

der RA-Pflanzen durch ABA normalisiert werden können (z.B. durch Umbau von Zellwandkomponenten).

Die Prozesse, die zu den morphologischen Änderungen der Schließzellen in den RA-Pflanzen führen, können auf Transkriptionsebene in den voll entwickelten Pflanzen bzw. ausdifferenzierten Schließzellen nicht erfaßt werden. Weitere Untersuchungen an sich entwickelnden Blättern, entsprechende Techniken zur Isolation sich entwickelnder Schließzellen vorausgesetzt, könnten Aufschluß bringen.

6. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Wirkungsweise des anti-ABA scFv-Antikörpers und dessen Effekte auf Abscisinsäurewirkungen in immunmodulierten Tabakpflanzen zu studieren. Daraus sollten Rückschlüsse auf Abscisinsäure-vermittelte Regulationsprozesse gezogen werden. Folgende wesentliche Ergebnisse wurden erzielt:

1. Der spezifische welkende Phänotyp der anti-ABA immunmodulierten Pflanzen konnte durch eine Langzeitbehandlung mit 50 μ M ABA über den Zeitraum der gesamten Pflanzenentwicklung hinweg komplementiert werden. Das physiologische Verhalten der RA-Pflanzen ist durch hohe Transpirationsraten und den Verlust der Abhängigkeit der stomatären Leitfähigkeit von der Kohlendioxidkonzentration und der Lichtintensität charakterisiert. Der Stomataschluß ist behindert und kann auch durch eine kurzfristige Gabe von ABA über die Blattstiele nicht mehr induziert werden. Durch die ABA-Langzeitbehandlung gelang es, das physiologische Verhalten der RA-Pflanzen vollständig dem Wildtyp anzugleichen. Auch die Kurzzeitinduzierbarkeit des Stomataschlusses durch ABA ist wieder hergestellt. Selbst in langzeitbehandelten RA-Pflanzen kann theoretisch die gesamte Abscisinsäure vom Antikörper gebunden werden, trotzdem sind die Pflanzen normalisiert. Daher muß die regelmäßig zugeführte ABA auf dem Weg von der Blattoberfläche über den Apoplasten zum ER, dem Anreicherungsort des Antikörpers, wirken. Die Inaktivierung der Abscisinsäure während der Pflanzenentwicklung löst Änderungen im Gentranskriptionsprogramm aus, die in der Behinderung des Spaltöffnungsschlusses resultieren.

2. In rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen wurde festgestellt, daß bei den RA-Pflanzen die Morphologie der Schließzellen verändert und daher der Stomata-schluß aus strukturellen Gründen verhindert ist. Durch Behandlung mit ABA über den Zeitraum der Blatentwicklung hinweg kann die Schließzellmorphologie normalisiert werden. Aus diesen Ergebnissen konnte geschlußfolgert werden, daß ABA für die Entwicklung funktionsfähiger Schließzellen notwendig ist.

3. Die Transkription wurde in adulten RA- und Wildtyppflanzen mit modernen Methoden des cDNA-"Arrayings" untersucht. Zu diesem Zweck wurden eine genomische Bank sowie eine schließzellspezifische cDNA-Bank aus Wildtyptabak hergestellt, mit Hilfe von Robotern geordnet auf Nylonmembranen aufgebracht und charakterisiert. 54.000 genomische und 27.000 cDNA-Klone wurden in vergleichenden Hybridisierungsstudien mit komplexen cDNA-Sonden aus Blatt und Schließzellen (epidermalen Fragmenten) nach differentiellen Transkripten durchsucht. Mit diesen Methoden können häufige und mittelhäufige Transkripte ($\geq 0,1$ % der mRNA-Population) erfaßt werden. Trotz der drastischen morphologischen und physiologischen Eigenschaften der RA-Pflanzen konnten keine signifikanten Unterschiede in der Transkription von RA- und Wildtyppflanzen gefunden werden. Die strukturellen Veränderungen der Schließzellen manifestieren sich vermutlich während der Schließzeldifferenzierung und -entwicklung und können somit in voll entwickelten Pflanzen nicht erfaßt werden.

4. Zusätzlich ermöglichten die Hybridisierungsstudien einen Vergleich der Transkription in Blatt und Schließzellen sowie die Untersuchung des Einflusses der Langzeitbehandlung mit Abscisinsäure auf die Genexpression in Schließzellen. In Schließzellen werden Transkripte, codierend für Proteine, die an der Signaltransduktion sowie an Abwehr- und Streßreaktionen beteiligt sind, stärker exprimiert als im Blatt. Dagegen sind im Blatt hauptsächlich Transkripte, codierend für photosynthetische Proteine, höher exprimiert als in Schließzellen. Schließzellen induzieren als Antwort auf die langfristige ABA-Gabe die Transkription zahlreicher Gene. Auf den genomischen Filtern konnte die fünffache Menge an hybridisierenden Klonen im Vergleich zu unbehandelten Schließzellen detektiert werden. Weitere 24 ABA-induzierbare bzw. durch ABA-gehemmte Klone wurden mit Hilfe der cDNA-Bank detektiert und identifiziert.