

ANDREA POLLE

Wie Bäume mit Salzstress fertig werden
(Vortrag in der Plenarsitzung am 2. Juni 2006)

Bedarf an stressresistenten Baumarten

Die Abholzung von Wäldern, die Übernutzung landwirtschaftlicher Flächen, gepaart mit anthropogenen Klimaveränderungen, verursachen weitreichende Umweltprobleme und den Verlust an Bodenfruchtbarkeit. Weltweit sind schätzungsweise 1 Milliarde Menschen oder ein Drittel aller landwirtschaftlich nutzbaren Flächen von Bodendegradation betroffen. Wichtigste Ursache für den rasant fortschreitenden Verlust fruchtbarer Böden sind im wesentlichen Trockenheit und Bodenversalzung.

Als Bodenversalzung wird die Akkumulation von Natriumchlorid (NaCl) – uns allen auch als Kochsalz bekannt – und in manchen Fällen auch die Anreicherung von Magnesiumsulfat im Oberboden bezeichnet. Neben natürlich vorkommenden Salzböden, z. B. in Küstenbereichen, hat die Bodenversalzung häufig anthropogene Ursachen. Dazu gehören der Einsatz von Mineraldünger und die Einleitung von Salzen in Flüsse, in ariden Gebieten auch ungeeignete Bewässerungspraktiken, die Salze in tiefer gelegenen Bodenschichten lösen, welche dann infolge der hohen Evaporation an die Bodenoberfläche gelangen. Etwa 6% der gesamten Landfläche der Erde und ca. 30% der bewässerten Flächen sind weltweit von Bodenversalzung betroffen (Abb. 1).

Anders als in tierischen Organismen wird Natrium in Pflanzen höchstens in Spuren benötigt. Die Aufnahme erhöhter Natriumkonzentrationen



Andrea Polle, Professorin für Forstbotanik und Baumphysiologie an der Georg-August-Universität Göttingen, O. Mitglied der Göttinger Akademie seit 2006

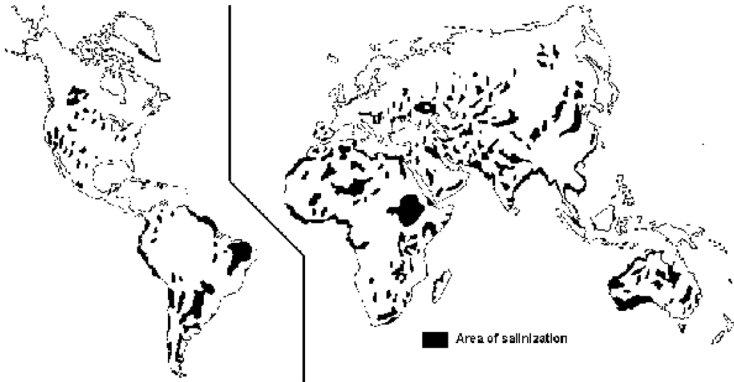


Abbildung 1: Karte der weltweiten Verbreitung von Bodensalinität
(aus: <http://www.fao.org/AG/AGL/agll/spush/intro.htm>)

verdrängt Kalium, stört somit den Ionenhaushalt, verursacht osmotischen Stress und führt zum Verlust von Produktivität und im Extremfall zum Absterben des Organismus. Nach neueren Schätzungen der FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) führt die zunehmende Versalzung zu Verlusten an kultivierbarer Fläche in der Größenordnung von 3 ha/min (<http://www.fao.org/AG/AGL/agll/spush/intro.htm>).

Da Schädigung und Ausfall der Vegetation auch das Mikroklima beeinflussen, ist eine Rekultivierung mit den ursprünglich in diesen Gebieten vorkommenden Pflanzen nicht direkt möglich, sondern erfordert den Einsatz stressresistenter Pflanzenarten. Aufforstungsmaßnahmen sind in diesem Zusammenhang besonders interessant, weil Bäume das Mikroklima positiv beeinflussen, einen sehr guten Erosionsschutz bilden, aufgrund der starken Bodendurchwurzelung und ihrer Masse ein hohes Potenzial für Bodensanierung (Phytoremediation) aufweisen und gleichzeitig zahlreiche Nutzungsmöglichkeiten bieten. Die meisten Baumspezies, auch die hierzu lande forstwirtschaftlich genutzten Arten, sind Wildarten, d. h. anders als landwirtschaftliche Kulturpflanzen züchterisch nicht oder nur wenig bearbeitet. Aus diesem Grunde zielen weltweit zahlreiche Forschungsansätze darauf ab, in Bäumen die Grundlagen der Produktivität und der Stressresistenz zu verstehen und mit Hilfe konventioneller und biotechnologischer Methoden züchterisch zu optimieren. Schwerpunkt meiner Arbeit ist es, die molekularen Mechanismen von Anpassungsprozessen an Stress aufzuklären. Im Rahmen der DFG-geförderten und von mir koordinierten Forschergruppe „Poplar – a model to address tree specific questions“

(FOR496, <http://www.pappelgruppe.uni-goettingen.de/>) untersuchen wir unter anderem Strategien der Anpassung an Salzstress.

Die Pappel als Modellbaumart

Die Gattung *Populus* hat eine weite Verbreitung mit Arten, die nicht nur in den gemäßigten Klimazonen, sondern auch unter extremen klimatischen und edaphischen Bedingungen vorkommen. So konnten wir in der Taklamakanwüste (P.R. China, Autonome Provinz Xinjiang) mehr als 30 km vom nächsten Fluss entfernt mächtige Exemplare der Euphratpappel (*P. euphratica*) finden (Abb. 2). Die Taklamakanwüste umfaßt ein Gebiet von 300.000 km², hat ein hyperarides Klima mit weniger als 30 mm Jahresniederschlag und ist extremen Temperaturschwankungen ausgesetzt, die innerhalb kurzer Zeit von unter Null bis über 60 °C reichen können. Auf der Bodenoberfläche sind Salzkrusten zu finden. *P. euphratica* ist für ihre Salztoleranz bekannt. Da es uns gelungen ist, diese Art in Gewebekultur zu überführen und mittels Mikropropagation unter sterilen Bedingungen in großer Stückzahl zu vermehren (Abb. 3), ist eine wesentliche Grundlage für experimentelle Untersuchungen der Stresstoleranz gelegt worden. Mit Hilfe der Mikropropagation steht uns für die Experimente stets gut definiertes, unter gleichen Bedingungen angezogenes Material zur Verfügung.

Generell haben Pappeln eine Reihe weiterer Vorteile: Sie sind über Stecklinge leicht klonal zu vermehren. Sie gehören zu den schnell wachsenden



Abbildung 2: *Populus euphratica* in der Taklamakanwüste (P.R. China, Xinjiang)



Abbildung 3: Regeneration von *P. euphratica* in der Gewebekultur

Baumarten und sind daher von erheblicher praktischer Bedeutung für die Produktion nachwachsender Rohstoffe. Viele Pappelarten können routinemäßig transformiert werden und bieten so die Möglichkeit, durch „gain-and-loss-of-function“ die Funktion einzelner Gene zu charakterisieren. Das Genom der in Nordamerika heimischen Art *P. trichocarpa* wurde vollständig sequenziert. Es ist mit 480 Millionen Basenpaaren etwa 4-mal größer als das von *Arabidopsis thaliana*, der Modellpflanze für krautige Gewächse, aber etwa 50-mal kleiner als das von Koniferen. Zum jetzigen Zeitpunkt (2007) sind für das Pappelgenom 45.555 Genmodelle beschrieben (<http://genome.jgi-psf.org/>), von denen viele durch ESTs (Expressed Sequence Tags) verifiziert sind. Zusammen mit weiteren Genen, die in anderen Pappelarten im Rahmen von EST-Projekten identifiziert worden sind, sind sogenannte „whole-genome-arrays“ für die Untersuchung von Expressionsprofilen für über 60.000 verschiedene Gene verfügbar.

Neben diesen unbestrittenen Vorteilen hat das Arbeiten mit Bäumen aber auch eine Reihe von Nachteilen und Schwierigkeiten gegenüber anderen Untersuchungsobjekten. So dauert es lange, oft Dekaden, bis Bäume geschlechtsreif werden. Viele Pappelarten, die mit etwa 6 bis 8 Jahren Samen produzieren, sind zwar vergleichsweise schnell, jedoch für die Laufdauer „normaler“ Forschungsvorhaben auch sehr langsam. Pappelsamen sind nur kurze Zeit keimfähig. Die Transformation und Charakterisierung genetisch veränderter Pappeln dauert wesentlich länger (> 1 Jahr) als bei vielen anderen biologischen Modellorganismen. Umfangreiche Mutantensammlungen, die für die Aufklärung von Funktionen und für die Systemanalyse von Bakterien, Pilzen, *Arabidopsis thaliana* und anderen Organismen wertvolle

Werkzeuge darstellen, sind nicht verfügbar. Dies ist besonders bedauerlich, weil die Anlage solcher Sammlungen technisch nicht besonders schwierig und als Dauerplantage im Unterhalt auch nicht sehr anspruchsvoll wäre. In Deutschland stellen die restriktive Gesetzgebung für die Freisetzung transgener Pflanzen und die gentechnikfeindliche Einstellung der Bevölkerung hohe Hürden für die Einrichtung solcher Dauerversuchsfelder dar, und so sind solche Felder bisher nicht angelegt worden. Die Alternative, Pappelmutantensammlungen in Gewebekulturen zu halten, wäre zu teuer.

Trotz solcher Probleme sind Bäume faszinierende Untersuchungsobjekte, denn ihre saisonale Aktivität mit Phasen der Dormanz und des aktiven Wachstums, ihre geringen Nährstoffansprüche und die Bildung eines massiven Stammes sind Spezifika, die in kurzlebigen, krautigen Gewächsen nicht untersucht werden können. Ihr langer Lebenszyklus erfordert eine hohe Fähigkeit zur Anpassung an sich ändernde Umweltbedingungen. All diese Funktionen lassen sich in der Gattung *Populus* exemplarisch für Holzgewächse untersuchen.

Anpassung an Salzstress

Um die Grundlagen der Salzresistenz von Pappeln zu klären, wurden resistente und sensitive Arten mit Hilfe anatomischer, physiologischer, biochemischer und molekularer Methoden verglichen. Salzadaptierte Euphratpappeln zeigten eine geringe Aufnahme von NaCl über die Wurzeln. Hierdurch traten exzessive Salzkonzentrationen erst mit Verzögerung auf. Jedoch wurden auch erhöhte Salzkonzentrationen in den Blättern besser toleriert als bei der salzempfindlichen Graupappel (*P. × canescens*). Hierfür konnten wir zwei Anpassungsreaktionen ausmachen: Zum einen zeigten die Blätter deutliche Schwellungen und eine vermehrte Bildung von Mesophyll, einen Prozess, der als Ausbildung einer moderaten Blattsukkulenz bezeichnet werden kann. Dies ermöglicht dem Baum eine vermehrte Wasserspeicherung und damit eine größere Verdünnung des Salzes, als dies bei anderen Pappelarten möglich ist (Abb. 4). Dass eine solche Anpassung, die typisch ist für Halophyten, bei Pappeln, die typische Glycophyten sind, unter Salzeinfluß ausgebildet wird, ist ein neuer Befund, der nun auf molekularer Ebene weiter charakterisiert werden muß. Weiter zeigten Mikroanalysen der subzellulären Elementverteilung, die unter dem Elektronenmikroskop durchgeführt wurden, daß Natrium vorwiegend extrazellulär akkumuliert (Abb. 5). Dies wies auf einen äußerst effizienten Exkretionsmechanismus hin, der das Zellplasma vor toxischen Natriumkonzentrationen schützt.

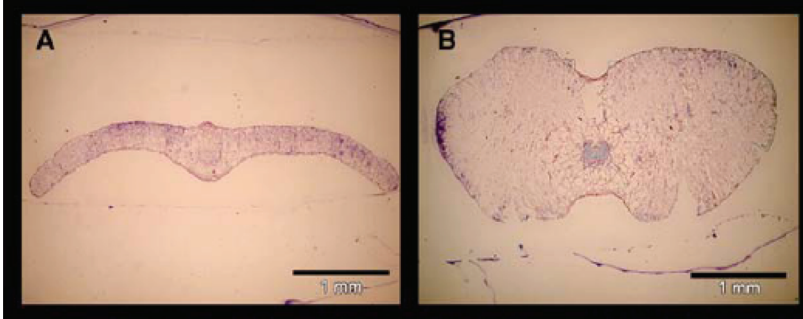


Abbildung 4: *P. euphratica* Blattquerschnitte nach 9 Wochen bei normaler Bewässerung (A) oder Bewässerung mit 150 mM NaCl (B) in der Nährlösung¹

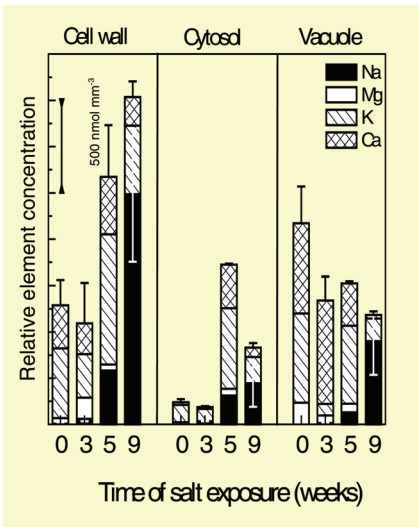


Abbildung 5: Veränderung der subzellulären Verteilung von Na, Mg, K und Ca-Ionen im Apoplasten, Zytoplasma und der Vakuole innerhalb von 9 Wochen während der Behandlung von *P. euphratica* mit 150 mM NaCl.¹

Es ist bekannt, daß Na^+/H^+ -Antiporter die Konzentration von Natrium im Zytoplasma regulieren, indem sie Na^+ in die Vakuole oder in das extrazelluläre Kompartiment, in den Apoplast transportieren. Die Triebkraft wird durch membrangebundene H^+ -ATPasen aufgebracht. Es lag daher nahe, nach solchen Transportsystemen zu suchen. Im Rahmen des EU-Projektes ESTABLISH (<http://www.biomat.net.org/secure/FP5/S1307.htm>)

¹ Ottow EA, Brinker M, Teichmann T, Fritz E, Kaiser W, Brosché M, Kangasjärvi J, Jiang X, Polle A (2005) *Populus euphratica* displays apoplastic sodium accumulation, osmotic adjustment by decreases in calcium and soluble carbohydrates, and develops leaf succulence under salt stress. *Plant Physiology* 139: 1762–1772

identifizierten wir ca. 14.000 stressinduzierte ESTs in *P. euphratica*², darunter auch einen Na⁺/H⁺-Antiporter. Dieser Antiporter war homolog zur so genannten *NhaD*-Familie in Arabidopsis, deren Mitglieder in Pflanzen erstmals von uns charakterisiert wurden³. *NhaD*-Antiporter wurden ursprünglich in dem gefährlichen Bakterium *Vibrio cholerae* nachgewiesen. Vibrionen, die Cholera und andere Krankheiten auslösen, sind halophile Organismen, die sich in Salzwasser vermehren und daher effiziente Entgiftungsmechanismen für überschüssiges Natrium besitzen müssen. Durch Komplementation von salzsensitiven *nhaA/nhaB* *E. coli*-Doppelmutanten mit dem *NhaD1*-Konstrukt aus *P. euphratica* gelang es, zu zeigen, daß die Expression dieses Gens zur Kompartimentierung von Natrium und damit zur Vermittlung von Salztoleranz beiträgt.

Mit Hilfe von Microarray-Analysen wurden weitere Kandidatengene entdeckt, die im Zusammenhang mit der Salztoleranz von *P. euphratica* eine Rolle spielen könnten. Die Funktion dieser Gene wird derzeit von uns untersucht.

Ausblick

Die obigen Ausführungen werfen ein Schlaglicht auf die Arbeit meiner Abteilung. Die Perzeption von Umweltreizen, die Signalübermittlung und die daraus resultierende Anpassung des Stoffwechsels und letztlich der Morphologie sind spannende Themen aus dem Bereich der Grundlagenforschung an Bäumen, die unmittelbar in praktische Konsequenzen einmünden können, zum Beispiel für die Verbesserung der Stressresistenz mit Hilfe konventioneller züchterischer oder biotechnologischer Methoden. Dies stellt für die Zukunft eine große Herausforderung dar, weil die Verknappung von Energie sowie die umweltpolitischen Ziele zur Emissionsminderung weltweit zu einem erhöhten Bedarf an nachwachsenden Rohstoffen führen. Schon heute hat die Konkurrenz um Ackerland für den Anbau von Energiepflanzen einerseits und für die Lebensmittelproduktion andererseits eingesetzt. Diese Situation kann langfristig dadurch verbessert werden, daß Pflanzenproduktion auf Grenzertragstandorten rentabel wird. Dazu sollen unsere Forschungen einen Beitrag leisten.

² Brosché M, Vinocur B, Alatalo ER, Lamminmäki A, Teichmann T, Ottow EA, Djilianov D, Afif D, Triboulot-Bogeat MB, Altman A, Polle A, Dreyer E, Rudd S, Paulin L, Auvinen P, Kangasjärvi J (2005) Gene expression and metabolite profiling of *Populus euphratica* growing in the Negev desert. *Genome Biology* 6: R101

³ Ottow E, Polle A, Brosche M, Kangasjarvi J, Dibrov P, Zörb C, Teichmann T (2005) Molecular characterisation of PeNHAD1: the first member of the NaHD Na⁺/H⁺ antiporter family of plant origin. *Plant Molecular Biology* 58: 75–88