

# Wirkungen von UV-B-Strahlung auf Pflanzen und Tiere

2. Franz-Ruttner-Symposion

Laufener Seminarbeiträge 3/88



# **Wirkungen von UV-B-Strahlung auf Pflanzen und Tiere**

## **2. Franz-Ruttner-Symposion**

am 11. Juni 1988

Veranstalter:  
Gesellschaft der Freunde und Förderer  
der Limnologischen Station Seon der  
Ludwig-Maximilians-Universität München e. V.  
und der  
Gesellschaft für Strahlen- und  
Umweltforschung mbH München

Tagungsleitung:  
Prof. Dr. O. Siebeck  
Limnologische Station Seon  
des Zoologischen Instituts  
der Universität München

---

Herausgeber:  
Akademie für Naturschutz und Landschaftspflege  
D-8229 Laufen/Salzach, Postf. 12 61 Tel. 0 86 82/70 97  
in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. O. Siebeck

**Laufener Seminarbeiträge 3/88 – Juni 1989**  
Akademie für Naturschutz und Landschaftspflege  
ISSN 0175-0852  
ISBN 3-924374-50-3

---

Schriftleitung und Redaktion: Dr. Notker Mallach

Für die Einzelbeiträge zeichnen die jeweiligen Referenten verantwortlich.

Die Herstellung von Vervielfältigungen – auch auszugsweise – aus den Veröffentlichungen der Akademie für Naturschutz und Landschaftspflege sowie deren Benutzung zur Herstellung anderer Veröffentlichungen bedürfen der schriftlichen Genehmigung.

# Programm des Symposions

---

## Freitag, den 10. Juni 1988

Anreise der Tagungsteilnehmer und Besichtigung der am 6. Juni 1988 vom Bayerischen Staatsminister für Wissenschaft und Kunst, Prof. Dr. W. Wild, eingeweihten Limnologischen Station Seeon des Zoologischen Instituts der Ludwig-Maximilians-Universität München.

## Samstag, den 11. Juni 1988

Wissenschaftliche Veranstaltung im Tagungsraum des Gasthauses Gruber Alm, Seeon-Roitham.

- |  |  |
|--|--|
| Prof. Dr. P. Fabian<br>Lehrstuhl für Bioklimatologie und<br>Angew. Meteorologie der<br>Universität München | Das antarktische Ozonloch und die Ursachen seiner Entstehung.*   |
| Dr. K. Dehne<br>Deutscher Wetterdienst,<br>Meteorologisches Observatorium<br>Hamburg                       | Zur Variation von Absolut- und Relativwerten der UV-Globalstrahlung.   |
| Prof. Dr. J. Kiefer<br>Strahlencentrum der<br>Justus-Liebig-Universität Gießen                             | Biologische Wirkungen, Grundlagen, Meßgrößen, Einheiten.   |
| Dr. F. Zölzer<br>Strahlencentrum der<br>Justus-Liebig-Universität Gießen                                   | UV-Wirkungen auf zellulärer Ebene.   |
| Prof. Dr. M. Tevini<br>Botanisches Institut II der<br>Universität Karlsruhe                                | UV-Wirkungen auf Nutzpflanzen.   |
| Prof. Dr. W. Rau<br>Botanisches Institut der<br>Universität München  | Die Wirkung von UV-B auf die photoperiodische Steuerung der Blütenbildung.   |
| Dr. B. Traulich<br>Botanisches Institut I der<br>Justus-Liebig-Universität Gießen                          | Detektion von UV-B-Strahlung durch <i>Halobacterium halobium</i> .   |
| Prof. Dr. D.-P. Häder<br>Fachbereich Biologie der<br>Philips-Universität Marburg                           | Einfluß von UV-B-Strahlung auf die Photoorientierung von Flagellaten.  |
| Prof. Dr. G. Döhler<br>Botanisches Institut der<br>Universität Frankfurt                                   | Wirkungen von UV-B-Strahlung auf den Stickstoffmetabolismus von marinem Phytoplankton.                                 |
| Prof. Dr. E. Wellmann<br>Biologisches Institut II der<br>Universität Freiburg                              | Lichtabhängige Schutzmechanismen gegen UV-Schäden bei Pflanzen.  |
| Prof. Dr. O. Siebeck<br>Zoologisches Institut der<br>Universität München                                   | Gibt es bei Wassertieren unterschiedliche UV-Toleranzen in Abhängigkeit von der UV-Strahlenbelastung des Lebensraumes? |

\* Herr Prof. Dr. Fabian war leider verhindert, am Symposion teilzunehmen, stellte aber dankenswerterweise sein Vortragsmanuskript zur Verfügung.

Zusammenfassung des Symposions	O. Siebeck	5/6
Begrüßung	O. Siebeck	7
Das antarktische Ozonloch und die Ursachen seiner Entstehung	P. Fabian	8-12
Zur Variation von Absolut- und Relativwerten der UV-Globalstrahlung	K. Dehne	13-26
Biologische Wirkungen, Grundlagen, Meßgrößen, Einheiten	J. Kiefer	27-31
UV-Wirkungen auf zellulärer Ebene	F. Zölzer	32-37
UV-Wirkungen auf Nutzpflanzen	M. Tevini J. Braun P. Grusemann J. Ros	38-52
Die Wirkungen von UV-B auf die photoperiodische Steuerung der Blütenbildung	W. Rau H. Hofmann	53-61
Detektion von UV-B-Strahlung durch <i>Halobacterium halobium</i>	B. Traulich G. Wagner	62-66
Einfluß von UV-B-Strahlung auf die Photoorientierung von Flagellaten	D.-P. Häder	67-73
Wirkung von UV-B-Strahlung auf den Stickstoffmetabolismus von marinem Phytoplankton	G. Döhler	74-85
Lichtabhängige Schutzmechanismen gegen UV-B-Schäden bei Pflanzen	E. Wellmann	86-91
Gibt es bei Wassertieren unterschiedliche UV-Toleranzen in Abhängigkeit von der UV-Strahlenbelastung des Lebensraumes?	O. Siebeck U. Böhm	92-98

## UV-B-Wirkungen auf Pflanzen und Tiere

### Zusammenfassung des Symposiums

Otto Siebeck

1. Die meridionale und jahreszeitliche Variation der Ozonkonzentration in der Atmosphäre ist u.a. durch ein in der Südhemisphäre (Antarktis) im September-Oktober (südliches Frühjahr!) auftretendes, vorübergehendes Minimum gekennzeichnet, dessen Konzentration seit Mitte der 70er Jahre besonders auffällig abnimmt („Ozonloch“). (FABIAN)

2. Die Entstehung des „Ozonlochs“ wird auf spezielle chemische Vorgänge zurückgeführt, die unter den gegebenen meteorologischen Bedingungen möglich sind. Dabei dominiert anscheinend die Freisetzung von Chlor aus den durch anthropogene Emission verfügbaren halogenierten Kohlenwasserstoffen. (FABIAN)

3. Unter den Ursachen, die an der Variation der solaren UV-Einstrahlung auf die Erdoberfläche beteiligt sind, spielt der Ozongehalt der Atmosphäre (vor allem in der unteren Stratosphäre) eine hervorragende Rolle. Bei einer Ozonabnahme von 25 % erfolgt für die Wellenlängen 307,5 nm, 302,5 nm und 297,5 nm eine Zunahme der spektralen Bestrahlungsstärke um den Faktor 1,5 bzw. 2 bzw. 4. (DEHNE)

4. Der unter Umständen bis zum Tod des bestrahlten Organismus führenden UV-Bestrahlung liegen die photobiologischen Grundprozesse: Quantenabsorption in den betreffenden Rezeptormolekülen (Chromophoren) und Bildung photochemischer Produkte zugrunde. Ihre Analyse erfolgt vornehmlich durch die Aktionsspektroskopie. Dabei wird zwischen dem Idealfall (spektrale Wirkungsfunktion entspricht dem Verlauf des Extinktionsspektrums des Chromophors) und den Verhältnissen nach Vorabsorption und Streuung durch die dem Chromophor im Strahlengang vorgelagerten Moleküle unterschieden. (KIEFER)

5. Die Beschreibung photobiologischer Grundprozesse setzt exakte Angaben über die wirksamen Bestrahlungsstärken (Fluenzen) und deren spektrale Verteilung voraus. (KIEFER)

6. Durch UV hervorgerufene Schädigungen, die schließlich zum Tod der bestrahlten Organismen führen können, lassen sich bei zahlreichen physiologischen Vorgängen, z.B. durch Hemmungsercheinungen, Inaktivierung und Mutationen nachweisen. Bei allen daraufhin untersuchten Organismen wurden lichtabhängige und/oder lichtunabhängige Prozesse nachgewiesen, die innerhalb gewisser Grenzen zu einer Aufhebung der UV-bedingten Schäden führen und in diesem Fall das Überleben sichern. (ZÖLZER, TEVINI et al., RAU, HOFMANN, HÄDER, DÖHLER, WELLMANN, SIEBECK/BÖHM)

7. Für die Absorption des UV-B sind zahlreiche Substanzen bekannt geworden (TEVINI, RAU, WELLMANN). Das zu den Archaeobacteriaceae gehörende, in heißen Salzlösungen lebende *Halo bacterium halobium* besitzt ein Sensorrhodopsin,

welches für UV-B ab einer Schwellendosis von 0,02 W/m<sup>2</sup> durch Bewegungsreaktionen anspricht. Die Richtung dieser Bewegungsreaktionen hängt bei zusätzlicher Bestrahlung mit sichtbarem Licht von der gewählten Wellenlänge ab. (TRAULICH/WAGNER)

8. Bei farblosen und grünen Flagellaten entstehen unter dem Einfluß der täglichen Sonneneinstrahlung Tiefenverteilungen, die bei UV-B-Bestrahlung gestört bzw. aufgehoben werden und mit einer Hemmung der Motilität verknüpft sind. (HÄDER)

9. Unter Wachstumsbedingungen wirken sich UV-B-Strahlenschäden bei den daraufhin untersuchten Bakterien-, Hefen-, Algen- und Säugerzellen stärker aus, als unter wachstumshemmenden Bedingungen. (ZÖLZER)

10. Die Hemmung des Hypokotylwachstums von Sonnenblumenkeimlingen beruht wahrscheinlich auf einer UV-abhängigen Photooxidation der Indolyllessigsäure. (TEVINI et al.)

11. Die Wirkung von UV-B auf die Photoynthese läßt sich anhand von Chlorophyllfluoreszenzen messen, durch welche Einblicke in die primären und sekundären photosynthetischen Reaktionen und deren Beeinflussung (z.B. Hemmung der ATP verbrauchenden Prozesse) möglich werden. (TEVINI et al.)

12. Bevor UV-bedingte Schäden sichtbar werden, können bei Pflanzen erhebliche Verzögerungen in der durch die Tageslänge gesteuerten Blütenbildung eintreten. Sie sind bei den daraufhin untersuchten Langtagspflanzen (*Hyoscyamus* und *Brassica*) auf Schäden zurückzuführen, die zumindest die Gibbereline und die Messenger-RNAs betreffen. Da sich Verzögerungen in der Blütenbildung auch auf die Entwicklung der Samen- und Fruchtbildung auswirken, ergeben sich bei zunehmender UV-B-Einstrahlung auf die Erdoberfläche weitreichende Konsequenzen. (RAU/HOFMANN)

13. Rezeptoren für die UV-B-Strahlung bei höheren Pflanzen (z.B. bei Roggenkeimlingen) sind anscheinend Zimtsäurederivate, die einer wellenlängen- und fluenzabhängigen Isomerisierung unterliegen, wodurch sich das Absorptionsmaximum im Bereich um 300 nm nach kürzeren Wellenlängen verschiebt. Der damit erreichbare UV-Schutz ist für den Keimling von Bedeutung, wenn er die Erdkruste durchstößt und ans Licht kommt. (TEVINI et al.)

14. UV-B-Bestrahlung wirkt sich auf zahlreiche der bisher daraufhin untersuchten physiologischen Größen der Stoffsynthese (z.B. Lezithinsynthese), der Stoffaufnahme (z.B. NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) und des Stofftransports aus. Damit werden letztlich auch das Wachstum und die Vermehrung des zur Untersuchung herangezogenen marinen Phytoplanktons, d.h. dessen Produktion, beeinflusst. (DÖHLER, WELLMANN, TEVINI et al.)

**15.** Die Photoreaktivierbarkeit UV-bedingter Inaktivierung und Mutationsauslösung ist bei den daraufhin untersuchten Bakterien-, Hefen- und Amphibienzellen zwischen 250-300 nm konstant, um nach größeren Wellenlängen hin rasch abzunehmen. Die oberhalb von 320 nm nur bei Sauerstoffanwesenheit beobachtete Inaktivierung wird auf die Beteiligung strahleninduzierter Radikale zurückgeführt. (ZÖLZER)

**16.** Das für die Photoreaktivierbarkeit zuständige Enzym Photolyase ist durch UV-B über Dimerenbildung hemmbar. Ein Ausfall dieses Enzyms würde bereits bei relativ niedriger UV-B-Bestrahlung den Tod der betreffenden Zellen zur Folge haben. (WELLMANN)

**17.** Aquatische Evertebraten (bisher vor allem untersucht: *Daphnidae* und *Scleractiniae*) zeigen in Abhängigkeit von der UV-Exposition ihres Habitats eine unterschiedliche UV-Toleranz, woraus sich die Fähigkeit zu entsprechenden Anpassungen herleitet. Die Größe der UV-Toleranz ist lichtabhängig, da schon während der UV-B-Bestrahlung

durch sichtbare Strahlung wellenlängenabhängige (max. Wirkung durch Strahlung zwischen 420-460 nm) Reparaturprozesse wirksam werden. Die „Reparaturfähigkeit“ variiert innerhalb der bisher untersuchten Taxa. (SIEBECK/BÖHM)

**18.** Die Auswirkungen (z.B. Hautkrebs, Reduktion landwirtschaftlicher und mariner Produktion u.a.) der durch Ozonreduktion zunehmenden UV-Bestrahlungsstärken in den verschiedenen Teilen der Erdoberfläche sind bisher nicht einwandfrei voraussagbar. Es besteht aber nicht der geringste Zweifel, daß die Emission halogener Kohlenwasserstoffe (vor allem Fluorchlorkohlenwasserstoff), die z.B. innerhalb der EG zu ca. 50 % auf Treibgase, zu 33 % auf Aufschäummittel, zu 11 % auf Kühlgase und zu 6 % auf Lösungsmittel zurückzuführen ist, ein sehr ernstzunehmendes Problem darstellt. Aus diesem Grunde müssen alle denkbaren Anstrengungen unternommen werden, um diese Substanzen bereits vor der Klärung aller Detailfragen zu verbieten.

## Begrüßungsansprache

Tagungsleiter Prof.Dr. Otto Siebeck

Meine sehr verehrten Mitglieder unserer Gesellschaft, sehr verehrte Gäste, liebe Kollegen, hiermit eröffne ich das 2. Franz-Ruttner-Symposium unserer Gesellschaft der Freunde und Förderer der Limnologischen Station Seon der Ludwig-Maximilians-Universität München und heiße Sie alle sehr herzlich willkommen.

Es freut mich außerordentlich, daß die Akademie für Naturschutz und Landschaftspflege bereits 2 Jahre nach der Einführung dieser Veranstaltungsreihe (sie erfolgte am 25./26. Mai 1986 mit dem Thema „Elemente der Steuerung und der Regulation in der Pelagialbiozönose“) der Publikation eines 2. Symposiums in den Laufener Seminarbeiträgen zugestimmt und damit die Voraussetzungen für unsere heutige Veranstaltung geschaffen hat.

An der besonderen Aktualität unseres Themas „UV-B-Wirkungen auf Pflanzen und Tiere“ besteht nicht der geringste Zweifel, seitdem bekannt ist, daß unter dem Einfluß der Ozonreduktion mit erhöhter UV-Einstrahlung, insbesondere auch im schädlichen UV-B-Bereich gerechnet werden muß. Die Aufsätze hierüber sind in verschiedenen Fachzeitschriften erschienen. Wer sich einen Überblick über aktuelle Fragestellungen und den gegenwärtigen Kenntnisstand verschaffen möchte, muß daher erhebliche Mühen und viel Zeit aufwenden, um an sie heranzukommen.

Die Behandlung des heutigen Themas fällt daher genau in den Aufgabenbereich, den sich unsere im Jahre 1983 gegründete Gesellschaft u.a. gestellt hat, indem sie durch die Veranstaltungsreihe der Franz-Ruttner-Symposien aus interdisziplinärer Sicht zu aktuellen Problemen Zusammenfassungen anstrebt, die über den Kreis der Spezialisten hinausgehend alle naturwissenschaftlich Interessierten erreicht.

Fast alle der hier behandelten Themen wurden oder werden noch vom Bundesministerium für Forschung und Technologie über die Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung m.b.H., München, unterstützt. Die Vortragenden des heutigen Symposiums kennen sich daher schon seit Jahren aus mehreren gemeinsamen Zusammenkünften. Das kam den Vorbereitungsarbeiten für unsere heutige Veranstaltung sehr zugute.

Ich freue mich, daß alle Kollegen ihre Beteiligung spontan zugesagt und trotz großer Arbeitsbelastung den z.T. langen Anfahrtsweg auf sich genommen haben. Dafür möchte ich schon jetzt sehr herzlich danken. Zum Abschluß möchte ich Ihnen und allen unseren Gästen die Grüße und Wünsche auf ein gutes Gelingen unseres Symposiums vom Direktor der Akademie für Naturschutz und Landschaftspflege, Herrn Dr. W. Zielonkowski, und von Herrn Dr. K. Bauer von der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, übermitteln.

# Das antarktische Ozonloch und die Ursachen seiner Entstehung

Peter Fabian

Die atmosphärische Ozonverteilung weist als Folge des Ineinandergreifens photochemischer und meteorologischer Prozesse starke meridionale und jahreszeitliche Variationen auf. Aus dem Hauptquellgebiet, das sich in etwa 30 bis 35 km Höhe über den Tropen befindet, wird mit der allgemeinen Zirkulation ständig Ozon polwärts und in niedere Höhen verfrachtet. Dieser Transport, der im Spätwinter am stärksten ist, bewirkt auf der Nordhalbkugel, daß die untere Stratosphäre, also der Höhenbereich zwischen 10 und 25 km, mit wachsender Breite zunehmend mit Ozon aufgefüllt ist. Entsprechend nimmt auch die Ozonschichtdicke von etwa 250 Dobson-Einheiten (Dobson Units, DU\*) bzw. 2,5 mm (bezogen auf Normalbedingungen) am Äquator auf 400 bis 500 DU (je nach Jahreszeit) über dem Nordpol zu.

Auf der Südhalbkugel nimmt die Ozonschichtdicke nur bis zu einem Maximum von ca. 400 DU bei 55°S zu und von dort zu einem Minimum von ca. 300 DU am Südpol wieder ab. Diese Asymmetrie im Vergleich zur Nordhalbkugel beruht darauf, daß wegen der unterschiedlichen Land-See-Verteilung die Zirkulation beider Hemisphären nicht symmetrisch abläuft (siehe z.B.<sup>1)</sup>).

Das Ozonloch ist eine temporäre Vertiefung des Ozonschicht-Minimums in hohen südlichen Breiten, die sich zur Zeit des südlichen Frühjahrs, während der Monate September/Oktober, ausbildet und die anschließend wieder verschwindet. Wissenschaftler des British Antarctic Survey konnten anhand der langen Meßreihen von Halley Bay (76°S) zeigen, daß die Oktober-Mittel der Ozonschichtdicken über dieser Station von etwa 320 DU während der 60er Jahre auf unter 200 DU im Oktober 1984 abgefallen waren, wobei das Ausmaß dieser Ozonreduktion seit Mitte der 70er Jahre besonders rapide zugenommen hatte (Abb. 1).

Messungen der Vertikalverteilungen zeigen im Oktober ein starkes Ozondefizit im Höhenbereich zwischen 10 und 25 km, welcher auch das Konzentrationsmaximum umfaßt. Abb. 2 zeigt ein normales Winterprofil (28. Aug.) und zum Vergleich ein gestörtes Oktober-Profil (16. Okt.), bei dem ein Großteil des Ozons dieses Höhenbereiches verschwunden ist.

Nach den Messungen der Ozonsensoren an Bord des Satelliten NIMBUS 7, dem Total Ozone Mapping Spectrometer (TOMS) und dem Solar Backscatter Ultraviolet (SBUV) Instrument ist das Ozonloch in erster Linie ein Effekt der Südhemisphäre. Ozondefizite werden zwar auch über der Arktis gemessen, doch diese sind bei weitem nicht so dramatisch wie über der Antarktis<sup>4)</sup>.

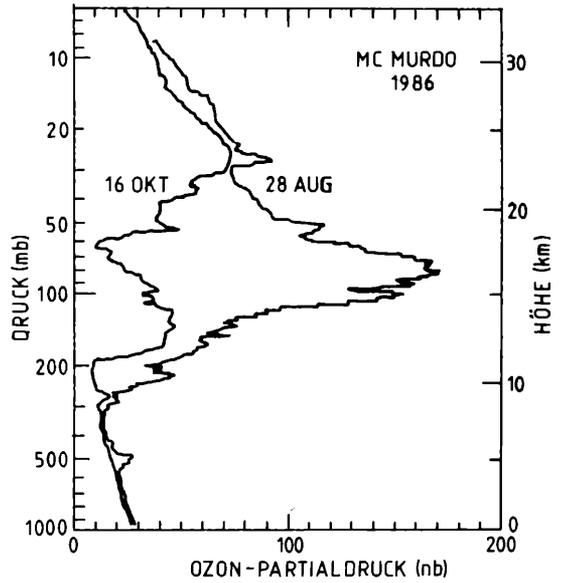
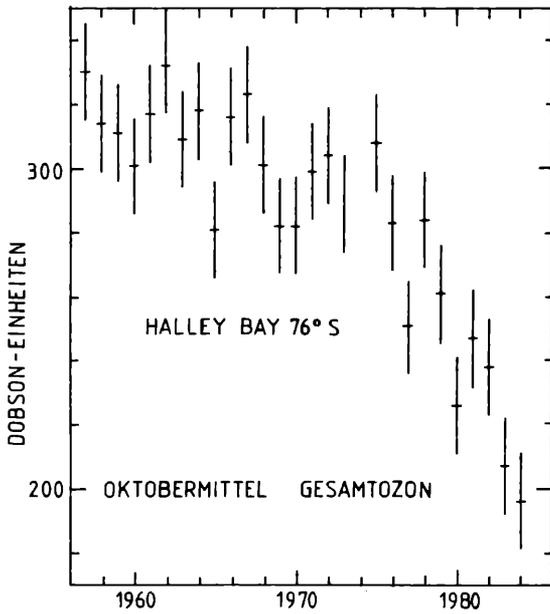
Beide Hemisphären sind bezüglich ihrer Zirkulation nicht symmetrisch. Besonders drastisch unterscheiden sich die winterlichen Zyklogen, die sich als Folge der Abkühlung in der polaren Stratosphä-

re ausbilden: Der Winterwirbel über der Antarktis ist recht symmetrisch und über dem Südpol zentriert. Die stratosphärische Luft zirkuliert daher auf nahezu konzentrischen Kreisen um den Pol und verbleibt für die Dauer der Polarnacht in Dunkelheit. Der arktische Polarwirbel ist dagegen asymmetrisch und besteht häufig aus mehreren Zellen, so daß für die einzelnen Luftmassen ein ständiger Wechsel zwischen Tag- und Nachtbedingungen herrscht. Das Innere des Südpolarwirbels ist abgeschlossen und gewissermaßen von der übrigen Atmosphäre abgetrennt, bis sich schließlich nach Rückkehr der Sonne im Frühjahr die Stratosphäre wieder erwärmt und die winterliche Zyklone in die sommerliche Antizyklone übergeht (Final Warming). Die gleichen Prozesse finden auch über dem Nordpolgebiet statt, jedoch bewirken dort Wellenstörungen bereits während des Winters gelegentliche Zwischenerwärmungen. Die arktische Stratosphäre kühlt daher während der Polarnacht nicht so stark ab wie ihr antarktisches Gegenstück, wo durchweg etwa 10 Grad niedrigere Temperaturen beobachtet werden.

Ein weiteres hervorstechendes Merkmal der Antarktis sind die dichten Wolken und Aerosolschichten, die während des polaren Winters und Frühjahrs in der Stratosphäre beobachtet werden<sup>5) 6)</sup>. Diese polaren stratosphärischen Wolken bilden sich offensichtlich als Folge der extrem tiefen Wintertemperaturen, wobei ungeklärt ist, ob die Wolkenpartikel reines Wasser oder Salpetersäure- und/oder Salzsäuregemische darstellen<sup>7) 8)</sup>. Die Wolken treten in der Region der tiefsten Temperaturen innerhalb der polaren Winterzyklone auf, in der sich auch das Ozonloch ausbildet. Sie verschwinden mit höhersteigender Sonne im Frühjahr, wobei es nach Satellitenbeobachtungen so aussieht, als ob sie unter dem Einfluß der Sonnenstrahlung von oben nach unten fortschreitend verdampfen<sup>8)</sup>.

Die komplexe Morphologie der Ozonverteilung über der Südhalbkugel wird durch die Satellitendaten erhellt. Abb. 3 zeigt dies anhand der Verteilung der Ozonschichtdicke (unten) und der Temperatur der 50-mb-Fläche (etwa 20 km) für den 3. Oktober 1982. Das bereits erwähnte Maximum der Ozonschichtdicke bei 55°S umschließt nicht den gesamten Polbereich, sondern ist überwiegend zwischen 90° und 180° östlicher Länge konzentriert. Es wandert, wie die Satellitendaten aufeinanderfolgender Tage<sup>9)</sup> zeigen, im Uhrzeigersinn um das polare Tief von etwa 180° bis 270° östlicher Länge, verschwindet dort und taucht erneut bei 90° östlicher Länge auf. Die Minimumregion im Innern des Wirbels nimmt an dieser Rotation teil und deformiert sich dabei. Den gleichen Befund zeigen die Tempe-

\*) Dobson-Einheit, DU =  $1 \times 10^{-3}$  cm Ozonschichtdicke (reduziert auf Normalbedingungen)

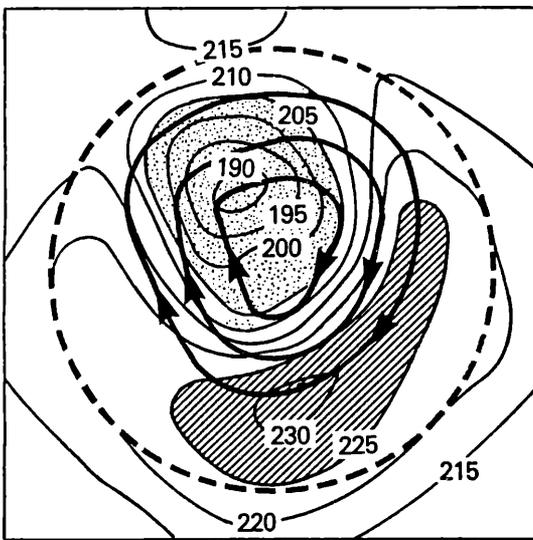


**Abbildung 1:**

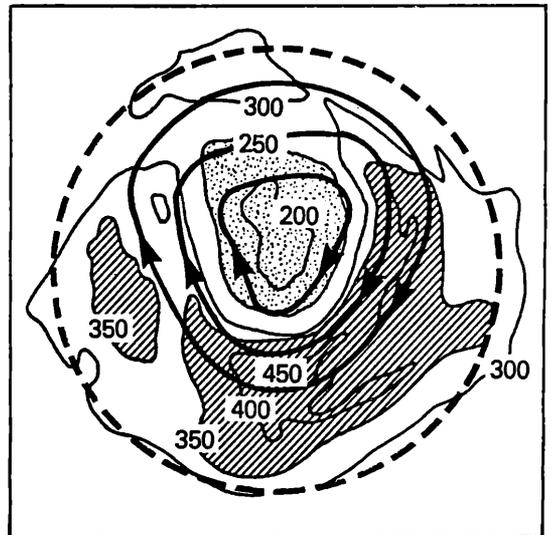
Oktober-Werte der Ozonschichtdicke (Monatsmittel) gemessen in Halley Bay. Nach FARMAN et al.<sup>2)</sup>.

**Abbildung 2:**

Ozonprofile, gemessen am 28. August und 16. Oktober 1986 in McMurdo. Nach HOFMAN et al.<sup>3)</sup>.



(A) TEMPERATUR (50mb)



(B) OZON

**Abbildung 3:**

**Oben:** Konturlinien der Temperatur (in Kelvin) auf der 50-mb-Fläche (Höhe ca. 20 km). **Unten:** Konturlinien der Ozonschichtdicke (in Dobson-Einheiten) für den 3. Oktober 1982. Der Südpol ist in der Mitte, der gestrichelte Breitenkreis entspricht 40°S. Die fett gezeichneten Linien mit Pfeilen markieren die geostrophischen Stromlinien. Nach<sup>9)</sup>.

raturverteilungen der Stratosphäre, die im oberen Teilbild dargestellt sind.

Die enge Korrelation zwischen Ozonschichtdicke und Stratosphärentemperatur ist ein deutlicher Hinweis darauf, daß dynamische Prozesse entscheidenden Einfluß auf die Ozonverteilung haben. Dabei sind zwei Ergebnisse bemerkenswert: Es sieht so aus, als habe sich der Zeitpunkt des „Final Warming“ über dem Südpolgebiet im Laufe der letzten 15 Jahre von Oktober/November auf November/Dezember verzögert, wobei nach wie vor starke Unterschiede von Jahr zu Jahr auftreten<sup>10)</sup><sup>11)</sup>, und als sei die polare Stratosphäre der Antarktis im gleichen Zeitraum kälter geworden<sup>12)</sup><sup>13)</sup><sup>14)</sup>. Es gibt aber weder eine Erklärung dafür, ob und inwieweit verzögertes Final Warming, Temperaturabfall und (damit korreliert) Ozonverminderung kausal in Beziehung stehen, noch kann eine der zitierten Arbeiten eine Deutung anbieten, warum sich die südliche Atmosphäre in den letzten Jahren so verändert hat.

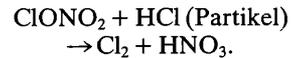
Ansatzpunkte hierzu bietet der Vorschlag von Labitzke, wonach die Trübung der Atmosphäre durch vulkanisches Material von Agung, St. Helens und El Chichón zu der genannten Abkühlung, die übrigens auch über der Arktis beobachtet wurde, und den verzögerten Final Warmings über der Antarktis geführt haben kann<sup>14)</sup>. Labitzke zeigt ferner, daß die Korrelation zwischen Ozonschichtdicke und Stratosphärentemperatur an den Stationen Syowa (60°S), Halley Bay (76°S) und dem Südpol (90°S) nach 1980 deutlich in Richtung tiefer Ozonwerte gestört ist, was darauf hindeutet, daß innerhalb der polaren Zyklone Prozesse, wahrscheinlich komplexe chemische Prozesse ablaufen, welche Ozon zerstören.

Es lag nahe, den als Folge anthropogener Emission stark gestiegenen Halogengehalt der Atmosphäre als Ursache des Ozonloches in Betracht zu ziehen, ging es doch um die Erklärung eines Phänomens, das erst in den letzten 10 bis 15 Jahren akut geworden ist. Bereits Farman, Gardiner und Shanklin<sup>2)</sup> haben dies in ihrer historischen Arbeit versucht, jedoch haben Modellrechnungen klar gezeigt, daß die beobachteten tiefen Ozoneinbrüche über der Antarktis mit der bislang in Stratosphärenmodellen benutzten reinen Gasphasen-Photochemie nicht reproduziert werden können (siehe z.B.<sup>15)</sup>). Andererseits zeigen die gemessenen Ozonprofile, von denen zwei typische als Beispiel in Abb. 2 gezeigt sind, daß innerhalb des antarktischen Polarwirbels mit großer Wahrscheinlichkeit chemische Prozesse ablaufen müssen, die während des Frühjahrs Ozon zwischen 10 und 25 km Höhe regelrecht vernichten. Molina und Rowland<sup>16)</sup> haben bereits 1974 darauf hingewiesen, daß durch UV-Photolyse in der Stratosphäre aus halogenierten Kohlenwasserstoffen wie CCl<sub>3</sub>F oder CCl<sub>2</sub>F<sub>2</sub> Chloratome freigesetzt werden, die in katalytischen Zyklen Ozon abbauen. Dieser Ozonabbaumechanismus ist am wirksamsten im Höhenbereich oberhalb 30 km. Das beobachtete Ozonloch manifestiert sich jedoch in weit niedrigeren Höhen, im Bereich zwischen 10 und 25 km. In diesen Höhen liegt das gebildete Chlor aber überwiegend als Chlorwasserstoff (HCl) und Chlornitrat (ClONO<sub>2</sub>) vor, deren Konzentrationen diejenigen der aktiven ClO<sub>x</sub>-Radikale Cl und ClO um das hundertfache und mehr überwiegen. HCl bildet sich bei der Reaktion von Cl und Methan (CH<sub>4</sub>), während ClONO<sub>2</sub> als Folge der Reaktion

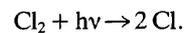
von ClO mit NO<sub>2</sub> einen Großteil des aktiven ClO<sub>x</sub> wegpuffert.

Die Existenz polarer stratosphärischer Wolken über dem Südpolargebiet ermöglicht den Ablauf weiterer chemischer Prozesse, durch welche die Gasphasenchemie entscheidend modifiziert wird. An den Wolkenpartikeln laufen heterogene Prozesse ab, die das Gleichgewicht der Chlor-Komponenten zu höheren Konzentrationen aktiver ClO<sub>x</sub>-Radikale verschieben.

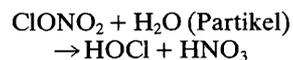
Nach Solomon et al.<sup>17)</sup> könnte in der Polarnacht folgende heterogene Reaktion ablaufen:



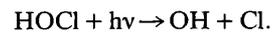
HNO<sub>3</sub> wird an den Wolkenpartikeln gebunden (wie erwähnt gibt es Anhaltspunkte dafür, daß die Wolken aus einer Mischung von HNO<sub>3</sub> und Wasser bestehen), während Cl<sub>2</sub> sich bis zur Wiederkehr der Sonne anreichert, um dann schlagartig zu photolytischen, gemäß



McElroy et al.<sup>18)</sup><sup>19)</sup> schlagen die heterogene Reaktion



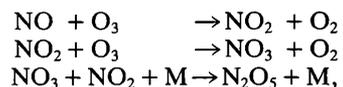
vor. HNO<sub>3</sub> wird an den Wolkenpartikeln gebunden, während HOCl nach Sonnenaufgang photolytisch gemäß



Hierbei ist es notwendig, daß die polaren Wolken auch nach Sonnenaufgang eine Zeit lang weiterbestehen, damit HNO<sub>3</sub> weiterhin gebunden bleibt und nicht mit dem so gebildeten OH reagieren kann. Ferner wird vorgeschlagen, daß Stickoxide bereits weitgehend aus dem System entfernt werden, damit sich ClONO<sub>2</sub> gar nicht erst bilden kann. Dazu muß die heterogene Reaktion



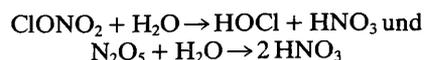
zusätzlich ablaufen. Da N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> laufend aus Stickoxiden gebildet wird, gemäß



wird über diese Reaktionskette somit ein Großteil der Stickoxide als HNO<sub>3</sub> an den Wolkenpartikeln gebunden.

Alle diese heterogenen Reaktionen erfordern Reaktionsraten, die verglichen mit den entsprechenden Gasphasenreaktionen erheblich größer sind. Den zitierten Arbeiten sind hierzu keine genauen Werte zu entnehmen, die Erhöhungen der Raten dürften im Bereich um einen Faktor 10<sup>4</sup> bis 10<sup>5</sup> liegen. Bislang gibt es keine experimentellen Labormessdaten, welche diese Reaktionsraten für heterogene Reaktionen bestätigen.

Crutzen und Arnold<sup>20)</sup> eliminieren einen Teil dieser Schwierigkeiten, indem sie statt der unsicheren heterogenen Reaktionen Ionenprozesse einführen, deren Kinetik besser bekannt ist. Aufgrund der nunmehr durch Ionenreaktionen beschleunigten Prozesse



wird wie bei den vorigen Arbeiten ClO<sub>x</sub> aus dem

Reservoir  $\text{ClONO}_2$  freigesetzt bzw. die Bildung von  $\text{ClONO}_2$  durch das Entfernen der  $\text{NO}_x$ -Radikale aus der Gasphase verhindert. Zusätzlich wird  $\text{Cl}$  aus dem Reservoir  $\text{HCl}$  durch vermehrte  $\text{OH}$ , das bei der Methanoxidation und durch kosmische Strahlung gebildet wird, in den Ozonabbauzyklus zurückgeführt.

Krüger, Wang und Fabian<sup>21)</sup> schlagen einen anderen Mechanismus vor, bei dem verstärkt aktive  $\text{ClO}_x$ -Radikale freigesetzt werden, nämlich die heterogene Photolyse halogener Kohlenwasserstoffe. Diese Hypothese basiert auf Beobachtungen im Labor, wonach die Photolyse halogener Kohlenwasserstoffe an Oberflächen schneller und bei längeren Wellenlängen abläuft als in der reinen Gasphase<sup>22)-24)</sup>. Oberflächen für einen derartigen Effekt sind in Form der polaren stratosphärischen Wolken vorhanden.

Die Entdeckung des Ozonloches war völlig unerwartet, und der damalige Wissensstand ermöglichte keine Deutung des Phänomens. Heute, 3 Jahre später, lassen die Ergebnisse international koordinierter fieberhafter Forschungstätigkeit den Schluß zu, daß das Phänomen Ozonloch in erster Linie ein chemischer Effekt ist, der primär auf der Freisetzung von Chlor als Folge des gestiegenen Pegels halogener Kohlenwasserstoffe zurückzuführen ist. Die Art und Weise, wie das aktive Chlor freigesetzt wird, ist bei den Hypothesen unterschiedlich. Gemeinsam ist allen Arbeiten, daß eine Erhöhung des Pegels der aktiven  $\text{ClO}_x$ -Radikale um einen Faktor 10 bis 100 je nach Höhe erforderlich ist, um den beobachteten Ozonabbau zu erzielen. Messungen von  $\text{OCIO}$  während der US-Südpolexpedition 1986 haben gezeigt, daß diese Erhöhung, die sich mit der normalen Gasphasenchemie nicht erklären läßt, tatsächlich beobachtet wird<sup>25)</sup>. Diese Messungen wurden während der letzten US-Antarktisexpedition 1987 durch Flugzeugmessungen voll bestätigt<sup>26)</sup>. Auch die vorläufigen, bislang nicht veröffentlichten Meßdaten über andere Chlorverbindungen wie  $\text{HCl}$  und  $\text{ClO}$  sind in Einklang mit den chemischen Theorien.

Die vorliegenden Messungen machen deutlich, daß die Dynamik eine der wesentlichen Grundvoraussetzungen für die Ausbildung des Phänomens ist. Sie zeigen, daß das größte Ozondefizit im Innern der winterlichen polaren Zyklone auftritt, die sich in der antarktischen Stratosphäre kräftiger und symmetrischer als über der Arktis ausbildet. Beobachtete Ozonvariationen korrelieren mit Temperaturvariationen und sind direkt von der Konfiguration der Zyklone und deren Entwicklung bestimmt. Von verschiedenen Autoren vorgeschlagene Aufwärtstransporte<sup>27), 28)</sup> troposphärischer Luft können aber als Ursache für das stratosphärische Ozondefizit ausgeschlossen werden. Messungen anderer Spurengase, insbesondere von  $\text{N}_2\text{O}$  haben gezeigt, daß derartige Aufwärtstransporte nicht signifikant sind. Die drastische Ozonabnahme zwischen 10 und 25 km Höhe im Innern der Zyklone ist vielmehr ein deutliches Indiz dafür, daß dort chemische Prozesse ablaufen, die Ozon abbauen.

Unklar ist, warum sich während der letzten 10 bis 15 Jahre die antarktische Stratosphäre abgekühlt hat und warum sich die Final Warmings verzögert haben. Die von Labitzke vorgeschlagene Vulkanhypothese bietet hier den Ansatz einer Erklärung. Man muß aber angesichts der atmosphärischen

Aufenthaltszeiten von vulkanischem Material von nicht wesentlich mehr als zwei Jahren fragen, wie es kommt, daß der letzte größere Vulkanausbruch (El Chichón, März 1982) immer noch wirksam sein soll. Trotz aller Unklarheiten im Detail sieht es so aus, als sei die Entstehung des Ozonloches grundsätzlich verstanden. Demnach ist das Ozonloch primär ein vom Menschen als Folge der Emission halogener Kohlenwasserstoffe verursachter Effekt, wobei die Meteorologie die ganz speziellen Bedingungen schafft, die zum Ablauf der Prozesse erforderlich sind<sup>29)</sup>.

Dennoch verbleiben wichtige offene Fragen, die zu beantworten erst möglich sein wird, wenn der photochemische Mechanismus auch im Detail bekannt ist.

Das Ozonloch ist 1987 gegenüber den bisher tiefsten Werten von 1985 wieder um etwa 15 % tiefer geworden<sup>26)</sup>, nachdem 1986 in Einklang mit der bekannten etwa zweijährigen Oszillation der Atmosphäre, eine geringfügige Erholung eingetreten war. Seine geographische Ausdehnung umfaßt heute den gesamten Kontinent Antarktis, eine Fläche also, die etwa derjenigen der USA entspricht. Das tiefste Loch wird in wenigen Jahren erreicht sein, wenn praktisch alles Ozon zwischen 10 und 25 km Höhe innerhalb der Vortex zeitweise verschwunden sein wird. Ob sich dann das Ozondefizit sowohl höhenmäßig als auch geographisch weiter ausdehnen wird oder ob es in anderen Regionen zu ähnlichen saisonalen Ozondefiziten kommen wird, kann erst beurteilt werden, wenn die chemischen und dynamischen Prozesse im Detail besser verstanden sind. Schließlich sei auf den interessanten Tatbestand hingewiesen, daß das Ozonloch über dem südlichen Polargebiet auftritt, während über 90 Prozent der halogenierten Kohlenwasserstoffe, die nach den vorliegenden Indizien für das polare Ozondefizit verantwortlich sind, in den Industrieländern der Nordhalbkugel freigesetzt werden.

## Literatur

- 1) FABIAN P. (1987): Atmosphäre und Umwelt. 2. Aufl., Springer-Verlag.
- 2) FARMAN, J.C., B.G. GARDINER, J.D. SHANKLIN (1985): Nature 315, 207.
- 3) HOFMANN, D., J.W. HARDER, S.R. ROLF, J.M. ROSEN (1987): Nature 326, 59.
- 4) BOWMAN, K. (1986): Geophys. Res. Lett. 13, 1193.
- 5) McCORMICK, M.P., C.R. TREPTE (1986): Geophys. Res. Lett. 13, 1276.
- 6) McCORMICK, M.P., J.C. LARSEN (1986): ibid. 13, 1280.
- 7) TOON, O.B., P. HAMILL, R.P. TURCO, J. PINTO (1986): ibid. 13, 1284.
- 8) HAMILL P., O.B. TOON, R.P. TURCO (1986): ibid. 13, 1288.
- 9) STOLARSKI, R.S., A.J. KRUEGER, M.R. SCHOEBERL, R.D. McPETHERS, P.A. NEWMAN, J.C. ALPERT (1986): Nature 322, 808.
- 10) CHUBACHI, S. (1986): Geophys. Res. Lett., 13, 1221.

- 11)** NEWMAN, P. (1986):  
ibid. 13, 1228.
- 12)** NEWMAN, P.A., M.R. SCHOEBERL (1986):  
ibid. 13, 1206.
- 13)** SCHOEBERL, M.R., A.J. KRUEGER, P.A. NEWMAN (1986):  
ibid. 13, 1217.
- 14)** LABITZKE, K. (1987):  
Annales Geophysicae 5A, 95.
- 15)** CARIOLLE, D., M. DEQUE, J.-J. MORCRETTE (1986):  
Geophys. Res. Lett., 13, 1304.
- 16)** MOLINA, J.M., F.S. ROWLAND (1974):  
Nature 249, 810.
- 17)** SOLOMON, S., R.R. GARCIA, F.S. ROWLAND, D.J. WUEBBLES (1987):  
Nature 321, 755.
- 18)** McELROY, M.B., R.J. SALAWITCH, S.C. WOFKY, J.A. LOGAN (1986):  
Nature 321, 759.
- 19)** McELROY, M.B., R.J. SALAWITCH, S.C. WOFKY (1986):  
Geophys. Res. Lett. 13, 1296.
- 20)** CRUTZEN, P.J., F. ARNOLD (1986):  
Nature 324, 651.
- 21)** KRÜGER, B.C., G. WANG, P. FABIAN (1987):  
Geophys. Res. Lett. 14, 523.
- 22)** AUSLOOS, P., R.E. REBBERT, L. GLASGOW (1977):  
J. Res. Nat. Bur. Stand. 82, 1.
- 23)** PARLAR, H. (1984):  
Fresenius Z. Anal. Chem. 319, 114.
- 24)** MOZA, P.N., H. PARLAR (1987):  
Naturwiss. 74, 137.
- 25)** SOLOMON, S., G.H. MOUNT, R.W. SANDERS, A.K. SCHMELTEKOPF (1987):  
J. Geophys. Res. 92, 8329.
- 26)** LINDLEY, D. (1987):  
Nature 239, 473.
- 27)** TUNG, K.K. (1986):  
Geophys. Res. Lett., 13, 1308.
- 28)** EVANS, W.F.J., B.W. BOVILLE, J.C. McCONNELL, G.S. HENDERSON (1986):  
ibid. 13, 1323.
- 29)** FABIAN, P. (1988):  
Physikal. Blätter 44, 2.

**Anschrift des Verfassers:**  
Prof. Dr. Peter Fabian  
Lehrstuhl für Bioklimatologie und  
Angewandte Meteorologie  
der Universität München  
Amalienstraße 52/III  
8000 München 40

# Zur Variation von Absolut- und Relativwerten der UV-Globalstrahlung

K. Dehne

## 1. Einleitung

Die Tagungsbände von photobiologischen Konferenzen sind häufig auch eine Fundgrube für grundlegende Arbeiten über die solare UV-Strahlung (siehe z.B. <sup>1),2)</sup>), so daß man nicht nur auf ein großes Interesse, sondern auch auf ein gewisses Grundwissen in der photobiologisch orientierten Fachwelt schließen darf.

Ziel dieses Vortrags ist es, als Beitrag für die Planung von UV-abhängigen Experimenten und für die Deutung einschlägiger Ergebnisse noch einmal die typische Variabilität der solaren UV-Strahlung in Erinnerung zu bringen. Hierzu gehört vor allem auch die Abhängigkeit vom effektiven Spektralintervall und – speziell im UV-B-Bereich – von dessen Flankenform. Die Flankenverläufe, die bei jedem Meßgerät mehr oder weniger stark von der idealen Sprungfunktion abweichen, sind besonders zu beachten, wenn es sich um photobiologische Wirkungen handelt, die stark wellenlängenabhängig sind.

Die Ausführungen beziehen sich überwiegend auf die UV-Globalstrahlung, also die solare Strahlung, die aus dem Halbraum auf einer horizontalen Fläche empfangen wird; durch die direkte oder indirekte Darstellung des Anteils an der gesamten Globalstrahlung soll aufgezeigt werden, inwieweit die Kenntnis der vielerorts für klimatologische und solarenergetische Belange gemessenen Globalstrahlung Rückschlüsse auf die UV-Strahlung und deren spektrale Komponenten erlaubt.

Die Mehrzahl der vorgestellten Ergebnisse ist mit Hilfe von Modellrechnungen gewonnen worden. Angesichts verbesserter Ausgangsdaten (z.B. extraterrestrisches Sonnenspektrum) und wachsender Erfahrung im Parametrisieren von atmosphärischen Variablen sowie erhöhter Leistungsfähigkeit der Rechner ist diese Methode zur Bestimmung typischer oder klimatologischer Daten von zunehmender Vielseitigkeit und Zuverlässigkeit. Jahres- und Tagesgänge wurden für das Beispiel der geographischen Breite  $\varphi = 48^\circ\text{N}$  berechnet, so daß die Werte näherungsweise die Verhältnisse am Tagungsort repräsentieren. Zuverlässige Meßdaten, vor allem im UV-B-Bereich, sind nur von wenigen Stationen und über relativ kurze Zeiträume verfügbar, da die Meßtechnik immer noch sehr kosten- und wartungsintensiv ist. Einfachere Geräte in Meßnetzen liefern im allgemeinen nur gerätespezifische Relativwerte, die Vergleiche zwischen Meßstationen und Zeitpunkten ermöglichen. Die repräsentierten Meßdaten beschränken sich deshalb nur auf ein Meßbeispiel.

## 2. Variation der extraterrestrischen Sonnenstrahlung

Nach dem extraterrestrischen Sonnenspektrum

der Weltorganisation für Meteorologie (WMO) von 1981 (siehe z.B. <sup>3)</sup>), das für den mittleren Abstand Erde-Sonne angegeben wird und eine Solarkonstante von  $1367 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$  ergibt, beträgt der UV-Anteil an der extraterrestrischen Sonnenstrahlung für den:

Gesamt-UV-Bereich ( $\lambda \leq 400 \text{ nm}$ ): 8,0 %  
 UV-A-Bereich ( $315 < \lambda \leq 400 \text{ nm}$ ): 6,1 %  
 UV-B-Bereich ( $280 < \lambda \leq 315 \text{ nm}$ ): 1,3 %

Die Unsicherheit der extraterrestrischen UV-Bestrahlungsstärken für  $\lambda \geq 300 \text{ nm}$  liegt unter 4 % <sup>4)</sup>.

Die Elliptizität der Erdbahn um die Sonne bedingt für alle Spektralbereiche eine jahreszeitliche Variation innerhalb von  $\pm 3,3 \%$ ; die aktuelle Abweichung von den tabellierten mittleren Werten des Sonnenspektrums läßt sich einfach berechnen.

Sonnenfleckenzyklus und Rotationszyklus der Sonne liefern eine zusätzliche Variation, die mit abnehmender Wellenlänge  $\lambda$  ansteigt. Nach Beobachtungen im Sonnenzyklus 21 beträgt sie bei  $\lambda = 300 \text{ nm}$  für beide Effekte weniger als je 1 % <sup>5)</sup>.

## 3. Variation der UV-Strahlung durch atmosphärische Schwächungsprozesse

### 3.1. Für den wolkenlosen Fall

Die UV-Strahlung, die die wolkenlose Atmosphäre durchdringt und die Erdoberfläche erreicht, hat im wesentlichen drei Schwächungsprozesse erfahren, die mehr oder weniger stark wellenlängenabhängig sind: die Molekülstreuung, die Streuung und Absorption durch Aerosole sowie die Ozonabsorption. Die Schwächung der direkten (also unabgelenkten) Sonnenstrahlung von  $I_0$  (extraterr.) auf  $I$  läßt sich einfach berechnen durch:

$$I/I_0 = \exp. \{-m \cdot \left( \delta_M \cdot \frac{p}{p_0} + \delta_A + \delta_O \right)\}, \quad (\text{Gl. 1}),$$

wobei die optischen Dicken  $\delta_i$  die jeweiligen auf den senkrechten Weg durch die Atmosphäre integrierten Schwächungskoeffizienten und die optische Luftmasse  $m \approx 1/\cos\zeta$  die Abhängigkeit vom Sonnenzenitwinkel  $\zeta$  repräsentiert.

Abb. 1 zeigt den spektralen Verlauf der optischen Dicken im Wellenlängenbereich zwischen 300 nm und 400 nm für die Standard-Atmosphäre 1968 nach ELTERMAN <sup>6)</sup>. Im logarithmischen Maßstab erscheint die Variation als Steigung von  $\delta_A$  und  $\delta_M$  (bezogen auf Normaldruck  $p_0$ ) als gering bzw. mäßig im Vergleich zu  $\delta_O$ ; die Schwächung durch Ozonabsorption dominiert im UV-B-Bereich, sie übersteigt die Schwächung durch Molekülstreuung für  $\lambda < 310 \text{ nm}$  und liefert (bei  $\zeta = 0$ ) Transmissionsgrade von etwa  $3 \cdot 10^{-2}$  und  $3 \cdot 10^{-5}$  für  $\lambda = 300 \text{ nm}$  und  $290 \text{ nm}$ . Da in unseren Breiten  $\zeta > 20^\circ$  und

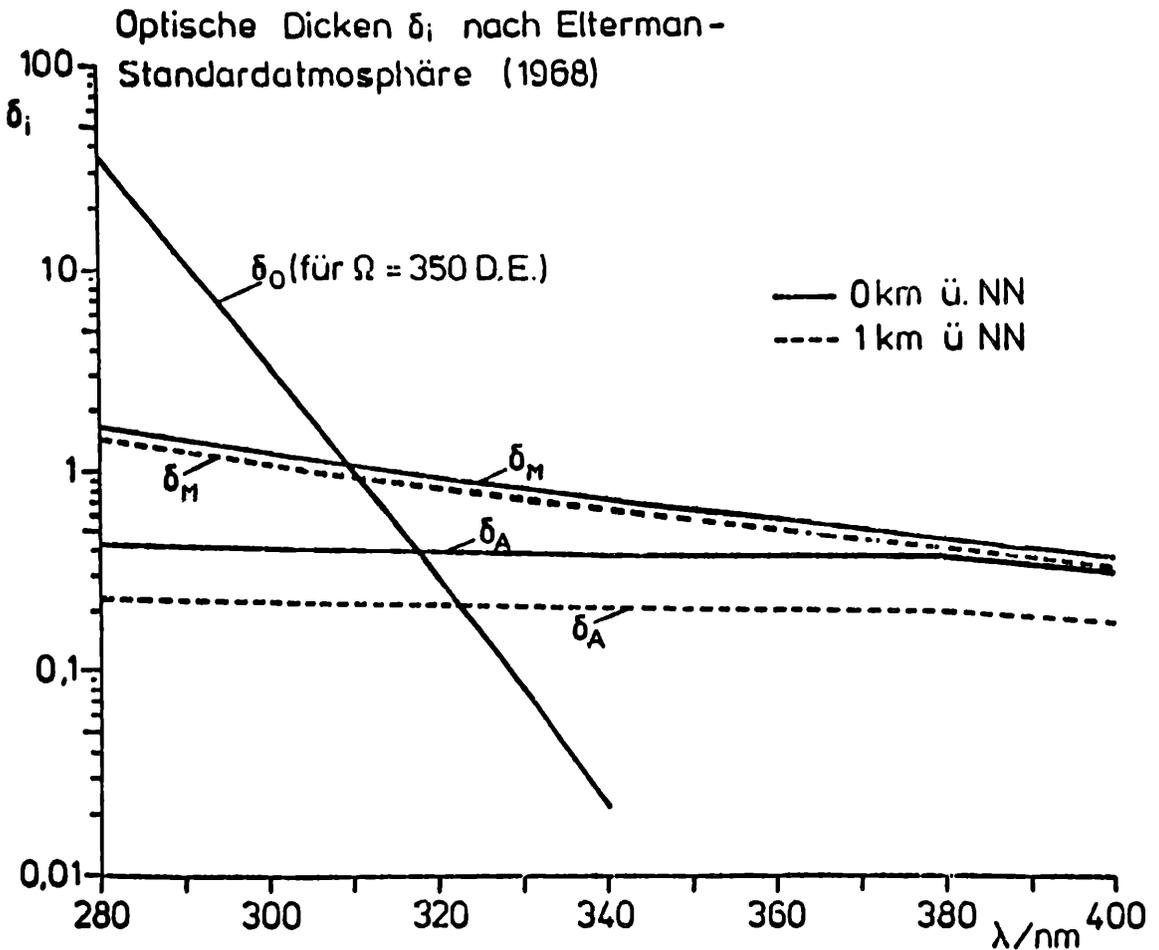


Abbildung 1

Spektrale Abhängigkeit der optischen Dicken für Ozon ( $\delta_o$ ), Aerosole ( $\delta_A$ ) und Moleküle ( $\delta_M$ ) aus<sup>6)</sup>. Für Stationshöhen von 0 und 1 km ü. NN.

$1/\cos \zeta$  mit wachsendem  $\zeta$  nichtlinear ansteigt, wird die direkte UV-Sonnenstrahlung hier tatsächlich noch stärker geschwächt.

Ein Teil der gestreuten direkten Sonnenstrahlung erreicht die Erdoberfläche als diffuse (gestreute) Sonnenstrahlung, und zwar – in sehr grober Näherung – 50 % der Molekülstreuung und deutlich mehr als 50 % der Aerosolstreuung (zunehmend mit der Aerosolgröße). Die Globalstrahlung  $G$  übersteigt definitionsgemäß um diesen Betrag der diffusen Sonnenstrahlung  $D$  die horizontale Komponente der direkten Sonnenstrahlung:

$$G = I \cdot \cos \zeta + D.$$

Vereinfacht man den Aufbau der Atmosphäre durch die Annahme, daß die Ozonschicht in der Stratosphäre ( $\approx 20$  km), die Moleküle in der Troposphäre und das Aerosol im unteren Teil der Troposphäre konzentriert sind, und berücksichtigt man die zeitliche und räumliche Variation des atmosphärischen Ozongehalts (z.B.<sup>7,8)</sup>), so kann man bereits aus den Angaben in diesem Abschnitt 3.1. in erster grober Näherung auf die Werte der solaren Einstrahlung im UV-Bereich zurückschließen.

### 3.1.1. Zur Variation durch atmosphärisches Aerosol

Größenverteilung, komplexer Brechungsindex und Partikelkonzentration (mit Höhenprofil) des Aerosols bestimmen die Strahlungsschwächung. Von der Größenverteilung hängt es u.a. auch ab, ob die optische Dicke des Aerosols mit abnehmenden Wellen-

längen zunimmt (z.B. bei der Prozentverteilung:  $\delta_A \sim \lambda^{-1.3}$ ) oder abnimmt (z.B. bei „Haze L“, s.<sup>9)</sup>). Veränderungen der Aerosol-Absorption, beschrieben durch den Imaginärteil des Brechungsindex, schwächen die UV-Globalstrahlung empfindlicher als Konzentrationserhöhungen.

Insgesamt liegt für Sonnenzenitwinkel  $\zeta = 0^\circ$  der Schwächungseffekt für die UV-Globalstrahlung unter 10 % oder 25 %, je nachdem, ob man stark absorbierendes Industrie-Aerosol ausschließt oder nicht ausschließt. Die spektralen Unterschiede im Bereich 300 nm - 400 nm sind gering (wenige Prozent), nehmen jedoch bei größeren Einfallswinkeln ( $\zeta \geq 70^\circ$ ) zu (siehe z.B.<sup>10)</sup>).

### 3.1.2. Zur Variation durch atmosphärisches Ozon

Die Variation der UV-Strahlung durch Änderung des atmosphärischen Ozongehalts ist angesichts der möglichen Auswirkungen auf die Biosphäre besonders häufig berechnet worden (siehe z.B.<sup>11,12,13)</sup>). Abb. 2 zeigt nochmals nach Modellberechnungen<sup>14)</sup> für fünf Wellenlängen und Sonnenzenitwinkel  $\zeta = 0^\circ$  die Zunahme von Globalstrahlung  $G$ , diffuser Sonnenstrahlung  $D$  und direkter Sonnenstrahlung  $I$ , wenn der Gesamtzongehalt  $\Omega = 400$  D.E. (1 Dobson-Einheit =  $10^3$  cm STP) bis zu 50 % verringert wird. Man findet bei einer Ozonabnahme von 25 % für die Wellenlängen 307,5 nm und 297,5 nm eine Zunahme der spektralen Bestrahlungsstärke

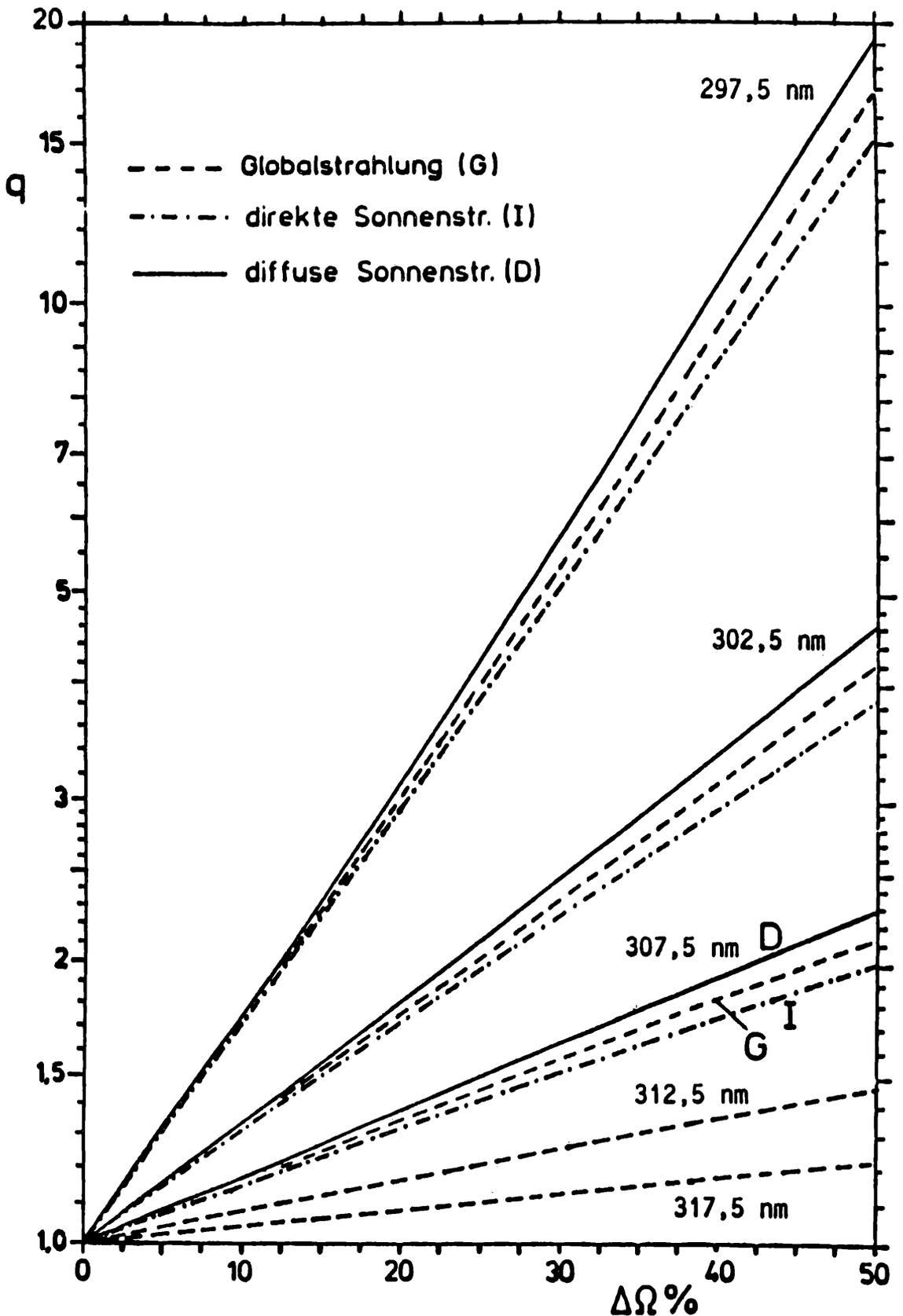


Abbildung 2

Zuwachsfaktoren der spektralen Globalstrahlung sowie der direkten und diffusen Sonnenstrahlung für vier Wellenlängen des UV-B-Bereichs im Falle der Abnahme des Gesamtzongehalts bis zu 50 %. Nach Strahlungsmodellwerten aus<sup>14)</sup> für eine aerosolarme, wolkenlose Atmosphäre, Sonnenzenitwinkel  $\zeta = 0^\circ$  und einen Ausgangswert des Ozongehalts von  $\Omega = 400$  D.E.

von G um den Faktor 1,5 bzw. 2 bzw. 4; dies bedeutet, daß der prozentuale Zuwachs an Globalstrahlung aus der prozentualen Ozonabnahme durch

Verdopplung, Vervielfachung bzw. Verzwölfachung abgeschätzt werden kann. Versteht man die genannten Wellenlängen als Wirkungsschwerpunkt

te  $\lambda_s$ , die sich bei Faltung von Wirkungsfunktion und Spektrum ergeben, so erhält man z.B. im Falle der Erythemschwellenwirkung ( $\lambda_s = 307,5$  nm im Sommer) die „Prozent-Verdoppelungs-Regel“. Zum empfindlicheren Nachweis von Ozonschwankungen andererseits sind Geräte mit noch kleineren Schwerpunktswellenlängen zu empfehlen.

Der Schwächungseffekt, wie in Abb. 2 dargestellt, wird im Falle ansteigender Sonnenzenitwinkel  $\zeta$  weiter verstärkt. Dies ergibt sich für die direkte Sonnenstrahlung I aus Gleichung (1):

$$\ln [I(\lambda, \Omega_2)/I(\lambda, \Omega_1)] = -\beta(\lambda) \cdot \Omega_1 \cdot [(\Omega_2 - \Omega_1)/\Omega_1] / \cos \zeta \quad \text{(Gl. 2)}$$

wenn man gleichzeitig die optische Dicke  $\delta_0(\lambda) = \beta(\lambda) \cdot \Omega$  durch den Ozon-Absorptionskoeffizienten ausdrückt.

Mit Hilfe von Gl. (2) kann man die I-Ergebnisse in Abb.2 von  $\Omega_1 = 400$  D.E. auch auf andere Bezugs-ozongehalte umrechnen, wobei die relative Ozon-änderung  $(\Omega_2 - \Omega_1)/\Omega_1$  bereits vorgegeben ist. Für Ozongehalte unter 400 D.E. z.B. ergeben sich danach kleinere prozentuale Strahlungsänderungen.

Für genauere Berechnungen der Schwächung durch Ozonabsorption sind nicht nur der atmosphärische Gesamtzongehalt, sondern auch das Höhenprofil von Lufttemperatur und Ozonkonzentration erforderlich. Letzteres erweist sich als besonders wichtig, da die Absorptionskoeffizienten des anwachsenden troposphärischen Ozons diejenigen des stratosphärischen Ozons deutlich übersteigen<sup>15),16)</sup>.

### 3.1.3. Zur Höhenabhängigkeit

Die Abhängigkeit der spektralen UV-B-Globalstrahlung von der Stationshöhe (ü.N.N.) zeigt (Abb. 3) für eine Modellatmosphäre mit geringer Aerosolbelastung und einem Gesamtzongehalt von 318 D.E.<sup>17)</sup>. Es ist der Zuwachsfaktor der Globalstrahlung beim Aufstieg von 0 m auf 1 km, 2 km und 3 km dargestellt. Die jeweiligen Kurvenpaare

spreizen sich zunehmend mit abnehmender Wellenlänge und zunehmenden Zenitwinkel auf. Bei  $\lambda = 307,5$  nm liegt der Faktor für 1 km zwischen 1.13 ( $\zeta = 30^\circ$ ) und 1.17 ( $\zeta = 60^\circ$ ), für 3 km zwischen 1,33 und 1,46. Diese Werte sind vergleichbar mit der Zuwachsrate von ca. 14 % je km, die in den Bergstationen bei Innsbruck<sup>18)</sup> und bei Garmisch<sup>19)</sup> gemessen wurde.

Mit ansteigender Wellenlänge (und folglich abnehmender Molekülstreuung) gehen die Höhenzuwachsrate auf Werte unter 10 % je km zurück, wie nebenstehende Tabelle der Zuwachsfaktoren  $f(h)$  für  $\lambda = 340$  nm und 360 nm zeigt.

$\lambda/\text{nm}$	$\zeta = 30^\circ$			$\zeta = 60^\circ$		
	$f(1)$	$f(2)$	$f(3)$	$f(1)$	$f(2)$	$f(3)$
340	1,08	1,14	1,19	1,12	1,20	1,28
360	1,07	1,11	1,15	1,10	1,17	1,24

Im Falle von Inversionslagen, die eine stärkere Anreicherung von Aerosolen in den unteren Luftschichten bedeuten, oder von bodennahen, starken Aerosolquellen sind höhere Zuwachsraten zu erwarten.

### 3.1.4. Zur Abhängigkeit von der Bodenbede

Die Albedo natürlicher Bodenflächen nimmt im UV-Bereich im allgemeinen zu kürzeren Wellenlängen ab und liegt im UV-B-Bereich für Grünflächen und Ackerböden unter 5 %. Legt man das gleiche Rechenmodell einer aerosolarmen Atmosphäre<sup>17)</sup> zugrunde, wie in Abschnitt 3.1.3., so ergeben sich bei Albedowerten für Lambert-Rückstreuung von 0,1 (helle Steine), 0,3 (heller Sand) und 0,8 (Neuschnee) im Spektralbereich zwischen 297,5 nm und 360 nm albedo-bedingte Erhöhungen der spektralen Globalstrahlung um 3 bis 4 %, 9 bis 13 % bzw. 27 bis 45 %. Die Maximalwerte liegen in einem breiten Maximum zwischen 312 und 330 nm.

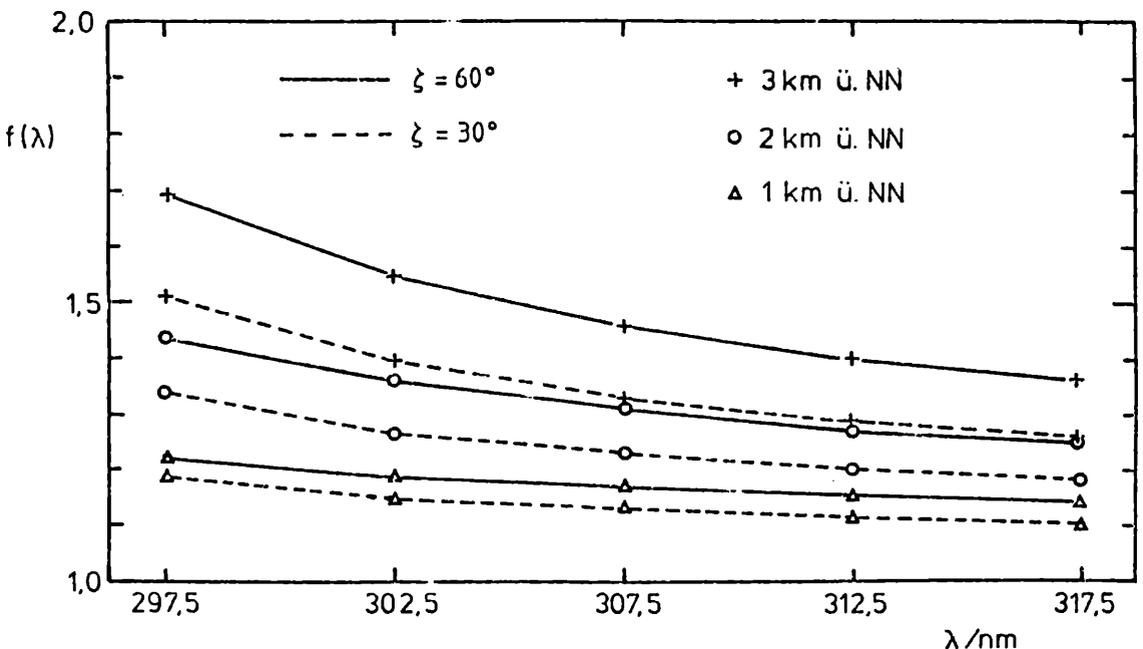


Abbildung 3

Zuwachsfaktoren  $f(\lambda)$  für die spektrale Globalstrahlung im UV-B-Bereich bei Verlegung der Meßstation von 0 km ü.NN auf 1 km, 2 km und 3 km ü.NN. Nach Strahlungsmodellaten aus<sup>17)</sup> für Sonnenzenitwinkel  $60^\circ$  und  $30^\circ$  sowie eine wolkenlose, aerosolarme Atmosphäre mit einem Gesamtzongehalt von 318 D.E.

Die Ergebnisse sind praktisch unabhängig vom Sonnenzenitwinkel. Zunehmender Aerosolgehalt sollte den Albedo-Effekt weiter abschwächen. Abgesehen von Schneelagen liefert also die Albedo des Bodens nur eine geringfügige Verstärkung der UV-Globalstrahlung.

### 3.2. Für den bewölkten Fall

Bei *bedecktem* Himmel liefern die Streu- und Absorptionsprozesse im Wolkenvolumen eine zusätzliche Schwächung der UV-Globalstrahlung, die mit der optischen Dicke der Wolken ansteigt.

Das Verhältnis  $R(\delta_w)$  der spektralen UV-Globalbestrahlungsstärken mit und ohne homogene Stratus-Bewölkung, berechnet nach einem einfachen Wolken-Modell für zehn optische Dicken  $\delta_w$ , zeigt Abb. 4 (aus<sup>20</sup>). Die  $\delta_w$  sind durch Integration der Wolkentröpfchen-Schwächungskoeffizienten bei konstantem Konzentrationsprofil über die Wolkendichte bestimmt worden; die Koeffizienten wurden dabei als wellenlängenunabhängig angenommen. Man erhält z.B.  $R(10) \approx 0,6$  und  $R(50) \approx 0,2$  für  $\lambda \geq 300$  nm; für  $\lambda < 300$  nm erkennt man eine deutliche Abnahme der R-Werte mit zunehmender Ozonabsorption. Eine bemerkenswerte Variation von R mit dem Sonnenzenitwinkel ergibt sich nicht.

Größere R-Werte erhält man, wenn man statt der zu  $\rho_B = 0,05$  angenommenen Albedo (Vegetationsflächen) höhere Werte (z.B. für Sand und Schnee) in Rechnung stellt. Mit der Wolkenalbedo  $\rho_w$ , die für dicke, wasserreiche Wolkenschichten auf 0,8 ansteigen kann, errechnet man eine albedo-bedingte Globalstrahlungserhöhung den Faktor  $f = \rho_w \cdot \rho_w / (1 - \rho_B \cdot \rho_w)$ .

Der Effekt von Wolkenbedeckung auf den UV-Anteil an der Globalstrahlung oder auf das entsprechende Verhältnis  $V(\delta_w)$  der Transmissionsgrade von UV-Globalstrahlung und Globalstrahlung ist nach Modellrechnungen in<sup>21</sup>) in erster Linie abhängig von der Wolkenschichtdicke. Für  $\rho_B = 0$  (näherungsweise also für Flächen mit insgesamt niedriger

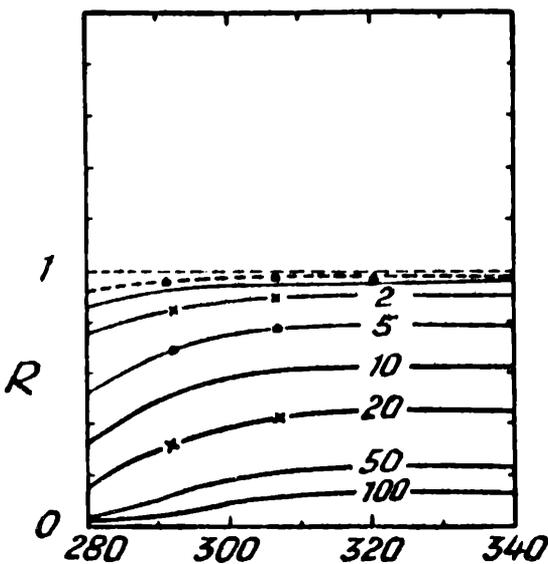


Abbildung 4

Relative spektrale Globalstrahlung  $R(\lambda)$  bei stratusbedecktem Himmel (bezogen auf den wolkenlosen Fall) für den UV-Bereich 280 nm bis 340 nm, aus<sup>20</sup>). Nach Modellberechnung für acht Wolkenschichten mit optischen Dicken bis  $\delta_w = 100$  und einem Gesamt ozongehalt von 320 D.E.; Sonnenzenitwinkel  $\zeta = 0^\circ$ .

Albedo, wie z.B. unbewachsene Erde) zeigt Abb. 5 aus<sup>21</sup>), daß z.B. bei kleinen Sonnenzenitwinkeln die  $V(\delta_w = 15)$ -Werte die „wolkenlosen“  $V(\delta_w = 0)$ -Werte um etwa 10-30 % übersteigen, mit ansteigender Tendenz für zunehmende  $\zeta$ . Dieser Effekt tritt bei Wellenlängen auf, für die die Ozonabsorption noch nicht zu stark und die Molekülstreuung immer noch deutlich von der des sichtbaren Bereichs abgehoben ist, also – gemäß Abb. 5 – im Bereich von 300 nm bis mindestens 330 nm. Setzt man Bodenalbedo-Werte ein, die im UV-Bereich um ein Vielfaches niedriger sind als für den gesamten Solarbereich, so wird die Globalstrahlung mehr begünstigt und der beschriebene Wolkenbedeckungseffekt abgebaut.

Im Falle des teilbedeckten Himmels erreicht auch Strahlung von Wolkenseitenflächen die Erdoberfläche. Zur Globalstrahlung liefern die von der Sonne angestrahlten hellen Wolkenflächen höhere Beiträge als die dahinter liegenden blauen Himmelssegmente. Zur UV-Globalstrahlung dagegen sind diese Beiträge geringer, da die Wolken Anteile der intensiven Molekülstreuung des Himmels abschatten. Für die UV-B-Strahlung bei etwa 300 nm können sich Reflex und Schatten in ihrer Wirkung aufheben<sup>23</sup>). Insgesamt ergibt sich damit eine bewölkungsbedingte Absenkung des UV-Anteils an der Globalstrahlung.

Die bisherigen Arbeiten zur Klärung des Zusammenhangs von Bewölkung und UV-Strahlung (speziell: UV-B-Strahlung) sind nur Mosaiksteine; es bedarf noch vieler weiterer Untersuchungen, vor allem durch Messungen, um abgesicherte Ergebnisse für die Anwendungen bereitstellen zu können.

Abb. 6 zeigt eine Zusammenstellung von derzeit bekannten Kurven der relativen UV-B-Globalstrahlung in Abhängigkeit vom Wolkenbedeckungsgrad. Die Punkt Wolke repräsentiert die australischen Einzelmeßergebnisse, aus denen die Paltridge-Kurve<sup>24</sup>) abgeleitet wurde; die Verteilung der Punkte legt nahe, daß man bei Auftrennung in Bedeckungsgrade für verschiedene Wolkenarten mehrere Kurven erhalten würde.

Die Büttner-Gerade wird in amerikanischen UV-B-Studien (siehe z.B.<sup>25</sup>) benutzt. Sie liefert für  $N = 8$  (bedeckt) mit 0,44 den höchsten Wert, für  $N < 6$  die niedrigsten Werte. Die Kurve von Josefsson, die unter der Paltridge-Kurve liegt, wird in einer schwedischen UV-B-Studie<sup>26</sup>) verwandt. Die Kurve für die relative Globalstrahlung von Hamburg<sup>27</sup>) soll einen Vergleich zwischen UV-Globalstrahlung und Globalstrahlung ermöglichen; wenn man die Büttner-Gerade ausschließt, liegen die Abweichungen für  $N < 7$  innerhalb 10 %.

### 4. Variation mit Tages- und Jahreszeit für den wolkenlosen Fall

Die tageszeitliche und jahreszeitliche Variation der UV-Strahlung ist wesentlich durch den Gang der Sonnenhöhe bestimmt. Bei der jahreszeitlichen Variation muß man zusätzlich noch die Variation des atmosphärischen Ozongehalts berücksichtigen. In feinere Rechnungen geht auch die jahreszeitliche Schwankung der Bodenalbedo sowie die tageszeitliche Variation des Aerosolgehalts ein. Die im folgenden vorgestellten Ergebnisse für wolkenlosen Himmel sind mit Hilfe eines vielseitigen, modernen Rechenmodells für solare spektrale Bestrahlungsstärken von C.G. JUSTUS und M.V. PARIS<sup>28</sup>) ge-

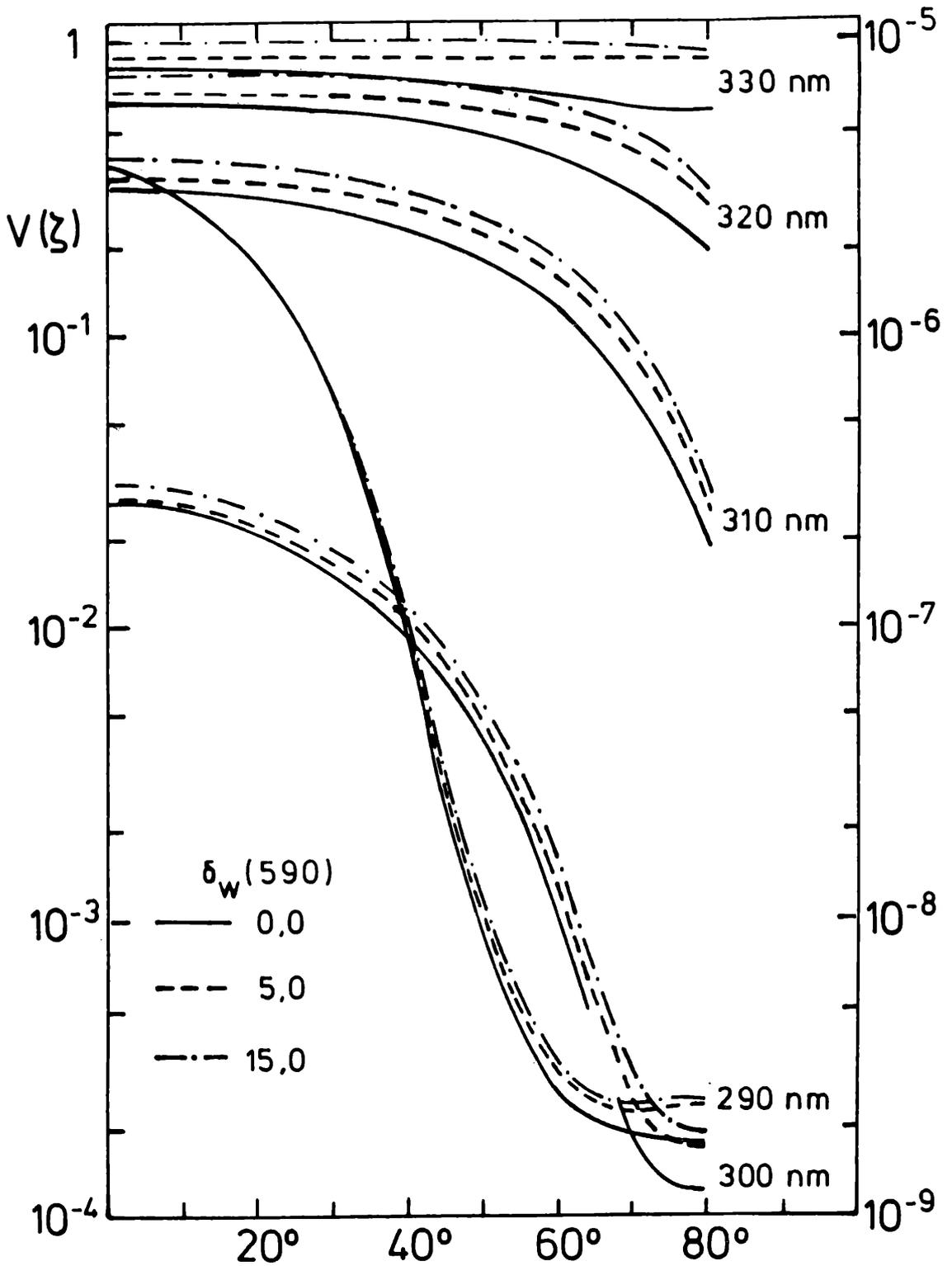


Abbildung 5

Verhältnis  $V(\delta_w)$  der atmosphärischen Transmissionsgrade für die spektrale UV-Globalstrahlung und die Globalstrahlung, in Abhängigkeit vom Sonnenzenitwinkel, für wolkenlose Atmosphäre und zwei Modell-Schichtwolken mit den optischen Dicken  $\delta_w = 5$  und  $15$  sowie für fünf Wellenlängen; aus<sup>21)</sup>. Nach Modellberechnung<sup>21)</sup>, für aerosolarne Atmosphäre mit Gesamtzongehalt 318 D.E. sowie eine Bodenbedo von 0.0. Die rechte Skala gilt für die Kurven mit  $\lambda = 290$  nm.

wonnen worden. Die spektrale Schrittweite beträgt 5 nm. Für Bodenbedo und Aerosoltyp wurden jahreszeitlich feste Werte angenommen.

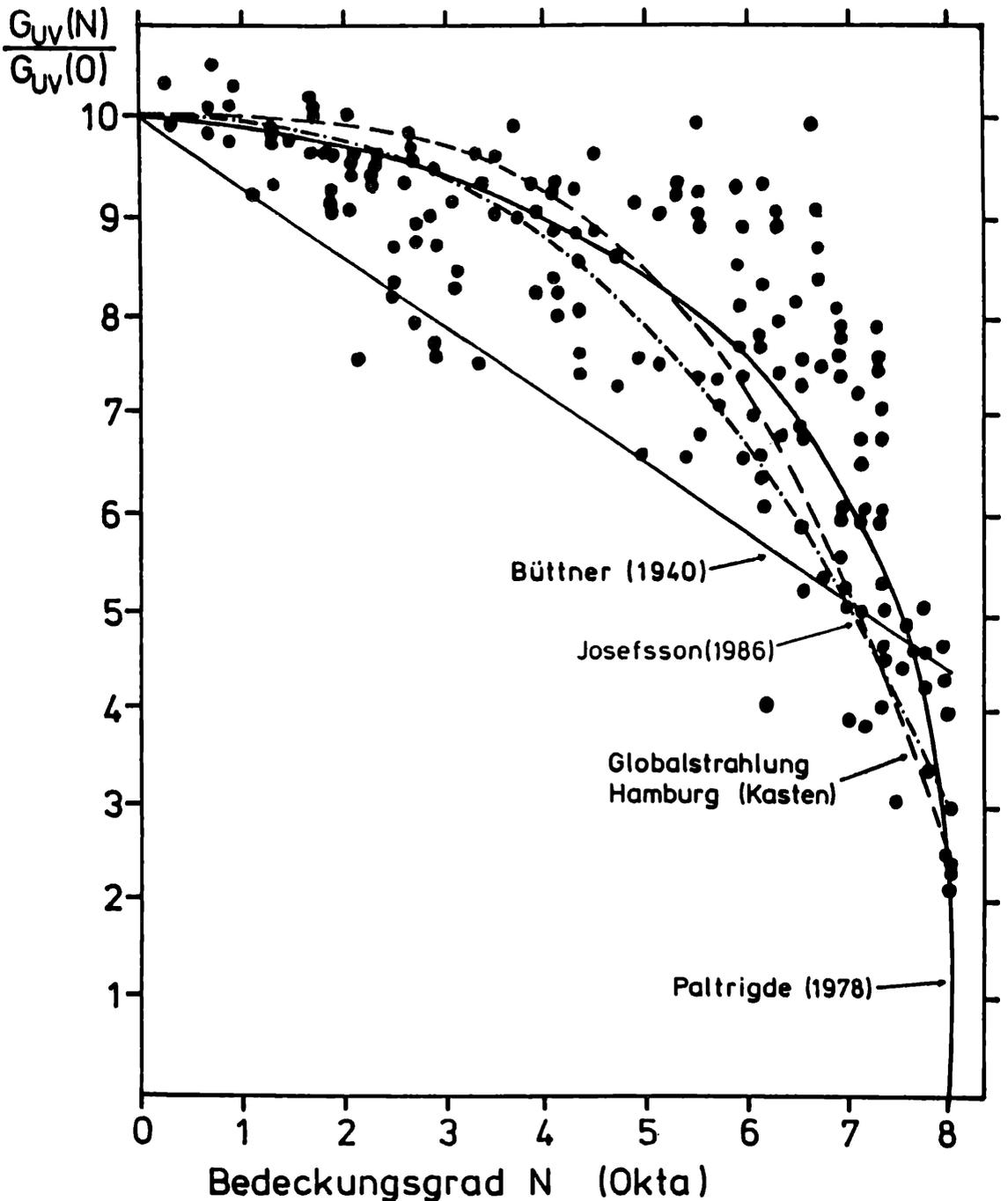


Abbildung 6

Relative UV-Globalstrahlung (bezogen auf den wolkenlosen Fall) in Abhängigkeit vom Wolkenbedeckungsgrad N. Zusammenstellung von drei klimatologisch ausgewerteten UV-Kurven; die Punktwolke repräsentiert die Datenbasis der Paltridge-Kurve. Zum Vergleich: entsprechende Kurve für die Hamburger Globalstrahlung.

#### 4.1. UV-Globalstrahlung $G(\text{UV})$ im Gesamtbereich 290 nm ... 400 nm

##### 4.1.1. Jahresgang des UV-Anteils an der Globalstrahlung

Für den 15. Tag jeden Monats und einen Ort auf der geographischen Breite  $\varphi = 48^\circ\text{N}$  wurden die prozentualen Anteile der Tagessummen berechnet, wobei die Monatsmittelwerte vom Ozongehalt des Meteorologischen Observatoriums Hohenpeißenberg ( $\varphi = 47,8^\circ\text{N}$ ) benutzt und Albedo-Modellwerte für Vegetationsflächen eingesetzt wurden. Der Aerosolgehalt wurde einmal als gering ( $\delta_A(500\text{ nm}) = 0,1$ ), einmal als mittelmäßig ( $\delta_A(500\text{ nm}) = 0,27$ ; siehe auch Elterman-Standard-Atmosphäre, 1968<sup>6)</sup>) angenommen; der Aerosol-

Modelltyp ist „ländlich“ und erfüllt die Potenzverteilung ( $\delta_A(\lambda) \sim \lambda^{-1,3}$ ). Das Ergebnis ist in Abb. 7 dargestellt. Die jahreszeitliche Variation des Anteils von etwa 5 % im Januar und 5,6 % im Juli bedeutet eine relative Schwankung von etwa 12 %. Der Einfluß der unterschiedlichen Aerosolgehalte auf den UV-Anteil ist gering, die relative Abweichung ist unter 1 %. Dagegen liefert eine Erweiterung des Wellenlängenbereichs auf 402,5 nm bereits um etwa 5,5 Relativprozente größere Werte.

Die Absolutwerte von  $G(\text{UV})$  für den Fall  $\delta_A = 0,27$  sind in der 1. Spalte von Tab. 2 enthalten.

Hamburger Meßwerte<sup>29)</sup> (siehe auch<sup>30)</sup>) decken sich in erster Näherung mit dem Ergebnis in Abb. 7, aus dem man folgende Schlüsse ziehen kann:

Tagessummenverhältnis der Gesamt-UV-Globalstrahlung  $G(\text{UV})$  zur Globalstrahlung  $G$  am 15. Tag jedes Monats für  $48^\circ\text{N}$

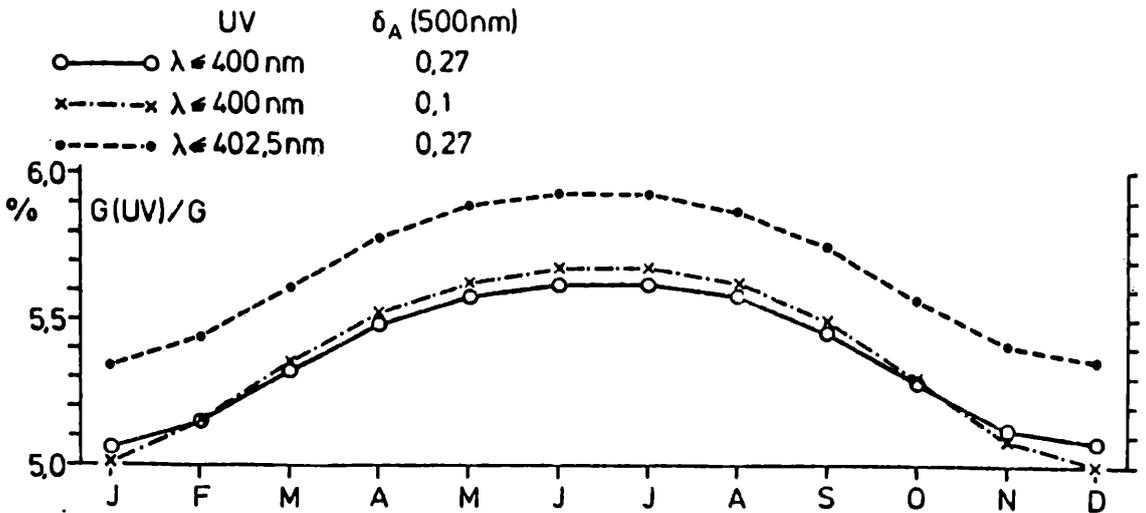


Abbildung 7

Nach Modellberechnung<sup>28)</sup> für eine wolkenlose Atmosphäre mit geringem ( $\delta_A = 0.1$ ) und mittlerem ( $\delta_A = 0.27$ ) Aerosolgehalt und 2 cm Wasser (Äquivalentmenge) sowie Ozongehaltenmittelwerten des Met. Obs. Hohenpeißenberg.

- a) Die Messung der Gesamt-UV-Globalstrahlung (oder auch der UV-A-Strahlung) ist nur dann sinnvoll, wenn die Berechnung aus der Globalstrahlung zu ungenau ist; die Berechnungsunsicherheit liegt, unter Einschluß eines 3 %-Globalstrahlungsfehlers, bei etwa 10 %, wobei die Änderung der Verhältniszerte bei Bewölkung in erster Näherung miterfaßt sein sollte.
- b) Die zur Messung eingesetzten Radiometer sollten eine Meßunsicherheit  $<10\%$  und eindeutig spezifizierete Grenzen der spektralen Empfindlichkeit besitzen.

4.1.2. Tagesgang von UV-Globalstrahlung (und diffuser Sonnenstrahlung)

Die Tagesgänge der UV - Globalbestrahlungsstärke

$G(\text{UV})$  wurden für den 15. Tag jeden Monats in Form von Halbstunden - Mittelwerten berechnet. Es wurde das Aerosolmodell  $\delta_A(500\text{ nm}) = 0.27$  zugrunde gelegt; alle anderen Modellvariablen wurden wie unter 4.1.1. gewählt. Das Ergebnis ist in Tab. 1 niedergelegt und für die 1. Tageshälfte und das 1. Halbjahr in Abb. 8 dargestellt. Um den relativ hohen Anteil an diffuser Sonnenstrahlung  $D(\text{UV})$  in  $G(\text{UV})$  zu veranschaulichen, sind in Abb. 8 auch die entsprechenden  $D(\text{UV})$ -Tagesgänge eingetragen.

Der  $D(\text{UV})$ -Anteil der Mittagswerte liegt für Januar und Juni bei 86 % bzw. 54 %. Das Verhältnis der  $G(\text{UV})$ -Mittagswerte von Juni und Januar beträgt 3,6, das entsprechende für  $D(\text{UV})$  2,3. Für die Globalstrahlung findet man an einem wolkenlosen Junitag, je nach Trübung, nur einen  $D$ -Anteil von etwa 10 bis 20 %.

Tabelle 1

Vormittagsgang der Halbstunden-Mittenswerte der UV-Globalbestrahlungsstärke  $G(\text{UV})$  für den wolkenlosen 15. Tag jeden Monats und Orte in  $48^\circ\text{N}$ .

Nach Modellberechnung<sup>28)</sup>, für optische Dicke des Aerosols  $\delta_A = 0.27$  ( $\lambda = 500\text{ nm}$ ), 2 cm Wasser (Äquivalentmenge) und Ozongehaltenmittelwerte vom Met. Obs. Hohenpeißenberg.

Halbstunden-Mitte (WOZ)	Jan.	Febr.	März	Apr.	Mai	Juni	Juli	Aug.	Sept.	Okt.	Nov.	Dez.
11.45	15.6	24.3	35.3	46.5	53.8	56.9	55.9	50.7	41.0	29.2	18.6	13.7
11.15	15.0	23.4	34.3	45.6	53.0	56.0	55.1	49.9	40.2	28.3	17.8	13.1
10.45	13.8	22.0	32.6	43.9	51.2	54.3	53.4	48.1	38.4	26.7	16.5	11.9
10.15	11.9	19.8	30.1	41.2	48.6	51.8	50.8	45.4	35.8	24.4	14.6	10.2
9.45	9.76	17.1	27.0	37.9	45.3	48.5	47.5	42.1	32.5	21.4	12.1	8.19
9.15	7.33	13.9	23.2	33.8	41.3	44.6	43.5	38.0	28.5	17.9	9.48	5.93
8.45	4.79	10.5	19.2	29.3	36.8	40.1	39.0	33.4	24.2	14.2	6.64	3.56
8.15	2.28	7.97	14.8	24.5	31.8	35.2	34.0	28.4	19.4	10.3	3.82	1.26
7.45	0.14	4.00	10.5	19.4	26.5	30.0	28.7	23.2	14.7	6.66	1.19	
7.15		1.15	6.58	14.5	21.2	24.7	23.4	18.0	10.1	3.29		
6.45			3.10	9.86	16.1	19.3	18.2	13.0	6.07	0.45		
6.15			0.28	5.79	11.4	14.4	13.3	8.52	2.55			
5.45				2.37	7.17	9.95	8.90	4.68				
5.15					3.67	6.11	5.19	1.51				
4.45					0.85	2.94	2.12					
4.15						0.05						

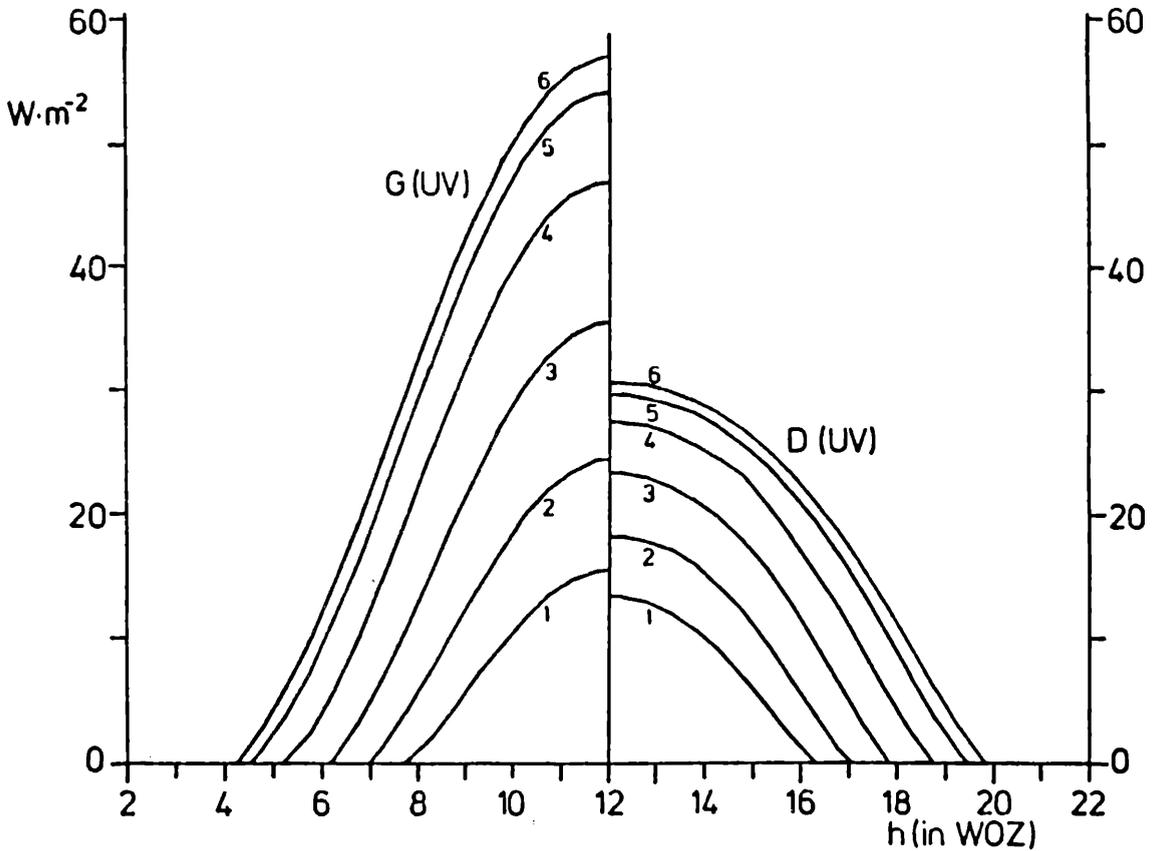


Abbildung 8

Halbtagesgang der UV-Globalstrahlung  $G(\text{UV})$  und der diffusen UV-Sonnenstrahlung für die wolkenlosen 15. Tage der ersten sechs Monate. Modellberechnung mit Annahmen wie für Abb. 7 ( $\delta_A = 0.27$ ).

#### 4.2. UV-Globalstrahlung $G(\Delta\text{UV})$ in spektralen Unterbereichen

Wie in 4.1. wurden für den 15. Tag jeden Monats und die geographische Breite  $\varphi = 48^\circ\text{N}$  sowie unter den Modell-Annahmen gemäß 4.1.1. die Tagessummen der Globalstrahlung in 7 UV-Unterbereichen berechnet. Die untere Grenzwellenlänge der Spektralintervalle ist stets 290 nm, so daß durch fortschreitende Verkürzung der oberen Grenze der zunehmende Einfluß der Ozonabsorption im UV-B dargestellt werden kann. Ergebnisse für Zwischenintervalle kann man durch Subtraktion der Intervalle berechnen.

Die Ergebnisse sind in Tab. 2 dargestellt als Tagessummen in  $\text{Wh}\cdot\text{m}^{-2}$  und als prozentualer Anteil  $P(\Delta\text{UV})$  an der UV-Globalstrahlung  $G(\text{UV})$  sowie als prozentuale Abweichung der  $P(\Delta\text{UV})$  von dem zugehörigen  $P(\Delta\text{UV})$ -Wert für Juli.

Die stetige Intervallverkürzung um 20 nm führt beim Übergang vom  $\Delta\text{UV}(290-340)$  auf  $\Delta\text{UV}(290-320)$  zu einem starken Sprung, der im Januar eine Abnahme auf etwa 10 %, im Juli auf etwa 20 % bedeutet. Der Anteil  $P(290-315) \approx P(\text{UV-B})$  beträgt im Januar etwa 0,5 %, im Juli etwa 2,0 %; für das kürzeste Intervall  $\Delta(290-307.5)$  lauten die entsprechenden Anteile  $6 \cdot 10^{-3} \%$  und 0,3 %.

Abb. 9 zeigt die auf das Juli-Maximum bezogenen Abweichungen von  $P(\Delta\text{UV})$ . (Tabellenwerte unter c)). Man erkennt die Sonderstellung des UV-B-Bereichs in den abgesetzten Gruppen der Jahresgänge wieder. Eine Abnahme um 50 %, 90 % oder 95 % bedeutet eine Variation um den Faktor 2 bzw. 10 bzw. 50. Die Unsymmetrie der Kurven ergibt sich aus der Monateinteilung, die nicht „sonnen-

stand-symmetrisch“ ist, sowie aus dem Ozongehaltsminimum im Herbst.

Den Anteil der  $G(\Delta\text{UV})$  an der Globalstrahlung  $G$ , kann man aus  $G(\Delta\text{UV})/G(\text{UV}) \cdot G(\text{UV})/G = P(\Delta\text{UV}) \cdot G(\text{UV})/G$  berechnen. Man erhält z.B. für die UV-B-Globalstrahlung am 15. Juli:  $G(\text{UV-B})/G = 1,94 \cdot 10^{-2} \cdot 5,63 \cdot 10^{-2} = 0,11 \%$ , wobei die Zahlenwerte der Abb. 7 und Tab. 2 entnommen sind.

Die Möglichkeit, über die Messung von  $G$  und ein bekanntes  $G(\Delta\text{UV})/G$ -Verhältnis auf  $G(\Delta\text{UV})$  zu schließen, kann für die Spektralbereiche, die ein starkes Übergewicht an langwelligen UV-A besitzen, als praktikabel angenommen werden, etwa wie im Falle von  $G(\text{UV})$  in Abschnitt 4.1.1. Eventuell ist eine Erhöhung der Fehlertoleranz notwendig. Mit der Verschiebung zu kurzwelligen Bereichen mit stark zunehmender Molekülstreuung wird die Frage nach einer UV-Bereich typischen Strahlungsschwächung durch Wolken (siehe Abschnitt 3.2.) akut, die noch nicht hinreichend geklärt ist.

Für den UV-B-Bereich wäre diese Möglichkeit der UV-Daten-Ableitung nicht nur mit der Klärung der Bewölkungsschwächung verbunden, sondern erfordert auch die Kenntnis des aktuellen Ozongehalts, also die Nähe einer Ozonmeßstation (<200 km). Vorausgesetzt ist dabei, daß Nomogramme für  $P(\Delta\text{UV})$  und Ozongehaltswerte erstellt werden.

#### 5. Zur Abhängigkeit der spektralen UV-Meßwerte von der Flankenlage

In diesem Abschnitt soll an einem Beispiel demonstriert werden, wie im UV-B-Bereich die Meßergebnisse durch die Flankenlage der Meßkanäle

**Tabelle 2**

**Jahresgang der absoluten und relativen Tagessummen der Globalstrahlung in acht UV-Bereichen.** Rechenmodell und Modellannahmen wie in Tab. 1.

a) Absolutwerte  $G(\Delta UV)$  in  $Wh \cdot m^{-2}$

b) Prozentualer Anteil  $P$  von  $G(\Delta UV)$  an  $G(UV) = G(290-400)$  vom gleichen Tag

c) Prozentuale Abweichung des  $P$ -Werts vom Juli- $P$ -Wert des gleichen UV-Bereichs.

(Die Anzahl der angegebenen Stellen entspricht lediglich der Rechengenauigkeit)

UV-Bereich:		290-400	290-380	290-360	290-340	290-320	290-315	290-312,5	290-307,5
15. Jan.	a)	80,51	56,23	32,94	14,01	1,23	0,39	0,11	0,006
	b)	100	69,84	40,91	17,40	1,53	0,48	0,14	0,01
	c)	0	-1,98	-6,43	-18,46	-62,32	-75,26	-86,79	-96,30
15. Feb.	a)	143,03	100,07	59,10	26,01	2,88	1,02	0,36	0,03
	b)	100	69,96	41,32	18,18	2,01	0,71	0,25	0,02
	c)	0	-1,81	-5,49	-14,81	-50,49	-63,40	-76,42	-92,59
15. März	a)	236,89	166,58	99,54	45,40	6,18	2,46	1,04	0,15
	b)	100	70,32	42,02	19,17	2,61	1,04	0,44	0,06
	c)	0	-1,31	-3,89	-10,17	-35,71	-46,39	-58,49	-77,78
15. April	a)	354,80	250,87	151,55	71,14	11,25	4,86	2,32	0,43
	b)	100	70,71	42,71	20,05	3,17	1,37	0,65	0,12
	c)	0	-0,76	-2,31	-6,04	-21,92	-29,38	-38,68	-55,56
15. Mai	a)	449,16	319,05	194,48	93,38	16,47	7,56	3,91	0,88
	b)	100	71,03	43,30	20,79	3,67	1,68	0,87	0,20
	c)	0	-0,31	-0,96	-2,58	-9,61	-13,40	-17,92	-25,93
15. Juni	a)	495,73	352,88	216,02	104,81	19,41	9,16	4,90	1,19
	b)	100	71,18	43,58	21,14	3,92	1,85	0,99	0,24
	c)	0	-0,10	-0,32	-0,94	-3,45	-4,64	-6,60	-11,11
15. Juli	a)	479,75	341,83	209,73	102,37	19,47	9,32	5,08	1,29
	b)	100	71,25	43,72	21,34	4,06	1,94	1,06	0,27
	c)	0	0	0	0	0	0	0	0
15. Aug.	a)	405,23	288,47	176,79	86,12	16,22	7,72	4,18	1,04
	b)	100	71,19	43,63	21,25	4,00	1,91	1,03	0,26
	c)	0	-0,08	-0,21	-0,42	-1,48	-1,55	-2,83	-3,70
15. Sept.	a)	293,77	208,56	127,23	61,33	10,96	5,06	2,63	0,60
	b)	100	70,99	43,31	20,88	3,73	1,72	0,90	0,20
	c)	0	-0,36	-0,94	-2,16	-8,13	-11,34	-15,09	-25,93
15. Okt.	a)	183,06	129,33	78,12	36,65	5,69	2,42	1,13	0,20
	b)	100	70,65	42,67	20,02	3,11	1,32	0,62	0,11
	c)	0	-0,84	-2,40	-6,19	-23,40	-31,96	-41,51	-59,26
15. Nov.	a)	100,75	70,82	42,20	18,93	2,26	0,83	0,23	0,03
	b)	100	70,29	41,89	18,79	2,24	0,82	0,23	0,03
	c)	0	-1,35	-4,19	-11,95	-44,83	-57,73	-78,30	-88,89
15. Dez.	a)	67,70	47,39	27,86	11,92	1,06	0,34	0,10	0,006
	b)	100	70,00	41,15	17,61	1,57	0,50	0,15	0,01
	c)	0	-1,75	-5,88	-17,48	-61,33	-74,23	-85,85	-96,30

bestimmt werden. Es wird angenommen, daß eine bestimmte photobiologische Wirkung bei 300 nm ihr Maximum besitzt; die Wirkungsfunktion  $W(\lambda)$  klingt zur langwelligen Seite exponentiell ab, wobei für die Steilheit der langwelligen Flanke sieben Fälle durch Angabe von Halbwertsbreite (HW), Zehntelwertsbreite (ZW) und Hundertstelwertbreite (hW) spezifiziert sind (siehe Abb. 10). Bestimmt man die zugehörigen wirkungsbezogenen Globalstrahlungen aus modellierten spektralen Tagessummen für die Monatsmitten in 48°N (siehe Angaben in 4.1.2.), so erhält man jeweils als Jahresgang die Kurven im linken Teil der Abb. 10. Die beiden Randkurven G und A, die der größten bzw. kleinsten Steilheit der Flanke entsprechen, unterscheiden sich im Juli um den Faktor 10, im Januar um den Faktor 500. Wenn man also eine Wirkung gemäß A mit den Strahlungswerten vergleicht, die ein auf 300 nm eingestelltes Spektralradiometer mit einer Transmissionsfunktion gemäß G mißt, so ist eine Korrelation völlig unmöglich. Entsprechendes gilt beim Vertauschen von A und G, oder in abge-

schwächer Form nach Einsetzen anderer Flanken-Typen solange, bis die Flankengleichheit für Meßgerät und Wirkungsfunktion eine exakte Zuordnung erlaubt. Besitzt das Radiometer eine Flanke B (Steigung der Erythemwirkungsfunktion), so liegen die Juli- und Januarabweichungen, bezogen auf Flanke A, immerhin noch beim Faktor 1,5 bzw. 1,9.

Vom UV-B-Globalstrahlungsspektrum mit seiner Variation im Tages- und Jahresablauf können nur dann zuverlässige Werte für photobiologische Wirkungen ausgewertet werden, wenn man wirkungsbezogene Energien berechnet oder Spektralradiometer einsetzt, deren spektrale Empfindlichkeit an die photobiologische Wirkungsfunktion angepaßt sind. Nur für Wirkungen, deren Wellenlängenabhängigkeit gering ist, sollten „reine“ Energiewerte von Interesse sein.

Das obige Beispiel verdeutlicht auch, warum solare UV-B-Meßwerte verschiedener Radiometer häufig nicht vergleichbar sind und der Meßaufwand für präzise Messungen sehr hoch ist (siehe z.B. <sup>32</sup>). Die

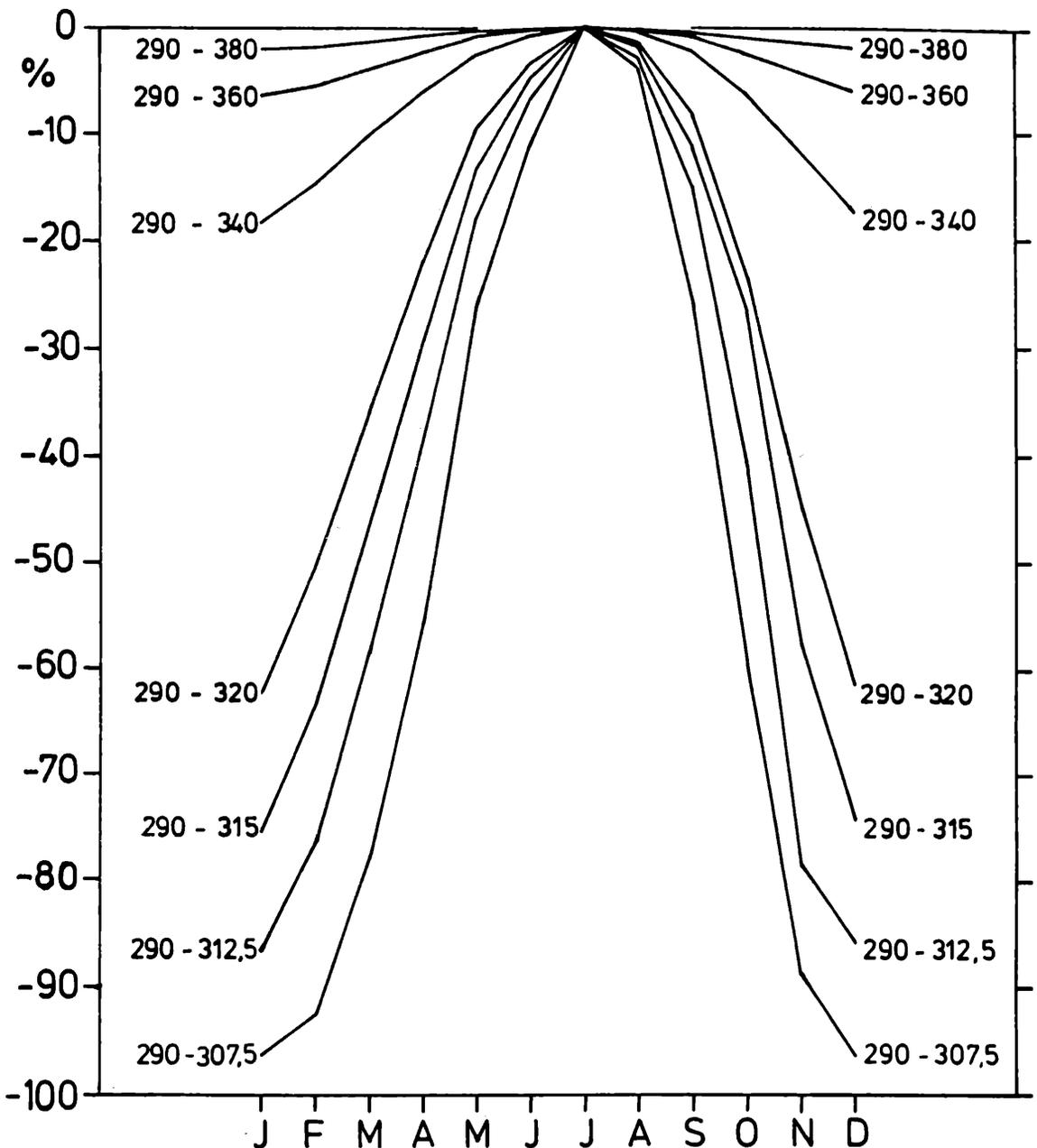


Abbildung 9

Jahresgang der prozentualen Abnahme des Anteils  $P(\Delta UV) = G(\Delta UV)/G(UV)$ , bezogen auf die Juliwerte (Maxima). Nach Rechenmodell<sup>28)</sup> und mit Annahmen wie für Abb. 8.

spektrale Empfindlichkeit der langwelligen Flanke von UV-B-Meßgeräten für solare Strahlung muß über drei oder mehr Größenordnungen spezifiziert sein, um die Eignung des Geräts für bestimmte Meßaufgaben feststellen zu können.

#### 6. Meßwerte des Jahresganges des Anteils der erythemwirksamen Globalstrahlung an der Globalstrahlung

Mit einem UV-B-Radiometer, das am Meteorologischen Observatorium Hamburg zur Messung der erythemwirksamen Globalstrahlung  $G_{er}$  entwickelt wurde, sind in Hamburg als auch an der Ozonestation Meteorologisches Observatorium Hohenpeißenberg seit mehreren bzw. einem Jahr Dauerregistrierungen durchgeführt worden. Abb. 11 zeigt die abgeleiteten Jahresgänge der Tagessummenverhältnisse  $G_{er}/G$  für beide Stationen im Jahr 1987. Die Werte variieren zwischen etwa  $0,3 \cdot 10^{-4}$

im Dezember und  $1 \cdot 10^{-4}$  im Juli, also etwa um den Faktor 3. Der Anteil an erythemwirksamer Globalstrahlung im Juli ist damit nur 1/10 des entsprechenden Werts für die UV-B-Energie.

Die Fluktuationen der Tagesgänge beider Stationen laufen teils gleichsinnig, teils gegenläufig. Dies sollte vor allem an Ozongehaltsunterschieden liegen, denn der Abstand beider Stationen beträgt etwa sechs Breitengrade. Im Mai 1987 z.B. ergab sich für die Hamburger UV-Werte eine wesentlich bessere Korrelation mit den Ozonwerten von Århus (Distanz: 2,6 Breitengrade). Als Ursache für die Fluktuationen sind neben den Ozongehaltsvariationen auch Schwächungseffekte durch Bewölkung anzunehmen. Ein erster Schritt zur Untersuchung von nicht ozon-bedingten Fluktuationen zeigt Abb. 12 am Beispiel des Jahresganges der Anteilwerte für die Mittagsstunde 11-12 (WOZ). Der Jahresgang variiert zwischen  $0,3 \cdot 10^{-4}$  und  $1,3 \cdot 10^{-4}$  und zeigt

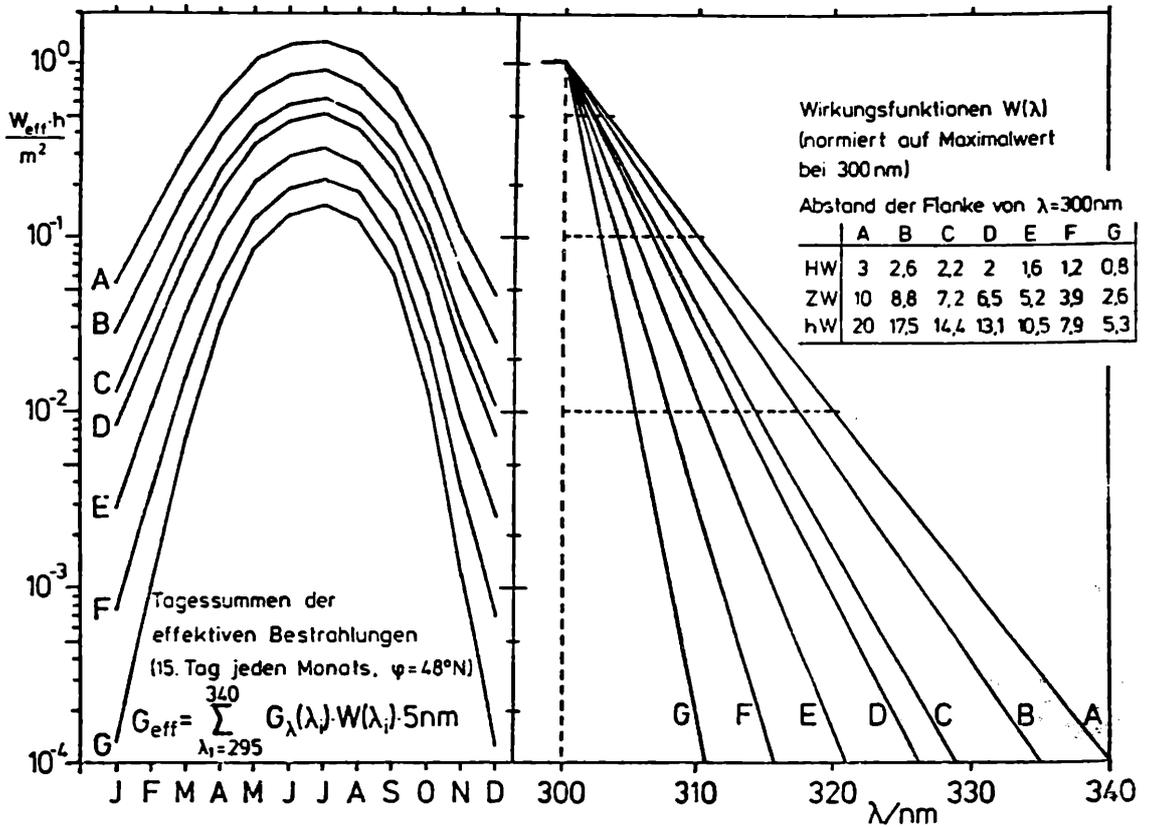


Abbildung 10

rechts: Schematisierte relative Wirkungs- bzw. Filterfunktionen A bis G, bezogen auf das Maximum bei 300 nm, mit unterschiedlichen Steigungen der exponentiell abfallenden langwelligen Flanken.  
 links: Jahrgang der Tagessummen der wirkungsbezogenen Globalstrahlung, berechnet aus den nebenstehenden relativen Wirkungsfunktionen und den spektralen Globalstrahlungswerten  $G_{\lambda}(\text{UV})$  für den 15. Tag jeden Monats und Orte in  $48^\circ\text{N}$  (nach Rechenmodell<sup>28</sup>) wie in Abb. 8).

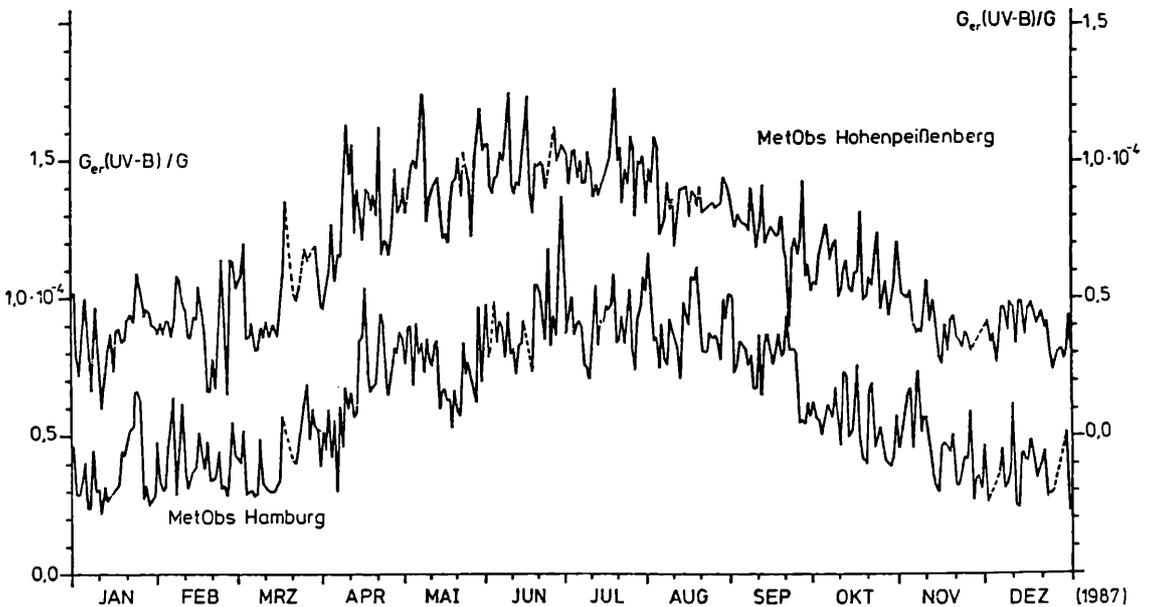
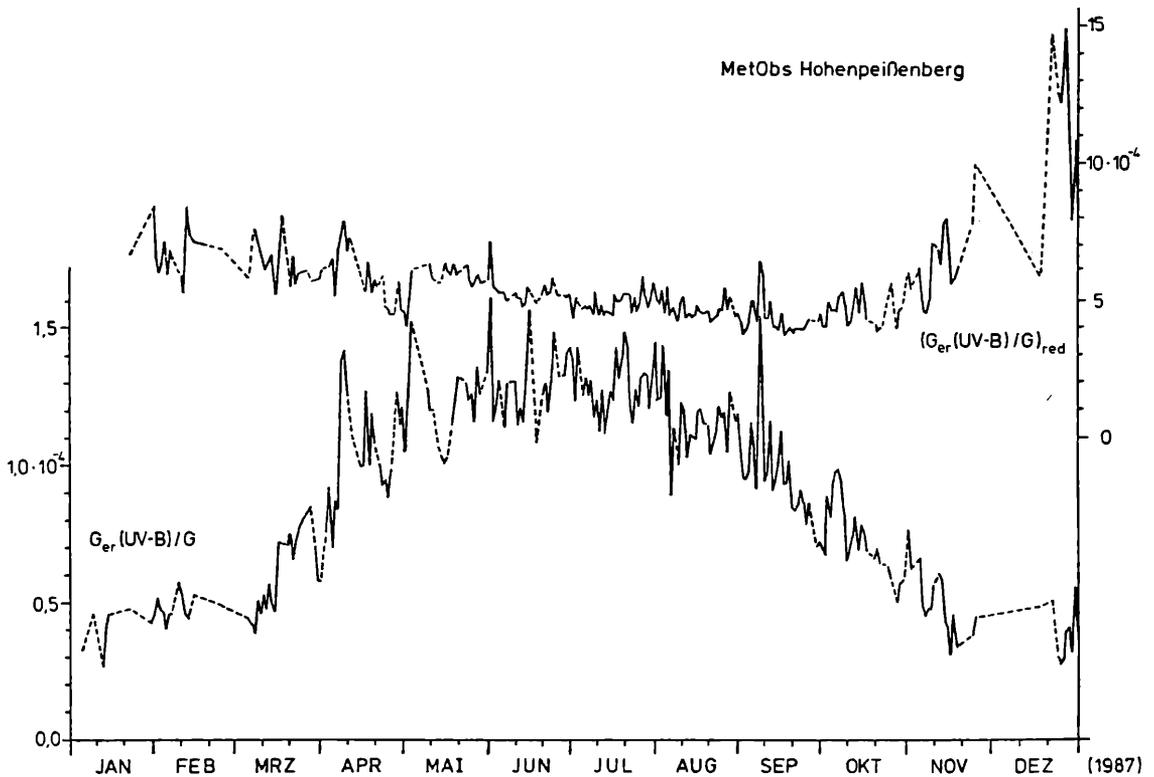


Abbildung 11

Jahrgang der Verhältnisse der Tagessummen von erythemwirksamer Globalstrahlung  $G_{\text{er}}(\text{UV-B})$  und Globalstrahlung  $G$ , gemessen 1987 am Met. Obs. Hamburg (linke Skala) und am Met. Obs. Hohenpeißenberg (obere Kurve und rechte Skala).

besonders starke Fluktuationen im Frühjahr und u.a. einen auffälligen Einbruch Anfang August. Teilt man nun diese Anteilwerte  $G_{\text{er}}/G$  durch den Transmissions-Term für Ozonabsorption  $\exp\{-\delta_0 \cdot m\} \approx \exp\{-\beta(\lambda) \cdot \Omega / \cos \zeta\}$

(siehe Abschnitt 3.1.2., Gl. [2]) und setzt für  $\Omega$  die aktuellen Hohenpeißenberger Ozongehaltswerte und für  $\beta(\lambda)$  vereinfachend als Festwert  $\beta(\lambda_s = 307,5 \text{ nm}) = 3,5 \text{ cm}^{-1}$  ein, so erhält man die obere Kurve der ozonreduzierten  $(G_{\text{er}}(\text{UV-B})/G)_{\text{red}}$ .



**Abbildung 12**

**Untere Kurve: Jahresgang der  $G_{er}(UV-B)/G$ -Verhältnisse der Stundensummen 11 bis 12 Uhr WOZ, gemessen 1987 am Met. Obs. Hohenpeißenberg (linke Skala).**

**Obere Kurve: Jahresgang der  $G_{er}(UV-B)/G$ -Werte (rechte Skala), berechnet aus der unteren Kurve nach einfacher Reduktion des Ozonschwächungseffekts, unter Verwendung der Ozongehalt-Meßwerte vom Met. Obs. Hohenpeißenberg.**

Diese Kurve variiert abfallend vom Frühjahr zum Herbst nur noch zwischen den Relativwerten 6 und 4; auch die Fluktuationen sind deutlich verkleinert und betragen im Sommer nur noch  $\pm 10\%$ . Die größeren Anstiege zwischen November und März sollten sich zumindest teilweise durch eine verbesserte „Ozonkorrektur“ (z.B. exakte Luftmassenberechnung, Einsetzen einer zeitlich variablen Schwerpunkt-Wellenlänge  $\lambda_s > 307,5$  nm) abbauen lassen. Zur Klärung der verbleibenden Schwankungen können dann die zugehörigen Wolken- und Trübungsverhältnisse usw. herangezogen werden.

## 7. Schlußbemerkung

Für die photobiologischen Anwendungen sollte nicht nur die UV-Globalstrahlung, also die solare Strahlung auf die horizontale Ebene, sondern auch die Strahlung auf geneigte Ebenen („hemispherical solar radiation“), insbesondere auf die vertikale Ebene, von Interesse sein. Um Modell-Abschätzungen zu prüfen, haben am Meteorologischen Observatorium Hamburg seit Herbst 1988 Messungen der erythemwirksamen solaren Halbraumstrahlung auf die vertikale Ebene begonnen.

## Literatur

- 1) CALKINS, J. (Ed.) (1982): The role of solar ultraviolet radiation in marine ecosystems. New York: Plenum Press.
- 2) URBACH, F. (Ed.) (1969): The biologic effects of ultraviolet radiation. Oxford: Pergamon Press.
- 3) DEHNE, K. u. F. KASTEN (1983): Lichtforschung 5, Nr. 2, 85-87.

4) ZEREFOS, C.S. u. A. GHAZI (Ed.) (1985): Atmospheric Ozone (Proceedings of the Quadrennial Ozone Symposium in Halkidiki, Greece, 3.-7. Sept. 1984), Dordrecht: Reidel Publishing Company.

5) LEAN, J. (1987): Journal of Geophysical Research, 92, D1, 863.

6) ELTERMAN, L. (1968): UV, Visible and IR Attenuation for Altitudes to 50 km, 1968. AFCRL-68-0135, April 1968. Environmental Research Papers, No. 285. Air Force Cambridge Research Laboratories Bedford, Mass.

7) DÜTSCH, H.D. (1974): Canadian Journal of Chemistry, 52, 1491-1504.

8) REPAPIS, C.C. et al. (1980): Twenty years of total ozone observations for the world (1957-1977). Academy of Athens, Research Centre for Atmospheric Physics and Climatology, Publ. No. 2, Athens.

9) HALPERN, P. u. K.L. COULSON (1976): Journal of Applied Meteorology 15, 464-469.

10) HALPERN, P., DAVE, J.V. u. N. BRASLAU (1974): Science 186, 1204-1208.

11) BENER, P. (1972): Approximate values of intensity of natural ultraviolet radiation for different amounts of atmospheric ozone. Contract-No. DAJA 37-68-C-1017. European Research Office, U.S. Army, London.

12) SCHULZE, R. (1977): UV-Strahlenklima; in: KIEFER, J. (Ed.): Ultraviolette Strahlen (S. 17-46), Berlin, New York: de Gruyter.

13) GERSTL., S.A.W.; A. ZARDECKI u. H.L. WISER (1983): UV-B-Handbook Vol. 1, Los Alamos National Laboratory. (Draft Sept. 1983).

- 14) DAVE, J.V. u. P. HALPERN (1976):**  
Atmospheric Environment 10, 547-555.
- 15) EVANS, W.J.I. et.al. (1987):**  
Stratospheric ozone science in Canada: An agenda for research and monitoring. Internal Report ARD-87-3 (Seite 43), Atmospheric Environment Service, Downsview, Ontario.
- 16) KAROL, I.L. u. E.V. POZANOV (1984):**  
Meteorologiya i Gidrologiya, No. 1, 107-108.
- 17) BRASLAU, N. u. J.V. DAVE (1973):**  
Effect of aerosols on the transfer of solar energy through realistic model atmosphere. Part III: Ground level fluxes in the biologically active bands 0,2850-0,3700 microns. RC 4308, IBM Watson Research Center, Yorktown Heights, New York.
- 18) AMBACH, W. u. REHWALD, W. (1983):**  
Radiation and Environmental Biophysics 21, 295-303.
- 19) REITER, R., MUNZERT, K. u. R. SLADKOVICH (1982):**  
Archiv für Meteorologie, Geophysik u. Bioklimatologie, Ser. B. 30, 1-28.
- 20) NACK, L. u. A.E.S. GREEN (1974):**  
Applied Optics 13, 2405-2415.
- 21) SPINHIRNE, J.D. u. A.E.S. GREEN (1978):**  
Atmospheric Environment 12, 2449-2454.
- 22) IQBAL, M. (1983):**  
An introduction to solar radiation. (S. 154 ff). Toronto: Academic Press.
- 23) DEHNE, K. (1977):**  
In: BOLLE, H.-J. (Ed.): Proceedings of the Symposium on Radiation in the Atmosphere in Garmisch-Partenkirchen FRG, 19.-28. Aug. 1976. p. 615-618. Princeton: Science Press.
- 24) PALTRIDGE, G.W. u. BARTON, I.J. (1978):**  
Erythemal ultraviolet radiation distribution over Australia – the calculations, detailed results and input data. Division of Atmospheric Physics, Technical Paper No. 33, CSIRO, Australia.
- 25) MO, T. u. A.E.S. GREEN (1974):**  
Photochemistry and Photobiology, 20, 483-496.
- 26) JOSEFSSON, W. (1986):**  
Solar ultraviolet radiation in Sweden. SMHI-RMK No. 53. Swedish Meteorological and Hydrological Institute, Norrköping.
- 27) KASTEN, F. u. G. CZEPLAK (1980):**  
Solar Energy 24, S. 177-189.
- 28) JUSTUS, C.G. u. M.V. PARIS (1987):**  
Modeling solar spectral irradiance and radiance at the bottom and top of a cloudless atmosphere. Georgia Institute of Technology, Atlanta.
- 29) SCHULZE, R. u. K. GRÄFE:**  
In<sup>2)</sup>, S. 359-573, 364 ff.
- 30) NAGARAJA RAO, C.R. et.al. (1984):**  
Tellus 368, 286-293.
- 31) DIN 5031 Teil 10**
- 32) DEHNE, K. (1982):**  
In: BAUER, H. et.al. (Ed.): Biological effects of UV-B-radiation, Proceedings of a workshop held in Munich-Neuherberg, May, 25.-27., 1982. S. 18-27. Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, München.
- 33) DEHNE, K. (1977):**  
In: WMO (Ed.): Papers presented at the WMO Technical Conference on Instruments and Methods of Observation (TECIMO), Hamburg, 27.-30. July 1977. WMO-No. 480, S. 173-178, Genf.

Dr. K. Dehne  
Deutscher Wetterdienst  
Meteorologisches Observatorium Hamburg  
Postfach 650150  
2000 Hamburg

# Biologische UV-Wirkungen – Grundlagen, Meßgrößen, Einheiten

J. Kiefer

## 1. Einleitung

Ultraviolette Strahlen können biologische Wirkungen nur entfalten, wenn sie im betrachteten System absorbiert werden. Dieser Vorgang ist spezifisch und an das Vorhandensein von Molekülen oder Strukturen gebunden, deren optische Eigenschaften im betrachteten Wellenlängenbereich eine Absorption erlauben. Häufig sind diese Chromophore nicht bekannt, und es liegt nahe, aus der Wellenlängenabhängigkeit eines biologischen Effekts auf ihre Natur zurückzuschließen. Dies ist die Idee der Aktionsspektroskopie, deren Faszination darin liegt, daß sie ermöglicht, durch einfache Variation eines physikalischen Parameters – der Wellenlänge – Aufschluß über den Ablauf biologischer Vorgänge zu erhalten, ohne das System zu zerstören. So einfach der gedankliche Ansatz auch ist, so birgt die Durchführung jedoch eine Reihe von Fallstricken, so daß bei Nichtbeachtung der Voraussetzungen leicht falsche Schlußfolgerungen gezogen werden können (KIEFER, 1986). Aus diesem Grunde werden im folgenden die Bedingungen der Aktionsspektroskopie in elementarer Form diskutiert.

## 2. Fotobiologische Grundprozesse

Der Ausgang einer jeden fotobiologischen Reaktion ist die Absorption eines Quants in einem Rezeptormolekül. Die Wahrscheinlichkeit dieses Ereignisses wird beschrieben durch die Angabe des *Absorptionswirkungsquerschnittes* (Abb. 1). Betrachtet man eine dünne Schicht einer Flüssigkeit, in welcher die absorbierenden Moleküle, die *Chromophore*, homogen verteilt sind, so erhält man

$$d\phi = \sigma_a \cdot \frac{N}{A} \cdot \phi \quad (1)$$

Dabei sind

$\phi$  = Quantenfluenz, d.i. die Zahl der pro Fläche auftreffenden Quanten

$d\phi$  = Änderung der Quantenfluenz durch Absorption in der betrachteten Schicht

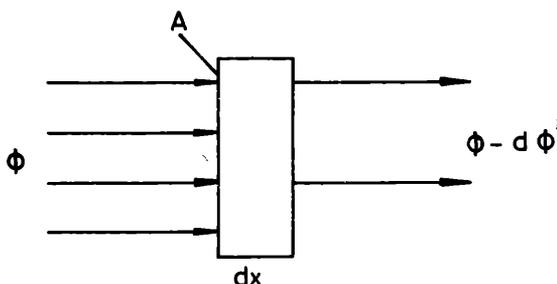


Abbildung 1

Zur Ableitung des Absorptionsquerschnitts

$A$  = die Fläche senkrecht zur Quanteneinfallrichtung

$N$  = Zahl der Chromophore im Absorptionsvolumen

Der Proportionalitätsfaktor  $\sigma_a$  hat die Dimension einer Fläche und wird daher *Absorptionsquerschnitt* genannt. Anschaulich beschreibt er die Fläche, die man sich um jeden Absorber vorstellen kann, durch die ein Quant fallen muß, um vollständig absorbiert zu werden.

Die Konzentration ist  $\frac{N}{A \cdot dx}$ , wenn man sie in „Zahl pro Volumen“ ausdrückt. Die üblicherweise benutzte *molare Konzentration*  $c$  erhält man durch Multiplikation mit der Avogadro-Zahl  $N_A$  ( $= 6.02 \times 10^{23}$ ), so daß sich mit (1) ergibt

$$d\phi = \sigma_a \cdot N_A \cdot c \cdot \phi \cdot dx \quad (2)$$

oder nach Integration

$$\phi = \phi_0 \cdot e^{-\sigma_a N_A \cdot c \cdot x} \quad (3)$$

Diese Gleichung beschreibt die Abhängigkeit der Quantenfluenz von der Eindringtiefe  $x$  unter den gemachten Voraussetzungen, nämlich *homogene Verteilung der Chromophore, parallele Lichtstrahlen* und *Abwesenheit von Streuung*.

Gleichung (3) entspricht im wesentlichen dem bekannten LAMBERT-BEER-Gesetz:

$$\phi = \phi_0 \cdot 10^{-\epsilon \cdot c \cdot x} \quad (4)$$

wobei  $\epsilon$  den molaren dekadischen Extinktionskoeffizienten bezeichnet. Durch einfachen Koeffizientenvergleich erhält man

$$\epsilon = \sigma_a \cdot N_A \cdot \log_{10} e \quad (5)$$

Typische „starke“ Chromophore haben Extinktionskoeffizienten um  $10^4 \text{ cm}^{-1} (\text{mol/l})^{-1}$ , was einem Absorptionsquerschnitt von ca.  $4 \times 10^{-17} \text{ cm}^2$  entspricht, d.h. einer Kreisscheibe mit  $3.5 \times 10^{-9} \text{ cm}$  Radius. Die Beziehung (5) stellt fest, daß die Quantenfluenz exponentiell mit der Eindringtiefe abnimmt. Dies ist jedoch nur unter den gemachten Voraussetzungen gültig. Wesentlich ist hier die Vernachlässigung von Streuung und Brechung. Falls sie auch noch berücksichtigt werden muß, ändern sich die Verhältnisse recht entscheidend. Da hierbei die Strahlrichtung nicht mehr konstant bleibt, spielt dann auch die Ausdehnung des Lichtbündels eine Rolle, und es kann im Inneren der Flüssigkeit sogar eine höhere Fluenz auftreten als an der Oberfläche. Die analytische Behandlung auch einfacher Fälle ist keineswegs trivial und kann hier nicht durchgeführt werden, ein illustrierendes Beispiel ist in Abbildung 2 dargestellt. Eine weitergehende Diskussion dieser Problematik findet man bei STAR und MARIJNISSEN (1987), wo auch auf die Bedeutung unterschiedlicher Brechungsindizes eingegangen wird.

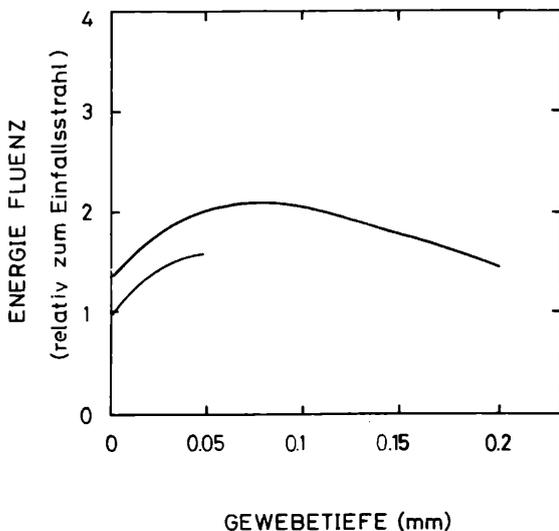


Abbildung 2

**Fluenz als Funktion der Eindringtiefe bei breit auftreffenden Lichtbündeln.** Hierbei ist vorausgesetzt, daß die Brechungsindizes von Objekt und Umgebungsmedien gleich sind. Obere Kurve: Probendicke  $50 \mu\text{m}$ , untere Kurve: Probendicke  $200 \mu\text{m}$  (nach STAR und MARIJNISSEN, 1987), hier findet man auch die der Berechnung zugrundeliegenden Parameter.

An dieser Stelle soll auch auf eine andere mögliche Fehlerquelle hingewiesen werden: Man ist intuitiv geneigt, bei gut gerührten Suspensionen die Absorption des Mediums zu vernachlässigen und die auf das Objekt treffende, mittlere Fluenz mit dem an der Oberfläche ermittelten Wert gleichzusetzen. Dies ist im allgemeinen jedoch keineswegs korrekt, wie folgende Rechnung zeigt: Gleichung (3) wird dafür in der Form geschrieben:

$$\phi = \phi_0 e^{-ax} \quad (6)$$

wobei  $x$  die Schichtdicke wie zuvor und  $a$  einen wellenlängigen Absorptionskoeffizienten darstellt. Die mittlere Fluenz  $\bar{\phi}$  ist dann

$$\bar{\phi} = \frac{1}{X} \phi_0 \int_0^X e^{-ax} dx \quad (7)$$

Hier ist  $X$  die Gesamtschichtdicke. Daraus ergibt sich

$$\bar{\phi} = \phi_0 \frac{1 - e^{-aX}}{aX} \quad (8)$$

$aX$  stellt die Gesamtabsorption dar, die leicht – natürlich immer bei der Bestrahlungswellenlänge – zu messen ist. In Abhängigkeit von ihr können sich erhebliche Unterschiede zwischen der Oberflächenfluenz  $\phi_0$  und dem in der Suspension herrschenden Mittelwert  $\bar{\phi}$  ergeben (MOROWITZ, 1950).

Das Absorptionsereignis stellt zwar den Ausgangspunkt der fotobiologischen Wirkung dar, entscheidend für die weiteren Reaktionen ist jedoch die Entstehung fotochemischer Produkte. Die Wahrscheinlichkeit ihrer Bildung wird charakterisiert durch die *Quantenausbeute*  $Q$ :

$$Q = \frac{\text{Zahl veränderter Moleküle}}{\text{Zahl absorbierter Quanten}}$$

oder auch

$$Q = \frac{\text{Mole der veränderten Moleküle}}{\text{Einstein}}$$

1 Einstein ist die Zahl absorbierter Quanten als Vielfaches der AVOGADRO-Zahl, gewisserma-

ßen also „1 Mol Quanten“.

Bei einstufigen Prozessen kann  $Q$  nicht größer als 1 werden. Häufig schließen sich jedoch Folgereaktionen an, so daß auch größere Werte vorkommen. Ein bekanntes Beispiel bildet die chemische Aktinometrie nach HATCHARD und PARKER (1956) (s.a. BLUME und GÜSTEN, 1977).

Die Zahl gebildeter Fotoprodukte  $N'$  ergibt sich somit nach dem vorstehend Gesagten als

$$N' = Q \cdot \sigma_A \cdot N_A \cdot c \cdot \phi \quad (9a)$$

oder mit (5) auch als

$$N' = Q \cdot \epsilon \cdot c \cdot \phi / \log_{10} e \quad (9b)$$

### 3. Aktionsspektroskopie

Die letzten Beziehungen bilden den gedanklichen Ausgangspunkt für die *Aktionsspektroskopie*. Man versteht darunter die Bestimmung der Abhängigkeit eines fotobiologischen Effekts von der Wellenlänge des eingestrahlten Lichts. Ein wichtiges Motiv für solche Untersuchungen stellt die Hoffnung dar, aus der Form der gefundenen Abhängigkeit auf die Natur der primären Chromophore rückschließen zu können. Praktisch sind sie wichtig bei der Bewertung von Strahlenquellen in bezug auf ihre biologische Bedeutung. Das „Ozonproblem“ ist ein Beispiel für diese Fragestellung. In diesem Zusammenhang spricht man auch häufig von einer „spektralen Wichtungsfunktion“.

Der fotobiologische Effekt hängt im allgemeinen in komplizierter und meist nicht einfach zu durchschauender Weise von der Zahl der primär gebildeten Fotoprodukte ab, allerdings muß für eine sinnvolle Anwendung der Aktionsspektroskopie vorausgesetzt werden, daß dieser Zusammenhang eindeutig und unabhängig von der eingestrahlten Wellenlänge ist. Bezeichnet man das Effektniveau mit  $y$ , so muß gelten

$$y = f(N') \text{ gleich für alle Wellenlängen} \quad (10)$$

wobei über die Form von  $f(N')$  meist keine allgemeinen Aussagen zu machen sind. Mit (9b) kann man dann auch schreiben

$$y = f(Q \cdot \epsilon \cdot c \cdot \phi / \log_{10} e) \quad (11)$$

Beziehung (11) impliziert eine wichtige Folgerung: Die Wirkungskurven, bei denen  $y$  gegen  $\phi$  aufgetragen wird, müssen *geometrisch ähnlich* sein, d.h. sich lediglich durch eine Veränderung des Abszissenmaßstabs ineinander überführen lassen. Dies ist offensichtlich, da sicher  $\epsilon$  und  $c$  nicht von  $\phi$  abhängen. Nicht selbstverständlich ist dies allerdings für  $Q$ , die Quantenausbeute, da bei einer großen Zahl primärer Fotoprodukte Sekundärreaktionen nicht auszuschließen sind, welche Änderungen in  $Q$  bewirken können. Es ist daher anzustreben, bei nicht zu hoher Fluenz zu arbeiten, um solche „Sättigungseffekte“ auszuschließen. Wegen der im allgemeinen nicht bekannten Form von  $f(N')$  müssen Aktionspektren immer auf *dieselbe Wirkung* bezogen werden. In diesem Fall kann man schreiben

$$Q \cdot \epsilon \cdot c \cdot \phi = \text{constant} / I_{\text{Soeffekt}} \quad (12)$$

Falls mit Hilfe der Aktionsspektroskopie ein unbekannter Chromophor identifiziert werden soll, muß vorausgesetzt werden, daß  $Q$  nicht von der Wellenlänge abhängt. Dann gilt

$$\epsilon \cdot \phi = \text{constant} / I_{\text{Soeffekt}} \quad (13)$$

woraus sich unmittelbar die Verfahrensvorschrift ergibt: Man bestimme für ein gegebenes Effektniveau die Quantenfluenz, die zu seiner Auslösung notwendig ist und trage den Kehrwert gegen die Wellenlänge auf. Die so erhaltene Kurve entspricht dann dem Extinktionsspektrum des gesuchten primären Absorbers.

Es ist angebracht, an dieser Stelle noch einmal die Voraussetzungen, welche dieser Analyse zugrunde liegen, zusammenzufassen:

1. Das eingestrahelte Licht erreicht den Chromophor unverändert, d.h. Streuung und Vorabsorption sind zu vernachlässigen. Diese Bedingung ist nur in dünnen Schichten zu realisieren, da selbst bei Fehlen störender Komponenten die Eigenabsorption des Chromophors die Fluenz in größerer Tiefe verändert.

2. Die Quantenausbeute ist über den gesamten Bereich konstant.

3. Die Chromophorenkonzentration  $c$  ist konstant. Diese Forderung impliziert, daß die Zahl gebildeter Fotoprodukte klein bleibt im Vergleich zur Ausgangskonzentration. Die applizierten Fluenzen müssen also so gering wie möglich gehalten werden.

In der Praxis spielt ein weiterer Faktor noch eine besondere Rolle, nämlich eine mögliche Abhängigkeit von der Intensität. Die Fluenzen zur Erreichung eines bestimmten Effekts überspannen in der Regel mehrere Zehnerpotenzen. Die Messungen machen daher in der Regel unterschiedliche Fluenzraten notwendig. Zuverlässige Ergebnisse sind nur zu erzielen, wenn die Wirkung vom Zeitfaktor bei der Exposition unabhängig ist, d.h. nur durch das Produkt „Zeit x Fluenzrate“ bestimmt wird. Die Gültigkeit dieses sogenannten „Reziprozitätsgesetzes“ muß – evt. durch Kontrollmessungen – sichergestellt sein.

Auch die Anforderungen an die spektrale Reinheit, d.h. die spektrale Bandbreite der verwendeten

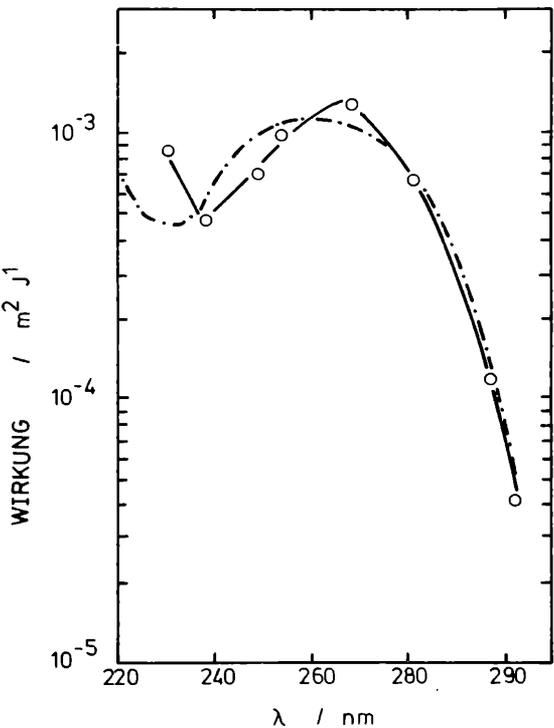


Abbildung 3

„Klassisches“ Aktionsspektrum der Bakterienabtötung (GATES, 1930), in dem die Quantenkorrektur ( $s$  Text) nicht durchgeführt wurde.

Monochromatisierungseinrichtungen, sind nicht zu vernachlässigen. Die Absorptionsspektren biologisch wichtiger Moleküle sind zwar im allgemeinen recht breit, daraus darf aber nicht geschlossen werden, daß der spektralen Auflösung keine besondere Beachtung zuzuschreiben ist. Die Flanken der Absorptionsspektren sind nämlich oft sehr steil, eine zu große Bandbreite führt hier – und nicht im Bereich der Maxima – zu nicht unerheblichen Fehlern. Die bisherigen Überlegungen haben deutlich gemacht, daß die entscheidende Meßgröße die zur Erreichung eines bestimmten Effekts notwendige Quantenfluenz  $\emptyset$  ist. Sie wird jedoch in der Regel nicht gemessen (s.o.), sondern meist die *Energiefluenz*  $H$ , d.h. die auftreffende *Energie pro Fläche*. Nach der bekannten EINSTEIN-PLANCK-Beziehung gilt für die Quantenenergie  $E$

$$E = hv = h \frac{c}{\lambda}$$

( $\lambda$ : Frequenz,  $c$ : Lichtgeschwindigkeit im Vakuum,  $\lambda$ : Wellenlänge,  $h$ : Elementarquantum,  $h = 6,63 \times 10^{-34} \text{ J/s}$ ). Es ist also

$$H = h \cdot \frac{c}{\lambda} \cdot \emptyset \quad (14)$$

Beziehung (13) wird damit

$$\epsilon \cdot H \cdot \lambda = \text{constant} / \text{Isoeffekt} \quad (15)$$

Daraus folgt, daß die bestimmten Energiefluenzen jeweils mit den Wellenlängen  $\lambda$  multipliziert werden müssen, um zu einem korrekten Aktionsspektrum zu gelangen (sogenannte „Quantenkorrektur“). In der Regel werden diese auf eine bestimmte Bezugswellenlänge – meist die des Maximums – normiert.

Abbildungen 3 und 4 zeigen zwei Beispiele von Aktionsspektren. Das erste repräsentiert ein klassisches Exempel, wodurch schon mehr als zehn Jahre vor der biochemischen Aufklärung die Bedeutung der Desoxyribonukleinsäure gezeigt wurde. In Abbildung 4 wird ein neueres Pendant gezeigt, nämlich das Aktionsspektrum für die Abtötung von Säugerzellen.

#### 4. Aktionsspektren bei Vorabsorption

Im bisher diskutierten „reinen“ Fall entspricht die spektrale Wirkungsfunktion  $s(\lambda)$  dem Verlauf des Extinktionsspektrums  $\epsilon(\lambda)$  des primären Chromophors. Diese idealen Verhältnisse sind in praxi selten anzutreffen. Bei Vorabsorption wird der Intensitätsverlauf der Lichtquelle durch das Transmissionsspektrum  $T(\lambda)$  der vorgelagerten Moleküle moduliert, die den Chromophor erreichende Quantenfluenz ist u.U. deutlich verringert. Die dann gemessene spektrale Wirkungsfunktion zeigt einen oft drastisch geänderten Verlauf. Bezeichnet man mit  $s'(\lambda)$  das bei Vorabsorption bestimmte Wirkungsspektrum und mit  $\emptyset'(\lambda)$  die zugehörigen Fluenzwerte, so gilt

$$s(\lambda) = \frac{c}{T(\lambda) \cdot \emptyset(\lambda)} \quad (c: \text{Normierungsfaktor})$$

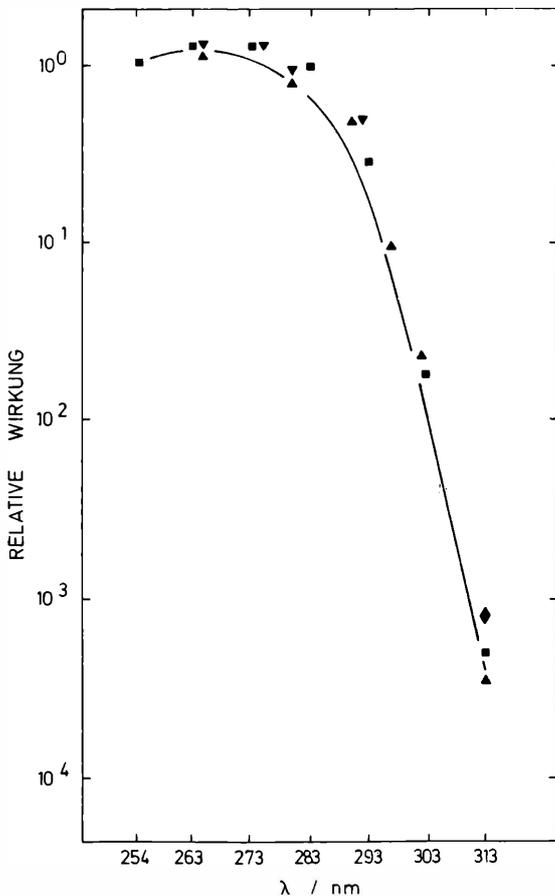
und

$$s'(\lambda) = \frac{c}{\emptyset'(\lambda)}$$

somit

$$s'(\lambda) = T(\lambda) \cdot s(\lambda) \quad (16)$$

Die erhaltene Wirkungsfunktion ist also durch das Produkt aus Transmissions und tatsächlichem Wir-



**Abbildung 4**

**Aktionsspektren für Inaktivierung von Zellen des Chinesischen Hamster** (▼ TODD et al, 1968, ▲ ROTHMAN und SETLOW, 1979, ◆ WELLS und HAN, 1984, ■ ZÖLZER und KIEFER, 1984 (aus: ZÖLZER, 1986) **im Vergleich zu einem mittleren Aktionsspektrum für die Schädigung von Bakterien und Phagen** (SETLOW, 1974).

kungsspektrum gegeben. Ein gutes Beispiel für die geschilderten Verhältnisse stellt die Erythembildung dar, welche auf einer Zellschädigung im *Stratum*

*germinativum* der Haut beruht, die im wesentlichen dem Absorptionsverhalten der DNS folgt. Die darüber liegende Lederhaut (*Stratum corneum*) schirmt die eindringende Strahlung jedoch beträchtlich ab. Dies ist in Abbildung 5 verdeutlicht. Man erkennt, daß zumindest im kurzwelligen Bereich Theorie und Experiment recht gut übereinstimmen, die Ausläufer bei größeren Wellenlängen sind wahrscheinlich dadurch bedingt, daß auch noch andere Chromophore eine Rolle spielen.

### 5. Polychromatische Strahlenquellen

In den meisten Fällen emittieren die verwendeten Strahlenquellen mehr als eine Wellenlänge. Falls zwischen ihnen in Bezug auf den fotobiologischen Effekt keine Wechselwirkungen bestehen, spricht man von *additiver* Wirkung, d.h. die primären Fotoprodukte werden von jedem Teil des Gesamtspektrums unabhängig erzeugt und addieren sich zum Gesamteffekt:

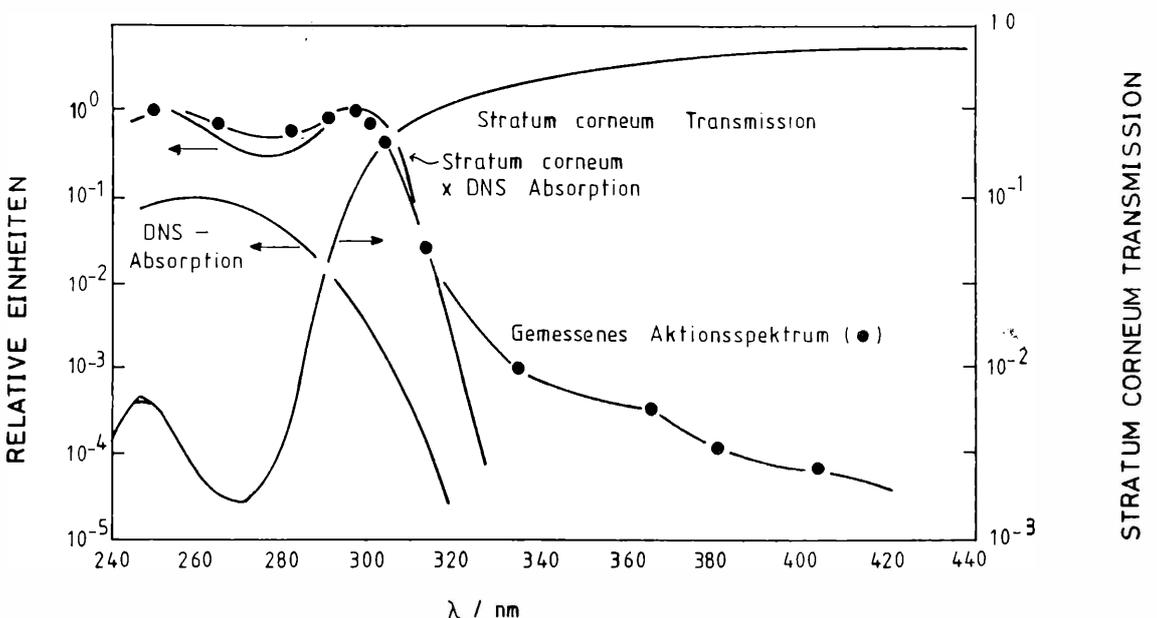
$$N' = Q \int s(\lambda) \vartheta(\lambda) d\lambda \quad (17)$$

und

$$y = f(N') \\ = f(Q \int s(\lambda) \vartheta(\lambda) d\lambda) \quad (18)$$

Dabei sind  $s(\lambda)$  die wellenlängenabhängige spektrale Wirkungsfunktion und  $\vartheta(\lambda)$  das Quantenfluzenspektrum. Aus (18) geht hervor, daß eine notwendige Bedingung für Additivität die geometrische Ähnlichkeit der erhaltenen Fluenz-Effekt-Kurven ist. Es besteht Anlaß darauf hinzuweisen, daß die Additivität auf der Ebene der primären Fotoprodukte und *nicht* der gemessenen biologischen Wirkung besteht. Nur und *nur* bei linearen Wirkungskurven ergibt sich eine Additivität auch der Wirkungen.

Häufig werden Aktionsspektren nicht mit Hilfe monochromatischer Lichtquellen, sondern dadurch bestimmt, daß mit Hilfe von Kantenfiltern aus einem Gesamtspektrum schmale Anteile sukzessiv eliminiert werden. Zur Analyse dieses Verfahrens ist es zweckmäßig, die spektrale Quantenfluzenz als



**Abbildung 5**

**Konstruktion eines Aktionsspektrums für die Erythembildung und Vergleich mit experimentellen Daten** (PARRISH et al., 1982).

Produkt aus der Gesamtfluenz  $\varnothing$  und einer normierten Verteilungsfunktion zu schreiben:

$$\varnothing(\lambda) = \varnothing \cdot f(\lambda) \quad (19)$$

mit  $\int f(\lambda) d\lambda = 1$

Von einem Gesamtspektrum, das sich von  $\lambda_0$  bis  $\lambda_m$  erstreckt, werde nun ein schmales Band  $\lambda_0 \dots \lambda_1$  abgeschnitten. Wie üblich werden wieder identische Wirkungen betrachtet. Dann gilt

$$\begin{aligned} & \varnothing_0 \int_{\lambda_0}^{\lambda_m} s(\lambda) f(\lambda) d\lambda \\ &= \varnothing_1 \left[ \int_{\lambda_0}^{\lambda_m} s(\lambda) f(\lambda) d\lambda - \int_{\lambda_0}^{\lambda_1} s(\lambda) f(\lambda) d\lambda \right] \quad (20) \end{aligned}$$

und nach Umformung

$$\begin{aligned} & \int_{\lambda_0}^{\lambda_1} s(\lambda) f(\lambda) d\lambda \\ &= (1 - \frac{\varnothing_0}{\varnothing_1}) \int_{\lambda_0}^{\lambda_m} s(\lambda) f(\lambda) d\lambda \quad (21) \end{aligned}$$

Dabei ist  $\varnothing_0$  die für die Wirkung notwendige Quantenfluenz des gesamten Spektrums,  $\varnothing_1$  die nach Einschaltung des Kantenfilters.

Falls der ausgeblendete Bereich schmal genug ist, kann man die linke Seite von Gleichung (21) mit  $s(\lambda_1)$  gleichsetzen, das Integral auf der rechten Seite ist konstant. Die Bestimmung der spektralen Wirkungsfunktion setzt also – wie bei der Verwendung monochromatischer Quellen – eine exakte Messung der Quantenfluenzen voraus.

Das beschriebene Verfahren läßt sich verallgemeinern durch sukzessives Abschneiden des Spektrums mit Hilfe mehrerer Kantenfilter. man erhält dann analog

$$s(\lambda_2) = \varnothing_0 \left( \frac{1}{\varnothing_1} - \frac{1}{\varnothing_2} \right) \int_{\lambda_0}^{\lambda_m} s(\lambda) f(\lambda) d\lambda \quad (22)$$

Die weitere Verallgemeinerung ist offensichtlich:

## 6. Über die Anwendung von Wirkungsfunktionen

Spektrale Wirkungsfunktionen haben nicht nur einen fundamentalen Wert zur Erforschung von Grundvorgängen, sondern können auch herangezogen werden zur Bewertung von Lichtquellen, allerdings immer *nur* im Hinblick auf einen bestimmten Effekt. Aus diesem Grunde ist Skepsis angebracht bei der Einführung von „allgemeinen Wirkungsfunktionen“. Es muß auch darauf hingewiesen werden, daß die grundsätzliche Anwendbarkeit an die Voraussetzung der Additivität geknüpft ist. Diese ist sehr häufig nicht gegeben, vor allem dann, wenn im betrachteten Spektralgebiet noch andere fotobiologische Effekte vorliegen. Ein typisches Beispiel ist die Fotoreaktivierung der UV-induzierten Inaktivierung von Mikroorganismen. Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Spektralbereichen führen dazu, daß „monochromatische“ und „polychromatische“ Aktionsspektren erhebliche Unterschiede aufweisen können.

## 7. Schlußfolgerungen

Aus dem vorher Gesagten geht hervor, daß exaktes fotobiologisches Arbeiten eine möglichst genaue Kenntnis der Bestrahlungsbedingungen voraussetzt. Die Erfahrung zeigt, daß die Übernahme von Lampen- und Filterspektren aus Firmenpro-

spekten *nicht* ausreicht. Fabrikationsunterschiede und Alterungsprozesse können zu gravierenden Abweichungen von der „Norm“ führen – auf die eigene Messung kann nicht verzichtet werden. Die spektrale Verbindung der Quantenfluenz ist die entscheidende Meßgröße, ihre Bestimmung ist bei nicht monochromatischen Quellen durchaus nicht trivial. Aber auch bei monochromatischer Strahlung können Vorabsorption und Streuung bewirken, daß die biologischen Objekte eine geringere als an der Oberfläche gemessene Fluenz erhalten, wie zuvor gezeigt.

Bei der Beschreibung von Grundphänomenen ist auf die Angabe von Fluenzen und deren spektraler Verteilung nicht zu verzichten. Die Wichtung mit noch so attraktiv erscheinenden Wichtungsfunktionen sollte vermieden werden, denn hierdurch wird – aufgrund der durchgeführten Mittelung – Information verloren. Ein solches Verfahren hat nur einen gewissen heuristischen Wert zur schnellen vergleichenden Charakterisierung verschiedener Szenarien, kann aber die genaue Angabe der optischen Parameter niemals ersetzen. Die Wichtung mit nicht dem untersuchten Effekt entsprechenden Aktionsspektren stellt einen schwerwiegenden systematischen Fehler dar, der leicht völlig unzutreffende Schlußfolgerungen provozieren kann.

## Literaturverzeichnis

- BLUME, H., GÜSTEN, H. (1977):  
In: Ultraviolette Strahlen (her. J. KIEFER), Berlin: de Gruyter, S. 349.
- GATES, F.L. (1930):  
J. Gen. Physiol. 14, 31
- HATCHARD, C. G., PARKER, C.A. (1956):  
Proc. Roy. Soc. (London) A235, 518
- KIEFER, J. (1986):  
In: Spektralradiometrie: Methodik, Messtechnik, Anwendung (her. G. VIETH, H. KAASE); Phys. Techn. Bundesanstalt Bericht PTB-Opt-24, Braunschweig. S. 194
- MOROWITZ, H.J. (1950):  
Science 111, 229
- PARRISH, J.A., JAENICKE, K.F., ANDERSON, R.R. (1982):  
Photochem. Photobiol. 36, 187
- ROTHMAN, R.H., SETLOW, R.B. (1979):  
Photochem. Photobiol. 29, 57
- SETLOW, R.B. (1974):  
Proc. Natl. Acad. Sci. US – 71, 3363
- STAR, W.M., MARIJNISSEN, J.P. (1987):  
J. Photochem. Photobiol. 1, 149
- TODD, P., COOHILL, T.P., MAHONEY, J.A. (1968):  
Radiat. Res. 35, 390
- WELLS, R.L., HAN, S. (1984):  
Mutat. Rs. 129, 251
- ZÖLZER, F., KIEFER, J. (1984):  
Photochem. Photobiol. 40, 49
- ZÖLZER, F. (1986):  
Dissertation Univ. Giessen

## Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. J. Kiefer  
Strahlenzentrum der Justus-Liebig-Universität Gießen  
Leihgesterner Weg 217  
6300 Gießen

# UV-Wirkungen auf zellulärer Ebene

Friedo Zölzer

Die Mechanismen der Wirkung ultravioletter Strahlung auf Pflanzen und Tiere wird man letztlich nur dann verstehen lernen, wenn man Untersuchungen auf einer Reihe verschiedener Ebenen vornimmt, ohne die Vielfalt der Phänomene in ein allzu starres Schema pressen zu wollen. In diesem Sinne werde ich hier über Beobachtungen auf zellulärem Niveau berichten und dabei immer wieder auch auf unsere Kenntnis der molekularen Vorgänge verweisen. Mir geht es aber nicht in erster Linie darum zu beschreiben, welche Photoprodukte bei einer Bestrahlung entstehen und wie diese das Schicksal einer Zelle bestimmen. Meine Frage ist eher: Welche zellulären Funktionen werden durch eine Bestrahlung beeinflusst und welche Wechselwirkungen gibt es zwischen den verschiedenen Veränderungen?

## Inaktivierung und Mutationsauslösung

Inaktivierung und Mutationsauslösung sind – zumindest im Falle von Mikroorganismen und tierischen Gewebekulturen – die vorrangig untersuchten Parameter. Trägt man die Überlebensrate in halblogarithmischem Maßstab gegen die Bestrahlung auf, so erhält man bekanntlich lineare oder sigmoide Kurven, die sich qualitativ recht gut durch Treffer- oder Treffbereichstheorie beschreiben lassen (DERTINGER und JUNG, 1969). Man nimmt dabei ausgehend von der quantenhaften Natur der Strahlung an, daß eine gewisse Mindestanzahl von Absorptionseignissen zum Tod einer Zelle führt. Diese Vorstellung läßt sich natürlich so nicht aufrecht erhalten, und es gibt inzwischen eine Reihe von Modellen, die neue Erkenntnisse, insbesondere über die Reparatur von Strahlenschäden, einbeziehen (HAYNES, 1975; TOBIAS et al., 1980). Sie machen nicht nur die Vielfalt der Kurvenformen, sondern auch die zum Teil erheblichen Empfindlichkeitsunterschiede zwischen verwandten Zellstämmen verständlich. Um nur ein Beispiel zu nennen: bei der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* kennt man inzwischen etwa 100 Gene, die für die Reparatur von Strahlenschäden verantwortlich sind. Ein Wildtyp dieses Organismus überlebt tausende von Pyrimidin-Dimeren pro Zelle, während in der empfindlichsten Mutante einige wenige Pyrimidin-Dimere pro Zelle zur Abtötung ausreichen (ROTH et al., 1988). Ähnliche Dinge lassen sich über Bakterien und – mit gewissen Einschränkungen – über Säugerzellen sagen.

Auf die verschiedenen Arten von Reparatur einzugehen, erspare ich mir an dieser Stelle (vgl. FRIEDBERG, 1985). Ich möchte lediglich hervorheben, daß der Photoreaktivierung insofern besondere Bedeutung zukommt, als sie für einen einzigen Schadenstyp spezifisch ist, nämlich das Pyrimidin-Dimer (vgl. HARM, 1976). Untersuchungen zur Photoreaktivierung erlauben daher Rückschlüsse auf die an der Wirkung beteiligten primären Veränderungen. Es gibt allerdings Komplikationen, die

im Zusammenhang mit dem Problem der Wachstumsverzögerung zu beachten sein werden.

Was ich hier in aller Kürze über den Zusammenhang von Inaktivierung und Reparatur gesagt habe, gilt cum grano salis auch für die Mutationsauslösung. Ich will mich aber auch an diesem Punkt nicht weiter aufhalten, sondern gleich zu der Frage der Wellenlängenabhängigkeit übergehen.

Daß die Aktionspektren für Inaktivierung und Mutationsauslösung im wesentlichen der DNA-Absorption folgen, ist allgemein bekannt. Wie steht es aber um den Vergleich zwischen Wildtypen und reparaturdefizienten Stämmen? Findet man im UV A und UV B die gleichen Unterschiede wie im UV C?

Interessanterweise ist das nicht der Fall. Die Aktionspektren für Wildtypen und (exzisions-) reparaturdefiziente Stämme verlaufen zwar im Bereich zwischen 254 und 313 nm im wesentlichen parallel, zeigen aber bei größeren Wellenlängen weit weniger Ähnlichkeit. Die Empfindlichkeitsunterschiede zwischen den Stämmen werden allerdings insgesamt geringer. Diese Beobachtung machte man sowohl bei Bakterien (WEBB and BROWN, 1976) als auch bei HEFEN (254 bis 313 nm: ZÖLZER and KIEFER, 1983; 365 nm: ROTH et al., 1988) und Säugerzellen (KEYSE et al., 1983).

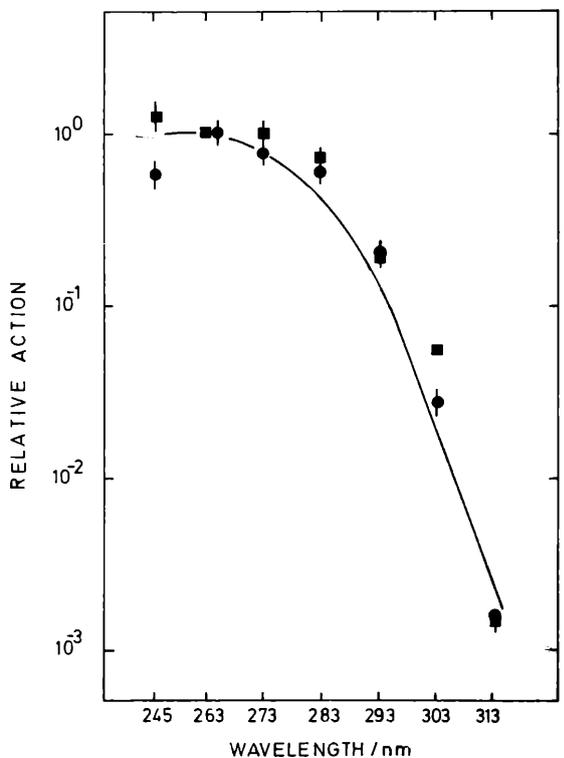


Abbildung 1

Aktionsspektren für die Inaktivierung von Zellen eines Wildtyps (●) und einer (exzisions-) defizienten Mutante (■) der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* im Vergleich zum Absorptionsspektrum der DNA.

Es gibt jedoch auch menschliche Zellen, die sich bei 254 nm normal verhalten, während sie bei 313 nm reagieren, als seien sie reparaturdefizient (*Ataxia telangiectasia*: SMITH and PATERSON, 1981; Bloom's Syndrom: ZBINDEN and CERUTTI, 1981). Diese Zellen zeigen zugleich eine besondere Empfindlichkeit gegenüber ionisierender Strahlung. Es liegt daher nahe, die Ursache für ihre Abnormalität bei solchen Schäden zu suchen, die auf den Angriff von Radikalen an der DNA zurückgehen, wie etwa Glykole und Strangbrüchen. Endgültiges läßt sich aber derzeit nicht sagen.

Untersuchungen zur Photoreaktivierbarkeit von Inaktivierung und Mutationsauslösung weisen darauf hin, daß ganz allgemein die Pyrimidin-Dimere mit steigender Wellenlänge an Bedeutung verlieren. Der Anteil photoreaktivierbarer letaler und mutagener Ereignisse (auch „photoreaktivierbarer Sektor“ genannt) ist in der Regel zwischen 250 und 300 nm konstant, nimmt aber zu größeren Wellenlängen hin deutlich ab. Untersucht wurden bisher Bakterien (238-297 nm: ZELLE et al., 1958; 365 nm: WEBB et al., 1976), HEFEN (254-313 nm: ZÖLZER and KIEFER, 1983; 365 nm: ROTH et al., 1988) und Amphibienzellen (254-313 nm: ROSENSTEIN, 1984).

Ein weiterer Punkt sollte hier erwähnt werden. Oberhalb 320 nm, nicht aber im Bereich kleinerer Wellenlängen, wird die Inaktivierung durch die Anwesenheit von Sauerstoff sehr begünstigt. Auch das spricht für eine Beteiligung strahlen-induzierter Radikale an der Wirkung (WEBB, 1977). In die gleiche Richtung weisen Experimente, bei denen man einen Zusammenhang zwischen intrazellulärer Glutathionkonzentration und Empfindlichkeit gegenüber langwelliger Strahlung feststellte (TYRRELL and PIDOUX, 1986).

### Erholungsphänomene

Inaktivierung und Mutationsauslösung werden meist gleich nach Bestrahlung ermittelt, so daß die Zelle sich von Anfang an unter Wachstumsbedingungen befindet. Es liegt nahe zu vermuten, daß es dadurch zu Wechselwirkungen zwischen Replikation und Reparatur kommt und die Strahlenschäden sich stärker auswirken, als es eigentlich sein müßte. Tatsächlich beobachtet man eine geringere Inaktivierung und Mutationsauslösung, wenn die Zellen zunächst eine Zeit lang unter Bedingungen gehalten werden, die ein Wachstum nicht zulassen. Dieses Phänomen wird als „delayed plating recovery“ bezeichnet. Es ist bei Bakterien (ROBERTS and ALDOUS, 1949), Hefen (PATRICK et al., 1964), Algen (WILLIAMS et al., 1979) und Säugerzellen (CHAN and LITTLE, 1982) nachgewiesen.

Das Ausmaß der Erholung hängt sowohl von physiologischen Bedingungen wie Temperatur und pH (PATRICK and HAYNES, 1964) als auch von der genetischen Konstitution der Zelle ab (PARRY and PARRY, 1969, 1976). Von besonderer Bedeutung in diesem Zusammenhang ist die Fähigkeit zur Exzisionsreparatur (UNRAU et al., 1971). Die Befunde lassen sich so deuten, daß während der Inkubation unter Nicht-Wachstums-Bedingungen ein gewisser Teil der Strahlenschäden aus der DNA entfernt wird und es dadurch in geringerem Maße zu der erwähnten Wechselwirkung zwischen Replikation und Reparatur kommt (FERGUSON and COX, 1980).

Auch bezüglich der „delayed plating recovery“ wurden bisher Untersuchungen fast ausschließlich bei 254 nm vorgenommen, andere Wellenlängen fanden weit weniger Interesse. KELLAND et al. (1983) beobachteten, daß die Erholung bestrahlter Bakterien bei Wellenlängen oberhalb 290 nm stark von den osmotischen Bedingungen abhängt. FRAIKIN et al. (1977) gaben an, Erholung bestrahlter Hefezellen bei 313 nm gefunden zu haben. TUVESON and VIOLANTE (1982) zeigten, daß im Falle von Bakterien Erholung bei 313 nm nur scheinbar stattfindet; tatsächlich kommt es zu einem Wachstum überlebender Zellen, das durch den Austritt von Nährstoffen aus absterbenden oder toten Zellen ermöglicht wird.

Im Hinblick auf diese zum Teil widersprüchlichen Befunde untersuchten SCHALL and KIEFER (1988) die „delayed plating recovery“ von Hefezellen in Abhängigkeit von der Wellenlänge. Um zwischen echter und nur scheinbarer Erholung unterscheiden zu können, wurden sowohl „liquid holding“- als auch „agar-holding“-Experimente durchgeführt, d.h. die Zellen wurden nach der Bestrahlung entweder in Flüssigkeit oder auf einem verfestigten Medium gehalten.

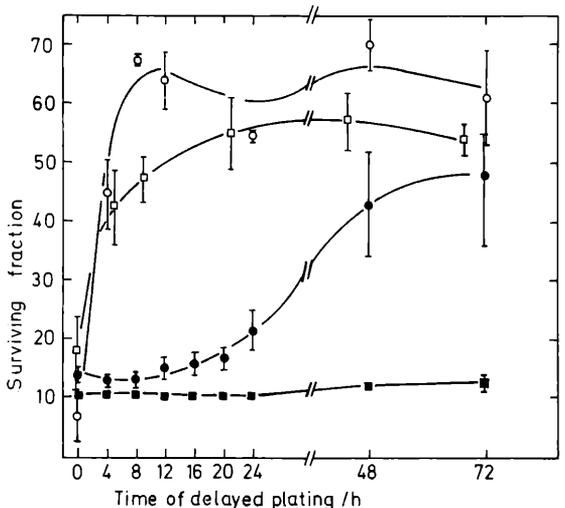


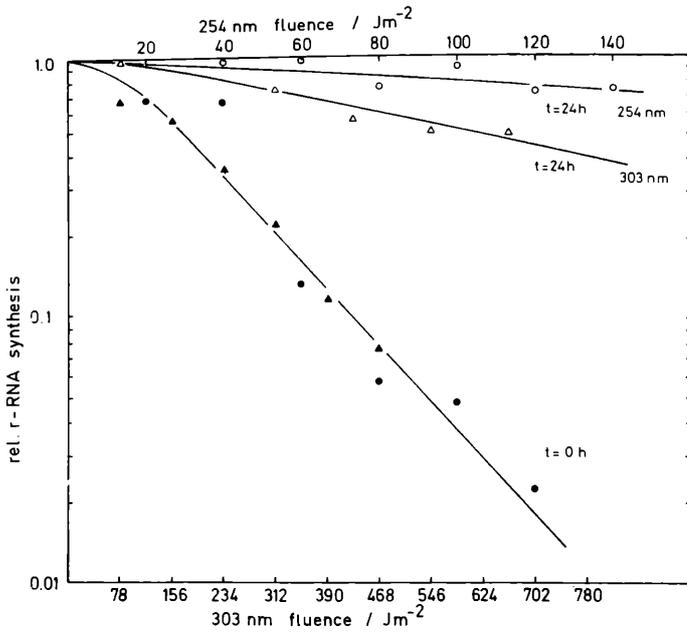
Abbildung 2

Erholung durch „liquid holding“ (○,●) und „agar holding“ (□,■) nach Bestrahlung bei 254 nm (○,□) und 303 nm (●,■) in einem Wildtyp der Hefe *Saccharomyces cerevisiae*.

Tatsächlich war bei 254 nm in beiden Fällen eine Erholung zu beobachten. Bei Wellenlängen oberhalb 297 nm wirkte sich allerdings nur „liquid holding“ auf das Überleben der Zellen aus, während „agar holding“ ohne Effekte blieb.

Auch hier wird Erholung vermutlich durch Zellwachstum vorgetäuscht, wobei die benötigten Nährstoffe aus absterbenden oder toten Zellen stammen. Diese Hypothese steht im Einklang mit der Beobachtung, daß Hefezellen in einem ursprünglich stickstofffreien Puffer zu wachsen beginnen, sobald man den Überbestand einer bei Wellenlängen oberhalb 297 nm bestrahlten Zellsuspension hinzufügt.

Das Fehlen einer echten Erholung ist allerdings nicht recht verständlich, wenn man Versuche zur Kinetik der RNA-Synthese nach Bestrahlung in die Überlegungen miteinbezieht. Diese lassen nämlich sehrwohl auf eine Reparatur transkriptionsinhibie-



**Abbildung 3**

**Inhibition der  $\gamma$ -RNA-Synthese durch Bestrahlung bei 254 nm (○, ●) und 303 nm (●, ▲) in einem Wildtyp der Hefe *Saccharomyces cerevisiae*.**

render Schäden auch im längerwelligen Bereich schließen (BRIEDEN und KIEFER, unveröffentlichte Daten). Offensichtlich ist jedoch die Inaktivierung der Zelle insgesamt durch andere Größen bestimmt. Auf diese Frage wird noch einzugehen sein.

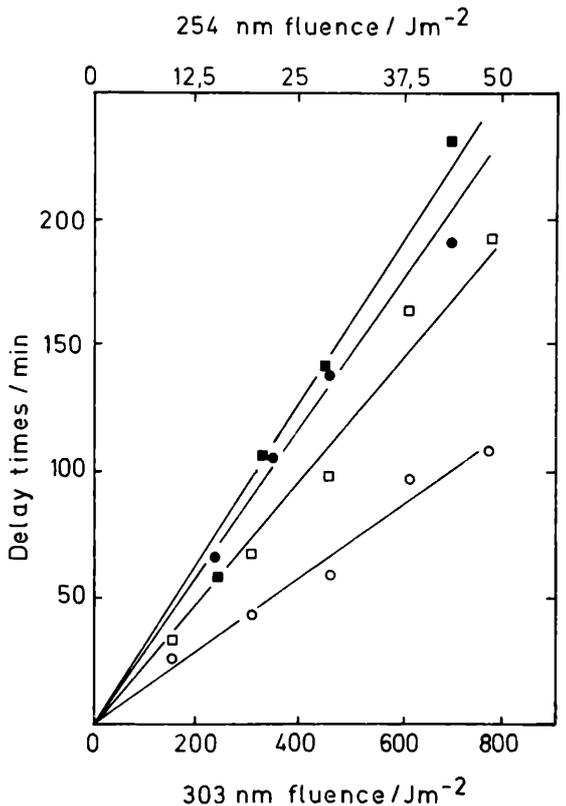
Im Zusammenhang mit Erholungsphänomenen sollte ich vielleicht noch einen anderen Effekt erwähnen, die Photoprotektion (JAGGER et al., 1964), die trotz mancher Ähnlichkeiten nicht mit der Photoreaktivierung verwechselt werden darf. Es handelt sich zwar in beiden Fällen um eine Wechselwirkung zwischen kurzwelliger und langwelliger Strahlung; während jedoch der Photoreaktivierung eine enzymatische Spaltung von Pyrimidin-Dimeren zugrunde liegt, bewirkt die Photoprotektion auf dem Umweg einer Wachstumsverzögerung etwas ähnliches wie die „delayed plating recovery“, nämlich die zeitliche Trennung von (Exzisions-) Reparatur und Replikation. Ob es sich bei einer beobachteten antagonistischen Wechselwirkung von kurzwelliger und langwelliger Strahlung um Photoreaktivierung oder Photoprotektion handelt, läßt sich leicht klären, da nur im ersten, nicht jedoch im zweiten Fall die Reihenfolge der Bestrahlungen eine Rolle spielt.

**Einfluß auf Wachstum und Zellzyklus**

Die gerade angesprochene Wachstumsverzögerung ist auch unabhängig von ihrer Bedeutung für das Überleben der Zelle ein interessantes Phänomen. Sie geht zumindest in Bakterien auf die Schädigung einiger Arten von t-RNA zurück. Entscheidend ist dabei das Vorhandensein von 4-Thiouridin, dessen Anregung häufig zur Vernetzung mit einem benachbarten Cytidin führt (RAMABH-DRAN et al., 1976). Dadurch verliert die betroffene t-RNA ihre Funktionstüchtigkeit und die Zelle reagiert, als bestünde ein Mangel an bestimmten Aminosäuren. Das Aktionsspektrum für die Verzögerung des Zellwachstums in Bakterien (JAGGER et al., 1964) stimmt mit dem Absorptionsspektrum des 4-Thiouridin gut überein (KUBITSCHEK and PEAK, 1980).

Auch bei Hefen kommt es nach Bestrahlung zu Verzögerungen der Zellprogression. Über die Me-

chanismen ist jedoch bisher wenig bekannt. Da zunächst die Sprossenbildung verzögert wird und diese – jedenfalls unter normalen Bedingungen – mit dem Beginn der DNA-Synthese zusammenfällt, kann man annehmen, daß irgendwelche strahleninduzierten Veränderungen den Übergang von der G1- in die S-Phase behindern. Die Teilung wird allerdings bei Wellenlängen unterhalb 293 nm noch stärker verzögert als die Sprossenbildung, woraus sich ergibt, daß auch der weitere Verlauf des Zell-



**Abbildung 4**

**Sprossung- (○, ●) und Teilungs- (□, ■) verzögerung durch Bestrahlung bei 254 nm (○, □) und 303 nm (●, ■) in einem Wildtyp der Hefe *Saccharomyces cerevisiae*. (Die Maßstäbe der x-Achsen entsprechen jeweils gleicher Inaktivierung bei 254 nm und 303 nm).**

zyklus nicht unbeeinflusst bleibt. Vermutlich geht der Effekt in erster Linie auf eine Hemmung der DNA-Synthese zurück. Bei Wellenlängen oberhalb 293 nm ist kein wesentlicher Unterschied zwischen Sprossungs- und Teilungsverzögerung festzustellen. Hier scheint also die S-Phase ungehindert durchlaufen zu werden (AL-TALIBI und KIEFER, unveröffentlichte Daten).

Das steht jedoch im Widerspruch etwa zu Experimenten mit Amphibienzellen, in denen sich ein klarer Zusammenhang zwischen der Induktion von Pyrimidin-Dimeren und einer Hemmung der DNA-Synthese über den gesamten Bereich von 254 bis 313 nm ergab (ROSENSTEIN, 1982).

Möglicherweise geht man im Falle der Hefezellen von einer falschen Prämisse aus, wenn man die Sprossbildung und den Beginn der DNA-Synthese gleichsetzt. Die Interpretation der Daten wird aber weiter dadurch erschwert, daß weder die Sprossungs- noch die Teilungsverzögerung mit der Schädigung der DNA korrelieren (SCHALL und KIEFER, unveröffentlichte Daten). Auch hier spielen offensichtlich andere Zellbestandteile eine entscheidende Rolle.

Bei Säugerzellen sind die Verhältnisse etwas übersichtlicher. Cytofluorometrische Messungen zeigen, daß es im wesentlichen zu einer Verzögerung der S-Phase, also einer Hemmung der DNA-Synthese, kommt. Der Übergang von der G1- in die S-Phase scheint normalerweise nicht gestört zu sein, nur bestimmte reparaturdefiziente Mutanten bilden in dieser Hinsicht eine Ausnahme (KIRILLOVA et al., 1985).

Fragt man nun nach der Wellenlängenabhängigkeit der Zellprogressionsverzögerung, so stellt man wiederum eine gewisse Korrelation mit der Induktion von Pyrimidin-Dimeren fest. Im Bereich oberhalb 300 nm wird der Effekt aber offenbar durch Erholungsvorgänge, die auch Einfluß auf das Überleben haben, modifiziert (ZÖLZER et al., in Vorbereitung).

### Schädigung der Membran

Es scheint mir sinnvoll, an dieser Stelle noch einmal auf die Schädigung der Membran einzugehen. Von ihr war ja bereits im Zusammenhang mit Erholungsphänomenen die Rede: Der Anstieg des Überlebens nach Bestrahlung im Bereich oberhalb 297 nm wurde auf den Austritt bestimmter Substanzen aus absterbenden oder toten Zellen zurückgeführt.

Tatsächlich läßt sich bei Bakterien (KELLAND et al., 1984) und Hefen (SCHALL und KIEFER, in Vorbereitung) der Effekt auch direkt nachweisen. Er tritt im kurzwelligen Bereich erst nach Bestrahlungen auf, bei denen weniger als 1 % aller Zellen der Inaktivierung entgehen, gewinnt aber oberhalb von 297 nm auch für Überlebensniveaus zwischen 10 und 100 % an Bedeutung. Die Aktionsspektren für den Austritt von Zellinhaltsstoffen sind dementsprechend sehr viel flacher als dasjenige für die Inaktivierung.

Versuche mit einem Zellstamm, der kein Ergosterol bildet, sollten einen Hinweis darauf geben, ob diese Substanz als Chromophor für die Schädigung der Membran in Frage kommt. Das ist jedoch offensichtlich nicht der Fall. Die Frage nach den absorbierenden Komponenten der Membran bleibt also zunächst offen (SCHALL und KIEFER, unveröffentlichte Daten).

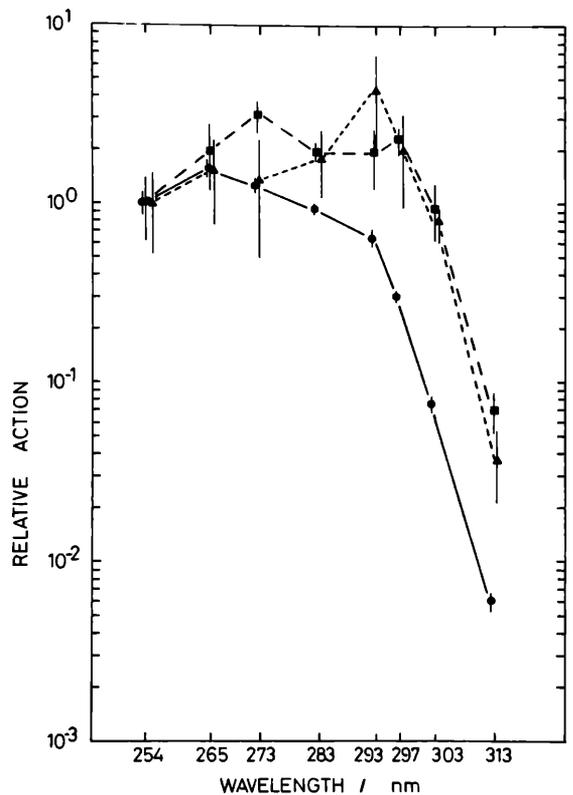


Abbildung 5

**Aktionsspektren für den Austritt von Nukleotiden (■) und Proteinen (▲) aus Zellen eines Wildtyps der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* im Vergleich zum Aktionsspektrum für die Inaktivierung (●).**

Übrigens sollte nicht unerwähnt bleiben, daß auch bei Säugerzellen eine Schädigung der Membran nachgewiesen wurde (SAMOILOVA et al., 1984). Besonders interessant scheinen mir Berichte darüber, daß Zellinhaltsstoffe freigesetzt werden, die das Wachstum anderer Zellen stimulieren (BELISHEVA und SAMOILOVA, 1984). Ob hier irgendein Zusammenhang mit den für Mikroorganismen beschriebenen Erholungsprozessen besteht, wurde bisher nicht untersucht.

Für unseren Zusammenhang ist desweiteren von Bedeutung, daß infolge einer Bestrahlung zwar die Durchlässigkeit der Membran allgemein erhöht wird, es jedoch zugleich zu einer empfindlichen Störung des aktiven Transports bestimmter Substanzen in das Zellinnere kommt. Soweit bekannt, werden die für den Transport zuständigen Enzyme in einer Weise verändert, daß sie nicht mehr die für ihre Funktion entscheidende räumliche Lage in der Membran einnehmen können. Die Aktionsspektren für die Hemmung der Aufnahme von Leucin (ROBB et al., 1978), Glycin (ASCENZI und JAGGER, 1979) und Alanin (SHARMA und JAGGER, 1981) sowie Laktose (ROBB und PEAK, 1979) bei Bakterien sind alle ähnlich. Sie weisen ein Maximum bei 280 bis 290 nm auf und unterscheiden sich deutlich von den Aktionsspektren für eine Schädigung der DNA.

Ähnlich verhält es sich mit der Inaktivierung zweier ATPasen in der Membran von Rosenblättern. In diesen beiden Fällen liegt dem Effekt eine sauerstoffsensibilisierte Reaktion zugrunde (IMBRIE und MURPHY, 1982, 1984).

Abschließend läßt sich feststellen, daß die genannten Veränderungen an der Membran zwar mög-

cherweise das Schicksal einer bestrahlten Zelle beeinflussen – insbesondere im Falle von Erholungsphänomenen –, daß aber kein Grund zu der Annahme besteht, sie seien für Inaktivierung und Mutationsauslösung ursächlich. Das gilt auch, um es noch einmal deutlich zu sagen, für den Bereich oberhalb 300 nm.

### Literaturverzeichnis

- J.M. ASCENZI and J. JAGGER (1979): Ultraviolet action spectrum (238-405 nm) for inhibition of glycine uptake in *E. coli*. – *Photochem. Photobiol.* 30, 661-666
- N.K. BELISHEVA and K.A. SAMOILOVA (1984): Mechanisms of clinical effects of UV-irradiated blood: stimulation of DNA-synthetic activity in cultured human cells (in Russian). – *Bull. Exp. Biol. Med.* 12, 675-678.
- G.L. CHAN, J.B. LITTLE (1982): Modulation of survival and transformation during plateau phase of UV-irradiated mouse cells. – *Mutat. Res.* 104, 183-186.
- H. DERTINGER und H. JUNG (1969): *Molekulare Strahlenbiologie*; Heidelberg (Springer-Verlag).
- L.R. FERGUSON, B.S. COX (1980): The role of dimer excision in LH recovery of UV irradiated haploid yeast. – *Mutat. Res.* 69, 19-41.
- G.Y. FRAIKIN, M.E. POSPELOV, L.B. RUBIN (1977): Repair of 313 nm induced lesions and photoprotection in yeast *Candida guilliermondii*. – *Photochem. Photobiol.* 26, 371-375.
- E.C. FRIEDBERG (1985): *DNA repair*; New York (Freeman & Co.).
- H. HARM (1976): Repair of UV-irradiated biological systems: Photoreactivation; in: *Photochemistry and Photobiology of Nucleic Acids, Vol. II* (Ed. by S.Y. Wang); New York (Academic Press), pp. 219-265.
- R.H. HAYNES (1975): The influence of repair processes on radiobiological survival curves; in: *Cell survival after low doses of radiation: theoretical and clinical implications* (Ed. by T. Alper); London (Wiley), pp. 197-208.
- C.W. IMBRIE and T.M. MURPHY (1982): UV-action spectrum (254-405 nm) for inhibition of K<sup>+</sup>-stimulated adenosine triphosphatase from the plasma membrane of *Rosa damascena*. – *Photochem. Photobiol.* 36, 537-542.
- C.W. IMBRIE and T.M. MURPHY (1984): Mechanism of photoinactivation of plant plasma membrane ATPase. – *Photochem. Photobiol.* 40, 243-248.
- J. JAGGER, W.C. WISE, and R.S. STAFFORD (1964): Delay in growth and division induced by near ultraviolet radiation in *Escherichia coli* B and its role in photoprotection and liquid holding recovery. – *Photochem. Photobiol.* 3, 11-24.
- L.R. KELLAND, S.H. MOSS, and D.J.G. DAVIES (1983): Recovery of *Escherichia coli* K-12 from near-ultraviolet radiation induced membrane damage. – *Photochem. Photobiol.* 37, 617-622.
- S.M. KEYSE, S.H. MOSS, and D.J.G. DAVIES (1983): Action spectra for inactivation of normal and *Xeroderma pigmentosum* human skin fibroblasts by ultraviolet radiations. – *Photochem. Photobiol.* 37, 307-312.
- T.V. KIRILLOVA, Y.M. ROZANOV, and I.M. MARTYNOVA (1985): Effects of UV-irradiation on the mitotic cycle in Chinese hamster cells with different UV-sensitivity. I. Time-course dependence following UV-irradiation of cells (in Russian). – *Tsitologiya* 27, 1285-1291.
- H.E. KUBITSCHKEK and M.J. PEAK (1980): Action spectrum for growth delay induced by near-ultraviolet light in *E. coli* B/r K. – *Photochem. Photobiol.* 31, 55-58.
- J.M. PARRY, E.M. PARRY (1969): The effects of UV light post treatment on the survival characteristics of 21 UV sensitive mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. – *Mutat. Res.* 8, 545-556.
- E.M. PARRY, J.M. PARRY (1976): The genetic control of liquid holding recovery and UV-induced repair resistance in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. – *Int. J. Radiat. Biol.* 30, 13-24.
- M.H. PATRICK and R.H. HAYNES (1973): Dark recovery phenomena in yeast, II. conditions that modify the recovery process. – *Radiat. Res.* 20, 137-141.
- M.H. PATRICK, R.H. HAYNES, R.B. URETZ (1964): Dark recovery phenomena in yeast, I. Comparative effects with various inactivating agents. – *Radiat. Res.* 21, 144-163.
- T.V. RAMABHADRAN, T. FOSSUM, and J. JAGGER (1976): In vivo induction of 4-thiouridine-cytidine adducts in t-RNA of *E. coli* B/r by near-ultraviolet radiation. – *Photochem. Photobiol.* 23, 315-321.
- F.T. ROBB and M.J. PEAK (1979): Inactivation of the lactose permease of *Escherichia coli* by monochromatic ultraviolet light. – *Photochem. Photobiol.* 30, 379-838.
- F.T. ROBB, J.H. HAUMAN, and M.J. PEAK (1978): Similar spectra for the inactivation by monochromatic light of two distinct leucine transport systems of *Escherichia coli*. – *Photochem. Photobiol.* 27, 465-469.
- R.B. ROBERTS, A. ALDOUS (1949): Recovery from ultraviolet irradiation in *Escherichia coli*. – *J. Bact.* 57, 363-375.
- B.S. ROSENSTEIN (1982): Inhibition of semiconservative DNA synthesis in ICR 2A frog cells exposed to monochromatic UV wavelengths (252-313 nm) and photoreactivating light. – *Radiat. Res.* 90, 509-517.
- B.S. ROSENSTEIN (1984): Photoreactivation of ICR 2A frog cells exposed to solar UV wavelengths. – *Photochem. Photobiol.* 40, 207-213.
- R.M. ROTH, J.C. GAME and M.J. PEAK (in press): Sensitivities to monochromatic 254 nm – and 365 nm – radiation of closely related strains of *Saccharomyces cerevisiae* with different repair capabilities. – *Photochem. Photobiol.*
- K.A. SAMOILOVA, K.N. KLIMOVA, L.S. PRIEZHEVA and R.A. ARTSISHEVSKAYA (1984): Functional and structural changes of human erythrocyte surface after irradiation with UV light of different wavelengths (in Russian). – *Tsitologiya* 26, 102-108.
- R.C. SHARMA and J. JAGGER (1981): Ultraviolet (254-405 nm) action spectrum and kinetic studies of alanine uptake in *Escherichia coli* B/r. – *Photochem. Photobiol.* 33, 173-177.
- M. SCHALL and J. KIEFER (1988): Delayed plating recovery of diploid yeast exposed to ultraviolet light between 254 and 313 nm wavelength. – *Photochem. Photobiol.* 47, 155-158.

- P.J. SMITH and M.C. PATERSON (1981):  
Abnormal responses to mid-ultraviolet light of cultured fibroblasts from patients with disorders featuring sunlight sensitivity. – *Cancer Res.* 41, 511-518.
- C.A. TOBIAS, E.A. BLAKELY, F.G.H. NGO, and T.C.H. YANG (1980):  
The repair-misrepair model of cell survival, in: *Radiation Biology in Cancer Research* (Ed. by R.E. Meyn and H.R. Withers); New York (Raven Press).
- R.W. TUVESON and E.V. VIOLANTE (1982):  
The effects of liquid holding on near-UV (300-400 nm) irradiated *Escherichia coli* strains differing in near and far UV radiation sensitivity. – *Photochem. Photobiol.* 29, 845-847.
- R.M. TYRRELL and M. PIDOUX (1988):  
Correlation between endogenous glutathion content and sensitivity of cultured human skin cells to radiation at defined wavelengths in the solar ultraviolet range. – *Photochem. Photobiol.* 47, 405-412.
- P.R. UNRAU, R. WHEATCROFT, D.S. COX (1971):  
The excision of pyrimidine dimers from DNA of UV irradiated yeast. – *Mol. Gen. Genet.* 113, 359.
- R.B. WEBB (1977):  
Lethal and mutagenic effects of near-ultraviolet radiation. In: *Photochemical and Photobiological Reviews* (Ed. by K.C. Smith); New York (Plenum Press), pp. 169-261.
- R.B. WEBB and M.S. BROWN (1976):  
Sensitivity of strains of *Escherichia coli* differing in repair capability to far UV, near UV and visible radiations. – *Photochem. Photobiol.* 24, 425-432.
- R.B. WEBB, M.S. BROWN, and R.M. TYRRELL (1976):  
Lethal effects of pyrimidine dimers induced at 365 nm in strains of *E. coli* differing in repair capability. – *Mutat. Res.* 37, 163-172.
- E. WILLIAMS, J. LAMBERT, P. O'BRIEN, J.A. HOUGHTON (1979):  
Evidence for dark repair of far ultraviolet light damage in the blue-green alga *Gloeocapsa alpicola*. – *Photochem. Photobiol.* 29, 543-547.
- I. ZBINDEN and P. CERUTTI (1981):  
Near-ultraviolet sensitivity of skin fibroblasts of patients with Bloom's syndrom. – *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 98, 579-587.
- M.R. ZELLE, J.E. OGG, and A. HOLLAENDER (1958):  
Photoreactivation of induced mutation and inactivation of *Escherichia coli* exposed to various wavelengths of monochromatic ultraviolet radiation. – *J. Bacteriol.* 75, 190-197.
- F. ZÖLZER and J. KIEFER (1983):  
Wavelength dependence of inactivation and mutagenesis in haploid yeast cells of different sensitivities. – *Photochem. Photobiol.* 37, 39-48.

**Anschrift des Verfassers:**

Dr. Friedo Zölzer  
Strahlencentrum der Justus-Liebig-  
Universität Gießen  
Leihgesterner Weg 217  
6300 Gießen

# UV-Wirkungen auf Nutzpflanzen

Manfred Tevini, Jürgen Braun, Peter Grusemann und Jürgen Ros

## 1. Einführung und Problemstellung

Mit wachsender Kenntnis der stratosphärischen Ozonreduktion und der damit verbundenen Erhöhung der UV-B-Strahlung (UV-B = 280-320 nm) werden Untersuchungen über die Effekte der UV-Strahlung dieses Wellenlängenbereiches auf Pflanzen und ihre Ökosysteme zunehmend wichtiger. Bis heute sind über 200 Pflanzenspezies und Varietäten auf ihre UV-Sensitivität in Pflanzenwuchskammern, Gewächshäusern oder im Freiland untersucht worden. Mehr als die Hälfte hiervon wurden als UV-sensitiv klassifiziert, hierunter landwirtschaftliche Kulturpflanzen wie Sojabohnen, Gurken, Erbsen, Bohnen, Sonnenblumen und verschiedene Getreidearten. Generell verursacht UV-Strahlung reduziertes Blatt- und Sproßwachstum, niedrigeres Trockengewicht und geringere Photosyntheseaktivität in sensitiven Pflanzenspezies<sup>1),2),3)</sup>. In welcher Weise UV-Strahlung mit dem Sproßachsenwachstum und der Photosynthese z.B. von Sonnenblumenkeimlingen interagiert, soll in den folgenden Abschnitten näher diskutiert werden.

Zur Frage der Sensitivität zeigen Studien der letzten Jahre jedoch auch, daß UV-Strahlung in seiner schädigenden Wirkung häufig leicht überschätzt wird. Dies ist meistens der Fall, wenn ungeeignete künstliche Strahlungen benutzt werden wie z.B. Strahlungsquellen, die Wellenlängen kürzer als 280 nm emittieren, die in der Sonnenstrahlung nicht vorkommen. Ferner spielt die Weißlichtintensität eine entscheidende Rolle für die Ausprägung eines

UV-Schadens. Viele Pflanzen haben nämlich die Fähigkeit, UV-Schäden entweder mit Hilfe des langwelligen UV-A oder mit Weißlicht zu reparieren (siehe Beitrag Prof. WELLMANN). Es wurde bisher vermutet, daß die Rate der Lichtreparatur sehr gering ist, wenn niedrige Weißlichtintensitäten z.B. in Pflanzenwuchsschränken benutzt werden<sup>1),4)</sup>. Deshalb erscheinen Pflanzen, die in Pflanzenwuchsschränken mit relativ schwachem Weißlicht unter UV angezogen werden, häufig stärker geschädigt als unter den relativ hohen solaren Lichtintensitäten. Die Grundvoraussetzung für Experimente mit erhöhter UV-Strahlung, sowohl im Feld mit Zusatzbestrahlung wie im Labor mit ausschließlich künstlichen Strahlungsquellen, ist daher die Vergleichbarkeit der eingesetzten Strahlung.

Da sich künstliche und solare Strahlung niemals völlig gleichen, muß ihre biologische Wirksamkeit, insbesondere im UV-B-Bereich, durch Wichtung mit bekannten Wirkungsspektren vergleichbar gemacht werden<sup>5)</sup>. Für die Wichtung werden häufig monochromatisch entwickelte Wirkungsspektren benutzt. Neuerdings verwendet man auch polychromatische Wirkungsspektren, deren UV-Wirkung im Gegensatz zu monochromatischen Wirkungsspektren in Gegenwart von Weißlicht ermittelt wurde, einem Fall also, der natürlichen Bedingungen eher entspricht<sup>6)</sup>. Je nach Wichtungsfunktion kommen somit, absolut gesehen, verschieden hohe biologisch effektive UV-B-Strahlungswerte heraus, die dann auch verschieden hohen Ozondestruktionsraten entsprechen. Eigenen Untersu-

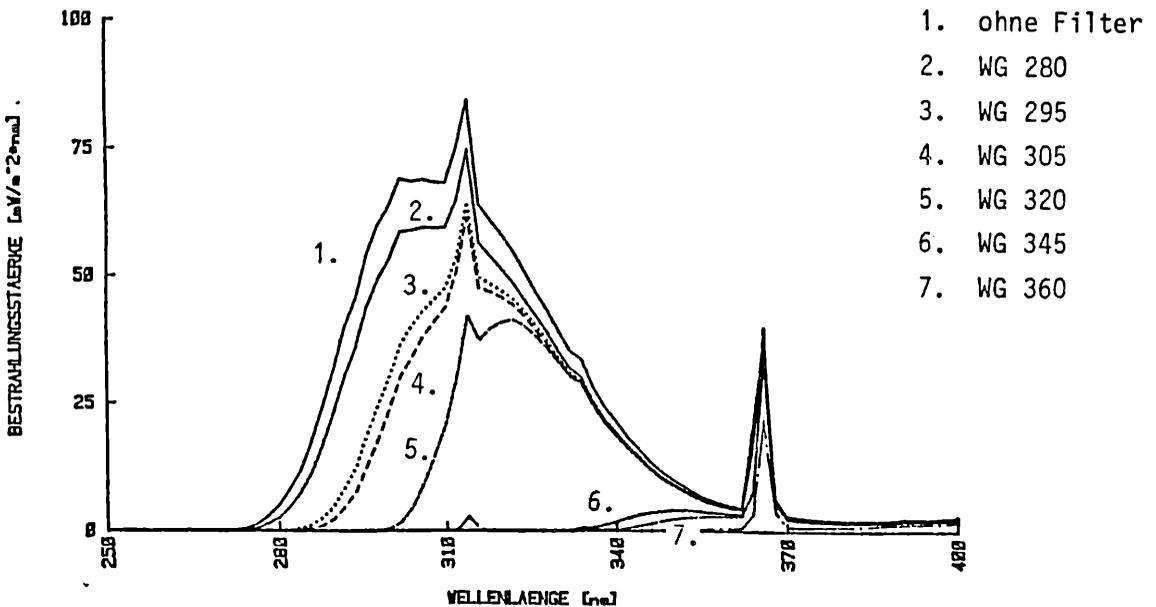


Abbildung 1

Spektrale Energieverteilung der benutzten Strahlungsquelle (Abschnitt 2-4) unter verschiedenen Schott cut-off Filtern, die bei nahezu gleicher Transmission im sichtbaren Spektralbereich ein unterschiedliches Absorptionsverhalten im UV aufweisen. 1-7: Ohne Filter, WG 280, WG 295, WG 305, WG 320, WG 345, WG 360.

chungen zufolge ist es fraglich, ob es ein für die Gesamtpflanze gültiges Wirkungsspektrum gibt, da ein Wirkungsspektrum, streng genommen, nur für die Wirkung gilt, für die es ausgearbeitet wurde, z.B. für die UV-Wirkung auf die Sproßlänge oder Pigmentbildung einer Pflanze. Einen Ausweg aus dieser nicht immer leicht zu treffenden Wahl des richtigen Wirkungsspektrums gibt folgende neue Methode, die u.a. auch in Abschnitt 4 eingesetzt wird<sup>7)</sup>. Zwei Pflanzenwuchsschränke werden in südlichen Breitengraden lokalisiert und beide mit einer UV-durchlässigen Plexigasküvette abgedeckt. Eine dieser Plexigasküvetten wird mit Ozon durchflutet, das auch in der Stratosphäre als natürlicher UV-Absorber fungiert. Je nach Ozonkonzentration wird somit die aktuelle Strahlung des südlichen Standortes auf nördliche Breitengrade abgeschwächt. Der Pflanzenwuchsschrank ohne Ozonküvette erhält somit im Vergleich zum anderen eine erhöhte UV-Strahlung. Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß die Keimlinge in den klimatisierten Schränken keinem weiteren Umweltstreß außer UV-B ausgesetzt sind, was normalerweise in der Natur nicht vorkommt. Ein oft auftretender Streß ist z.B. Wassermangel. So konnte an Gurkenkeimlingen in Klimakammern gezeigt werden, daß die schädigende UV-Wirkung erhöht wird, z.B. auf die Blattfläche oder die Spaltöffnungen, die dem Gasaustausch dienen<sup>9)</sup>.

Ein Grund für die reduzierte Nettophotosynthese mag auf dem Einfluß der UV-Strahlung auf die Spaltöffnungsfunktion beruhen, wie dies an Soja- und Gurken-Keimlingen demonstriert wurde<sup>9),10)</sup>. Das Aktionsspektrum für den Spaltenschluß von *Eragrostis* hat ein Maximum um 290 nm, Strahlung länger als 313 nm ist praktisch ohne Effekt<sup>11)</sup>. Das Schließen der Stomata basiert auf einem Verlust des osmotischen Drucks der Schließzellen, der durch ein Leck im Plasmalemma für Ionen hervorgerufen wird. Dieses konnte in Epidermisstreifen von Bohnenblättern mit <sup>86</sup>Rb<sup>+</sup>-Ionen nachgewiesen werden<sup>12)</sup>. Neben diesen indirekten Effekten der UV-Strahlung auf die Photosynthese über die Spaltöffnungen gibt es auch direkte Eingriffe in die Photosysteme des Chloroplasten durch UV-Strahlung<sup>13),14)</sup>, was in Abschnitt 4 näher ausgeführt wird. Es gibt jedoch auch viele Pflanzenarten und Kulturvarietäten, die ihren Photosyntheseapparat und die übrige Zellmaschinerie durch Bildung von Schutzpigmenten in den äußeren Zellschichten, vor allem in der Epidermis abschirmen. Zu diesen UV-absorbierenden Pigmenten zählen hauptsächlich „Flavonoide“, die unter UV-B akkumuliert wer-

den<sup>8),15),16)</sup>. Einige der Arbeiten zeigen, daß diese Pigmente tatsächlich in der epidermalen Zellschicht lokalisiert sind<sup>17)</sup>. Es gibt ferner Hinweise, daß kutikuläre Wachsschichten unter erhöhtem UV akkumuliert werden und aufgrund ihrer höheren Reflexion die in das Blattinnere eindringende UV-Strahlung verringern<sup>18)</sup>. Die Ausbildung solcher Schutzmechanismen scheint auch verantwortlich zu sein für die UV-Sensitivität der Pflanzenspezies und Kultursorten. Im folgenden Abschnitt soll etwas detaillierter über die Schnellschutzmechanismen ausgeführt werden, die ein Keimling besitzen sollte, wenn er nach der Keimung ans Tageslicht kommt und sich unmittelbar gegen UV-Strahlung schützen muß.

## 2. Wirkung von UV-Strahlung auf die Bildung und Zusammensetzung der epidermalen Inhaltsstoffe

Sobald ein Keimling die Erde durchbricht, muß ein schneller UV-Schutz für die Meristeme erreicht werden, bevor der längerdauernde, auf genetischer Induktion basierende Biosyntheseweg zur massiven Erhöhung der Phenylpropanderivate (z.B. Flavonoide) führt.

### 2.1. Trans/cis-Isomerie der Phenylpropanderivate in vivo

Es ist bekannt, daß Zimtsäuren, aus Phenylalanin durch die Phenylalaninammoniumlyase (PAL), die auch Schlüsselenzym für Flavonoide ist, synthetisiert werden und in grünen Pflanzen als cis/trans-Isomere vorkommen. Das Gleichgewicht dieser isomeren Formen läßt sich durch UV-Strahlung mit zunehmend kürzeren Wellenlängen zur cis-Form verschieben, wie eigene Untersuchungen an isolierten Epidermen von Roggenkeimlingen gezeigt haben. Durch die trans/cis-Isomerie verschiebt sich das Absorptionsspektrum der trans-Zimtsäuren und deren Glykoside hypsochrom, wodurch bereits ein geringer Absorptionsschutz erreicht wird.

#### 2.1.1. UV-Fluenz (WG 305)-Abhängigkeit der trans/cis-Isomerisierung von para-Cumarsäure (p-Cum) in der Epidermis von etiolierten Roggenkeimlingen

Bestrahlt man sechs Tage alte, etiolierte Roggenkeimlinge mit UV (WG 305), wird die trans-p-Cum in die cis-Form umgewandelt, wobei sich abhängig von der UV-Fluenz ein Gleichgewicht ausbildet, das nach 30 min. zu 55 % auf der Seite der cis-Form liegt. Dieses Gleichgewicht bleibt auch nach 2 h Be-

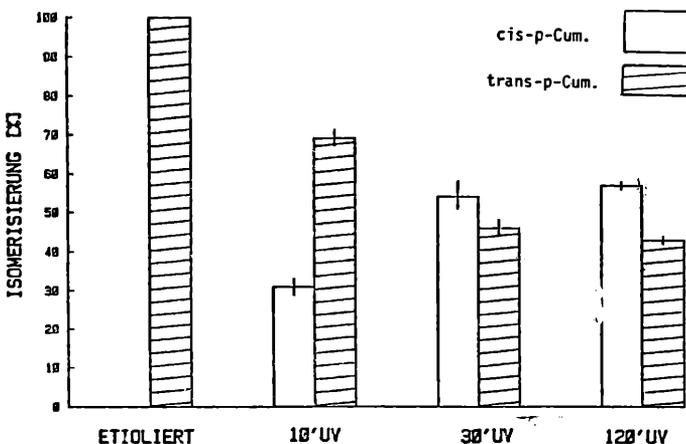


Abbildung 2

Effekt der UV-Fluenz (WG 305) auf die p-Cumarsäure trans/cis-Isomerisierung in der Epidermis von etiolierten Roggenkeimlingen.

strahlungszeit konstant (Abb. 2). Weißlicht kann bei Kurzzeitbestrahlung keine Isomerisierung auslösen.

### 2.1.2. Wellenlängenabhängigkeit der trans/cis-Isomerie der p-Cumarsäure bei grünen Roggenkeimlingen in der Primärblattepidermis

Im Gegensatz zu etiolierten Pflanzen liegt bei grünen Pflanzen bereits ein Teil der p-Cum als cis-Isomeres im Gleichgewicht vor, was bedeutet, daß Langzeitweißlicht bereits eine Isomerie bewirkt. Dennoch findet im UV-Bereich wellenlängenabhängig eine zusätzliche trans/cis-Isomerisierung statt. Je kürzer die applizierten Wellenlängen der Strahlung, umso stärker verschiebt sich das Isomergleichgewicht der trans-p-Cumarsäure zur cis-Form (Abb. 3).

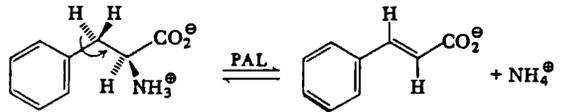
Die Gesamtkonzentration der p-Cumarsäure in der Roggenepidermis nimmt bei UV-B-Bestrahlung z.B. unter WG 280 im Vergleich zur Kontrolle (WG 360) um ca. 50 % zu. (Daten nicht aufgeführt).

Diese Zunahme basiert auf der Erhöhung der cis-p-Cum nach UV-Bestrahlung. Da die Konzentrationen der trans-p-Cum nicht entsprechend der Zunahme des cis-Isomeren abnimmt, muß eine schnelle Neusynthese von trans-p-Cum stattfinden. Aufgrund dieser Ergebnisse muß auf eine schnelle Aktivitätserhöhung der PAL geschlossen werden, die nicht über Transkription und Translation läuft. Im Anschluß an die UV-Bestrahlung (WG 305) wird in der Dunkelphase eine teilweise Revertierung des cis/trans-Gleichgewichts durch Neusynthese von trans-p-Cumarsäure ausgelöst (Abb. 3).

Dies bedeutet, daß in vivo keine Isomerase das kinetisch gehemmte Isomergleichgewicht steuern muß. Vielmehr wird das Gleichgewicht durch Neusynthese von trans-p-Cum bei Nacht verschoben, während im Sonnenlicht durch vorhandene UV-B-

Strahlung, eine rasche Isomerisierung zur cis-p-Cum stattfindet. Wie aber ist die PAL regulierbar?

PAL katalysiert die antiperiplanare Desaminierung von L-Phenylalanin zur trans-Zimtsäure.



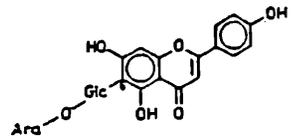
Es ist bekannt, daß in vitro die trans-Zimtsäuren die PAL-Aktivität hemmen<sup>19</sup>. Wir nehmen nun an, daß durch UV-Strahlung die trans-p-Cum aus dem Gleichgewicht entfernt wird, die Feedback-Hemmung der PAL aufgehoben und die Synthese der Phenylpropane innerhalb weniger Stunden erhöht wird. Somit wäre die trans-p-Cumarsäure Photorezeptor und Stoffwechselregulator zugleich.

Die trans-Zimtsäuren, können in verschiedene Stoffwechselwege eingeschleust werden. Unter anderem werden sie als Edukte für die Synthese von Flavonoiden verbraucht.

### 2.2. UV-Fluenzabhängige Zunahme der Flavonoidkomponenten bei etiolierten und grünen Roggenkeimlingen.

In Roggenkeimlingen kommen folgende vier Hauptflavonoide vor<sup>20</sup>:

Isovitexin 2"-O-arabinosid (R<sub>3</sub>)



Isovitexin 2"-O-galaktosid (R<sub>4</sub>)

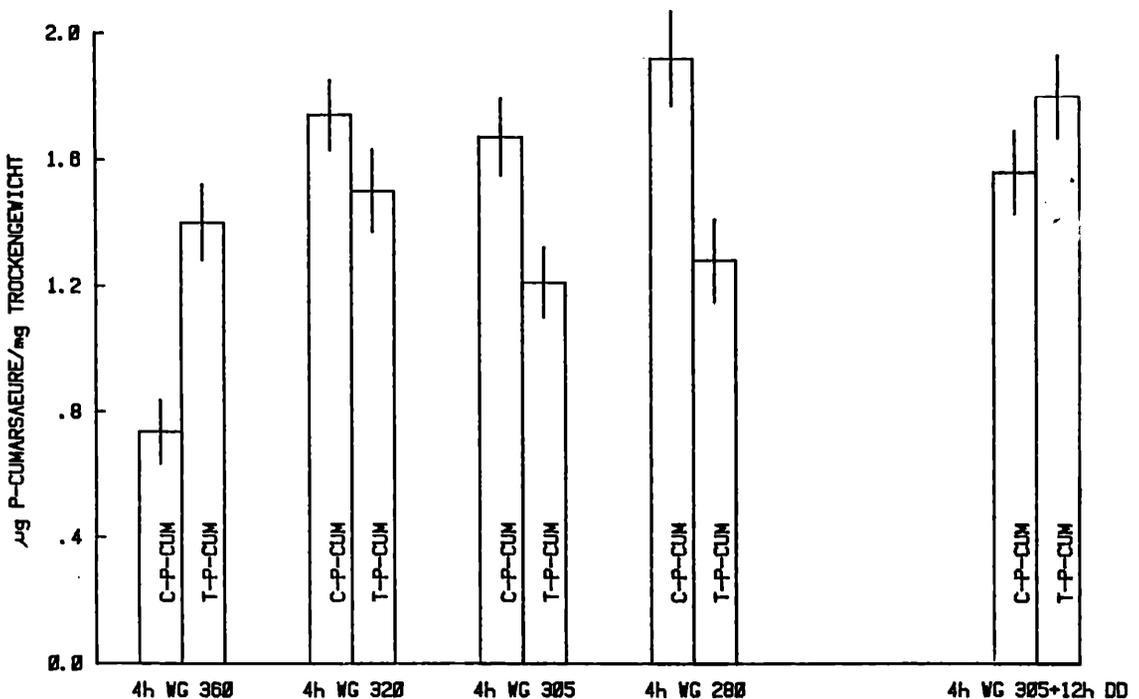
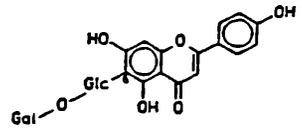
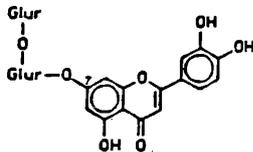


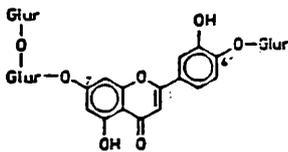
Abbildung 3

Einfluß der UV-B-Wellenlänge auf die trans/cis-Isomerie der p-Cum in der Epidermis von grünen Roggenkeimlingen nach 4 h Bestrahlung.

Luteolin 7-O-di-glucuronid (R<sub>2</sub>)



Luteolin 7-O-diglucuronosyl-4'-O-glucuronid (R<sub>1</sub>)



von denen R<sub>3</sub> und R<sub>4</sub> nur in der Epidermis, R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> nur im Mesophyll auftreten (Abb. 4).

Im Elutionsprofil des Mesophyllextraktes sind als Hauptkomponenten die Luteolinderivate (R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>), in geringen Mengen auch R<sub>4</sub> und R<sub>3</sub> (Verunreinigungen?) vertreten.

### 2.2.1. Fluenz- und Wellenlängenabhängigkeit der Flavonoidsynthese in grünen Roggenkeimlingen (Langzeitbestrahlung)

Bestrahlt man fünf Tage alte Roggenkeimlinge 6, 12, 24 h mit UV (WG 305), mißt man in der Epidermis von Roggenblättern eine Erhöhung der Isovitexinderivate bereits nach 6 h, während die Konzentrationen der Luteolinderivate im Mesophyll auch nach 24 h UV-Bestrahlung konstant bleiben (Tab. 1).

Tabelle 1

Prozentuale Zunahme der Flavonoidkomponenten R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> in Roggenprimärblättern bei zunehmender UV-Fluenz (WG 305) im Vergleich zu Kontrollpflanzen.

UV-Bestrahlungszeit (WG 305)	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
6 h	konstant		87	82
12 h	“		170	212
24 h	“		344	388

Die quantitative Zunahme der Flavonoidkomponenten R<sub>3</sub> und R<sub>4</sub> bei zunehmender UV-Bestrahlungszeit wurde unter den verschiedenen Filterbedingungen (WG 360 - WG 280) direkt aus Epidermisextrakten ermittelt.

Abb. 5 zeigt, daß in der Primärblattepidermis von grünen Roggenkeimlingen die Konzentrationen von R<sub>4</sub> und R<sub>3</sub> wellenlängen- und fluenzabhängig ansteigen, mit einem Wirkungsmaximum um 300 nm. Weiterhin wird gezeigt, daß die Flavonoidakkumulation nach 6 h ausschließlich durch UV-Bestrahlung ausgelöst wird. UV-A-Strahlung wird erst nach 24 h Bestrahlungszeit wirksam. Bei Bestrahlung unter WG 280 tritt nach 24 h eine deutliche Abnahme der Flavonoidkonzentration in der Epidermis auf, was als Schädigungseffekt gedeutet wird.

### 2.2.2. UV-Fluenzabhängige (WG 305) Zunahme der Flavonoidkomponenten bei etiolierten und grünen Roggenkeimlingen. (Kurzzeitbestrahlung)

Bei Kurzzeitbestrahlung zeigt sich eine lineare Beziehung zwischen Akkumulation von R<sub>3</sub> und R<sub>4</sub> [gemessen nach 24 h Dauerdunkel (DD)], nur innerhalb 30 min. (Abb. 6).

Der Einfluß steigender UV-Fluenz (WG 305) auf die Flavonoidakkumulation der Komponenten R<sub>4</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> in Primärblättern von grünen Roggenkeimlingen wird in Abb. 7 dargestellt.

Es zeigt sich, daß bei grünen Keimlingen die Flavonoidkonzentrationen der Epidermiskomponenten R<sub>4</sub>, R<sub>3</sub> erst nach 30 min. UV-Bestrahlung (WG 305) und entsprechender Dunkelphase signifikant ansteigen. Die Konzentration der Mesophyllkomponente R<sub>2</sub> ist auch nach einer UV-Bestrahlungszeit von 1 h konstant.

### 2.3. Zusammenfassung und Auswertung

Die Ergebnisse weisen auf Zimtsäurederivate als Rezeptoren der UV-B-Strahlung hin. Zimtsäurederivate können in vivo und in vitro bei UV-Bestrahlung

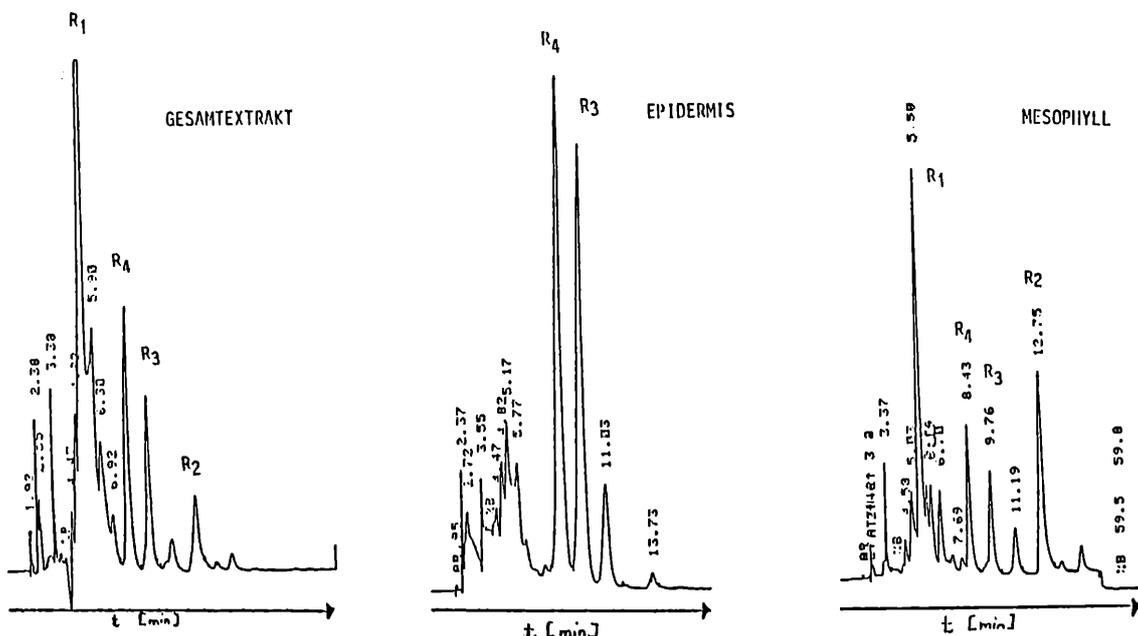


Abbildung 4

HPLC-Elutionsprofile von Roggenprimärblättern: Gesamt-, Epidermis- und Mesophyllextrakt.

6 h BESTRAHLUNG

24 h BESTRAHLUNG

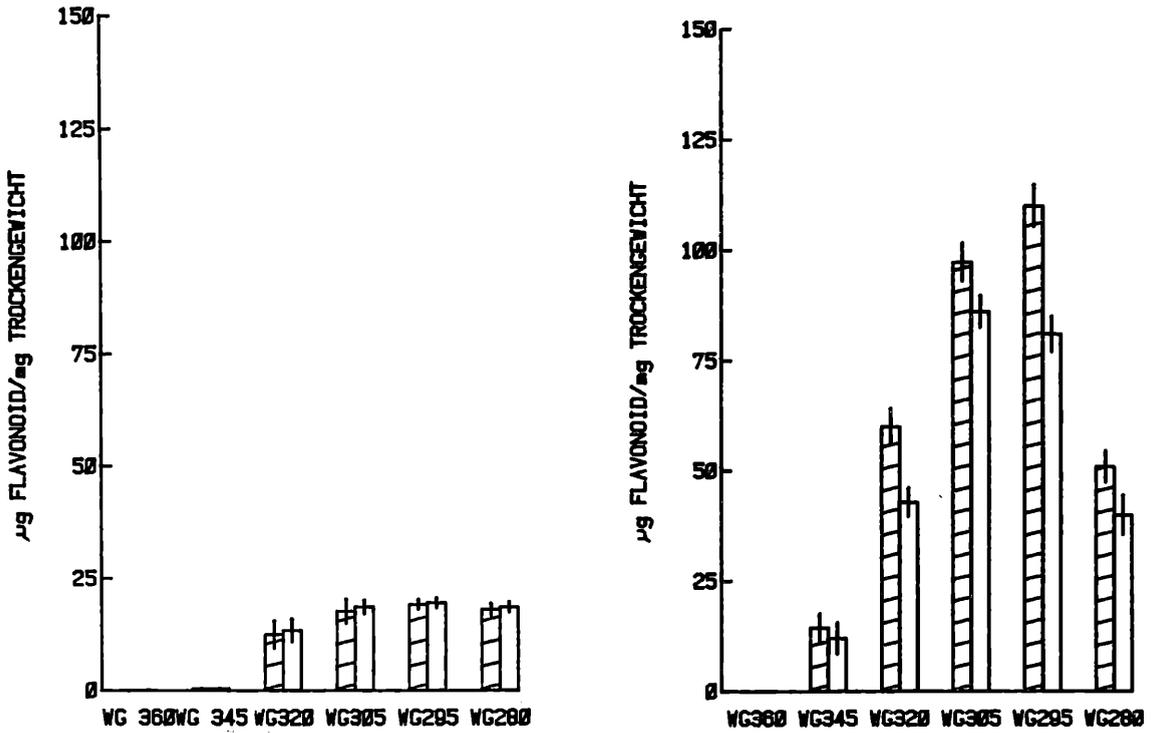


Abbildung 5

Flavonoidakkumulation der Komponenten R4 und R3 unter den verschiedenen UV-Bestrahlungsbedingungen.

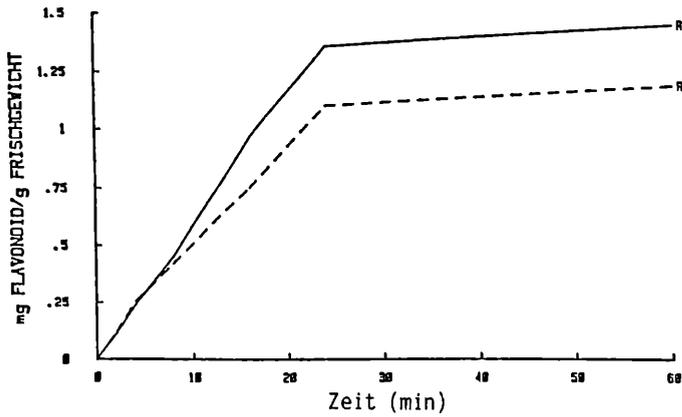


Abbildung 6

Effekt der UV-Fluenz (WG 305) auf die Flavonoidmenge in der Epidermis von etiolierten Roggenkeimlingen.

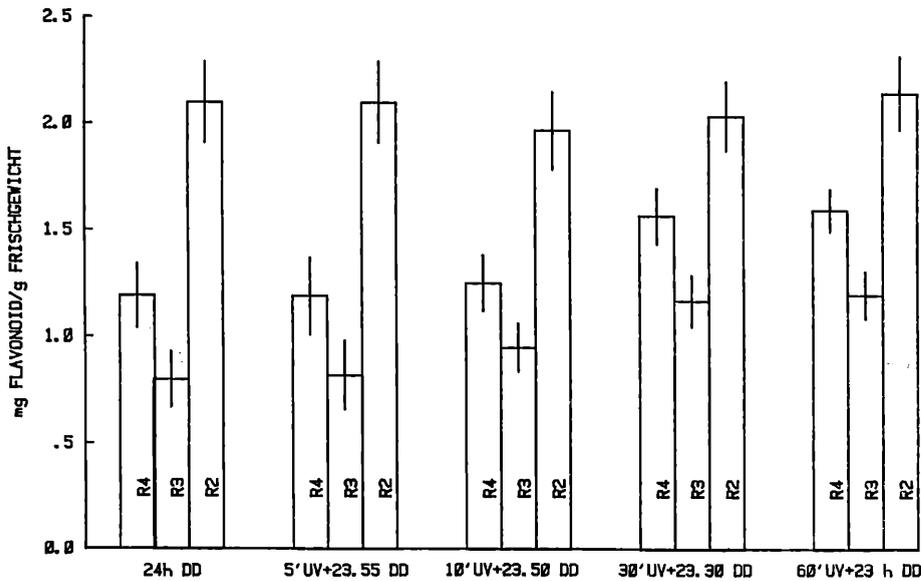


Abbildung 7

Effekt der UV-Fluenz (WG 305) auf die Flavonoidakkumulation bei grünen Roggenkeimlingen.

lung eine wellenlängen- und fluenzabhängige Isomerisierung ausführen, die nach etwa 30 min. abgeschlossen ist. Das Wirkungsmaximum der Zimtsäureisomerisierung liegt entsprechend dem Absorptionsmaximum der jeweiligen Zimtsäure um 300 nm.

Durch trans/cis-Isomerisierung verschiebt sich das Absorptionsspektrum nach kürzeren Wellenlängen. Dieser direkte UV-Schutz ist für den Keimling von Bedeutung, wenn er ans Licht kommt. Weiterhin werden durch die Bildung der cis-Zimtsäurederivate Folgereaktionen wie z.B. die Flavonoidsynthese ausgelöst. Die Steuerung der Folgereaktionen erfolgt über die Beeinflussung von Enzymaktivitäten. Trans-Zimtsäure, als Endprodukt der PAL-Reaktion kann durch Feed-back-Regulation seine Neusynthese steuern. Die PAL-Aktivität wird durch die Umwandlung von trans- in cis-Zimtsäuren bei UV-B-Bestrahlung gefördert. Diese schnelle Aktivitätserhöhung führt zu einer schnellen Zunahme der Gesamtzimtsäuremenge (Neubildung von trans-Zimtsäure). Da Zimtsäurederivate als Edukte der Flavonoidsynthese verbraucht werden, ist mit einer Flavonoidanreicherung zu rechnen.

Bei Langzeitbestrahlung wird die Aktivität der PAL nicht nur über die schnelle trans/cis-Isomerisierung der Zimtsäurederivate erhöht (Feed-back-Regulation), sondern auch durch PAL-Neusynthese.

Die prozentuale Zunahme der Epidermiskomponente R<sub>4</sub> beträgt bei Langzeitbestrahlung (24 h UV, WG 305) von grünen Roggenkeimlingen 388 %. Die Zunahme der Epidermisflavonoide ist bei Kurzzeitbestrahlung wesentlich geringer (40-50 %). Flavonoidakkumulationen, ausgelöst durch Kurzzeitbestrahlung sind über die Feed-back-Regulation der Zimtsäurederivate zu erklären.

Die wesentlich höheren Flavonoidanreicherungen in der Epidermis von Roggenkeimlingen bei Langzeitbestrahlung, lassen sich nur durch eine zusätzliche Aktivitätserhöhung über PAL-Neusynthese deuten.

### 3. UV-Wirkungen und Wirkungsmechanismen auf das Streckungswachstum

Wie schon in der Einleitung erwähnt wurde, hemmt UV-Strahlung das Längenwachstum von UV-sensitiven Pflanzen<sup>1),2),3),4)</sup>. Eigene Untersuchungen zeigten, daß Sonnenblumenkeimlinge, die unter verschiedenen UV-Kantenfiltern mit zunehmend kürzeren Wellenlängen angezogen wurden (Abb. 1), eine entsprechend reduzierte Hypokotylllänge (*Hypokotyl* = Stengelabschnitt zwischen

Wurzelansatz und Keimblättern) aufwiesen (Abb. 8).

Die reduzierte Hypokotylllänge ist auf eine Verkürzung der Epidermiszelllänge zurückzuführen (Tab. 2).

**Tabelle 2**

**Länge der Hypokotylepidermiszellen in  $\mu\text{m}$  von Kontroll- (WG360) und UV-vorbestrahlten Sonnenblumenkeimlingen (WG 280, WG 295).**

	WG 360	WG 295	WG 280
Ausgangslänge	119.9 ±34.2	96.3 ±25.3	88.6 ±26.4

Da das Hypokotylwachstum vorwiegend auf Zellstreckung beruht, scheint hier eine Interaktion zwischen UV-Strahlung und Zellstreckungsmechanismen zu bestehen.

Die Zellstreckung wird von exogenen (z.B. Licht, Wasser- und Nährstoffangebot, Temperatur) und endogenen Faktoren kontrolliert und reguliert. Einer der wichtigsten endogenen Faktoren ist das Phytohormon *Indolelessigsäure* (IES).

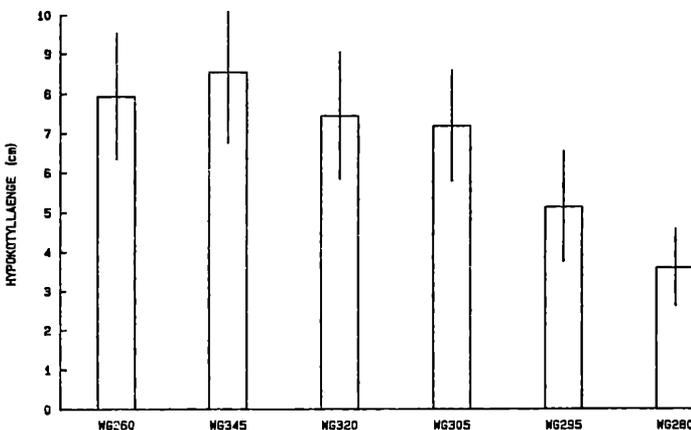
Es ist bekannt, daß IES im UV-B-Bereich stark absorbiert und in vitro durch UV-Strahlung in Photoprodukte zerlegt wird. Daher wurde vermutet, daß IES auch im Keimling durch UV-Strahlung zerstört werden kann. Zur Überprüfung dieser Hypothese wurden Hypokotylstreckungstests (HKS-Test) an isolierten Hypokotylsegmenten (2 cm) von Sonnenblumenkeimlingen durchgeführt (Abb. 9).

Bei den HKS-Tests zeigte sich, daß isolierte Segmente eine wellenlängenabhängige Hemmung der Zellstreckung in Wasser (pH 4.5) und IES-Lösung ( $10^{-5}\text{M}$ ) aufweisen (Abb. 10 und 11).

In Wasser wird das Streckungswachstum wahrscheinlich durch eine wellenlängenabhängige Zerstörung des endogenen IES-Gehalts der Hypokotylsegmente gehemmt, während in IES-Lösung wahrscheinlich IES wellenlängenabhängig zerstört wird.

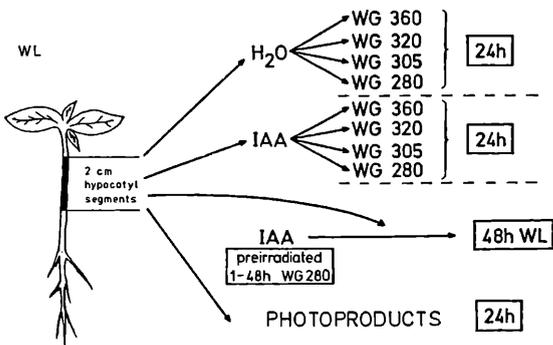
In IES-Lösung, die unterschiedlich lang mit UV (1-48 h unter WG 280) vorbestrahlt wurde, nimmt die Hypokotylstreckung mit zunehmender Vorbestrahlungszeit der IES-Lösung ab (Abb. 12).

UV-bestrahlte IES übt somit eine Hemmwirkung auf das Streckungswachstum von Hypokotylsegmenten aus. Diese Hemmung der Hypokotylsegmentstreckung mit zunehmender Bestrahlungsdauer könnte entweder auf einer Zerstörung der IES und somit auf einer Abnahme der IES-Konzentration beruhen oder auf einer Entstehung von Pho-



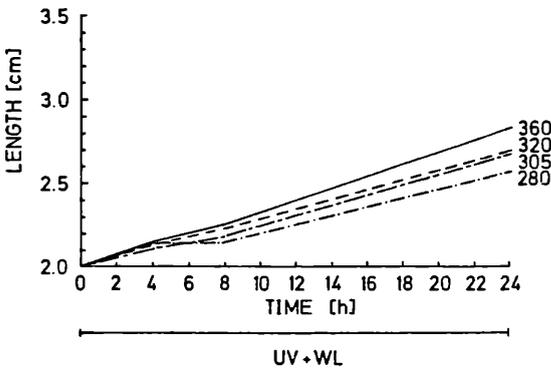
**Abbildung 8**

**Mittlere Hypokotyllänge der Sonnenblumenkeimlinge unter sechs verschiedenen Bestrahlungsbedingungen (WG 360-280).**



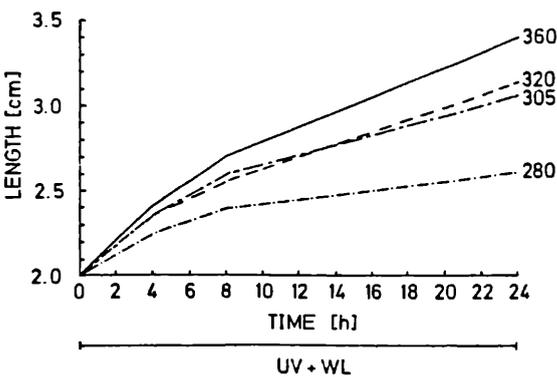
**Abbildung 9**

**Übersicht der Versuchsdurchführung beim Hypokotylsegmentstreckungstest (HKS-Test).**



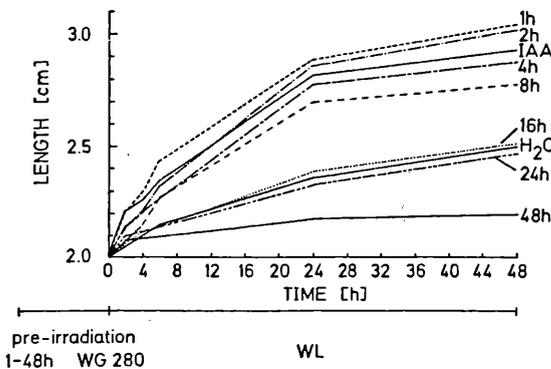
**Abbildung 10**

**Streckung von Hypokotylsegmenten in Wasser unter verschiedenen Schott cut-off Filtern.**



**Abbildung 11**

**Streckung von Hypokotylsegmenten in IES-Lösung unter verschiedenen Schott cut-off Filtern.**



**Abbildung 12**

**Hypokotylsegmentstreckung in unterschiedlich lang vorbestrahlten IES-Lösungen (1-48 h unter WG 280).**

tooxidationsprodukten der IES, die das Streckungswachstum hemmen.

Es lag nun nahe, die Abnahme der IES-Konzentration durch UV-Strahlung über die Bestrahlungszeit zunächst *in vitro* zu verfolgen und die *Photooxidationsprodukte* zu isolieren und zu identifizieren in der Hoffnung, daß eine dieser Komponenten im HKS-Test auch eine Hemmwirkung auf das Streckungswachstum isolierter Hypokotylsegmente ausübt.

Die Identifizierung der Photoproducte ergab, daß der photooxidative Abbau der IES durch UV-Strahlung wahrscheinlich über 3-Hydroxymethyl-oxindol, Indolaldehyd, 3-Methylenoxindol, 3-Methyloxindol zu Indol abläuft. Abb. 13 zeigt die hierzu entwickelte Modelltrennung der Photooxidationsprodukte der IES mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC).

Die Abbaukinetik der Photooxidationsprodukte ist in Abb. 14 dargestellt. Man erkennt in Abb. 14, daß die IES-Konzentration mit zunehmender Bestrahlungsdauer ab – und die der Photooxidationsprodukte zunimmt. 3-Hydroxymethyl-oxindol und Indolaldehyd findet man zu Beginn der Bestrahlung in höheren Konzentrationen, 3-Methyloxindol und Indol jedoch in geringeren Konzentrationen. 3-Methylenoxindol wird erst nach 1 h gebildet, steigt aber während der ganzen Bestrahlungszeit an.

Für die Hemmung der Hypokotylstreckung durch Photooxidationsprodukte kommen anhand der Abbaukinetik fünf Substanzen in Frage, von denen aber lediglich 3-Methylenoxindol (=3-M) mit der UV-Bestrahlung zunimmt und somit als potentieller Hemmkandidat in Frage kommt.

Die Applikation dieser Photooxidationsprodukte im Hypokotylsegmentstreckungstest ergab dann auch tatsächlich, daß lediglich 3-M die gewünschte Hemmwirkung ausübte (Abb. 15).

Aufgrund dieser Befunde stellt sich die Frage, ob auch *in vivo* 3-M bei der UV-Bestrahlung von Keimlingen aus IES entsteht. Mithilfe der HPLC-Trennmethode gelang es dann auch die Abnahme von IES sowie die Zunahme von 3-M in UV-bestrahlten Keimlingen nachzuweisen (Abb. 16).

Bei UV-bestrahlten Keimlingen wurde durch eine viertägige UV-Bestrahlung unter WG 305 die IES-Konzentration um 50 % erniedrigt und die 3-M Konzentration um 78 % erhöht (Abb. 16).

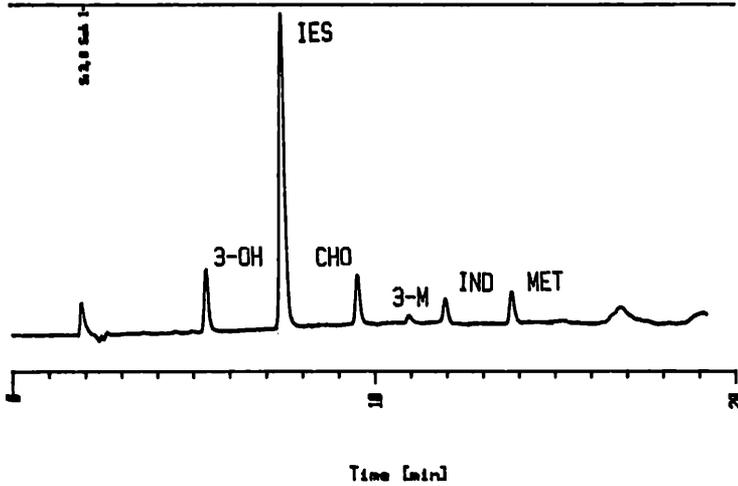
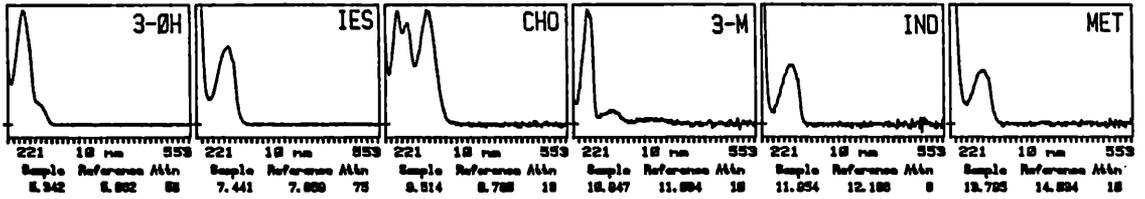
Die Daten, die an Sonnenblumenkeimlingen *in vivo* erzielt wurden, unterstützen somit auch die *in vitro* Versuche. Die auf diesen Ergebnissen basierende *IES-Zerstörungshypothese* wird in Abb. 17 noch einmal schematisch dargestellt.

### Zusammenfassung

Die Hemmung des Hypokotylwachstums durch UV-Strahlung beruht auf einer UV-abhängigen Photooxidation der IES. Hierbei wird IES in den Kotyledonen (Hormonbiosyntheseort) und im Hypokotyl (Hormonwirkort) photooxidativ abgebaut. Das Photooxidationsprodukt 3-Methylenoxindol (3-M) scheint die Komponente zu sein, die für die Hemmung des Hypokotylwachstums durch UV-Strahlung verantwortlich ist.

### 4. Wirkungen der UV-B-Strahlung auf die Photosynthese

Schädigende Effekte der UV-Strahlung, hauptsächlich von UV-C (200-280 nm), auf die Photosynthese von Algen und isolierten Chloroplasten



Inj. Time: 11.22  
 Att. Value: 50.0 (43.0)  
 Zero: 10X  
 Signal: Ac 3, 0 Set

Wavelength	1	2	3	4	5	6	7	8
430	0	0	0	0	0	0	0	0
470	0	0	0	0	0	0	0	0
520	0	0	0	0	0	0	0	0
550	0	0	0	0	0	0	0	0

3-OH : 3-HYDROXYMETHYLOXINDOL  
 IES : INDOL-3-ESSIGSAEURE  
 CHO : INDOLALDEHYD  
 3-M : 3-METHYLENOXINDOL  
 MET : 3-METHYLOXINDOL  
 IND : INDOL

Abbildung 13

Modelltrennung von IES und deren Photooxidationsprodukten nach 1 h UV-Bestrahlung; die Absorptionsspektren der Substanzen sind im oberen Teil der Abb. zu erkennen.

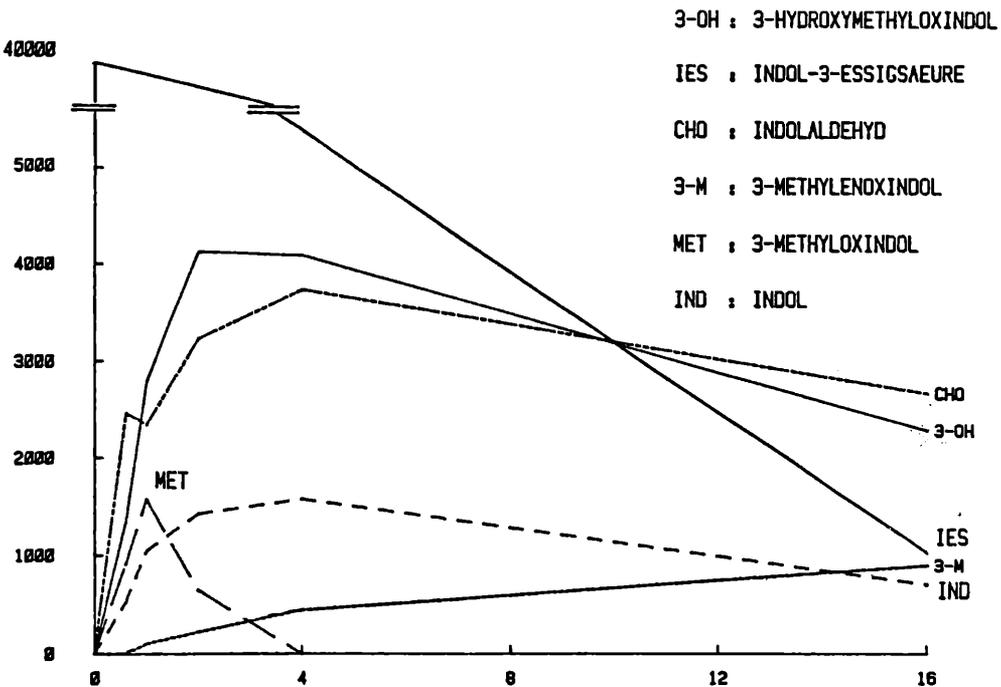


Abbildung 14

Zeitlicher Verlauf des photooxidativen Abbaus der IES durch UV (WG 305)

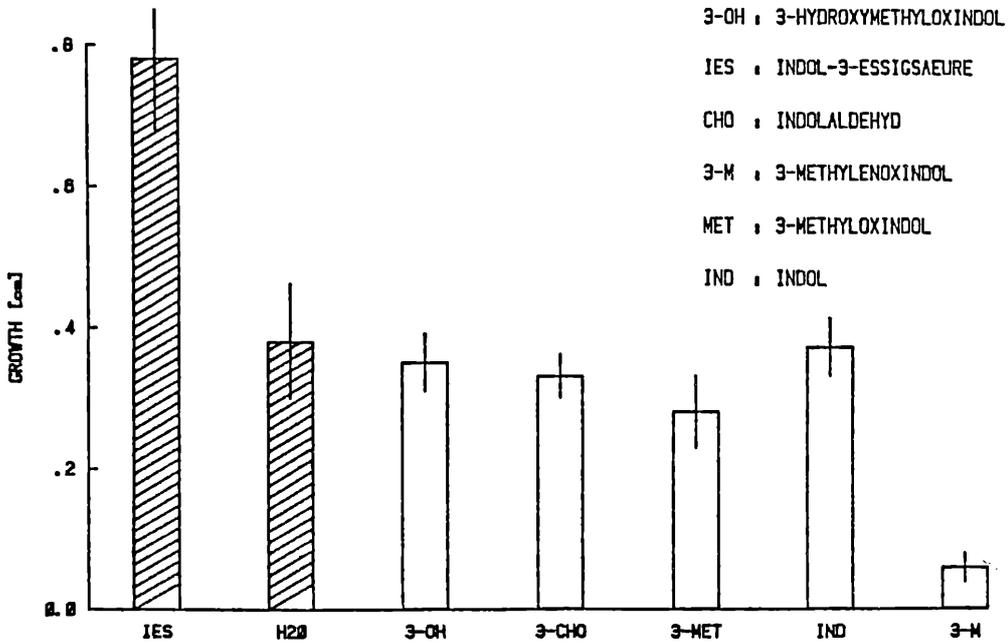


Abbildung 15  
HKS-Test in Photooxidationsproduktlösungen.

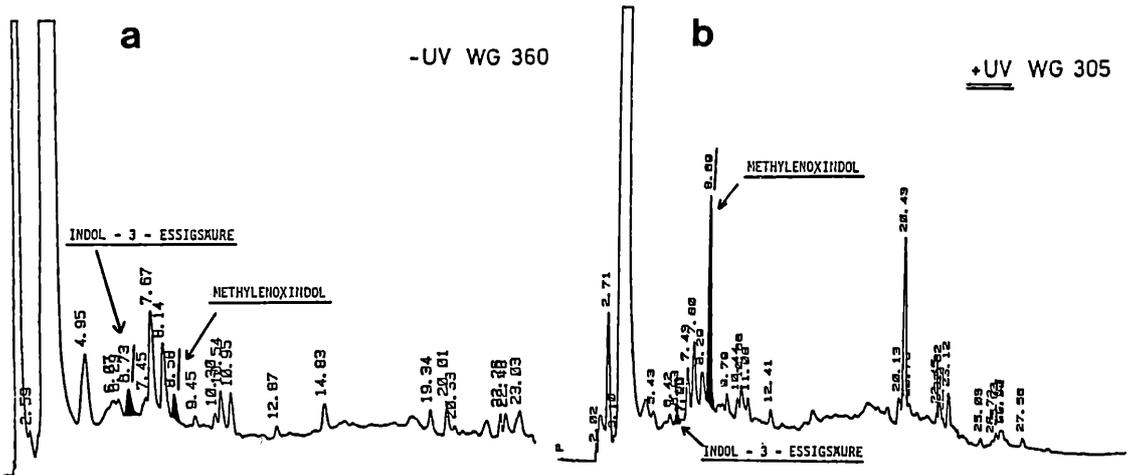


Abbildung 16  
Chromatogramm eines Extraktes von Sonnenblumenkeimlingen, die unter WG 360 (a) und WG 305 (b) angezogen wurden; der IES- und 3-Methylenoxindol-Peak ist markiert.

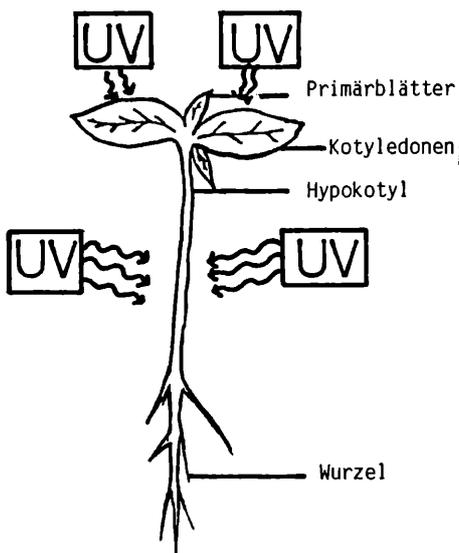


Abbildung 17  
IES-Zerstörungshypothese

sind gut dokumentiert<sup>14</sup>). Die sehr schädliche UV-C-Strahlung ist jedoch wegen ihrer Absorption durch das stratosphärische Ozon nicht im Tageslicht vorhanden. Es ist aber bekannt, daß erhöhte UV-B-Strahlung, die den kurzwelligen Bereich des globalen UV-Spektrums darstellt, die Photosynthese von UV-sensitiven Pflanzen ebenfalls hemmt<sup>(21), (22)</sup>). In der Streßphysiologie ist die Messung der Chlorophyllfluoreszenz geeignet, Veränderungen der photosynthetischen Prozesse zu erkennen und die Wirkungsmechanismen eines Stressors auf verschiedene Komponenten des photosynthetischen Apparates zu charakterisieren.

Bei Belichtung eines dunkeladaptierten Blattes geht die Induktion der photosynthetischen Prozesse einher mit der Abstrahlung von Fluoreszenzlicht, das hauptsächlich den Chlorophyllen des Photosystem II (PS II) entstammt. Die Wege der Ableitung von Anregungsenergie im PS II als Wärme und photochemische Nutzung für den Elektronentransport konkurrieren mit dem Prozess der Fluoreszenz, die durch diesen Zusammenhang spezielle In-

formationen über die Funktion des PS II und den Zustand seiner benachbarten Redoxkomponenten liefert (Abb. 18).

Eine Löschung (quenching) der Fluoreszenz wird nicht nur durch die Aktivität des Elektronentransports bewirkt (photochemical quenching,  $qQ$ ), sondern auch durch den Aufbau des pH-Gradienten über der Thylakoidmembran (energy quenching,  $qE$ ), welcher die ATP-Synthese antreibt und damit beeinflusst wird durch die sekundären ATP-verbrauchenden Prozesse. Die typische Kinetik der Chlorophyllfluoreszenz wird in der Ökophysiologie in zunehmendem Maße zur Interpretation der Photosynthesefunktion herangezogen (Abb. 19).

Die Parameter der Grundfluoreszenz ( $F_0$ ), der Maximalfluoreszenz ( $F_m$ ) und der variablen Fluoreszenz ( $F_v$ ) reflektieren den Zustand des PS II und dessen primäre Lichtreaktionen. Frühere Untersuchungen an Radieschenpflanzen zeigten, daß die Aktivität des PS II, gemessen an der variablen Fluoreszenz, in Abhängigkeit der UV-B-Bestrahlungsstärke und der Wellenlänge reduziert wird<sup>22</sup>). Da das QB-Protein unter moderater UV-B-Strahlung intakt bleibt, wurde die Abnahme der variablen Fluoreszenz durch eine Umwandlung der PS II-

Reaktionszentren in dissipative Senken erklärt<sup>13</sup>). Um weitere Einblicke in die Wirkungsweise der UV-B-Strahlung auf die primären und sekundären photosynthetischen Reaktionen zu erhalten, wurden mit dem PAM-Fluorometer die Effekte auf die Parameter der photochemischen ( $qQ$ ) und nicht-photochemischen ( $qE$ ) Löschung der Fluoreszenz bestimmt. Die Fluoreszenz erreicht wenige Sekunden nach der Belichtung ein Maximum und wird aufgrund des steigenden Elektronentransports, der mit der Induktion der Photosynthese einsetzt, gelöscht (Abb. 18 und 19). Die sättigenden Lichtblitze eliminieren im Verlauf der Fluoreszenzkinetik kurzzeitig die photochemische Löschung, wodurch der quench-Faktor  $qQ$  berechnet werden kann<sup>23</sup>). Analog wird aus der jeweiligen Differenz zur anfänglichen Maximalfluoreszenz der Faktor  $qE$  berechnet, der den Anteil der nichtphotochemischen Fluoreszenzlöschung bestimmt.

Sonnenblumenkeimlinge (*Helianthus annuus*, cv. *Polstar*) wurden bei 20°C angezogen und kontinuierlich mit Weißlicht und UV-B bestrahlt, das zu verschiedenen Anteilen durch eine Serie von cut-off Filtern eingestellt wurde (Abb. 1). Die Effekte verschiedener UV-B-Bestrahlungsstärken auf die

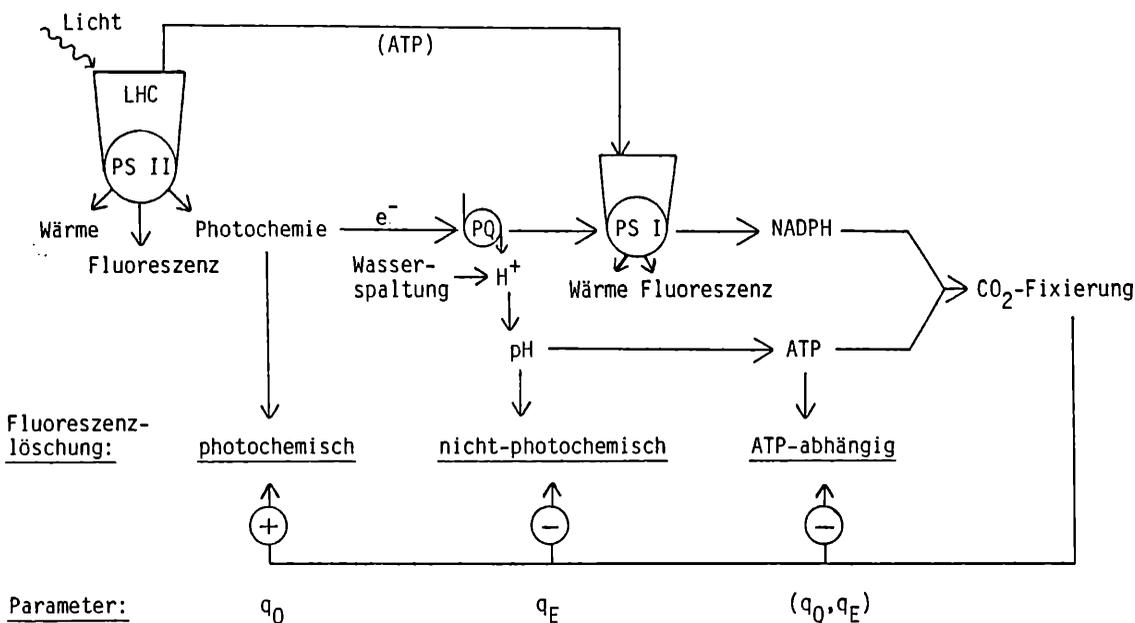


Abbildung 18

Schema der photosynthetischen Elektronentransportkette

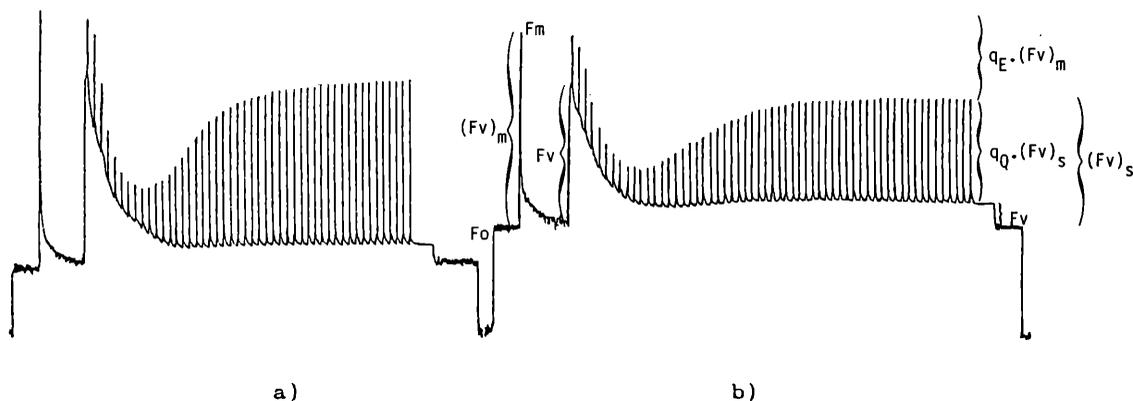


Abbildung 19

Fluoreszenzkinetiken zweier Sonnenblumenkeimlinge, die ohne (a) bzw. mit (b) UV-B angezogen wurden.

Fluoreszenz von Sonnenblumenkotyledonen wurden nach drei, sechs und zehn Tagen mit dem PAM Fluorometer bei 21°C gemessen. Tabelle 3 faßt die Parameter Fo, Fm und Fv zusammen. Fo wurde mit steigender UV-B-Bestrahlungsstärke erhöht. Nach sechs und zehn Tagen waren die Unterschiede bis zu 695 mW/m<sup>2</sup> ausgeglichen, während Fo unter der höchsten UV-B-Intensität von 1240 mW/m<sup>2</sup> signifikant erhöht wurde. Die variable- und die Maximalfluoreszenz veränderten sich nicht signifikant bis zu UV-B-Bestrahlungsstärken von 695 mW/m<sup>2</sup>, verglichen mit der Referenz, welche kein UV-B erhielt. Die Kotyledonen unter der höchsten UV-B-Bestrahlungsstärke zeigten abnehmende Werte von Fm und Fv.

Eine differenziertere Beurteilung der photosynthetischen Primärprozesse erlaubte die Auflösung des schnellen Fluoreszenzanstiegs unter einer hohen Lichtintensität. Sonnenblumen-Keimlinge wurden für 2 h verdunkelt und die Primärblätter anschließend durch einen Blitz von 1500 W/m<sup>2</sup> belichtet, wodurch zwei intermediäre Maxima I1 und I2 aufgelöst werden können<sup>24</sup>). Abb. 20 zeigt die Veränderung der Parameter Fo, I1, I2 und Fm unter verschiedenen UV-B-Bestrahlungsstärken. Wie in Keimblättern wurde auch bei Primärblättern die Abnahme der Maximalfluoreszenz (Fm) beobachtet. Die intermediären Maxima I1 und I2 verringerten sich ebenfalls, während sich Fo mit zunehmendem UV-B leicht erhöhte.

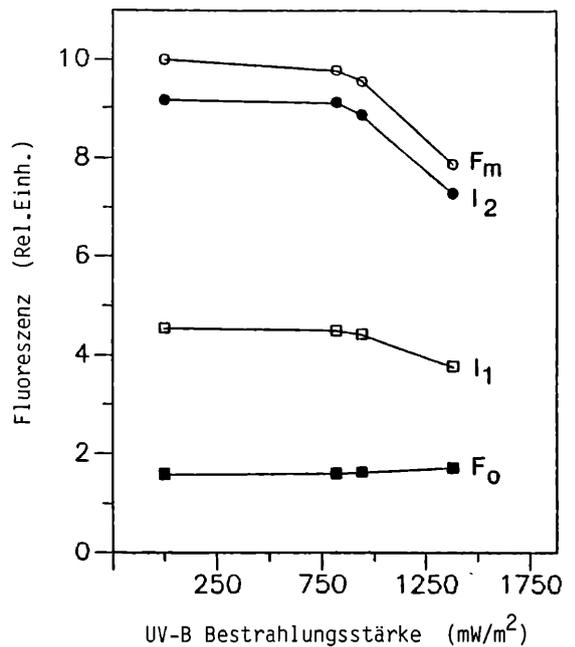
Die Phase I2-Fm wurde durch diese Bestrahlungsstärken wenig verändert.

Das Absinken von Fm bestätigt frühere Untersuchungen an anderen Spezies<sup>22</sup>). Aus den Befunden, daß künstliche Elektronendonatoren weder die durch UV-B reduzierte Hill-Aktivität restaurierten<sup>13</sup>) noch die erniedrigte Absorptionsänderung bei 320 nm wiederherstellten<sup>25</sup>), wurde geschlossen, daß die Reaktionszentren des PS II durch UV-B in dissipative Senken umgewandelt werden. TEVINI und PFISTER (1985) zeigten, daß die Aktivität der PS II  $\alpha$ -Zentren von isolierten Chloroplasten durch UV-B-Bestrahlung nahezu eliminiert wird. Eine erhöhte Konstante der dissipativen Wärmeabgabe von Anregungsenergie allein würde jedoch nicht das Ansteigen von Fo bewirken. Die Erklärung dieses Befundes ist wahrscheinlich eine eingeschränkte Effizienz des Excitonentransfers in der Antenne bzw. eine erniedrigte Rate der Photochemie von PS II. Sowohl die Absenkung von Fm als auch die Erhöhung von Fo nehmen mit fortdauernder Bestrahlungszeit zu und sind unter hohen Bestrahlungsstärken ausgeprägter. Eine UV-B Fluenzabhängig-

**Tabelle 3**

**Fluoreszenz-Parameter Fo, Fm und Fv von Sonnenblumenkotyledonen unter verschiedenen UV-B Bestrahlungsstärken**

UV-B (W/m <sup>2</sup> )	0	%	0.300	0.695	1.24	%
Fo 3d	1.36	100	1.43	1.52	1.58	116
Fo 6d	1.48	100	1.51	1.50	2.03	137
Fo 10d	1.65	100	1.71	1.70	2.39	145
Fm 3d	7.93	100	8.91	8.81	7.75	98
Fm 6d	8.34	100	8.10	8.15	6.92	82
Fm 10d	8.67	100	8.73	8.78	6.54	75
Fv 3d	4.59	100	4.71	5.06	4.01	87
Fv 6d	4.51	100	4.39	4.34	3.04	67
Fv 10d	4.75	100	4.64	4.79	2.89	61

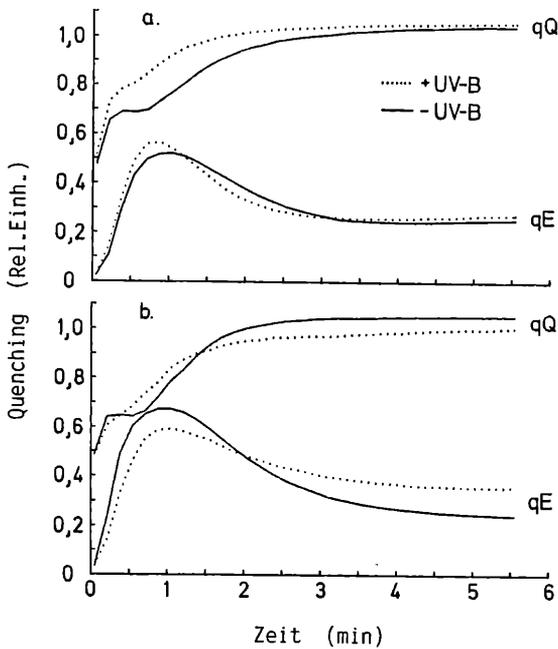


**Abbildung 20**

**Fluoreszenzparameter Fo, I1, I2 und Fm von Sonnenblumen-Primärblättern in Abhängigkeit der UV-B-Bestrahlungsstärke.** Die photosynthetisch aktive Strahlung (400-750 nm) in diesem Experiment betrug 90 W/m<sup>2</sup>.

keit dieser Effekte ist daher zu vermuten. Die Analyse des schnellen Fluoreszenzanstiegs bestätigt aufgrund der gleichmäßigen Absenkung von I1, I2 und Fm die Annahme, daß das PS II der primäre Wirkungsort der UV-B bedingten Photosyntheseschädigung ist.

Der zeitliche Verlauf der berechneten quench-Faktoren qQ und qE nach verschiedenen Zeiten der UV-B Exposition ist in Abb. 21 dargestellt. Keimlinge, die mit 1240 mW/m<sup>2</sup> UV-B bestrahlt wurden, zeigten nach drei Tagen ein größeres Q-quenching im anfänglichen Teil der Kinetik. Mit dem Erreichen des steady state waren die qQ-Werte jedoch nur noch geringfügig höher als bei den Referenzpflanzen ohne UV-B. Das energy-quenching (qE) zeigte bei Keimblättern unter erhöhtem UV-B nach drei Tagen einen stärkeren Anstieg und war im steady state ebenfalls etwas größer. Mit zunehmender UV-B-Exposition herrschte im steady state eine signifikant erniedrigte photochemische Fluoreszenzlöschung vor, während die erhöhten qE-Werte auf eine größere Energetisierung der Thylakoide schließen läßt.



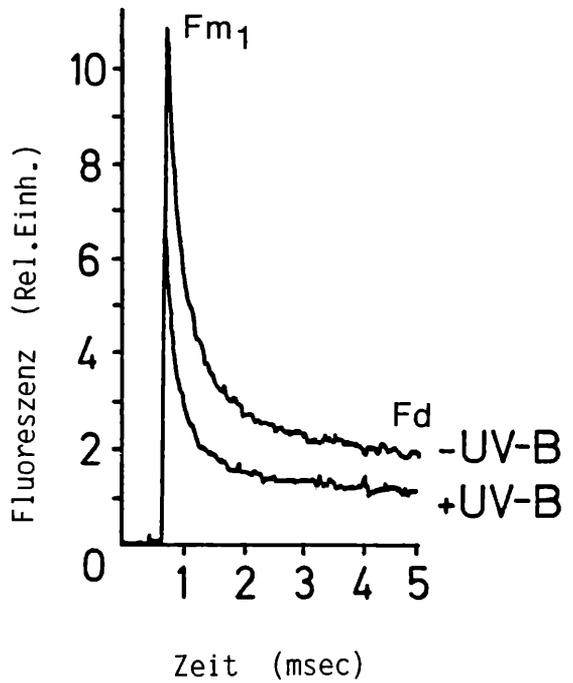
**Abbildung 21**

**Quenching-Koeffizienten  $qQ$  und  $qE$  von Sonnenblumenkotyledonen, die ohne (durchgezogen) bzw. mit  $1240 \text{ mW/m}^2$  UV-B (punktiert) angezogen wurden.** Die Bestrahlungszeit betrug drei (21a) bzw. zehn Tage (21b). Die  $qQ$ -Werte in der Graphik sind um 0.2 erhöht.

Eine Ursache für die gleichzeitige Erhöhung von  $qQ$  und  $qE$  (Abb. 21a) ist möglicherweise eine state 1/ state 2-Transition, welche den zyklischen Elektronentransport um PS I erhöht, das weniger UV-sensitiv ist als PS II. Es ist jedoch noch nicht gesichert, ob möglicherweise weitere UV-B-induzierte quench-Mechanismen oder veränderte Membraneigenschaften die Charakteristika der Fluoreszenzlöschung beeinflussen. Der vorherrschende Effekt auf die quench-Faktoren im steady state ist nach zehntägiger UV-B-Bestrahlung die deutlich abnehmende photochemische Fluoreszenzlöschung, die einen mehr reduzierten Zustand der Elektronentransportkette anzeigt, mit einem gleichzeitigen signifikant erhöhten energy-quenching, das auf eine Hemmung der ATP-verbrauchenden Prozesse hinweist. Eine beträchtliche Hemmung des linearen Elektronentransports durch längere UV-B-Bestrahlung ist daher zu vermuten. Eine reduzierte Aktivität der Ribulose-1,5-Bisphosphat Carboxylase konnte nach hohen UV-B-Bestrahlungsstärken beobachtet werden<sup>26)</sup>. Eine leichte Schädigung der Spaltöffnungen, UV-absorbierender Enzyme oder eine geringe Verarmung an Metaboliten nach dreitägiger UV-B-Bestrahlung könnte sich möglicherweise nicht auf die Kinetiken der quench-Faktoren auswirken, wenn die Prozesse der  $\text{CO}_2$ -Fixierung bei einer Intensität des aktinischen Lichts von  $9 \text{ W/m}^2$  nicht die Photosynthese limitieren. Die Sonnenblume ist bekannt für eine sehr hohe Lichtsättigung der  $\text{CO}_2$ -Fixierung.

Fluoreszenz-Abklingkinetiken von Sonnenblumen-Primärblättern wurden in Anschluß an einen sättigenden „single-turnover“-Blitz aufgenommen. Abb. 22 zeigt Beispiele zweier Kurven von Pflanzen unter erhöhtem bzw. ohne UV-B, und Tab. 4 faßt die verschiedenen Parameter zusammen.

Das Fluoreszenzmaximum, induziert durch einen sättigenden Blitz von weniger als einer ms Dauer,



**Abbildung 22**

**Fluoreszenz-Abklingkinetiken von Sonnenblumen-Primärblättern, die ohne bzw. mit  $1240 \text{ mW/m}^2$  UV-B anwuchsen.**

stellt nicht das reale Maximum dar<sup>27)</sup>. Das hier erzielte Maximum wurde daher als „Fm1“ bezeichnet und sollte dem Transienten I1 (Abb. 14) bei saturierender Belichtung entsprechen. Der Fluoreszenzwert nach Abklingen während einer Dunkelphase von 5 ms wird als „Fd“ bezeichnet. Der Fluoreszenzabfall zeigte ein zweiphasiges Muster, das bei den Pflanzen unter erhöhtem UV-B deutlicher zu erkennen ist (Abb. 22). Eine schnelle Phase von weniger als 1 ms spiegelt die Reoxidation von  $\text{QA}^- \text{QB}$  zu  $\text{Qr QB}^-$  wider<sup>28)</sup>. Da die Abklingkinetik bis zu 5 ms zum Großteil durch die schnelle Komponente verursacht wird, wurde die Reoxidation von  $\text{QA}^-$  durch die Halbwertszeit des Fluoreszenzabfalls von Fm1 auf Fd bemessen.

**Tabelle 4**

**Parameter der Fluoreszenz-Abklingkinetiken von Sonnenblumen-Primärblättern unter verschiedenen UV-B-Bestrahlungsstärken.**

UV-B( $\text{W/m}^2$ )	0	0.695	0.830	1.24
Fm1 - Fo	7.82	6.62	5.39	4.54
Fd - Fo	1.59	1.21	0.88	0.76
Fm1 - Fd				
- -	0.797	0.817	0.837	0.834
Fm1 - Fo				
$t_{1/2}$ (ms)	0.326	0.261	0.183	0.184
$t_{1/2}/\text{Fm1}$	0.042	0.039	0.034	0.040

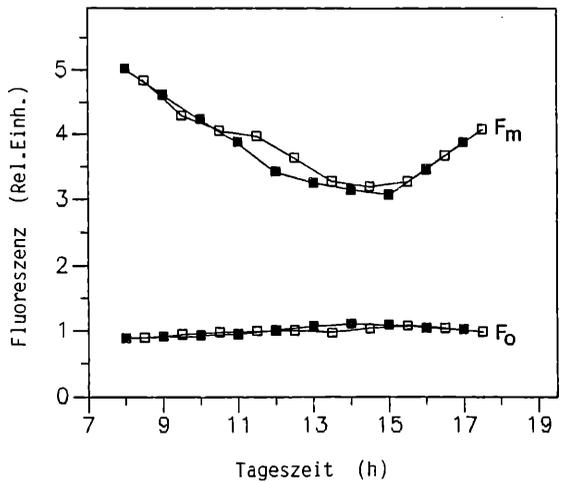
Steigende UV-B-Bestrahlungsstärken erniedrigen zunehmend die Beträge von Fm1 und Fd, während UV-B-Bestrahlungsstärken von mehr als  $830 \text{ mW/m}^2$  die Halbwertszeit des Fluoreszenzabfalls nicht weiter verkürzten (Tab. 4). Bezogen auf die Größe von Fm1 zeigt sich daher unter der höchsten UV-B-Bestrahlungsstärke eine Erhöhung der Halbwertszeit ( $t_{1/2}/\text{Fm1}$ ) und läßt demnach auf eine verzögerte Reoxidation des ersten stabilen Elektronenakzeptors QA schließen. Abnehmende Werte der

Halbwertszeit des Fluoreszenzabfalls bezogen auf Fm1 mit steigenden UV-B-Bestrahlungsstärken bis zu  $830 \text{ mW/m}^2$  sind wahrscheinlich auf eine Schädigung des PS II zurückzuführen. Die Zunahme von  $t_{1/2}/Fm1$  bei Erhöhung der UV-B-Bestrahlungsstärke auf  $1240 \text{ mW/m}^2$  deutet jedoch auf einen sekundären Wirkungsort auf der PS II-Akzeptorseite hin, der auf einer Schädigung von UV-absorbierenden Chinonen oder des QB-Proteins beruhen könnte. Letzteres wurde allerdings bisher nicht gefunden<sup>13)</sup>. Wie in der Einleitung erwähnt, ist die ökologische Relevanz von Prognosen über eine reduzierte Ozonschichtdicke beschränkt durch die Aussagekraft von Experimenten, die mit artifiziellen optischen Systemen durchgeführt werden, die bekanntlich andere Strahlungseigenschaften aufweisen als die Globalstrahlung. Um die Effekte von künstlicher und natürlicher UV-B-Strahlung auf das Fluoreszenzverhalten zu vergleichen, wurden Sonnenblumenkeimlinge unter der natürlichen Strahlung eines mediterranen Standorts (Caparica, Portugal,  $38^\circ\text{N}$ ) angezogen, wo die UV-B-Bestrahlungsstärken für mitteleuropäische Verhältnisse erhöhte Werte darstellen. Die UV-B-Strahlung wurde für eine Referenzgruppe von Pflanzen durch Ozon reduziert, das durch eine Plexigasküvette auf dem Klimaschrank strömte, während die zweite Pflanzengruppe unter einer luftgefüllten Küvette erhöhten UV-B-Bestrahlungsstärken ausgesetzt war.

Die UV-B-Bestrahlungsstärke unter der luftgefüllten Küvette simulierte eine Destruktion der Ozonschicht von etwa 12 %. Die durchschnittliche UV-B-Bestrahlungsstärke im August betrug zum Sonnenhöchststand  $1,30 \text{ W/m}^2$  unter der luftgefüllten Küvette und  $0,99 \text{ W/m}^2$  unter der ozondurchströmten Küvette, was einer relativen UV-B-Abschwächung von etwa 24 % entspricht. Die berechneten täglichen UV-B-Dosen betragen 20,1 bzw.  $16,2 \text{ kJ/m}^2$ , was einer Abschwächung von 19,5 % entspricht.

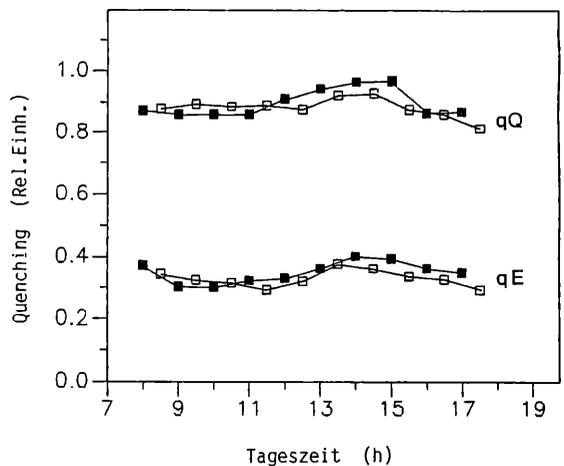
Die Fluoreszenzparameter der Sonnenblumenkeimlinge, die unter der natürlichen Strahlung anwachsen, durchliefen charakteristische Tagesgänge (Abb. 23 und 24). In beiden Pflanzengruppen sank die Maximalfluoreszenz auf ein Minimum kurz nach Sonnenhöchststand und stieg am Nachmittag wieder an. Die Grundfluoreszenz zeigte über Mittag einen leichten reversiblen Anstieg. Beide Strahlungsbedingungen bewirkten ein annähernd gleiches Absinken der Maximalfluoreszenz am Morgen. Fm sank über Mittag etwas stärker bei Pflanzen unter erhöhtem UV-B, stieg jedoch am Nachmittag wieder auf gleiche Werte wie bei den Kontroll-Keimlingen unter reduziertem UV-B. Das Fo-Maximum war etwas größer unter erhöhtem UV-B. Die reversible Abnahme von Fm mit der gegenläufigen Zunahme der natürlichen Strahlungsintensität am Morgen stellen vermutlich eine Adaptation an hohe Bestrahlungsstärken dar. Eine photoinhibitorische Schädigung scheint nicht vorzuliegen, da die Pflanzen unter den gleich hohen Strahlungsbedingungen angezogen wurden und Fm sich nach Sonnenhöchststand wieder erholt. Ferner sollten UV-Schäden irreversibel sein<sup>29)</sup>. Die stärker erniedrigte Maximalfluoreszenz unter erhöhtem natürlichem UV-B kann daher interpretiert werden als eine verstärkte Reaktion auf Starklicht.

Die ebenfalls reversible Fo-Erhöhung, die mit der Abnahme von Fm einherging, war unter erhöhtem UV-B etwas stärker ausgeprägt, wenn auch nicht signifikant erhöht gegenüber den Referenzpflanzen



**Abbildung 23**

**Tagesgang von Fm und Fo bei Sonnenblumenkotyledonen, die unter erhöhtem (geschlossene Symbole) bzw. reduziertem natürlichem UV-B (offene Symbole) anwachsen.**



**Abbildung 24**

**Tagesgang von qQ und qE im steady state (10 min.) bei Sonnenblumenkotyledonen, die unter erhöhtem (geschlossene Symbole) bzw. reduziertem natürlichem UV-B (offene Symbole) anwachsen.**

unter erhöhtem UV-B. Ein Fo-Anstieg wurde ebenfalls nach Photoinhibition beobachtet, und die Abnahme von Fm relativ zu Fo bzw. das Verhältnis  $(Fv)/Fm$ , das in den Stunden der höchsten Strahlungsexposition bei den Keimlingen unter erhöhtem UV-B beobachtet wurde, kann mit einer verminderten Quantenausbeute der Wasserspaltung korreliert werden<sup>30)</sup>.

Das photochemische quenching (qQ) im steady state war in den Vormittagsstunden konstant und etwas größer unter reduziertem UV-B. Das Energyquenching (qE) sank in den Morgenstunden etwas ab. Beide quench-Faktoren durchliefen über Mittag ein Maximum, das sowohl im Fall von qQ als auch von qE größer war in Keimlingen unter erhöhtem UV-B, wobei qE auch am Nachmittag noch deutlich höher war als in Keimlingen unter reduziertem UV-B. Die über Mittag größeren Werte von qQ und qE unter erhöhtem natürlichem UV-B ähneln den ebenfalls im steady state erhöhten Faktoren der Keimlinge, die drei Tage mit artifiziell UV-B bestrahlt wurden (Abb. 21a). Ob es sich hierbei um den gleichen Mechanismus handelt, kann noch nicht sicher bestätigt werden.

Im Vergleich der Effekte artifizierlicher und natürlicher UV-B-Strahlung auf die Chlorophyllfluoreszenz zeigen sich gewisse Parallelen, wenn auch mit unterschiedlicher Ausprägung und zeitlicher Dauer, so daß auch unter erhöhter natürlicher Globalstrahlung mit Veränderungen der Photosynthesefunktion zu rechnen ist.

## 5. Literatur

- 1) A.H. TERAMURA (1986):  
Overview of our current state knowledge of UV effects on plants; in: J.G. TITUS (ed.): Effects of changes in stratospheric ozone and global climate. – EPA, Vol. 1, 165-173.
- 2) M. TEVINI, U. THOMA and W. IWANZIK (1983):  
Effects of enhanced UV-B radiation on germination, seedling growth, leaf anatomy and pigments of some crop plants. – Z. Pflanzenphysiol. 109, 435-448.
- 3) A.H. TERAMURA (1983):  
Effects of ultraviolet-B radiation on the growth and yield of crop plants. – Physiol. Plant. 58, 415-427.
- 4) M. TEVINI, D. STEINMÜLLER and W. IWANZIK (1986):  
Über die Wirkung von UV-B-Strahlung in Kombination mit anderen Stressfaktoren auf Wachstum und Funktion von Nutzpflanzen; Gesellschaft f. Strahlen- und Umweltforschung mbH, München; BPT Bericht.
- 5) M.M. CALDWELL, L.B. CAMP, C.W. WARNER and S.D. FLINT (1986):  
Action spectra and their key role in assessing biological consequences of solar UV-B radiation; in: R.C. WORREST and M.M. CALDWELL (eds.): Stratospheric ozone reduction, solar ultraviolet radiation and plant life; Springer-Verlag Heidelberg, 87-111.
- 6) D. STEINMÜLLER (1986):  
Zur Wirkung ultravioletter Strahlung (UV-B) auf die Struktur von Blattoberflächen und zur Wirkungsmechanismen bei der Akkumulation und Biosynthese der Kutikularlipide einige Nutzpflanzen; Karlsruher Beiträge zur Entwicklungs- und Ökophysiologie der Pflanzen (Hrsg.: M. TEVINI), Nr. 6, Universität Karlsruhe.
- 7) M. TEVINI, U. MARK and P. GRUSEMANN (1988):  
Die Wirkung erhöhter UV-B-Strahlung auf Wachstum und Funktion von Nutzpflanzen bei Ausnutzung der Sonnenstrahlung eines mediterranen Standortes; Yearly Report, KBF 51, Gsf München.
- 8) M. TEVINI, W. IWANZIK and A.H. TERAMURA (1983):  
Effects of UV-B radiation on plants during mild water stress II. Effects on growth, protein and flavonoid content. – Z. Pflanzenphysiol. 110, 459-467.
- 9) N.S. MURALI and A.H. TERAMURA (1986):  
Effectiveness of UV-B radiation on the growth and physiology of field grown soybean modified by water stress. – Photochem. Photobiol. 44, 215-219.
- 10) A.H. TERAMURA, M. TEVINI and W. IWANZIK (1983):  
Effects of ultraviolet-B irradiation on plants during mild water stress I. Effects on diurnal stomatal resistance. – Physiol. Plant. 57, 175-180
- 11) L. NEGASH and L.O. BJÖRN (1986):  
Stomatal closure by ultraviolet radiation. – Physiol. Plant. 66, 360-364
- 12) L. NEGASH, P. JENSEN and L.O. BJÖRN (1987):  
Effect of ultraviolet radiation on accumulation and leakage of  $^{86}\text{Rb}^+$  in guard cells of *Vicia faba*. – Physiol. Plant. 69, 200-204.
- 13) M. TEVINI and K. PFISTER (1985):  
Inhibition of photosystem II by UV-B radiation. – Z. Naturforsch. 40c, 129-133.
- 14) G. RENGER, M. VOSS, P. GRÄBER and A. SCHULZE (1986):  
Effect of UV irradiation on different partial reactions of the primary processes of photosynthesis; in: R.C. WORREST and M.M. CALDWELL (eds.): Stratospheric ozone reduction, solar ultraviolet radiation and plant life; Springer Verlag, 171-184.
- 15) E. WELLMANN (1983):  
UV radiation in photomorphogenesis; in: W. SHROPSHIRE Jr. and H. MOHR (eds.): Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 16B, Photomorphogenesis; Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 745-756.
- 16) C.J. BEGGS, E. WELLMANN and H. GRISEBACH (1986):  
Photoccontrol of flavonoid biosynthesis; in: R.E. KENDRICK and G.H.M. KRONENBERG (eds.): Photomorphogenesis in plants; Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht, Netherlands, 467-499.
- 17) R. ROBBERECHT and M.M. CALDWELL (1986):  
Leaf optical properties of *Rumex obtusifolius* L. in regard to a protective mechanism against solar UV-B radiation; in: R.C. WORREST and M.M. CALDWELL (eds.): Stratospheric ozone reduction, solar ultraviolet radiation and plant life; Springer-Verlag, Heidelberg, 251-259.
- 18) M. TEVINI and D. STEINMÜLLER (1987):  
Influence of Light, UV-B Radiation and Herbicides on Wax Biosynthesis of Cucumber Seedlings. – J. Plant Physiol. 131, 111-121.
- 19) G. ENGELSMA (1974):  
On the Mechanism of the Changes in Phenylalanine Ammonia-Lyase Activity Induced by Ultraviolet and Blue Light in Gherkin Hypocotyls. – Plant Physiol. 54, 702-705.
- 20) M. SCHULZ and G. WEISSENBOCK (1986):  
Isolation and Separation of Epidermal and Mesophyll Protoplasts from Rye Primary Leaves. Tissue-Specific Characteristics of Secondary Phenolic Product Accumulation. – Z. Naturforsch. 41c, 22-27.
- 21) W. IWANZIK (1983):  
Wirkung von UV-Strahlung auf das Wachstum von Keimlingen und die Zusammensetzung und photosynthetische Aktivität von Blättern und isolierten Chloroplasten; Karlsruher Beiträge zur Entwicklungsphysiologie der Pflanzen (Hrsg.: M. TEVINI), Nr. 5, Universität Karlsruhe.
- 22) M. TEVINI and W. IWANZIK (1983):  
Inhibition of photosynthetic activity by UV-B radiation in radish seedlings. – Physiol. Plant 58, 395-400.
- 23) U. SCHREIBER, U. SCHLIWA and W. BILGER (1986):  
Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. – Photosynth. Res. 10, 51-62.
- 24) C. NEUBAUER and U. SCHREIBER (1987):  
The polyphasic rise of chlorophyll fluorescence upon onset of strong continuous illumination: I. Saturation characteristics and partial control by the photosystem II acceptor side. – Z. Naturforsch. 42 c, 1246-1254.
- 25) W. IWANZIK, M. TEVINI, G. DOHNT, M. VOSS, W. WEISS, P. GRÄBER and G. RENGER (1983):  
Action of UV-B radiation on photosynthetic primary reactions in spinach chloroplasts. – Physiol. Plant. 58, 401-407.

**26)** C.V. VU, L.H. ALLEN and L.A. GARRARD (1984):  
Effects of enhanced UV-B radiation (280-320 nm) on Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase in Pea and Soybean.-*Environm. Experim. Bot.* 24, No. 2, 131-143.

**27)** U. SCHREIBER (1986):  
Detection of rapid induction kinetics with a new type of high-frequency modulated chlorophyll fluorometer. – *Photosynth. Res.* 9, 261-272.

**28)** A.R. CROFTS and C.A. WRAIGHT (1983):  
The electrochemical domain of photosynthesis. – *Biochim. Biophys. Acta* 726, 149-185.

**29)** L.O. BJÖRN, J.F. BORNMAN and E. OLSSON (1986):  
Effects of ultraviolet radiation on fluorescence induction kinetics in isolated thylakoids and intact leaves; in: *Stratospheric Ozone Reduction, Solar Ultraviolet Radiation and Plant Life* (Worrest AC and Caldwell MM., ed.). NATO ASI Series G: Ecological Sciences, Vol. 8, Springer Berlin, 185-197.

**30)** B. DEMMIG, K. WINTER, A. KRÜGER and F.C. CZYGAN (1987):  
Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves. – *Plant Physiol.*, 84, 218-224.

**Anschrift der Verfasser:**

Prof. Dr. Manfred Tevini u. Mitarbeiter  
Botanisches Institut II  
Universität Karlsruhe  
Kaiserstr. 12  
D - 7500 Karlsruhe

# Die Wirkung von UV-B auf die photoperiodische Steuerung der Blütenbildung.

W. Rau und H. Hofmann

## 1. Einleitung und Problemstellung

### 1.1. Photoperiodische Steuerung der Blütenbildung

Es ist seit langem bekannt, daß bei vielen Pflanzen die Blütenbildung, d.h. die Umsteuerung des Vegetationspunkts von der Bildung vegetativer Organe zur Ausbildung von Blüten, von der Tageslänge abhängt. Diese, von GARNER und ALLARD (1920) erstmals als „Photoperiodismus“ bezeichnete Steuerung kommt nicht nur bei der Blütenbildung, sondern auch bei anderen Entwicklungsprozessen von Pflanzen und Tieren vor. Eine solche Abhängigkeit des Blühzeitpunkts von der täglichen Lichtdauer ist für die Pflanzen von großer ökologischer Bedeutung: Sie ermöglicht den Pflanzen – und zwar unabhängig von Witterungsbedingungen, wie z.B. Temperatur – diejenige Jahreszeit zu messen, die sich im Laufe der Evolution als die günstigste für die Ausbildung von Blüten und dann von Früchten und Samen erwiesen hat.

Abgesehen von den Pflanzenarten, bei denen die Blütenbildung nicht von der Tageslänge gesteuert wird und die man deshalb als „tagneutral“ bezeichnet (z.B. Gänseblümchen, Gartenerbsen), unterscheidet man zwei Haupttypen von photoperiodisch gesteuerten Arten: Solche, bei denen die Blütenbildung durch Verkürzung der täglichen Lichtdauer gefördert wird, sog. „Kurztag-Pflanzen“ (z.B. Weihnachtstern, manche Chrysanthemen) und solche, bei denen die Blütenbildung durch Verlängerung der Tageslänge gefördert wird, sog. „Langtagpflanzen“ (z.B. Kopfsalat, Spinat, einheimische Getreidearten). Bei manchen dieser Pflanzen ist die Regulation so strikt, daß sie oberhalb (Kurztagpflanzen) oder unterhalb (Langtagpflanzen) einer bestimmten Tageslänge (sog. „kritische“ Tageslänge) überhaupt nicht blühen.

Die Grundtatsachen der photoperiodischen Steuerung der Blütenbildung werden in den gängigen Lehrbüchern der Botanik behandelt und wurden in Einzelheiten in verschiedenen zusammenfassenden Artikeln und Büchern dargestellt (z.B. VINCEPRUE, 1975). Deshalb wird hier nur kurz auf einige Probleme für die Erklärung des Mechanismus der Steuerung hingewiesen, die auch zum Verständnis der im folgenden geschilderten Untersuchungen wichtig sind.

Die Messung der Tageslänge erfolgt in den Blättern, die Reaktion – d.h. die Ausbildung von Blüten – dagegen am Vegetationspunkt. Damit besteht für die Pflanze das Problem, wie sie das physikalische Signal „Licht“ im Blatt in ein biochemisches Signal umsetzt, das dann zum Vegetationspunkt transportiert werden muß. CHAILAKHYAN (1936) hat die Hypothese aufgestellt, daß in den Blättern ein Blühstimulus gebildet wird, den er

„Florigen“ nannte, der dann am Vegetationspunkt die Umsteuerung bewirkt. Später wurde von anderen Autoren ein „Blühhemmstoff“ postuliert, der allein oder im Zusammenspiel mit dem Stimulus regulierend wirkt. Unabhängig davon, welche Hypothese sich letztlich als richtig erweist, muß man aber annehmen, daß im Blatt die Bildung von Enzymen an- oder abgeschaltet wird, die für die Synthese solcher Stoffe verantwortlich sind. Nach unserem heutigen Wissen erfolgt die Regulation der Enzyymbildung in vielen Fällen über eine Änderung der Genaktivität und damit über die Neubildung von messenger-RNA (m-RNA).

### 1.2. Photorezeptoren

Wie schon oben gesagt wurde, erfolgt die Messung der Tageslänge in den Blättern. Durch welche Photorezeptoren das für die Steuerung der Blütenbildung verantwortliche Licht absorbiert wird, ist noch nicht endgültig geklärt. Für die Photoregulation der pflanzlichen Entwicklung kennt man 3 Haupttypen von Wirkungsspektren (Abb. 1): Induktions-Reversions-Reaktionen, die ausschließlich über das Phytochrom erfolgen (z.B. die Keimung mancher Samen), Reaktionen, die nur durch UV/Blau-Licht ausgelöst werden (z.B. Phototropismus) und für die man als Photoreceptor(en) ein noch unbekanntes „Cryptochrom“ annimmt und schließlich die sog. „Hochintensitäts-Reaktionen“, an denen möglicherweise beide Photorezeptoren beteiligt sind.

Über die Rolle des kürzerwelligen UV bei der Regulation der Entwicklung ist für Pilze einiges bekannt, z.B. bei der Ausbildung von Sporen (Lit. siehe GRESSEL und RAU, 1983). Die Ergebnisse bei höheren Pflanzen werden im Beitrag von Prof. WELLMANN in diesem Band behandelt.

### 1.3. Das UV-B-Problem

Das Problem einer erhöhten UV-B-Strahlung durch einen eventuellen Abbau der Ozon-Schicht ist hinlänglich bekannt. Abgesehen von einigen älteren Angaben war aber nichts darüber bekannt, ob UV-B die photoperiodische Steuerung der Blütenbildung beeinflusst. Würde UV-B eine solche Wirkung ausüben, so könnte bei entsprechend reagierenden Pflanzen der Zeitpunkt der Blüte verschoben werden, was für sie entscheidende Konsequenzen bei der rechtzeitigen Ausbildung von Samen haben würde.

Ausgangspunkt für die im folgenden dargestellten Untersuchungen war deshalb zunächst die Frage, ob UV-B-Bestrahlung überhaupt eine Wirkung auf die Blütenbildung hat. Falls dies der Fall ist, sollte weiterhin versucht werden zur Klärung des Problems beizutragen, auf welche Weise UV-B wirkt, d.h. welche Mechanismen dabei eine Rolle spielen.

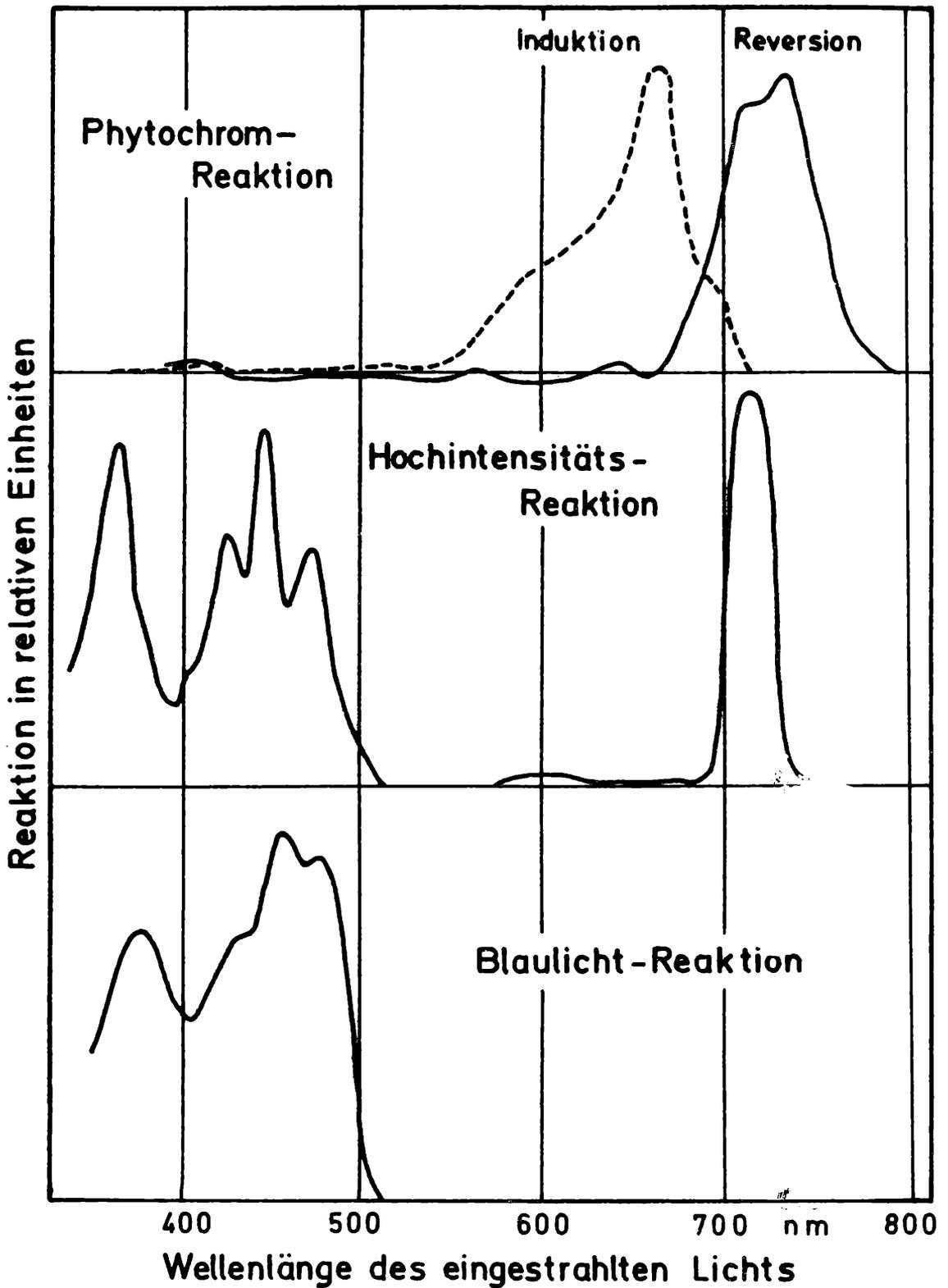


Abbildung 1

Vergleich der bei höheren Pflanzen ermittelten Typen von Wirkungsspektren für die Regulation der Entwicklung (aus RAU, 1975).

## 2. Die untersuchten Systeme

Als Untersuchungsobjekte wurden zwei Langtagpflanzen verwendet, deren photoperiodische Reaktion wir seit langem untersuchen oder die wir in letzter Zeit geprüft haben; sie werden im folgenden kurz vorgestellt. Außerdem wird auf die verwendete UV-B-Strahlungsquelle eingegangen.

### 2.1. *Hyoscyamus niger*

Diese Pflanze, zu deutsch Bilsenkraut (Solanaceae), hat eine „kritische“ Tageslänge von ca. 11 Stunden. Im Kurztag von ca. 10 Stunden bildet sie eine Blattrosette und blüht nicht, bis die Pflanze abstirbt. Beim Übergang zur Blütenbildung streckt sich die Sprossachse (die Pflanze „schießt“ oder „schoßt“).

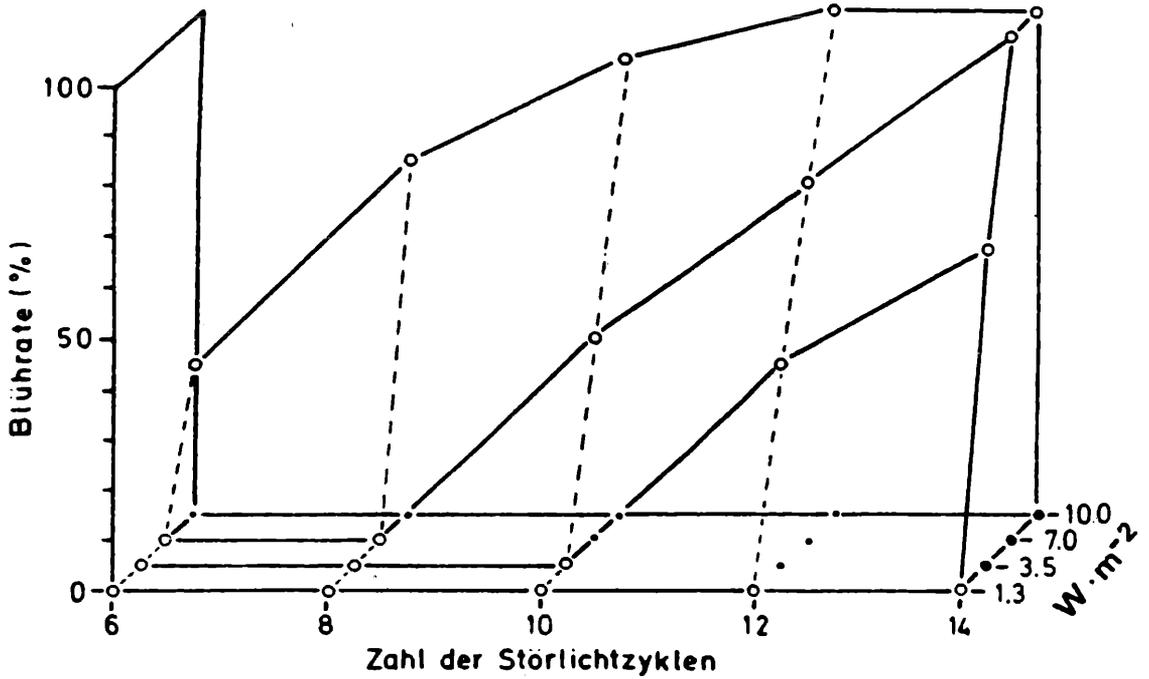


Abbildung 2

**Abhängigkeit der Blütrate von der Bestrahlungsstärke und der Zahl der Störlichtzyklen.** Die Hauptlichtperiode betrug 10 Stunden Weißlicht; das hellrote Störlicht dauerte 45 min. (nach WARM und RAU, 1982).

Eine Auslösung der Blütenbildung – die photoperiodische „Induktion“ – ist bereits durch wenige Tage Dauerbelichtung möglich, wobei die Mindestzahl von Dauerlichttagen bei 3-4 liegt, d.h. daß dadurch nahezu alle Pflanzen induziert sind. Als Kriterium für Blütenbildung wird das Vorhandensein von Blütenanlagen am Vegetationspunkt ca. 30 Tage nach der Behandlung verwendet. *Hyoscyamus* kann aber außer durch Dauerbelichtung auch dadurch induziert werden, daß man die tägliche Dunkelzeit durch kurze Belichtung unterbricht (sog. „Störlicht“), wobei allerdings eine längere Behandlung erforderlich ist (Abb. 2). Wirksam ist bei dieser Reaktion nur hellrotes Licht.

### 2.2. *Arabidopsis thaliana*

Diese Pflanzenart, zu deutsch Ackerschmalwand

(Brassicaceae), zeichnet sich durch schnelle Entwicklung (nur wenige Wochen von Aussaat bis Samenreife) sowie durch ihre geringe Größe (Durchmesser der Rosette wenige cm) aus. Sie bildet im vegetativen Zustand eine Rosette und schießt wie *Hyoscyamus* beim Übergang zur Blütenbildung. In Europa, N-Afrika und N-Amerika gibt es eine Vielzahl von Populationen, die nach ihrem Fundort benannt und von Prof. KRANZ an der Universität Frankfurt in einer Samenbank gesammelt werden. Aufgrund ihres Blühverhaltens sind alle Populationen als Langtagpflanzen einzustufen. Für photoperiodische Untersuchungen haben sie aber den Nachteil, daß sie im Gegensatz zu *Hyoscyamus* auch im Kurztag nach längerer Kultur blühen. Genauere Kenntnisse über ihre photoperiodische Reaktion lagen nicht vor; diese wurde deshalb an

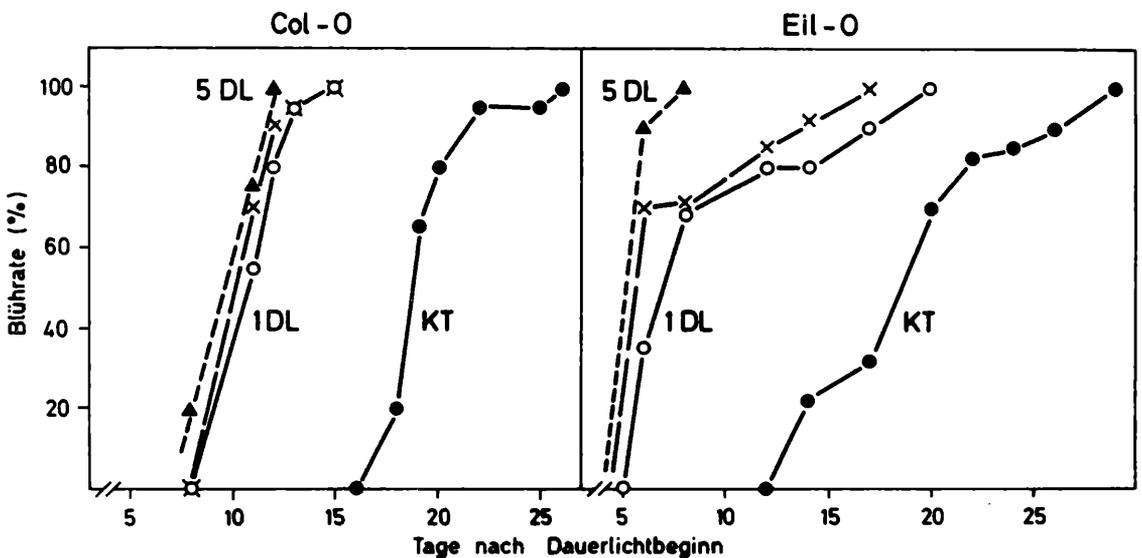


Abbildung 3

**Abhängigkeit der Blütrate von einer Behandlung mit Dauerweißlicht (DL) bei zwei Stämmen von *Arabidopsis*.** (KT = Kurztag; o---o 1 Tag DL; x---x 3 Tage DL; ▲---▲ 5 Tage DL).

zwei ausgewählten Stämmen untersucht. Wie aus den in Abb. 3 dargestellten Ergebnissen hervorgeht, wird die Blütenbildung bereits durch einen Tag Dauerlicht drastisch gefördert; als Kriterium für Blütenbildung wird das Erscheinen von Blütenanlagen verwendet. Wichtig ist bei dieser Pflanze die Beschleunigung der Blütenbildung gegenüber Kontrollen, die im Kurztag gehalten werden.

### 2.3. UV-B-Strahlungsquelle

Als UV-Strahlungsquelle dienten UV-B-Leuchtstoffröhren Philips TL 12/40 W. Da diese Leuchtstoffröhren auch ein wenig UV-C emittieren, mußte ein geeignetes Filter gefunden werden, das diese kurzwelligeren Strahlungsanteile eliminiert und dabei die Belichtungsstärke im übrigen Spektralbereich nicht wesentlich reduziert. Nach Prüfung verschiedener UV-absorbierender Chemikalien und Materialien erwies sich eine mit Uridin imprägnierte Cellophanfolie (Fa. Kalle) als für diese Zwecke am geeignetsten. Eine solche Folie schneidet die Strahlung im UV-B-Bereich sehr „steil“ ab und ist zudem auch bei langen Bestrahlungszeiten mit unseren Lichtquellen sehr beständig. Die mit einem Spektroradiometer, das uns freundlicherweise von Prof. TEVINI/KARLSRUHE zur Verfügung gestellt wurde und mit dem Dr. STEINMÜLLER die Messungen ausführte, aufgenommene spektrale Energieverteilung einer UV-Leuchtstoffröhre in Kombination mit dem beschriebenen Uridin-Filter ist in Abb. 4 dargestellt. Der Anteil der Strahlung oberhalb 320 nm (also UV-A) störte deshalb nicht, weil die zusätzliche UV-B-Strahlung immer in Kombination mit Weißlicht verwendet wurde.

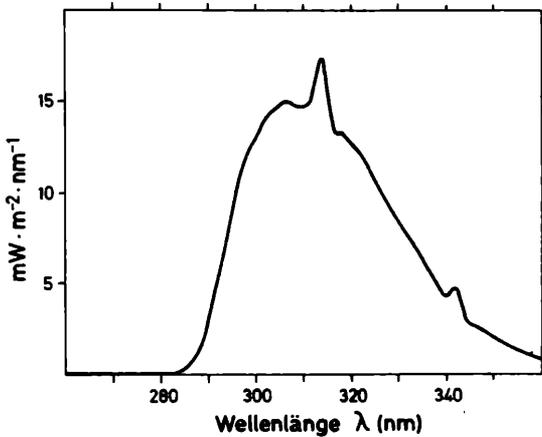


Abbildung 4  
Emission einer UV-Leuchtstoffröhre (Philips TL 12/40 W) nach Durchtritt durch eine Uridin-Cellophanfolie

## 3. Die Wirkung von zusätzlichem UV-B auf die Blütenbildung

### 3.1. *Hyoscyamus niger*

Um eine spezifische Wirkung von UV-B auf die photoperiodische Regulation der Blütenbildung nachweisen zu können, darf die Pflanze durch eine UV-B-Bestrahlung nicht allgemein geschädigt werden; Indizien für eine allgemeine Schädigung sind z.B. die sog. „Bronzierung“ oder eine Deformation mit nachfolgendem frühzeitigem Absterben der Blätter. Es mußte deshalb zunächst geprüft werden, welche Bestrahlungsstärken über welchen Zeitraum die Pflanzen ohne äußerlich sichtbare Schä-

digung überstehen. Dabei zeigte sich, daß Bestrahlungsstärken bis zu 1000 mW/m<sup>2</sup> UV-B auch bei längerer Bestrahlung keine solchen Schädigungen hervorrufen. Eine Bestrahlungsstärke von ca. 2000 mW/m<sup>2</sup> wird aber nur bei einer täglichen Bestrahlungsdauer von ca. 10 Stunden über längere Zeit bzw. bei einer Dauerbestrahlung nur bis zu drei Tagen toleriert. Diese Verträglichkeit wird deshalb bei allen folgenden Versuchen berücksichtigt, d.h. die Ergebnisse wurden nur von solchen Pflanzen gewonnen, die keine äußerlich sichtbare Schädigung zeigten.

Wie die in Abb. 5 zusammengefaßten Resultate erkennen lassen, bewirkt bereits eine zusätzliche Bestrahlung mit UV-B der Intensität von 100 mW/m<sup>2</sup> während der photoperiodischen Induktion eine Herabsetzung der Induktionsstärke; diese Wirkung nimmt mit der Erhöhung der Bestrahlungsstärke zu.

Für die Erklärung des Mechanismus dieser Wirkung ist es nun wichtig zu wissen, ob UV-B nur während der photoperiodischen Induktion diese schädigt oder ob der Perzeptionsmechanismus nicht auch schon durch eine vorangegangene UV-B-Bestrahlung beeinträchtigt wird; weiterhin könnte auch die Realisation der Induktion, wie z.B. die durch die photoperiodische Induktion eingeleitete Bildung des Blühstimulus geschädigt werden. Zur Klärung dieser Fragen wurden Pflanzen vor und nach der Dauerlicht-Induktion (ohne UV-B) im Kurztag – also unter photoperiodisch nicht-induktiven Bedingungen – zusätzlich mit UV-B bestrahlt. Die in Tab. 1 zusammengefaßten Ergebnisse zeigen, daß offenbar auch die beiden oben geschilderten Reaktionen durch UV-B beeinträchtigt, z.T. so stark geschädigt werden, daß eine photoperiodische Induktion durch drei Tage Dauerlicht nicht mehr eintritt. Weitere Versuche haben aber gezeigt, daß diese Schädigung durch eine stärkere Induktion durch längere Dauerlichtbehandlungen kompensiert werden kann.

Tabelle 1

Hemmung der Blühinduktion bei *Hyoscyamus* durch zusätzliches UV-B (ca. 1 W/m<sup>2</sup>) vor, während oder nach einer Schwelleninduktion mit Dauer-Weißlicht.

Bestrahlungsprogramm (Tage)			Blütrate (%)
KT	3 DL	KT	95
KT	3 DL + UV	KT	0
3 KT + UV	3 DL	KT	0
KT	3 DL	14 KT + UV	5

### 3.2. *Arabidopsis thaliana*

Die beiden verwendeten Stämme von *Arabidopsis* zeigen bei einer Bestrahlung mit 1000 mW/m<sup>2</sup> äußerlich sichtbare Schäden; sie reagieren also empfindlicher als *Hyoscyamus*, was auf rein optischen Gründen beruhen könnte, weil die Blätter von *Arabidopsis* in der Rosette ausgebreitet liegen, während sie bei *Hyoscyamus* alle Winkel zur Waagrechteneinnehmen. Andererseits scheint aber die Wirkung von UV-B auf die Blütenbildung viel weniger ausgeprägt zu sein, wie das in Abb. 6 dargestellte Beispiel zeigt; eine Bestrahlung mit den Intensitäten 100 und 300 mW/m<sup>2</sup> beeinträchtigt die

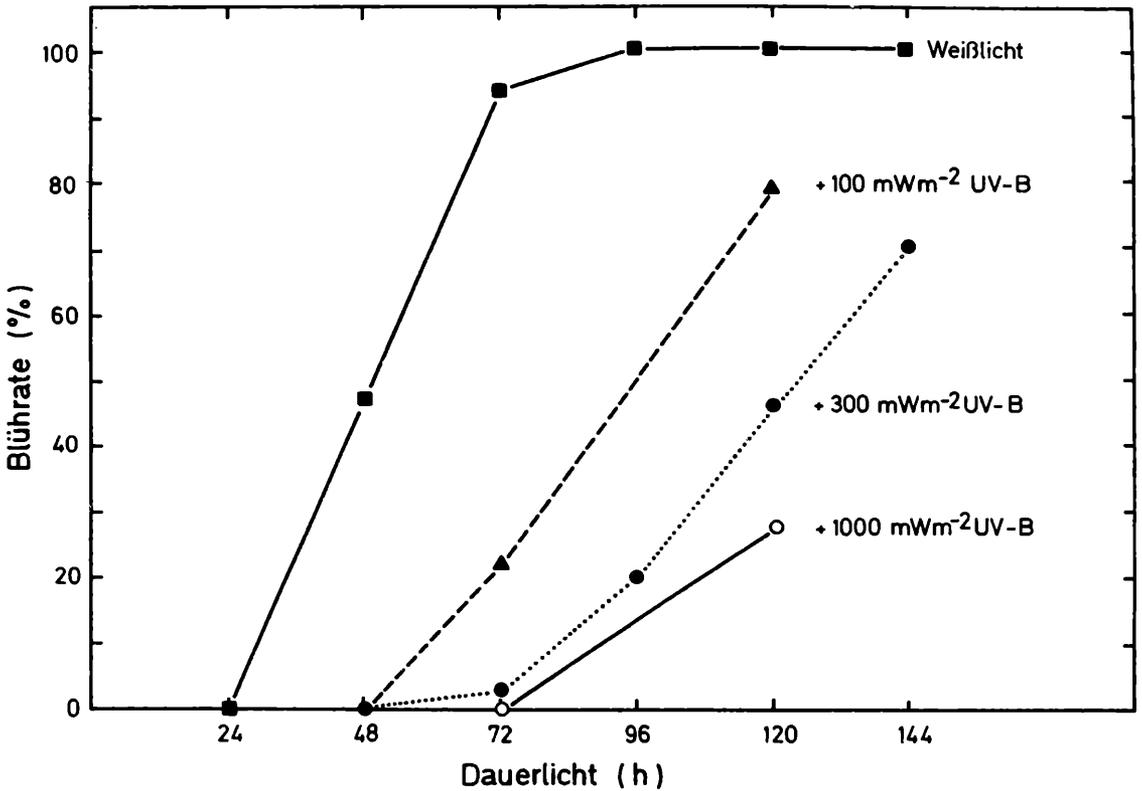


Abbildung 5

Induktion der Blütenbildung bei *Hyoscyamus* durch Dauer-Weißlicht mit zusätzlichem UV-B verschiedener Bestrahlungsstärken.

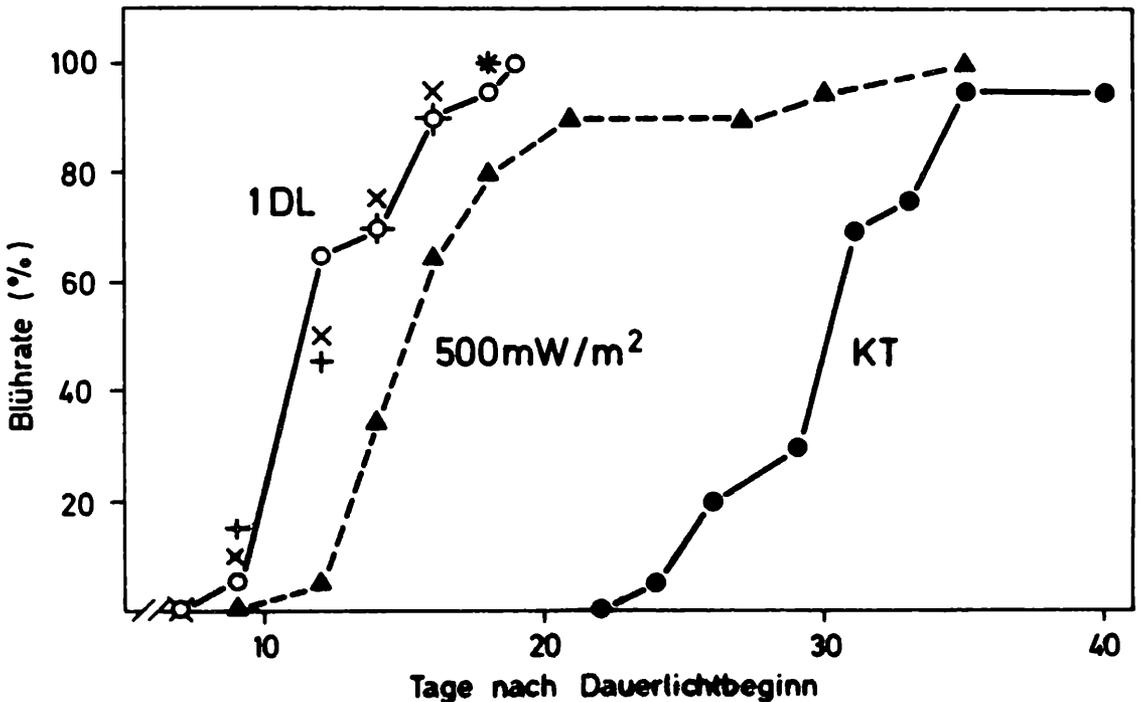


Abbildung 6

Induktion der Blütenbildung bei *Arabidopsis*, Stamm Col-o, durch 1 Tag Dauerlicht (DL) ohne UV-B (o---o); mit zusätzlichem UV-B 100 mW/m<sup>2</sup> (x); UV-B 300 mW/m<sup>2</sup> (\*) und 500 mW/m<sup>2</sup> (▲). KT = Kurztage.

Blütenbildung nicht und nur die höchste verwendete Bestrahlungsstärke bewirkt eine deutliche Verzögerung. Dabei ist ein Phänomen besonders ausgeprägt, das auch bei den Kontrollen im Kurztage auftritt: Der Großteil der Pflanzen reagiert relativ einheitlich, während einige wenige Exemplare eine – nicht der statistischen Schwankungsbreite entsprechende – stark verzögerte Blütenbildung

zeigen. Um solche „Ausreißer“ nicht zu berücksichtigen und vielmehr die Reaktion der Population zu kennzeichnen, haben wir bei allen Versuchen einen Wert errechnet, bei dem 50 % der Pflanzen eine Reaktion zeigen (B<sub>50</sub>-Wert); ein solcher Wert ist bei der Berechnung vieler physiologischer Vorgänge üblich.

**Tabelle 2**

**Blütenbildung bei zwei Stämmen von *Arabidopsis* im Kurztag (KT) und nach Induktion mit einem Tag Dauer-Weißlicht (DL) ohne und mit zusätzlichem UV-B verschiedener Bestrahlungsstärken vor (vier Tage lang), während (ein Tag lang) oder nach (vier Tage lang) einem Tag Dauerlicht. B<sub>50</sub>-Wert: Tage nach Versuchsbeginn an dem 50 % der Pflanzen Blütenanlagen zeigten. Werte mit + oder -: Unterschiede in Tagen zum B<sub>50</sub>-Wert bei 1 DL.**

Bedingungen und Stamm	B <sub>50</sub> -Wert KT	B <sub>50</sub> -Wert 1 DL	+ UV-B (mW/m <sup>2</sup> )		
			100	300	500
<b>UV-KT vor DL (4 Tage)</b>					
Col-o	41	11	-5	-5	-17
Eil-o	43	15	-1	-1	±0
<b>UV während DL</b>					
Col-o	34	12	+1	±0	-5
Eil-o	39	12	+1	-2	-3
<b>UV-KT nach DL (4 Tage)</b>					
Col-o	37	12	-3	-6	-11
Eil-o	49	15	+3	+1	±0

In gleicher Weise wie bei *Hyoscyamus* wurde untersucht, ob eine UV-B-Bestrahlung vor oder nach der induktiven Dauerbelichtung die Induktion der Blütenbildung beeinträchtigt. Die in Tab. 2 zusammengefaßten Ergebnisse zeigen, daß – wie bereits aus Abb. 6 hervorgeht – eine UV-B-Behandlung während der photoperiodischen Induktion nur bei 500 mW/m<sup>2</sup> eine deutliche Verzögerung der Blütenbildung bewirkt. UV-B vor oder nach der Induktion hat beim Stamm Eil-O keine signifikante Wirkung, während beim Stamm Col-O ein deutlich verzögernder Effekt eintritt. Die Ergebnisse machen sehr deutlich, daß – in Übereinstimmung mit Befunden anderer Autoren – beträchtliche Unterschiede der Wirkung von UV-B zwischen verschiedenen Pflanzenarten, im vorliegenden Fall sogar zwischen verschiedenen Populationen der gleichen Art, festzustellen sind.

#### 4. Mechanismus und „Target“

Bei den bisher dargestellten Untersuchungen wurden zunächst nur die Phänomene geprüft, d.h. ob UV-B überhaupt einen Einfluß auf die photoperiodisch gesteuerte Blütenbildung hat, welche Bestrahlungsstärken eine Schädigung hervorrufen und zu welchem Zeitpunkt UV-B wirkt. Die Untersuchungen sollen aber nicht dabei stehen bleiben, was UV-B bewirkt, sondern darüberhinaus die Frage klären, wie diese Strahlung wirkt, d.h. welche Substanzen in der Zelle oder welche Strukturen der Zelle UV-B absorbieren und dadurch verändert werden (Angriffsort oder „Target“) und wie sich eine solche Veränderung auf den Stoffwechsel und die Entwicklung der Pflanzen auswirkt („Mechanismus“ der Schädigung). Die Klärung solcher Fragen ist nicht nur von großem wissenschaftlichen Interesse, sondern könnte eventuell auch Anhaltspunkte dafür liefern, durch welche Eigenschaften (z.B. durch Züchtung verändert) oder Behandlungen

gen Pflanzen gegen erhöhte UV-B-Strahlung resistenter sein könnten.

#### 4.1. DNA (Desoxy-ribonukleinsäure)

Schon seit langem ist bekannt, daß Bakterien durch sehr kurzwellige UV-Strahlung – sog. UV-C (Wellenlängen <280 nm) – abgetötet werden; das Target für diese Reaktion ist die DNA, in der die genetische Information gespeichert ist. Durch eine solche Strahlung wird die Vermehrung von Bakterien unterbunden; man verwendet deshalb entsprechende UV-C-Lampen zur „Entkeimung“. Durch UV-C werden in der DNA Thymidin-Dimere gebildet; diese Schädigung kann durch anschließende Bestrahlung mit längerwelligem UV oder mit Blaulicht durch Spaltung der Dimere mit Hilfe eines lichtabhängigen Enzyms wieder behoben werden („Photoreaktivierung“; Lit. siehe JAGGER, 1985).

Da DNA auch im Bereich des UV-B absorbiert, könnte die schädigende Wirkung von UV-B auf die Blütenbildung auf einer DNA-Schädigung beruhen. Aus unseren bisher dargestellten Versuchen geht aber hervor, daß UV-B-Bestrahlungsstärken, die keine äußerlich sichtbaren Schäden verursachen und auch das weitere Wachstum der Versuchspflanzen nicht beeinträchtigen, trotzdem die photoperiodisch gesteuerte Blütenbildung stören. Dazu kommt noch, daß bei unseren Versuchen UV-B immer zusammen mit Weißlicht gegeben wurde, was bei primärer DNA-Schädigung zu einer Photoreaktivierung führen würde. Diese Befunde sprechen gegen eine Schädigung mit DNA als Target, zumindest aber dagegen, daß DNA das alleinige Target ist. UV-B-Wirkungen auf DNA-Ebene werden im Beitrag von Prof. WELLMANN behandelt.

#### 4.2. RNA (Ribonukleinsäure)-Ebene

Wie in der Einleitung dargestellt wurde, müssen bei

der Bildung eines Blühstimulus im Blatt ebenso wie bei der Eliminierung eines Hemmstoffs Enzyme an- oder abgeschaltet werden, was sehr wahrscheinlich über eine Änderung der Genaktivität und damit über Änderungen bei der Bildung von m-RNA's geschieht. Es wurden deshalb solche Änderungen unter dem Einfluß von UV-B untersucht.

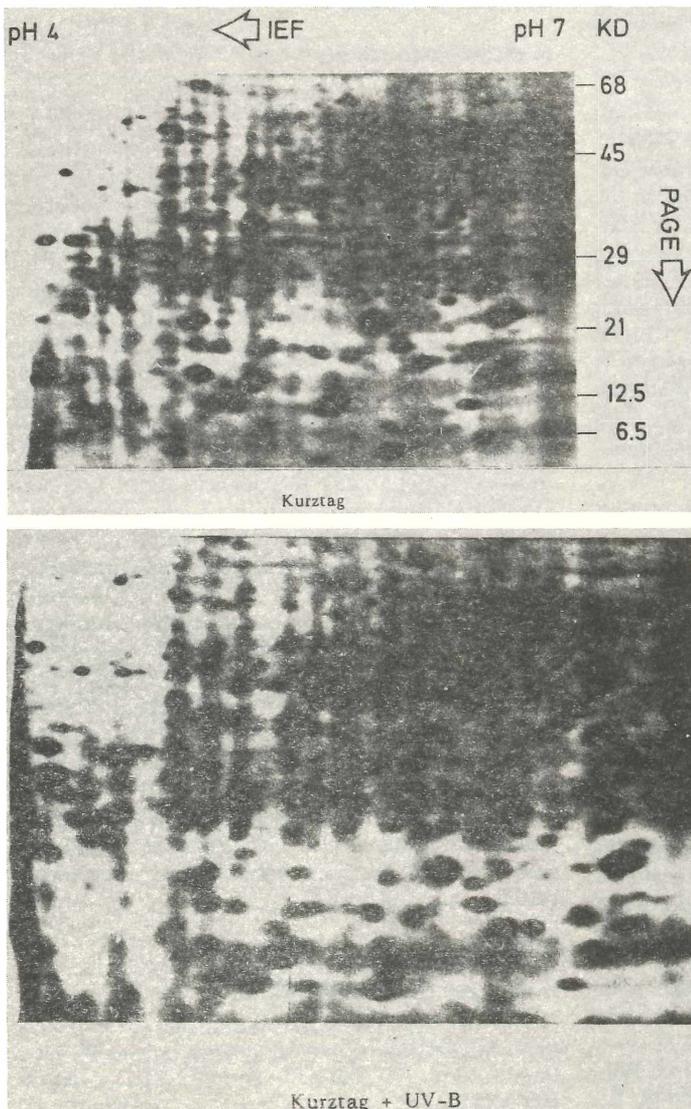
Dazu wurden aus den Blättern von *Hyoscyamus* nach verschiedenen Bestrahlungsprogrammen die Gesamt-RNA extrahiert und daraus durch Absorptionschromatographie eine poly(A)-RNA-Fraktion (RNA, die eine Sequenz von vielen Adeninen enthält und „messenger“-Eigenschaften besitzt) gewonnen. Diese Fraktion wurde dann in ein sog. in vitro-Translationssystem eingesetzt – ein System, das alle Komponenten für die Synthese von Proteinen enthält, außer der m-RNA – und in dem durch Angebot einer radioaktiv markierten Aminosäure (<sup>35</sup>S-Methionin) die neugebildeten Proteine markiert werden. Die in diesem System synthetisierten Polypeptide wurden durch zweidimensionale Gelelektrophorese aufgetrennt; sie repräsentieren die Translationsaktivität der in das System eingesetzten m-RNA's (WARM, 1984).

Die Ergebnisse zeigen, daß zusätzliche UV-B-Bestrahlung sowohl während Kurztagen wie auch während einer die Blütenbildung induzierenden Behandlung mit drei Tagen Dauerlicht den Gehalt der Blätter an Gesamt-RNA und an poly(A)-RNA

nur wenig herabsetzt. Legt man die Auftrennungen der radioaktiv markierten Polypeptide einige Zeit auf einen Röntgenfilm unter Zusatz impulsverstärkender Substanzen auf, so erhält man Fluorogramme, die durch unterschiedlichen Schwärzungsgrad Änderungen in der Translationsaktivität einzelner m-RNA's erkennen lassen. Ein Beispiel für solche Fluorogramme ist in Abb. 7 gezeigt. Durch Vergleich von Fluorogrammen, die nach Behandlung der Pflanzen mit verschiedenen Bestrahlungsprogrammen gewonnen wurden, fanden wir, daß einige Flecken bei UV-B-Bestrahlung deutlich abnehmen, andere dagegen zunehmen; weitere Flecken treten nach photoperiodisch induzierenden Bedingungen neu auf, nicht aber mit zusätzlichem UV-B. Aus den Ergebnissen kann geschlossen werden, daß UV-B die photoperiodische Induktion der Blütenbildung auf der Ebene der m-RNA's beeinflusst; welches Target dafür verantwortlich ist, kann aufgrund der vorliegenden Befunde noch nicht entschieden werden.

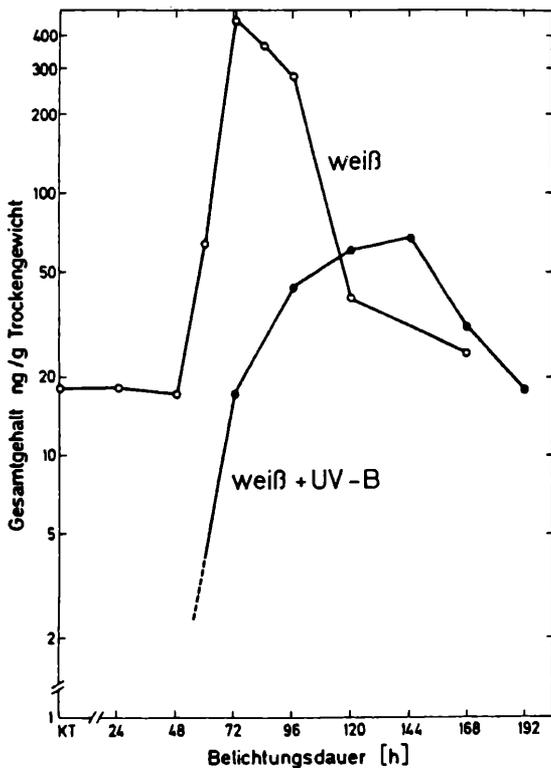
### 4.3. Gibberelline

Bei manchen Langtagpflanzen löst eine Applikation der pflanzlichen Hormongruppe der Gibberelline Blütenbildung unter photoperiodisch nicht-induktiven Bedingungen aus, wenn sie auf den Vegetationspunkt aufgebracht werden; aus verschie-



**Abbildung 7**

**Fluorographien elektrophoretisch aufgetrennter Translationsprodukte von mRNA aus Blättern von *Hyoscyamus* nach Belichtung der Pflanzen mit und ohne zusätzlichem UV-B.**



**Abbildung 8**

**Gehalt der Blätter von *Hyoscyamus* an Gibberellinen unter Dauer-Weißlicht ohne und mit zusätzlichem UV-B (300 mW/m<sup>2</sup>) (nach KRIECHBAUM, 1986).**

denen Befunden geht aber hervor, daß sie nicht mit dem Blühstimulus identisch sind (Lit. siehe VINCE-PRUE, 1975). In früheren Versuchen wurde gefunden, daß eine Zufuhr von Gibberellinen in die Blätter nur eine unvollständige Induktion der Blütenbildung bewirkt (WARM, 1980), daß aber bei photoperiodischer Induktion der Gehalt der Blätter an Gibberellinen vorübergehend drastisch gesteigert wird (KRIECHBAUM, 1986). Wie Abb. 8 zeigt, wird dieser Anstieg durch zusätzliches UV-B sowohl verzögert als auch vermindert, was wiederum darauf hindeutet, daß UV-B auf Prozesse im Blatt wirkt, die mit der photoperiodischen Steuerung in Zusammenhang stehen.

## 5. Schutzmechanismen

Ein weiteres wichtiges Problem bei der Abschätzung des Risikos einer erhöhten UV-B-Strahlung ist die Frage, ob und welche Schutzmechanismen die Pflanzen gegen diese Strahlung besitzen oder entwickeln können. Eine erhöhte UV-Toleranz kann z.B. auf morphologischen Besonderheiten wie starke Behaarung, reflektierende Oberfläche und gedrungener Wuchs beruhen (Lit. siehe TEVINI und IWANZIK, 1982). Von den Carotinoiden ist bekannt, daß sie den Photosyntheseapparat vor Photodestruktion durch zu hohe Lichtintensitäten schützen (Lit. siehe SCHROTT, 1985). Andere pflanzliche Pigmente, die Anthocyane und andere Flavonoide, werden erst nach Belichtung gebildet; von ihnen absorbieren einige gerade UV-B sehr stark und könnten somit eine aktive Anpassung an das Strahlungsklima sein (Lit. siehe WELLMANN et al., 1986).

Das Problem der Schutzmechanismen wird im Beitrag von Prof. Wellmann ausführlich behandelt. Es

soll deshalb hier nur über einige Befunde berichtet werden, die im Rahmen der Untersuchungen zur Blütenbildung erhoben wurden.

### 5.1. Carotinoide

Eine Bestrahlung von *Hyoscyamus*-Pflanzen mit Weißlicht und zusätzlichem UV-B hatte bis zu einer UV-B-Bestrahlungsstärke von 1000 mW/m<sup>2</sup> und bis zu einer Bestrahlungsdauer von sieben Tagen keine signifikanten Veränderungen im Gehalt an Carotinoiden zur Folge; ebenso änderte sich auch die Menge an Chlorophyll a und b nicht. TEVINI und IWANZIK (1982) hatten an Keimlingen verschiedener Arten eine Abnahme des Pigmentgehalts gefunden; da auch andere Autoren keine Erniedrigung des Chlorophyllgehalts durch UV-B gefunden hatten, muß man davon ausgehen, daß Keimpflanzen offenbar empfindlicher reagieren.

### 5.2. Flavonoide

Unter den gleichen Bestrahlungsbedingungen wie oben angegeben, wird der Anthocyangehalt der Blätter von *Hyoscyamus* durch UV-B nicht beeinflusst. Dagegen wird in Übereinstimmung mit den früheren Befunden von WELLMANN (1983) die Synthese von Flavonoiden gesteigert (Abb. 9). Die Werte zeigen bis zu einer Bestrahlungsstärke von 300 mW/m<sup>2</sup> einen fördernden Effekt, bei höheren Intensitäten scheint es zu einer Hemmung der Synthese zu kommen.

## 6. Schlußbetrachtung

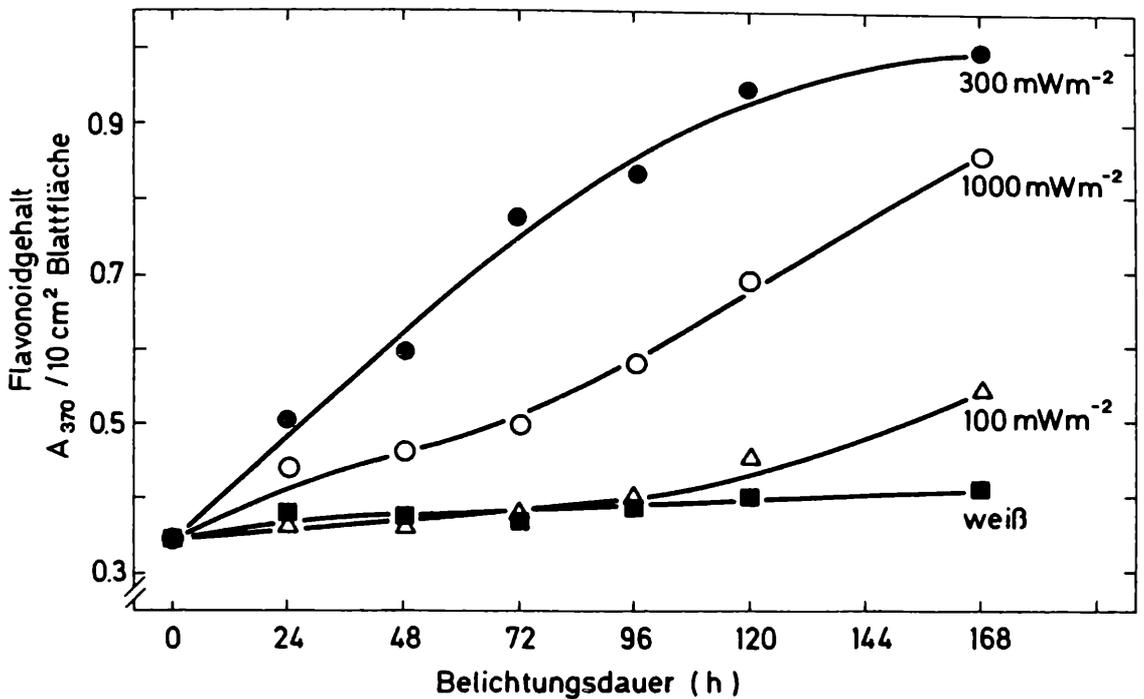
Die in diesem Beitrag dargestellten Probleme und Ergebnisse zeigen, daß UV-B in Bestrahlungsstärken, die in der gleichen Größenordnung liegen, wie sie derzeit auf die Erdoberfläche auftreffen und die bei den verwendeten Pflanzen keine äußerlich sichtbaren Schäden hervorrufen, wichtige Entwicklungsprozesse wie die Blütenbildung stören. Eine Verzögerung des durch die Tageslänge gesteuerten Zeitpunkts der Ausbildung der Blüten – und nachfolgend auch der von Früchten und Samen – könnte weitreichende Folgen für das Überleben einer Pflanzenart haben und bei landwirtschaftlich oder gärtnerisch genutzten Pflanzen zu Ertragseinbußen führen.

Bei der Abschätzung des Risikos einer erhöhten UV-B-Belastung muß aber noch ein anderer Gesichtspunkt betrachtet werden: Alle für die Versuche verwendeten Pflanzen wurden im Gewächshaus angezogen, waren also durch die UV-Absorption des Glases nicht dem unter natürlichen Bedingungen herrschenden Strahlungsklima ausgesetzt. Nachdem bekannt ist, daß Pflanzen einige Schutzmechanismen besitzen oder entwickeln können, könnte es durchaus sein, daß sie dadurch eine etwas erhöhte Strahlenbelastung tolerieren können. Beim jetzigen Stand unserer Kenntnisse ist es deshalb verfrüht, das Ausmaß von möglichen UV-B-Schäden vorherzusagen. Um dies abschätzen zu können sind weitere Untersuchungen an den verschiedensten Organismen nötig.

### Literatur

CHAILAKHYAN, M. KH. (1936): Dokl. Acad. Sci USSR 12, 443-447.

GRESSEL, J. and W. RAU (1983): Photocontrol of fungal development; In: *Enycl. Plant Physiol*, Vol. 16, 603-639. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.



**Abbildung 9**

**Flavonoidgehalte der Blätter von *Hyoscyamus* im Dauer-Weißlicht ohne und mit zusätzlichem UV-B unterschiedlicher Bestrahlungsstärke.**

JAGGER, J. (1985): Solar-UV actions on living cells; Prager Scientific, New York.

KRIECHBAUM, D. (1986): Untersuchungen zur Beteiligung von Ethylen und Gibberellinen an pflanzlichen Entwicklungsprozessen. Diss. München.

RAU, W. (1975): Zum Mechanismus der Photoregulation von Morphosen am Beispiel der Carotinoidsynthese. – Ber. Deutsch. Bot. Ges. 88, 45-60.

SCHROTT, E.L. (1985): Carotenoids in plant photoprotection. – Pure Appl. Chem. 57, 729-734.

TEVINI, M. und I. IWANZIK (1982): Untersuchungen über den Einfluß erhöhter UV-B-Strahlung auf Entwicklung, Zusammensetzung, Struktur und Funktion von Pflanzen; BTP-Bericht 1/82, Ges. f. Strahlen- und Umweltforschung, München.

VINCE-PRUE, D. (1975): Photoperiodism in plants; McGraw-Hill, London.

WARM, E. (1980): Die Wirkung von Phytohormonen und von Salicylsäure auf die Blütenbildung und Sproßverlängerung bei der Langtagpflanze *Hyoscyamus niger*. – Z. Pflanzenphysiol. 99, 325-330.

WARM, E. (1984): Changes in the composition of in vitro translated leaf mRNA caused by photoperiodic flower induction of *Hyoscyamus niger*. – Physiol. Plant. 61, 344-350.

WARM, E. and W. RAU (1982): A quantitative and cumulative response to photoperiodic induction of *Hyoscyamus niger*, a qualitative long day plant. – Z. Pflanzenphysiol. 105, 111-118.

WELLMANN, E. (1983): UV-radiation in photomorphogenesis; In: Encyclopedia of plant physiology, Vol. 16, 745-756, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.

WELLMANN, E., BEGGS, CH., MÖHLE, B., SCHNEIDER-ZIEBERT, U., STEINMETZ, V. und U. KOCH (1986): UV-B-Wirkungen auf Pflanzen: Schädigungs-Wirkungsspektren, Primärschäden und UV-Schutzmechanismen; BTP Bericht 4/86, Ges. f. Strahlen- und Umweltforschung, München.

**Anschrift des Verfassers:**

Prof. Dr. W. Rau  
Botanisches Institut der  
Universität München  
Menzingerstr. 67  
8000 München 19

# Detektion von UV-B-Strahlung durch *Halobacterium halobium*

Bernhard Traulich\* und Gottfried Wagner

## Einleitung

Die archaebakteriellen Halobakterien haben bis zum heutigen Tage überlebt in ökologischen Nischen nahezu gesättigter Salzkonzentration; ihre Standorte in Äquatornähe sind außerdem durch extreme Sonneneinstrahlung gekennzeichnet. Die hier typische geringe Sauerstoffkonzentration in den aufgeheizten Salzlaugen dürfte bei *Halobacterium halobium* und verwandten Arten die Ausbildung außergewöhnlicher Mechanismen der Lichtenergie-Wandlung gefördert haben, basierend auf der Quanten-Absorption durch die membrangebundenen Retinalproteine Bacteriorhodopsin (BR) (OESTERHELT und STOECKENIUS, 1971, 1973) und Halorhodopsin (HR) (MUKOHATA et al., 1980; LANYI und OESTERHELT, 1982). Die energetische Nutzung des Sonnenlichtes in den offenen Salzlaugen beinhaltet grundsätzlich die Problematik einer gleichzeitigen Exposition gegenüber kurzweiliger ultravioletter Strahlung, die auch für Halobakterien eine nicht zu tolerierende Belastung darstellt (WAGNER, 1985); mithilfe eines hochempfindlichen Detektor-Systems suchen sie dieser Strahlung offenbar durch Abtauchen in günstiges Lichtmilieu zu entfliehen: Nach den vorliegenden Labordaten (HILDEBRAND und DENCHER, 1975; WAGNER et al., 1987; siehe auch Abb. 1) sollte die Flucht in Tauchtiefen führen, in denen die ultraviolette Strahlung durch Rückstreuung

\* Diese Publikation enthält Teile der Dissertation von B. Traulich zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften der Justus-Liebig-Universität.

## SPONTANVERHALTEN



## FLUCHTREIZ DURCH UV-PULS



Abbildung 1

### Rotationsverhalten experimentell angehefteter Einzelzellen von *Halobacterium halobium*.

Spontanverhalten: Die links geschwungenen Pfeilgruppen symbolisieren eine Rotationsperiode des Zellkörpers im Uhrzeigersinn, gefolgt von der gegen den Uhrzeigersinn; die Rotationsachse ist das angeheftete Einzelfilament einer gekürzten Geißel an der Deckglas-Oberfläche.

Fluchtreiz durch UV-Puls: Ein Fluchtreiz wird mit Verkürzung der Rotationsperiode beantwortet und ist eine störungsfreie Wiedergabe des Bewegungsverhaltens freischwimmender Zellen (siehe Material und Methode).

ung und Beschattung unter den Schwellenwert von  $0.02 \text{ W m}^{-2}$  gesenkt ist, während der weniger ausgefilterte Spektralanteil des sichtbaren Lichtes die gewünschte Lichtenergieumwandlung erlaubt.

Das halobakterielle Detektor-System für ultraviolette Strahlung scheint somit ein nahezu ideales Modellsystem zu sein, fortentwicklungsfähig zur Überwachung und Prognose zunehmender UV-B-Belastung in der Biosphäre; dieses hochempfindliche Detektor-System sicherte Halobakterien ein Überleben seit Urzeiten der Evolution. Quantitative Daten zur Aktionsspektroskopie des halobakteriellen UV-B-Rezeptors werden hier vorgestellt.

## Material und Methode

Die verwendeten Pigment-Mutanten von *Halobacterium halobium* waren positiv (+) bzw. negativ (-) in der Synthese der Holo-pigmente Bacteriorhodopsin (BR), Halorhodopsin (HR), Sensorhodopsin (SR), Pigment-480 (P-480): Flx-03 l.c. BR<sup>-</sup>, HR<sup>-</sup>, SR<sup>+</sup>, P-480<sup>+</sup> (SPUDICH und BOGOMOLNI, 1983; TAKAHASHI et al., 1985; WOLFF et al., 1986; MARWAN und OESTERHELT, 1987); L-07 phänotypisch BR<sup>-</sup>, HR<sup>-</sup>, SR<sup>-</sup>, P-480<sup>-</sup> aufgrund fehlender Synthese des Chromophors Retinal (WAGNER et al., 1981). Die Anzucht erfolgte in 100 ml Erlenmeyer-Kolben auf Inkubationsschütteln (Braun Melsungen BRD; 100 Upm) semianerob in 40 ml Pepton-Medium (WAGNER und HOPE, 1976) bei 40° C unter grün-gelbem Dauerlicht (Osram L 20/W 63, 7 W m<sup>-2</sup>). Die Zellen wurden 72 h nach Inokkulation, d.h. in der späten exponentiellen Wachstumsphase, abgeerntet und in die Versuche übernommen.

Nach Geißelkürzung durch Scherkräfte, Waschen und Überführen in peptonfreies Schwimmmedium wurden die Halobakterien zur Anheftung über Einzelfilamente ihrer gekürzten Geißel in gasdichte Mikroschwimmkammern einpipettiert (10 µl) und mit einem Quarzdeckglas abgedeckt (TRAULICH und WAGNER, 1986).

Zur Beobachtung und Reizlichtapplikation diente ein UV-B tüchtiges inverses Mikroskop ICM 405 (Zeiss, Oberkochen, BRD) mit Quarz-Optik im Anregungsstrahlengang (Abb. 2.).

Als UV-B Strahlungsquelle war ein UV-optimierter 500 W Xenon Brenner Cermax (ILC, Sunnyvale, Ca., USA) im Einsatz. Als UV-A-Strahlungsquelle diente ein 75 W Xenon Brenner (Osram GmbH, Berlin-München, BRD) im Lampenhaus XBO 75 W/2 (Zeiss, Oberkochen, BRD).

Das kontinuierlich applizierte Hintergrundlicht, verwendet auch als Beobachtungslicht, wurde von einer Glühlampe (12 V; 60 W) erzeugt und durch den Interferenzfilter FIL 589 (Schott, Mainz, BRD), den Infrarot-Bandpassfilter BuW 093 (B&W, Wiesbaden, BRD) oder das Farbglas BG 24 bzw. das Kantenglas OG 530 (Schott, Mainz, BRD; Abb. 3a) spektral zerlegt.

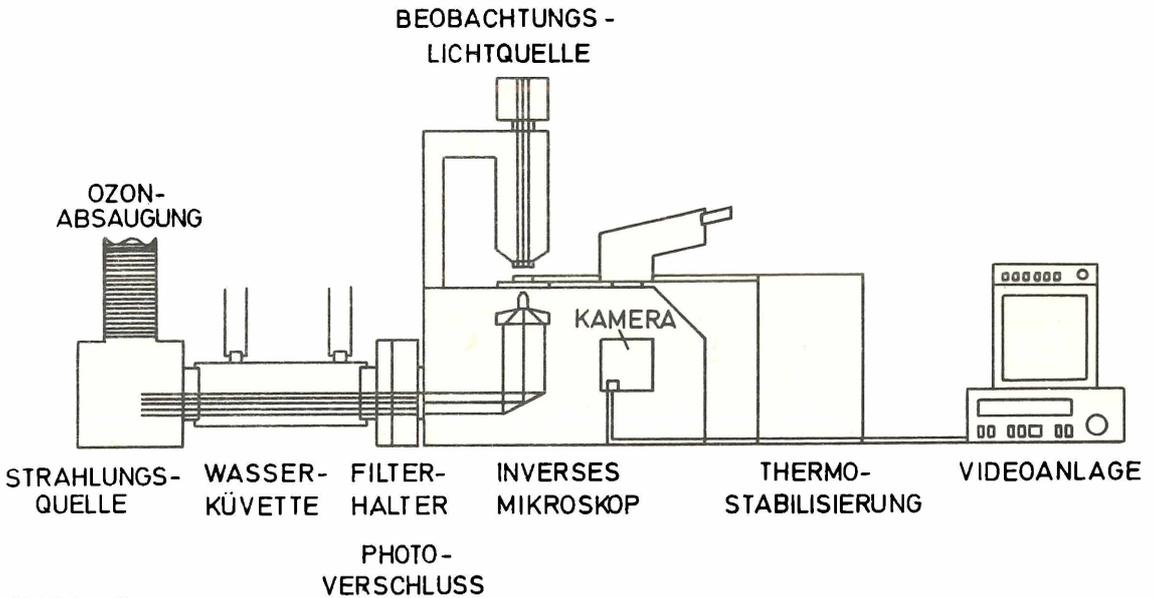


Abbildung 2

Versuchsaufbau zur Aktionsspektroskopie des UV-abhängigen Rotationsverhaltens angehefteter Einzelzellen von *Halobacterium halobium*.

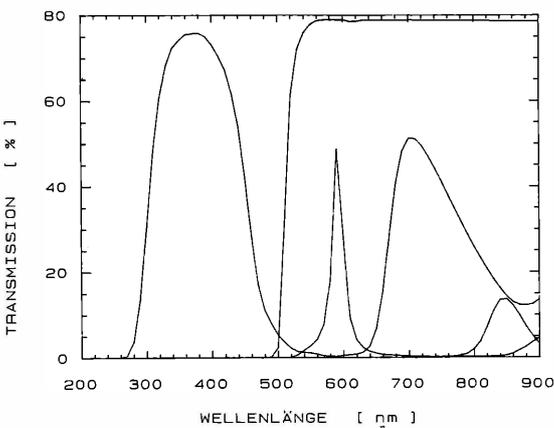


Abbildung 3a

Transmissionsspektren der verwendeten Filter zur kontinuierlichen Hintergrundbeleuchtung von *Halobacterium halobium* im sichtbaren und infraroten Spektralbereich; „blau“: Farbglas BG 24 mit Haupttransmission bei 375,5 nm und Nebengipfel bei 702,3 nm; „gelb“: Kantenglas OG 530 mit Öffnung oberhalb 500 nm; „orange“: Interferenzfilter FIL 589 mit der Zentralwellenlänge bei 592,8 nm.; „infrarot“: Schwarzglas BuW 093 mit Haupttransmission bei 846 nm.

Die Quantenflüsse wurden am Expositionsort der Zellen gemessen mit Hilfe des kalibrierten Detektors AUV 222 (UDT, Hawthorne, Ca., USA). Rechteckreizung über 67 bis 2000 ms im UV-B bzw. UV-A Spektralbereich erfolgte durch die Interferenzfilter UV-M-IL 282 bzw. UV-PAL 362 (Schott, Mainz, BRD; Abb. 3b) und einen Photoverschluss (Melles Griot, Rochester, NY., USA).

Zur Direktbeobachtung und zur Dokumentation auf 3/4-Zoll-Video-System U-Matic VO-5800P (Sony, Japan) mit zeitlicher Auflösung von 20 ms diente eine Video-Kamera mit Infrarot-sensitiver Bildröhre IR-Newikon (Heimann, Wiesbaden, BRD). Der Zeitpunkt der Pulsapplikation wurde über eine elektronische Koppelung des Photoverschlusses mit dem Video-Zeitgeber VTG-33 (For.A, Japan) dokumentiert.

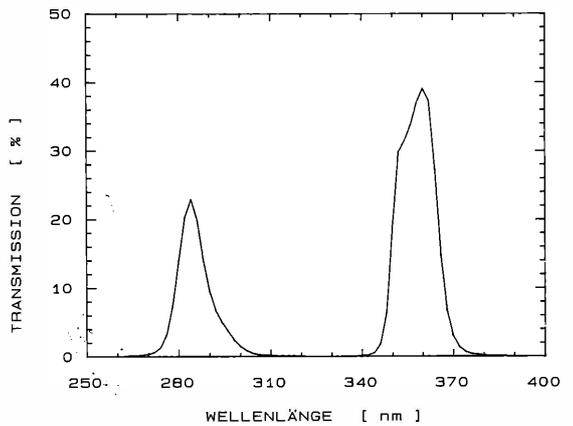


Abbildung 3b

Transmissionsspektren der verwendeten Filter zur Bestrahlung von *Halobacterium halobium* durch Pulse von UV-B bzw. UV-A;

UV-B: Interferenzfilter UV-M-IL 282 mit der Zentralwellenlänge 282,3 nm; UV-A: Interferenzfilter UV-PAL 362 mit der Zentralwellenlänge 361,6 nm.

Die Methode der Zellanheftung erlaubt eine Unterscheidung der beiden möglichen Geißelrotationsrichtungen (im Uhrzeigersinn bzw. entgegen dem Uhrzeigersinn), sichtbar gemacht durch die entsprechende Rotationsrichtung des Zellkörpers. Da die Bevorzugung einer Rotationsrichtung individuell unterschiedlich aber pro Individuum konstant ist, erlaubt eine nach Drehrichtung getrennte Auswertung, verbunden mit Reizgabe ausschließlich in einer Drehrichtung, eine scharfe Abtrennung von Reizantwort gegenüber Spontanverhalten.

Die Quantifizierung der Reizantwort in relativen Einheiten erfolgte über die Verhältnissbildung von Rotationsperiode bei Reizung (Reizverhalten), verglichen mit der zugehörigen Rotationsperiode ohne Reizung (Spontanverhalten). Da sich Fluchtverhalten widerspiegelt in einer Verkürzung der

Rotationsperiode (s. Abb. 1) und eine Verhältnisbildung von Spontanverhalten zu Reizverhalten gewählt wurde, dokumentieren bei der „An-Reaktion“ von UV-Strahlung Quotienten über 1,0 Fluchtreaktionen. Um Lockreaktionen im gleichen Rastermaß wie Fluchtreaktionen abbilden zu können, wurde hier das Invers-Verhältnis, d.h. Reizverhalten zu Spontanverhalten, mit negativem Vorzeichen eingeführt. Aus graphischen Gründen wurde der Quotient  $\pm 1,0$  gleich Null gesetzt (vgl. Abb. 4-10).

Die Klassenverteilung der Primärdaten ist linkschief, jedoch nach logarithmischer Transformation normal, so daß für die Mittelwertbildung der Primärdaten das geometrische Mittel aus 20-120 Einzelereignissen verwendet wurde.

## Ergebnisse

Die Erkennung von UV-B-Strahlung durch *Halobacterium halobium* ab einem Schwellenwert um  $0,02 \text{ W m}^{-2}$  ist abhängig von einem physiologisch aktiven Sensorpigment, beschrieben für den längerwelligen Bereich als Sensorhodopsin (HILDEBRAND und DENCHER, 1975; SPUDICH und BOGOMOLNI, 1984) mit seinen Komponenten Opsin als Protein-Anteil und Retinal als Chromophor. Die Applikation eines UV-B-Pulses ( $0,09 \text{ W m}^{-2} \times 250 \text{ msec}$ ; Abb. 4) führt bei der Retinal-positiven Mutante Flx-03 i.c. zu einer deutlichen Fluchtreaktion, während die gleiche Pulsdosis bei der Retinal-negativen Mutante L-07 wirkungslos bleibt. Erst nach Rekonstitution durch externe Zugabe von Retinal (WAGNER et al., 1981) kehrt bei der Mutante L-07 die photosensorische Reaktionsfähigkeit zurück, verfolgt im sichtbaren Spektralbereich (A. WEISERT, Giessen, unveröffentlicht).

Vergleichbar mit der hier gefundenen Retinal-Abhängigkeit der UV-B-Antwort ist die beschriebene Retinal-Abhängigkeit sowohl für die Antwort auf UV-A Reizung als auch auf Reizung durch längerwelliges sichtbares Licht (DENCHER und HILDEBRAND, 1979; TOMIOKA et al., 1986). Diese Übereinstimmung ist überraschend, da Retinal im UV-B-Bereich praktisch nicht absorbiert, spürbar jedoch im UV-A-Bereich und durch seine Kopplung an Opsin auch im sichtbaren Spektralbereich (DENCHER und HILDEBRAND, 1979).

Ähnlich überraschend ist die Beobachtung einer strengen Abhängigkeit der UV-B-Antwort von der Qualität des kontinuierlich applizierten Hintergrundlichtes im sichtbaren Spektralbereich (Abb. 5). Diese Daten stützen das Modell von TRAU-LICH und WAGNER (1986) mit der Schlußfolgerung eines photochromen UV-B-Rezeptors, kompatibel mit Sensorhodopsin (WAGNER, 1981, SPUDICH und BOGOMOLNI, 1984). Während Wellenlängen des Hintergrundlichtes, die vom Grundzustand des SR mit Hauptabsorption bei 587 nm absorbierbar sind (orange, gelb) und Photokonversion zum Zwischenzustand  $\text{SR}_{373}$  bewirken, UV-B-Bestrahlung als Fluchtlicht definieren, läßt nicht absorbierbares Hintergrundlicht (infrarot, blau) UV-B als Locklicht erscheinen (Abb. 5). Die Gleichsinnigkeit der Hintergrundlicht-abhängigen UV-B-Antwort mit der entsprechenden UV-A-Antwort (SPUDICH und BOBOMOLNI, 1984) legt den Schluß nahe, daß auch die UV-B-Antwort über den Zwischenzustand  $\text{SR}_{373}$  vermittelt wird.

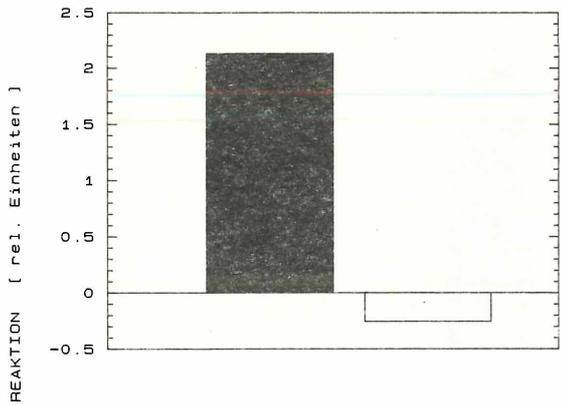


Abbildung 4

**Retinal-Abhängigkeit der UV-B-induzierten Fluchtantwort von *Halobacterium halobium*, untersucht an zwei Mutanten mit intakter bzw. blockierter Retinal-Synthese.** Die schwarze Säule repräsentiert in rel. Einheiten mit positivem Vorzeichen die Fluchtantwort der Retinal-positiven Mutante Flx-03 i.c., die weiße Säule die fehlende Antwort der Retinal-negativen Mutante L-07.

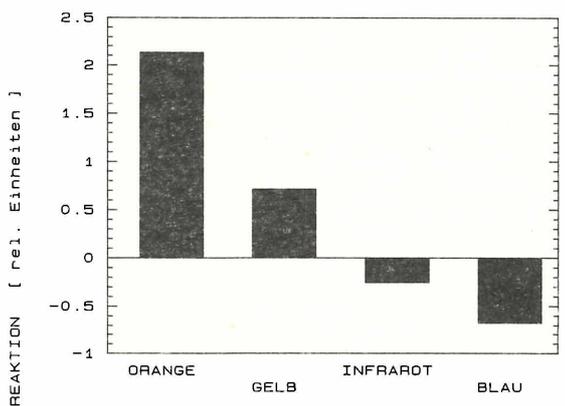


Abbildung 5

**Abhängigkeit der UV-B-Flucht-Antwort durch *Halobacterium halobium*, Mutante, Flx-03 i.c., von der Qualität des Hintergrundlichtes im Spektralbereich „orange“ ( $0,7 \text{ W m}^{-2}$ ), „gelb“ ( $6,3 \text{ W m}^{-2}$ ), „infrarot“ ( $0,7 \text{ W m}^{-2}$ ) und „blau“ ( $5,0 \text{ W m}^{-2}$ ; vgl. Abb. 3a).** Reaktion: in rel. Einheiten mit positivem Vorzeichen = Fluchtantwort, mit negativem Vorzeichen = Lockantwort.

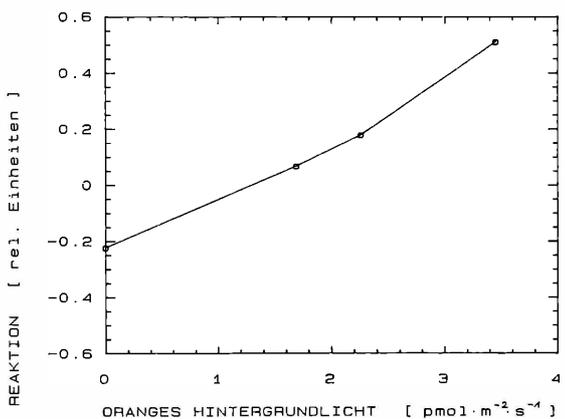
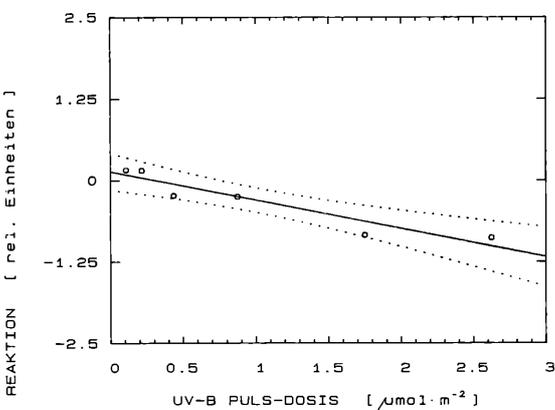


Abbildung 6

**Lineare Abhängigkeit der UV-B-Fluchtantwort von *Halobacterium halobium*, Mutante Flx-03 i.c., vom Photonenfluß des orangen Hintergrundlichtes.** Reaktion: siehe Abb. 5.

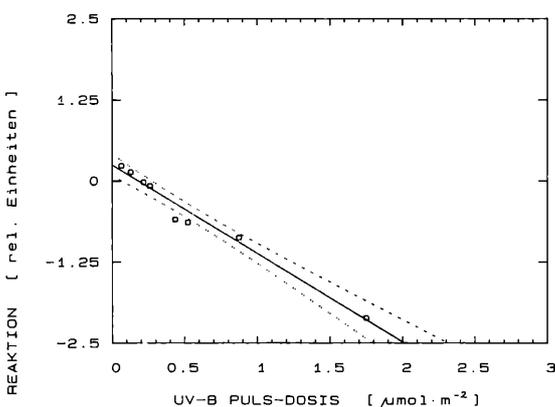
Diese Deutung wird weiter ergänzt durch die im Detail untersuchte lineare Abhängigkeit der UV-B-Fluchtantwort vom Photonenfluß [ $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ] des orangen Hintergrundlichtes (Abb. 6), mit zunehmender Photokonversion des Grundzustandes  $\text{SR}_{587}$  in den Zwischenzustand  $\text{SR}_{373}$ .

Wird das Hintergrundlicht konstant gehalten, die Dosis des UV-B-Pulses jedoch durch Erhöhung des Quantenflusses bei gleich gehaltener oder verlängerter Pulsdauer um mehr als den Faktor 10 gesteigert, zeigt sich ein weiteres Phänomen: während eine geringe UV-B-Dosis zur Fluchtreaktion von *Halobacterium halobium* wie gewöhnlich führt, lösen höhere UV-B-Dosen zunehmend Lockantwort aus (Abb. 7). Vergleichbare Ergebnisse, jedoch mit steilerer Dosis-Abhängigkeit der UV-B-Pulse zeigen sich in Abwesenheit von orangem Hintergrundlicht (Abb. 8). Ob diese physiologisch widersinnige, durch ultraviolette Strahlung erzeugte Lockantwort bei *Halobacterium halobium* auf Eigenschaften des Sensorpigmentes  $\text{SR}_{587}$  beruht, oder auf erhöhter UV-B-Anfälligkeit nachgeschalteter Prozesse der



**Abbildung 7**

**Invertierende UV-B-Fluchtreaktion durch *Halobacterium halobium*, Mutante Flx-03 l.c., in Abhängigkeit von steigender Dosis des UV-B-Einzelpulses [ $\mu\text{mol m}^{-2}$ ], bei konstantem orangem Hintergrundlicht ( $0,7 \text{ W m}^{-2}$ ).** Reaktion: siehe Abb. 5. Die durchgezogene Verbindung der Meßdaten stellt die Regressionsgerade dar, die gestrichelten Linien die  $\pm 95\%$  Vertrauensgrenzen.



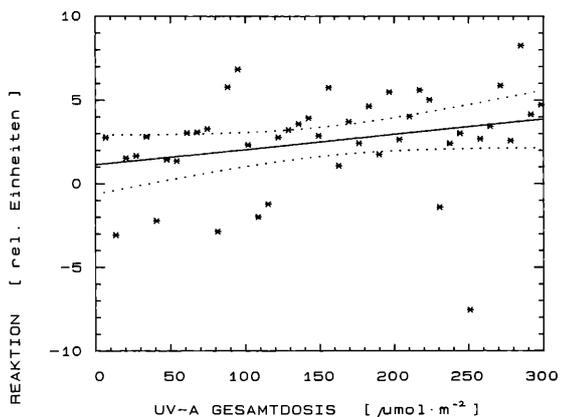
**Abbildung 8**

**Invertierende UV-B-Fluchtreaktion durch *Halobacterium halobium*, Mutante Flx-03 l.c., in Abhängigkeit von steigender Dosis des UV-B-Einzelpulses [ $\mu\text{mol m}^{-2}$ ], bei konstanter infraroter Hintergrundstrahlung ( $0,7 \text{ W m}^{-2}$ ).** Reaktion: siehe Abb. 5. Die durchgezogene Verbindung der Meßdaten stellt die Regressionsgerade dar, die gestrichelten Linien die  $\pm 95\%$  Vertrauensgrenzen.

Fluchtantwort gegenüber der widerstandsfähigeren Lockantwort, wird gegenwärtig untersucht. Kontrollmessungen mit physiologisch äquivalenten UV-A-Pulsen zeigen diese dosisabhängige Inversion der Reizantwort nicht (vgl. Abb. 9a mit Abb. 9b).

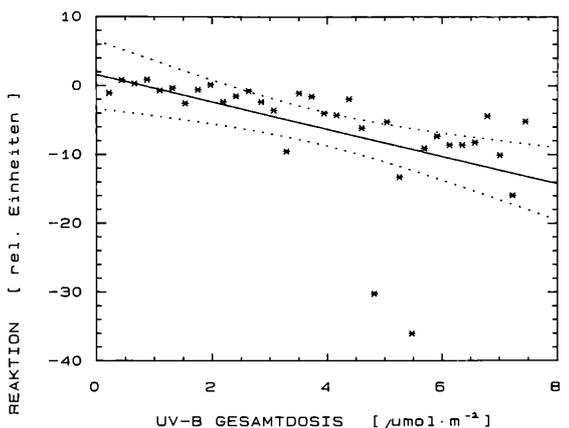
### Danksagung

Wir danken Prof. Dr. John L. Spudich (New York), der uns freundlicherweise die *Halobacterium halobium* Mutante Flx-03 l.c. zur Verfügung gestellt hat. Wir bedanken uns für die finanzielle Unterstützung durch den Minister für Forschung und Technologie der Bundesrepublik Deutschland (Projekt 0745719).



**Abbildung 9**

**a) Konstantes Fluchtverhalten einer angehefteten Einzelzelle von *Halobacterium halobium*, Mutante Flx-03 l.c., auf wiederholte UV-A-Pulse von jeweils  $6,8 \mu\text{mol m}^{-2}$  addiert zu einer Gesamtdosis von  $298 \mu\text{mol m}^{-2}$ ; konstante infrarote Hintergrundstrahlung =  $0,7 \text{ W m}^{-2}$ .** Reaktion: siehe Abb. 5. Die durchgezogene Verbindung der Meßdaten stellt die Regressionsgerade dar, die gestrichelten Linien die  $\pm 95\%$  Vertrauensgrenzen.



**b) Invertierende UV-B-Fluchtreaktion einer angehefteten Einzelzelle von *Halobacterium halobium*, Mutante Flx-03 l.c., auf wiederholte UV-B-Pulse von jeweils  $0,22 \mu\text{mol m}^{-2}$ , addiert zu einer Gesamtdosis von  $7,5 \mu\text{mol m}^{-2}$ ; konstante infrarote Hintergrundstrahlung =  $0,7 \text{ W m}^{-2}$ .** Reaktion: siehe Abb. 5. Die durchgezogene Verbindung der Meßdaten stellt die Regressionsgerade dar, die gestrichelten Linien die  $\pm 95\%$  Vertrauensgrenzen.

## Literatur

- DENCHER, N.A. and E. HILDEBRAND (1979): Sensory transduction in *Halobacterium halobium*: Retinal protein pigment controls UV-induced behavioral response. – Z. Naturforsch. 34c, 841-847.
- HILDEBRAND, E. and N. DENCHER (1975): Two photosystems controlling behavioural responses of *Halobacterium halobium*. – Nature 257, 46-48.
- LANYI, J.K. and D. OESTERHELT (1982): Identification of the retinal-binding protein in halorhodopsin – J Biol. Chem., 257, 2674-2677.
- MARWAN, W. and D. OESTERHELT (1987): Signal formation in the halobacterial photophobic response mediated by a fourth retinal protein (P<sub>480</sub>). – J. Mol. Biol. 195, 333-342.
- MUKOHATA, Y., A. MATSUNO-YAGI and Y. KAJI (1980): Light-induced proton uptake and ATP synthesis by bacteriorhodopsin-depleted *Halobacterium*. In: Saline Environment (Edited by H. MORISHITA and M. MASUI), pp. 31-37, B.C. Acad. Soc. Japan, Osaka.
- OESTERHELT, D. and W. STOECKENIUS (1971): Rhodopsin-like protein from the purple membrane of *Halobacterium halobium*. – Nature (New Biol.) 233, 149-152.
- OESTERHELT, D. and W. STOECKENIUS (1973): Functions of a new photoreceptor membrane. – Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 70, 2853-2857.
- SPUDICH, J.L. and R.A. BOGOMOLNI (1983): Spectroscopic discrimination of the three rhodopsin-like pigments in *Halobacterium halobium* membranes. – Biophys. J. 43, 243-246.
- SPUDICH, J.L. and R.A. BOGOMOLNI (1984): Mechanism of colour discrimination by a bacterial sensory rhodopsin. – Nature 312, 509-513.
- TAKAHASHI, T., H. TOMIOKA, N. KAMO and Y. KOBATAKE (1985): A photosystem other than PS 370 also mediates the negative phototaxis of *Halobacterium halobium*. – FEMS Microbiol. Lett. 28, 161-164.
- TOMIOKA, H., T. TAKAHASHI, N. KAMO and Y. KOBATAKE (1986): Action spectrum of the photoattractant response of *Halobacterium halobium* in early logarithmic growth phase and the role of sensory rhodopsin. – Biochim. Biophys. Acta 884, 578-584.
- TRAULICH, B. and G. WAGNER (1986): Photochromic properties of the UV-B sensory pigment in *Halobacterium halobium*. In: Biological Effects of UV-B-Radiation, Proc. Workshop, Freiburg/Br., FRG, March 24th and 25th, 1986.
- WAGNER, G. (1981): Action spectra of ATP synthesis in the halobacterial mutants M-1 and L-33: Photoenergetic and photosensory implications. Discussion paper: EMBO Workshop on Halophilic Microorganisms, Ischia, Italy.
- WAGNER, G. (1985): Halobakterien – Lebenskünstler unter glühender Sonne. – Umschau 8, 476-478.
- WAGNER, G. and A.B. HOPE (1976): Proton Transport in *Halobacterium halobium*. – Aust. J. Plant. Physiol. 3, 665-676.
- WAGNER, G., D. OESTERHELT, G. KRIPPAHL and J.K. LANYI (1981): Bioenergetic role of halorhodopsin in *Halobacterium halobium* cells. – FEBS Lett. 131, 341-345.
- WAGNER, G., B. TRAULICH and K.M. HARTMANN (1987): Bacteriorhodopsin-specific ultraviolet quantum yields of photophosphorylation in *Halobacterium halobium*. – Photochem. Photobiol., 45, 299-303.
- WOLFF, E.K., R.A. BOGOMOLNI, P. SCHERRER, B. HESS and W. STOECKENIUS (1986): Color discrimination in halobacteria: Spectroscopic characterization of a second sensory receptor covering the blue-green region of the spectrum. – Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83, 7272-7276.

## Anschrift des Verfassers:

Dr. Bernhard Traulich  
Prof. Dr. Gottfried Wagner  
Botanisches Institut 1  
der Univ. Gießen  
Senckenbergstr. 17-25  
6300 Gießen

# Einfluß von UV-B-Strahlung auf die Photoorientierung von Flagellaten

Donat-P. Häder

## 1. Mechanismen der Orientierung im Habitat

Viele marine sowie limnische Phytoplankton-Organismen sind beweglich und orientieren sich in ihrem Habitat mit Hilfe von spezifischen Bewegungsreaktionen an externen Stimuli, wie z.B. thermische oder chemische Gradienten, die Schwerkraft oder an mechanischen Reizen (COLOMBETTI et al., 1982; NULTSCH & HÄDER, 1988). Sicherlich spielt das Licht nicht nur für photosynthetische Organismen eine entscheidende Rolle (HÄDER, 1986a; 1987a; 1988). Häufig benutzen Flagellaten antagonistische Bewegungsreaktionen, um spezifische Horizonte in der Wassersäule zu besetzen. Der grüne Flagellat *Euglena gracilis* verwendet eine sehr präzise negative Gravitaxis, um zur Wasseroberfläche zu gelangen (HÄDER, 1987b). Unterstützt wird diese Bewegung durch eine, wenn auch weniger deutlich ausgeprägte positive Phototaxis (HÄDER et al., 1981). Die dadurch induzierte Aufwärtsbewegung der Zellen wird durch eine ebenfalls sehr präzise negative Phototaxis kompensiert, die dann einsetzt, wenn die Zellen hohen Bestrahlungsstärken ausgesetzt sind (HÄDER, 1987b). Die biologische Signifikanz dieses Verhaltens ist offensichtlich, denn einerseits benötigen diese photosynthetischen Organismen das Licht als Energiequelle und andererseits werden sie durch zu hohe Bestrahlungsstärken ausgebleicht und letztendlich abgetötet (HÄDER, 1985). Als Konsequenz dieses Verhaltens sollten sich die Organismen in einem Horizont ansammeln, dessen Lage sich im Verlauf tagesperiodischer Intensitätsänderungen ständig ändert.

## 2. Distribution von Populationen in der Wassersäule

Da man mit Hilfe von gezielten Wasserproben die Aufenthaltswahrscheinlichkeit von Mikroorganismen in der Wassersäule nur schlecht bestimmen kann, wurde eine Plexiglassäule von 1 m Länge und 90 mm innerem Durchmesser konstruiert (Abb. 1), die mit einer vorher angezogenen Reinkultur der Organismen gefüllt wurde (HÄDER and GRIEBENOW, 1988). Diese Säule wurde in einen Wasserkörper (Teich des Botanischen Gartens in Marburg) abgesenkt und ein Temperatenausgleich abgewartet. Entlang der Säule waren 18 Entnahmestellen im Abstand von 50 mm angebracht, die über Schläuche mit einer Peristaltikpumpe verbunden waren, die 18 Proben gleichzeitig entnehmen konnte.

In regelmäßigen Zeitabständen wurden Proben entnommen, ins Labor gebracht und die Zelldichte bestimmt. Dazu wurde eine computergesteuerte Bildverarbeitungsanlage (Abb. 2) so programmiert, daß sie die Zellzahlen automatisch bestimmte (HÄDER and GRIEBENOW, 1987).

Zu Beginn des Experimentes sind die Zellen etwa gleichmäßig im Rohr verteilt und beginnen bereits nach kurzer Zeit mit einer schnellen Abwärtsbewegung, da sie aufgrund der hohen Bestrahlungsstärke eine präzise negative Phototaxis zeigen (Abb. 3). Wenn man Proben in kürzeren Zeitabständen entnimmt, wird deutlich, daß die Zellen dichte Cluster bilden, die sich in Wellen an den Meßstellen vorbeibewegen. Während der Nachtphase bewegen sich die Zellen wieder nach oben und verteilen sich gleichmäßig im Medium, wenn auch die Aufwärtsbewegung deutlich langsamer erfolgt.

## 3. Einfluß solarer UV-B-Strahlung auf die Photoorientierung

Monochromatische, artifizielle UV-B-Strahlung hemmt die Photoorientierung bei verschiedenen Mikroorganismen, wie das Cyanobacterium *Phormidium* (HÄDER, 1984; HÄDER et al., 1986), die Desmidiacee *Cosmarium* (HÄDER, 1987c) und den Schleimpilz *Dictyostelium* (HÄDER, 1983). Besonders bei Flagellaten ist die Hemmung der Phototaxis intensiv untersucht worden (HÄDER, 1985; 1986b).

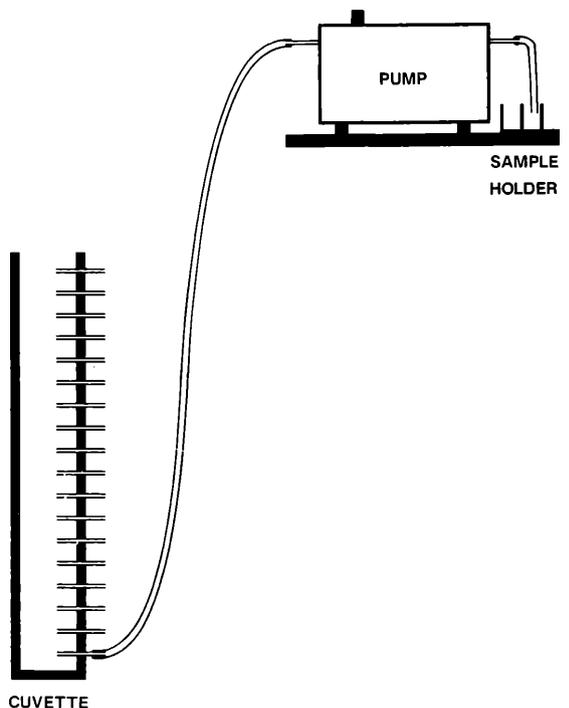


Abbildung 1

Schematische Darstellung einer Plexiglassäule mit 18 Probenentnahmestellen im Abstand von 50 mm entlang der Längsachse der Säule (nach HÄDER and GRIEBENOW, 1988)

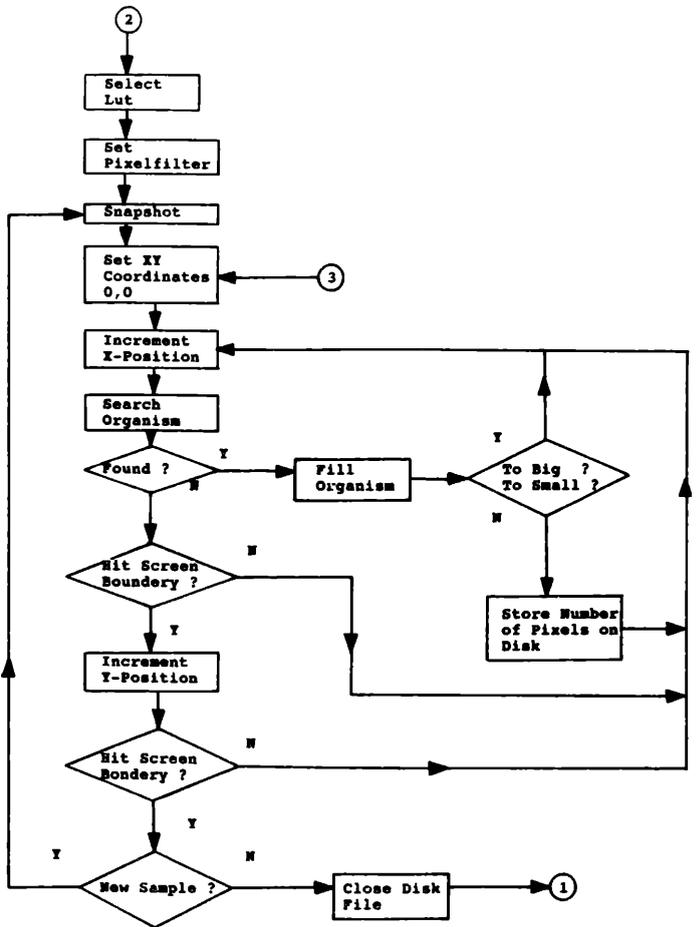


Abbildung 2

Flowchart der computergesteuerten Bildverarbeitungsanlage zur Bestimmung von Zellzahlen in einer Population. Das Bild der nicht fixierten Organismen wird von einer CCD-Kamera erfaßt und mit einer Auflösung von 512 x 512 Pixeln bei einer möglichen Graustufung von 256 digitalisiert. Das in Assembler geschriebene Programm scannt das Bild zeilenweise und errechnet die Fläche jedes Organismus, sowie deren Gesamtzahl (nach HÄDER and GRIEBENOW, 1987).

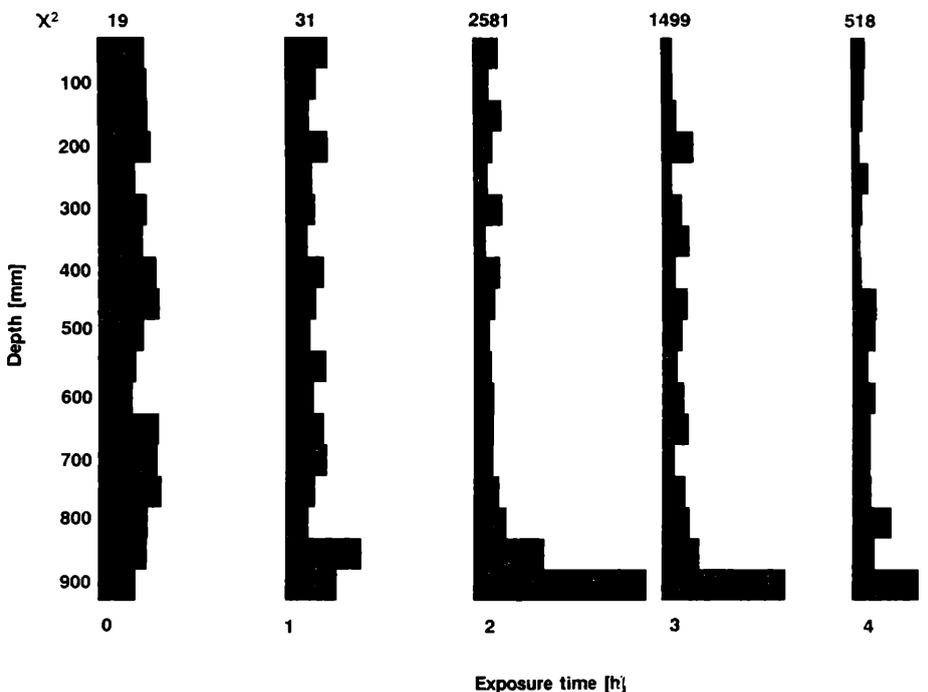


Abbildung 3

Histogramme der Populationsdichte entlang der Säule in einstündigen Zeitabständen während einer starken Insolation. Die Zahlen über den Histogrammen gegen das Ergebnis des Chi-Quadrat-Tests an (nach HÄDER and GRIEBENOW, 1988).

Während der letzten Messungen in Portugal wurden Populationen von *Euglena* in einer temperierten Kammer, die von der Arbeitsgruppe von Prof. Tevini (Karlsruhe) für die Untersuchung höherer Pflanzen aufgestellt war, der Solarstrahlung ausgesetzt, die durch die Plexiglas-Küvette einfiel, die die Kammer nach oben abdeckte. Aus den exponierten Kulturen wurden in regelmäßigen Abständen Proben entnommen, ins Labor gebracht und mit Hilfe einer Bildanalyse (HÄDER and LEBERT, 1985) auf ihre Photoorientierung untersucht (HÄDER and HÄDER, 1988a). Zu Beginn der Exposition war die Orientierung auf das seitlich eingestrahle Testlicht noch unbeeinträchtigt (Abb. 4a), aber bereits nach 180 min war eine extreme Verschlechterung der Orientierung deutlich (Abb. 4b), und nach 300 min solarer Exposition war die Photoorientierung völlig gestört (Abb. 4c).

Die Quantifizierung der Phototaxis mit Hilfe des Rayleigh-Testes (BATSCHELET, 1965; 1981; MARDIA, 1972) zeigte eine signifikante Verschlechterung bereits nach 90 min Solarexposition (Abb. 5, offene Symbole). Wenn jedoch die Dachküvette mit Ozon geflutet wurde, was einen Teil der UV-B-Strahlung der Sonne herausgefiltert hat, so waren die Zellen länger orientiert (Abb. 5, geschlossene Symbole).

Der UV-B-Effekt kann nicht auf eine Absorption durch die photosynthetischen Pigmente zurückgeführt werden, da dunkelgezogene Zellen, die die Plastiden eingebüßt haben, ebenfalls durch Solarexposition in ihrer phototaktischen Orientierung gehemmt sind (HÄDER and HÄDER 1988b).

#### 4. Hemmung der Motilität durch solare UV-B-Strahlung

Parallel zur Hemmung der phototaktischen Orientierung wird auch die Motilität der Zellen sehr stark beeinträchtigt. Der Prozentsatz an beweglichen Zellen in einer normal pigmentierten Kultur von *Euglena gracilis* verringert sich bereits nach einer Expositionszeit von 200 min (HÄDER and HÄDER 1988a). Die tolerierte Expositionszeit verlängert sich deutlich, wenn die Kultur durch die mit Ozon geflutete Küvette bestrahlt wird (Abb. 6). Wenn die Kultur mit einem WG 320 Cutoff Filter abgedeckt ist, ist die Kultur länger beweglich als in der ungefilterten Strahlung, aber weniger lange als unter der Ozonküvette. Interessanterweise sind dunkel gebleichte (chlorophyllfreie) Zellen noch sensibler und werden bereits nach kürzeren Expositionszeiten geschädigt (Abb. 7). Auch bei diesen Zellen wird eine Verlängerung der tolerierbaren Expositionszeiten erreicht, wenn die Solarstrahlung durch ein WG Glas bzw. die ozongeflutete Küvette gefiltert wird (HÄDER and HÄDER 1988b). Als Parallele zu den dunkel-gebleichten Zellen wurden die farblosen Zellen von *Astasia* untersucht; auch bei diesen Organismen wurde die Motilität bereits nach sehr kurzen Expositionszeiten drastisch eingeschränkt (Abb. 8). Jedoch scheint die Sensitivität der Organismen eine Spezies-spezifische Komponente zu sein, denn die grüne Schneeealge *Chlamydomonas nivalis* ist noch weitaus sensibler und wird bereits nach Expositionszeiten von weniger als 20 min signifikant inhibiert (Abb. 9).

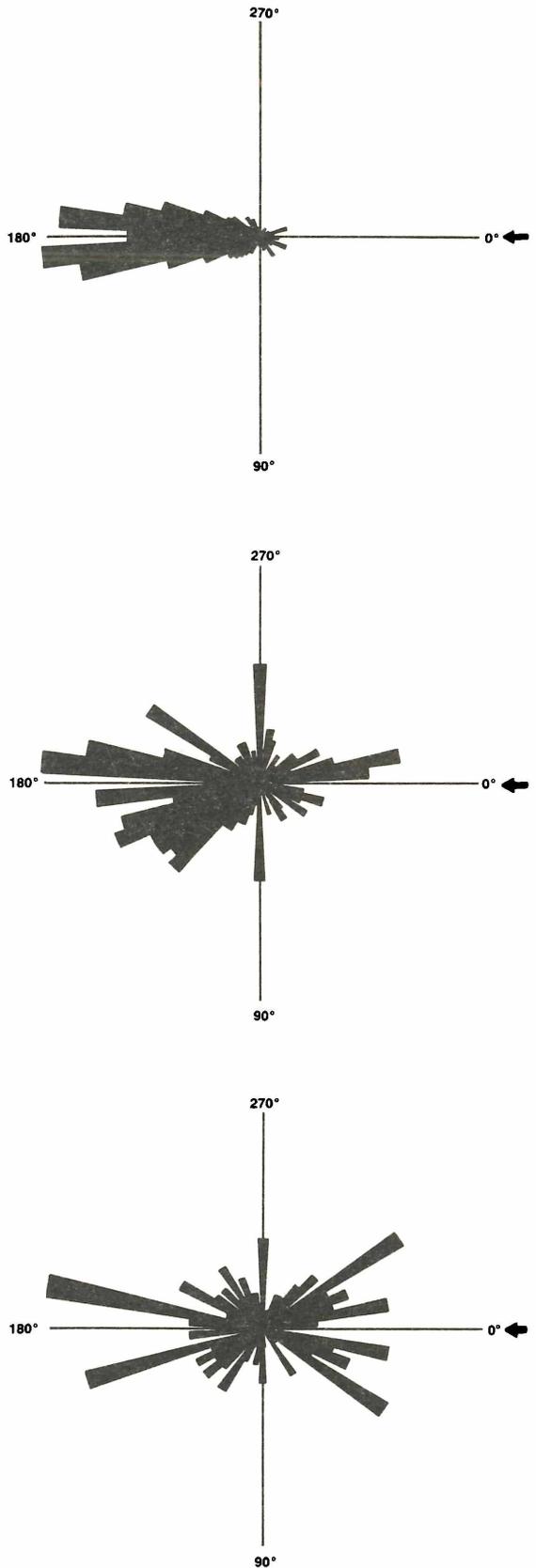


Abbildung 4

**Histogramme der phototaktischen Orientierung von *Euglena* auf seitlich eingestrahles weißes Testlicht (30 klx) vor Solarexposition (oben), nach 180 min (Mitte) und nach 300 min (unten) Solarexposition (nach HÄDER and HÄDER, 1988a).**

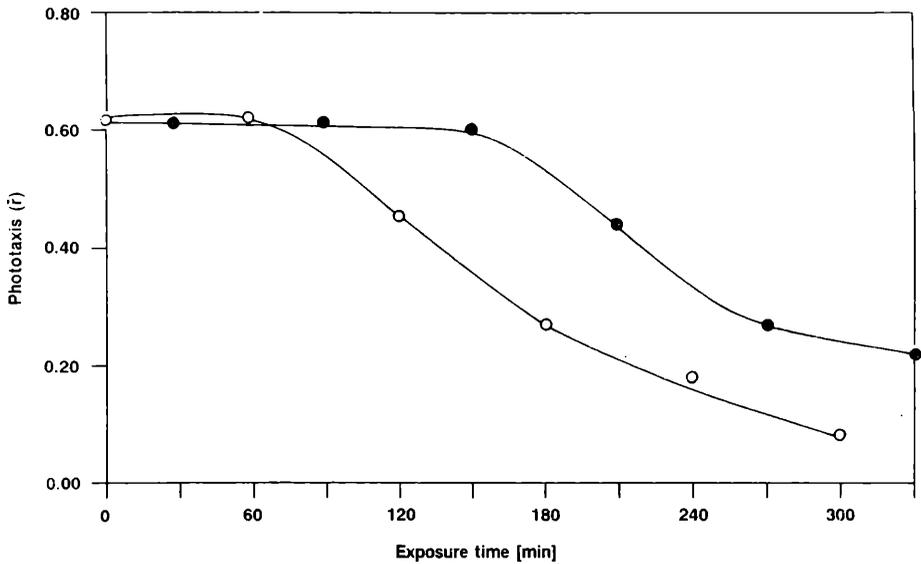


Abbildung 5

**Effekt der solaren Bestrahlung auf die Gerichtetheit (Rayleigh-Test) von *Euglena* auf ein weißes Testlicht nach steigenden Expositionen unter ungefilterter Solarstrahlung (offene Symbole) und unter Strahlung, die durch die Ozonkuvette gefiltert wurde (geschlossene Symbole) (nach HÄDER and HÄDER, 1988a).**

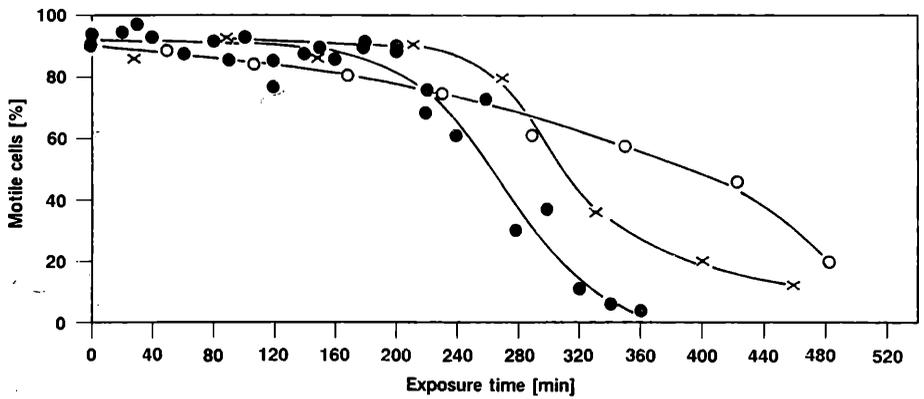


Abbildung 6

**Prozentsatz an beweglichen Zellen einer normal pigmentierten Kultur von *Euglena gracilis* in Abhängigkeit von der Expositionszeit in ungefiltertem Sonnenlicht (geschlossene Punkte), unter der Ozonkuvette (offene Punkte) und unter einem WG 320 Cutoff-Filter (Kreuze) (nach HÄDER and HÄDER, 1988b).**

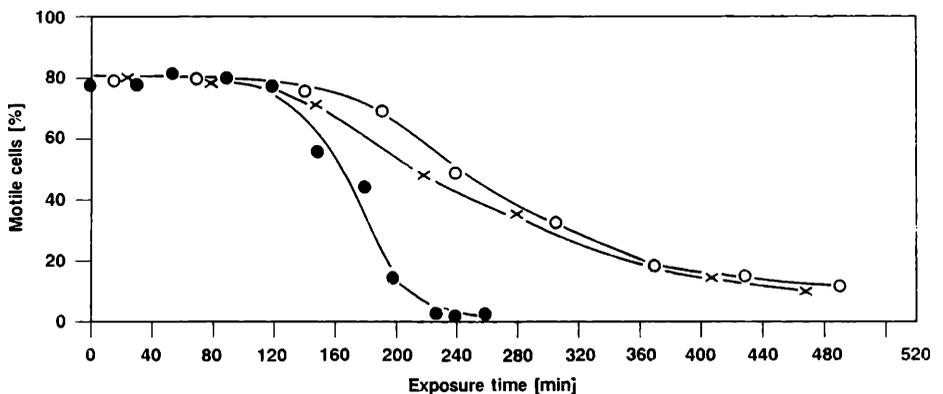


Abbildung 7

**Prozentsatz an beweglichen Zellen einer dunkel-gebleichten Kultur von *Euglena gracilis* in Abhängigkeit von der Expositionszeit in ungefiltertem Sonnenlicht (geschlossene Punkte), unter der Ozonkuvette (offene Punkte) und unter einem WG 320 Cutoff-Filter (Kreuze) (nach HÄDER and HÄDER, 1988b).**

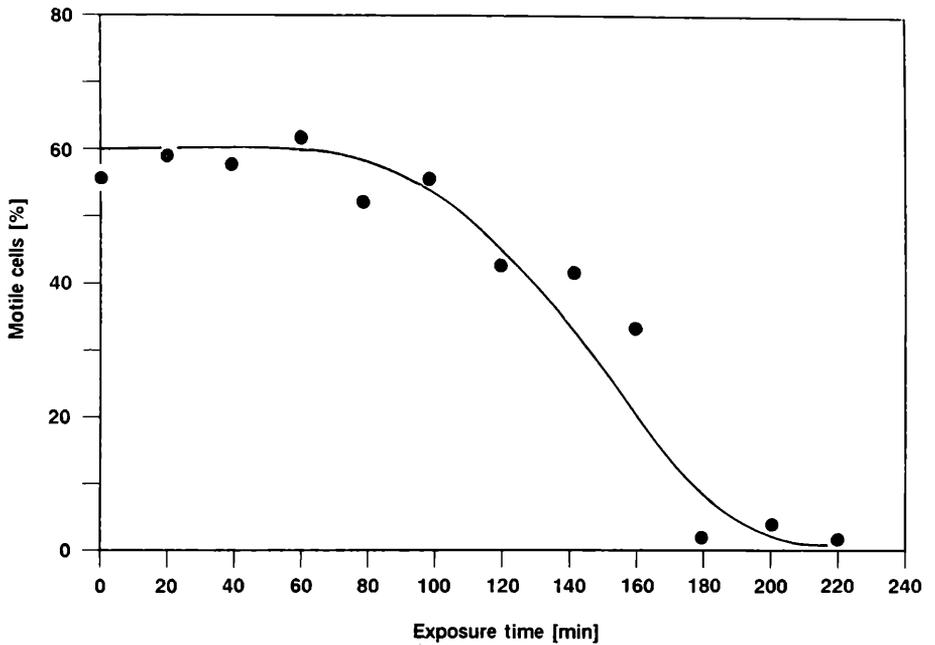


Abbildung 8

Prozentsatz an beweglichen Zellen einer Kultur von *Astasia* in Abhängigkeit von der Expositionszeit in ungefiltertem Sonnenlicht (nach HÄDER and HÄDER, 1989).

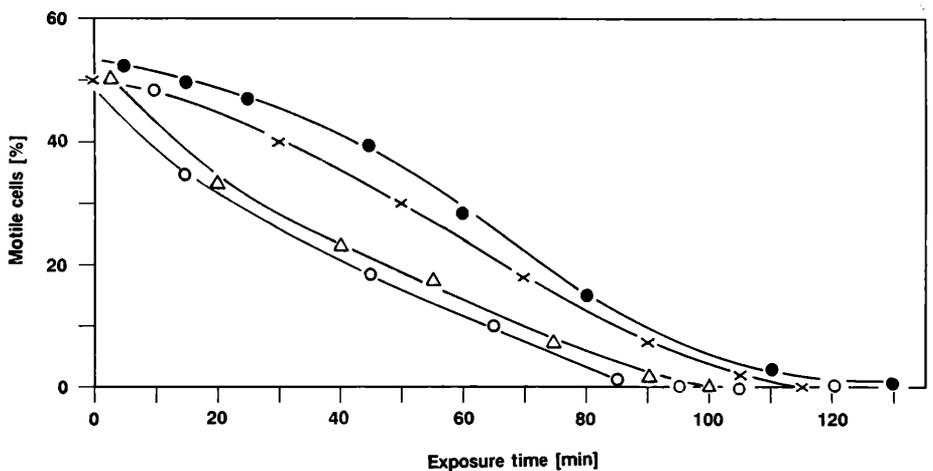


Abbildung 9

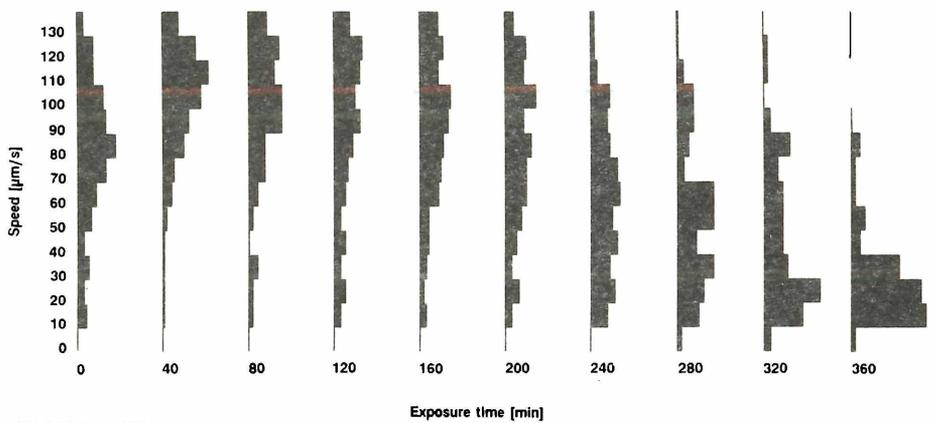
Prozentsatz an beweglichen Zellen einer Kultur von *Chlamydomonas nivalis* in Abhängigkeit von der Expositionszeit in Sonnenlicht unter WG Cutoff-Filtern: WG 280 (offene Punkte), WG 295 (Dreiecke), WG 395 (Kreuze) und WG 320 (geschlossene Punkte) (nach HÄDER and HÄDER, 1989).

### 5. Hemmung der Schwimgeschwindigkeit durch UV-B

Zusätzlich zu der signifikanten Beeinflussung des Prozentsatzes an beweglichen Zellen in der Kultur wird auch die Bewegungsgeschwindigkeit deutlich durch die UV-B-Komponente der Solarstrahlung beeinträchtigt (HÄDER and HÄDER, 1988a). Diese Aussage läßt sich durch den Einsatz einer Bildverarbeitungsanlage quantifizieren, bei der die Bewegungsstrecke der Organismen gemessen und die dabei verstrichene Zeit aus der Hardware-Uhr des Computers abgeleitet wird. Nachgeschaltete Programme errechnen die Geschwindigkeitsverteilung der Organismen in der Population und konstruieren aus den Rohdaten die Verteilungshisto-

gramme. Zellen aus einer normal pigmentierten Kultur von *Euglena gracilis* schwimmen mit einer mittleren Geschwindigkeit von ca. 90  $\mu\text{m/s}$  (HÄDER and HÄDER, 1988a). Wenn die Zellen der Solarstrahlung ausgesetzt werden, steigert sich die Geschwindigkeit während der ersten 40 min um ca. 30 % (Abb. 10). Dieser Effekt ist unter dem Begriff 'Photokinese' bekannt (WOLKEN and SHIN, 1958). Mit zunehmender Bestrahlungsdauer sinkt jedoch die mittlere Bewegungsgeschwindigkeit (HÄDER and HÄDER, 1988a). Nach etwa 6 h waren fast alle Organismen unbeweglich.

Ähnliche Effekte, wenn auch schon nach kürzeren Expositionszeiten, ergaben sich bei dunkelgebleichten *Euglena* und bei dem farblosen Flagel-



**Abbildung 10**

**Lineare Histogramme der Geschwindigkeitsverteilung von einer grünen *Euglena gracilis* Kultur in Abhängigkeit von der Expositionszeit unter ungefilterter Solarstrahlung (nach HÄDER and HÄDER, 1988).**

laten *Astasia*; interessanterweise zeigen auch die farblosen Organismen eine Photokinese, während kein photokinetischer Effekt bei *Chlamydomonas nivalis* zu beobachten war (HÄDER and HÄDER 1989).

## 6. Ökologische Auswirkungen der UV-B Strahlung auf bewegliche Mikroorganismen

Die Untersuchungen mit solarer UV-Bestrahlung zeigen deutlich, daß die eingesetzten farblosen und grünen Flagellaten unter einem erheblichen UV-B-Stress stehen. Dabei wird bereits bei derzeitig auftretenden UV-B-Dosen sowohl die Photoorientierung gehemmt, als auch die Motilität und die Bewegungsgeschwindigkeit beeinträchtigt.

Als Konsequenz dieser Befunde ist die Vorhersage sicherlich gerechtfertigt, daß bei einer Erhöhung des UV-B-Anteils der Solarstrahlung aufgrund einer partiell reduzierten Ozonschicht ernste Konsequenzen für das Wachstum solcher Mikroorganismen zu erwarten sind. Jedoch lassen sich die resultierenden Einbußen in der Biomasseproduktion aus den bisherigen Daten noch nicht quantifizieren.

## 7. Literatur

BATSCHLET, E. (1965): Statistical methods for the analysis of problems in animal orientation and certain biological rhythms; In: GALLES S.R., SCHMIDT-KOENIG K., JACOBS G.J., BELLEVILLE R.F. (eds.): Animal orientation and navigation. pp. 61-91. Washington, NASA.

BATSCHLET, E. (1981): Circular Statistics in Biology. – Acad. Press, London.

COLOMBETTI, G., LENCI, F. and DIEHN, B. (1982): Responses to photic, chemical, and mechanical stimuli; in: Buetow D.E. (ed.): The Biology of *Euglena*, Physiology Vol. 3:169-195, Acad. Press, New York.

HÄDER, D.-P. (1983): Inhibition of phototaxis and motility by UV-B irradiation in *Dictyostelium discoideum* slugs. – Plant Cell Physiol. 24:1545-1552.

----- (1984): Effects of UV-B on motility and photoorientation in the cyanobacterium, *Phormidium uncinatum*. – Arch. Microbiol. 140:34-39.

----- (1985): Effects of UV-B on motility and photobehavior in the green flagellate, *Euglena gracilis*. – Arch. Microbiol. 141:159-163.

----- (1986a): Signal perception and amplification in photomovement of prokaryotes. – Biochim. Biophys. Acta 864:107-122.

----- (1986b): Effects of solar and artificial UV irradiation on motility and phototaxis in the flagellate, *Euglena gracilis*. – Photochem. Photobiol. 44:651-656.

----- (1987a): The relation of photosynthesis to blue light effects. In: Senger, H. (ed.): Blue light responses: phenomena and occurrence in plants and microorganisms. CRC Press, Inc., pp. 145-160.

----- (1987b): Polarotaxis, gravitaxis and vertical phototaxis in the green flagellate, *Euglena gracilis*. – Arch. Microbiol. 147:179-183.

----- (1987c): Effects of UV-B irradiation on photomovement in the desmid, *Cosmarium cucumis*. – Photochem. Photobiol. 46:121-126.

----- (1988): Ecological consequences of photomovement in microorganisms. – J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 1:385-414.

HÄDER, D.-P. and GRIEBENOW, K. (1987): Versatile digital image analysis by microcomputer to count microorganisms. – EDV Med. Biol. 18:37-42.

HÄDER, D.-P. and GRIEBENOW, K. (1988): Orientation of the green flagellate, *Euglena gracilis*, in a vertical column of water. – FEMS Microbiol. Ecol. 53:159-167.

HÄDER, D.-P. and HÄDER, M.A. (1988a): Inhibition of motility and phototaxis in the green flagellate, *Euglena gracilis*, by UV-B radiation. – Arch. Microbiol. 150:20-25.

----- (1988b): Ultraviolet-B inhibition of motility in green and dark bleached *Euglena gracilis*. – Current Microbiol. 17:215-220

HÄDER, D.-P. and HÄDER, M. (1989): Effects of solar UV-B irradiation on photomovement and motility in photosynthetic and colorless flagellates. – Environ. Exper. Bot. 29:273-282

HÄDER, D.-P. and LEBERT, M. (1985):  
Real time computer-controlled tracking of motile microorganisms. – Photochem. Photobiol. 42:509-514.

HÄDER, D.-P., COLOMBETTI, G., LENCI, F. and QUAGLIA, M. (1981):  
Phototaxis in the flagellates, *Euglena gracilis* and *Ochromonas danica*. – Arch. Microbiol. 130:78-82.

HÄDER, D.-P.: WATANABE, M. and FURUYA, M. (1986):  
Inhibition of motility in the cyanobacterium, *Phormidium uncinatum*, by solar and monochromatic UV irradiation. – Plant Cell Physiol. 27:887-894.

MARDIA, K. V. (1972):  
Statistics of Directional Data. Acad. Press, London

NULTSCH, W. and HÄDER, D.-P. (1988):  
Photomovement in motile microorganisms II. – Photochem. Photobiol. 47:837-869.

WOLKEN, J.J. and Shin, E. (1958):  
Photomotion in *Euglena gracilis*. – J. Protozool. 5:39-46.

**Anschrift des Verfassers:**

Prof. Dr. Donat-P. Häder  
Institut für Botanik  
und Pharmazeutische Biologie  
Friedrich-Alexander-Universität  
Standtstraße 5  
D-8520 Erlangen

# Wirkung von UV-B-Strahlung auf den Stickstoffmetabolismus von marinem Phytoplankton

Günter Döhler

Das in der Antarktis seit einiger Zeit beobachtete „Ozonloch“ hat die Diskussion über die Ursache und die Folgen des Ozonabbaues erneut aufkommen lassen. Danach wird das Ozon vor allem durch Fluorchlorkohlenwasserstoffe abgebaut. Nach den Modellberechnungen der Meteorologen soll die Ozonminderung ca. 5 % betragen. Die Folge davon ist eine Erhöhung des auf die Erdoberfläche treffenden UV-Anteils der Sonnenstrahlung und eine Verschiebung zum kürzerwelligen Bereich. Nach den bisher vorliegenden Beobachtungen kann dieses zu deutlichen irreversiblen Schäden der biologischen Systeme führen. Der Ozonabbau wirkt sich besonders negativ auf die Organismen des Meeres aus, das das größte Ökosystem der Erde darstellt. Von besonderer Bedeutung ist hierbei das marine Phytoplankton, das eine wichtige Rolle als Sauerstoff- und Primärproduzent spielt (32 % der gesamten Weltproduktion). Der Hauptanteil der Primärproduktion (60-80 %) geht auf *Diatomeen* zurück und die übrige Biomasse wird von den *Pyrrhophyceen* und *Coccolithophoriden* produziert. In zahlreichen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß die Primärproduktion des marinen Phytoplanktons durch den UV-Anteil der Sonnenstrahlung insbesondere nahe der Wasseroberfläche stark reduziert wird (STEEMANN NIELSEN, E., 1964; SMITH, R.C. et al., 1980; WORREST, R.C., 1982). Eine Erhöhung der UV-B-Strahlung dürfte zu einer Reduktion der Biomasseproduktion führen und wird negative Auswirkungen auf die Primärkonsumenten in der Nahrungskette haben. Die Mikroorganismen, vor allem die Meeresdiatomeen, erwiesen sich als besonders empfindlich gegenüber UV-B-Streß (DÖHLER, G., 1982, 1984a). Die beobachtete artspezifische Sensibilität von Mikroorganismen wirkt sich auf die Artenzusammensetzung des Ökosystems aus (CALKINS, J. und THORDARDOTTIR, T., 1980; WORREST, R.C. et al., 1978). So wurde beobachtet, daß die Sonnenstrahlung eines normalen Sonnentages für viele Diatomeenarten letal war und die Zahl der filamentösen *Cyanobakterien* zunahm. Über die Auswirkungen der Veränderungen in der Phytoplanktongemeinschaft können derzeit noch keine detaillierteren Aussagen gemacht werden. Nach den bisher vorliegenden Untersuchungen führt eine Erhöhung der UV-B-Strahlung zu einer Reduktion der Zellinhaltsstoffe und Beeinträchtigung der Stoffwechselprozesse, was sich wiederum auf das Ökosystem auswirken kann (DÖHLER, G., 1984a, 1985; HALLDAL, P., 1979; WORREST, R.C., 1982). In dem vorliegenden Artikel wird die Wirkung der UV-B-Strahlung auf Wachstum, Zellinhaltsstoffe und die Aufnahme sowie Metabolisierung anorganischer Stickstoffverbindungen bei marinen Diatomeen und Phytoplankton beschrieben.

## 1. Untersuchungsmethoden

Als Versuchsobjekte fanden mehrere Diatomeenarten Verwendung: *Ditylum brightwellii* (West) Grunow, *Lauderia annulata* Cleve, *Lithodesmium variabile* Takano und *Thalassiosira rotula* Meunier. Die Anzuchtbedingungen für die Massenkultur waren: Nährlösung nach v. STOSCH, H.A. und DREBES, G. (1964), Begasung mit normaler atmosphärischer Luft (0,035 Vol. % CO<sub>2</sub>), Temperatur +18°C und ein Licht/Dunkel-Wechsel von 12:12 bzw. 16:8 Stunden (Weißlichtintensität 1 mW cm<sup>-2</sup>). Für die Synchronisation von *Ditylum brightwellii* war ein Licht/Dunkel-Wechsel von 6,5:17,5 Stunden notwendig.

Die natürlichen Planktonproben sind vor Helgoland entnommen und in UV-transparenten und UV-undurchlässigen Plexiglasgefäßen in verschiedenen Wassertiefen wieder exponiert worden. Der Hauptteil der autotrophen Zellen bestand aus *Phaeocystis pouchettii* sowie *Rhizosolenia setigera*, *Chaetoceros spec.*, *Ceratium fusus* und *Dinophysis acuminata*.

Zur Bestrahlung der Algenreinkulturen wurden UV-Röhren der Fa. Philips (TL 40/12 und TL 20/12) und cut-off-Filter (WG 305 der Fa. Schott u. Gen., Mainz; Dicke 3 mm) benutzt. Für die Bestrahlungsexperimente befanden sich die Algen in einer speziellen Quarz-Kulturröhre bzw. UV-durchlässigen Assimilationskammer. Die Lichtintensität wurde mit einem Meßgerät der Fa. International Light bzw. Optronic Lab. Inc., USA gemessen und die Werte nach der Wichtungsfunktion von CALDWELL, M. (1971) berechnet.

Die Bestimmung des Proteingehaltes erfolgte nach der Methode von BRADFORD, M.M. (1976) und die von Chlorophyll a + c nach JEFFREY, S.W. und HUMPHREY, G.F. (1975). Die Extraktion, Trennung und Identifizierung der Lipide sind nach der bei DATZ, G. (Dissertation 1981) beschriebenen Prozedur ausgeführt worden.

Den Phytoplanktonproben und den während der exponentiellen Wachstumsphase geernteten Diatomeenarten wurden <sup>15</sup>N-Ammonium (96 Atom%) und <sup>15</sup>N-Nitrat (96,8 Atom%) appliziert und nach verschiedenen Photosynthesepersonen Proben entnommen. Für die Bestimmung der Aufnahmezeiten sind die Algen auf Whatman-Filter (GF/C) gesaugt und zur Erfassung des <sup>15</sup>N-Einbaues in die Aminosäuren bzw. Proteine in 80%igem Ethanol extrahiert worden. Die Probenaufbereitung erfolgte nach der DUMAS-METHODE und die <sup>15</sup>N-Messung mit einem Emissionsspektrometer (Statron NOI 5, Zeiss, Jena). Nähere Einzelheiten der Versuchsanordnung und <sup>15</sup>N-Analyse wurden bei DÖHLER, G. und ROSSLENBROICH, H.-J. (1981) ausführlich dargestellt. Zur elektrophoreti-

schen Auftrennung der TCA-fällbaren Proteine mittels SDS-DISK-PAGE in einem linearen Porengradienten fand eine Elektrophoreseapparatur der Fa. LKB (Modell Multiphor II Elektrophoresis Unit) Verwendung (Methode nach FEHRNSTRÖM, H. und MOBERG, U., 1977). Die Aktivitäten der Aspartat- (E.C.2.6.1.1) und Alaninaminotransferase (E.C.2.6.1.2) sind nach HATCH, M.D. und MAU, S.-H. (1973) und die der Glutaminsynthetase (E.C.6.3.1.2) und Glutamatsynthase (E.C.1.4.1.14) nach SHAPIRO, B.M. und STADTMAN, E.R. (1970) bzw. GROAT, R.G. und VANCE, C.P. (1981) im optischen Test bestimmt worden.

## 2. UV-B-Wirkung auf Wachstum und Artenzusammensetzung

Von verschiedenen Arbeitsgruppen wurde eine artspezifische Empfindlichkeit von Planktonalgen gegenüber UV-B-Streß gefunden (DÖHLER, G., 1984a+b; WORREST, R.C., 1982). Erste Beobachtungen liegen von GESSNER, F. und DIEHL, A. (1951) an limnischen Planktonalgen vor. Entsprechend der UV-Dosis nahm der Anteil an autotrophen Organismen ab; das Artengefüge des Phytoplanktons wurde infolge einer unterschiedlichen Beeinträchtigung des Wachstums der einzelnen Arten verändert (WORREST, R.C. et al., 1978). CALKINS, J. und THORDARDOTTIR, T. (1980) fanden bei mehreren Diatomeen aus dem Nordatlantik ebenfalls eine artspezifische Sensibilität gegenüber dem UV-Anteil der Sonnenstrahlung. Die Lichtverhältnisse nahe der Wasseroberfläche führten an einem normalen Sommertag für viele Arten des Phytoplanktons zu starken Schäden und letztlich zum Zelltod. Die UV-Strahlung stellt offensichtlich einen wichtigen Selektionsfaktor im marinen Ökosystem dar und beeinflusst die Artenzusammensetzung der natürlichen Phytoplanktonpopulationen. Bei kurzzeitigen Diatomeenarten verursachte UV-B-Strahlung eine starke Hemmung der Wachstumsrate (THOMSON, B.E. et al., 1980). Die Änderung in der Artenzusammensetzung des Phytoplanktons durch UV-Bestrahlung kann zu einer Reduktion der für die Primärkonsumenten gut verwertbaren Phytoplanktonalgen führen und somit die anderen Organismen der Nahrungskette stark beeinträchtigen.

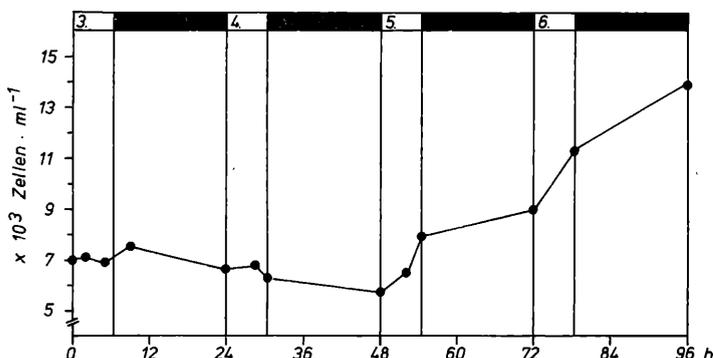
Eine aus mehreren Diatomeenarten bestehende Algengemeinschaft zeigte starke Veränderungen in den Wachstumsraten der einzelnen Arten nach hohen UV-Intensitäten des Sonnenlichts ( $990 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ). Die Diatomee *Thalassiosira rotula* war deutlich UV-B-empfindlicher als *Ditylum brightwellii* und *Lithodesmium variable*; während das Wachstum von *Thalassiosira* stark gehemmt war, wurde das

von *Lithodesmium* deutlich gefördert (DÖHLER, G. und KRAUSE, K.-D., 1989). Neben dem art-spezifischen Verhalten ist außerdem eine stadienspezifische Reaktion gegenüber UV-B-Streß bei Synchronkulturen von *Ditylum brightwellii* beobachtet worden. Eine Dosis von  $780 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  verhinderte die Teilung aller Zellen. Die Abb. 1 zeigt, daß diese Dosis nur für einen Teil der *Ditylum*-zellen letal ist und nach einer Erholungsphase von zwei Zyklen eine erneute Zellteilung auftritt. Die Synchronität der Algen konnte nach UV-B-Bestrahlung mit nur  $280 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  nicht wieder erreicht werden, was die hohe Sensibilität dieser Planktonalge dokumentiert.

## 3. Einfluß der UV-B-Strahlung auf Zellinhaltsstoffe (Pigmentierung, Protein- und Lipidgehalt)

Die destruktive Wirkung von UV auf Nucleinsäuren, Proteine und Pigmente ist seit einiger Zeit bekannt (HALLDAL, P., 1979; WORREST, R.C., 1982). Bei Reinkulturen von zwölf Meeresdiatomeen wurde eine Abnahme des Pigment- und Proteingehaltes schon nach relativ niedrigen UV-B-Dosen ( $439 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ) gefunden, die weit unter denen eines normalen Sonnentages liegen (DÖHLER, G., 1984a). Die Daten der Tab. 1 zeigen deutliche Unterschiede in der Auswirkung der UV-B-Bestrahlung auf den Pigment- und Proteingehalt von Mikroalgen je nach taxonomischer Gruppe. Die eukaryontischen Algen waren wesentlich empfindlicher als die Cyanobakterien. Besonders auffällig ist die starke Verminderung des Phycocyanin-gehaltes nach UV-B-Bestrahlung, was mit der exponierten Anordnung der Phycobilisomen auf den Thylakoidmembranen erklärt werden kann. Eine besonders drastische Reduktion der Zellinhaltsstoffe wurde bei den Meeresdiatomeen schon bei niedriger UV-B-Dosis gefunden. Zusätzliche Streßfaktoren (Temperatur, Salzkonzentration) verursachen weitere Schäden (DÖHLER, 1984b). So weisen Meeresdiatomeen, die bei einer Salzkonzentration von 35 ‰ wachsen, bei einer Salinität von 20 ‰ deutlich höhere Schäden nach UV-B-Streß in der Pigmentierung und im Proteingehalt auf als bei 45 ‰.

Bei Synchronkulturen von *Ditylum brightwellii* ist der Einfluß von UV-B auf die Synthese der Acyllipide untersucht worden (vgl. Abb. 2). Die Algen sind zu Beginn der Lichtphase und mit unterschiedlicher Intensität bestrahlt worden. Die Synthese von Digalactosyldiacylglycerin (DGDG) reagierte am empfindlichsten auf UV-B-Streß. Von den anderen Lipiden waren Monogalaktosyldiacylglycerin (MGDG) und Phosphatidylglycerin (PG) ebenfalls in ihrer Synthese deutlich beeinträchtigt. Dagegen wurde die Lecithinsynthese (PC) nur um ca. 20 %



**Abbildung 1**

### Änderung der Zellzahl von *Ditylum brightwellii* nach UV-B-Bestrahlung.

Mit Lichtbeginn (0.-2. h) wurde die *Ditylum*-Kultur einer UV-B-Dosis von  $780 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  im 3. Zellzyklus ausgesetzt. In den folgenden drei Zyklen wurde die Zellzahl bestimmt (nach DÖHLER, G. und BIERMANN, T. 1989).

Tabelle 1

Einfluß von UV-B-Bestrahlung (1230 und 717 J m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>) auf den Chlorophyll a-, Phycocyanin-, Carotinoid- und Proteingehalt verschiedener Cyanobakterien und eukaryontischer Algen. Die Werte sind in µg ml<sup>-1</sup> und die Reduktion in % angegeben.

	Chlorophyll a		Phycocyanin		Carotinoide		Protein	
	Kontrolle 1230	%						
<i>Synechococcus leopoliensis</i>	25	20	111	39	22	22	261	245
		20		65		0		6
<i>Anabaena cylindrica</i>	37	27	22	11	19	17	50	45
		27		50		11		10
<i>Porphyridium purpureum</i>	11	9	14	10	7	6	257	175
		18		29		14		32
<i>Chlorella fusca</i>	55	24	-	-	22	13	465	176
		56		-		41		62
	Kontrolle 717	%			Kontrolle 717	%	Kontrolle 717	%
<i>Ditylum brightwellii</i>	7	3	-	-	7	4	103	31
		57		-		43		70
<i>Thalassiosira rotula</i>	7	4	-	-	7	3	58	40
		43		-		57		31

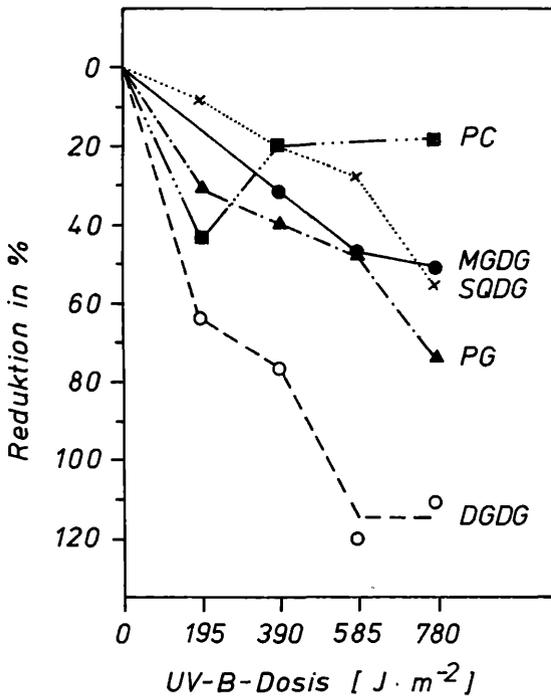


Abbildung 2

#### Reduktion der Lipidsynthese von *Ditylum brightwellii* in Abhängigkeit von der UV-B-Dosis.

DGDG Digalactosyldiacylglycerin, MGDG Monogalactosyldiacylglycerin, PC Phosphatidylcholin, PG Phosphatidylglycerin, SQDG Sulfoquinovosyldiacylglycerin (nach DÖHLER, G. und BIERMANN, T. 1989).

gehemmt. Da die UV-B-Dosis von  $780 J m^{-2} d^{-1}$  die DNS- und RNS-Synthese reversibel hemmt, wurde diese Intensität für die weiteren Experimente mit Synchronkulturen ausgewählt. Zu verschiedenen Zeiten der Lichtperiode eingestrahles UV-B bewirkte eine unterschiedliche Reduktion der einzelnen Lipide. Keinen Einfluß hatte während der Dunkelphase appliziertes UV-B auf die Acyllipidsynthese. Nach den vorliegenden Befunden wird kein Abbau der getesteten Lipide bei dieser UV-B-Dosis ( $780 J m^{-2} d^{-1}$ ) induziert (DÖHLER, G. und BIERMANN, TH., 1989).

#### 4. Wirkung der UV-B-Bestrahlung auf die Aufnahme von $^{15}N$ -Ammonium, $^{15}N$ -Nitrat und $^{15}N$ -Harnstoff

Seit den Untersuchungen von WARBURG, O. und NEGELEIN, E. (1920) sind zahlreiche Arbeiten über die Aufnahme und Assimilation anorganischer und organischer Stickstoffverbindungen veröffentlicht worden (LEA, P.J. und MIFLIN, B.J., 1979; SYRETT, P.J., 1981; ULLRICH, W.R., 1983). Nach Beobachtungen von COLLOS, Y. und SLAWYK, G. (1979) wird bei Phytoplanktonarten bevorzugt Nitrat aufgenommen. Der Transport in das Zellinnere erfolgt unter Beteiligung von Permeasen. Nach WHEELER, P. (1983) kommen als Transportmechanismen 1. ein ATP-verbrauchender, aktiver primärer Transport und 2. ein aktiver sekundärer Transport aufgrund eines Ionengefälles in Betracht, letzteres vor allem für  $NH_4^+$ . DUGDALE, R.C. und GOERING, J.J. (1967) haben die  $^{15}N$ -Tracertechnik für die Untersuchung der Aufnahme von  $^{15}N$ -markiertem Ammonium und Nitrat bei Phytoplankton eingeführt. Neuerdings wird diese Methode von verschiedenen Arbeitsgruppen mit Erfolg angewandt.

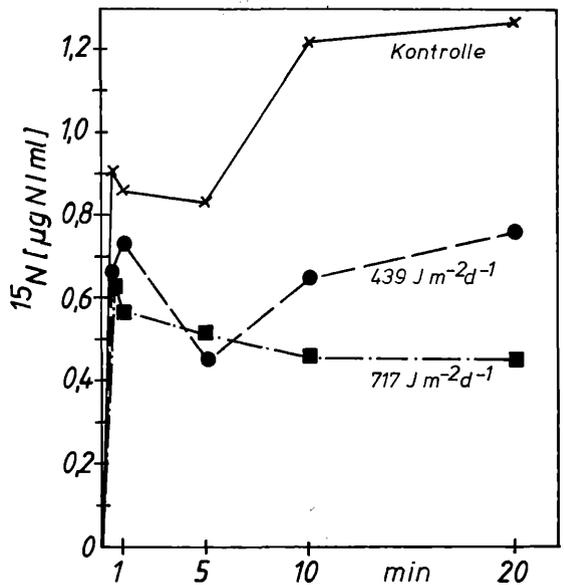


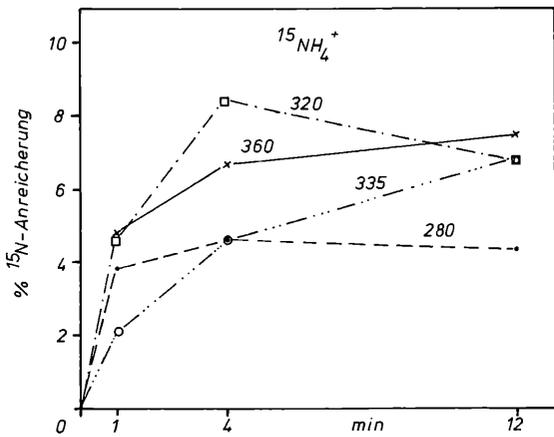
Abbildung 3

#### Kinetik der $^{15}NO_3^-$ -Aufnahme von *Ditylum brightwellii* nach UV-B-Bestrahlung.

Die Nitrataufnahme ist in  $^{15}N \mu g N l^{-1} ml^{-1}$  angegeben. In Parallelansätzen sind die Algen mit  $439$  bzw.  $717 J m^{-2} d^{-1}$  in den vorausgegangenen zwei Tagen bestrahlt worden.

Die Aufnahmeraten der anorganischen N-Verbindungen wird durch UV-B-Bestrahlung beeinflusst. Bei allen getesteten Cyanobakterien und Mikroalgen konnte eine Dosis-Wirkungsbeziehung festgestellt werden (DÖHLER, G. und STOLTER, H., 1986; DÖHLER, G. et al., 1986). Die Aufnahme von  $^{15}NH_4^+$  wurde stärker durch UV-B-Bestrahlung beeinträchtigt als die von  $^{15}NO_3^-$ . Außerdem konnte ein artspezifisches Verhalten bei den verschiedenen taxonomischen Gruppen sowie innerhalb der marinen Diatomeen beobachtet werden (DÖHLER, G. und STOLTER, H., 1986). Die Abb. 3 zeigt repräsentativ für die anderen Algenarten die Wirkung der UV-B-Strahlung auf die Nitrataufnahme von *Ditylum brightwellii*. Mit zunehmender UV-B-Intensität nimmt die Aufnahmerate ab; bei anderen Arten wurde nach einer Reduktion eine Steigerung derselben beobachtet, was offensichtlich auf strukturellen Veränderungen in der Zellmembran zurückzuführen ist. Die bisher vorliegenden Daten deuten auf eine Hemmung des Aufnahmesystems durch UV-B hin, was einerseits auf einer direkten Beeinträchtigung und andererseits auf einer Verminderung der ATP-Versorgung beruhen kann.

In einer anderen Serie von Experimenten wurde der zeitliche Verlauf der  $^{15}N$ -Ammonium-Aufnahme von *Lithodesmium variabile* bei Einstrahlung verschiedener Wellenlängenbereiche untersucht (Abb. 4). Danach wird bei Bestrahlung im kurzwelligen Bereich (WG 280) die niedrigste Aufnahmerate gefunden. Der  $^{15}N$ -Einbau in mehrere freie Aminosäuren ergab – unabhängig vom Wellenlängenbereich – eine höhere Einbauraten in Glutamin als in Glutaminsäure (DÖHLER, G. et al., 1987). Aufgrund dieser und anderer Befunde kann Glutamin eine regulatorische Funktion in der Aufnahme anorganischer Stickstoffverbindungen haben. Die UV-B-Bestrahlung (290-320 nm) führt bei gleichzeitiger Bestrahlung mit monochromatischem Licht zu unterschiedlichen Reaktionen im Stickstoffmetabolismus von *Thalassiosira rotula* (Abb.



**Abbildung 4**

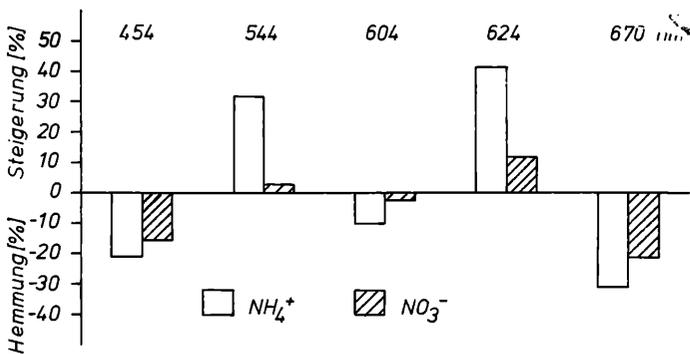
**Einfluß verschiedener Wellenlängenbereiche auf die Kinetik der  $^{15}\text{NH}_4^+$ -Aufnahme von *Lithodesmium variabile*.**

Die verschiedenen UV-Bestrahlungen wurden mit cut-off-Filtern (Schott WG 280, 320 und 335) mit der gleichen Charakteristik im sichtbaren Bereich des Spektrums erreicht. Die ungewichteten UV-Intensitäten waren:  $3,81 \text{ W m}^{-2}$  mit WG 280,  $2,02 \text{ W m}^{-2}$  mit WG 320 und  $0,75 \text{ W m}^{-2}$  mit WG 335. Die Algen wurden zusätzlich mit Weißlicht ( $8 \text{ W m}^{-2}$ ) bestrahlt (nach DÖHLER, G., WORREST, R. C., BIERMANN, I. und ZINK, J. 1987).

5). So wird die Aufnahme von Ammonium und Nitrat bei Bestrahlung mit 454, 604 und 670 nm durch UV-B signifikant vermindert. Demgegenüber bewirkt UV-B-Bestrahlung im grünen (544 nm) und orangeroten (624 nm) Bereich eine Steigerung der Aufnahmeraten. Da in den verschiedenen Tiefen der Wassersäule unterschiedliche Lichtverhältnisse vorkommen, kann diese Kombination d.h. UV-B und verschiedene Wellenlängenbereiche des sichtbaren Lichts einen schädigenden Einfluß auf die Stoffwechselprozesse der Phytoplanktonarten ausüben.

Da Harnstoff ebenfalls als Stickstoffquelle für das marine Phytoplankton von Bedeutung ist, wurde der UV-B-Einfluß auf die Aufnahme dieser Substanz bei *Ditylum brightwellii* bearbeitet. Entsprechend der eingestrahnten UV-B-Dosis ( $306, 606 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ) nimmt die Harnstoffaufnahme bis zu 40 % ab; der  $^{15}\text{N}$ -Einbau in Glutaminsäure war deutlich niedriger als der in Glutamin. Diese Befunde stimmen im wesentlichen mit denen der Assimilation von Ammonium und Nitrat überein.

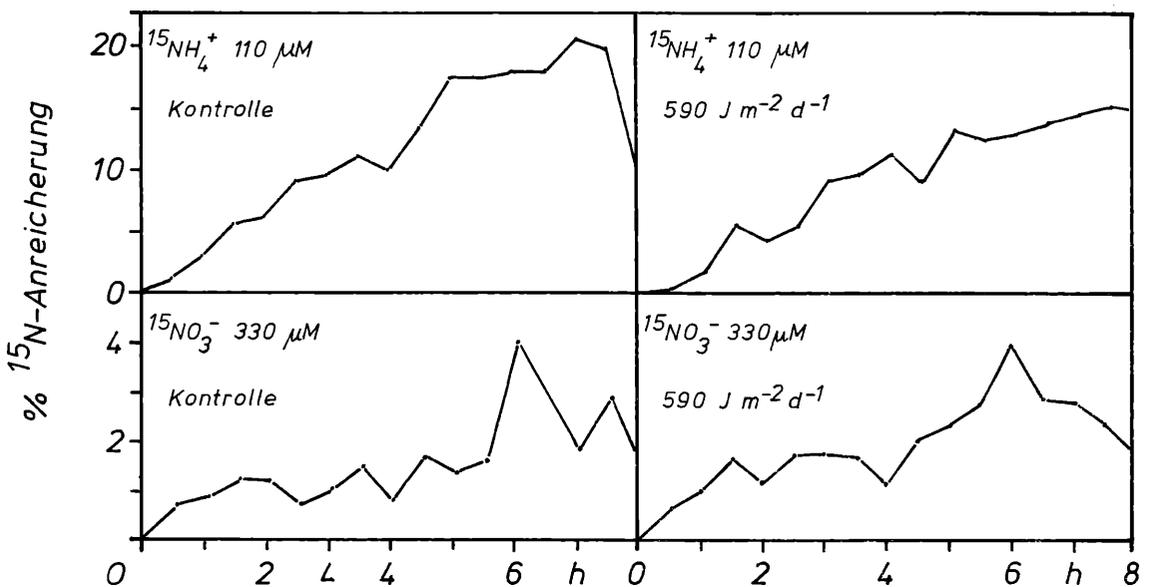
In mehreren Versuchsreihen wurde der Einfluß des UV-Anteils der Sonnenstrahlung auf die Aufnahme von  $^{15}\text{N}$ -Ammonium und  $^{15}\text{N}$ -Nitrat eines Diatomeengemisches, bestehend aus *Ditylum brightwellii*, *Lithodesmium variabile*, *Odontella sinensis* und



**Abbildung 5**

**Einfluß von UV-B ( $800 \text{ J m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ) auf die  $^{15}\text{N}$ -Ammonium und  $^{15}\text{N}$ -Nitrataufnahme von *Thalassiosira rotula* nach 10 min. Bestrahlung mit monochromatischem Licht ( $436 \text{ mW m}^{-2}$ ).**

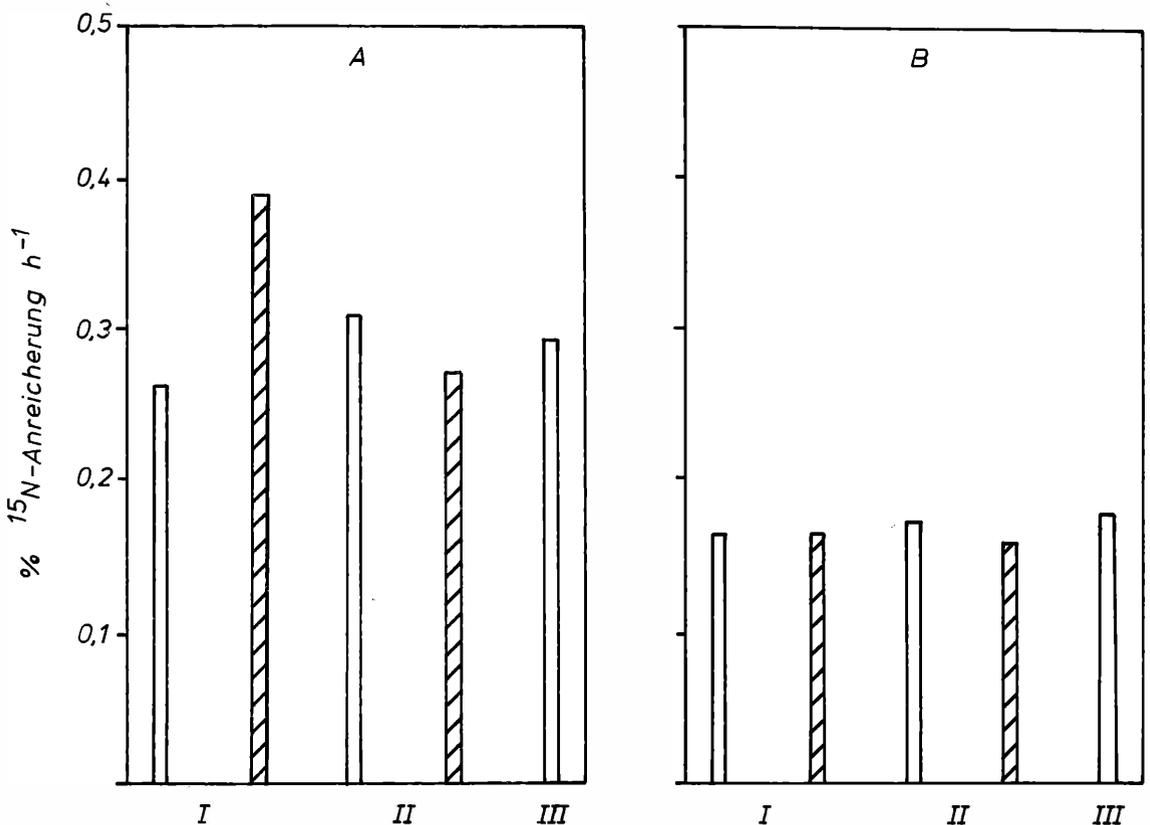
Die Werte sind in % bezogen auf die nicht mit UV-B-behandelten Zellen (=0) angegeben.



**Abbildung 6**

**Wirkung des UV-Anteils der Sonnenstrahlung auf die Aufnahme von  $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$  (96 Atom%) und  $\text{K}^{15}\text{NO}_3$  (96,5 Atom%) einer Algengemeinschaft.**

Die Diatomeen *Ditylum brightwellii*, *Lithodesmium variabile*, *Odontella sinensis* und *Thalassiosira rotula* sind in UV-transparenten und UV-undurchlässigen Plexiglasgefäßen zwei Tage der natürlichen Sonnenstrahlung ausgesetzt worden. Am zweiten Tag wurde die Aufnahme der anorganischen Stickstoffverbindungen ermittelt.



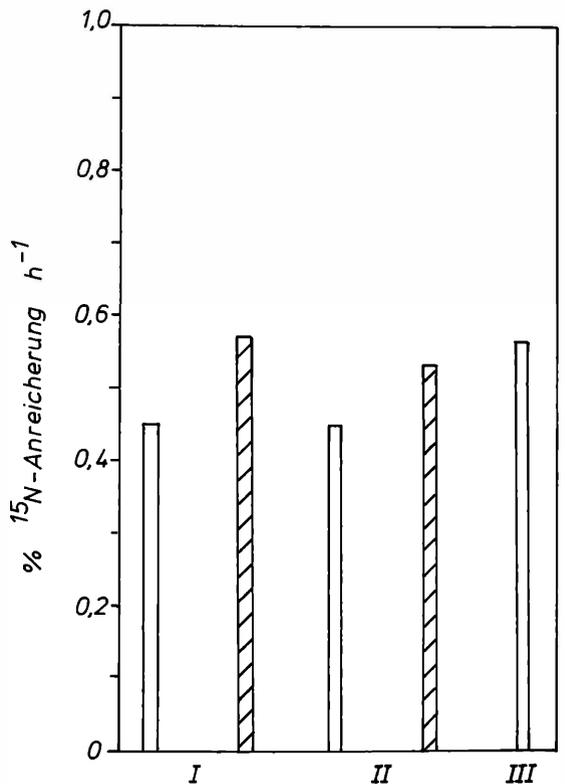
**Abbildung 7**

Die Aufnahme von <sup>15</sup>N-Nitrat (100 μM) einer natürlichen Planktonpopulation in verschiedenen Tiefen (I=17, II=117, III=267 cm).

Das Phytoplankton bestand vor allem aus *Phaeocystis pouchetii* (60 %), *Rhizosolenia setigera* (21,7 %) und *Ceratium fusus* (7,7 %). Die Lichtintensitäten waren A 209 J cm<sup>-2</sup>h<sup>-1</sup> und B 101 J cm<sup>-2</sup>h<sup>-1</sup>. □□□ UV-transparente und ▨▨▨ UV-undurchlässige Gefäße.

*Thalassiosira rotula*, unter Freilandbedingungen getestet. Nach 24-stündigem Wachstum in UV-transparenten und UV-undurchlässigen Plexiglasgefäßen wurde dem Algengemisch <sup>15</sup>N-Ammonium (110 μM) und <sup>15</sup>N-Nitrat (330 μM) zugegeben und die Aufnahme dieser Substanzen im Tagesverlauf ermittelt (vgl. Abb. 6). Bei einem weniger sonnigen Tag (UV-Dosis 360 J m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>) wurde ein geringer Einfluß auf die Ammonium- und kein Einfluß auf die Nitrataufnahme beobachtet. Bei einem relativ hohen Anteil des Sonnenlichts (990 J m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>) wird die Aufnahme beider Substanzen deutlich gehemmt. Bei einer UV-Dosis von 590 J m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup> war die Nitrataufnahme teilweise erhöht, jedoch die Ammoniumassimilation signifikant reduziert. Das Diatomeengemisch reagiert demnach auf UV-B-Strahlung ähnlich wie Algenreinkulturen.

Die Untersuchungen an Reinkulturen sind durch Freilandexperimente vor Helgoland mit natürlichen Phytoplanktonpopulationen ergänzt worden. Die Planktonproben wurden in UV-transparenten und UV-undurchlässigen Plexiglasgefäßen nach Fütterung mit <sup>15</sup>N-markierten Substanzen in verschiedenen Wassertiefen im Nordosthafen Helgolands exponiert. Die Aufnahme von Ammonium und Nitrat ist nach verschiedenen Expositions- und Tageszeiten ermittelt worden (vgl. Abb. 7 u. 8). In Übereinstimmung mit früheren Beobachtungen wurde die Rate der Ammoniumaufnahme durch hohe Lichtintensitäten bzw. durch den UV-Anteil des Sonnenlichts in den UV-transparenten Gefäßen (z.B. Quarzflaschen) stärker gehemmt als die Nitrataufnahme bei vergleichbaren Intensitäten. Unabhängig



**Abbildung 8**

Die Aufnahme von <sup>15</sup>N-Ammonium (100 μM) einer natürlichen Planktonpopulation in verschiedenen Tiefen (I=17, II=117, III=267 cm).

Die photoautotrophen Organismen waren *Phaeocystis pouchetii* (94,2 %) und *Rhizosolenia setigera* (5,1 %). Die Lichtintensität betrug 133 J cm<sup>-2</sup>h<sup>-1</sup>. Weiter Angaben siehe Abb. 7.

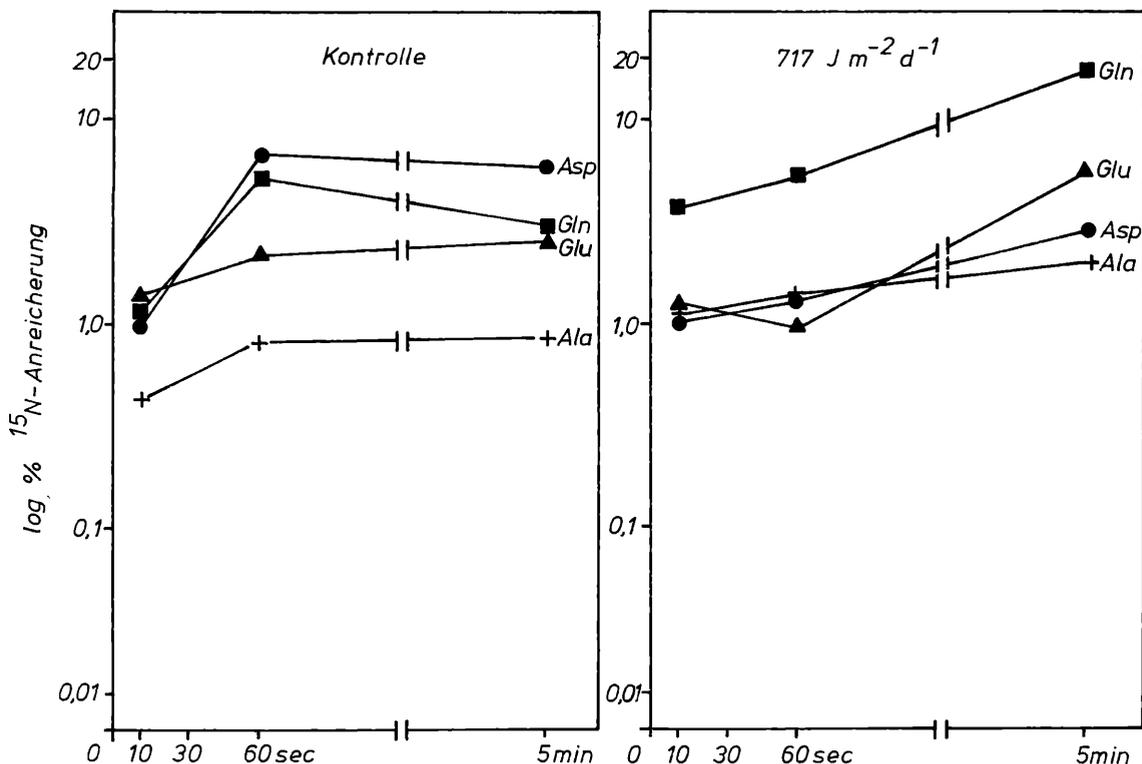


Abbildung 9

Wirkung von UV-B (117 J m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>) auf die Kinetik des <sup>15</sup>N-Einbaues in Alanin (Ala), Aspartat (Asp), Glutamat (Glu) und Glutamin (Gln) von *Lauderia annulata*.

Nach 15 min. Photosynthese wurde <sup>15</sup>NH<sub>4</sub>Cl (96 Atom%, Endkonzentration 1 mM) zugegeben. Die Algen wurden zwei Tage der UV-B-Bestrahlung (5h täglich) ausgesetzt (nach DÖHLER, G. und BIERMANN, I. 1987).

gig von der Jahreszeit und der Zusammensetzung des Planktons war die Aufnahmerate von Ammonium höher als die von Nitrat. In der Regel wurden nahe der Wasseroberfläche in den UV-transparenten Gefäßen niedrigere Werte als bei den Algen in UV-undurchlässigen Assimilationskammern gefunden (Abb. 7A u. 8). Bei niedriger Lichtintensität traten nur geringe Unterschiede in den Assimilationsraten der anorganischen Stickstoffverbindungen des in verschiedenen Tiefen exponierten Phytoplanktons unabhängig vom Gefäßtyp auf (vgl. Abb. 7B). Offensichtlich geht die Reduktion der Aufnahme von Ammonium und Nitrat auf den UV-Anteil des Sonnenlichts zurück. Der <sup>15</sup>N-Einbau in die Aminosäuren des Phytoplanktons führte zu ähnlichen Ergebnissen wie bei den Reinkulturen von Mikroalgen. Demnach können die an Reinkulturen unter Laborbedingungen erzielten Ergebnisse zumindest teilweise auf das Verhalten der natürlichen Phytoplanktonpopulationen gegenüber UV-B-Streß übertragen werden.

in die Aminosäuren und Proteine nach bzw. während der UV-B-Bestrahlung untersucht. Bei *Lauderia annulata* ist der zeitliche Verlauf der <sup>15</sup>N-Markierung von Alanin, Aspartat, Glutamat und

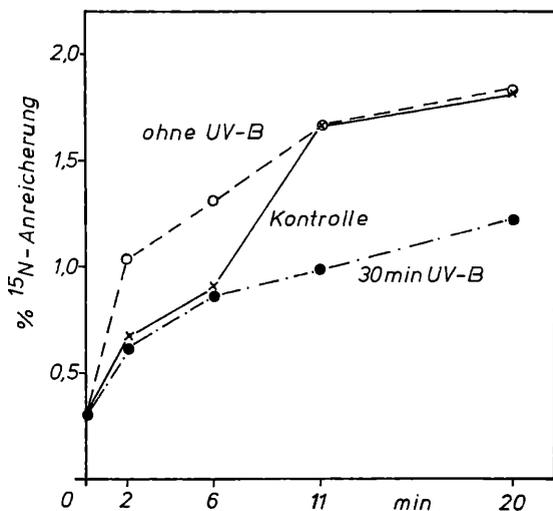
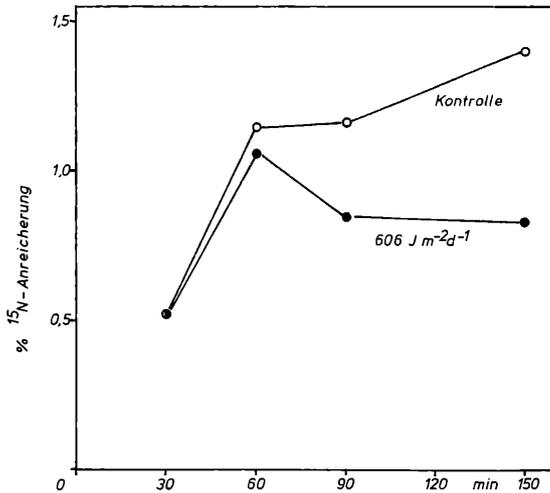


Abbildung 10

Einfluß von UV-B-Bestrahlung auf den <sup>15</sup>N-Einbau in die lösliche Proteinfraction von *Ditylum brightwellii*.

Die Kontrollalgen und die Probe ohne UV-B sind in gleicher Weise vorbehandelt worden, d.h. Weißlichtbestrahlung und WG 360-Filter vor UV-Röhren. Während des Versuchs sind alle Algen einer Weißlichtbestrahlung ausgesetzt worden. Bei der Kontrollprobe wurde ein WG 360-Filter und bei den anderen Proben ein WG 305-Filter vor die UV-Röhren geschaltet.

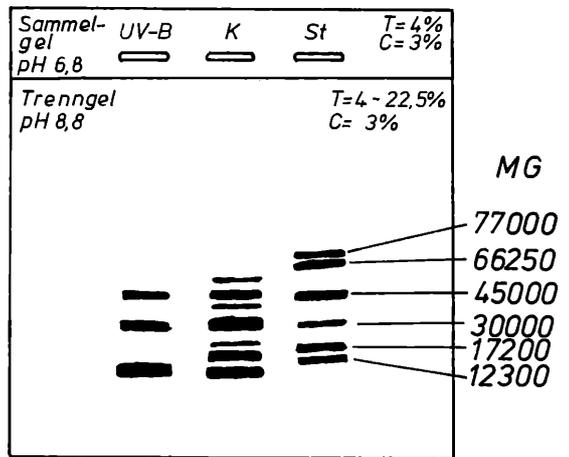


**Abbildung 11**

Einbau von <sup>15</sup>N-Leucin in die lösliche Proteinfraction von *Ditylum brightwellii* während der UV-B-Bestrahlung (606 J m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>).

Nach 30 min. Weißlichtbestrahlung wurde mit UV-B bestrahlt und <sup>15</sup>N-Leucin (96 Atom%, Endkonzentration 1 mM) zugegeben.

Glutamin nach vorausgegangener zweitägiger UV-B-Bestrahlung (5 h pro Tag) ermittelt worden (Abb. 9). Danach bewirkt UV-B-Streß vor allem eine Erhöhung des <sup>15</sup>N-Einbaues in Glutamin und eine Reduktion der <sup>15</sup>N-Markierung von Aspartat und Glutamat. Ähnliche Ergebnisse wurden mit



**Abbildung 12**

Proteinmuster von UV(1) - und nicht UV(2) - bestrahlten Kulturen von *Ditylum brightwellii*.

Die Algen wurden an zwei Tagen je 5 h mit einer Dosis von 717 J m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup> bestrahlt. Die Auftrennung erfolgte mittels horizontaler SDS-DISK-PAGE in einem linearen Porengradienten (T=4-22,5 %). Zur Molekulargewichtsbestimmung wurde ein Proteinstandard (3) aufgetrennt.

der Diatomee *Ditylum brightwellii* und der Rotalge *Porphyridium purpureum* erzielt. Diese Befunde deuten daraufhin, daß UV-B-Bestrahlung mit relativ niedriger Intensität (717 J m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>) bereits zu Beeinträchtigungen der Enzyme des Stickstoffmetabolismus führen kann.

DITYLUM BRIGHTWELLII						
Enzym	Kon- trolle	UV	%	Kon- trolle	UV	%
Glutaminsynthese- tase (GS)	351,3	421,5	+19,9	285,9	326,6	+14,2
Glutamatsynthase (GOGAT)	0,189	0,153	-19,0	0,179	0,146	-18,4
Glutamatdehydro- genase (GDH)	0,244	0,232	- 4,9	0,276	0,246	-10,9
Nitratreduktase (NR)	15,0	14,0	- 6,7			
LITHODESMIUM VARIABLE						
Alaninamino- transferase	80,10	8,70	-89,1			
Aspartatamino- transferase	6,48	6,20	- 4,3			

**Tabelle 2**

Einfluß von UV-B-Bestrahlung (717 J m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>) auf die Aktivitäten verschiedener Enzyme des N-Metabolismus von *Ditylum brightwellii* und *Lithodesmium variable*. Die Werte sind in der Regel in U mg<sup>-1</sup> Protein h<sup>-1</sup> außer bei der GS in nmol mg<sup>-1</sup> Protein min<sup>-1</sup> und in % Hemmung angegeben.

TYP 1	TYP 2	TYP 3
<p><b>Wirkung:</b> Zunahme aller Aminosäuren</p> <p><b>Interpretation:</b> Hemmung der Proteinsynthese</p> <p><b>Species:</b> <i>Chaetoceros debilis</i></p>	<p>Zunahme von <b>Glutamat</b></p> <p>Abnahme von <b>Glutamin</b></p> <p>und Verringerung von Aspartat und Asparagin</p> <p>Hemmung der Glutamin- synthetase und Phosphoenol- pyruvat-Carboxykinase</p> <p><b>Thalassiosira punctigera</b> <b>Thalassiosira rotula</b></p>	<p>Zunahme von <b>Glutamin</b></p> <p><b>Glutamat</b></p> <p>A: und Anstieg des Alanin-pools Interpretation: Hemmung der Glutamatsynthase und Alaninamino-transferase.</p> <p>Species: <i>Lauderia annulata</i></p> <p>B: und Anstieg des Aspartat-pools. Interpretation: Hemmung der Glutamatsynthase und Steigerung der Phosphoenolpyruvat-Carboxy- kinase.</p> <p>Species: <i>Asterionella glacialis</i> <i>Ditylum brightwellii</i></p> <p>C: und Reduktion des Aspartat-pools. Interpretation: Hemmung der Glutamatsynthase und Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase.</p> <p>Species: <i>Bellerochea spinifera</i> <i>Bellerochea yucatanensis</i> <i>Odontella regia</i> <i>Odontella sinensis</i></p>

**Abbildung 13**

**Zusammenfassende Darstellung der UV-B-Wirkung auf die Pool-größen freier Aminosäuren von Meeressdiatomeen sowie deren Interpretation.**

In einer anderen Versuchsserie ist der  $^{15}\text{N}$ -Einbau in die lösliche Proteinfraktion während der UV-B-Bestrahlung von *Ditylum brighwellii* nach einer 30 min. Adaptationsperiode und Zugabe von  $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$  (0,5 mM Endkonzentration) verfolgt worden (vgl. Abb. 10). Während der UV-B-Exposition war kein wesentlicher Unterschied zwischen den Daten der Kontrollalgen und den Diatomeen ohne vorausgegangene UV-B-Behandlung feststellbar. Nach einer 30-minütigen UV-B-Bestrahlung ( $151 \text{ J m}^{-2}\text{d}^{-1}$ ) konnte dagegen eine Reduktion der Proteinmarkierung um 30 % beobachtet werden. Zu einem ähnlichen Ergebnis führte die Untersuchung des  $^{15}\text{N}$ -Leucin-Einbaues in die Proteinfraktion von *Ditylum* (Abb. 11). Nach 30 min. Weißlichtbestrahlung und mit Beginn der UV-B-Behandlung wurde der 1. Wert der Aufnahme von  $^{15}\text{N}$ -Leucin bestimmt. Im weiteren Verlauf der UV-B-Bestrahlung nimmt der Leucineinbau in die Proteinfraktion um 45 % nach 2 Std. ab. In der anschließenden Weißlichtphase wurde ein Anstieg im  $^{15}\text{N}$ -Leucineinbau bereits nach 30 min. beobachtet. Zum gleichen Ergebnis führten Experimente mit  $^3\text{H}$ -Leucin. In weiteren Experimenten soll im Detail geprüft werden, in welchem Umfang das Aufnahmesystem für Aminosäuren und die Proteinsynthese durch UV-B gehemmt werden.

In Ergänzung zu den  $^{15}\text{N}$ -Versuchen wurde die UV-B-Wirkung auf das Proteinmuster von *Ditylum brighwellii* untersucht. Die Abb. 12 zeigt, daß Proteinbanden im niedermolekularen Bereich in den UV-B-behandelten Algen fehlen. Inwieweit die einzelnen Proteine den Enzymen des Stickstoff- und Kohlenstoffmetabolismus zuzuordnen sind, muß die weitere Untersuchung zeigen.

## 6. Schlußfolgerungen

Als wichtiges Ergebnis der Untersuchungen über

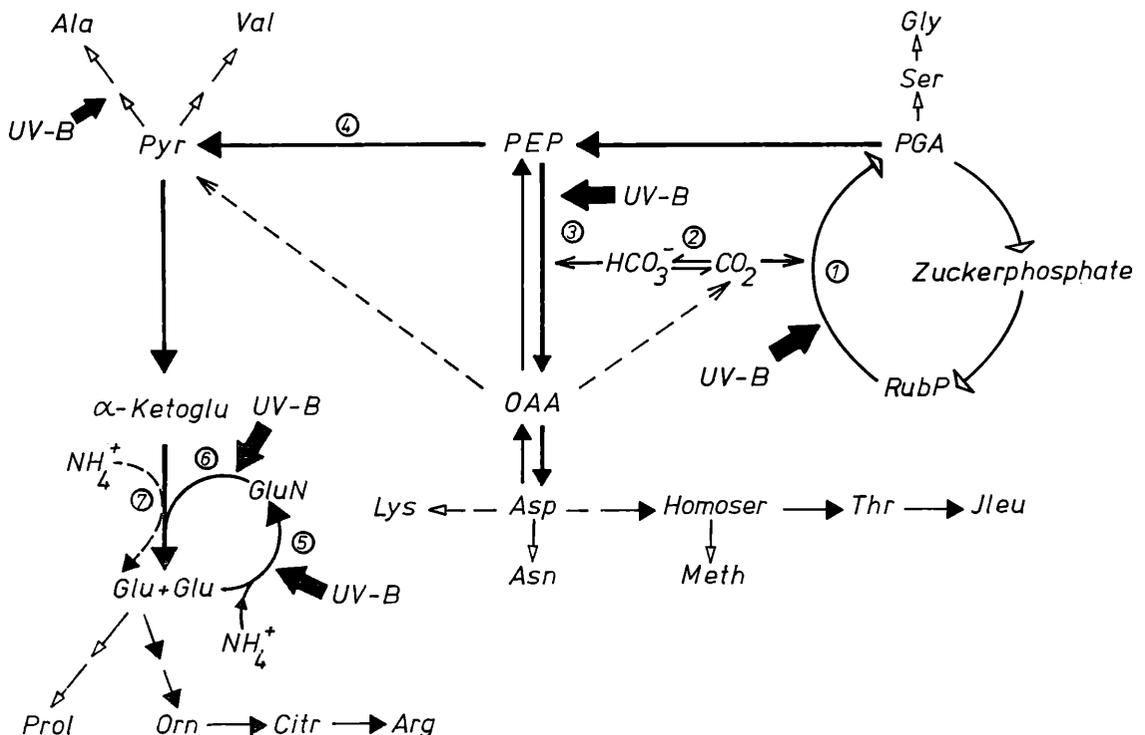


Abbildung 14

### Schema des Kohlenstoff- und Stickstoffweges in marinen Diatomeen und möglicher UV-B-Einfluß.

3-Phosphoglycerinsäure (PGA) ist das erste stabile Produkt des Calvin-Cyclus und kann als Vorstufe von Phosphoenolpyruvat (PEP) – dem Acceptor der  $\beta$ -Carboxylierung – dienen. Das durch Dephosphorylierung entstehende Pyruvat ist ein wichtiges C-Skelett des Stickstoffweges nach dem GS/GOGAT-System.

die UV-B-Wirkung kann festgehalten werden:

- Die Mikroorganismen, vor allem das Phytoplankton, sind besonders empfindlich gegenüber UV-B-Streß.
- Es treten art- und stadienspezifische Unterschiede im Verhalten gegenüber UV-B-Behandlung auf.
- Der Metabolismus des Stickstoff wurde stärker geschädigt als der des Kohlenstoffs.

Eine Untersuchung des Pools freier Aminosäuren nach vorausgegangener UV-B-Bestrahlung zeigte, daß je nach Diatomeenart unterschiedliche Reaktionen auftraten (vgl. Abb. 13). Danach wurden drei verschiedene Typen beobachtet. Bei dem größten Teil der getesteten Mikroorganismen, einschließlich Diatomeen, wurde nach UV-B-Streß eine deutliche Zunahme von Glutamin und Reduktion von Glutamat festgestellt, was mit einer Hemmung der Glutamatsynthese-Aktivität erklärt wurde. Aus diesem Grunde sind die Aktivitäten verschiedener Schlüsselenzyme des Stickstoffmetabolismus gemessen worden (Tab. 2). Die Befunde bestätigen die Interpretationen in Abb. 13. In Abb. 14 ist der Einfluß von UV-B aufgrund der vorliegenden Ergebnisse nochmals zusammengefaßt worden. In welchem Ausmaß die Enzymsynthese und die Regulationsmechanismen der einzelnen Stoffwechselwege durch UV-B beeinträchtigt werden, ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

## 7. Ökologische Folgen

Die biologischen Effekte einer erhöhten UV-B-Strahlung als Folge des Ozonabbaues hat Veränderungen im Ökosystem zur Folge. Die Beeinträchtigung der Stoffwechselprozesse und damit verbunden die Reduktion der Zellinhaltsstoffe führen zu einer Verminderung der Primärproduktion. Die bisherigen Arbeiten verschiedener Forschungs-

gruppen zeigten, daß die Biomasseproduktion des marinen Phytoplanktons nahe der Wasseroberfläche durch den gegenwärtigen UV-Anteil der Sonnenstrahlung um mindestens 30 % reduziert wird (SMITH, R.C. et al. 1980). Eine Erhöhung der UV-B-Bestrahlung verursacht nach den vorliegenden Berechnungen eine weitere drastische Verringerung der Primärproduktion. Die unterschiedliche UV-B-Resistenz des Phytoplanktons verursacht – wie bereits wiederholt erwähnt – Veränderungen im Artengefüge des Ökosystems. Nach WORREST, R.C. et al. (1978) bleiben die Diatomeen dennoch die dominierenden Primärproduzenten. Da die Reproduktionsraten der empfindlichen Planktonarten stark abnehmen, steht den anderen weniger sensitiven Arten ein höheres Angebot an Nährstoffen und Licht zur Verfügung, was eine höhere Vermehrungsrate dieser Arten zur Folge hat. Durch diese Verschiebung des Gleichgewichts können die Quantität und die Qualität der Nahrung für die Primärkonsumenten drastisch beeinträchtigt werden und negative Auswirkungen für die Nahrungskette haben. Dies tritt vor allem dann auf, wenn UV-B-resistente Arten mit einem geringen Nährwert dominieren. Dem Bundesministerium für Forschung und Technologie, Bonn und der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, München sei für die Unterstützung besonders gedankt.

## Literatur

- BRADFORD, M.M. (1976):  
A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Proteindye Binding. – *Analyt. Biochem.* 72: 248-254.
- CALDWELL, M.M. (1971):  
Solar UV Irradiation and the Growth and Development of Higher Plants; In: Giese, A.C. (ed.): *Photophysiology*, Academic Press, New York. Vol. 6: 131-177.
- CALKINS, J. and THORDARDOTTIR, T. (1980):  
The Ecological Significance of Solar UV Radiation on Aquatic Organisms. – *Nature* 283: 563-566.
- COLLOS, Y. and SLAWYK, G. (1979):  
<sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N Uptake by Marine Phytoplankton. 1. Influence of Nitrogen Source and Concentration in Laboratory Cultures of Diatoms. – *J. Phycol.* 15: 186-190.
- DATZ, G. (1981):  
Untersuchungen zur Lipid- und Fettsäurezusammensetzung synchroner Kulturen von *Synechococcus* unter besonderer Berücksichtigung der photosynthetischen Membranen. – Dissertation Frankfurt a. M.
- DÖHLER, G. (1982):  
Effect of UV-B radiation on the marine diatom *Bellerochea yucatanensis*; In: Bauer, H., Caldwell, M.M., Tevini, M. and Worrest R.C. (eds.): *GSF*, München, pp. 211-215.
- (1984a):  
Effect of UV-B Radiation on Biomass Production, Pigmentation and Protein Content of marine Diatoms. – *Z. Naturforsch.* 39c: 634-638.
- (1984b):  
Effect of UV-B radiation on the marine diatoms *Lauderia annulata* and *Thalassiosira rotula* grown in different salinities. – *Marine Biology* 83: 247-253.
- (1985):  
Effect of UV-B Radiation (290-320 nm) on the Nitrogen Metabolism of Several Marine Diatoms. – *J. Plant Physiol.* 118: 391-400.
- DÖHLER, G. and BIERMANN, T. (1989):  
Impact of UV-B on lipid and fatty acid composition of synchronized *Ditylum brightwellii*. – (In Vorbereitung).
- DÖHLER, G., BIERMANN, I. and ZINK, J. (1986):  
Impact of UV-B Radiation on Photosynthetic Assimilation of <sup>14</sup>C-Bicarbonate and Inorganic <sup>15</sup>N-Compounds by Cyanobacteria. – *Z. Naturforsch.* 41c: 426-432.
- DÖHLER, G., KRAUSE, K.-D. (1989):  
Effect of ambient solar UV-radiation on nitrogen metabolism of a diatom community. – (In Vorbereitung).
- DÖHLER, G. und ROSSLENBROICH, H.-J. (1981):  
Photosynthetic Assimilation of <sup>15</sup>N-Nitrate Uptake in the Marine Diatoms *Bellerochea yucatanensis* and *Skeletonema costatum*. – *Z. Naturforsch.* 36c: 834-839.
- DÖHLER, G. und STOLTER, H. (1986):  
Impact of UV-B Radiation on Photosynthesis-Mediated Uptake of <sup>15</sup>N-Ammonia and <sup>15</sup>N-Nitrate of Several Marine Diatoms. – *Biochem. Physiol. Pflanzen* 181: 533-539.
- DÖHLER, G., WORREST, R.C., BIERMANN, I. and ZINK, J. (1987):  
Photosynthetic <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> fixation and <sup>15</sup>N-ammonia assimilation during UV-B radiation of *Lithodesmium variabile*. – *Physiol. Plantarum* 70: 511-515.
- DUGDALE, R.C. und GOERING, J.J. (1967):  
Uptake of New and Regenerated Forms of Nitrogen in Primary Production. – *Limnol. Oceanogr.* 12: 196-206.
- FEHRNSTRÖM, H. and MOBERG, U. (1977):  
SDS and conventional polyacrylamide gel electrophoresis with LKB 2117 Multiphor. LKB Application note 306, Bromma, Schweden.
- GESSNER, F. und DIEHL, A. (1951):  
Die Wirkung der natürlichen Ultraviolettstrahlen auf die Chlorophyllzerstörung von Planktonalgen. – *Arch. Mikrobiol.* 15: 439-454.
- GROAT, G.R. and VANCE, C.P. (1981):  
Root Nodule Enzymes of Ammonia Assimilation in Alfalfa (*Medicago sativa* L.). – *Plant Physiol.* 67: 1198-1203.
- HALLDAL, P. (1979):  
Effects of changing levels of ultraviolet radiation on phytoplankton; In: BISWAS, A.K. (ed.): *The Ozon Layer*. Pergamon Press, Oxford, pp. 21-34.
- HATCH, M.D. and MAU, S.H. (1973):  
Activity, location and pool of aspartate aminotransferase isoenzymes in leaves with C<sub>4</sub> pathway photosynthesis. – *Arch. Biochem. Biophys.* 156: 195-206.
- JEFFREY, S.W. and HUMPHREY, G.F. (1975):  
New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c<sub>1</sub> and c<sub>2</sub> in higher plants, algae and natural phytoplankton. – *Biochem. Physiol. Pflanzen* 167: 191-194.
- LEA, P.J. and MIFLIN, B.J. (1979):  
5. Photosynthetic Ammonia Assimilation; In: GIBBS, M. and LATZKO, E. (eds.): *Photosynthesis II*. *Encycl. Plant Physiol.*, New Series, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, Vol. 6, pp. 445-456.
- SHAPIRO, B.M. and STADTMANN, E.R. (1970):  
Glutamine Synthetase (*Escherichia coli*). In: TABOR, H. and TABOR, C.W. (eds.): *Methods in Enzymology*, Academic Press, New York, Vol. 17a, pp. 910-922.
- SMITH, R.C. and BAKER, K.S. (1980):  
Stratospheric ozone, middle ultraviolet radiation and carbon-14 measurements of marine productivity. – *Science* 208: 592-593.

STEEMANN-NIELSEN, E. (1964):

On a Complication in Marine Productivity Work due to the Influence of Ultraviolet Light. – J. Cons. Int. Explor. Mer. 29: 130-135.

VON STOSCH, H. A. und DREBES, G. (1964):

Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an zentrischen Diatomeen. 4. Die Planktondiatomee *Stephanopyxis turris*, ihre Behandlung und Entwicklungsgeschichte. – Helgol. wissensch. Meeresunters. 11: 209-257.

SYRETT, P. J. (1981):

Nitrogen metabolism of Microalgae; In: Platt, T. (ed.): Physiological Bases of Phytoplankton Ecology, Can. Governm. Publ. Centre: Bull. No. 210: 182-210.

THOMSON, B. E., WORREST, R. C. and H. VAN DYKE, H. (1980):

The growth response of an estuarine, diatom (*Melosira nummuloides* Dill. Ag.) to UV-B (290-320 nm) radiation. Estuaries 3, 69-72.

ULLRICH, W. R. (1983):

Uptake and Reduction of Nitrate in Algae and Fungi; In: Läuchle, A. and Bielecki, R. L. (eds.): Inorganic Plant Nutrition, Encycl. Plant Physiol., New Series: Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, Vol. 15a: 376-397.

WARBURG, O. und NEGELEIN, E. (1920):

Über die Reduktion der Salpetersäure in grünen Zellen. Z. Biochem. 110: 66-115.

WHEELER, P. A. (1983):

Phytoplankton nitrogen metabolism; In: Carpenter, E. J. and D. G. Capone (eds.): Nitrogen in the marine environment: Academic Press, New York, pp. 309-341.

WORREST, R. C. (1982):

Review of Literature Concerning the Impact of UV-B Radiation upon marine Organisms; In: Calkins, J. (ed.) The Role of Solar Ultraviolet Radiation in Marine Ecosystems: Plenum Publishing Corp., pp. 429-457.

WORREST, R. C., VAN DYKE, H. and THOMSON, B. E. (1978):

Impact of enhanced simulated solar ultraviolet radiation upon a marine community. Photochem. Photobiol. 27: 471-478.

#### **Anschrift des Verfassers**

Prof. Dr. G. Döhler  
Botanisches Institut  
der Universität Frankfurt  
Siesmayerstr. 78  
6000 Frankfurt 11

# Lichtabhängige Schutzmechanismen gegen UV-B-Schäden bei Pflanzen.

Eckard Wellmann

Höhere Pflanzen sind allgemein in der Lage, UV-absorbierende Pigmente in äußeren Zellschichten auszubilden (CALDWELL et al., 1983). Bei diesen sich aus dem Phenylpropanstoffwechsel ableitenden Sekundärstoffen handelt es sich um eine umfangreiche Gruppe recht unterschiedlicher Verbindungen von den Hydroxyzimtsäure-Estern, wie der häufigen Chlorogensäure, bis hin zu den flavonoidartigen Pigmenten wie Flavonolen, Flavonen oder acylierten (d.h. mit Hydroxyzimtsäuren veresterten) Anthocyanen, die alle im Gemisch in der Zelle auftreten können und als wohl wichtigste Funktion zur Abschirmung des potentiell schädigenden kurzwelligen Anteils der Sonnenstrahlung beitragen.

Diese Pigmente werden durch Genregulation über verschiedene endogene und exogene Faktoren induziert. Häufig ist Licht über die verschiedenen Rezeptoren der pflanzlichen Photomorphogenese (Phytochrom, Blaulicht-Rezeptor, UV-B-Rezeptor) ausschlaggebend für die Pigmentbildung (WELLMANN, 1983). Die Lichtregulation dieser Pigmente erfolgt in verschiedenen Pflanzen oder selbst in verschiedenen Geweben desselben Organs recht unterschiedlich (BEGGS et al., 1986). Unter natürlichen Strahlungsbedingungen sind häufig mehrere Photorezeptoren in komplexem Zusammenwirken für die Pigmentbildung verantwortlich (DUELL-PFAFF and WELLMANN, 1982). Diese Zusammenhänge sind in Abb. 1 angedeutet.

In Abb. 1 wird auch auf die Beziehung der Photoreaktivierung – des zweiten wichtigen, ebenfalls lichtabhängigen UV-Schutzmechanismus – zur Pigmentbiosynthese hingewiesen. Die Bildung von Thymindimeren in DNA-Molekülen und damit die Blockierung der Genaktivität ist als besonders empfindlicher und gravierender UV-Schaden anzuse-

hen. Auf diese Weise wäre also auch die Ausbildung der UV-Schutzpigmente unterbunden. Zur Beseitigung der Thymindimeren verfügen die Organismen allgemein über das Enzym Photolyase, das nach Aktivierung durch blau-violettes Licht durch sog. Photoreaktivierung den Ausgangszustand der DNA wieder herstellt (SUTHERLAND, 1981). Als die bei Pflanzen wohl bedeutensten UV-Schutzmechanismen sollen hier Pigmentbildung und Photoreaktivierung hinsichtlich der Regulation, Funktionsweise sowie der Leistungsfähigkeit auch im Hinblick auf das „Ozonproblem“ betrachtet werden.

## 1. Regulation und Absorptionseigenschaften flavonoidartiger Pigmente

Abbildung 2 zeigt den Biosyntheseweg der Flavonoide. Die Regulation erfolgt über eine mit dem Energiefluß oder der Energiefluenz korrelierte Neusynthese aller beteiligten Enzyme. Wie bereits erwähnt, kann die Synthese durch Phytochrom oder (und) den Blaulichtrezeptor reguliert sein (BEGGS et al., 1986). Als aktive Anpassung an die UV-Strahlung der Umgebung ist die durch UV selbst gesteuerte Pigmentbildung von besonderem Interesse. Für diese durch einen noch unbekanntem UV-B-Rezeptor induzierte Flavonoidsynthese wurde in vielen der bisher untersuchten Systeme (WELLMANN, 1985) eine in etwa lineare Fluenzabhängigkeit, also über einen weiten Bereich gleichbleibende, hohe Quantenwirksamkeit, beobachtet. So demonstriert Abb. 3, daß eine Verdopplung bzw. Vervielfachung der UV-Fluenz zu entsprechender Zunahme beteiligter Enzymaktivitäten sowie daraufhin auch der akkumulierten Pigmentmengen führt. Ersichtlich ist auch, daß die maximale Akkumulationsrate der Flavonoide bereits nach etwa 10 h erreicht ist, daß die Pflanze also innerhalb eines Tages in der Lage ist, ihren „UV-Schirm“ der Umgebungsstrahlung anzupassen.

Höchste spektrale Wirksamkeit wurde für alle bisher untersuchten Systeme übereinstimmend zwischen 290 und 300 nm bei praktisch fehlender Wirksamkeit von Strahlung oberhalb 340 nm gefunden (Abb. 4). Die spektrale Wirksamkeit nimmt also bei den stärker schädigend wirkenden Wellenlängen (Protein-, Nukleinsäureabsorption) zu.

Flavonoide weisen eine gute Absorption im UV-Bereich auf, wobei allerdings nur wenige dieser Verbindungen eine der potentiellen Schädigungswirkung entsprechende, also gerade im UV-B ( $\lambda = 280-320$  nm), höchste Absorption zeigen (Abb. 5). Die durch den UV-B-Photorezeptor induzierbaren Flavonole wie z.B. Kaempferol und seine Glycoside absorbieren unterhalb 320 nm ausgesprochen schlecht. Da in der Regel jedoch ein breites Spektrum von Flavonoiden und Phenylpropanverbin-

Lichtabhängige UV-Schutzmechanismen

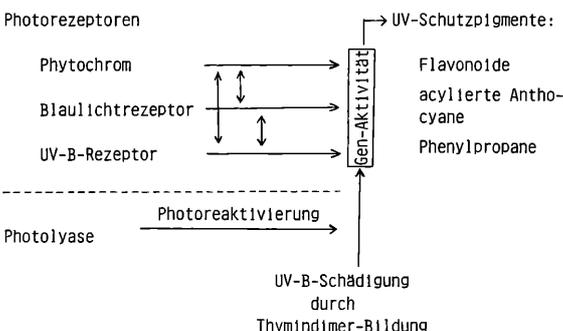
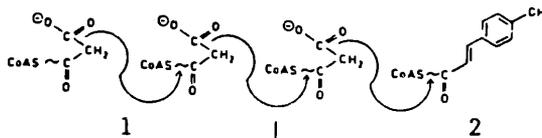
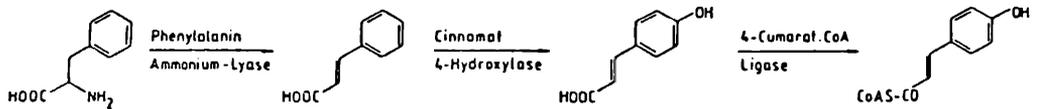


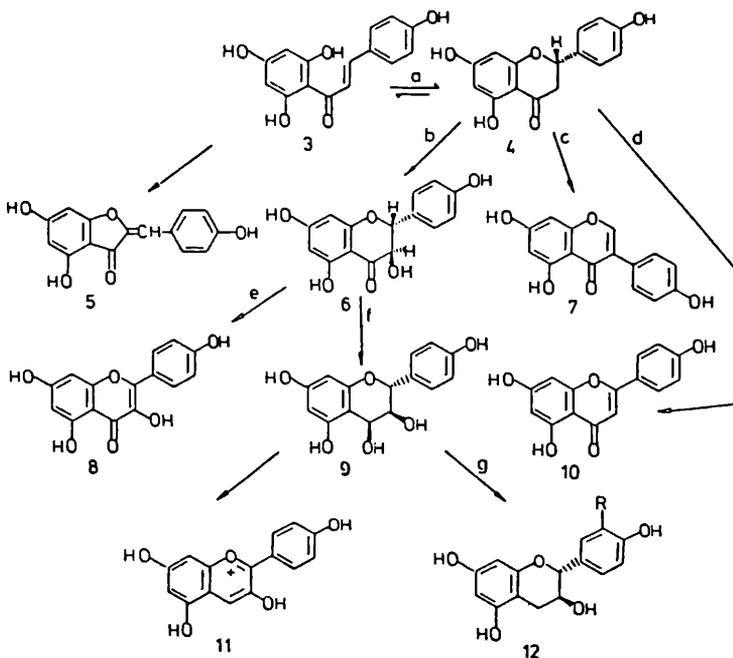
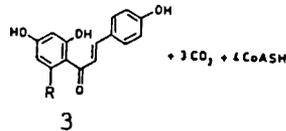
Abbildung 1

Beziehungen zwischen den verschiedenen dem UV-Schutz dienenden Lichtreaktionen.



- (1) Malonyl-CoA
- (2) 4-Coumaroyl-CoA
- (3) Chalkon

CHS : Chalkon-Synthase



- (4) Flavanon
  - (5) Auron
  - (6) Dihydroflavonol
  - (7) Isoflavon
  - (8) Flavonol
  - (9) Flavan-3,4-diol
  - (10) Flavan
  - (11) Anthocyanidin
  - (12) Catechin
- (a) Chalkon-Isomerase
  - (b) Flavanon 3-Hydroxylase
  - (c) "Isoflavon-Synthase" (wahrscheinlich zwei Enzyme)
  - (d) Flavan-Synthase
  - (e) Flavonol-Synthase
  - (f) Dihydroflavonol 4-Reduktase
  - (g) Flavan 3-ol-Synthase

Abbildung 2

Biosyntheseweg der Flavonoidglykone unter Angabe der beteiligten Enzyme.

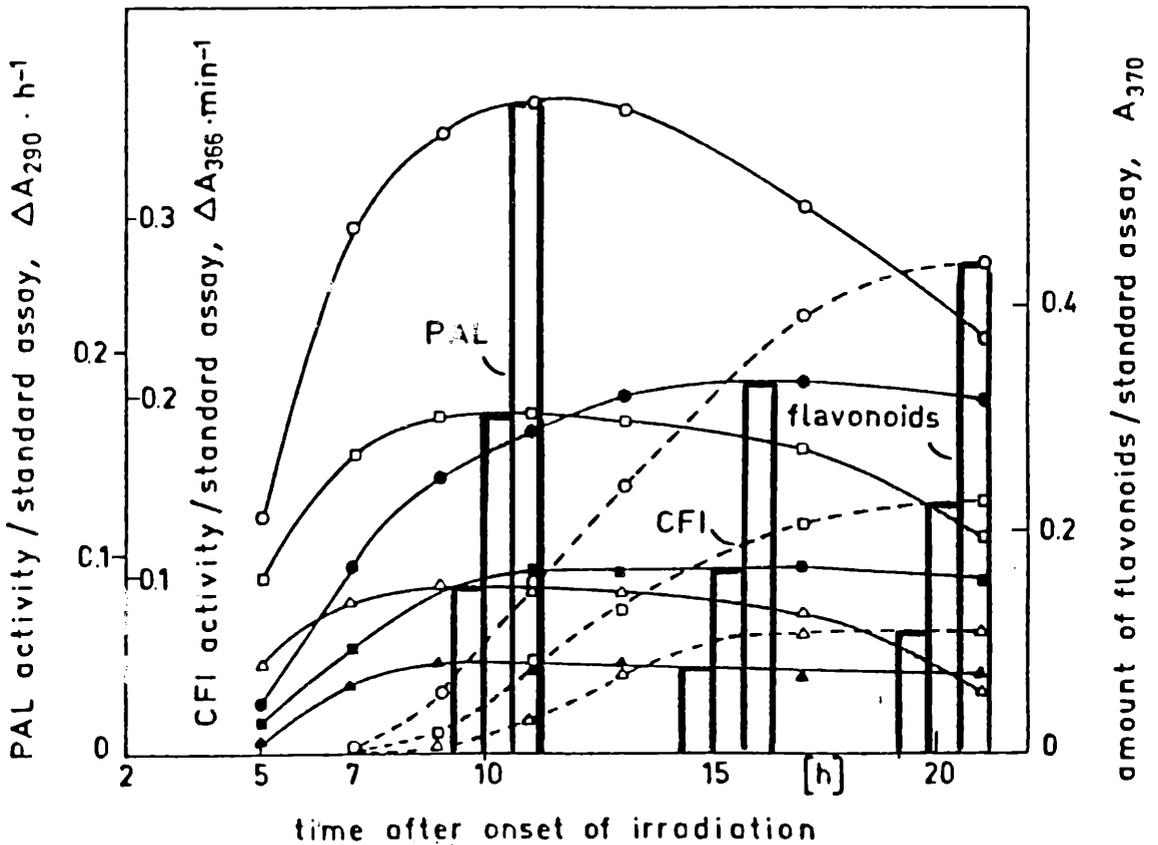
dungen in derselben Zelle induziert wird, ist eine gute Abschirmung über den gesamten UV-Bereich gewährleistet (Abb. 6). Dabei ist zu bedenken, daß neben Nucleinsäuren und Proteinen auch weitere im längerwelligen absorbierende Zellkomponenten strahlungsempfindlich sind, so daß Schutzpigmente bis hin in den Blaubereich ausgebildet werden.

## 2. Wirkungen von UV-Stress auf die Flavonoid-synthese: Hemmung der Schutzpigmentbildung und Induktion von „Stresspigmenten“

Man kann davon ausgehen, daß Proteine ( $\lambda_{\text{max}} = 280 \text{ nm}$ ) und Nucleinsäuren ( $\lambda_{\text{max}} = 260 \text{ nm}$ ) die wichtigsten primär durch UV-Schädigung betroffenen Moleküle darstellen. Besonders gravierend wirken sich DNA-Schäden auf den Organismus aus, da hier der Ausfall eines einzigen Moleküls (Gens) die Funktionsfähigkeit der Zelle ausschalten kann. Als vorwiegend DNA-Schaden werden

Thymindimere gebildet, wodurch natürlich auch die Gene der Enzyme der Flavonoidbiosynthese betroffen sind, was dann zum Ausfall der wohl wichtigsten UV-Schutzreaktion führen muß.

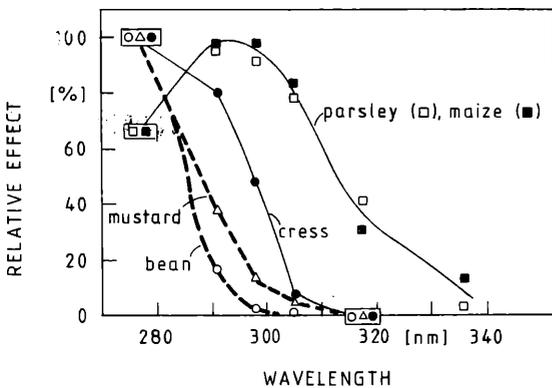
Wir haben einen solchen negativen UV-B-Effekt auf die Flavonoidbiosynthese in Senfkotyledonen genauer analysiert (WELLMANN et al., 1984). In diesem System erfolgt die Flavonoidbildung – Anthocyan in der unteren und Flavonol in der oberen Epidermis – durch Phytochrom. Zur Induktion einer beträchtlichen Anthocyanbildung genügt eine kurze Bestrahlung mit Rotlicht (günstigstes Photo-gleichgewicht für Phytochrom) oder auch Weißlicht. Eine anschließende UV-B-Bestrahlung führt zur Hemmung dieses Effekts. Der UV-Schaden läßt sich recht einfach und auch quantitativ genau bestimmen, indem jeweils die größere Kotyledone eines Keimlings in Höhe der Mittelrippe halbiert wird und eine Hälfte des Organs zur UV-Bestrahlung, die zweite als Kontrolle dient. Das isolierte



**Abbildung 3**

**Akkumulationskurven für Flavonoide und zwei beteiligte Enzyme in Abhängigkeit von der UV-Dosis in Zellkulturen von Petersilie.**

Zum Zeitpunkt 0 h wurde für 5 min. (Dreiecke), 10 min. (Quadrate) bzw. 20 min. (Kreise) mit einer Standard UV-Quelle (320-385 nm) bestrahlt (nach WELLMANN, 1975).



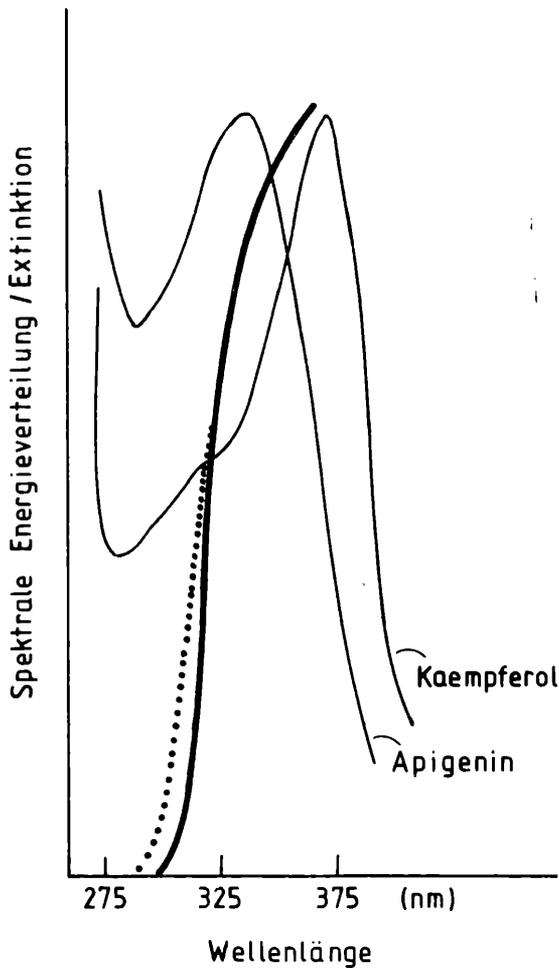
**Abbildung 4**

**UV-Wirkungsspektren** für die Flavonoidbildung in Zellkulturen von Petersilie (parsley), die Anthocyanbildung in Maiskoleoptilen (maize), die Wachstumshemmung bei Kressekeimlingen (cress), die Hemmung der phytochrominduzierten Anthocyanbildung in Senfkotyledonen (mustard) sowie die Isoflavonoidbildung in Bohnenblättern (bean) (nach WELLMANN, 1983).

Organ zeigt denselben Effekt wie an der intakten Pflanze. Abb. 7 zeigt, wie mit der Zunahme der UV-B-Fluenz die Fähigkeit zur Anthocyanbildung abnimmt. Das Wirkungsspektrum für diesen UV-Schädigungseffekt (Abb. 4) deckt sich mit dem Absorptionsspektrum von Nukleinsäuren. Da die UV-Wirkung vollständig durch Blau-Violettstrahlung rückgängig gemacht werden kann (s. Abschnitt 3), also „photoreaktivierbar“ ist, liegt es nahe, als

primären UV-Schaden die Bildung von Thymindimeren anzunehmen. Wir konnten inzwischen zeigen, daß auch die Flavonolbildung in der oberen Epidermis der Senfkotyledonen bei ähnlich empfindlicher Reaktion durch UV-B gehemmt wird.

Wir haben einen weiteren, offensichtlich ebenfalls auf Thymindimerbildung zurückgehenden UV-Schaden an einem System analysiert, das Einblick in die *in vivo* Verhältnisse nach Einwirkung von UV-B-Strahlung erlaubt (BEGGS et al., 1985). In Bohnenblättern ruft UV-B-Strahlung die Bildung von Isoflavonoiden hervor, eine Stressreaktion, die u. a. auch nach Infektion erfolgt. Dieser UV-Effekt ist wiederum photoreaktivierbar, d.h. durch Blau-Violettbestrahlung aufhebbar. Das Wirkungsspektrum ( $\lambda_{max} < 280$  nm) ist vereinbar mit einer DNA-Absorption (Abb. 4). Ganz deutlich wird damit der Unterschied dieser UV-Stressreaktion zu der über einen UV-B-Photorezeptor regulierten (normalen Photomorphose) Flavonoidbildung, die sich durch hohe Quantenwirksamkeit noch bei 320-330 nm auszeichnet und natürlich nicht „photoreaktivierbar“ ist. In beiden Fällen wird zwar eine über Genaktivierung regulierte Flavonoidbiosynthese durch UV induziert, jedoch nur bei der UV-Photomorphose gelten die Kriterien für einen aktiven UV-Schutzmechanismus. Dieses Beispiel macht deutlich, daß nicht jede unter UV-Einfluß zu beobachtende Zunahme UV-absorbierender Pigmente als UV-Schutzreaktion interpretiert werden sollte. Die Akkumulation von Flavonoiden und anderen Sekundärstoffen in stark geschädigten, später oft absterbenden Zellen dürfte eher eine Funktion als In-



fektionsschutz für das umgebende intakt gebliebene Gewebe darstellen.

Das UV-Stressphänomen der Isoflavonoidbildung in Bohnenblättern ermöglicht es, mit einer recht einfachen Meßmethode den UV-Schaden zu quantifizieren und gleichzeitig auch auf die Leistungsfähigkeit der Photoreaktivierungsreaktion zu schließen. Wir haben jetzt damit begonnen, in diesem System parallel auch Thymindimer-Mengen zu bestimmen. Erste Ergebnisse zeigen unter variierten UV-Bestrahlungen eine gute Korrelation zwischen Isoflavonoid- und Dimerbildung.

### 3. Photoreaktivierung von UV-Schäden der DNA

Auf die Funktionsweise und die essentielle Bedeutung der Photoreaktivierung wurde bereits hingewiesen. Es kann gezeigt werden, daß der am natürlichen Standort vorliegende UV-B-Anteil der Sonnenstrahlung zu einer wahrscheinlich auf Thymindimerbildung zurückgehenden Hemmung der Anthocyanbiosynthese in Senfkotyledonen führt. Ein solcher Schaden wird jedoch nicht manifest, wenn die zur Photoreaktivierung notwendige Blau-Violettstrahlung parallel einwirkt. Selbst der Effekt einer infolge unrealistisch starken Ozonabbaus zu

Abbildung 5

**Absorptionsspektren der Flavonoide Kaempferol und Apigenin sowie spektrale Energieverteilung des Sonnenlichts im kurzwelligen Grenzbereich.**

Die gepunktete Linie deutet die Strahlungsverhältnisse bei extremer Reduktion der Ozonschicht (50 % Abbau) an.

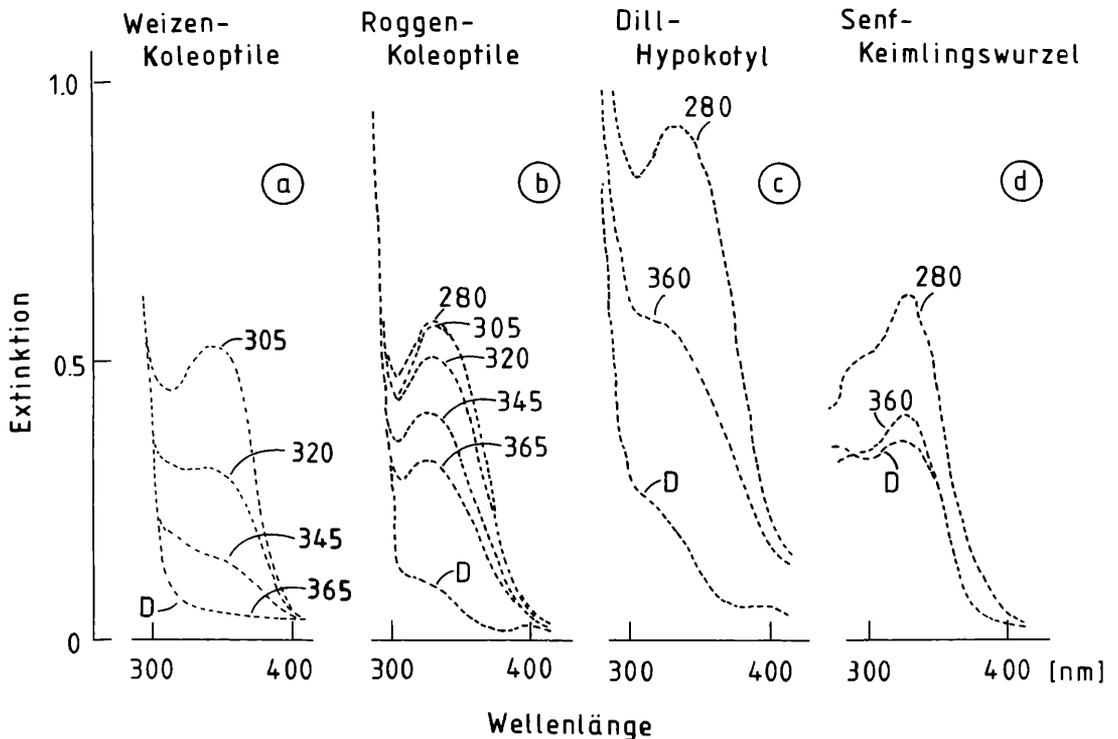
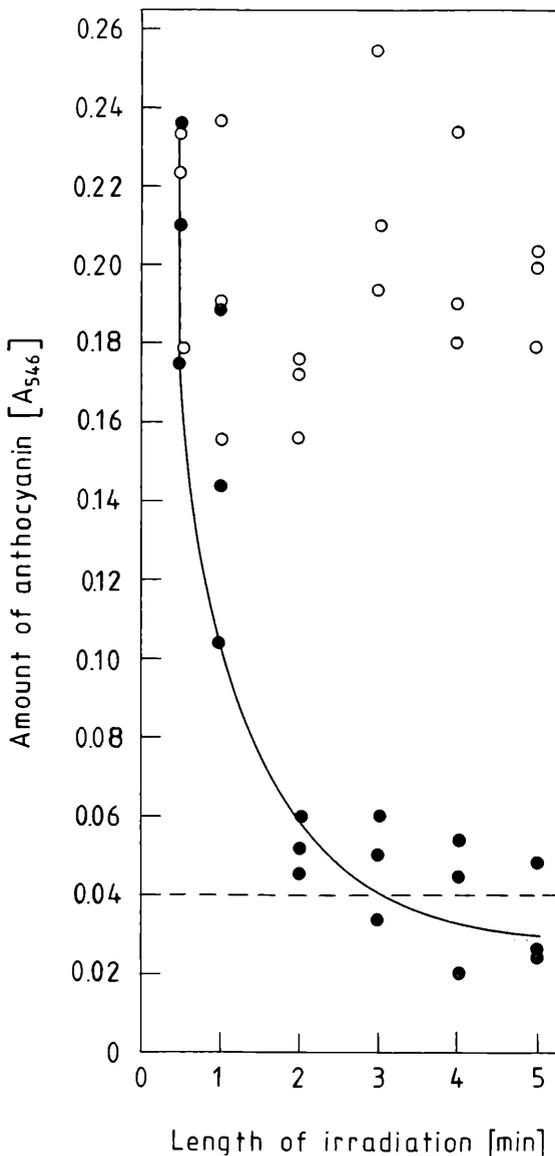


Abbildung 6

**Spektrale Wirksamkeit von UV auf die Bildung UV-absorbierender Pigmente in Keimlingsorganen verschiedener Pflanzenarten.**

Die Bestrahlung erfolgte 1 d nach Keimung unter verschiedenen UV-Kantenabsorptionsgläsern (Schott, Mainz). Die Keimlinge von Weizen (a) wurden 1 h unter einer UV-B-Lampe (Philips TL40W/12 kombiniert mit Osram L40W/73;  $8 \text{ Wm}^{-2}$ ) bestrahlt. Die Keimlinge von Roggen (b) wurden für 5 h, die von Dill und Senf für 9 h dem Sonnenlicht ausgesetzt (August, wenig bewölkt). Am Folgetag wurde aufgearbeitet. Die Zahlen an den Absorptionskurven bezeichnen die jeweils eingesetzten Filter unter Angabe der Wellenlänge, bei welcher der Transmissionsgrad 50 % beträgt.



**Abbildung 7**

**UV-B-Wirkung auf die durch Hellrot induzierte Anthocyanbildung in Senfkotyledonen**

10 Kotyledonenhälften pro Ansatz wurden 5 min. mit Rotlicht und anschließend für verschiedene Zeiten mit UV-B unter einer Philips TL40W/12-Lampe bei  $1,5 \text{ Wm}^{-2}$  bestrahlt und nach 24 h Aufbewahrung im Dunkeln extrahiert. Jeweils eine Kotyledonenhälfte desselben Keimlings diente als Kontrolle (offenes Symbol) (nach WELLMANN et al., 1984).

**Tabelle 1**

**Einfluß verschiedener Lichtqualitäten auf die UV-Hemmung der Phytochrom-induzierten Anthocyanbildung in Senfkotyledonen.**

Strahlungsquellen waren Philips TL40W/12 UV-B-Lampen ( $1,5 \text{ Wm}^{-2}$ ) und Standard-Lichtfelder für Rot ( $6,7 \text{ Wm}^{-2}$ ), Blau ( $7 \text{ Wm}^{-2}$ ) und UV-A (Osram L40W/73 Lampen,  $7,8 \text{ Wm}^{-2}$ ).

Bei jedem dieser Versuche wurde Anthocyan 24 h nach der UV-B-Bestrahlung gemessen. (Nach WELLMANN et al., 1984)

Bestrahlungsprogramm	Anthocyan (A 546)		
5 min Rot + 10 min UV-B + 1 h Blau	0.055	0.015	0.045
5 min Rot + 10 min UV-B + 1 h Rot	0.03	0.01	0.03
5 min Rot + 10 min UV-B + 1 h UV-A	0.16	0.195	0.195
5 min Rot + 10 min UV-B + 1 h Sonne	0.15	0.28	0.32
5 min Rot + 10 min UV-B + Dunkel	0.01	0.02	0.025

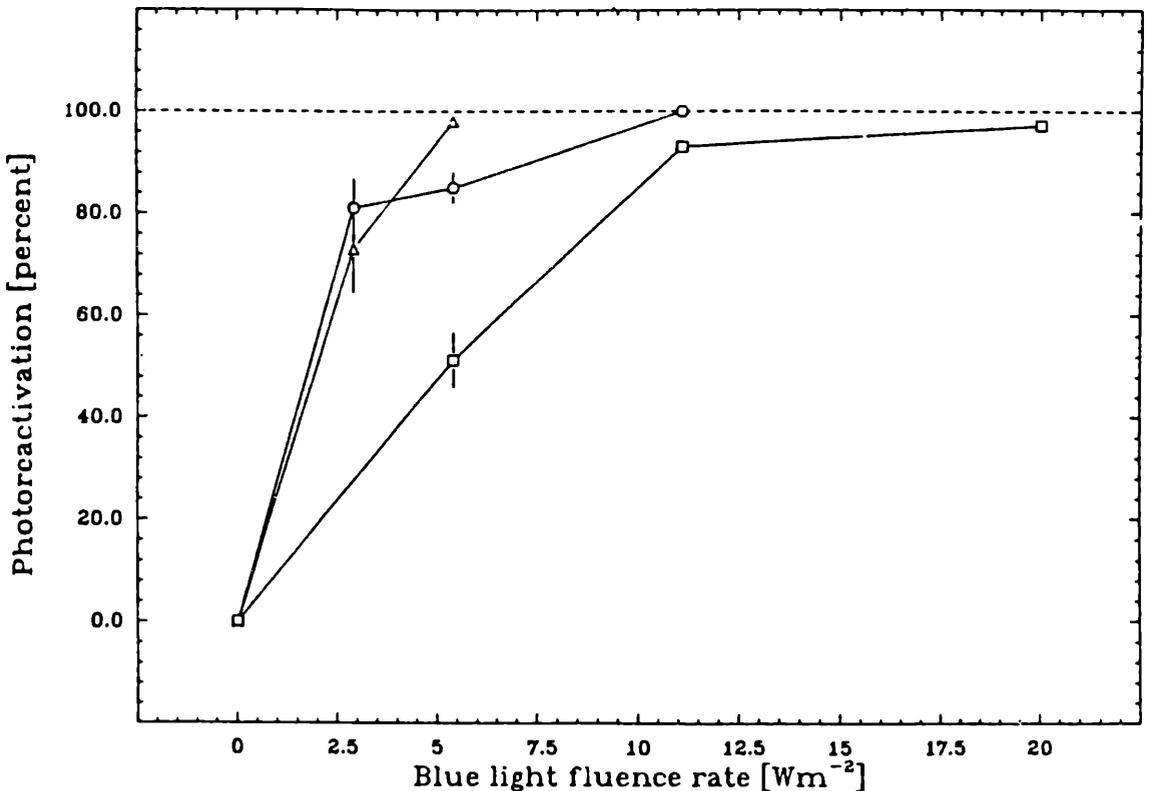
erwartenden UV-B-Einstrahlung wird (wenigstens bei Einwirkung von einigen Stunden) noch vollständig durch die Photoreaktivierungsreaktion kompensiert (Tab. 1).

Die Leistungsfähigkeit dieses Schutzmechanismus im Rahmen unseres zweiten Modellsystems, der UV-induzierten Isoflavonoidbildung in Bohnenblättern, wird aus Abb. 8 deutlich. Auch hier wurde ein potentieller UV-B-Schaden vorgegeben, der weit über einen durch Sonnenstrahlung erreichbaren Effekt hinausgeht. Der zur vollständigen Photoreaktivierung bereits ausreichende Energiefluß der Blaubestrahlung liegt noch um eine Größenordnung niedriger als der Energiefluß des entsprechenden Spektralbereichs des Sonnenlichts.

**4. Schlußfolgerungen im Hinblick auf das Ozonproblem**

Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, daß eine infolge Ozonabbaus auftretende Zunahme von UV-B-Strahlung (praktisch nur  $\lambda < 310 \text{ nm}$ , s. Abb. 5) nicht wesentlich zu einer vermehrten Ausbildung von UV-Schutzpigmenten beitragen würde. Der verantwortliche UV-B-Photorezeptor weist zwar maximale Quantenwirksamkeit bei etwa 290 bis 300 nm auf, zeigt jedoch auch zwischen 310 und 330 nm noch eine hohe Empfindlichkeit, so daß in Anbetracht des mit zunehmenden Wellenlängen steil ansteigenden Energieflusses der Sonnenstrahlung der Spektralbereich von  $\lambda < 310 \text{ nm}$  noch wenig ins Gewicht fällt. Pflanzen dürften also nicht in der Lage sein, sich kurzfristig einem veränderten UV-Strahlungsklima, wie es nach Zerstörung der Ozonschicht zu erwarten wäre, anzupassen. Damit stellt sich in diesem Zusammenhang die Frage nach der Leistungsfähigkeit bestehender UV-Schutzfunktionen, worüber bisher allerdings keinerlei quantitative Aussagen möglich sind.

Alle bisherigen Ergebnisse sprechen für eine recht hohe Kapazität der Photoreaktivierungsreaktion bei Pflanzen. Als besonderes, bisher nicht kalkulierbares Risiko erhöhter UV-B-Strahlung ist die an unserem Modellsystem demonstrierte Zerstörung wichtiger UV-Schutzmechanismen zu sehen. Auch das für die Reparatur von Thymindimerschäden verantwortliche Enzym Photolyase unterliegt einer Neusynthese (seine Regulation ist bei Pflanzen nicht untersucht), die – wie Genaktivität allgemein – durch UV über Dimerbildung hemmbar ist. Ein Ausfall dieses Enzyms würde dann bei UV-Einstrahlung mit Sicherheit den Tod der Zellen zur Folge haben.



**Abbildung 8**

**Photoreaktivierung der UV-induzierten Bildung von Coumestrol in Bohnenblättern.** Die Blätter wurden für 14 h mit UV-B-Lampen (Philips TL40W/12) bei  $1.5 \text{ Wm}^{-2}$  ( $\Delta$ ),  $1.9 \text{ Wm}^{-2}$  ( $\circ$ ) und  $2.8 \text{ Wm}^{-2}$  ( $\square$ ) und gleichzeitig mit Blaulicht variierter Strahlungsstärke behandelt. Nach der Bestrahlung wurden die Pflanzen für weitere 24 h bis zur Aufarbeitung im Rotlicht ( $6.7 \text{ Wm}^{-2}$ ) aufbewahrt. Eine Photoreaktivierung von 0 % entspricht der bei alleiniger UV-Bestrahlung gebildeten Coumestrolmenge, die von 100 % dem Leerwert unbestrahlter Blätter (nach BEGGS et al., 1985).

## 5. Literatur

BEGGS, C.J., STOLZER-JEHLE, A. and WELLMANN, E. (1985):

Isoflavonoid formation as an indicator of UV-stress in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaves. The significance of photorepair in assessing potential damage by increased solar UV-B radiation. – *Plant Physiol.* 79: 630-634.

BEGGS, C.J., WELLMANN, E. and GRISEBACH, H. (1986):

Photocontrol of flavonoid biosynthesis; in: R. KENDRICK, G.H.M. KRONENBERG, eds., *Photomorphogenesis in plants*, pp. 467-499, Martin Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht.

CALDWELL, M.M., ROBBERECHT, R. and FLINT, S.D. (1983):

Internal filters: Prospects for UV-acclimation in higher plants. – *Physiol. Plant.* 58: 445-450.

DUELL-PFAFF, N. and WELLMANN, E. (1982):

Involvement of phytochrome and a blue light receptor in UV-B induced flavonoid synthesis in parsley (*Petroselinum hortense* Hoffm.) cell suspension cultures. – *Planta* 156: 213-217.

SUTHERLAND, B.M. (1981):

Photoreactivation. – *BioScience* 31: 439-444.

WELLMANN, E. (1975):

UV dose-dependent induction of enzymes related to flavonoid biosynthesis in cell suspension cultures of parsley; *FEBS Letters* 51: 105-107.

WELLMANN, E. (1983):

UV radiation in photomorphogenesis; in: H. MOHR, W. SHROPSHIRE jr., eds., *Photomorphogenesis, Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 16B*, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York. pp. 745-756.

WELLMANN, E. (1985):

UV-B-Signal/Response-Beziehungen unter natürlichen und artifiziiellen Lichtbedingungen. – *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 98: 99-104

WELLMANN, E., SCHNEIDER-ZIEBERT, U. and BEGGS, C.J. (1984):

UV-B inhibition of phytochrome-mediated anthocyanin formation in *Sinapis alba* L. cotyledons. Action spectrum and the role of photoreactivation. – *Plant Physiol.* 75: 997-1000.

### Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. Eckard Wellmann  
Biologisches Institut II der  
Universität Freiburg  
Schänzlestr. 1  
D - 7800 Freiburg

# Gibt es bei Wassertieren unterschiedliche UV-Toleranzen in Abhängigkeit von der Strahlenbelastung ihres Lebensraumes?

O. Siebeck und U. Böhm

## Einführung

In den ökologischen, meeresbiologischen und limnologischen Lehrbüchern sucht man vergebens nach Hinweisen über die Bedeutung der ultravioletten Strahlung in aquatischen Lebensräumen. Bis vor ca. 10-15 Jahren blieb die weit verbreitete Ansicht erhalten, daß diese Strahlung ohne ökologische Bedeutung sei, obgleich die Messungen von JERLOV (1950) vor über 35 Jahren die z.T. beträchtliche Transparenz im uferfernen Ozeanwasser und im östlichen Mittelmeer aufgezeigt hatten. So wurde für Strahlung der Wellenlänge um 313 nm eine Transmission pro m von ca. 80 % und um 375 nm von ca. 94 % nachgewiesen. Demnach wäre die Oberflächenintensität im ersten Fall erst in 10 m Wassertiefe auf 10 % abgesunken und im zweiten Fall sogar erst in 35 m Wassertiefe.

Neuere Messungen mit verbesserten Geräten (SMITH and BAKER, 1978) haben die Ergebnisse von JERLOV bestätigt, sofern die Chlorophyll-a-Werte nicht wesentlich über  $0,025 \text{ mg/m}^3$  liegen. Aufgrund sorgfältiger Schätzungen rechnen die genannten Autoren, daß unter diesen Bedingungen für Strahlung der Wellenlänge um 290 nm noch mit einer Transmission von ca. 70 % zu rechnen ist. Der 10-%-Wert würde demnach immerhin noch tiefer als 6 m liegen. Eigene unpublizierte Transmissionsmessungen bei 313 nm (HWB 8 nm, Vakuum-Photodiode Pt 172 UW und IL 1700 Research Radiometer der Fa. International Light INC Dexter Industrial Green, Newburyport, USA) im küstennahen Teil des GROSSEN BARRIERE RIFF an der Ostküste Australiens (Fitzroy Island) ergaben ebenfalls Werte um 70 %, bei 297 nm um 54 % pro m.

In produktiven Teilen des Ozeans ist die UV-Transmission erwartungsgemäß erheblich geringer. Bei Chlorophyll-a-Werten um  $0,5 \text{ mg/m}^3$  wurden bei einer Wellenlänge um 313 nm nur noch ca. 50 % gemessen (SMITH and BAKER, 1978) und in eutrophen Binnengewässern sind Werte unter 1 % anscheinend nicht selten. Die Transmissionschwankungen, die sich durch wechselnde Phytoplanktondichten und unterschiedliche Niederschlagsmengen ergeben können, sind erheblich, so daß Verallgemeinerungen nicht möglich sind (SIEBECK, 1983).

Aus diesen wenigen Angaben folgt, daß die ultraviolette Strahlung zumindest in aquatischen Lebensräumen mit hoher Transmission als Umweltfaktor nicht von vornherein ausgeschlossen werden kann. In der Tat wurden in den letzten zehn Jahren Ergebnisse bekannt, die auf UV-Wirkungen zurückzuführen sind (Übersicht CALKINS, 1982). Inzwischen geht es daher längst um speziellere Fragen, z.B. welche Wirkungen durch ultraviolette

Strahlung bis zu welcher Tiefe nachweisbar sind (KARANAS, 1979; JOKIEL, 1980; DAMKAER et al., 1980; WORREST, 1982).

Aufgrund des beobachteten Ozonabbaues in der Stratosphäre (FARMAN et al., 1986) und der mit Sorge erwarteten Zunahme der UV-Einstrahlung sind in jüngster Zeit weitere Fragestellungen hinzugekommen, die im Prinzip auf eine Abschätzung der möglichen Schäden bei Pflanzen und Tieren hinauslaufen (CALKINS, 1982). Zu diesen gehören auch die Fragen nach der UV-Toleranz, z.B. bei den Bewohnern von Lebensräumen mit unterschiedlicher Strahlenbelastung.

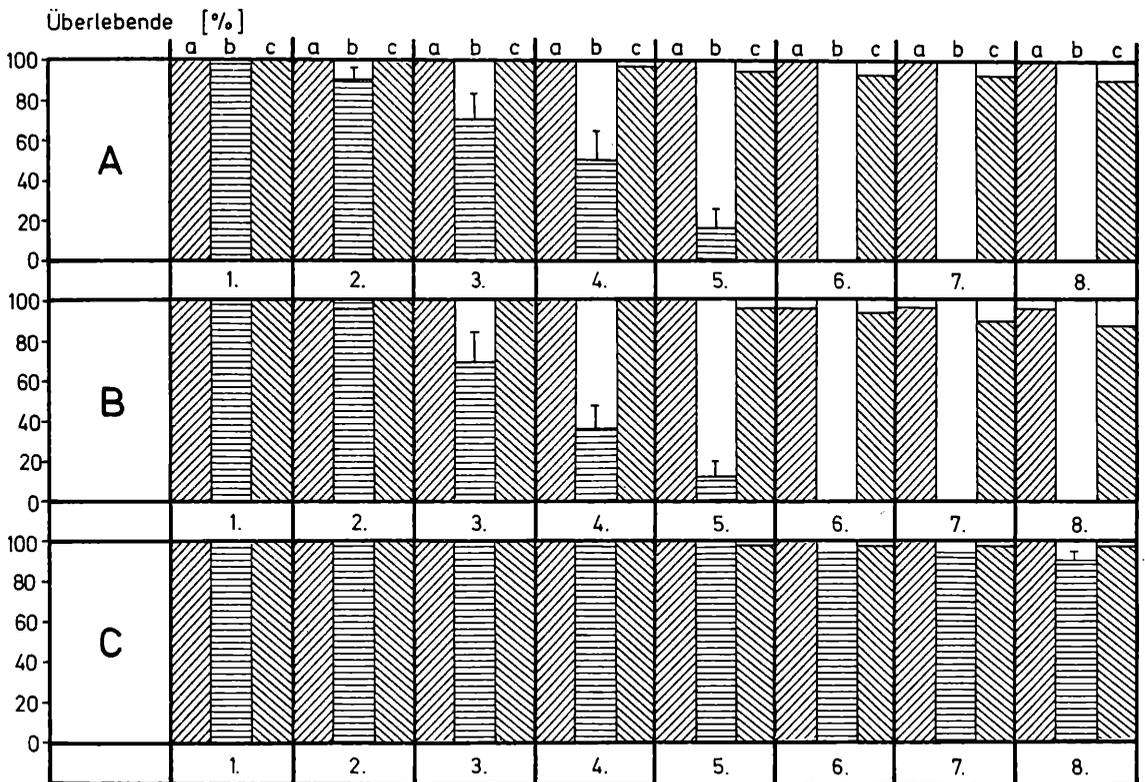
UV-induzierte Schäden, die sich auf Primärschäden in Nukleinsäuren und ihre Verbindungen zurückführen lassen, sind bekanntlich innerhalb gewisser Grenzen durch zelleigene Mechanismen reparierbar (Übersicht: KIEFER und WIENHARD, 1977). Als Schutz vor UV-Strahlung kommen somit neben speziellen Verhaltensweisen, die zum Rückzug aus gefährlichen Bereichen führen (z.B. durch die tagesperiodische Vertikalwanderung der pelagischen Organismen oder durch Kontraktion exponierter Körperteile bei sessilen Organismen), auch physiologische Mechanismen in Betracht. Dabei ist vor allem an die Abschirmung der empfindlichen Zellstrukturen durch geeignete Substanzen und an die „Erholung“ im Anschluß an erfolgte Schädigungen zu denken. Eine Anpassung an erhöhte UV-Dosen würde somit prinzipiell sowohl durch eine Verstärkung des Abschirmeffekts (Erhöhung der Konzentration der hierfür infrage kommenden Substanzen), als auch durch eine Verbesserung der „Erholungsfähigkeit“ zu erreichen sein.

Hier wird über Untersuchungen zu folgenden Fragestellungen berichtet:

1. Reicht der in der natürlichen Globalstrahlung enthaltene UV-Anteil aus, um aquatische Organismen unter der Wasseroberfläche zu töten?
2. Gibt es Unterschiede in der UV-Toleranz zwischen Vertretern verschiedener Taxa und korrelieren diese mit der Strahlenbelastung der betreffenden Biotope bzw. Habitate?
3. Gibt es Hinweise auf physiologische Mechanismen, die im Sinne eines Strahlenschutzes wirksam sind?

**1. Fragestellung:** Reicht der in der natürlichen Globalstrahlung enthaltene UV-Anteil aus, um aquatische Organismen unter der Wasseroberfläche zu töten?

Für diese Untersuchungen wurden drei Daphnia-Arten ausgewählt: *Daphnia galeata*, *Daphnia longispina* und *Daphnia pulex obtusa*. Die ersten beiden Arten stammen aus tieferen Seen (Klostersee



**Abbildung 1**

**Anzahl der Überlebenden in Abhängigkeit von der Expositionsdauer nach der 1., 2., 3. usw. Stunde eingetragen.** A: *Daphnia galeata*, B: *Daphnia longispina*, C: *Daphnia pulex obtusa*. a = Kontrolle (mit Graufilter), b = ohne Glasabdeckung, c = mit Glasabdeckung (aus SIEBECK und BÖHM, 1987).

b. Seon bzw. Chiemsee), in welchen sie sich bei Tag meist in ca. 6-15 m Wassertiefe aufhalten. Die 3. Art lebt in flachen Almtümpeln im Gebirge (z.B. Lattenbergalm, Wassertiefe ca. 20 cm).

Die Daphnien wurden in flachen Behältern von 1 cm Wassertiefe der direkten Sonnenstrahlung im Freien ausgesetzt (500 m ü.NN., 0/10 Bewölkung, Mitte Juni, weitere Einzelheiten zur Methodik vgl. SIEBECK und BÖHM, 1987). Die Ergebnisse sind in Abb. 1 dargestellt. Die Anzahl der Überlebenden ist nach der 1., 2., 3., usw. bis zur 8. Stunde ununterbrochener Sonnenexposition jeweils in Prozent der Ausgangszahl (20) angegeben, wobei drei unterschiedliche Bedingungen geprüft worden sind: 1. Abdeckung der Schälchen mit Graufilter zur Ausschaltung des UV-Anteils und Herabsetzung der übrigen Globalstrahlung etwa um den Faktor 10 (= Kontrolle a), 2. ohne Abdeckung (=b), 3. Abdeckung der Schälchen mit Glas (3 cm dickes Fensterglas) zur Ausschaltung des UV-Anteils (=c).

Die Ergebnisse zeigen, daß in den Kontrollgefäßen keine bzw. nur sehr wenige Tiere zugrundegegangen sind. In den Gefäßen mit Glasabdeckung sind bei *D. galeata* und *D. longispina* am Ende der 8. Expositionsstunde höchstens bis zu 10 %, bei *D. pulex obtusa* weniger als 2 % umgekommen. Auffällig hoch ist die Zahl der Toten bei *D. galeata* und *D. longispina* in den unbedeckten Schälchen: Bis zum Ende der 6. Expositionsstunde gab es bei beiden Arten keine Überlebenden mehr, während bei *D. pulex obtusa* immerhin noch über 90 % am Leben waren.

Aus den während der Expositionszeit durchgeführten Strahlungsmessungen folgt, daß bis zum Ende der 3. Expositionsstunde eine UV-B (290-320 nm)-Strahlungssumme von ca. 18,5 KJ/m<sup>2</sup> erreicht wor-

den ist. Mit der 6. Stunde betrug die Strahlungssumme ca. 44,0 KJ/m<sup>2</sup> und mit der 8. Expositionsstunde ca. 52,6 KJ/m<sup>2</sup>.

Wesentlich unempfindlicher ist der Ostrakode *Heterocypris incongruens*: Alle Tiere überlebten unter den genannten Bedingungen. Die in Australien aus Eiern bis zum Adultstadium aufgezogenen Tiere waren nach der 8. Expositionsstunde (7-15 Uhr) jedoch alle eingegangen. Bis dahin betrug die Strahlungssumme ca. 80,9 KJ/m<sup>2</sup> (SIEBECK, 1987, unpubl.), die in unseren Breiten innerhalb eines Tages nicht erreicht wird.

Steinkorallen (Scleractinia), wie z.B. *Favia pallida* (DANA, 1846), *Favites complanata* (EHRENBERG, 1834) und *Turbenaria mesenterina*, die im flachen Wasser bis zu maximal 1 m Wassertiefe (bei Ebbe) gesammelt worden waren, überlebten die volle Sonnenexposition eines ganzen Tages (ca. 89 KJ/m<sup>2</sup>), während die gleichen Arten aus größerer Tiefe (18-20 m) am folgenden Tag entweder ganz abgestorben waren oder unübersehbare Flächen mit toten Polypen enthielten (SIEBECK, 1981, unpubl.). Aus diesen Freilandexperimenten folgt somit, daß die im flachen Wasser (1 cm unter der Wasseroberfläche) zustande kommenden UV-B-Strahlungssummen für die betreffenden Tiere tödlich sind.

**2. Fragestellung:** Gibt es Unterschiede in der UV-Toleranz zwischen Vertretern verschiedener Taxa und korrelieren diese mit der Strahlenbelastung der betreffenden Biotope bzw. Habitate?

Obleich die im vorhergehenden Abschnitt dargestellten Ergebnisse diese Frage im Prinzip bereits bejahen, soll sie in diesem Abschnitt anhand von Laborexperimenten nochmals aufgegriffen werden. Wir beschränken uns dabei auf den Vergleich zwi-

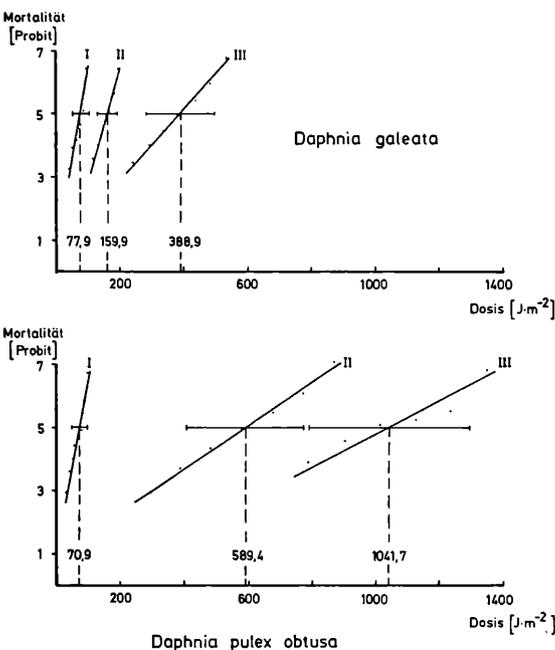
schen *Daphnia galeata* (als Vertreter einer Seeform) und *Daphnia pulex obtusa* (als Vertreter einer Almtümpelform).

Die Daphnien wurden mit UV-B der Wellenlänge  $\lambda = 295 \pm 10$  nm bestrahlt (1000 Watt Xenon-Hochdruckbogenlampe in Verbindung mit dem Hochleistungs-Gitter-Monochromator GM 252 der Firma Schoeffel) und die LD-50 (dosis letalis media, 50 %) (SIEBECK und BÖHM, 1987) bestimmt, wobei drei Varianten geprüft worden sind: I. Die UV-Bestrahlung ist auf die oben angegebene Wellenlänge beschränkt. Im Anschluß an diese Bestrahlung werden die Daphnien bei Dunkelheit gehalten. Die Mortalität wird am Ende der 24. Stunde nach der UV-Exposition bestimmt.

II. Die UV-Bestrahlung ist auf die oben angegebene Wellenlänge beschränkt. Im Anschluß an diese Bestrahlung werden die Daphnien mit einer Blaulicht-Minileuchtstoffröhre (390-470 nm) (FLE 2 der Firma Seitner, München) bis zum Ende der 24. Stunde nach der UV-Exposition bestrahlt ( $25,9 \text{ KJ/m}^2$ ) und anschließend die Mortalität bestimmt.

III. Die UV-Bestrahlung (wie oben) wird von Anfang an mit der Blaulichtbestrahlung kombiniert und nach Beendigung der UV-Bestrahlung bis zum Ende der 24. Stunde fortgesetzt ( $25,9 \text{ KJ/m}^2$ ). Anschließend wird die Mortalität bestimmt.

Die Ergebnisse sind in Abb. 2 dargestellt. Sie lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:



**Abbildung 2**

**LD-50 bei *Daphnia galeata* und *Daphnia pulex obtusa* in Abhängigkeit von drei Versuchsvarianten (I-III)** (Näheres im Text) (aus SIEBECK und BÖHM, 1987).

Die erste Versuchsvariante (I) liefert für *D. galeata* und *D. pulex obtusa* eine LD-50 von  $77,98 \pm 25,29 \text{ J}\cdot\text{m}^{-2}$  bzw.  $70,87 \pm 22,18 \text{ J}\cdot\text{m}^{-2}$ . Der Unterschied ist nicht signifikant. Neueste Untersuchungen (ZEITLER, 1988), die unter sonst gleichen Bedingungen, aber mit anderen Wellenlängen (280 nm und 310 nm) durchgeführt worden sind, ergaben im Gegensatz zu diesen Ergebnissen verhältnismäßig geringfügige, aber doch signifikante Unterschiede zwischen beiden Arten: *D. galeata* LD-50:  $20,41 \pm 0,7 \text{ J}\cdot\text{m}^{-2}$ , *D. pulex obtusa*:  $23,92 \pm 1,03 \text{ J}\cdot\text{m}^{-2}$  (280 nm)

bzw. *D. galeata*  $2,18 \pm 0,05 \text{ KJ m}^{-2}$ , *D. pulex obtusa*:  $3,04 \pm 0,11 \text{ KJ m}^{-2}$  (310 nm).

Die zweite Versuchsvariante (II) ergibt für *D. galeata* und *D. pulex obtusa* eine LD-50 von  $159,99 \pm 32,29 \text{ J m}^{-2}$  bzw.  $589,4 \pm 184,0 \text{ J m}^{-2}$ . Der Unterschied ist hoch signifikant.

Die dritte Versuchsvariante (III) ergibt für *D. galeata* und *D. pulex obtusa* eine LD-50 von  $388,93 \pm 108,29 \text{ J m}^{-2}$  bzw.  $1041,73 \pm 254,41 \text{ J m}^{-2}$ . Der Unterschied ist hoch signifikant.

Aus diesen Ergebnissen folgt, daß bei alleiniger UV-Bestrahlung höchstens geringfügige Unterschiede in der Toleranz zwischen den beiden Daphnia-Arten nachweisbar sind. Durch das Blaulicht ist offensichtlich eine Erholung möglich, die bei *D. pulex obtusa* jedoch erheblich ausgeprägter ist als bei *D. galeata*. Dieser Erholungseffekt kann durch den Dosismodifikationsfaktor (DMF) angegeben werden (KIEFER und WIENHARD, 1977). Er ergibt sich aus dem Verhältnis:

$$\text{DMF} = \frac{\text{LD-50 l (bei nachfolgender Beleuchtung)}}{\text{LD-50 d (bei nachfolgender Dunkelheit)}}$$

bzw.

$$\text{DMF} = \frac{\text{LD-50 l (bei gleichzeitiger und nachfolgender Beleuchtung)}}{\text{LD-50 d (bei nachfolgender Dunkelheit)}}$$

Die DMF der geschilderten drei Versuchsvarianten sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Sie zeigen die beträchtliche Erholungsfähigkeit beider Arten bei nachfolgender bzw. gleichzeitiger und nachfolgender Beleuchtung. Wie sich aus früheren Untersuchungen bereits ergeben hatte (SIEBECK und BÖHM, 1987), liegt die maximale Wirksamkeit der für die Erholung erforderlichen Strahlung im Wellenlängenbereich zwischen 410-460 nm. Darauf wird bei der Behandlung der 3. Fragestellung eingegangen werden. Es ist sehr wahrscheinlich, daß dieser Erholungseffekt mit zunehmender Strahlungsintensität noch gesteigert werden kann. Entsprechende Untersuchungen laufen zur Zeit.

Das wichtigste Ergebnis dieser Versuche besagt, daß die unterschiedliche UV-Toleranz der beiden Daphnia-Arten vor allem auf die unterschiedliche Fähigkeit zurückzuführen ist, sich von UV-bedingten Schäden wieder zu erholen. Die dadurch bewirkte erhöhte UV-Toleranz des Bewohners flacher Gebirgsgewässer gegenüber dem Bewohner tiefer Gewässer im Tiefland spricht für eine Bezie-

<b>Tabelle 1</b>		Dosismodifikationsfaktor bei verschiedenen Versuchsvarianten:
		$\frac{\text{LD}_{50\text{l}}}{\text{LD}_{50\text{d}}}$
1. <u>Nach</u> UV-Exposition:		Blaulicht
<i>Daphnia galeata</i>		2,05
<i>Daphnia pulex obtusa</i>		8,32
2. <u>Während</u> und <u>nach</u> UV-Exposition:		Blaulicht
<i>Daphnia galeata</i>		4,99
<i>Daphnia pulex obtusa</i>		14,70

hung zwischen UV-Toleranz und Strahlenbelastung, sofern man unterstellt, daß *D. pulex obtusa* in den Flachgewässern im Gebirge einer höheren Strahlenbelastung ausgesetzt ist. Dafür spricht die höhenabhängige Zunahme der UV-Strahlung, die zwischen 500-1500 m im UV-B bei ca. 15 % liegt (SCHULZE, 1970) und noch mehr die unterschiedliche Wohntiefe der beiden Arten, die im Flachwasser des betreffenden Almtümpels bei maximal 20 cm, bei der Seeform aber im allgemeinen in Tiefen über 6 m liegt. Da die Transmissionswerte, wie bereits angedeutet, stark variieren und keine fortlaufenden Registrierungen vorliegen, ist zur tatsächlichen Strahlenbelastung aber keine genaue Angabe möglich.

Da Daphnien in der Lage sind, in Seen in die Tiefe zu wandern und in Flachgewässern u.U. schattige Stellen aufzusuchen, ist ihr Schutz gegenüber ultravioletter Strahlung von vornherein nicht auf physiologische Mechanismen beschränkt, wie es bei sessilen Formen zu fordern ist. Bei Letzteren sollte eine vom Habitat abhängige UV-Toleranz daher besonders stark ausgeprägt sein. Abgesehen davon ist ein möglicher Zusammenhang zwischen Strahlenbelastung und UV-Toleranz leichter zu erkennen, weil die betreffenden Organismen im gleichen Gewässer vorkommen und sich in verschiedenen Wohntiefen aufhalten.

Die betreffenden Untersuchungen wurden innerhalb von drei jeweils ca. sechswöchigen Forschungsaufenthalten (1981, 1984, 1987) am Australian Institute of Marine Science in Townsville mit folgenden Steinkorallen durchgeführt:

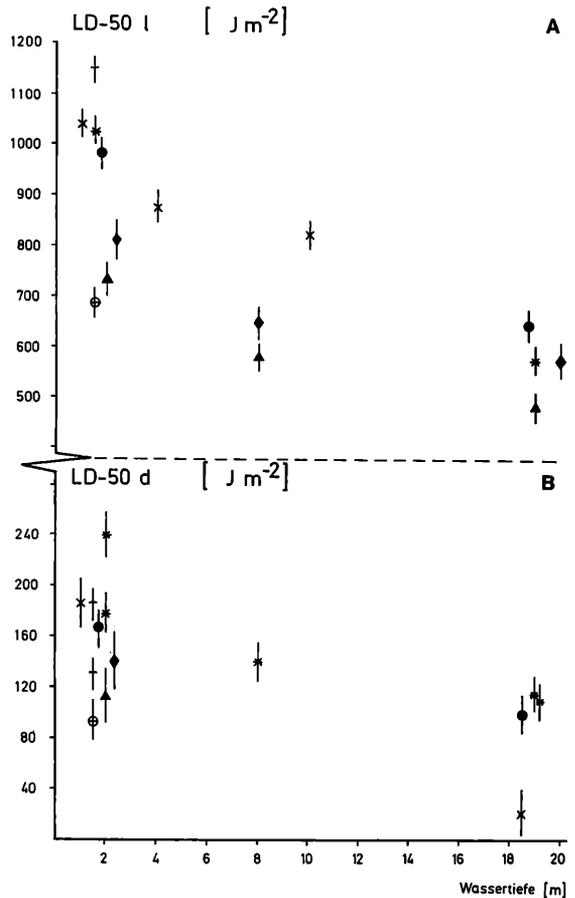
*Favia pallida* (DANA, 1846), *Favia fava* (FORSHAL, 1775), *Favia matthei* (VAUGHAN, 1918), *Favites complanata* (EHRENBERG, 1834), *Coeloseris mayeri* (VAUGHAN, 1918), *Goniastrea edwardsi* (CHEVALIER, 1971), *Goniastrea pectinata* (EHRENBERG, 1834) und *Platygyra sinensis* (MILNE, EDWARDS et HAIME, 1834).

Da der Hochleistungsmonochromator aus dem Münchener Labor nicht transportabel war, mußten die betreffenden Bestrahlungsexperimente mit UV-Lampen von Philips (TL 40W/12) bzw. Tageslichtlampen von Osram (L 25W/19) durchgeführt werden.

Die Korallen wurden in der Regel als Bruchstücke größerer Kolonien angeliefert. Soweit ihre Oberfläche wesentlich größer war als 300 cm<sup>2</sup>, wurden sie in entsprechend kleinere Stücke zerlegt und anschließend in Aquarien bei kontinuierlichem Wasseraustausch und bei 22°C gehalten. Weitere Details zur Methodik sind bei SIEBECK (1988) beschrieben. Hier sei lediglich erwähnt, daß die Korallen ähnlich wie in den zuvor mit Daphnien geschilderten Versuchen im Anschluß an die UV-Bestrahlung entweder im Dunkeln gehalten oder mit den genannten Tageslichtlampen beleuchtet worden sind.

Die Korallen stammten vor allem aus Tiefen zwischen 0-1,5 m und 18-20 m (bei Ebbe), einzelne auch aus Zwischentiefen wie in Abb. 3 angegeben. Im oberen Teil der Abbildung sind die LD-50  $\ell$  eingetragen, die sich mit Beleuchtung ergeben haben, darunter die Ergebnisse, die bei nachfolgender Dunkelheit erzielt worden sind (LD-50 d).

Aus der Darstellung folgt, daß die LD-50 d bzw. LD-50  $\ell$  für beide Versuchsvarianten mit zunehmender Tiefe sinkt, d.h. die Toleranz gegenüber UV-B nimmt ab. Damit ist erwiesen, daß bei den



**Abbildung 3**

(A) LD-50  $\ell$ ; (B) LD-50 d in Abhängigkeit von der Wohntiefe der betreffenden Korallen. \* *Favia pallida*, x *Favia fava*,  $\blacktriangle$  *Favia matthei*,  $\oplus$  *Favites complanata*,  $\blacklozenge$  *Goniastrea edwardsi*, - *Goniastrea pectinata*,  $\bullet$  *Platygyra sinensis*. Die senkrechten Balken geben die Grenzen des 95 % Vertrauensbereiches an.  $\ell$  = Bestrahlung mit sichtbarem Licht nach der UV-Exposition, d = Dunkelaufenthalt nach der UV-Exposition (aus SIEBECK, 1988).

getesteten Korallen eine tiefenabhängige UV-Toleranz vorliegt. Die LD-50 d der Flachwasserbewohner ist etwa zweimal so groß, wie die LD-50 d der Tiefenbewohner (Tabelle 2). Prüft man den Unterschied zwischen der LD-50 d bei Dunkelheit und der LD-50  $\ell$  bei Beleuchtung, so erhält man die in Tabelle 3 zusammengestellten Werte. Demnach wird die UV-Toleranz durch den Erholungseffekt um den Faktor 5-6 erhöht. Auch in diesem Fall ist eine weitere Steigerung durch Erhöhung der Intensität der kurzwelligen sichtbaren Strahlung sehr wahrscheinlich.

Tabelle 2		Relative LD-50 d-Werte der Korallen aus flachen und tiefen Wohnbereichen.	
Arten	Flachwasser (bis 1,5 m)	Tiefenwasser (18-20 m)	
<i>Favia fava</i>	1,9	1	
<i>Favia pallida</i>	2,1	1	
<i>Goniastrea edwardsi</i>	2,1	1	
<i>Platygyra sinensis</i>	2,5	1	

Tabelle 3		Relative LD-50-Werte mit und ohne Tageslicht	
Arten <sup>*)</sup>	LD-50 d	LD-50 l	LD-50 i
<i>Goniastrea edwardsi</i>	1	5,8	
<i>Goniastrea pectinata</i>	1	6,3	
<i>Favia matthei</i>	1	6,8	
<i>Favia fava</i>	1	5,6	
<i>Favia pallida</i>	1	5,2	
<i>Favia complanata</i>	1	7,3	
<i>Platygyra sinensis</i>	1	5,9	

<sup>\*)</sup> alle Korallen stammten aus einer Wassertiefe zwischen 1-3 m

### Zusammenfassend können wir somit feststellen:

1. Die an wolkenlosen Sommertagen im UV-B-Bereich (290-320 nm) zustandekommenden Tagessummen (Raum München, 48 n.B., 500 m ü.NN Junimitte ca. 70 KJ·m<sup>-2</sup> bzw. Townsville/Australien 19,25 s.B., 0 m ü.NN ca. 89 KJ·m<sup>-2</sup>) überschreiten zumindest knapp (1 cm) unter der Wasseroberfläche die letale Dosis. Diese Aussage gilt für *Daphnia longispina*, *Daphnia galeata*, m.E. *Daphnia pulex obtusa* bzw. für die Steinkorallen *Favia pallida*, *Favites complanata* und *Turbenaria mesenterina*, soweit sie aus Tiefen über 18 m stammen. Diese Aussage gilt nicht für *Heterocypris incongruens* und für alle in Oberflächennähe lebenden Steinkorallen (0-1 m Wassertiefe) der oben genannten Taxa.
2. Die UV-Toleranz der getesteten Organismen (zwei *Daphnia*-Arten, sieben Taxa von Steinkorallen) ist von der UV-Strahlenbelastung ihres Habitats abhängig (Tiefenabhängigkeit der LD-50).
3. Bei allen bisher getesteten Organismen (zwei *Daphnia*-Arten, sieben Taxa von Steinkorallen) bewirkt sichtbare kurzwellige Strahlung (390-460 nm) gleichzeitig mit der UV-B-Strahlung und/oder nach der UV-B-Strahlung geboten, einen erheblichen Erholungseffekt.
4. Der unter dem Einfluß sichtbarer kurzwelliger Strahlung zustandekommende Erholungseffekt ist beim Flachwasserbewohner *D. pulex obtusa* unter allen bisher getesteten Bedingungen wesentlich höher als beim Seebewohner *D. galeata*.

### 3. Fragestellung: Gibt es Hinweise auf physiologische Mechanismen, die im Sinne eines Schutzes vor UV-Strahlung wirksam sind?

Die Behandlung dieser Frage setzt voraus, daß bekannt ist, welcher Wellenlängenbereich der Ultraviolettstrahlung für die Schäden verantwortlich ist, die bei hinreichender Dosis zum Tode führt. Im allgemeinen wird das Ultraviolett aufgrund unterschiedlicher physiologischer Wirkungen in drei Bereiche aufgeteilt: UV-C: 100-280 nm, UV-B: 280-320 nm und UV-A: 320-380 nm. Aus ökologischer Sicht ist aber nur der Teil des UV-Spektrums wesentlich, der in der Globalstrahlung an der Erdoberfläche bzw. im Wasser noch vorhanden ist. Das sind im allgemeinen Wellenlängen über 290 nm, d.h. Teile des UV-B und das gesamte UV-A. Ermittelt man das Wirkungsspektrum der schädigenden UV-Strahlung bei den getesteten Daphnien, so findet man, daß das Maximum der Schädigung im UV-C liegt – etwa bei 260 nm. Nach beiden Seiten, d.h. nach kleineren wie nach größeren Wellenlängen, nimmt die Wirksamkeit energiegleicher Strahlung ab, ganz besonders auffällig bei Wellen-

längen oberhalb 290 nm (Abb. 4). Unter Freilandbedingungen ist es somit vor allem Strahlung der Wellenlängen 290-310 nm, die im Laufe eines Tages eine letale Dosis überschreiten kann. Eine Substanz, die eine wirksame Schutzfunktion erfüllen soll, müßte in diesem Wellenlängenbereich hinreichend stark absorbieren.

Im Falle der getesteten Daphnien liegen hierüber bisher keine Informationen vor, wohl aber bei Korallen. MARAGOS (1972) konnte bei der Steinkoralle *Porites lobata* UV-absorbierende Substanzen nachweisen, deren Konzentration mit zunehmender Wohntiefe abnimmt. JOKIEL und YORK (1982) fanden bei der Steinkoralle *Pocillopora damicornis* eine entsprechende Beziehung.

DUNLAP, CHALKER und OLIVER (1986) konnten das UV-absorbierende Substanzgemisch bei *Acropora formosa* in mehrere mycosporinähnliche Aminosäuren aufteilen, unter welchen eine Komponente im Bereich von 310 nm ein breites Absorptionsband aufweist und gerade die Konzentration dieser Komponente nimmt mit zunehmender Tiefe ab.

Alle diese Befunde sprechen dafür, daß es – zumindest bei den Korallen – wirksame Schutzsubstanzen gegenüber der schädigenden UV-Strahlung gibt.

Die mit den Daphnien durchgeführten Experimente haben die Bedeutung des unter Lichteinfluß erfolgenden Erholungseffekts herausgestellt, der möglicherweise der Photoreaktivierung zugeordnet werden kann. Die Beziehung zwischen „Erholungserfolg“ und Wellenlänge ist in Abb. 5 dargestellt. Die betreffenden Tiere wurden zunächst mit einer UV-Dosis bestrahlt, die bei anschließendem Dunkelverweilen zum Tod (100 %-Mortalität) geführt haben würde (wie durch Kontrollen stets zu prüfen war). Durch anschließende energiegleiche monochromatische Bestrahlung mit Wellenlängen zwischen 400-460 nm blieben sie mit steigender Dosis zu einem wachsenden Anteil am Leben. Der 50 % Erholungserfolg (ED-50) wurde bei Wellenlängen zwischen 420-450 nm mit den geringsten Dosen erreicht. Strahlung dieser Wellenlänge zeigt somit die größte Wirksamkeit.

Damit ist erwiesen, daß am UV-Schutz zumindest zwei verschiedene physiologische Mechanismen beteiligt sind.

### Literaturverzeichnis

- CALKINS, J. (ed.) (1982):  
The role of solar ultraviolet radiation in marine ecosystems. – Plenum press, New York, pp. 724.
- DAMKAER, D.M., DEY, D.B., HERAN, G.A., PRENTICE, E.F. (1980):  
Effects of UV-B radiation on nearsurface zooplankton of Puget Sound. – *Oecologia* (Berl.) 44: 149-158.
- DUNLAP, W.C., CHALKER, B.E., OLIVER, J.K. (1986):  
Bathymetric adaptations of reefbuilding corals at Davies Reef, Great Barrier Reef, Australia. III. UV-B absorbing compounds. – *J. exp. mar. Biol. Ecol.* 104: 239-248.
- FARMAN, J.C., GARDINER, B.G., OLIVER, J.K. (1986):  
Large losses of total ozone in Antarctica reveal seasonal ClO<sub>x</sub>/NO<sub>x</sub> interaction. – *Nature*, Lond. 315: 207-210.

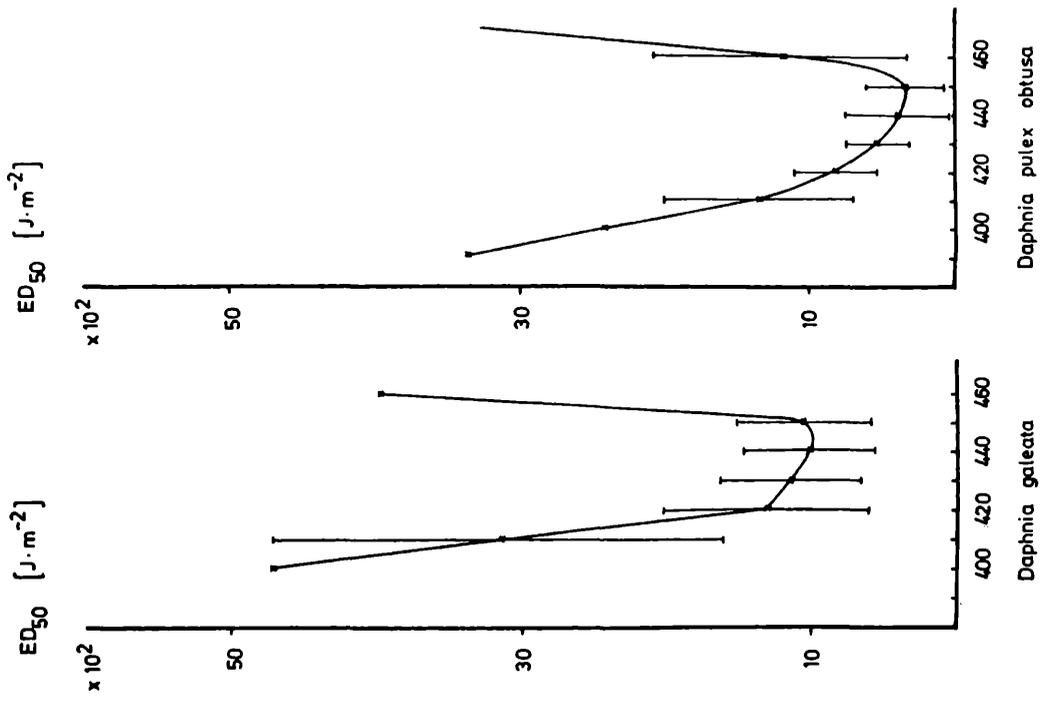


Abbildung 5

Beziehung zwischen der ED-50 und der Wellenlänge monochromatischer, sichtbarer Strahlung, welcher die Tiere nach erfolgter UV-Bestrahlung ausgesetzt worden sind. (nach SIEBECK und BOHM 1987, verändert).

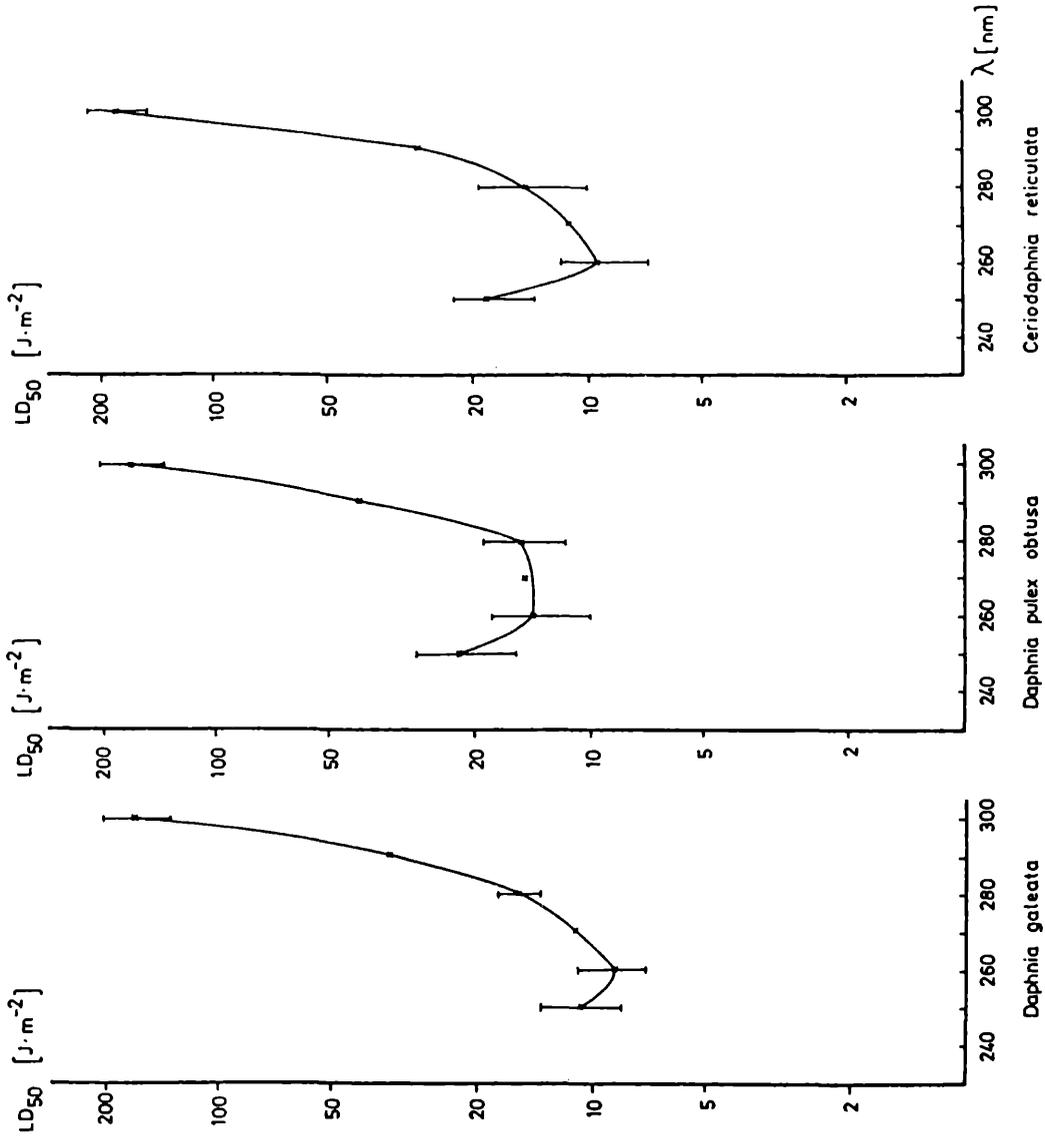


Abbildung 4

Beziehung zwischen der LD-50 und der Wellenlänge der gewählten UV-Strahlung. (aus SIEBECK und BÖHM, 1987).

- JERLOV, N.G. (1950):  
Ultraviolet radiation in the sea. – *Nature*, Lond. 116: 111-112.
- JOKIEL, P.L. (1980):  
Solar ultraviolet radiation and coral reef epifauna. – *Science* 207: 1069-1071.
- JOKIEL, P.L., YORK, R.H. (1982):  
Solar ultraviolet photobiology of the reef coral *Pocillopora damicornis* and symbiotic zooxanthellae. *Bull.-Mar.Sci.*, 32: 301-315.
- KARANAS, J.J. (1979):  
Impact of UV-B radiation on the fecundity of the copepod *Acartia clausii*. – *Mar.Biol.* 65: 125-133.
- KIEFER, J., WIENHARD, I. (1977):  
Biologische Wirkungen; in: KIEFER, J. (ed.) *Ultraviolette Strahlen*; Walter de Gruyter, Berlin, p. 445-567.
- MARAGOS, J.E. (1972):  
A study of the ecology of Hawaiian reef corals; Ph.D. dissertation, University of Hawaii.
- SCHULZE, R. (1970):  
*Strahlenklima der Erde*; Dr. Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt, pp. 217.
- SIEBECK, O. (1981):  
Photoreactivation and depth-dependent UV tolerance in reef coral in the Great Barrier Reef/Australia. – *Naturwiss.* 67: 426.
- SIEBECK, O. (1983):  
UV als Umweltfaktor in aquatischen Biotopen. – *Verh. Ges.f.Ökol.* 10: 583-589.
- SIEBECK, O. (1988):  
Experimental investigation of UV-tolerance in hermatypic corals (Scleractinia). – *Mar.Ecol.Prog.Ser.* 43: 95-103.
- SIEBECK, O., BÖHM, U. (1987):  
Untersuchungen zur Wirkung der UV-B-Strahlung auf kleine Wassertiere; BPT-Bericht, Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, München 1, pp. 84.
- SMITH, R.C., BAKER, K.S. (1978):  
Penetration of UV-B and biologically effective dose-rates in natural waters. – *Photochem. Photobiol.* 29: 311-323.
- WORREST, R.C. (1982):  
Review of literature concerning the impact of UV-B radiation upon marine organisms; in: CALKINS J. (ed.): *The role of solar ultraviolet radiation in marine ecosystems*; Plenum Press, New York, p. 429-457.
- ZEITLER, N. (1988):  
UV-Toleranz und Photoreaktivierung bei *Daphnia pulex obtusa* und *Daphnia galeata*; Diplom-Arbeit, München.

**Anschrift des Verfassers:**

Prof. Dr. O. Siebeck  
Dipl.Biol. U. Böhm  
Zoologisches Institut  
der Universität München  
Seidlstraße 25  
8000 München 2



