

Anwendung der Chlorophyllfluoreszenz im Gewächshaus zur Erkennung von Salzstress an *Lycopersicon esculentum* L. 'Tastery'

Sabine Wittmann*, Heike Mempel

DGG-Proceedings, Vol. 8, 2018, No. 6, p. 1-5.
DOI: 10.5288/dgg-pr-sw-2018

*Corresponding Author:

Sabine Wittmann
Fakultät Gartenbau und Lebensmitteltechnologie
Hochschule Weihenstephan-Triesdorf
Am Staudengarten 10
85354 Freising
Germany

Email: sabine.wittmann@hswt.de

Anwendung der Chlorophyllfluoreszenz im Gewächshaus zur Erkennung von Salzstress an *Lycopersicon esculentum* L. 'Tastery'

Sabine Wittmann, Heike Mempel

Hochschule Weihenstephan-Triesdorf, Germany.

1. Einleitung, Stand des Wissens, Zielsetzung

Gesundheitliche und ökologische Aspekte spielen für die Wettbewerbsfähigkeit von Gemüseproduzenten eine zunehmende Rolle (Gruda, 2009; Ho, 2003). Der Geschmack kann bei Tomatenfrüchten durch eine Erhöhung des Salzgehaltes in der Nährlösung positiv beeinflusst werden (Krauß, 2007). Gleichzeitig kann eine erhöhte Salzkonzentration an den Tomatenpflanzen Salzstress auslösen (Pitann et al., 2009). Ähnlich Trockenstress führt dieser zu einer Reduktion des Wasserpotentials und einer Verringerung der stomatären Leitfähigkeit. Als Schutz gegen Austrocknung sinkt in Folge die Aktivität der Stomata bis zur Inhibition des Photosynthese-Apparates (Da Silva et al., 2008). Die nichtinvasive Erfassung von Stress vor einem optischen Auftreten von Symptomen könnte ein effektives und objektives Monitoring der Pflanzen ermöglichen und dadurch subjektive Entscheidungen und Ertragsverluste minimieren (Gorbe et al., 2012). Durch die Chlorophyllfluoreszenz (CF) kann die Schädigung des Photosyntheseapparats durch Stress dargestellt werden (Maxwell, 2000). Eine Untersuchung in der Klimakammer an Gurkenblättern zeigte im hydroponischen System bei Zugabe von 50 und 100 mmol l⁻¹ NaCl deutlich reduzierte Werte in der Quantenausbeute (ΦPSII) sowie im photochemischen Quenching (qP) (Stępień et al., 2006). Eine vergleichbare Reaktion zeigten die Blätter von Tomatenpflanzen in der Klimakammer in Torfsubstratkultur nach einer vierwöchigen Behandlung mit 25, 50, 100, 150 und 200 mmol l⁻¹ NaCl (Zribi et al., 2009). Beide Arbeiten geben jedoch keinen Aufschluss über den optischen Zustand der Pflanzen zum Messzeitpunkt oder eine mögliche Übertragbarkeit ins Gewächshaus (GWH). Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich mit der CF als nichtinvasive Messmethode zur Erkennung von Salzstress an *Lycopersicon esculentum* im GWH, mit dem Ziel diesen vor dem Eintritt eines optischen Schadens an der Pflanze nachzuweisen.

2. Material und Methoden

Anzucht

Die Anzucht der Tomaten (*Lycopersicon esculentum*) 'Tastery' erfolgte mit vollentsalztem Wasser unter konstanter Schattierung in Perlit bei 22 °C (Tag) / 20 °C (Nacht). Gedüngt wurde mit Ferty 2 Blau ab Tag 12 (0,25 ‰) und ab Tag 19 (0,5 ‰). Die Überführung der Tomatenpflanzen erfolgte nach 29 Tagen in ein Deep-Water-Kultursystem (5 Liter Container) im GWH mit externer Luftzufuhr. Die Pflanzen wurden zufällig auf drei Varianten verteilt. Vor dem eigentlichen Versuchsbeginn erfolgte eine Akklimatisierung der

Versuchspflanzen für 23 Tage an das Kultursystem. Die Zusammensetzung der Nährlösung findet sich in Tabelle 1. Deren Sollwert in Vollentsalztem-Wasser (VE-Wasser) betrug EC 1,0 mS cm⁻¹ (electrical conductivity = elektrische Leitfähigkeit).

Tabelle 1. Nährlösungszusammensetzung, nach Göhler et al., 2002

Grundnährlösung	N(NO ₃)	N(NH ₄)	P	K	Mg	Ca	S	Fe	Mn	Zn	B	Cu	Mo
Vorkultur (mmol/l)	9,25	0	0,75	3	2	4	2,5	25	10	4	30	0,75	0,5
Versuchsbeginn (mmol/l)	11,75	0	1,25	6,5	1	2,75	1,5	15	10	4	20	0,75	0,5

Versuchsaufbau

Der Versuch wurde in einem deutschen Normgewächshaus der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf (Standort Freising, 48°24'6" nördliche Breite und 11°43'53" östliche Länge) durchgeführt. Die Kulturführung erfolgte praxisüblich. Die Tagesmitteltemperatur variierte im GWH zwischen 23 – 29 °C bei einer relativen Luftfeuchte von 40,1 – 55,6 %. Der Salzstress wurde über eine EC-Wert Erhöhung der Nährlösung mittels Natriumchlorid (NaCl, "reinst") appliziert. Bei Versuchsbeginn erfolgte hierzu über einen Zeitraum von 7 Tagen eine tägliche EC-Wert Steigerung, realisiert mittels einem täglichem Nährlösungswechsel. Dabei wurde die Kontrolle bei EC 1,0 mS cm⁻¹ belassen während die Variante 2 und 3 auf EC 1,0 + 0,5 mS cm⁻¹ bzw. EC 1,0 + 2,3 mS cm⁻¹ eingestellt wurden (siehe Abbildung 1).

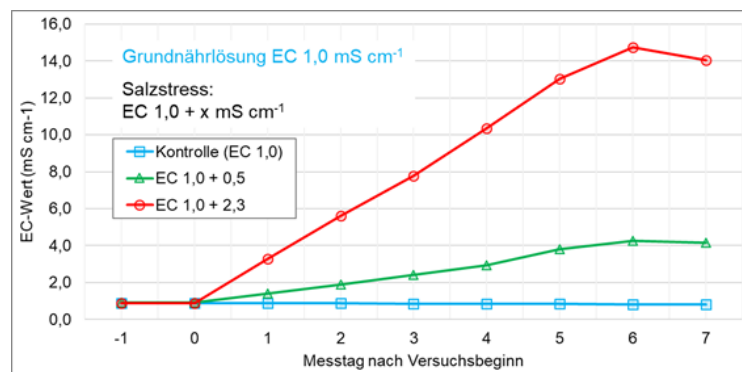


Abbildung 1. Tägliche EC-Wert Steigerung unter Zugabe von NaC

Messungen

Die Überprüfung der EC- und pH-Werte erfolgte täglich, Temperatur und Luftfeuchte wurden parallel zu den CF-Messungen kontinuierlich erfasst, die mit einer MiniPams II/R (Heinz Walz, Effeltrich, Deutschland) durchgeführt wurde. Nach einer Verdunklung von 30 Minuten (Dark Leaf Clip DLC-8; Walz) wurde die minimale Chlorophyllfluoreszenz (Fo; Messlichtintensität 1, Frequenz 5 Hz) sowie die maximale Chlorophyllfluoreszenz (Fm; Sättigungspulsintensität 12, Dauer 0,8 s) ermittelt. Um den Einfluss der Globalstrahlung im GWH zu minimieren wurde täglich während der Messungen die Schattierung geschlossen und die Lichtadaptation über das MiniPam II direkt appliziert. Kalaji et al. (2014) empfehlen 50 % der adaptierten Umgebungslichtintensität zur Bestimmung der unter Licht gemessenen Werte der CF zu verwenden. Infolgedessen erfolgte bis zum Erreichen von konstanten Werten für 15 Minuten über das MiniPam II eine Belichtung mit 800 μmol m⁻² s⁻¹. Ein erneuter Sättigungspuls mit identischen Einstellungen, ermittelte die Werte für die

minimale (F_0) und maximale (F_m) Chlorophyllfluoreszenz unter Lichtadaptation. Aus diesen Werten errechnen sich die Parameter des nichtphotochemischen Quenching $q_N = (F_m/F_0) - 1$ sowie des photochemischen Quenching $q_P = (F_m - F) / (F_m - F_0)$ und der Quantenertrag $\Phi_{PSII} = (F_m - F) / F_m$.

Die Gaswechselformung erfolgte über ein tragbares LCpro-SD (ADC BioScientific). Um Streulicht auszuschließen, wurde während der Messung die Blattküvette schattiert. Die zugeführte Frischluft wurde über eine Zuleitung außerhalb des GWH bezogen und zusätzlich durch einen 25-l-Kanister als Puffer gegenüber Veränderungen in der Umgebungsluft geführt. Nach Erreichen eines stabilen Zustandes wurde nach 20 min für 5 min pro Minute ein Messwert erfasst und daraus ein Mittelwert erstellt. Während der Messung wurde in der Blattkammer eine Lichtintensität von $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ über den LED-Aufsatz des LCpro-SD zugeführt. Die Blatttemperatur in der Blattkammer betrug $24 \text{ }^\circ\text{C}$. Alle Messungen fanden in einem Zeitraum zwischen 10:00 – 15:00 Uhr statt. Bis TNB (Tag nach Versuchsbeginn) 7 erfolgten die Messungen am gleichen Blatt mit identischem Blattalter. Anhand einer täglichen Bonitur der Pflanzenblätter wurde das Auftreten von optisch erfassbarem Stress dokumentiert (siehe Abbildung 2).

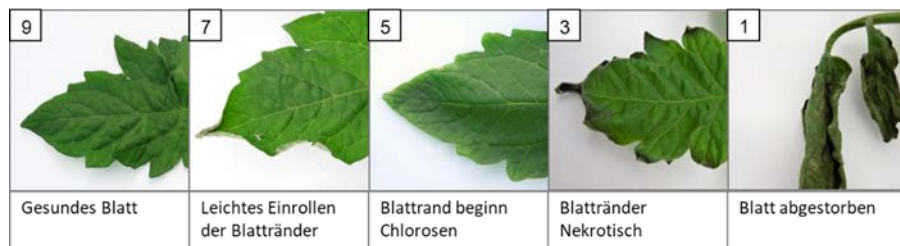


Abbildung 2. Boniturschema des optisch erfassbaren Salzstress der Tomatenpflanzen

Statistik

Die Normalverteilung der Daten wurde mit Histogrammen und dem Anderson-Darling-Test überprüft. Nach einer logarithmischen Transformation der Daten erfolgte der Kruskal-Wallis- mit anschließendem Nemenyi-Test bzw. eine ANOVA mit Tukey-Test als Vergleich. Die Mittelwerte und Standardabweichungen wurden auf Basis der transformierten Daten vorgenommen. Alle Tests wurden mittels Minitab (Version 16, Minitab, London, UK) durchgeführt.

3. Ergebnisse

F_v/F_m blieb in den ersten 7 Tagen bei den Pflanzen aller Varianten vergleichbar $0,813 - 0,831$ (Daten nicht angegeben). Die statistische Verrechnung ließ keine Unterschiede in der Quanteneffizienz (Φ_{PSII}) (siehe Abbildung 3-A) bzw. dem photochemischen Quenching (q_P) zwischen Variante 2 ($1,0 + 0,5 \text{ mS cm}^{-1}$) und der Kontrolle erkennen (Daten nicht angegeben). Bei Versuchsbeginn waren sowohl Φ_{PSII} als auch in q_P der Pflanzen von Variante 3 ($EC 1,0 + 2,3 \text{ mS cm}^{-1}$) signifikant niedriger als die der Kontrollen. Statistisch zeigte sich dabei in q_P lediglich an den Tagen 3 und 5 kein signifikanter Unterschied (Daten nicht angegeben). Die Quanteneffizienz wies signifikant geringere Werte zur Kontrolle an TNB 1-2 und TNB 6-7 auf. Im nichtphotochemischen Quenching (q_N) hatte die Variante 3 an TNB 7 höhere Werte im Vergleich zur Kontrolle (Daten nicht angegeben). Dabei wurden

15 % der Blätter in der Variante 3 am 7. Versuchstag mit einem verstärkten einrollen der Blattränder bonitiert (Note 6). Die Kontrolle sowie die Variante 2 zeigten keine Symptome. Am TNB 5 – 7 sank die Assimilationsrate bei einem EC-Wert von 10,3 mS cm⁻¹ in der Variante 3 signifikant unter die der anderen Varianten ab (siehe Abbildung 3-B).

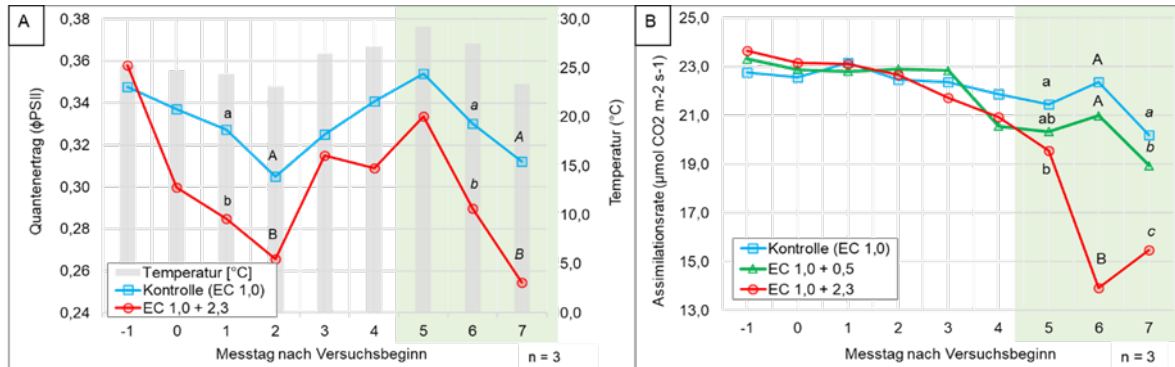


Abbildung 3. Messverlauf zur (A) Chlorophyllfluoreszenz, hier Quanteneffizienz [ϕ PSII]; (B) Gaswechselformung, hier Assimilationsrate [$\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$], $p < 0,05$, grün hinterlegte Bereiche für Interpretation relevant

Die Variante 2 zeigte 7 Tage nach Stressbeginn bei einem EC-Wert von 4,2 mS cm⁻¹ eine signifikant geringere Assimilationsrate zur Kontrolle. Über alle Varianten verlief die Transpirationsrate sehr homogen und zeigte erst an TNB 6 in der Variante 3 die geringsten Werte (Daten nicht angegeben). Die stomatäre Leitfähigkeit und die Transpirationsrate sank ebenfalls in den Tagen 6-7 in der Variante 3 gegenüber der Kontrolle signifikant.

4. Diskussion

In der Literatur wird Stress vorwiegend durch ein Absinken der Chlorophyllfluoreszenz im Zeitverlauf beschrieben. F_v/F_m verlief in allen Varianten sehr homogen und unterschritt den in der Literatur als optimal angegebenen Bereich von 0,76 – 0,83 nicht, was keine dauerhafte Beschädigung des Photosystems durch die steigende Salzkonzentration im Versuchszeitraum anzeigt. Der geringe Einfluss von Trockenstress auf F_v/F_m entspricht dabei den Ergebnissen der Arbeiten von Zribi et al. (2009) an Tomaten in der Klimakammer. Die signifikanten Abweichungen der Quanteneffizienz in der Variante 3 (EC 1,0 + 2,3 mS cm⁻¹) konnten einem Einfluss von Salzstress nicht eindeutig zugeordnet werden. Dies gilt vorwiegend für das starke Absinken von ϕ PSII vor Versuchsbeginn. Laut Genty et al. (1990) wird ein Rückgang von ϕ PSII entweder durch eine Beeinträchtigung des Reaktionszentrums oder durch einen Anstieg von q_N hervorgerufen, welcher als Schutzmechanismus des Photosystems gegenüber Lichtstress gilt.

Das Schließen der Stomata wird dabei als erste Reaktion der Pflanze gegen eine Verringerung der stomatären Leitfähigkeit angesehen und führt zu einer verstärkten Anfälligkeit von Lichtschäden. Im Versuch wurde ab TNB 6 eine signifikant geringere stomatäre Leitfähigkeit und Transpirationsrate in der Variante 3 festgestellt. Somit kann als mögliche Reaktion auf beginnenden Salzstress die signifikante Reduktion von ϕ PSII ab TNB 6 bei gleichzeitigem Anstieg der Wärmeabgabe (q_N) in der Variante 3 angesehen werden. Zribi et al. (2009) interpretierten nach einer 28-tägigen Salzbehandlung ebenfalls

eine signifikante Reduktion von 82 % ($150 \text{ mmol l}^{-1} = 8,76 \text{ g NaCl}$) und 91 % ($200 \text{ mmol l}^{-1} = 11,688 \text{ g NaCl}$) der Quanteneffizienz als Reaktion auf Salzstress

5. Schlussfolgerung

Salzstress war 7 Tage nach Versuchsbeginn in der höher konzentrierten Nährlösung (Variante 3 - EC $1,0 + 2,3 \text{ mS cm}^{-1}$) erkennbar. Die Reaktion der CF durch signifikante verringerte Werte in Φ_{PSII} mit gleichzeitigem Anstieg im qN erfolgte einen Tag früher. Für die Praxis ist ein EC- Wert von $14,8 \text{ mS cm}^{-1}$ in der Tomatenkultur dabei als sehr hoch einzustufen. Daher kann der Nutzen der CF-Messung zum zeitnahen Nachweis von Salzstress unter Glas in Frage gestellt werden.

6. Literatur

Da Silva, E. C., Nogueira, R. J. M. C., Araújo, F. P. de, Melo, N. F. de und Azevedo Neto, A. D. de (2008). Physiological responses to salt stress in young umbu plants. *Environmental and Experimental Botany*, 1-3: 147–157.

Genty, B., Harbinson, J., Briantais J., Baker und Neil R. (1990): The relationship between non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence and the rate of photosystem 2 photochemistry in leaves. *Photosynthesis Research*, 3: 249–257.

Gorbe, E. und Calatayud, A. (2012). Applications of chlorophyll fluorescence imaging technique in horticultural research: a review. *Scientia Horticulturae*, 24–35.

Gruda, N. (2009). Do soilless culture systems have an influence on product quality of vegetables? *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 82: 141 – 147.

Ho, L. C. (2003). The contribution of plant physiology in glasshouse tomato soilless culture. *ISHS Acta Horticulturae 648: South Pacific Soilless Culture Conference – SPSCC*.

Kalaji, H. M., Schansker, G., Ladle, R. J., Goltsev, V., Bosa, K., Allakhverdiev, S. I., Brestic, M., Bussotti, F., Calatayud, A., Dąbrowski, P., Elsheery, N. I., Ferroni, L., Guidi, L., Hogewoning, S. W., Jajoo, A., Misra, A. N., Nebauer, S. G., Pancaldi, S., Penella, C., Poli, D., Pollastrini, M., Romanowska-Duda, Z. B., Rutkowska, B., Serôdio, J., Suresh, K., Szulc, W., Tambussi, E., Yannicari, M. und Zivcak, M. (2014). Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence. *Photosynthesis Research*, 2: 121–158.

Krauß, S. (2007). Einfluss von Salzstress auf den Metabolismus der Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) - Auswirkungen auf die Qualität der Frucht, Diss. Technische Universität München.

Maxwell, K, und Johnson, G. (2000). Chlorophyll fluorescence--a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 345: 659–668.

Pitann, B., Zörb, C. und Mühling, K. H. (2009). Salzstress bei Kulturpflanzen. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 2: 202–206.

Stępień, P. und Kłbus, G. (2006). Water relations and photosynthesis in *Cucumis sativus* L. leaves under salt stress. *Biologia Plantarum*, 4: 610–616.