

Einfluss von epiphytischen Hefen auf den Phenylpropanoidstoffwechsel von Weinkallus

Susanne Rühmann

susanne.ruehmann@wzw.tum.de

Fachgebiet Obstbau der Technischen Universität München

Weihenstephan

Weinkallus

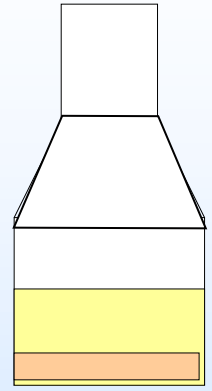
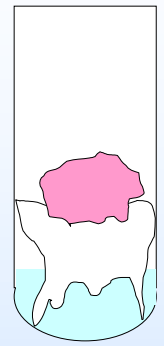


- Etablierte Weinkalli der Sorte „Regent“ in Kulturgläsern auf Filterbrücken kultiviert.
- Als Kulturmedium (K2) wird ein MS-Medium (Murashige und Skoog) mit 5 ppm Indolelessigsäure (IES) und 0,2 ppm BAP verwand.
- Bei den Induktionsversuchen werden die Weinkalli 14 Tage auf dem K2-Medium bei 16 Stunden Belichtung und 22 °C vorkultiviert, bevor die Induktion erfolgt.

Elicitorbehandlung von Weinkallus mit Hefekulturfiltrat

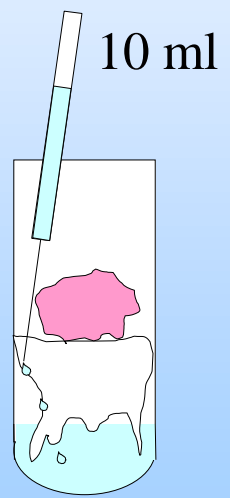
Weinkallus

14 Tage auf K2 (MS)
Medium mit verschiedenen
N-Modifikationen;
10 ml pro Kulturgefäß

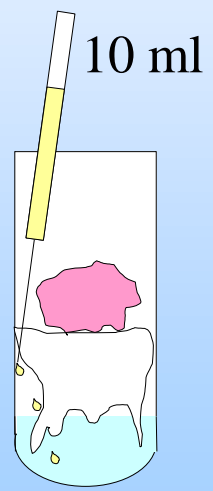


Hefesuspension

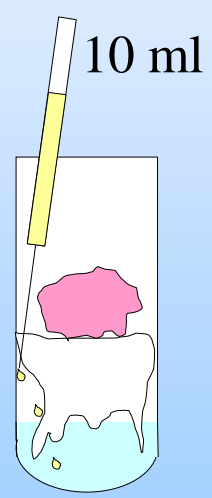
48 h in K2 Medium auf dem
Schüttler mit 100 U/min.;
autoklavieren, abzentrifugieren
Überstand verwenden (pH:5,7)



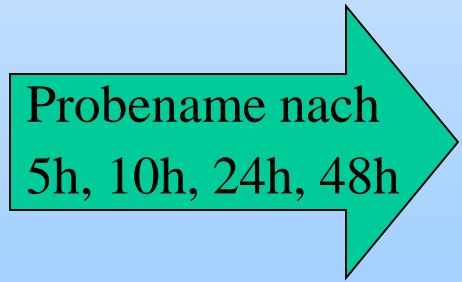
Kontrolle
K2



Hefekulturfiltrat
(50%) 2 fach
verdünnt in K2

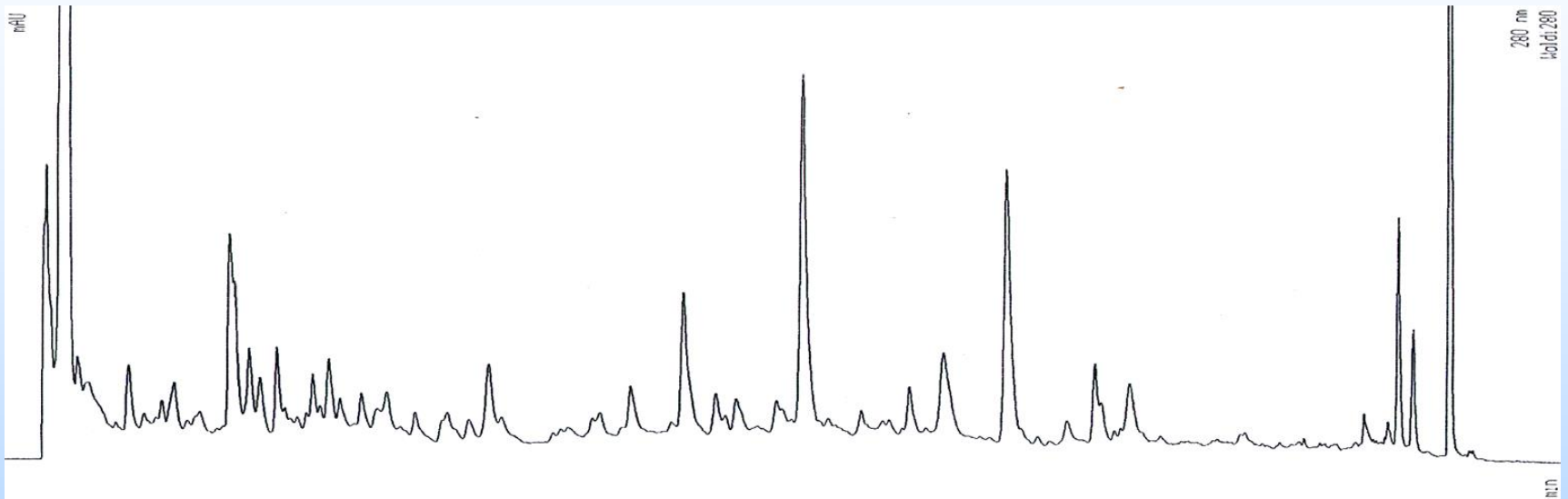


Hefekulturfiltrat
(5%) 20 fach
verdünnt in K2



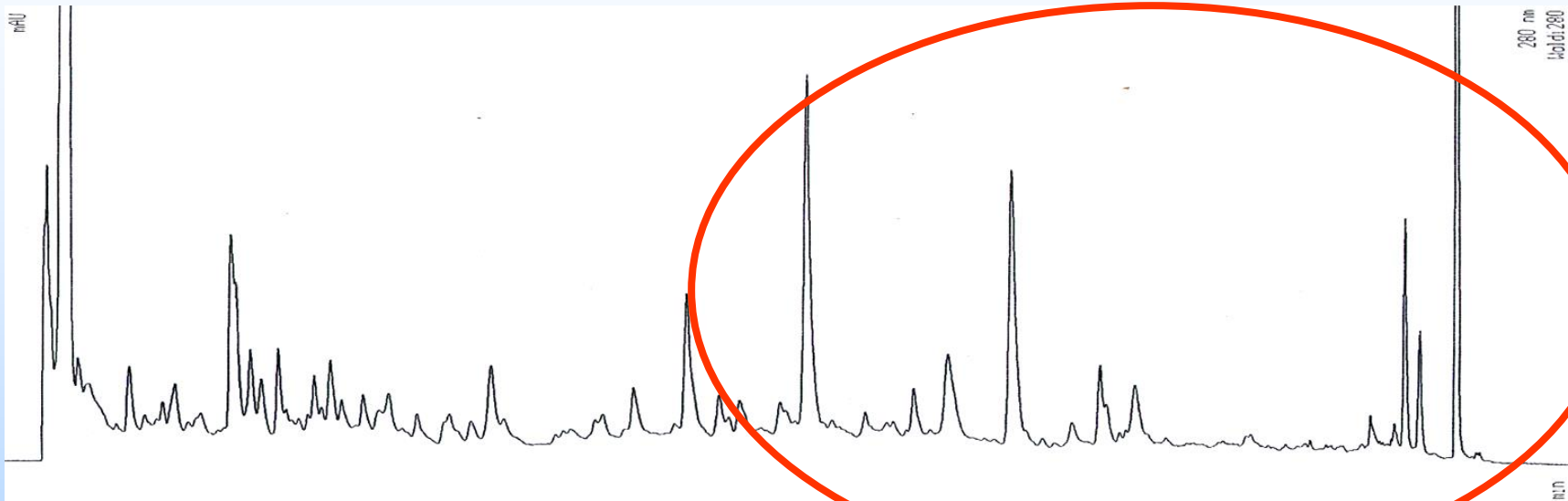
- Probenamen erfolgt durch Schockgefrieren der Kalli mit flüssigem Stickstoff.
- Es werden immer 5 Kalli zu einer Probe vereint.
- Proben werden einer Gefriertrocknung unterzogen
- Zellmaterial mörsern und methanolisch extrahieren.
- Extrakte werden charakterisiert mittels:
 - HPLC (Hochdruckflüssigkeitschromatographie)
 - UV-Spektroskopie
 - Dünnschichtchromatographie

Chromatogramm von Weinkallus „Regent“



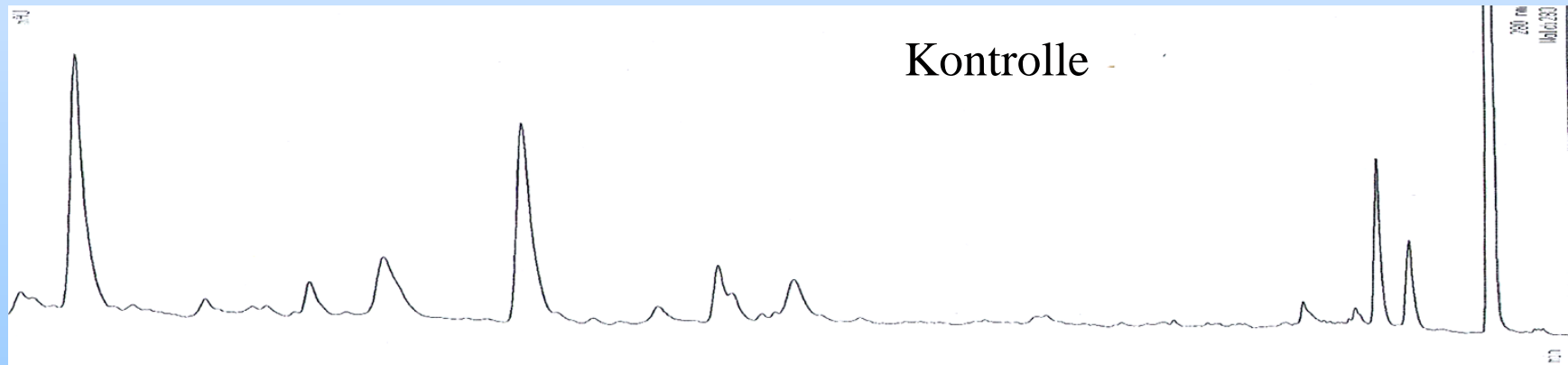
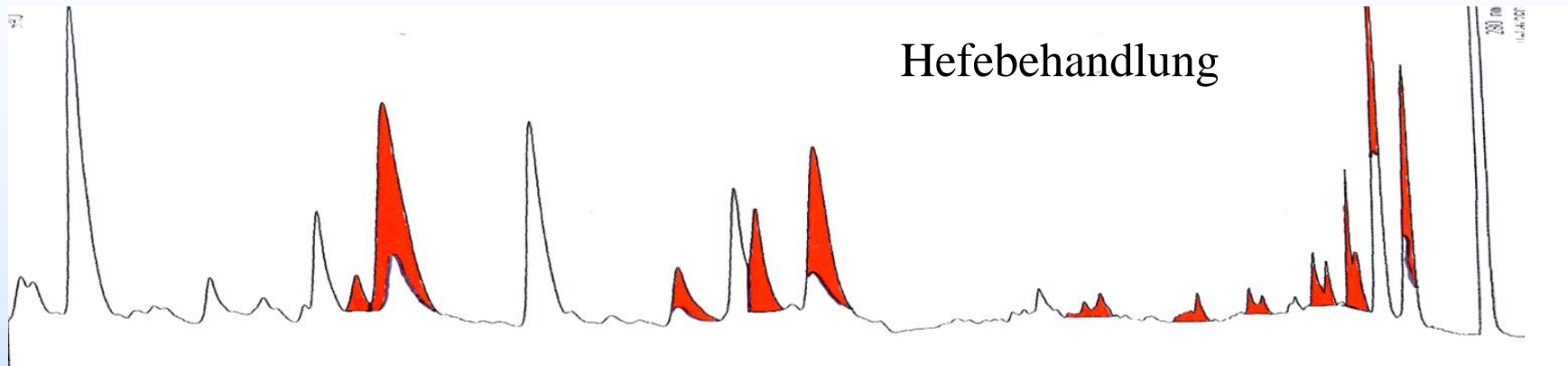
Retentionszeit 0-195 Minuten

Chromatogramm von Weinkallus „Regent“

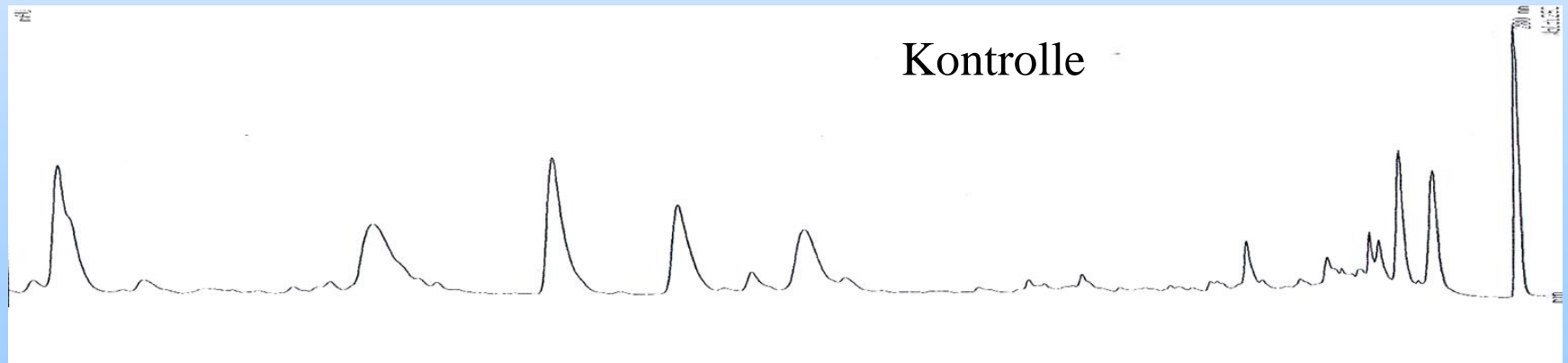
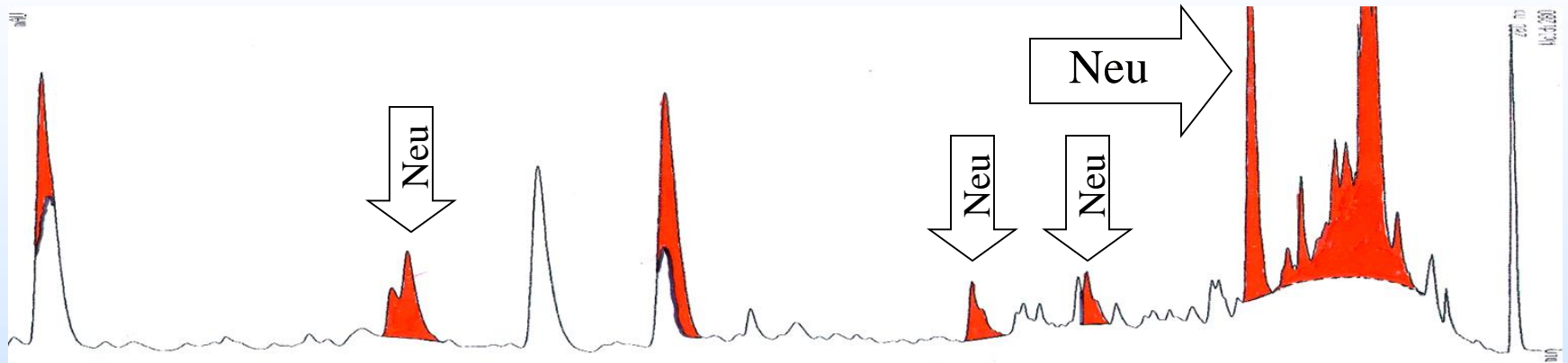


100-195 Minuten

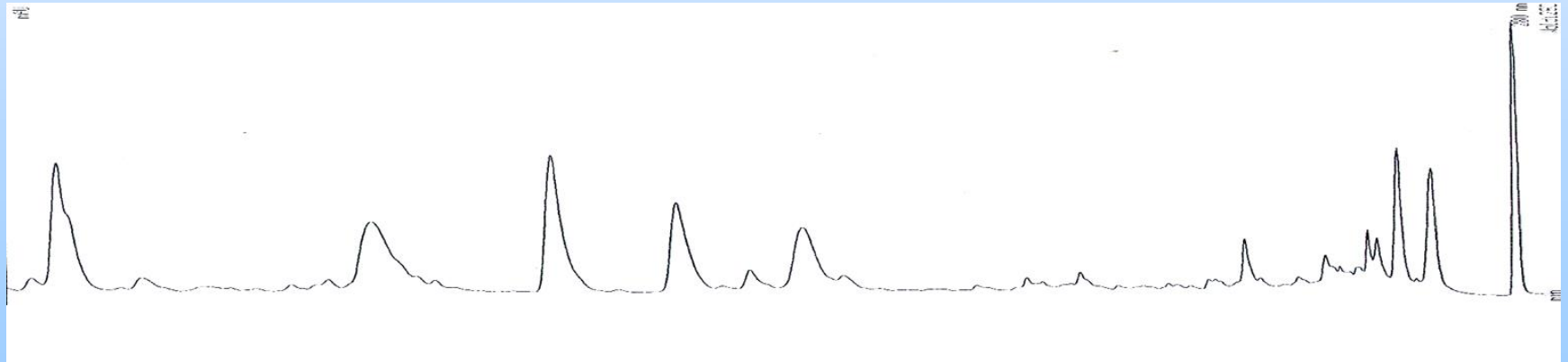
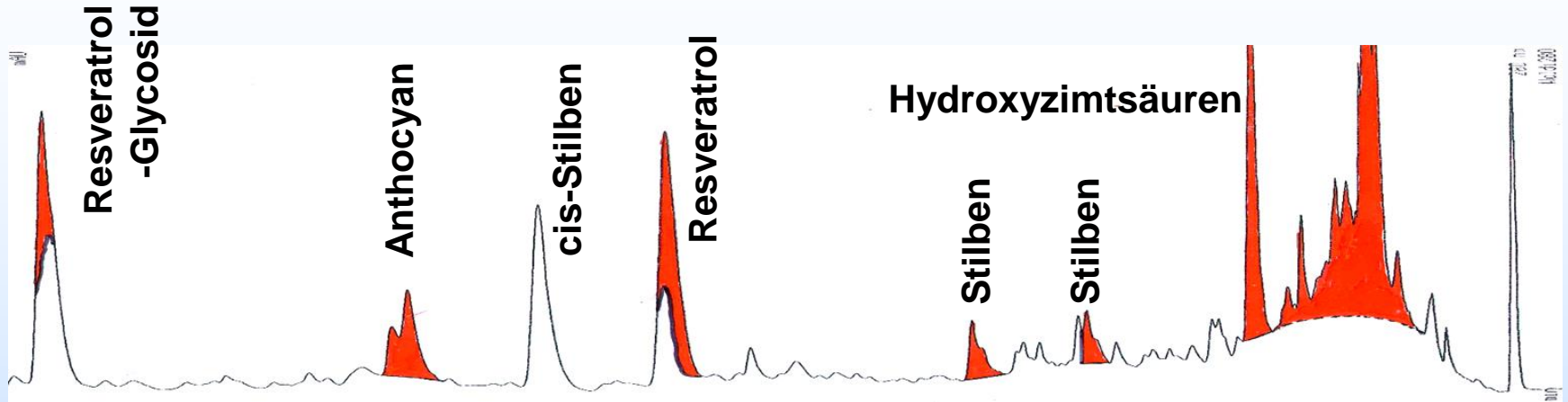
Ausschnitt eines Chromatogrammes von Weinkallus „Regent“ 5 h nach einer Hefebehandlung



Ausschnitt eines Chromatogrammes eines Weinkallus „Regent“ 48 h nach einer Hefebehandlung

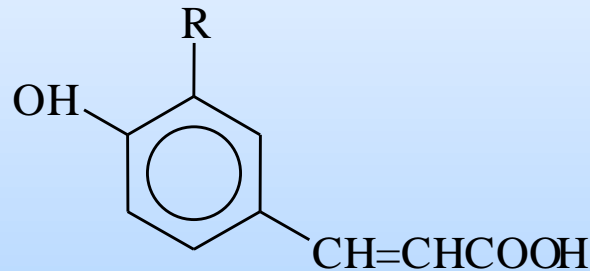


Ausschnitt eines Chromatogrammes von Weinkallus „Regent“ 48 h nach einer Hefebehandlung



Hydroxyzimtsäuren (oligomere)

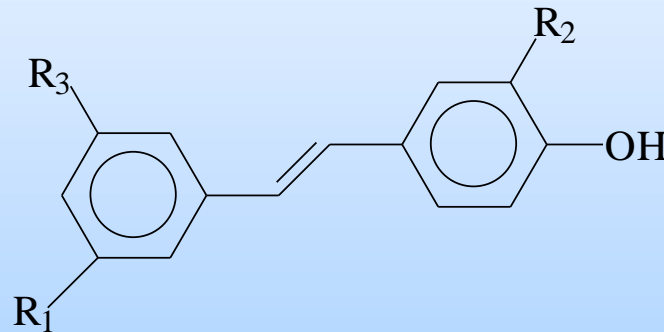
Hydroxyzimtsäuren sind Bausteine in der pflanzlichen Zellwand. Bei den neu synthetisierten Hydroxyzimtsäuren wird es sich um oligomere Verbindungen handeln, bei denen zwei oder mehr Hydroxyzimtsäurederivate miteinander verknüpft sind.



Die Verstärkung der Zellwand und die Einbettung von phenolischen Säuren gilt als eine wichtige Abwehrreaktion gegenüber einem Pathogenangriff.

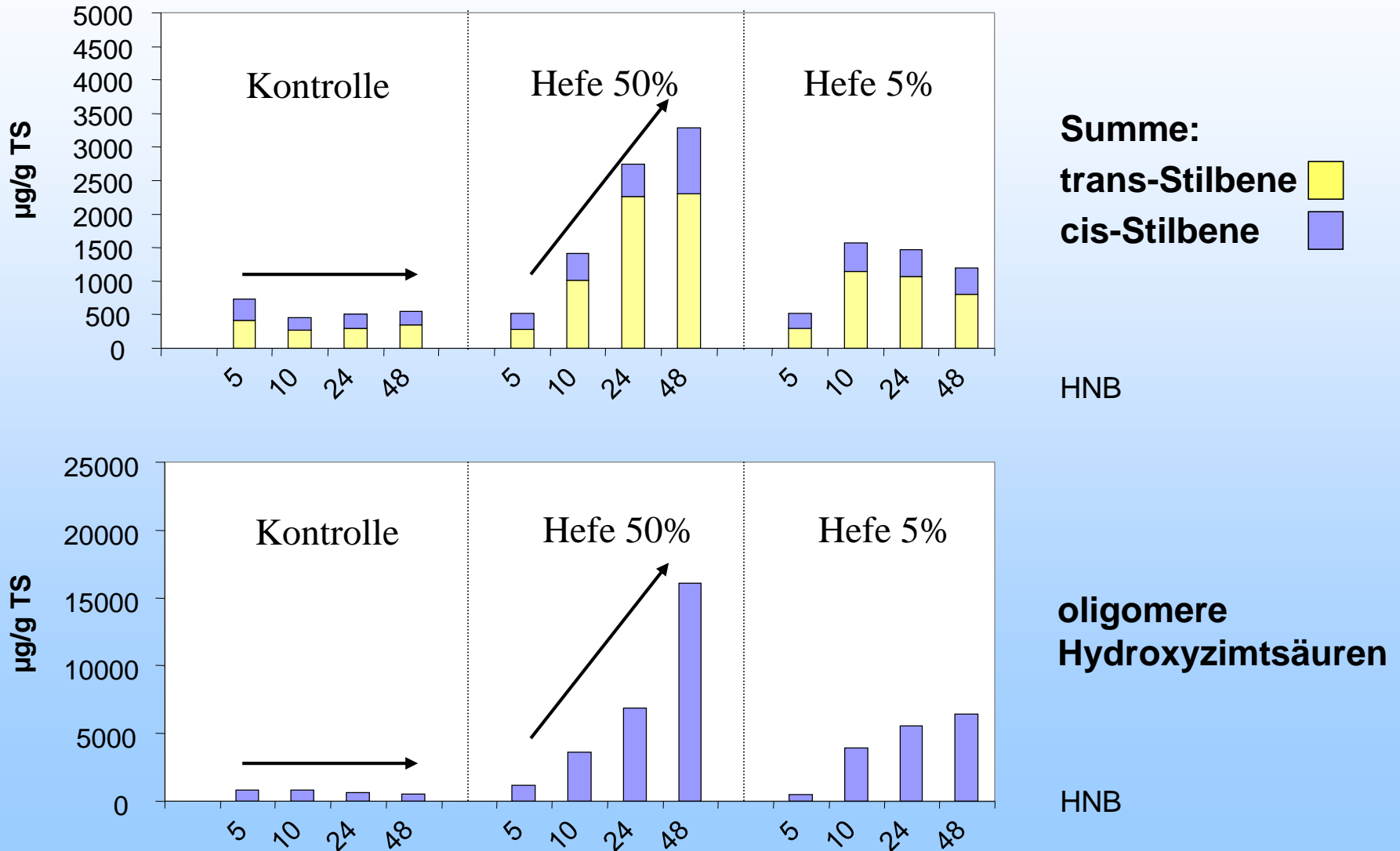
Stilbene

Stilbene sind niedermolekulare Verbindungen, und gehören zur Klasse der Phytoalexine. Sie können in cis- und trans-Konfigurationen auftreten. Der wichtigste Vertreter dieser Stoffgruppe ist das Resveratrol.

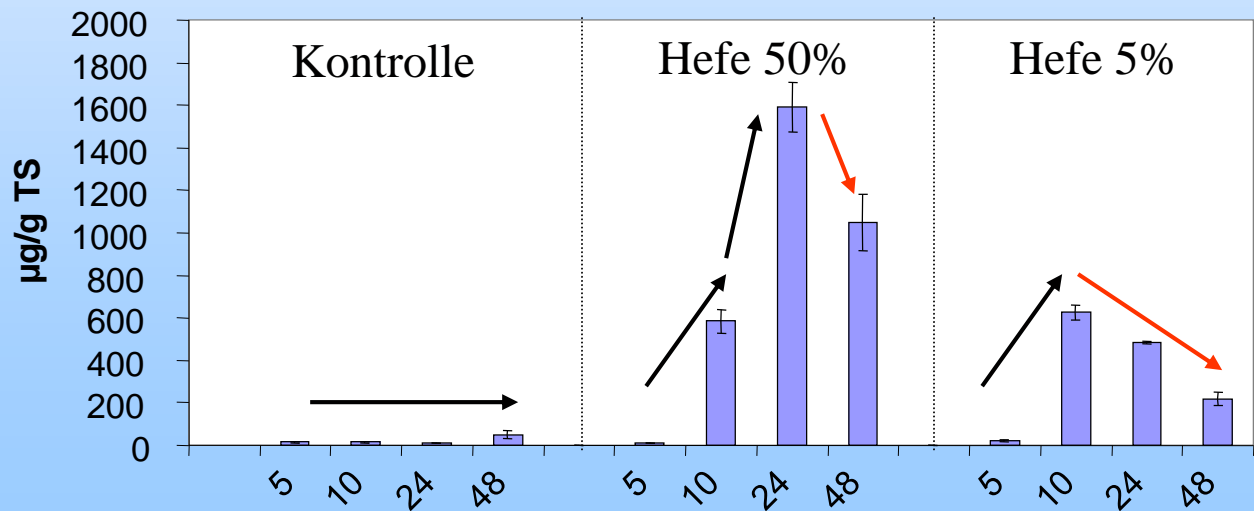
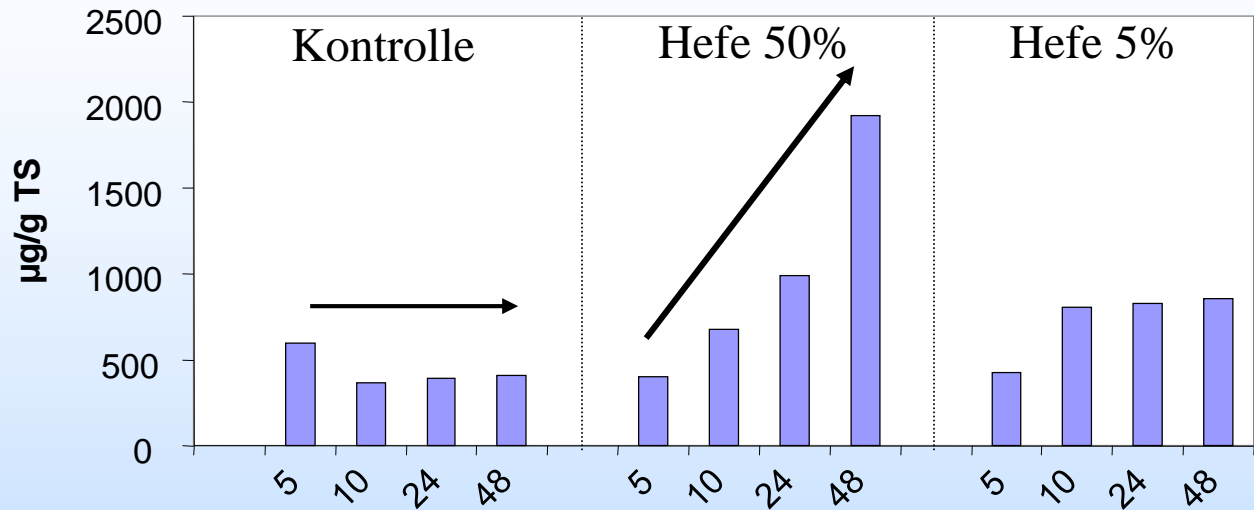


Resveratrol wird als Phytoalexin diskutiert und steht immer wieder mit einem verminderten Botrytisbefall bei Wein in Verbindung. Die Stilbene gelten als bioaktive Verbindungen, die Herzerkrankungen entgegenwirken und antikanzerogenen Eigenschaften besitzen sollen.

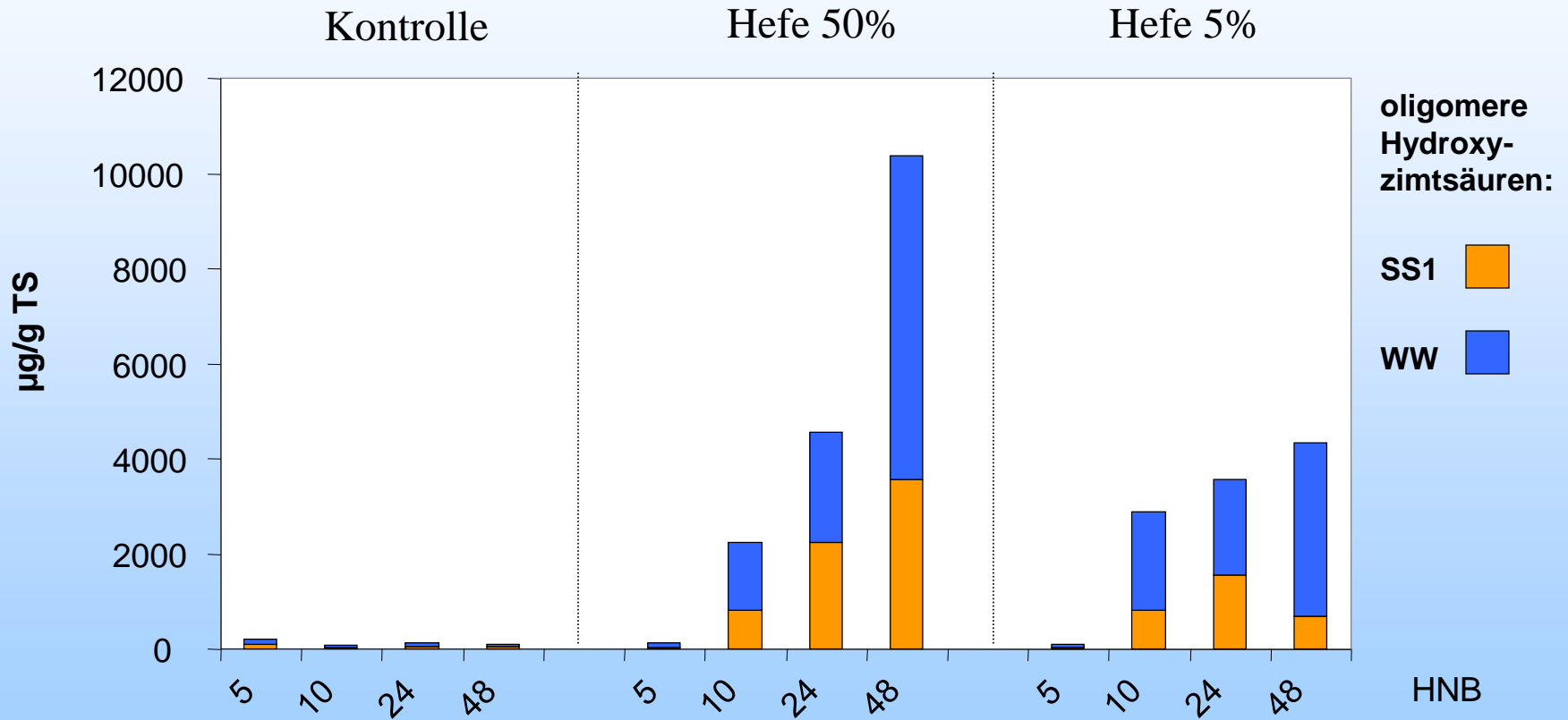
Weinkallus „Regent“ behandelt mit Hefesuspension nach verschiedenen Entnahmetermen



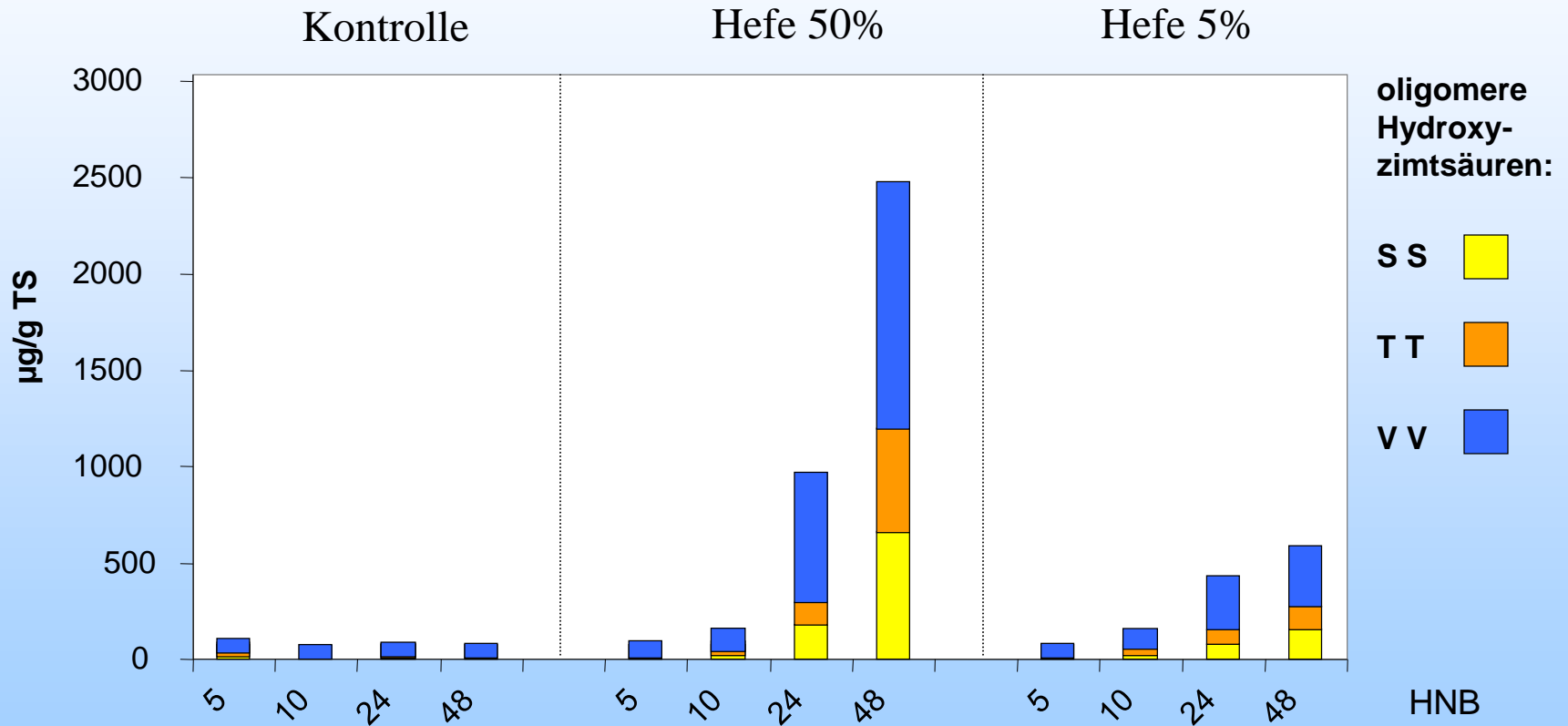
Stilbene im Weinkallus „Regent“ behandelt mit Hefesuspension nach verschiedenen Entnahmetermen



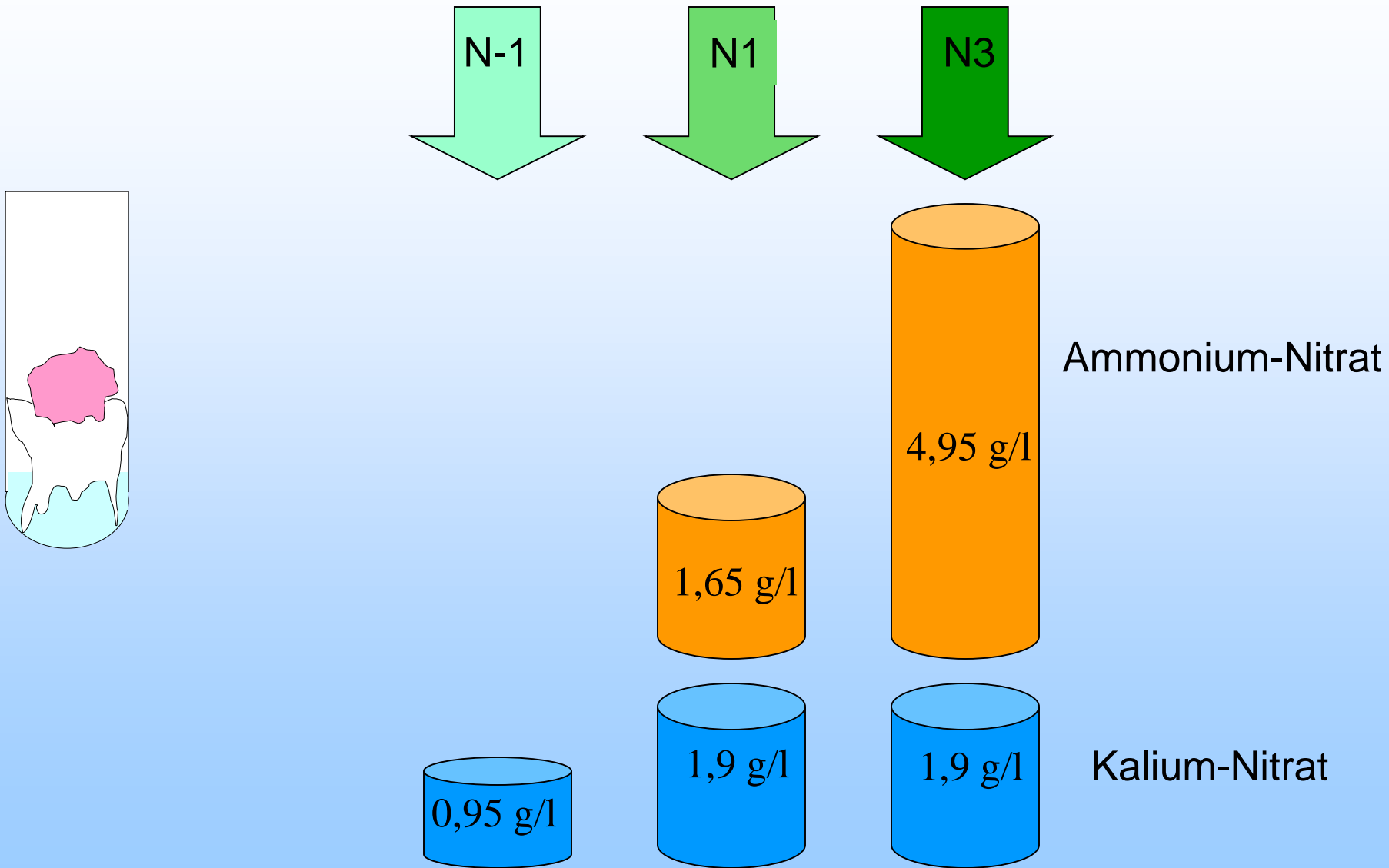
Hydroxyzimtsäuren im Weinkallus „Regent“ behandelt mit Hefesuspension nach verschiedenen Entnahmetermen



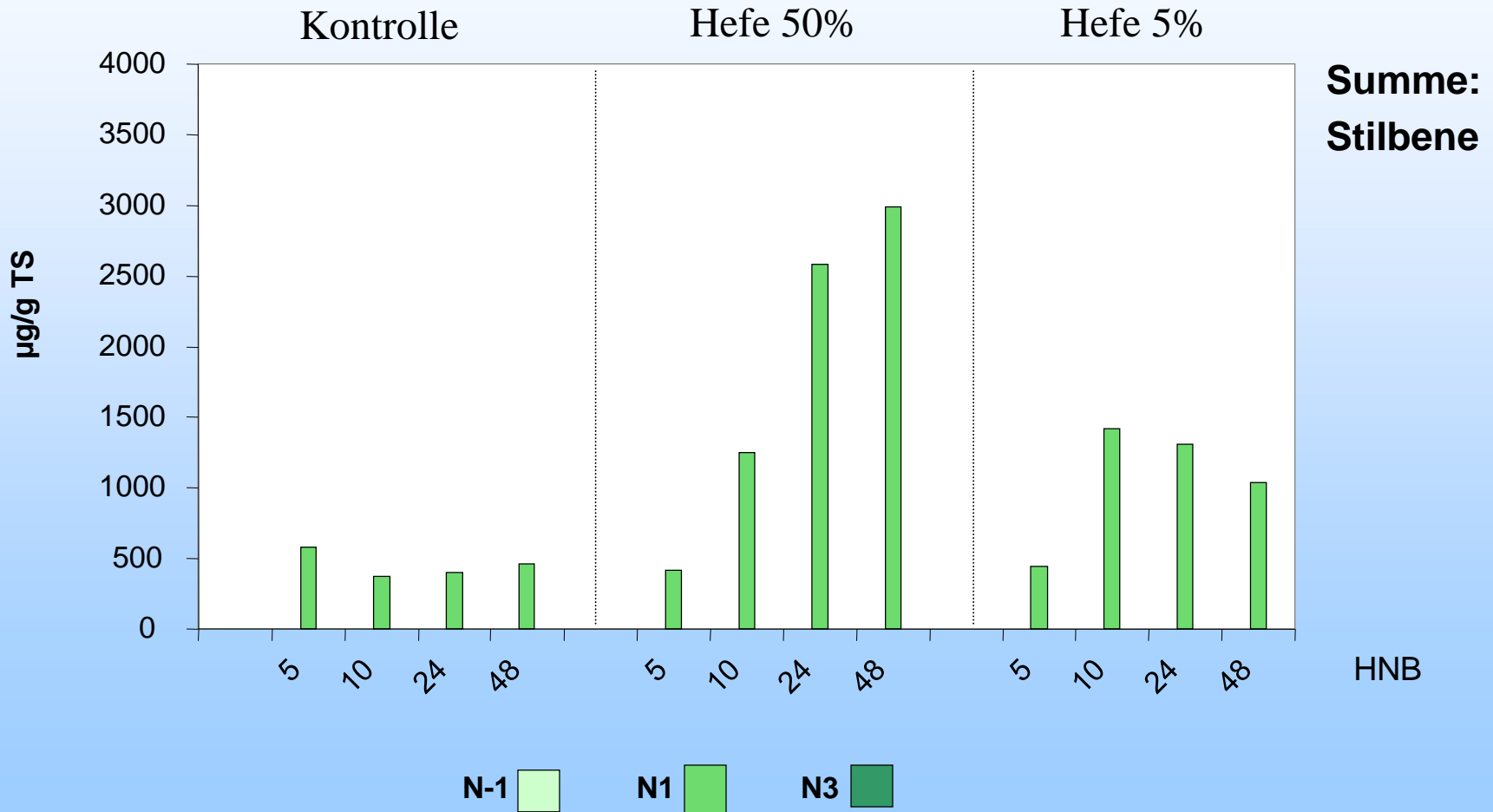
Hydroxyzimtsäuren im Weinkallus „Regent“ behandelt mit Hefesuspension nach verschiedenen Entnahmetermen



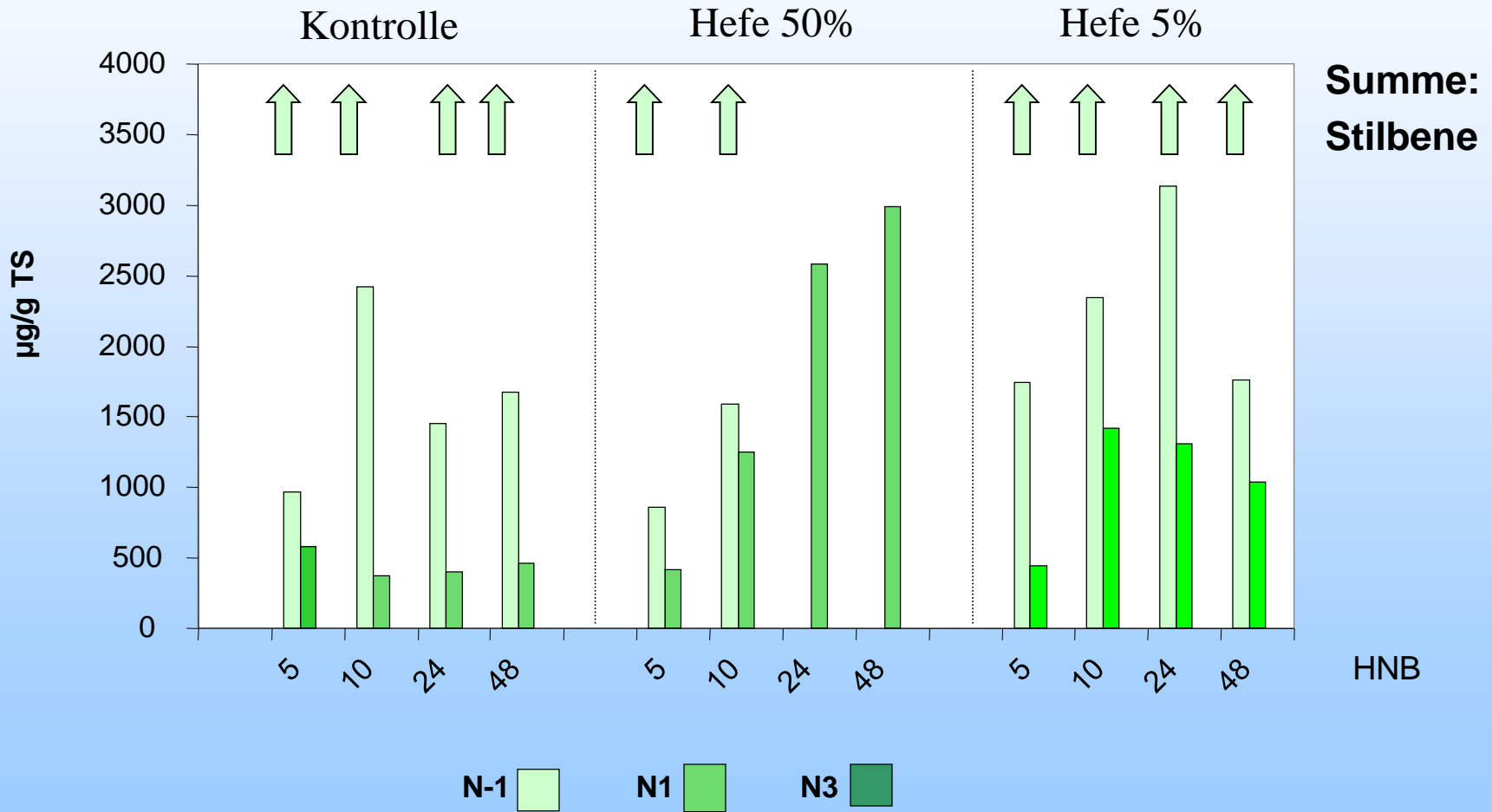
N-Modifikationen im Weinkallus-Medium



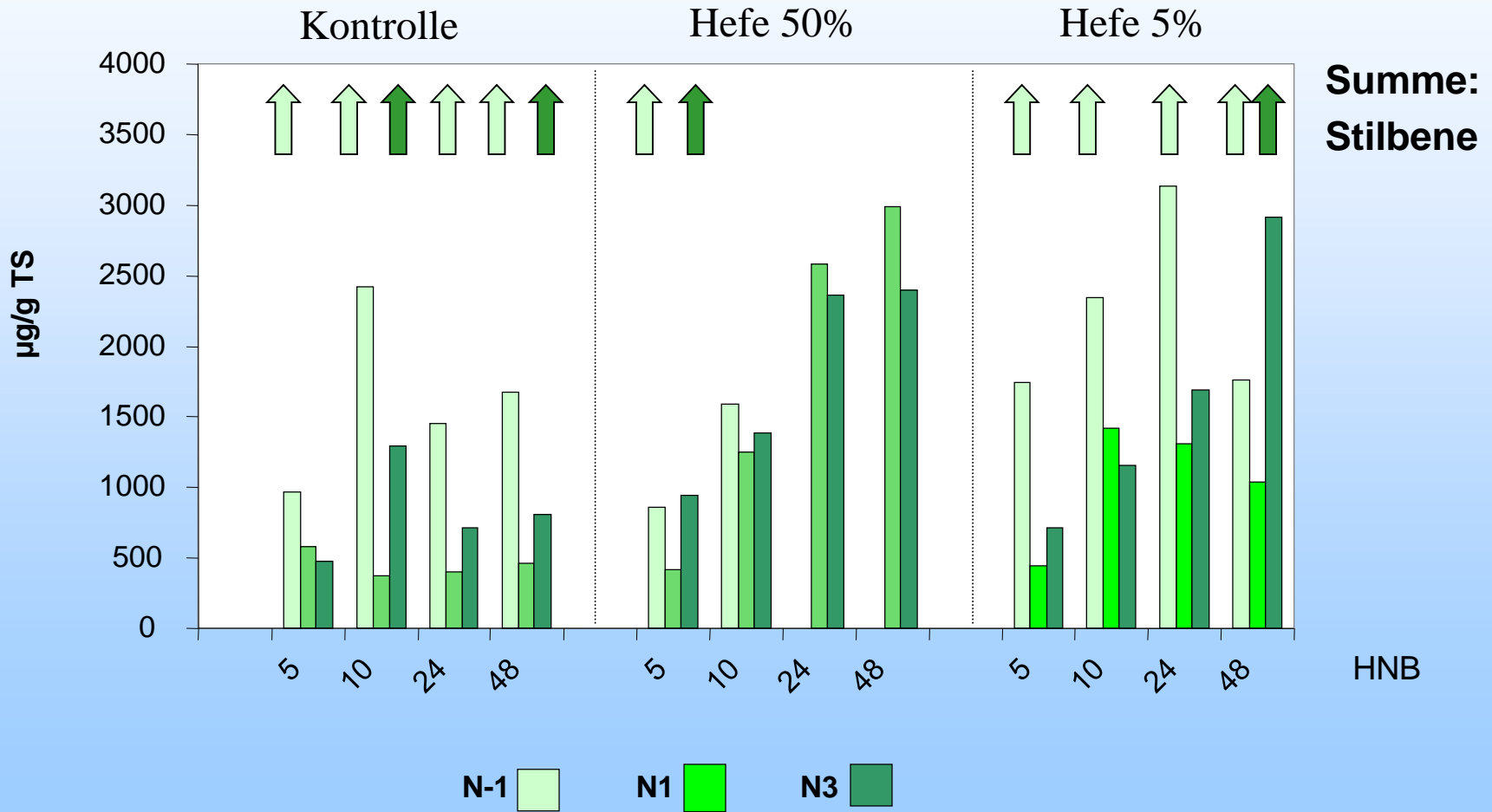
Stilbene im Weinkallus „Regent“ behandelt mit Hefesuspension auf verschiedenen N-Stufen



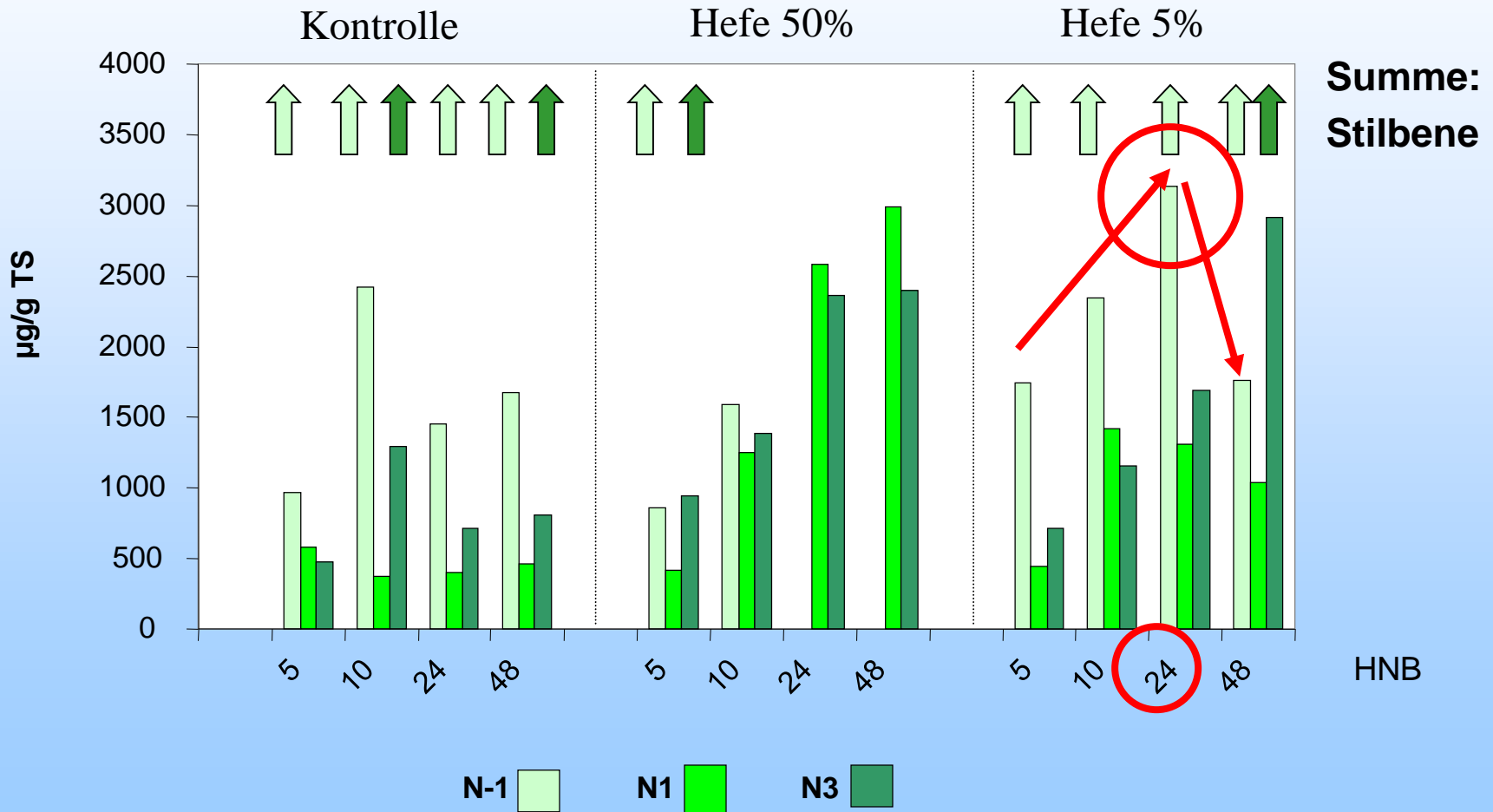
Stilbene im Weinkallus „Regent“ behandelt mit Hefesuspension auf verschiedenen N-Stufen



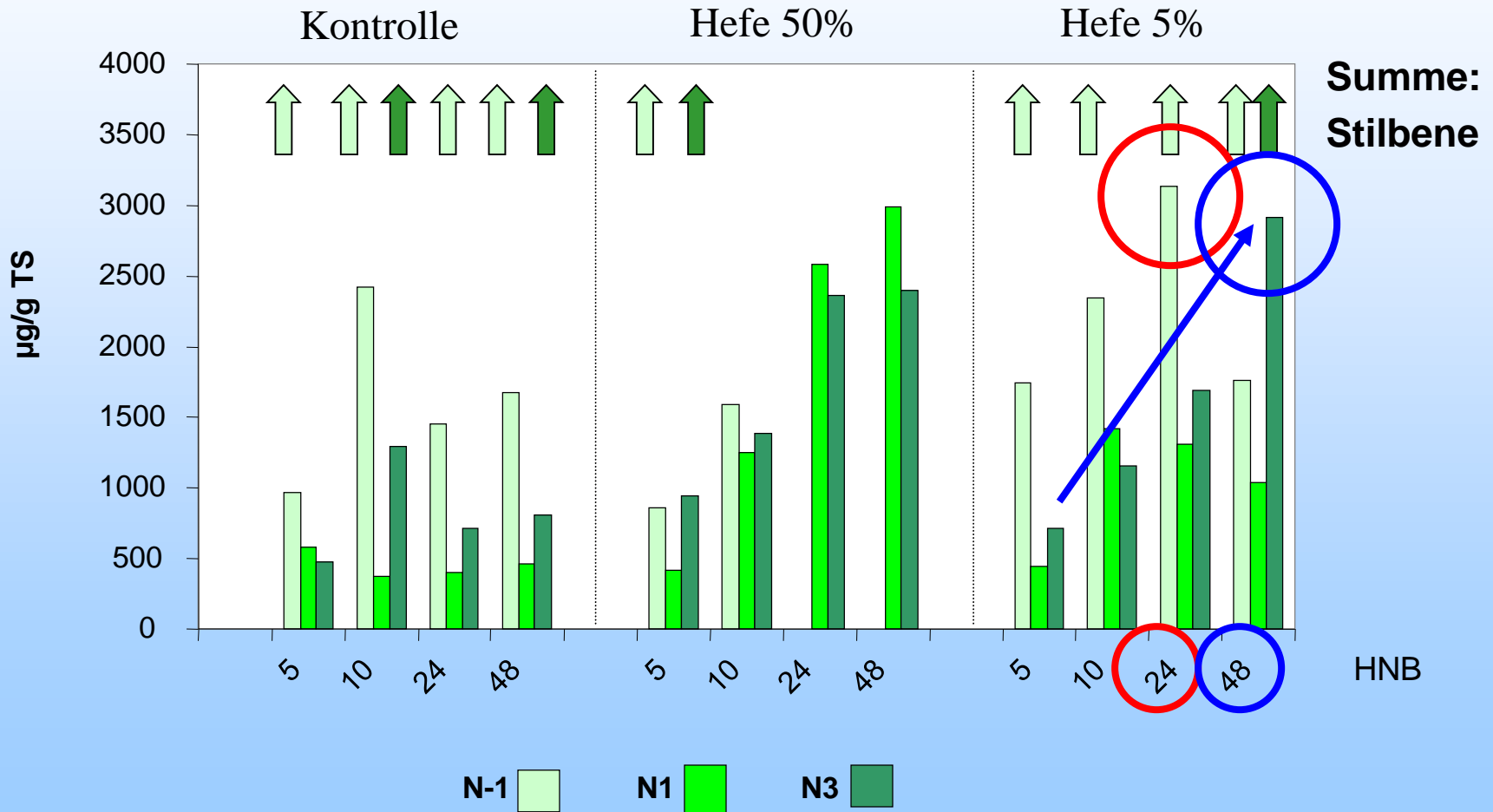
Stilbene im Weinkallus „Regent“ behandelt mit Hefesuspension auf verschiedenen N-Stufen



Stilbene im Weinkallus „Regent“ behandelt mit Hefesuspension auf verschiedenen N-Stufen



Stilbene im Weinkallus „Regent“ behandelt mit Hefesuspension auf verschiedenen N-Stufen



HNB

Eine Behandlung von Weinkallus der Sorte „Regent“ mit einem Kulturfiltrat der Hefe *Trichosporon cutaneum* induziert

- eine Neusynthese bzw. Induktion von Stilbenen und oligomeren Hydroxyzimtsäuren.
- Verbindungen wie z.B. Resveratrol werden schon 5 Stunden nach einer Hefebehandlung induziert (Schnellreaktion), nehmen später gegebenenfalls wieder ab, weil sie weitersynthetisiert werden können.
- Die Akkumulationsrate nimmt bei den meisten Verbindungen bis 48 Stunden nach einer Hefebehandlung stark zu.

 hat Elicitorwirkung!!

- N-Fehlernährungen (N-Mangel und N-Überschuß) induzieren auch Stilbene und Hydroxycimtsäuren, allerdings in einem geringeren Ausmaß.
- N-Fehlernahrung und Induktor scheinen sich oftmals zu addieren, was aber nur bei einer verringerten Hefe-Konzentration zu erkennen ist. Bei der Verwendung einer höheren Hefekonzentration überlagert der Hefeeinfluß den N-Einfluß.
- N-Mangel scheint die Akkumulationsgeschwindigkeit von einigen Verbindungen positiv zu beeinflussen, was auch wiederum nur bei verminderter Hefekonzentration sichtbar wird.

Forschungsbedarf

- Welche Verbindungen der Hefesuspension (Proteine, Glucane,) fungieren als Elicitor?
- Wie wirken sich die neu synthetisierten Stilbene und Hydroxyzimtsäuren auf das Resistenzpotential von Wein aus?
- Ferner sollten Induktionversuche an in vitro Pflanzen und Pflanzen im Freiland durchgeführt werden. Dazu muß man zuerst eine Formulierung ermitteln, die die wirksamen Verbindungen in die Pflanzenzelle transportieren kann.
- Die neu synthetisierten Verbindungen sollten noch genauer charakterisiert und bestimmt werden.