Expositionsbeginns entsprach etwa dem BBCH 81-83. Der eigentliche Induktionsversuch dauerte vom 26.07.01 bis zum 31.07.01, die Pflanzen wurden aber zur weiteren Beobachtung und Bonitur bis zum 24.08.01 in den Kammern belassen. Vom 26.07.01 (=T1) bis zum 31.07.01 (=T6) wurden täglich Messungen durchgeführt. An allen Tagen der Exposition wurde an je einer Beere von jeder Rispe die UV-A-Transmission mit dem tragbaren Gerät (UVA-PAM, s. 2.2.2.2) gemessen. Diese Messungen fanden immer zwischen 21.00 und 22.00 Uhr an denselben, zuvor gekennzeichneten Beeren statt. Die Bestimmung der PS II-Aktivität wurde an den Tagen T1, T2, T4 und T5 im Anschluss an die Messungen mit der UVA-PAM an denselben Beeren direkt an der Pflanze durchgeführt. Die destruktive Probennahme für Messungen mit der Xenon-PAM (s. 2.2.2.2) reduzierte sich auf drei Zeitpunkte: zur Bestimmung der prä-expositionellen Abschirmungseigenschaften (=T0), einer Messung nach drei und einer Messung nach sechs Tagen Exposition. Hierfür wurde im Anschluss an die Messung mit der UVA-PAM je Pflanze eine Beere entnommen, wobei die Auswahl der jeweiligen Rispe über den Nummerncode per Zufallsgenerator bestimmt wurde. An diesen Tagen beschränkten sich die Messungen der P SII-Aktivität auf die entnommenen Beeren, die dafür im Labor 60 Minuten dunkeladaptiert wurden. Bonituren wurden in 4- 6-tägigem Rhythmus durchgeführt.

### **Akklimatisationsexperiment (B/S A 2000)**

Die Pflanzen beider Anlagen waren Pfropfreben mit der Unterlage SO4 (s.o.) und wurden 1980 (Bacchus-Anlage) bzw. 1978 (Silvaner-Anlage) gesetzt.

Die Blüte wurde zwischen dem 01.06.00 und dem 07.06.00, der Traubenschluss etwa um den 15.07.00 beobachtet. Der Reifebeginn wurde für Bacchus auf den 28.07.00 und für Silvaner auf den 07.08.00 datiert. Die Folienbespannung (s. 2.1.4.2) erfolgte in der Anlage Bacchus am 29.06.00 und in der Anlage Silvaner am 04.07.00, die Beeren der beiden Sorten befanden sich zum jeweiligen Bespannungszeitpunkt etwa im Rebstadium BBCH 75.



**Abb. 2.10:** Anordnung der Versuchspartellen in den Weinbergsanlagen (2000). Folienstandorte (grau): VAB, VA, V; Kontrollstandorte (weiß):  $K_S$  (beschattet),  $K_{ex}$  (exponiert).

Unter jeder Folie wurde am 13.07.00 (Bacchus) bzw. am 14.07.00 (Silvaner) ein Teil der Rispen freigestellt, d.h. beschattende Blätter wurden entfernt oder zurück gebunden, um eine möglichst gleichmäßige Lichtexposition zu ermöglichen. Zusätzlich zu den drei mit Folie bespannten Gruppen wurden zwei Kontrollgruppen ohne Bespannung in die Untersuchungen einbezogen (Abb. 2.10). Die Rispen der einen Kontrollgruppe waren, wie die Rispen unter den Folien, freigestellt worden ( $K_{ex}$ ), die Rispen der zweiten Gruppe hingegen blieben von Blättern beschattet ( $K_S$ ). An allen freigestellten Rispen wurden regelmäßig Bonituren zur Bestimmung der Schadensentwicklung beiderseits der Zeile durchgeführt (s. 2.2.5). Die Probennahme erfolgte nur auf der Ostseite. Die Proben der  $K_S$ -Gruppe wurden von Rispen genommen, bei denen eine ganztägige Beschattung sicher angenommen werden konnte. Anhand der Messungen an den Kontrollgruppen sollten die Einflüsse von Licht und Entwicklungszustand auf die Abschirmung im allgemeinen abgeschätzt werden, während der Einfluss unterschiedlicher UV-Strahlungsbedingungen aus dem Vergleich der Proben aus den Folienstandorten ermittelt werden sollte.

Bei Bacchus wurden zwischen dem 13.07.00 und dem 16.08.00 im Abstand von 7-10 Tagen insgesamt 5 Messungen durchgeführt. Die Messungen an den Proben von Silvaner fanden immer um einen Tag versetzt dazu statt, zudem wurde noch ein zusätzlicher Messtermin am 30.08.00 eingeführt. Zu diesem Zeitpunkt war bei den Bacchusbeeren der Reifeprozess bereits so weit fortgeschritten, dass auf die fluorimetrische Bestimmung der Transmissionseigenschaften aufgrund der damit verbundenen Reduzierung des Chlorophylls verzichtet wurde (s. 3.6.1). Es wurden aber

Proben für die analytischen Verfahren genommen. Ab dem ersten Auftreten des „Sonnenbrandes“ am 28.07.00 bei Bacchus wurden bis zum 18.08.00 insgesamt vier Bonituren durchgeführt (s. 2.2.7.1). Bei den Pflanzenschutzmaßnahmen vom 20.07.00 bzw. vom 10.08.00, die in den Versuchszeitraum fielen, wurden die Folien am späten Nachmittag für eine Stunde ausgehängt und aufgerollt. Dabei waren die Rispen bei Bacchus am 20.07.00 von 16:00 bis 17:00 Uhr und am 10.08.00 von 16:30 bis 17:30 Uhr unbedeckt. Bei Silvaner wurden die Maßnahmen jeweils im Anschluss daran durchgeführt, die Rispen waren am 20.07.00 von 17:30 bis 18:30 Uhr und am 10.08.00 von 18:00 bis 19:00 Uhr ohne Folienbedeckung. Am 20.07.00 war der Himmel in diesem Zeitraum stark bewölkt, am 10.08.00 klar bis heiter. Für die Bodenbearbeitungsmaßnahme am 11.08.00 und am 12.08.00 wurden die Folien nur ausgehakt und glatt nach unten hängen gelassen, die Rispen blieben so bedeckt.

**Tab. 2.3:** Maßnahmen 2000:

Datum	Maßnahme	Präparate
10.05.00	Pflanzenschutz	Polyram WG (BASF), Kumulus Netzschwefel (BASF)
23.05.00	Pflanzenschutz, Düngung	Polyram WG (BASF), Kumulus Netzschwefel (BASF), Vento (DOW AgroSciences), Solubor Blattdünger (BASF)
10.06.00	Pflanzenschutz Düngung	Quadris (Syngenta Agro AG), Kumulus Netzschwefel (BASF), Solubor Blattdünger (BASF)
23.06.00	Pflanzenschutz Düngung	Ridomil Gold Combi (Syngenta Agro AG), Vento (DOW AgroSciences), Kumulus Netzschwefel (BASF), Bittersalz (Kali und Salz GmbH), Solubor Blattdünger (BASF)
20.07.00	Pflanzenschutz Düngung	Ridomil Gold Combi (Syngenta Agro AG), Vento (DOW AgroSciences), Switch (Syngenta Agro AG), ME 605 Spritzpulver (BayerCropscience), Bittersalz (Kali und Salz GmbH)
10.08.00.	Pflanzenschutz Düngung	Kupfer flüssig 750 FW (DOW AgroSciences), Castellan (Aventis), Bittersalz (Kali und Salz GmbH), Ronilan (BASF)
11.08 und 12.08.00	Bodenbearbeitung mit Einsaat	

\*Firmensitz der Hersteller s. Tab. 2.5

### **Induktionsexperimente (B I1/I2 2002)**

Im Jahr 2002 wurden die Untersuchungen auf die Bacchus- Anlage beschränkt. Die Blüte wurde vom 15.06.02 bis 20.06.02, der Traubenschluss etwa am 20.07. beobachtet. Der Reifebeginn (Rebstadium BBCH 81) wurde auf etwa den 03.08.02

datiert. Die Folienbespannung erfolgte am 03.07.02, die Beeren befanden sich zu diesem Zeitpunkt etwa im Rebstadium BBCH 73 - 75. In Abweichung vom experimentellen Design von 2000 wurden je Expositionstyp auf einer Länge von ca.17 m 12 Pflanzen mit Folien bespannt, wobei die Probennahme nur an den 10 zentralen Pflanzen erfolgte. Es wurden keine zusätzlichen Kontrollgruppen ohne Folienbespannung einbezogen.

**Tab. 2.4:** Pflanzenschutz und Düngung 2002:

Datum	Maßnahme	Präparate*
17.05.02	Pflanzenschutz	Polyram WG (BASF), Kumulus Netzschwefel (BASF)
01.06.02	Pflanzenschutz	Polyram WG (BASF), Kumulus Netzschwefel (BASF)
12.06.02	Pflanzenschutz, Düngung	Ridomil Gold Combi (Syngenta Agro AG), Vento (DOW AgroSciences), Solubor Blattdünger (BASF)
02.07.02	Pflanzenschutz Düngung	Forum (BASF), Vento (DOW AgroSciences), Bittersalz (Kali und Salz GmbH)
15.07.02	Pflanzenschutz Düngung	Melody multi (BayerCropscience), Stroby WG (BASF), Bittersalz (Kali und Salz GmbH)
22.07.02	Pflanzenschutz Düngung	Forum Star (BASF), Discus (BASF), Switch (Syngenta Agro AG), Bittersalz (Kali und Salz GmbH)
05.08.02	Pflanzenschutz	ME 605 Spritzpulver (BayerCropscience), Euparen M WG (BayerCropscience)

\*Firmensitz der Hersteller s. Tab. 2.5

Da es sich bei diesem Versuch um einen Induktionsversuch unter den gegebenen Bedingungen im Weinberg handelte, unterblieb die Freistellung zunächst. Es wurden je Pflanze zwei Rispen ausgewählt, die vollständig von Blättern beschattet waren. Die Durchlässigkeit der Beschattung für PAR wurde mittels Quantum- Sensor (LI-189, LI-COR, Lincoln, NE) an jeder Rispe überprüft. Im Mittel konnten direkt an den beschatteten Rispen nur 4 – 6% des außerhalb der Blätter ermittelten PAR gemessen werden. Je zehn Rispen pro Strahlungsbedingung wurden in zwei sukzessiven Induktionsexperimenten zu zwei verschiedenen Zeitpunkten freigestellt: einmal unmittelbar vor dem Reifebeginn (B I1 2002) am 28.07.02 und einmal etwa zehn Tage danach (B I2 2002) am 13.08.02. Die Freistellung erfolgte jeweils am Abend der angegebenen Termine, der darauffolgende Tag war somit der erste Expositionstag. Bei der Auswahl der Zeitpunkte wurden außer dem physiologischen Stadium der Beeren

auch die Witterungsbedingungen berücksichtigt (s. 2.1.2). Letztere waren im vorgegebenen Zeitraum als relativ ungünstig einzustufen (s. 3.1).

Zusätzlich wurden noch je Strahlungsbedingung fünf Rispen an je fünf Pflanzen ausgewählt, die über den gesamten Zeitraum beschattet blieben und als Kontrollen für beide Versuche dienten. Die Probennahme erfolgte jeweils zeitgleich mit der Freistellung und nach vier (B I1 2002) bzw. sechs (B I2 2002) Tagen Exposition; von jeder markierten Rispe wurde eine Beere entnommen. Die Beprobung und Bonitur in diesen Experimenten wurde ausschließlich auf der Westseite durchgeführt. Die Bonituren im Akklimatisationsexperiment (B/S A 2000) aus dem Jahr 2000 hatten dort eine wesentlich höhere Schadensbelastung als auf der Ostseite ergeben (s. Bonitur).

**Tab. 2.5:** Hersteller der Pflanzenschutzmittel

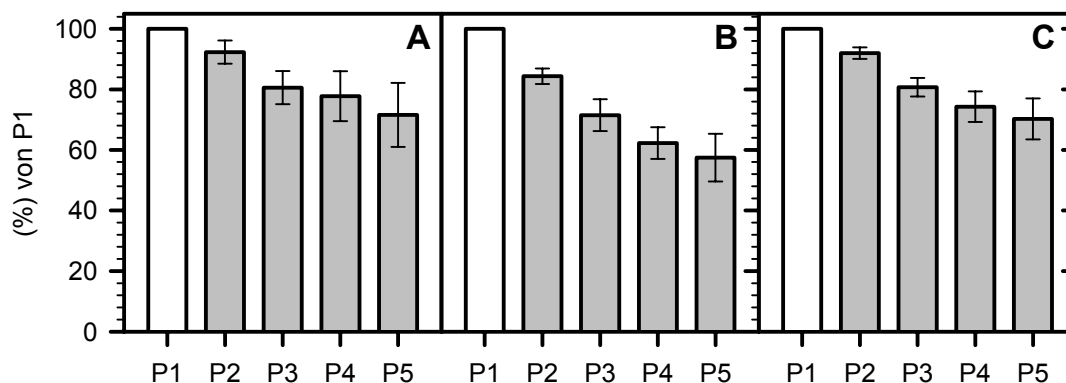
<b>Hersteller</b>	<b>Firmensitz</b>
BASF	Limburgerhof, Deutschland
BayerCropscience	Leverkusen, Deutschland
Aventis	jetzt: BayerCropscience (s.o.)
Dow AgroSciences	München, Deutschland
Syngenta AgroAG	Basel, Schweiz
Kali und Salz GmbH	Kassel, Deutschland
Hoechst Schering AgrEvo GmbH	Düsseldorf, Deutschland
Scotts Celaflor	Ingelheim am Rhein, Deutschland
DuPont	Bad Homburg, Deutschland

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Probennahme

#### a) Getreide

Für die Messungen im Labor wurden die Halme unterhalb des F-1-Blattes abgeschnitten und jeder Halm einzeln in ein mit Wasser gefülltes Reagenzglas gestellt. Anschließend erfolgte für die Fluoreszenzmessungen mit der PAM-2000 eine 60-minütige Dunkeladaption. Nach der Messung der variablen Chlorophyllfluoreszenz ( $F_v/F_M$ ) wurde die Bestimmung der epidermalen Transmission mit einem Xenon-PAM-Fluorometer durchgeführt. Dazu wurden am Kulminationspunkt, im mittleren Bereich der Blätter, Blattscheiben mit einer Fläche von  $0,7 \text{ cm}^2$  mittels Korkbohrer ausgestanzt und auf dem Probenhalter mit Terostat IX (Teroson GmbH, Heidelberg) fixiert. Die Blattscheiben wurden an mehreren Zeitpunkten parallel mit der UVA-PAM gemessen (W/G/H I 2000: T4, T8, T15; G I 2001: T0, T3; T7 (nur GH); G A 2001; s. Tab. 2.2). Danach wurden die Proben sofort in flüssigem Stickstoff eingefroren und für die spätere HPLC- Aufbereitung bei  $-80^\circ\text{C}$  gelagert. Bei allen Messungen wurde die Reihenfolge der Beprobung randomisiert.



**Abb. 2.11:** Gradient der epidermalen Transmissionseigenschaften in Gerstenblättern in Abhängigkeit von der Distanz zur Blattbasis. P1-P5: Positionen 1-5, wobei die mittlere Distanz zwischen den Positionen 4 cm betrug. Position1 (Distanz zur Basis: 1,5 cm) diente jeweils als Referenz (=100%). Angabe der anderen Positionen in % der Transmission von Pos.1. **A:** UV-B-Transmission (Xe-PAM). **B:** UV-A-Transmission (Xe-PAM). **C:** UV-A-Transmission (UVA-PAM). Fehlerbalken entsprechen den Standardfehlern für  $n=7$  (Pos.5:  $n=4$ ).

Die Auswahl der Blattposition wurde aus zwei Gründen auf den Kulminationspunkt festgelegt: Zum einen stellt dies die am stärksten exponierte Stelle im Blatt dar, die Festlegung darauf sollte eine Vergleichbarkeit zwischen den Proben verbessern. Zum anderen ist dieser Punkt in der Regel im mittleren Bereich des Blattes

angesiedelt. Blätter von Gramineen wachsen basipetal, das Blattalter steigt mit dem Abstand von der Basis. Tatsächlich zeigten Gerstenblätter einen Gradienten der Transmissionseigenschaften in Abhängigkeit von der Distanz zur Blattbasis (Abb. 2.11). Da die Blattbasis für die Beurteilung von Strahlungseffekten auf die epidermale Abschirmung unwichtig ist, wurden die Proben in einem vergleichbaren Bereich genommen, der den Positionen drei und vier entsprach.

Im Jahr 2000 wurden die Halme ab ca. 16.00 Uhr (MESZ) entnommen, im Jahr 2001 erst ab ca. 21.00 Uhr (MESZ). Die spätere Beprobung lag an dem routinemäßigen Einsatz der UVA-PAM im Jahr 2001: Da die täglichen Messungen nun an der Pflanze selbst stattfanden, musste ein Zeitpunkt gewählt werden, an dem eine Dunkeladaptation im Freien möglich war. An den Tagen, an denen nur mit den tragbaren Geräten gemessen wurde, wurden ab ca. 21.30 mit der UVA-PAM die epidermalen Transmissionseigenschaften und im Anschluss daran ab ca. 22.30 Uhr die PS II-Aktivität der Blätter bestimmt. Dieser spätere Zeitpunkt wurde auch für die Messungen im Labor beibehalten.

#### **b) Beeren von *V. vinifera***

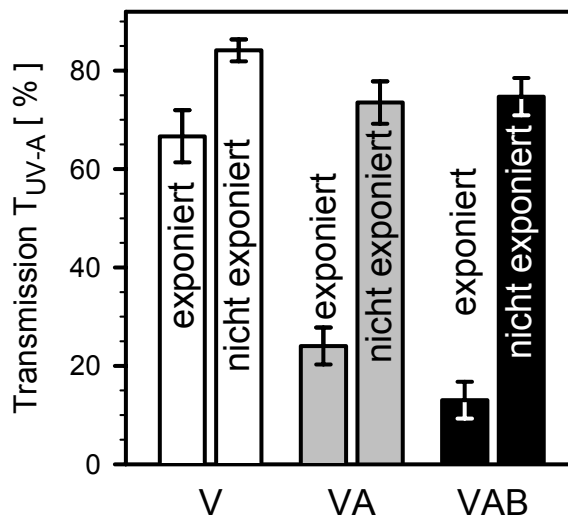


**Abb. 2.12:**  
Die eingezeichnete Ellipse stellt das für die Messungen verwendete Beerensegment dar.

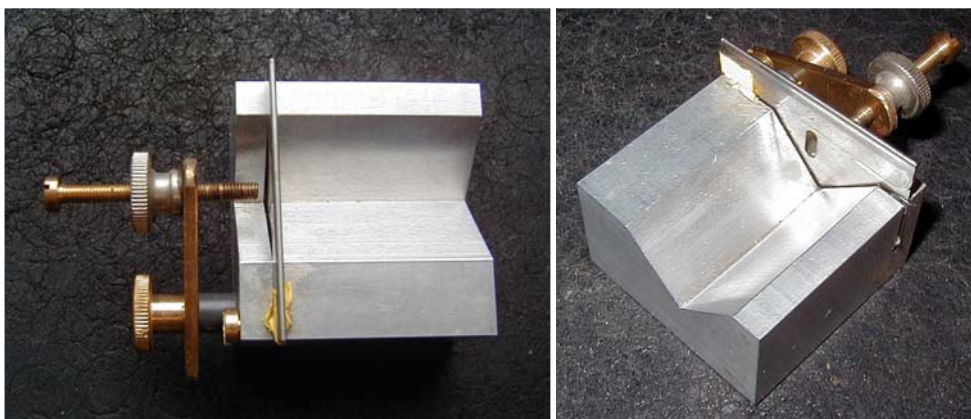
Für die Messungen wurden Beeren aus dem oberen Drittel einer Rispe ausgewählt. Die Messung erfolgte an der lichtexponierten Seite der Beeren. Um dies auch nach der Entnahme sicherstellen zu können, wurden in der Regel Beeren ausgewählt, deren Stigma dem Licht zugewandt war (Abb. 2.12); in den seltenen Fällen, in denen dies nicht möglich war, wurden die Beeren auf der lichtabgewandten Seite mittels Filzstift markiert. Die genaue Festlegung der Messposition ist wichtig, da die UV-Abschirmung innerhalb einer Beere von der

Strahlungsexposition abhängt (Abb. 2.13). Bei der Entnahme wurden die Beeren am Stiel abgeschnitten und in einem Plastikgefäß über Eis bis zur Messung gelagert. Nach 60-minütiger Dunkeladaptation erfolgte die Bestimmung von  $F_v/F_M$  und darauf die fluorometrische Bestimmung der Transmissionseigenschaften mit der Xenon-PAM. Es wurden flache, ca. 1-2 mm dicke, Segmente von der exponierten Seite der Beere geschnitten und mittels Terostat IX (Teroson GmbH, Heidelberg) auf den Probenhalter der Xenon-PAM-Apparatur aufgebracht.

**Abb. 2.13:** Apparente  $T_{UVA}$  bei Beeren von *V. vinifera* cv. Bacchus nach drei Wochen Exposition unter den verschiedenen Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V). Dargestellt sind Messungen mit der UVA-PAM an der lichtzugewandten (exponiert) und der lichtabgewandten Seite derselben Beeren. Die Fehlerbalken entsprechen den Standardfehlern für  $n=8-13$ .



Die Zeitpunkte für die Probenentnahme in den Induktionsexperimenten entsprachen denen unter 2.2.1a; im Jahr 2002 wurden die Proben wie im Jahr 2001 entnommen. Im Akklimatisationsexperiment B/S A 2000 wurden die Proben zwischen 9.00 und 10.00 Uhr (MESZ) entnommen, da hier die langfristige Entwicklung der Transmissionseigenschaften im Vordergrund stand. Im Versuchsjahr 2000 wurde für analytische Zwecke jeweils parallel eine Beere an derselben Rispe ausgewählt, nach der Bestimmung von  $F_V/F_M$  eingewogen und in flüssigem Stickstoff eingefroren (s. auch 2.2.4.1 und 2.2.4.2). Ab dem Jahr 2001 wurde das in der Xenon-PAM verwendete Segment selbst für die Analyse der phenolischen Komponenten eingefroren. Auch hier fanden einige parallele Messungen mit der UVA-PAM direkt an den auf dem Probenhalter aufgebrachten Segmenten statt. Im Jahr 2002 wurde in Zusammenarbeit mit der institutseigenen Werkstatt eine Vorrichtung zum Schneiden entwickelt, bei der die Schnittdicke einstellbar war (Abb. 2.14). Darüber sollte letztlich



**Abb. 2.14:** Vorrichtung zum Schneiden der Beerensegmente mit regulierbarer Schnittdicke.



eine Normierung der Probengröße erreicht und eine Bestimmung der je Probe analysierten Oberfläche ermöglicht werden.

### c) Blätter von *V. vinifera* cv. Silvaner (S(L) | 2000)

Die für die Entnahme vorgesehenen Blätter wurden vor der Exposition markiert, mit einem Nummerncode versehen und die Reihenfolge der Beprobung mittels Zufallsgenerator festgelegt. Ab 18:00 Uhr wurden je fünf Blätter pro Lichtklima am Stengelansatz abgeschnitten, in ein Becherglas mit Wasser gestellt und für die

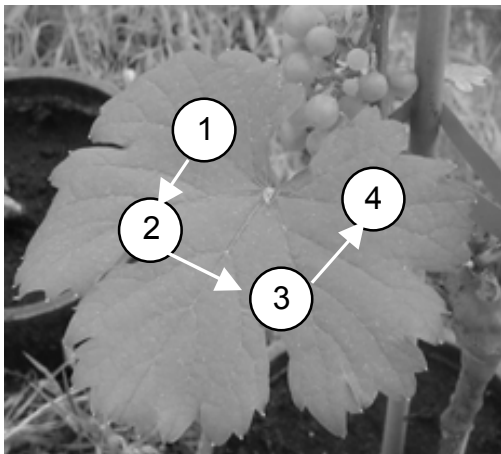


Abb. 2.15: Reihenfolge und Positionen der Messungen im Weinblatt

Fluoreszenzmessungen mit der PAM-2000 dunkeladaptiert. Anschließend erfolgte die Xenon-PAM-Messung. Die dafür ausgestanzten Blattscheiben ( $1,3 \text{ cm}^2$ ) wurden sofort in flüssigem Stickstoff eingefroren und für die spätere chromatographische Analyse bei  $-80^\circ\text{C}$  gelagert. Je Blatt erfolgten vier Messungen, um den Einfluss der bei großflächigen Blättern zu erwartenden Heterogenität im Blatt zu mindern (Abb. 2.15).

## 2.2.2 Fluorometrie

### 2.2.2.1 Bestimmung der optimalen Quantenausbeute des PS II

Zur Abschätzung der optimalen Quantenausbeute des PS II und einer eventuellen Schädigung des PS II wurde der Parameter  $F_V/F_M$  bestimmt (Butler, 1978, Schreiber et al., 1986).

Der Parameter berechnet sich wie folgt:

$$F_V / F_M = \frac{F_M - F_0}{F_M} \quad \text{Gleichung 1}$$

$F_M$  = Maximale Fluoreszenz des PS II

$F_0$  = Dunkelfluoreszenz des PS II

Zunächst wurde die minimale Fluoreszenzausbeute ( $F_0$ ) durch Bestrahlung einer dunkeladaptierten Probe mit schwachem Messlicht bestimmt. Da die Energiedichte dieses Lichts gering ist, werden die absorbierten Lichtquanten von den Reaktionszentren des PS II, die sich aufgrund der Dunkeladaptation nicht im Zustand der Ladungstrennung befinden, eingefangen. Diese Lichtquanten stehen der

Fluoreszenz nicht zur Verfügung, die photochemische Fluoreszenzlöschung ist maximal. Durch den darauffolgenden Starklichtimpuls werden die Reaktionszentren geschlossen, wodurch die photochemische Fluoreszenzlöschung minimal wird und die maximale Fluoreszenz ( $F_M$ ) gemessen werden kann. Dunkeladaptierte und gesunde Blätter können maximale  $F_V/F_M$ -Werte um 0.86 erreichen (PAM-2000 Manual, Walz). Die Einstellungen der PAM-2000 wurden zunächst für die verschiedenen Arten bzw. Organe angepasst und dann fortlaufend verwendet (Tab. 2.6).

**Tab. 2.6:** Einstellungen der PAM-2000: allgemein: Gain: 1-2; Damping: 3-5 (rel. Einheiten)

	Intensität Sättigungspuls	Dauer Sättigungspuls	Messlicht- Intensität	Messlicht-Frequenz
$F_0$	0	0	3-4 (rel. Einheit)	600 Hz
$F_M$	10 (rel. Einheit)	0.6-0.8 sec.	3-4 (rel. Einheit)	100 kHz

Bei Wein wurden von jedem Blatt vier Werte aufgenommen, die in der Position denen der Xenon-PAM entsprachen (s. Abb. 2.15), bei den Blättern der Gramineen wurde nur einmal am Kulminationspunkt gemessen, bei Beeren ebenfalls nur einmal an der lichtexponierten Seite (s.o.).

### **2.2.2.2 UV-induzierte Chlorophyllfluoreszenz zur Bestimmung der epidermalen Transmission im UV-Bereich**

#### **a) Das Messprinzip**

Die Messung der UV-induzierten Chlorophyllfluoreszenz wurde zur Bestimmung der epidermalen Transmission im UV-Bereich eingesetzt. Das Prinzip basiert auf der Publikation von Bilger et al. (1997). Chlorophyll a und b absorbieren im sichtbaren und im UV-Bereich (McCree 1981, Lang und Lichtenthaler 1991). Die phenolischen Pigmente der Epidermis stellen eine Barriere für das eingestrahlte UV-Licht dar. Sichtbares Licht und das vom Mesophyll abgegebene Fluoreszenzlicht, das unabhängig von der Wellenlänge des Anregungslichtes im roten und dunkelroten Bereich liegt, können nahezu ungehindert durch die Epidermis treten. Deshalb beinhaltet die UV- angeregte Fluoreszenzintensität Information über die epidermale UV-Abschirmung. Ein aus den Werten des emittierten Lichts nach Anregung durch UV-Strahlung und dem nach Anregung mit Strahlung im blaugrünen Bereich gebildeter Quotient verhält sich proportional zur epidermalen Transmission im UV-Bereich (Bilger et al., 1997; Markstädter et al., 2001). Wird dieses Fluoreszenzverhältnis auf das entsprechende Verhältnis epidermisfreier Proben bezogen, so

kann hieraus die epidermale UV-Transmission bestimmt werden. Die Berechnung der epidermalen Transmission erfolgte nach der Formel:

$$T_{Epi} = \frac{F_{exUV} / F_{exBG}}{F_{exUV}^{Mes} / F_{exBG}^{Mes}} \cdot 100 \quad (\text{Gleichung 2})$$

$T_{Epi}$ : epidermale Transmission

$F_{exUV}$ : Fluoreszenzsignal des Blattes bei Anregung mit UV-A- oder UV-B-Strahlung

$F_{exBG}$ : Fluoreszenzsignal der Probe bei Anregung mit blaugrüner Strahlung

$F_{exUV}^{Mes}$ : Fluoreszenzsignal der epidermisfreien Probe bei Anregung mit UVA- oder UVB-Strahlung

$F_{exBG}^{Mes}$ : Fluoreszenzsignal der epidermisfreien Probe bei Anregung mit blaugrüner Strahlung

Für quantitative Vergleiche mit anderen Methoden wurde  $T_{Epi}$  nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz

$$A_{Epi} = -\log T_{Epi} \quad (\text{Gleichung 3})$$

in Absorption ( $A_{Epi}$ ) umgerechnet.

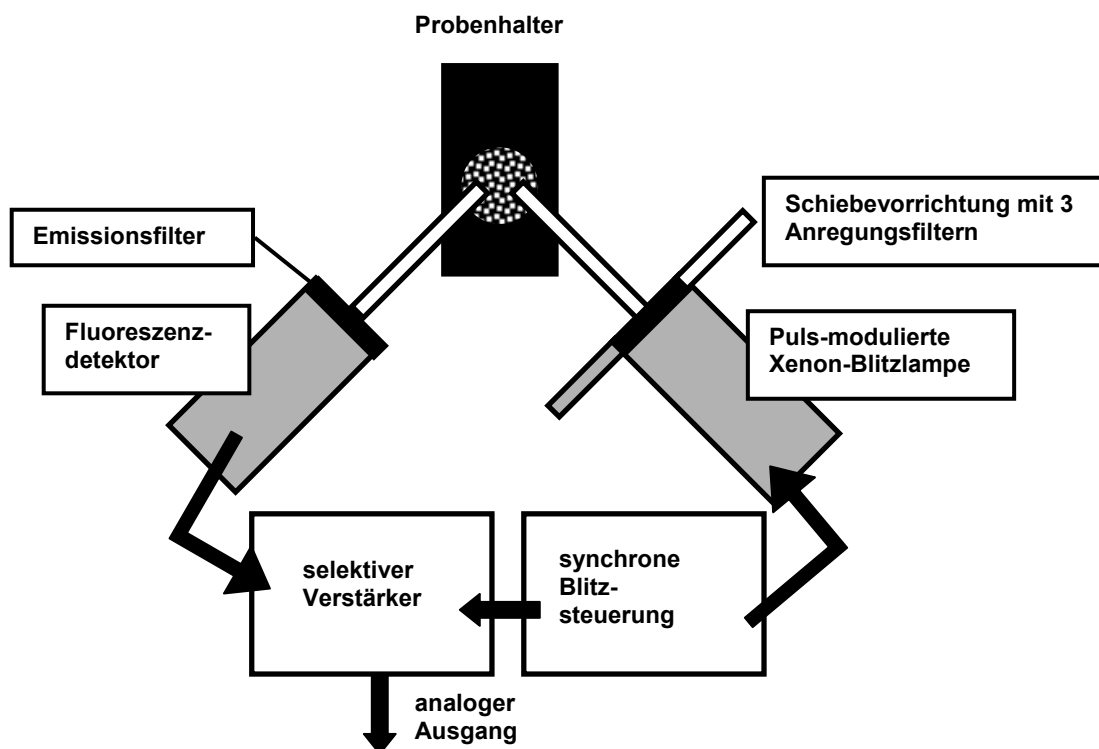
## b) Die Messapparaturen

Die Messungen wurden mit einem modifizierten Xenon-PAM-Fluorometer (Walz, Effeltrich) durchgeführt, wobei eine verspiegelte Xenon-Blitzlampe das Messlicht lieferte (Abb. 2.16). Dies bewirkte eine im Vergleich zur normalen Xenon-PAM-Blitzlampe vierfache Intensitätserhöhung. Die zeitlich integrierte Intensität der Messblitze war so niedrig, dass keine signifikante Fluoreszenz-Induktion (Kautsky-Effekt) ausgelöst wurde. Unter diesen Bedingungen wird die sogenannte F0-Fluoreszenz gemessen, deren Intensität bei konstanter Messstrahlung von der epidermalen Abschirmung abhängt.

**Tab. 2.7:** Übersicht über die Filterkombinationen (erhalten von Walz):

Filterkombination	Bezeichnung
UG11, DUG11, GG19	„UV-B“
UG11, DUG11, BG39	„UV-A“
BG39, NG (Neutralglas)	„Blaugrün (BG)“
R65, RG645, RG9	Emissionsfilter

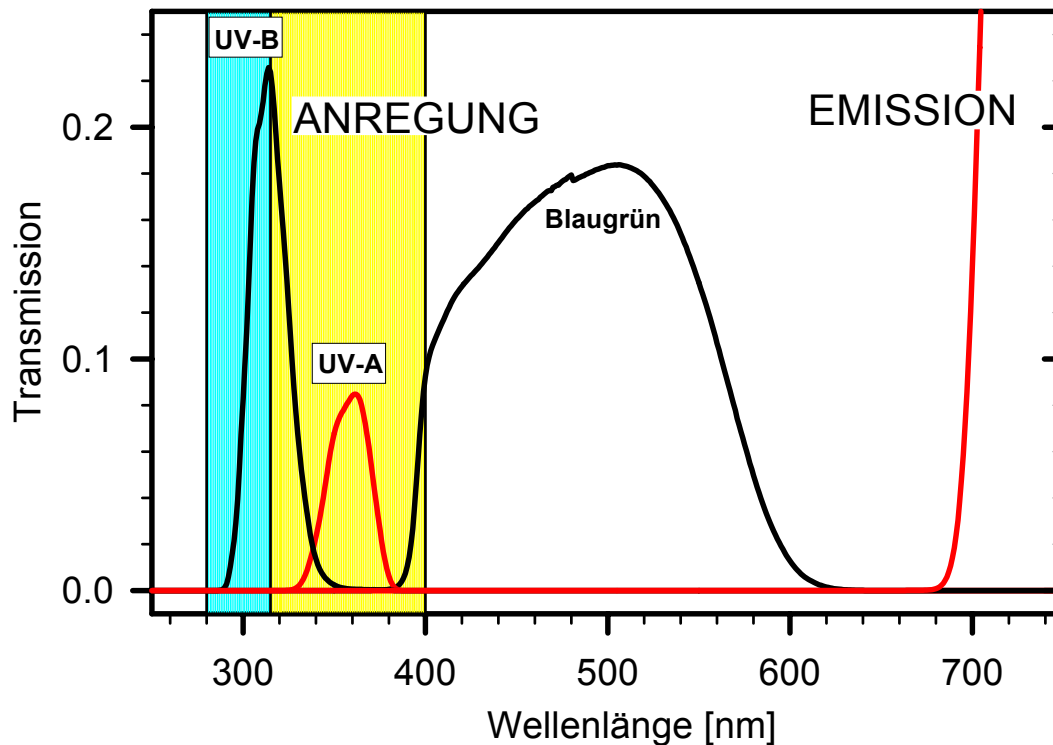
Das Licht der Xenon- Blitzlampe hat ein breites Spektrum, das vom UV bis zum nahen Infrarot reicht. Durch zwischen Lampe und Probe geschobene Filterkombinationen ist eine Auswahl bestimmter Wellenlängenbereiche möglich. Für die Anregung wurden drei verschiedene optische Filterkombinationen verwendet, die aus dem eingestrahlichten Licht einen bestimmten Wellenlängenbereich herauschnitten (Abb. 2.17, Tab. 2.7). Die vor dem Detektor positionierte Emissionsfilterkombination war nur für den Bereich der Chlorophyllfluoreszenz durchlässig.



**Abb. 2.16:** Schema der Xenon-PAM-Apparatur

Zudem wurde das im Jahr 2000 neu entwickelte „UVA-PAM“- Fluorometer (Gademann, Würzburg) eingesetzt. Im Gegensatz zu der oben beschriebenen Xenon-PAM ist dieses Gerät tragbar, wodurch Messungen direkt an den Pflanzen im Freiland ermöglicht wurden (vgl. 2.2.1). Das Messprinzip entspricht dem der Xenon-PAM, auch hier wird zur Bestimmung der epidermalen UV- Transmission die UV- angeregte Chlorophyllfluoreszenz mit der durch sichtbares Licht angeregten Chlorophyllfluoreszenz in Relation gesetzt. Die hier verwendete Technik differiert jedoch in einigen Punkten von der der Xenon-PAM: statt der Xenon- Blitzlampe

werden licht-emittierende Dioden (LEDs) verwendet und die Lichtleitung erfolgt über Fiberoptik (5 mm aktiver Durchmesser). Die Anregungswellenlängen liegen bei 375 nm (Bandweite 10 nm) für „UV-A“ und bei 470 nm (Bandweite 25 nm) für sichtbares Licht („BL“); eine Anregung im UV-B-Bereich ist mit der UVA-PAM bislang nicht möglich. Die Detektion der Fluoreszenzemission erfolgt bei Wellenlängen > 650 nm.



**Abb. 2.17:** Transmissionsspektren der Filterkombinationen für die Fluoreszenzanregung (UVB, UVA, Blaugrün) und für die Detektion von Chlorophyllfluoreszenz

### c) Die Messmethodik

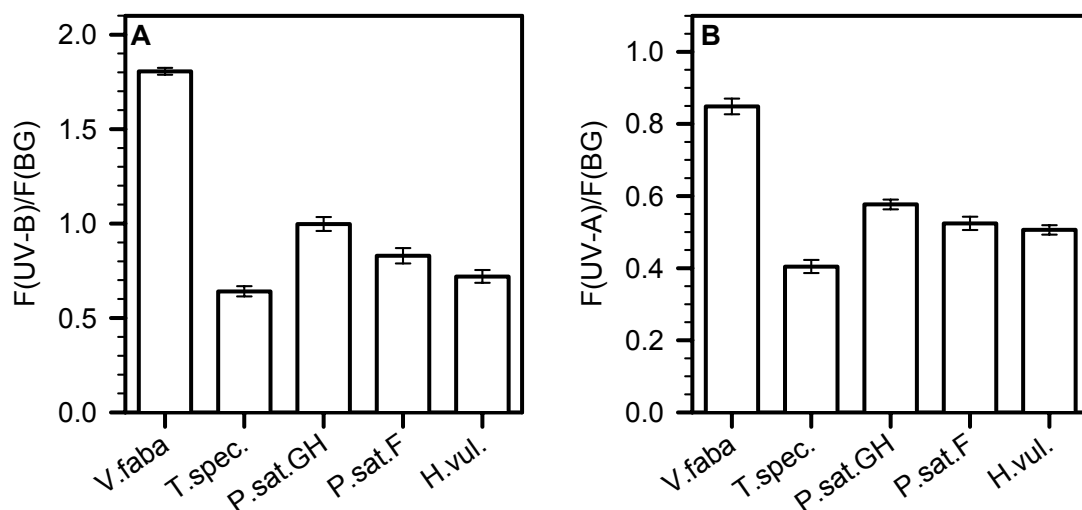
Im Xenon-PAM-Fluorometer fiel der Anregungsstrahl im Winkel von  $45^\circ$  auf die adaxiale Seite der Blattscheiben bzw. Außenseite der Beerensegmente (Aufbringung und Probengröße s. 2.2.1). Für jede Messung wurden nacheinander die drei verschiedenen optischen Filterkombinationen verwendet (Abb. 2.17, Tab. 2.7), wobei alle drei Messungen ca. eine Minute dauerten. Die Einstellungen der Xenon-PAM wurden über den gesamten Zeitraum beibehalten (Frequency 2 Hz, Gain 1, Damping 9; Schreibervorschub 60 cm/s, Schreiberempfindlichkeit 5 mV).

Bei parallelen Messungen wurde die auf den Probenhalter aufgebrachte Probe mit der UVA-PAM gemessen. Bei allen Messungen, sowohl direkt an den Pflanzen als auch im Labor, wurde die Fiber ohne Druck jeweils direkt auf die exponierte Seite von Beeren oder Blättern aufgesetzt. Eine Messung dauerte 10 Sekunden, während der das Gerät permanent von UV-A- zu Blaulicht-Anregung wechselte. Der zeitliche

Shift für diesen Wechsel lag im  $\mu\text{sec}$ -Bereich. Die Einstellungen wurden darauf ausgerichtet, dass das Fluoreszenzverhältnis UV-A/ BL, das aus der Messung des Fluoreszenzstandards (Walz, Effeltrich s.u.) resultiert, bei 1 liegt. Bei der Messung einer grünen Standardfolie hingegen, die vom Hersteller zur Verfügung gestellt wurde, sollten beide Fluoreszenzsignale bei 0 liegen.

#### d) Ermittlung von Referenz- und Korrekturfaktoren (Xenon-PAM)

Für die Berechnung der epidermalen Transmissionseigenschaften benötigt man epidermisfreies Material zur Bestimmung des Fluoreszenzverhältnis  $F_{\text{exUV}}^{\text{Mes}} / F_{\text{exBG}}^{\text{Mes}}$  (Mesophyllreferenz, s. Gl. 1). Weder bei den Blättern der Gramineen noch bei denen von *V. vinifera* war eine Separation der Epidermis möglich. Messungen an verschiedenen Arten, bei denen die Abtrennung der Epidermis möglich ist, ließen Unterschiede in den Fluoreszenzverhältnissen zwischen den Arten erkennen (Abb. 2.18).

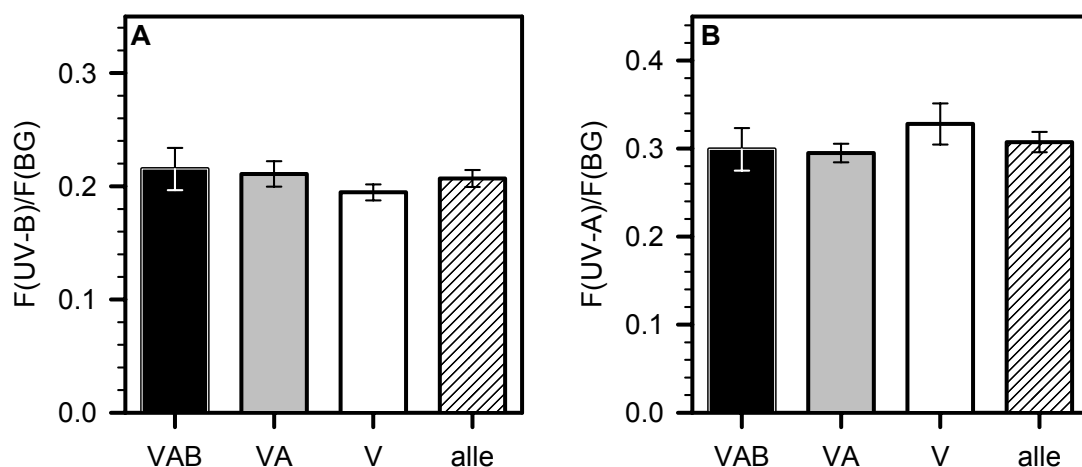


**Abb. 2.18:** Fluoreszenzverhältnisse von Mesophyll nach UV-B- (A) bzw. UV-A- Anregung (B) bezogen auf zugehörige Werte nach Anregung mit BG. Dargestellt sind Messungen an Blättern der Arten *Vicia faba*, *Tulipa spec* und *Pisum sativum* var. *argenteum* (Gewächshaus und Freiland), deren adaxiale Epidermis entfernt wurde, sowie an intakten Blattscheiben der *ant*-Mutante von *Hordeum vulgare*. n=12-47; se.

Die Ursache dieser Unterschiede ist nicht geklärt; möglicherweise war die Abtrennung der Epidermis unvollständig oder führte zur Verletzung des Mesophyllgewebes. Um diese potentiellen Artefaktquellen zu umgehen, wurden epidermisfreie Blattscheiben von *Pisum sativum* L. cv. *argenteum* sowie intakte Blattscheiben von einer Flavonoid- defizienten *ant*-Mutante (Reuber et al., 1996) von *Hordeum vulgare* verwendet (Abb. 2.18). Die Erbsenvarietät zeichnet sich dadurch

aus, dass die Epidermis mit dem darunter liegenden Mesophyll der Blätter nur teilweise verbunden ist und somit leicht zu separieren war. Da der Unterschied zwischen der Mesophyllreferenz von Proben aus dem Freiland und aus dem Gewächshaus (Markstädter et al., 2001) bei *P. sativum* im Vergleich zu den beobachteten Unterschieden mit Epidermis gering war, wurde ein Mittelwert aus allen 40 Messungen als fester Bezugsfaktor für die Messungen an Weinblättern verwendet.

Bei der Gerste handelt es sich um die Proanthocyanidin-freie Mutante *ant* 287, deren Gehalt an extrahierbaren Flavonoiden im Vergleich zur Muttervarietät nur 7% beträgt (Reuber et al., 1996). Aus insgesamt 25 Werten von im Gewächshaus angezogenen Pflanzen, die in den Jahren 2000 und 2001 gemessen wurden, wurde wiederum ein Mittelwert gebildet (Abb. 2.18), der als fester Bezugsfaktor für alle Messungen an Gerste diente. Die fast vollständige Abwesenheit von UV- Schirmpigmenten in der *ant*- Mutante wurde durch HPLC- Analytik überprüft. Da für Hafer und Weizen keine der *ant* entsprechenden Mutante vorhanden war, wurde zur Berechnung der Transmission ebenfalls auf den Referenzwert von *ant* zurückgegriffen.



**Abb. 2.19:** Fluoreszenzverhältnisse von Mesophyll nach UV-B- (A) bzw. UV-A- Anregung (B) bezogen auf zugehörige Werte nach Anregung mit BG. Dargestellt sind Messungen an Beeren von *V. vinifera* cv. Bacchus aus dem Experiment B01 | 2001 nach 6 Tagen Exposition unter den verschiedenen Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V, n=8) bzw. der Mittelwert aus allen Strahlungsbedingungen (Tagesmesophyllfaktor, n=24). Die Fehlerbalken stellen die Standardfehler dar.

Für die Ermittlung des Mesophyll- Referenzfaktors an Weinbeeren wurden 1 – 2 mm dicke Scheiben ohne Beerenhaut auf den Probenhalter aufgebracht. Allerdings konnte kein fester Referenzwert verwendet werden, da hier die Chlorophyllgehalte, und damit auch die Fluoreszenzsignale, durch den Reifungsprozess Schwankungen unterworfen sind. Daher wurden zu jedem Messtermin „Tagesmesophyllfaktoren“

bestimmt. Im Jahr 2000 wurde an jeder untersuchten Probe ebenfalls eine Mesophyllmessung durchgeführt und jeweils ein Mittelwert aus den Proben jeder Strahlungsvariante (n=6) verwendet. Da zwischen den einzelnen Expositionsbedingungen keine signifikanten Unterschiede auftraten, wurde ab dem Jahr 2001 jeweils ein Tagesmesophyllfaktor erstellt. Darin waren immer möglichst gleich viele Messungen an Proben aus allen Strahlungsvarianten enthalten. An Terminen vor der Exposition („T0“) wurden dafür 10 - 15 und an Terminen während der Exposition 22 - 24 Proben gemessen.

Bei allen Messungen wurde das schwache Signal des schwarzen Probenhalters (vgl. Abb. 2.16) als „Off-Set“ von den Absolutwerten der Fluoreszenzsignale subtrahiert. Die Konstanz der Messbedingungen wurde regelmäßig durch Reflexions- und Fluoreszenzmessungen mit Standardfolien (Walz, Effeltrich) durchgeführt. Ab dem Jahr 2002 wurde die Reflexions-Messung durch die Messung des leeren Probenhalters ersetzt. Bei der Messung des Fluoreszenzstandards wurde die Intensität des Fluoreszenzsignals durch eine Lochblende auf 25% reduziert. Insgesamt kam es über den gesamten Messzeitraum zu Schwankungen in den Werten der Standardmessungen, jedoch zu keinem Trend, der auf eine Drift der Fluorometereigenschaften hingewiesen hätte.

### **2.2.3 Mikroskopie**

Die Lokalisation der phenolischen Substanzen im untersuchten Material wurde durch Epifluoreszenzmikroskopie bestimmt. Außerdem wurden verschiedene, strahlungsbedingte Schadbilder an der Beerenhaut mikroskopisch erfasst (s. 2.2.7.1). Von frisch geernteten Weinblättern wurden Schnitte von 70 bis 100 µm Dicke mit einem Handmikrotom (Leica Instruments GmbH, Nußloch, Deutschland) hergestellt. Von frisch geernteten Beeren wurden Proben mit einem Durchmesser von 5 mm in Jung Tissue Freezing Medium (Leica Microsystems, Bensheim, Deutschland) eingebettet. Mit einem Kryomikrotom vom Typ Leica CM1900 (Leica Microsystems) wurden daraus bei -14 °C Schnitte von 50 – 60 µm Dicke angefertigt. Die Präparate wurden sofort in Wasser untersucht, anschließend wurde mittels Filterpapier eine 0.5% (w/v) Ammoniaklösung unter das Deckglas gezogen (Hutzler et al., 1998). Transmissions- und Fluoreszenz-Bilder wurden entweder mit einem Axioplan Mikroskop (Zeiss, Oberkochen, Deutschland) oder mit einem Leica DMR Mikroskop (Leica Microsystems) erstellt. Für die Epifluoreszenzmikroskopie wurde entsprechend



entweder der Zeiss Filtersatz Nr. 5, mit einem Anregungsbereich von 395 bis 440 nm und Fluoreszenzdetektion bei Wellenlängen > 470 nm oder der Filtersatz D von Leica (Anregung zwischen 355 und 425 nm, Detektion bei Wellenlängen > 470 nm; Leica Microsystems) verwendet. Die Bilder wurden mit einer INTAS 3-CCD Farbvideokamera (INTAS Imaging Instruments, Göttingen, Deutschland) oder mit dem digitalen Kamerasystem Leica DC500 (Software: Leica IM1000 Image Manager, Version 1.20) aufgenommen.

## **2.2.4 Chromatographie/ Analytik**

### **2.2.4.1 Analyse phenolischer Komponenten (HPLC)**

Alle Analysen wurden mit einer HP1100-Anlage (Hewlett Packard, Waldbronn) bestehend aus Entgaser, quaternärer Pumpe, Autosampler, Säulenofen und Diodenarray-Detektor, durchgeführt. Zur Trennung der phenolischen Substanzen wurde eine LiChrosphere 100 RP18-Säule (Knauer, Berlin) mit passender Vorsäule eingesetzt.

#### **Interner Standard:**

In Vorversuchen wurde die Anwesenheit von freiem Quercetin im Probenmaterial abgeklärt: Quercetin wurde routinemäßig als interner Standard (ISTD) bei allen Analysen verwendet. Das Extraktionsmedium wurde messtäglich aus 0.02% phosphoriger Säure (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen) und Methanol (Gradient Grade; Reinheit: > 99,8%, Roth, Karlsruhe) mit 60 mg/l Quercetin (Fluka, jetzt Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen) im Verhältnis 50:50 (v/v) hergestellt. Die endgültige Konzentration des ISTD im Extraktionsmedium betrug somit 30 mg/l. Routinemäßig wurde vor jeder Probensequenz und nach jeder zehnten Probe reines Extraktionsmedium injiziert. Eventuelle Substanzverluste während der Probenaufbereitung wurden durch Bezug der Konzentration des ISTD in der Probe auf die Konzentration des ISTD im reinen Medium korrigiert. Mehrfach wurde parallel dazu die Absorption einer 1:2 (v/v) Verdünnung des Extraktionsmediums in einem Spektralphotometer (UV-4, ATI Unicam, Cambridge) bestimmt. Der Quotient aus den mit den beiden Methoden gewonnenen Werten der Absorption bei 375, 360 und 314 nm ging jeweils als fester Faktor in die Darstellung der Absorption aus der HPLC mit ein, sofern sie auf die Blattfläche bezogen wurde.

### **Probenaufbereitung:**

Das Pflanzenmaterial wurde unmittelbar nach der Probennahme in flüssigem Stickstoff eingefroren und bis zur Analyse bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert. Das Material wurde vor der Aufbereitung routinemäßig 48 Stunden in einem Lyophilisator (Alpha 1-2, Christ, Osterode am Harz) gefriergetrocknet. Bei Blattproben wurde immer die bereits für die fluorometrischen Messungen verwendete Probe herangezogen; bei den Weinbeeren gilt dies nur für die Proben aus dem Versuchsjahr 2001 (s. 2.2.1). In Kontrollversuchen wurde festgestellt, dass die Lyophilisation keinen Einfluss auf die phenolischen Stoffe hatte.

#### **a) Weinbeeren**

Zwischen den Versuchsjahren 2000 und 2001 wurden Probennahme und -aufbereitung geringfügig modifiziert, so dass sie hier getrennt aufgeführt werden. Parallel zu den für Transmissionsmessungen verwendeten Beeren wurde im Jahr 2000 je eine benachbarte Beere entnommen,  $F_V/F_M$  und Frischgewicht bestimmt und dann in flüssigem Stickstoff eingefroren (s. 2.2.1). Für die Analyse der phenolischen Komponenten wurden zunächst der Längs- und Querdurchmesser an der gefrorenen Beere bestimmt. Anschließend wurde die gesamte Haut der oberflächlich leicht angetauten Beere abgezogen und sofort in ein Reaktionsgefäß mit flüssigem Stickstoff überführt. Nach Gefrietrocknung wurde das Trockengewicht bestimmt und die Proben bis zur weiteren Aufbereitung unter Vakuum über Silicagel gelagert. Vor der Extraktion erfolgte eine Homogenisierung des getrockneten Materials zu feinem Pulver in einem Mikrodismembrator (Braun, Melsungen), der mit 5 ml Teflonkapseln und Achatkugeln ausgestattet war. Für die Extraktion wurde angesäuertes methanolisches Medium (Methanol: Wasser: Phosphorige Säure 50: 49,99: 0.01) mit dem ISTD Quercetin (30 mg/l, s.o.) verwendet. Dazu wurde die Kapsel drei Mal je 30 Sekunden mit Extraktionslösung auf niedriger Stufe im Dismembrator geschüttelt. Die abgenommene Suspension wurde in ein Reaktionsgefäß auf Eis überführt und zehn Minuten bei 20000 g und  $4^{\circ}\text{C}$  abzentrifugiert (Zentrifuge: Hettich-Universal-30RF; Hettich, Tuttlingen). Nachdem der Überstand abgenommen war, wurde das Sediment noch je zweimal erneut mit Extraktionsmedium aufgenommen und abzentrifugiert; alle Überstände einer Probe wurden vereint und vor der Überführung in Autosampler- Gläschen zur weiteren Klärung von etwaigen Partikeln nochmals

abzentrifugiert. Das gesamte Extraktionsvolumen betrug 1,5 ml. Es wurde eine der Geräteempfindlichkeit der HPLC- Anlage entsprechende Verdünnung injiziert.

Im Jahr 2001 wurden die für die Transmissionsmessungen verwendeten Segmentabschnitte (s. 2.2.1) auch für die Analyse der phenolischen Komponenten verwendet. Die Abschnitte wurden direkt nach der Messung gewogen und in flüssigem Stickstoff eingefroren. Die Lagerung erfolgte bei  $-80^{\circ}\text{C}$ . Da eine Abtrennung der Haut hier nicht möglich war, wurden die gesamten Abschnitte lyophilisiert. Die weitere Aufbereitung erfolgte wie 2000, allerdings wurde wegen der geringeren Probenmenge das Gesamtvolumen auf 1 ml reduziert. Eine Verdünnung war hier nicht nötig.

### b) Blätter von *H. vulgare*

Die Homogenisierung und Extraktion aus den lyophilisierten Blattscheiben (Fläche:  $0,7\text{ cm}^2$ ) erfolgte wie für die Beerenhäute beschrieben. Das Gesamtvolumen betrug 1 ml.

### c) Blätter von *V. vinifera*

Die Blattscheiben von Wein aus dem Versuch S(L) I 2000 wurden nicht lyophilisiert. Die Homogenisierung erfolgte in gefrorenen Zustand, wofür die Teflonkapsel des Mikrodismembrators zuvor vollständig in flüssigen Stickstoff getaucht wurde. Das Gesamtvolumen betrug hier 0,75 ml. Im übrigen wurde wie oben verfahren.

## Gradienten

Tab. 2.8: Gradientenprogramme

Gradientenprogramm für <i>V. vinifera</i>			Gradientenprogramm für <i>H. vulgare</i>		
Zeit [min]	% A	Funktion	Zeit [min]	% A	Funktion
0.00	80.0	Trennung der Pigmente	0.00	80.0	Trennung der Pigmente
7.00	66.0		7.00	66.0	
12.00	66.0		12.00	66.0	
14.00	56.0		18.00	60.0	
32.00	40.0		23.00	60.0	
35.00	35.0		43.00	40.0	
37.00	0.0		48.00	35.0	
42.00	0.0		49.00	0.0	
43.00	80.0	Equi- librierung	54.00	0.0	Equi- librierung
50.00	80.0		56.00	80.0	
			60.00	80.0	

Für die Analyse der Extrakte aus Weinbeeren konnte derselbe Gradient verwendet werden, der für die Extrakte von Weinblättern entwickelt worden war (s.Tab. 2.8 und Kolb et al., 2001). Die Durchflussrate betrug  $1\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ , das Injektionsvolumen  $10\ \mu\text{l}$ , die verwendeten Laufmittel waren 0,01% phosphorige Säure (A) und angesäuertes Methanol (MeOH: 0,1% phosphorige Säure im Verhältnis 9: 1 (v/v); B). Da die Auftrennung der Substanzen aus Gerstenblättern mit obigem Gradienten nicht zufriedenstellend war, wurde er hierfür modifiziert (Tab. 2.8).

### **Detektion**

Die Detektion erfolgte routinemäßig bei 314 nm und 360 nm, den Wellenlängen, bei denen das Xenon-PAM- Anregungsfenster im UV-B- und UV-A-Bereich maximal war (Abb. 2.20). Ab dem Jahr 2001 wurde zusätzlich bei 375 nm, der Wellenlänge der maximalen Anregungsintensität der UVA-PAM, detektiert. Die feste Referenzwellenlänge für alle Kanäle war 450 nm; zur Überprüfung wurde auch bei dieser Wellenlänge zusätzlich ein Chromatogramm aufgezeichnet, wobei dann 600 nm als Referenz diente.

### **Identifizierung phenolischer Substanzen mittels UV- Spektroskopie:**

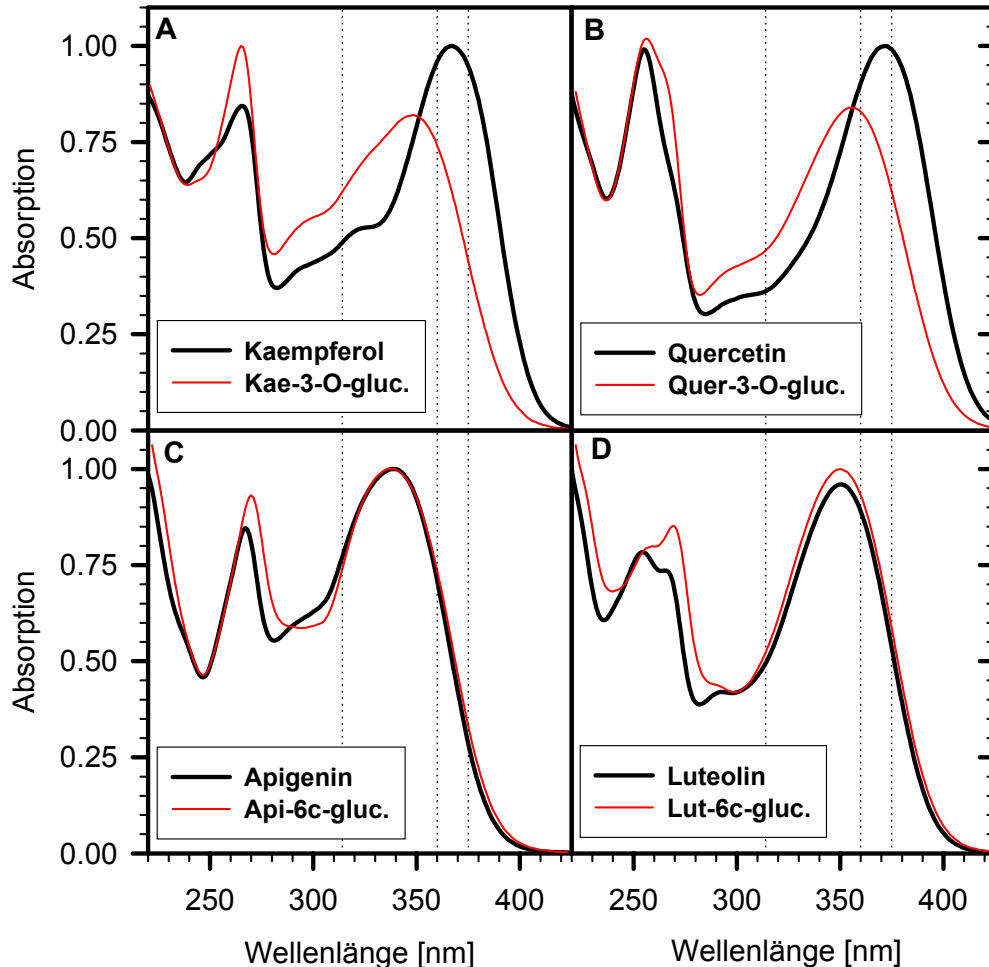
Die verwendete Software HP LC-Chemstation (Rev. A06.xx; Hewlett Packard, Waldbronn) bietet die Möglichkeit der Einrichtung von Spektrenbibliotheken, in denen automatisch das am besten korrespondierende UV- Spektrum zu dem der jeweils betrachteten Substanz gesucht werden kann. Es wurden drei Bibliotheken eingerichtet: eine für Vergleichsspektren aus käuflichen Substanzen und jeweils eine für die aus Wein und Gerste isolierten Substanzen (Tab. 2.9). Letztere wurden vor allem für den Vergleich zwischen den Proben verwendet, um die Übereinstimmung der in den Peaks enthaltenen Substanzen fortlaufend sicherzustellen. Zudem konnte durch Vergleiche des Elutionsverhaltens der hydrolytisch freigesetzten Aglykone und ihrer jeweiligen Glycoside im gegebenen Gradienten eine Einschätzung des Glycosidierungsgrades der zu analysierenden Substanzen erreicht werden. Die Identifizierung der Chromophore bei Extrakten aus Weinblättern und –beeren erfolgte mittels hydrolytischer Abspaltung des Zucker- bzw. Säurerests und anschließendem Vergleich des Elutionsverhaltens der nun freien Komponenten mit den käuflichen Standards. Zur Gewinnung der reinen Flavonoide wurde saure, für die Hydroxyzimtsäurederivate alkalische Hydrolyse eingesetzt.

**Tab. 2.9:** Übersicht über die käuflich erworbenen Standardsubstanzen

<b>Flavonoide</b>	Herkunft	<b>andere</b>	Herkunft
<b>Apigenin</b>	Fluka	<b>Catechin</b>	Roth
<b>Astragalin</b>	Roth	<b>p-Hydroxy- benzoesäure</b>	Fluka
<b>Chrysin</b>	Sigma	<b>Epicatechin</b>	Roth
<b>Isoorientin</b>	Extrasynthese	<b>Procyanidin B1</b>	Extrasynthese
<b>Isoquercitrin</b>	Extrasynthese	<b>cis-Stilben</b>	Aldrich
<b>Isovitexin</b>	Extrasynthese	<b>trans-Stilben</b>	Aldrich
<b>Kaempferol</b>	Fluka	<b>o-Vanillin</b>	Fluka
<b>Luteolin</b>	Extrasynthese	<b>Vanillinsäure</b>	Fluka
<b>Myricetin</b>	Fluka	<b>Chlorogen-säure</b>	Fluka
<b>Naringenin</b>	Fluka	<b>Ferulasäure</b>	Fluka
<b>Quercetin</b>	Fluka	<b>Kaffeesäure</b>	Fluka
<b>Rutin</b>	Fluka	<b>Cumarsäure</b>	Fluka
<b>Saponarin</b>	Extrasynthese	<b>Zimtsäure</b>	Fluka
Fluka, Sigma, Aldrich: Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen, Deutschland; Extrasynthese: Genay, Frankreich Roth: Karlsruhe, Deutschland		<b>Gallussäure</b>	Fluka
		<b>Salicylsäure</b>	Fluka
		<b>Sinapylsäure</b>	Fluka

In beiden Fällen wurde zunächst das Extraktionsmedium (hier ohne ISTD) unter einem konstanten Stickstoffstrom bis zur Trockne vertrieben, danach wurde entweder mit 1N HCl 40 Minuten oder mit 1N NaOH 5 Minuten lang bei 70°C hydrolysiert. Die Hydrolyse wurde durch Zugabe von equinormalen Mengen an NaOH oder HCl beendet. Die Hydrolysate wurden durch mehrfaches Ausschütteln gegen Diethylether (Fluka) extrahiert, der dann durch Evaporation vertrieben wurde. Die Pigmente wurden für die Injektion in die HPLC erneut in 50% (v/v) angesäuertem Methanol aufgenommen.

Da es sich bei den aus Gerstenblättern isolierten Flavonoiden um C-glycosylierte Flavone handelt (Fröst et al., 1977), konnten sie nicht mittels Hydrolyse nach obigem Verfahren gespalten werden. Die Identifizierung erfolgte hier nur über Vergleiche der UV- Spektren und des Elutionsverhaltens mit den käuflichen Substanzen, die nach Literatur (Schmitz, 2001) ausgewählt worden waren. Darüber konnte zwar keine endgültige Identifizierung der einzelnen Substanzen erfolgen, aber eine Einteilung in Gruppen gemäß der Aglykone (s. 3.4.1).



**Abb. 2.20:** UV- Spektren verschiedener Flavonoid- Derivate im Vergleich mit ihren Aglykonen. Dargestellt sind die in Wein anzutreffenden Flavonole Kaempferol (**A**) und Quercetin (**B**), sowie jeweils deren 3-O-Glycosid; die in Gerste anzutreffenden Flavone Apigenin (**C**) und Luteolin (**D**), sowie jeweils deren 6-C-Glycosyle. Zusätzlich wurden die Detektions- Wellenlängen eingezeichnet (314, 360 und 375 nm; s. Detektion).

Die über UV-Spektroskopie und Elutionsverhalten erfolgte Identifizierung der phenolischen Substanzen bei Weinbeeren wurde zusätzlich durch Massenspektrometrie, die von D. Kammerer (Universität Hohenheim) durchgeführt wurde, überprüft. Es wurde die Elektrospray- Ionisation im negativen Modus ( $ESI^-$ ) verwendet, die im Gegensatz zu weniger schonenden Verfahren selten zu Fragmentierungen der Moleküle in der Ionenquelle führt (s. Schieber et al., 2001). So wird in der Regel die Masse des gesamten Moleküls abzüglich des für die Ionisation abgespaltenen Protons als „m/z- Verhältnis“ detektiert.

#### **Eichfaktoren für die Quantifizierung der Substanzmengen:**

Für die Bestimmung der Eichfaktoren wurden Verdünnungsreihen aus den käuflichen Substanzen Kaffee- und Coumarsäure, sowie Kaempferol-3-O-glucosid (Astragalin),

Quercetin-3-O-glucosid (Isoquercitrin), Luteolin-6-C-glucosid (Isoorientin) und Apigenin-6-C-glucosid-7-O-glucosid (Saponarin) erstellt (Tab. 2.10). Die Faktoren wurden aus den Steigungen der Regressionsgeraden bei Auftragung der molaren Konzentrationen über den zugehörigen Peakflächen ermittelt. Bei den käuflich zu erwerbenden Hydroxyzimtsäurederivaten handelte es sich im Wesentlichen um die trans-Isomere. Die cis-Isomere wurden daraus durch Bestrahlung mit einer UV-Lampe angereichert (Käser M, 2001).

**Tab. 2.10:** Eichfaktoren

Substanz	F (( $\mu\text{mol/l}$ )/PA (314nm))	F (( $\mu\text{mol/l}$ )/PA (360nm))
trans- Cumarsäure	$7,69 \cdot 10^{-2}$	
trans- Kaffeesäure	$10,96 \cdot 10^{-2}$	
cis- Cumarsäure	$4,00 \cdot 10^{-2}$	
cis- Kaffeesäure	$5,697 \cdot 10^{-2}$	
Astragalin		$11,62 \cdot 10^{-2}$
Isoquercitrin		$10,67 \cdot 10^{-2}$
Isoorientin		$11,37 \cdot 10^{-2}$
Saponarin		$8,40 \cdot 10^{-2}$
Quercetin (ISTD)		$8,81 \cdot 10^{-2}$

Die Konzentration einer Substanz x in der Probe errechnet sich dann wie folgt:

$$c_x = F_x \cdot A_x \cdot A_{\text{ISTD,K}}^{-1} \cdot A_{\text{ISTD,x}}^{-1} \cdot V \cdot N^{-1} \quad \text{Gleichung 4}$$

mit:  $c_x$  = Konzentration [ $\mu\text{mol} \cdot \text{N}^{-1}$ ]

$F_x$  = Eichfaktor der Substanz [ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot (\text{mAU} \cdot \text{s})^{-1}$ ]

$A_x$  = Peakfläche der Substanz [ $\text{mAU} \cdot \text{s}$ ]

$A_{\text{ISTD,K}}$  = Peakfläche des Standards im Kontrolllauf [ $\text{mAU} \cdot \text{s}$ ]

$A_{\text{ISTD,x}}$  = Peakfläche des Standards in der Probe [ $\text{mAU} \cdot \text{s}$ ]

V = Extraktionsvolumen [ml]

N = Normierungsgröße der Probe: entweder [ $\text{cm}^{-2}$ ] für Blattfläche oder [mg] für Trockengewicht

#### **2.2.4.2 Zuckeranalytik bei Beeren von *V. vinifera***

Die Beeren wurden nach Entnahme der Kerne in gefrorenem Zustand mit gebranntem Seesand (Applichem, Darmstadt) gemörsert, das Homogenat mit bidestilliertem Wasser aufgenommen, wobei pro 1 mg Frischgewicht (abzüglich des Kerngewichts) 4µl zugegeben wurden, und in Reaktionsgefäße überführt. Nach Zentrifugation (10 min, 20000 g) wurde der Überstand zur Proteinabtrennung drei Minuten auf 100°C erhitzt und erneut zentrifugiert. Aus dem Überstand wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt, wobei die zu injizierende Verdünnung mit 10 mg Serdolit (Serva, Boehringer Bioproducts Partnership, Ingelheim) pro 100 µl versetzt und 30 Sekunden geschüttelt wurde, um störende Aminosäuren abzutrennen. Nachdem das Serdolit mittels erneuter Zentrifugation entfernt worden war, wurde der Überstand entweder sofort injiziert oder bis zur Injektion bei -20°C gelagert. Die Analyse erfolgte über ein gepulstes Amperometrie-Verfahren in einer Dionex 4500- Anlage, bestehend aus einem gepulsten, elektrochemischen Detektor, Gradientenpumpe und Autosampler, (Lehrstuhl für Botanik I, Würzburg). Als Eluent wurde eine 0.08M NaOH- Lösung (pH 13) verwendet, die Trennung der Substanzen erfolgte isokratisch. Die Quantifizierung der einzelnen Zuckerkomponenten wurde über externe Standards, die in Konzentrationen von 50 µMol nach jeder fünften Probe injiziert wurden, durchgeführt. Nachdem in Weinbeeren nur Glucose, Fructose und wenig Saccharose in detektierbaren Mengen enthalten ist, wurde ein Standardmix, der Mannit, Arabinose, Glucose, Fructose und Saccharose enthielt, zur Quantifizierung verwendet. Um die Genauigkeit der Messung für Proben, die extrem hoch bzw. niedrig konzentriert waren, zu prüfen, wurden in Einzelfällen Konzentrationen von 100µM und 25µM injiziert. Die Messung konnte auch in diesen Bereichen noch als genau gelten.

Während der Induktionsversuche im Jahr 2002 wurden zu zwei Zeitpunkten (31.07. und 19.08.02) mehrere, als Reifeindikatoren bei Weinbeeren geltende Parameter wie Zuckergehalt und Säuregrad, von Herrn Dr. Gessner (LWG) analytisch bestimmt. Die Probennahme von je 25 Beeren erfolgte durch den Weinbergseigner. Zur Ermittlung der Zuckerkonzentrationen wurde der Zucker mit einer alkalischen Kupfersulfatlösung oxidiert; überschüssiges Kupfer wurde im Anschluss daran mit Kaliumjodid umgesetzt und über Titration mit Natriumthiosulfat bestimmt (nach Rebelein, in: Würtig, Woller, 1989). Der pH wurde über Titration mit 0,33N Kalilauge gemessen,



die Konzentration der Weinsäure wurde photometrisch, nach Überführung in einen Farbkomplex (nach Rebelein) und die der Äpfelsäure enzymatisch durch Oxidation mit Oxalacetat bestimmt. Zusätzlich wurde eine Refraktometermessung zur Bestimmung des Mostgewichtes durchgeführt.

### **2.2.5 Oberflächentemperatur- Messung an Beeren von *V. vinifera***

Die Oberflächentemperatur wurde an besonnten Beeren zwischen 13.30 und 14.30 Uhr gemessen. Der hierfür verwendete IR- Blatttemperatur- Sensor ITS-6 (Walz, Effeltrich) war an einen Datalogger (LI-1000, LI-COR, Lincoln) gekoppelt. Außer der Oberflächentemperatur wurde gleichzeitig die aktuelle Lufttemperatur aufgenommen. Die Messungen erfolgten an drei Zeitpunkten während des Induktionsversuchs B I 2001 (26.07., 31.07. und 14.08.01) und an einem Zeitpunkt (17.08.02) während des Induktionsversuchs B I2 2002 an je sechs Beeren je Strahlungsvariante.

### **2.2.6 Statistik**

Für statistische Analysen wurde das Programm SigmaStat für Windows (SPSS, München, Deutschland) benutzt. Die Daten wurden mittels ein- bzw. zweifaktorieller Multivarianzanalyse (ANOVA) auf signifikante Unterschiede zwischen Strahlungsvarianten und Expositionsdauer bzw. Sorten überprüft. Im Fall von statistischer Signifikanz wurden die Gruppen paarweise verglichen, wobei der Student-Newman-Keuls-Test benutzt wurde. Bei parametrisierten Größen wie den Schadenskategorien (s. 2.2.5) wurde ein „ANOVA on ranks“ nach Kruskal-Wallis durchgeführt und im Falle von statistischer Signifikanz ein paarweiser Vergleich der Gruppen mit der Methode nach Dunn angeschlossen. Von statistisch signifikanten Unterschieden wurde dann ausgegangen, wenn für P Werte  $< 0.05$  bestimmt wurden; in dieser Weise ist der Term „signifikant“ im gesamten Text definiert. Die Darstellung der Daten erfolgte über das Programm SigmaPlot (SPSS).

## 2.2.7 Boniturverfahren

### 2.2.7.1 *Hordeum vulgare*: Blätter

#### Charakterisierung der Schadsymptome

Die nicht-parasitäre Blattverbräunung (NBV) wird zu den neuartigen Blattschäden bei der Gerste gerechnet. In Südostbayern führte die NBV in den Jahren 1994 und 1995 zu Ertragsverlusten von bis zu 20 dt·ha<sup>-1</sup> (Obst und Huber, 1995), wobei die Schädigungen in Abhängigkeit von Sorte und Standort sehr unterschiedlich ausfielen. Ähnliche Blattverbräunungen wurden in geringerem Ausmaß auch bei anderen Getreidearten, vor allem bei Weizen, Dinkel und Triticale gefunden.

Nach bisherigen Untersuchungen wird die Ausprägung des Schadbildes sowohl durch physiologische als auch durch witterungsbedingte Konstellationen entscheidend beeinflusst. Typischerweise wurden erste Schäden bei oder nach Ausbildung des letzten Blattes (Fahnenblatt) gefunden. Dabei entstehen, beginnend auf den unteren Blattetagen, zunächst kleine chlorotische Flecken, die in einem Zeitraum von ca. 10 Tagen zu einer Nekrotisierung der gesamten Blattspreite führen können (Abb. 2.21). Besonders betroffen sind Stellen am waagerechten Teil der Blattspreite, die intensiver Sonneneinstrahlung ausgesetzt sind (Abb. 2.21). Im Verlauf der Schadensentwicklung werden jedoch auch an Blattscheiden, Halmen und Grannen Symptome gefunden (Obst und Huber, 1995; Obst et al., 1998).



**Abb. 2.21:** NBV bei Gerste in einer Versuchsparzelle der LBP bei Frankendorf am 06.06.01.

Das Auftreten der NBV wurde ferner mit einem abrupten Witterungsumschwung von strahlungsarmen zu strahlungsintensivem Wetter in Verbindung gebracht, wie z.B. in

den Jahren 1994 und 1995, wo erste Schäden nach einem solchen Wechsel beobachtet wurden: Die Blattflecken wurden zunächst auf den älteren Blattetagen (F-2) zum Zeitpunkt des frühen Blattstadiums (BBCH 37/39) beobachtet, breiteten sich während des Schwellens der Fahnenblattscheide (BBCH 41) auf der F-1-Blattetage und zu Beginn des Ährenschiebens (BBCH 51) auf dem Fahnenblatt aus (Obst et al., 1998; Obst und Huber, 1996). Pilzliche oder bakterielle Erreger, Viren oder Schadinsekten sowie eine unsachgemäße Anwendung von Pflanzenschutzpräparaten wurden als Ursachen ausgeschlossen.

### **Schadensevaluierung**

In den Induktionsversuchen wurden visuelle Bonituren zur Einschätzung der mittleren prozentualen Blattschädigung durchgeführt. Bei der abschließenden Bonitur im Jahr 2000 wurden je Expositionsbedingung 22 F-1-Blätter entnommen, auf weißem DIN A 4-Papier so befestigt, dass die adaxiale Seite nach oben orientiert war, und eingescannt (Abb. 2.22). Die Bewertung der prozentualen Schädigung je Blatt erfolgte über das Programm Adobe Photoshop. Da die Abweichung der durch die beiden Methoden ermittelten Ergebnisse nur gering war (vgl. 3.8.3, Abb. 3.57) wurde im Jahr 2001 auf die computergestützte Auswertung verzichtet.



Abb. 2.22: NBV bei F-1-Blättern von *H. vulgare* cv. Ricarda aus dem Versuch W/G/H I 2000

#### **2.2.7.2 *Vitis vinifera*: Blätter**

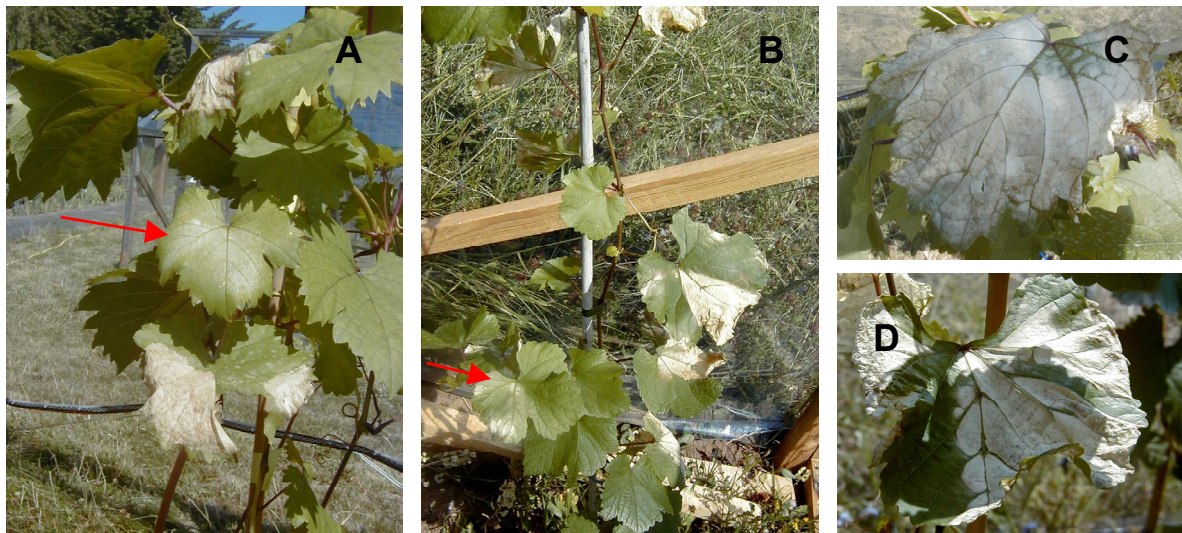
##### **Charakterisierung der Schadsymptome**

In den Induktionsversuchen, die in den Expositionskammern durchgeführt wurden, konnten ab dem dritten Expositionstag auch Schäden an den Blättern festgestellt werden (Abb. 2.23). Die betroffenen Blätter bleichten zunächst oberflächlich aus, in

der Folge war bei stark befallenen Blättern in der Regel eine vollständige Nekrotisierung des Blattgewebes zu beobachten (Abb. 2.23 C/ D).

### Schadensevaluierung

Die Schädigung der Blätter wurde in den Induktionsversuchen der Versuchsjahre 2000 und 2001 je Pflanze visuell eingeschätzt, wobei im Jahr 2000 lediglich eine oberflächliche Einschätzung, von nicht über leicht bis schwer geschädigt getroffen wurde. Eine quantitative Erfassung erfolgte im Versuch B I 2001, wobei die Pflanzen je nach Blattschädigung in fünf Kategorien eingeteilt wurden, die den ab 2001 auf die Rispen angewandten Kategorien entsprachen (s. 2.2.7.3).



**Abb. 2.23:** Schäden an Blättern von *V. vinifera* cv. Bacchus (A, C) und cv. Silvaner (B, D) nach 4-tägiger Exposition unter VAB: beginnende Ausbleichung (Pfeile) und nahezu vollständig nekrotisierte Blätter (C, D).

### 2.2.7.3 *Vitis vinifera*: Früchte

#### Charakterisierung der Schadsymptome

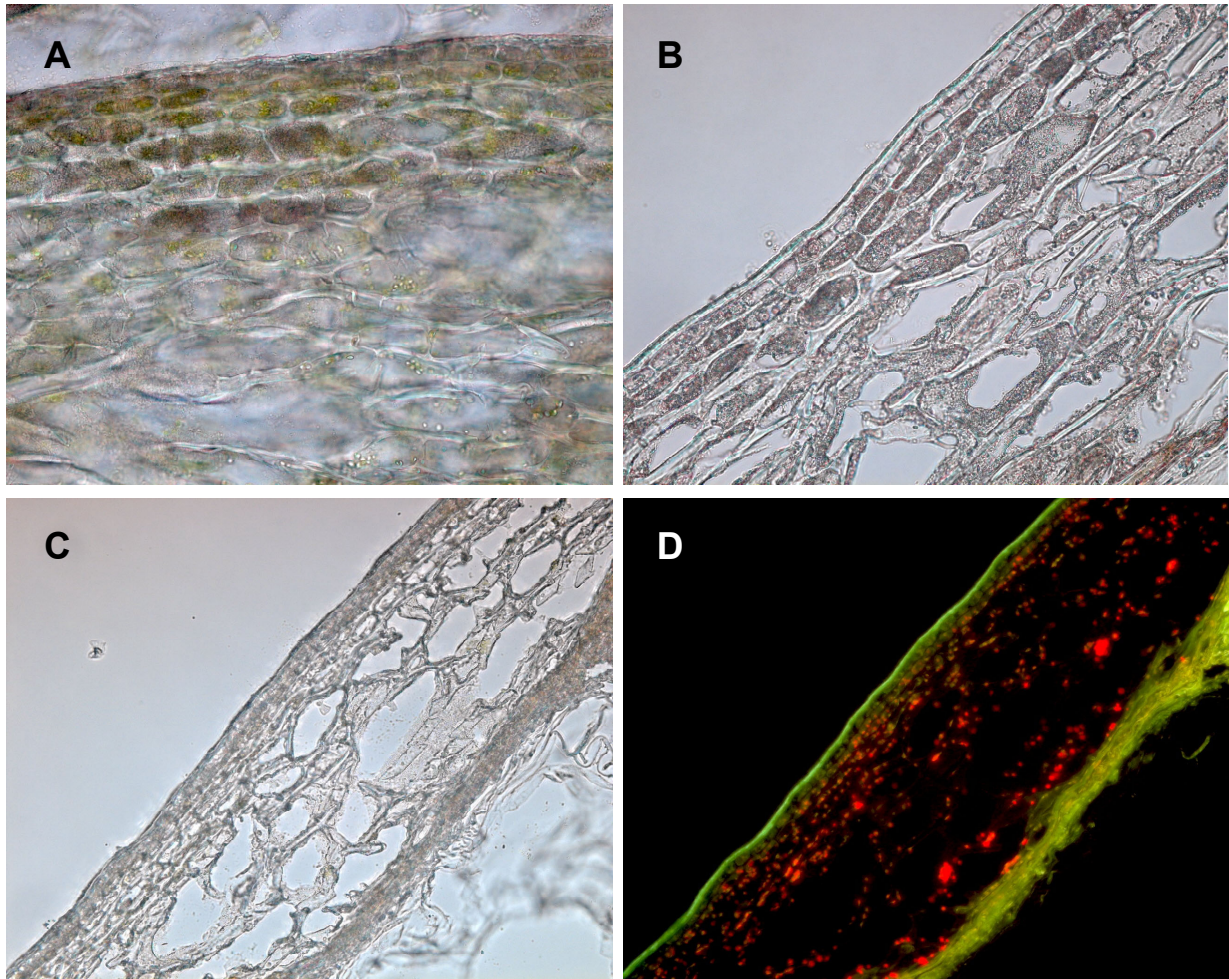
Die in der Literatur (Mohr und Düring, 2000, Schultz, 1999) unter der Bezeichnung „Sonnenbrand“ zusammengefassten Schäden lassen sich mindestens zwei verschiedenen Komplexen zuordnen. Nur in einem Fall kommt es tatsächlich zur Zerstörung des Beerengewebes und in der Folge zu Saftverlusten durch Austrocknen. Dieses Schadbild äußert sich zunächst makroskopisch durch eine Eindellung an der Beerenoberseite, wodurch zunehmend die Kerne, nur noch von wenigen Schichten der Beerenhaut bedeckt, sichtbar werden (Abb. 2.24).





**Abb. 2.24:** Makroskopisches Erscheinungsbild von Schadbild 1 bei *V. vinifera* cv. Bacchus: Gezeigt ist die Entwicklung des Schadens, von der leichten Eindellung bis zur vollständigen Vertrocknung der Beeren (**A**); eine geschädigte Rispe mit Schäden am Stielgerüst (Pfeil) (**B**), sowie eine geschädigte Beere ohne Verbräunung (**C**). (s. Text.)

Zuletzt vertrocknet die betroffene Beere meist vollständig. Damit einher geht zumeist eine Verbräunung der Haut an der betroffenen Stelle, die jedoch auch unterbleiben kann (Abb. 2.24 C). Zusätzlich sind an sonnenexponierten Teilen des Stielgerüsts ebenfalls Verbräunungen bzw. Nekrosen zu beobachten, wodurch der Zusammenbruch der Wasserversorgung von Teilen der Rispe, und in der Folge ein Austrocknen der Beeren verursacht wird (Abb. 2.24 B). Mikroskopische Schnitte durch geschädigte Beerenhaut im Frühstadium (beginnende Eindellung), zeigen, dass unter einer Schicht von ca. zwei bis drei Zellschichten das Gewebe völlig zerstört ist. Zudem bildete sich in tieferen Schichten eine nach UV-Anregung stark grün fluoreszierende Schicht aus (Abb. 2.25). Eine genaue Zuordnung dieser Schicht zu einem bestimmten Gewebetyp konnte aufgrund des Zerstörungsgrades nicht erfolgen; sie könnte jedoch möglicherweise mit der ursprünglichen Grenze zwischen Beerenhaut und Beerenfleisch zusammenfallen. Verglichen mit einem Schnitt durch die intakte Beerenhaut ist zu erkennen, dass ca. fünf bis sieben Schichten der Hypodermis zerstört sind. Alleweldt konnte mit histologischen Untersuchungen an Bacchus zeigen, dass die Beerenhaut dieser Sorte aus ca. 12 Zellschichten besteht, die er in eine epidermale und 11 hypodermale Schichten einteilt. Die insgesamt erreichte Dicke der Beerenhaut betrug ca. 200 µm (Alleweldt et al., 1981). Beim zweiten Schadbild ist eine starke oberflächliche Verbräunung der dem Licht zugewandten Seite der Beeren zu erkennen, die auf die Beerenhaut beschränkt bleibt (Abb. 2.26).



**Abb. 2.25:** Mikroskopische Darstellung von Schadbild 1: Gefrierschnitte (Dicke 60  $\mu\text{m}$ ) durch die Beerenhaut von geschädigten Beeren (**B-D**) im Vergleich mit einer intakten Beere (**A**) von *V. vinifera* cv. Bacchus. Vergrößerung: Tubusfaktor 10fach, Okularfaktor 40fach (**A, B**) bzw. 20fach (**C, D**), Hellfeld (**A-C**) und nach Fluoreszenzanregung (**D**) mit UV-A (355 – 425 nm).

Die Beeren bleiben intakt, es konnten keine nekrotischen Gewebeteile gefunden werden. Ebenso blieben Schädigungen des Stielgerüsts aus. Bei genauer Betrachtung der Beerenhaut von der Oberseite, fällt auf, dass die Pigmentierung nicht homogen über die Oberfläche verteilt vorliegt, sondern in vielen punktförmigen Flecken angeordnet ist (Abb. 2.26 C). In mikroskopischen Schnitten durch die Beerenhaut konnte festgestellt werden, dass die dunkle Pigmentierung in den hypodermalen Schichten anzutreffen war, nicht aber in der Epidermis (nicht gezeigt). Während das erste Bild eindeutig als Schaden einzustufen ist, konnte das für das zweite nicht so eindeutig gesehen werden. Die Beeren gelangten im zweiten Fall zur vollständigen Ausreifung. Möglicherweise handelt es sich dabei um eine Stressreaktion, die darauf abzielt, den Schutz vor zu starker Strahlung zu optimieren. Die auch bei dem anderen Schadbild häufig festgestellte Verbräunung kleiner Partien im Initialstadium, ist vermutlich ebenso dem zuzuordnen. Welche Bedingungen exakt



nötig sind, damit entweder die eine oder die andere Variante zur Ausprägung gelangt, ist nicht geklärt.

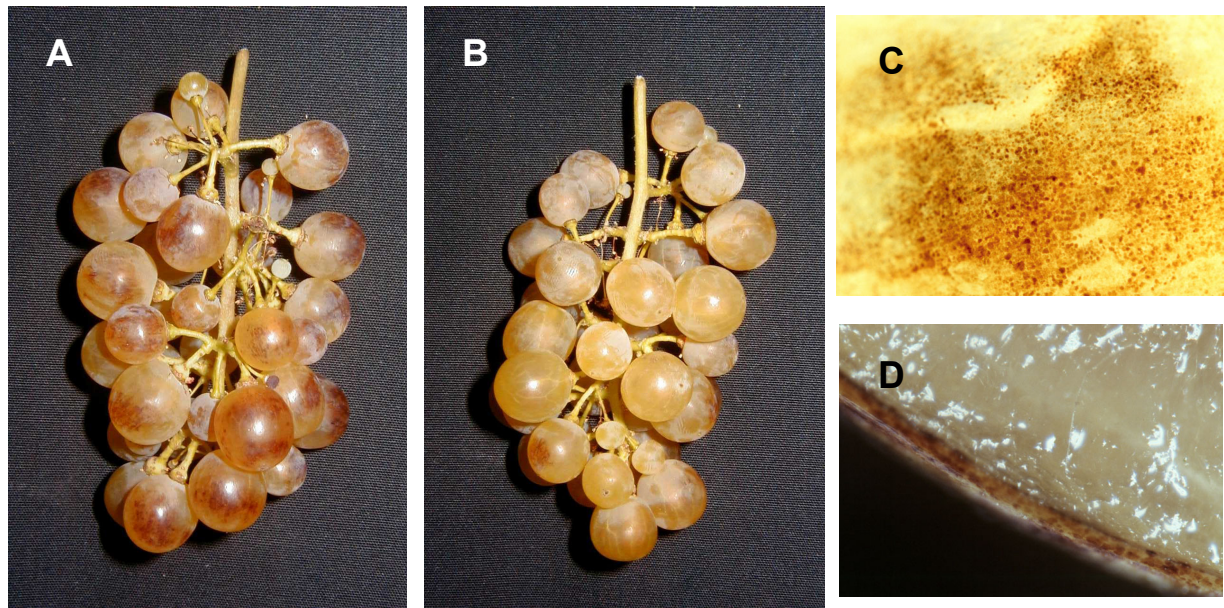


Abb. 2.26: Darstellung von „Schadbild“ 2 bei Beeren von *V. vinifera* cv. Bacchus. Exponierte (A) und nicht exponierte Seite (B) einer verbräunten Rispe, sowie Aufsicht auf (C) und Schnitt durch eine verbräunte Beere (D) (ca. 10- bzw. 20fache Vergrößerung).

Ein weiteres Symptom konnte nicht eindeutig zugeordnet werden. Es trat vereinzelt zwischen den Beeren mit nekrotischem Gewebe auf und führte ebenfalls zur vollständigen Zerstörung der betroffenen Beere. Hierbei verfärbte sich die Beere von innen heraus rosa bis leicht hellbraun (Abb. 2.27). Es



Abb. 2.27: Schadbild 3

Es konnten weder Eindellungen noch eine dunkle Pigmentierung der Haut festgestellt werden, die Verfärbung führte zu einer Trübung der Haut und zum schnellen und vollständigen weich werden, ähnlich wie bei Fäulnis. Letztlich fielen die betroffenen Beeren in sich zusammen und vertrockneten. In den Bonituren wurden die Symptome, die zur Schädigung der Beeren führten, von den Verbräunungsreaktionen getrennt erfasst.

### Schadensevaluierung

Für die visuelle Bewertung der Schädigung wurden Kategorien eingeführt. Jede exponierte Rispe wurde einer Kategorie zugeordnet und die Anzahl der Rispen je Kategorie auf die Gesamtzahl der exponierten Rispen je Strahlungsbedingung bezogen. Im Akklimatisationsversuch B/S A 2000 wurden vier Kategorien verwendet: Kat. 0: nicht geschädigt, Kat. 1: weniger als ein Drittel, Kat. 2: zwischen ein Drittel

und zwei Drittel und Kat. 3: mehr als zwei Drittel der Beeren einer Rispe geschädigt (Abb. 2.28).

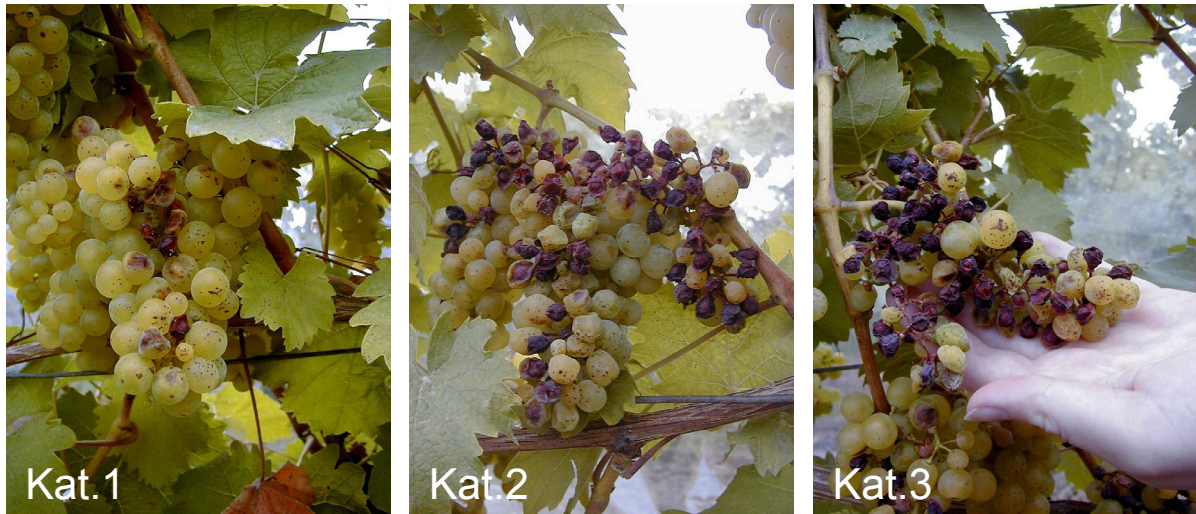


Abb. 2.28: Kategorien im Versuch B/S A 2000 (weitere Angaben s. Text)

Da die meisten Rispen in Kategorie 1 einzuteilen waren, wurde ab dem Versuchsjahr 2001 eine weitere Kategorie zur feineren Unterteilung eingeführt: Kat. 0: nicht geschädigt, Kat. 1: weniger als ein Viertel, Kat. 2: zwischen ein Viertel und der Hälfte, Kat. 3: zwischen der Hälfte und drei Viertel und Kat. 4: mehr als drei Viertel der Beeren einer Rispe geschädigt.

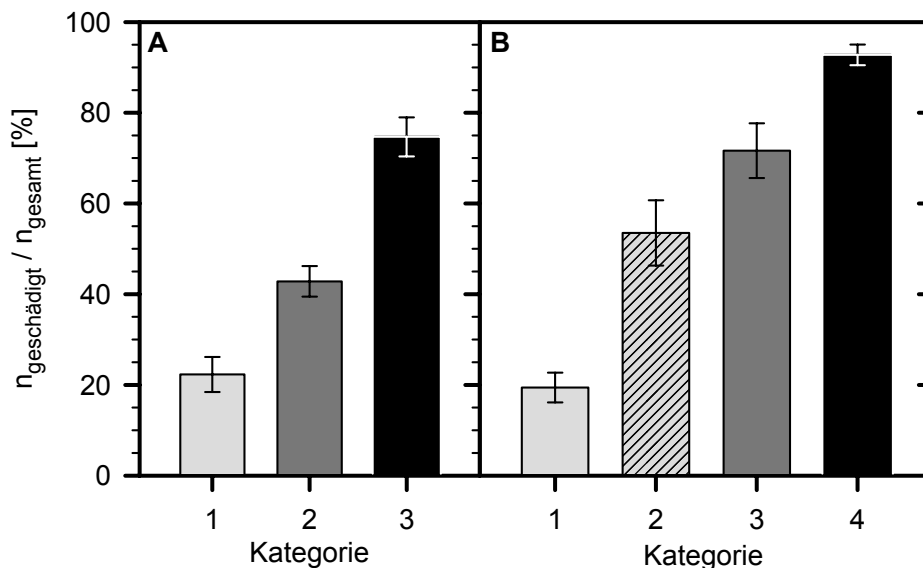


Abb. 2.29: Überprüfung des 4-stufigen Kategorienmodells im Jahr 2000 (A) und des 5-stufigen Kategorienmodells in den Jahren 2001 und 2002 (B) durch Auszählung. Dargestellt ist die Anzahl der geschädigten Beeren ( $n_{\text{geschädigt}}$ ) bezogen auf die gesamte Beerenzahl ( $n_{\text{gesamt}}$ ) je einer Rispe in Prozent. Die Fehlerbalken geben die Standardfehler für  $4 < n < 14$  wieder.

In jedem Jahr wurden nach der Beendigung der Experimente mehrere Rispen der verschiedenen Kategorien entnommen und der Anteil der geschädigten und intakten Beeren mittels Auszählung bestimmt (Abb. 2.29). Diese Maßnahme diente der



Genauigkeitsprüfung der visuellen Einschätzungen. Die Auswahl der Rispen erfolgte in den unteren Kategorien mittels Zufallsgenerator, bei den Kategorien 3 (2000) und 4 (2001 /2002) wurden alle Rispen ausgezählt.

## 3. Ergebnisse

### 3.1 Klimatische Bedingungen im Freiland

#### 3.1.1 Strahlungsbedingungen

Die Werte der mittleren täglichen Globalstrahlungsdosis je Monat waren in den Jahren 2000 und 2002 im Zeitraum Mai bis September jeweils im Juni am höchsten, im Jahr 2001 war der Wert im Juli am höchsten (Tab. 3.1).

**Tab. 3.1:** Mittlere Tagesdosis der Globalstrahlung in  $J \cdot m^{-2}$  in den Monaten Mai bis September für die drei Versuchsjahre (berechnet nach Daten des DWD, Würzburg; Fehler entsprechen den Standardabweichungen):

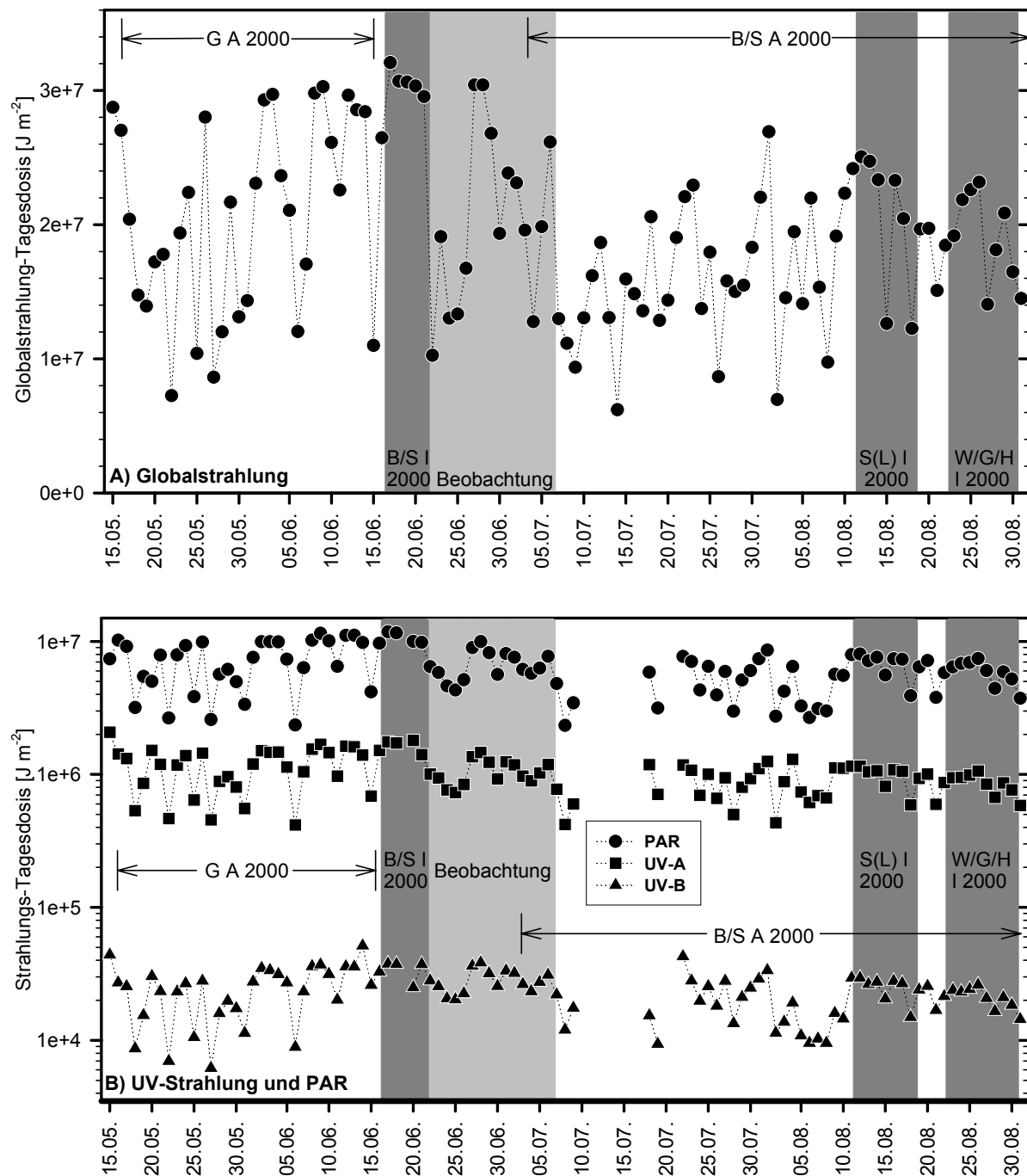
Monat	2000	2001	2002
Mai	$1.98 \cdot 10^7 \pm 6.0 \cdot 10^6$	$2.07 \cdot 10^7 \pm 7.6 \cdot 10^6$	$1.65 \cdot 10^7 \pm 7.2 \cdot 10^6$
Juni	<b><math>2.40 \cdot 10^7 \pm 7.0 \cdot 10^6</math></b>	$1.86 \cdot 10^7 \pm 6.9 \cdot 10^6$	<b><math>2.19 \cdot 10^7 \pm 6.5 \cdot 10^6</math></b>
Juli	$1.64 \cdot 10^7 \pm 4.8 \cdot 10^6$	<b><math>2.17 \cdot 10^7 \pm 6.5 \cdot 10^6</math></b>	$1.69 \cdot 10^7 \pm 8.1 \cdot 10^6$
August	$1.87 \cdot 10^7 \pm 4.8 \cdot 10^6$	$1.74 \cdot 10^7 \pm 4.2 \cdot 10^6$	$1.61 \cdot 10^7 \pm 4.5 \cdot 10^6$
Sept.	$1.11 \cdot 10^7 \pm 4.5 \cdot 10^6$	$9.10 \cdot 10^6 \pm 3.1 \cdot 10^6$	$1.30 \cdot 10^7 \pm 5.1 \cdot 10^6$

**Tab. 3.2:** Mittlere Tagesdosis der Strahlung in  $J \cdot m^{-2}$  in den Induktionsversuchen (berechnet nach Daten des DWD, Würzburg bzw. des ELDONET, Erlangen; Fehler entsprechen den Standardabweichungen):

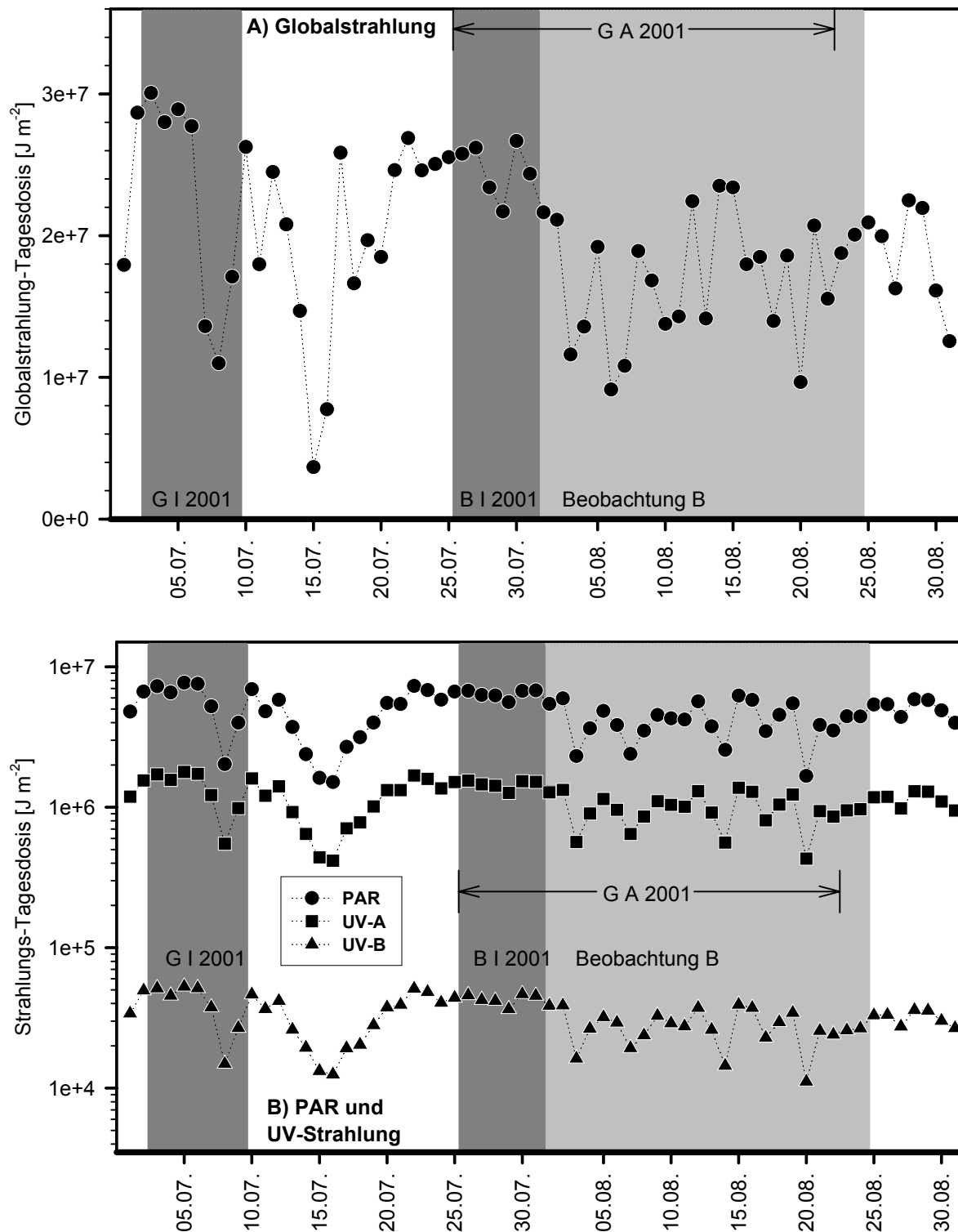
Versuch	Tage	Global DWD, Würzburg	PAR ELDONET	UV-A ELDONET	UV-B ELDONET
B/S I 2000	5	$3.07 \cdot 10^7 \pm 9.2 \cdot 10^5$	$1.08 \cdot 10^7 \pm 1.0 \cdot 10^6$	$1.67 \cdot 10^6 \pm 1.8 \cdot 10^5$	$3.44 \cdot 10^4 \pm 6.2 \cdot 10^3$
S(L) I 2000	7	$2.02 \cdot 10^7 \pm 5.5 \cdot 10^6$	$6.71 \cdot 10^6 \pm 1.5 \cdot 10^6$	$9.72 \cdot 10^5 \pm 2.0 \cdot 10^5$	$2.48 \cdot 10^4 \pm 5.2 \cdot 10^3$
W/G/H I 2000	8	$1.95 \cdot 10^7 \pm 3.2 \cdot 10^6$	$6.15 \cdot 10^6 \pm 9.8 \cdot 10^5$	$8.86 \cdot 10^5 \pm 1.3 \cdot 10^5$	$2.18 \cdot 10^4 \pm 3.2 \cdot 10^3$
G I 2001	7	$2.23 \cdot 10^7 \pm 8.1 \cdot 10^6$	$5.76 \cdot 10^6 \pm 2.1 \cdot 10^6$	$1.36 \cdot 10^6 \pm 4.7 \cdot 10^5$	$4.01 \cdot 10^4 \pm 1.5 \cdot 10^4$
B I 2001	6	$2.47 \cdot 10^7 \pm 1.9 \cdot 10^6$	$6.40 \cdot 10^6 \pm 4.6 \cdot 10^5$	$1.46 \cdot 10^6 \pm 1.1 \cdot 10^5$	$4.31 \cdot 10^4 \pm 3.8 \cdot 10^3$
B I1 2002	4	$1.92 \cdot 10^7 \pm 6.8 \cdot 10^6$	$7.14 \cdot 10^6 \pm 2.1 \cdot 10^6$	$1.10 \cdot 10^6 \pm 2.9 \cdot 10^5$	$2.18 \cdot 10^4 \pm 6.3 \cdot 10^3$
B I2 2002	6	$1.94 \cdot 10^7 \pm 3.2 \cdot 10^6$	$6.45 \cdot 10^6 \pm 2.5 \cdot 10^6$	$9.87 \cdot 10^5 \pm 3.5 \cdot 10^5$	$1.83 \cdot 10^4 \pm 6.7 \cdot 10^3$

Die mittleren täglichen Globalstrahlungsdosen lagen bei allen Induktionsversuche über dem jeweiligen Monatsmittel (Tab. 3.1, Tab. 3.2). Während der Induktionsversuche an Getreide (W/G/H I 2000, G I 2001) lagen die mittleren täglichen Strahlungsdosen im Jahr 2001 über denen im Jahr 2000, besonders auffällig war

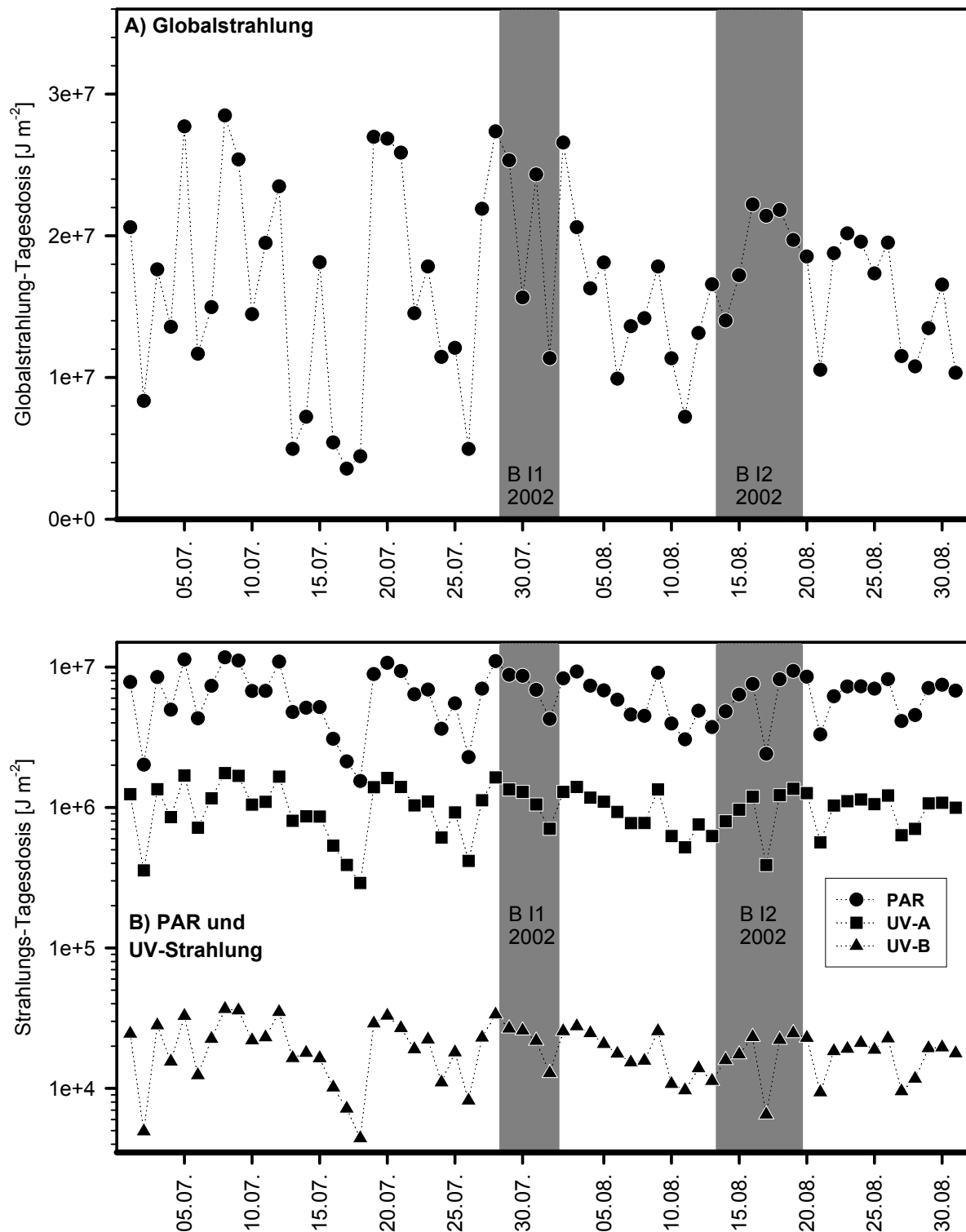
dies für die mittleren UV-B- Strahlungsdosen (Tab. 3.2). In beiden Versuchen kam es nach dem vierten Expositionstag zu einer Abschwächung der Strahlungsintensitäten, die im Versuchsjahr 2001 deutlicher ausfielen (Abb. 3.1 und Abb. 3.2).



**Abb. 3.1:** Strahlungsbedingungen im Versuchszeitraum 2000 (15.05.-31.08.00). Dargestellt sind die Tagesdosen für Globalstrahlung (A) in Würzburg (DWD) und die Tagesdosen für UV-Strahlung und PAR (B) in Erlangen (ELDONET), angegeben in  $J \cdot m^{-2}$ . Die Aufzeichnungen des ELDONET wiesen im Monat Juli 10 Fehltage auf. Die Zeiträume der Induktionsversuche wurden dunkelgrau unterlegt, die Zeiträume der Akklimatisationsversuche sind durch Pfeile gekennzeichnet. Die Auftragung in B erfolgte logarithmisch.



**Abb. 3.2:** Strahlungsbedingungen im Versuchszeitraum 2001 (01.07.-31.08.01). Dargestellt sind die Tagesdosen für Globalstrahlung (A) in Würzburg (DWD) und die Tagesdosen für UV-Strahlung und PAR (B) in Erlangen (ELDONET), angegeben in  $\text{J}\cdot\text{m}^{-2}$ . Die Zeiträume der Induktionsversuche wurden dunkelgrau unterlegt, der Zeitraum des Akklimationsversuchs ist durch Pfeile gekennzeichnet. Die Auftragung in B erfolgte logarithmisch.



**Abb. 3.3:** Strahlungsbedingungen im Zeitraum der Folienbespannung im Weinberg 2002 (03.07.-31.08.02). Dargestellt sind die Tagesdosen für Globalstrahlung (A) in Würzburg (DWD) und die Tagesdosen für UV-Strahlung und PAR (B) in Erlangen (ELDONET), angegeben in  $\text{J}\cdot\text{m}^{-2}$ . Die Zeiträume der Induktionsversuche wurden dunkelgrau unterlegt. Die Auftragung in B erfolgte logarithmisch.

Während der Induktionsversuche an *V. vinifera* wurden im Versuch B/S I 2000 die höchsten mittleren Tagesdosen für Globalstrahlung und UV-A festgestellt, die

höchste mittlere Tagesdosis für UV-B wurde für den Versuchszeitraum von B I 2001 ermittelt (Tab. 3.2). Die Bedingungen während der Versuche B/S I 2000 und B I 2001 waren relativ konstant, im Versuch B I1 2002 hingegen kam es zu starken Schwankungen, die zum Abbruch des Experimentes nach vier Tagen führten (Abb. 3.1, Abb. 3.2 und Abb. 3.3). Die mittleren Strahlungsdosen während der Induktionsversuche im Jahr 2002 lagen unter denen der anderen Induktionsversuche an Weinbeeren, waren aber vergleichbar mit denen während des Versuchs W/G/H I 2000 ermittelten. Da durch die Zeilung im Weinberg in diesen Versuchen die Beeren bis ca. 12.00 Uhr beschattet waren, wurde hier auch die mittlere Dosis der Globalstrahlung zwischen 12 und 20 Uhr berechnet. Die Dosis in diesem Zeitraum betrug im Mittel  $9,04 \cdot 10^6$  und  $9,58 \cdot 10^6 \text{ J} \cdot \text{m}^{-2}$  jeweils für den Zeitraum von B I1 2002 und B I2 2002.

Für einen Vergleich der Strahlungsbedingungen während der Akklimatisationsversuche wurden aufgrund der großen Schwankungen in den langen Zeiträumen keine Tagesmittelwerte berechnet (s. Abb. 3.1, Abb. 3.2).

### **3.1.2 Temperatur und relative Feuchte**

In den Expositionskammern traten während der Induktionsversuche an Weinbeeren in den Jahren 2000 und 2001 insgesamt höhere Temperaturen auf als in den beiden Induktionsversuchen mit Getreide. Während des Versuchs B/S I 2000 fielen die Werte für relative Luftfeuchtigkeit von allen Experimenten am niedrigsten und die Temperaturen am höchsten aus (Abb. 3.4, Abb. 3.5).

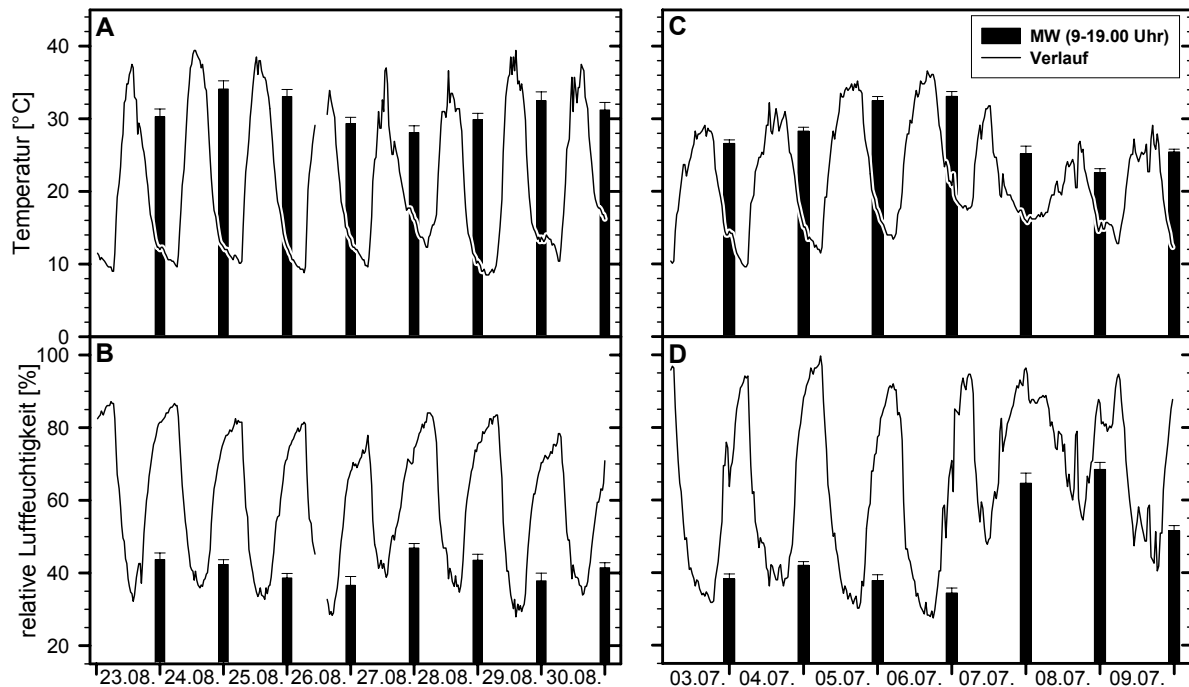
#### **a) Getreide:**

Die Witterungsbedingungen blieben während des Versuchs W/G/H I 2000 relativ konstant (Abb. 3.4), im Versuch G I 2001 hingegen war der Himmel nach vier Tagen Exposition z.T. stark bewölkt, was sich sowohl in den Strahlungsdosen als auch durch niedrigere Temperaturen und höhere Luftfeuchtigkeit bemerkbar machte (Abb. 3.2, Abb. 3.4). Die gemessenen Temperaturmaxima betrugen  $39^\circ\text{C}$  (2000) und  $37^\circ\text{C}$  (2001).

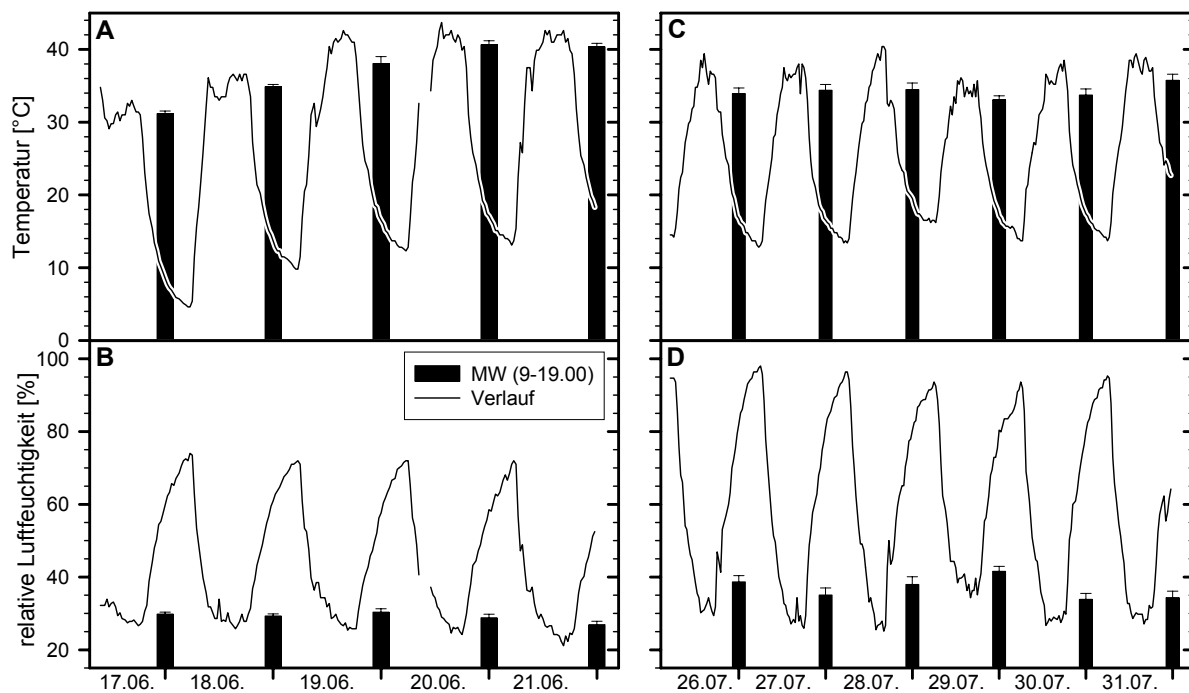
#### **b) *V. vinifera*:**

Im Verlauf des Induktionsversuchs B/S I 2000 stiegen die mittleren Tagestemperaturen (9-19 Uhr) in den Kammern leicht an; die maximal erreichte Temperatur betrug  $43,7^\circ\text{C}$  (Abb. 3.5). Die mittleren Werte für relative Feuchte (9-19 Uhr) blieben jedoch im gesamten Zeitraum konstant zwischen 27 und 30%. Im Zeitraum des Versuchs

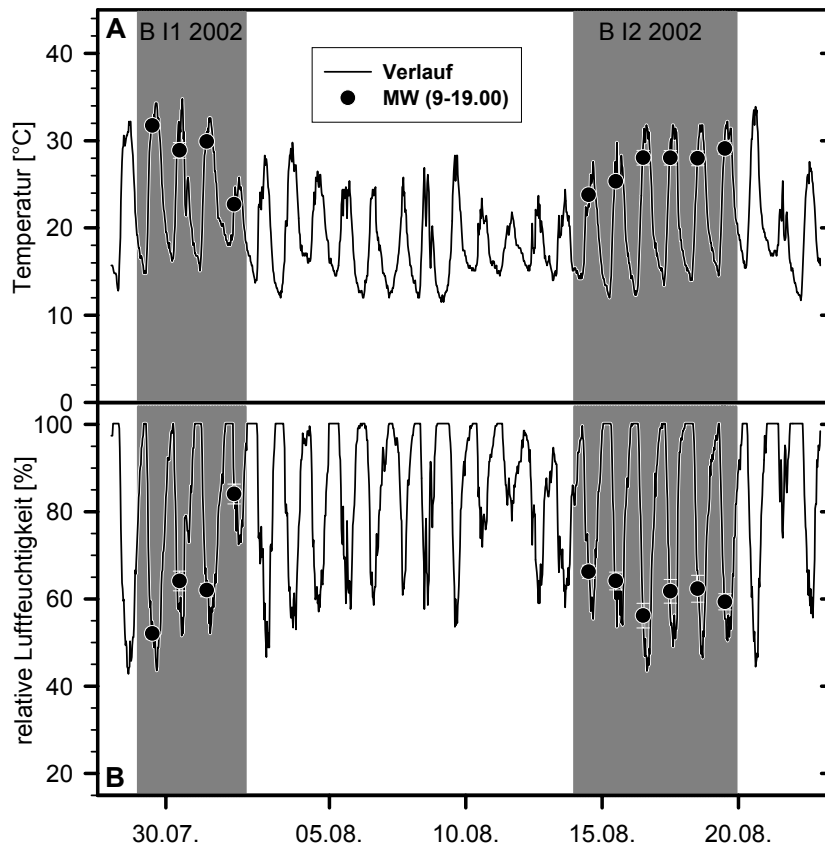
B I 2001 blieben die Bedingungen konstant. Die maximal erreichte Temperatur betrug hier 40,4°C.



**Abb. 3.4:** Verlauf der Temperatur (A, C) und relativen Feuchte (B, D) während der Induktionsversuche W/G/H I 2000 (A; B) und G I 2001 (C, D) in den Expositionskammern. Zudem wurde der jeweilige Tagesmittelwert zwischen 9 und 19.00 Uhr dargestellt; die Fehlerbalken entsprechen den Standardfehlern.



**Abb. 3.5:** Verlauf der Temperatur (A, C) und relativen Feuchte (B, D) während der Induktionsversuche B/S I 2000 (A; B) und B I 2001 (C, D) in den Expositionskammern. Zudem wurde der jeweilige Tagesmittelwert zwischen 9 und 19.00 Uhr dargestellt; die Fehlerbalken entsprechen den Standardfehlern.

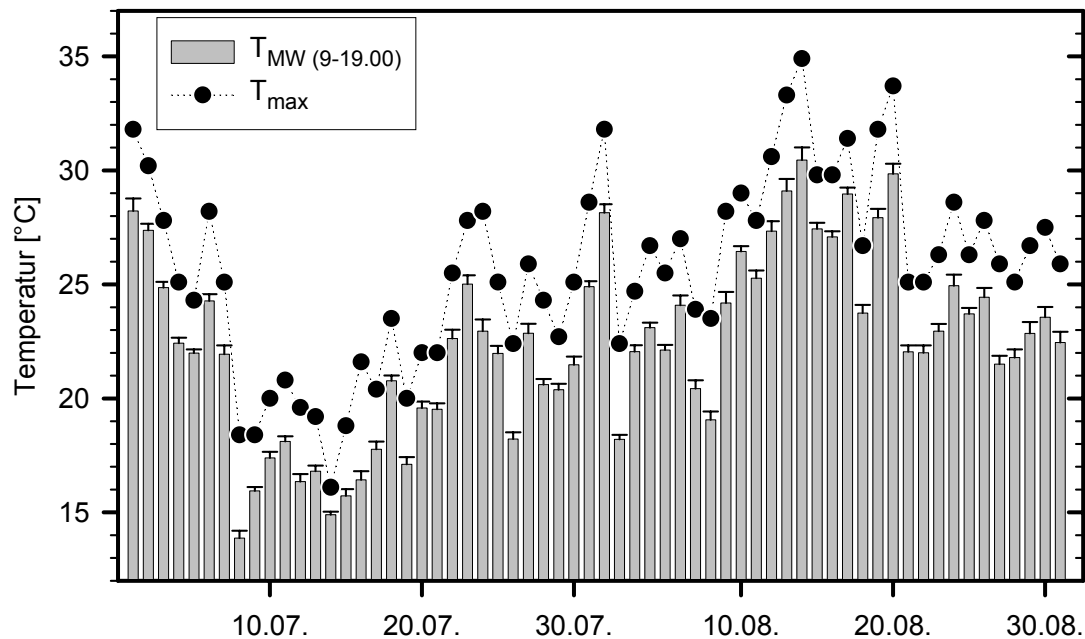


**Abb. 3.6:** Verlauf der Temperatur (A) und relativen Feuchte (B) vom 28.07.-22.08.02 unter den Folien im Weinberg. Die Zeiträume der Induktionsversuche B I1 2002 und B I2 2002, wurden dunkelgrau unterlegt. Zudem wurde für die Induktionszeiträume jeweils der Tagesmittelwert zwischen 9.00 und 19.00 Uhr (MW (9-19.00)) dargestellt. Die Fehlerbalken entsprechen den Standardfehlern.

Die Bedingungen unter den Folien im Weinberg unterschieden sich von denen in den Kammern: Im Versuchszeitraum B I1 2002 lagen die mittleren Tagestemperaturen (9-19 Uhr) in den ersten drei Tagen zwischen 29 und 32°C und die Werte der mittleren relativen Feuchte (9-19 Uhr) zwischen 52 und 64% (Abb. 3.6). Am vierten Tag verschlechterte sich die Wetterlage, was zum Abbruch des Experimentes führte. Während des Versuchs B I2 2002 stiegen die Temperaturen bis zum dritten Tag und blieben dann konstant bei mittleren 28-29°C, die mittlere relative Feuchte (9-19 Uhr) lag bei Werten zwischen 56 und 66% (Abb. 3.6). Die maximal erreichten Temperaturen während der Induktionszeiträume betragen 34,8 (I1) und 32,2°C (I2).

Für den Zeitraum des Akklimatisierungsexperimentes B/S A 2000 wurden unter den Folien keine Temperatur- und Feuchtigkeitsmessungen durchgeführt. Die Angaben wurden von der im Weinberg Bacchus befindlichen Messstation abgefragt (s. 2.1.4). Im Zeitraum der Folienbespannung traten keine Temperaturen unter 10°C auf. Zwischen dem 08.07. und dem 21.07.00 blieben die mittleren Tagestemperaturen (9-19 Uhr) in der Regel unter 20°C, zwischen dem 09.08. und dem 20.08.00 war eine längere warme Periode mit mittleren Tagestemperaturen von 24 bis 30°C zu verzeichnen (Abb. 3.7).





**Abb. 3.7:** Mittlere Tagestemperatur (MW (9-19.00)) und maximale Temperatur je Tag vom 01.07.-31.08.00 im Weinberg (Anlage Bacchus). Die Fehlerbalken entsprechen den Standardfehlern. Die Werte wurden den Messungen der Messtation der LWG Veitshöchheim entnommen.

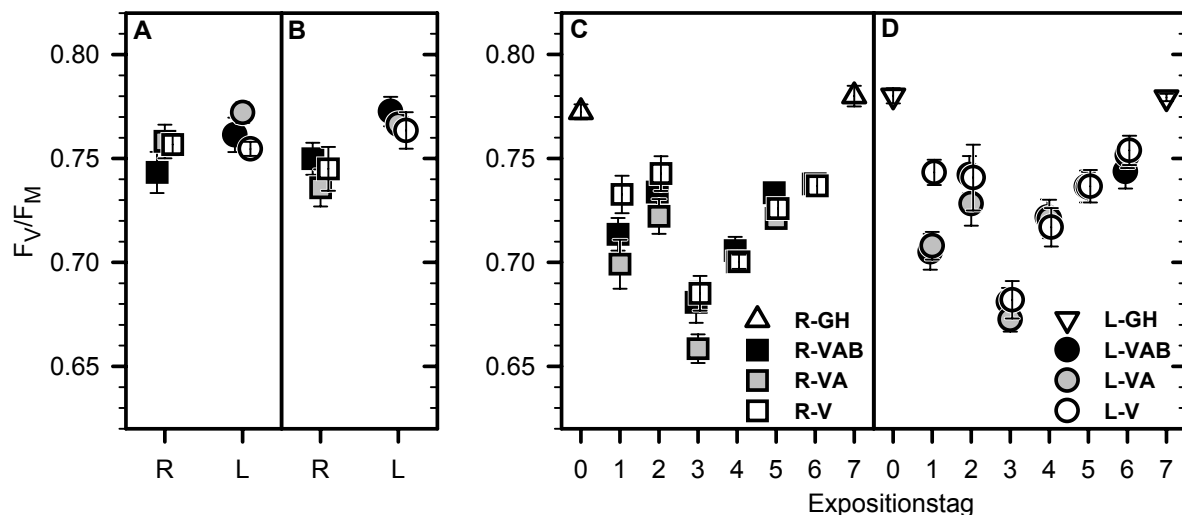
Dazwischen kam es zum Teil zu großen Temperaturschwankungen. Temperaturmaxima von über 30°C konnten nur an 7 Tagen im August beobachtet werden. Die relative Luftfeuchte betrug in der Regel zwischen 60 und 100%, an einzelnen heißen Tagen wurden Extremwerte bis 40% gemessen.

## 3.2 Fluorometrie

### 3.2.1 Optimale Quantenausbeute des PS II

#### 3.2.1.1 Variable Chlorophyllfluoreszenz bei Getreidearten

In den Akklimatisationsversuchen kam es bei keiner der untersuchten Sorten zu einer UV- bedingten Inhibition der PS II- Aktivität. Exemplarisch werden die Ergebnisse aus den Akklimatisationsversuchen (G A 2000 und G A 2001) und einem Induktionsversuch (G I 2001) bei Gerste dargestellt (Abb. 3.8). Die variable Chlorophyllfluoreszenz ( $F_V/F_M$ ) bei exponiert gewachsenen Blättern betrug im Mittel 0,74- 0,76 (Ricarda) und 0.76- 0,77 (LBP 24727) und war somit mit der von Blättern aus dem Gewächshaus im Induktionsversuch vergleichbar. Dabei war ein geringfügiger Sortenunterschied erkennbar, der jedoch nicht signifikant war.



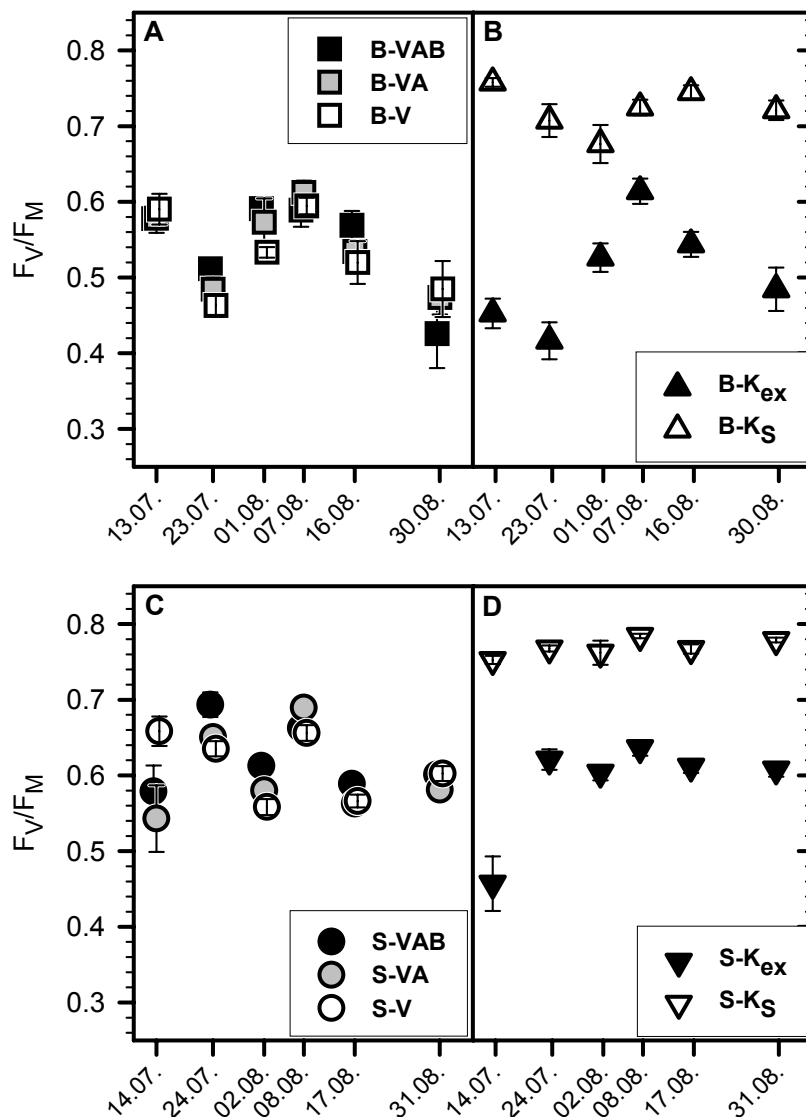
**Abb.3.8:** Variable Chlorophyllfluoreszenz ( $F_V/F_M$ ) bei F-1-Blättern von *H. vulgare* cv. **Ricarda** und **LBP 24727** in den Akklimatisationsversuchen G A 2000 (**A**) und G A 2001 (**B**), sowie im Induktionsversuch G I 2001 (**C**, **D**). Fehlerbalken entsprechen den Standardfehlern für  $n=5-10$ .

Auch in den Induktionsversuchen traten zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen den Sorten auf. Expositionsbedingte Unterschiede waren, mit Ausnahme von LBP 24727 am ersten Tag im Versuch G I 2001, nie signifikant (Abb. 3.8 D). Die Inhibition der PS II- Aktivität war am dritten Expositionstag mit mittleren  $F_V/F_M$ - Werten von 0,66- 0,69 am stärksten ausgeprägt. Während der folgenden Tage konnte eine sukzessive Erholung festgestellt werden, so dass am sechsten Expositionstag Werte von 0,74- 0,75 zu verzeichnen waren, die nur geringfügig unter den Werten der Proben aus dem Gewächshaus lagen. Die variable Chlorophyllfluoreszenz der Blätter aus dem Gewächshaus blieb während des Versuchszeitraumes unverändert bei 0,77- 0,78.

### 3.2.1.2 Variable Chlorophyllfluoreszenz bei Beeren von *V. vinifera*

Im Akklimatisationsexperiment (B/S A 2000) wurden bei beiden Sorten unter Beschattung die höchsten  $F_V/F_M$ - Werte von im Mittel 0,75- 0,78 (Silvaner) und 0,68- 0,76 (Bacchus) erreicht, die über den gesamten Versuchszeitraum im Wesentlichen konstant blieben (Abb. 3.9). Die Werte der exponierten Kontrolle lagen bei Silvaner, mit Ausnahme des Wertes vom 14.07.00, konstant bei 0,6- 0,62. Bei Bacchus waren bei dieser Variante im Versuchszeitraum mit Werten zwischen 0,41 und 0,61 größere Schwankungen zu verzeichnen. Für beide Sorten konnten aber zu allen Zeitpunkten signifikante Unterschiede zwischen der  $K_{ex}$ - und der  $K_S$ - Variante festgestellt werden. Bei unter den Folien exponierten Varianten beider Sorten traten, mit Ausnahme der V- und der VA- Variante bei Silvaner am 14.07.00, keine durch unterschiedliche UV-

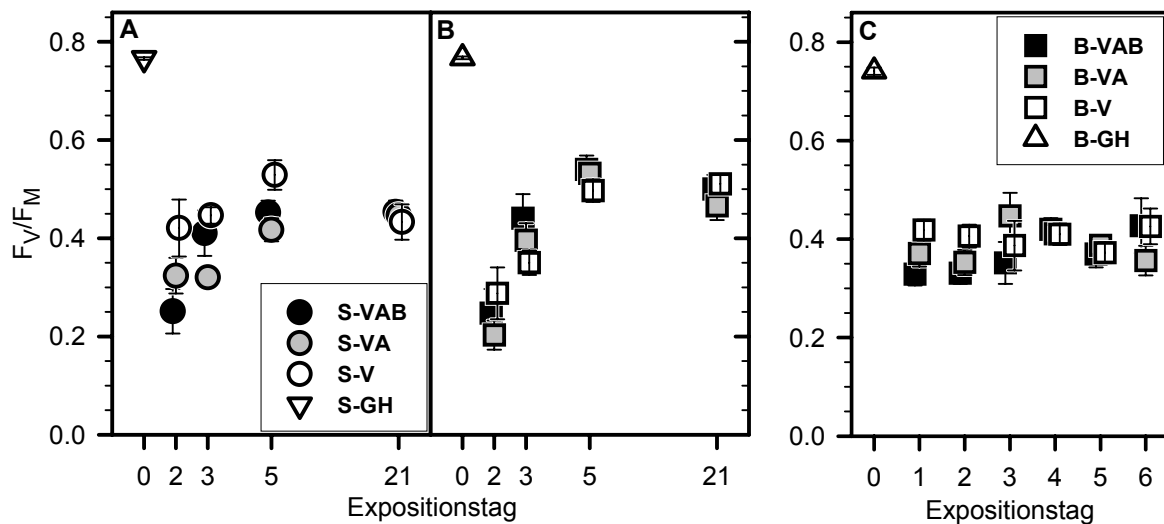
Exposition verursachten, signifikanten Unterschiede auf. Die Werte von Silvaner lagen hier über den Zeitraum in einem Bereich von 0,56 und 0,69, bei Bacchus war die Schwankungsbreite vergleichbar mit der  $K_{ex}$ -Variante. Zu mehreren Zeitpunkten und unter verschiedenen Expositionsbedingungen waren bei Silvaner signifikant höhere Werte als bei Bacchus zu beobachten, wobei die Proben der beiden Sorten jeweils um einen Tag versetzt genommen wurden. Die am 30.08.00 erfolgten Messungen an den exponierten Varianten von Bacchus sind aufgrund der insgesamt sehr niedrigen Chlorophyllfluoreszenz als bedenklich einzustufen (vgl. 3.6.1).



**Abb. 3.9:** Variable Chlorophyllfluoreszenz ( $F_v/F_m$ ) bei Beeren von *V. vinifera* cv. Bacchus (A, B) und Silvaner (C, D) aus dem Akklimatisationsversuch B/S A 2000. Die Beeren waren entweder unter den drei verschiedenen Strahlungsbedingungen exponiert (A, C) oder entstammten den Kontrollstandorten (B, D). Die Fehlerbalken entsprechen den Standardfehlern für n=12-18

In den Induktionsversuchen B/S I 2000 und B I 2001 konnte ebenfalls keine eindeutig durch UV-Exposition verursachte Inhibition der PS II-Aktivität beobachtet werden (Abb. 3.10). Im Jahr 2000 wurden bei beiden Sorten am zweiten Expositionstag die niedrigsten  $F_v/F_m$ -Werte gemessen. Bis zum fünften Tag trat eine Erholung ein, die Werte, die 21 Tage nach dem Beginn der Exposition gemessen wurden, waren mit

denen von Tag 5 vergleichbar. Zwischen den beiden Sorten wurden, mit Ausnahme von der VA- Varianten am fünften Expositionstag, keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Die  $F_V/F_M$ -Werte der Proben aus dem Gewächshaus lagen übereinstimmend für beide Versuchsjahre im Mittel zwischen 0,75 und 0,77. Anders als im Induktionsversuch B/S I 2000 konnte bei B I 2001 keine Erholungsphase festgestellt werden. Die Werte blieben während der sechs Expositionstage konstant bei 0,33 bis 0,45. Die extrem niedrigen Werte des zweiten Expositionstages im Versuch B/S I 2000 wurden hier nicht erreicht. Auch hier wurden keine signifikanten Unterschiede, die durch unterschiedliche UV- Exposition erklärbar gewesen wären, festgestellt.



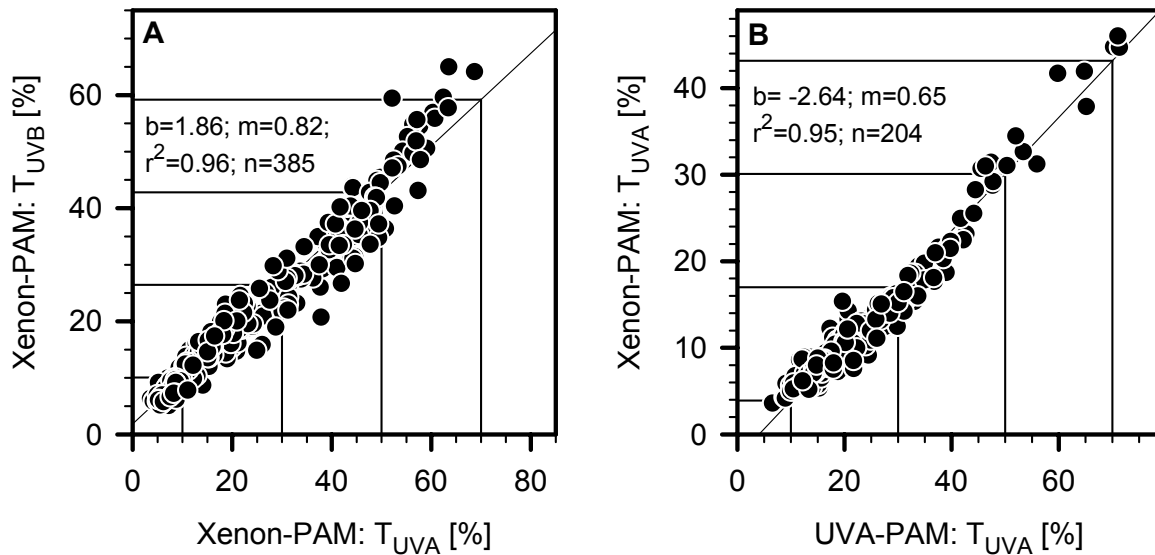
**Abb. 3.10:** Variable Chlorophyllfluoreszenz ( $F_V/F_M$ ) bei Beeren von *V. vinifera* cv. **Bacchus** (**B, C**) und **Silvaner** (**A**) aus den Induktionsversuchen B/S I 2000 (**A, B**) und B I 2001 (**C**) nach Exposition unter den drei verschiedenen Strahlungsbedingungen und aus dem Gewächshaus (**GH**). B/S I 2000: n= 4-12, B I 2001: n=23-27 bzw. T3 und T6: n= 8, Fehlerbalken entsprechen den Standardfehlern.

## 3.2.2 Epidermale UV-Transmission

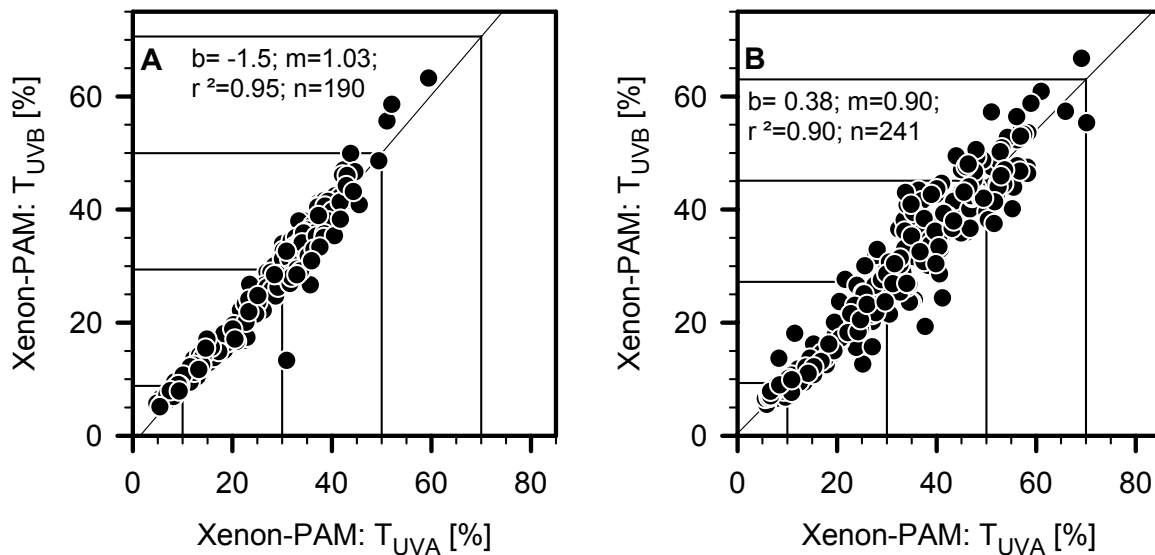
### 3.2.2.1 Beziehungen zwischen UV-A- und UV-B- Transmission

Zwischen den Fluoreszenzsignalen, die durch UV-A bzw. UV-B mit der Xenon-PAM induziert werden, bestand bei *H. vulgare* ein linearer Zusammenhang. Folglich waren auch die daraus berechneten epidermalen Transmissionen für UV-A ( $T_{UVA}$ ) und UV-B ( $T_{UVB}$ ) linear verbunden (Abb. 3.11). Diese lineare Beziehung bestand für alle genommenen Proben, unabhängig von den Expositionsbedingungen. Mit der UVA-PAM wurden Messungen parallel zur Xenon-PAM- Methode durchgeführt (Abb. 3.11B). Aufgrund der unterschiedlichen Anregungswellenlängen waren die mit der UVA-PAM

bestimmten Werte für  $T_{UVA}$  höher die mit der Xenon-PAM bestimmten Werte. Es bestand aber ein linearer Zusammenhang zwischen  $T_{UVA}$  aus den beiden Fluorimetern. Auch  $T_{UVB}$  aus der Xenon-PAM war linear mit  $T_{UVA}$  aus der UVA-PAM verknüpft (nicht dargestellt).



**Abb. 3.11:** **A** Korrelation zwischen  $T_{UVA}$  und  $T_{UVB}$  bzw. **B** Korrelation zwischen den Werten für  $T_{UVA}$  aus Xenon- und UVA-PAM bei *H. vulgare*. Die Regressionsgeraden jeweils mit y-Achsenabschnitt (b), Steigung (m), Bestimmtheitsmaß ( $r^2$ ) und Anzahl der eingegangenen Messungen (n).



**Abb. 3.12:** Korrelation zwischen  $T_{UVA}$  und  $T_{UVB}$  bei *A. sativa* (**A**) bzw. *T. aestivum* (**B**). Die Regressionsgeraden jeweils mit y-Achsenabschnitt (b), Steigung (m), Bestimmtheitsmaß ( $r^2$ ) und Anzahl der eingegangenen Messungen (n).

Aus dieser Linearität ergab sich die Möglichkeit, über nur eine Messung beide Eigenschaften abzuschätzen: für Gerste konnte somit allein aus der Messung mit dem tragbaren System die epidermale UV-A- und UV-B-Transmission bestimmt werden. Die Berechnung erfolgte über die aus den Regressionsgeraden ermittelten Gleichungen:

$$T_{UVA}(XE) = 0,65 * T_{UVA}(UVA) - 2,64$$

Gl.: 3.1

$$T_{UVB}(XE) = 0,51 * T_{UVA}(UVA) + 0,75$$

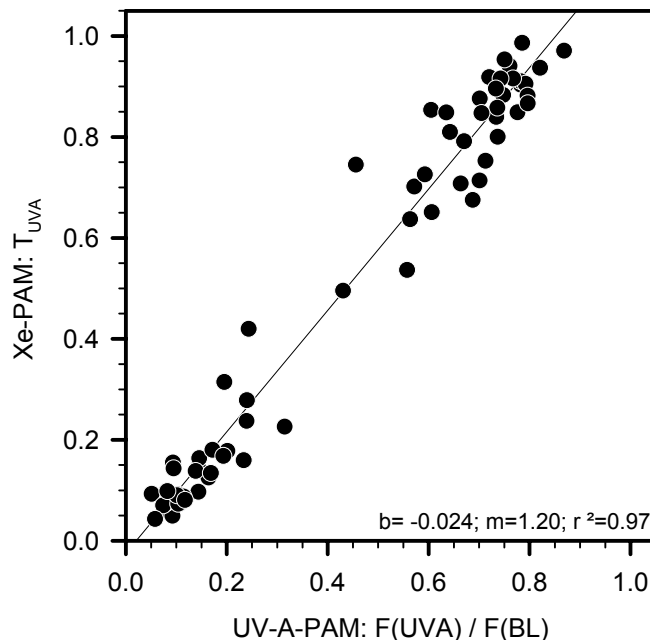
Gl.: 3.2

Diese linearen Zusammenhänge konnten auch bei Weizen und Hafer festgestellt werden (Abb. 3.12). Die Korrelationen waren zwischen den drei Arten insgesamt vergleichbar, geringfügige Abweichungen ergaben sich für die Steigungen der jeweils gefundenen Regressionsgeraden.

Bei *V. vinifera* bestand eine eindeutige lineare Korrelation zwischen den Werten der parallel mit beiden Fluorimetern gemessenen Proben, wobei hier für die UVA-PAM keine Mesophyllreferenz zur Verfügung stand und daher die Relation zwischen dem Fluoreszenzverhältnis  $F(UVA)/F(BL)$  und der UV-A-Transmission aus der Xenon-PAM verwendet wurde (Abb. 3.13).

**Abb. 3.13:**

Korrelation zwischen  $T_{UVA}$  aus der Xenon-PAM und dem Quotienten der Fluoreszenzsignale  $F(UVA) / F(BL)$  aus der UVA-PAM bei parallel gemessenen Beeren von *V. vinifera* cv. Bacchus. Hier dargestellt sind nur Werte aus dem Induktionsexperiment B I 2001. Die Regressionsgerade mit y-Achsenabschnitt (b), Steigung (m) und Bestimmtheitsmaß ( $r^2$ ) wurde als Proportionalitätsfaktor verwendet.

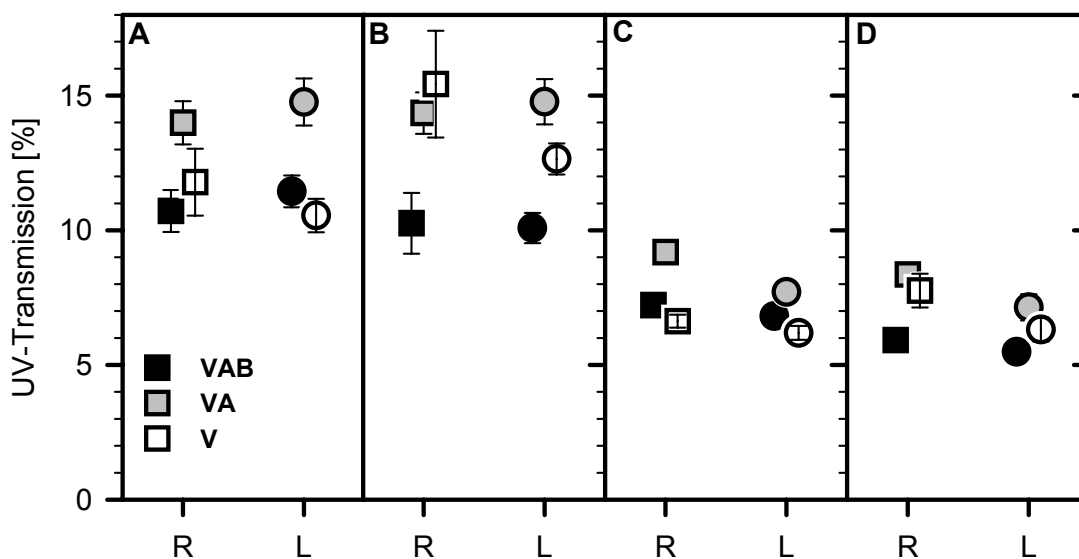


Hingegen konnte weder für Blätter noch für Beerenfrüchte eine Linearität zwischen  $T_{UVA}$  und  $T_{UVB}$  festgestellt werden (nicht dargestellt). Die Ursachen für diesen Unterschied zwischen den untersuchten Gramineenarten und *V. vinifera* sind im anders gearteten Muster phenolischer Substanzen zu suchen, da lösliche Hydroxyzimtsäurederivate, die bei *V. vinifera* eine Rolle spielen, anders reguliert werden als Flavonoide (s. 3.4, Kolb et al., 2001).

### 3.2.2.2 Epidermale UV-Transmission bei Getreidearten

#### a) Akklimatisierungsexperimente

G A 2000, G A 2001: Übereinstimmend bewirkte die UV-B- Exposition in beiden Versuchen eine leichte Verringerung der UV-A- Transmission um im Mittel 5 - 7%; diese Verringerung war bei Ricarda im Vergleich mit beiden anderen Varianten, bei LBP 24727 jedoch nur 2000 im Vergleich mit der VA- Variante signifikant (Abb. 3.14). Die Werte der UV-B- Transmission waren bei unter V- Bedingungen gewachsenen Blättern vergleichbar niedrig wie bei den unter VAB- Bedingungen gewachsenen.



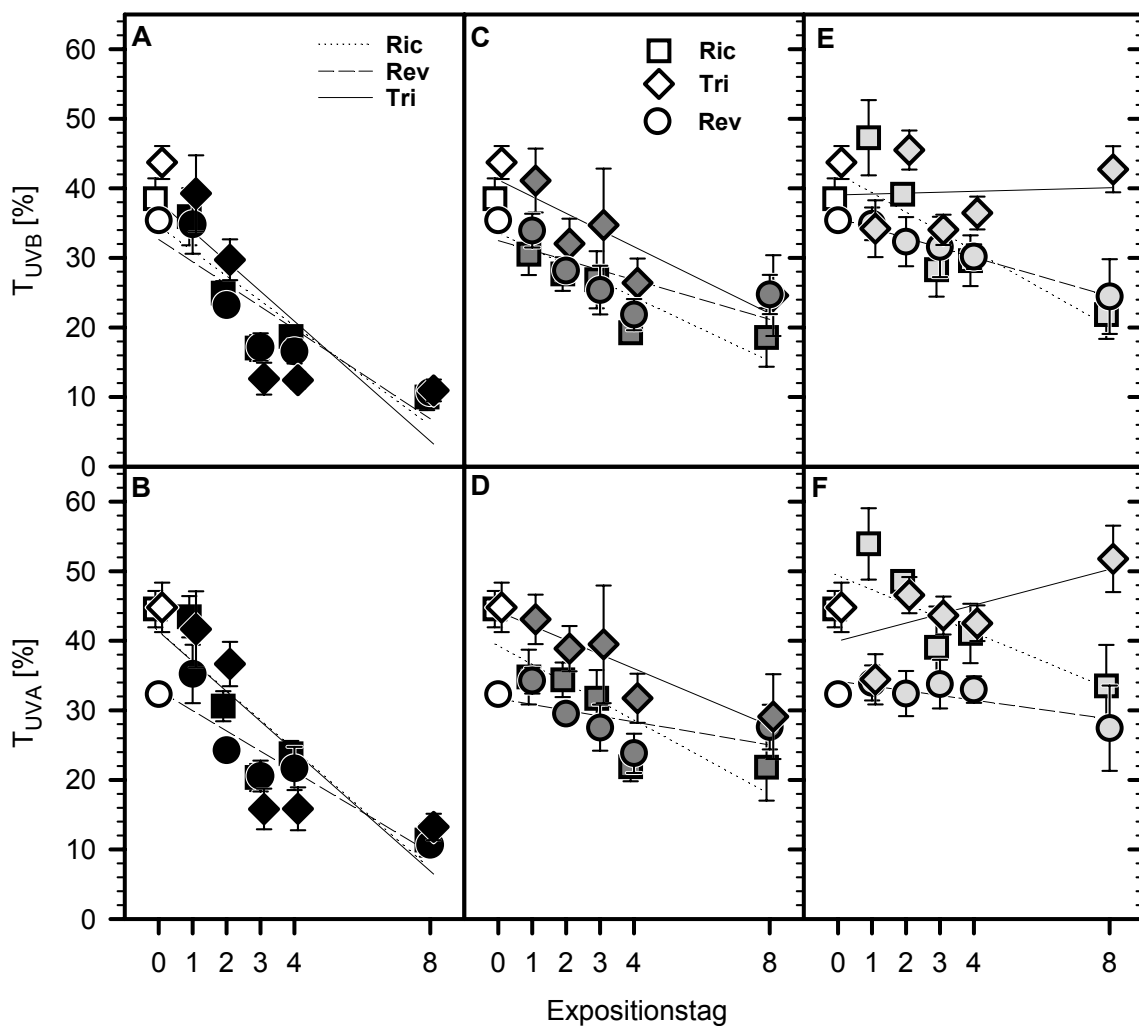
**Abb. 3.14:** Akklimatisierungsversuche bei *H. vulgare* cv. Ricarda (R) und LBP 24727 (L):  $T_{UVB}$  (A, C) und  $T_{UVA}$  (B, D) bei exponiert gewachsenen F-1- Blättern aus den Versuchen G A 2000 (A, B; n=5) und G A 2001 (C, D; n=8-10). Werte eines Tages wurden aus Darstellungsgründen leicht versetzt abgebildet. Fehlerbalken entsprechen den Standardfehlern.

Unter VA- Exposition zeigten die Blätter in beiden Jahren eine etwas höhere UV-B- Transmission als unter den anderen Bedingungen; für LBP 24727 war dieser Unterschied gegenüber der V- Variante in beiden Jahren und gegenüber der VAB- Variante im Jahr 2000 signifikant. Bei Ricarda zeigte die VA- Variante nur 2001 gegenüber den beiden anderen Gruppen signifikant höhere Werte. Zwischen den Sorten konnten, mit Ausnahme der höheren  $T_{UVB}$  bei Ricarda unter VA (G A 2001), keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Im Vergleich zwischen den beiden Jahren liegen die Transmissionen im Jahr 2001 allgemein niedriger als im Jahr 2000. Dabei ist allerdings auch der unterschiedliche Expositionszeitraum zu berücksichtigen. Unterschiede zwischen den Jahren konnten auch bei Pflanzen gefunden werden, die im Gewächshaus bis zu einem vergleichbaren physiologischen

Alter herangewachsen waren (nicht dargestellt), wiederum lagen die Werte aus dem Jahr 2001 deutlich niedriger.

### b) Induktionsexperimente

W/G/H I 2000: Für den Vergleich zwischen den drei Getreide- Arten wurde jeweils eine Sorte herausgegriffen (Abb. 3.15). Prinzipiell bewirkten die unterschiedlichen Expositionsbedingungen bei allen ein vergleichbares Reaktionsmuster: es erfolgte eine Reduzierung der Transmissionswerte, die durch UV- Strahlung, und besonders durch UV-B- Strahlung verstärkt wurde.



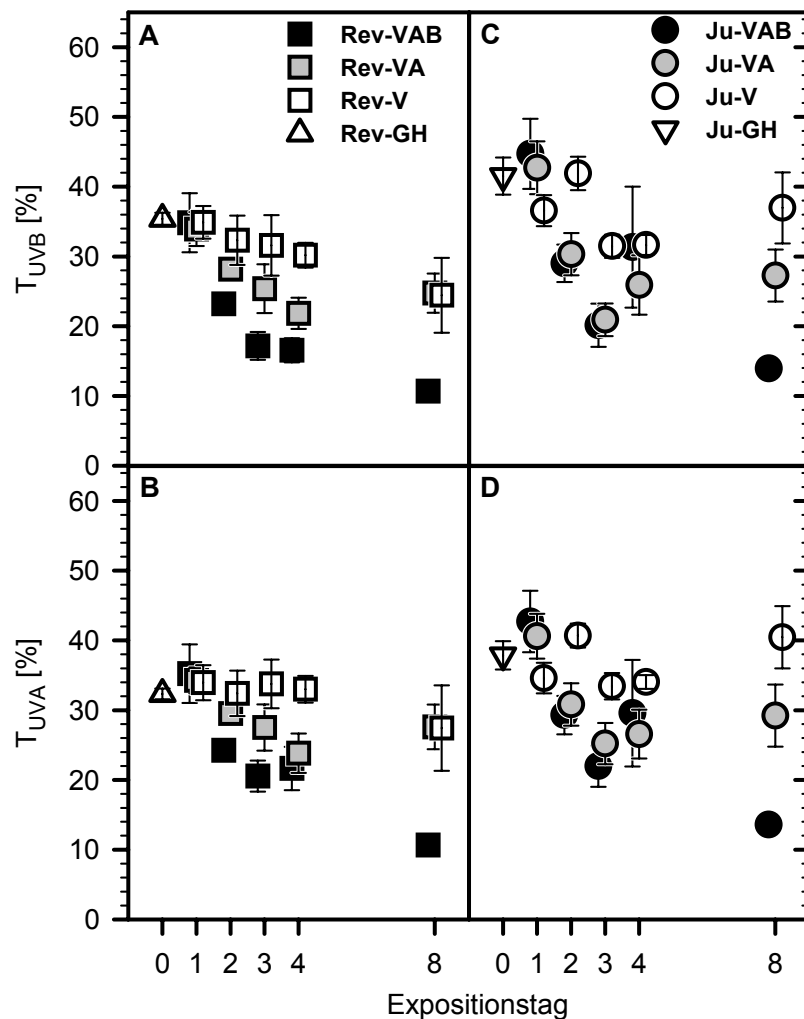
**Abb. 3.15:** Induktion (W/G/H I 2000): Exposition ab dem 23.08.00. Dargestellt ist  $T_{UVB}$  (A, C, E) bzw.  $T_{UVA}$  (B, D, F) je einer Sorte von Weizen (Triso), Gerste (Ricarda), Hafer (Revisor) unter den verschiedenen Expositionsbedingungen VAB (A, B), VA (C, D) und V (E, F) mit den jeweiligen Regressionsgeraden. Fehlerbalken entsprechen den Standardfehlern für  $n=5-6$ . Werte eines Tages wurden aus Darstellungsgründen leicht versetzt abgebildet.

Die Reduzierung war für  $T_{UVA}$  und  $T_{UVB}$  bei allen Sorten weitgehend identisch. Nach 8-tägiger Exposition unter VAB wurden bei allen drei Arten nahezu übereinstimmende Transmissionswerte von 10 – 13% gemessen, obgleich die Ausgangswerte



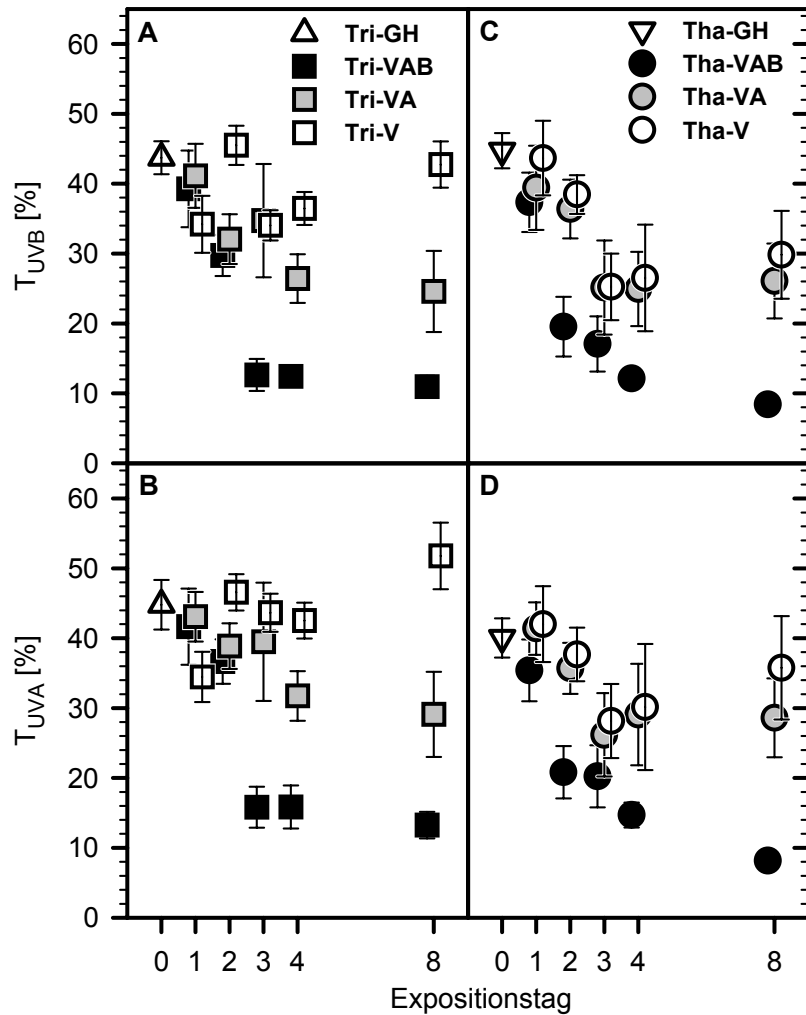
zum Teil etwas differierten. Auffällig war bei der ausgewählten Weizensorte Triso, die mit mittleren 44% die höchsten prä-expositionellen Werte für  $T_{UVB}$  zeigte, eine sehr schnelle Reduzierung unter VAB, während unter UV-Ausschluss (V) kein Trend hin zu niedrigeren Werten festgestellt werden konnte. Allerdings wurden hier bei Triso stark schwankende Werte gemessen. Davon abgesehen zeichnete sich eine weitgehend parallel verlaufende Reduzierung bei allen drei Arten ab.

**Abb. 3.16:**  
Induktionsversuch W/G/H I  
2000: Exposition ab dem  
23.08.00. Dargestellt ist  $T_{UVB}$   
(A, C) bzw.  $T_{UVA}$  (B, D) bei  
F-1-Blättern der beiden  
Varietäten **Revisor** (A, B)  
und **Jumbo** (C, D) von  
*A. sativa* unter den drei  
verschiedenen Expositions-  
bedingungen (VAB, VA, V),  
sowie im Gewächshaus  
(GH). Die Fehlerbalken ent-  
sprechen den Standardfeh-  
lern für  $n=5-6$ . Die Werte  
eines Tages wurden aus  
Darstellungsgründen leicht  
versetzt abgebildet.



Zwischen den beiden Sorten von Hafer waren ebenfalls wenig Unterschiede festzustellen (Abb. 3.16). Die vor der Exposition bestimmten Transmissionseigenschaften lagen bei Jumbo mit 42% für  $T_{UVB}$  und 38% für  $T_{UVA}$  etwas höher als bei Revisor mit 35% und 32%. Zudem war die Schwankungsbreite der bei Jumbo gemessenen Werte unter sichtbarem Licht (V) etwas höher als bei Revisor. Unter VA-Exposition wurden bei Jumbo an den meisten Versuchstagen, mit Ausnahme von T8, vergleichbare Werte gemessen wie unter VAB. In diesem Fall konnte die Reduzierung der Transmissionseigenschaften verstärkende Wirkung der UV-B-Strahlung nicht eindeutig festgestellt werden.

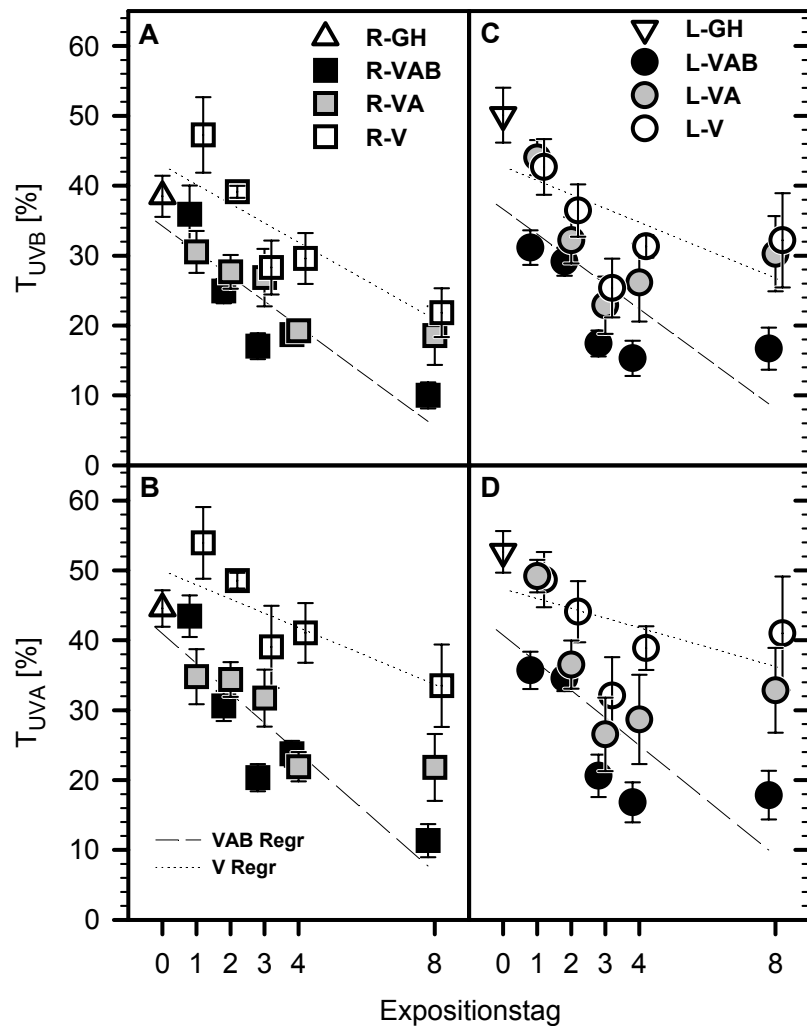
**Abb. 3.17:**  
 Induktionsversuch W/G/H I  
 2000: Exposition ab dem  
 23.08.00. Dargestellt ist  $T_{UVB}$   
 (A, C) bzw.  $T_{UVA}$  (B, D)  
 bei F-1- Blättern der beiden  
 Varietäten **Triso** (A, B) und  
**Thasos** (C, D) von *T. aesti-*  
*vum* unter den drei  
 verschiedenen Expositions-  
 bedingungen (VAB, VA, V),  
 sowie im Gewächshaus  
 (GH). Die Fehlerbalken ent-  
 sprechen den Standardfeh-  
 lern für  $n=5-6$ . Die Werte  
 eines Tages wurden aus  
 Darstellungsgründen leicht  
 versetzt abgebildet.



Die beiden Weizensorten Triso und Thasos zeigten unter VAB- und VA- Exposition eine über den Versuchszeitraum vergleichbare Reduzierung der Transmissionswerte (Abb. 3.17). Bei Thasos bewirkte das sichtbare Licht allein jedoch eine der VA-Variante entsprechende Reduzierung. Die Ausgangswerte waren bei beiden Sorten mit mittleren 40 – 45% vergleichbar.

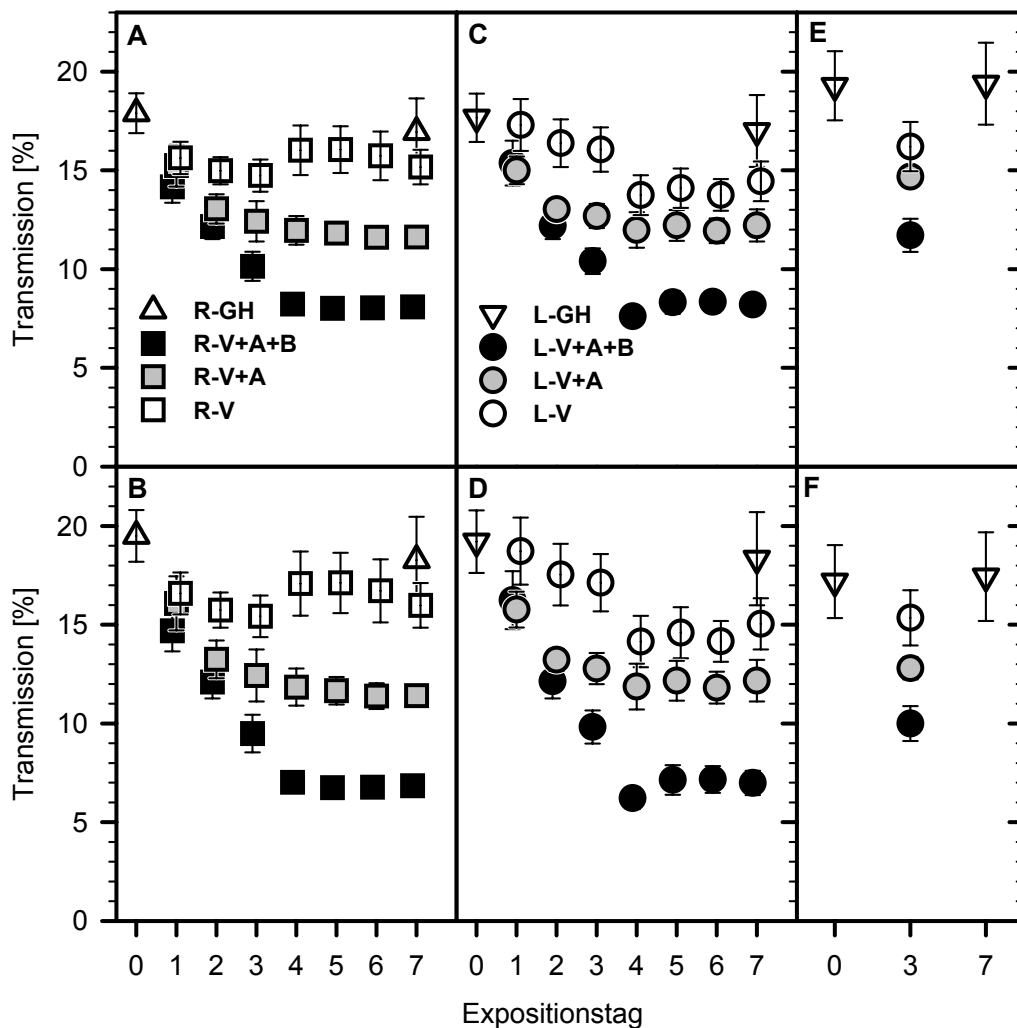
Bei Gerste lagen die vor der Exposition bestimmten Transmissionswerte für UV-B und UV-A der im Gewächshaus angezogenen Pflanzen im Mittel bei 39% und 45% (Ricarda), sowie bei 50% und 53% (LBP 24727). Unter allen Expositionsbedingungen und bei beiden Sorten erfolgte innerhalb des untersuchten Zeitraumes eine Reduzierung der Werte (Abb. 3.18), die jedoch unter V- Bedingungen weniger deutlich ausgeprägt war. Insgesamt war ein reduzierender Einfluss der UV- Strahlung bei der UV-A- Transmission deutlicher zu erkennen als bei der UV-B- Transmission. Zwischen den beiden Sorten konnte zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

**Abb. 3.18:**  
 Induktionsversuch W/G/H I  
 2000: Exposition ab dem  
 23.08.00. Dargestellt ist  $T_{UVB}$   
 (A, C) bzw.  $T_{UVA}$  (B, D)  
 bei F-1- Blättern der beiden  
 Varietäten Ricarda (A, B)  
 und LBP 24727 (C, D) von  
*H. vulgare* unter den drei  
 verschiedenen Expositions-  
 bedingungen (VAB, VA, V),  
 sowie im Gewächshaus  
 (GH). Die Fehlerbalken ent-  
 sprechen den Standardfeh-  
 lern für  $n = 5 - 6$ . Die Werte  
 eines Tages wurden aus  
 Darstellungsgründen leicht  
 versetzt abgebildet.



G I 2001: Die mit der UVA-PAM bestimmten Transmissionen vor der Exposition lagen für beide Sorten im Mittel bei 33 – 34%, eine zum 7. Expositionstag zeitgleich durchgeführte Messung von im Gewächshaus belassenen Pflanzen zeigte, dass unter diesen Bedingungen die initialen Werte über den untersuchten Zeitraum beibehalten wurden. Bei den exponierten Pflanzen hingegen wurde eine für die jeweiligen Strahlungsbedingungen unterschiedlich ausgeprägte Reduzierung der Transmissionen festgestellt. Ab dem vierten Expositionstag blieben die Werte konstant bei 14 – 15% (VAB), 21 - 23% (VA) und 26 – 30% (V); die Unterschiede zwischen der VAB- und der V- Variante waren ab dem dritten Tag bei beiden Sorten signifikant (nicht gezeigt). Aus den täglich mit der UVA-PAM bestimmten UV-A-Transmissionswerten wurden gemäß der zwischen den Werten aus UVA- und Xenon-PAM bestehenden linearen Beziehung (s. 3.2.2.1) die einer Bestimmung mit der Xenon-PAM entsprechenden Transmissionswerte für UV-A und UV-B errechnet (Abb. 3.19). Eine vergleichende Darstellung der errechneten und der gemessenen Werte zu drei Zeitpunkten zeigte eine gute Übereinstimmung, die Abweichungen

betragen im Mittel höchstens 2% (Abb. 3.19 E, F). Zwischen dem dritten und dem vierten Expositionstag wurde bei den insgesamt sehr konstanten Werten der V-Varianten ein leichter Anstieg (Ricarda) bzw. ein leichtes Abfallen (LBP 24727) gemessen, was mit der Beprobung anderer Blätter nach der destruktiven Probenahme am dritten Expositionstag zusammenhängen kann (s. 2.2.1). Die prä-expositionellen Transmissionswerte betragen im Versuch G I 2001 mit 17,7% und 19,4% für  $T_{UVB}$  und  $T_{UVA}$  weniger als die Hälfte der entsprechenden Werte aus dem Induktionsexperiment von 2000 (vgl. Abb. 3.18, Abb. 3.19).



**Abb. 3.19:** Induktionsversuch G I 2001: Exposition ab dem 03.07.01. Dargestellt sind über die Gl. 3.1 und 3.2 aus den Messungen der UVA-PAM errechneten Werte für  $T_{UVB}$  (A, C) bzw.  $T_{UVA}$  (B, D) bei F-1- Blättern der beiden Varietäten von *H. vulgare* (Ricarda, LBP 24727) aus den verschiedenen Expositionsbedingungen (VAB, VA, V) bzw. aus dem Gewächshaus (GH). An drei Zeitpunkten wurde  $T_{UVB}$  (E) und  $T_{UVA}$  (F) parallel mit der Xenon-PAM bestimmt (hier nur LBP 24727). Die Fehlerbalken entsprechen den Standardfehlern für  $n=10$ , GH (T7):  $n=6$ . In A, B, C, D: Werte eines Tages wurden aus Darstellungsgründen leicht versetzt abgebildet.

Die Reduzierung auf mittlere 8% ( $T_{UVB}$ ) und 7% ( $T_{UVA}$ ) erfolgte 2001 innerhalb von vier Tagen unter VAB, während 2000 unter der gleichen Bedingung 15 – 18% ( $T_{UVB}$ )

und 17 – 24% ( $T_{UVA}$ ) gemessen wurde; zudem wurde 2000 bis zum achten Expositionstag noch eine weitere Abnahme auf mittlere 10 – 17% ( $T_{UVB}$ ) und 11 - 18% ( $T_{UVA}$ ) festgestellt, während die Werte 2001 zwischen dem vierten und dem siebten Expositionstag konstant blieben. Die Werte des Induktionsexperimentes 2001 waren insgesamt weniger großen Schwankungen unterworfen, was auf die größere Stichprobenanzahl und die Messungen an im Wesentlichen denselben Blättern zurückzuführen war. Ab dem 4. Expositionstag waren bei Ricarda zwischen allen Strahlungsbedingungen signifikante Unterschiede festzustellen, bei LBP 24727 waren die Werte der VAB- Variante signifikant niedriger als bei den beiden anderen Gruppen (Abb. 3.19). Signifikante Unterschiede zwischen den Sorten konnten in keinem der beiden Experimente ermittelt werden.

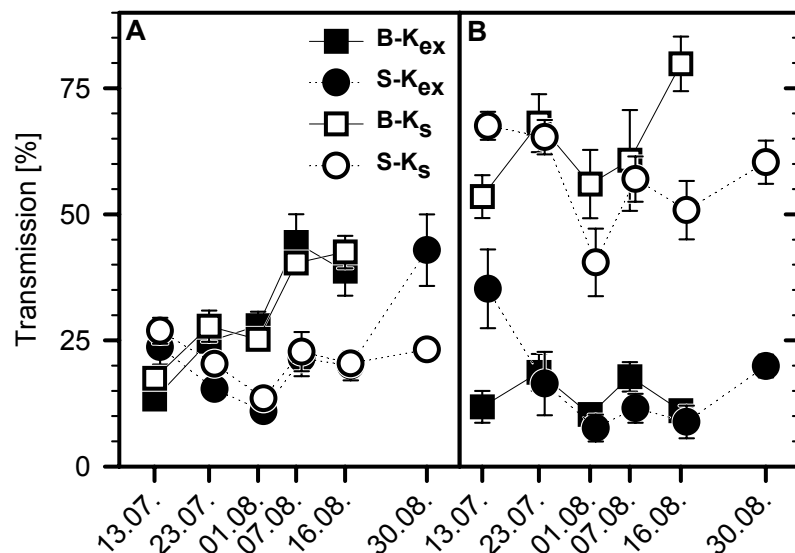
### **3.2.2.3 Epidermale UV-Transmission bei Beeren von *Vitis vinifera***

#### **a) Akklimatisierungsexperimente**

B/S A 2000: Im Jahr 2000 wurde eine langfristige Beobachtung der Transmissionseigenschaften in Abhängigkeit vom jeweiligen Strahlungsklima an Beeren beider Sorten durchgeführt. Zusätzlich zu den drei mit Folie bespannten Gruppen (VAB, VA, V) wurden Proben von Kontrollpflanzen ohne Bespannung genommen (s. 2.1.5.2). Die Rispen der einen Kontrollgruppe waren wie die Rispen unter den Folien freigestellt worden (exponiert=  $K_{ex}$ ), die Rispen der zweiten Gruppe hingegen blieben von Blättern beschattet (=  $K_s$ ). Bei aus den Kontrollstandorten entnommenen Beeren der Sorte Bacchus war im untersuchten Zeitraum sowohl für die beschattete als auch die exponierte Variante eine parallel verlaufende, signifikante Erhöhung der UV-B-Transmission ( $T_{UVB}$ ) von 13 auf 39% ( $K_{ex}$ ) bzw. von 18% auf 43% ( $K_s$ ) erkennbar (Abb. 3.20). Bei Silvaner kam es hingegen bis zum 01.08.00 für beide Varianten zu einer parallel verlaufenden, leichten Erniedrigung der Transmissionswerte von 24% auf 11% ( $K_{ex}$ ) bzw. von 27% auf 14% ( $K_s$ ). Zwischen dem 01.08.00 und dem 07.08.00 konnte bei beiden Varianten eine Steigerung der Werte auf 20 - 23% festgestellt werden. Dieses Niveau behielt die  $K_s$ - Gruppe bis zum 30.08.00 bei, wohingegen bei der exponierten Gruppe vom 17.08.00 zum 30.08.00 eine signifikante Erhöhung auf 43% zu verzeichnen war. Bei Bacchus wurde zu diesem Zeitpunkt aufgrund der fortgeschrittenen Reife keine Bestimmung der Transmissionseigenschaften mehr durchgeführt (s. 3.6). Insgesamt wurde die UV-B- Transmission deutlich weniger vom Lichtklima als vom Entwicklungszustand

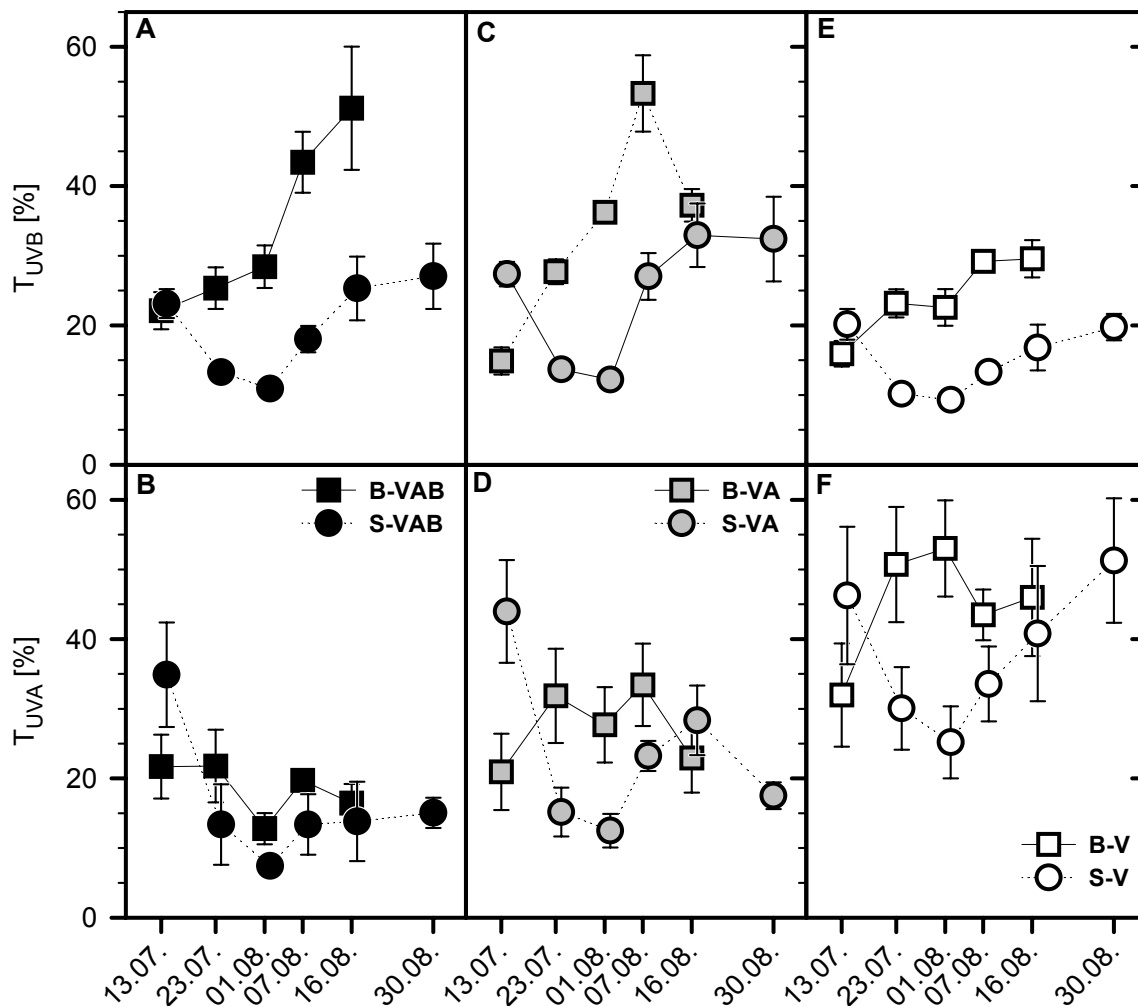
bzw. von Sortenunterschieden beeinflusst. Während bei Bacchus im Verlauf des Messzeitraums die UV-B-Transmission gesteigert wurde, kam es bei Silvaner zu einer relativen Beibehaltung niedriger Werte, was zu einer signifikanten Differenz zwischen den Werten der beiden Sorten führte: zwischen dem 01.08.00 und dem 16.08.00 zeigte Bacchus eine im Mittel um den Faktor 2 höhere Transmission als Silvaner. Ein deutlicher Einfluss des Lichtklimas konnte hingegen auf die Transmission für UV-A-Strahlung ( $T_{UVA}$ ) verzeichnet werden: während die Werte der  $K_{ex}$ - Variante bei beiden Sorten relativ konstant niedrig waren, zeigten die  $K_s$ - Proben durchgehend hohe Transmissionen. Bei der exponierten Variante von Bacchus wurden über den gesamten Zeitraum Werte zwischen 10% und 19% gemessen. Bei Silvaner wurde zwischen dem 24.07.00 und dem 30.08.00 mit mittleren 8% bis 20% ein vergleichbares Niveau beibehalten, lediglich der Wert vom 14.07.00 hob sich mit 35% deutlich von den anderen ab. Die Werte der  $K_s$ - Varianten beider Sorten zeigten über den Zeitraum große Schwankungen, blieben aber insgesamt auf einem um einen Faktor von mindestens 2 bis 7 höheren Niveau als die der jeweils an demselben Tag gemessenen  $K_{ex}$ - Gruppe; die Unterschiede waren bei beiden Sorten zu allen Zeitpunkten signifikant.

**Abb. 3.20:** Akklimatisationsversuch B/S A 2000:  $T_{UVB}$  (A) und  $T_{UVA}$  (B) bei Beeren der Varietäten Silvaner und Bacchus von *V. vinifera*. Dargestellt sind die Werte von zu verschiedenen Terminen entnommenen Proben der Kontrollstandorte  $K_s$  und  $K_{ex}$ . Die Fehlerbalken entsprechen den Standardfehlern für  $n = 6$ ; die Skalierung der x-Achse entspricht den zeitlichen Intervallen, die Zeitpunkte sind die der Bacchus- Beprobung.



Für  $T_{UVB}$  unter den durch Folien modifizierten Strahlungsbedingungen konnte prinzipiell bei allen Varianten von Bacchus eine Zunahme über die Zeit festgestellt werden. Die Beeren von Silvaner zeigten zunächst eine Reduzierung, der dann ein Ansteigen der Werte folgte (Abb. 3.21 A, C, E). Der Anstieg fiel unter V- Bedingungen bei beiden Sorten moderater aus als unter UV- Einfluss. So stiegen die Werte bei Bacchus unter V nur von 16 auf 30%, unter VAB jedoch signifikant von 22 auf

51%, wodurch ab dem 16.08.00 zwischen diesen Varianten eine signifikante Differenz entstand. Bei Silvaner verliefen die Veränderungen von  $T_{UVB}$  über die Zeit unter allen drei Strahlungsbedingungen weitgehend parallel. Die Ausgangswerte vom 14.07.00 lagen zwischen 20% (V) und 27% (VA). Die niedrigsten Werte, die zwischen 9% (V) und 12% (VA) lagen, wurden am 02.08.02 erreicht. Danach stiegen die Werte bis zum letzten Messpunkt auf 20% (V) bis 32% (VA) an; unter VAB und VA wurden am 31.08.00 signifikant höhere  $T_{UVB}$  bestimmt als am 24.07. und 02.08.00. Silvaner zeigte unter VAB ab dem 02.08.00 (Bacchus: 01.08.00) signifikant niedrigere Werte als Bacchus, unter VA konnte dies für den 02.08. und den 08.08.00 (Bacchus: 07.08.00) ebenfalls festgestellt werden.



**Abb. 3.21:** Akklimationsversuch (B/S A 2000):  $T_{UVB}$  (A, C, E) und  $T_{UVA}$  (B, D, F) bei Beeren von *V. vinifera*. Dargestellt sind die den Foliestandorten VAB (A, B), VA (C, D) und V (E, F) im Weinberg zu verschiedenen Terminen entnommenen Proben der Varietäten Silvaner (S) und Bacchus (B) im Vergleich. Die Fehlerbalken entsprechen den Standardfehlern für n=6. Die Skalierung der x-Achse entspricht den zeitlichen Intervallen, die Zeitpunkte sind die der Bacchus-Beprobung.

Im Gegensatz dazu war  $T_{UVA}$  bei den unter V- Bedingungen gewachsenen Beeren beider Sorten zu allen erfassten Zeitpunkten deutlich höher als bei den unter dem

Einfluss von UV- Strahlung gewachsenen Beeren (Abb. 3.21 B, D, F). Bei Bacchus konnte insgesamt kein Trend hin zu höheren oder niedrigeren Werten über den untersuchten Zeitraum festgestellt werden, vielmehr pendelten die Werte unter den jeweiligen Bedingungen im Mittel innerhalb bestimmter Grenzen: unter VAB zwischen 13% und 22% und unter V zwischen 32% und 53%, wobei die Unterschiede zwischen den beiden Varianten, mit Ausnahme eines Zeitpunktes (07.08.00), signifikant waren. Die Transmissionswerte der VA- Gruppe waren im allgemeinen intermediär zwischen den beiden anderen Gruppen angesiedelt. Bei Silvaner konnte für  $T_{UVA}$  ähnlich wie für  $T_{UVB}$  zunächst eine allgemeine Reduzierung der Werte bis zum 02.08.00 verzeichnet werden. Während die Werte der VAB- Gruppe ab dem 08.08.00 im Mittel relativ konstant zwischen 13% und 15% lagen, stiegen die der V- Gruppe kontinuierlich an. Der zuletzt bestimmte Wert vom 30.08.00 war mit 51% mehr als drei mal so hoch als der der VAB- Gruppe. Vergleicht man die beiden Sorten unter den jeweiligen Strahlungsbedingungen, so fällt auf, dass die Proben von Silvaner am ersten Messtermin unter allen Bedingungen höhere  $T_{UVA}$ - Werte zeigten als die von Bacchus; diese Relation zwischen den Sorten war jedoch, abgesehen von der VA- Gruppe am 16. bzw. 17.08.00, über den gesamten restlichen Zeitraum umgekehrt. Dieser Sortenunterschied fiel mit abnehmender UV- Einwirkung etwas deutlicher aus, war aber auch unter V nur zu einem Zeitpunkt (01. bzw. 02.08.00) signifikant. Bei einem Vergleich der Zeitpunkte ist zu berücksichtigen, dass der erste Termin am 13. bzw. am 14.07.00 mit der Freistellung der Rispen zusammenfiel. Obgleich hier weitgehend darauf geachtet wurde, Proben von bereits exponierten Rispen zu entnehmen, muss möglicherweise von einer gewissen Heterogenität des Materials ausgegangen werden. Ab dem zweiten Termin am 23. bzw. 24.07.00 kann von einer erfolgten Akklimatisierung an die jeweiligen Strahlungsbedingungen ausgegangen werden.

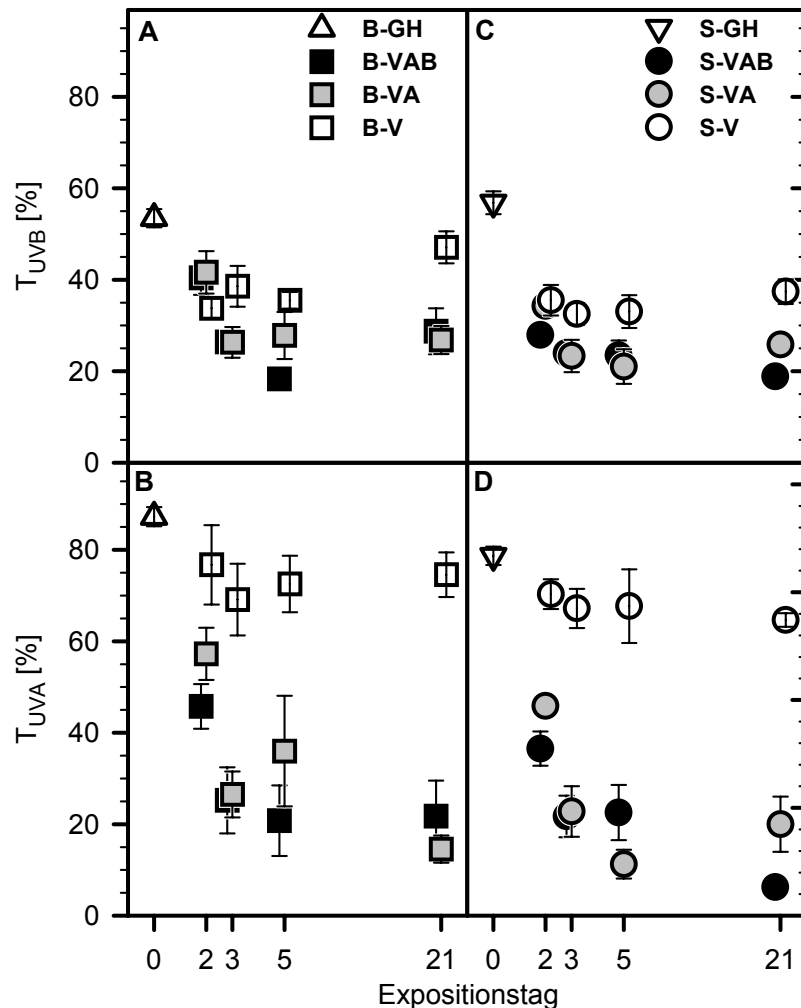
## **b) Induktionsexperimente**

B/S I 2000: Die vor der Exposition gemessenen Proben aus dem Gewächshaus zeigten sowohl für UV-A- als auch für UV-B-Strahlung hohe Transmissionswerte (Abb. 3.22). Die mittleren Werte waren mit 53 – 57% ( $T_{UVB}$ ) und 83 – 87% ( $T_{UVA}$ ) für beide Sorten vergleichbar. Innerhalb von fünf Tagen konnte bei beiden Sorten eine drastische Reduzierung der UV-A- Transmission festgestellt werden, die unter VA- und VAB- Bedingungen ab dem zweiten Expositionstag signifikant war. Unter V- Bedingungen konnte gegenüber den prä- expositionellen Werten im gesamten



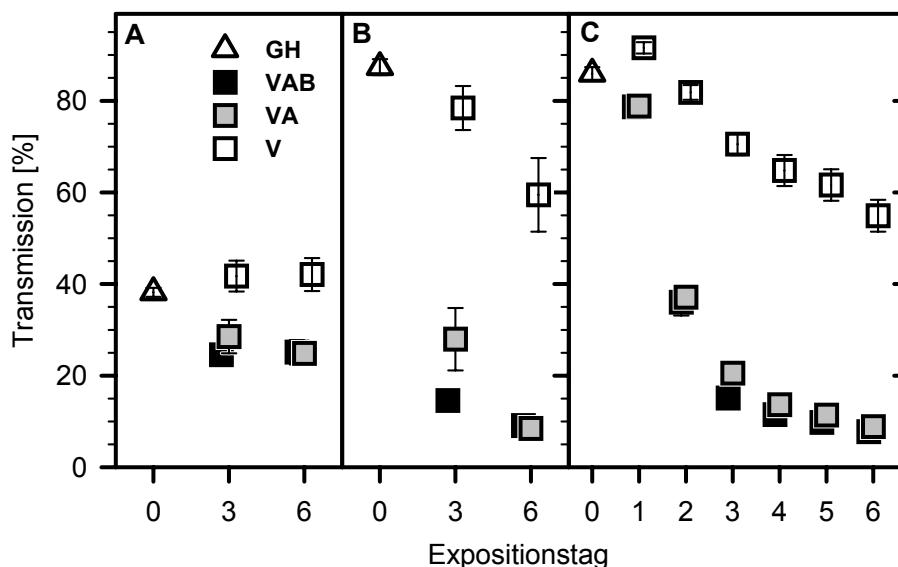
Zeitraum keine signifikante Verringerung von  $T_{UVB}$  festgestellt werden. Die unter VA exponierten Beeren zeigten im Wesentlichen eine den unter VAB exponierten Beeren vergleichbare Reduzierung. Ab dem dritten Expositionstag wurden bei beiden Sorten unter VA und VAB signifikant geringere Werte bestimmt als unter V-Bedingungen.

**Abb. 3.22:** B/S I 2000 (Induktionsversuch): Exposition ab dem 17.06.00. Dargestellt sind  $T_{UVB}$  (A, C) und  $T_{UVA}$  (B, D) bei Beeren von *V. vinifera* cv. Silvaner (C, D) und Bacchus (A, B) nach Exposition unter den drei verschiedenen Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V) bzw. aus dem Gewächshaus (GH). Die Fehlerbalken entsprechen den Standardfehlern für  $n=4-8$  bzw. für GH:  $n=10$ . Anmerkung: Der Abstand der x-Achse zwischen T5 und T21 entspricht nicht dem zeitlichen Intervall. Die Werte eines Tages wurden aus Darstellungsgründen leicht versetzt abgebildet.



Auch die für  $T_{UVB}$  bestimmten Werte zeigten in diesen 5 Tagen eine für beide Sorten vergleichbare Verminderung, die hier allerdings auch unter sichtbarem Licht allein (V) auftrat. Bis zum Tag 5 fielen die Werte unter V- Bedingungen im Mittel auf 33% bis 36% und unter VAB auf 18% bis 23%, so dass an diesem Tag für beide Sorten ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Varianten bestand. Um die weitere Entwicklung der Transmission unter den verschiedenen Folien nach der kurzzeitigen Exposition zu beobachten, wurden die Pflanzen unter den jeweiligen Bedingungen noch weitere 16 Tage belassen. Am 06.07.00 (=T21) wurden dann abschließend nochmals Proben genommen und gemessen (Abb. 3.22). Unter V- Bedingungen zeigte die UV-A- Transmission, verglichen mit den Werten vom 21.06.00, weder bei

Bacchus (75%) noch bei Silvaner (69%) eine Veränderung. Unter VAB- Exposition sanken die Werte von Silvaner im Mittel auf 7%, die von Bacchus blieben mit 22% auf dem Niveau von T5. Für  $T_{UVB}$  konnte zu diesem Zeitpunkt sowohl unter V als auch unter VAB ein geringer Sortenunterschied verzeichnet werden, der unter VA allerdings nicht zu sehen war. Während die Werte der ersten beiden Gruppen bei Silvaner etwa auf demselben Niveau wie an T5 verblieben, erhöhten sich die entsprechenden Werte der Bacchus- Beeren leicht. Es kam jedoch, weder für  $T_{UVB}$  noch für  $T_{UVA}$ , im gesamten Zeitraum zu einem signifikanten Unterschied zwischen den beiden Sorten.



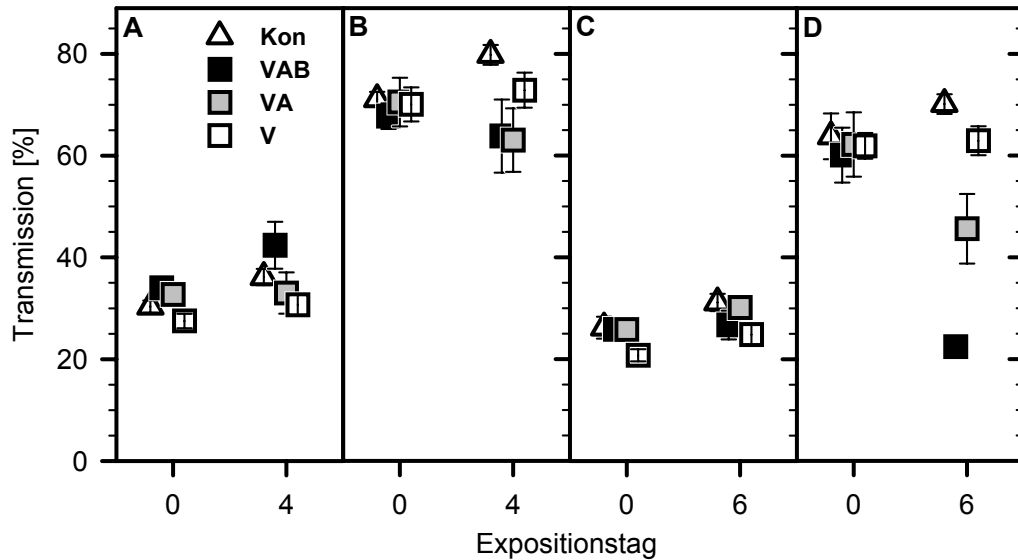
**Abb. 3.23:** Induktionsversuch B I 2001: Exposition ab dem 26.07.01. Dargestellt sind die mit der Xenon-PAM bestimmten  $T_{UVB}$  (A) und  $T_{UVA}$  (B) bei Beeren von *V. vinifera* cv. Bacchus nach Exposition unter den verschiedenen Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V) bzw. aus dem Gewächshaus (GH).  $n=8$ , GH:  $n=24$ . In C wurde  $T_{UVA}$  aus den Messungen mit der UVA-PAM berechnet (s. Text). Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für  $n=23-27$ . Werte eines Tages wurden aus Darstellungsgründen leicht versetzt abgebildet.

B I 2001: Im Jahr 2001 wurde das Induktionsexperiment nur mit Bacchus-Reben wiederholt. Die am Tag vor der Exposition gemessenen Transmissionswerte für UV-A waren trotz unterschiedlichen physiologischen Stadiums der Beeren (s. 2.1.5.2, 3.6) im Mittel identisch mit den entsprechenden Werten aus dem Jahr 2000 (87%), die UV-B-Transmission lag mit 38% im Jahr 2001 um ca. 15% niedriger als im Jahr 2000 (Abb. 3.23). Übereinstimmend waren die Werte für  $T_{UVB}$  in beiden Experimenten niedriger als für  $T_{UVA}$ , dafür die UV-abhängige Abschwächung von  $T_{UVB}$  im Zeitraum weniger ausgeprägt. So wurde nach 6-tägiger Exposition unter VAB und VA eine Reduzierung der UV-B-Transmission auf 25%, unter V jedoch keine Reduzierung, sondern eher noch eine geringfügige Steigerung auf 42% festgestellt. Die

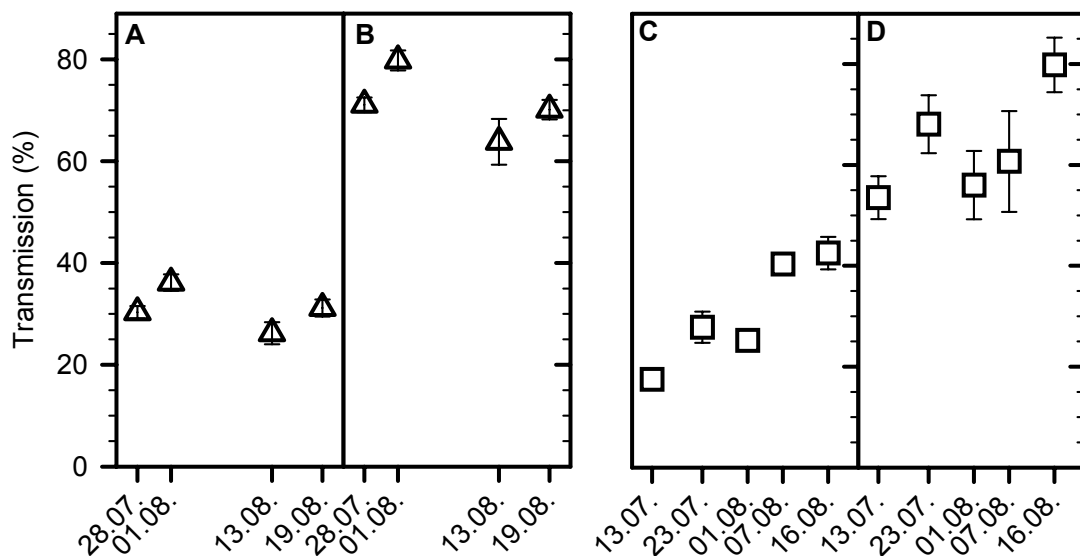
UV-A- Transmission hingegen verringerte sich innerhalb von 6 Tagen von 87% auf 9% bzw. 8,5% unter VAB und VA, während unter V nur eine leichte Reduzierung auf 59,5% gemessen wurde. Zusätzlich zu den Messungen mit der Xenon-PAM wurde im Jahr 2001 die UVA-PAM zur Bestimmung der UV-A- Transmission eingesetzt. Über den Proportionalitätsfaktor zwischen den beiden Fluorimetern (s. 3.2.2.1) wurden die mit der UVA-PAM bestimmten Werte in  $T_{UVA}$  der Xenon-PAM umgerechnet (Abb. 3.23 C). Die nicht- destruktive Messung mit der UVA-PAM ermöglichte sowohl eine höhere zeitliche Auflösung als auch einen erheblich größeren Stichprobenumfang je Messzeitpunkt. Dadurch konnte gezeigt werden, dass sich die Akklimatisierung an die unterschiedlichen Strahlungsbedingungen um einen Tag verzögerte. Nach dem vierten Expositionstag war die Akklimatisierung unter VAB und VA weitgehend abgeschlossen. Zwischen den Proben dieser beiden Bedingungen bestand, mit Ausnahme des dritten Tages, zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied, hingegen waren die Unterschiede zwischen den Transmissionswerten von V- Proben und denen der Proben der beiden UV- belasteten Standorte nach dem ersten Expositionstag immer signifikant. Trotz des unterschiedlichen Entwicklungsstadiums der Beeren bestätigte dieses Experiment im Wesentlichen die bereits im Induktionsexperiment B/S I 2000 gefundenen Ergebnisse; Unterschiede waren auf die Intensität der Akklimatisierung begrenzt. Insgesamt sind die Ergebnisse der Induktion B I 2001 als zuverlässiger einzustufen, da hier ein größerer Stichprobenumfang vorlag.

B I1 2002: Bei den am 28.07.02 vor der Exposition bestimmten Transmissions-eigenschaften konnten weder für  $T_{UVB}$  mit 28 – 34% noch für  $T_{UVA}$  mit 68 – 71% Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden (Abb. 3.24). Bis zu diesem Zeitpunkt waren alle beprobten Rispen von Blättern beschattet gewesen, die Beschattung wurde mittels einer PAR-Messung am 28.07.02 (s. 2.1.5.2) überprüft. Als Kontrolle wurden hier Proben von je fünf beschatteten Rispen aus jeder Strahlungsvariante ausgewählt, die nicht freigestellt wurden; sie dienten für beide Reihen als Vergleichsrispen. Da zwischen den Werten der Kontrollproben aus den verschiedenen Varianten kein Unterschied bestand, wurden sie zusammengefasst dargestellt. Nach viertägiger Exposition konnte kaum eine Akklimatisierung an die jeweiligen Strahlungsbedingungen, wie in den anderen Induktionsexperimenten gezeigt, beobachtet werden. Zwar kam es unter UV- Exposition zu einer geringfügigen Reduzierung der UV-A- Transmission auf 63 – 64% (VAB, VA), während unter V

73% und unter Beschattung 80% erreicht wurden, doch waren die Unterschiede zwischen den drei verschiedenen Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V) nicht signifikant. Die Reduzierung blieb weit hinter der der anderen Induktionsexperimente in einem vergleichbaren Zeitrahmen zurück. Die Beeren standen zum Zeitpunkt der Freistellung kurz vor dem Reifebeginn (s. 3.6, 2.1.5.2).



**Abb. 3.24:** Induktionsversuche B I1/I2 2002: Exposition ab dem 29.07.01 (B I1 2002; in **A**, **B**) bzw. ab dem 14.08.02 (B I2 2002; in **C**, **D**). Dargestellt sind die mit der Xenon-PAM bestimmten  $T_{UVB}$  (**A**, **C**) und  $T_{UVA}$  (**B**, **D**) bei Beeren von *V. vinifera* cv. Bacchus nach Exposition unter den verschiedenen Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V) bzw. von unter Blättern belassenen Beeren (Kon, T0). Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für  $n=8-10$  bzw. Kon:  $n=15$ . Werte eines Tages wurden aus Darstellungsgründen leicht versetzt abgebildet.



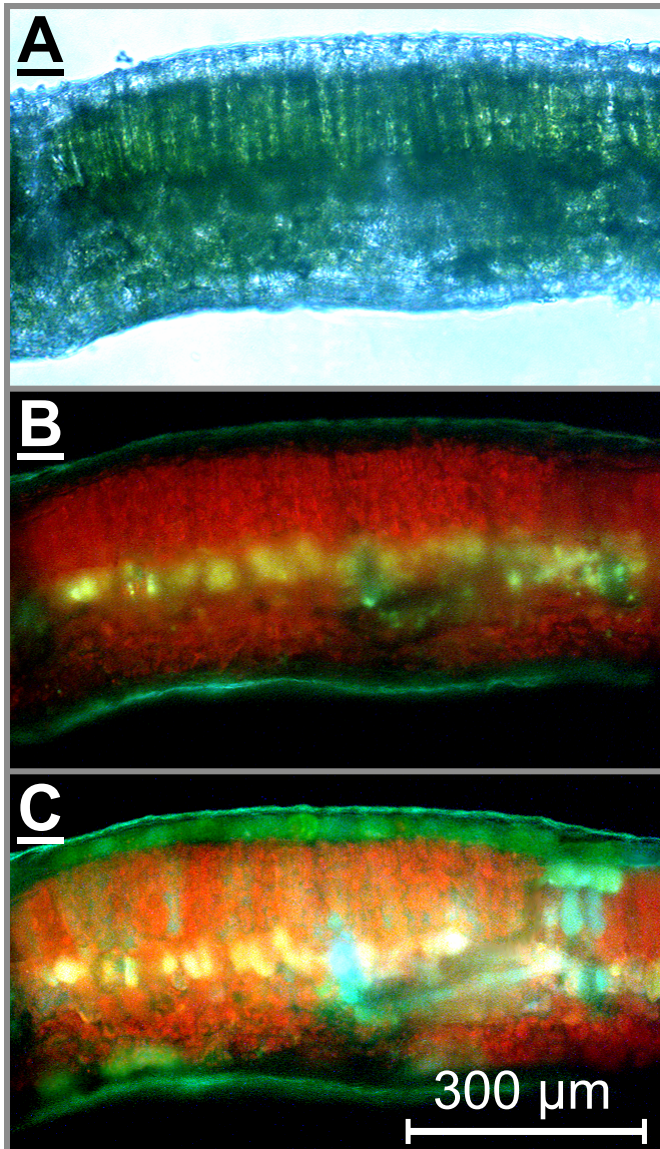
**Abb. 3.25:**  $T_{UVB}$  (**A**, **C**) und  $T_{UVA}$  (**B**, **D**) von Beeren (Bacchus) beschatteter Kontrollstandorte aus B I1/I2 2002 (**A**, **B**) und B A 2000 (**C**, **D**) zu verschiedenen Zeitpunkten im Vergleich. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für B I1/I2 2002:  $n=15$ , B A 2000:  $n=6$ . Die Skalierung der x-Achse entspricht den zeitlichen Intervallen.

B I2 2002: Die zweite Freistellung erfolgte am 13.08.02, zu einem Zeitpunkt, der deutlich nach dem Reifebeginn am 03.08.02 einzuordnen ist (s. 3.6, 2.1.5.2). Es konnte wiederum kein signifikanter Unterschied zwischen den prä-expositionellen Transmissionseigenschaften der verschiedenen Gruppen ermittelt werden, die Werte von  $T_{UVB}$  betragen im Mittel 21 - 26%, und von  $T_{UVA}$  60 – 64% (Abb. 3.24). Nach 6-tägiger Exposition konnte für  $T_{UVB}$  bei keiner Gruppe eine signifikante Veränderung beobachtet werden. Die UV-A- Transmission wurde jedoch unter VAB auf mittlere 22 und unter VA auf 46% signifikant vermindert, während unter V und bei den beschatteten Kontrollen mit je 63 und 70% keine signifikante Veränderung von  $T_{UVA}$  gemessen wurde. Im Vergleich mit dem Induktionsexperiment B I 2001 fiel auf, dass, obgleich die initialen Transmissionswerte dort über denen dieses Experimentes lagen, innerhalb von sechs Tagen Exposition deutlich niedrigere Werte erreicht wurden, wobei dann zwischen VAB und VA kein signifikanter Unterschied mehr festzustellen war (Abb. 3.23). In diesem Experiment waren sogar nach nur 3-tägiger Exposition bereits niedrigere Werte zu verzeichnen als im Versuch B I2 2002 nach sechs Tagen. Es kann von einem physiologisch etwa übereinstimmenden Stadium für beide Experimente ausgegangen werden; die visuelle Einschätzung wird auch durch die Ergebnisse der Zuckeranalytik unterstützt (s. 3.6). Unterschiede in der Anpassungsgeschwindigkeit müssen also eher durch andere Einflüsse, wie z.B. eine differierende Strahlungs-dosis (s. 3.1.1) zu erklären sein, wobei hier die Zeilung im Weinberg eine maßgebliche Rolle spielen könnte (s. 2.1.4.2).

Da die Kontrollproben über den gesamten Zeitraum von insgesamt 22 Tagen jeweils von denselben Rispen entnommen wurden, können diese für einen Vergleich mit den Proben der beschatteten Variante aus dem Versuch B/S A 2000 herangezogen werden (Abb. 3.25). Der Reifebeginn wurde im Jahr 2000 allerdings auf den 28.07.00 datiert. Die Proben vom 23.07.00 können daher physiologisch etwa mit denen vom 28.07.02 gleich gesetzt werden, die vom 16.08.00 hingegen mit denen vom 19.08.02 (s. 3.6). Während die Werte für UV-B- Transmission in diesem Zeitraum im Jahr 2002 mit 26 bis 36% etwa konstant blieben, war im Jahr 2000 eine leichte Steigerung von 25 auf 43% zu verzeichnen. Insgesamt ist der Unterschied bezüglich der Variationsbreite zwischen den beiden Jahren zu vernachlässigen, allein der Trend hin zu höheren Werten für  $T_{UVB}$  unterblieb im Jahr 2002. Die Werte für UV-A- Transmission schwankten in beiden Jahren etwa vergleichbar um im Mittel 56 – 80% (2000) und 64 – 80% (2002).

### 3.3 Lokalisation der phenolischen Komponenten

Die Verteilung phenolischer Komponenten in Blättern und Beeren von *V. vinifera* wurde mittels Epifluoreszenzmikroskopie untersucht. Nach Behandlung mit einer Ammoniumhydroxid - Lösung wurde bei den Blättern eine grüne Fluoreszenz in der adaxialen Epidermis festgestellt (Abb. 3.26, Kolb et al., 2001). Die Verteilung der Fluoreszenz war innerhalb der epidermalen Schicht ungleichmäßig, woraus auf die



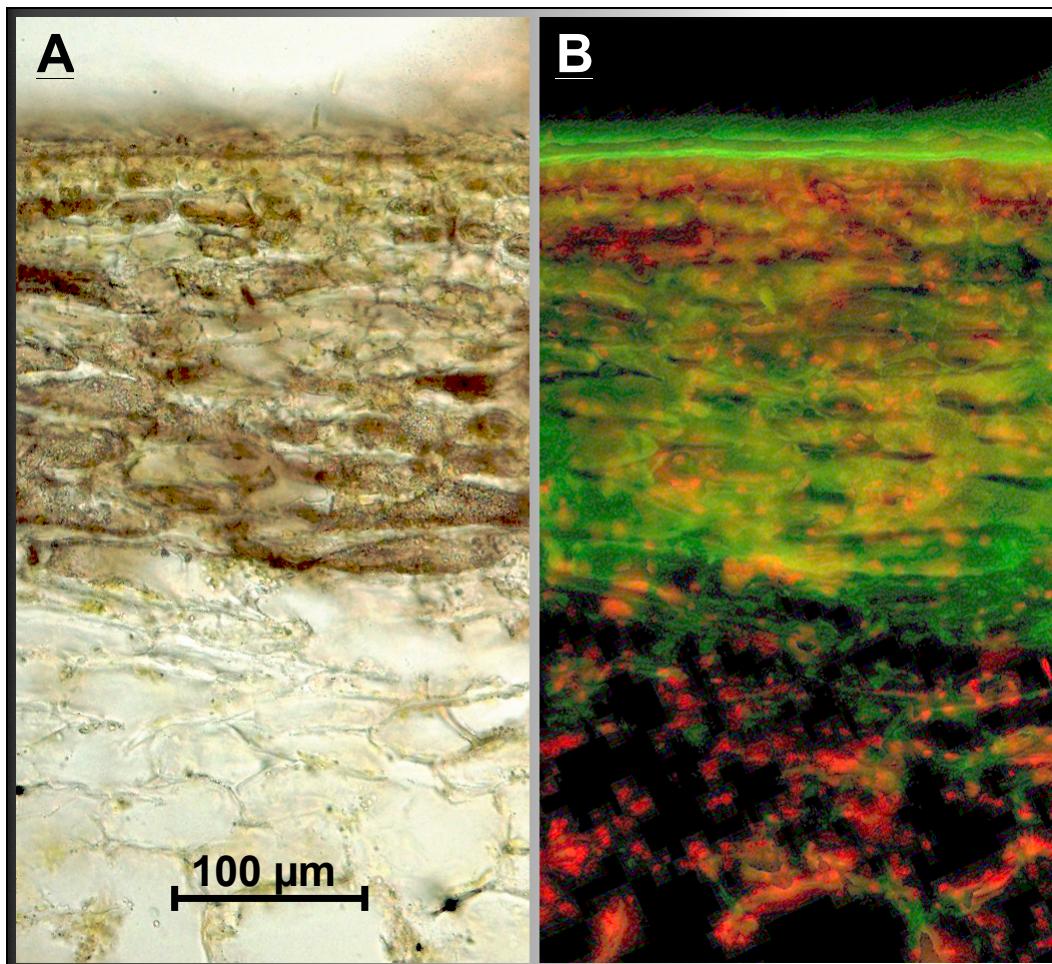
**Abb. 3.26:** Lokalisation von phenolischen Substanzen durch Epifluoreszenzmikroskopie. Dargestellt sind eine lichtmikroskopische Aufnahme (A) und Fluoreszenz-Bilder (B, C) von Schnitten durch Blattgewebe von *V. vinifera*, vor (B) oder nach (C) Behandlung mit einer Ammoniumlösung. Die Gegenwart phenolischer Komponenten wird durch Grünfluoreszenz angezeigt (C); die rote Fluoreszenz zeigt die Anwesenheit von Chlorophyll an.

Akkumulation der phenolischen Komponenten in den epidermalen Vakuolen geschlossen werden kann (Day et al., 1993; Hutzler et al., 1998). In den epidermalen Zellwänden konnte kein Hinweis auf die Anwesenheit zellwandgebundener Hydroxycimtsäurederivate, etwa durch blaue Autofluoreszenz in den unbehandelten Schnitten bzw. durch eine bathochrome Verschiebung nach der Behandlung mit Ammonium, festgestellt werden.

Die Beerenhaut ist aus mehreren Zelllagen aufgebaut. Bei *Bacchus* liegen neben der Epidermis noch ca. 11 hypodermale Schichten vor (vgl. Abb. 3.27A und Alleweldt et al., 1981). Nach Ammonium-Behandlung konnte durch die UV-Anregung induzierte grüne Fluoreszenz die Konzentration der phenolischen Substanzen in der Haut gezeigt werden (Abb. 3.27 B). Allerdings wurde die



Anwesenheit von photosynthetischen Pigment- Protein- Komplexen, angezeigt durch die rote Chlorophyllfluoreszenz, sowohl im Beerenfleisch als auch in der –haut festgestellt. Die Verteilung der Grünfluoreszenz in der Haut war hier ebenfalls ungleichmäßig, was die überwiegend vakuoläre Akkumulation phenolischer Komponenten weiterhin bestätigt.



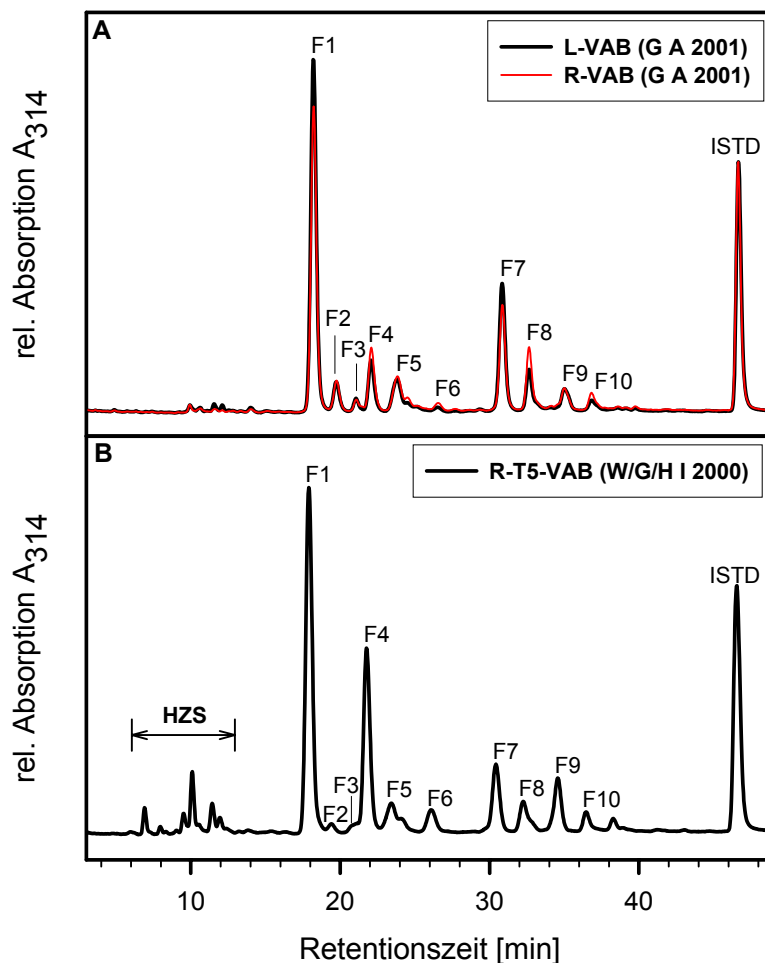
**Abb. 3.27:** Lokalisation von phenolischen Substanzen durch Epifluoreszenzmikroskopie. Dargestellt ist eine lichtmikroskopische (A) und eine Fluoreszenz- Aufnahme (B) von einem Schnitt durch Beerengewebe von *V. vinifera*, nach Behandlung mit einer Ammoniumlösung. Die Gegenwart phenolischer Komponenten wird durch Grünfluoreszenz angezeigt (B); die rote Fluoreszenz zeigt die Anwesenheit von Chlorophyll an.

## 3.4 Analyse phenolischer Komponenten (HPLC)

### 3.4.1 Phenolische Komponenten in *H. vulgare*

#### Identität der Substanzen

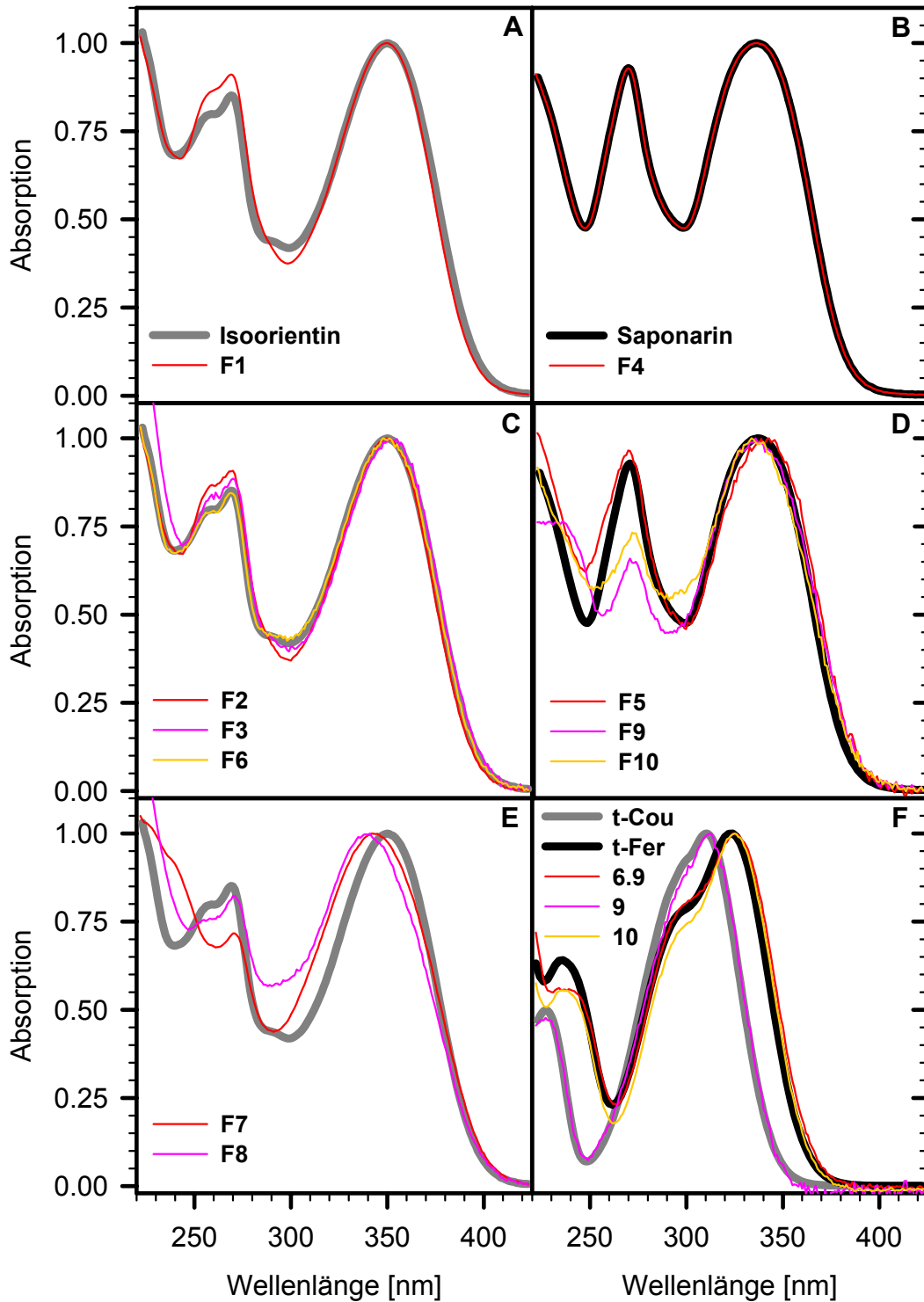
Durch den für die Extrakte aus Gerstenblättern modifizierten Gradienten (s. 2.2.4) konnten die phenolischen Komponenten auch bei hoch konzentrierten Proben weitgehend getrennt dargestellt werden. Im Gegensatz zu den Weinblättern spielte die Fraktion der löslichen Hydroxymizsäurederivate eine sehr untergeordnete Rolle. Bei den Flavonoiden waren im Wesentlichen zehn Peaks (F1 – 10) zu unterscheiden (Abb. 3.28), die aufgrund ihrer spektralen Eigenschaften alle den Flavonen zuzuordnen sind (Abb. 3.29). Die Zuordnung der Substanzen erfolgte mittels UV-Spektroskopie und Vergleichen mit Standardsubstanzen, die nach Literaturangaben über die Inhaltsstoffe in Gerstenblättern ausgewählt worden waren (Schmitz, 2001; Liu et al., 1995).



**Abb. 3.28:**

Chromatogramme methanolischer Extrakte unter VAB gewachsener F-1- Blätter von *H. vulgare* cv. Ricarda und LBP 24727 (A) und von cv. Ricarda nach 8 Tagen Induktion unter VAB (B). Die Detektion erfolgte bei 314 nm. Die Benennungen der Peaks (F1 – F10) bezeichnen die nach UV-Spektroskopie den Flavonen zuzuordnenden Substanzen (s. Text). Auf eine Benennung und eingehendere Identifizierung der Hydroxymizsäurederivate (HZS) wurde verzichtet. Die gezeigten Chromatogramme wurden über den Internen Standard (ISTD) normiert.





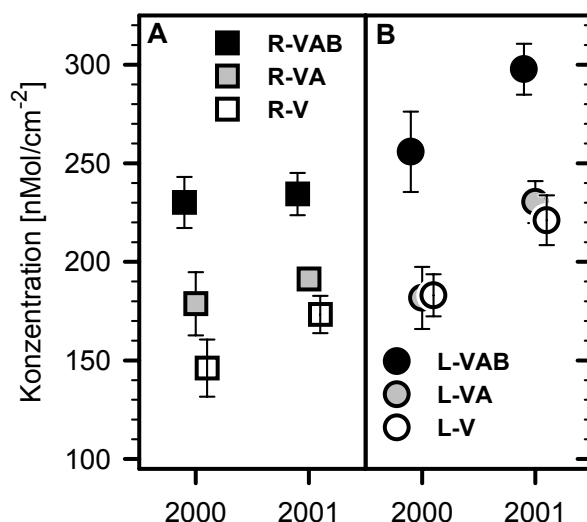
**Abb. 3.29:** Dargestellt sind die UV-Spektren der in *H. vulgare* gefundenen Flavone (A-E) und der Hydroxycimtsäurederivate (F), im Vergleich mit den Spektren der jeweiligen Standards (**Saponarin**, **Isoorientin**, trans-**Ferula**- und trans-**Coumarsäure**). Die Bezeichnungen der Flavone entsprechen den Peak-Bezeichnungen aus Abb. 3.28; die Zahlen in F den Retentionszeiten der Substanzen in Minuten.

Im Wesentlichen ließen sich die Spektren der zehn Peaks in zwei Gruppen einteilen, eine Gruppe wies dem Isoorientin (F1, F2, F3, F6) vergleichbare Spektren auf, die Spektren der anderen waren von Saponarin praktisch nicht zu unterscheiden (F4, F5,

F9, F10). F6 koeluierte mit Isoorientin, F4 mit Saponarin. Eine vollständige Identifizierung konnte so nicht erreicht werden; die gute spektrale Übereinstimmung erlaubte jedoch eine Einteilung der Substanzen in Derivate der Flavone Luteolin und Apigenin. Die Quantifizierung erfolgte jeweils über das Apigeninderivat Saponarin und das Luteolinderivat Isoorientin (s. 2.2.4.1). Die Peaks F7 und F8 konnten nicht so eindeutig zugeordnet werden (Abb. 3.29 E); sie wurden den Luteolinderivaten zugerechnet. Die jeweiligen Hauptkomponenten der beiden Gruppen waren F1 und F4, letzteres wurde aufgrund der Koelution mit dem Standard als Saponarin eingestuft. Saponarin und Lutonarin wurden in der Literatur mehrfach als Hauptflavonoide bei Gerste beschrieben (Schmitz, 2001; Liu et al., 1995). Lutonarin lag uns als Standardsubstanz nicht vor; die gute spektrale Übereinstimmung von F1 mit Isoorientin, das sich von Lutonarin nur durch eine Glucosidierung in Position 7 unterscheidet, sowie das Elutionsverhalten, legen eine Übereinstimmung von F1 mit Lutonarin nahe.

Die löslichen Hydroxyzimtsäurederivate trugen bei im Gewächshaus angezogenen und unter Freilandbedingungen gewachsenen Pflanzen nie mehr als 3 - 5% zur Absorption bei 314 nm bei. Auf eine weitere Identifizierung wurde deshalb verzichtet. Es war allerdings ein leichter Anstieg ihres Anteils auf ca. 10% unter Induktionsbedingungen im Jahr 2000 (W/G/H I 2000) zu beobachten, was jedoch im Induktionsexperiment im Jahr 2001 (G I 2001) nicht so deutlich festzustellen war.

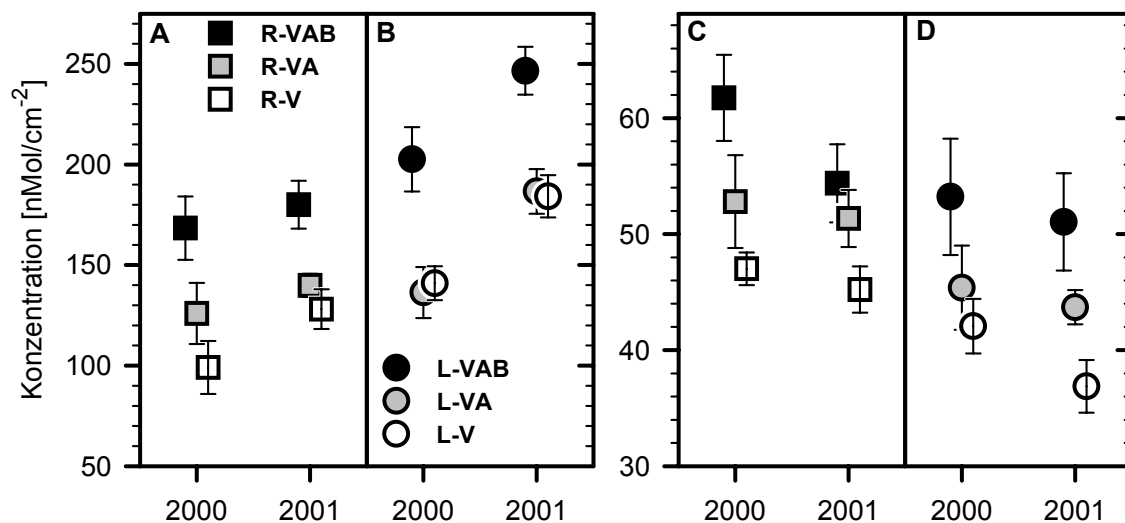
### a) Akklimationisation



**Abb. 3.30:** Flavone in F-1-Blättern bei *H. vulgare* cv. Ricarda (A) und cv. LBP 24727 (B). Dargestellt sind die auf die Blattfläche bezogenen Gesamtmengen bei unter den drei verschiedenen Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V) gewachsenen Blättern der Akklimationisationsexperimente G A 2000 und G A 2001. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für n=5 (G A 2000) bzw. n=8 - 10 (G A 2001).

Übereinstimmend konnte in beiden Jahren an den in den Expositionskammern gewachsenen Blättern beider Sorten eine durch UV-B-Strahlung gesteigerte

Flavonoidproduktion festgestellt werden (Abb. 3.30). Diese Steigerung war bei LBP 24727 in beiden Experimenten signifikant, bei Ricarda konnte zwischen der VAB- und der V- Variante in beiden, zwischen der VA- und der VAB- Variante nur in einem Jahr (2001) ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Bei Ricarda wurden in beiden Jahren vergleichbare Konzentrationen erreicht, bei LBP 24727 war die Flavonoidproduktion 2001 höher als 2000. Somit entstand zwischen den Sorten im Jahr 2001 ein signifikanter Konzentrationsunterschied, der unabhängig vom Strahlungsklima war. Bei beiden Sorten war der Hauptanteil der Flavonoide den Luteolinderivaten zuzurechnen (Abb. 3.31).



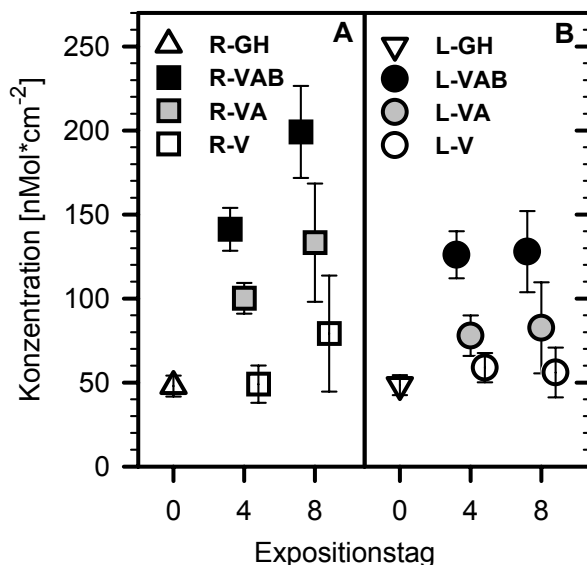
**Abb. 3.31:** Flavone in F-1- Blättern bei *H. vulgare* cv. Ricarda (A, C) und cv. LBP 24727 (B, D). Dargestellt sind die auf die Blattfläche bezogenen molaren Konzentrationen der Luteolin- (A, B) und Apigeninderivate (C, D) bei unter den drei verschiedenen Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V) gewachsenen Blättern der beiden Akklimatisierungsexperimente (G A 2000 und G A 2001). Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für n = 5 (G A 2000) bzw. n = 8 - 10 (G A 2001).

Die Apigeninderivate trugen bei Ricarda im Mittel 23 bis 32% und bei LBP 24727 17 bis 25% zum gesamten Flavonoidpool bei. Der in Abb. 3.30 gezeigte Unterschied zwischen den Sorten (2001) beruhte vor allem auf einer signifikant höheren Konzentration der Luteolinderivate in LBP 24727. Bezüglich der Apigeninderivate erreichten beide Sorten vergleichbare Konzentrationen; zum Teil wies Ricarda hier sogar etwas höhere Konzentrationen auf als LBP 24727. Bei LBP 24727 war die Luteolinsynthese unter VAB gegenüber den beiden anderen Varianten in beiden Experimenten signifikant erhöht, bei Ricarda konnte zwischen der VAB- und der V- Variante in beiden, zwischen der VA- und der VAB- Variante nur in einem Jahr (2001) ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Der Anteil der Hydroxymitsäure-

derivate an der Absorption bei 314 nm betrug im Mittel zwischen 1,5% und 3% (nicht dargestellt).

## b) Induktion

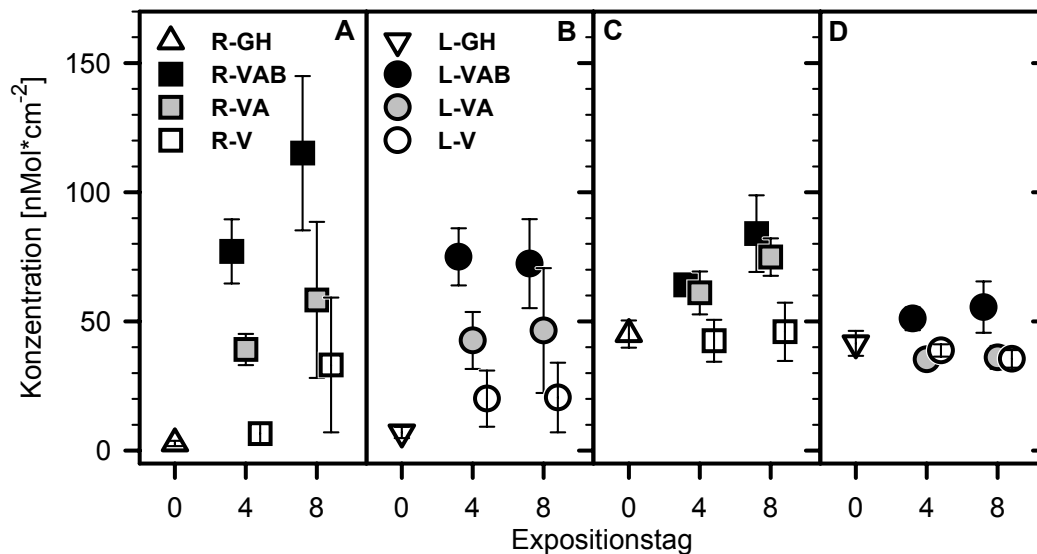
Im Induktionsexperiment 2000 wurden in den vor der Exposition entnommenen Proben bei beiden Sorten etwa übereinstimmende geringe Flavonoidkonzentrationen gemessen (Abb. 3.32). Die Exposition unter UV-Strahlung bewirkte bei beiden Sorten eine drastische Steigerung der Flavonakkumulation, die besonders durch UV-B-Strahlung forciert wurde, während unter UV-Ausschluss (V) allenfalls eine geringfügige Zunahme zu verzeichnen war. Während jedoch bei LBP 24727 keine Steigerung zwischen dem 4. und dem 8. Expositionstag festgestellt werden konnte, erhöhten sich die mittleren Flavonoidkonzentrationen bei Ricarda in diesem Zeitraum nochmals, so dass die an T4 zwischen den Sorten etwa vergleichbaren Werte an T8 deutlich übertroffen wurden. Allerdings war das Probenmaterial hier relativ heterogen.



**Abb. 3.32:** Flavone in F-1-Blättern bei *H. vulgare* cv. Ricarda (A) und cv. LBP 24727 (B) im Induktionsexperiment W/G/H I 2000. Dargestellt sind die auf die Blattfläche bezogenen Gesamtmengen bei unter den drei verschiedenen Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V) exponierten Blättern nach vier bzw. acht Tagen, sowie aus dem Gewächshaus (GH). Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für n=5.

Der Anteil der Substanzgruppen variierte je nach Strahlungsbedingung stark. Bei den Proben aus dem Gewächshaus konnten nur Spuren von Luteolinderivaten festgestellt werden, hier trugen die Apigeninderivate mit mittleren 45 nmol\*cm<sup>-2</sup> (Ricarda) und 41,5 nmol\*cm<sup>-2</sup> (LBP 24727) 94 bzw. 86% zum Flavonoidpool bei (Abb. 3.33). Nach 4-tägiger Exposition wurde für beide Sorten eine deutliche Akkumulation an Luteolinderivaten beobachtet, die unter VAB mit mittleren 75 (LBP 24727) und 77 nmol\*cm<sup>-2</sup> (Ricarda) am stärksten hervortrat und unter VA bei mit 43 (LBP 24727) und 39 nmol\*cm<sup>-2</sup> (Ricarda) ebenfalls für beide Sorten vergleichbar war. Bei beiden Sorten waren die Werte der VAB-Gruppe gegenüber

der V- Variante signifikant erhöht. Während bei LBP 24727 nach weiteren vier Tagen Exposition keine Zunahme dieser Substanzgruppe mehr festzustellen war, erfolgte bei Ricarda nochmals eine Steigerung auf mittlere 115, 58 und 33 nmol\*cm<sup>-2</sup> jeweils für die Proben der VAB-, VA- und der V- Variante. Die starken Schwankungen der Gesamtflavonkonzentrationen bei den Werten von T8 hatten ihre Ursache offensichtlich in den unterschiedlich hohen Konzentrationen an Luteolinderivaten, während die Variationsbreite bezüglich der Apigeninderivate nicht auffällig hoch war.

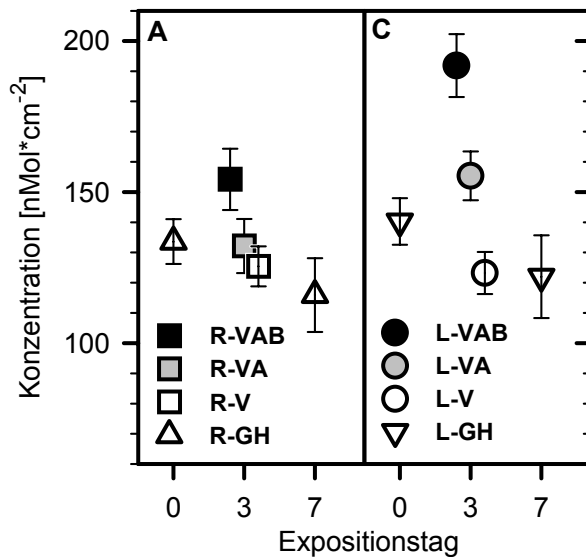


**Abb. 3.33:** W/G/H I 2000: Flavone in F-1- Blättern bei *H. vulgare* cv. Ricarda (A, C) und cv. LBP 24727 (B, D). Dargestellt sind die auf die Blattfläche bezogenen molaren Konzentrationen der Luteolin- (A, B) und Apigeninderivate (C, D) bei unter den drei verschiedenen Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V) exponierten Blättern nach vier bzw. acht Tagen und aus dem Gewächshaus (GH). Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für n= 5.

Beide Sorten zeigten eine gesteigerte Akkumulation an Apigeninderivaten unter VAB, während unter V die initialen Werte entweder beibehalten oder sogar leicht unterschritten wurden; diese Erhöhung gegenüber der V- Variante war aber nur bei Ricarda signifikant. Unter VA war bei Ricarda eine der VAB- Variante ähnliche Zunahme festzustellen, bei LBP 24727 hingegen blieben die Werte unter dieser Bedingung auf dem Niveau der V- Variante, so dass hier zwischen den Sorten ein signifikanter Unterschied bestand. Aber auch unter VAB wies LBP 24727 mit mittleren 51 (T4) und 55 nmol\*cm<sup>-2</sup> (T8) geringere Mengen an Apigeninderivaten auf als Ricarda mit 64 (T4) und 84 nmol\*cm<sup>-2</sup> (T8).

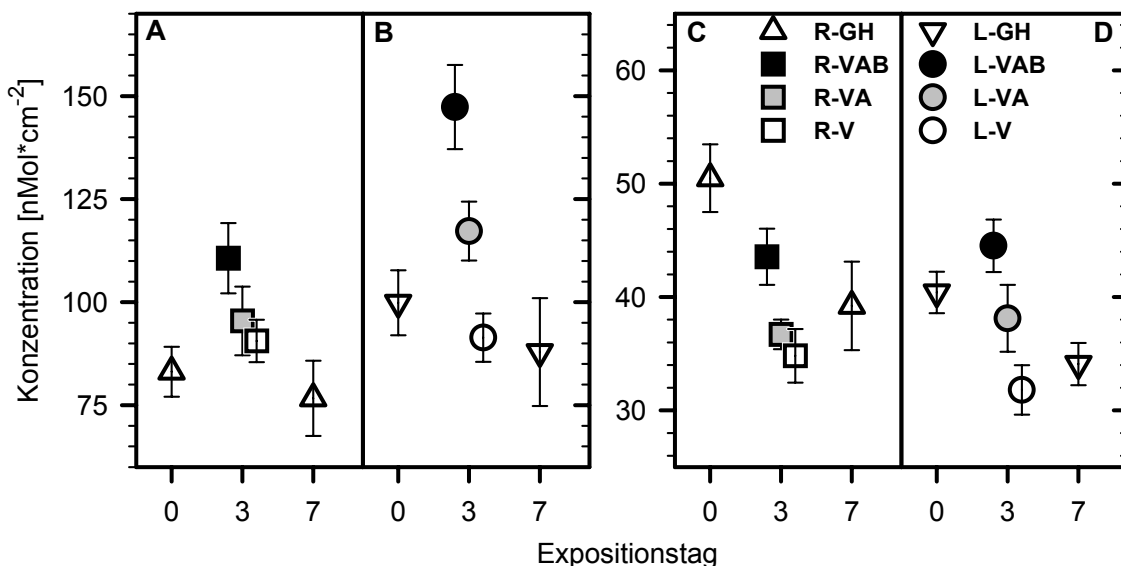
G I 2001: Die Flavonoidkonzentrationen in den vor der Exposition entnommenen Proben waren im Mittel mit 134 (Ricarda) und 140 nMol\*cm<sup>-2</sup> (LBP 24727) für beide Sorten vergleichbar (Abb. 3.34). Auch bei den nach der Exposition entnommenen

Proben aus dem Gewächshaus stimmten die Werte der beiden Sorten überein, lagen jedoch geringfügig unter den prä -expositionionell bestimmten Werten. Verglichen mit W/G/H I 2000 wiesen die Proben aus dem G I 2001 damit bereits vor der Exposition um einen Faktor von 2,8 bis 2,9 höhere Flavonoidkonzentrationen auf.



**Abb. 3.34:** Induktionsversuch G I 2001: Flavone in F-1-Blättern bei *H. vulgare* cv. Ricarda (A) und cv. LBP 24727 (B). Dargestellt sind die auf die Blattfläche bezogenen Gesamtmengen bei unter den drei verschiedenen Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V) exponierten Blättern nach drei Tagen, sowie aus dem Gewächshaus (GH) vor und nach der Exposition. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für n= 8 – 10 bzw. GH T7: n= 6.

Dies lag vor allem an den hohen Konzentrationen an Luteolinderivaten, wobei Ricarda mit mittleren 83 nmol\*cm<sup>-2</sup> etwas unter LBP 24727 mit 100 nmol\*cm<sup>-2</sup> lag (Abb. 3.35). Die Konzentrationen an Apigeninderivaten waren hingegen mit denen aus dem Experiment 2000 vergleichbar; hier erreichten die Proben von Ricarda mit 50,5 nmol\*cm<sup>-2</sup> signifikant höhere Werte als die von LBP 24727 (40 nmol\*cm<sup>-2</sup>).



**Abb 3.35:** Induktionsversuch G I 2001: Flavone in F-1- Blättern bei *H. vulgare* cv. Ricarda (A, C) und cv. LBP 24727 (B, D). Dargestellt sind die auf die Blattfläche bezogenen molaren Konzentrationen der Luteolin- (A, B) und Apigeninderivate (C, D) bei unter den drei verschiedenen Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V) exponierten Blättern nach drei Tagen und aus dem Gewächshaus (GH) vor und nach der Exposition. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für n= 8 – 10 bzw. GH T7: n= 6.

Die nach drei Tagen Exposition bei beiden Sorten durch UV-B angeregte Akkumulation an Flavonoiden beruhte ebenfalls auf der signifikant gesteigerten Synthese von Luteolinderivaten. Bei LBP 24727 war unter VAB eine Erhöhung der molaren Luteolin-Konzentrationen um 50%, bei Ricarda hingegen nur um 33% gegenüber den prä-expositionellen Werten zu verzeichnen, wodurch ein signifikanter Unterschied zwischen den Sorten beobachtet werden konnte. Unter VA konnte zwar bei beiden Sorten eine schwache Erhöhung um 15% (Ricarda) und 17% (LBP 24727) bestimmt werden, es konnten jedoch weder unter VA, noch unter V signifikante Unterschiede zu den Gewächshausproben (T0) festgestellt werden. Bei LBP 24727 waren die Werte unter VAB gegenüber denen der beiden anderen Varianten signifikant erhöht, bei Ricarda war die Erhöhung nicht signifikant.

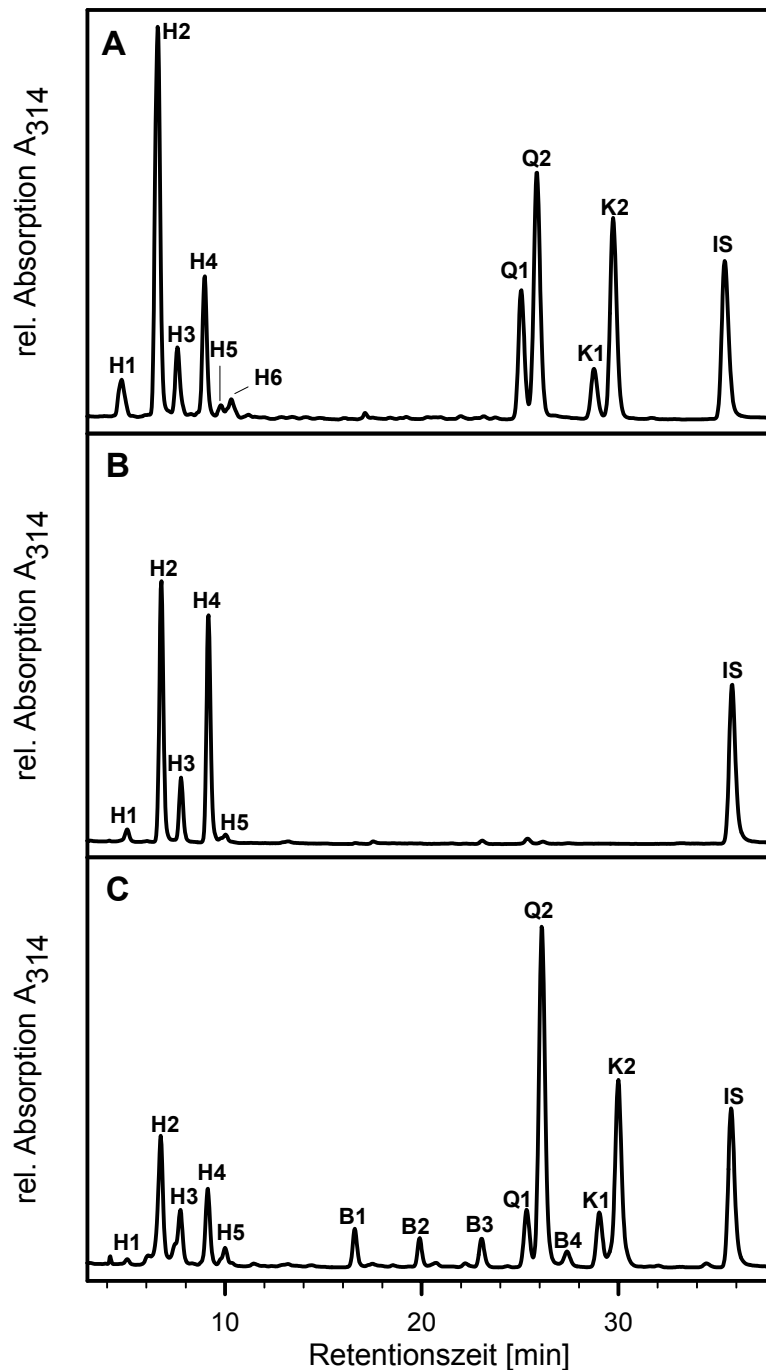
Anders als im Jahr 2000 wurde für die Apigeninderivate nur bei LBP 24727 unter VAB eine leichte Zunahme beobachtet, während ansonsten bei beiden Sorten unter allen Varianten eine Verringerung dieser Substanzgruppe festzustellen war. Diese Verringerung zeigten auch die Proben von den im Gewächshaus verbliebenen Pflanzen, die nach Beendigung der Exposition entnommen worden waren. Bei Ricarda war die Reduzierung der Apigeninderivate unter VA, V und bei den Gewächshausproben vom Tag 7 signifikant. Auf eine weitere Probennahme in den Expositionskammern wurde aufgrund der ab Tag 4 konstant gebliebenen Transmissionswerte (s. 3.2.2.2) verzichtet, da hier keine Steigerung der Flavonoidsynthese mehr erwartet wurde.

### **3.4.2 Phenolische Komponenten in Beeren von *V. vinifera***

#### **Identität der Substanzen**

Die aus den lyophilisierten Beerenhäuten gewonnenen Extrakte zeigten ein im Wesentlichen mit Extrakten aus Blattscheiben vergleichbares Peakmuster (Abb. 3.36). Die acht Hauptkomponenten (H1 - H4, Q1, Q2, K1, K2) trugen im Mittel 94% und 98% zur chromatographisch ermittelten Gesamtabsorption bei 314 nm und 360 nm bei. Von den beiden mit H5 und H6 bezeichneten Peaks, konnte nur H5 auch in den Beerenhautextrakten gefunden werden. Aufgrund vergleichender Analyse der spektralen Eigenschaften sowie alkalischer und saurer Hydrolyse konnten die Substanzen H1 mit H6 den Hydroxyzimtsäurederivaten, die Substanzen Q1, Q2, K1 und K2 den Flavonoiden zugeordnet werden. Die Hauptkomponenten der Hydroxyzimtsäurefraktion waren demnach Derivate der Kaffee- (H1, H2) und der Coumar-säure (H3, H4), wobei aufgrund ihrer spektralen Eigenschaften die Peaks H1 und H3

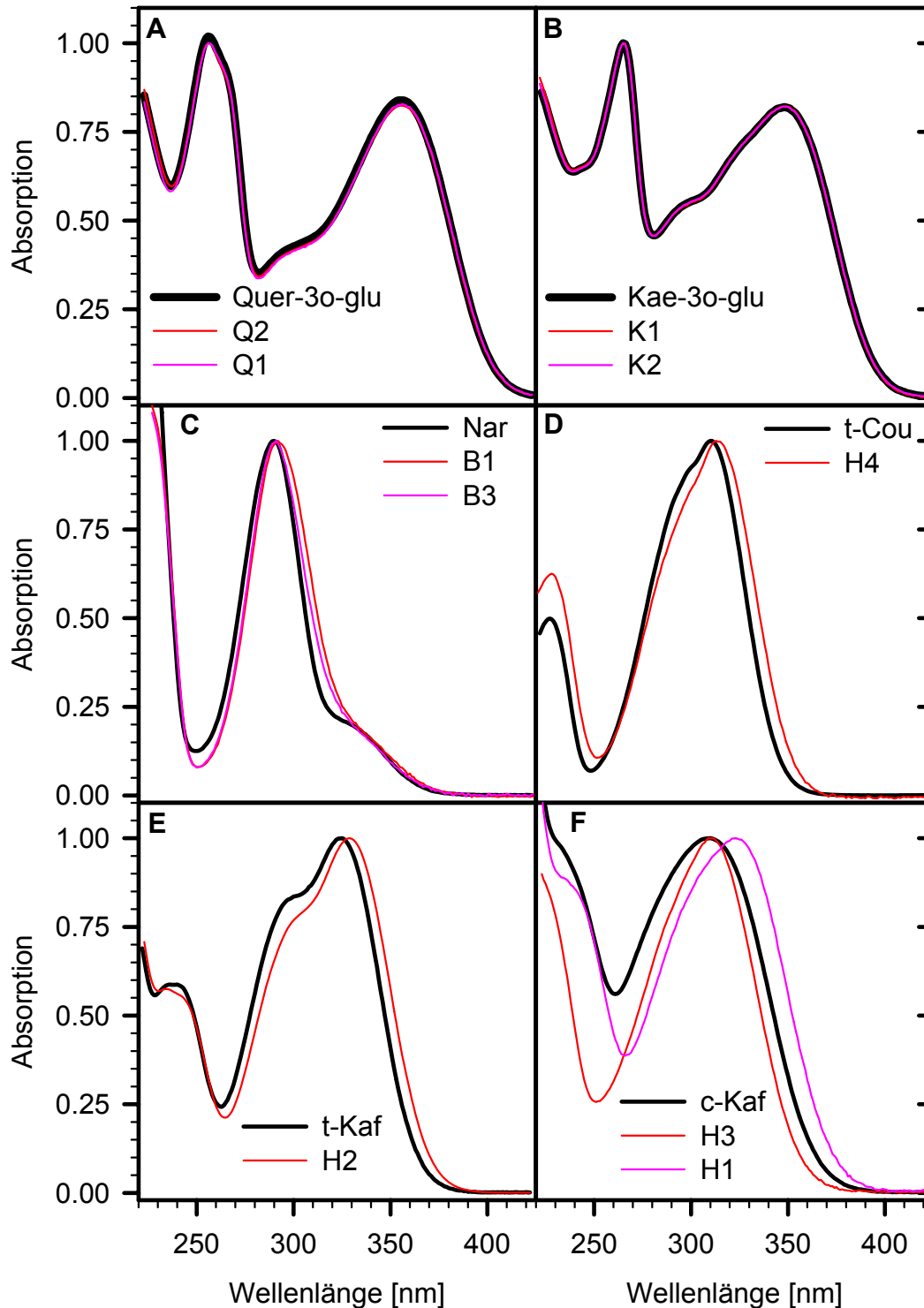
als cis- Isomere und H2 und H4 als trans- Isomere der jeweiligen Hydroxyzimtsäure identifiziert werden konnten (s. 2.2.4.1; Kolb et al., 2001). Die Chromophore der Flavonoide wurden als Quercetin (Q1, Q2) und Kaempferol (K1, K2), zwei Flavonole, identifiziert (Abb. 3.37). Die spektralen Eigenschaften von Q1 und Q2 bzw. von K1 und K2 unterschieden sich jeweils nicht voneinander; Q1 und Q2 zeigten dieselben spektralen Eigenschaften wie Quercetin-3-O-glucosid, K1 und K2 stimmten spektral mit Kaempferol-3-O-glucosid überein (Abb. 3.37).



**Abb. 3.36:**

Chromatogramme methanolischer Extrakte aus Blattscheiben von *V. vinifera* cv. Silvaner nach sieben Tagen Exposition unter VAB (A), bzw. aus Beerensegmenten von cv. Bacchus aus dem Gewächshaus (B) und nach sechs Tagen Exposition unter VAB (C). Die Detektion erfolgte bei 314 nm. Mit den Benennungen der einzelnen Peaks wurde bereits eine Zuordnung zu den Substanzgruppen der Hydroxyzimtsäure- (H1 - H6), Quercetin- (Q1, Q2) und Kaempferolderivate (K1, K2) vorgenommen; mit B - B4 wurden die bislang nicht identifizierten Komponenten in der Beerenhaut bezeichnet. Die Chromatogramme wurden über den Internen Standard (IS) normiert.





**Abb. 3.37:** Dargestellt sind die UV- Spektren der in *V. vinifera* gefundenen acht Hauptkomponenten aus den Substanzgruppen der Flavonole (**A**, **B**) und der Hydroxycimtsäurederivate (**D** - **F**), sowie zwei der mit B1 - B4 bezeichneten Peaks (**C**) im Vergleich mit den Spektren der jeweiligen Standards (**Quercetin-** und **Kaempferol-3-O-glucosid**, **trans-** und **cis-** **Kaffeensäure**, **trans-** **Coumarsäure**, sowie **Naringenin**). Die Bezeichnungen der Substanzen entsprechen denen aus Abb. 3.36.

Die Peaks Q2 und K2 zeigten jeweils auch bezüglich ihrer Elutionseigenschaften Übereinstimmung mit diesen käuflichen Standards. Da eine Abweichung im Spektrum der Glycoside von dem des Chromophors vor allem durch die Bindungs-

position bewirkt wird, konnte bereits aufgrund der UV-Spektroskopie davon ausgegangen werden, dass es sich bei allen Komponenten um 3-O-substituierte Flavonole handelte.

Nach kurzzeitiger UV-Exposition wurde das Auftreten minorer Komponenten beobachtet, die in Weinblättern nicht gefunden worden waren (Abb. 3.36, Abb. 3.37). Vier dieser Komponenten (B1 mit B4) zeigten vergleichbare spektrale Eigenschaften wie Naringenin, ein Flavanon. Andere, nur in Spuren detektierbare Substanzen, zeigten wiederum dem Quercetin oder dem Kaempferol ähnliche Spektren (nicht gezeigt). Eine genaue Zuordnung konnte bei letzteren jedoch aufgrund der Undeutlichkeit der Spektren nicht erfolgen. Die minoren Komponenten blieben bei der Quantifizierung unberücksichtigt.

Die Ergebnisse der Massenspektrometrie bestätigten im Wesentlichen die bisherigen Annahmen über die Identität der Hauptkomponenten (D. Kammerer, pers. Mitteilung). Die Peaks H1 und H2 wiesen das m/z-Verhältnis von Kaffeeoyltartrat (311) auf; bei H3 und H4 wurde ein m/z-Verhältnis von 295, das dem Coumaroyltartrat entspricht, bestimmt. H5 kann als Ferulasäurederivat angesehen werden, wobei aufgrund der geringen Konzentrationen der Nachweis schwierig war. Das m/z-Verhältnis 325 entspricht dem von Feruloyltartrat, das UV-Spektrum ist mit dem der Ferulasäure vergleichbar. Da H5 in nur sehr geringen Konzentrationen auftrat, wurde es zwar zur Berechnung der Gesamtabsorption herangezogen, auf eine Quantifizierung der Substanz wurde aber verzichtet. Das m/z-Verhältnis 477 (Q1) entspricht dem von Quercetin-3-O-glucuronid, welches auch in der Literatur bereits als typisches Flavonoid in *Vitis vinifera* beschrieben wurde (Weber, 1992). Q2 besteht vermutlich aus einer Mischung von Quercetin-3-O-glucosid (Isoquercitrin) und Quercetin-3-O-galaktosid (Hyperosid). Diese beiden Substanzen weisen sowohl ein identisches UV-Spektrum als auch ein identisches m/z-Verhältnis von 463 auf; unter unseren Bedingungen kam es zur Koelution der Standardsubstanzen. Eine Quantifizierung der Quercetin-Derivate wurde über den Faktor von Quercetin-3-O-glucosid bei 360 nm vorgenommen (s. 2.4.2.1). K1 und K2 wiesen ein identisches m/z-Verhältnis von 447 auf, das dem Standard Kaempferol-3-O-glucosid (Astragalin) entspricht. K1 kann als Kaempferol-3-O-hexosid eingeordnet werden, möglicherweise als Kaempferol-3-O-galaktosid, das ebenfalls ein m/z-Verhältnis von 447 besitzt. Eine Quantifizierung erfolgte für die Kaempferol-Derivate über den Faktor von Kaempferol-3-O-glucosid bei 360 nm (s. 2.4.2.1).

Ein Problem bei der Identifizierung von Hydroxyzimtsäurederivaten mittels ESI-MS besteht in der schlechten Ionisierbarkeit dieser Substanzen. Da in den Bacchus-Proben generell nur eine geringe Konzentration an Kaffeeoyltartrat zu finden war, konnten H1 und H2 nur bei Silvaner eindeutig identifiziert werden. Da die UV-Absorptionsspektren sowie die Retentionszeiten der Peaks zwischen den beiden Sorten aber übereinstimmten, kann eine Zuordnung der Molekülmassen auch für die Bacchus-Proben gelten. Die vor allem nach 6-tägiger Exposition unter VAB-Bedingungen verstärkt auftretenden Komponenten B1 – B4 konnten auch mittels ESI-MS nicht identifiziert werden. Die ermittelten m/z-Verhältnisse waren 465 (B1), 449 (B2, B3) und 433 (B4).

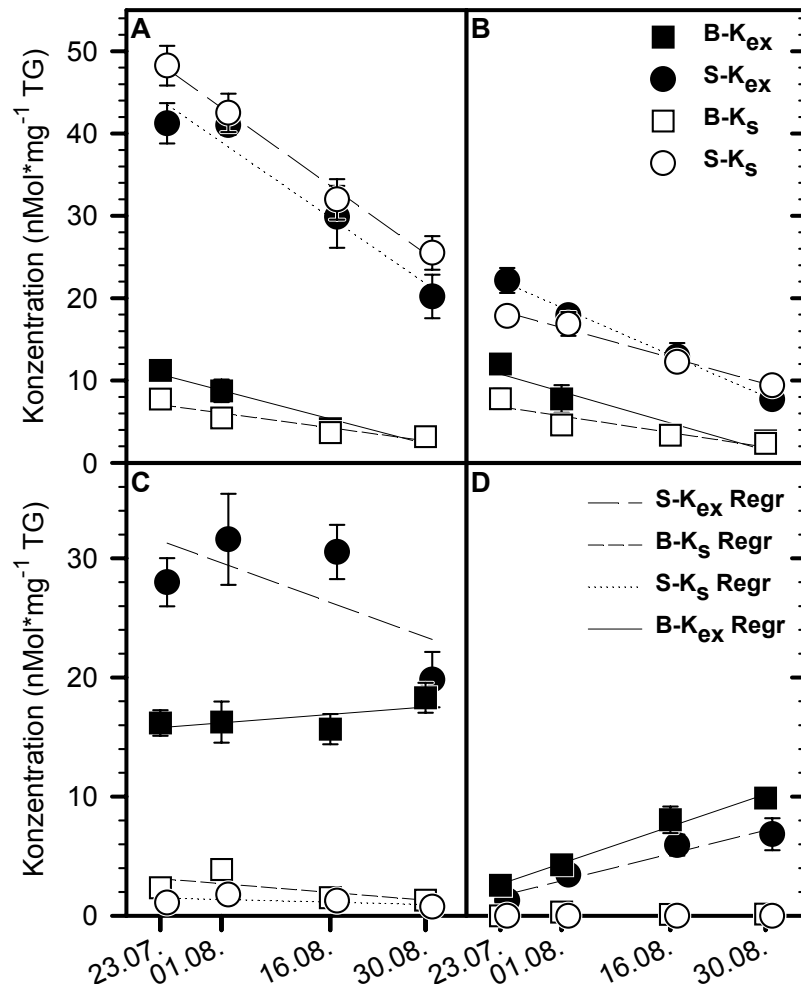
#### **a) Akklimatisation**

Von den parallel zu den Transmissionsmessungen entnommenen Beeren wurden die Kontrollgruppen von vier Zeitpunkten im Abstand von 9 bis 14 Tagen auf ihre phenolischen Komponenten untersucht. Die Hauptsubstanzen wurden nach ihrem für die UV-Absorption verantwortlichen Molekülanteil in vier Gruppen zu Kaffeeoyl- und Coumaroyltartrat und Quercetin- und Kaempferolderivaten zusammengefasst. Sowohl für die beschattete ( $K_S$ ) als auch die exponierte Variante ( $K_{ex}$ ) beider Sorten war bei den Hydroxyzimtsäurederivaten eine Abnahme über die Zeit zu beobachten (Abb. 3.38 A, B). Insgesamt war der Einfluss der Exposition gering verglichen mit dem signifikanten Sortenunterschied, der besonders bei den Kaffeeoyltartraten hervortrat: so war deren Konzentrationen in der Haut der Silvanerbeeren im Mittel um den Faktor 3,6 bis 8,8 höher als bei Bacchus, wobei der Unterschied bei der  $K_S$ -Variante verstärkt wurde. Obgleich der Sortenunterschied bei den Coumaroyltartraten geringer ausfiel, waren deren Konzentrationen dennoch in den Silvanerbeeren im Mittel um einen Faktor von 1,8 bis 4,0 höher als in den Bacchusbeeren der entsprechenden Varianten. Während bei Silvaner der Anteil der Coumaroyltartrate an der Gesamtmenge der Hydroxyzimtsäurederivate bei 27 bis 35% lag, trug er bei Bacchus mit 43 bis 52% etwa die Hälfte bei. Expositionsbedingte Unterschiede waren bei Silvaner für die Kaffeeoyltartrate am ersten und am letzten Zeitpunkt signifikant, für die Coumaroyltartrate bei beiden Sorten am ersten und bei Bacchus auch am zweiten Zeitpunkt, wobei sich die Exposition einmal steigend und einmal hemmend auswirkte.

Im Gegensatz zu den Hydroxyzimtsäuren hatte vor allem die Exposition einen signifikanten Effekt auf die Flavonoidakkumulation beider Sorten (Abb. 3.38 C, D).

Dennoch war auch für die Quercetinderivate der exponierten Varianten, ein signifikanter Sortenunterschied zu drei Zeitpunkten zu verzeichnen. Für beide Sorten und den gesamten Zeitraum gilt, dass Quercetin unter Beschattung ( $K_s$ ) nur in Spuren nachweisbar war. Kaempferol trat bei Silvaner unter diesen Bedingungen überhaupt nicht und bei Bacchus wiederum nur in Spuren auf.

**Abb. 3.38:** Phenolische Komponenten in der Beerenhaut von *V. vinifera* cv. Silvaner und Bacchus unter Kontrollbedingungen ( $K_s$  bzw.  $K_{ex}$ ) im zeitlichen Verlauf des Experiments B/S A 2000. Gezeigt sind die auf das Trockengewicht der Proben bezogenen, molaren Konzentrationen der Kaffeeoyl- (A) und Coumaroyltartrate (B), sowie der Quercetin- (C) und Kaempferolderivate (D). Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für  $n=6$ . Die Skalierung der x-Achse entspricht den zeitlichen Intervallen, wobei die um einen Tag versetzte Probenahme von Silvaner bei der Auftragung berücksichtigt wurde; die angegebenen Termine sind die der Probenahme bei Bacchus. (Die Skalierung der y-Achse in A, B entspricht nicht der in C, D.)

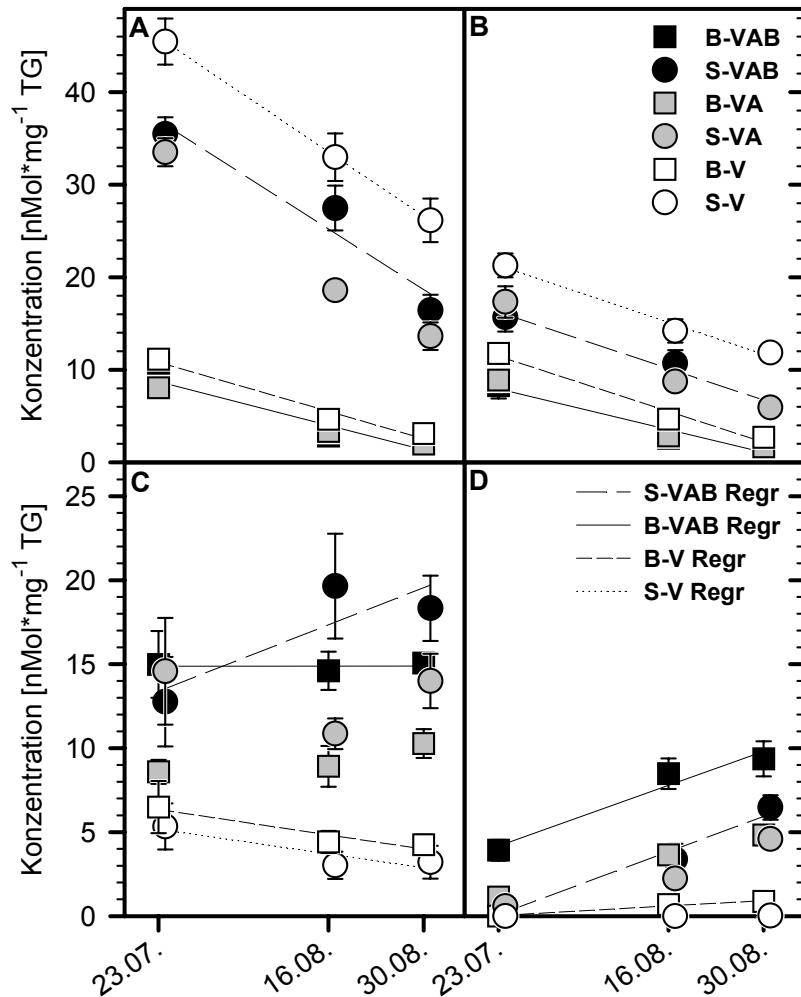


Während die Quercetinkonzentrationen der exponierten Beeren beider Sorten (Ausnahme: Silvaner am 31.08.00) über den gesamten Zeitraum weitgehend konstant blieben, konnte bei den Kaempferolkonzentrationen ein kontinuierlicher Anstieg bei beiden Sorten festgestellt werden, so dass es insgesamt zu einer Verschiebung hin zu einem höheren prozentualen Anteil von Kaempferol an der Gesamtmenge der Flavonole kam. Diese Substanzgruppe ist auch die einzige, bei der signifikant höhere Konzentrationen in Bacchus- als in Silvanerbeeren gefunden wurden.

Von den unter den verschiedenen Folien exponierten Beeren wurden zu drei Zeitpunkten die phenolischen Komponenten analysiert (Abb. 3.39). Diese Proben sollten vor allem den Einfluss der UV-Strahlung auf die Biosynthese der

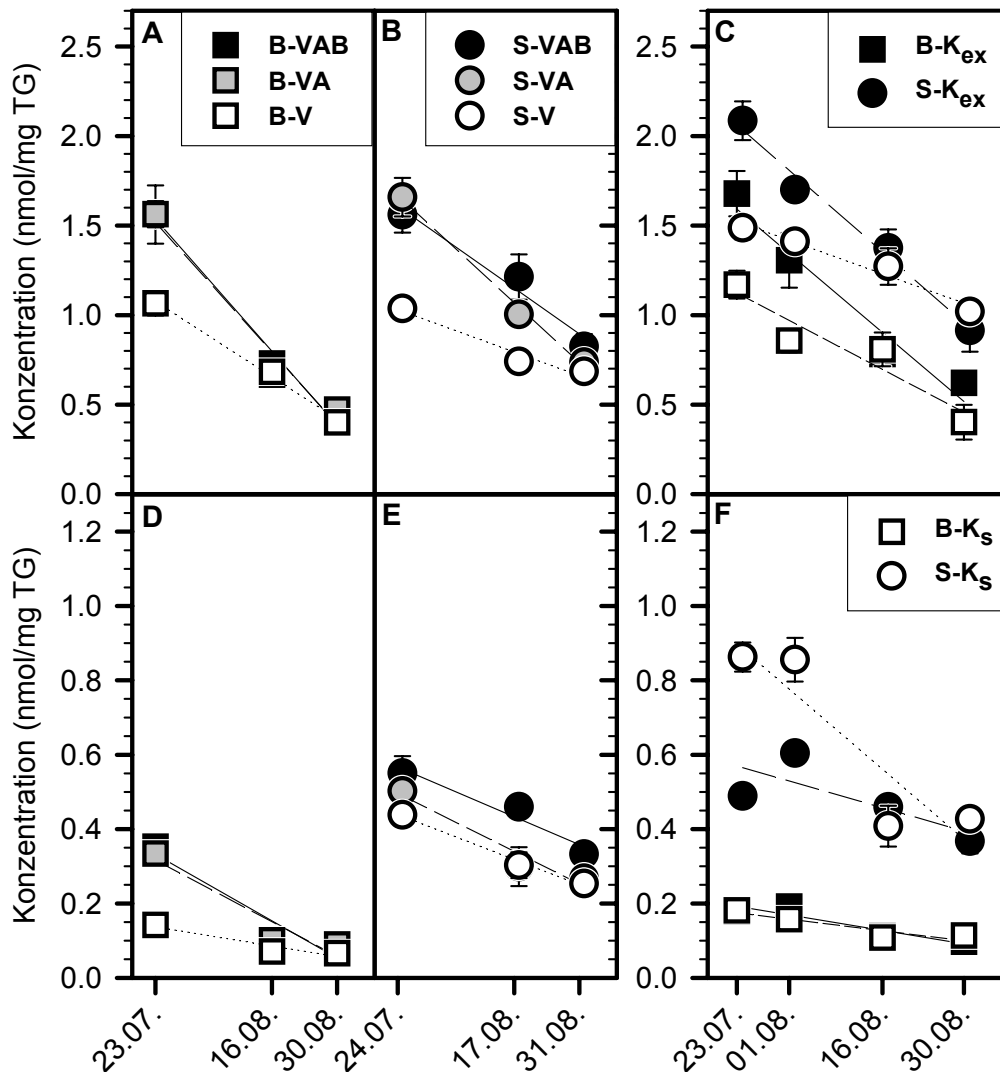
phenolischen Substanzen klären, wobei die VAB- Gruppe als interne Kontrolle für quasi unter natürlichen Strahlungsbedingungen gewachsene Beeren diente. Ein Vergleich mit den nicht bespannten Kontrollstandorten ist nur bedingt möglich, da Einflüsse durch das leicht veränderte Mikroklima nicht ganz auszuschließen sind.

**Abb. 3.39:** Phenolische Komponenten in der Beerenhaut von *V. vinifera* cv. Silvaner und Bacchus im Experiment B/S A 2000 unter den drei verschiedenen Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V) zu drei Zeitpunkten. Gezeigt sind die auf das Trockengewicht der Proben bezogenen, molaren Konzentrationen der Kaffeeoyl- (A) und Coumaroyltartrate (B), sowie der Quercetin- (C) und Kaempferolderivate (D). Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für n=6. Die Skalierung der x-Achse entspricht den zeitlichen Intervallen; die um einen Tag versetzte Probennahme von Silvaner wurde bei der Auftragung berücksichtigt. Die angegebenen Termine sind die der Probennahme bei Bacchus. (Die Skalierung der y-Achse in A, B entspricht nicht der in C, D.)



Generell ist aber auch hier zu erkennen, dass für die Konzentration der Hydroxyzimtsäuren (Abb. 3.39 A, B) Sorte und Zeitpunkt, für die der Flavonoide (Abb. 3.39 C, D) hingegen die unterschiedlichen Strahlungsbedingungen entscheidend waren. So lag die Konzentration der Kaffeeoyltartrate bei Silvaner unabhängig von der Strahlungsvariante zu allen Zeitpunkten signifikant höher als bei Bacchus. Auch für die Coumaroyltartrate wurden, mit Ausnahme der VAB- Varianten des letzten Zeitpunktes, signifikante Unterschiede zwischen den Sorten festgestellt. Deren Anteil an der Gesamtmenge der Hydroxyzimtsäuren fiel bei Silvaner hier ebenfalls geringer aus als bei Bacchus, wodurch die Differenz zwischen den beiden Sorten kleiner war als für die Kaffeeoyltartrate. Ebenso konnte bei beiden Sorten eine Abnahme an Hydroxyzimtsäuren über die Zeit ermittelt werden. UV- Strahlung wirkte sich bei beiden Sorten negativ auf die Konzentration der Hydroxyzimtsäuren

aus, der Effekt war allerdings nur bei Silvaner signifikant. Für die Kaffeeoyltartrate war bei Silvaner eine nahezu völlige Übereinstimmung zwischen der  $K_S$ - und der V-Variante auffällig, wohingegen die Konzentrationen der VAB- und der VA-Varianten etwas unter denen der exponierten Kontrolle lagen. Bei Bacchus bestanden bezüglich dieser Komponenten zwischen allen exponierten Varianten nur marginale Unterschiede.



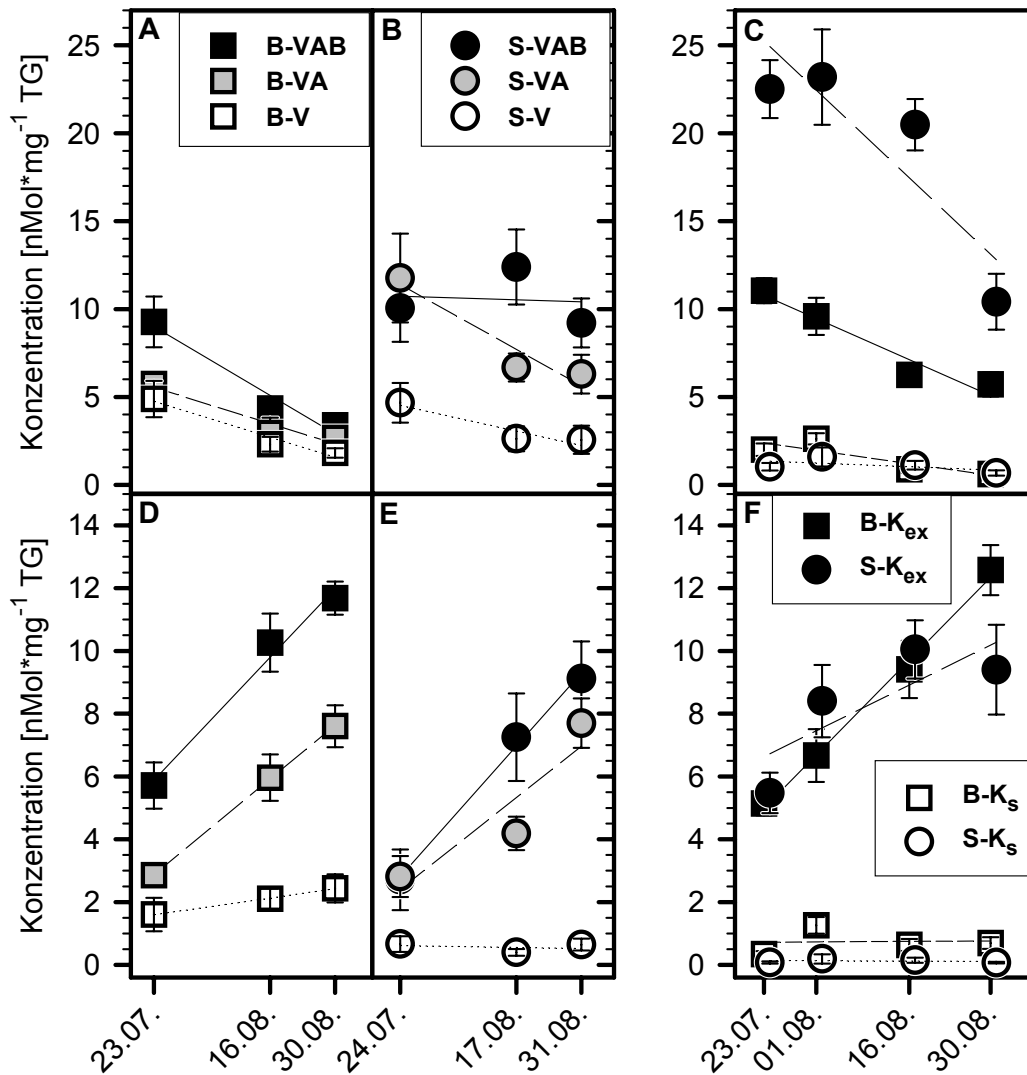
**Abb. 3.40:** Cis- Isomere von Coumaroyl- (A-C) und Kaffeeoyltartrat (D-F) in der Beerenhaut von *V. vinifera* cv. Bacchus (A, D) und Silvaner (B, E) aus den verschiedenen Folien- (VAB, VA, V; in A, B, D, E) bzw. Kontrollstandorten  $K_S$  und  $K_{ex}$  (C, F). Gezeigt sind die auf das Trockengewicht der Proben bezogenen, molaren Konzentrationen. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für  $n=6$ . Die Skalierung der x-Achse entspricht den zeitlichen Intervallen. In C, F wurde die um einen Tag versetzte Proben-nahme von Silvaner bei der Auftragung berücksichtigt; die angegebenen Termine sind hier die der Probennahme bei Bacchus. (Die Skalierung der y-Achse in A - C entspricht nicht der in D - F.)

Unter Kaffeeoyl- bzw. Coumaroyltartrat sind jeweils die cis- und trans- Isomere der Substanzen zusammengefasst. Da die cis- Isomere insgesamt nur einen sehr geringen Anteil zur Gesamtmenge der jeweiligen Substanz beitrugen, können die

dargestellten Verschiebungen in der Konzentration über die Zeit, sowie die Sortenunterschiede auf die trans- Isomere zurückgeführt werden. Der Anteil des cis- Isomers am gesamten Kaffeeoyltartrat betrug bei Bacchus zwischen 1,3 und 4,6%, bei Silvaner sogar nur zwischen 0,9 und 2,1 %; der Anteil des cis- Isomers am gesamten Coumaroyltartrat lag mit 9 bis 28% bei Bacchus und 5 bis 14% bei Silvaner höher. Die gesonderte Darstellung der cis- Isomere veranschaulicht, dass zwischen den Sorten bezüglich dieser Komponenten nur bei cis- Kaffeeoyltartrat ein Unterschied erkennbar war, der für cis- Coumaroyltartrat marginal ausfiel (Abb. 3.40). Im Unterschied zu dem trans- Isomer waren bei cis- Coumaroyltartrat die Konzentrationen unter V- Bedingungen tendenziell niedriger als unter UV- Exposition, ähnliches gilt für den Vergleich von  $K_S$  und  $K_{ex}$ . Bei cis- Kaffeeoyltartrat war die Tendenz zu niedrigeren Werten unter V teilweise zu erkennen, zwischen exponierter und beschatteter Kontrolle konnte aber kein solcher Trend festgestellt werden. Eine Verschiebung des Anteils der cis- Isomere an der gesamten Substanz über die Zeit beruhte weniger auf einer verstärkten Bildung von cis- Isomeren unter UV- Exposition als auf einem verstärkten Abbau der trans- Isomere.

Die Bildung der gefundenen Flavonoide korrelierte eindeutig positiv mit der UV- Exposition. Zu allen drei Zeitpunkten waren bei beiden Sorten die Mengen an insgesamt synthetisierten Flavonoiden unter VAB und VA signifikant höher als unter V. Eine signifikante Erhöhung durch UV-B- Strahlung gegenüber der VA- Variante konnte bei Bacchus zu zwei (16.08., 30.08.00) und bei Silvaner zu einem Zeitpunkt (17.08.00) festgestellt werden. Die UV-Abhängigkeit gilt im besonderen Maß für Kaempferol, das unter V- Bedingungen, wenn überhaupt, nur in Spuren nachweisbar war (Abb. 3.39). Quercetin wurde auch unter V- Bedingungen gebildet, die Mengen waren aber bei beiden Sorten zu allen Zeitpunkten signifikant niedriger als unter VAB. Die Unterschiede zwischen den Sorten bezüglich der Quercetinmengen waren geringfügig, bezüglich des Kaempferols traten unter VAB- Bedingungen bei Bacchus signifikant höhere Konzentrationen auf als bei Silvaner. Unter VAB waren die Kaempferolkonzentrationen bei Bacchus zu allen Zeitpunkten gegenüber der VA- und der V- Variante signifikant erhöht, bei Silvaner wiesen die VAB- und die VA- Gruppe teilweise vergleichbare Mengen auf. Die Quercetinkonzentrationen blieben über den Zeitraum bei beiden Sorten insgesamt relativ konstant, wobei die Werte der VAB- und der VA- Gruppe von Silvaner etwas variierten. Beim Vergleich der  $K_{ex}$ -

Gruppe mit der VAB-Gruppe von Silvaner wies letztere zumindest zu zwei Zeitpunkten signifikant weniger Quercetin auf. Da die Werte von Bacchus unter diesen beiden Bedingungen das gleiche Niveau erreichten, war unter VAB der Sortenunterschied extrem reduziert (Abb. 3.38, Abb. 3.39).



**Abb. 3.41:** Derivate von Quercetin: Q1 (A-C) und Q2 (D-F) in der Beerenhaut von *V. vinifera* cv. Bacchus (A, D) und Silvaner (B, E) aus den verschiedenen Folien- (VAB, VA, V; in A, B, D, E) bzw. Kontrollstandorten K<sub>s</sub> und K<sub>ex</sub> (C, F). Gezeigt sind die auf das Trockengewicht der Proben bezogenen, molaren Konzentrationen. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für n= 6. Die Skalierung der x-Achse entspricht den zeitlichen Intervallen. In C, F wurde die um einen Tag versetzte Probenahme von Silvaner bei der Auftragung berücksichtigt; die angegebenen Termine sind hier die der Probenahme bei Bacchus. (Die Skalierung der y-Achse in A - C entspricht nicht der in D - F.)

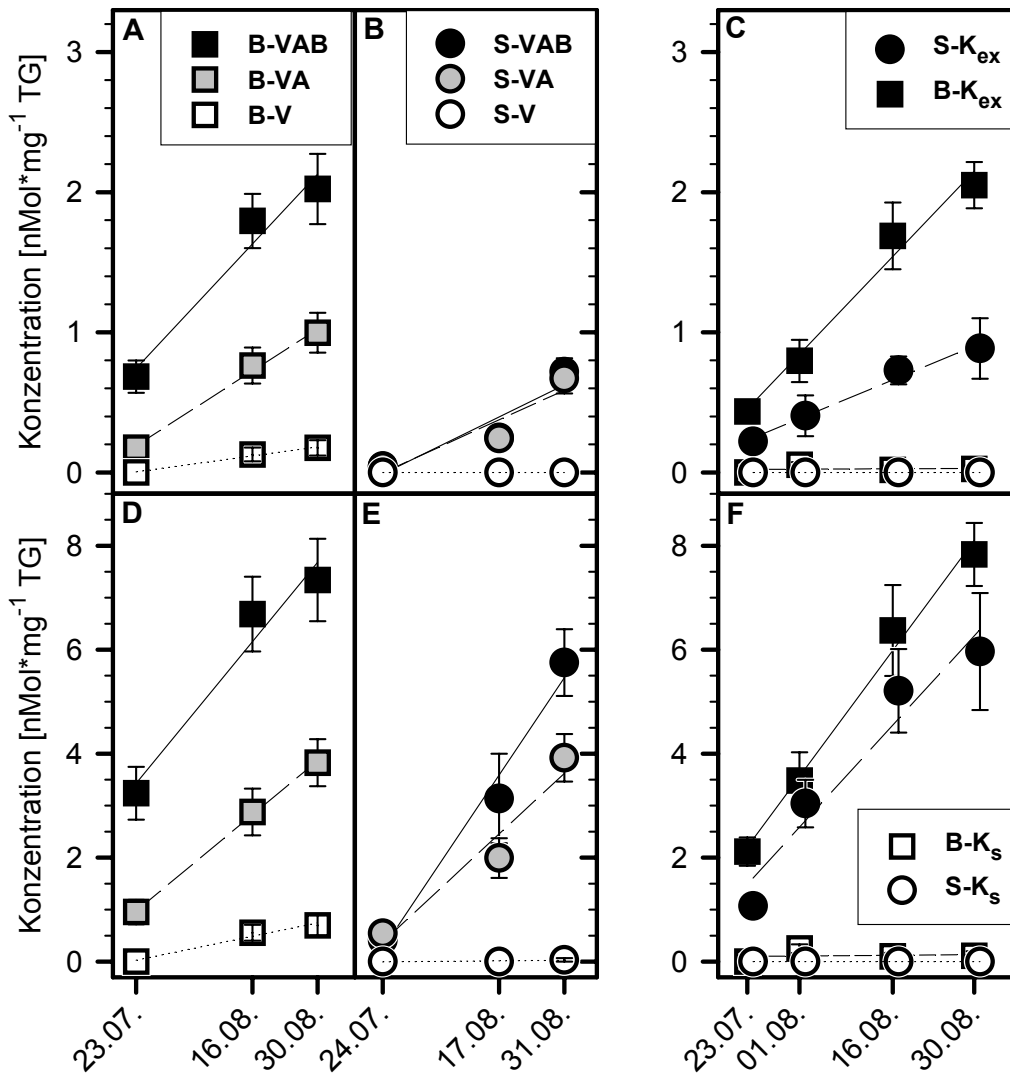
Unter V- Bedingungen waren die Quercetinkonzentrationen im Vergleich zu denen der beschatteten Variante bei beiden Sorten erhöht, was auf einen gewissen Einfluss sichtbarer Strahlung schließen lässt. Übereinstimmend mit den Kontrollgruppen war bei den Proben der Folienstandorte der Anteil von Kaempferol an der Gesamtmenge der Flavonoide geringer als der von Quercetin; zudem war für Kaempferol ein Anstieg über den Zeitraum zu beobachten (Abb. 3.38, Abb. 3.39). Die K<sub>s</sub>- Varianten



beider Sorten und die V- Variante von Silvaner zeigten allenfalls vereinzelt Spuren von Kaempferol.

Die entsprechend ihrer Chromophore zusammengefassten Flavonole leisteten einen unterschiedlich hohen Beitrag zu der jeweiligen Gesamtmenge, der sich zudem je nach Zeitpunkt und Strahlungsbedingung teilweise veränderte. Dies gilt im besonderen Maß für die beiden mit Q1 und Q2 bezeichneten Peaks, die im Vorhergehenden zu Quercetin zusammengefasst wurden. Bei allen Gruppen beider Sorten, die UV-Strahlung ausgesetzt waren, kam es im Laufe der Beerenentwicklung zu einer gesteigerten Synthese von Q2. Q1 hingegen wurde über die Zeit bei nahezu allen Varianten (durch Abbau oder Verdünnung) reduziert (Abb. 3.41). Besonders deutlich wurde dies bei den Beeren von Bacchus; bei Silvaner konnte unter VAB die Abnahme von Q1 nicht eindeutig beobachtet werden. Bei den K<sub>s</sub>- und den V- Varianten beider Sorten konnte keine Zunahme an Q2 beobachtet werden, wobei die Konzentrationen hier generell extrem niedrig waren. Durch die Auftragung der einzelnen Komponenten konnte auch gezeigt werden, dass die extreme Abweichung der exponierten Kontrolle bei Silvaner von allen anderen Gruppen auf den hohen Konzentrationen an Q1 beruhte (vgl. Abb. 3.38, Abb. 3.41). Die Zunahme von Q2 war bei Bacchus signifikant von V nach VAB gestaffelt, d.h. die Synthese wurde im besonderen Maß durch UV-B- Einwirkung angeregt; für Q1 konnte hingegen zwischen den drei Varianten kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Bei Silvaner wurde die Q2- Synthese ebenfalls durch UV- Exposition gesteigert, wobei hier nur an einem Zeitpunkt (17.08.00) unter VAB signifikant höhere Mengen bestimmt wurden als unter VA. Anders als bei Bacchus war bei Silvaner unter VAB die Q1- Konzentration gegenüber V signifikant erhöht, zwischen VAB und VA bestand, wiederum nur an einem Zeitpunkt, ein signifikanter Unterschied. Insgesamt war der Anteil dieser Komponente bei Silvaner unter UV- Exposition höher als bei Bacchus, Q2 hingegen verhielt sich umgekehrt. Bei den Kontrollstandorten wurden für Q1 in den Proben aus K<sub>ex</sub> zu drei Zeitpunkten, und für Q2 derselben Varianten an einem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen den beiden Sorten ermittelt (Abb. 3.41 C, F). Während es zwischen den beiden Quercetinkomponenten zu reifebedingten Verschiebungen kam, waren die Relationen der beiden Kaempferol-derivate K1 und K2 zueinander über den Zeitraum weitgehend stabil (Abb. 3.42). Dies gilt für alle Strahlungsbedingungen unter denen überhaupt Kaempferol gebildet wurde. Den größeren Anteil zur gesamten Menge an synthetisiertem Kaempferol trug

stets K2 bei, dessen Anteil moderat zwischen 78,5 und 95% schwankte; Anteile über 90% waren nur dann zu beobachten, wenn die Konzentrationen insgesamt sehr niedrig ausfielen.

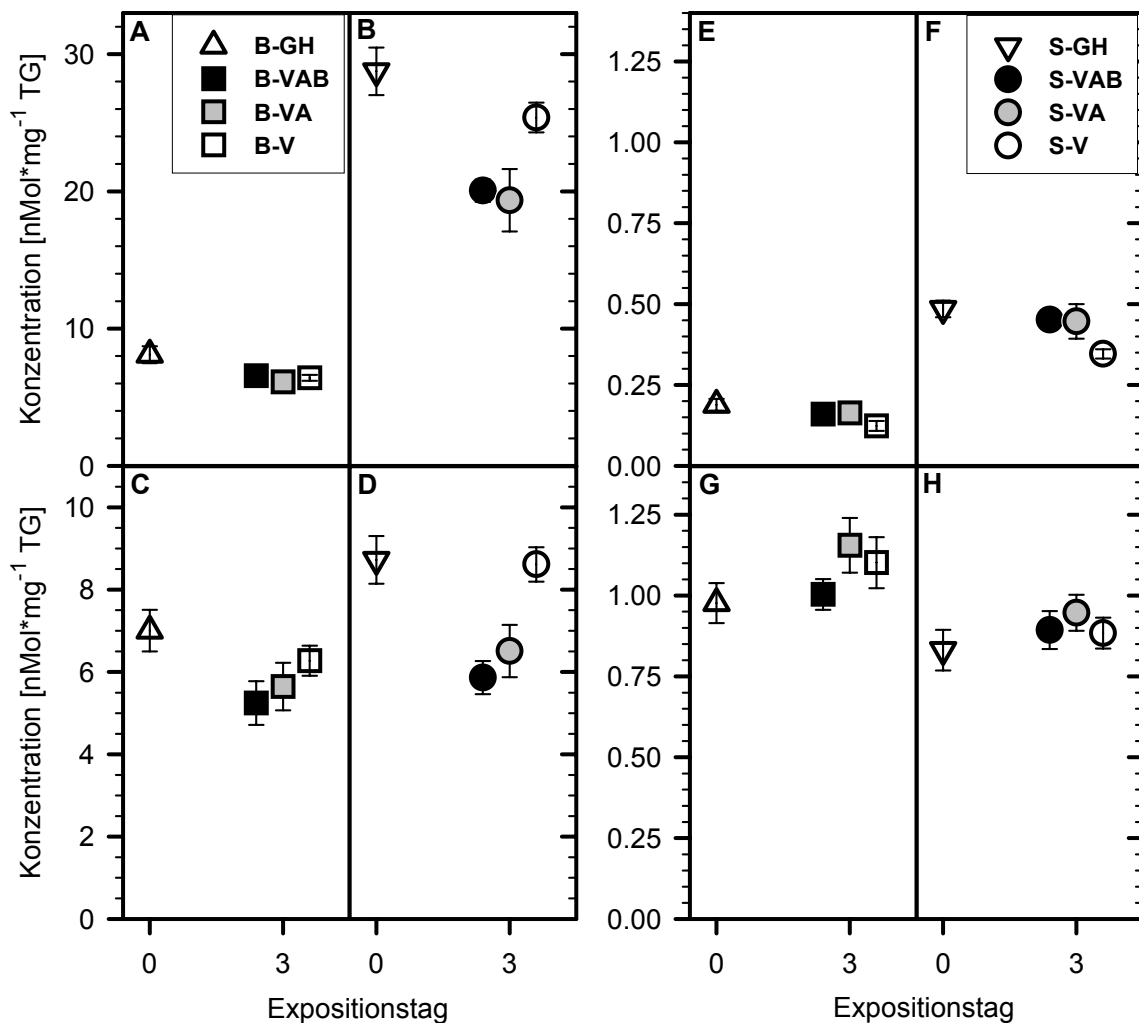


**Abb. 3.42:** Derivate von Kaempferol: K1 (A-C) und K2 (D-F) in der Beerenhaut von *V. vinifera* cv. Bacchus (A, D) und Silvaner (B, E) aus den verschiedenen Folien- (VAB, VA, V; in A, B, D, E) bzw. Kontrollstandorten K<sub>S</sub> und K<sub>ex</sub> (C, F). Gezeigt sind die auf das Trockengewicht der Proben bezogenen, molaren Konzentrationen. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für n= 6. Die Skalierung der x-Achse entspricht den zeitlichen Intervallen. In C, F wurde die um einen Tag versetzte Probenahme von Silvaner bei der Auftragung berücksichtigt; die angegebenen Termine sind hier die der Probenahme bei Bacchus. (Die Skalierung der y-Achse in A - C entspricht nicht der in D - F.)

Die Synthese beider Kaempferol-Komponenten wurde während der Entwicklung gesteigert. Unter Schwachlicht (K<sub>S</sub>) bzw. unter sichtbarem Licht allein (V) wurden aber auch mit zunehmendem Alter nur geringe Mengen gebildet, so dass der entscheidende Stimulus für die Synthese durch die UV-Strahlung gegeben wurde. Das Verhältnis der beiden Derivate zueinander scheint hingegen endogen festgelegt zu sein.

## b) Induktion

B/S I 2000: Von zwei Zeitpunkten (T0= 15.06.00 und T3= 19.06.00) wurden Proben für die Analyse phenolischer Komponenten herangezogen (Abb. 3.43, Abb. 3.44). Bei den Hydroxyzimtsäurederivaten konnte wiederum der bereits unter **a)** besprochene Sortenunterschied bezüglich der Kaffeeoyltartrate festgestellt werden (Abb. 3.43). Vor der Exposition lag die in der Haut der Silvanerbeeren gefundene mittlere Konzentration von  $28,7 \text{ nMol} \cdot \text{mg}^{-1}$  Trockengewicht um den Faktor 3,5 signifikant höher als bei den Beeren von Bacchus. Die Differenz zwischen den Sorten bezüglich der Konzentration der Coumaroyltartrate war zwar geringer, aber dennoch signifikant.



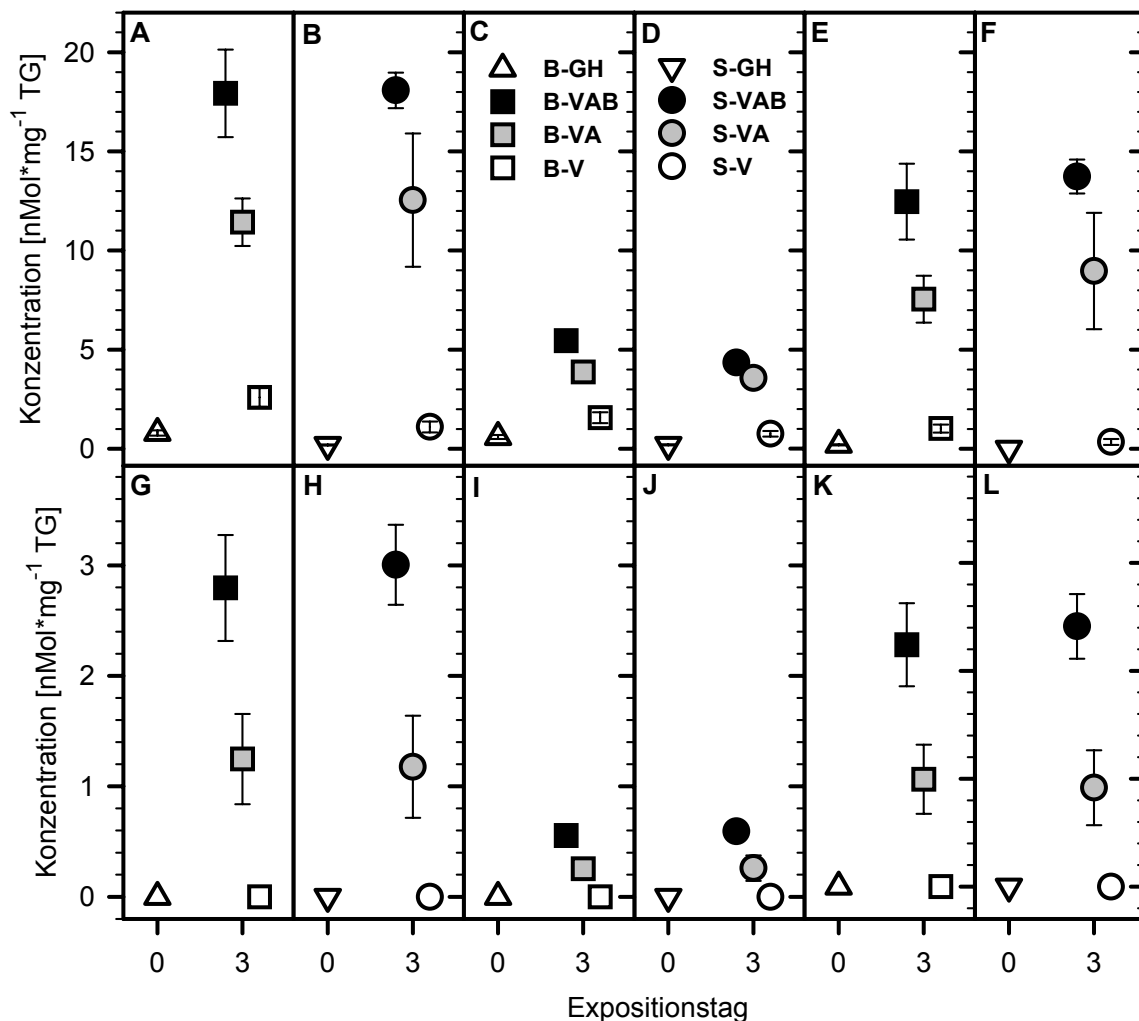
**Abb. 3.43:** B/S I 2000: Hydroxyzimtsäure- Derivate in der Beerenhaut von *V. vinifera* cv. **Bacchus** (**A**, **C**, **E**, **G**) und **Silvaner** (**B**, **D**, **F**, **H**) im Gewächshaus (**GH**) und nach 3-tägiger Exposition unter den verschiedenen Strahlungsbedingungen (**VAB**, **VA**, **V**). Gezeigt sind die auf das **Trockengewicht** der Proben bezogenen, molaren Gesamtmengen von Kaffeeoyl- (**A**, **B**) bzw. Coumaroyltartrat (**C**, **D**) sowie gesondert die Mengen der cis- Isomere von Kaffeeoyl- (**E**, **F**) bzw. Coumaroyltartrat (**G**, **H**). Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für n= 4 - 6 bzw. GH: n= 8. (Die Skalierung der y-Achse in A, B entspricht nicht der in C, D.)

Bei Bacchus wurde nach drei Tagen Exposition nur eine leichte Verringerung beider Substanzen von im Mittel 10 bis 25% festgestellt. Bei Silvaner wurden unter UV-Einfluss (VAB, VA) beide Komponenten um mittlere 25 bis 33% reduziert. Unter sichtbarem Licht allein (V) konnte keine signifikante Verminderung festgestellt werden, unter VAB waren gegenüber V die Konzentrationen beider Komponenten signifikant niedriger, für die Kaffeeoyltartrate galt dies auch für den Vergleich zwischen der VA- und der V- Variante.

Wie im Akklimatisationsexperiment entfiel der Hauptanteil sowohl bei Kaffeeoyl- als auch bei Coumaroyltartrat jeweils auf das trans- Isomer, wobei der Anteil von cis-Coumaroyltartrat an der Gesamtmenge mit 9,5 – 21% durchgehend höher lag als der von cis-Kaffeeoyltartrat am gesamten Kaffeeoyltartrat (1,9 – 2,8%). Die Anteile von cis-Coumaroyltartrat steigerten sich bei Bacchus nach 3-tägiger Exposition von 14% auf 17,5% - 21% und bei Silvaner von 9,5% auf 10% - 15%. Diese geringfügige Steigerung, wurde allerdings mehr durch die Verringerung der trans-Komponente als durch eine tatsächlich erhöhte Bildung der cis-Komponente verursacht (Abb. 3.43). Auf eine gesonderte Darstellung der trans- Isomere wurde aufgrund des geringen Unterschiedes zwischen Gesamtmenge und Anteil der trans- Isomere verzichtet.

Die vor dem Beginn der Exposition nicht oder nur in Spuren nachweisbaren Flavonoide erfuhren durch die 3-tägige Exposition unter UV- Einfluss eine drastische Steigerung, die bei beiden Sorten vor allem auf einer erhöhten Akkumulation von Quercetin beruhte (Abb. 3.44 A, B). Sowohl die Akkumulation von Kaempferol- als auch von Quercetinderivaten wurde durch die Exposition unter VAB im Vergleich zu VA signifikant verstärkt. Sichtbares Licht allein (V) bewirkte hingegen eine nur sehr geringfügige Steigerung der Quercetinsynthese, während die Kaempferolsynthese dadurch nicht angeregt werden konnte (Abb. 3.44 G, H). Die durch UV- Strahlung gesteigerte Kaempferolkonzentration trug nur 8 – 14% zum gesamten Flavonolpool bei, wobei der prozentuale Anteil unter VAB-Bedingungen im Vergleich zu VA-Bedingungen bei beiden Sorten höher lag. Die Anteile der verschiedenen Peaks an der Gesamtmenge der Flavonoide fielen bei beiden Sorten nach UV- Exposition übereinstimmend von  $Q2 > Q1 > K2 > K1$  (vgl. Abb. 3.44 C – F und I - L). Die als Quercetinhexoside (Q2) identifizierten Substanzen machten unter VAB und VA bei Bacchus 65% bis 69% und bei Silvaner 70% bis 76% der gesamten Quercetinmenge aus. Unter V hatte Q2 hingegen einen Anteil von nur 38,5% (Bacchus) bzw. 27,5%

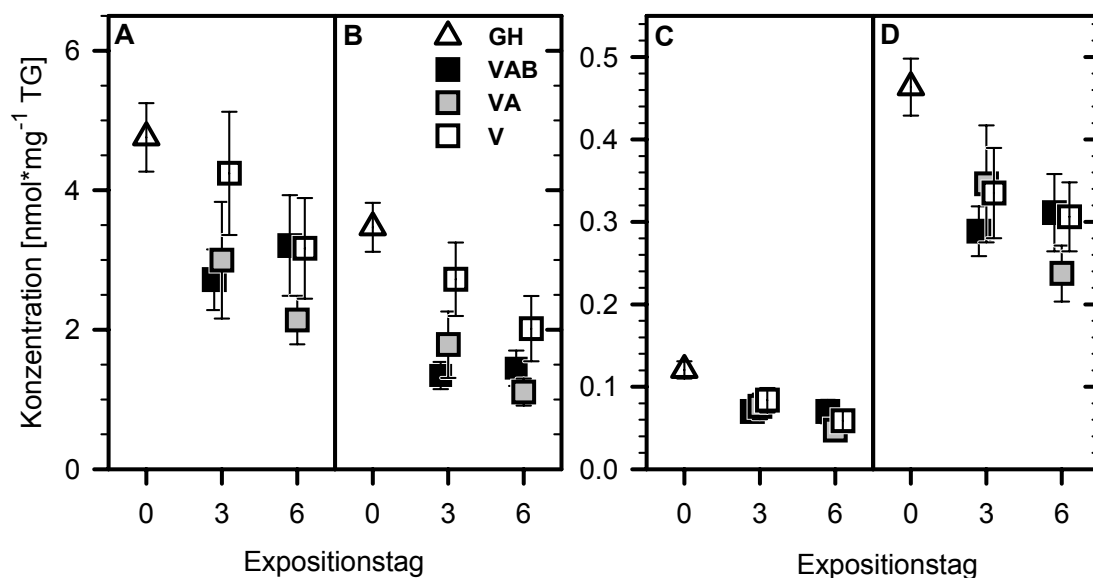
(Silvaner) und unter Gewächshausbedingungen von 25% (Bacchus) bzw. gar keinen (Silvaner). Von den beiden Kaempferolhexosiden hatte K2 übereinstimmend für beide Sorten einen Anteil von 79 – 80% am insgesamt nachgewiesenen Kaempferol (vgl. auch Abb. 3.42). Anders als für die Hydroxyzimtsäurederivate konnte bei der kurzzeitig durch UV-Strahlung angeregten Bildung der Flavonoide zwischen den Sorten kein signifikanter Unterschied gefunden werden. Insgesamt müssen die Ergebnisse, vor allem die von Silvaner nach dreitägiger Exposition, vorsichtig diskutiert werden, da hier nur geringe Stichprobengrößen vorlagen.



**Abb. 3.44:** B/S I 2000: Flavonoid- Derivate in der Beerenhaut von *V. vinifera* cv. **Bacchus** (A, C, E, G, I, K) und **Silvaner** (B, D, F, H, J, L) im Gewächshaus (GH) und nach 3-tägiger Exposition unter den verschiedenen Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V). Gezeigt sind die auf das Trockengewicht der Proben bezogenen, molaren Gesamtmengen von Quercetin (A, B) bzw. Kaempferol (G, H) und gesondert die Mengen der einzelnen Peaks: Q1 (C, D), Q2 (E, F), K1 (I, J) und K2 (K, L). Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für n= 4 - 6 bzw. GH: n= 8. (Die Skalierung der y-Achse in A - F entspricht nicht der in G - L.)

B I 2001: Die Ausgangskonzentrationen der Hydroxyzimtsäurederivate waren mit mittleren 4,8 und 3,5 nMol\*mg<sup>-1</sup> Trockengewicht für Kaffeeoyl- bzw. Coumaroyltartrat bereits sehr niedrig und wurden während der 6-tägigen Exposition unter allen

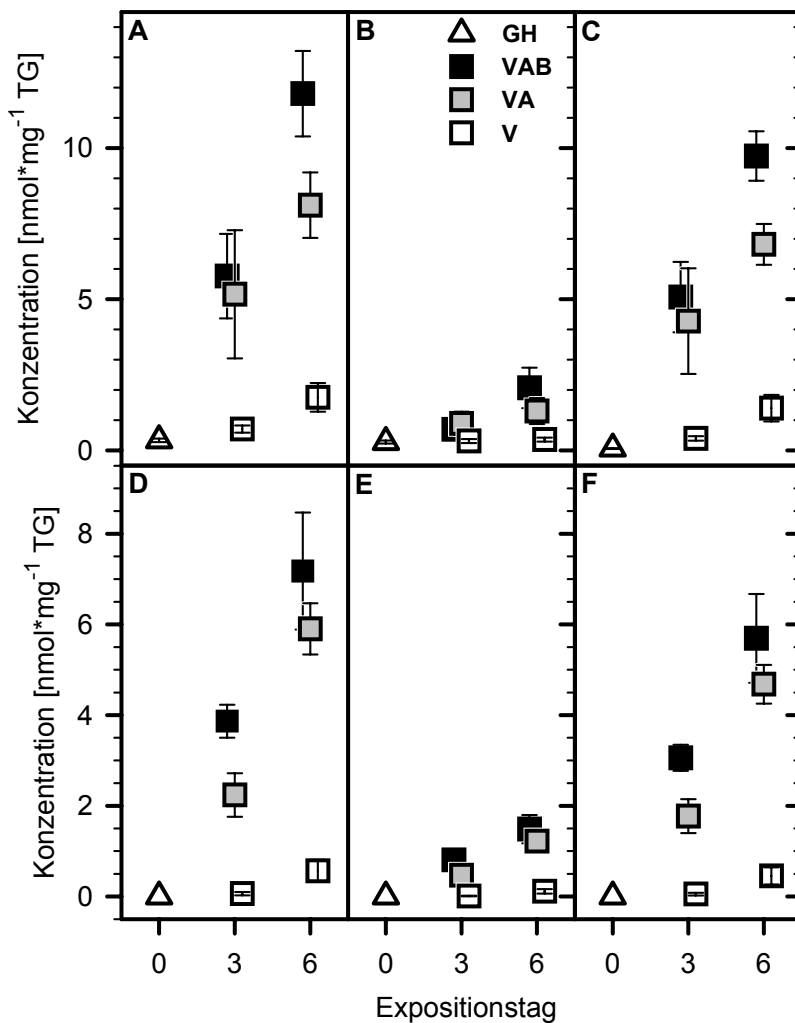
Strahlungsbedingungen noch signifikant vermindert, wobei zwischen den Proben eines Tages kein signifikanter Einfluss der verschiedenen Strahlungsbedingungen zu sehen war (Abb. 3.45). Bei den Flavonoiden konnten vor der Exposition nur Spuren von Quercetinderivaten festgestellt werden, Kaempferol wurde nicht gefunden (Abb. 3.46). Nach sechs Tagen wurden unter VAB- im Mittel 11,7, unter VA- 8,1 und unter V- Exposition 1,8 nMol Quercetin pro mg Trockengewicht synthetisiert. Kaempferol blieb mit jeweils 7,2 bzw. 5,9 unter VAB bzw. VA, wie auch bereits im Induktionsexperiment 2000, hinter der jeweiligen Quercetinmenge zurück. Unter V- Bedingungen wurden nur Spuren von Kaempferol gefunden. Für die Menge der insgesamt synthetisierten Flavonole bestand zwischen allen Varianten ein signifikanter Unterschied.



**Abb. 3.45:** B I 2001: Hydroxyzimtsäure- Derivate in Beerensegmenten von *V. vinifera* cv. **Bacchus** im Gewächshaus (GH) und nach 3- bzw. 6-tägiger Exposition unter den verschiedenen Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V). Gezeigt sind die auf das Trockengewicht der Proben bezogenen, molaren Gesamt mengen von Kaffeeoyl- (A) und Coumaroyltartrat (B), sowie gesondert die cis- Isomere von Kaffeeoyl- (C) und Coumaroyltartrat (D). Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für n= 8, bzw. GH: n= 20. (Die Skalierung der y-Achse in A, B entspricht nicht der in C, D.)

Ein direkter Vergleich der Absolutwerte aus den beiden Induktionsexperimenten kann aufgrund der veränderten Aufbereitung (s. 2.2.4.1) leider nicht erfolgen. Ein Vergleich der Relationen zwischen Coumaroyltartrat und der Gesamtmenge der Hydroxyzimtsäuren für die Zeitpunkte T0 und T3 ergab für B I 2001 Anteile von 33% bis 42%, im Jahr 2000 wurden jedoch mit 44% bis 49% deutlich höhere Anteile festgestellt; unter VAB wurden, übereinstimmend für beide Experimente, die niedrigsten Beiträge dieser Komponente gefunden. Der Anteil der cis- Komponente am gesamten Kaffeeoyltartrat betrug in beiden Experimenten nur 1,9 – 2,8%. Auch eine leichte Steigerung des Anteils der cis- Komponente von Coumaroyltartrat von 14% auf 21 –

22% unter VAB und VA nach drei Tagen Exposition konnte 2001 erneut beobachtet werden; allerdings blieb diese unter V in diesem Fall aus. Nach sechs Tagen betrug ihr Anteil unter VA und VAB 22,5%, unter V dann auch 17%. Diese Verschiebung wurde hier eindeutig nicht durch Neusynthese der cis-, sondern durch eine stärkere Reduzierung der trans- Komponente verursacht (Abb. 3.45).



**Abb. 3.46:** B I 2001: Quercetin- (A - C) und Kaempferolderivate (D - F) in Beerensegmenten von *V. vinifera* cv. Bacchus im Gewächshaus (GH) und nach drei bzw. sechs Tagen Exposition unter den drei verschiedenen Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V). Gezeigt sind die auf das Trockengewicht der Proben bezogenen, molaren Gesamt-mengen (A, D) bzw. die Mengen der einzelnen Peaks Q1 (B), Q2 (C), K1 (E) und K2 (F). Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für n= 8, bzw. (GH) für n= 20. (Die Skalierung der y-Achse in A - C entspricht nicht der in D - F.)

Der prozentuale Anteil von Kaempferol an der Gesamtmenge der Flavonole stieg 2001 innerhalb von drei Tagen auf 33% (VA) bzw. 45% (VAB) an, wohingegen er im Experiment B/S I 2000 innerhalb derselben Zeitspanne nur 9% (VA) und 13% (VAB) erreichte. Die bereits im Jahr 2000 festgestellte Relation zwischen K2 und K1 wurde hier bestätigt; K2 trug 79% - 83% zum insgesamt gebildeten Kaempferol bei. Dieses Verhältnis stimmte für alle Bedingungen, unter denen Kaempferol nachweisbar war, überein. Bei Quercetin betrug der Anteil von Q2 unter VAB und VA zwischen 82% und 90%, unter V nach drei Tagen Exposition 55% und nach sechs Tagen 73%. In den Proben von T0 hingegen entfielen nur 17% der insgesamt geringen Menge an Quercetin auf Q2. Verglichen mit den im Experiment B/S I 2000 gefundenen

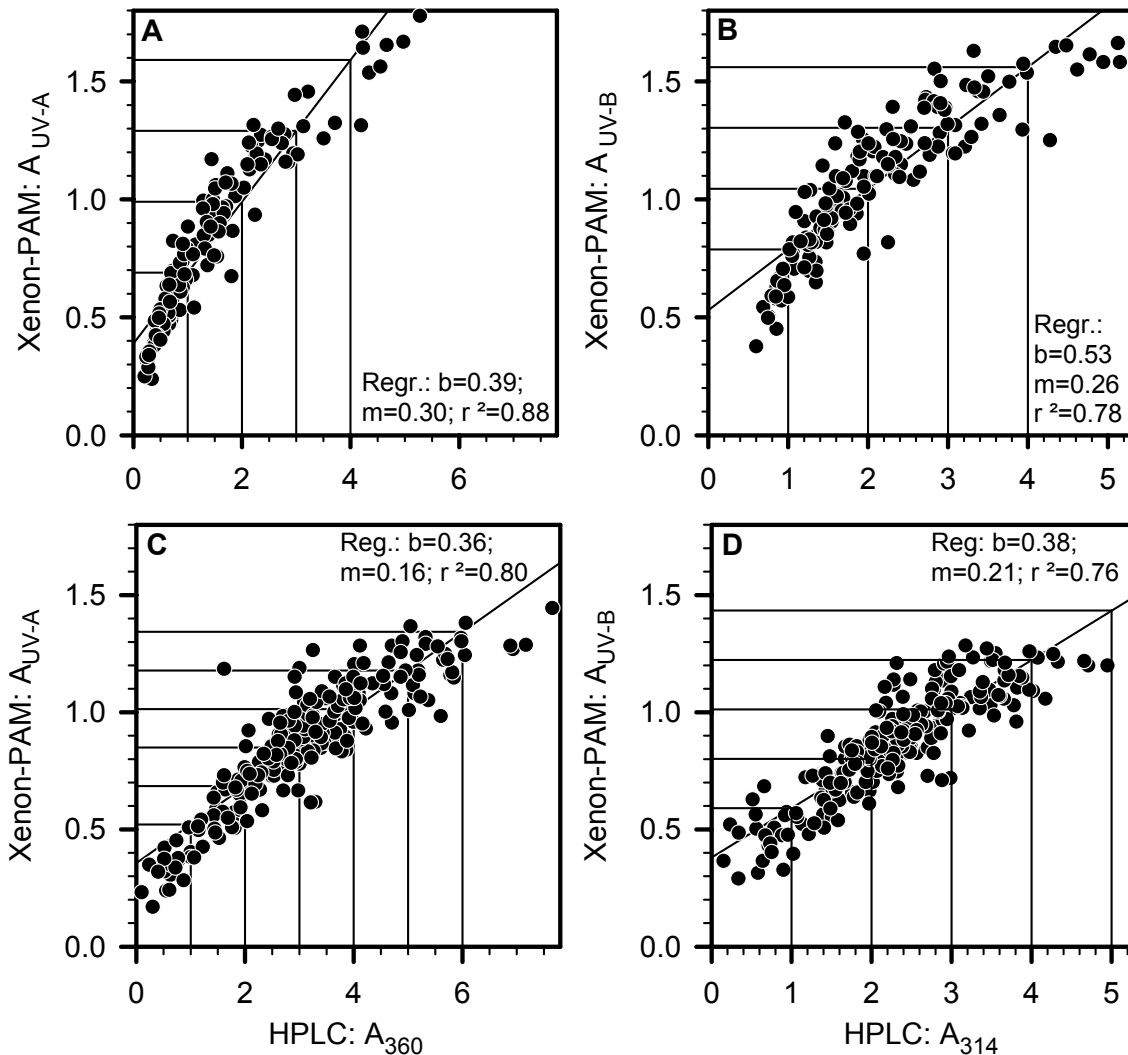
Relationen waren hier nach dreitägiger Exposition die Verhältnisse zugunsten von Q2 verschoben, zum Zeitpunkt T0 jedoch zugunsten von Q1. Für beide Experimente lässt sich zusammenfassen, dass die Kaempferolderivate immer in einem strikten Verhältnis von etwa 80:20 von K2:K1 synthetisiert wurden, während sich das Verhältnis von Q1:Q2 je nach Strahlungsbedingung verschob.

### **3.5 Korrelation zwischen fluorimetrisch und chemisch- analytisch bestimmter epidermaler UV-Absorption**

#### **3.5.1 Vergleich zwischen Blättern von *V. vinifera* und *H. vulgare***

Am Beispiel von Weinblättern konnte der Zusammenhang zwischen epidermaler UV-Transmission in vivo und den Absorptionseigenschaften extrahierter phenolischer Substanzen gezeigt werden (Kolb et al., 2001). Für den Vergleich der beiden Methoden wurde die fluorimetrisch bestimmte epidermale UV- Absorption ( $A_{UVA}$ ,  $A_{UVB}$ ) mit der chromatographisch ermittelten Absorption der Extrakte bei 314 bzw. 360 nm ( $A_{314}$ ,  $A_{360}$ ) in Relation gesetzt (Abb. 3.47). Hier sollte dieser Zusammenhang bei Gerste überprüft werden. Die in die Abbildung 3.47 einbezogenen Werte stammen aus den Experimenten mit den beiden Gerstensorten (s. 2.1.1) aus zwei verschiedenen Jahren (2000 und 2001) und sind sowohl den Akklimatisations- als auch den Induktionsexperimenten entnommen. Offensichtlich besteht zwischen den beiden Methoden eine sehr gute Korrelation: Es kann also davon ausgegangen werden, dass die über die Xenon-PAM gefundene Einschätzung der Absorption bei Gerste zu 80 bzw. 76% durch die löslichen phenolischen Komponenten bedingt wird. Dies bestätigt die bereits für Weinblätter gefundene Korrelation zwischen den beiden Methoden (s. Abb. 3.47 A, B). Übereinstimmend für beide Arten waren die y-Achsenabschnitte der Regressionsgeraden positiv. Dies würde bedeuten, dass die fluorimetrische Absorption ( $A_{UVA}$ ,  $A_{UVB}$ ) auch dann noch gemessen würde, wenn mit der hier verwendeten Methode bereits keine phenolischen Komponenten mehr extrahierbar wären. Die Relationen zwischen  $A_{314}$  und  $A_{UVB}$  waren bei beiden Arten ähnlich; für die Relation zwischen  $A_{360}$  und  $A_{UVA}$  hingegen zeigte die Regressionsgerade bei *V. vinifera* eine etwa um den Faktor 2 höhere Steigung als bei *H. vulgare*. Auffällig war auch, dass bei Wein die Relation zwischen  $A_{360}$  und  $A_{UVA}$  ( $m_{Reg} = 0,30$ ) steiler verlief als die zwischen  $A_{314}$  und  $A_{UVB}$  ( $m_{Reg} = 0,26$ ); bei Gerste hingegen war diese Beziehung gerade umgekehrt ( $A_{UVA} / A_{360}$ :  $m_{Reg} = 0,16$ ;  $A_{UVB} / A_{314}$ :  $m_{Reg} = 0,21$ ).

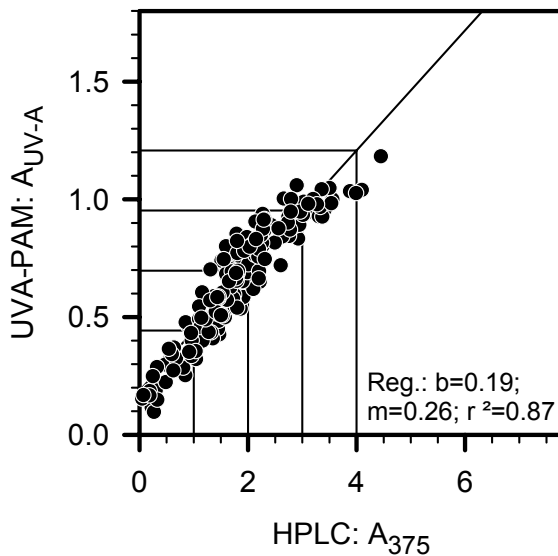




**Abb. 3.47:** Zusammenhang zwischen fluorimetrisch bestimmter epidermaler Absorption ( $A_{UVA}$ ,  $A_{UVB}$ ) und der Absorption extrahierter phenolischer Komponenten ( $A_{360}$ ,  $A_{314}$ ) bei Blättern von *V. vinifera* (A, B) und *H. vulgare* (C, D).  $A_{UVA}$ ,  $A_{UVB}$  wurde aus  $T_{UVA}$ ,  $T_{UVB}$  berechnet (s. 2.2.2.2). Die Regressionsgeraden sind jeweils mit Steigung ( $m$ ), y-Achsenabschnitt ( $b$ ) und Bestimmtheitsmaß ( $r^2$ ) für  $n=231$  (*H. vulgare*) bzw.  $n=137$  (*V. vinifera*) angegeben. (Die Skalierung der x-Achse in A, C entspricht nicht der in B, D.)

Verschiedene Faktoren spielen hier eine Rolle: die beiden Arten weisen unterschiedliche phenolische Komponenten auf (s. 3.4), zudem ist die Lokalisation der Komponenten bei Gerste nicht auf die obere Epidermis allein beschränkt (Schmitz, 2001, Liu et al., 1995). Zellwandgebundene Hydroxyzimtsäurederivate, die hier nicht erfasst wurden, könnten bei Gerste Einfluss auf die epidermale UV-B-Absorption nehmen. Die y-Achsenabschnitte waren bei der Relation von  $A_{UVA} / A_{360}$  etwas geringer als bei  $A_{UVB} / A_{314}$  (Abb. 3.47). Setzt man das  $A_{UVA}$ , das mittels UVA-PAM bestimmt wurde, mit der entsprechenden Absorption der phenolischen Extrakte bei 375 nm in Relation, ist die Verringerung des y-Achsenabschnittes noch deutlicher zu beobachten (Abb. 3.48). Dies macht einen Einfluss zellwandgebundener Substanzen auf die Beziehung zwischen  $A_{UVB}$  und  $A_{314}$  wahrscheinlich, da es sich dabei um

Hydroxyzimtsäurederivate handelt, die bei höheren Wellenlängen nur einen geringen bis gar keinen Beitrag zur Absorption in vivo mehr leisten können.



**Abb. 3.48:** Zusammenhang zwischen fluorimetrisch (UVA-PAM) bestimmter, epidermaler Absorption ( $A_{UVA}$ ) und der Absorption extrahierter phenolischer Komponenten ( $A_{375}$ ) bei Blättern von *H. vulgare*.  $A_{UVA}$  wurde aus  $T_{UVA}$  berechnet. Die Regressionsgerade ist mit Steigung ( $m$ ), y-Achsenabschnitt ( $b$ ) und Bestimmtheitsmaß ( $r^2$ ) für  $n=176$  angegeben. Die Skalierung der Achsen wurde an Abb. 3.47 A, C angepasst.

Generell nicht zu vernachlässigen ist in diesem Zusammenhang auch, dass hier die Absorption einer homogenen Schicht ( $A_{360}$ ,  $A_{314}$ ) mit der Absorption aus der Epidermis ( $A_{UVA}$ ,  $A_{UVB}$ ) verglichen wird, in der die absorbierenden Substanzen in Vakuolen angeordnet sind. Zwischen den Bereichen, die von den Vakuolen abgedeckt sind, befinden sich quasi Lücken mit niedriger Absorption. Dieser Umstand wurde bereits von Day als „Siebeffekt“ diskutiert (Day et al., 1993).

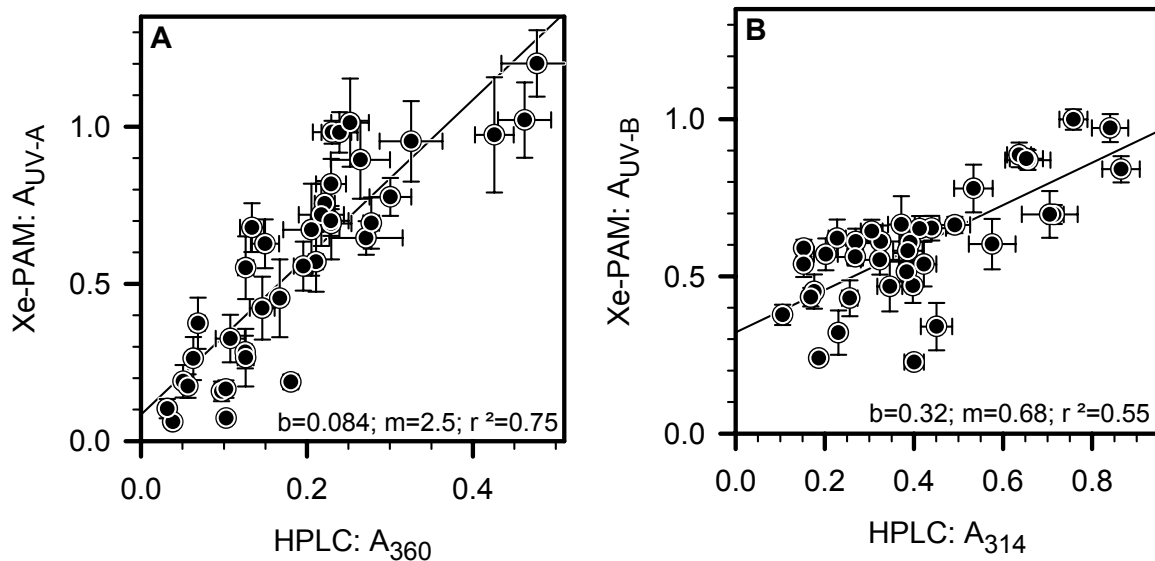
### 3.5.2 Beeren von *V. vinifera*

#### a) Experimente 2000

Die für Blätter gefundenen Zusammenhänge sollten hier auch für die Beeren von *V. vinifera* überprüft werden. Da die Flächenbestimmung hier z. T. als nicht ganz zuverlässig erachtet wurde, wurden die Werte letztendlich über das Trockengewicht der lyophilisierten Beerenhäute normiert. Dies ist im Folgenden zu berücksichtigen, weil dadurch ein direkter Vergleich mit den Blattsystemen ausgeschlossen wird.

Da die hier in Beziehung gesetzten Proben keine direkt verbundenen Proben darstellen (s. 2.2.1, 2.2.4.1), wurden die Methoden über die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen verglichen (Abb. 3.49). Zusammengefasst wurden die jeweils an einem Tag genommenen Proben derselben Sorte, die identischen Bedingungen ausgesetzt waren ( $n = 37$ ), wobei die Gruppen aus je 4 bis 10 Einzelwerten bestanden. Die so bestimmten Regressionsgeraden erreichen jeweils ein Bestimmtheitsmaß von 0.75 und 0.55 für UV-A- bzw. UV-B- Absorption und extrapolieren in beiden Fällen nicht

durch den Nullpunkt, d.h. die über Fluorimetrie bestimmte Absorption liegt auch hier über der der phenolischen Extrakte.



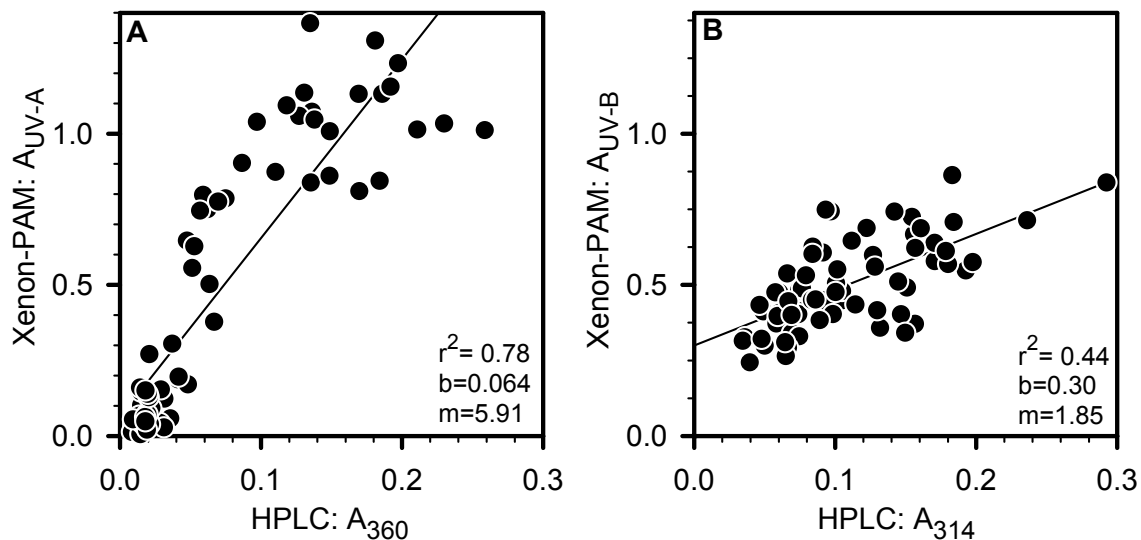
**Abb. 3.49:** Zusammenhang zwischen fluorimetrisch bestimmter epidermaler Absorption ( $A_{UVA}$ ,  $A_{UVB}$ ) und der Absorption extrahierter phenolischer Komponenten ( $A_{360}$ ,  $A_{314}$ ) aus Beerenhaut von *V. vinifera* cv. Silvaner und cv. Bacchus. Die Normierung der  $A_{360}$  bzw.  $A_{314}$  erfolgte über das Trockengewicht der Proben (mg). Dargestellt sind die Mittelwerte aus 4 - 10 parallelen Proben jeweils desselben Tages und derselben Strahlungsbedingung. Die Regressionsgeraden sind jeweils mit y-Achsenabschnitt (b), Steigung (m) und Bestimmtheitsmaß ( $r^2$ ) für  $n=37$  angegeben (s. Text). (Die Skalierung der x-Achse in A entspricht nicht der in B.)

Ein Problem stellt die in 2.2.2.2 dargelegte Abhängigkeit der Anpassung von der Expositionsrichtung der Beeren dar: Während bei der fluorimetrischen Messung nur die Transmission der exponierten Seite der Beeren bestimmt wurde, ging in die chromatographische Bestimmung der Absorption hier die Haut der gesamten Beere ein (s. unten). Dennoch kann über die Absorption der extrahierten phenolischen Substanzen der überwiegende Teil der epidermalen Abschirmung der Beeren erklärt werden, wobei der Zusammenhang für  $A_{UVA} / A_{360}$  eindeutiger ausfällt.

### b) Experiment B I 2001

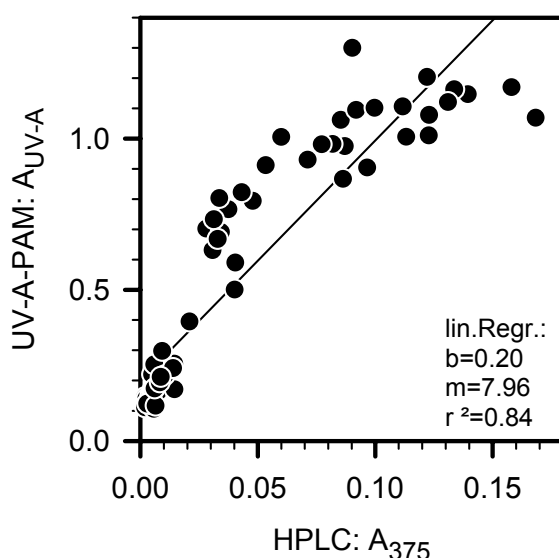
Die Ergebnisse von Transmissions-Messungen mit der UVA-PAM an lichtexponierten und lichtabgewandten Seiten innerhalb derselben Beeren zeigten, in Abhängigkeit von der Expositionsbedingung, signifikante Unterschiede (s. 2.2.2.2). Daher wurde im Jahr 2001 mit direkt verbundenen Stichproben gearbeitet (vgl. 2.2.1), wodurch auch die Auswahl der exponierten Seite sicher gestellt wurde. Verglichen mit den Daten aus dem Jahr 2000 ist die Ähnlichkeit der y-Achsenabschnitte der Regressionsgeraden zwischen den Experimenten auffällig, während die Steigungen im Jahr 2001 mehr als doppelt so hoch ausfielen (vgl. Abb. 3.50,

Abb. 3.49). Die Korrelation war wiederum für die Beziehung  $A_{UVA} / A_{360}$  eindeutiger als für die von  $A_{UVB} / A_{314}$ .



**Abb. 3.50:** Zusammenhang zwischen fluorimetrisch bestimmter epidermaler Absorption ( $A_{UVA}$ ,  $A_{UVB}$ ) und der Absorption extrahierter phenolischer Komponenten ( $A_{360}$ ,  $A_{314}$ ) aus Beerensegmenten von *V. vinifera* cv. Bacchus. Die Normierung von  $A_{360}$  bzw.  $A_{314}$  erfolgte über das Trockengewicht der Proben (mg). Die Regressionsgeraden sind jeweils mit y-Achsenabschnitt (b), Steigung (m) und Bestimmtheitsmaß ( $r^2$ ) für  $n = 68$  angegeben.

Ein direkter Vergleich zwischen den beiden Jahren ist wegen der Normierung über das Trockengewicht problematisch: Da im Jahr 2000 nur die Haut der Beeren getrocknet wurde, im Jahr 2001 jedoch Segmente, die auch ein Stück Beerenfleisch enthielten, ist eine Verringerung der extrahierbaren Absorption nicht verwunderlich. Das Beerenfleisch enthält keine nennenswerten Mengen an phenolischen Substanzen (s. 3.3), ging aber hier in das Trockengewicht mit ein, wodurch quasi eine Verdünnung der Probe erfolgte.



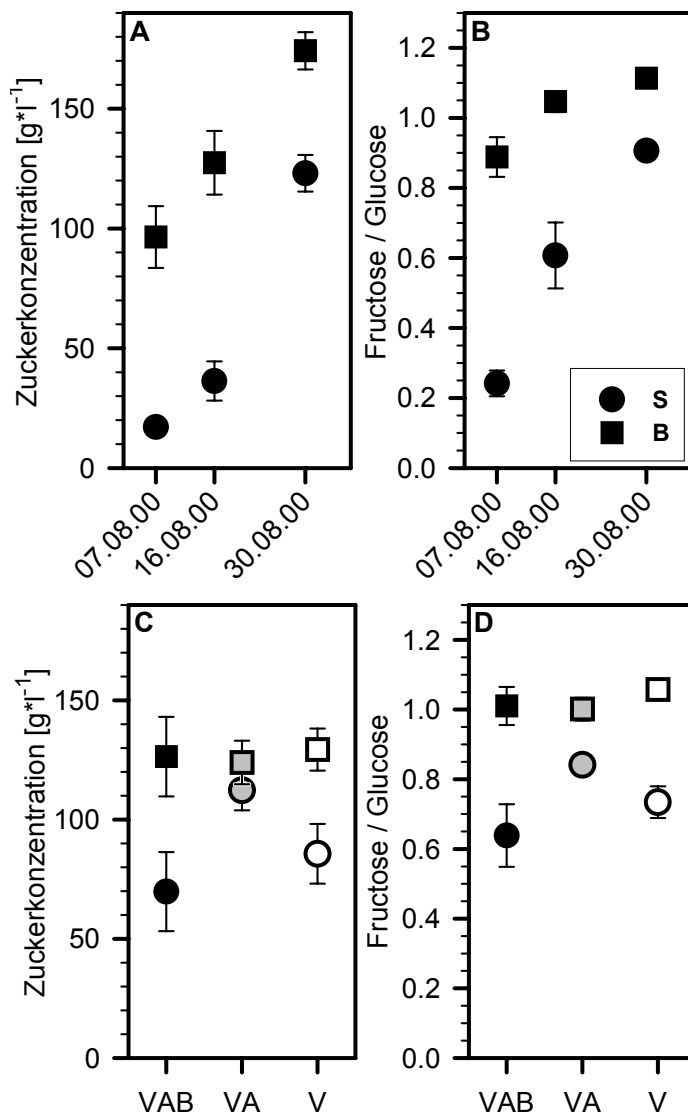
**Abb. 3.51:** Zusammenhang zwischen fluorimetrisch bestimmter epidermaler Absorption ( $A_{UVA}$  aus UVA-PAM) und der Absorption extrahierter phenolischer Komponenten ( $A_{375}$ ) aus Beerensegmenten von *V. vinifera* cv. Bacchus. Die Normierung von  $A_{375}$  erfolgte über das Trockengewicht der Proben (mg). Die Regressionsgerade ist mit y-Achsenabschnitt (b), Steigung (m) und Bestimmtheitsmaß ( $r^2$ ) für  $n = 68$  angegeben.

Setzt man auch hier das  $A_{UVA}$ , das mittels UVA-PAM bestimmt wurde, mit der entsprechenden Absorption der phenolischen Extrakte bei 375 nm in Relation, ist eine Verbesserung der Korrelation ( $r^2 = 0,84$ ) festzustellen (Abb. 3.51). Die hier gefundene Beziehung verläuft steiler als die mittels Xenon-PAM bestimmte Relation von  $A_{UVA} / A_{360}$ . Anders als bei Gerste war jedoch der y- Achsenabschnitt erhöht (vgl. Abb. 3.47, Abb. 3.48).

Insgesamt kann für die Beeren der überwiegende Teil der epidermalen UV-A-Transmission über die Absorption der phenolischen Komponenten in der Beerenhaut erklärt werden. Bezüglich der UV-B-Transmission muss davon ausgegangen werden, dass hier noch andere Faktoren als im Blatt Einfluss nehmen, die bisher nicht eindeutig abgeklärt werden konnten.

### **3.6 Zuckernalytik bei Beeren von *V. vinifera***

Die Gesamtzuckerkonzentration der zu drei Zeitpunkten aus den exponierten Kontrollstandorten des Akklimatisationsexperimentes B/S A 2000 entnommenen Proben betrug bei Bacchus im Mittel 96, 127 und 174  $g \cdot L^{-1}$ , bei Silvaner wurden 17, 36 und 123  $g \cdot L^{-1}$  festgestellt (Abb. 3.52 A). Das Verhältnis zwischen den beiden Hauptkomponenten Glucose und Fructose, ausgedrückt als Quotient aus Konzentration Fructose / Konzentration Glucose, veränderte sich bei beiden Sorten mit der Zeit zu Gunsten der Fructose (Abb. 3.52 B; Currie et al., 1983). Bei Bacchus war im gegebenen Zeitraum eine Steigerung von 0,89 auf 1,11, bei Silvaner von 0,24 auf 0,9 zu verzeichnen. Der Anteil der Saccharose an der gesamten Zuckerkonzentration war mit 1% bis 5% bei beiden Sorten übereinstimmend sehr niedrig. Um Unterschiede zwischen den verschiedenen Strahlungsbedingungen abschätzen zu können, wurden alle Proben des 16.08.00 (Bacchus) bzw. des 17.08.00 (Silvaner) analysiert. Bei Bacchus konnten zwischen den Proben aus den verschiedenen Expositionsbedingungen bezüglich des Zuckergehaltes keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (Abb. 3.52 C). Bei Silvaner wichen die Proben der exponierten Kontrollvariante und die der unter VA exponierten Gruppe von den anderen Gruppen ab, wobei die Werte von  $K_{ex}$  geringer, die der VA-Variante hingegen höher ausfielen. Die Proben von Bacchus zeigten für alle Bedingungen, mit Ausnahme der VA-Variante, höhere Zuckerkonzentrationen als Silvaner; signifikante Unterschiede zwischen den Sorten traten jedoch nur zwischen der  $K_{ex}$ -Variante von Silvaner und allen Varianten von Bacchus auf.



**Abb. 3.52:** Konzentration des Gesamtzuckers (**A, C**) und Relation der beiden Hauptkomponenten Fructose und Glucose, ausgedrückt als Quotient ihrer Konzentrationen (**B, D**), in Beeren von *V. vinifera* cv. **Bacchus** und **Silvaner** aus dem Akklimatisationsversuch B/S A 2000. Dargestellt sind Proben von drei verschiedenen Zeitpunkten aus dem Kontrollstandort  $K_{\text{ex}}$  (**A, B**) und Proben aus den drei verschiedenen Strahlungsvarianten (VAB, VA, V) entnommen am 16.08. (Bacchus) bzw. am 17.08.00 (Silvaner) (**C, D**). Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für  $n = 5 - 6$ .

Bezüglich des Quotienten aus Fructose- und Glucosekonzentration waren zwischen den Varianten jeweils einer Sorte keine signifikanten Unterschiede zu beobachten. Zwischen den Sorten hingegen waren die Werte aller Varianten von Bacchus signifikant höher als die entsprechenden Werte von Silvaner; die einzige Ausnahme bildete die VA-Variante von Silvaner, die sich von keiner der Bacchus-Varianten signifikant unterschied.

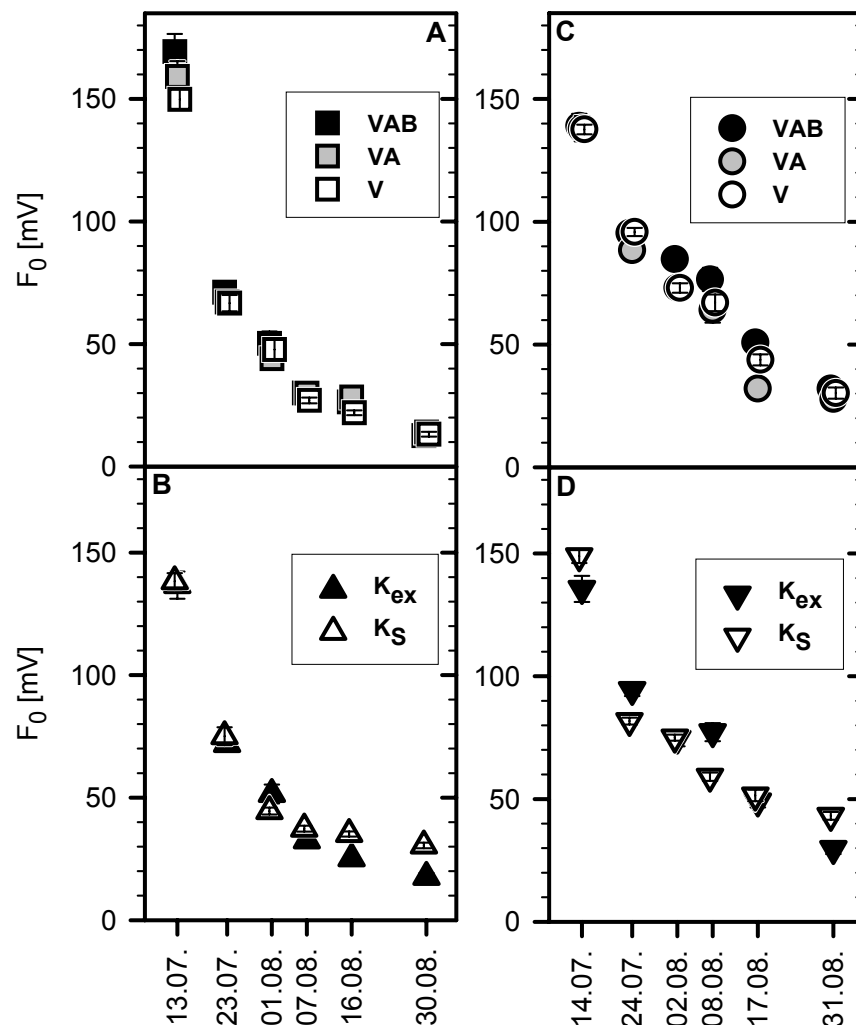
Die in den Induktionsversuchen B/S I 2000 und B I 2001 durchgeführten Zuckeranalysen ergaben nach fünf bzw. acht Tagen Exposition keine signifikanten Unterschiede für die drei verschiedenen Strahlungsbedingungen VAB, VA und V (nicht gezeigt). Bei den nach fünf Tagen entnommenen Proben (B/S I 2000) wurde bei Silvaner eine mittlere Gesamtkonzentration von  $4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $n=14$ ) und bei Bacchus von  $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $n=16$ ) gemessen. Die Relation Fructose zu Glucose lag für Bacchus mit mittleren 0,34 über der bei Silvaner mit 0,23. Der Anteil der Saccharose am

Gesamtzucker betrug hier 8- 11% (Bacchus) und 5- 8% (Silvaner). Die Unterschiede zwischen den Sorten waren nicht signifikant. Im Versuch B I 2001 wurde nach acht Tagen Exposition eine mittlere Zuckerkonzentration von  $128 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $n=12$ ) bestimmt. Die Relation Fructose zu Glucose lag bei 1,1. Der Anteil der Saccharose am Gesamtzucker betrug hier 1,4%.

In den Induktionsversuchen B I1/I2 2002 wurden die Zuckergehalte von der LWG Veitshöchheim bestimmt (s. 2.2.4.2). Der mittlere Zuckergehalt der Proben vom 31.07.02 (B I1 2002, Tag 3) betrug  $28 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  und vom 19.08.02 (B I2 2002, Tag 6)  $104 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ .

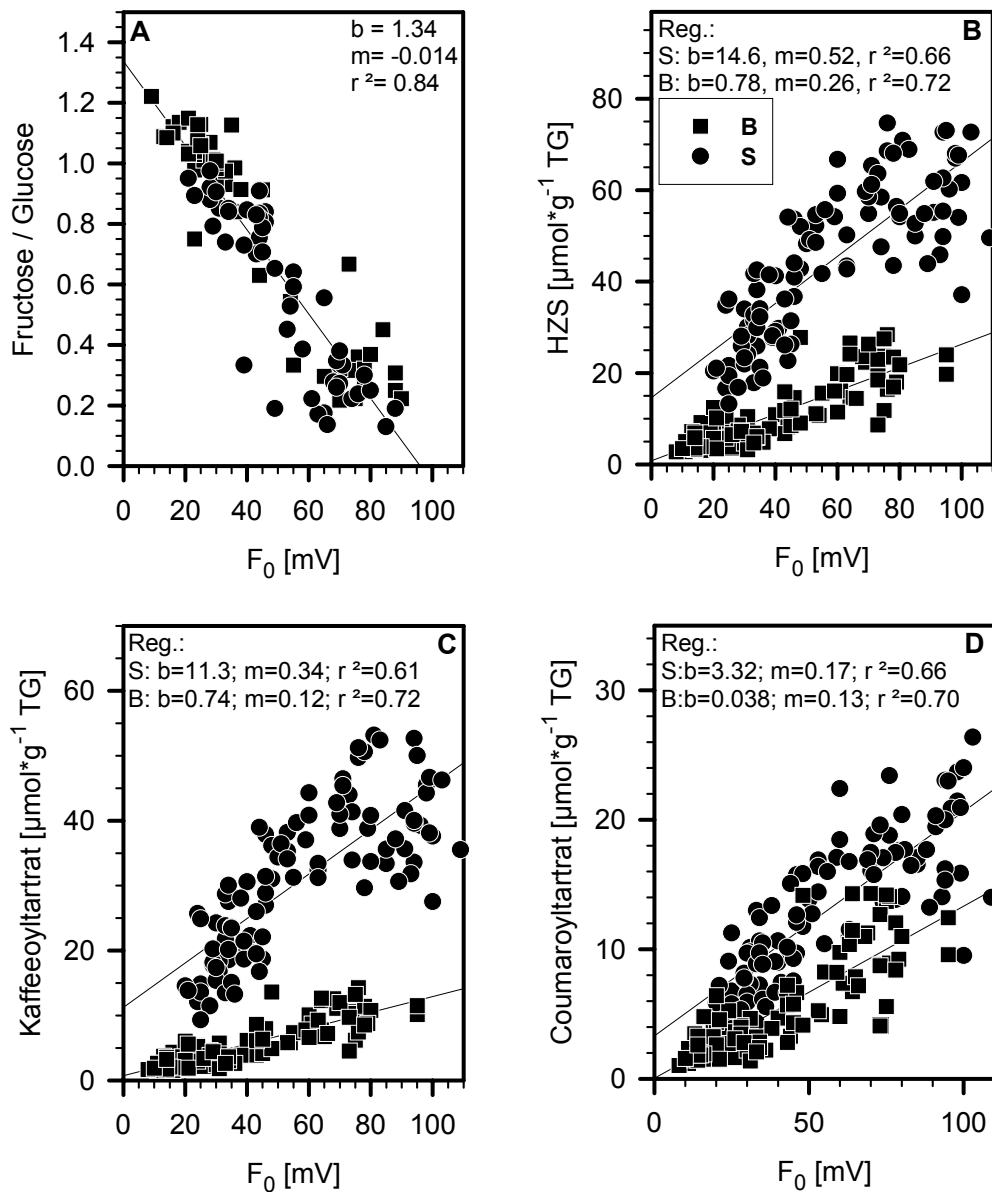
### 3.6.1 Zusammenhang zwischen der Chlorophyllfluoreszenz $F_0$ und Zuckergehalt als Reifeindikator bei Weinbeeren

Während die Zuckergehalte der Beeren mit zunehmender Reife gesteigert wurden, nahm die als  $F_0$  gemessene Chlorophyllfluoreszenz („Dunkelfluoreszenz“, s. 2.2.2.1) bei allen Standorten im Zeitraum von B/S A 2000 ab (Abb. 3.53).



**Abb. 3.53:** Chlorophyllfluoreszenz dunkeladaptierter Beeren ( $F_0$ ) von *V. vinifera* cv. Bacchus (A, B) und cv. Silvaner (C, D) aus dem Akklimatisationsversuch B/S A 2000. Dargestellt sind die Werte der unter den verschiedenen Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V) exponierten Beeren, sowie die der beiden Kontrollvarianten ( $K_{ex}$ ,  $K_s$ ) zu sechs Zeitpunkten. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für  $n=12-18$ .

Der Parameter kann hier als Indikator zur Einschätzung des Chlorophyllgehalts der Proben gesehen werden. In der Regel waren zwischen den Werten der drei Strahlungsvarianten (VAB, VA, V) eines Tages und einer Sorte keine signifikanten Unterschiede festzustellen. Die einzige Ausnahme bildete die VA-Variante von Silvaner, bei der am 17.08.00 signifikant niedrigere Werte gemessen wurden als bei allen anderen Varianten dieser Sorte.



**Abb. 3.54:** **A** Lineare Beziehung zwischen den Reifeindikatoren Fructose- / Glucosegehalt und der Chlorophyllfluoreszenz  $F_0$  bei Beeren von *V. vinifera* cv. **Bacchus** und **Silvaner** zu unterschiedlichen Zeitpunkten und aus unterschiedlichen Expositionsbedingungen. In **B- D** wurden die molaren Mengen der Hydroxyzimtsäuren insgesamt (**B**) bzw. der Kaffeeoyl- (**C**) und der Coumaroyltartrate (**D**) in Relation zu der jeweiligen Chlorophyllfluoreszenz  $F_0$  der Probe dargestellt. In den Grafiken sind die **Regressionsgeraden** mit  $y$ -Achsenabschnitt ( $b$ ), Steigung ( $m$ ) und Bestimmtheitsmaß ( $r^2$ ) für A:  $n = 79$  und B- D:  $n = 100$  angegeben.



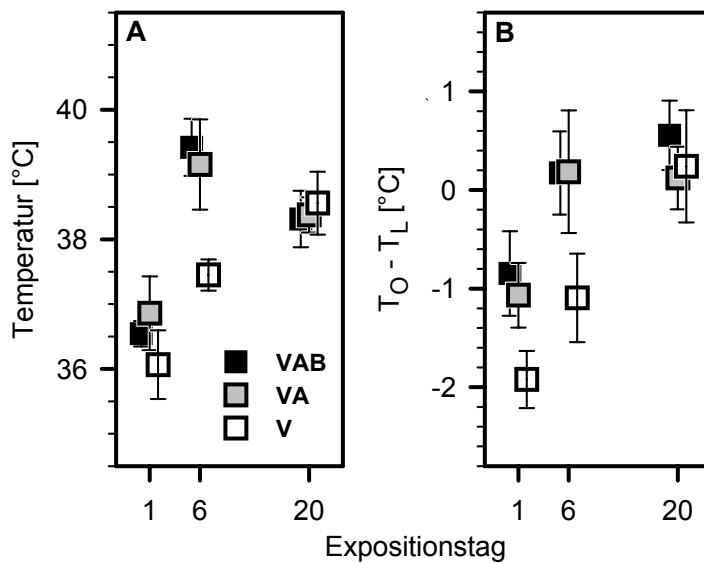
Ab dem 01.08.00 waren die  $F_0$ -Werte aller exponierten Gruppen von Silvaner, wiederum mit Ausnahme der VA-Variante am 17.08.00, immer signifikant höher als die der exponierten Gruppen von Bacchus des jeweiligen Vergleichstages.

Bei einer Auftragung der Zuckerkonzentration bzw. des Quotienten aus Fructose- zu Glucosekonzentration über dem  $F_0$ -Parameter besteht, für beide Sorten übereinstimmend, ein umgekehrt linearer Zusammenhang (Abb. 3.54 A). Daraus wurde geschlossen, dass der  $F_0$ -Parameter als zusätzlicher Reifeindikator verwendbar ist. Bei einer Darstellung der Gehalte an Hydroxyzimtsäurederivaten über  $F_0$  wurde eine positive Korrelation beobachtet, die allerdings für die beiden Sorten unterschiedlich ausfiel (Abb. 3.54 B). Die Regressionsgerade verlief bei Silvaner etwa um den Faktor 2 steiler als bei Bacchus und extrapolierte bei deutlich höheren Werten durch die y-Achse. Die nach Substanzen getrennte Betrachtung der Hydroxyzimtsäurederivate zeigte, dass die unterschiedlich verlaufende Korrelation der beiden Sorten vor allem auf den jeweiligen Gehalten an Kaffeeoyltartrat beruhte (Abb. 3.54 C, D). Die Expositionsbedingungen hingegen hatten keinen Einfluss auf den Verlauf der Regressionsgeraden. Dadurch wurden die unter 3.4.1 a beschriebenen Ergebnisse, wonach für die Gehalte an Hydroxyzimtsäuren primär Sorte und Entwicklungszustand verantwortlich waren, nochmals bestätigt.

### **3.7 Oberflächentemperatur von Weinbeeren**

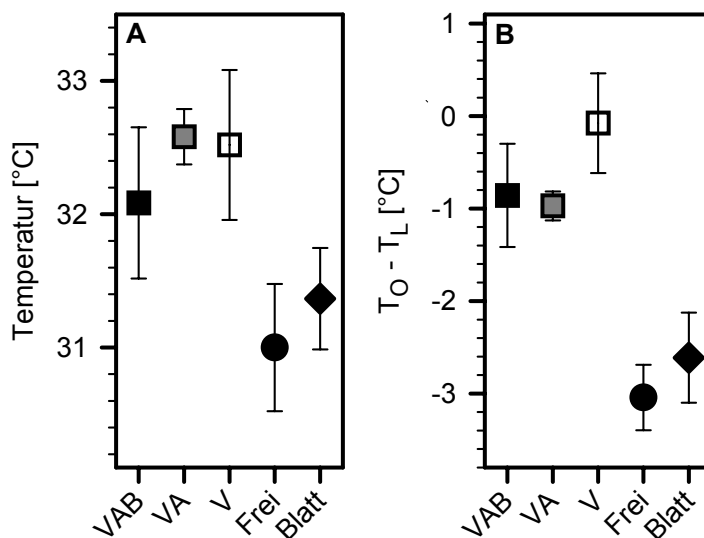
Während des Induktionsversuchs B I 2001 und im daran anschließenden Beobachtungszeitraum (s. 2.2.5) wurden an drei Zeitpunkten, zu denen heiße und strahlungsintensive Witterungsbedingungen vorherrschten (s. 3.1), die Oberflächentemperaturen der Beeren bestimmt (Abb. 3.55). Zwischen den mittleren Oberflächentemperaturen ( $T_0$ ) unter den drei verschiedenen Strahlungsbedingungen bestand am ersten mit 36 – 37 °C und am 20. Tag der Exposition mit 38 – 38,5 °C kein nennenswerter Unterschied. Am sechsten Tag der Exposition lag  $T_0$  der V-Variante im Mittel ca. 1,5 bis 2°C unter der für die beiden anderen Varianten bestimmten. Um die Temperatur der Beerenoberfläche mit der Lufttemperatur vergleichen zu können, wurden von den über einen Infrarot-Sensor bestimmten Oberflächentemperaturen die parallel gemessenen Werte der Lufttemperatur subtrahiert ( $T_0 - T_L$ , Abb. 3.55 B). Die mittlere Differenz der Temperaturen war zu zwei Zeitpunkten ( $T_1$ ,  $T_6$ ) bei der V-Variante um ca. 1°C niedriger als bei den beiden anderen Gruppen. Insgesamt war keine über die Lufttemperatur hinausgehende Aufheizung der

Beerenoberfläche zu verzeichnen; hingegen war zu Beginn der Exposition bei allen Gruppen eine geringfügige Unterschreitung der Umgebungstemperatur festzustellen, die am sechsten Expositionstag nur noch bei der V-Variante auftrat. Am 20. Tag wurden unter allen Bedingungen etwa der Lufttemperatur angepasste Oberflächentemperaturen ( $T_O - T_L = 0,1 - 0,5^\circ\text{C}$ ) gemessen. Die an zwei Tagen (T6, T20) zusätzlich bestimmte Oberflächentemperatur des Teerweges neben den Kammern betrug hingegen im Mittel  $53^\circ\text{C}$  (T6) und  $50^\circ\text{C}$  (T20). Die umgebende Lufttemperatur wurde um  $13,5 \pm 1,2^\circ\text{C}$  (T6) bzw. um  $12 \pm 2,6^\circ\text{C}$  (T20) überschritten ( $n=3$ ).



**Abb. 3.55:** Dargestellt sind die Oberflächentemperaturen bei Beeren von *V. vinifera* cv. Bacchus (A) und die Differenzen aus Oberflächentemperatur und der jeweils parallel bestimmten Lufttemperatur  $T_O - T_L$  (B) unter den drei Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V) zu drei Zeitpunkten. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für  $n=6$ .

Eine weitere Bestimmung der Oberflächentemperatur fand im Versuch B I2 2002 am vierten Expositionstag statt. Die Oberflächentemperaturen bei den Beeren der drei Folienvarianten lagen im Mittel zwischen  $32$  und  $32,6^\circ\text{C}$  (Abb. 3.56).



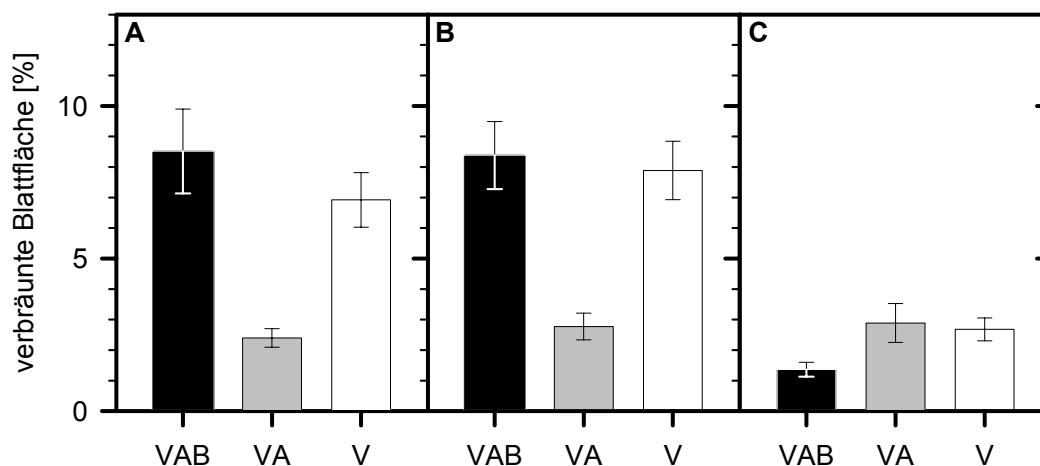
**Abb. 3.56:** Dargestellt sind die Oberflächentemperaturen bei Beeren von *V. vinifera* cv. Bacchus (A) und die Differenzen aus Oberflächentemperatur und der jeweils parallel bestimmten Lufttemperatur  $T_O - T_L$  (B) unter den drei Strahlungsbedingungen (VAB, VA, V) am 17.08.02. Zusätzlich wurden exponierte Beeren außerhalb der Folien (**Frei**) und Blätter (**Blatt**) unter den Folien gemessen. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für  $n=6$ , bzw. Blätter:  $n=3$ .

Auch hier kam es nicht zu einer Aufheizung der Beerenoberfläche gegenüber der Umgebungsluft, allerdings war in diesem Fall die mittlere Differenz (TO-TL) unter V um ca. 1°C höher als die unter VAB und VA bestimmte. Bei zusätzlichen Messungen an Beeren außerhalb der Folien war eine Unterschreitung der Lufttemperatur von ca. 3°C festzustellen. Etwa vergleichbare Werte erreichten Blätter, die unter den Folien exponiert waren. Die Bedingungen waren an diesem Tag nicht so optimal wie im Experiment B I 2001 (s.o.), da es insgesamt kühler war und teilweise kleinere Wolken aufkamen. Die auch hier zusätzlich bestimmte Aufheizung des neben dem Weinberg befindlichen Teerweges betrug nur 6 - 8°C gegenüber der Temperatur der umgeben-den Luft. Dennoch war dieser Tag typisch für den Versuchszeitraum (s. 3.1).

### 3.8 Bonituren

#### 3.8.1 Blätter von *H. vulgare*

Die in den Induktionsversuchen (W/G/H I 2000 und G I 2001) auftretende nicht-parasitär bedingte Blattverbräunung (NBV) wurde erstmals nach ca. vier Tagen Exposition in den Expositions-kammern bei *H. vulgare* cv. Ricarda festgestellt; bei cv. LBP 24727 trat in beiden Versuchen keine NBV auf. Insgesamt war der Grad der Verbräunung im Jahr 2000 höher als im Jahr 2001, wo bereits nach vier Tagen ungünstige Witterungsverhältnisse herrschten (vgl. 3.1).

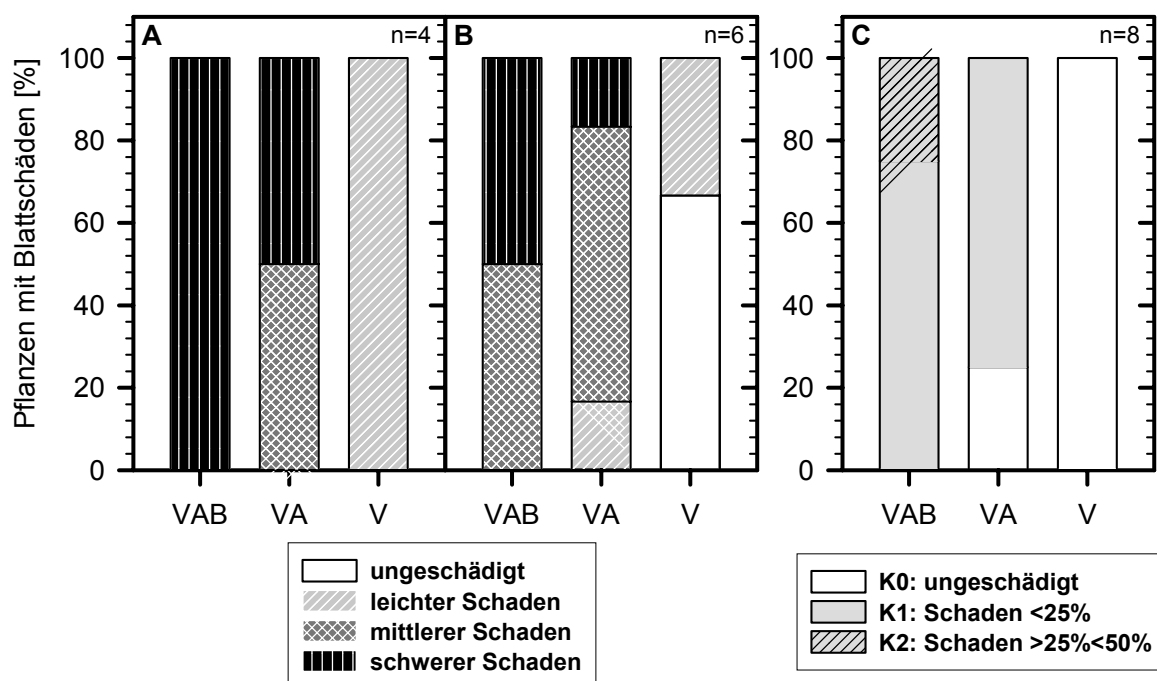


**Abb. 3.57:** NBV bei F-1- Blättern von *H. vulgare* cv. Ricarda aus den Versuchen W/G/H I 2000 (**A, B**) nach 14 und aus G I 2001 (**C**) nach 8 Tagen Exposition unter den drei Strahlungsvarianten (**VAB, VA, V**). Dargestellt ist die visuell geschätzte (**B, C**) bzw. die mittels Adobe Photoshop an eingescannten Blättern bestimmte (**A**) verbräunte Blattfläche in Prozent. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardfehler für n= 22.

Im Versuch W/G/H I 2000 trat unter VA-Bedingungen signifikant weniger NBV auf als unter den beiden anderen Varianten; dies ging sowohl aus der visuellen Einschätzung als auch aus der computergestützten Auswertung eingescannter Blätter hervor (Abb. 3.57 A, B). Im Versuch G I 2001 war unter VAB-Bedingungen signifikant weniger NBV-Befall zu verzeichnen als unter V-Bedingungen (Abb. 3.57 C). Verglichen mit den unter Feldbedingungen auftretenden Befallsintensitäten waren die in den Induktionsexperimenten erreichten Schäden äußerst gering (Fr. Behn, LBP Freising, pers. Mitteilung).

### 3.8.2 Blätter von *V. vinifera*

Unter V-Bedingungen waren im Versuch B/S I 2000 nur an einzelnen Blättern leichte Schäden in Form von oberflächlichen Ausbleichungen festzustellen, während unter VAB- und VA-Bedingungen an nahezu allen Pflanzen beider Sorten mittlere bis schwere Blattschäden beobachtet wurden (Abb. 3.58, Abb. 3.59). In beiden Induktionsversuchen wurden die Schäden etwa ab dem zweiten bis dritten Expositionstag sichtbar, eine Steigerung erfolgte bis ca. zum siebten bis neunten Tag (Abb. 3.58). An den unter Expositionsbedingungen austreibenden Blättern konnten keine Schäden mehr festgestellt werden (Abb. 3.59 C).



**Abb. 3.58:** Blattschäden an Pflanzen von *V. vinifera* cv. Silvaner (A) und Bacchus (B, C) in den Induktionsversuchen B/S I 2000 (A, B; 7 Tage Exposition) und B I 2001 (C, 9Tage Exposition) nach visueller Einschätzung, wobei die Kriterien für die beiden Versuche nicht übereinstimmen (s. 2.2.7.2). Für C wurden in der Legende nur die tatsächlich auftretenden Kategorien abgebildet. In den Grafiken wurde die Anzahl der je Strahlungsbedingung (VAB, VA, V) exponierten Pflanzen angegeben.

Im Versuch B I 2001 blieben die Blätter an allen unter V exponierten Pflanzen ungeschädigt, während unter VAB an allen Pflanzen Blattschäden beobachtet wurden (Abb. 3.58 C). Insgesamt war die Blattschädigung unter VAB in beiden Experimenten und für beide Sorten signifikant höher als unter V; bei Bacchus war auch zwischen der VA- und der V- Variante ein signifikanter Unterschied festzustellen.

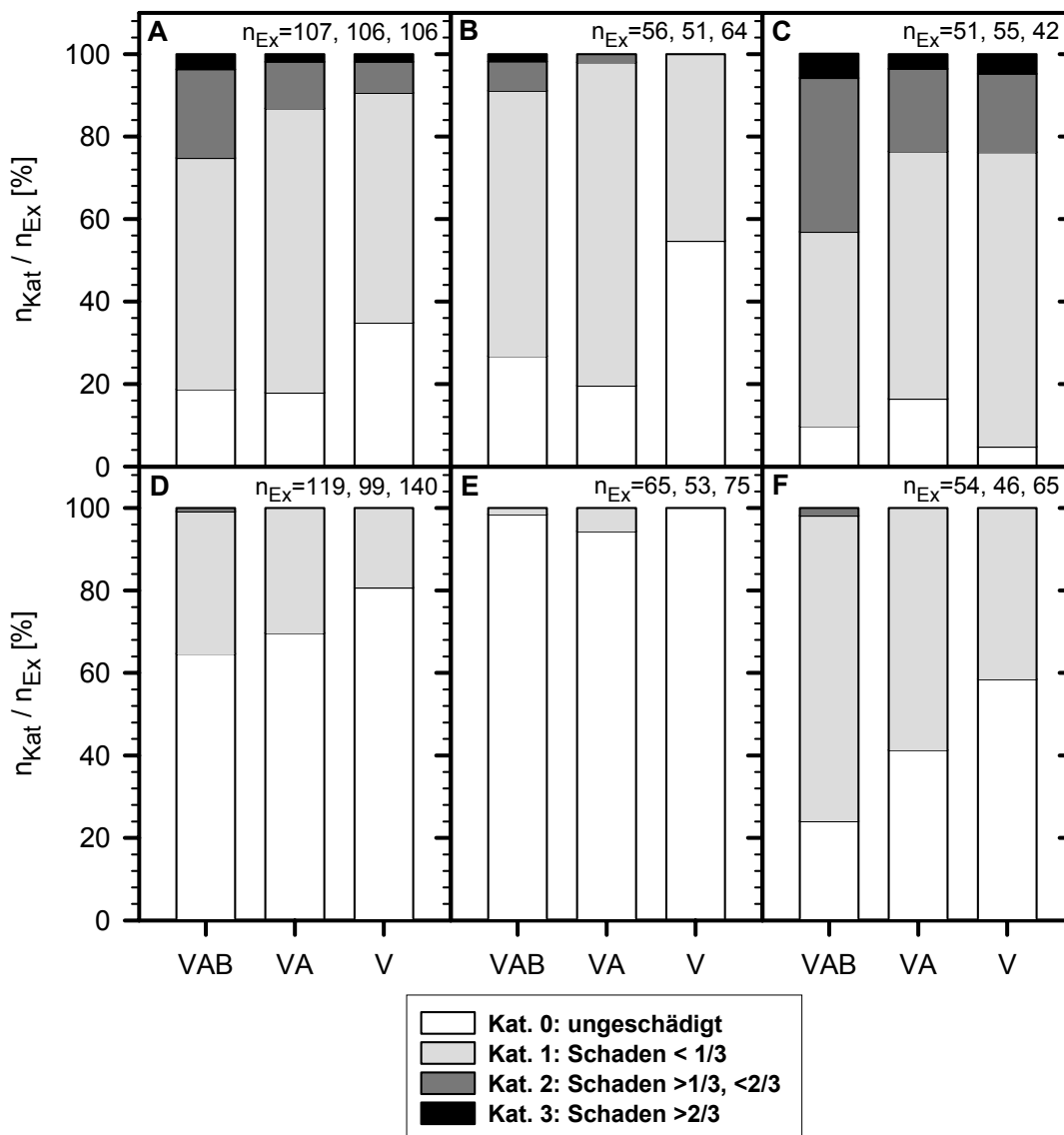


**Abb. 3.59:** Weinpflanzen am 20.06.00 nach viertägiger Exposition unter VAB (A) und V (B), sowie neu austreibende Blätter an einer Pflanze unter VAB (C) und unter V (D) am 03.07.00.



### 3.8.3 Beeren von *V. vinifera*

Die ersten Schäden, die dem Schadbild 1 (vgl. 2.2.7.3) zuzurechnen waren, traten im Akklimatisationsexperiment B/S A 2000 ab dem 28.07.00 auf. Bis zum 09.08.00 wurde eine Zunahme der Schäden beobachtet, danach konnte bis zur abschließenden Bonitur am 18.08.00 keine weitere Steigerung mehr festgestellt werden (Abb. 3.60). Bei Bacchus blieben 19, 18 und 35% der insgesamt unter der jeweiligen Strahlungsbedingung (VAB, VA, V) exponierten Rispen ungeschädigt, bei Silvaner war der Anteil mit 65, 70 und 81% jeweils signifikant höher (Abb. 3.60 A, D).

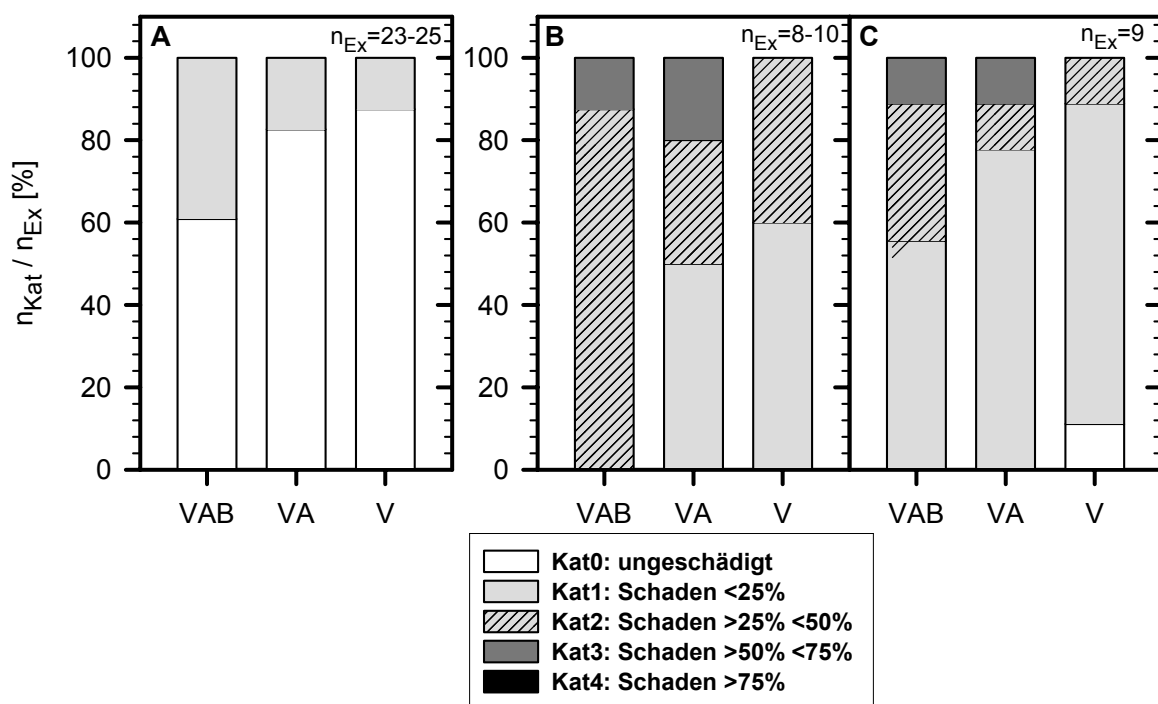


**Abb. 3.60:** Schäden an Rispen von *V. vinifera* cv. Bacchus (A- C) und cv. Silvaner (D- F) am 18.08.00 im Versuch B/S A 2000, in Abhängigkeit von der jeweiligen Strahlungsvariante (VAB, VA, V). Dargestellt ist die Anzahl der Rispen der jeweiligen Kategorie ( $n_{Kat}$ ) bezogen auf die Anzahl der insgesamt exponierten Rispen ( $n_{Ex}$ ) in Prozent. In A und D wurden die insgesamt auftretenden Schäden, in B und E die der Ost- und in C und F die der Westseite aufgetragen. Die Anzahl der exponierten Rispen ist jeweils in der Grafik angegeben, wobei die Reihenfolge von links nach rechts den aufgetragenen Varianten (VAB, VA, V) entspricht.

Schwer geschädigte Rispen (Kat. 2 und 3) waren bei Silvaner nur unter VAB mit 1% festzustellen; bei Bacchus fielen insgesamt 25% (VAB), 13% (VA) und 9% (V) in diese beiden Kategorien. Bei beiden Sorten traten mehr Schäden auf der West- als auf der Ostseite der Zeile auf (vgl. 2.1.4.2). Während bei Bacchus auf der Ostseite eine Zunahme der Schäden mit zunehmender UV- Exposition von V über VA nach VAB zu verzeichnen war, war auf der Westseite ein Unterschied nur bezüglich der schweren Schäden (Kat. 2 und 3) zwischen der VAB- Variante und den beiden anderen Varianten zu beobachten (Abb. 3.60 B, C). Bei Silvaner konnten auf der Ostseite kaum Schäden festgestellt werden, auf der Westseite erfolgte eine deutliche Steigerung mit zunehmender UV- Exposition von V über VA nach VAB (Abb. 3.60 E, F). Die bei Bacchus gefundenen Unterschiede zwischen der V- Variante und den beiden anderen Varianten waren bezüglich der insgesamt auftretenden Schäden (Abb. 3.60 A) und der Schäden auf der Ostseite (Abb. 3.60 B) jeweils signifikant; zwischen der VA- und der VAB- Variante konnten generell keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Bei Silvaner waren die Unterschiede zwischen der V- und der VAB- Variante bezüglich der insgesamt auftretenden Schäden (Abb. 3.60 D) und der Schäden auf der Westseite (Abb. 3.60 F) signifikant. Die Schadensbelastung der beiden Sorten war in allen Fällen signifikant unterschiedlich.

In den Induktionsversuchen an Topfreben (B/S I 2000 und B I 2001) waren insgesamt nur wenige, dem Schadbild 1 zuzurechnende Schäden zu beobachten. Die Schäden wurden in den ersten drei bis vier Tagen der Exposition sichtbar, nach ca. 9 - 14 Tagen wurde keine Steigerung mehr festgestellt. Im Induktionsversuch B/S I 2000 konnten bei Bacchus keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten beobachtet werden, bei Silvaner blieben die Rispen der V- Variante ungeschädigt, die VAB- und die VA- Variante unterschieden sich nicht voneinander. Da hier noch keine Einschätzung nach dem Kategorienmodell erfolgte, wurde auf eine Darstellung verzichtet. Im Versuch B I 2001 wurde nach 9-tägiger Exposition eine Schädigung von 39, 17 und 12,5% jeweils unter VAB, VA und V festgestellt (Abb. 3.61 A). Bis zum 15. Tag war unter VAB eine geringfügige Steigerung auf 48% zu verzeichnen, während unter den beiden anderen Strahlungsbedingungen keine Zunahme mehr beobachtet wurde. Zwischen der VAB und der V- Variante bestand am 15. Tag ein signifikanter Unterschied. Bei allen beobachteten Schäden war weniger als 25% der Rispe betroffen (s. 2.2.7.3).

Bei den im Weinberg durchgeführten Induktionsexperimenten (B I1 2002, B I2 2002) traten wesentlich schwerere Schäden auf als bei den Induktionsversuchen in den Expositions-kammern. Im Versuch B I1 2002 waren bereits nach vier Tagen Exposition alle Rispen geschädigt, bis zum 11. Tag konnte eine Steigerung bezüglich des Grades der Schädigung beobachtet werden (Abb. 3.61 B). Während unter VAB alle Rispen in die Kategorien 2 und 3 einzuteilen waren, trat Kategorie 3 unter V-Bedingungen nicht auf, hier waren 60% der Rispen nur leicht geschädigt (Kat. 1); die Unterschiede zwischen der VAB- und der V- Variante waren am 11. Expositionstag signifikant. Im zweiten Induktionsversuch im Weinberg waren mit Ausnahme von der V- Variante alle Rispen nach 9 Tagen geschädigt, bezüglich der Schwere der Schädigung war ein Gradient von V über VA nach VAB zu erkennen (Abb. 3.61 C), wobei in diesem Experiment keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten festgestellt werden konnten.

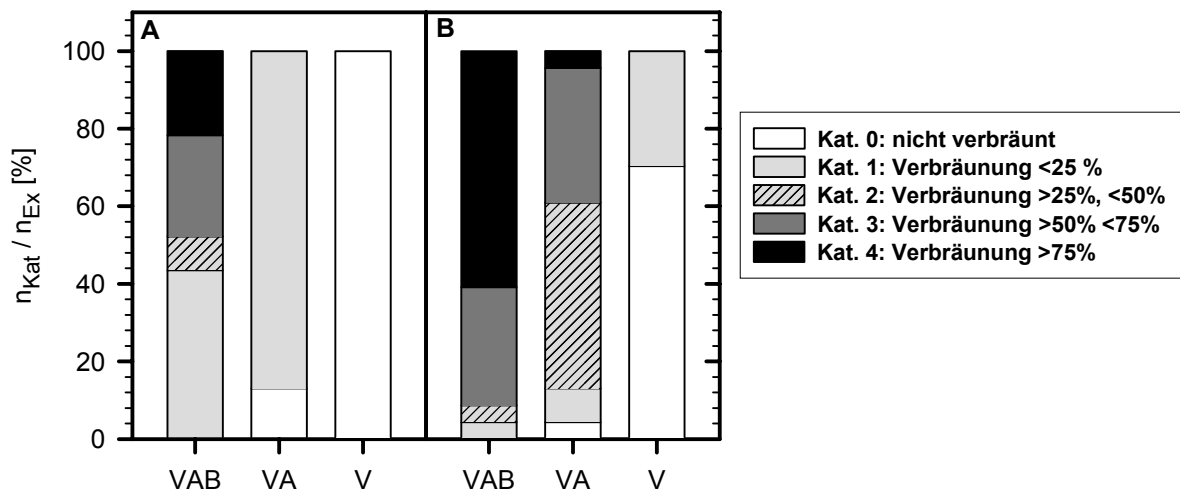


**Abb. 3.61:** Schäden an Rispen von *V. vinifera* cv. Bacchus in den Induktionsversuchen B I 2001 (A), B I1 2002 (B) und B I2 2002 (C) nach 9 (A, C) bzw. 11 Tagen (B) Exposition unter den jeweiligen Strahlungsvarianten (VAB, VA, V). Dargestellt ist die Anzahl der Rispen der jeweiligen Kategorie ( $n_{\text{Kat}}$ ) bezogen auf die Anzahl der insgesamt exponierten Rispen ( $n_{\text{Ex}}$ ) in Prozent. Die Anzahl der exponierten Rispen ist jeweils in der Grafik angegeben.

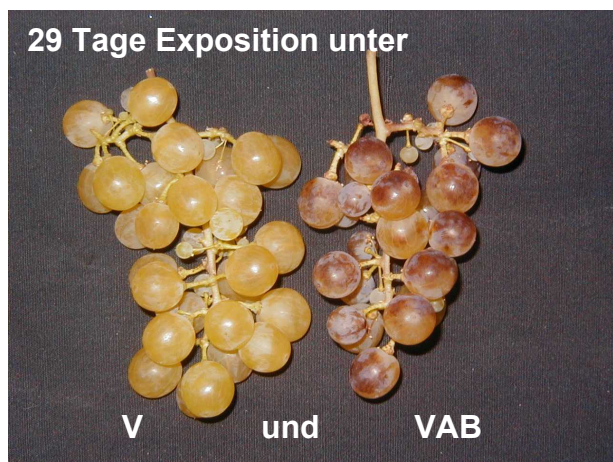
Im Experiment B I 2001 traten nach 9-tägiger Exposition oberflächliche Verbräunungen der Beerenhaut auf (Schadbild 2, vgl. 2.2.7.3). Die weitere Entwicklung dieses Symptoms wurde am 15., 21. und 27. Expositionstag ebenfalls mittels Kategorienmodell erfasst (Abb. 3.62). Unter VAB waren alle Rispen betroffen, unter



V konnte bis zum 15. Expositionstag keine Verbräunung festgestellt werden. Zwischen dem 15. und dem 21. Expositionstag erfolgte eine verstärkte Ausprägung der Verbräunung, die zwischen dem 21. und dem 27. Tag nur noch geringfügig zunahm.



**Abb. 3.62:** Verbräunungen (Schadbild 2, s. unten) an Rispen von *V. vinifera* cv. Bacchus im Induktionsversuch B I 2001 nach 15 (A) und 27 Tagen (B) Exposition unter der jeweiligen Strahlungsvariante (VAB, VA, V). Dargestellt ist die Anzahl der Rispen der jeweiligen Kategorie ( $n_{\text{Kat}}$ ) bezogen auf die Anzahl der insgesamt exponierten Rispen ( $n_{\text{Ex}}$ ) in Prozent.  $n_{\text{Ex}} = 23 - 25$ .



Letztlich waren unter VAB 91% der Rispen zu mehr als 50% verbräunt (Kat. 3 und 4), unter VA zeigten 39% der Rispen diesen Grad an Verbräunung. Bei der V- Variante waren an 30% der Rispen vereinzelt verbräunte Beeren festzustellen (Kat. 1). Zwischen den Varianten bestanden zu allen Zeitpunkten signifikante Unterschiede.

## 4. Diskussion

Viele Arbeiten zum Einfluss von UV-B- Strahlung auf Pflanzen wurden noch bis in die 90er Jahre hinein in Klimakammern mit sehr niedriger photosynthetischer Photonenflussdichte (PPFD) durchgeführt, doch mit steigender PPFD nimmt die UV-B- Empfindlichkeit der Pflanzen ab (Caldwell und Flint, 1994). Der Forderung nach naturnahen Strahlungsbedingungen kann am besten in Freiland- Experimenten nachgekommen werden. Da bei reinen Freilandexperimenten der Einfluss der schwankenden Strahlungsbedingungen auf die Messergebnisse schwierig abzuschätzen und zu interpretieren ist, wurden hier zusätzlich Versuchsanordnungen gewählt, bei denen unter Schwachlichtbedingungen angezogene Pflanzen nur kurzfristig in einem Zeitraum mit relativ gleich bleibenden Wetterbedingungen exponiert wurden. Dadurch wurden auch die bisher für die Ausprägung bestimmter Schadbilder verantwortlich gemachten Wechsel in der natürlichen Bestrahlungsstärke simuliert bzw. verstärkt. Durch die Auswahl der Folienfilter konnten die Effekte der UV-B- UV-A- und der sichtbaren Strahlung getrennt voneinander betrachtet werden. Alle Folien wiesen für sichtbares Licht eine vergleichbare Durchlässigkeit auf, so dass hieraus keine Unterschiede entstehen konnten. Durch die Optimierung der Expositionskammern wurde eine übermäßige Aufheizung unter den Folien verhindert.

### 4.1 Getreidearten

Ein Ziel in der vorliegenden Arbeit war, einen praxisrelevanten Bezug zwischen dem Schadbild der nicht-parasitär bedingten Blattverbräunung (NBV) und der Akklimatisation an verschiedene Strahlungsbedingungen herzustellen. Darum wurde hier, im Gegensatz zu vielen anderen Veröffentlichungen, mit ausdifferenzierten Blättern adulter Pflanzen anstelle von Primärblättern gearbeitet. Dies brachte jedoch einige Probleme mit sich, da die Pflanzen für Klimakammern zu groß und die klimatischen Bedingungen im Gewächshaus nur bedingt kontrollierbar waren. In den kühlbaren Gewächshäusern der LBP werden Gerstenpflanzen nach einer Vernalisationsphase in speziell dafür eingerichteten Kammern, konstant bei 15 - 18°C angezogen (Fr. Behn, LBP Freising, pers. Mitteilung). Dadurch können auch die Entwicklungszeiträume konstant gehalten werden. Unter unseren Bedingungen konnte hingegen mit zunehmender Außentemperatur eine beschleunigte Entwicklung

der Pflanzen beobachtet werden. Somit könnten unterschiedliche Ergebnisse zwischen den Experimenten, wie z.B. die Differenzen bezüglich der Werte der epidermalen UV- Transmission, sowie der Flavonoidgehalte bei Gerste zwischen den Induktionsversuchen aus den Jahren 2000 und 2001, durchaus zum Teil auf verschiedenen klimatischen Voraussetzungen während der Anzucht beruhen. Zudem waren die Strahlungsbedingungen während der Expositionszeiträume zwar ähnlich, aber nicht identisch.

#### **4.1.1 Phenolische Komponenten bei *H. vulgare***

Das Substanzmuster der löslichen phenolischen Komponenten in den F-1- Blättern von Gerste war bei beiden Varietäten identisch. Lösliche Hydroxyzimtsäurederivate spielten eine sehr untergeordnete Rolle: ihr Anteil an der bei 314 nm detektierbaren Gesamtabsorption betrug in der Regel nur 1 – 5%. Aufgrund ihrer UV- Absorptionsspektren sind sie als Derivate von p-Ferula- bzw. p-Coumarsäure einzustufen. Auf eine genauere Identifizierung oder Quantifizierung wurde wegen der geringen Mengen verzichtet. Zudem kann davon ausgegangen werden, dass sie in Blättern von Gramineen weniger UV- bedingt als konstitutiv synthetisiert werden (Burchard et al, 2000; Schmitz, 2001). Mittels UV- Spektroskopie und Vergleichen mit käuflichen Standards wurden die Flavonoide in die zwei Gruppen der Apigenin- und der Luteolinderivate eingeteilt. Für beide Gruppen konnte jeweils eine Hauptkomponente festgestellt werden, von denen eine als Saponarin identifiziert wurde (s. 3.4.1). Bei der Hauptkomponente der Luteolinderivate (Peak F1) kann aufgrund der UV- Spektroskopie und des Elutionsverhaltens von Lutonarin ausgegangen werden. Lutonarin und Saponarin wurden in der Literatur mehrfach als Hauptflavonoide von Gerste beschrieben (Liu et al., 1995; Reuber et al., 1996; Schmitz, 2001). Die anderen Flavonoidpeaks waren in der Regel nur minore Komponenten, die, auch in Übereinstimmung mit der Literatur, als Intermediate angesehen wurden. Bei einer dieser Komponenten handelte es sich um Isoorientin (Peak F6). Eine endgültige Identifizierung war nicht Ziel dieser Arbeit.

Die Synthese der Flavone insgesamt wurde in allen Experimenten durch die Anwesenheit von UV-B gesteigert, während eine durch UV-A- Strahlung bedingte Erhöhung der Konzentrationen nicht immer eindeutig war. Besonders deutlich konnte dies für die Gruppe der Luteolinderivate beobachtet werden, deren Anteil an der Gesamtmenge der Flavone in den langfristigen Akklimatisationsexperimenten und im

Induktionsexperiment des Jahres 2001 60 bis 80% betrug (Abb. 3.31, Abb.3.35). Für die Apigeninderivate konnte diese Steigerung nicht immer eindeutig festgestellt werden. Auffällig war, dass der Konzentrationsbereich der Apigeninderivate, unabhängig von den Anzucht- bzw. Expositionsbedingungen, in allen Experimenten vergleichbar war, während bei den Luteolinderivaten drastische Unterschiede beobachtet wurden. Im Induktionsexperiment im Jahr 2000 wurden insgesamt die höchsten Mengen an Apigeninderivaten, die hier vor und am Beginn der Exposition den weitaus größeren Anteil der Flavonoide lieferten, festgestellt (Abb. 3.33). Dass dies im zweiten Induktionsexperiment nicht bestätigt wurde, kann auch mit den oben erwähnten Unterschieden bei der Anzucht zusammenhängen. In den Experimenten im Jahr 2001 wurden bei LBP 24727 signifikant höhere Luteolinkonzentrationen festgestellt als bei Ricarda. Dieser Sortenunterschied war jedoch im vorangegangenen Versuchsjahr nicht aufgetreten. Die Ursachen für diese differierenden Ergebnisse sind nicht geklärt.

#### **4.1.2 Korrelation zwischen fluorometrisch und chemisch analytisch bestimmter epidermaler UV-Absorption (*H. vulgare*)**

Wie bei Blättern verschiedener Arten bereits gezeigt wurde, kann der überwiegende Teil der Abschirmungskapazität *in vivo*, bestimmt über die nicht-invasive fluorometrische Methode mit der Xenon-PAM (Bilger et al., 1997), durch die Akkumulation phenolischer Substanzen in der Epidermis erklärt werden (Barnes et al., 2000; Burchard et al., 2000; Markstädter et al. 2001; Kolb et al., 2001). Im Gegensatz zu den Arten in den genannten Arbeiten, konnte bei den Blättern von Gerste die Lokalisation der löslichen phenolischen Substanzen nicht eindeutig geklärt werden. Eine mechanische Separation der Epidermis vom Mesophyllgewebe ist bei den hier verwendeten, ausdifferenzierten F-1- Blättern nicht durchführbar. Bei Studien an Primärblättern, bei denen die untere Epidermis bis zum Alter von acht Tagen entfernt werden konnte, fanden Liu et al. (1995) 40% der Saponarin- und 20% der Luteolinkonzentration in diesem Kompartiment und gingen davon aus, dass ca. 50% der im gesamten Blatt gefundenen Flavonoide dem Mesophyll zuzurechnen sind. Schmitz belegte durch Epifluoreszenzmikroskopie in sechs Tage alten Primärblättern die Anwesenheit von Flavonoiden in den epidermalen und subepidermalen Zellschichten beider Seiten, wobei er auf eine verstärkte Akkumulation in der abaxialen Epidermis schloss (Schmitz, 2001). Im Gegensatz zu den hier

vorgestellten Ergebnissen, wurde in diesen Arbeiten Saponarin als Hauptkomponente identifiziert, während die Lutonarin- nur ca. 7 - 10% der Saponarinkonzentration erreichte.

Burchard et al. (2000) stellten bei Roggen eine strikt lineare Korrelation zwischen den Konzentrationen der epidermalen Flavonoide und der fluorometrisch bestimmten epidermalen UV-Absorption fest, die jedoch nicht für die Flavonoide aus dem Mesophyll bestand. In der hier vorliegenden Arbeit wurde eine lineare Beziehung zwischen der fluorometrisch bestimmten epidermalen UV-Absorption und der Gesamtaborption der phenolischen Extrakte bei den entsprechenden Wellenlängen gefunden (Abb. 3.47). Bei einer nach Luteolin- und Apigeninderivaten getrennten Auftragung gegenüber der UV-Absorption *in vivo* bestand nur für die Luteolinderivate eine eindeutige Korrelation (nicht gezeigt). Die entsprechenden Resultate wurden bei der Darstellung der einzelnen Hauptkomponenten (Saponarin und F1) erreicht (nicht gezeigt). Eine endgültige Klärung der Lokalisation der einzelnen Komponenten konnte bisher nicht erreicht werden. Es kann aber davon ausgegangen werden, dass die Verhältnisse in den ausdifferenzierten F-1-Blättern durchaus anders sind als in den Primärblättern; zudem ist die Verwendung unterschiedlicher Sorten zu beachten. Für die Anwesenheit der Flavone in ab- und adaxialer Epidermis spricht, dass in einer mit der UVA-PAM in den Klimakammern der GSF (Oberschleißheim) durchgeführten Messreihe an 70 F-1-Blättern, zwischen den Werten von Ober- und Unterseiten nur geringe (Ricarda) bzw. keine Differenzen (LBP 24727) auftraten (E. Pfündel, pers. Mitteilung). Burchard et al. (2000) konnten bei Roggen nur in Bereichen niedriger epidermaler Absorption eine gewisse Unterschiedlichkeit für die beiden Seiten feststellen, ansonsten bestand auch hier eine weitgehende Übereinstimmung.

Zwischen der epidermalen Transmission für UV-A- und UV-B-Strahlung wurde bei allen drei monokotylen Arten ein strikt linearer Zusammenhang festgestellt. Dieser Zusammenhang wurde auch bereits in *Vicia faba* belegt (Markstädter et al., 2001), wo Derivate von Kaempferol und Quercetin die phenolischen Hauptkomponenten darstellen, während Hydroxyzimtsäurederivate eine sehr untergeordnete Rolle spielen. Er bestand jedoch nicht in *V. vinifera*, wo gerade diese Fraktion maßgeblich für die UV-B-Abschirmung ist. Bei einer Auftragung von  $T_{UVB}$  über  $T_{UVA}$  wurden Regressionsgeraden mit den Steigungen 0,82, 0,90 und 1,03 für Gerste, Weizen und Hafer bestimmt (Abb. 3.11, Abb. 3.12). Bei Gerste lag, bei Proben mit insgesamt

niedriger Absorption, die fluorometrisch bestimmte epidermale UV-B-Absorption geringfügig über der entsprechenden UV-A-Absorption. In einem Bereich zwischen ca. 0,7 und 1,2 entsprachen sie sich genau und in Bereichen darüber kam es zu einer leichten Umkehrung der Verhältnisse. Die chromatographisch bestimmte Absorption der phenolischen Substanzen bei 314 nm betrug in Bereichen extrem niedriger Absorption ca. das 1,5-fache der bei 360 nm detektierten Absorption; bei Werten um 1 stimmten beide überein. Oberhalb dieses Bereichs konnte auch hier eine Umkehrung der Verhältnisse beobachtet werden; in Bereichen hoher Absorption ( $A_{360}$ : 3,5 - 7) wurden für  $A_{360}$  um einen Faktor von 1,4 – 1,5 höhere Werte gemessen als bei 314 nm (nicht dargestellt). Dies stimmt mit den spektralen Eigenschaften der gefundenen Flavone überein: während bei Proben mit hoher UV-Transmission vor allem Apigeninderivate gefunden wurden, waren bei Proben mit niedriger UV-Transmission die Luteolinderivate bestimmend (s. 3.4.1). Apigenin und seine 6-C-Derivate absorbieren bei beiden Wellenlängen vergleichbar, während bei Luteolin und -derivaten die Absorption bei 360 nm deutlich über der bei 314 nm liegt (vgl. Abb. 2.20, Abb. 3.29).

Für den Vergleich der beiden Methoden bedeutet dies letztlich, dass über einen weiten Bereich die löslichen Flavonoide für die epidermale Abschirmungskapazität bestimmend sind. Bei  $T_{UVB}$  könnten, insbesondere in Bereichen extrem hoher Durchlässigkeit, hier nicht erfasste zellwandgebundene Hydroxycimtsäurederivate die Abschirmungskapazität deutlicher beeinflussen. Dies und die nicht eindeutig klärbare Verteilung der Flavonoide im Blatt mag auch der Grund dafür sein, dass bei vergleichbarer epidermaler UV-Transmission in Bereichen um 1 bei 314 nm niedrigere Werte detektiert wurden als bei 360 nm.

#### **4.1.3 Optimale Quantenausbeute des PS II**

Eine UV-bedingte Inhibierung der Photosynthese konnte mit dem hier verwendeten Parameter der variablen Chlorophyllfluoreszenz ( $F_V/F_M$ ) bei keiner der untersuchten Getreidearten beobachtet werden (s. 3.2.1.1). Zu berücksichtigen ist, wie in einer neueren Arbeit belegt wurde, dass  $F_V/F_M$  als Indikator für die Erfassung von UV-bedingter Schädigung des PS II jedoch nicht immer geeignet ist (Pfündel, in press). Im Vergleich mit den Blättern von *V. vinifera* war die Inhibierung nach der Überführung zu Beginn der Exposition weitaus geringfügiger.

#### **4.1.4 Bewertung der Schäden in Abhängigkeit von der Strahlungsqualität (*H. vulgare*)**

Ein Zusammenhang zwischen der UV-Exposition und dem Auftreten oder der Intensität des Schadbildes NBV konnte bei Ricarda weder 2000 noch 2001 festgestellt werden (Abb. 3.57). Die Schadensbelastung war 2000 deutlich höher als im Jahr 2001, wobei 2001 nach vier Tagen Exposition ungünstige Witterungsbedingungen herrschten. Von einer Beeinflussung des Schadbildes NBV durch UV-Strahlung ist jedoch nicht auszugehen.

### **4.2 *Vitis vinifera***

#### **4.2.1 Phenolische Komponenten**

Die phenolischen Komponenten, die an der UV-Abschirmung der Beeren beteiligt sind, stimmen im Wesentlichen mit den bereits beschriebenen Komponenten der Blätter überein (Kolb et al. 2001). Die Identität der phenolischen Komponenten wurde über HPLC, UV-Spektroskopie, sowie Massenspektrometrie abgeklärt. Zwischen den hier verwendeten Sorten (cv. Bacchus und cv. Silvaner) bestand bezüglich der Identität der Substanzen kein Unterschied, allerdings traten bei den Hydroxycimtsäurederivaten (HZS) massive Konzentrationsunterschiede auf.

Die Lokalisation der phenolischen Komponenten in mehreren Zellschichten der Beerenhaut wurde durch Epifluoreszenzmikroskopie gezeigt (Abb. 3.27). Dies wurde bereits in früheren Arbeiten mit unterschiedlichen Methoden belegt (Hawker et al., 1972, Moskowitz und Hrazdina, 1981). Ob die Konzentration der phenolischen Komponenten über alle Zelllagen gleich verteilt ist oder ob ein Gradient vorliegt, kann mit den hier dargestellten Ergebnissen nicht geklärt werden. Auf subzellulärer Ebene wird aufgrund der ungleichmäßigen Verteilung der UV-angeregten Grünfluoreszenz nach Ammonium-Behandlung von einer vakuolären Akkumulation ausgegangen (Hutzler et al. 1998, Day et al. 1993). Moskowitz und Hrazdina (1981) wiesen in der roten Varietät DeChaunac die Anwesenheit von Anthocyanen, Hydroxycimtsäurederivaten und Flavonolglycosiden in den Vakuolen subepidermaler Schichten der Beerenhaut nach, und stellten zudem einen Gradienten von der ersten bis zur sechsten subepidermalen Schicht für die Akkumulation von Anthocyanen fest. In der Epidermis traten hier keine Anthocyane auf, über die Anwesenheit der anderen Komponenten wurden in dieser Arbeit keine definitiven Aussagen gemacht.

Die Flavonol-Bildung in den Beeren beider Sorten wurde eindeutig durch UV-Strahlung reguliert. Während der kurzfristigen Induktionsversuche wurde ein drastischer Anstieg der Quercetin- und der Kaempferol- Synthese beobachtet, die hier durch UV-B- Strahlung besonders verstärkt wurde (Abb. 3.44, Abb. 3.46). Während bei den Blättern von cv. Silvaner eine gesteigerte Akkumulation von Hydroxyzimtsäurederivaten insgesamt unter allen Expositionsbedingungen zu verzeichnen war, und Kaffeeoyltartrat besonders unter sichtbarem Licht verstärkt akkumulierte (Kolb et al., 2001), wurde bei den Beeren unter Induktionsbedingungen eher eine Verminderung dieser Substanzen beobachtet. Bei Silvaner wurde allerdings nach dreitägiger Exposition nur unter UV- Exposition eine Reduzierung festgestellt, während bei Bacchus allenfalls tendenzielle Unterschiede zwischen den Expositionsvarianten zu verzeichnen waren (Abb. 3.43, Abb. 3.45). Dies konnte auch im Akklimatisationsexperiment langfristig beobachtet werden. Die aus der Beerenhaut extrahierbaren Mengen an löslichen HZS waren bei Silvaner unter allen Bedingungen signifikant höher als bei Bacchus (Abb. 3.38, Abb. 3.39). Besonders deutlich wurde dieser Unterschied für Kaffeeoyltartrat. Ferner wurde eine reifebedingte Reduzierung dieser Komponenten festgestellt. Ob hier tatsächlich ein aktiver Abbau stattgefunden hat oder ob lediglich die de novo Synthese eingestellt wurde, und es in der Folge durch die Volumenzunahme der Beere während des Entwicklungsprozesses quasi zu einer Verdünnung kam, konnte nicht geklärt werden. Da die Konzentrationen jedoch über das Trockengewicht der Proben normiert wurden, und die Volumenzunahme der Beeren in dieser Phase vor allem durch Wassereinlagerung und Zellstreckung vorangetrieben wird (Currell et al., 1983), ist letzteres nicht sehr wahrscheinlich.

Dass die physiologische Umgestaltung der Beere im Zuge des Reifungsprozesses auch für die Synthese phenolischer Substanzen eine entscheidende Rolle spielt, wurde bereits in einigen Arbeiten belegt (Hrazdina et al., 1984, Bais et al., 2000, Goto-Yamamoto et al., 2002, Boss et al., 1996a, b). In der vorliegenden Arbeit wurde ein Bezug zwischen dem allgemein anerkannten Reifeindikator der Zuckeranalytik und einem fluorometrischen Verfahren, das den Abbau des Chlorophylls widerspiegelt, geschaffen (s. 3.6.1). Dadurch konnte an direkt verbundenen Stichproben die reifebedingte Abnahme der Hydroxyzimtsäurederivate gezeigt werden (Abb. 3.54). Zu berücksichtigen ist bei einem Vergleich zwischen zeitgleich entnommenen Proben der beiden Sorten, dass die bis zur vollständigen Reife benötigten



Entwicklungszeiträume nicht identisch sind. Durch die Relation zwischen der Dunkelfluoreszenz  $F_0$  und der Konzentration der Hydroxyzimtsäurederivate konnte allerdings belegt werden, dass sich auch physiologisch vergleichbare Beeren beider Sorten in ihren Gehalten an Hydroxyzimtsäuren unterscheiden. Für die Konzentration waren bei Kaffeeoyl- und Coumaroyltartrat die trans-Isomere bestimmend, während die cis-Isomere nur geringe Beiträge zur Gesamtmenge leisteten. Absolut betrachtet konnte in den beiden Induktionsexperimente keine verstärkte Akkumulation der cis-Isomere unter UV-Exposition beobachtet werden (Abb. 3.43, Abb. 3.45). Im langfristigen Akklimatisationsexperiment wurden zum Teil geringfügig höhere Konzentrationen unter UV-Belastung festgestellt als unter sichtbarem Licht (Abb. 3.40). Die Ergebnisse waren diesbezüglich aber nicht eindeutig. Besonders bei den Werten für cis-Kaffeeoyltartrat bei Bacchus muss berücksichtigt werden, dass zum Teil die Nachweisgrenze erreicht wurde.

Im Gegensatz zu den Hydroxyzimtsäurederivaten wurde für drei der vier Hauptflavonole (Q2, K1, K2) eine entwicklungsbedingte Steigerung der Synthese beobachtet, die jedoch nur unter UV-Einfluss stattfand (Abb. 3.41, Abb. 3.42). Die vierte Komponente aus der Gruppe der Flavonoide (Q1) hingegen wurde wiederum eher reduziert. Dadurch trat eine Verschiebung der verhältnismäßigen Anteile sowohl innerhalb der Quercetinderivate als auch zwischen den Kaempferol- und Quercetinderivaten auf. Die beiden Kaempferolderivate wurden in allen Experimenten in einem festen Verhältnis zueinander synthetisiert.

Während K1 und K2 eindeutig als zwei Kaempferolhexoside identifiziert wurden, stellen Q1 und Q2 hingegen vermutlich Quercetin-3-O-glucuronid und eine Mischung aus zwei Quercetinhexosiden dar. Eine gleichgeschaltete Entwicklung der Syntheserate von K1 und K2 ist somit weniger verwunderlich, da hierfür möglicherweise dieselben Enzyme verantwortlich gemacht werden können. So akzeptierte z.B. eine aus *Daucus carota* isolierte UFGT in vitro sowohl UDP-Glucose als auch -Galaktose als Substrat für die Glycosidierung von Flavonolen (zur Übersicht: Forkmann und Heller, 1999). Hinter Q2, das eine ähnliche Zunahme mit Zeit und UV-Exposition erfuhr, verbergen sich möglicherweise Quercetin-3-O-glucosid und Quercetin-3-O-galaktosid in ähnlichen Verhältnissen wie K1 und K2. Da sie mit unserer Methode nicht getrennt werden konnten, beruht diese Einschätzung nur auf einer Testreihe, die an der Universität Hohenheim mit einer anderen Methode durchgeführt wurde (D. Kammerer, pers. Mitteilung). Wenn bei Q1 von Quercetin-3-O-glucuronid ausgegan-

gen wird, könnte die Ursache für die entwicklungsbedingte Reduzierung eine veränderte Enzymaktivität oder die geringere Verfügbarkeit von Glucuronsäure sein. In beiden Induktionsexperimenten wurde die Synthese von Q1, das unter Schwachlichtbedingungen in höherer Konzentration vorlag als Q2, durch die Exposition unter UV-Strahlung in geringerem Maß gesteigert als die Synthese von Q2 (Abb. 3.44, Abb. 3.46). Diese Übereinstimmung ist vor allem im Hinblick auf das physiologisch deutlich unterschiedliche Stadium der Beeren in diesen beiden Experimenten interessant.

Die Absolutwerte aus den beiden Induktionsexperimenten sind aufgrund der unterschiedlichen Probennahme nicht vergleichbar, es kann jedoch ein Vergleich über die verhältnismäßigen Anteile der einzelnen Komponenten an der Gesamtmenge der Flavonoide angestellt werden. So konnte 2001 bei den physiologisch älteren Bacchusbeeren ein, in derselben Zeitspanne erreichter, höherer Anteil an Kaempferol bestimmt werden als in den jüngeren Beeren aus dem Jahr 2000. Dies bestätigt wiederum die im Akklimatisationsexperiment gefundene Verschiebung der Anteile über die Zeit. Auffallend ist weiterhin, dass bei Bacchus die Werte von Q2 nach nur dreitägiger Exposition (2000) etwa mit denen vom 30.08.00 übereinstimmen, die in diesem Experiment die maximalen waren (Abb. 3.41, Abb. 3.44). Die Werte von Q1 hingegen erreichten ungefähr das Niveau der Proben vom 16.08.00. Auch liegen die Verhältnisse von Q2 zur Gesamtmenge an Quercetin nach dreitägiger Exposition des Induktionsexperiments 2000 unter denen von 2001. Eine entsprechende Steigerung von Q1 bei den physiologisch älteren Beeren konnte 2001 auch nach sechs Tagen nicht beobachtet werden. Im Hinblick auf das Weinbergsexperiment wäre eine Steigerung zu einem späteren Zeitpunkt unwahrscheinlich, da die als Reifeparameter nach acht Tagen Exposition bestimmten Zuckerkonzentrationen ähnlich hoch lagen wie die der Proben vom 16.08.00; zu diesem Zeitpunkt zeichnete sich die Verschiebung hin zu Q2 in diesem Experiment aber bereits deutlich ab.

Insgesamt ist von einer strikt UV-regulierten Flavonoidsynthese, die zusätzlich durch entwicklungsbedingte Veränderungen moduliert wird, auszugehen.

Der Vergleichbarkeit zwischen den Experimenten sind gewisse Grenzen gesetzt, da in den Freilandexperimenten die Wetterbedingungen nicht kontrolliert werden können. Zudem war die Versuchsanordnung im Weinberg anders als in den Kammern,

was sich besonders auf die Strahlungsexposition auswirkte. Durch die Zeilung im Weinberg war sowohl die je Beere empfangene tägliche Strahlungsdosis als auch der Zeitraum, in der direkte Sonneneinstrahlung einwirken konnte, reduziert. Die hier analysierten Proben wurden auf der Ostseite der Zeile entnommen, eine direkte Bestrahlung war somit ab dem frühen Nachmittag nicht mehr gegeben. In den Kammern konnte hingegen von einer über den Tag weitgehend konstanten Bestrahlung ausgegangen werden. Weiterhin könnten im Weinberg durchgeführte weinbauliche Maßnahmen, insbesondere die Applikation verschiedener Pflanzenschutzmittel, die Ergebnisse beeinflusst haben. Ein anderer Aspekt ist durch die unterschiedliche Wasserversorgung gegeben: während die Topfreben in den Kammern täglich bewässert wurden, war die Bewässerung der Reben im Weinberg von Niederschlägen abhängig.

#### **4.2.2 Korrelation zwischen fluorometrisch und chemisch analytisch bestimmter epidermaler UV-Absorption**

Da der Aufbau der Abschlussgewebe bei den Beeren von dem der Blätter stark abweicht, muss die Anwendbarkeit des Terms „*epidermale* UV-Transmission“ hier kritisch betrachtet werden. Er wurde in dieser Arbeit aus Gründen der Kontinuität beibehalten. Wahrscheinlich ist es aber richtiger, die oberen Schichten der Beerenhaut als für die Abschirmungskapazität verantwortliche Einheit zu sehen, da hier eindeutig in mehreren Zellschichten phenolische Substanzen nachgewiesen werden konnten (Abb. 3.27). Bei der Bewertung der vorgestellten fluorometrischen Ergebnisse zur Einschätzung der UV-Transmission *in vivo* müssen darüber hinaus noch mehrere Einflüsse berücksichtigt werden. Wie oben bereits angesprochen, ist die Verteilung der Komponenten auf die einzelnen Zellschichten bisher nicht geklärt; ein Konzentrationsgradient von außen nach innen wäre denkbar, zudem könnten die verschiedenen Komponenten Präferenzen für bestimmte Zellschichten aufweisen. Da zumindest in den hypodermalen Schichten eindeutig auch Chlorophyllfluoreszenz nachgewiesen wurde, könnte die Abschirmungskapazität der Beerenhaut insgesamt unterschätzt werden. Da die Schnittdicke bei dem weichen Beerengewebe nicht beliebig niedrig zu wählen ist, war nicht eindeutig erkennbar, ob auch in der Epidermis mit Chlorophyll- Pigment- Komplexen gerechnet werden muss.

Ein weiterer Aspekt ist die Verwendung von Beerensegmenten für die fluorometrische Bestimmung der UV-Transmission in der Xenon-PAM (s. 2.2.1), die

egal wie flach geschnitten, eine gewisse Oberflächenkrümmung aufweisen. Dadurch könnten zumindest in der Xenon-PAM, die auf einen bestimmten Lichteinfallswinkel optimiert wurde (Bilger et al., 1997), Artefakte durch z.B. Streuungsprozesse entstanden sein. Dies gilt allerdings nicht für die Messungen mit der UVA-PAM.

Ferner ist der Messgenauigkeit ab einem gewissen physiologischen Stadium durch die Verdünnung des Chlorophyllgehaltes im Zuge der Reife eine Grenze gesetzt (s. 3.6.1). Vor diesem Hintergrund wurde auf eine Bestimmung der UV-Transmission bei Bacchus am 30.08.00 verzichtet; allerdings müssen auch die Ergebnisse am 31.08.00 bei Silvaner und die am 16.08.00 bei Bacchus vorsichtig interpretiert werden (Abb. 3.20, Abb. 3.21). Durch den Bezug auf einen Tagesmesophyllfaktor konnte jedoch der zeitliche Faktor weitgehend eliminiert werden (s. 2.2.2.2 d). Für die sehr kurzfristig angelegten Induktionsexperimente war ohnehin nicht mit einer Beeinträchtigung durch Reifungsprozesse zu rechnen, dennoch wurden auch hier Tagesmesophyllwerte verwendet.

Prinzipiell verläuft aber die Reduzierung der UV-A-Transmission entsprechend der gesteigerten Flavonoidbiosynthese. Über die Absorption der phenolischen Substanzen konnte 75 – 84% der Abschirmungskapazität in vivo erklärt werden (Abb. 3.49, Abb. 3.50, Abb. 3.51). Die Korrelation zwischen den Methoden war bei der Verwendung der UVA-PAM besser als bei den entsprechenden Werten der Xenon-PAM. Dies könnte zum Teil mit den oben erwähnten Streuungsprozessen, aber auch mit dem unterschiedlichen Anregungsfenster der beiden Fluorimeter zusammenhängen, da bei 375 nm sicher kein Einfluss von Hydroxyzimtsäurederivaten (HZS) auf die Absorption mehr besteht. In den bei 360 nm detektierten Chromatogrammen konnten hingegen immer noch geringe Mengen an HZS gefunden werden. Die Einschätzung der Abschirmungskapazität im UV-B-Bereich ist kritisch zu betrachten. Die Korrelation zwischen der fluorimetrisch und der chromatographisch bestimmten Absorption war hier deutlich schlechter als im UV-A-Bereich (Abb. 3.49, Abb. 3.50). Dennoch konnten Übereinstimmungen zwischen dem Verhalten der HZS, die für die Absorption in diesem Bereich vor allem verantwortlich sind, und der Abschirmungskapazität der Beerenhaut festgestellt werden: Im Akklimatisationsexperiment wurde ein Anstieg der UV-B-Transmission über die Zeit beobachtet, der mit der Reduzierung der HZS zusammenfiel, es wurden Sortenunterschiede beobachtet, die ebenfalls auch für die HZS festgestellt werden konnten und es wurde unter UV-Exposition eher eine gegenüber dem sichtbaren

Licht verminderte Abschirmungskapazität beobachtet (Abb. 3.21, Abb. 3.39). Letzteres fällt vor allem im Vergleich mit der zeitgleich verstärkten Flavonoidakkumulation und der niedrigen UV-A-Transmission auf. In den Induktionsexperimenten konnte eine gewisse Verringerung der UV-B-Transmission festgestellt werden, die jedoch weit hinter der für UV-A beobachteten zurückblieb, und nur teilweise auf UV-Exposition zurückzuführen war (dies gilt nicht für die Induktionsexperimente im Weinberg). Da die hier bestimmten Flavonole auch im UV-B-Bereich absorbieren, ist von Überschneidungen der beiden Pigment-Systeme auszugehen (Abb. 3.37). So werden nicht UV-induzierte, entwicklungsbedingt allmählich reduzierte HZS gemeinsam mit UV-induzierten Flavonoiden erfasst, deren Muster sich jedoch intern wiederum durch Entwicklungsprozesse bzw. unterschiedlich ausgeprägte Induzierbarkeit verschiebt. Eine deutliche Abweichung von der prinzipiellen Ähnlichkeit zwischen HZS-Akkumulation und  $T_{UVB}$  wurde im Induktionsexperiment 2000 bezüglich des Sortenunterschieds festgestellt: während hier bei Silvaner eine um den Faktor 3,5 höhere Menge an Kaffeeoyltartrat als bei Bacchus bestimmt wurde, waren die UV-B-Transmissionen vergleichbar (Abb. 3.22, Abb. 3.43). Hierbei handelt es sich um die physiologisch jüngsten Beeren, die auf phenolische Substanzen hin untersucht wurden. Es muss davon ausgegangen werden, dass in diesem Fall entweder bei Bacchus ein Teil der für die UV-B-Absorption in vivo verantwortlichen Substanzen nicht erfasst wurde oder aber, dass sich ein Teil der bei Silvaner extrahierbaren HZS in tieferen Schichten der Beerenhaut befand und nur bedingt zur Absorption in vivo beitrug. Bei diesen Beeren, mit relativ hohen Chlorophyllgehalten, könnte sich aber auch das Fluoreszenzsignal der äußeren Schichten störender ausgewirkt haben als in den älteren Beeren. Eine weitere Schwierigkeit bei dem Vergleich der Methoden liegt generell darin, dass chromatographisch die Absorption bei einer definierten Wellenlänge erfasst wird, die Anregungsfenster der Fluorometer jedoch nicht strikt auf diese eine Wellenlänge begrenzt sind (s. Abb. 2.17).

#### **4.2.3 Optimale Quantenausbeute des PS II**

Bei den Beeren war in keinem Fall eine durch UV verstärkte Inhibierung der Photosynthese, bestimmt über die variable Chlorophyllfluoreszenz ( $F_V/F_M$ ), zu erkennen. Obgleich die hier bestimmten Werte vor der Exposition mit denen der Blätter vergleichbar waren (Kolb et al., 2001), wurden, insbesondere im Experiment

2000, bei Expositionsbeginn niedrigere Werte erreicht. Ein Unterschied zwischen den beiden Experimenten an Topfreben bestand darin, dass die 2000 beobachtete Erholung bei den physiologisch älteren Beeren im Jahr 2001 nicht auftrat. Dies deutet auch auf eine der maßgeblichen Ursachen der Unterschiede in der Reaktion der verschiedenen Organe auf UV-Strahlung hin. Da die Beeren es sich ab einem gewissen Zeitpunkt in ihrer Entwicklung erlauben können, auf die Photosynthese zu verzichten, kommt es offensichtlich zu keiner Regenerierung.

#### **4.2.4 Bewertung der Schäden in Abhängigkeit von der Strahlungsqualität**

##### **4.2.4.1 Schäden an Blättern**

Die Schäden an den Blättern beider Sorten wurden durch UV-Strahlung induziert oder zumindest signifikant verstärkt (Abb. 3.58). Bei den Induktionsversuchen an Topfreben, die primär auf eine optimale Exposition der Rispen ausgelegt waren, wurde auf das im stündlichen Rhythmus durchgeführte Drehen der Töpfe, wie im Experiment S(L) I 2000 (s. Kolb et al., 2001), verzichtet. Die Schäden waren dort erheblich geringer.

##### **4.2.4.2 Schäden an Beeren**

Die als zweites Schadbild bei Beeren beschriebene, intensive Braunfärbung der Beerenhaut, ist nicht als realer Schaden zu bewerten. Dieses Symptom trat aber nahezu ausschließlich unter den UV-durchlässigen Folien auf, wobei zunächst die Ausprägung unter UV-B-Einfluss deutlicher war, während der folgenden drei Wochen wurde aber eine Angleichung zwischen den beiden UV-Standorten verzeichnet (Abb. 3.62). Die Lokalisation war auf die subepidermalen Zellschichten der Beerenhaut begrenzt. Eine Isolation der für die Verfärbung verantwortlichen Substanzen konnte jedoch bisher auch mit verschiedenen Extraktionsmethoden nicht erreicht werden (nicht gezeigt). Es wird derzeit von hochpolymeren Substanzen phenolischen Ursprungs ausgegangen. Durch UV-B-Strahlung induzierte, bräunliche Blattverfärbungen wurden in einer Kulturvarietät von Reis beobachtet (He et al., 1993). Außerdem wurde über die UV-B-stimulierte Bildung unlöslicher bräunlich gefärbter Produkte in der Blaualgenart *Scytonema* sp. berichtet (Sinha et al., 2001). Auch in diesen Arbeiten konnten die für die braune Pigmentierung verantwortlichen Substanzen nicht chemisch analysiert werden.

Für das „Schadbild 1“ war die Schadensbelastung in den Expositionskammern, im Unterschied zu den Experimenten im Weinberg, nur gering, obgleich hier völlig unakklimatisierte Beeren zu Zeitpunkten mit hoher Strahlungsbelastung exponiert wurden (Abb. 3.61). Nachdem im Akklimatisationsexperiment deutliche Schäden erst mit dem Einsetzen des Reifebeginns (Véraison) auftraten, wurden für das zweite Induktionsexperiment mit Topfreben (2001) Bacchus-Beeren in einem vergleichbaren physiologischen Stadium herangezogen. Dennoch kam es ausschließlich zu Schäden der niedrigsten Kategorie, die allerdings unter VAB gegenüber dem sichtbaren Licht (V) signifikant vermehrt auftraten. Im Akklimatisationsexperiment hingegen wurden bei Bacchus unter VAB und VA 80% aller exponierten Rispen geschädigt, wobei unter VAB 25% als schwer geschädigt (Kat. 2 – 3) einzustufen waren (Abb. 3.60). Die Schädigung unter sichtbarem Licht allein war signifikant niedriger, die bei Silvaner zeitgleich auftretenden Schäden waren allgemein signifikant geringer, und können etwa mit denen aus dem Induktionsexperiment 2001 bei Bacchus verglichen werden. Bei beiden Sorten war die Schadensbelastung auf der nach Westen orientierten Seite der Zeilung deutlich höher als auf der Ostseite, wo für Bacchus eine signifikante Steigerung der Schäden unter UV-Exposition und bei Silvaner hingegen nur vernachlässigbare Schäden zu verzeichnen waren. Die stärkere Belastung der Westseite in nord-süd-gezeilten Anlagen wurde auch anderweitig beobachtet (Schultz et al., 1999).

Da in diesem Experiment die Beprobung nur auf der Ostseite erfolgte, kann über die Entwicklung der Abschirmungskapazität auf der Westseite nichts ausgesagt werden. Auf der Ostseite konnte zwischen dem 23.07. und dem 16.08.00 eine Reduzierung der HZS festgestellt werden, die zwar auch bei Silvaner auftrat, wobei jedoch der signifikante Sortenunterschied erhalten blieb (Abb. 3.39). Ebenso wurde  $T_{UVB}$  bei Bacchus in diesem Zeitraum vor allem unter VAB signifikant erhöht, wohingegen bei Silvaner nach einer Reduzierung erst ein allmählicher Anstieg zu verzeichnen war (Abb. 3.21). Die Schäden können allerdings nicht allein mit der fehlenden Abschirmungskapazität der Beerenhaut erklärt werden, zumal in dem fraglichen Zeitraum sehr wechselhafte Wetterbedingungen herrschten (s. 3.1) und eine nicht unerhebliche Schädigung auch unter V-Bedingungen auftrat. Zwischen dem 29.07. und dem 01.08.00, sowie vom 10.08. bis zum 18.08.00 wurden relativ hohe UV-Strahlungsdosen gemessen, allerdings war ab ca. dem 09.08.00 keine Intensivierung des Schadbildes mehr zu beobachten. Langfristige Freilandstudien sind auf-

grund der starken Wechselhaftigkeit der Wetterbedingungen generell schwierig zu bewerten.

Ein anderer Aspekt ist, dass durch den Strahlungsstress im UV- Bereich auch die Expression anderer Gene induziert wird, deren Produkte allgemein zum Abbau von Stress beitragen können (Strid et al., 1994). Die unter sichtbarem Licht allein exponierten Beeren waren anderen Stressfaktoren, wie hohen Lichtintensitäten im PAR- Bereich, hohen Temperaturen und Wassermangel ebenso ausgesetzt wie die unter UV- Strahlung exponierten. Unter VA exponierte Beeren zeigten bei Bacchus deutlich niedrigere Flavonoidgehalte als unter VAB, obgleich sie vergleichbaren UV-A- Intensitäten ausgesetzt waren (Abb. 3.39). Die nach dem allgemeinen Pflanzeninaktivierungsspektrum errechnete biologische Bestrahlungsstärke ( $UVB_{BE}$ , Caldwell et al., 1983) war unter VA vernachlässigbar (s. Abb. 2.6); in einer neueren Arbeit wurde aber gezeigt, dass auch Wellenlängen  $> 313$  nm deutliche Effekte auf morphologisch sichtbare Parameter ausüben und es zu Wechselwirkungen zwischen den Effekten von UV-A- und UV-B- Strahlung kommen kann (Flint und Caldwell, 1996).

Die beiden im Jahr 2002 in den Weinberg verlegten Induktionsexperimente sollten zur Klärung der Differenzen in der Schadensbelastung zwischen den vorhergehenden Induktionsexperimenten und dem Akklimatisationsexperiment beitragen. Andererseits wurde hier bewusst eine kurzfristige Exposition auf der stark belasteten Westseite zu je einem Zeitpunkt kurz vor bzw. nach einsetzender *Véraison* gewählt. Eine Schwierigkeit ergab sich vor allem durch die, in dem entwicklungsbedingt vorgegebenen Zeitrahmen, sehr wechselhaften Witterungsbedingungen. In beiden Experimenten war vor allem am Nachmittag an mehreren Tagen wechselnde Bewölkung zu beobachten; dennoch waren nahezu alle exponierten Rispen nach vier bzw. neun Tagen geschädigt; signifikante Unterschiede wurden zwischen VAB und V im ersten Experiment beobachtet. Anders als in den Induktionsexperimenten in den Expositionskammern, konnte im ersten Experiment nach vier Tagen keine Anpassung von  $T_{UVA}$  an die unterschiedlichen Strahlungsbedingungen bestimmt werden; im zweiten Experiment erfolgte diese zwar, jedoch lag die hier nach sechs Tagen bestimmte  $T_{UVA}$  deutlich über den Werten des Kammerexperiments von 2001, wo Beeren in einem ungefähr vergleichbaren Stadium exponiert wurden.



Während bisher davon ausgegangen wurde, dass stabile Hochdrucklagen mit hohen Strahlungsintensitäten, die auf längere Zeiträume mit geringen Strahlungsdosen folgen, die höchste Schadensbelastung verursachen, muss diese Annahme aufgrund der vorliegenden Daten relativiert werden. Intensive Bestrahlung über den ganzen Tag konnte in den Expositionskammern weder vor noch nach Einsetzen der Reifephase die massiven Schäden erzeugen, die im Weinberg beobachtet wurden. Hingegen traten dort die Schäden eher in Zeiträumen mit stark wechselnder Bewölkung und vor allem auf der Westseite der Zeilung auf. Möglicherweise ist die Reduzierung der  $T_{UVA}$  von einer gewissen Dosis abhängig, die im Weinberg durch die, nur für den halben Tag gegebene, direkte Bestrahlung nicht erreicht wurde. Die wechselnde Bewölkung könnte diese noch zusätzlich verringert haben. Ein weiterer Aspekt ist der Tageszeitpunkt, zu dem die Bestrahlung erfolgt. Während die Beeren auf der Ostseite der Zeilung ab dem frühen Vormittag unter einer allmählich ansteigenden direkten Bestrahlung exponiert waren, wurden die vormittags beschatteten Beeren auf der Westseite relativ schnell der intensiven Strahlung bei Sonnenhöchststand ausgesetzt. Die zeitgleich auftretenden hohen Temperaturen müssen dabei als zusätzliche Stressoren berücksichtigt werden.

Allerdings lagen die in den Kammern erreichten Temperaturen deutlich über den unter den Folien im Weinberg gemessenen. Auch konnte zu den Zeitpunkten, zu denen die Oberflächentemperatur der Beeren bestimmt wurde, keine über die umgebende Lufttemperatur hinausgehende Aufheizung beobachtet werden; in den meisten Fällen wurde sie leicht unterschritten, woraus auf eine gewisse Transpirationkühlung geschlossen wird. Die von verschiedenen Autoren angeführte Erklärung, die Sonnenbrandsymptome würden im Wesentlichen durch eine Aufheizung der Beerenoberfläche auf Werte von über 50°C verursacht (Schultz et al., 1999, Düring und Mohr, 2000), konnte hier nicht bestätigt werden.

Insgesamt ist eine Strahlungsabhängigkeit des Schadbildes eindeutig gegeben. Bei beschatteten Kontrollrispen wurden nur dort vereinzelt geschädigte Beeren gefunden, wo aufgrund von Lücken in der Belaubung von einer zeitweisen direkten Bestrahlung auszugehen war. In allen Experimenten war ein Trend zu verstärkter Schädigung unter UV- Belastung erkennbar, zwischen den unter VAB und V exponierten Rispen traten mehrfach signifikante Unterschiede auf. Wie durch den Vergleich der Induktionsversuche im Weinberg mit denen an Topfreben belegt,

besteht durchaus ein Zusammenhang zwischen einer zu langsam etablierten effektiven UV- Abschirmung und der Intensität der Schäden. Da jedoch auch unter sichtbarem Licht allein Schäden beobachtet wurden, muss von einem Zusammenwirken verschiedener Faktoren ausgegangen werden. Ein wichtiger Ansatzpunkt für weitere Untersuchungen wäre die exakte Abklärung der über den Tag variierenden Strahlungsbedingungen im Weinberg.

## 5. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden unter naturnahen Bedingungen die Effekte von UV-Strahlung auf die Akkumulation löslicher phenolischer Komponenten und die epidermale UV-Transmission in vivo bei Kulturvarietäten di- und monokotyler Arten untersucht. Durch die Versuchsanordnungen konnten die Effekte der spektralen Bereiche der UV-A- und UV-B-Strahlung von denen des sichtbaren Bereichs getrennt betrachtet werden. Visuelle Schadensevaluierungen und die Erfassung der variablen Chlorophyllfluoreszenz dienten der Beurteilung einer durch Strahlungseinflüsse bedingten Schädigung der untersuchten Organe.

In kurzfristigen Induktionsexperimenten erfolgte bei unter Schwachlichtbedingungen angezogenen Pflanzen eine rasche Verringerung der epidermalen UV-Transmission, die durch UV-Strahlung induziert oder verstärkt wurde. Dies stimmte für alle untersuchten Arten (*Vitis vinifera*, *Hordeum vulgare*, *Avena sativa* und *Triticum aestivum*) überein. Hingegen war in keinem Fall eine durch UV verstärkte Inhibierung der Photosynthese, bestimmt über die variable Chlorophyllfluoreszenz ( $F_V/F_M$ ), zu erkennen. Zwischen der epidermalen Transmission für UV-A- und UV-B-Strahlung wurde bei allen drei monokotylen Arten ein strikt linearer Zusammenhang festgestellt. Dieser Zusammenhang bestand jedoch nicht für die untersuchten Organe in *V. vinifera*. Bei *Vitis vinifera* und *Hordeum vulgare* wurde über HPLC-Analytik eine positive Wirkung besonders der UV-B-Strahlung auf die Akkumulation der Flavonoide sowohl kurz- als auch langfristig nachgewiesen.

Bei *V. vinifera* wurden die für Blätter bereits festgestellten Zusammenhänge (Kolb et al., 2001) bei Beerenfrüchten untersucht. Hier wurden einerseits allgemeine Reaktionsmuster auf kurz- und langfristige UV-Exposition erfasst, und andererseits zwei Kulturvarietäten (cv. Bacchus und Silvaner) verglichen, deren Anfälligkeit für ein strahlungsbedingtes Schadsymptom unterschiedlich war. In allen Experimenten konnten ohne UV-Strahlung keine nennenswerten Mengen an löslichen Flavonoiden gebildet werden. Die löslichen Hydroxycimtsäurederivate hingegen waren bei den Beeren von der Art der Exposition weitgehend unabhängig. Die Identität der phenolischen Komponenten wurde über HPLC, UV-Spektroskopie, sowie Massenspektrometrie abgeklärt. Ihre Lokalisation in mehreren Zellschichten der Beerenhaut wurde durch Epifluoreszenzmikroskopie gezeigt. Der Einfluss des physiologischen Stadiums der Beeren auf die Akkumulation einzelner phenolischer Komponenten

wurde durch Verwendung verschiedener Reifeindikatoren belegt. Im Vergleich zu den Blättern wurden Unterschiede vor allem bezüglich der Lokalisation der phenolischen Komponenten und der Akkumulation der Hydroxycimtsäurederivate festgestellt, während für die Akkumulation der Flavonoide weitgehend Übereinstimmung herrschte. Die Zusammenhänge zwischen fluorometrisch und chromatographisch bestimmter Absorption waren für die Blätter eindeutiger; bei den Beeren konnte die fluorometrisch bestimmte epidermale Transmission nur zum Teil auf die Absorption der phenolischen Extrakte zurückgeführt werden. Zwischen den Beeren der beiden Sorten konnten signifikante Unterschiede bezüglich der Konzentrationen einzelner phenolischer Komponenten festgestellt werden; die qualitativen Substanzmuster stimmten jedoch sowohl zwischen den Sorten als auch im Vergleich mit den Blättern überein. Die über visuelle Einschätzung bestimmten Schäden konnten bei Blättern eindeutig auf UV-Strahlung zurückgeführt werden. Bei den Beeren konnten zwei verschiedene Schadbilder, die bisher unter „Sonnenbrand“ zusammengefasst wurden, voneinander getrennt dargestellt werden. Eines der beiden wurde eindeutig durch UV-Strahlung induziert, wobei UV-B die Intensität verstärkte. Das andere Schadbild trat zwar in mehreren Experimenten unter UV-Exposition vermehrt auf, wurde aber auch unter sichtbarer Strahlung allein beobachtet.

Das Ziel, einen praxisrelevanten Bezug zwischen dem Schadbild der nicht-parasitär bedingten Blattverbräunung (NBV) bei Gerste und der Akklimatisation an verschiedene Strahlungsbedingungen herzustellen, bedingte eine Festlegung auf ausdifferenzierte Blätter adulter Pflanzen anstelle von Primärblättern. Die Auswahl der Kulturvarietäten bei *H. vulgare* erfolgte im Hinblick auf unterschiedliche Anfälligkeit für NBV. Zwischen den Sorten konnte jedoch bezüglich der Anpassungsfähigkeit der epidermalen UV-Transmission an die unterschiedlichen Strahlungsbedingungen kein eindeutiger Unterschied ermittelt werden. Die epidermale UV-Transmission in vivo wurde bei *H. vulgare* ebenfalls mit der Absorption von Extrakten löslicher phenolischer Komponenten in Beziehung gesetzt und mit der für die Blätter von *V. vinifera* gefundenen Relation verglichen. Übereinstimmend konnten ca. 80% der Transmissionseigenschaften über die Absorption der Extrakte erklärt werden. Dennoch bestanden deutliche Unterschiede in der Art der Relationen. Über HPLC-Analytik und UV-Spektroskopie wurden bei *H. vulgare* die löslichen phenolischen Komponenten in Derivate einzelner Flavonoide unterteilt. Die löslichen Hydroxycimtsäurederivate hatten im Gegensatz zu *V. vinifera* nur einen geringen Anteil an

der Gesamtmenge der phenolischen Substanzen. Das Substanzmuster der beiden Varietäten stimmte überein; teilweise auftretende Konzentrationsunterschiede bezüglich der Flavonoide insgesamt bzw. einzelner Komponenten waren zwischen den verschiedenen Experimenten nicht konsistent. Ein Zusammenhang zwischen der UV-Exposition und dem Auftreten oder der Intensität des Schadbildes NBV konnte nicht festgestellt werden.

## Summary

In this study, the effects of UV radiation on accumulation of soluble phenolic compounds and on epidermal UV transmittance *in vivo* were investigated under close to nature conditions. Varieties of different crop species, of both dicots and monocots, were examined. The experimental design allowed to distinguish between effects of UV-B, UV-A and visible radiation. Inhibition of photosynthesis, measured by  $F_v/F_m$ , and observable damage caused by exposure to the different light regimes were determined.

In plants grown under shaded conditions in the greenhouse, short time outdoor exposure resulted in fast reduction of epidermal UV transmittance. This effect was specifically enhanced by UV radiation and was observed in all species investigated (*V. vinifera*, *H. vulgare*, *A. sativa* and *T. aestivum*). In contrast, inhibition of photosynthesis did not occur in all species. A good correlation was found between epidermal transmittance for UV-B and UV-A radiation in all of the monocot species investigated. This correlation, however, was not observed in *V. vinifera*. Flavonoid contents were determined in *V. vinifera* and *H. vulgare* by HPLC. Flavonoid synthesis was particularly enhanced by exposure to UV-B radiation.

For *V. vinifera*, the study concentrated on long and short term effects of UV exposure on grapes and the data were related to recently reported UV effects on grape leaves (Kolb et al., 2001). Two white grapevine varieties (cv. Bacchus and cv. Silvaner) were compared. The two varieties differ in their sensitivity for “sunburn” a syndrome which typically occurs during periods of high light intensities. Phenolic compounds were examined by HPLC analysis, UV spectroscopy, and mass spectrometry. Phenolics of berries of the two varieties were similar and agreed with the phenolic substances determined in leaves. In all experiments, the amounts of flavonoids synthesised in absence of UV radiation were negligible.

Under outdoor conditions, however, significant differences between the two berry types in the amount of phenolic compounds were determined. It was also shown that these variations are modulated by the prevailing developmental stage of grapes. Similar to leaves, UV-B radiation stimulated flavonoid synthesis in grapes. Different from leaves, synthesis of soluble hydroxycinnamic acids was not stimulated by high visible radiation. Furthermore, in leaves fluorescence microscopy demonstrated that phenolics are especially concentrated in the epidermal layer, whereas in grapes, phenolics appear to occur at elevated concentrations in several layers of the skin. The relationship between fluorometrically determined UV absorbance of grape skins and UV absorbance of extracted phenolics was statistically significant, but not all of the variations in absorbance by skin could be explained by phenolics.

In leaves, damage during outdoor exposure was clearly enhanced by UV radiation. In grapes, sunburn, which was originally considered as a homogeneous syndrome after exposure to strong radiation, could be divided in two classes of stress reactions. One of these can be seen as strictly UV related, while the other is only enhanced by UV radiation, and occurred also under visible light conditions.

Further studies investigated relations between the PLS (physiological leaf spot) syndrome occurring in fully developed leaves of barley and UV radiation. The crop varieties investigated showed a different sensitivity for PLS. However, acclimatisation to the different light conditions, determined as UV transmittance, revealed no clear difference between the cultivars. The relationship between fluorometrically determined UV absorbance of barley leaves and UV absorbance of extracted phenolics were examined. Similar as observed with *V. vinifera* leaves, about 80% of the variations of epidermal UV transmittance were explained by soluble phenolics. In *H. vulgare*, soluble phenolic compounds as identified by UV/VIS spectroscopy could be divided in two different groups of flavonoids while, in contrast to *V. vinifera*, soluble hydroxycinnamic acids are minor compounds in *H. vulgare*. HPLC profiles were similar for the two varieties of *H. vulgare*, and concentrations of flavonoid were almost comparable in both varieties in all experiments. These data together with UV exclusion experiments showed that PLS is not caused by UV-radiation.

## 6. Literatur

- Alleweldt G., Engel M., Gebbing H.** (1981). Histologische Untersuchungen an Weinbeeren. *Vitis* 20: 1-7.
- Ambrosi H.** (1991). Wein von A-Z. Nachschlagewerk, Gräfe und Unzer Verlag, München.
- Bachmann K.-I.** (1999). Pflanzenphysiologische Untersuchungen zu den nicht-parasitären Blattverbräunungen bei der Gerste (*Hordeum vulgare* L.). Diplomarbeit, Friedrich-Schiller-Universität Jena.
- Bais A.J., Murphy P.J., Dry I.B.** (2000). The molecular regulation of stilbene phytoalexin biosynthesis in *Vitis vinifera* during grape berry development. *Aust J Plant Physiol* 27: 425-433.
- Barnes P.W., Searles P.S., Ballaré C.L., Ryel R.J., Caldwell M.M.** (2000). Non-invasive measurements of leaf epidermal transmittance of UV radiation using chlorophyll fluorescence: field and laboratory studies. *Physiol Plant* 109: 274-283.
- Baumbusch L.O., Eiblmeier M., Schnitzler J.P., Heller W., Sandermann H., Jr., Polle A.** (1998). Interactive effects of ozone and low UV-B radiation on antioxidants in spruce (*Picea abies*) and pine (*Pinus sylvestris*) needles. *Physiol.Plant.* 104: 248-254.
- Beggs C.J., Wellmann E.** (1994). Photocontrol of flavonoid biosynthesis. In: Photomorphogenesis in Plants - 2nd Edition: 733-751. (Kendrick RE, Kronenberg GHM, eds) Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Bilger W., Johnsen T., Schreiber U.** (2001). UV-excited chlorophyll fluorescence as a tool for the assessment of UV-protection by the epidermis of plants. *J Exp Bot* 52: 2007-2014.
- Bilger W., Veit M., Schreiber L., Schreiber U.** (1997). Measurement of leaf epidermal transmittance of UV radiation by chlorophyll fluorescence. *Physiol Plant* 101: 754-763.
- Bornman J.F.** (1989). New trends in photobiology. Target sites of UV-B radiation in photosynthesis of higher plants. *J Photochem Photobiol B: Biol*: 145-158.
- Bornman J.F. und Teramura A.H.** (1993) Effects of ultraviolet-B radiation on terrestrial plants. *Environmental UV Photobiology* Ed: A R Young et al, Plenum Press, New York.

- Bornmann J.F., Reuber S., Cen Y.-P., Weissenböck G.** (1997) In: P.J. Lumsden (Ed) Plants and UV-B. Responses to Environmental Change. Cambridge University Press, Cambridge, S. 157-168.
- Boss P.K., Davies C., Robinson S.P.** (1996a). Expression of anthocyanin biosynthesis pathway genes in red and white grapes. *Plant Mol Biol* 32: 565-569.
- Boss P.K., Davies C., Robinson S.P.** (1996b). Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* L. cv Shiraz grape berries and the implications for pathway regulation. *Plant Physiol* 111: 1059-1066.
- Britt A.B.** (1996). DNA damage and repair in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 47: 75-100.
- Britt A.B.** (1999) Molecular genetics of DNA repair in higher plants. *Trends Plant Sci* 4: 20-25.
- Brosché M., Strid Å.** (2003). Molecular events following perception of ultraviolet-B radiation by plants. *Physiol Plant* 116: 1-10.
- Burchard P., Bilger W., Weissenböck G.** (2000). Contribution of hydroxycinnamates and flavonoids to epidermal shielding of UV-A and UV-B radiation in developing rye primary leaves as assessed by ultraviolet-induced chlorophyll fluorescence measurements. *Plant Cell Environ* 23: 1373-1380.
- Busch E., Strack D., Weissenböck G.** (1986). Cyanidin 3-gentiobioside from primary leaves of rye (*Secale cereale* L.). *Z.Naturforsch.* 41c: 485-486.
- Butler W.L.** (1978). Energy distribution in the photochemical apparatus of photosynthesis. *Annu Rev Plant Physiol* 29: 345-378.
- Cadet J., Berger M., Douki T., Morin B., Raoul S., Ravanat J.L., Spinelli S.** (1997). Effects of UV and visible radiation on DNA - Final base damage. *Biol.Chem.* 378: 1275-1286.
- Caldwell M.M., Flint S.D.** (1994). Stratospheric ozone reduction, solar UV-B radiation and terrestrial ecosystems. *Climatic Change* 28: 375-394.
- Caldwell M.M., Flint S.D.** (1997). Uses of biological spectral weighting functions and the need of scaling for the ozone reduction problem. *Plant Ecology* 128: 66-76.
- Cerovic Z.G., Ounis A., Cartelat A., Latouche G., Goulas Y., Meyer S., Moya I.** (2002). The use of chlorophyll fluorescence excitation spectra for the non-destructive in situ assessment of UV-absorbing compounds in leaves. *Plant Cell Environ* 25: 1663-1676.



- Chappell J. und Hahlbrock K.** (1984). Transcription of plant defence genes in response to UV light or fungal elicitors. *Nature* 331: 76-78.
- Chopin J., Dellamonica G., Bouillant M.L., Besset A., Popovici G., Weissenböck G.** (1977). C-Glycosylflavones from *Avena sativa*. *Phytochem* 16: 2041-2043.
- Cockell C.S.** (1998). Biological effects of high ultraviolet radiation on early earth - a theoretical evaluation. *J Theor Biol* 193: 717-729.
- Cockell C.S., und Knowland J.** (1999). Ultraviolet radiation screening compounds. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 74, 311-345.
- Conklin P.L., Williams E.H., Last R.L.** (1996). Environmental stress sensitivity of an ascorbic acid-deficient *Arabidopsis* mutant. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 93: 9970-9974.
- Creasy L.L. und Coffee M.** (1988). Phytoalexin production potential of grape berries. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 113: 230-234.
- Currle O., Bauer O., Hofäcker W., Schumann F., Frisch W.** (1983). *Biologie der Rebe: Aufbau Entwicklung Wachstum*. Textbuch, Meiniger, Neustadt.
- Dai Q.J., Yan B., Huang S.B., Liu X.Z., Peng S.B., Miranda M.L.L., Chavez A.Q., Vergara B.S., Olszyk D.M.** (1997). Response of oxidative stress defense systems in rice (*Oryza sativa*) leaves with supplemental UV-B radiation. *Physiol.Plant.* 101: 301-308.
- Davies C. und Robinson S.P.** (2000). Differential screening indicates a dramatic change in mRNA profiles during grape berry ripening. cloning and characterization of cDNAs encoding putative cell wall and stress response proteins. *Plant Physiol* 122: 803-812.
- Davies R.J.H.** (1995). Ultraviolet radiation damage in DNA. *Biochem.Soc.Trans.* 23: 407-418.
- Davies R.J.H.** (1997). Purines as targets for DNA photodamage. *Biochem. Soc.Trans.* 25: 323-326.
- Day T.A., Martin G., Vogelmann T.C.** (1993). Penetration of UV-B radiation in foliage: evidence that the epidermis behaves as a non-uniform filter. *Plant Cell Environ* 16: 735-741.
- Dellamonica G., Meurer B., Strack D., Weissenböck G., Chopin J.** (1983). Two isovitexin-2"-O-glycosides from primary leaves of *Secale cereale*. *Phytochem* 22: 2627-2628.

- Effertz B, Weissenböck G.** (1980). Tissue specific variation of C-glycosylflavone patterns in oat leaves as influenced by the environment. *Phytochem* 19: 1669-1672.
- Famiani F., Walker R.P., Técsi L., Chen Z.-H., Proietti P., Leegood R.C.** (2000). An immunohistochemical study of the compartmentation of metabolism during the development of grape (*Vitis vinifera* L.) berries. *J Exp Bot* 51: 675-683.
- Flint S.D., Caldwell M.M.** (1996) Scaling plant ultraviolet spectral responses from laboratory action spectra to field weighing factors. *J Plant Physiol* 148: 107-114.
- Forkmann G., Heller W.** (1999). Biosynthesis of flavonoids. In: *Comprehensive Natural Products Chemistry* (Barton D, Nakanishi K, eds) Vol 1. Elsevier, Amsterdam, pp 713-748.
- Foukal P.V.** (1990). Die veränderliche Sonne. *Spektrum der Wissenschaft* 1990-4: 66-75.
- Fröst S., Harborne J.B., King L.** (1977). Identification of the flavonoids in five chemical races of cultivated barley. *Hereditas* **85**: 163-168
- Fuglevand G., Jackson J.A., Jenkins G.I.** (1996). UV-B, UV-A, and blue light signal transduction pathways interact synergistically to regulate chalcone synthase gene expression in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 8: 2347-2357.
- Fulcrand H., Remy S., Souquet J.-M., Cheynier V., Moutounet M.** (1999). Study of wine tannin oligomers by on-line liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 47: 1023-1028.
- Goto-Yamamoto N., Wan G.H., Masaki K., Kobayashi S.** (2002). Structure and transcription of three chalcone synthase genes of grapevine (*Vitis vinifera*). *Plant Sci* 162: 867-872.
- Grammatikopoulos G., Petropoulou Y., Manetas Y.** (1999). Site-dependent differences in transmittance and UV-B-absorbing capacity of isolated leaf epidermes and mesophyll in *Urginea maritima* (L.) Baker. *J Exp Bot* 50: 517-521.
- Harborne J.B., Boardley M., Fröst S, Holm G.** (1986). The flavonoids in leaves of diploid *Triticum* species (Gramineae). *Pl Syst Evol* 154: 251-257.
- Harlow G.R., Jenkins M.E., Pittalwala T.S., Mount D.W.** (1994). Isolation of *uvh1*, an *Arabidopsis* mutant hypersensitive to ultraviolet light and ionizing radiation. *Plant Cell* 6: 227-235.

- Hawker J.S., Buttrose M., Soeffky A.** (1972). A simple method for demonstrating macroscopically the location of polyphenolic compounds in grape berries. *Vitis* 11: 189-192.
- He J., Huang L.-K., Chow W.S., Whitecross M.I., Anderson J.M.** (1993). Effects of supplementary ultraviolet-B radiation on rice and pea plants. *Aust J Plant Physiol* 20: 129-142.
- Hollósy F.** (2002). Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron* 33: 179-197.
- Hrazdina G., Parsons G.F., Mattick L.R.** (1984). Physiological and biochemical events during development and maturation of grape berries. *Am J Enol Viticult* 35: 220-227.
- Hutzler P., Fischbach R., Heller W., Jungblut T.P., Reuber S., Schmitz R., Veit M., Weissenböck G., Schnitzler J.P.** (1998). Tissue localization of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy. *J Exp Bot* 49: 953-965.
- Ibrahim R und Barron D.** (1989). Phenylpropanoids. In: *Methods in plant biochemistry: Volume 1 Plant phenolics: 75-111.* (eds: Dey PM, Harborne JB). Academic Press, New York.
- Jansen M.A.K.** (2002). Ultraviolet-B radiation effects on plants: induction of morphogenic responses. *Physiol Plant* 116: 423-429.
- Jansen M.A.K., Gaba V., Greenberg B.M.** (1998). Higher plants and UV-B radiation: Balancing damage, repair and acclimation. *Trends Plant Sci.* 3: 131-135.
- Jaworski A.W., Lee C.Y.** (1987). Fractionation and HPLC determination of grape phenolics. *J Agric Food Chem* 35: 257-259.
- Jende-Strid B.** (1993). Genetic control of flavonoid biosynthesis in barley. *Hereditas* 119: 187-204.
- Jenkins G.I.** (1997). UV and blue light signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ* 20: 773-778.
- Jordan B.R.** (1996). The effects of ultraviolet-B radiation on plants: a molecular perspective. *Advan Bot Res* 22: 97-162.
- Jordan B.R.** (2002). Review: Molecular response of plant cells to UV-B stress. *Funct Plant Biol* 29: 909-916.
- Jordan B.R., James P.E., Strid A., Anthony R.G.** (1994). The effect of ultraviolet-B radiation on gene expression and pigment composition in etiolated and green

pea leaf tissues: UV-B-induced changes are gene-specific and dependent upon the developmental stage. *Plant Cell Environ.* 17: 45-54.

- Justesen U., Knuthsen P., Leth T.** (1998). Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *J Chromatography A* 799: 101-110.
- Kalbin G., Hidema J., Brosché M., Kumagai T., Bornman J.F., Strid Å.** (2001). UV-B-induced DNA damage and expression of defence genes under UV-B stress: tissue-specific molecular marker analysis in leaves. *Plant Cell Environ* 24: 983-990.
- Kalbin G., Ohlsson A.B., Berglund T., Rydström J., Strid A.** (1997). Ultraviolet-B-radiation-induced changes in nicotinamide and glutathione metabolism and gene expression in plants. *Eur J Biochem* 249: 465-472.
- Karagiannis S., Economou A., Lanaridis P.** (2000). Phenolic and volatile composition of wines made from *Vitis vinifera* cv. Muscat Lefko grapes from the island of Samos. *J Agric Food Chem* 48: 5369 –5375.
- Käser M.** (2001). Untersuchungen zur Induktion epidermaler UV-Schutzpigmente unter verschiedenen Lichtbedingungen bei *Vitis vinifera* cv. Silvaner. Zulassungsarbeit, Universität Würzburg.
- Knogge W. und Weissenböck G.** (1986). Tissue-distribution of secondary phenolic biosynthesis in developing primary leaves of *Avena sativa* L. *Planta* 167: 196-205.
- Kolb C., Käser M., Kopecký J., Zotz G., Riederer M., Pfündel E.** (2001). Effects of natural intensities of visible and UV radiation on epidermal UV-screening and photosynthesis in grape leaves (*Vitis vinifera* L.). *Plant Physiol* 127: 863-875.
- Landrault N., Poucheret P., Ravel P., Gasc F., Cros G., Teissedre P.-L.** (2001). Antioxidant capacities and phenolics levels of french wines from different varieties and vintages. *J Agric Food Chem* (Internet).
- Landry L.G., Chapple C.C.S., Last R.L.** (1995). *Arabidopsis* mutants lacking phenolic sunscreens exhibit enhanced ultraviolet-B injury and oxidative damage. *Plant Physiol.* 109: 1159-1166.
- Landry L.G., Stapleton A.E., Lim J., Hoffman P., Hays J.B., Walbot V., Last R.L.** (1997). An *Arabidopsis* photolyase mutant is hypersensitive to ultraviolet- B radiation. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 94: 328-332.

- Li J., Ou-Lee T.-M., Raba R., Amundson R.G., Last R.L.** (1993). *Arabidopsis* flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation. *Plant Cell* 5: 171-179.
- Lichtenthaler H.K. und Schweiger J.** (1998). Cell wall bound ferulic acid, the major substance of the blue-green fluorescence emission in plants. *J Plant Physiol* 152: 272-282.
- Liu L., Gitz D.C. III, McClure J.W.** (1995). Effects of UV-B on flavonoids, ferulic acid, growth and photosynthesis in barley primary leaves. *Physiol Plant* 93: 725-733.
- Lois R., Buchanan B.B.** (1994). Severe sensitivity to ultraviolet radiation in an *Arabidopsis* mutant deficient in flavonoid accumulation. II. Mechanisms of UV-resistance in *Arabidopsis*. *Planta* 194: 504-509.
- Mackerness S.A.H., Jordan B.R., Thomas B.** (1997). UV-B effects on the expression of genes encoding proteins involved in photosynthesis. In: *Plants and UV-B: Responses to environmental change*: 113-134. (ed: Lumsden PJ). Cambridge University Press, Cambridge.
- Madronich S.** (1993). The atmosphere and UV-B-radiation at ground level. 1-39. In: *Environmental UV photobiology* (eds: Young A.R., Björn L.O., Moan J., Nultsch W.). Plenum Press, New York.
- Marangoni R., Gioffré D., Colombetti G., Lebert M., Häder D.-P.** (2000). ELDONET: European Light Dosimeter Network. *J Photochem Photobiol B Biol* 58: 178-184.
- Markstädter C., Queck I., Baumeister J., Riederer M., Schreiber U., Bilger W.** (2001). Epidermal transmittance of leaves of *Vicia faba* for UV radiation as determined by two different methods. *Photosynth Res* 67: 17-25.
- Mazza C.A., Battista D., Zima I.M., Szwarcberg-Bracchitta M., Giordano C.V., Acevedo A., Scapel A.L., Ballaré C.L.** (1999). The effects of solar UV-B radiation on the growth and yield of barley are accompanied by increased DNA damage and antioxidant responses. *Plant Cell and Environment* 22: 61-70.
- Mitchell D.L., Jen J., und Cleaver J.E.** (1992). Sequence specificity of cyclobutane pyrimidine dimers in DNA treated with solar (ultraviolet B) radiation. *Nucleic Acids Res.* 20: 225-229.
- Mohr H.D, Düring H.** (2000a). "Sonnenbrand" bei Weinreben - Vorboten einer Klimaänderung? *ForschungsReport* 1: 18-19.
- Mohr H.D., Düring H.** (2000b). *Sonnenbrand bei Weinbeeren – Eine Nachlese.* Deutsches Weinbau- Jahrbuch 2000, Waldkircher Verlag, Waldkirch

- Moskowitz A.H., Hrazdina G.** (1981). Vacuolar contents of fruit subepidermal cells from *Vitis* species. *Plant Physiol* 68: 686-692.
- Mullins G.M., Bouquet A., Williams L.E.** (1992). *Biology of the grapevine*. Textbook. Cambridge University Press, Cambridge UK.
- Norbæk R., Brandt K., Kondo T.** (2000). Identification of flavone C-glycosides including a new flavonoid chromophore from barley leaves (*Hordeum vulgare* L.) by improved NMR techniques. *J Agric Food Chem* 48: 1703 –1707.
- Obst A., Baumer M.** (1998). Nichtparasitär bedingte Blattverbräunung an Gerste und anderen Getreidearten. Ursachen und Abwehrmaßnahmen. *Getreide* 4: 56-61.
- Obst A., Baumer M., Huber G.** (1995). Nichtparasitär bedingte Blattverbräunungen bei der Gerste - ein Problem mit zunehmender Bedeutung? *Gesunde Pflanzen* 47: 308-314.
- Obst A., Baumer M., Schnitzler J.-P.** (1998). Nichtparasitär bedingte Blattverbräunungen an Gerste und anderen Getreidearten, *Getreide* 2: 56-61.
- Obst A., Huber G.** (1996). Flecken geben noch Rätsel auf. *DLG-Mitteilungen H.* 3: 58-61.
- Okamura S. und Watanabe M.** (1981). Determination of phenolic cinnamates in white wine and their effect on wine quality. *Agric Biol Chem* 45: 2063-2070.
- Pang Q. und Hays J.B.** (1991). UV-B-inducible and temperature-sensitive photo-reactivation of cyclobutane pyrimidine dimers in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* 95: 536-543.
- Peak M.J., Peak J.G.** (1983). Use of action spectra for identifying molecular targets and mechanisms of action of solar ultraviolet light. *Physiol Plant* 58: 367-372.
- Pfündel E.E.** (2003). Action of UV and visible radiation on chlorophyll fluorescence from dark-adapted grape leaves (*Vitis vinifera* L.). *Photosynthesis Research*. (in press).
- Popovici G., Weissenböck G., Bouillant M.-L., Dellamonica G., Chopin J.** (1977). Isolation and characterization of flavonoids from *Avena sativa* L. *Z Pflanzenphysiol* 85: 103-115.
- Rao M.V., Paliyath C., Ormrod D.P.** (1996). Ultraviolet-B- and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* 110: 125-136.

- Rapp A. und Ziegler A.** (1973) Bestimmung der Phenolcarbonsäuren (Hydroxybenzoesäuren und Hydroxyzimtsäuren) in Rebblättern, Weintrauben und Wein mittels Mikro-Polyamid-Dünnschichtchromatographie. *Vitis* 12: 226-236.
- Reuber S.** (1996). Die Strahlungsregulation der löslichen Phenylpropane und ihre Bedeutung als UV-B-Schirm- und -Schutzpigmente im Primärblatt von Roggen (*Secale cereale* L.) und Gerste (*Hordeum vulgare* L.). Dissertation, Universität zu Köln.
- Reuber S., Bornman J.F., und Weissenböck G.** (1996a). Phenylpropanoid compounds in primary leaf tissues of rye (*Secale cereale*). Light response of their metabolism and the possible role in UV-B protection. *Physiol Plant.* 97: 160-168.
- Reuber S., Bornman J.F., Weissenböck G.** (1996b). A flavonoid mutant of barley (*Hordeum vulgare* L.) exhibits increased sensitivity to UV-B radiation in the primary leaf. *Plant Cell Environ* 19: 593-601.
- Reuber S., Jende-Strid B., Wray V., Weissenböck G.** (1997). Accumulation of the chalcone isosalipurposide in primary leaves of barley flavonoid mutants indicates a defective chalcone isomerase. *Physiol Plant* 101: 827-832.
- Reuder J., Dameris M., Koepke P.** (2001). Future UV radiation in Central Europe modelled from ozone scenarios. *J Photochem Photobiol* 61: 94-105.
- Rozema J, Van de Staaij J., Björn L.O., Caldwell M.M.** (1997). UV-B as an environmental factor in plant life: stress and regulation. *Tree* 12: 22-28.
- Rozema J., Björn L.O., Bornman J.F., Gaberscik A., Häder D.-P., Trost T., Germ M., Klisch M., Gröniger A., Sinha R.P., Lebert M., He Y.Y., Buffoni-Hall R., de Bakker N.V.D., van de Staaij J., Meijkamp B.B.** (2002). The role of UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystems-an experimental and functional analysis of the evolution of UV-absorbing compounds. *J Photochem Photobiol B: Biol* 66: 2-12.
- Schieber A., Keller P., Carle R.** (2001). Determination of phenolic acids and flavonoids of apple and pear by high-performance liquid chromatography. *J Chromatography A* 910: 265–273.
- Schmitz R.** (2001). UV-Schutz in Primärblättern von Roggen und Gerste: Untersuchungen zur Bedeutung der Flavonoid- Akkumulation und Photoreaktivierung von DNA-Schäden. Dissertation, Universität zu Köln.

- Schreiber U., Schliwa U. und Bilger W.** (1986). Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynth Res* 10: 51-62.
- Schultz H.R., Hoppmann D., Berkelmann-Löhnertz D.** (1999). Sommer 98: Verbrennungserscheinungen an den Trauben. Einfacher Sonnenbrand oder Umweltschaden? *Der deutsche Weinbau* 3: 12-15.
- Schultz H.R., Löhnertz O., Bettner W., Bálo B., Linsenmeier A., Jähnisch A., Müller M., Gaubatz B., Váradi G.** (1998). Is grape composition affected by current levels of UV-B radiation? *Vitis* 37: 191-192.
- Schulz M., Strack D., Weissenböck G., Markham K.R., Dellamonica G., Chopin J.** (1985). Two luteolin O-glucuronides from primary leaves of *Secale cereale*. *Phytochemistry* 24: 343-345.
- Singleton V.L., Timberlake C.F., Lea A.G.H.** (1978). The phenolic cinnamates of white grapes and wine. *J Sci Food Agric* 29: 403-410.
- Sinha R.P., Klisch M., Helbling E.W., Häder D.-P.** (2001). Induction of mycosporine-like amino acids (MAAs) in cyanobacteria by solar ultraviolet-B radiation. *J Photochem Photobiol B: Biol* 60:129-135.
- Sparvoli F., Martin C., Scienza A., Gavazzi G., Tonelli C.** (1994). Cloning and molecular analysis of structural genes involved in flavonoid and stilbene biosynthesis in grape (*Vitis vinifera* L.). *Plant Mol Biol* 24: 743-755.
- Stapleton A.E., Thornber C.S., Walbot V.** (1997). UV-B component of sunlight causes measurable damage in field-grown maize (*Zea mays* L): Developmental and cellular heterogeneity of damage and repair. *Plant Cell Environ.* 20: 279-290.
- Strack D., Keller H., Weissenböck G.** (1987). Enzymatic synthesis of hydroxycinnamic acid esters of sugar acids and hydroaromatic acids by protein preparations from rye (*Secale cereale*) primary leaves. *J.Plant Physiol.* 131: 61-73.
- Strid A., Chow W.S., and Anderson J.M.** (1994). UV-B damage and protection at the molecular level in plants. *Photosynth.Res.* 39: 475-489.
- Taylor R.M., Nikaido O., Jordan B.R., Rosamond J., Bray C.M., and Tobin A.K.** (1996). Ultraviolet-B-induced DNA lesions and their removal in wheat (*Triticum aestivum* L) leaves. *Plant Cell Environ.* 19: 171-181.



- Teramura A.H. und Ziska L.H.** (1996). Ultraviolet-B radiation and photosynthesis. Photosynthesis and the Environment (Ed Baker N.R.), Kluwer Acad Publ, Dordrecht - Boston – London: 435-450.
- Teramura AH und Sullivan JH.** (1994). Effects of UV-B radiation on photosynthesis and growth of terrestrial plants. Photosynth Res 39: 463-473.
- Tevini M. und Häder D.-P.** (1985). Allgemeine Photobiologie. Thieme - Verlag, Stuttgart.
- Vass I.** (1997). Adverse effects of UV-B light on the structure and function of the photosynthetic apparatus. Handbook of Photosynthesis Ed Mohammed Pessaraki Marcel Dekker, Inc, New York - Basel - Hong Kong: 931-949.
- von Willert D.J., Matyssek R., Herpich W.** (1995). Experimentelle Pflanzenökologie: Grundlagen und Anwendungen. Thieme - Verlag, Stuttgart.
- Wade H.K., Bibikova T.N., Valentine W.J., Jenkins G.I.** (2001). Interactions within a network of phytochrome, cryptochrome and UV-B phototransduction pathways regulate chalcone synthase gene expression in *Arabidopsis* leaf tissue. Plant J 25: 675-685.
- Wagner H., Obermeier G., Chari V.M., Galle K.** (1980). Flavonoid-C-Glycosides from *Triticum aestivum* L. J Nat Prod 43: 583-587.
- Weber B.** (1992). Phenolische Komponenten des Weinrebenblattes: Identität und phytopathologische Bedeutung. Dissertation, Universität Zürich, Schweiz.
- Weissenböck G., Hedrich R., Sachs G.** (1986) Secondary phenolic products in isolated guard cell, epidermal cell and mesophyll cell protoplasts from Pea (*Pisum sativum* L.) leaves: distribution and determination. Protoplasma 134: 141-148.
- Winkel-Shirley B.** (2001). Flavonoid Biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. Plant Physiol 126: 485-493.
- Winkel-Shirley B.** (2001). It Takes a Garden. How work on diverse plant species has contributed to an understanding of flavonoid metabolism. Plant Physiol 127: 1399-1404.
- Würidig G. und Woller R.** (1989). Handbuch der Lebensmitteltechnologie / Chemie des Weines. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.

## **Publikationen**

**Kolb C.A., Käser M.A., Kopecký J., Zotz G., Riederer M., Pfündel E.E.** (2001).

Effects of natural intensities of visible and ultraviolet radiation on epidermal ultraviolet screening and photosynthesis in grape leaves. *Plant Physiol* 127: 863-875.

**Kolb C.A., Riederer M., Pfündel E.E.** UV screening in berries of grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Bacchus). *J Exp Bot* (eingereicht 2002).

## **Beiträge in Tagungsbänden**

**Kolb C., Riederer M., Pfündel E.** (2002) Bewirkt ungenügende UV-Abschirmung bei Bacchus-Beeren "Sonnenbrand"? Deutsche Pflanzenschutztagung 2002, Bonn.

# Lebenslauf

## Persönliche Daten

Christiane Antonia Kolb,  
geb. am 11.07.1969 in Mallersdorf / Niederbayern  
ledig, ein Kind (13 Jahre)

## Studium

- 1999-2003            Promotionsstudium bei Prof. Dr. M. Riederer am Julius-von-Sachs-Institut für Biowissenschaften, Lehrstuhl für Botanik II, an der Bayerischen Julius–Maximilians–Universität Würzburg.  
Co- Betreuung der Zulassungsarbeit von Martin Käser und der Diplomarbeit von Kerstin Reichert  
Betreuung des Forschungspraktikums („FP2“) von Anne Werner
- 1993-1999            Studium der Biologie an der Bayerischen Julius–Maximilians–Universität Würzburg  
13.08.1999: Diplom (Note: sehr gut)  
Fächerkombination: Botanik (experimentelle Ökologie und Geobotanik), Mikrobiologie und pharmazeutische Biologie.  
Thema der Diplomarbeit: Einfluss von Benzo(1,2,3)-thiadiazol-7-carbothionsäure-S-Methylester auf die epidermale Transmission von Blättern bei *Vicia faba*.

## Schulbildung

- 1989-1993            Mozart – Gymnasium in Würzburg (Abendgymnasium)  
09.07.1993: Abitur (Note 1,6)

## Danksagung

Ich danke Herrn Professor Dr. Markus Riederer für die Vergabe des Themas, die Gewährleistung der guten Arbeitsbedingungen und den Rückhalt während dieses Zeitraums. Ich danke Herrn Dr. Erhard Pfündel für Beratung und Unterstützung bei der Bearbeitung, für die lebhaftige Diskussion und die extrem gute Zusammenarbeit.

Dank gilt auch unseren Kooperationspartnern Herrn Herrmann und Herrn Hofmann (LWG, Veitshöchheim), Herrn Dr. Kopecký (Institut für Mikrobiologie, Trebon), Herrn Dr. Kaiser und Frau Wirth (Lehrstuhl für Botanik I, Universität Würzburg).

Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Dr. Baumer und Frau Behn (LBP, Freising), sowie bei Herrn Dr. Trepte (Meteorologisches Observatorium, DWD, Hohenpeißenberg) und vielen anderen aus dem Forschungsverbund BayForUV.

Ich möchte mich an dieser Stelle bei den technischen Angestellten des Lehrstuhls, sowie des Botanischen Gartens und der Werkstatt bedanken, die mir in vielen Dingen tatkräftig zur Seite gestanden haben. Besonderer Dank gilt Frau Pink, Frau Kreßmann und Herrn Schliwa.

Ebenso möchte ich mich bei den studentischen Hilfskräften, Zulassungskandidaten und Diplomanden bedanken, ohne deren Einsatz diese Arbeit nicht durchführbar gewesen wäre. Besonderer Dank gilt hier Martin Käser, Anne Werner, Eva Diehle, Simone Geyer, Birgit Glück und Kristina Bayer.

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen eines Teilprojekts (B2) des Bayerischen Forschungsverbundes: Erhöhte UV-Strahlung in Bayern – Folgen und Maßnahmen (BayForUV) vom Bayerischen Staat gefördert.

## **Erklärung**

Ich versichere hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe. Die Dissertation wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch zu keinem anderen Prüfungsverfahren vorgelegt. Ich erkläre, dass ich bisher keine akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht habe.

Würzburg, den 06.02.2003

Christiane Kolb