
1	EINLEITUNG	1
1.1	DAS HORMONKONZEPT	1
1.2	ABSCISINSÄURE	2
1.2.1	Biosynthese	2
1.2.2	Physiologische Wirkungen und deren Regulation	3
1.3	TRANSPORT VON PHYTOHORMONEN	7
1.4	ZIELSETZUNG DER ARBEIT	10
2.	MATERIAL UND METHODEN	12
2.1	PFLANZENMATERIAL UND KULTIVATIONSMETHODEN	12
2.1.1	Bestimmung von Wurzellänge und –oberfläche	13
2.1.2	Bestimmung des Zellvolumens	13
2.2	MIKROSKOPISCHE TECHNIKEN	14
2.2.1	Lichtmikroskopie	14
2.2.2	Histochemie	14
2.2.2.1	Sudan-III Färbung	14
2.2.2.2	Berberin-Toluidin-Blau Färbung	15
2.2.2.3	Berberin-Thiocyanat als apoplastischer Tracer	15
2.3	ANALYTISCHE METHODEN	16
2.3.1	Elementaranalysen	16
2.3.1.1	Stickstoff- und Kohlenstoffgesamtgehalte	16
2.3.1.2	ICP-Spektroskopie	16
2.3.1.3	Anionenanalysen	17
2.3.2	Osmotisches Potential	17
2.3.3	Gewinnung und Analyse von Zellwandisolaten	18
2.3.3.1	Zellwandisolierung	18
2.3.3.2	Umesterung	18
2.3.3.3	GC/MS	19
2.3.4	Abscisinsäuregehalte und –konzentrationen	20
2.3.4.1	ELISA	20
2.3.4.2	Dünnschichtchromatographie	21

2.3.4.3	Messung der Radioaktivität	21
2.4	ABA METABOLISIERUNG	21
2.5	BESTIMMUNG DER VERTEILUNGSKOEFFIZIENTEN VERSCHIEDENER SUBSTANZEN ZWISCHEN OKTANOL UND EINER WÄSSRIGEN PHASE	22
2.6	APPARATUREN ZUR MESSUNG VON WASSER- UND STOFFFLÜSSEN	23
2.6.1	Theorie	23
2.6.1.1	Die praktischen Gleichungen	23
2.6.1.2	Zusammengesetzte Barrieren	25
2.6.1.3	Zusammengesetzte Barrieren in biologischen Systemen	26
2.6.2	Erzeugung von Wasserflüssen mittels Unterdruck	28
2.6.3	Lösungen der Flussgleichungen	30
2.6.3.1	Hydrostatische Relaxation	32
2.6.4	Die Druckmesssonden	32
2.6.4.1	Die Zelldruckmesssonde	33
2.6.4.2	Die Wurzeldrucksonde	35
2.6.4.3	Auswertung und Berechnung	36
2.7	EXPERIMENTE ZUM HORMON- UND STOFFTRANSPORT	37
2.7.1	Aufnahmeexperimente mit radioaktiver ABA und radioaktivem Sorbit	37
2.7.2	Aufnahme von ABA in Wurzelsysteme intakter Maispflanzen	38
2.7.3	Untersuchung von Xylemsäften	38
2.7.4	Effluxkompartimentanalysen	39
2.7.4.1	Efflux radioaktiver Verbindungen	39
2.7.4.2	Austrocknungsexperimente	41
2.7.5	Transportstudien	41
2.7.6	Wasserleitfähigkeitsmessungen	43
2.7.6.1	Bestimmung der Wasserleitfähigkeit eines Wurzelsystems (L_{pr})	43
2.7.6.2	Bestimmung der Wasserleitfähigkeit von Maisprimärwurzeln (L_{pr})	43
2.7.6.3	Bestimmung der Wasserleitfähigkeit von Maisrindenzellen (L_p)	44
2.7.6.4	Spezifität der ABA-Wirkung auf L_{pr} und L_p	45
2.7.6.5	Flussexperimente mit transgenem Tabak	46
2.8	UNTERSUCHUNGEN ZUM AQUAPORIN-MRNA GEHALT MITTELS QUANTITATIVER	

RT-PCR	46
2.8.1 Pflanzenmaterial	46
2.8.2 Verwendete Chemikalien für die Gelelektrophorese	47
2.8.3 Isolation der Gesamt-RNA aus Mais-Wurzelgewebe	47
2.8.4 Quantifizierung der Gesamt-RNA	48
2.8.4.1 Fotometrische Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren	48
2.8.4.2 Konzentrations- und Reinheitsbestimmung im Agarosegel	48
2.8.5 Analyse der Aquaporin-mRNA mittels quantitativer RT-PCR	49
2.8.5.1 Reverse Transkription (RT)	49
2.8.5.1.1 Protokoll der Reversen Transkription (RT):	50
2.8.5.2 Polymerase Kettenreaktion (PCR)	51
2.8.5.2.1 Protokoll der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR):	54
2.8.6 Klonierung und Sequenzierung der PCR-Produkte der Primer <i>PIP_{all_f2}</i> , <i>PIP_{all_f3}</i> und <i>PIP_{all_r}</i>	55
2.9 DATENAUSWERTUNG	56
3 ERGEBNISSE	57
3.1 CHARAKTERISIERUNG DES PFLANZENMATERIALS	57
3.1.1 Pflanzenmorphologie	57
3.1.1.1 <i>Zea mays</i> L.	57
3.1.1.2 <i>Helianthus annuus</i> L.	59
3.1.1.3 <i>Nicotiana tabacum</i> L.	60
3.1.2 Wurzelanatomie	62
3.1.2.1 <i>Zea mays</i> L. - Hydrokultur	62
3.1.2.2 <i>Zea mays</i> L. - Luftkultur	64
3.1.2.2.1 Vermessung der Cortezzellen	66
3.1.2.3 <i>Helianthus annuus</i> L. - Hydrokultur	66
3.1.3 Chemische Charakterisierung	68
3.1.3.1 Elementaranalysen von Wurzeln und Blättern von <i>Zea mays</i> L.	68
3.1.3.2 Suberinbestimmung in Hypo- und Endodermis isolaten aus <i>Zea mays</i> L. und <i>Helianthus annuus</i> L.	69

	<i>Zea mays</i> L. _____	71
3.2	TRANSPORTSTUDIEN _____	73
3.2.1	Transport von Abscisinsäure _____	73
3.2.1.1	ABA-Produktion in Wurzeln von <i>Zea mays</i> L. unter Trockenstress	73
3.2.1.2	ABA-Aufnahme und -Efflux des Wurzelgewebes von <i>Zea mays</i> L.	75
3.2.1.2.1	Aufnahme in die Wurzeln intakter Pflanzen _____	75
3.2.1.2.2	Transport in das Xylem dekapitierter Pflanzen _____	75
3.2.1.2.3	Aufnahme in Wurzelspitzen _____	77
3.2.1.2.4	Efflux aus Wurzelstücken _____	78
3.2.1.3	ABA-Transport in die Xylemgefäße _____	81
3.2.1.3.1	Einfluss der ABA-Konzentration im Wurzelmedium _____	82
3.2.1.3.2	Einfluss des pH-Wertes _____	88
3.2.1.3.3	Einfluss des endogenen ABA-Gehaltes der Wurzel _____	90
3.2.2	Transport von hydrophilen Substanzen _____	91
3.2.2.1	α -Methylglucopyranose _____	91
3.2.2.2	Sorbit _____	92
3.2.2.2.1	Aufnahme in Wurzelspitzen _____	92
3.2.2.2.2	Efflux aus Wurzelstücken _____	93
3.2.2.3	Berberin-Hemisulfat _____	97
3.3	ABA-METABOLISIERUNG IN WURZELGEWEBE VON <i>ZEAMAYS</i> L. UND <i>HELIANTHUS ANNUUS</i> L. _____	98
3.4	BESTIMMUNG DES VERTEILUNGSKOEFFIZIENTEN VON ABA, α -METHYLGLUCO- PYRANOSE UND SORBIT ZWISCHEN OKTANOL UND EINER WÄSSRIGEN PHASE_	99
3.5	ABSCISINSÄURE UND DIE WASSERLEITFÄHIGKEIT VON MAISWURZELN _____	100
3.5.1	Zeitlicher Verlauf der ABA-Wirkung auf den Wasserfluss und dessen Spezifität _____	100
3.5.2	Bestimmung der hydraulischen Leitfähigkeit eines Wurzelsystems (L_{pr}) bei niedrigen Unterdrücken _____	102
3.5.3	Bestimmung der hydraulischen Leitfähigkeit einer Primärwurzel (L_p) _____	104
3.5.4	Bestimmung der hydraulischen Leitfähigkeit in Cortezellen (L_p) _	107
3.5.4.1	Zeitlicher Verlauf _____	107

3.5.4.2	Konzentrationsabhängigkeit _____	109
3.5.4.3	pH-Abhängigkeit _____	110
3.5.4.4	Spezifität _____	111
3.5.5	Wirkung von ABA auf das osmotische Potenzial _____	112
3.5.5.1	Gewebe von Wurzelsegmenten _____	112
3.5.5.2	Xylemsaft dekapitierter Pflanzen _____	113
3.5.5.2.1	Osmotische Exsudation dekapitierter Maispflanzen _____	113
3.5.5.2.2	Exsudation dekapitierter Maispflanzen unter hydrostatischen Druckgradienten _____	114
3.5.5.3	Wurzeldruck und Zellturgor _____	115
3.5.6	Wasserabgabe aus isolierten Wurzeln _____	116
3.6	ABSCISINSÄURE UND AQUAPORINE _____	118
3.6.1	Lokalisation von Aquaporinen in Maiswurzeln _____	118
3.6.2	Einfluss von ABA auf die Transkription von Aquaporin-mRNA ____	120
3.6.3	Sequenzierung der <i>PIP_{air}</i> und <i>PIP_{all}(B)</i> -Transkripte _____	123
3.6.4	Einfluss von ABA auf den Wasserfluss durch Wurzeln von <i>AQP.1-antisense</i> -Konstrukten aus <i>Nicotiana tabacum</i> L. _____	125
4	DISKUSSION _____	127
4.1	ABA-LANGSTRECKENTRANSPORT VON DER PFLANZENWURZEL IN DEN -SPROSS _____	127
4.1.1	ABA, ein Signal aus der Wurzel _____	127
4.1.2	Experimenteller Ansatz _____	128
4.1.3	Der ABA-Transportweg: symplastisch versus apoplastisch _____	130
4.1.4	Der Verdünnungseffekt _____	135
4.1.5	Der Reflexionskoeffizient σ_{ABA} _____	136
4.1.6	Modellierung des ABA-Transportweges _____	138
4.1.7	Kapazität des apoplastischen Transportweges _____	139
4.1.8	Einfluss des pH-Wertes _____	140
4.2	EINFLUSS APOPLASTISCHER BARRIEREN AUF DEN ABA-LANGSTRECKEN-TRANSPORT _____	144
4.2.1	Apoplastische Barrieren _____	144

4.2.3	Qualitative und quantitative Untersuchung Caspary'scher Bänder	146
4.2.4	Barriereeigenschaften von Endo- und Exodermis	151
4.2.5	Gekoppelter ABA- und Wassertransport	153
4.2.6	Einfluss des pH-Wertes	155
4.2.7	Die Schutzfunktion der Exodermis	155
4.3	ABA-EFFEKTE AUF WURZELN	159
4.3.1	Effekt auf der Ebene eines Wurzelsystems	162
4.3.2	ABA-Effekt auf der Ebene einer Primärwurzel	162
4.3.3	ABA-Effekt auf Zellebene	164
4.3.4	Einfluss des pH-Wertes	164
4.3.5	Spezifität des ABA-Signals	165
4.3.6	Aquaporine: Schlüssel zur ABA-regulierten Wasserleitfähigkeit von Pflanzenwurzeln?	166
4.3.6.1	Induktion von Aquaporinen durch ABA	168
4.3.6.2	Lokalisation von Aquaporinen im Wurzelgewebe	168
4.3.6.3	Regulation der Aquaporinaktivität	169
5	ZUSAMMENFASSUNG	171
6	SUMMARY	174
7	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	177
8	LITERATURVERZEICHNIS	179