

Auswirkungen von externen Stressbedingungen auf die radialen
Wasser- und ABA-Flüsse und den endogenen ABA-Gehalt des
Wurzelgewebes von Maiskeimlingen (*Zea mays* L.)

**Dissertation zur Erlangung des
naturwissenschaftlichen Doktorgrades der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

vorgelegt von
Daniela Schraut
aus Werneck

Würzburg, 2004

Eingereicht am: 16.10.2004

Mitglieder der Prüfungskommission:

Vorsitzender:	Prof. Dr. U. Scheer
Gutachter:	Prof. Dr. W. Hartung
Gutachter:	Prof. Dr. C. Ullrich-Eberius

Tag des Promotionskolloquiums: 28.04.2005

Doktorurkunde ausgehändigt am:

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Wassertransport	1
1.2	Das Phytohormon Abscisinsäure	1
1.3	Mineralische Nährstoffe	1
1.4	Salz.....	1
1.5	Sauerstoffmangel im Boden.....	1
1.6	Zielsetzung der Arbeit	1
2	Material und Methoden	1
2.1	Pflanzenmaterial und Kultivierung	1
2.1.1	Anzucht und Nährlösung vollernährter Keimlinge.....	1
2.1.2	Modifizierung der Pflanzenanzucht unter Stressbedingungen	1
2.1.2.1	Zusammensetzung des Nährmediums bei Nährstoffmangel	1
2.1.2.2	Zusammensetzung des Nährmediums bei Salzstress.....	1
2.1.2.3	Kultivierung unter hypoxischen Bedingungen	1
2.2	Bestimmung der Wurzeloberfläche	1
2.3	Elementaranalysen	1
2.3.1	Stickstoffgesamtgehalt.....	1
2.3.2	ICP-Spektroskopie	1
2.4	Sauerstoffbestimmung nach Winkler.....	1
2.5	Messung von Wasserflüssen.....	1
2.6	Immunologische Methoden zur ABA-Bestimmung	1
2.6.1	ELISA	1
2.6.1.1	Prinzip.....	1
2.6.1.2	Durchführung.....	1
2.6.1.3	Probenaufbereitung.....	1
2.6.2	Visualisierung der ABA-Verteilung in Geweben mittels Immunolokalisierung	1
2.6.2.1	Material	1
2.6.2.2	Durchführung.....	1
2.6.2.3	Auswertung.....	1
2.7	Mikroskopische Bestimmung von Suberin.....	1
2.8	Auswertung der Ergebnisse	1
2.8.1	Berechnung von J_v und J_{ABA}	1

2.8.2	Graphische Auswertung.....	1
2.8.3	Statistische Auswertung.....	1
2.8.4	Bemerkung zu den Auswertungen.....	1
3	Ergebnisse	1
3.1	Pflanzenmorphologie	1
3.1.1	Hydrokultur.....	1
3.1.1.1	Vollmedium	1
3.1.1.2	Nährstoffmangel	1
3.1.1.3	Salzstress.....	1
3.1.1.4	Hypoxie.....	1
3.1.2	Luftkultur	1
3.2	Wasserfluss, ABA-Fluss und endogener ABA-Gehalt des Wurzelgewebes....	1
3.2.1	Annuelle Schwankungen des Wasserflusses	1
3.2.2	Annuelle Schwankungen des ABA-Flusses	1
3.2.3	Nährstoffversorgung durch die Karyopse.....	1
3.2.3.1	Elementarzusammensetzung der Karyopse	1
3.2.3.2	Auswirkungen der Karyopse auf den Wasserfluss	1
3.2.3.3	Auswirkungen der Karyopse auf den ABA-Fluss	1
3.2.3.4	Endogener und interner ABA-Gehalt des Maiswurzelgewebes	1
3.3	Auswirkungen von Stress auf den radialen Wasser- und ABA-Fluss und den endogenen ABA-Gehalt des Wurzelgewebes.....	1
3.3.1	Vollernährte Maiskeimlinge (Kontrollen)	1
3.3.1.1	Elementarzusammensetzung der Wurzel.....	1
3.3.1.2	Annuelle und durch die Karyopse bedingte Schwankungen	1
3.3.1.3	Wasserfluss in vollernährten Keimlingen.....	1
3.3.1.4	ABA-Fluss in vollernährten Keimlingen.....	1
3.3.2	Nährstoffdefiziente Keimlinge	1
3.3.2.1	Auswirkungen von Kaliummangel	1
3.3.2.2	Nitratmangel	1
3.3.2.3	Phosphatmangel.....	1
3.3.2.4	Sulfatmangel	1
3.3.2.5	Calcium-Mangel	1
3.3.2.6	Kultur in CaSO ₄	1

3.3.3	Zusammenfassung: Auswirkungen von Nährstoffmangel auf den Wasserfluss, den ABA-Fluss und den endogenen ABA-Gehalt des Wurzelgewebes	1
3.3.4	Auswirkungen von Salzstress	1
3.3.4.1	Wasserfluss	1
3.3.4.2	ABA-Fluss	1
3.3.4.3	Endogener ABA-Gehalt.....	1
3.3.5	Auswirkungen eines hypoxischen Nährmediums.....	1
3.3.5.1	Sauerstoffgehalt des Nährmediums	1
3.3.5.2	Auswirkungen auf J_v , J_{ABA} und den endogenen ABA-Gehalt im Wurzelgewebe	1
3.4	Zusammenhang zwischen dem endogenen bzw. internen ABA-Gehalt im Wurzelgewebe und dem radialen Wasserfluss	1
3.4.1	Vollernährte und nährstoffdefiziente Keimlinge	1
3.4.2	Salzstress.....	1
3.4.3	Hypoxie.....	1
3.5	Beziehung zwischen dem endogenen bzw. internen ABA-Gehalt des Wurzelgewebes und dem radialen ABA-Fluss	1
3.5.1	Vollernährte und nährstoffdefiziente Keimlinge	1
3.5.2	Salzstress.....	1
3.5.3	Hypoxie.....	1
3.6	Beziehung zwischen J_v und J_{ABA}	1
3.6.1	Nährstoffmangel	1
3.6.2	Salzstress.....	1
3.6.3	Hypoxie.....	1
3.7	Visualisierung des ABA-Transportes durch Immunolokalisierung.....	1
3.7.1	Spezifität der Methode.....	1
3.7.2	Hydrokultur in Vollmedium	1
3.7.2.1	Rolle der Karyopse	1
3.7.2.2	Intakte, transpirierende Keimlinge	1
3.7.2.3	Endogene ABA	1
3.7.3	Luftkultur	1
3.7.4	Auswirkungen von Nährstoffmangel auf die ABA-Verteilung im Wurzelgewebe.....	1
3.7.4.1	Nitratmangel	1
3.7.4.2	Kaliummangel.....	1

3.8	Bestimmung von Suberin.....	1
4	Diskussion.....	1
4.1	Das Stresshormon ABA.....	1
4.2	Stressphysiologische Auswirkungen von ABA auf die Wurzel.....	1
4.2.1	Experimenteller Ansatz.....	1
4.2.2	Die Rolle der Karyopse für das Wachstum, den radialen Wasser- und ABA-Fluss und den endogenen ABA-Gehalt im Wurzelgewebe	1
4.2.3	Auswirkungen von Stress auf den Wasserhaushalt (J_v).....	1
4.2.3.1	Nährstoffmangel	1
4.2.3.2	Auswirkungen von Salzstress auf den Wasserfluss.....	1
4.2.3.3	Auswirkungen eines hypoxischen Nährmediums auf den Wasserfluss..	1
4.2.4	Auswirkungen von Stress auf den endogenen ABA-Gehalt und den radialen ABA-Transport	1
4.2.4.1	Nährstoffmangel	1
4.2.4.2	Auswirkungen von Salzstress auf die endogene ABA und den ABA-Fluss	1
4.2.4.3	Auswirkungen eines hypoxischen Nährmediums auf die endogene ABA und den ABA-Fluss.....	1
4.2.5	Auswirkungen externer ABA auf den Wasserfluss	1
4.3	Die Rolle von ABA als Wurzel-Spross-Stresssignal (J_{ABA}).....	1
4.3.1	Symplastischer versus apoplastischer ABA-Transport.....	1
4.3.1.1	Apoplastische Barrieren.....	1
4.3.1.2	Histologische Untersuchungen	1
4.3.1.3	Visualisierung des ABA-Transportes	1
4.3.1.4	Ergebnisse der Immunlokalisation.....	1
4.3.2	Beziehung zwischen dem radialen Wasser- und ABA-Fluss und dem endogenen ABA-Gehalt im Wurzelgewebe.....	1
5	Zusammenfassung.....	1
6	Summary	1
7	Abkürzungsverzeichnis	1
8	Literaturverzeichnis.....	1

1 Einleitung

1.1 Wassertransport

Die Hauptfunktion der Wurzeln besteht, neben der Verankerung der Pflanze im Boden, in der Aufnahme von Wasser und Nährsalzen. Antriebskraft für die Wasseraufnahme ist der Wasserpotentialgradient zwischen dem Boden, dem Xylem der Pflanze und der Atmosphäre. Der Potentialgradient zwischen der Atmosphäre und der Pflanze veranlasst Blätter zu Abgabe von Wasser, der Transpiration. Durch die Transpiration wird ein negativer hydrostatischer Druck in den Xylemgefäßen aufgebaut, der wiederum zur Aufnahme von Wasser aus dem Boden in die Wurzel führt. Ist die Transpirationsrate stark erniedrigt, z.B. während der Nacht, verliert der hydrostatische Druck an Bedeutung und der osmotische Druck kommt zum Tragen. Durch die Aufnahme und Anreicherung von osmotisch wirksamen Substanzen in die Xylemgefäße wird ein osmotischer Wasserfluss erzeugt.

Wasser kann in der Wurzel auf unterschiedlichen, aber zusammenspielenden Wegen transportiert werden. Während Philip (1958) noch von einem alleinigen „cell-to-cell“ Transport ausging und den apoplastischen Weg außer Acht ließ, geht man jetzt von einem „composite“ Transport aus, der sowohl den symplastischen und transzellulären, als auch den apoplastischen Transportweg einschließt (Steudle 1997, Steudle und Frensch 1996, Steudle et al. 1999, Steudle 2000a). Das „composite transport model“ erklärt die Variabilität in der Fähigkeit von Wurzeln Wasser aufzunehmen und auf Stresssituationen zu reagieren. Es liefert Erklärungen inwieweit sich die hydraulische Leitfähigkeit von Wurzeln, durch die Art der Antriebskraft der Wasseraufnahme (hydraulischer bzw. osmotischer Gradient) und der Intensität des Wasserflusses, verändern kann. Das Zusammenspiel dieser Transportwege ermöglicht eine Feinregulierung der Wasseraufnahme, die auf den Bedarf des Sprosses und auf das Wasserpotential des Bodens abgestimmt ist (Steudle und Frensch 1996, Steudle 2000 a, b, Steudle et al. 1999).

Der „composite“ Transport des Wassers richtet sich nach dem anatomischen Bau der Wurzel (Steudle et al. 1999). Die hydraulische Leitfähigkeit des Apoplasten und der Transport über Plasmamembranen und Plasmodesmata kann durch Einlagerung hydrophober Substanzen wie Lignin und Suberin und der Expression und Aktivität von

Aquaporinen beeinflusst werden. Durch Lignineinlagerungen vor allem im Bereich von Endo- und Exodermis entstehen Casparische Bänder, die eine Barriere für den apoplastischen Wassertransport darstellen. Die Auflagerung von Suberinlamellen erhöht die Barrierewirkung und beeinträchtigt auch den transzellulären Transportweg (Peterson et al. 1993, Schreiber et al. 1999). Ist ein apoplastischer Transport aufgrund Casparischer Bänder blockiert kann eine Feinregulierung des Wassertransportes über den „cell-to-cell“ Weg mittels Wasserkanälen in den Plasmamembranen, den Aquaporinen erfolgen (Steudle 1997, 2000a, Steudle et al. 1999). Eine Blockade der Aquaporine mit HgCl_2 führt zu einer deutlichen, aber reversiblen Reduzierung der hydraulischen Leitfähigkeit (Steudle und Henzler 1995, Maggio und Joly 1995). Das Öffnen und Schließen der Aquaporine sowie die Anzahl der in der Plasmamembran eingelagerten Wasserkanäle stehen unter metabolischer Kontrolle und können durch exogene Faktoren wie Trockenheit, erhöhte Salzkonzentration, Nährstoffmangel, Temperatur, niedrige Sauerstoffkonzentration und durch Schwermetalle beeinträchtigt werden (Chrispeels und Maurel 1994, Steudle und Frensch 1996, Steudle und Henzler 1995, Steudle 1997, Steudle 2000a).

1.2 Das Phytohormon Abscisinsäure

Den Phytohormonen kommt eine wichtige Rolle in der Regulation von Wachstum und Entwicklung von Pflanzen zu. Sowohl die Synthese als auch die Wirkung dieser Hormone werden von Umweltfaktoren, wie Nährstoffversorgung, Trockenheit, Temperatur oder Sauerstoffmangel beeinflusst (Benech-Arnold et al. 1995, Brewitz et al. 1995, Cornish und Zeevaart 1985, Creelman et al. 1987, Else et al. 1995a, b, Fournier et al. 1987, Hartung et al. 1999, Hartung und Turner 1997, Hiron und Wright 1973, Marschner 1995, Peuke et al. 1994, Radin und Ackerson 1981, Slovik et al. 1995).

Das Phytohormon Abscisinsäure (ABA) wurde erstmal in den 60er Jahren identifiziert und seine Wirkung auf den Blatt- und Fruchtabfall sowie die Knospenruhe beschrieben (Addicott et al. 1964, Milborrow 1967, Okhuma et al. 1963).

ABA ist ein Sesquiterpenoid. Da es am C¹-Atom ein Chiralitätszentrum aufweist, gibt es zwei chirale Formen. Das natürlich vorkommende Enantiomer ist die (+)-cis-trans-Abscisinsäure.

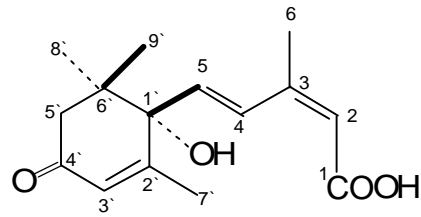


Abbildung 1: (+)-cis-trans-Abscisinsäure

Die Wirkung von ABA als Stresshormon wurde erstmals von Wright und Hiron (1969) dokumentiert. Sie stellten eine erhöhte ABA-Konzentration in welkenden Pflanzen fest. Unter ungünstigen Umweltbedingungen wie Wasser-, Hitze- oder Salzstress (Baker und Lachno 1989, Cornish und Zeevaart 1985, Hartung et al. 1999, Hartung und Turner 1997, Kefu et al. 1991) steigt die ABA-Konzentration in pflanzlichen Geweben an. Hierdurch kann die Pflanze sehr schnell auf die Stresssituation reagieren und z.B. einem Wassermangel entgegenwirken, indem sie die Wasseraufnahme über die Wurzel steigert und gleichzeitig einen Wasserverlust durch Schließung der Stomata verringert. Heute ist ABA als Stress-Signal anerkannt und die Biosynthese, der Transport und seine Auswirkungen auf die Pflanze vielfach untersucht (Baker und Lachno 1989, Behl und Hartung 1984, Creelman et al. 1987, Else et al. 1995b, Fiscus 1982, Fournier et al. 1987, Freundl et al. 1998, Freundl et al. 2000, Hartung et al. 1999, Hartung et al. 2002, Hiron und Wright 1973, Hwang und VanToai 1991, Lachno und Baker 1986, Milborrow 2001, Mittelheuser und van Steveninck 1969, Parry und Horgan 1992, Peuke et al. 1994, Peuke et al. 2002, Saab et al. 1990, Slovik et al. 1995, Wolf et al. 1990, Zhang und Davies 1987, 1989).

Die Biosynthese von ABA kann im Cytosol aller pflanzlichen Zellen erfolgen (Hartung et al. 1999), wobei die Synthese in den Wurzeln auf gleichem Wege erfolgt wie in den Blättern (Creelman et al. 1987). In höheren Pflanzen kann die ABA-Biosynthese auf unterschiedlichen Wegen erfolgen. Eine Möglichkeit ist der Abbau von Carotinoiden. Hierbei wird Zeaxanthin zunächst in Violaxanthin umgebaut und anschließend durch Oxidation zu Xanthoxal gespalten. Xanthoxal wird dann entweder zu Xanthoxinsäure oxidiert, welche zu ABA umgebaut wird oder es erfolgt eine Umwandlung des Xanthoxals zu ABA-Aldehyd, der anschließend zu ABA oxidiert wird. Eine weitere Möglichkeit der ABA-Synthese ist die Umwandlung von Mevalonsäure über

Isopentenylpyrophosphat zu ABA (Milborrow 2001, Parry und Horgan 1992). Dieser Weg ist vor allem in ABA-produzierenden Pilzen von Bedeutung.

1.3 Mineralische Nährstoffe

Mineralische Nährstoffe sind essentiell für das Wachstum und die Entwicklung von Pflanzen. Höhere Pflanzen nehmen als autotrophe Organismen anorganische Nährstoffe über die Wurzel auf und synthetisieren daraus ihre benötigten organischen Verbindungen selbst. Die im Bodenwasser gelösten Nährstoffionen werden über die Wurzel mit dem Wasser aus dem Boden aufgenommen. Die Versorgung der Wurzeln mit mineralischen Nährstoffen beeinflusst stark die vegetative und reproduktive Entwicklung des Sprosses und muss je nach Bedarf und der Konzentration im Bodenwasser reguliert werden (Marschner 1995). Bereits der Mangel an nur einem Nährstoffion kann sich deutlich auf das Pflanzenwachstum auswirken. Die wenigsten Böden weisen alle Nährstoffe in der optimalen Zusammensetzung auf. Vor allem Böden extremer Standorte sind nicht nur nährstoffarm, sondern auch alkalisch oder weisen einen hohen Salzgehalt (NaCl) auf. Durch den pH-Wert und einen erhöhten Salzgehalt im Boden kann die Aufnahme von Nährstoffionen vermindert werden, was selbst bei einem ausreichenden Nährstoffgehalt des Bodens zu einem Mangel an Nährstoffen in der Pflanze führen kann. Pflanzen haben aber Strategien entwickelt, mit dem reduzierten Angebot umzugehen. Hierzu zählen unter anderem die Ausbildung von Casparischen Bändern in der Endo- und Exodermis, die eine effektive Barriere darstellen, aber auch Plasmamembranen, die über eine ausgeprägte Ionenselektivität verfügen. Wird im Ackerbau nach der Ernte die Rückführung der Nährelemente durch das Verrotten von abgestorbenen Pflanzenteilen verhindert, werden dem Boden zusätzlich Nährstoffe entzogen, die den Pflanzen nicht mehr zur Verfügung stehen. Sie müssen durch eine entsprechende Düngung wieder zugeführt werden, um die Fruchtbarkeit der Böden zu erhalten. Die Düngung mit Asche und Kalk zur Ertragssteigerung wird seit mehr als 2000 Jahren durchgeführt. Aber erst vor 150 Jahren wurde die Bedeutung dieser mineralischen Nährsalze für die Entwicklung der Pflanzen erkannt. Sie wird seitdem vielfältig untersucht um eine Ertragssteigerung unserer Feldfrüchte zu erzielen (Marschner 1995). Den Mineralstoffen kommen vielfältige Aufgaben zu. So sind sie nicht nur am Aufbau organischer Verbindungen, z.B. den Aminosäuren und Proteinen, sondern auch an der Osmoregulation und an

enzymatischen Reaktionen beteiligt. Zu den essentiellen Nährelementen, also jenen die nicht durch andere Ionen ersetzt werden können, zählen Stickstoff, Kalium, Calcium, Phosphor, Schwefel, Magnesium, Eisen, Kupfer, Zink, Mangan, Bor, Chlor, Nickel und Molybdän. Hinzu kommen Ionen, die unspezifischer in ihrer Wirkungsweise sind und die essentiellen Ionen in bestimmten Funktionen, wie z.B. der Aufrechterhaltung des osmotischen Druckes, ersetzen können. Zu ihnen zählt unter anderem Natrium (Marschner 1995).

1.4 Salz

Ein Problem der Landwirtschaft ist die zunehmende Versalzung der Böden, vor allem durch Bewässerungsfehler in ariden Gebieten. Sehr viele Pflanzen, vor allem landwirtschaftlich bedeutende, sind relativ salzintolerant und können nicht auf überwiegend salzhaltigen Böden gedeihen. Salz (NaCl) inhibiert das Wachstum, da es unter anderem das osmotische Potential des Bodens erhöht und dadurch ein Wasserdefizit in der Pflanze erzeugt. Ferner wirken Na^+ und Cl^- in hohen Dosen toxisch und die Aufnahme von K^+ und Ca^{2+} wird inhibiert (Cheeseman 1988, Cramer et al. 1986, 1987, Fortmeier und Schubert 1995). Während Glycophyten relativ sensibel auf erhöhte Salzgehalte reagieren, haben Halophyten Strategien entwickelt hohe Salzkonzentration zu tolerieren. Dazu gehören die Salzausschließung im Bereich der Wurzel, die Speicherung in der Vakuole und die Abscheidung, z.B. über Salzdrüsen.

1.5 Sauerstoffmangel im Boden

Das Wachstum und die Produktivität der Pflanzen werden nicht nur durch den Wasser- und Nährstoffgehalt des Bodens sondern auch durch dessen Sauerstoffgehalt bestimmt. Wasser ist lebensnotwendig für die Entwicklung aller Lebewesen. Ist jedoch der Boden aufgrund anhaltenden, starken Regens und des Übertretens der Flüsse überschwemmt, wird der Boden nicht mehr durchlüftet und der Sauerstoffgehalt sinkt drastisch ab. Sumpfpflanzen sind an diese Bedingungen angepasst und können über die Interzellularen vom Spross her (Aerenchym) oder über Atemwurzeln die Wurzeln mit Sauerstoff versorgen. Bei Landpflanzen ist diese Möglichkeit jedoch nicht gegeben und sie müssen auf eine fermentative Energiegewinnung umstellen. Die immer noch sehr energiereichen Endprodukte des fermentativen Glucoseabbaus sind Milchsäure und

Ethanol. Milchsäure erniedrigt den pH-Wert des Cytosols (cytoplasmatische Acidose) und Ethanol wirkt in größeren Konzentrationen als Zellgift (Taiz und Zeiger 1998). Beides kann zum Zelltod und damit zum Absterben der Pflanze führen.

1.6 Zielsetzung der Arbeit

Die Wasseraufnahme von Wurzeln kann durch externe Faktoren beeinflusst werden. Die Wirkungen von Nährstoffmangel (Carvajal et al. 1996), Salzbelastung (Azaizeh und Steudle 1991, Azaizeh et al. 1992, Peyrano et al. 1997) und Anaerobiose (Birner und Steudle 1993, Henzler et al. 1999, North und Nobel 1991) auf die hydraulische Wasserleitfähigkeit sind gut untersucht. Auch Ergebnisse über die Akkumulation von ABA in Wurzeln unter Stressbedingungen wie Salz, Nährstoff- oder Sauerstoffmangel (Baker und Lachno 1989, Hartung et al. 1999, Jeschke et al. 1997c, Kefu et al. 1991, Peuke et al. 1994), Bodentrockenheit (Cornish und Zeevaart 1985, Hartung et al. 1999, Hartung und Davies 1991) und Bodenverfestigung (Hartung et al. 1994) bei gleichzeitiger Beeinträchtigung der Wasseraufnahme sind in der Literatur zu finden. Durch exogene Faktoren kann auch die Ausbildung apoplastischer Barrieren beeinflusst werden (Clarkson et al. 1987, Enstone und Peterson 1998, Freundl et al. 2000, Hose et al. 2001, Karahara 2004).

In dieser Arbeit soll untersucht werden, wie externe Faktoren den endogenen ABA-Gehalt im Maiswurzelgewebe und den radialen Wasser- und ABA-Transport (J_v bzw. J_{ABA}) in Wurzelsystemen beeinflussen. Durch das Anlegen eines Unterdruckes an dekapitierte Maiswurzelssysteme sollte ein natürlicher Transpirationssog simuliert und der Wasserfluss bestimmt werden (Freundl et al. 1998). Die ABA-Konzentration in den Xylemsäften und die endogene ABA im Wurzelgewebe wurden mittels ELISA, einem immunologischen Test, bestimmt. Die Auswirkungen von 100 nM externer ABA im Nährmedium auf J_v , J_{ABA} und die ABA-Konzentration im Wurzelgewebe wurden untersucht. Neben vollernährten Maiskeimlingen sollten diese Faktoren auch in gestressten Pflanzen erforscht werden, die einem Nährstoffmangel, Salz oder Hypoxie ausgesetzt waren. Als Untersuchungsmaterial für den Nährstoffmangel dienten Nitrat-, Phosphat-, Sulfat-, Kalium- und Calcium-defiziente Maiskeimlinge. Des Weiteren wurden Maiskeimlinge untersucht, die nur in CaSO_4 , also nahezu im Totalmangelmedium, heranwuchsen. Die Auswirkungen von Salzstress sollten getestet

werden, indem in das Nährmedium vollernährter Keimlinge 100 mM bzw. 50 mM NaCl zugegeben wurde. Ein dem natürlichem Sauerstoffmangel vergleichbaren Zustand sollte hergestellt werden, indem die Belüftung der Hydrokultur mit Druckluft unterblieb.

Ein Ziel dieser Arbeit war es, eine Möglichkeit zu finden, die intercelluläre Verteilung von ABA, insbesondere unter den Bedingungen eines radialen Wasserflusses, zu visualisieren. Die Daten sollten zur Beurteilung dienen, ob apoplastische Barrieren den ABA-Transport beeinträchtigen können und ob eine Nährstoffdefizienz die Barriereigenschaften von Endodermis und Hypodermis verändern kann. Hierzu sollte die ABA mittels eines immunologischen Nachweisverfahrens, der Immunlokalisation, anhand von Wurzelquer- und Längsschnitten dargestellt werden. Das Verfahren der Immunlokalisation mit monoclonalen Antikörpern wurde von Veselov et al. (2003) für den Nachweis von Cytokinen und Auxinen entwickelt und sollte für den Nachweis von ABA modifiziert werden. Die Immunlokalisation von ABA wurde bisher nur von sehr wenigen Forschergruppen erfolgreich durchgeführt, wobei polyclonale Antikörper und die Immunogold-Methode genutzt wurden (Pastor et al. 1995, 1999, Sossountzov et al. 1986).

Die Zielsetzung dieser Arbeit betrifft die Frage nach der physiologischen Funktion der ABA, die unter den hier beschriebenen externen Bedingungen in der Wurzel akkumuliert wird. Von herausragender Bedeutung ist hierbei eine mögliche Förderung der hydraulischen Leitfähigkeit der Wurzel, die unter milden Stressbedingungen, wie einem gerade eintrocknenden Boden, von Bedeutung sein kann. Es ist bekannt, dass Trockenheit, Salz, Temperatur, Anaerobiose und die Nährstoffsituation die hydraulische Leitfähigkeit der Wurzel, die Akkumulation von ABA und dass Wurzel-Spross-Signal verändern können. Diese Daten wurden jedoch nie auf die endogene ABA bezogen. Externe ABA kann die Bedingungen in der Wurzel verändern, akkumulieren, ausgeschlossen oder auch abgebaut werden. Es ist daher nie vorhersagbar welche ABA-Konzentrationen am Wirkort tatsächlich vorhanden sind.

Das Ziel dieser Arbeit war daher die Relation zwischen dem ABA-Gehalt des Wurzelgewebes und J_v aber auch J_{ABA} zu beschreiben. Letzteres ist von besonderer Bedeutung für die Ausprägung des ABA-Signals im Xylem gestresster Pflanzen.

2 Material und Methoden

2.1 Pflanzenmaterial und Kultivierung

Als Untersuchungsmaterial dienten Karyopsen von *Zea mays* L. (Helix), die von der Kleinwanzlebener Saatzucht (Einbeck, FRG) bezogen wurden.

Die Maiskaryopsen wurden 4 Tage auf mit 0,5 mM CaSO₄ angefeuchtetem Zellstoff bei 26°C im Dunkeln vorgekeimt. Für die weitere Anzucht in Hydrokultur wurden die Keimlinge in belüftete 1,8 l Hydrokulturtöpfe gesetzt. Die Keimlinge wurden am Mesokotyl mittels Schaumstoff in Bohrungen speziell angefertigter PVC-Abdeckungen befestigt.

Die Anzucht von Maiskeimlingen in Luftkultur (aerophonisch) erfolgte in einem 1 m³ großen, abgedunkelten Behälter, der mit 22 l Nährlösung befüllt war. Die Wurzeln wurden mittels eines Zerstäubers (Defensor, Axair, Nürnberg, FRG) mit der Nährlösung besprüht. Die Befestigung erfolgte mit Hilfe von Schaumstoff in Ausbohrungen an der Abdeckung des Behälters. Die Gesamtsprühzeit betrug 12 Stunden pro Tag und war gleichmäßig auf 24h verteilt (Sprühintervall 30 min h⁻¹).

Die Keimlinge wurden für 7 Tage im Gewächshaus bei einem Tag-Nacht-Rhythmus von 16 h und 8 h und einem Temperaturwechsel von 25°C und 17°C angezogen. Zusätzlich zum Tageslicht wurden die Pflanzen mit einer Quecksilberdampflampe belichtet, die 200 μmol m⁻² s⁻¹ lieferte.

Das Alter aller für die Experimente verwendeten Maispflanzen betrug 11 Tage.

2.1.1 Anzucht und Nährlösung vollernährter Keimlinge

Für die Bestimmung des Wasser- und ABA-Flusses, der endogenen ABA des Wurzelgewebes und des Effektes von 100 nM externer ABA auf diese Parameter wurden intakte, d.h. mit Karyopse angezogene Keimlinge verwendet. Des Weiteren wurden Versuche mit Keimlingen durchgeführt, denen nach der Vorkeimung die Karyopse entfernt wurde und die in einem dritten Versuchsansatz zusätzlich mit Glucose versorgt wurden. Durch das Entfernen der Karyopse sollte sichergestellt werden, dass der Keimling nur mit den Nährstoffen aus den Medium versorgt wird und nicht zusätzlich durch die in der Karyopse enthaltenen Nährstoffe. 5 mM Glucose

wurden in das Nährmedium verabreicht, um die in der Karyopse enthaltenen Kohlenhydrate zu ersetzen. Die Glucosegabe erfolgte erst 24 h vor Versuchsbeginn, da trotz Verabreichung von Penicillin G (100 Einheiten; Benzylpenicillin, Kaliumsalz; Sigma-Aldrich, Steinheim) eine Infektion durch Bakterien nicht vermieden werden konnte. Eine Erhöhung der Penicillindosis erniedrigte J_v und wurde daher nicht durchgeführt.

Die Nährlösung für vollernährte Maiskeimlinge war modifiziert nach Pirson und Seidel (1950) und war wie folgt zusammengesetzt:

1,5 mM KH_2PO_4

2,0 mM KNO_3

1,0 mM CaCl_2

1,0 mM MgSO_4

18 μM FeNaEDTA

8,1 μM H_3BO_3

1,5 μM MnCl_2

Die ungepufferte Nährlösung besaß einen pH-Wert von 5,5. Das Vollmedium wurde sowohl für die hydroponische als auch die aeroponische Kultivierung verwendet.

2.1.2 Modifizierung der Pflanzenanzucht unter Stressbedingungen

Die Auswirkungen von unterschiedlichen Stressfaktoren auf den Wasser- und ABA-Transport in den Xylemgefäßen und den endogenen ABA-Gehalt im Wurzelgewebe wurden an 11 Tage alten Maiskeimlingen aus Hydrokultur getestet.

Nährstoffmangel wurde induziert, indem das Vollmedium hinsichtlich seiner Zusammensetzung derart modifiziert wurde, dass bezüglich eines Makronährelementes ein Mangel vorlag. Ein erhöhter Salzgehalt im Boden wurde imitiert, indem dem Vollmediums NaCl (50 bzw. 100 mM) zugegeben wurde. Sauerstoffmangel (Hypoxie) wurde ausgelöst indem die Belüftung des Vollmediums mit Druckluft unterblieb. Als Kontrollen für alle Versuchsansätze dienten vollernährte, belüftete Maiskeimlinge.

2.1.2.1 Zusammensetzung des Nährmediums bei Nährstoffmangel

Untersuchungen zu den Auswirkungen von Nährstoffmangel auf den endogenen ABA-Gehalt des Maiswurzelgewebes, J_v und J_{ABA} wurden an NO_3^- -, PO_4^{3-} -, SO_4^{2-} -, K^+ - und Ca^{2+} -defizienten Pflanzen durchgeführt.

Maiskaryopsen wurden entsprechend vollernährten Keimlingen 4 Tage auf 0,5 mM CaSO_4 vorgekeimt und anschließend 7 Tage in belüfteter Nährlösung angezogen. Keimlinge aus Ca^{2+} -Mangelkultur wurden, aufgrund gravierender Mangelerscheinungen, lediglich 6 Tage kultiviert. Die Standardnährlösung wurde so modifiziert, dass das jeweilige Nährstoffion, an dem die Pflanze einen Mangel erleiden sollte, durch ein anderes Ion ersetzt wurde. Zusätzlich wurden Pflanzen in einem „Totalmangelmedium“ angezogen, das der Lösung zum Auskeimen der Karyopse identisch war und lediglich 0,5 mM CaSO_4 enthielt. Entsprechend den vollernährten Keimlingen wurden die Karyopsen entfernt bzw. zusätzlich mit 5 mM Glucose versorgt. Auf diese Weise wurde gezielt auf die Nährstoffversorgung Einfluss genommen.

Die Zusammensetzung der Nährstoffmangelmedien ist in Tabelle 1 dargestellt, die nicht aufgeführten Nährstoffe blieben unverändert.

Tabelle 1: Zusammensetzung der Nährlösung von Voll- und Nährstoffmangelmedien

	Vollmedium	NO_3^- -Mangel	K^+ -Mangel	PO_4^{3-} -Mangel	SO_4^{2-} -Mangel	Ca^{2+} -Mangel
1,5 mM	KH_2PO_4	KH_2PO_4	NaH_2PO_4	KCl	KH_2PO_4	KH_2PO_4
2,0 mM	KNO_3	KCl	NaNO_3	KNO_3	KNO_3	KNO_3
1,0 mM	CaCl_2	CaCl_2	CaCl_2	CaCl_2	CaCl_2	-
1,0 mM	MgSO_4	MgSO_4	MgSO_4	MgSO_4	MgCl_2	MgSO_4

2.1.2.2 Zusammensetzung des Nährmediums bei Salzstress

Salzstress wurde induziert, indem 4 Tage vorgekeimte Maispflanzen für 7 Tage in Vollmedium mit einer erhöhten Salzkonzentration angezogen wurden. Die Aufdosierung des Salzes erfolgte in 4 Schritten über jeweils 12h bis zu einer Endkonzentration von 50 mM. In der Literatur beschriebene Experimente zu Salzstress wurden meist mit einer höheren NaCl-Konzentration durchgeführt (100 - 200 mM; Azaizeh und Steudle 1991, Azaizeh et al. 1992, Karahara et al. 2004). Vorversuche ergaben jedoch, dass diese Konzentrationen J_v derart minimierten, dass eine Messung nicht mehr möglich war.

Zusätzlich wurden Experimente durchgeführt, in denen die NaCl-haltige Nährlösung direkt vor Versuchsbeginn gegen das nicht salzhaltige (NaCl) Vollmedium ausgetauscht wurde (vorbehandelte Keimlinge).

2.1.2.3 Kultivierung unter hypoxischen Bedingungen

Versuche zu den Auswirkungen einer verminderten Sauerstoffzufuhr über die Wurzeln wurde an Pflanzen durchgeführt, die 7 Tage in Vollmedium hydroponisch kultiviert wurden. Ein Sauerstoffdefizit wurde ausgelöst, indem die Belüftung der Hydrokulturtöpfe während der Anzucht im Gewächshaus unterblieb. Eine Sauerstoffaufnahme über die Oberfläche der Nährlösung war weiterhin möglich. Die Sauerstoffversorgung ist folglich reduziert, aber nicht vollständig unterbunden. Dies stellt die natürlichen Bedingungen von Sauerstoffmangel während Überschwemmungen nach andauernden Regenfällen oder der Schneeschmelze am besten nach. Um die Dauer des Sauerstoffmangels auf die Auswirkungen auf J_v , J_{ABA} und die endogene ABA im Wurzelgewebe zu untersuchen, wurden die Pflanzen unterschiedlich lange dieser Behandlung unterworfen. Sie wurden in 24 stündigen Zeitintervallen von 7d – 24 h vor Versuchsbeginn und auch während der Versuchsdurchführung nicht belüftet. Das Alter aller Keimlinge betrug zu Versuchsbeginn 11 Tage.

2.2 Bestimmung der Wurzeloberfläche

Für die Berechnung von J_v und J_{ABA} ist eine Bestimmung der Wurzeloberfläche notwendig. Sie wurde durchgeführt, indem die Wurzel zuerst gescannt (scanwise 1.2.0.5, Agfa) und die Oberfläche anschließend mit Hilfe des Programm WinRHIZO (Pro V.2002b, Regent Instruments Inc.) bestimmt wurde. Dieses Programm berechnet unter Annahme einer zylindrischen Wurzelgestalt aus der dunkel vor weißem Hintergrund projizierten Wurzel die Oberfläche der Wurzel (SA).

2.3 Elementaranalysen

Die Gesamtgehalte der Elemente Stickstoff, Schwefel, Phosphor, Kalium und Calcium wurden von 11 Tage alten hydroponisch kultivierten Maiswurzeln und von 4 Tage vorgekeimten Karyopsen bestimmt. Es wurden Maiskeimlinge ohne Karyopse aus Voll- und Nährstoffmangelmedium verwendet. Parallel wurden Kontrollversuche durchgeführt, in denen die 0,5 mM CaSO₄-Lösung für die 4tägige Vorkeimung gegen H₂O_{dest.} bzw. gegen 0,5 mM CaCl₂ ausgetauscht wurde.

2.3.1 Stickstoffgesamtgehalt

Die Bestimmung des Stickstoffgesamtgehaltes wurde nach einem quantitativen Substanzauflösung durch oxidative Verbrennung mittels eines CHN-Analysators durchgeführt (Elementaranalysator CHN-O-Rapid; elementar Analysensysteme, Hanau).

2.3.2 ICP-Spektroskopie

Die Bestimmung der Gesamtgehalte an Schwefel, Phosphor, Kalium und Calcium wurde mittels der ICP-Atomemissionsspektroskopie durchgeführt (inductively coupled plasma; ICP-Emissionsspektrometer JY 70 Plus, Jobin Yvon GmbH, München). Die getrockneten und pulverisierten Gewebeproben wurden durch HNO₃-Druckveraschung (Seif Ausschlusstechnik, Unterschleißheim) mit 65% HNO₃ mineralisiert, in einer definierten Menge H₂O_{demin.} aufgenommen und für die ICP eingesetzt.

2.4 Sauerstoffbestimmung nach Winkler

Das unbelüftete Nährmedium von Maiskeimlinge wurde auf den Sauerstoffgehalt untersucht, um festzustellen, ob eine Hypoxie des Mediums vorlag. Hierzu wurde die Methode nach Winkler angewandt (Sauerstoff Test Viscolor ECO, Macherey-Nagel, Düren).

Eine definierte Menge Nährmedium wird mit alkalischer Manganchlorid-Lösung und anschließend mit Natriumhydroxid versetzt. Der im Nährmedium vorhandene Sauerstoff oxidiert Mn²⁺ zu Mn³⁺, welches einen schwerlöslichen Niederschlag von Mn(OH)₃ bildet. Im Sauren wird Mn³⁺ durch KI wieder zu Mn²⁺ reduziert wobei sich

Jod bildet. Je nach Sauerstoffgehalt ist die Rotfärbung der Lösung unterschiedlich intensiv. Der Vergleich mit einer Farbskala liefert den Sauerstoffgehalt in mmol /l.

2.5 Messung von Wasserflüssen

Die Wasseraufnahme der Pflanze über die Wurzel erfolgt aufgrund eines Wasserpotentialgefälles zwischen der Atmosphäre, der Pflanze und dem Boden und wird durch die Transpiration verursacht. Um den radialen Wassertransport im Wurzelgewebe untersuchen zu können und eine ABA-Bestimmung in den Xylemsäften zu ermöglichen, wurde die natürliche Transpiration der Pflanze durch einen künstlichen Transpirationssog simuliert. Dieser Transpirationssog wurde durch Anlegen eines Unterdruckes an der dekapitierten Pflanze oberhalb der Wurzel erzeugt. Die Bestimmung der Wasserflüsse wurde nach Freundl et al. (1998) durchgeführt.

Um einen künstlichen radialen Wasserfluss in den Wurzelsystemen zu erzeugen, wurden Maiskeimlinge am Mesokotyl dekapitiert und mittels einer selbsthergestellten Silikondichtung (dent-a-scon universal + dent-a-scon activ bzw. dent-a-scon ultra + dent-a-scon liquid activator, DENTSPLY DeTrey GmbH, Konstanz, Germany) und einer Schraube druckdicht an einer Kapillare fixiert. An diese Kapillare wurde mit Hilfe eines Nadelventils ein subatmosphärischer Druck von -0,06 MPa angelegt werden. Auf diese Weise konnte ein Sog auf das Wurzelsystem ausgeübt werden, der den natürlichen Transpirationssog simuliert. Die Entnahme des Xylemsaftes aus der Kapillare erfolgte mittels einer Mikroliterspritze (Hamilton Bonaduz AG, Bonaduz, Schweiz) in 10 Minuten Intervallen über einen Zeitraum von 60-180 min und wurde volumetrisch und gravimetrisch bestimmt. Während des Versuches wurde das Medium ständig von Druckluft durchströmt, um eine Hypoxie des Wurzelsystems zu vermeiden.

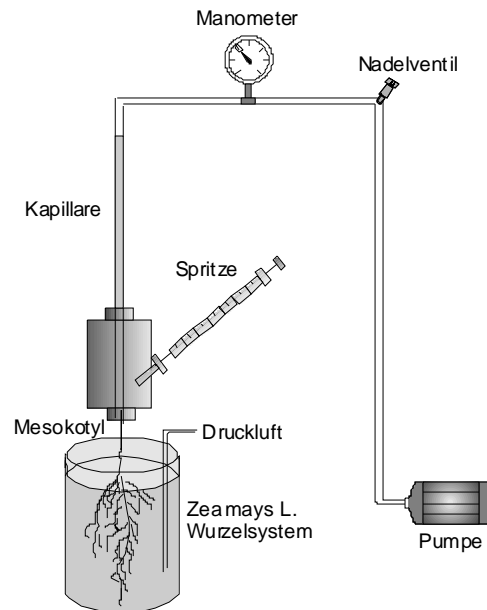


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Saugapparatur zur Gewinnung von Xylemsäften aus Wurzelsystemen dekapitierter Pflanzen.

2.6 Immunologische Methoden zur ABA-Bestimmung

2.6.1 ELISA

Die Quantifizierung von ABA in Xylemsäften und Wurzelgeweben erfolgte durch ELISA (Enzyme-linked Immuno Sorbent Assay; Weiler 1986), ein immunologischer Test mit hochspezifischen monoklonalen ABA-Antikörpern (ABA-15-I-c-5; Agdia/Linaris, Wertheim-Bettingen, Deutschland).

2.6.1.1 Prinzip

Die immunologische Bestimmung von ABA mittels ELISA beruht auf einer kompetitiven Bindungsreaktion an einen hochspezifischen monoklonalen Antikörper. Eine definierte Menge Tracer (alkalische Phosphatase) konkurriert mit der in der Probe enthaltenen ABA um die Bindungsstellen des Antikörpers. Nach Zugabe von farblosem p-Nitrophenylphosphat wird dieses durch den Tracer in das gelbe p-Nitrophenol gespalten, welches photometrisch bestimmt werden kann.

2.6.1.2 Durchführung

Die Reaktionsgefäße von Mikrotiterplatten (Institut Virion GmbH, Würzburg) wurden für 24h bei 4°C mit RAMIG (Rabbit-Anti-Mouse-Immuno-Globuline; Sigma, Deisenhofen, FRG; 5 mg in 20 ml 50 mM NaHCO₃-Puffer, pH 9,6) beschichtet, und nach Waschen mit deionisiertem Wasser ebenfalls für 24h bei 4°C mit dem hochspezifischen monoklonalen ABA-Antikörper inkubiert. RAMIG dient hierbei als Bindeglied zwischen der Kunststoffplatte und dem monoklonalen (+)-ABA-Antikörper. Nach Abgießen des Antikörpers und Waschen wurden je 100 µl Tris-Puffer (1 mM MgCl₂, 150 mM NaCl, 50 mM Tris, pH 7,8) in die Reaktionsgefäße vorgelegt und je 50 µl der in Tris-Puffer gelösten Proben, Kalibrierungslösungen (0,01 – 100 pmol ABA in 100 µl Tris-Puffer) und Nullwerte (B₀) aufgetragen (Tab. 2).

Tabelle 2: Pipettierschema der Mikrotiterplatten. B₀: 100 µl Tris-Puffer; 0,01 – 100: pmol ABA in 100 µl Tris-Puffer (Kalibrierlösungen); 1-32 je 50 µl Probe.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		0,2	1	9	17	25	1	9	17	25	B ₀	0,2
B	B ₀	0,5	2	10	18	26	2	10	18	26	B ₀	0,5
C	B ₀	1,0	3	11	19	27	3	11	19	27	B ₀	1,0
D	B ₀	2,0	4	12	20	28	4	12	20	28	B ₀	2,0
E	0,01	100	5	13	21	29	5	13	21	29	0,01	100
F	0,02	B ₀	6	14	22	30	6	14	22	30	0,02	B ₀
G	0,05	B ₀	7	15	23	31	7	15	23	31	0,05	B ₀
H	0,1	B ₀	8	16	24	32	8	16	24	32	0,1	B ₀

Nach 1h bei 4°C wurden 50 µl frisch angesetzte Tracer-Lösung (kovalent an ABA gebundene alkalische Phosphatase; 27 µl Tracer in 16,173 ml Tris-Puffer + 0,1% Gelatine; Prof. Weiler, Bochum) zu den Proben in die Reaktionsgefäße gegeben. Dieser Tracer bindet an den ABA-Antikörper, der nicht von der ABA aus den Probelösungen besetzt wurde. Die Platten wurden nach 3h bei 4°C mit H₂O_{dest.} gewaschen um das Proben-Tracer-Gemisch zu entfernen und mit 200 µl des farblosen Phosphatasesubstrats p-Nitrophenylphosphat (63 mg in 63 ml 1 M Diethanolaminpuffer pH 9,8 + 0,5 mM MgCl₂, pH 9,8) beschichtet. Während einer Inkubationszeit von etwa 3h bei 37°C wurde das Substrat durch die Phosphatase in das gelbe P-Nitrophenol gespalten, wobei die Intensität der Gelbfärbung zu der an den Antikörper gebundenen ABA-Menge umgekehrt proportional ist. Am Photometer (405 nm; BIO-RAD Microplate Reader

Model 550; BIO-RAD Laboratories GmbH, München, FRG) wurden die Extinktionen der Proben bestimmt und der prozentuale Anteil an gebundener ABA errechnet.

Durch Auftragung der Bindungswerte der Kalibrierlösungen gegen die ABA-Konzentration und anschließender Regression wurde eine sigmoide Kurve erhalten. Der ABA-Gehalt der Proben wurde durch Vergleich der Bindungswerte und des linearen Bereiches der Kalibrierungskurve bestimmt.

2.6.1.3 Probenaufbereitung

Xylemsaftproben aus den Saugexperimenten zur Bestimmung des Wasserflusses wurden ohne weitere Aufreinigung mit Tris-Puffer auf ein Mindestvolumen von 70 µl (Einfachmessung) bzw. 120 µl (Doppelmessung) verdünnt und bis zur Durchführung des ELISA bei -25°C aufbewahrt.

Gewebeproben wurden gewogen, mit flüssigem Stickstoff schockgefroren, gut gemörsert und mindestens 24 h mit 2-3 ml 80% (v/v) Methanol bei -25°C extrahiert. Nach Zentrifugation (3000 Upm, 5min) wurde der Überstand abgenommen und die Proben nochmals 24 h mit Methanol extrahiert. Die vereinigten methanolischen Extrakte wurden über C₁₈-Kartuschen (SEP-PAK C18-Cartridges; Millipore Corp., Milford, Massachusetts, USA), die zuvor mit 80% (v/v) Methanol vorgefeuchtet wurden, gereinigt und mit 70% (v/v) Methanol eluiert um die Proben von störenden phenolischen Verbindungen, Pigmenten und Partikeln zu befreien. Nach Eindampfen des Methanols unter reduziertem Druck im Speed Vac Concentrator (Savant Speedvac Plus SC210A, Thermo Quest) wurde der Rückstand in 1 ml H₂O_{demin.} gelöst, mit HCl auf pH 3 angesäuert und dreimal gegen jeweils 1 ml Ethylacetat (Applichem, Darmstadt) ausgeschüttelt. Durch das Ansäuern auf pH 3 liegen die ABA-Moleküle protoniert vor und lassen sich durch mehrfaches Ausschütteln nahezu quantitativ in die organische Phase überführen. Die vereinigten organischen Phasen wurden wiederum zur Trockne eingedampft, in 300 µl Tris-Puffer aufgenommen und anschließend für den ELISA mit Tris auf ein Mindestvolumen von 70 bzw. 120 µl (Einfach bzw. Doppelproben) verdünnt.

2.6.2 Visualisierung der ABA-Verteilung in Geweben mittels Immunlokalisierung

Die immunologische Bestimmung von ABA mittels monoclonalen Antikörpern wurde von Veselov et al. (2002) übernommen, die diese Methode bereits erfolgreich für die Detektierung von Cytokinen und Auxin einsetzten. Für die Immunlokalisierung benötigt man neben einem hochspezifischen monoclonalen Antikörper und einem Marker, der diesen an das Phytohormon gebundenen Antikörper visualisiert, auch eine geeignete Methode um das Hormon zu fixieren und so eine Diffusion und Extraktion zu vermeiden. Die Fixierung kann auf physikalischem oder chemischem Wege erfolgen. Ein Schockgefrieren unter verminderten Druck wäre die beste Wahl, da diese viel schneller vor sich geht als konventionelle chemische Methoden. Der Erfolg dieser Methode hängt jedoch auch von der Struktur des Gewebes ab und ist nicht in jedem Falle zufrieden stellend. Eine alternative und in dieser Arbeit eingesetzte Methode ist die chemische Fixierung, bei der ABA über ihre Carboxylgruppe mittels EDAC (1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethyl-carbodiimid) an interne Proteine gebunden wird (Dewitte und Van Onckelen 2001). Als Marker zur Detektierung des ABA-Antikörpers diente das Alexa-fluor-Konjugat 568. Die Fluoreszenz dieses Antikörpers kann mittels Laserscanningmikroskopie detektiert werden.

2.6.2.1 Material

Fixierlösung:

3% (w/v) Paraformaldehyd (AppliChem, Darmstadt)

in 4% (w/v) 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDAC)

0,1% (v/v) Triton X-100

SB (stabilizing buffer):

50 mM HEPES

5 mM MgSO₄ · 7H₂O

5 mM EGTA (in H₂O, pH 8 mit KOH; Ethylendioxy-bis-(ethylenenitrilo)-tetraaceticacid; AppliChem, Darmstadt)

pH 6,9 mit KOH

PBS (Phosphate buffered saline):

137 mM NaCl

2,7 mM KCl

7,9 mM Na₂HPO₄ · 2H₂O

1,5 mM KH₂PO₄

pH 7,3

Steedman's Wax:

1-Hexadecanol (70°C) + PEG (37°C; Polyethylenglycoldistearat; Sigma-Aldrich, Steinheim) im Verhältnis 1+ 9

Poly-L-Lysin beschichtete Objektträger:

Mit EtOH gereinigte Objektträger werden mit je 60 µl Poly-L-Lysin (0,1%) beschichtet, mit einem weiteren Objektträger abgedeckt, 2 h über heißem Wasser gehalten und nach Abspülen mit H₂O_{dest.} in einer feuchten Box bei 4°C aufbewahrt.

PBS/Tween 20:

PBS + 1% Tween 20

Rabbit-Serum:

1:500 mit PBS/Tween 20

ABA-Antikörper:

Monoclonaler Antikörper ABA-15-1-C-5, Agdia Incorp. Elkhart, Indiana, USA

2 mg + 200 µl PBS/Tween 20, Weiterverdünnung 1: 50

Alexa-fluor-Konjugat:

Alexa fluor 568 goat anti mouse IgG, H+L, Molecular Probes, Göttingen, Deutschland

1:100 mit PBS/Tween 20

DABCO:

Glycerin / PBS (9+1) + DABCO (25 mg/ml; 1,4-Diazabicyclo-[2.2.2]octan; Sigma-Aldrich, Steinheim)

Toluidinblau:

Chroma-Gesellschaft Schmid &Co, Stuttgart-Untertürkheim, Deutschland; 0,3 %

Anilinblau:

Wasserblau (Methylblau; FlukaChemie AG, Buchs, Schweiz); 0,5 % in 1 M Glycin

2.6.2.2 Durchführung

Für die Immunolokalisierung von ABA in Wurzelquer- und Längsschnitten wurden Wurzeln von 11 Tage alten Maispflanzen aus Hydro- und Luftkultur verwendet. Diese Pflanzen wurden unterschiedlichen Behandlungen unterworfen. Ein Teil der Pflanzen wurde in 100 nM ABA enthaltende Nährlösung entweder dekapitiert und, wie unter Abschnitt 2.5 beschrieben, für 40 min einem künstlichen Transpirationssog ausgesetzt oder als intakte, nicht dekapitierte Pflanze 40 min unter natürlicher Transpiration belassen bzw. zur Kontrolle weder einem natürlichen noch einem künstlichen Sog unterworfen. Um die endogene ABA zu erfassen, wurde ein weiterer Teil der Pflanzen den gleichen Behandlungen in ABA-freiem Medium unterworfen.

Die immunologische Bestimmung der ABA erfolgte nach Veselov et al. (2002). Die Experimente wurden an Wurzelsegmenten der Spitze, 10-20 mm und 60-70 mm hinter der Wurzelspitze durchgeführt. Um eine Diffusion der ABA in das Pflanzengewebe zu verhindern und die ABA zu fixieren, wurden die Wurzelsegmente sofort nach Versuchsende in Fixierlösung überführt und 2 min unter Vakuum bei Raumtemperatur und anschließend mindestens 24 h bei 4°C aufbewahrt. Veselov et al. (2002) nutzte als Fixierlösung entweder Paraformaldehyd oder EDAC. Sossountzov et al. (1986) fixierte in Versuchen ABA zuerst mit EDAC und dann mit Paraformaldehyd. Pastor et al. (1995, 1999) berichtet über eine abgeschwächte Bindung bei dieser Vorgehensweise. In der vorliegenden Arbeit wurde mit einer Mischung gearbeitet. Die Fixierlösung bestand aus 3% (w/v) Paraformaldehyd in 4% (w/v) EDAC und zusätzlich 0,1% Triton X-100.

Die fixierten Wurzelsegmente wurden 3mal je 10 min mit SB, 15 min mit PBS gewaschen und anschließend durch eine in der Konzentration ansteigende EtOH/PBS-Lösung (30%, 50%, 70%, 90%, 96%, absoluter EtOH) je 30 min dehydriert. Die Wurzelsegmente wurden weitere 30 min in frischem 37°C warmen absoluten EtOH erwärmt, um ein Ausfallen des Wachses im nächsten Schritt zu verhindern. Anschließend wurde etwa die gleiche Menge an, bei 37°C geschmolzenen Steedman's Wax (Vitha et al. 1997), hinzugefügt und 1-2 h auf 37°C gehalten bis die Wurzelsegmente mit dieser Mischung getränkt waren und zu Boden sanken. Nach Entfernen dieses Gemisches wurde 100% Steedman's Wax bei 37°C auf die Proben gegeben. Nachdem die Segmente wiederum mit dem reinen Wachs voll gesogen waren (ca. 1 h) wurde etwas Wachs in eine Silikonform vorgelegt und die Wurzeln möglichst

schnell überführt, um eine gleichmäßige Kristallisation des Wachses zu gewährleisten. Nach mindestens 12 h Kristallisationszeit wurden von den Wachsblöckchen mit einem Schlittenmikrotom (HN 40; Jung, Heidelberg) 11 µm dicke Quer- bzw. Längsschnitte angefertigt und auf Poly-L-Lysin beschichtete Objektträger übertragen. Dünnere Schnitte sind nicht sinnvoll, da dann die erforderliche Tiefenschärfe verloren geht. Die Schnitte wurden über Nacht auf einem Strecktisch bzw. mittels eines Gebläses bei Raumtemperatur getrocknet und bis zur weiteren Verwendung bei 4°C aufbewahrt.

Vor der Beschichtung mit den Antikörpern mussten die Schnitte entwachst und einigen weiteren Schritten unterworfen werden um etwaigen Störungen bzw. Verfälschungen der Ergebnisse vorzubeugen.

Die Schnitte wurden mit 96% EtOH 30 min, mit 90% und 50% EtOH jeweils 10 min entwachst, 30 min mit SB gewaschen, 10 min mit MeOH bei -20°C behandelt um versteckte Bindungen freizulegen und 15 min mit PBS/Tween 20 gewaschen. Anschließend wurden die Schnitte in einer mit angefeuchtetem Zellstoff ausgelegten Objektträgerbox für 1 h bei 4°C mit Rabbit-Serum überschichtet um freiliegende Aldehydgruppen zu neutralisieren und unspezifische Bindungen abzusättigen (Dewitte und Van Onckelen 2001). Nach Waschen mit PBS/Tween 20 für 10 min wurden die Objektträger über Nacht mit einem hochspezifischen monoclonalen ABA-Antikörper beschichtet und in einer angefeuchteten Objektträgerbox bei 4°C aufbewahrt.

Am nächsten Tag wurde die Antikörperlösung vorsichtig entfernt und die Schnitte für 30 min mit PBS/Tween 20 gründlich gewaschen um Reste von ungebundenem Antikörper zu entfernen. Nach Aussagen von Ullrich-Eberius und Langhans (TU-Darmstadt; persönliche Mitteilungen) kann der Cytokinin-Antikörper mehrmals verwendet werden. Da jedoch bei mehrmaligem Gebrauch des ABA-Antikörpers die Ergebnisse deutlich schlechter ausfielen, wurde der Antikörper nach einmaligem Gebrauch verworfen. Die gewaschenen Schnitte wurden anschließend in einem abgedunkelten Raum mit dem Alexa-fluor-Konjugat 568 überschichtet und für 2 h in einer feuchten Objektträgerbox bei 4°C belassen. Die folgenden Schritte wurden ebenfalls in einem abgedunkelten Raum durchgeführt, da das verwendete Alexa-fluor-Konjugat sehr lichtempfindlich ist. Nach einem 10 min Waschvorgang mit PBS wurden die Schnitte zuerst für 10 min mit Toluidinblau angefärbt um die starke Eigenfluoreszenz der Wurzelzellwände zu unterdrücken, und nach kurzem Waschen mit

PBS 10 min mit Anilinblau angefärbt. Die Objektträger wurden kurz mit PBS gewaschen, mit 1-2 Tropfen DABCO überschichtet und das aufgelegte Deckgläschen mit Nagellack abgedichtet. Die Objektträger wurden bis zur Sichtung im Mikroskop in einer feuchten Objektträgerbox bei 4°C aufbewahrt.

2.6.2.3 Auswertung

Die Fluoreszenz des Alexa-fluor-Konjugates 568 konnte am konfokalen Lasermikroskop (Zeiss LSM 5, Axioskop 2 mot plus) mit einem Helium-Argon-Laser bei einer Wellenlänge von 543 nm angeregt werden und erzeugte bei einer Extinktion von 603 nm eine rote Fluoreszenz, die mittels des Computerprogramms Pascal LSM 5 aufgenommen und ausgewertet werden konnte. Diese Methode lässt jedoch aufgrund einer nur relativen Intensitätsmessung nur eine vergleichende qualitative Aussage über die Verteilung der ABA im Maiswurzelgewebe zu. Eine quantitative Bestimmung der ABA-Konzentration ist nicht möglich.

Die Fluoreszenzsignale der Totalkontrollen (ABA-freies Medium, künstlicher Transpirationssog, ohne ABA-Antikörper und Alexa 568, mit Tolidin- und Anilinblau) wurden soweit abgeschwächt, dass diese nur noch ganz schwach zu erkennen waren. Die eigentlichen Proben wurden anschließend unter genau den selben Bedingungen aufgenommen. Diese Vorgehensweise ermöglichte es, die Unterschiede in den Intensitäten der Fluoreszenzsignale besser sichtbar zu machen, da das Mikroskop bzw. das Programm keine quantitative Aussage über die Intensität der Fluoreszenz zulässt. Um die Intensitätsunterschiede noch besser zu veranschaulichen, wurden die Bilder nicht in der „Fluoreszenzfarbe“ sondern im Falschfarbenmodus (glow mode) aufgenommen, da hier die Stärke des Signals nicht nur in der Intensität eines Farbtönen (rot) sondern in verschiedenen Farben dargestellt wird. Die Farbskala reicht hierbei von schwarz, für kein Fluoreszenzsignal, über rot, orange und gelb bis zu weiß, dem stärksten Signal, das der höchsten relativen ABA-Konzentration entspricht.

Für die Immunolokalisierung von ABA in Nährstoffmangelpflanzen (Kalium- und Nitratmangel) wurde identisch verfahren. Als Kontrollen dienten hierbei die entsprechenden in der Fluoreszenz abgeschwächten Mangelpflanzen.

2.7 Mikroskopische Bestimmung von Suberin

Für die Anfärbung von Suberin wurden verschiedene lipophile Farbstoffe getestet: Sudan III, Sudan VI, Sudan black und Sudan blue (= Oil blue N). Es stellte sich heraus, dass Oil blue N (Croma, Stuttgart Untertürkheim; Lillie and Conn 1977) die Caspary-Streifen der Endodermis am Besten anfärbte und wurde folglich für alle weiteren Experimente genutzt. Es wurde eine in 70 % Isopropanol gesättigte Lösung von Oil blue N verwendet (Robin Wacker, unveröffentlicht).

Als Untersuchungsmaterial dienten Wurzelsegmente von vollernährten sowie von kalium-, nitrat- und phosphatdefizienten Maispflanzen, die mit 100 nM ABA 40 min einem künstlichen Transpirationssog ausgesetzt waren (siehe 2.5). Die Wurzelsegmente stammten wie diejenigen für die Immunolokalisierung (siehe 2.6.2) aus einem Bereich von 50-60 mm hinter der Wurzelspitze. Die Vorbereitung der Segmente auf die Färbung erfolgte nach Robin Wacker (unveröffentlicht). Die Segmente wurden in 3% Formaldehyd (10% Formalin) fixiert und bis zur Verwendung bei 4°C aufbewahrt. Um ein Auswaschen des lipophilen Suberins während der Dehydrierung mit einer alkoholischen Reihe zu minimieren, wurden die Segmente zuvor 20 min mit 3% Kaliumdichromat angefärbt und 10 min mit H₂O_{dest} gewaschen. Die Segmente wurden entsprechend der Immunolokalisierung (siehe 2.6.2.2) mit EtOH/PBS dehydriert und in Steedman's Wax eingebettet. Es wurden 4 µm dicke Mikrotom-Schnitte (Schlittenmikrotom HN 40; Jung, Heidelberg) angefertigt. Die Auswertung der Schnitte erfolgte mit einem Durchlichtmikroskop.

2.8 Auswertung der Ergebnisse

2.8.1 Berechnung von J_v und J_{ABA}

Der Wasserfluss J_v [$\text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$] berechnet sich aus dem Volumen der entnommenen Xylemsaftproben [m^3] bezogen auf die Wurzeloberfläche [m^2] und die Zeit [s]. Der ABA-Fluss J_{ABA} [$\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$] konnte aus der ABA-Konzentration der Xylemsäfte bezogen auf das Volumen, die Wurzeloberfläche und die Zeit berechnet werden. Die Berechnung erfolgte jeweils für das steady-state Volumen vor und nach ABA-Zugabe.

Der ABA-Gehalt der Wurzelproben, bezogen auf ihr Frischgewicht [$\text{pmol g}^{-1}\text{FG}$], wurde vom Auswertungsprogramm des ELISA direkt ausgegeben

2.8.2 Graphische Auswertung

Die Auftragung von $J_v \cdot t$ [$\text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$] und $J_{\text{ABA}} \cdot t$ [$\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$] erfolgte in Kurvendiagrammen. Der Zeitpunkt 0 auf der x-Achse beschreibt den Zeitpunkt der Zugabe von externer ABA in das Medium.

J_v , J_{ABA} und der ABA-Gehalt des Wurzelgewebes wurden in Balken- und X-Y-Diagrammen dargestellt.

2.8.3 Statistische Auswertung

Die dargestellten Werte in den Kurven- und Balkendiagrammen sind Mittelwerte (MW). Die Fehlerbalken beschreiben die Standardabweichung (SD). Die Daten beziehen sich auf einen begrenzten Zeitraum, der in den jeweiligen Legenden vermerkt ist. Die Anzahl der Wiederholungen ist ebenfalls in den Legenden angegeben.

X-Y-Diagramme wurden statistisch ausgewertet (Dr. Heilmeyer). Hierzu wurde nach Überprüfung der Normalverteilung die Pearson-Korrelation angewandt. Die Berechnungen erfolgten mit SYSTAT 9 (SPSS Inc., Chicago, IL 60606-6307, 1999). Alle Berechnungen erfolgten an logarithmisch transformierten Daten. Die Wirkung einer ABA-Zugabe (100 nM) auf die Beziehung zwischen J_v und J_{ABA} wurden durch Analyse der Kovarianz (ANCOVA) überprüft, indem $\log_e(J_v)$ als Covariante diente und die ABA-Behandlung als grouping factor.

2.8.4 Bemerkung zu den Auswertungen

Die Experimente zur Bestimmung von Wasserflüssen unterlagen relativ großen Schwankungen, die zum Teil auf exogene Einflüsse zurückzuführen sind. Neben der in der Literatur beschriebenen diurnalen Rhythmik (Carvajal et al. 1996, Clarkson et al. 2000, Henzler et al. 1999) können auch annuelle Schwankungen und externe Einflüsse L_p und J_v beeinflussen. Diese möglichen Ursachen sind in dieser Arbeit nicht belegt, lassen sich aber eventuell mit Schwankungen der Temperatur, der Luftfeuchtigkeit und der Qualität und Intensität der Lichteinstrahlung erklären. Die Pflanzenanzucht wurde zwar im Gewächshaus unter „kontrollierten Bedingungen“ durchgeführt,

Schwankungen konnten jedoch aufgrund äußerer Einflüsse wie der Sonneneinstrahlung oder hohen Temperaturen im Sommer nicht vermieden werden. Zusätzlich spielen externen Faktoren im Labor eine Rolle, da sie bereits vor Versuchsbeginn die Stomatabewegungen und den Wurzeldruck beeinflussen.

Soweit nicht anders vermerkt, beziehen sich die Daten dieser Arbeit auf das Jahresmittel. Der Vergleich von Ergebnissen ist zur besseren Veranschaulichung jeweils aus einer vergleichbaren Zeitperiode zusammengestellt, dies ist aber jeweils bei den betreffenden Punkten vermerkt.

3 Ergebnisse

3.1 Pflanzenmorphologie

Maiskeimlinge entwickelten während der 4 tägigen Vorkeimung bei 37°C im Dunkeln eine bis zu 12 cm lange Primärwurzel und eine bis zu 7 cm lange Koleoptile. Während der Monate November bis Januar betrug die Länge der Wurzel nur noch 5-7 cm, die der Koleoptile 3-5 cm, um ab Februar wieder anzusteigen.

3.1.1 Hydrokultur

3.1.1.1 Vollmedium

Das Wachstum der Pflanze wird nicht nur durch die Nährstoffzusammensetzung der Bodenlösung beeinflusst, sondern zu Beginn der Entwicklung auch durch die Karyopse. Das verringerte Wachstum von ohne Karyopse kultivierten vollernährten Maiskeimlingen lässt sich unter anderem auf das Fehlen der in der Karyopse vorhandenen Kohlenhydrate zurückführen, da der größte Teil der Karyopse, das Endosperm, aus Stärke besteht. Hinzu kommen die in der Aleuronschicht und im Embryo gespeicherten Proteine und Nährstoffe. Ein Ersatz der Kohlenhydrate aus der Karyopse durch exogene Zugabe von 5 mM Glucose in das Nährmedium konnte aufgrund einer sehr raschen Verpilzung erst 24 h vor Versuchsbeginn und auch dann nur unter Zugabe von Penicillin G erfolgen. Das Wachstum des Keimlings wurde durch externe Glucose während des Versuchszeitraumes nicht verändert.

Das Frischgewicht der Wurzel von 7 Tage in Vollmedium kultivierten intakten Maiskeimlingen (mit Karyopse) betrug $1,0 \pm 0,3$ g bei einer Oberfläche von $0,0085 \pm 0,0024$ m². Der Spross hatte ein Frischgewicht von $2,4 \pm 0,7$ g (Tab. 3).

Das Entfernen der Karyopse verringerte sowohl das Spross- als auch das Wurzelwachstum (Tab. 4). Das Sprossgewicht reduzierte sich um 62%, das Wurzelgewicht und die Wurzeloberfläche nahmen jeweils um etwa 70% ab. Das Gewichtsverhältnis von Wurzel zu Spross reduzierte sich um 20%, d.h., dass das Sprosswachstum durch das Entfernen der Karyopse stärker beeinträchtigt wurde als das der Wurzel.

3.1.1.2 Nährstoffmangel

Eine Anpassung des Wurzel- und Sprosswachstums an die Nährstoffsituation lässt sich bei allen Pflanzen beobachten. Sie ist eine wichtige Voraussetzung für die bestmögliche Versorgung der Pflanze mit Wasser und Nährstoffen. Die Anpassung lässt sich jedoch nicht pauschalisieren, es findet nicht immer eine Reduktion des Wachstums statt und manchmal ist eher das Wachstum des Sprosses betroffen, manchmal das der Wurzel (Chevalier et al. 2003, Marschner 1995).

Tabelle 3 stellt das Wurzel- und Sprossgewicht und die Wurzeloberfläche in intakten Keimlingen aus Voll- und Mangelmedium dar. Das Wurzel- und Sprossgewicht war in allen nährstoffdefizienten Keimlingen erniedrigt, wobei in Ca^{2+} -Mangelkultur das Wurzelgewicht um 60%, in den anderen defizienten Keimlingen nur schwach reduziert war. Das Sprossgewicht in 0,5 mM CaSO_4 war um 60%, unter Ca^{2+} - und K^+ -Mangel um 40-50% erniedrigt. Die Abnahme in NO_3^- -, PO_4^{3-} - und SO_4^{2-} -defizienten Keimlingen betrug etwa 20-30%. Die Analyse des Wurzel:Spross-Verhältnisses ergab ein im Vergleich zur Wurzel stärker reduziertes Sprosswachstum in NO_3^- -, K^+ - und Ca^{2+} -defizienten Keimlingen. In CaSO_4 war das Verhältnis überdurchschnittlich stark zum Nachteil des Sprosswachstums verschoben. Unter PO_4^{3-} -, SO_4^{2-} -Mangelbedingungen veränderte sich das Gewichtsverhältnis hingegen nicht.

Tabelle 3: Wurzel- und Sprossgewicht, Wurzeloberfläche, das Verhältnis von Wurzelgewicht zu Oberfläche [g/m^2] sowie das Gewichtsverhältnis von Wurzel zu Spross in intakten Keimlingen aus Voll- und Mangelmedium. Jahresdurchschnitt. MW \pm SD.

	Wurzelgewicht [g]	Wurzeloberfläche [m^2]	g / m^2	Sprossgewicht [g]	Wurzel/Spross
Vollmedium (n = 47)	1,0 \pm 0,3	0,0084 \pm 0,0024	119	2,4 \pm 0,7	0,4
NO_3^- -Mangel (n = 11)	0,9 \pm 0,2	0,0088 \pm 0,0016	102	1,7 \pm 0,3	0,5
PO_4^{3-} -Mangel (n = 10)	0,8 \pm 0,3	0,0082 \pm 0,0027	97	1,9 \pm 0,4	0,4
K^+ -Mangel (n = 13)	0,8 \pm 0,2	0,0088 \pm 0,0023	91	1,4 \pm 0,2	0,6
SO_4^{2-} -Mangel (n = 24)	0,8 \pm 0,3	0,0073 \pm 0,0027	109	2,0 \pm 0,5	0,4
Ca^{2+} -Mangel (n = 9)	0,6 \pm 0,2	0,0050 \pm 0,0015	114	1,2 \pm 0,2	0,5
CaSO_4 -Kultur (n = 12)	0,9 \pm 0,3	0,0076 \pm 0,0023	118	0,9 \pm 0,2	1,0

Das Entfernen der Karyopse reduzierte sowohl das Wurzel- und Sprossgewicht als auch die Wurzeloberfläche in vollernährten Keimlingen um etwa 70% (Tab. 3 und 4). Da das Wachstum durch die Zugabe von 5 mM Glucose (24 h vor Versuchsbeginn) nicht verändert wurde, werden im Folgenden Keimlinge ohne Karyopse bzw. mit Glucose im Medium zusammengefasst. Unter Mangelbedingungen wurden das Wurzel- und Sprossgewicht durch das Entfernen der Karyopse nur um etwa 40-60% reduziert. In CaSO_4 wurde das Wurzelgewicht um 80% reduziert. Der Vergleich mit vollernährten Keimlingen ergab ein unverändertes Wurzelgewicht in NO_3^- -, PO_4^{3-} - und K^+ -defizienten Keimlingen, während es unter Ca^{2+} -Mangel und bei CaSO_4 -Kultur abnahm. Das Sprossgewicht war unter Ca^{2+} -Mangel und in CaSO_4 am stärksten reduziert.

Tabelle 4: Wurzel- und Sprossgewicht, Wurzeloberfläche, das Verhältnis von Wurzelgewicht zu Oberfläche [g/m^2] sowie das Gewichtsverhältnis von Wurzel zu Spross in Keimlingen ohne Karyopse aus Voll- und Mangelmedium. Jahresdurchschnitt. MW \pm SD.

	Wurzelgewicht [g]	Wurzeloberfläche [m^2]	g / m^2	Sprossgewicht [g]	Wurzel/Spross
P&S (n = 39)	0,3 \pm 0,1	0,0027 \pm 0,0013	111	0,9 \pm 0,3	0,3
NO_3^- -Mangel (n = 31)	0,3 \pm 0,1	0,0025 \pm 0,0008	120	0,7 \pm 0,1	0,4
PO_4^{3-} -Mangel (n = 27)	0,3 \pm 0,1	0,0031 \pm 0,0010	97	0,9 \pm 0,2	0,3
K^+ -Mangel (n = 24)	0,3 \pm 0,1	0,0033 \pm 0,0008	91	0,7 \pm 0,1	0,4
Ca^{2+} -Mangel (n = 24)	0,2 \pm 0,0	0,0019 \pm 0,0003	105	0,6 \pm 0,1	0,5
SO_4^{2-} -Mangel (n = 13)	0,4 \pm 0,1	0,0026 \pm 0,0010	154	1,0 \pm 0,3	0,4
CaSO_4 (n = 25)	0,2 \pm 0,0	0,0018 \pm 0,0004	111	0,5 \pm 0,1	0,4

3.1.1.3 Salzstress

Wurde Mais in Vollmedium mit 50 mM NaCl angezogen verringerte sich das Frischgewicht der Wurzel und des Sprosses nur tendenziell (Tab. 5). Die Wurzeloberfläche reduzierte sich nicht.

Tabelle 5: Wurzel- und Sprossgewicht, Wurzeloberfläche, das Verhältnis von Wurzelgewicht zu Oberfläche [g/m^2] sowie das Gewichtsverhältnis von Wurzel zu Spross in intakten Keimlingen aus NaCl-Kultur. Jahresdurchschnitt. MW \pm SD.

	Wurzelgewicht [g]	Wurzeloberfläche [m^2]	g / m^2	Sprossgewicht [g]	Wurzel/Spross
Vollmedium	1,0 \pm 0,3	0,0084 \pm 0,0024	119	2,4 \pm 0,7	0,4
50 mM NaCl	0,8 \pm 0,2	0,0082 \pm 0,0023	97	1,9 \pm 0,4	0,4

3.1.1.4 Hypoxie

In den durchgeführten Experimenten mit an Sauerstoff verarmter Nährlösung konnten keine drastischen Veränderungen im Gewicht von Wurzel und Spross festgestellt werden (Tab. 6), auch ansonsten waren rein äußerlich keinerlei Mangelsymptome zu erkennen. Es vergrößerte sich jedoch die Wurzeloberfläche mit zunehmender Dauer der Hypoxie. Durch die Vergrößerung der Wurzeloberfläche wird die Sauerstoffaufnahme über die Wurzel aus der sauerstoffarmen Nährlösung verbessert.

Tabelle 6: Wurzel- und Sprossgewicht und Wurzeloberfläche von 11 d alten Maiskeimlingen aus unbelüfteter Hydrokultur. Zusätzlich dargestellt ist das Verhältnis von Gewicht zu Wurzeloberfläche. Als Kontrolle dienen belüftete vollernährte Maispflanzen. 24 h – 7d gibt die Zeitspanne an, in der die Belüftung der Nährlösung vor Versuchbeginn unterblieb. Die Keimlinge stammen aus dem Zeitraum September bis Februar. MW \pm SD.

	Wurzelgewicht [g]	Wurzeloberfläche [m^2]	g / m^2	Sprossgewicht [g]	Wurzel/Spross
Kontrolle (n = 21)	0,9 \pm 0,3	0,0079 \pm 0,0022	115	2,0 \pm 0,6	0,5
24h (n = 7)	0,9 \pm 0,2	0,0080 \pm 0,0019	109	1,9 \pm 0,4	0,5
48h (n = 3)	1,1 \pm 0,2	0,0103 \pm 0,0020	105	2,6 \pm 0,2	0,4
72h (n = 5)	0,9 \pm 0,4	0,0110 \pm 0,0045	85	2,0 \pm 0,6	0,5
96h (n = 8)	0,9 \pm 0,3	0,0107 \pm 0,0037	85	2,1 \pm 0,5	0,4
144h (n = 7)	1,1 \pm 0,2	0,0119 \pm 0,0025	94	2,3 \pm 0,6	0,5
7d (n = 6)	0,9 \pm 0,1	0,0106 \pm 0,0016	81	2,0 \pm 0,4	0,5

3.1.2 Luftkultur

In aeroponisch kultivierten intakten Maiskeimlingen verringerten sich sowohl das Wurzel- und Sprossgewicht als auch die Wurzeloberfläche, im Vergleich zu hydroponisch kultivierten Keimlingen, um 50-60% (Tab. 7). Wie das Verhältnis von Wurzel- zu Sprossgewicht zeigt, wird das Wachstum des Sprosses in Luftkultur stärker gehemmt als das der Wurzel. Die Oberfläche der Wurzel wird stärker reduziert als das Gewicht.

In Keimlingen ohne Karyopse hingegen ist das Wurzelgewicht und die Wurzeloberfläche vergleichbar, das Sprossgewicht schwach erniedrigt.

Das Wurzel/Spross-Verhältnis ist in aeroponisch kultivierten Keimlingen deutlich erhöht (Tab. 7).

Tabelle 7: Wurzel- und Sprossgewicht und Wurzeloberfläche von aeroponisch kultivierten 11 d alten Maiskeimlingen. Jahresdurchschnitt. MW \pm SD (n = 17-23).

		Wurzelgewicht [g]	Wurzeloberfläche [m ²]	g / m ²	Sprossgewicht [g]	Wurzel/Spross
Intakte Keimlinge	Hydrokultur	1,0 \pm 0,3	0,0084 \pm 0,0024	119	2,4 \pm 0,7	0,42
	Luftkultur	0,5 \pm 0,3	0,0031 \pm 0,0021	161	0,9 \pm 0,4	0,55
Keimlinge ohne Karyopse	Hydrokultur	0,3 \pm 0,1	0,0027 \pm 0,0013	111	0,9 \pm 0,3	0,33
	Luftkultur	0,4 \pm 0,2	0,0026 \pm 0,0011	154	0,6 \pm 0,2	0,67

3.2 Wasserfluss, ABA-Fluss und endogener ABA-Gehalt des Wurzelgewebes

In diesem Abschnitt sollen die annuellen Schwankungen von J_v und J_{ABA} und die Auswirkungen der Karyopse bzw. des Glucosezusatzes an voll- und mangelernährten Keimlingen dargestellt werden, ohne jedoch auf die einzelne Nährstoffsituation näher einzugehen. $J_v \cdot t$ bzw. $J_{ABA} \cdot t$ sind in den Abbildungen 4, 5 und 6 bzw. 7, 8 und 9 zur besseren Veranschaulichung sowohl der annuellen als auch der durch die Karyopse bedingten Schwankungen in jeweils gleichem Maßstab dargestellt. Der Maßstab in Abbildung 7a ist aufgrund der hohen Werte größer gewählt. Da die Standardabweichungen zum Teil sehr hoch sind, beziehen sich die folgenden Aussagen

auf die jeweiligen Mittelwerte. Die genauere Betrachtung der Resultate erfolgt in Abschnitt 3.3 unter den jeweilig dargestellten Stressbedingungen.

3.2.1 Annuelle Schwankungen des Wasserflusses

Die Abbildungen 4, 5 und 6 beschreiben $J_v \cdot t$ von hydroponisch in Voll- bzw. Nährstoffmangelmedium kultivierten 11 d alten Maiskeimlingen. Zum Zeitpunkt 0 wurde 100 nM externe ABA in das Medium verabreicht. Die Graphiken zeigen jeweils die Mittelwerte aus den Monaten April bis Juli (4a, 5a, 6a) bzw. Oktober bis Februar (4b, 5b, 6b). In intakten Keimlingen und jenen mit Glucose im Medium sind die annuellen Einflüsse deutlich ausgeprägt. In den Monaten April bis Juli ist J_v höher als von Oktober bis Februar. In Keimlingen ohne Karyopse sind hingegen kaum Schwankungen zu erkennen. Die Monate August und September sind in diesen Graphiken nicht erfasst, da sie überdurchschnittlich großen Schwankungen unterlagen.

3.2.2 Annuelle Schwankungen des ABA-Flusses

Die Abbildungen 7, 8 und 9 zeigen die zu den Abbildungen 4, 5 und 6 korrespondierenden $J_{ABA} \cdot t$. Der Zeitpunkt 0 markiert die ABA-Zugabe (100 nM) in das Medium. Die Mittelwerte von $J_{ABA} \cdot t$ für die Monate April bis Juli bzw. Oktober bis Februar weisen sehr große Standardabweichungen auf. Diese Abweichungen sind nicht nur auf die Schwankungen zwischen den einzelnen Monaten zurückzuführen, auch die Abweichungen innerhalb weniger Tage können sehr groß sein. Es scheint, dass J_{ABA} wesentlich stärker durch die Jahreszeiten beeinflusst wird als J_v . Von April bis Juli ist J_{ABA} stets höher als von Oktober bis Februar. Am Deutlichsten lässt sich dies in intakten bzw. mit Glucose versorgten Keimlingen erkennen. In Keimlingen ohne Karyopse sind diese Schwankungen weit weniger deutlich ausgeprägt.

3.2.3 Nährstoffversorgung durch die Karyopse

Die Zusammensetzung der Karyopse aus Kohlenhydraten, Proteinen, Lipiden und Mineralstoffen führt in ihrer Gesamtheit zu einer gesunden und kräftigen Entwicklung des Keimlings.

3.2.3.1 Elementarzusammensetzung der Karyopse

Die Gesamtgehalte der Karyopsen 4 Tage alter Maiskeimlinge an N, S, P, K, Ca und Na wurde mittels CHN-Analyse und ICP-Spektroskopie ermittelt. Die Vorkeimung erfolgte entsprechend den Versuchen zur Bestimmung von J_v und J_{ABA} auf 0,5 mM CaSO_4 . Um zu überprüfen, ob die zur Vorkeimung verwendete Lösung die Elementarzusammensetzung der Karyopse verändert, wurden zusätzlich Keimlinge auf $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest.}}$ bzw. 0,5 mM CaCl_2 angezogen.

Abbildung 3 zeigt, dass die Zusammensetzung der Karyopse nicht durch das verwendete Kulturmedium während der Keimung verändert wurde. Auch im Spross- und Wurzelwachstum konnten keine Veränderungen beobachtet werden.

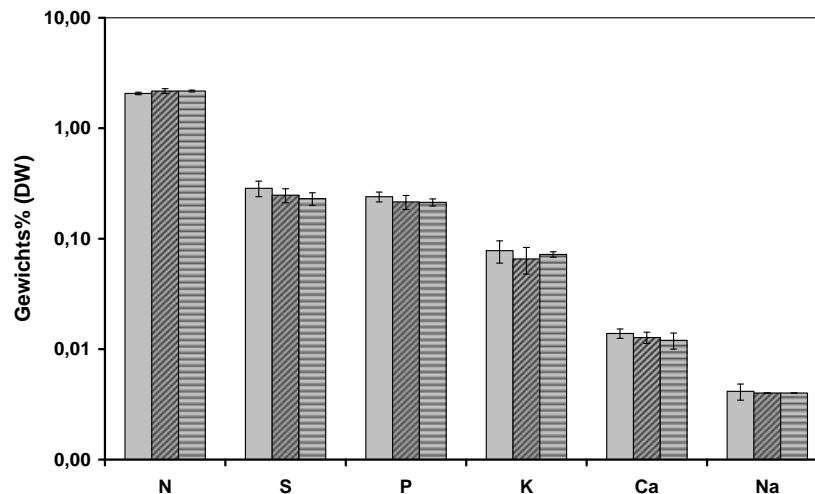


Abbildung 3: Elementarzusammensetzung von Maiskaryopsen nach 4d Vorkeimung auf (grau) 0,5 mM CaSO_4 , (schraffiert) $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest.}}$, (liniert) 0,5 mM CaCl_2 . Mai bis Juni. Mittelwerte \pm SD ($n = 4-16$).

3.2.3.2 Auswirkungen der Karyopse auf den Wasserfluss

Das Entfernen der Karyopse wirkt sich bei allen betrachteten Maiskeimlingen aus Voll- und Nährstoffmangelmedium hemmend auf $J_v \cdot t$ aus (Abb. 4, 5). Die Abnahme von $J_v \cdot t$ ist von April bis Juli (Abb. 4a, 5a) stärker als von Oktober bis Februar (Abb. 4b, 5b). Diese Reduktion von $J_v \cdot t$ kann durch den Zusatz von Glucose in das Medium vollständig kompensiert werden und übersteigt sogar $J_v \cdot t$ von intakten Keimlingen (Abb. 4, 6).

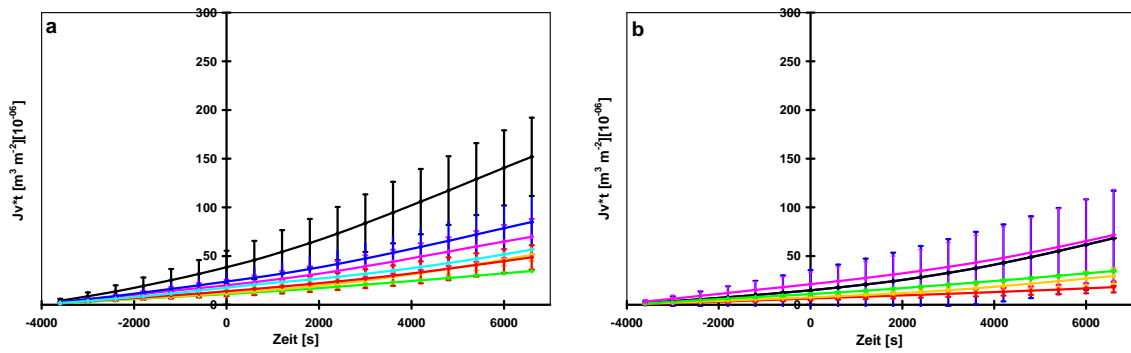


Abbildung 4: $J_v \cdot t$ in intakten Keimlingen aus Voll- und Nährstoffmangelmedium. (a) April - Juli, (b) Oktober – Februar. (blau) Vollmedium, (schwarz) K^+ -Mangel, (grün) NO_3^- -Mangel, (rot) PO_4^{3-} -Mangel, (türkis) SO_4^{2-} -Mangel, (pink) Ca^{2+} -Mangel, (orange) $CaSO_4$. MW \pm SD (n = 1-21).

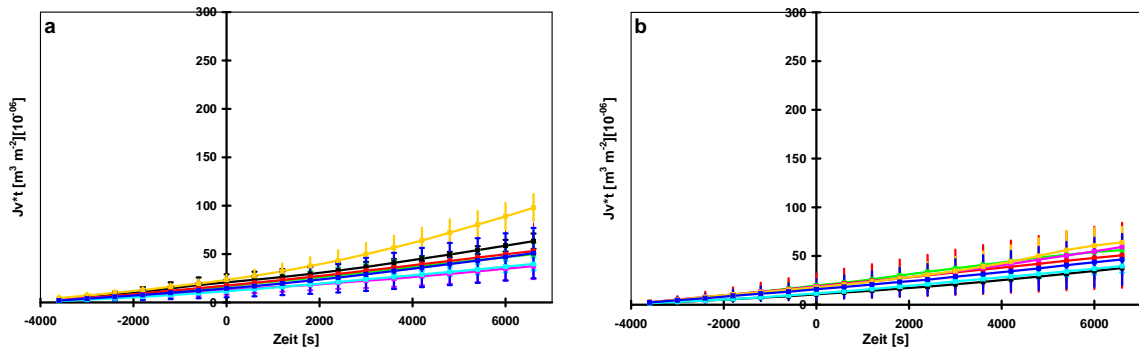


Abbildung 5: $J_v \cdot t$ Keimlingen ohne Karyopse aus Voll- und Nährstoffmangelmedium. (a) April - Juli, (b) Oktober – Februar. (blau) Vollmedium, (schwarz) K^+ -Mangel, (grün) NO_3^- -Mangel, (rot) PO_4^{3-} -Mangel, (türkis) SO_4^{2-} -Mangel, (pink) Ca^{2+} -Mangel, (orange) $CaSO_4$. MW \pm SD (n = 1-7).

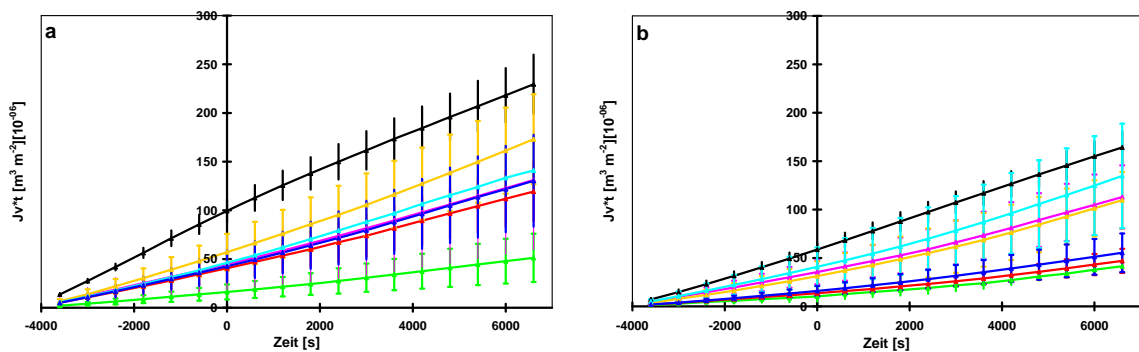


Abbildung 6: $J_v \cdot t$ in Keimlingen mit Glucose aus Voll- und Nährstoffmangelmedium. (a) April - Juli, (b) Oktober – Februar. (blau) Vollmedium, (schwarz) K^+ -Mangel, (grün) NO_3^- -Mangel, (rot) PO_4^{3-} -Mangel, (türkis) SO_4^{2-} -Mangel, (pink) Ca^{2+} -Mangel, (orange) $CaSO_4$. MW \pm SD (n = 1-6).

3.2.3.3 Auswirkungen der Karyopse auf den ABA-Fluss

Die Karyopse und die darin enthaltenen Nährstoffe beeinflusst nicht nur J_v sondern auch J_{ABA} . Aufgrund der überdurchschnittlich hohen Standardabweichungen lassen sich jedoch nur tendenzielle Rückschlüsse ziehen. Durch das Entfernen der Karyopse stieg J_{ABA} von April bis Juli (Abb. 7a, 8a) weniger an als von Oktober bis Februar (Abb. 7b, 8b). Die Zugabe von Glucose hatte immer einen stimulierenden Effekt auf J_{ABA} (Abb. 9a, b).

3.2.3.4 Endogener und interner ABA-Gehalt des Maiswurzelgewebes

Endogene ABA beschreibt die von der Pflanze selbst synthetisierte ABA. Interne ABA bezeichnet den ABA-Gehalt der Wurzel nach Zugabe 100 nM externer ABA.

Der endogene ABA-Gehalt von intakten Keimlingen aus NO_3^- -, PO_4^{3-} -, SO_4^{2-} -, Ca^{2+} -Mangelkultur und aus CaSO_4 -Kultur unterschied sich nicht von vollernährten Keimlingen (Abb. 10a). In intakten K^+ -defizienten Keimlingen war er deutlich erhöht.

Das Entfernen der Karyopse führt nur unter K^+ -Mangelbedingungen zu einer Erniedrigung des ABA-Gehaltes, unter allen anderen Bedingungen war die Konzentration unverändert bzw. leicht erhöht (Abb. 10a). Der ABA-Gehalt von Keimlingen ohne Karyopse war in NO_3^- -Mangel- und Vollmedium identisch, unter den anderen Nährstoffbedingungen waren die Werte um das 1,5 - 3,9fache höher als im Vollmedium.

Die Zugabe von 5 mM Glucose in das Medium erhöhte die endogene ABA im Wurzelgewebe von Keimlingen aus K^+ - und NO_3^- -Mangelmedium, aus CaSO_4 -Kultur und Vollmedium (Abb. 10a). In PO_4^{3-} -, SO_4^{2-} - und Ca^{2+} -Mangelkultur kam es zu keiner oder lediglich einer tendenziellen Steigerung des ABA-Gehaltes.

Im Vergleich zu vollernährten Keimlingen war die endogene ABA in Keimlingen mit Glucose im Nährmedium nur in K^+ - und NO_3^- -defizienten Wurzeln gesteigert. Unter PO_4^{3-} -, SO_4^{2-} -, Ca^{2+} -Mangel und in CaSO_4 -Kultur sank der ABA-Gehalt tendenziell (Abb. 10 a).

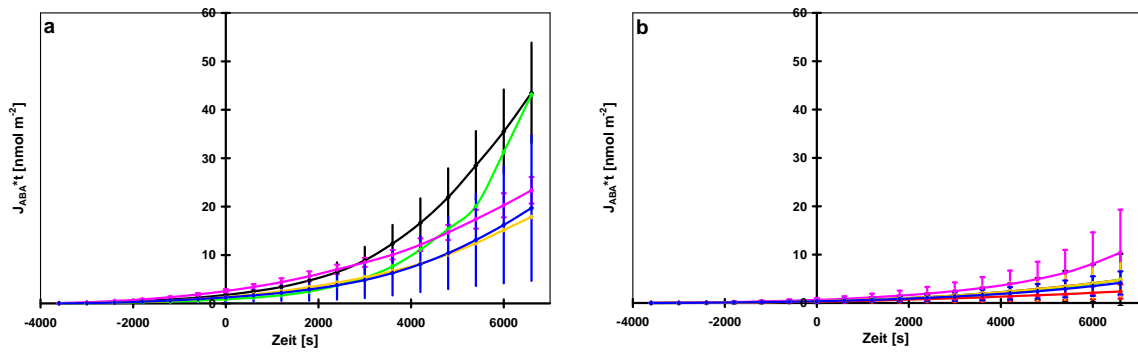


Abbildung 7: J_{ABA}^t in intakten Keimlingen aus Voll- und Nährstoffmangelmedium. (a) April - Juli, (b) Oktober - Februar. (blau) Vollmedium, (schwarz) K^+ -Mangel, (grün) NO_3^- -Mangel, (rot) PO_4^{3-} -Mangel, (türkis) SO_4^{2-} -Mangel, (pink) Ca^{2+} -Mangel, (orange) $CaSO_4$. MW \pm SD (n = 1-14).

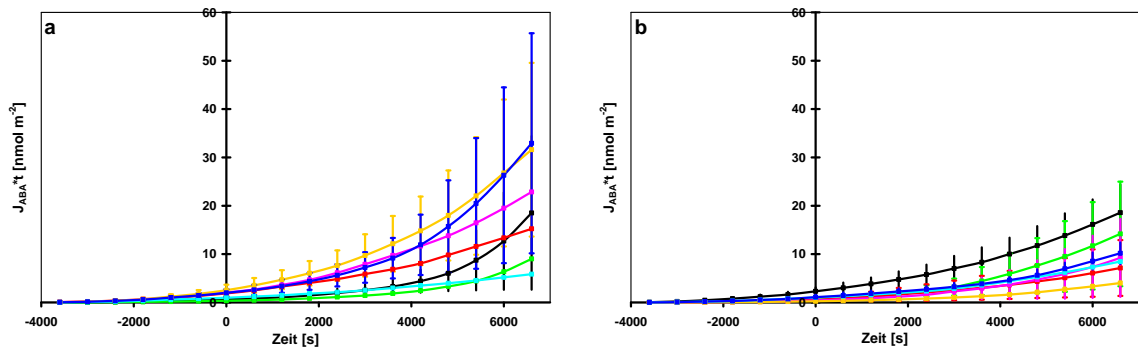


Abbildung 8: J_{ABA}^t in Keimlingen ohne Karyopse aus Vollmedium und Nährstoffmangelmedium. (a) April - Juli, (b) Oktober - Februar. (blau) Vollmedium, (schwarz) K^+ -Mangel, (grün) NO_3^- -Mangel, (rot) PO_4^{3-} -Mangel, (türkis) SO_4^{2-} -Mangel, (pink) Ca^{2+} -Mangel, (orange) $CaSO_4$. MW \pm SD (n = 1-4).

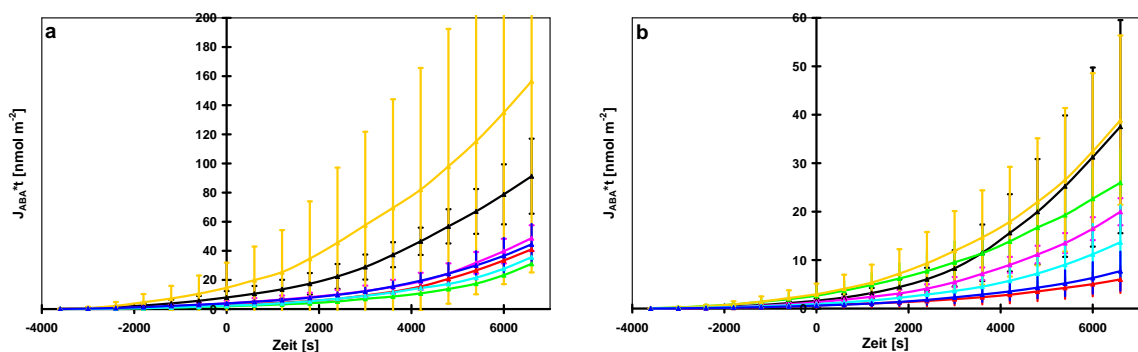


Abbildung 9: J_{ABA}^t in Keimlingen mit Glucose aus Vollmedium und Nährstoffmangelmedium. (a) April - Juli, (b) Oktober - Februar. (blau) Vollmedium, (schwarz) K^+ -Mangel, (grün) NO_3^- -Mangel, (rot) PO_4^{3-} -Mangel, (türkis) SO_4^{2-} -Mangel, (pink) Ca^{2+} -Mangel, (orange) $CaSO_4$. MW \pm SD (n = 1-4).

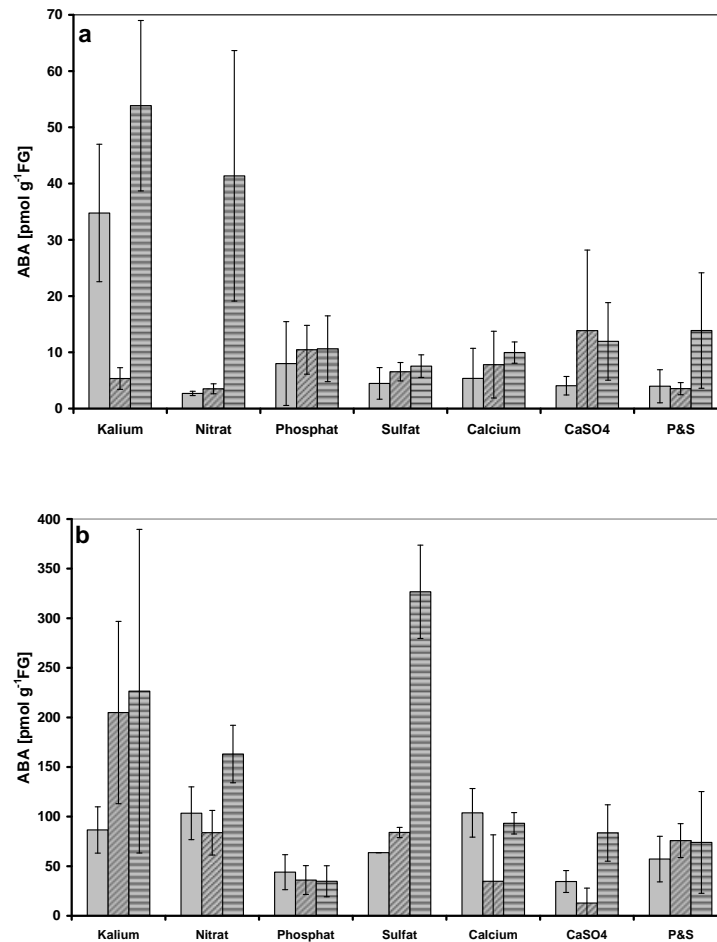


Abbildung 10: Endogene (a) und interne (b) ABA im Wurzelgewebe von 11 d alten Maiskeimlingen aus Vollmedium und Nährstoffmangelmedien. (grau) intakte Keimlinge (schraffiert) Keimlinge ohne Karyopse, (liniert) Keimlinge mit Glucose im Nährmedium. Jahresdurchschnitt. MW \pm SD (n = 1-18).

Die Zugabe 100 nM externer ABA in das Medium erhöhte erwartungsgemäß den ABA-Gehalt im Wurzelgewebe (interne ABA; Abb. 10 b) von Maiskeimlingen aus allen Nährstoffbedingungen. Die größten Steigerungen ließen sich in intakten Keimlingen unter NO₃⁻-Mangel feststellen (Abb. 10; 35fach). Die Steigerungen unter SO₄²⁻- und Ca²⁺-Defizienz befanden sich im Bereich des Vollmediums (15-20fach), unter K⁺- und PO₄³⁻-Mangel und in CaSO₄ stieg der ABA-Gehalt weniger stark an. In Keimlingen ohne Karyopse war der höchste Anstieg in K⁺-defizienten Wurzeln zu erkennen, in Vollmedium und unter NO₃⁻-Mangel betrug er etwa das 22fache, unter PO₄³⁻- und Ca²⁺-Mangel das 4fache. In CaSO₄ kam es zu keiner Zunahme des ABA-Gehaltes im Wurzelgewebe. In Keimlingen mit Glucose war die deutlichste Steigerung unter

SO_4^{2-} -Mangel zu erkennen (40fach). In Vollmedium, Ca^{2+} -, PO_4^{3-} -, NO_3^- - und K^+ -Mangelkultur und in CaSO_4 stieg der Gehalt nur auf das 3 -10fache.

3.3 Auswirkungen von Stress auf den radialen Wasser- und ABA-Fluss und den endogenen ABA-Gehalt des Wurzelgewebes

3.3.1 Vollernährte Maiskeimlinge (Kontrollen)

3.3.1.1 Elementarzusammensetzung der Wurzel

Die Gesamtgehalte der Wurzel an N, S, P, K, Ca und Na wurden durch die Vorkeimung auf 0,5 mM CaSO_4 , $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest.}}$ oder 0,5 mM CaCl_2 nicht verändert (Tab. 9, Abb. 11).

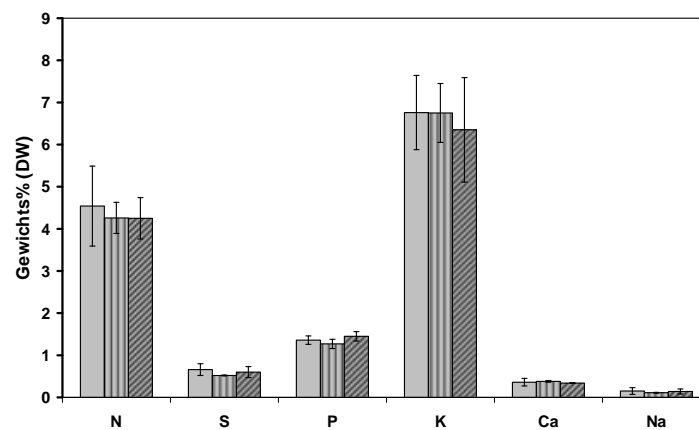


Abbildung 11: Elementarzusammensetzung der Wurzel vollernährter Maiskeimlinge. Vorkeimung auf 0,5 mM CaSO_4 , (liniert) $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest.}}$, (schraffiert) 0,5 mM CaCl_2 . Mai-Juni. MW \pm SD (n = 2-3).

3.3.1.2 Annuelle und durch die Karyopse bedingte Schwankungen

Intakte vollernährte Maiskeimlinge aus Hydrokultur zeigten eine klar erkennbare Reduktion des radialen Wasserflusses J_v über das Jahr hinweg (Abb. 12). Im März und April wiesen die Keimlinge mit $7,0 \cdot 10^{-9} \pm 1,3 \cdot 10^{-9} [\text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}]$ die größten Wasserflüsse auf. J_v sank in den Folgemonaten kontinuierlich, auf von Oktober bis November, nur noch $2,1 \cdot 10^{-9} \pm 0,6 \cdot 10^{-9} [\text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}]$. 100 nM externe ABA stimulierte J_v um 70-130 %.

In Keimlingen, denen nach der Vorkeimung die Karyopse entfernt wurde, war die annuelle Abhängigkeit von J_v deutlich schwächer ausgeprägt (Abb. 12). Nur nach Zugabe externer ABA war tendenziell eine Abschwächung des Wasserflusses von Mai

bis November festzustellen. In Keimlingen mit 5 mM Glucose im Nährmedium war ein starkes Absinken von J_v und $J_{v(ABA)}$ von März/April bis Oktober/November erkennbar.

Durch das Entfernen der Karyopse wurde der radiale Wasserfluss kaum verändert (Abb. 12). Die Zugabe von 5 mM Glucose zu Keimlingen ohne Karyopse führte zu einer Stimulierung von J_v .

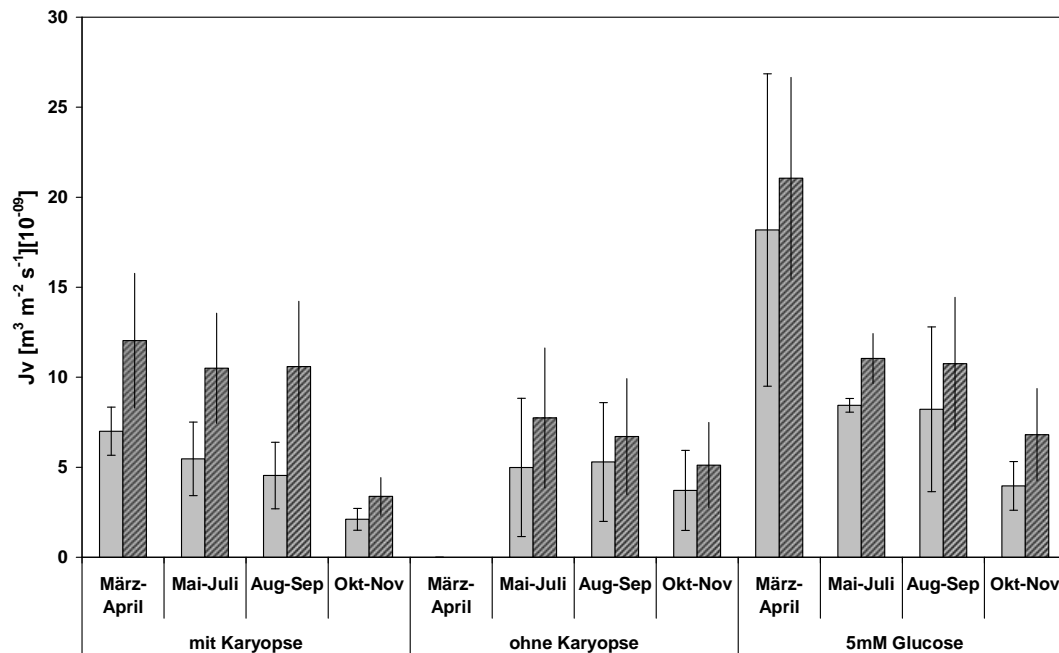


Abbildung 12: Annuelle und durch die Karyopse bedingte Schwankungen von vollernährten Maiskeimlingen. (grau) J_v , (schraffiert) $J_{v(ABA)}$. MW \pm SD (n = 3-15).

J_{ABA} und $J_{ABA(ABA)}$ in intakten Keimlingen zeigten ebenfalls eine Abschwächung von März/April bis Oktober/November (Abb. 13). Für Keimlinge ohne Karyopse ist, aufgrund der extrem hohen Schwankungen, keine Aussage möglich. In Keimlingen mit Glucose war eine starke Abnahme von J_{ABA} und $J_{ABA(ABA)}$ von Mai/Juli bis Oktober/November erkennbar.

Über annuelle Schwankungen der endogenen bzw. internen ABA im Maiswurzelgewebe ist aufgrund der Datenmenge keine Aussage möglich (Abb. 14).

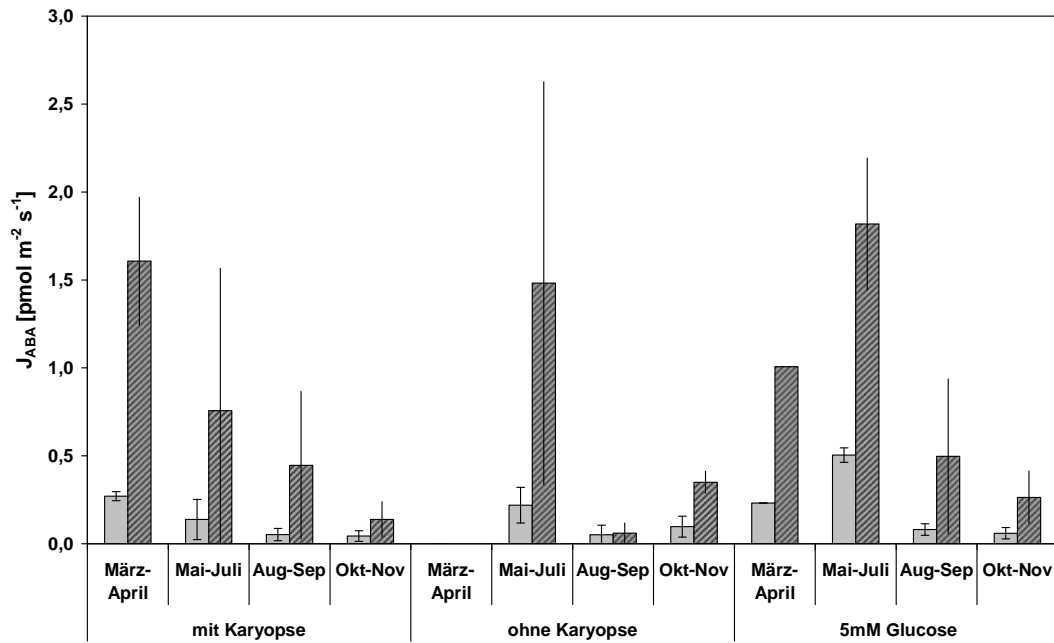


Abbildung 13: Annuelle und durch die Karyopse bedingte Schwankungen von J_{ABA} und $J_{ABA(ABA)}$ in vollernährten Keimlingen. (grau) J_{ABA} , (schraffiert) $J_{ABA(ABA)}$. MW \pm SD (n = 1-13).

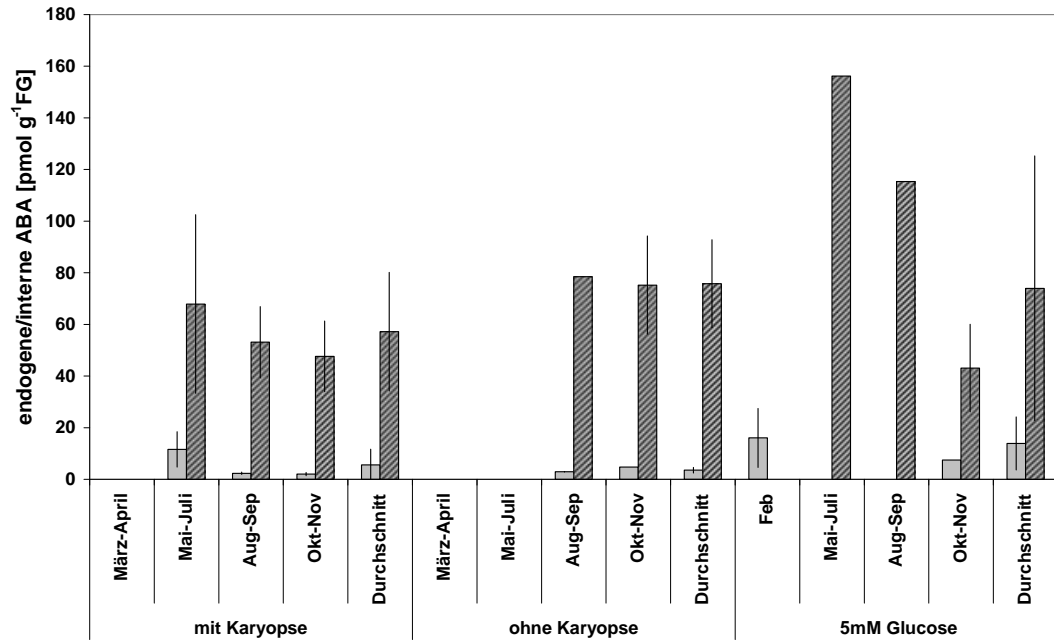


Abbildung 14: Annuelle Schwankungen der endogenen und internen ABA im Wurzelgewebe vollernährter Keimlinge. (grau) endogener ABA-Gehalt, (schraffiert) interner ABA-Gehalt. MW \pm SD (n = 1-5).

3.3.1.3 Wasserfluss in vollernährten Keimlingen

Abbildung 15 zeigt die additive Auftragung der im Saugexperiment entnommenen Xylemsaftmengen gegen die Zeit ($J_v \cdot t$) und dessen Stimulierung durch 100 nM externe ABA. Die Graphik zeigt die Kurven von Keimlingen mit Karyopse (durchgezogene Linie), ohne Karyopse (gepunktet) und mit Glucose im Medium (gestrichelt). Stellt man $J_v \cdot t$ nur für einen Monat dar, in diesem Fall Oktober, erkennt man, dass die Karyopse keinen stimulierenden Effekt auf $J_v \cdot t$ hat (Abb. 15, Tab. 8). Die Zugabe von Glucose hingegen verdoppelt $J_v \cdot t$. In Vorversuchen wurde festgestellt, dass eine Glucosegabe in das Medium intakter Keimlinge zu keiner Stimulation von J_v führte ($4,74 \cdot 10^{-09}$ bzw. $4,93 \cdot 10^{-09} \text{ m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ für den Monat September).

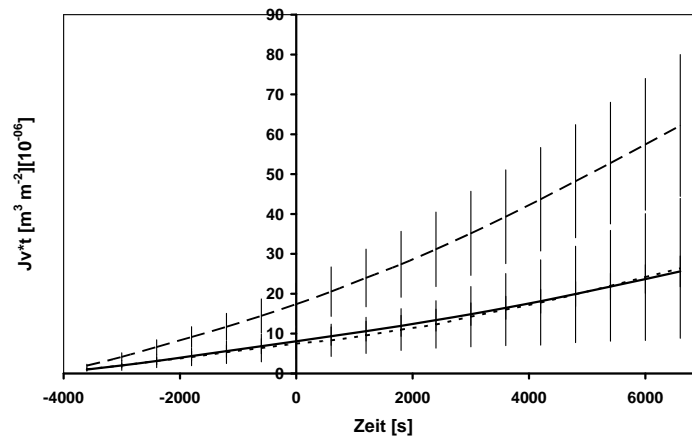


Abbildung 15: Additive Auftragung von $J_v \cdot t$ in 11 d alten Wurzeln von hydroponisch in Vollmedium angezogenen Maiskeimlingen. (durchgezogene Linie) intakte Keimlinge, (gepunktet) Keimlinge ohne Karyopse, (gestrichelt) Keimlinge mit Glucose im Nährmedium. Dargestellt ist J_v vor (< 0) und nach ABA-Zugabe (> 0). Oktober. MW \pm SD ($n = 2-3$).

Tabelle 8: J_v , J_{ABA} und ABA-Gehalt im Wurzelgewebe vollernährter Maiskeimlinge. Oktober. MW \pm SD ($n = 2-3$).

	J_v [$\text{m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$] [10^{-09}]	$J_{V(ABA)}$ [$\text{m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$] [10^{-09}]	J_{ABA} [$\text{pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]	$J_{ABA(ABA)}$ [$\text{pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]	endogene ABA [$\text{pmol g}^{-1} \text{ FG}$]	interne ABA [$\text{pmol g}^{-1} \text{ FG}$]
Intakt	$2,0 \pm 0,5$	$3,1 \pm 0,4$	$0,05 \pm 0,03$	$0,12 \pm 0,03$	$2,2 \pm 0,5$	$52,2 \pm 14,4$
Ohne Karyopse	$1,8 \pm 1,0$	$3,6 \pm 3,0$	$0,10 \pm 0,06$	$0,35 \pm 0,06$	$3,9 \pm 1,3$	$75,8 \pm 17,0$
5 mM Glucose	$4,3 \pm 1,4$	$7,8 \pm 2,1$	$0,06 \pm 0,04$	$0,24 \pm 0,18$	7,4	$42,0 \pm 20,6$

3.3.1.4 ABA-Fluss in vollernährten Keimlingen

In vollernährten Maiskeimlingen stiegen die Mittelwerte von $J_{ABA} \cdot t$ durch das Entfernen der Karyopse bzw. die Zugabe von 5 mM Glucose in das Nährmedium an (Abb. 16, Tab. 8). Die Zugabe 100 nM externer ABA wirkte sich im Durchschnitt stärker stimulierend auf Keimlinge ohne Karyopse bzw. mit Glucose aus als auf intakte Keimlinge (Mittelwerte: 3-4fach im Vergleich zu 2-3fach).

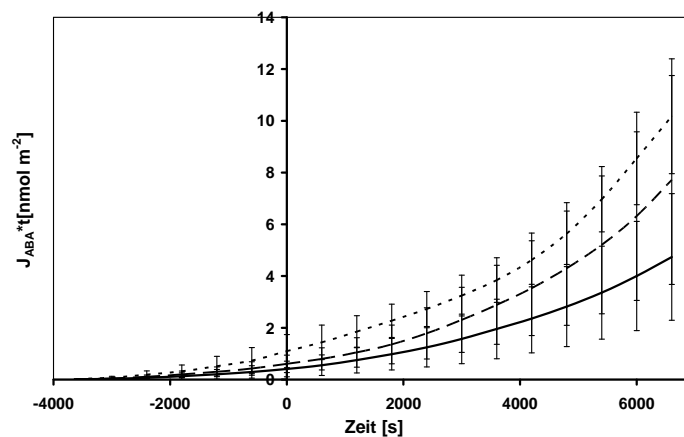


Abbildung 16: Additive Auftragung von $J_{ABA} \cdot t$ in Wurzeln von hydroponisch in Vollmedium angezogenen Maiskeimlingen. (durchgezogene Linie) intakte Keimlinge, (gepunktet) Keimlinge ohne Karyopse, (gestrichelt) Keimlinge mit Glucose im Nährmedium. Dargestellt ist J_v vor (< 0) und nach ABA-Zugabe (> 0). Oktober bis November. MW \pm SD ($n = 2-5$).

3.3.2 Nährstoffdefiziente Keimlinge

Um zu überprüfen wie sich Nährstoffmangel auf den radiale Wasser- und ABA-Fluss und den endogenen ABA-Gehalt des Wurzelgewebes auswirkt, wurden neben intakten Keimlingen auch Keimlinge ohne Karyopse bzw. mit Glucose im Medium verwendet. Als Kontrollen dienten jeweils vollernährte Keimlinge.

Um den Nährstoffgehalt der Wurzel unter Mangelbedingungen zu bestimmen, wurde deren Elementarzusammensetzung bestimmt (Tab. 9). Auf die einzelnen Ergebnisse wird unter den folgenden Abschnitten näher eingegangen.

Tabelle 9: Elementarzusammensetzung der Wurzel von vollernährten bzw. nährstoffdefizienten 11d alten Maiskeimlingen ohne Karyopse. Vorkeimung auf 0,5 mM CaSO₄, H₂O_{dest.} bzw. 0,5 mM CaCl₂. Die unter den jeweiligen Bedingungen wichtigen Nährstoffe wurden hervorgehoben (fett). Mai-Juni. MW ± SD (n = 1-4).

	Gewichts-% des Trockengewichtes					
	Stickstoff	Schwefel	Phosphor	Kalium	Calcium	Natrium
Vollmedium (CaSO ₄)	4,54 ± 0,95	0,66 ± 0,14	1,36 ± 0,10	6,76 ± 0,88	0,36 ± 0,09	0,15 ± 0,08
Vollmedium (H ₂ O)	4,26 ± 0,37	0,52 ± 0,01	1,27 ± 0,11	6,75 ± 0,70	0,38 ± 0,02	0,11 ± 0,01
Vollmedium (CaCl ₂)	4,25 ± 0,49	0,60 ± 0,13	1,45 ± 0,11	6,35 ± 1,24	0,34 ± 0,01	0,14 ± 0,06
Nitratmangel (CaSO ₄)	1,90 ± 0,28	0,61 ± 0,16	1,65 ± 0,31	6,17 ± 0,99	0,21 ± 0,03	0,16 ± 0,05
Kaliummangel (CaSO ₄)	4,40 ± 1,13	0,56 ± 0,04	1,11 ± 0,06	3,75 ± 0,33	0,51 ± 0,02	1,07 ± 0,16
Sulfatmangel (CaSO ₄)	3,83 ± 0,54	0,31 ± 0,03	1,26 ± 0,26	6,22 ± 0,24	0,37 ± 0,05	0,14 ± 0,05
Sulfatmangel (H ₂ O)	4,00 ± 0,70	0,35 ± 0,14	1,08 ± 0,03	6,40 ± 0,59	0,43 ± 0,08	0,19 ± 0,16
Sulfatmangel (CaCl ₂)	4,25 ± 0,49	0,26 ± 0,13	1,37 ± 0,26	6,74 ± 1,46	0,36 ± 0,02	0,17 ± 0,07
Phosphatmangel (CaSO ₄)	4,72 ± 0,40	0,68 ± 0,08	0,47 ± 0,06	6,89 ± 0,27	0,47 ± 0,05	0,07 ± 0,01
Calciummangel (CaSO ₄)	3,77 ± 0,23	0,54 ± 0,09	1,37 ± 0,13	4,98 ± 0,22	0,10 ± 0,01	0,15 ± 0,06
Calciummangel (H ₂ O)	3,83	0,64	1,53	6,15	0,11	0,19
Calciummangel (CaCl ₂)	4,17	0,78	1,56	6,07	0,12	0,11
CaSO ₄ (CaSO ₄)	2,23 ± 0,15	0,62 ± 0,08	0,83 ± 0,06	1,46 ± 0,01	0,87 ± 0,08	0,28 ± 0,01

3.3.2.1 Auswirkungen von Kaliummangel

Elementarzusammensetzung der Wurzel

Der K-Gesamtgehalt von K^+ -defizienten Maiswurzeln war um 44% reduziert (Tab. 9, Abb. 17). Na war übereinstimmend mit Marschner (1995) um das 7fache und Ca um etwa 40% gesteigert. P und S waren tendenziell erniedrigt, N unverändert.

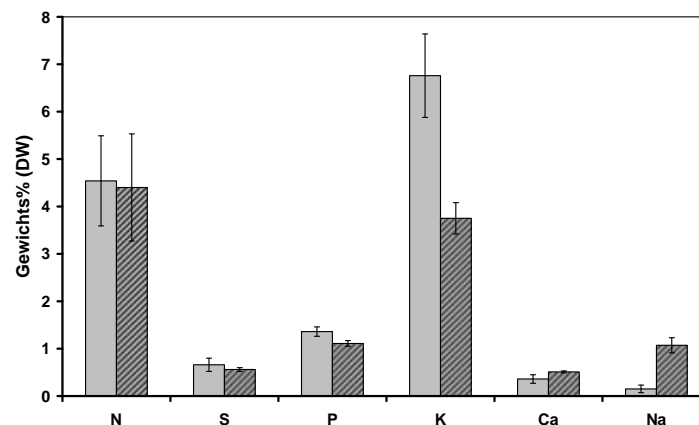


Abbildung 17: Elementarzusammensetzung der Wurzel (grau) vollernährter und (schraffiert) K^+ -defizienter Maiskeimlinge ohne Karyopse. Mai-Juni. MW \pm SD (n = 3).

Annuelle und durch die Karyopse bedingte Schwankungen von J_v und J_{ABA}

In kaliumdefizienten Maiskeimlingen waren deutlich annuelle Schwankungen von J_v zu erkennen (Abb. 18, Tab. 10, 11). Von Mai bis Juli war der Mittelwert von J_v in intakten Keimlingen um das 2,6fache, in Keimlingen ohne Karyopse um das 2,2fache und in Keimlingen mit Glucose um das 1,5fache höher als in den Monaten November bis Februar (Abb.18, Tab. 10, 11). Externe ABA (100 nM) hatte auf intakte Keimlinge den größten stimulierenden Effekt (Abb. 18, Tab. 10, 11; Faktor 2,9 für November bis Februar bzw. 1,9 für Mai bis Juli). In Keimlingen ohne Karyopse wurde J_v um das 1,9fache bzw. 1,4fache gesteigert. Auf Keimlinge mit Glucose hatte externe ABA von November bis Februar nur einen tendenziell leicht stimulierenden Effekt, von Mai bis Juli war $J_{v(ABA)}$ sogar um 25% niedriger als J_v (Abb. 18, Tab.10, 11).

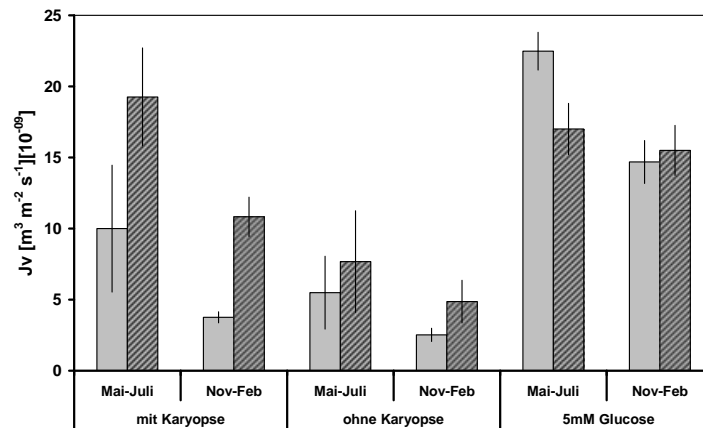


Abbildung 18: Annuelle Schwankungen von J_v in K^+ -defizienten Maiskeimlingen. (grau) J_v , (schraffiert) $J_{v(ABA)}$. MW \pm SD ($n = 2-5$).

J_{ABA} von K^+ -Mangelpflanzen zeigte ebenfalls eine annuelle Abhängigkeit (Abb. 19, Tab. 10 und 11). In intakten Keimlingen war J_{ABA} von Mai bis Juli um das 3,3fache höher als von November bis Februar, in Keimlingen mit Glucose betrug die Steigerung im Mittel das 4,5fache. Im Gegensatz dazu war J_{ABA} von Keimlingen ohne Karyopse von Mai bis Juli niedriger als von November bis Februar. Externe ABA wirkte sich in allen Keimlingen stimulierend auf J_{ABA} aus.

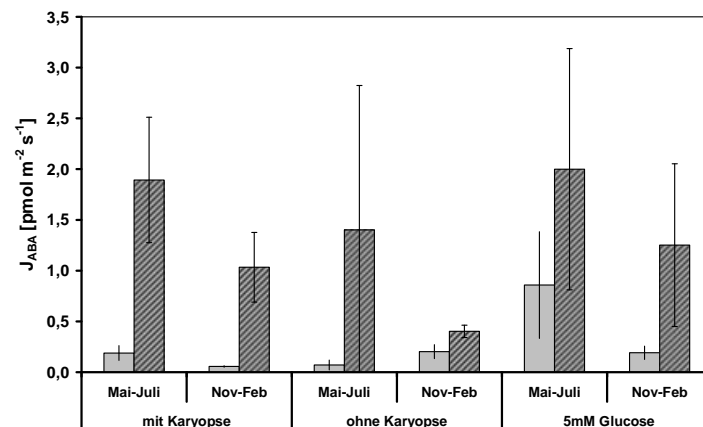


Abbildung 19: Annuelle Schwankungen von J_{ABA} in K^+ -defizienten Maiskeimlingen. (grau) J_{ABA} , (schraffiert) $J_{ABA(ABA)}$. MW \pm SD ($n = 2-4$).

Über annuelle Schwankungen des ABA-Gehaltes im Wurzelgewebe ist aufgrund der Datenmenge und der enormen Standardabweichungen keine Aussage möglich. Es wird daher der Jahresdurchschnitt betrachtet.

Der endogene ABA-Gehalt sank durch das Entfernen der Karyopse deutlich ab (Tab. 10). Durch die Zugabe von 5 mM Glucose in das Nährmedium wurde der endogene ABA-Gehalt wieder gesteigert und der Mittelwert lag sogar höher als in intakten Keimlingen. Durch externe ABA stieg der ABA-Gehalt des Wurzelgewebes in Keimlingen ohne Karyopse am stärksten (Tab. 10). Über den internen ABA-Gehalt und die Steigerungen von Keimlingen ohne Karyopse bzw. mit Glucose lassen sich aufgrund der enormen Standardabweichungen nur tendenzielle Rückschlüsse ziehen. So scheint es, dass der ABA-Gehalt in Keimlingen mit Glucose durch 100 nM externe ABA stärker zunahm als in intakten Keimlingen und daher höher liegt.

Tabelle 10: J_V , J_{ABA} und ABA-Gehalt im Wurzelgewebe von K^+ -defizienten Maiskeimlingen. Intakte Keimlinge November, Keimlinge ohne Karyopse bzw. mit Glucose im Nährmedium Oktober bis Februar. MW \pm SD (n = 2-5). Endogener und Interner ABA-Gehalt als Jahresdurchschnitt. MW \pm SD (n = 2-6)

		J_V [$m^3 m^{-2} s^{-1}$] [10^{-09}]	$J_V^{(ABA)}$ [$m^3 m^{-2} s^{-1}$] [10^{-09}]	J_{ABA} [$pmol m^{-2} s^{-1}$]	$J_{ABA}^{(ABA)}$ [$pmol m^{-2} s^{-1}$]	endogene ABA [$pmol g^{-1}FG$]	interne ABA [$pmol g^{-1}FG$]
	intakt	2,2 \pm 0,9	3,7 \pm 1,9	0,03 \pm 0,02	0,17 \pm 0,19	4,0 \pm 2,9	57,2 \pm 22,9
Vollmedium	Ohne Karyopse	3,7 \pm 2,2	5,1 \pm 2,4	0,10 \pm 0,06	0,35 \pm 0,63	3,5 \pm 1,1	75,7 \pm 17,0
	5 mM Glucose	4,0 \pm 1,3	6,8 \pm 2,5	0,06 \pm 0,03	0,26 \pm 0,15	13,9 \pm 10,2	73,9 \pm 51,3
	intakt	3,7 \pm 3,9	10,8 \pm 1,4	0,06 \pm 0,01	1,03 \pm 0,34	30,0 \pm 15,9	92,1 \pm 30,0
K^+ -Mangel	Ohne Karyopse	2,5 \pm 4,6	4,9 \pm 1,5	0,20 \pm 0,07	0,40 \pm 0,06	5,3 \pm 1,9	148,2 \pm 37,5
	5 mM Glucose	14,7 \pm 1,5	15,5 \pm 1,7	0,19 \pm 0,06	1,25 \pm 0,80	43,6 \pm 23,9	226,0 \pm 163,0

Tabelle 11: J_V und J_{ABA} in K^+ -defizienten Maiskeimlingen. Mai-Juli. MW \pm SD (n = 2-5)

	J_V [$m^3 m^{-2} s^{-1}$] [10^{-09}]	$J_V^{(ABA)}$ [$m^3 m^{-2} s^{-1}$] [10^{-09}]	J_{ABA} [$pmol m^{-2} s^{-1}$]	$J_{ABA}^{(ABA)}$ [$pmol m^{-2} s^{-1}$]
intakt	10,0 \pm 4,5	19,3 \pm 3,4	0,19 \pm 0,07	1,89 \pm 0,62
Ohne Karyopse	5,5 \pm 2,6	7,7 \pm 3,6	0,07 \pm 0,05	1,40 \pm 1,43
5 mM Glucose	22,5 \pm 1,3	17,0 \pm 1,8	0,86 \pm 0,52	2,00 \pm 1,19

Jv, J_{ABA} und endogener ABA-Gehalt im Vergleich zu Kontrollpflanzen

Wurde in der Nährlösung Kalium durch Natrium ersetzt, wurde Jv in Maiskeimlingen mit Karyopse bzw. mit Glucose im Vergleich zu vollernährten Keimlingen stimuliert (1,7 bzw. 3,6fach; Tab. 10, Abb. 20). In Keimlingen ohne Karyopse sank Jv schwach. 100 nM externe ABA stimulierte Jv in intakten Keimlingen stärker als in den Kontrollen (Abb. 20a). Die Stimulierung von Jv in Keimlingen ohne Karyopse bzw. mit Glucose entsprach in etwa den vollernährten Maiskeimlingen (Abb. 20b, c).

J_{ABA}·t in intakten Maiskeimlingen war um das 2,4fache, ohne Karyopse um das 2,1fache und in Keimlingen mit Glucose im Medium um das 2,6fache gesteigert (Abb. 21). Durch externe ABA stieg J_{ABA} stärker als in vollernährten Keimlingen. J_{ABA(ABA)} war daher in intakten K⁺-defizienten Keimlingen um etwa das 4fache, ohne Karyopse um das 1,8fache und mit Glucose um das 4,9fache höher als im Vollmedium.

Der endogene ABA-Gehalt im Wurzelgewebe von K⁺-defizienten intakten Maiskeimlingen lag im Mittel um das 8,7fache, in Keimlingen ohne Karyopse um das 1,5fache und mit Glucose im Medium um das 3,9fache höher als im Vollmedium (Abb. 10, Vergleich Tab. 8 und 10). Der Anstieg des ABA-Gehaltes durch 100 nM externe ABA war jedoch in K⁺-defizienten intakten Keimlingen bzw. jenen mit Glucose geringer als in vollernährten Maiswurzeln. Die ABA-Konzentration im Gewebe lag aber dennoch um das 1,5 - 3,0fache höher.

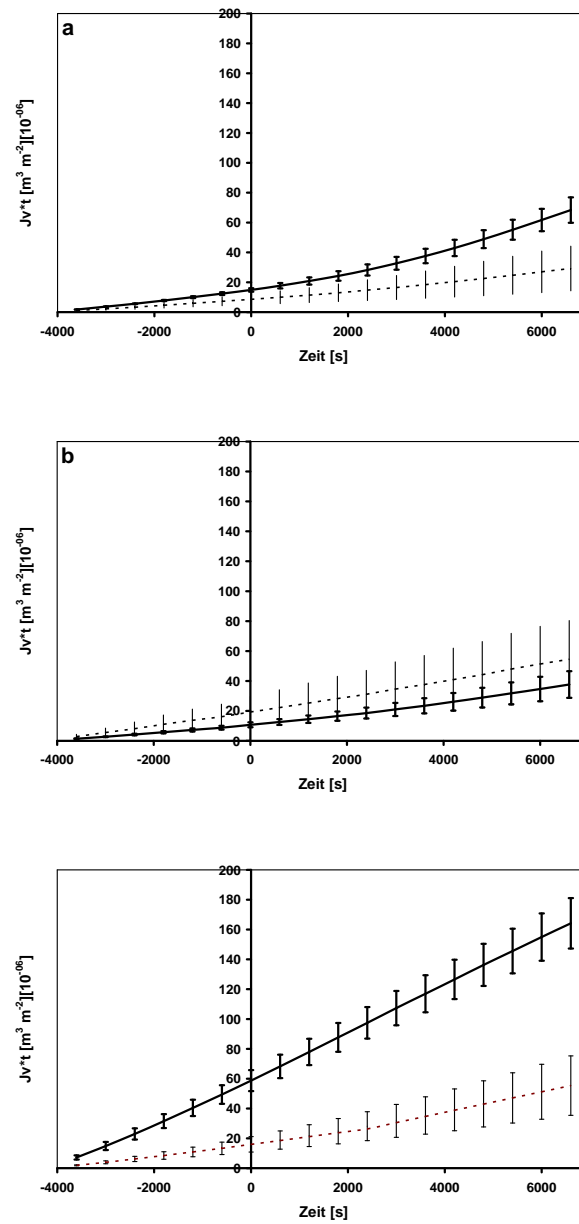


Abbildung 20: Additive Auftragung von $Jv \cdot t$ in Maiswurzeln aus K^+ -Mangel- (durchgezogen) und Vollmedium (gestrichelt). (a) intakte Keimlinge, (b) Keimlinge ohne Karyopse, (c) Keimlinge mit Glucose im Nährmedium. November-Februar. MW \pm SD (n = 2-5).

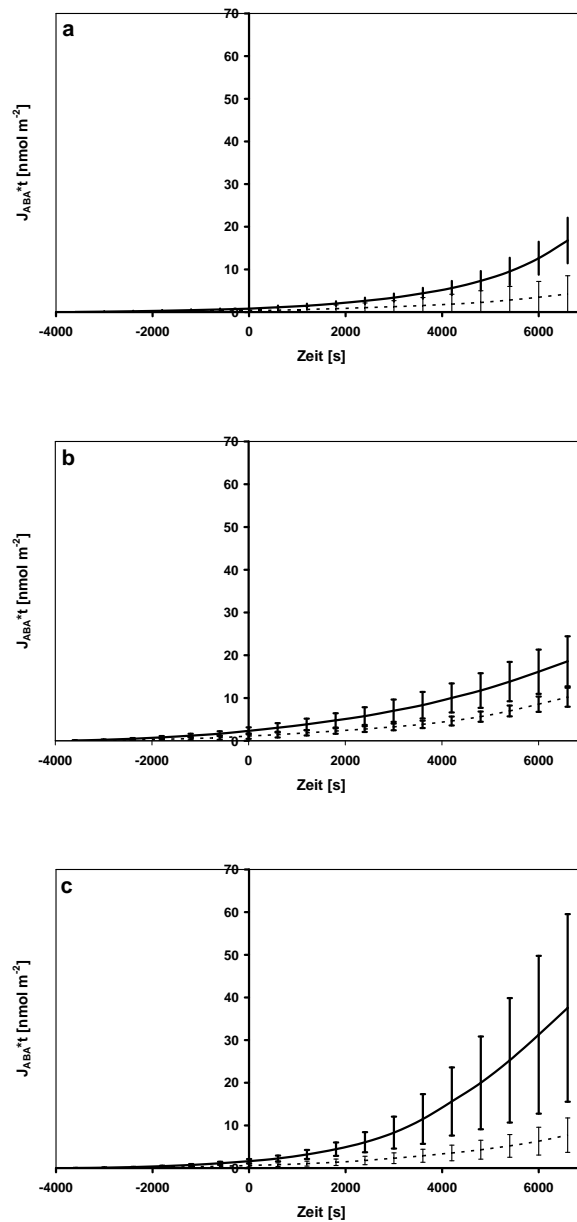


Abbildung 21: Additive Auftragung von J_{ABA-t} in Maiswurzeln aus K⁺-Mangel- (durchgezogen) und Vollmedium (gestrichelt). (a) intakte Keimlinge (b) Keimlinge ohne Karyopse, (c) Keimlinge mit Glucose im Nährmedium. November-Februar. MW ± SD (n = 2-4).

3.3.2.2 Nitratmangel

Elementarzusammensetzung der Wurzel

Der N-Gesamtgehalt von NO_3^- -defizienten Maiswurzeln war um etwa 60% reduziert, die Ca-Konzentration um 40% (Abb. 22, Tab. 9). Die anderen Nährelemente unterschieden sich nicht signifikant von den Kontrollen.

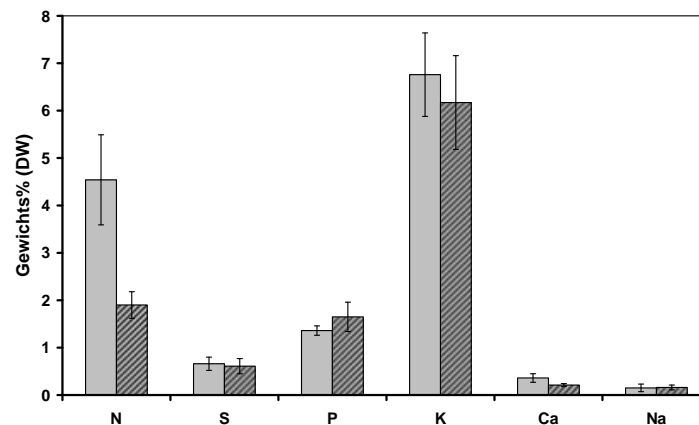


Abbildung 22: Elementarzusammensetzung der Wurzel (schraffiert) NO_3^- -defizienter und (grau) vollernährter Maiskeimlinge. Mai – Juni. MW \pm SD (n = 4).

Annuelle und durch die Karyopse bedingte Schwankungen von J_v und J_{ABA}

In Maiskeimlingen aus NO_3^- -Mangelmedium waren keine klar erkennbaren annuell bedingte Unterschiede in J_v feststellbar (Abb. 23, Tab. 12, 13). Das Entfernen der Karyopse stimulierte J_v um das 1,6 - 1,8fache (Abb. 23, Tab. 12, 13). Durch die Zugabe von 5 mM Glucose in das Nährmedium konnte J_v nicht weiter gesteigert werden, von Oktober bis Februar kam es sogar zu einer Abnahme.

Aufgrund einer zu geringen Datenmenge für die Sommermonate ist keine Aussage über die annuelle Variabilität von J_{ABA} und $J_{\text{ABA(ABA)}}$ möglich (Abb. 24, Tab. 12, 13). Von Oktober bis Februar war J_{ABA} in intakten Keimlingen mit $4,26 \pm 1,17 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ am geringsten. In Keimlingen ohne Karyopse stieg J_{ABA} im Mittel um das 1,8fache auf $7,64 \pm 3,16 \text{ pmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ um in Keimlingen mit Glucose im Medium mit einer nochmaligen Verdoppelung den höchsten ABA-Fluss mit $15,20 \pm 1,93$ zu erreichen. Externe ABA wirkte stimulierend auf J_{ABA} (Abb. 24, Tab. 12).

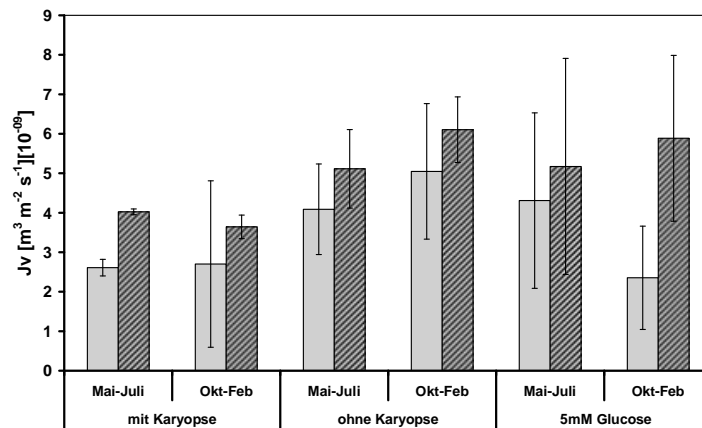


Abbildung 23: Annuelle Schwankungen von J_v in NO_3^- -Mangelpflanzen. (grau) J_v , (schraffiert) $J_{v(\text{ABA})}$. $\text{MW} \pm \text{SD}$ ($n = 2-6$).

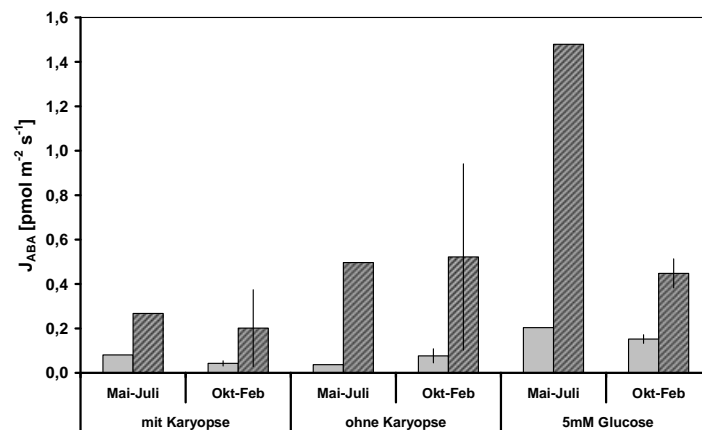


Abbildung 24: Annuelle Schwankungen von J_{ABA} in NO_3^- -defizienten Keimlingen. (schraffiert) J_{ABA} , (grau) $J_{\text{ABA}(\text{ABA})}$. $\text{MW} \pm \text{SD}$ ($n = 1-3$).

Über die endogene ABA im Wurzelgewebe lassen sich aufgrund der Datenmenge und großen Standardabweichungen ebenfalls keine Rückschlüsse über annuelle Schwankungen ziehen. Das Entfernen der Karyopse erhöhte den endogenen ABA-Gehalt nur schwach (Tab. 12, 13). In Keimlingen mit Glucose war der endogene ABA-Gehalt im Durchschnitt etwa 15fach gesteigert. Externe ABA führte in Keimlingen mit Glucose zu einem geringeren Anstieg des ABA-Gehaltes im Wurzelgewebe als in intakten Keimlingen und jenen ohne Karyopse.

Tabelle 12: J_V , J_{ABA} und ABA-Gehalt im Wurzelgewebe von vollernährten und NO_3^- -defizienten Maiskeimlingen. Oktober - Februar. Endogener und interner ABA-Gehalt als Jahresdurchschnitt. MW \pm SD (n = 2-9).

		J_V [$\text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$] [10^{-09}]	$J_{V(ABA)}$ [$\text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$] [10^{-09}]	J_{ABA} [$\text{pmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	$J_{ABA(ABA)}$ [$\text{pmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	endogene ABA [$\text{pmol g}^{-1}\text{FG}$]	interne ABA [$\text{pmol g}^{-1}\text{FG}$]
Vollmedium	intakt	5,0 \pm 5,4	5,6 \pm 3,9	0,08 \pm 0,1	0,18 \pm 0,17	4,0 \pm 2,9	57,2 \pm 22,9
	Ohne Karyopse	3,7 \pm 2,2	5,1 \pm 2,4	0,10 \pm 0,06	0,35 \pm 0,06	3,5 \pm 1,1	75,7 \pm 17,0
	5 mM Glucose	4,0 \pm 1,3	6,8 \pm 2,5	0,06 \pm 0,03	0,26 \pm 0,15	13,9 \pm 10,2	73,9 \pm 51,3
NO_3^- - Mangel	intakt	2,7 \pm 2,1	3,6 \pm 0,3	0,04 \pm 0,01	0,20 \pm 0,17	2,7 \pm 0,4	103,4 \pm 26,6
	Ohne Karyopse	5,0 \pm 1,7	6,1 \pm 0,8	0,07 \pm 0,03	0,52 \pm 0,42	3,5 \pm 0,9	83,7 \pm 22,5
	5 mM Glucose	1,6 \pm 0,0	6,9 \pm 1,6	0,15 \pm 0,02	0,45 \pm 0,06	41,4 \pm 22,2	161,0 \pm 40,7

Tabelle 13: J_V , J_{ABA} und ABA-Gehalt im Wurzelgewebe von vollernährten und NO_3^- -defizienten Maiskeimlingen. Mai - Juli. Endogener und interner ABA-Gehalt als Jahresdurchschnitt. MW \pm SD (n = 1 - 15).

		J_V [$\text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$] [10^{-09}]	$J_{V(ABA)}$ [$\text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$] [10^{-09}]	J_{ABA} [$\text{pmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	$J_{ABA(ABA)}$ [$\text{pmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	endogene ABA [$\text{pmol g}^{-1}\text{FG}$]	interne ABA [$\text{pmol g}^{-1}\text{FG}$]
Vollmedium	intakt	5,5 \pm 2,0	10,5 \pm 3,1	0,14 \pm 0,11	0,76 \pm 0,81	4,0 \pm 2,9	57,2 \pm 22,9
	Ohne Karyopse	3,5 \pm 2,3	6,3 \pm 2,5	0,17 \pm 0,06	0,95 \pm 0,53	3,5 \pm 1,1	75,7 \pm 17,0
	5 mM Glucose	8,4 \pm 0,4	11,0 \pm 1,4	0,50 \pm 0,04	1,82 \pm 0,37	13,9 \pm 10,2	73,9 \pm 51,3
NO_3^- - Mangel	intakt	2,6 \pm 0,2	4,0 \pm 0,0	0,08	0,27	2,7 \pm 0,4	103,4 \pm 26,6
	Ohne Karyopse	4,1 \pm 1,1	5,1 \pm 9,9	0,04	0,97	3,5 \pm 0,9	83,7 \pm 22,5
	5 mM Glucose	4,3 \pm 2,2	5,2 \pm 2,7	0,20	1,48	41,4 \pm 22,2	161,0 \pm 40,7

J_v, J_{ABA} und endogener ABA-Gehalt im Vergleich zu Kontrollpflanzen

Nitratmangel erniedrigte J_v, sowohl von Mai bis Juli als auch von Oktober bis Februar, in intakten Keimlingen und jenen mit Glucose um etwa die Hälfte, während J_v in Keimlingen ohne Karyopse mit den Kontrollen vergleichbar war (Abb. 25, Tab. 12, 13). Die Stimulation von J_v durch externe ABA unterschied sich nicht wesentlich von vollernährten Keimlingen.

Vorversuche mit HgCl₂ ergaben keine weitere Reduktion von J_v. Weitere Experimente hierzu wurden nicht durchgeführt.

J_{ABA} (Abb. 26, Tab. 12) kann aufgrund der Datenmenge nur für den Zeitraum Oktober bis Februar untersucht werden. Während durch Nitratmangel J_{ABA} in intakten Keimlingen und jenen ohne Karyopse verringert wurde (20-50%), war J_{ABA} in Keimlingen mit Glucose um das 4,4fache erhöht (Abb. 26, Tab. 12). Die Steigerung von J_{ABA} durch externe ABA war in intakten Keimlingen dem Vollmedium vergleichbar (Abb. 26a, Tab. 12). In Keimlingen ohne Karyopse bzw. mit Glucose im Medium war der stimulierende Effekt externer ABA größer als in vollernährten Keimlingen (Abb. 26b, c, Tab. 12).

Die endogene ABA von NO₃⁻-defizienten Keimlingen ohne Karyopse war Kontrollpflanzen vergleichbar, in intakten Keimlingen war der Gehalt tendenziell erniedrigt bzw. mit Glucose um etwa den Faktor 3 erhöht (Abb. 10, Tab. 12). Die durch externe ABA ausgelöste Steigerung der ABA-Konzentration im Wurzelgewebe war in intakten Keimlingen um das 2,7fache und in Keimlingen ohne Karyopse schwach erhöht. Mit Glucose im Medium hingegen war die Steigerung um 25% geringer (Abb. 10, Tab. 12).

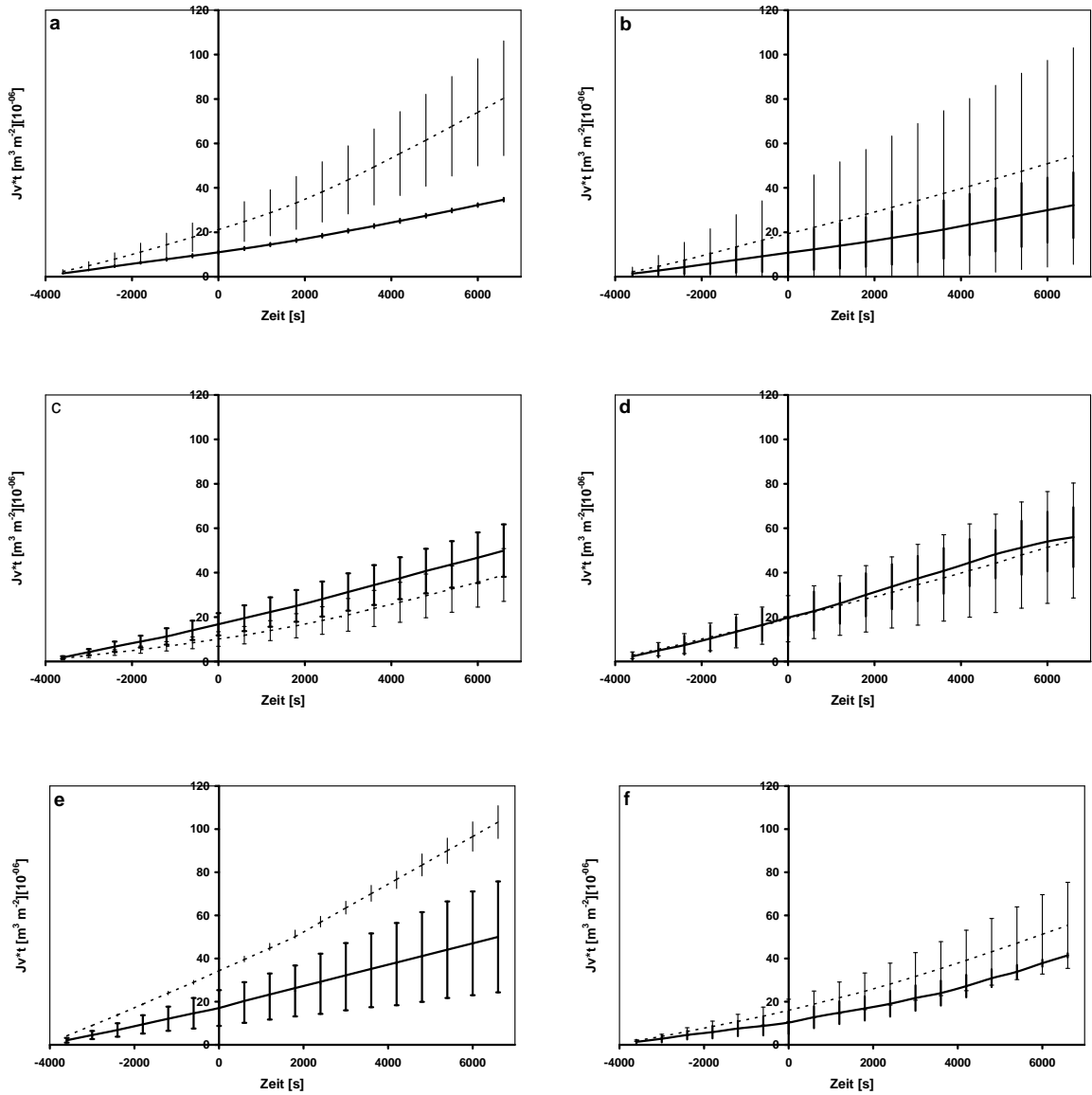


Abbildung 25: Additive Auftragung von $Jv\text{-}t$ in Maiswurzeln aus NO_3^- -Mangel- (durchgezogen) und Vollmedium (gestrichelt). (a, b) intakte Keimlinge, (c, d) Keimlinge ohne Karyopse, (e, f) Keimlinge mit Glucose im Nährmedium. (a, c, e) Mai – Juli, (b, d, f) Oktober – Februar. MW \pm SD (n = 2-15).

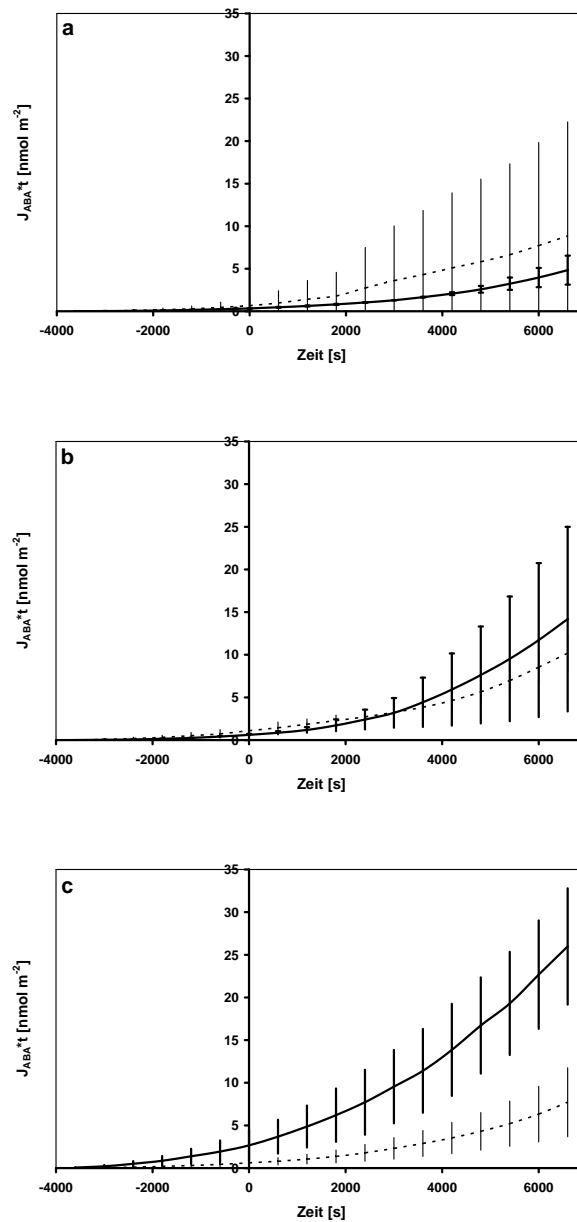


Abbildung 26: Additive Darstellung von $J_{ABA \cdot t}$ in Maiswurzeln aus NO_3^- -Mangel- (durchgezogen) und Vollmedium (gestrichelt). (a) intakte Keimlinge, (b) Keimlinge ohne Karyopse, (c) Keimlinge mit Glucose im Nährmedium. Oktober - Februar. MW \pm SD (n = 2-9).

3.3.2.3 Phosphatmangel

Elementarzusammensetzung der Wurzel

Die Wurzel PO_4^{3-} -defizienter Maiskeimlinge enthielt 65% weniger P, der Na-Gehalt war ebenfalls um etwa die Hälfte reduziert (Tab. 9, Abb. 27). Der Gesamtgehalt an Ca war leicht erhöht, N, S und K nahezu unverändert. Laut Marschner (1995) benötigen Pflanzen für optimales Wachstum einen P-Gehalt von 0,3% - 0,5% ihres Trockengewichtes. In den untersuchten vollernährten Keimlingen war der P-Gehalt mit 1,36% deutlich erhöht und lag unter Phosphatmangelbedingungen mit 0,47% immer noch im sehr hohen Normbereich.

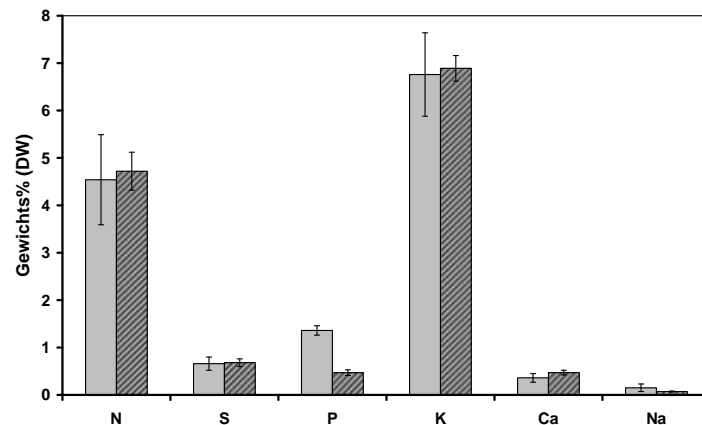


Abbildung 27: Elementarzusammensetzung (grau) vollernährter und (schraffiert) PO_4^{3-} -defizienter Maiskeimlinge. Mai-Juni. MW \pm SD (n = 2).

Annuelle und durch die Karyopse bedingte Schwankungen von J_v und J_{ABA}

Unter PO_4^{3-} -Mangelbedingungen konnten annuelle Schwankungen von J_v in intakten bzw. Keimlingen mit Glucose beobachtet werden (Abb. 28). Von April bis Juli waren die Werte gegenüber Oktober bis Februar um das 2 - 3fache erhöht. In Keimlingen ohne Karyopse waren hingegen keine annuell bedingten Unterschiede erkennbar.

Das Entfernen der Karyopse wirkte stimulierend auf J_v aus (Abb. 28). Die Zugabe von Glucose erhöht die Mittelwerte von J_v im Vergleich zu intakten Keimlingen um das 2 - 3fache.

Externe ABA hatte einen stimulierenden Effekt auf J_v (Abb. 28).

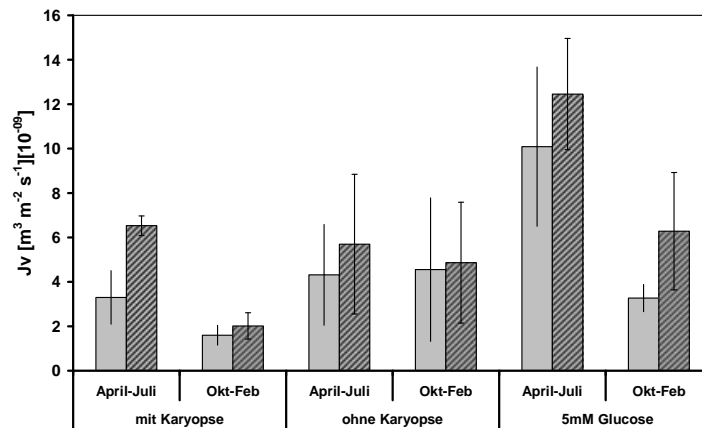


Abbildung 28: Annuelle Schwankungen von J_v in PO_4^{3-} -Mangelpflanzen. (grau) J_v , (schraffiert) $J_{v(\text{ABA})}$. $\text{MW} \pm \text{SD}$ ($n = 2-7$).

Aussagen über annuelle Schwankungen von J_{ABA} sind aufgrund der Datenlage nur für Keimlinge mit Glucose möglich (Abb. 29). J_{ABA} war in der Zeitspanne von April bis Juli um etwa das 4fache höher als von Oktober bis Februar, nach ABA-Zugabe sogar um das 8,5fache.

Die folgenden Aussagen über den Einfluss der Karyopse auf J_{ABA} beziehen sich nur auf die Monate Oktober bis Februar (Abb. 29). J_{ABA} veränderte sich durch das Entfernen der Karyopse oder den Zusatz von 5 mM Glucose in das Medium nicht (Abb. 29, Tab. 14). Externe ABA erhöhte J_{ABA} in Keimlingen ohne Karyopse bzw. mit Glucose nur tendenziell etwas stärker als in intakten Keimlingen (Abb. 29, Tab. 14).

Der endogene ABA-Gehalt im Wurzelgewebe stieg durch das Entfernen der Karyopse an (Tab. 14). Durch die Zugabe von 5 mM externer Glucose sinkt die Konzentration wieder leicht ab. Die größte Steigerung der ABA-Konzentration im Wurzelgewebe durch externe ABA (100 nM) konnte in intakten Keimlingen beobachtet werden (Tab. 14).

J_v , J_{ABA} und endogener ABA-Gehalt im Vergleich zu Kontrollpflanzen

In intakten Keimlingen war J_v im Durchschnitt etwas geringer als in vollernährten Keimlingen, ohne Karyopse bzw. mit Glucose im Medium nahezu unverändert (Abb. 30, Tab. 14). Der stimulierende Effekt externer ABA war dem Vollmedium vergleichbar (Abb. 30, Tab. 14).

J_{ABA} und dessen Steigerung durch externe ABA in Keimlingen aus Phosphatmangel- und Vollmedium unterschieden sich nicht (Abb. 31, Tab. 14).

Der endogene ABA-Gehalt im Wurzelgewebe war nur in Keimlingen ohne Karyopse höher (Abb. 10, Tab. 14) als in Vollmedium.

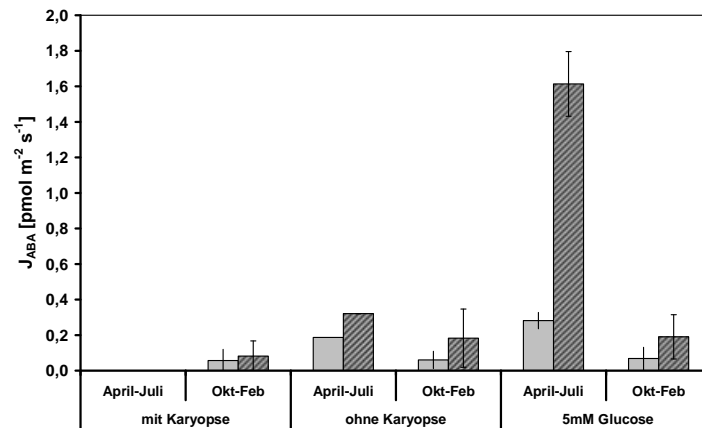


Abbildung 29: Annuelle Schwankungen von J_{ABA} in PO_4^{3-} -Mangelpflanzen. (grau) J_{ABA} , (schraffiert) $J_{ABA(ABA)}$ MW \pm SD (n = 1-5).

Tabelle 14: J_v , J_{ABA} und ABA im Wurzelgewebe von PO_4^{3-} -defizienten Maiskeimlingen. Oktober - Februar. MW \pm SD (n = 2-8).

	J_v [m ³ m ⁻² s ⁻¹] [10 ⁻⁰⁹]	$J_{v(ABA)}$ [m ³ m ⁻² s ⁻¹] [10 ⁻⁰⁹]	J_{ABA} [pmol m ⁻² s ⁻¹]	$J_{ABA(ABA)}$ [pmol m ⁻² s ⁻¹]	endogene ABA [pmol g ⁻¹ FG]	interne ABA [pmol g ⁻¹ FG]	
Vollmedium	intakt	5,0 \pm 5,4	5,7 \pm 3,9	0,08 \pm 0,11	0,18 \pm 0,17	4,0 \pm 2,9	57,2 \pm 22,9
	Ohne Karyopse	3,7 \pm 2,2	5,1 \pm 2,4	0,10 \pm 0,06	0,35 \pm 0,06	3,5 \pm 1,1	75,7 \pm 17,0
	5 mM Glucose	4,0 \pm 1,3	6,8 \pm 2,5	0,06 \pm 0,03	0,26 \pm 0,15	13,9 \pm 10,2	73,9 \pm 51,3
PO_4^{3-} - Mangel	intakt	1,6 \pm 0,4	2,0 \pm 0,6	0,06 \pm 0,06	0,08 \pm 0,08	8,0 \pm 7,4	44,0 \pm 17,6
	Ohne Karyopse	4,2 \pm 1,3	4,3 \pm 1,3	0,06 \pm 0,05	0,18 \pm 0,16	17,5 \pm 10,1	36,0 \pm 14,6
	5 mM Glucose	3,3 \pm 0,6	6,3 \pm 2,6	0,07 \pm 0,06	0,19 \pm 0,12	10,6 \pm 5,8	34,8 \pm 15,6

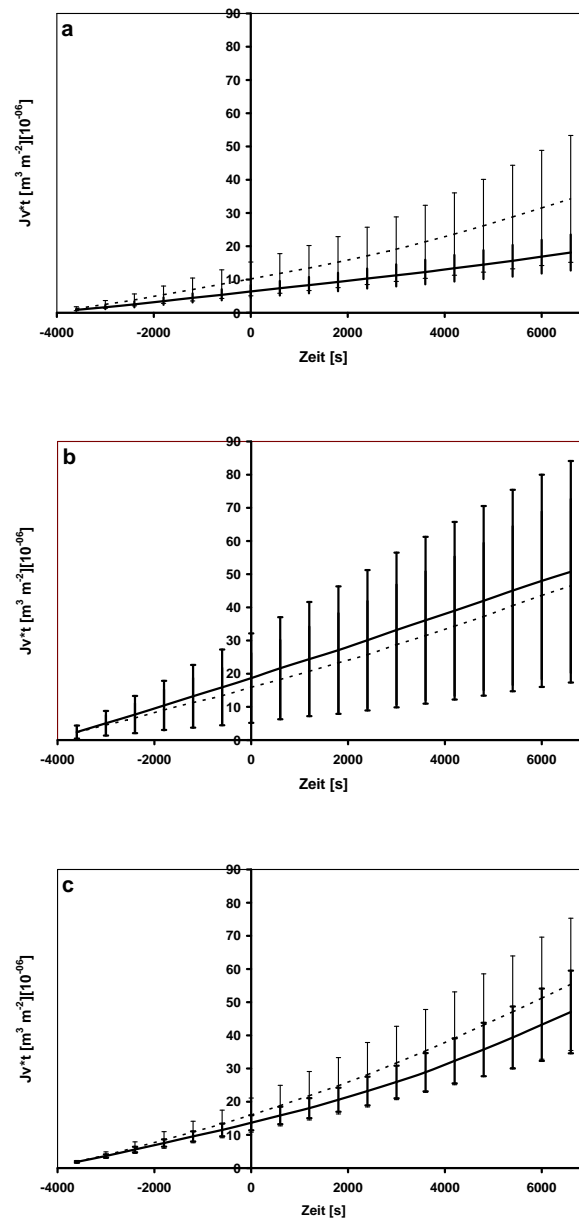


Abbildung 30: Additive Darstellung von $Jv \cdot t$ in PO_4^{3-} -defizienten (durchgezogenen Linie) und vollernährten Maiskeimlingen (gestrichelte Linie). (a) intakte Keimlinge, (b) Keimlinge ohne Karyopse, (c) Keimlinge mit Glucose im Nährmedium. Oktober - Februar. MW \pm SD (n = 2-8).

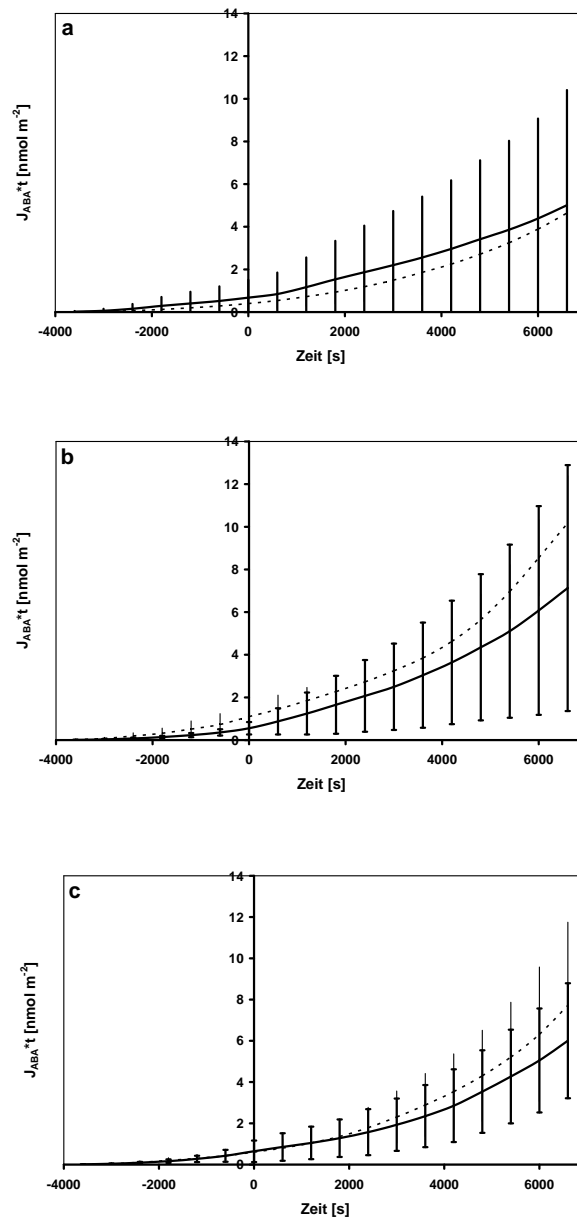


Abbildung 31: Additive Auftragung von $J_{ABA} \cdot t$ in PO_4^{3-} -defizienter (durchgezogene Linie) und vollernährter Maiskeimlinge (gestrichelte Linie). (a) intakte Keimlinge, (b) Keimlinge ohne Karyopse, (c) Keimlinge mit Glucose im Nährmedium. Oktober - Februar. MW \pm SD (n = 2-6).

3.3.2.4 Sulfatmangel

Elementarzusammensetzung der Wurzel

Der S-Gesamtgehalt der Wurzel unter SO_4^{2-} -Mangelbedingungen war um etwa die Hälfte reduziert, unabhängig von der Vorkeimung auf 0,5 mM CaSO_4 , $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest.}}$ oder 0,5 mM CaCl_2 (Tab. 9, Abb. 32). Die Vorkeimung auf CaSO_4 hatte folglich keinen Einfluss auf den S-Gehalt des Wurzelgewebes.

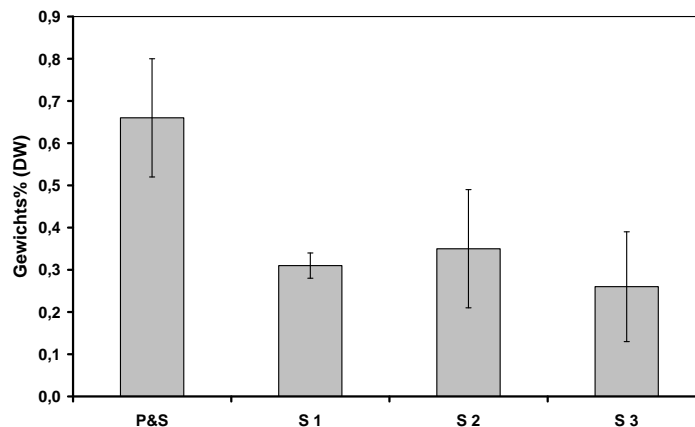


Abbildung 32: S-Gesamtgehalt von vollernährten (P&S) und SO_4^{2-} -defizienten (S1-S3) Maiskeimlingen. Vorkeimung mit 0,5 mM CaSO_4 (P&S und S1), $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest.}}$ (S2) bzw. 0,5 mM CaCl_2 . (S3) Mai - Juni. MW \pm SD (n = 2-4).

In SO_4^{2-} -defizienten Maiskeimlingen, deren Vorkeimung auf 0,5 mM CaSO_4 erfolgte, betrug der S-Gesamtgehalt etwa die Hälfte von vollernährten Keimlingen (Abb. 33). Die Konzentrationen der anderen Nährelemente waren unverändert.

Annuelle und durch die Karyopse bedingte Schwankungen von J_v und J_{ABA}

Über annuelle Schwankung in J_v und J_{ABA} von SO_4^{2-} -defizienten Maiskeimlingen kann, aufgrund einer zu geringen Datenmenge für die jeweiligen Zeitspannen, keine Analyse durchgeführt werden.

Das Entfernen der Karyopse hatte keinen Einfluss auf J_v . Durch die Zugabe 5 mM externer Glucose wurde J_v auf das 3,5fache gesteigert (Abb. 34, Tab. 15). Externe ABA (100 nM) hatte eine stimulierende Wirkung auf J_v .

J_{ABA} wurde durch das Entfernen der Karyopse bzw. der Zugabe von Glucose um etwa das 4fache gesteigert (Abb. 35, Tab. 15). 100 nM externe ABA stimulierte J_{ABA} nur in Keimlingen mit Glucose.

Die endogene ABA im Wurzelgewebe stieg durch das Entfernen der Karyopse bzw. durch Zugabe von Glucose lediglich tendenziell an (Tab. 15). Externe ABA steigerte die ABA-Konzentration in intakten Keimlingen und ohne Karyopse auf etwa das 14fache, mit Glucose im Medium sogar um etwa das 40fache.

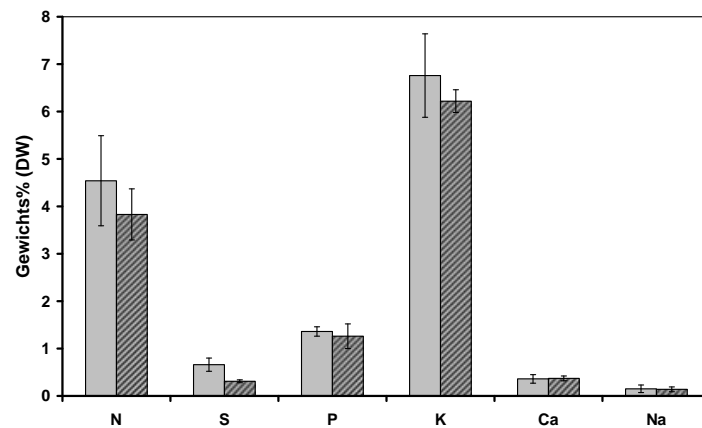


Abbildung 33: Elementarzusammensetzung der Wurzel (grau) vollnährter und (schraffiert) SO_4^{2-} -defizienter Maiskeimlinge. Vorkeimung auf 0,5 mM $CaSO_4$. Mai - Juni. MW \pm SD (n = 4).

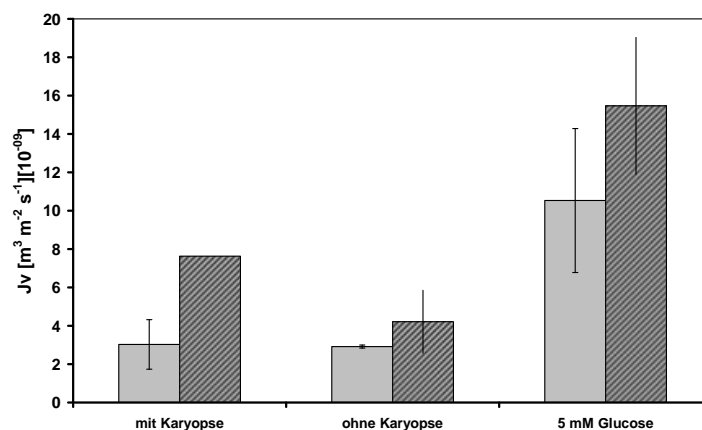


Abbildung 34: Vergleich von J_v in SO_4^{2-} -defizienten Maiskeimlingen. (grau) J_v , (schraffiert) $J_{v(ABA)}$. Oktober bis Juli. MW \pm SD (n = 1-3).

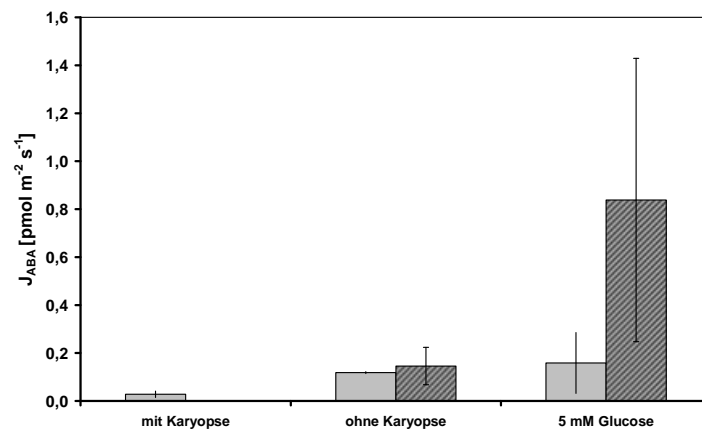


Abbildung 35: Vergleich von J_{ABA} in SO_4^{2-} -defizienten Maiskeimlingen. (grau) J_{ABA} , (schraffiert) $J_{ABA(ABA)}$. Oktober - Juli. MW \pm SD (n = 1-4).

Tabelle 15: J_V , J_{ABA} und ABA-Gehalt im Wurzelgewebe von vollernährten und SO_4^{2-} -defizienten Maiskeimlingen. intakte Keimlinge: Juli; Keimlinge ohne Karyopse bzw. mit Glucose im Medium: Oktober - Juli. Endogene und interne ABA als Jahresdurchschnitt. MW \pm SD (n = 1-4).

		J_V [m ³ m ⁻² s ⁻¹] [10 ⁻⁰⁹]	$J_V(ABA)$ [m ³ m ⁻² s ⁻¹] [10 ⁻⁰⁹]	J_{ABA} [pmol m ⁻² s ⁻¹]	$J_{ABA(ABA)}$ [pmol m ⁻² s ⁻¹]	endogene ABA [pmol g ⁻¹ FG]	interne ABA [pmol g ⁻¹ FG]
	intakt	4,0 \pm 1,7	9,0 \pm 2,0	0,42	1,46	4,0 \pm 2,9	57,2 \pm 22,9
Vollmedium	Ohne Karyopse	4,0 \pm 2,1	6,0 \pm 2,1	0,14 \pm 0,07	0,71 \pm 0,50	3,5 \pm 1,1	75,7 \pm 17,0
	5 mM Glucose	9,6 \pm 7,5	12,4 \pm 7,0	0,21 \pm 0,21	0,81 \pm 0,76	13,9 \pm 10,2	73,9 \pm 51,3
SO_4^{2-} - Mangel	intakt	3,0 \pm 1,3	7,6	0,03 \pm 0,01	/	4,5 \pm 2,8	63,6
	Ohne Karyopse	2,9 \pm 0,1	4,2 \pm 1,6	0,12 \pm 0,00	0,14 \pm 0,08	6,5 \pm 1,6	87,6
	5 mM Glucose	10,5 \pm 3,7	15,8 \pm 3,5	0,16 \pm 0,13	0,84 \pm 0,59	7,5 \pm 2,0	326,6 \pm 47,1

Jv, J_{ABA} und endogener ABA-Gehalt im Vergleich zu Kontrollpflanzen

Die Abbildungen 36 und 37 beziehen sich aufgrund der Datenlage für intakte Keimlinge (Abb. 36a) auf den Monat Juli, für Keimlinge ohne Karyopse (Abb. 36b, 37a) bzw. mit Glucose im Medium (Abb. 36c, 37b) auf die Monate Oktober bis Juli.

Jv von SO_4^{2-} -defizienten Maiskeimlingen unterschied sich weder vor noch nach Zugabe externer ABA von vollernährten Keimlingen (Abb. 36, Tab. 15).

Der Vergleich von J_{ABA} in intakten Keimlingen aus SO_4^{2-} -Mangel- bzw. Vollmedium ist aufgrund fehlender Daten nicht möglich. In Keimlingen ohne Karyopse bzw. mit Glucose war J_{ABA} vergleichbar mit Kontrollkeimlingen. Der stimulierende Effekt externer ABA war in sulfatdefizienten Keimlingen geringer als in vollernährten.

Der endogene ABA-Gehalt im Wurzelgewebe von Keimlingen aus SO_4^{2-} -Mangel- und Vollmedium unterschied sich nicht signifikant (Abb. 10, Tab. 15). Die Zugabe externer ABA steigerte den ABA-Gehalt der Wurzel sulfatdefizienter Keimlinge mit Glucose im Nährmedium etwa 8mal stärker als in vollernährten Keimlingen.

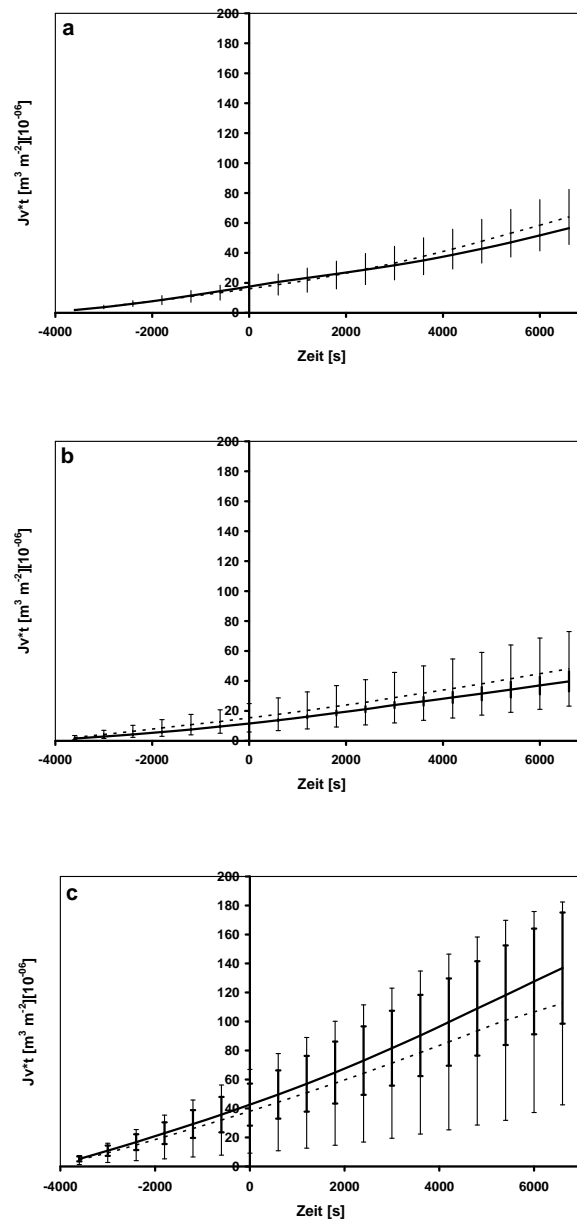


Abbildung 36: Additive Auftragung von $Jv \cdot t$ in Maiswurzeln aus SO_4^{2-} -Mangel- (durchgezogen) und Vollmedium (gestrichelt). (a) intakte Keimlinge, Juli; (b) Keimlinge ohne Karyopse, Oktober - Juli; (c) Keimlinge mit Glucose im Nährmedium, Oktober - Juli. MW \pm SD (n = 1-11).

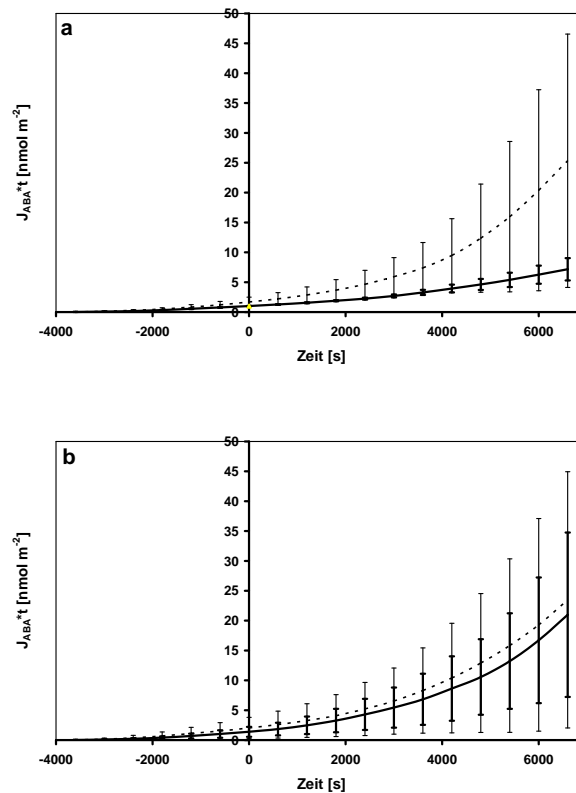


Abbildung 37: Additive Auftragung von $J_{ABA:t}$ in Maiswurzeln aus SO_4^{2-} -Mangel- (durchgezogen) und Vollmedium (gestrichelt). (a) Keimlinge ohne Karyopse, (b) Keimlinge mit Glucose im Nährmedium. Oktober - Juli. MW \pm SD (n = 2-7).

3.3.2.5 Calcium-Mangel

Maiskeimlinge aus Ca^{2+} -Mangelkultur wurden schon nach 6 d Hydrokultur zur Untersuchung von J_V , J_{ABA} und des endogenen ABA-Gehaltes herangezogen, da sie starke Mangelsymptome, wie das Welken und das Braunwerden der Blätter, zeigten.

Elementarzusammensetzung der Wurzel

Der Ca-Gesamtgehalt von Wurzeln unter Ca^{2+} -Mangelbedingungen war um etwa 70% verringert, unabhängig von der Vorkeimung auf 0,5 mM $CaSO_4$, $H_2O_{dest.}$ oder 0,5 mM $CaCl_2$ (Tab. 9, Abb. 38). Die Vorkeimung auf $CaSO_4$ wurde daher auch für Calciummangelkeimlinge angewandt um gleiche Voraussetzungen zu schaffen für einen Vergleich mit anderen Nährstoffbedingungen.

Die Elementarzusammensetzung der Wurzel bei Vorkeimung auf 0,5 mM $CaSO_4$ veränderte sich wie folgt: Der Ca-Gehalt nahm um 72% ab, K reduzierte sich um 26%, N-Gehalt sank tendenziell. S, P und Na waren nahezu unverändert (Tab. 9, Abb. 39).

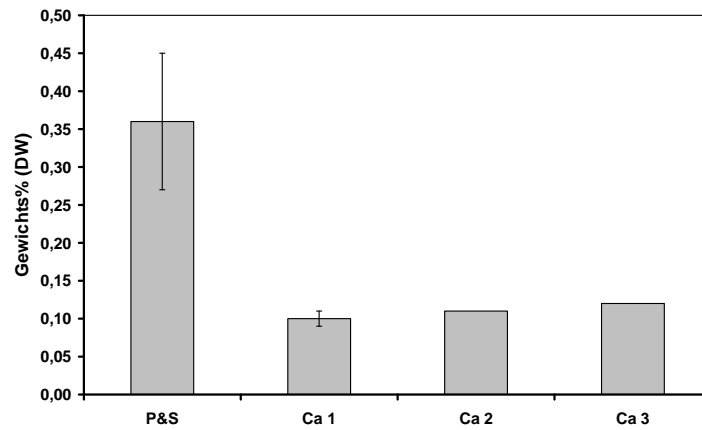


Abbildung 38: Ca-Gesamtgehalt der Wurzel von vollernährten (P&S) und Ca^{2+} -defizienten Maiskeimlingen. Vorkeimung auf 0,5 mM CaSO_4 (P&S, Ca1), $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest.}}$ (Ca2), 0,5 mM CaCl_2 (Ca3). Mai - Juni. MW \pm SD (n = 1-3).

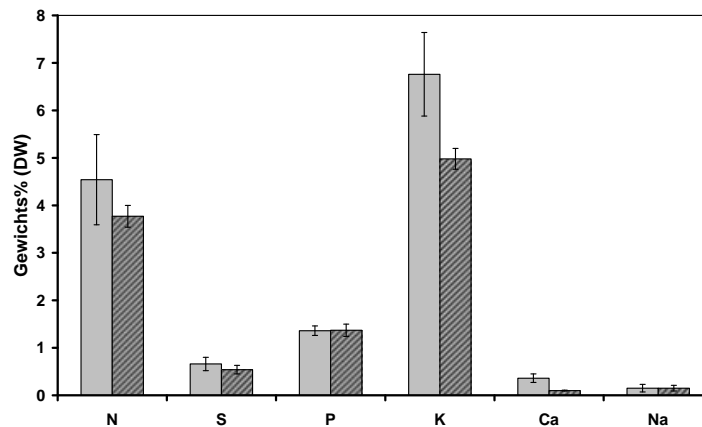


Abbildung 39: Elementarzusammensetzung der Wurzel Ca^{2+} -defizienter Maiskeimlinge. (grau) Vollmedium, (schraffiert) Ca^{2+} -Mangelmedium. Mai - Juni. MW \pm SD (n = 2).

Annuelle und durch die Karyopse bedingte Schwankungen von J_v und J_{ABA}

Maiskeimlinge aus Ca^{2+} -Mangelkultur zeigten kaum annuell bedingte Schwankungen von J_v (Abb. 40). Lediglich in Keimlingen ohne Karyopse war J_v von Mai - Juli niedriger als in den Monaten Oktober - Februar.

Das Entfernen der Karyopse wirkte sich von Mai bis Juli hemmend auf J_v aus, von Oktober bis Februar war kein Unterschied erkennbar (Abb. 40, Tab. 16). Durch den Zusatz von Glucose in das Nährmedium von ohne Karyopse kultivierten Keimlingen stieg J_v an. Externe ABA stimulierte die radialen Wasserflüsse (Abb. 40, Tab. 16).

Die annuell bedingten Schwankungen in J_{ABA} waren stärker ausgeprägt als in J_v . In den Monaten Mai bis Juli waren die Werte stets höher als von Oktober bis Februar (Abb. 41). Aussagen über annuelle Schwankung von $J_{ABA(ABA)}$ lassen sich aufgrund der überaus hohen Standardabweichung von Keimlingen mit bzw. ohne Karyopse nicht machen. In Keimlingen mit Glucose im Medium war $J_{ABA(ABA)}$ von Mai bis Juli um das 3fache höher als von Oktober bis Februar.

Durch das Entfernen der Karyopse wurde J_{ABA} nicht verändert (Abb. 41, Tab. 16). Der Zusatz von Glucose steigerte J_{ABA} klar in den Herbst- und Wintermonaten.

100 nM externe ABA stimulierte J_{ABA} bis auf das 5fache (Abb. 41, Tab. 16).

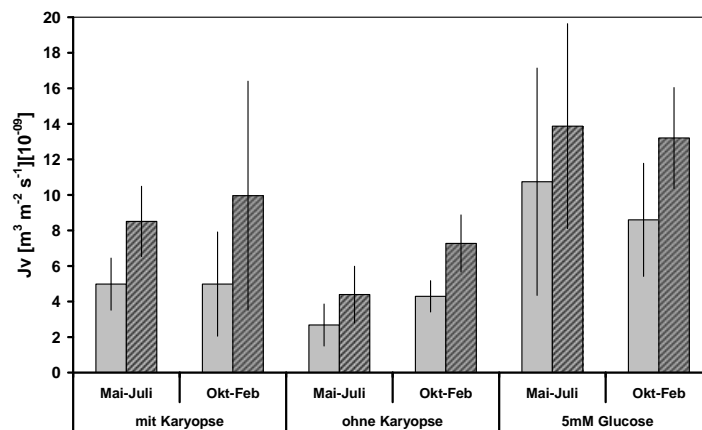


Abbildung 40: Annuelle Schwankungen von J_v in Ca^{2+} -Mangelpflanzen. (grau) J_v , (schraffiert) $J_{v(ABA)}$. MW \pm SD ($n = 2-4$).

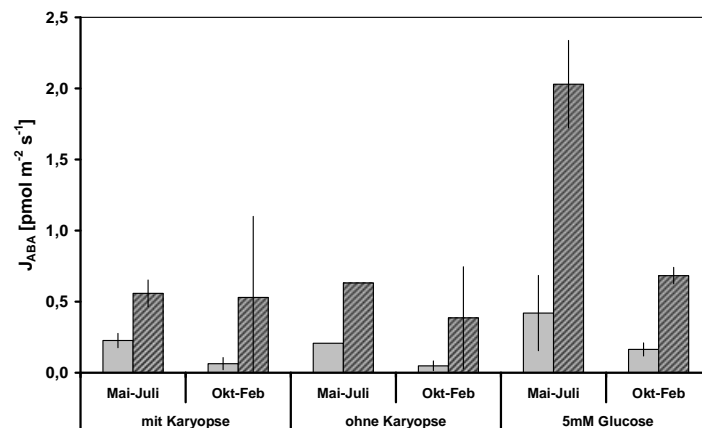


Abbildung 41: Annuelle Schwankungen von J_{ABA} in Ca^{2+} -Mangelpflanzen; (grau) J_{ABA} , (schraffiert) $J_{ABA(ABA)}$. MW \pm SD ($n = 1-4$).

Der endogene ABA-Gehalt im Wurzelgewebe war in intakten Ca^{2+} -defizienten Maiskeimlingen am geringsten, nahm in Keimlingen ohne Karyopse auf das 2-3fache und mit Glucose im Medium noch mal um das doppelte zu (Tab. 16). Externe ABA steigerte den ABA-Gehalt des Wurzelgewebes deutlich.

Tabelle 16: J_V , J_{ABA} und ABA-Gehalt im Wurzelgewebe von Ca^{2+} -defizienten Maiskeimlingen. Oktober - Februar. MW \pm SD (n = 2-3).

		J_V [$\text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$] [10^{-09}]	$J_V^{(\text{ABA})}$ [$\text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$] [10^{-09}]	J_{ABA} [$\text{pmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	$J_{\text{ABA}(\text{ABA})}$ [$\text{pmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	endogene ABA [$\text{pmol g}^{-1}\text{FG}$]	interne ABA [$\text{pmol g}^{-1}\text{FG}$]
Vollmedium	intakt	5,0 \pm 5,4	5,7 \pm 3,9	0,08 \pm 0,01	0,18 \pm 0,17	3,97 \pm 2,94	57,2 \pm 22,9
	Ohne Karyopse	3,7 \pm 2,2	5,1 \pm 2,4	0,10 \pm 0,06	0,35 \pm 0,06	3,5 \pm 1,1	75,7 \pm 17,0
	5 mM Glucose	4,0 \pm 1,3	6,8 \pm 2,5	0,06 \pm 0,03	0,26 \pm 0,15	13,9 \pm 10,2	73,9 \pm 51,3
Ca^{2+} - Mangel	intakt	5,0 \pm 2,9	9,9 \pm 6,4	0,03 \pm 0,04	0,53 \pm 0,57	1,9	104,0
	Ohne Karyopse	4,3 \pm 0,9	7,3 \pm 1,6	0,05 \pm 0,03	0,38 \pm 0,36	5,2 \pm 1,0	88,4 \pm 62,4
	5 mM Glucose	8,6 \pm 3,2	13,2 \pm 2,8	0,16 \pm 0,05	0,68 \pm 0,06	10,2 \pm 2,2	88,2 \pm 5,0

J_V , J_{ABA} und endogener ABA-Gehalt im Vergleich zu Kontrollpflanzen

Die folgenden Daten beziehen sich auf die Monate Oktober-Februar.

Durch einen Ca^{2+} -Mangel im Nährmedium wurde J_V in Keimlingen mit Glucose im Medium gesteigert (Abb. 42, Tab. 16). In intakten Keimlingen und jenen ohne Karyopse konnte kein Effekt festgestellt werden. 100 nM externe ABA stimulierte J_V in Keimlingen mit Glucose etwas stärker als im Vollmedium.

J_{ABA} von intakten Keimlingen bzw. ohne Karyopse aus Ca^{2+} -Mangelkultur unterschied sich nicht vom Vollmedium (Abb. 43, Tab. 16). In Keimlingen mit Glucose im Medium war J_{ABA} hingegen erhöht. Die Stimulation von J_{ABA} durch 100 nM externe ABA war unter beiden Nährstoffbedingungen vergleichbar. In Keimlingen mit Glucose war $J_{\text{ABA}(\text{ABA})}$ etwa 2-3-mal höher als im Vollmedium.

Der endogene und interne ABA-Gehalt im Maiswurzelgewebe Ca^{2+} -defizienter Keimlinge unterschied sich nicht von vollernährten Keimlingen (Abb. 10, Tab. 16).

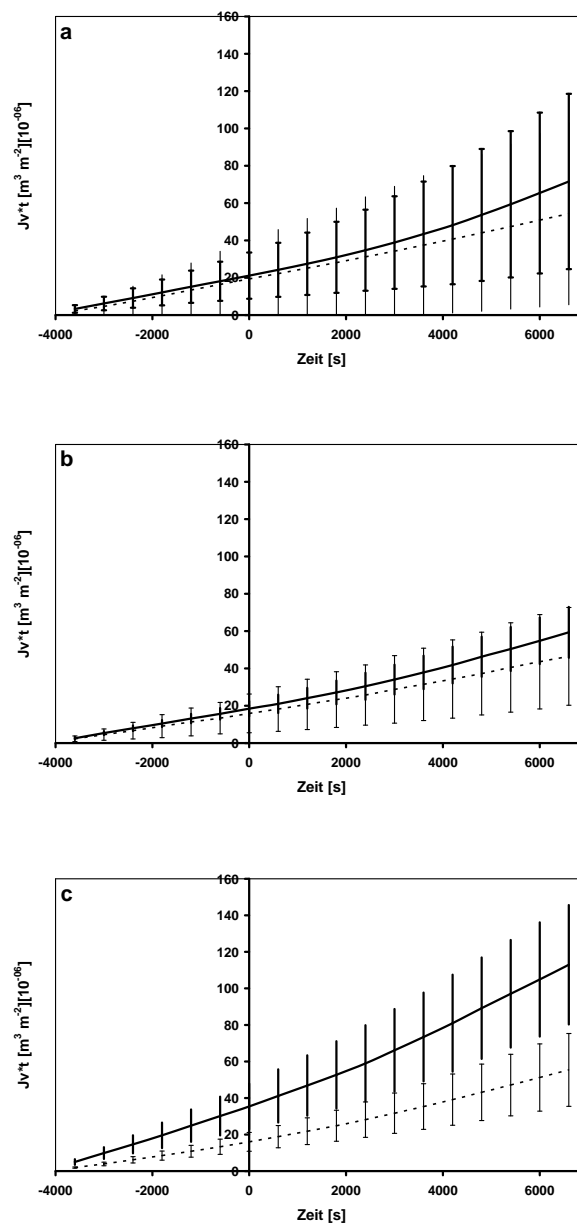


Abbildung 42: Additive Auftragung von $Jv \cdot t$ in Maiswurzeln aus Ca^{2+} -Mangel- (durchgezogen) und Vollmedium (gestrichelt). (a) intakte Keimlinge, (b) Keimlinge ohne Karyopse, (c) Keimlinge mit Glucose im Nährmedium. Oktober - Februar. MW \pm SD (n = 2-7).

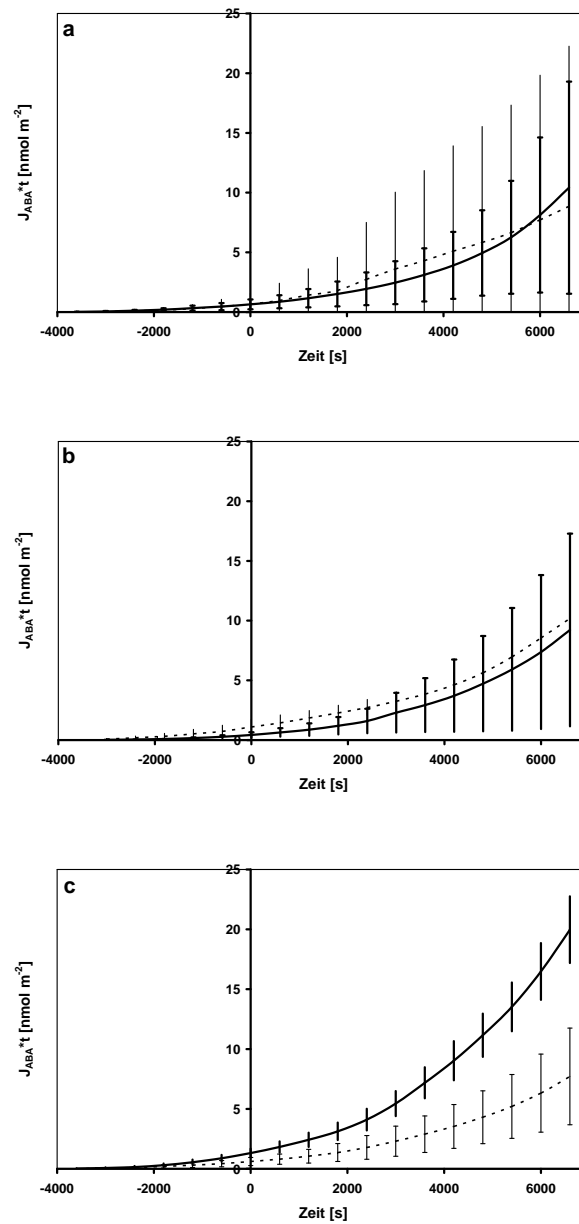


Abbildung 43: Additive Auftragung von $J_{ABA} \cdot t$ in Maiswurzeln aus Ca²⁺-Mangel- (durchgezogen) und Vollmedium (gestrichelt). (a) intakte Keimlinge, (b) Keimlinge ohne Karyopse, (c) Keimlinge mit Glucose im Nährmedium. Oktober - Februar. MW \pm SD (n = 2-6).

3.3.2.6 Kultur in CaSO₄

Elementarzusammensetzung der Wurzel

Wurden Maiskeimlinge in Nährlösung angezogen die nur aus 0,5 mM CaSO₄ bestand, war der Ca-Gesamtgehalt der Wurzel 2,5fach und der Na-Gehalt 2fach erhöht (Tab. 9, Abb. 44). Die S-Konzentration war unverändert. Die Gehalte der anderen Nährstoffionen nahmen erwartungsgemäß ab. Die Abnahme von N war mit 50% etwas geringer als in rein NO₃⁻-defizienten Keimlingen (60%), ebenso P mit 40% gegenüber 65%. Der Kaliumgehalt war bemerkenswerterweise mit einer Abnahme von etwa 70-80% wesentlich geringer als in rein K⁺-defizienten Keimlingen mit 45%, was einer Reduktion von ca. 60% entspricht.

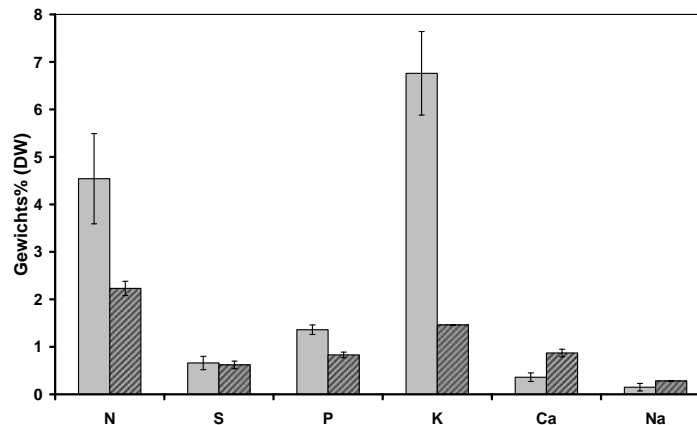


Abbildung 44: Elementarzusammensetzung von Maiswurzeln aus 0,5 mM CaSO₄; (grau) Vollmedium, (schraffiert) CaSO₄. Mai - Juni. MW ± SD (n = 2).

Annuelle und durch die Karyopse bedingte Schwankungen von J_v und J_{ABA}

J_v in intakten Maiskeimlingen und jenen ohne Karyopse aus 0,5 mM CaSO₄ unterlag keinen annuellen Schwankungen (Abb. 45). In Keimlingen mit Glucose im Medium war ein schwaches Absinken von April - Juli bis Oktober - Februar zu erkennen. Der stimulierende Effekt externer ABA war in intakten Keimlingen bzw. ohne Karyopse im Frühjahr/Sommer stärker ausgeprägt als im Herbst/Winter.

Das Entfernen der Karyopse und der Zusatz von Glucose in das Nährmedium hatten einen stimulierenden Effekt auf J_v, der von April – Juli stärker ausgeprägt war als von Oktober - Februar (Abb. 45).

Jahreszeitlich bedingte Unterschiede von J_{ABA} waren nur in Keimlingen ohne Karyopse zu erkennen, sie waren stärker ausgeprägt als in Jv (Abb. 46). Intakte Keimlinge bzw. jene mit Glucose im Medium zeigen keine annualen Schwankungen.

Von Oktober bis Februar erniedrigte das Entfernen der Karyopse J_{ABA} kaum (Abb. 46, Tab. 17), von April bis Juli wurde J_{ABA} leicht erhöhte. 5 mM Glucose steigerte J_{ABA} tendenziell. Externe ABA führte in Keimlingen ohne Karyopse bzw. mit Glucose im Medium zu einem stärkeren Anstieg von J_{ABA} als in intakten Keimlingen (Abb. 46, Tab. 17).

Der endogene ABA-Gehalt im Wurzelgewebe nahm durch das Entfernen der Karyopse bzw. die Zugabe externer Glucose im Durchschnitt tendenziell zu. (Abb. 10, Tab. 17). Durch externe ABA wird der ABA-Gehalt im Gewebe nur in intakten und Keimlingen mit Glucose gesteigert. Ohne Karyopse kommt es zu keiner Erhöhung.

Jv, J_{ABA} und endogener ABA-Gehalt im Vergleich zu Kontrollpflanzen

Jv in Keimlingen mit und ohne Karyopse aus $CaSO_4$ -Kultur unterschied sich nicht vom Vollmedium (Abb. 47, Tab. 17). Nach Zugabe von 5 mM Glucose in das Nährmedium stieg Jv leicht über den Kontrollwert. Der stimulierende Effekt externer ABA entsprach den Kontrollen.

J_{ABA} von intakten Keimlingen aus $CaSO_4$ -Kultur war vergleichbar mit vollernährten Keimlingen (Abb. 48, Tab. 17). In Keimlingen ohne Karyopse war J_{ABA} erniedrigt, mit Glucose im Medium erhöht. Der stimulierende Effekt externer ABA entsprach vollernährten Keimlingen.

Der endogene ABA-Gehalt im Maiswurzelgewebe unterschied sich nicht von vollernährten Keimlingen (Abb. 10, Tab. 17). Der interne ABA-Gehalt nach Zugabe externer ABA entsprach in etwa den Kontrollen, lediglich in Keimlingen ohne Karyopse war er deutlich niedriger.

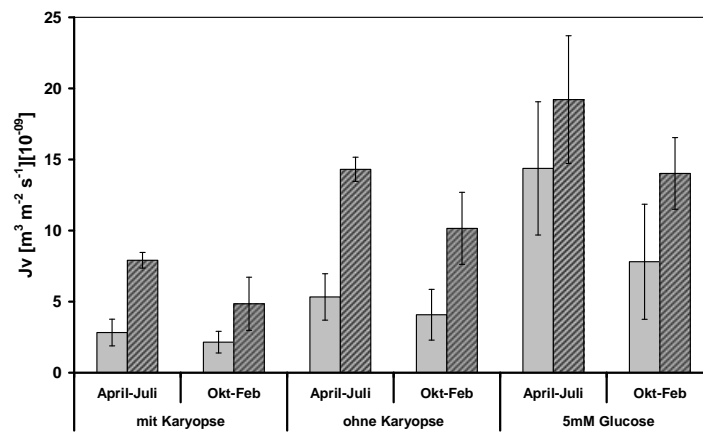


Abbildung 45: J_v in Maiswurzeln aus 0,5 mM CaSO_4 ; (grau) J_v , (schraffiert) $J_{v(\text{ABA})}$. MW \pm SD (n = 2-6).

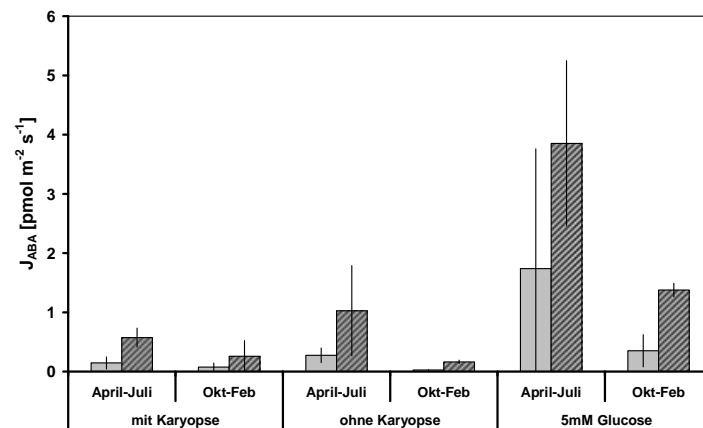


Abbildung 46: J_{ABA} in Maiswurzeln aus 0,5 mM CaSO_4 . (grau) J_{ABA} , (schraffiert) $J_{\text{ABA}(\text{ABA})}$. MW \pm SD (n = 2-4).

Tabelle 17: J_V , J_{ABA} und ABA-Gehalt im Wurzelgewebe von Maiskeimlingen aus Vollmedium und 0,5 mM $CaSO_4$. Oktober - Februar. MW \pm SD (n = 2-6).

		J_V [$m^3 m^{-2} s^{-1}$] [10^{-09}]	$J_{V(ABA)}$ [$m^3 m^{-2} s^{-1}$] [10^{-09}]	J_{ABA} [$pmol m^{-2} s^{-1}$]	$J_{ABA(ABA)}$ [$pmol m^{-2} s^{-1}$]	endogene ABA [$pmol g^{-1}FG$]	interne ABA [$pmol g^{-1}FG$]
Vollmedium	intakt	5,0 \pm 5,4	5,7 \pm 3,9	0,08 \pm 0,01	0,18 \pm 0,17	3,97 \pm 2,94	57,2 \pm 22,9
	Ohne Karyopse	3,7 \pm 2,2	5,1 \pm 2,4	0,10 \pm 0,06	0,35 \pm 0,06	3,5 \pm 1,1	75,7 \pm 17,0
	5 mM Glucose	4,0 \pm 1,3	6,8 \pm 2,5	0,06 \pm 0,03	0,26 \pm 0,15	13,9 \pm 10,2	73,9 \pm 51,3
0,5 mM $CaSO_4$	intakt	2,2 \pm 0,7	4,8 \pm 1,9	0,07 \pm 0,07	0,26 \pm 0,26	4,1 \pm 1,6	34,5 \pm 11,1
	Ohne Karyopse	4,1 \pm 1,8	10,1 \pm 2,5	0,03 \pm 0,00	0,16 \pm 0,03	13,8 \pm 14,3	12,8 \pm 15,0
	5 mM Glucose	7,8 \pm 4,0	14,0 \pm 2,5	0,35 \pm 0,27	1,38 \pm 0,11	11,9 \pm 6,9	83,5 \pm 28,5

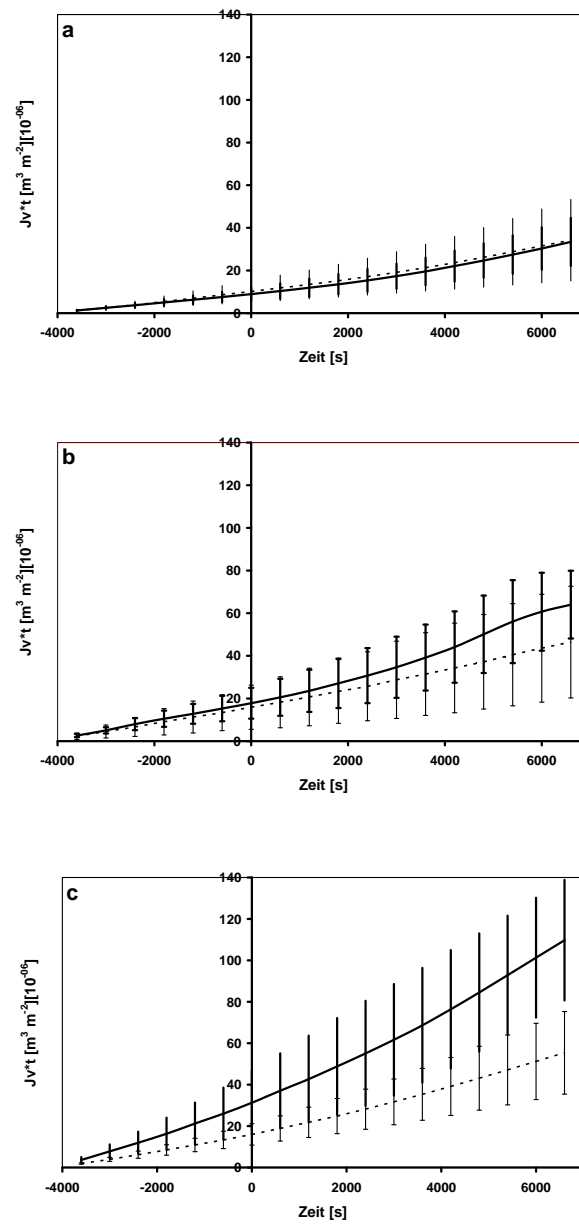


Abbildung 47: Additive Auftragung von $Jv \cdot t$ in Maiswurzeln aus 0,5 mM $CaSO_4$ (durchgezogen) und Vollmedium (gestrichelt). (a) intakte Keimlinge, (b) Keimlinge ohne Karyopse, (c) Keimlinge mit Glucose im Nährmedium. Oktober - Februar. MW \pm SD ($n = 3-7$).

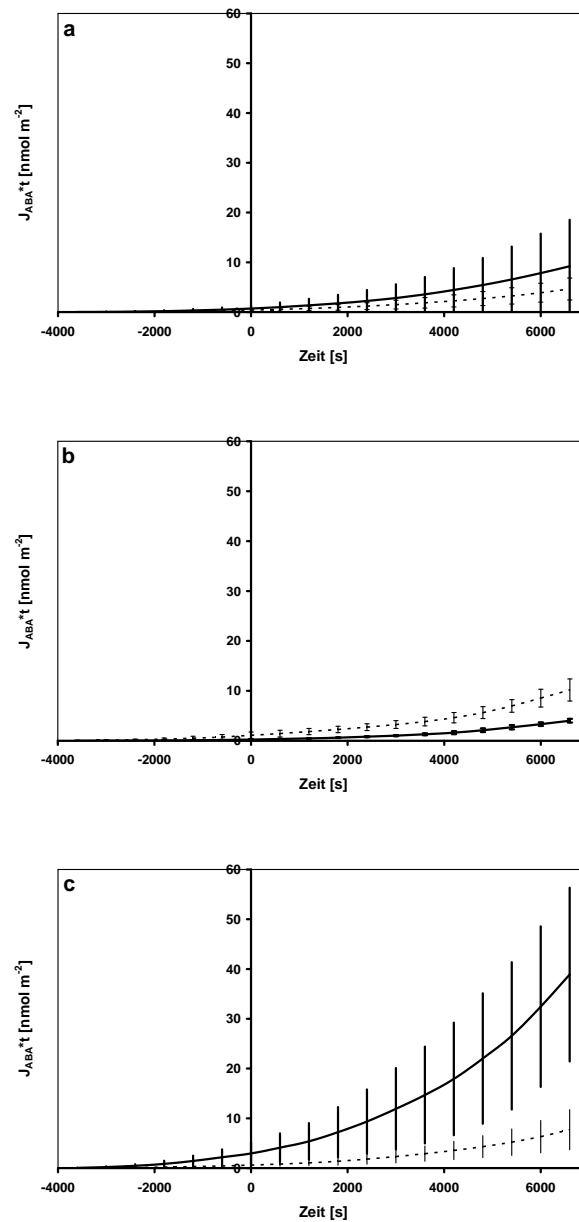


Abbildung 48: Additive Auftragung von $J_{ABA \cdot t}$ in Maiswurzeln aus CaSO_4 (durchgezogen) und Vollmedium (gestrichelt). (a) intakte Keimlinge, (b) Keimlinge ohne Karyopse, (c) Keimlinge mit Glucose im Nährmedium. Oktober - Februar. MW \pm SD (n = 2-6).

3.3.3 Zusammenfassung: Auswirkungen von Nährstoffmangel auf den Wasserfluss, den ABA-Fluss und den endogenen ABA-Gehalt des Wurzelgewebes

Nährstoffmangel wirkt sich je nach dem fehlenden Nährstoffion unterschiedlich aus. Zusätzlich hat auch die Versorgung des Keimlings mit Glucose aus dem Nährmedium einen Effekt.

In Keimlingen ohne Karyopse und ohne Glucose im Nährmedium hatte die Nährstoffversorgung kaum keinen Einfluss auf den radialen Wasserfluss, der radiale ABA-Fluss wurde nur unter Kaliummangel schwach stimuliert. Die endogene ABA erhöhte sich unter Phosphat- und Sulfatmangel (Tab. 18).

In Keimlingen, die über das Medium mit Glucose versorgt wurden, waren hingegen deutliche Unterschiede durch die Nährstoffsituation zu erkennen (Tab. 18).

Ein stimulierender Effekt auf J_v konnte unter K^+ - und Ca^{2+} -Mangel beobachtet werden. Die Kultur in $CaSO_4$ erhöhte J_v nur schwach. In NO_3^- -defizienten Keimlingen war J_v erniedrigt. PO_4^{3-} - und SO_4^{2-} -Mangel hatten keinen Einfluss auf J_v . Externe ABA führte in K^+ -defizienten Keimlingen zu keiner Stimulation, unter den anderen Bedingungen war der ABA-Effekt den Kontrollen vergleichbar.

J_{ABA} wurde unter K^+ -, NO_3^- - und Ca^{2+} -Mangel erhöht, in $CaSO_4$ -Kultur gesteigert. PO_4^{3-} - und SO_4^{2-} -Mangel zeigten keine Auswirkungen.

Eine Steigerung des endogenen ABA-Gehaltes im Wurzelgewebe von Keimlingen mit Glucose im Medium konnte nur in K^+ -, NO_3^- -Mangelmedium beobachtet werden.

Tabelle 18: Auswirkungen von Nährstoffmangel auf J_v , J_{ABA} , den endogenen ABA-Gehalt und den ABA-Effekt. Daten im Vergleich mit Vollmedium. (\uparrow) Stimulation, (\downarrow) Hemmung, (\nearrow) schwache Stimulation, (\searrow) schwache Hemmung, (-) vergleichbar mit Vollmedium, (0) ABA zeigte keinen stimulierenden Effekt.

		J_v	ABA-Effekt	J_{ABA}	ABA-Effekt	Endogene ABA
K ⁺ -Mangel	Ohne Karyopse	-	0	\nearrow	-	\nearrow
	5 mM Glucose	\uparrow	0	\uparrow	\uparrow	\uparrow
NO ₃ ⁻ -Mangel	Ohne Karyopse	-	0	-	-	-
	5 mM Glucose	\downarrow	-	\uparrow	\downarrow	\uparrow
PO ₄ ³⁻ -Mangel	Ohne Karyopse	-	-	-	\searrow	\uparrow
	5 mM Glucose	-	-	-	\searrow	-
SO ₄ ²⁻ -Mangel	Ohne Karyopse	-	-	-	-	\uparrow
	5 mM Glucose	-	-	-	-	-
Ca ²⁺ -Mangel	Ohne Karyopse	-	-	-	-	-
	5 mM Glucose	\uparrow	-	\uparrow	\uparrow	-
CaSO ₄	Ohne Karyopse	-	\uparrow	\downarrow	\uparrow	-
	5 mM Glucose	\nearrow	-	\uparrow	-	-

3.3.4 Auswirkungen von Salzstress

Um die Auswirkungen von Salzstress auf den radialen Wasser- und ABA-Transport und den endogenen ABA-Gehalt im Wurzelgewebe zu untersuchen, wurden 11 Tage alte hydroponisch in Vollmedium kultivierte Maiskeimlinge verwendet. 4 Tage vorgekeimte Pflanzen wurden in Vollmedium übertragen, dem über 2 Tage in 12 h Intervallen NaCl zugegeben wurde bis eine Endkonzentration von 50 mM NaCl erreicht war. Des Weiteren wurden Versuche mit Keimlingen vorgenommen, die für die Experimente in NaCl-freies Vollmedium überführt wurden (vorbehandelte Keimlinge).

Die Experimente erfolgten in Nährlösung mit 50 mM NaCl, da bei einer höheren Konzentration (100 mM) J_v deutlich reduziert und eine verlässliche Bestimmung daher erschwert war.

3.3.4.1 Wasserfluss

Wurzeln von NaCl-gestressten Keimlingen wiesen einen drastisch um etwa 80-90% reduzierten Wasserfluss auf (Tab. 19; Abb. 49). Externe ABA (100 nM) hatte keinen stimulierenden Effekt auf J_v (Tab. 19, Abb. 49). Wurden die Keimlinge jedoch nur mit 50 mM NaCl vorbehandelt und die eigentlichen Experimente in NaCl-freiem Nährmedium durchgeführt, erholte sich J_v unverzüglich und war ungestressten Keimlingen vergleichbar (Tab. 19, Abb. 50). Der Effekt externer ABA war tendenziell etwas schwächer ausgeprägt.

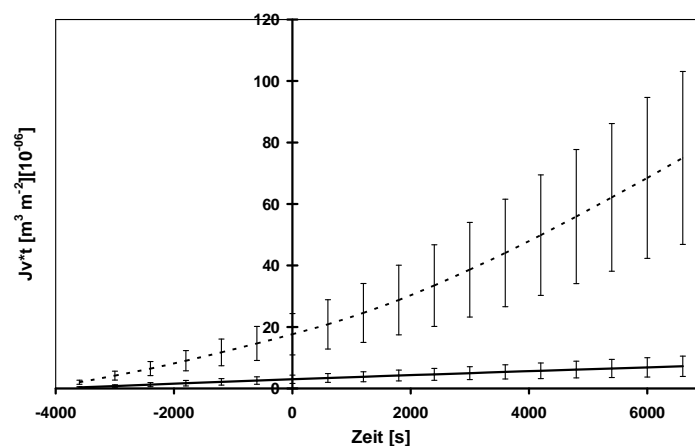


Abbildung 49: Additive Auftragung von $J_v \cdot t$ von NaCl-gestressten (durchgezogene Linie) und ungestressten (gestrichelte Linie) Maiskeimlingen. August - September. MW \pm SD (n = 4-6).

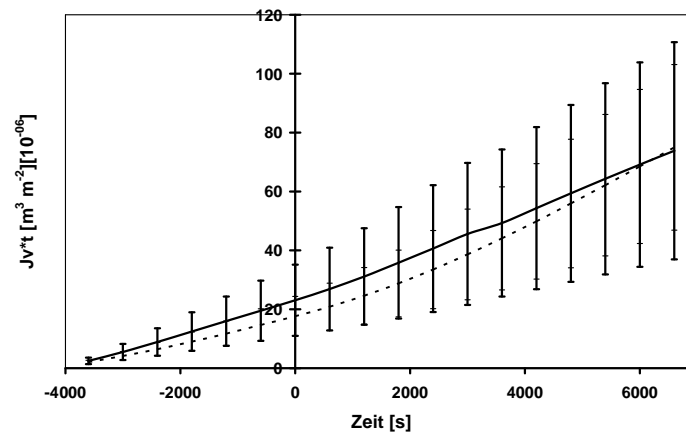


Abbildung 50: Additive Auftragung von $J_v \cdot t$ in mit Salz vorbehandelten (durchgezogenen Linie) und ungestressten (gestrichelte Linie) Maiskeimlingen aus Vollmedium. August - September. MW \pm SD (n = 6).

Tabelle 19: J_v , J_{ABA} und ABA-Gehalt im Wurzelgewebe NaCl-gestresster bzw. mit NaCl vorbehandelten Maiskeimlingen. August – September. Endogene und interne ABA beziehen sich auf den Jahresdurchschnitt. MW \pm SD (n = 2-7).

	J_v [$m^3 m^{-2} s^{-1}$] [10^{-09}]	$J_{V(ABA)}$ [$m^3 m^{-2} s^{-1}$] [10^{-09}]	J_{ABA} [$pmol m^{-2} s^{-1}$]	$J_{ABA(ABA)}$ [$pmol m^{-2} s^{-1}$]	Endogene ABA [$pmol g^{-1} FG$]	Interne ABA [$pmol g^{-1} FG$]
Vollmedium	4,5 \pm 1,8	10,6 \pm 3,6	0,05 \pm 0,03	0,45 \pm 0,42	4,0 \pm 2,9	52,2 \pm 18,4
50 mM NaCl	0,8 \pm 0,2	0,6 \pm 0,3	0,03 \pm 0,01	0,06 \pm 0,00	17,7 \pm 0,7	59,8 \pm 5,2
vorbehandelt	5,2 \pm 2,6	8,0 \pm 3,8	0,08 \pm 0,05	0,20 \pm 0,05	7,4 \pm 1,3	30,1 \pm 8,8

3.3.4.2 ABA-Fluss

J_{ABA} in NaCl-gestressten Maiskeimlingen war den ungestressten Kontrollen vergleichbar (Tab. 19, Abb.51). Der stimulierende Effekt 100 nM externe ABA auf J_{ABA} war geringer.

Wurden mit NaCl vorbehandelte Keimlinge in salzfreies Vollmedium umgesetzt, war J_{ABA} ebenfalls unverändert, im Vergleich zu NaCl-gestressten Keimlingen konnte ein leicht erhöhter ABA-Fluss festgestellt werden (Tab. 19, Abb. 52). Der Effekt externer ABA entsprach ungestressten Keimlingen.

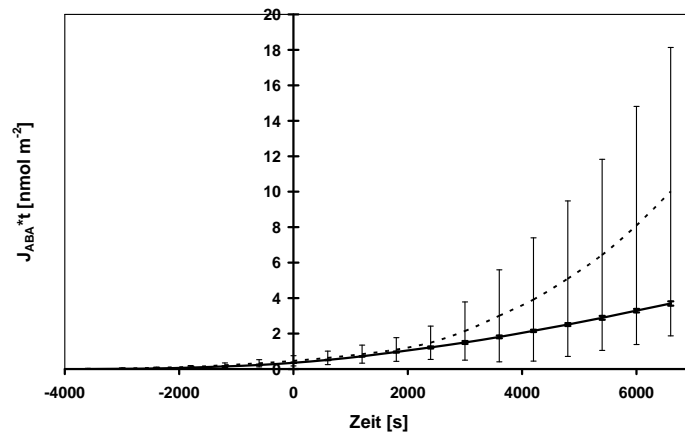


Abbildung 51: Additive Darstellung von $J_{ABA} \cdot t$ in NaCl-gestressten (durchgezogene Linie) und ungestressten (gestrichelte Linie) Maiskeimlingen. August – September. MW \pm SD (n = 2-6).

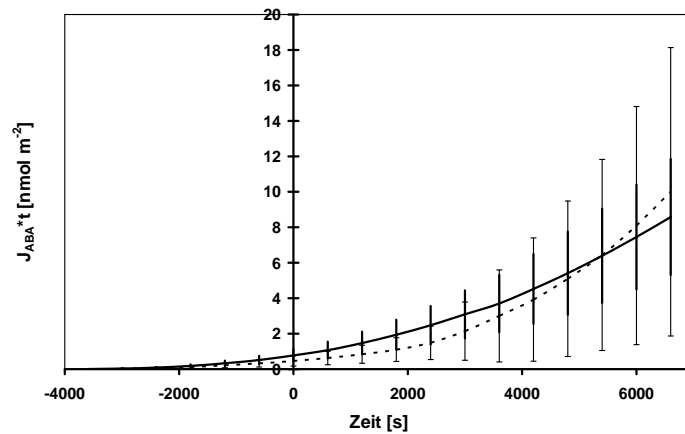


Abbildung 52: Additive Darstellung von $J_{ABA} \cdot t$ in mit NaCl vorbehandelten (durchgezogene Linie) und ungestressten (gestrichelte Linie) Maiskeimlingen. August – September. MW \pm SD (n = 6).

3.3.4.3 Endogener ABA-Gehalt

Die endogene ABA-Konzentration im Wurzelgewebe NaCl-gestresster Maiskeimlinge war um etwa das 4fache, in vorbehandelten Keimlingen hingegen nur leicht erhöht (Tab. 19). Die Steigerung des ABA-Gehaltes durch externe ABA war unter beiden Behandlungen geringer als in den Kontrollen.

3.3.5 Auswirkungen eines hypoxischen Nährmediums

Jackson et al. (1996) and Else et al. (1995 b) zeigten an Untersuchungen mit gefluteten Tomatenpflanzen, dass Sauerstoffmangel im Boden nach einer kurzfristigen Abnahme von J_v zu einem Anstieg über den Wert von ungestressten Keimlingen, bei einer gleichzeitigen Abnahme der ABA-Konzentration im Xylemsaft, führt. Erklärt werden kann dieses Ergebnis mit einem Verbrauch an Sauerstoff während der ABA-Biosynthese (Zeevaart et al. 1989). In der vorliegenden Arbeit wurden die Auswirkungen von Hypoxie nicht nur auf Wasser- und ABA-Flüsse, sondern auch auf den endogenen ABA-Gehalt des Maiswurzelgewebes untersucht. Die Experimente wurden an 11 d alten Maiskeimlingen durchgeführt, die mindestens 24 h und höchstens 7d einem Sauerstoffmangel ausgesetzt waren. Der Sauerstoffmangel wurde induziert, indem die Belüftung der Hydrokulturtöpfe unterblieb. Als Kontrollen dienten belüftete, in Vollmedium kultivierte Maiskeimlinge.

3.3.5.1 Sauerstoffgehalt des Nährmediums

Die Überprüfung des Sauerstoffgehaltes der Nährlösung von 11 d alten Maiskeimlingen ergab in unbelüftetem Medium einen um etwa 40% geringeren Sauerstoffgehalt als in mit Druckluft durchströmter Nährlösung (Tab. 20). Diese Reduktion war unabhängig von der Dauer, egal ob die Keimlinge nur 24 h oder 7 d vor Versuchsbeginn nicht belüftet wurden.

Tabelle 20: Sauerstoffgehalt des Nährmediums. Kontrolle belüftet, 24 h – 7 d Dauer der Nichtbelüftung vor Versuchsbeginn. (n = 2-5).

Dauer des Sauerstoffmangels	Sauerstoffgehalt [mg/l]
Kontrolle	10
24h	6
48h	6
72h	6
96h	8
144h	6
7d	6

3.3.5.2 Auswirkungen auf J_V , J_{ABA} und den endogenen ABA-Gehalt im Wurzelgewebe

Sowohl J_V als auch J_{ABA} von hypoxisch kultivierten Maiskeimlingen unterschieden sich nicht von belüfteten Kontrollpflanzen (Tab. 21). Auch der endogene ABA-Gehalt veränderte sich durch den verminderten Sauerstoffgehalt der Nährlösung nicht.

Tabelle 21: J_V , J_{ABA} und endogener ABA-Gehalt in hypoxisch kultivierten Maiskeimlingen. MW \pm SD (n = 2-8).

Sauerstoffgehalt [mg/l]	J_V [$m^3 m^{-2} s^{-1}$] [10^{09}]	$J_{V(ABA)}$ [$m^3 m^{-2} s^{-1}$] [10^{09}]	J_{ABA} [$pmol m^{-2} s^{-1}$]	$J_{ABA(ABA)}$ [$pmol m^{-2} s^{-1}$]	Endogene ABA [$pmol g^{-1} FG$]	Interne ABA [$pmol g^{-1} FG$]
10	2,9 \pm 1,7	5,23 \pm 3,09	0,04 \pm 0,02	0,14 \pm 0,08	4,0 \pm 2,9	52,2 \pm 18,4
6	2,8 \pm 1,6	4,4 \pm 1,8	0,03 \pm 0,02	0,09 \pm 0,08	4,7 \pm 2,4	49,4 \pm 16,2

3.4 Zusammenhang zwischen dem endogenen bzw. internen ABA-Gehalt im Wurzelgewebe und dem radialen Wasserfluss

3.4.1 Vollernährte und nährstoffdefiziente Keimlinge

In Abbildung 53 ist die Beziehung zwischen J_v und dem endogenen bzw. internen ABA-Gehalt von vollernährten und nährstoffdefizienten Maiskeimlingen dargestellt. Endogene ABA bezeichnet die von der Pflanze selbst synthetisierte ABA. Die interne ABA beschreibt diejenige ABA im Wurzelgewebe, die neben der endogenen ABA zusätzlich durch die Wurzel aufgenommene externe ABA aus dem Nährmedium enthält. Endogene ABA stammt somit von der Pflanze selbst, während interne ABA jene ABA beschreibt, die nach 2 h Behandlung mit 100 nM externer ABA in der Wurzel gemessen wird. Alle verfügbaren Daten wurden ausgewertet, es erfolgte keine Beschränkung auf einen bestimmten Zeitrahmen. Die geschlossenen Symbole zeigen die endogene ABA, die offenen Symbole die interne ABA. Die Daten wurden doppellogarithmisch dargestellt, die statistische Berechnung erfolgte anhand dieser Auftragung. Zusätzlich sind Trendlinien für die Werte vor bzw. nach Zugabe externer ABA dargestellt.

Abbildung 53 zeigt eine statistisch gesicherte Relation zwischen J_v und dem ABA-Gehalt im Wurzelgewebe. Die statistische Betrachtung aller Punkte zeigt, dass eine signifikant hohe lineare Korrelation (Pearson Korrelation: $N = 115$, $r = 0,560$, $p < 0,001$) zwischen der endogenen bzw. internen ABA und J_v besteht. Wird die endogene ABA alleine betrachtet besteht hingegen, aufgrund der größeren Schwankungsbreite, nur ein positiver Trend ($N = 49$, $r = 0,245$, $p = 0,089$). Die Trendlinien in Abb. 53 zeigen, dass die Zunahme von J_v nach ABA-Zugabe (offene Symbole) stärker ausgeprägt ist. Es ist ferner deutlich zu erkennen, dass unterhalb eines Grenzwertes von etwa $12 \text{ pmol g}^{-1}\text{FG}$ nur die endogene ABA anzutreffen ist und dass dieser Grenzwert durch die Zugabe externer ABA klar überschritten wird.

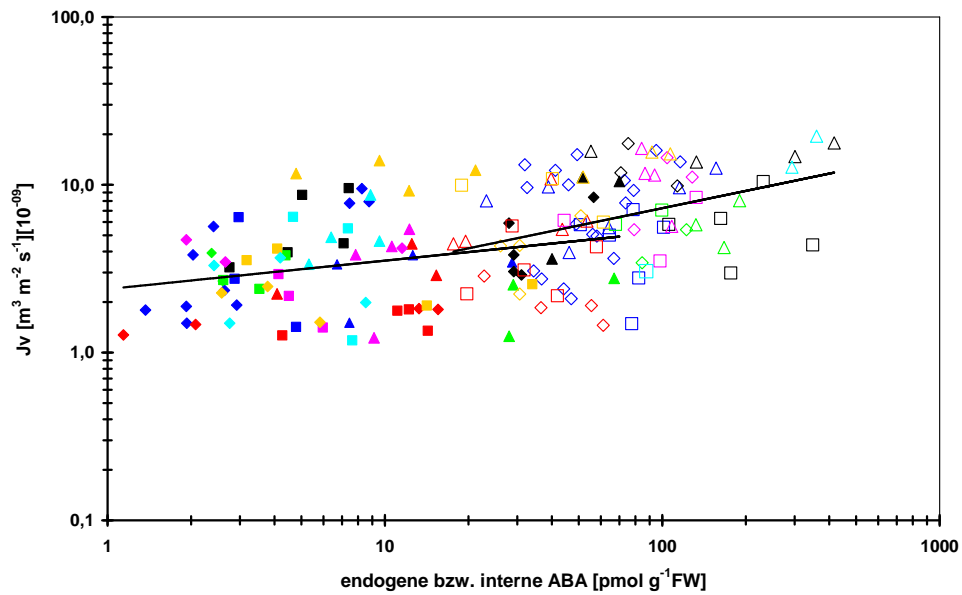


Abbildung 53: Zusammenhang zwischen endogener bzw. interner ABA und J_v in Wurzeln von 11d alten Maiskeimlingen. Endogen bezieht sich auf die ABA im Maiswurzelgewebe, die von der Pflanze selbst durch Biosynthese produziert wurde. Interne ABA bezeichnet die endogene ABA plus zusätzliche aus dem Medium (nach Zugabe von 100 nM) aufgenommene externe ABA. Die Messung endogener ABA im Maiswurzelgewebe erfolgte in Pflanzen ohne exogene ABA im Medium, die Messung interner ABA 2h nach Zugabe von 100 nM ABA ins Medium. Die gefüllten Symbole zeigen Daten ohne ABA-Zugabe (endogen), die leeren symbolisieren Werte mit 100 nM exogener ABA im Medium (intern). (Rauten) intakte Keimlinge, (Quadrate) Keimlinge ohne Karyopse, (Dreieck) Keimlinge mit 5 mM Glucose im Nährmedium. (blau) Vollmedium, (schwarz) Kalium-, (grün) Nitrat-, (rot) Phosphat-, (pink) Calcium-, (türkis) Sulfatmangel, (orange) 0,5 mM CaSO_4 . Trendlinien jeweils vor und nach ABA-Zugabe.

3.4.2 Salzstress

Untersucht man den Zusammenhang zwischen endogenem und internem ABA-Gehalt und J_v (Abb. 54) erkennt man sehr gut, dass NaCl-gestresste Keimlinge (grüne Symbole) zwar einen deutlich erhöhten endogenen ABA-Gehalt im Wurzelgewebe aufweisen, J_v hierdurch aber nicht beeinflusst wird. In Anwesenheit von NaCl existiert kein Zusammenhang zwischen dem ABA-Gehalt der Wurzel und J_v . Sind die Keimlinge jedoch nur mit NaCl vorbehandelt (rote Symbole) besteht die positive Beziehung zwischen dem ABA-Gehalt und J_v wieder.

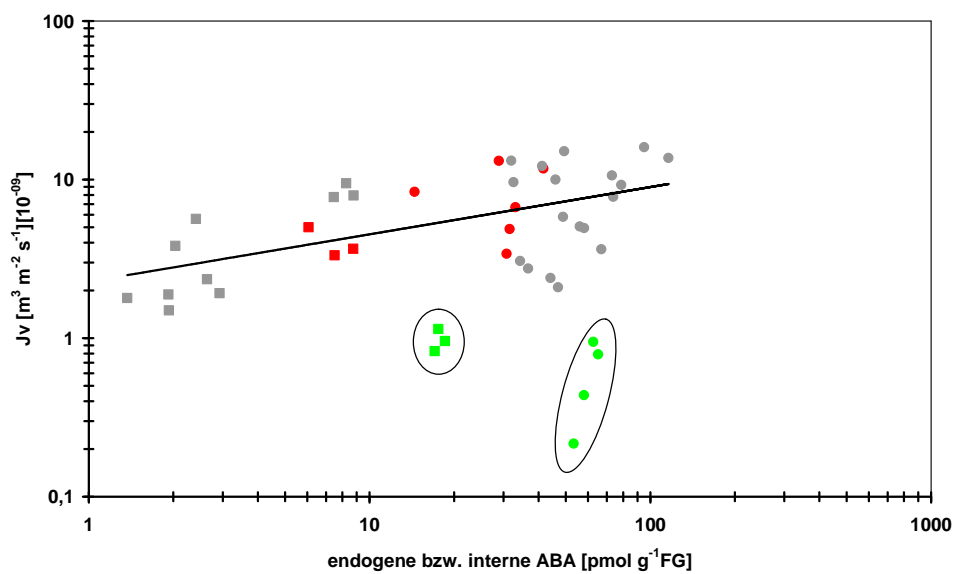


Abbildung 54: Zusammenhang von endogener bzw. interner ABA und J_v . (Quadrat) vor ABA-Zugabe, (Kreis) nach ABA-Zugabe; (grau) Kontrollen, (grün) 50 mM NaCl, (rot) Vorbehandlung mit 50 mM NaCl. ($n = 3-18$). Trendlinie ohne NaCl-gestresste Keimlinge berechnet.

3.4.3 Hypoxie

Wie die fast parallelen Geraden in Abb. 55 zeigen, ist die Beziehung zwischen dem ABA-Gehalt des Wurzelgewebes und J_v in hypoxisch angezogenen Keimlingen vergleichbar mit belüfteten Kontrollkeimlingen, lediglich auf einem geringeren Niveau für J_v .

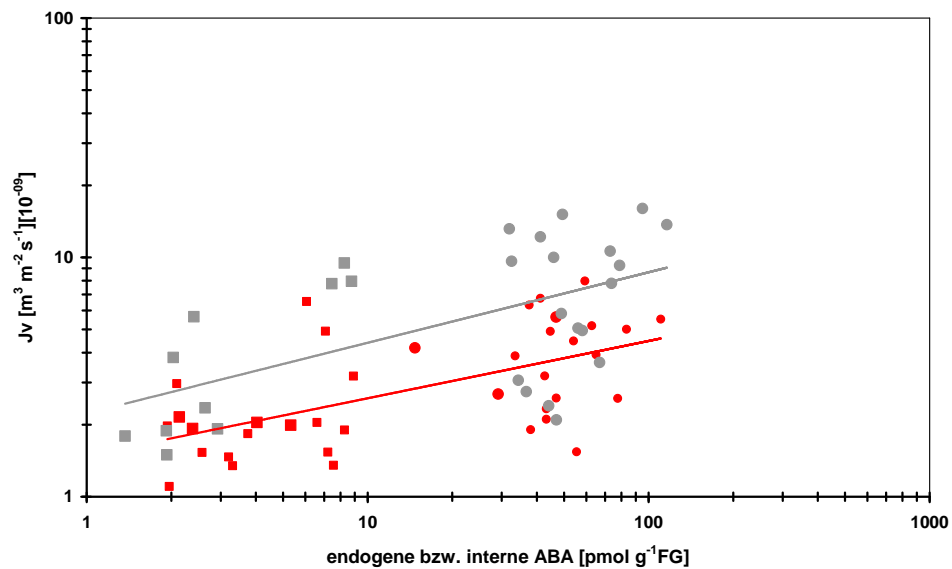


Abbildung 55: Zusammenhang zwischen endogener bzw. interner ABA im Wurzelgewebe und J_v . (Quadrat) vor ABA-Zugabe, (Kreis) nach ABA-Zugabe. (grau) belüftetes Vollmedium, (rot) unbelüftetes Medium. ($n = 10-20$).

3.5 Beziehung zwischen dem endogenen bzw. internen ABA-Gehalt des Wurzelgewebes und dem radialen ABA-Fluss

3.5.1 Vollernährte und nährstoffdefiziente Keimlinge

Wird J_{ABA} gegen die endogene bzw. interne ABA aufgetragen (Abb. 56) ist klar zu erkennen, dass mit einem zunehmenden ABA-Gehalt im Gewebe auch J_{ABA} gesteigert wird. Statistisch gesehen resultiert wieder eine hohe Signifikanz der Werte ($N = 83$, $r = 0,775$, $p < 0,001$). Im Gegensatz zu J_v (Abb. 53) trifft diese hohe Signifikanz auch zu, wenn nur die endogene ABA betrachtet wird ($N = 35$, $r = 0,568$, $p < 0,001$). Es besteht folglich ein enger Zusammenhang zwischen dem endogenen bzw. internen ABA-Gehalt der Wurzel und J_{ABA} . Umso mehr ABA im Gewebe vorliegt, desto mehr ABA wird auch zu den Xylemgefäßen transportiert. Aus Unterschieden in der internen ABA des Maiswurzelgewebes lassen sich somit direkte Rückschlüsse auf den radialen ABA-Fluss unter transpirierenden Bedingungen ziehen.

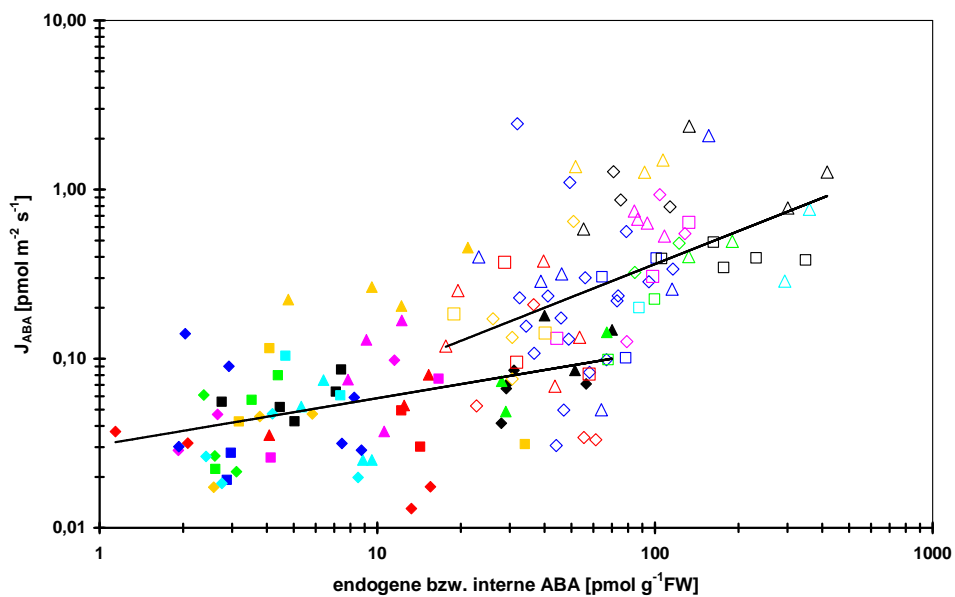


Abbildung 56: Zusammenhang zwischen J_{ABA} und endogener bzw. interner ABA in vollernährten und nährstoffdefizienten Wurzeln von 11 d alten Maiskeimlingen. Die gefüllten Symbole zeigen Daten ohne ABA-Zugabe (endogen), die leeren symbolisieren Werte mit 100 nM exogener ABA im Medium (intern). (Rauten) intakte Keimlinge, (Quadrat) Keimlinge ohne Karyopse, (Dreieck) Keimlinge mit 5 mM Glucose im Nährmedium. (blau) Vollmedium, (schwarz) Kalium-, (grün) Nitrat-, (rot) Phosphat-, (pink) Calcium-, (türkis) Sulfatmangel, (orange) 0,5 mM $CaSO_4$. Trendlinien der Werte jeweils vor und nach ABA-Zugabe.

3.5.2 Salzstress

In NaCl-gestressten Keimlingen ist zwar trotz eines erhöhten endogenen ABA-Gehaltes J_{ABA} erniedrigt, aber dennoch lässt sich ein positiver Zusammenhang zwischen der endogenen ABA und J_{ABA} erkennen (Abb. 57). Vorbehandelte Keimlinge unterscheiden sich nicht von den Kontrollen.

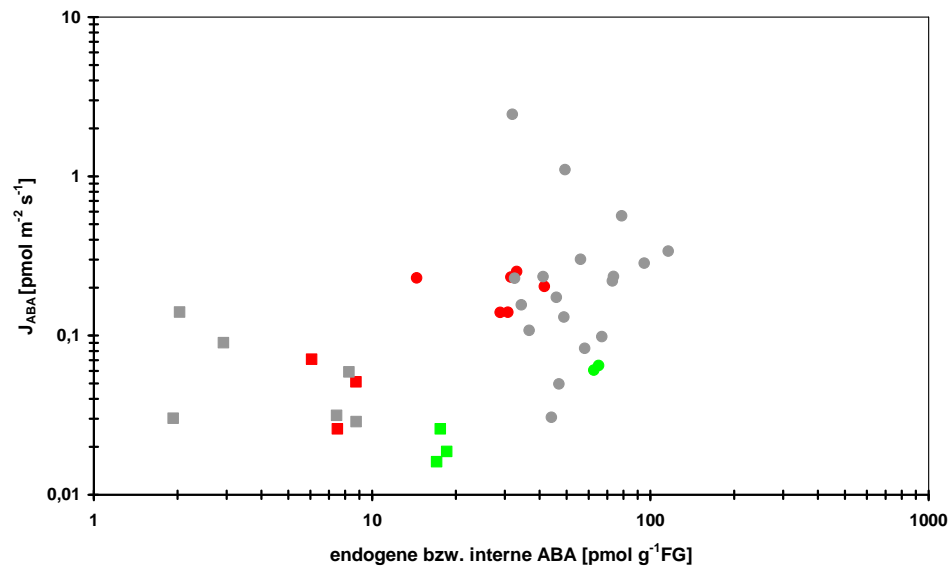


Abbildung 57: Zusammenhang von endogener bzw. interner ABA und J_{ABA} . (Quadrat) vor ABA-Zugabe, (Kreis) nach ABA-Zugabe; (grau) Kontrollen, (grün) 50 mM NaCl, (rot) Vorbehandlung mit 50 mM NaCl ($n = 3-18$).

3.5.3 Hypoxie

Wie schon in Abb. 55 ergibt sich eine den belüfteten Keimlingen vergleichbar positiver Zusammenhang zwischen dem endogenen und internen ABA-Gehalt und dem ABA-Fluss, wiederum auf einem niedrigeren Niveau für J_{ABA} .

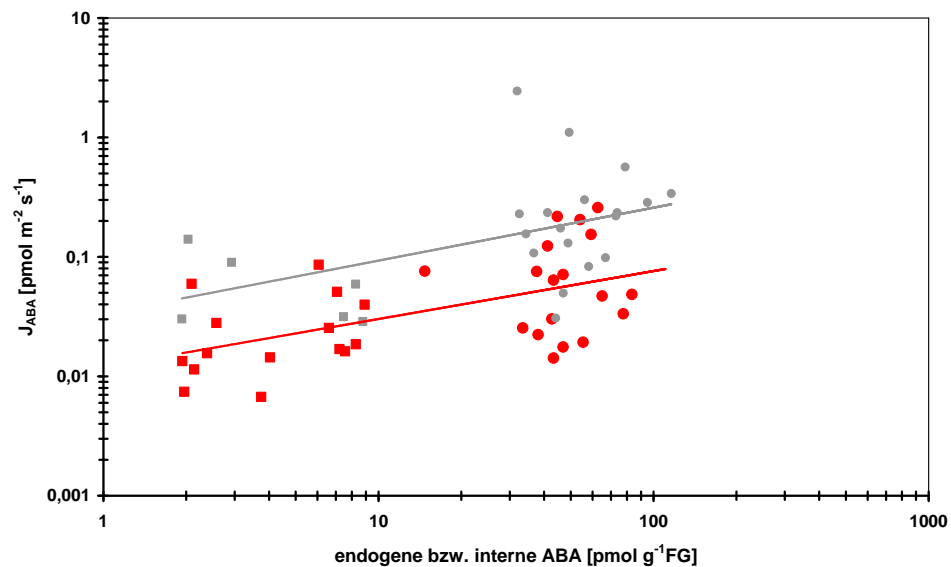


Abbildung 58: Zusammenhang zwischen endogener bzw. interner ABA und J_{ABA} . (Quadrat) vor ABA-Zugabe, (Kreis) nach ABA-Zugabe. (grau) belüftetes Vollmedium, (rot) unbelüftetes Medium. (n = 6-20).

3.6 Beziehung zwischen J_v und J_{ABA}

3.6.1 Nährstoffmangel

Abbildung 59 zeigt den Zusammenhang zwischen J_v und J_{ABA} sowohl vor (gefüllte Symbole) als auch nach (offene Symbole) ABA-Zugabe. Es ist eindeutig zu erkennen, dass mit zunehmenden J_v auch J_{ABA} ansteigt, unabhängig ob vor oder nach ABA-Zugabe. Die Pearson-Korrelation ergibt für alle aufgetragen Werte mit $N = 236$, $r = 0,689$ und $p < 0,001$ eine hohe Signifikanz. Die Werte vor einer ABA-Zugabe betragen: $N = 119$, $r = 0,652$, $p < 0,001$ und nach ABA-Zugabe $N = 117$, $r = 0,608$, $p < 0,001$. Die Auswirkungen einer ABA-Zugabe in das Medium auf die Beziehung zwischen J_v und J_{ABA} wurde durch Kovarianzanalyse (ANCOVA) ermittelt. Wie aus den unterschiedlichen Steigungen der beiden Geraden in Abb. 59 zu ersehen ist, hängt der ABA-Effekt auf J_{ABA} von der Höhe des Wasserflusses J_v ab. Gemäß der Kovarianzanalyse ist der Effekt der ABA-Zugabe nicht signifikant ($p = 0,474$), während die Wechselwirkung zwischen ABA-Zugabe und $\log J_v$ hoch signifikant ist ($p = 0,001$). Es ergibt sich eine höchst signifikante Beziehung zwischen dem Wasser- und ABA-Fluss ($p < 0,001$), der jedoch noch zusätzlich von der Zugabe externer ABA abhängt. Bei kleinen J_v hat externe ABA einen schwächeren Effekt als bei höheren J_v , d.h. je höher J_v ist, desto stärker wirkt sich externe ABA aus.

Die Überschneidung der Werte vor und nach ABA-Zugabe wird durch die Trendlinien noch besser ersichtlich und liegt an der großen Schwankungsbreite von J_v , die durch die unterschiedlichen Nährstoffmangelbedingungen verursacht wird.

In Gegensatz zu Abb. 53 und 56 existiert kein Schwellenwert, da unter bestimmten Nährstoffbedingungen, z.B. Kaliummangel (schwarze Symbole), sowohl J_v als auch J_{ABA} schon vor ABA-Zugabe sehr hoch sind.

Zusammenfassend ist zu bemerken, dass eine sehr enge Beziehung zwischen J_v und J_{ABA} besteht. Je höher der radiale Wasserfluss, desto höher ist auch der radiale Wassertransport.

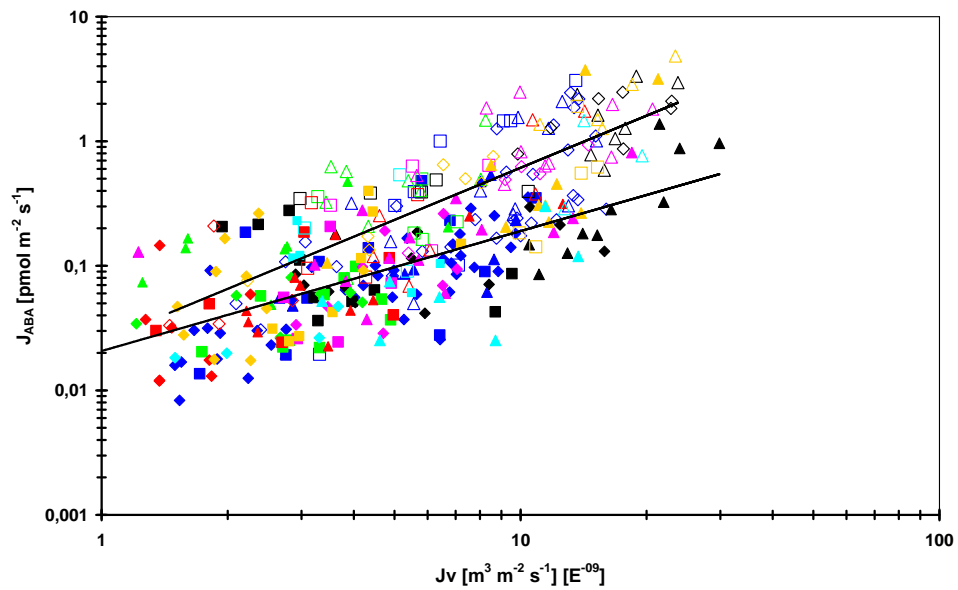


Abbildung 59: Zusammenhang zwischen J_{ABA} und J_v in Wurzeln 11 d alter vollernährter und nährstoffdefizienter Maiskeimlinge aus Hydrokultur. Die gefüllten Symbole zeigen Daten ohne ABA-Zugabe (endogen), die leeren symbolisieren Werte mit 100 nM exogener ABA im Medium (intern). (Rauten) intakte Keimlinge, (Quadrate) Keimlinge ohne Karyopse, (Dreieck) Keimlinge mit 5 mM Glucose im Nährmedium. (blau) Vollmedium, (schwarz) Kalium-, (grün) Nitrat-, (rot) Phosphat-, (pink) Calcium-, (türkis) Sulfatmangel, (orange) 0,5 mM $CaSO_4$. Trendlinien jeweils vor und nach ABA-Zugabe.

3.6.2 Salzstress

Betrachtet man Abbildung 60 zeigt sich, dass bei permanenter Anwesenheit von NaCl im Nährmedium kein Zusammenhang mehr zwischen J_v und J_{ABA} besteht. In mit NaCl vorbehandelten Keimlingen existiert die gute Beziehung zwischen J_v und J_{ABA} wieder. Je höher J_v , desto höher ist auch J_{ABA} .

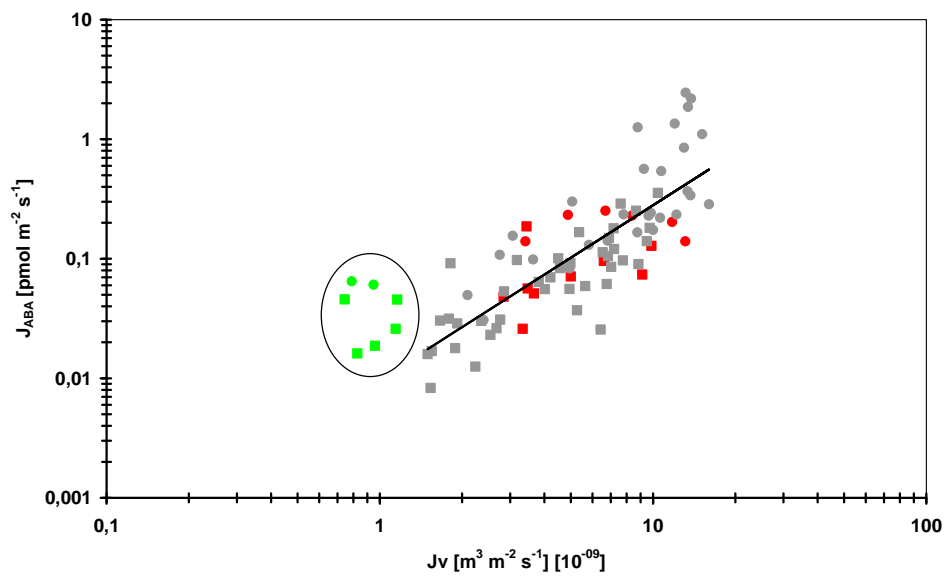


Abbildung 60: Zusammenhang von J_v und J_{ABA} in NaCl-gestressten Maiswurzeln. (Quadrat) vor ABA-Zugabe, (Kreis) nach ABA-Zugabe; (grau) Kontrollen, (grün) 50 mM NaCl, (rot) Vorbehandlung mit 50 mM NaCl. ($n = 2-39$). Trendlinie ohne NaCl-gestresste Keimlinge berechnet.

3.6.3 Hypoxie

Es ist deutlich zu erkennen, dass in hypoxisch angezogenen Maiskeimlingen mit zunehmenden J_v auch J_{ABA} ansteigt (Abb. 61). Hypoxische Keimlinge unterscheiden sich kaum von belüfteten Keimlingen. Es besteht ein positiver Zusammenhang zwischen J_v und J_{ABA} .

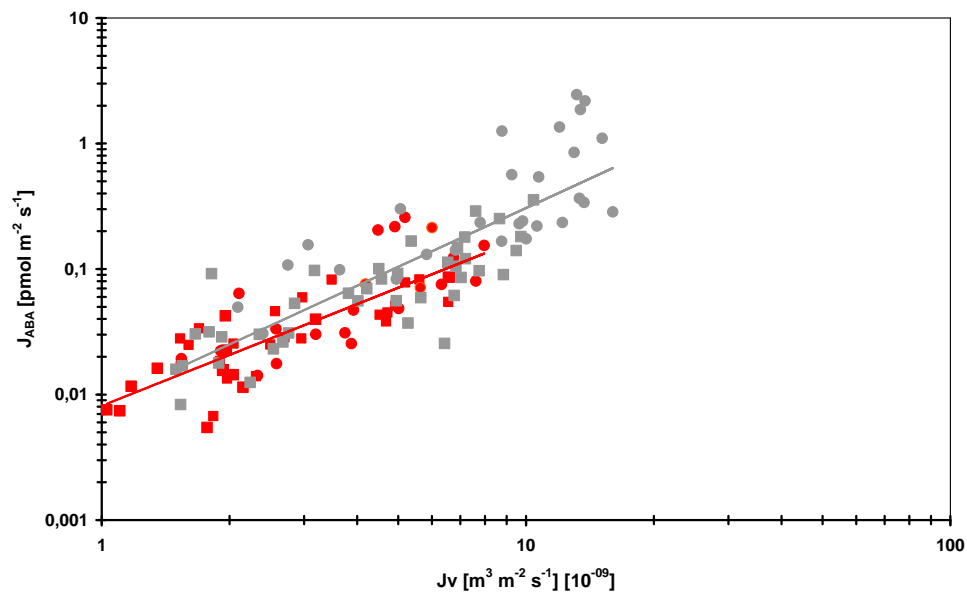


Abbildung 61: Zusammenhang zwischen J_v und J_{ABA} in Maiskeimlingen aus unbelüfteter Hydrokultur. (Quadrat) vor ABA-Zugabe, (Kreis) nach ABA-Zugabe. (blau) belüftetes Vollmedium, (rot) unbelüftetes Medium. ($n = 21-40$).

3.7 Visualisierung des ABA-Transportes durch Immunolokalisierung

Der radiale Wassertransport durch die Wurzel zu den Fernleitungsbahnen kann sowohl symplastisch als auch apoplastisch erfolgen (Steudle und Peterson 1998). Der apoplastische Transport kann durch die Ausbildung apoplastischer Barrieren kontrolliert werden. Diese Barrieren sind nicht völlig impermeabel, sondern bei Anliegen eines hydrostatischen Druckes, z.B. starker Transpiration, immer noch durchlässig für Wasser, der Transport ist lediglich eingeschränkt (Schreiber et al. 1999). Über den Transport von ABA gab es lange Zeit keine gesicherten Erkenntnisse. Während Else et al. (1994a, b, 1995) und Jackson et al. (1996) einen symplastischen Transport postulierten, zeigten Hose et al. (2001), dass ABA auch mittels eines „solvent drag“ apoplastisch transportiert werden kann.

Mittels der Immunolokalisierung von ABA mit einem hochspezifischen ABA-Antikörper und eines zweiten an diesen gekoppelten fluoreszierenden Antikörpers sollte gezeigt werden, auf welchem Wege (symplastisch versus apoplastisch) der radiale ABA-Transport stattfindet und inwieweit apoplastische Barrieren wie Endo- und Exodermis diesen Transport beeinflussen.

Da Stress nicht nur J_v und J_{ABA} , sondern auch die endogene ABA-Konzentration beeinflussen kann (siehe 3.3), sollte die Immunolokalisierung genutzt werden, um eventuell durch Nährstoffmangel verursachte Veränderungen in der Barrierewirkung zu visualisieren.

Die Immunolokalisierung von ABA erfolgte an Wurzelquer- und Längsschnitten von 11 Tage alten, hydroponisch und aeroponisch kultivierten Maiskeimlingen, die mit bzw. ohne ABA im Nährmedium einem Transpirationssog ausgesetzt waren. Dieser Sog wurde entweder durch die natürliche Transpiration der Pflanze verursacht oder künstlich erzeugt, indem ein Unterdruck an das dekapitierte Mesokotyl angelegt wurde (entsprechend 2.5). In einem dritten Versuchsansatz wurde die Transpiration unterbunden, indem der Spross entfernt und kein Unterdruck angelegt wurde. Es wurden Wurzelsegmente der Spitze (0-10 mm), 10-20 mm und etwa 60 mm hinter der Wurzelspitze untersucht. Das sekundäre Stadium der Endodermisbildung wird laut Freundl et al. (1998; 1999) in diesem Bereich, 60 mm hinter der Spitze, erreicht. Im sekundären Stadium sind die Caspary-Streifen in den radialen Zellwänden bereits

ausgebildet und eine Suberinlamelle ist den radialen und tangentialen Wänden der Endodermis aufgelagert. In aeroponisch kultivierten Maiswurzeln bilden sich zusätzlich Caspary-Streifen in der Hypodermis (Exodermis) etwa 30-50 mm hinter der Wurzelspitze und ihr sekundäres Stadium in einer Entfernung von 60-90 mm (Freundl et al. 2000, Zimmermann et al. 2000). Die Caspary-Streifen der Exodermis stellen eine zusätzliche Barriere für den Wasser- und Ionentransport dar (Freundl et al. 2000, Hose 2000, Peterson 1988, 1989, Zimmermann und Steudle 1998, Zimmermann et al. 2000). Mittels der Immunolokalisierung sollte festgestellt werden, ob ABA symplastisch oder apoplastisch transportiert wird und ob apoplastische Barrieren diesen Transport beeinträchtigen.

3.7.1 Spezifität der Methode

Um die Spezifität der Methode zu zeigen, wurden zahlreiche Kontrollen durchgeführt (Pastor et al. 1995, 1999). Die folgenden Ergebnisse wurden von Wurzelsegmenten 60 mm hinter der Wurzelspitze erhalten. Die Endodermis hatte bereits ihr sekundäres Stadium erreicht (Freundl et al. 2000).

In Abbildung 62 a ist zur besseren Orientierung die Durchlichtaufnahme eines Wurzelquerschnittes zu sehen. Abb. 62 b zeigt auf der linken Seite die Darstellung der relativen ABA-Konzentration mittels einer Farbskala. Je heller die Farbe, desto höher ist der relative ABA-Gehalt (schwarz: keine ABA; rot: mittlerer ABA-Gehalt; weiß: höchster ABA-Gehalt). In Abb. 63 sind Profile zur Fluoreszenzintensität angegeben. Sie beziehen sich jeweils auf die Linien, die in Abb. 62 eingezeichnet sind.

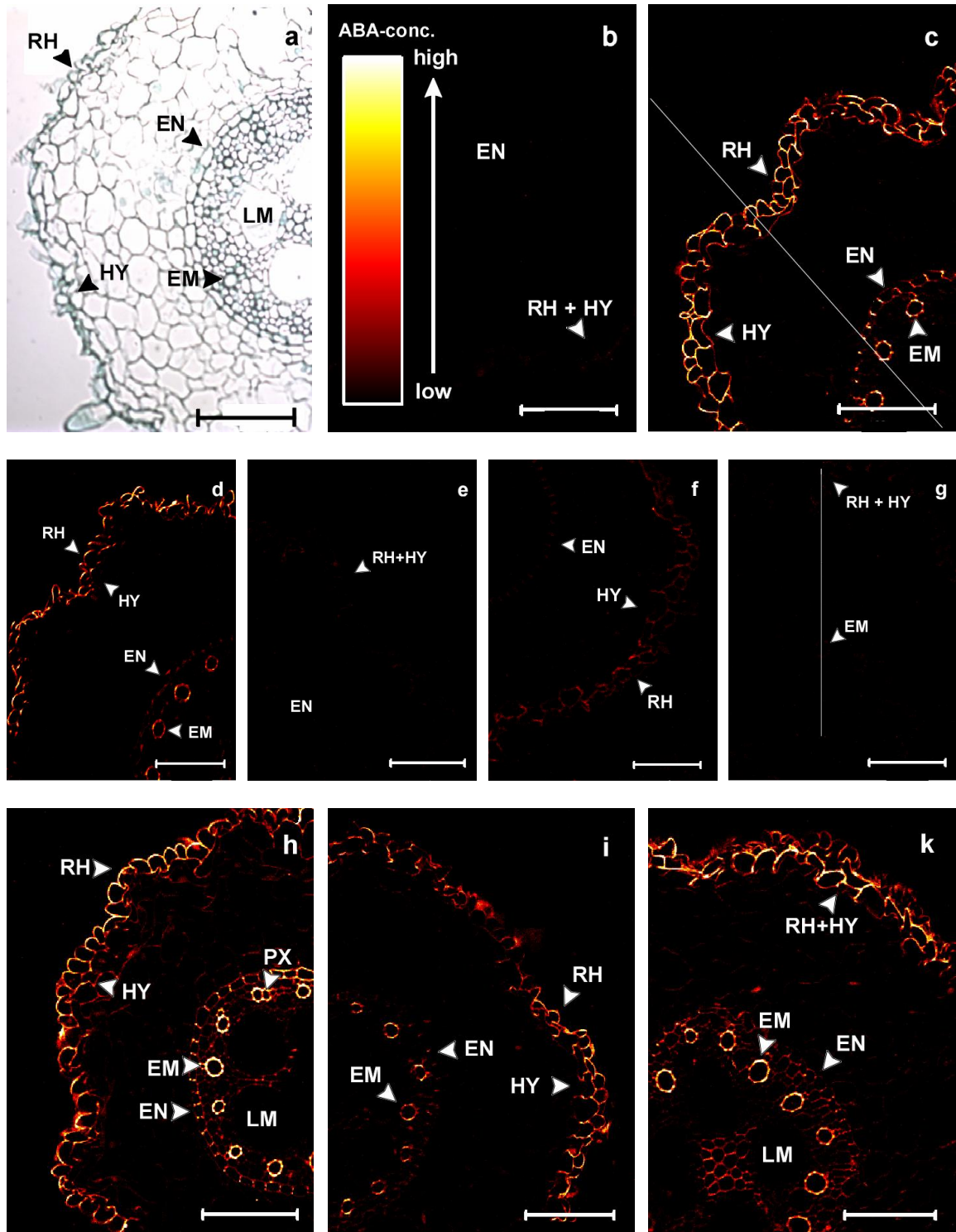
Querschnitte von Wurzeln, die mit 100 nM externer ABA im Medium einem künstlichen Transpirationssog unterworfen wurden und sowohl mit dem primären als auch dem sekundären Antikörper inkubiert wurden, zeigten eine sehr starke Eigenfluoreszenz der lignifizierten Wurzelzellwände (Abb. 62 d), die durch Toluidinblau wirkungsvoll unterdrückt werden konnte (Abb. 62 b; Peterson 1988). Alle folgenden Experimente wurden daher mit Toluidinblaufärbung durchgeführt. Sowohl in Querschnitten die nur mit dem primären (Abb. 62 f) bzw. dem sekundären Antikörper (Abb. 62 d) oder mit zuvor mit ABA abgesättigtem ABA-Antikörper (Abb. 62 e) inkubiert wurden, konnten kaum Fluoreszenzsignale detektiert werden, was für eine hohe Spezifität des primären Antikörpers spricht.

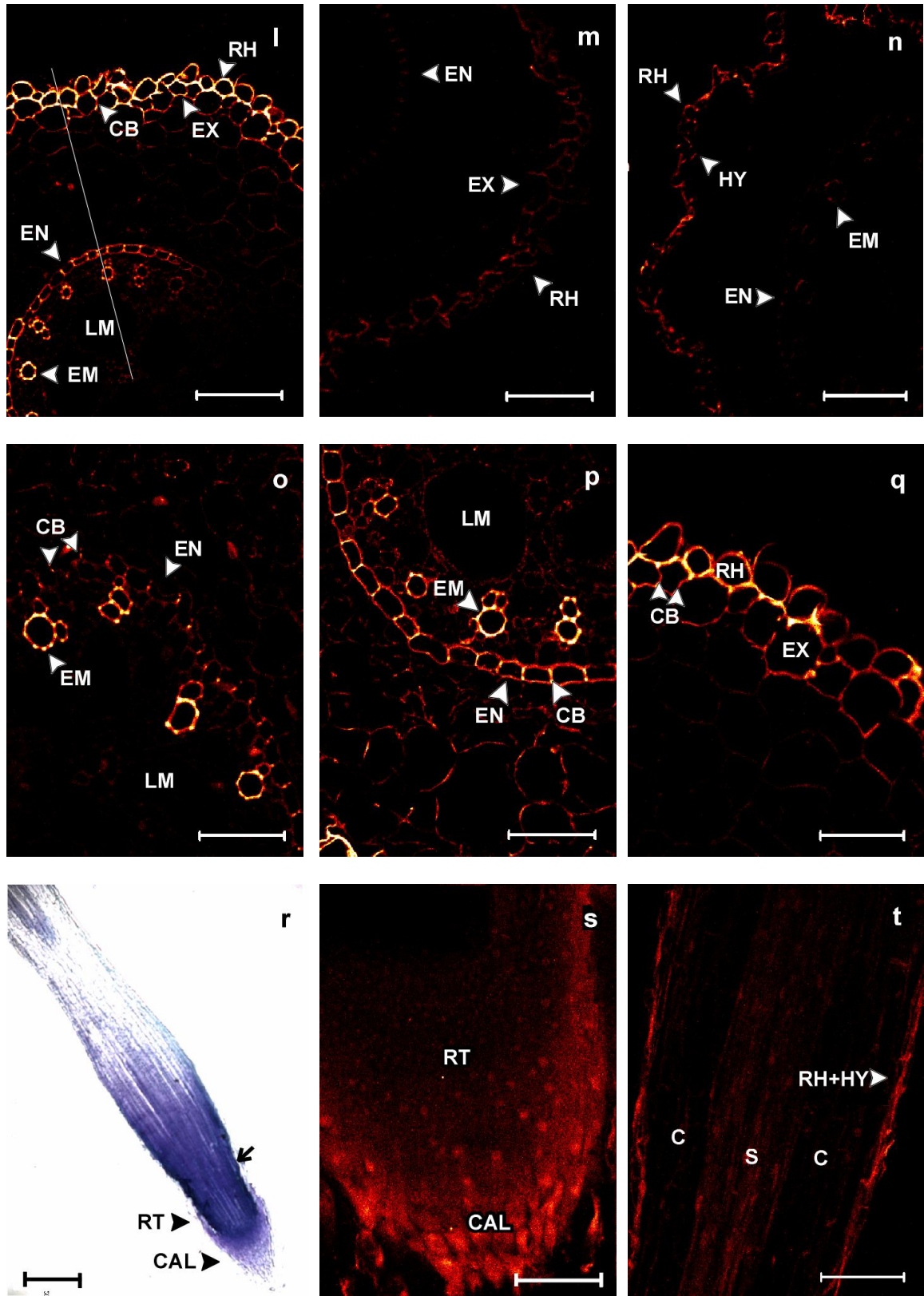
Für jeden Versuchsansatz wurden daher Kontrollen ohne primären und sekundären Antikörper bzw. mit abgesättigtem Antikörper hergestellt und mit ersteren die richtigen Einstellungen am konfokalen Laserscanningmikroskop (CLSM) ermittelt.

Soweit nicht anders erwähnt, wurden nachfolgend Pflanzen verwendet, die mit 100 nM externer ABA im Medium einem künstlichen Transpirationssog von -0,06 MPa ausgesetzt waren und sowohl mit primärem und sekundärem Antikörper als auch mit Toluidinblau und Anilinblau gehandelt waren.

3.7.2 Hydrokultur in Vollmedium

Aufnahmen von Pflanzen aus Hydrokultur, die mit beiden Antikörpern und Toluidinblau inkubiert wurden (Abb. 62 c), zeigen starke Fluoreszenzsignale in Rhizodermis (RH), Hypodermis (HY), Endodermis (EN) und den frühen Metaxylemgefäßen (EM). Die Caspary-Streifen der Endodermis waren als nur schwach markierte Stellen in den ansonsten sehr stark fluoreszierenden radialen Zellwänden gut sichtbar. Eine Exodermis mit durchgehendem Casparischen Band fehlte, es konnten jedoch vereinzelt Caspary-Streifen in der Hypodermis entdeckt werden (Freundl et al. 2000). In der graphischen Darstellung der relativen Fluoreszenz (Abb. 63 b) ist eine Abnahme der ABA-Konzentration von der äußeren Rhizodermiswand über die Verbindungswand von Rhizo- und Hypodermis bis zur inneren Hypodermiswand gut zu erkennen. Es kommt nicht zu einem Anstau von ABA vor der Endodermis, Caspary-Streifen sind gut zu erkennen (Abb. 62 c, o). Die nächste starke Markierung ist an den Wänden der EM zu erkennen. Hier muss ABA zum Abtransport in den Xylemgefäßen in den Apoplasten übertreten.





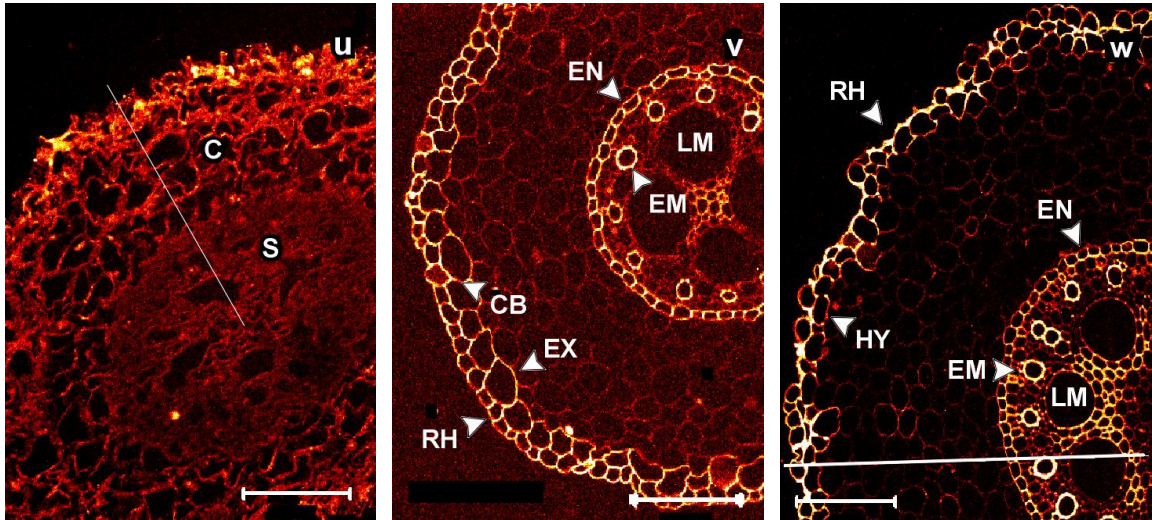
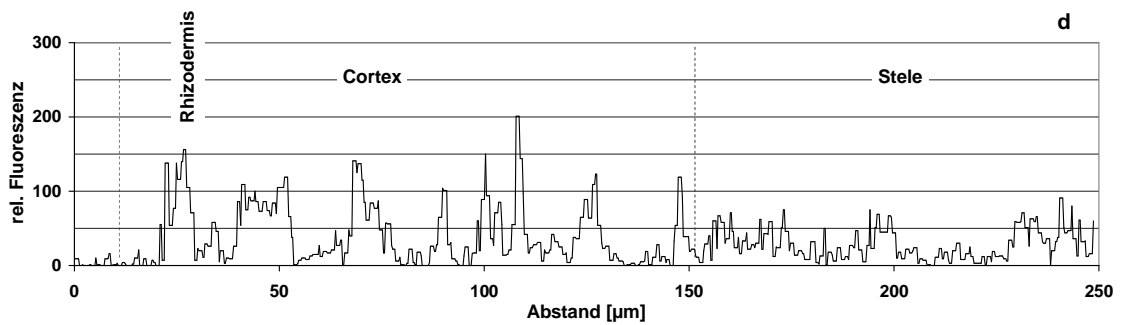
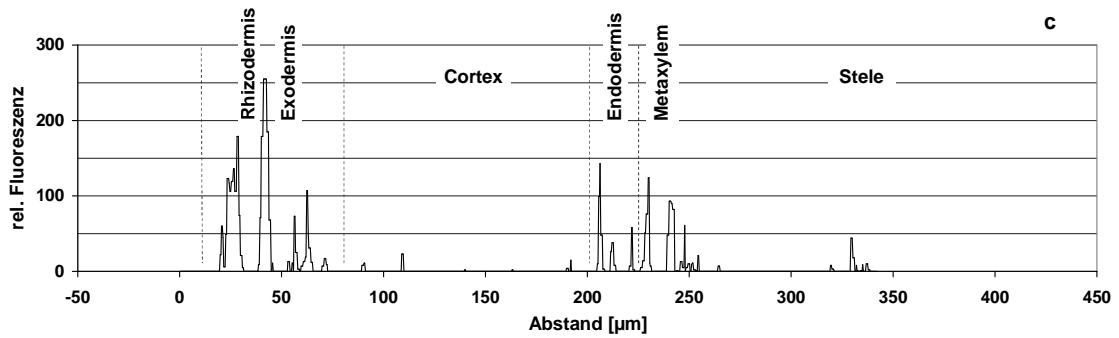
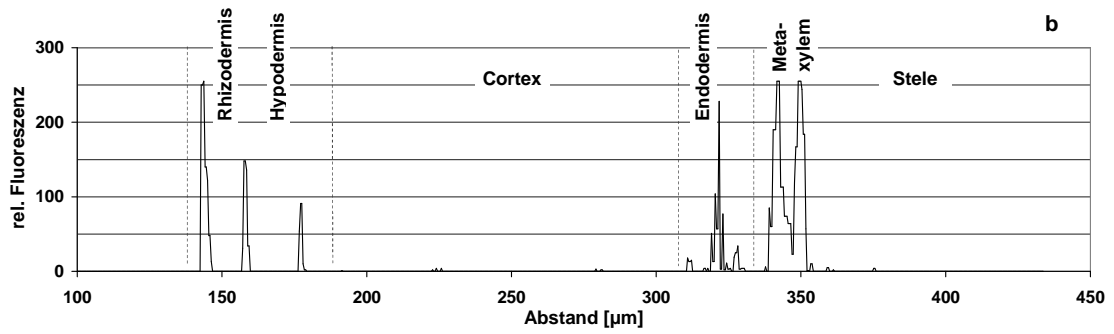
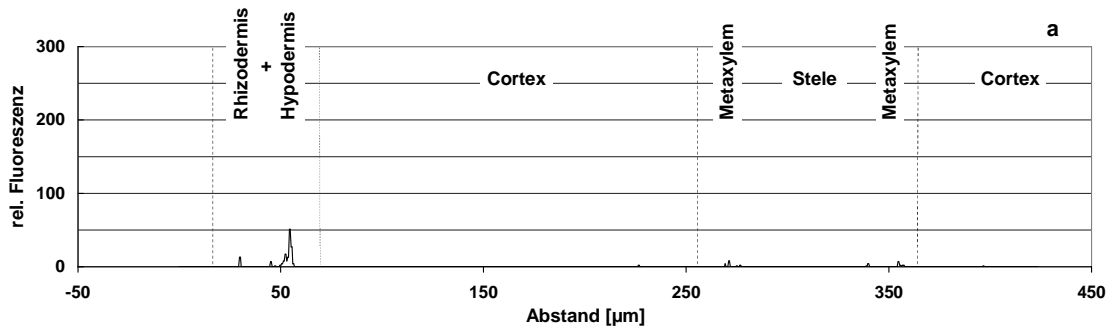


Abbildung 62: Immunolokalisierung von ABA in Wurzelquer- (a-q, u-w) und Längsschnitten (r-t) von hydroponisch (a-k, n-p, u) und aeroponisch (l-m) kultivierten 11 d alten Maiskeimlingen. a-u Vollmedium, v Nitratmangel, w Kaliummangel. a, r Lichtmikroskopische Aufnahme von Wurzelquer- (a) bzw. Längsschnitt (r) mit Rhizodermis (RH), Hypodermis (HY), Endodermis (EN), frühen (EM), späten (LM) Metaxylemgefäßen bzw. Calyptra (CAL) und Wurzelspitze (RT). b-q, s-w Bilder mittels konfokaler Laserscanningmikroskopie (CLSM) aufgenommen. b, d-g Kontrollen von hydroponisch kultivierten Keimlingen, nach simuliertem radialen Wasserfluss und 100 nM externer ABA im Medium. b Totalkontrolle, weder mit ABA-Antikörper noch mit Alexa 568 inkubiert, jedoch mit Anilinblau und Toluidinblau gefärbt. d weder ABA-AK noch Alexa, nicht gefärbt. e ohne ABA-AK, mit Alexa, gefärbt. f mit ABA-AK, ohne Alexa, gefärbt. g ABA-AK mit ABA abgesättigt, mit Alexa, gefärbt. c, h-q, s-w ABA-AK, Alexa 568, Anilinblau, Toluidinblau, wenn nicht anders erwähnt mit 100 nM ABA im Medium und simulierter Transpiration. c Hydrokultur. h wie (c) jedoch ohne Karyopse kultiviert. i weder simulierte noch natürliche Transpiration. k natürliche Transpiration. l Luftkultur. m-n ohne ABA im Medium. m Luftkultur. n Hydrokultur. o-q Endodermis aus Hydrokultur (o) bzw. Endo- und Exodermis (p, q) aus Luftkultur. r-t Längsschnitte 0-10 mm (r) und 50-100 mm (t) hinter der Wurzelspitze mit starken Fluoreszenzsignalen in Calyptra, Rhizodermis (RH) und Hypodermis (HY) ab etwa 70-80 mm hinter der Spitze. u Querschnitt etwa 1,8 mm hinter Wurzelspitze mit homogen über den ganzen Querschnitt verteilten Fluoreszenzsignalen. v Querschnitt durch Nitratdefiziente Wurzel mit stärkeren Signalen in Rhizodermis (RH), Hypodermis (HY), Endodermis (EN), frühen (EM) und späten (LM) Metaxylemgefäßen als in vergleichbaren Pflanzen aus Vollmedium (c). w K^+ -defiziente Wurzel mit starken Fluoreszenzsignalen vor allem in Stele und Endodermis. Balken: a-n, v-w 100 μ m, o-q 50 μ m, r 1 mm, s-t 200 μ m, u 100 μ m.



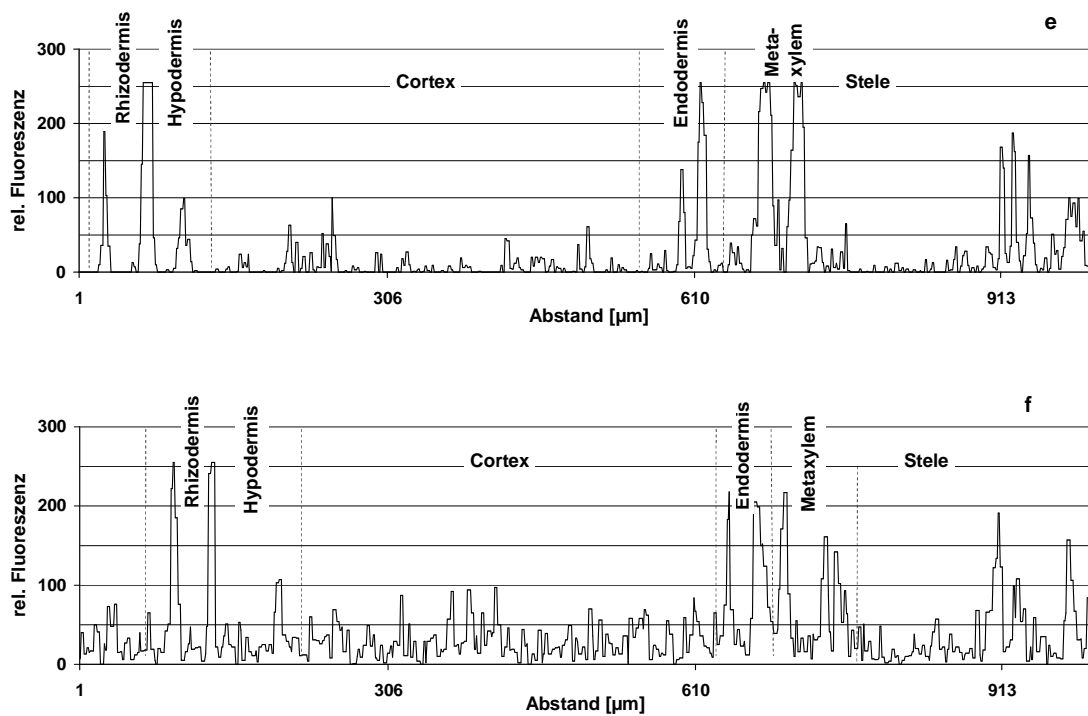


Abbildung 63: Profile der Fluoreszenzintensität, aufgenommen durch CLSM von mit Alexa fluor 568 markierten monoclonalen ABA-Antikörper, entlang der in Abb. 62 eingezeichneten Linien. a Hydrokultur, abgesättigter AK (Abb. 62 g), b Hydrokultur (Abb. 62 c), c Luftkultur (Abb. 62 l), d Hydrokultur, 1,8 mm hinter der Wurzelspitze (Abb. 62 u), e Kaliummangel (Abb. 62 w), f Nitratmangel (Abb. 62 v).

Längsschnitte durch die Wurzelspitze (Abb. 62 s) zeigten die stärksten Fluoreszenzsignale in der Wurzelhaube und den meristematischen Geweben der Wurzelspitze (siehe auch Abb. 62 u). Aufgrund der noch sehr geringen Vakuolisierung sind hier noch die kompletten Zellen markiert. Abb. 62 u und Abb. 63 d zeigten eine sehr homogene ABA-Verteilung über den ganzen Wurzelquerschnitt. Abb. 62 t, ca. 5,9 mm hinter der Wurzelspitze, zeigte neben relativ schwachen Signalen in der Rhizo- und Hypodermis auch Signale im stelären Gewebe.

3.7.2.1 Rolle der Karyopse

Wurde die Karyopse vor der hydroponischen Kultivierung entfernt, waren RH, HY, EN und EM tendenziell stärker markiert (Abb. 62 h).

3.7.2.2 Intakte, transpirierende Keimlinge

Intakte, im Licht transpirierende Pflanzen (Abb. 62 k) zeigten ebenfalls nahezu die gleichen Signale wie Wurzeln, die einem simulierten Transpirationssog ausgesetzt

waren (Abb. 62 c), wobei die radialen Zellwände der Endodermis etwas schwächer markiert waren. Ohne einen natürlichen oder künstlichen Transpirationssog waren die Fluoreszenzsignale deutlich abgeschwächt (Abb. 62 h).

3.7.2.3 Endogene ABA

Daten zur endogenen ABA wurden erhalten, indem die Zugabe externer ABA in das Medium unterblieb. Sowohl bei hydroponisch (Abb. 62 n) als auch bei aeroponisch (Abb. 62 m) angezogenen Keimlingen konnten nur sehr schwache Signale in RH, HY EX und EN detektiert werden.

3.7.3 Luftkultur

Querschnitte von 11 Tage alten aeroponisch angezogenen Maiswurzeln zeigten sehr starke Signale in RH, HY, EN und EM (Abb. 62 l). Wie Abb. 62 l, q und Abb. 63 c zeigen, steigt die Intensität der Fluoreszenz von der äußeren zur inneren Zellwand der Rhizodermis stark an und fällt bis zur inneren Wand der Hypodermis wieder stark ab, ein Zeichen für eine ausgeprägte Barrierewirkung der Hypodermis. Zusammen mit den klar erkennbaren Caspary-Streifen in den radialen Zellwänden der Hypodermis (Exodermis) ist die Inhibierung des ABA-Transportes durch apoplastische Barrieren nachgewiesen.

Die sich anschließenden Cortexzellen waren nur schwach markiert. In der Endodermis waren neben den stark fluoreszierenden radialen Zellwänden die schwach markierten Caspary-Streifen deutlich erkennbar. Die äußere und innere tangentielle Zellwand der Endodermis zeigten ebenfalls eine deutliche Fluoreszenz (Abb. 62 l, p). Die Markierung der äußeren Tangentialwand der Endodermis bestätigt Enstone und Peterson (1998), die eine verstärkte Ausbildung der Caspary-Streifen und Suberinlamellen in aeroponisch kultivierten Maiswurzeln beobachteten.

3.7.4 Auswirkungen von Nährstoffmangel auf die ABA-Verteilung im Wurzelgewebe

3.7.4.1 Nitratmangel

Wurzeln aus Nitratmangelkultur wiesen starke Fluoreszenzsignale über den ganzen Wurzelquerschnitt auf (Abb. 62 v, Abb. 63 f). Besonders stark markiert waren die

Rhizodermis und die äußere Tangentialwand der Exodermis. Die innere Wand der Exodermis war hingegen nur sehr schwach markiert. Caspary-Streifen in der Exodermis waren deutlich zu erkennen. Rhizo- und Exodermis waren deutlich von den sich anschließenden Cortexzellen abgegrenzt. Die Endodermis zeigte sehr starke Signale, jedoch gab es keine Intensitätsunterschiede zwischen der äußeren und inneren tangentialen Zellwand (Abb. 63 f). Caspary-Streifen in der Exodermis waren gut zu erkennen. Die parenchymatischen Zellen des Zentralzylinders und die Metaxylemgefäße waren ebenfalls überaus stark markiert.

3.7.4.2 Kaliummangel

In Kaliumdefizienten Pflanzen zeigten sich sehr starke Fluoreszenzsignale in der Rhizodermis und eine hohe Akkumulation von ABA vor der Hypodermis (Abb. 62 w, 63 e). Caspary-Streifen in der Hypodermis waren jedoch nur vereinzelt zu erkennen. Die Cortexzellen waren deutlich markiert. Die Endodermis und die parenchymatischen Zellen der Stele waren sehr stark markiert. Allerdings waren hier die Caspary-Streifen in der stark fluoreszierenden radialen Zellwand weit weniger deutlich sichtbar als bei vollernährten Kontrollpflanzen und die innere tangentiale Wand der Endodermis war stärker markiert als die äußere tangentiale Zellwand (Abb. 62 w, 63 e).

3.8 Bestimmung von Suberin

Der lipophile Farbstoff Oil blue N färbt Suberin blau an. In vollernährten Maiskeimlingen waren die Suberineinlagerungen der Endodermis (Abb. 64a) nur sehr schwach zu erkennen. In der Hypodermis (Abb. 64b) war keine Färbung erkennbar. In Nitratdefizienten Keimlingen war eine verstärkte Suberineinlagerung in der Endodermis (Abb. 64c) und der Exodermis (Abb. 64d) anhand der stärkeren Blaufärbung deutlich zu erkennen. Kaliumdefiziente Keimlinge zeigen hingegen keine Anfärbung, weder in der Endo- (Abb. 64e) noch in der Hypodermis (Abb. 64f).

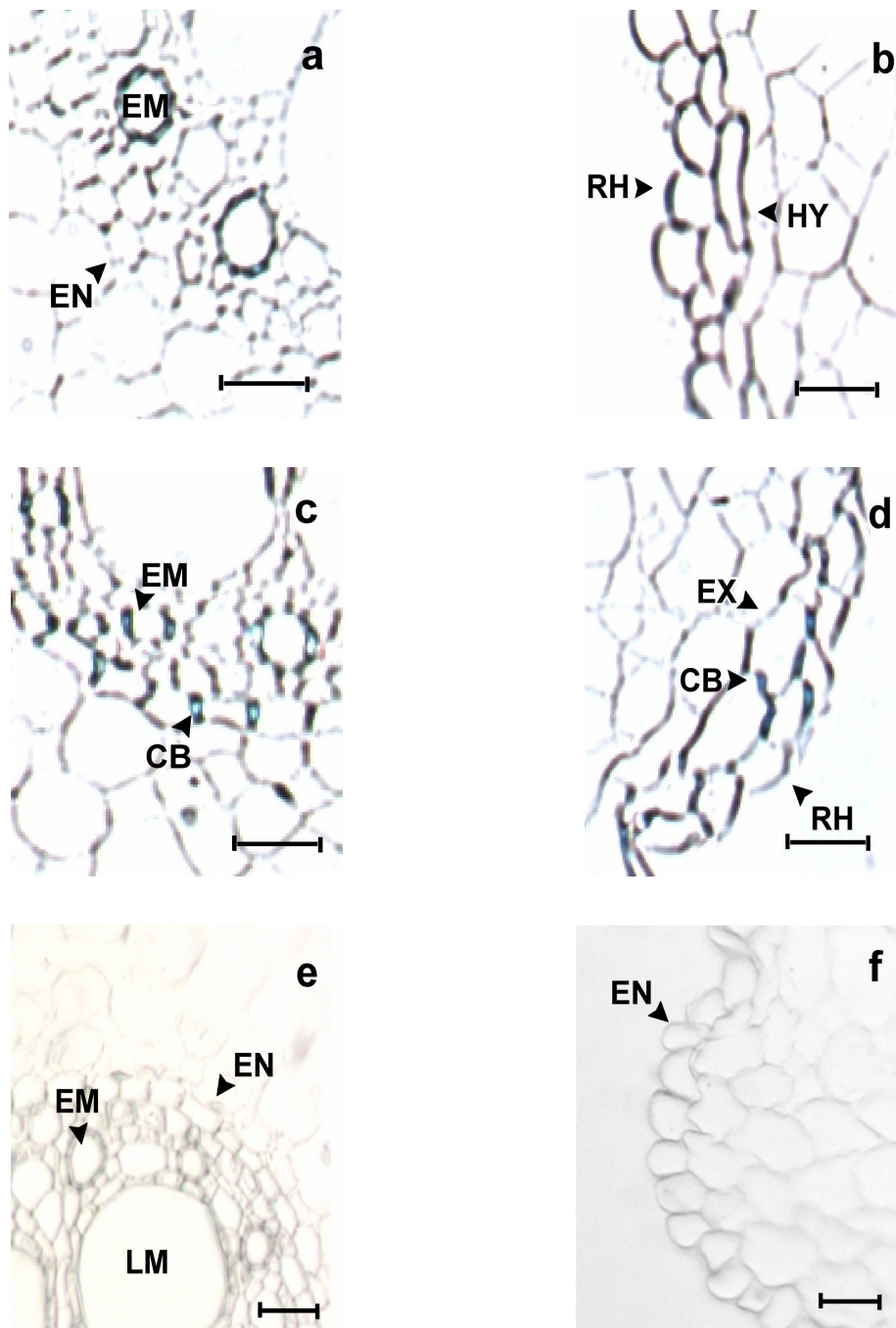


Abbildung 64: Suberinfärbung von 11 d alten vollernährten (a, b), NO₃⁻-defizienten (c, d) und K⁺-defizienten (e, f) Maiswurzeln. Anfärbung mit Oil blue N. (a, e) Endodermis vollernährter (a) bzw. K⁺-defizienter (e) Keimlinge mit nur sehr schwach angefärbten Caspary-Streifen. (c) Endodermis von NO₃⁻-Mangelkeimlingen mit stärker angefärbten Caspary-Streifen. (b, f) Rhizodermis und Hypodermis von Pflanzen aus Vollmedium (b) und Kaliummangelmedium (f). (d) Rhizodermis und Hypodermis von NO₃⁻-defizienten Keimlingen mit deutlich markierten Caspary-Streifen (Exodermis). (CB) Caspary-Streifen, (EM) Metaxylem, (EN) Endodermis, (RH) Rhizodermis. a-f 50 μm.

4 Diskussion

4.1 Das Stresshormon ABA

Hormone sind chemische Botenstoffe, die in geringen Mengen wirksam sind und an der Steuerung und Synchronisation physiologischer Prozesse beteiligt sind. Synthese- und Wirkort von tierischen Hormonen sind strikt getrennt, während pflanzliche Hormone zum Teil auch am Syntheseort wirksam sein können. Phytohormone werden von Zelle zu Zelle oder über Fernleitungsbahnen (Xylem und Phloem) transportiert. Sie können dabei je nach Konzentration unterschiedliche Prozesse an verschiedenen Wirkorten regulieren.

Das Phytohormon Abscisinsäure (ABA) ist als Stresshormon anerkannt und seine Rolle und Funktion in der Regulation von physiologischen Prozessen unter veränderten Umweltbedingungen ist gut untersucht (Fournier et al. 1987, Hartung et al. 1999, Hiron und Wright 1973, Hwang und VanToai 1991, Jeschke und Hartung 2000, Kefu et al. 1991, Lachno und Baker 1986, Marschner 1995, Peuke et al. 2002, Radin und Ackerson 1981, Roberts 1998, Roberts und Snowman 2000, Wright und Hiron 1969, Zhang und Davies 1987). Als Stressfaktoren werden diejenigen exogenen Umwelteinflüsse bezeichnet, die negative Auswirkungen auf einen Organismus haben. Einige Faktoren, z.B. Temperaturunterschiede, können innerhalb weniger Minuten Stress auslösen, andere Bedingungen, z.B. die Wasser- und Nährstoffversorgung, lösen erst nach einigen Tagen oder sogar Wochen eine Stressantwort aus. Unter Stress kann häufig eine Erhöhung des ABA-Gehaltes in pflanzlichen Geweben beobachtet werden (Blackmann und Davies 1985, Brewitz et al. 1995, Cornish und Zeevaart 1985, Haeder und Beringer 1981, Hartung und Davies 1991, Hartung et al. 1999, Lachno und Baker 1986, Peuke et al. 2002, Peuke et al. 1994, Wolf et al. 1990, Zhang und Davies 1989). In den Blättern führt eine erhöhte ABA-Konzentration zur Schließung der Stomata (Hartung et al. 1998, Hartung et al. 1999, Zhang et al. 1987) und verringert auf diese Weise den Wasserverlust durch Transpiration, wodurch die Pflanze in der Lage ist auch längere Trockenperioden zu überdauern. Eine ähnliche Wirkung hat ein verringertes Sprosswachstum, was ebenfalls auf eine erhöhte ABA-Konzentration im Spross zurückzuführen ist. Aufgrund der geringeren Blattoberfläche verringert sich die Transpiration und die Pflanze ist in der Lage auch unter anderen Stressbedingungen

(Salz, osmotischer Stress) den Turgor über eine längere Zeit aufrecht zu erhalten. In den Wurzeln hingegen führt ABA zu einem verstärkten Wachstum. Durch die vergrößerte Wurzeloberfläche wird die Aufnahme von Wasser- und Nährsalzen in eintrocknenden oder nährstoffarmen Böden erleichtert. ABA beeinflusst aber auch die hydraulische Leitfähigkeit. Durch eine Interaktion von ABA mit Aquaporinen werden diese stabilisiert und der transzelluläre Wassertransport stimuliert (Hose et al. 2000, Wan et al. 2004). Eine weitere Möglichkeit exogenen Stressbedingungen zu begegnen, ist die Ausbildung Casparischer Bänder in der Hypodermis (Exodermis; Clarkson et al. 1987, Enstone und Peterson 1998, Freundl et al. 2000, Hose et al. 2001, Karahara et al. 2004, Peterson 1989, Peterson et al. 1993, Zimmermann und Steudle 1998, Zimmermann et al. 2000), wodurch der Efflux von Wasser aus der Wurzel in die Rhizosphäre verringert wird. Ob an dieser Anpassung ABA beteiligt ist, ist noch nicht geklärt, jedoch berichtet Zeier (1998) über eine Zunahme der Wurzeluberinisierung bei zunehmendem internem ABA-Gehalt.

4.2 Stressphysiologische Auswirkungen von ABA auf die Wurzel

Während die Auswirkungen des Stresshormons ABA auf den Spross sehr gut untersucht sind, ist seine Rolle in der Wurzel noch nicht voll verstanden. In den bisher in der Literatur beschriebenen Experimenten wurden zudem nur die Auswirkungen externer ABA beschrieben und dies in meist unphysiologisch hohen Konzentrationen. In dieser Arbeit wird erstmals die Auswirkung von Stress auf den endogenen ABA-Gehalt der Wurzel und seiner Korrelation zum radialen Transport von Wasser (J_v) und ABA (J_{ABA}) analysiert.

Eine erhöhte ABA-Konzentration im Wurzelgewebe führt zu einer gesteigerten Wasseraufnahme aus der Rhizosphäre und einer erhöhten ABA-Konzentration im Spross. Die vermehrte Wasseraufnahme und die verminderte Transpiration durch das Verschließen der Stomata ermöglichen es der Pflanze auch unter Stressbedingungen, wie sie in einem gerade eintrocknenden Boden auftreten, den Wasserhaushalt und damit den Turgor aufrecht zu erhalten. Es ist jedoch noch nicht voll verstanden, ob der ABA-Gehalt im Spross einzig aus einer erhöhten ABA-Biosynthese des Sprosses resultiert, oder ob auch die stressbedingte Biosynthese in der Wurzel eine Rolle spielt. Ist die Wurzel-ABA an der Regulation der Stomata beteiligt, muss ABA als

Langstreckensignal aus der Wurzel in den Spross transportiert werden. Die Messung der im Xylemsaft enthaltenen ABA-Konzentration ist ein Maß für den ABA-Fluss, also der Menge ABA, die von der Wurzel in den Spross transportiert wird, um dort ihre Wirkung zu entfalten.

4.2.1 Experimenteller Ansatz

Die Bestimmung von J_v und J_{ABA} erfolgte durch Anlegen eines subatmosphärischen Druckes am Mesokotyl dekapitierter Maiskeimlinge. Durch diesen Unterdruck sollte der natürliche Transpirationssog simuliert und ein radialer Wasser- und ABA-Transport durch die Wurzel in das Xylem erzeugt werden. Die ABA-Konzentration des Xylemsaftes und der endogene ABA-Gehalt des Maiswurzelgewebes konnten mittels eines immunologischen Nachweisverfahrens (ELISA) quantitativ bestimmt werden.

Um die Auswirkungen eines Nährstoffmangels zu untersuchen, wurde nicht nur das Nährmedium hinsichtlich seiner Zusammensetzung bezüglich Nitrat, Phosphat, Sulfat, Kalium und Calcium so modifiziert, das jeweils eines dieser Ionen fehlte, sondern auch die Karyopse entfernt. Hierdurch sollte die Versorgung mit Nährstoffen aus der Karyopse verhindert und die Mangelsituation sichergestellt werden.

4.2.2 Die Rolle der Karyopse für das Wachstum, den radialen Wasser- und ABA-Fluss und den endogenen ABA-Gehalt im Wurzelgewebe

Wird die Karyopse nach der Vorkeimung entfernt, wird nicht nur die Versorgung der Pflanze mit den in der Karyopse gespeicherten Mineralstoffen wie Kalium, Calcium, Stickstoff, Schwefel und Phosphor unterbunden. Es stehen vielmehr auch die darin enthaltenen Polysaccharide (70,6%), Proteine (9,2%) und Lipide (3,8%) (Belitz und Grosch 1992) nicht mehr zu Verfügung. Die Überprüfung inwieweit die Karyopse alle zur Keimung notwendigen Mineralstoffe zur Verfügung stellen kann oder ob die Keimung auch von der umgebenden Nährlösung beeinflusst wird, ergab eine von der Rhizosphäre unabhängige Entwicklung der Pflanze während der Vorkeimung (siehe 3.2.3.1, Tab. 9, Abb. 3, Abb. 11).

Das Entfernen der Karyopse führte zu einer drastischen Reduzierung des Spross- und Wurzelwachstums (Tab. 3 und 4), während J_v (Abb. 15) und der endogene ABA-Gehalt (Abb. 14) nicht verändert wurde. J_{ABA} (Abb. 16) stieg leicht an. Diese zeigt, dass die in

der Karyopse enthaltenen Nährstoffe unerlässlich für das rasche und kräftige Wachstum des Keimlings sind, J_v , J_{ABA} und der endogene ABA-Gehalt der Wurzel durch das Entfernen der Karyopse aber kaum beeinflusst werden.

Eine Versorgung des Keimlings mit externer Glucose sollte die in der Karyopse enthaltenen Kohlenhydrate ersetzen und auf diese Weise eine Verfälschung der Ergebnisse aufgrund des Entzuges dieser Verbindung verhindern. Aufgrund der nur kurzfristig möglichen Zugabe (24 h, siehe 2.1.1) konnte keine Veränderung im Wachstum von Spross und Wurzel beobachtet werden, vermutlich wird sich das Wachstum bei länger andauernder Verabreichung wieder steigern und sich eventuell sogar der Wachstumsrate von intakten Keimlingen anpassen. Hierfür spricht auch, dass durch die Versorgung mit externer Glucose der Wasserfluss in Keimlingen ohne Karyopse klar gesteigert wird (Abb. 15). Die Notwendigkeit einer ausreichenden Versorgung der Wurzel mit Kohlenhydraten für einen optimalen Wasserfluss wurde in Vorversuchen mit intakten Maiskeimlingen bestätigt. Die Zugabe von externer Glucose zu intakten Keimlingen führte, im Gegensatz zu Keimlingen ohne Karyopse, nur zu einer minimalen Steigerung des radialen Wasserflusses. Die in der Karyopse enthaltene Menge an Kohlenhydraten ist für die Aufrechterhaltung des optimalen Wasserflusses ausreichend, eine zusätzliche Versorgung mit 5 mM externer Glucose wirkungslos.

4.2.3 Auswirkungen von Stress auf den Wasserhaushalt (J_v)

4.2.3.1 Nährstoffmangel

Eine ausreichende Versorgung mit Wasser und Nährstoffen aus dem Boden ist überaus wichtig für das Wachstum und die Entwicklung von Pflanzen. Mineralische Nährstoffe sind unter anderem an der Osmoregulation, an der Biosynthese organischer Makromoleküle, wie den Aminosäuren, Proteinen und Nucleinsäurebausteinen, als Gegenionen von organischen Säuren und anionischen Gruppen, am Aufbau und der Stabilisierung von Biomembranen, an der Photosynthese und Respiration und am Energiehaushalt beteiligt. Nur wenn die Pflanze alle benötigten Nährstoffe in ausreichender Menge über die Wurzeln aufnehmen kann, entwickelt sie sich zu einer kräftigen und gesunden Pflanze, während der Mangel auch nur eines Mineralstoffes zu teilweise schweren Mangelsymptomen führen kann (Marschner 1995). Pflanzen besitzen allerdings auch die Fähigkeit, sich an Stresssituationen anzupassen. Auf

nährstoffarmen Böden kann die Pflanze zum Beispiel die Aufnahme von Nährstoffen verbessern, indem sie die Wurzeloberfläche vergrößert und/oder die Transkription und Aktivität einzelner Transportproteine (Maathuis et al. 2003) anpasst. Auf alkalischen Böden ermöglicht eine Ansäuerung der Rhizosphäre die Aufnahme von schwerlöslichen Salzen (Calciumphosphate, Aluminiumphosphate; Holleman und Wiberg 1995). Zusätzlich kann über die Ausbildung von apoplastischen Barrieren und/oder einer Veränderung des Hormonstatus auch die Wasseraufnahme regulieren werden.

Auswirkungen von Kaliummangel

Kalium ist für Pflanzen essentiell und kommt in hohen Konzentrationen im Cytosol aller Zellen vor. Es wirkt als Cofaktor bei Enzymreaktionen, als wichtigstes Osmotikum und als pH-Regulator (Marschner 1995, Mengel und Arneke 1982), indem es unter anderem als Gegenion von dissoziierten organischen Säuren und anionischen Gruppen von Makromolekülen wie Nucleinsäuren oder Phospholipiden und somit auch an der Kontrolle von Membranpotentialen und der Erniedrigung des Wasserpotentials beteiligt ist. Kalium ist aber nicht nur an der Regulation von Prozessen auf Zellebene sondern des ganzen Organismus beteiligt. So ist es unter anderem in Stomatabewegungen, dem Gasaustausch und der Transduktion unterschiedlichster Signale involviert (Clarkson und Hanson 1980, De la Guardia und Benloch 1980, Véry und Sentenac 2003). Pflanzen können sehr hohe Schwankungen in der Kaliumkonzentration des Bodens tolerieren und passen die Kaliumaufnahme je nach gegebener Situation durch einen „high affinity“ oder „low affinity“ uptake an ihre Bedürfnisse an (Maathuis und Sanders 1996, Roberts 1998, Roberts und Snowman 2000, Véry und Sentenac 2003). Die Transkription von K^+ -Kanälen in Wurzeln kann von Umweltfaktoren wie Licht und Salzstress aber auch durch Abscisinsäure und Auxine beeinflusst werden (Roberts 1998, Roberts und Snowman 2000).

Maiskeimlinge aus K^+ -Mangelkultur zeigten trotz eines reduzierten K-Gehaltes in der Wurzel keine typischen Defizienzsymptome, wie das Welken der Blätter (Marschner 1995), und auch auf den radialen Wassertransport J_v hatte die Mangelsituation keine negativen Auswirkungen, J_v wurde sogar gefördert (Tab. 10, Abb. 20; De la Guardia et al. 1985, Quintero et al. 1998). Die Ursache der fehlenden Defizienzsymptome lässt sich auf den Austausch von Kalium- gegen Natriumionen in der Nährlösung zurückführen. Natrium ersetzt Kalium nicht nur in seiner osmotischen Fähigkeit zur

Aufrechterhaltung des Zellturgors. Da es sich vermehrt in der Vakuole ansammelt, kann es Kalium in dieser wichtigen Aufgabe sogar übertreffen (Jeschke 1977, Maathuis et al. 1996, Maathuis et al. 2003, Marschner 1995). Die gesteigerte Natrium- und Calciumaufnahme (Tab. 9, Abb. 17; Peuke et al. 2002) konnte somit die reduzierte Kaliumkonzentration ausgleichen und in seiner Funktion als Osmotikum ersetzen. Laut De la Guardia und Benloch (1980) können Zucker, insbesondere unter K^+ -Mangelbedingungen, eine Alternative zur Regulierung der osmotischen Verhältnisse darstellen. Bei einer Kaliumdefizienz wird der Export von Saccharose aus den Blättern in die Wurzel aber reduziert (Cakmak et al. 1994). Durch den Zusatz von externer Glucose in das Nährmedium wurde dieser Mangel ausgeglichen. Jv war in mit externer Glucose versorgten Keimlingen daher deutlich höher als in intakten Keimlingen und in Keimlingen ohne Karyopse.

Auswirkungen von Nitratmangel

Die Aufnahme von Stickstoff über die Wurzeln ist für Pflanzen essentiell und in stickstoffarmen Böden ein das Wachstum begrenzender Faktor. Stickstoff wird bevorzugt in Form von Nitrat oder Ammonium über die Plasmamembran von Rhizodermiszellen aufgenommen. In der Zelle wird Stickstoff zum Aufbau organischer Verbindungen, wie den Aminosäuren, Proteinen, basischen Nucleinsäurebausteinen und Photosynthesepigmenten (Chlorophyll) benötigt (Crawford und Glass 1998, Forde 2000, Marschner 1995).

Die Anzucht von Maiskeimlingen in NO_3^- -freiem Medium führte zu einer etwa 60%igen Reduzierung des Gesamtstickstoffgehaltes in der Wurzel (Tab. 9, Abb. 22) und ist laut Marschner (1995) als N-defizient anzusehen.

Übereinstimmend mit Carvajal et al. (1996), Radin und Boyer (1982) und Radin und Matthews (1989) war Jv unter NO_3^- -Mangelbedingungen reduziert (Tab. 12, Abb. 25). Carvajal et al. (1996) führte die Abnahme des Wasserflusses auf eine reduzierte Aktivität und/oder Anzahl von Aquaporinen zurück, da $HgCl_2$, ein wirksamer Inhibitor der Aquaporinaktivität (Steudle und Henzler 1995), Jv unter den gegebenen Bedingungen nur wenig reduziert hatte. In der vorliegenden Arbeit konnte in Vorversuchen ebenfalls kein großer Effekt festgestellt werden, es muss jedoch beachtet werden, dass auch schon vor $HgCl_2$ -Gabe der Wasserfluss so stark reduziert war, dass sich dieser Inhibitor kaum noch bemerkbar machen konnte (Clarkson et al. 2000).

Carvajal et al. (1996) gingen zudem davon aus, dass durch Nitratmangel die Anatomie der Wurzel nicht verändert wird. In dieser Arbeit konnte jedoch klar die Ausbildung von Caspary-Streifen in der Exodermis und eine verstärkte Suberineinlagerung in der Endodermis gezeigt werden. (Abb. 64 c, d). Es wird daher davon ausgegangen, dass nicht alleine die Aktivität und die Anzahl der Aquaporine für den reduzierten Wasserfluss verantwortlich sind, sondern die reduzierte Wasseraufnahme, die aus der Ausbildung der Exodermis resultiert.

Auswirkungen von Phosphatmangel

Die Aufnahme von Phosphor aus alkalischen Böden ist durch seine Affinität zu Kationen wie Ca^{2+} , Mg^{2+} oder Al^{3+} erschwert, da weitgehend unlösliche Verbindungen entstehen (Holleman und Wiberg 1995). Phosphor nimmt in Form von organischen Verbindungen (ATP) eine Schlüsselposition im Energiehaushalt, der Signaltransduktion, Biosynthese von Makromolekülen (z.B. Aminosäuren, Proteine, Nukleinsäuren), Photosynthese und Respiration von Pflanzen ein (Raghothama 1999). Des Weiteren ist er wichtiger Bestandteil von Phospholipiden und damit unverzichtbar für die Stabilisierung von Biomembranen. Er wird bevorzugt in Form von Orthophosphat aufgenommen und in Phosphorylierungsprozessen direkt eingebaut.

Laut Marschner (1995) lag in den durchgeführten Experimenten der P-Gehalt der vollernährten Maiskeimlinge über dem Normwert (Tab. 9), er sank unter Mangelbedingungen zwar über die Hälfte ab (Tab. 9, Abb. 27), lag aber dennoch im hohen Normbereich. Es wurde daher wahrscheinlich kein gravierender P-Mangel erzeugt. Gegen einen Phosphatmangel spricht auch die erhöhte Calciumkonzentration. Laut Reinbott und Blevins (1999) und Skinner und Matthews (1990) wird durch P-Mangel auch die Aufnahme von Calcium gehemmt, da die Regulierung der divalenten Kationenkanäle ebenfalls durch Phosphorylierungsprozesse gesteuert wird (Referenzen siehe Reinbott und Blevins 1999). Die Ursache für den hohen P-Gehalt muss in einer relativ hohen Konzentration in der Karyopse liegen. Während der ersten Keimungstage benötigt der Keimling für seine Entwicklung eine hohe Konzentration an Phosphor, da dieses unerlässlich für die Bereitstellung von Energie in Form von ATP und dem Aufbau von Membranlipiden und Nukleinsäuren ist. Der äußerst hohe Gesamt-P-Gehalt in Wurzeln vollernährter Keimlinge (Marschner 1995) ist ein Anzeichen für die rasche Freisetzung von Phosphor aus der Karyopse, um die schnelle Entwicklung des

Keimlings zu ermöglichen. Ein Großteil des nicht sofort benötigten Phosphors wird im Apoplasten und in der Vakuole gespeichert, während die Konzentration im Cytosol stets sehr niedrig ist (Marschner 1995). Hierdurch kann die im Cytosol benötigte Menge an Phosphor auch unter Mangelbedingungen noch relativ lange sichergestellt werden. Obwohl den Keimlingen während der Vorkeimung kein Phosphor zur Verfügung gestellt wurde, hat der in der Karyopse in Form von Phytaten gespeicherte Phosphor (Marschner 1995) anscheinend ausgereicht, die Speicher ausreichend zu füllen und einen PO_4^{3-} -Mangel im Nährmedium während des Versuchszeitraumes auszugleichen.

Gegen einen ausgeprägten Phosphormangel spricht auch das unveränderte Wurzel- und Sprosswachstums (Tab. 3, 4), denn in der Literatur wird übereinstimmend von einem reduzierten Sprosswachstum, einem erhöhten Wurzelwachstum und damit einem erhöhten Wurzel/Sproß-Verhältnis berichtet (Bates und Lynch 1996, Høgh-Jensen et al. 2002, Khamis et al. 1990, Lynch 1995, Marschner 1995, Mollier und Pellerin 1999, Plénet et al. 2000, Radin und Eidenbock 1984, Rhagothama 1999, Wissuwa 2003).

Auch die in der Literatur beschriebene Reduzierung von Jv bzw. Lpr (Carvajal 1996, Clarkson et al. 2000, Marschner 1995, Radin 1990, Radin und Eidenbock 1984), die ihren Ursprung in der Involvierung von Phosphor in der Aktivität von Aquaporinen durch Phosphorylierung/Dephosphorylierung hat (Maurel et al. 1995, Reinbott und Blevins 1999), konnte nicht bestätigt werden (Tab. 14, Abb. 30). Jedoch muss beachtet werden, dass durch eine reduzierte Phosphatkonzentration auch der Phospholipidgehalt und damit die Stabilität der Membranen sinkt, was deren Permeabilität erhöhen (Marschner 1995) und somit Jv wieder steigern würde. Die fehlende Beeinträchtigung von Jv könnte an einer Kombination dieser Faktoren liegen, aber wahrscheinlich einzig an dem nicht sehr ausgeprägten P-Mangel.

Auswirkungen von Sulfatmangel

Pflanzen nehmen Schwefel als SO_4^{2-} -Ionen aus dem Boden auf (Marschner 1995). Zu den schwefelhaltigen Verbindungen zählen unter anderem die Aminosäuren Cystein, Cystin und Methionin, die am Aufbau von Proteinen beteiligt sind. Ferner ist Schwefel Bestandteil von Coenzymen, Chlorophyll und den Sulpholipiden von Membranen (Marschner 1995).

Entgegen Literaturdaten wirkte sich Sulfatmangel im Nährmedium nicht hemmend auf J_v aus (Tab. 15, Abb. 36; Clarkson et al. 2000, Marschner 1995). Karmoker et al. (1991) berichten zwar auch von einer Abschwächung der hydraulischen Leitfähigkeit, da L_p jedoch auf das gestiegene osmotische Potential ($L_p = J_v/\text{osmotic potential}$) bezogen wurde, war J_v nicht inhibiert. Dennoch wird davon ausgegangen, dass die erzeugte Mangelsituation zu gering war, um einen Effekt zu erzielen. Der S-Gesamtgehalt der Wurzeln war zwar im Vergleich mit vollernährten Keimlingen reduziert (Tab. 9), laut Marschner lag er aber dennoch im Normbereich. Gegen eine gravierende Mangelsituation spricht auch das unveränderte Spross- und Wurzelwachstum. Unter Schwefelmangel würde die Proteinsynthese inhibiert werden und es käme zu einem Anstau an Stickstoff (Karmoker et al. 1991, Marschner 1995), doch auch dessen Gesamtgehalt in der Wurzel war unverändert.

Auswirkungen von Calciummangel

Calcium dient unter anderem als relativ unspezifischer Cofaktor von Enzymen, als Gegenion zu anorganischen und organischen Anionen in der Vakuole und besitzt durch seine Fähigkeit, mit sauren Zellwandbestandteilen Salze zu bilden, eine wichtige Rolle als Baustoff zur Aufrechterhaltung der Struktur und Funktion von Zellwänden und -membranen (Maathuis et al. 2003, Marschner 1995, White and Broadley 2003). Calciummangel in der Natur ist eher selten und findet sich vorwiegend in basenarmen Böden und/oder in Böden mit einem hohen Anteil an sauren Ablagerungen. Ein Mangel an Ca^{2+} kann auch durch eine erniedrigte Transpiration und damit einer verringerten Aufnahme aus dem Boden entstehen. Ca^{2+} kann nicht aus älteren Geweben remobilisiert werden. Calcium kommt in der Pflanze häufig im Überschuss vor und wird in Organellen wie der Vakuole und dem Endoplasmatischen Retikulum aber auch im Apoplasten gespeichert. Die Konzentration im Cytosol hingegen ist gering (Marschner 1995, White and Broadley 2003).

Laut Marschner (1995) wurde unter den gegebenen Bedingungen tatsächlich eine Mangelsituation ausgelöst (Tab. 9, Abb. 38), was sich auch im Wachstum, dem Wasserhaushalt und der ABA-Biosynthese widerspiegeln sollte. Tatsächlich wurde nicht nur ein verringertes Wurzel- und Sprosswachstum (Tab. 3, 4) sondern auch ein Welken und eine Verfärbung der Blätter beobachtet, was unter anderem auf die erniedrigte Stabilität der Plasmamembranen und Zellwände zurückzuführen sein könnte.

Die verminderte Stabilität der Zellwände wird durch Polygalacturonase verursacht. Polygalacturonase ist ein Pektat-spaltendes Enzym, dessen Aktivität durch eine hohe Ca^{2+} -Konzentration normalerweise reduziert ist. Calciumpektat ist die Hauptspeicherform von Ca^{2+} im Apoplasten. Seine Aufspaltung führt zur Verringerung der Stabilität der Zellwände und zu einem Kollaps von Geweben (Marschner 1995). Die verringere Stabilität der Plasmamembranen lässt sich anhand der Beteiligung von Calcium als Brückenglied der Verbindung von Phosphat- und Carboxylatgruppen in Phospholipiden und Proteinen erklären (Marschner 1995).

Der gesteigerte radiale Wasserfluss (Tab. 16, Abb. 42) bei gleichzeitigem Welken der Blätter könnte auf die Beteiligung von Ca^{2+} bei der Schließung der Stomata zurückzuführen sein. Für eine weitergehende Diskussion sind weitere Untersuchungen, wie etwa zum Calciumgehalt im Blattgewebe, notwendig.

Auswirkungen einer CaSO_4 -Kultur

Erwartungsgemäß sank in Maiskeimlingen aus CaSO_4 -Kultur der Gesamtgehalt der Elemente K, N und P (Tab. 9, Abb. 44). Die K-Konzentration sank sogar stärker als in rein K-defizienten Keimlingen (Tab. 9), was wahrscheinlich an dem ebenfalls vorliegenden Na-Mangel im Nährmedium lag. Der Na-Gehalt war zwar deutlich geringer als unter K-Mangel aber dennoch doppelt so hoch wie in vollernährten Keimlingen. Es wird angenommen, dass Natrium zu einem Großteil in der Wurzel verblieb, um hier, zusammen mit dem ebenfalls gesteigerten Ca-Gehalt, Kalium als Osmotikum zu ersetzen, während Kalium vermehrt in den Spross transportiert wurde, um die Regulation der Stomatabewegung und den Turgor aufrecht zu erhalten. Aufgrund des Mangels an K, N und P sollten starke Mangelerscheinungen erwartet werden, die nicht nur die Morphologie sondern auch die radialen Wasser- und ABA-Flüsse und die endogene ABA betreffen. Zwar wurden sowohl das Spross- als auch das Wurzelwachstum reduziert (Tab. 3, 4), die Keimlinge wiesen aber ansonsten keine Mangelerscheinungen, wie das Welken oder Verfärben der Blätter oder das Absterben der Wurzelspitzen auf.

Entgegen der Erwartungen war der Wasserfluss in Keimlingen aus CaSO_4 -Kultur mit vollernährten Kontrollpflanzen vergleichbar, mit Glucose im Nährmedium sogar erhöht (Tab. 17, Abb. 47). Der unveränderte Wasserfluss in Keimlingen ohne Karyopse spiegelt die schon besprochenen Mangelsituationen wieder. Weder K^+ - noch NO_3^- - oder

PO_4^{3-} -Mangel reduzierten Jv in Keimlingen ohne Karyopse (Tab. 18). Man würde zwar erwarten, dass Jv durch eine Kombination dieser Mangelbedingungen beeinflusst wird, dies war aber nicht der Fall. Der gesteigerte Wasserfluss in Keimlingen mit Glucose im Nährmedium lässt sich anhand des stark gesteigerten Wasserflusses unter K^+ -Mangelbedingungen erklären (Tab. 18). Da sich NO_3^- -Mangel jedoch gleichzeitig negativ auswirkt, war die Steigerung des Wasserflusses in Keimlingen aus CaSO_4 -Kultur geringer als in einem reinen K^+ -Mangelmedium.

4.2.3.2 Auswirkungen von Salzstress auf den Wasserfluss

Hohe Salzkonzentrationen im Boden finden sich vor allem in Küsten- und Wüstengebieten. Die dort vorherrschende Flora hat sich den Bedingungen angepasst und wirkungsvolle Strategien entwickelt, sich dem hohen Salzgehalt anzupassen. Hierzu gehören z.B. die Reduktion der Salzaufnahme, die Speicherung in der Vakuole oder die Ausscheidung über spezielle Organe. Viele Pflanzen jedoch tolerieren erhöhte Salzkonzentrationen nicht. Die Folgen sind eine verminderte Biomassenproduktion, Verfärbung der Blätter und sogar das Absterben der Pflanze. Die zunehmende Versalzung landwirtschaftlich genutzter Flächen ist daher ein ernst zu nehmendes Problem. Vor allem in ariden Gebieten ist eine intensive Bewässerung notwendig, die allerdings rasch zu so hohen Salzkonzentrationen im Boden führt, dass salzintolerante Pflanzen geschädigt werden. Die Toxizität von Salz beruht zum einen auf osmotischen und zum anderen auf spezifischen Faktoren, die von den beteiligten Ionen abhängig sind. Wird „Salzstress“ untersucht, bezieht sich dies meistens auf NaCl, aber auch Ca- und Mg-Salze können Stress auslösen.

Die Folge einer erhöhten Salzkonzentration im Nährmedium war eine drastische Reduzierung des Wasserflusses (Abb. 49, Tab. 19; Azaizeh und Steudle 1991, Azaizeh et al. 1992, Wan et al. 2004). Für diesen Effekt sind zwei Ursachen möglich. Zum einen kann das extrazelluläre Wasserpotential durch den Salzgehalt erniedrigt werden und so zu einem Wasserdefizit im Gewebe führen (Maathuis et al. 2003). Zum anderen kann sich das osmotische Potential hemmend auf die Durchlässigkeit der Plasmamembranen und damit auf den transzellulären Transportweg auswirken (Azaizeh und Steudle 1991, Azaizeh et al. 1992). Die verminderte Durchlässigkeit der Plasmamembranen liegt laut Wan et al. (2004) in einer verminderten Aktivität und/oder Anzahl von Wasserkanälen (Carvajal et al. 1999; Martinez-Ballesta et al. 2000, Maathuis et al. 2003). Da sich Jv

nach Umsetzen in NaCl-freies Medium unverzüglich regenerierte (Tab. 19, Abb. 49, 50; Carvajal et al. 1999) und ungestressten Keimlingen vergleichbar war, kann der verminderte Wassertransport nicht an einer Reduktion in der Anzahl der Wasserkanäle liegen, sondern muss auf das osmotische Potential und einer verminderten Aktivität der Aquaporine zurückgeführt werden. Nur so kann die sofortige Steigerung der Wasseraufnahme erklärt werden, die es dem Mais ermöglicht, sich unverzüglich an die veränderte Situation anzupassen. Die enorme Reduzierung des Wasserflusses kann jedoch nicht alleine auf die Inhibierung des symplastischen Transportes zurückzuführen sein. Da sich J_v in NaCl-freiem Medium aber sofort regenerierte, kann auch die von Karahara et al. (2004) und Reinhardt und Rost (1995) unter 200 nM NaCl gezeigte Ausbildung einer Exodermis und eine verstärkte Suberinisierung als Hauptursache für den drastisch reduzierten Wassertransport unter den in dieser Arbeit vorliegenden Bedingungen (50 mM NaCl) ausgeschlossen werden. Es wird vermutet, dass die verwendete Salzkonzentration von 50 mM zu gering war um eine effektive Ausbildung von Caspary-Streifen in der Exodermis und folglich eine verminderte Wasseraufnahme über den Apoplasten zu erzielen.

4.2.3.3 Auswirkungen eines hypoxischen Nährmediums auf den Wasserfluss

Das Hauptproblem von Pflanzen aus Überschwemmungsgebieten ist der reduzierte Sauerstoffgehalt des mit Wasser übersättigten Bodens. Der Sauerstoffaustausch über die Wasseroberfläche ist zwar möglich, aber dennoch nimmt die Sauerstoffkonzentration schon wenige Zentimeter unter der Oberfläche deutlich ab (Marschner 1995). In der vorliegenden Arbeit konnten in Maiskeimlingen aus unbelüfteter Hydrokultur, unabhängig von der Dauer der nicht-Belüftung, aber keine Defizienzsymptome, wie ein verringertes Wachstum oder das Absterben der Wurzelspitze (Subbaiah und Sachs 2001, 2003) beobachtet werden, lediglich die Wurzeloberfläche vergrößerte sich bei länger andauerndem Sauerstoffmangel. Auch ein gesteigerter Wasserfluss (Else et al. 1995a, b, Jackson et al. 1996) konnte nicht beobachtet werden. Die widersprüchlichen Ergebnisse zu bisherigen, in der Literatur veröffentlichten Daten, sind wahrscheinlich darin begründet, dass die meisten Literaturdaten von komplett überfluteten bzw. sogar mit Stickstoff umspülten Pflanzen stammen, wodurch ein stärkerer Sauerstoffmangel oder sogar eine Totalanaerobiose ausgelöst wurde (Hwang und VanToai 1991, Sachs et

al. 1980, Subbaiah und Sachs 2000, Subbaiah und Sachs 2001, Subbaiah and Sachs 2003). Zur Klärung ob tatsächlich ein hypoxisches Medium vorlag, wurde der Sauerstoffgehalt im Nährmedium gemessen. Wenn die Belüftung des Nährmediums unterblieb, war der Gehalt etwa 20-40% niedriger als in belüftetem Medium. Es wird daher vom Vorliegen eines nicht sehr ausgeprägten hypoxischen Nährmediums ausgegangen.

4.2.4 Auswirkungen von Stress auf den endogenen ABA-Gehalt und den radialen ABA-Transport

4.2.4.1 Nährstoffmangel

Ein Mangel an Nährstoffen wirkte sich nur unter Kalium- (Tab. 10) und Nitratmangel (Tab. 12) stimulierend auf den endogenen ABA-Gehalt im Wurzelgewebe und den radialen ABA-Transport aus. Unter Calciummangel (Tab. 16) und in CaSO₄-Kultur (Tab. 17) wurde die endogene ABA zwar nicht gesteigert, der ABA-Transport hingegen schon. Phosphat- (Tab. 14; Referenzen siehe Rhagothama 2000) und Sulfatmangel (Tab. 15) zeigten, entsprechend dem radialen Wasserfluss, keine Auswirkungen auf den endogenen ABA-Gehalt des Maiswurzelgewebes und entgegen den Berichten von Jeschke (1997c) auch keinen erhöhten ABA-Transport im Xylem. In den Experimenten von Jeschke (1997c) war der Phosphatmangel in *Ricinus*-Pflanzen stärker ausgeprägt.

Kaliummangel

Während der Transport von Kalium und die Auswirkungen auf die Wasseraufnahme sehr gut untersucht sind (De la Guardia et al. 1985, Quintero et al. 1998, Roberts 1998, Roberts und Snowman 2000), wurden bisher relativ wenige Daten über den Einfluss von Kalium auf den Transport von Phytohormonen, wie ABA, veröffentlicht (Peuke et al. 2002).

Kaliummangel steigert die ABA-Biosynthese in der Wurzel (Peuke et al. 2002) und führte neben einem erhöhten endogenen ABA-Gehalt im Wurzelgewebe (Tab. 10; Abb. 62 w; Peuke et al. 2002) auch zu einem gesteigerten ABA-Transport mit dem Xylemsaft in den Spross. Da unter Kaliummangel jedoch auch der Abbau von ABA in den Blättern und der ABA-Transport über das Phloem in die Wurzel gesteigert wird, wird die ABA-

Konzentration im Spross nicht erhöht (Peuke et al. 2002), was auch das unveränderte Wachstum des Sprosses erklären könnte.

Nitratmangel

Die Literatur berichtet unter Stickstoffmangelbedingungen von einer deutlichen Steigerung der ABA-Biosynthese und Akkumulation in der Wurzel und im Spross (Brewitz et al 1995, Marschner 1995, Peuke et al. 1994). In der vorliegenden Arbeit war der endogene ABA-Gehalt nur tendenziell erhöht (Tab. 12), was auf den deutlich gesteigerten ABA-Fluss zurückgeführt werden kann. Da der radiale Wasserfluss jedoch gleichzeitig gehemmt war, kann der gesteigerte Abtransport der ABA mit dem Xylemsaft nicht durch einen apoplastischen bypass erklärt werden. Wie die Suberinfärbung zeigte, sind die apoplastischen Barrieren unter Nitratmangel stärker ausgebildet, was den reduzierten Wasserfluss erklärt. In der Darstellung des ABA-Flusses durch Immunlokalisierung waren hingegen die radialen Zellwände mit samt den Caspary-Streifen sehr stark markiert und die Caspary-Streifen daher kaum zu erkennen (Abb. 62v), was für einen deutlichen apoplastischen ABA-Transport spricht. Dies würde bedeuten, dass, zumindest unter Nitratmangel, die Endodermis zwar eine sehr gute Barriere für den Wassertransport aber eine weit weniger effektive Barriere für ABA darstellt. Die Endodermis scheint, zumindest unter Nitratmangel, keine effektive Barriere für den ABA-Transport zu sein.

Calciummangel

Der radiale ABA-Fluss in Ca^{2+} -defizienten Keimlingen mit Glucose im Nährmedium war zwar höher als in vollernährten Keimlingen, da J_v aber gleichermaßen erhöht war (Tab. 16), könnte dies mit einem apoplastischen bypass erklärt werden. Eine durch die Stresssituation eventuell erhöhte ABA-Biosynthese könnte durch den verstärkten Abtransport von ABA ausgeglichen werden, was den unveränderten endogenen ABA-Gehalt (Tab. 16) erklären würde.

CaSO_4 -Kultur

Entsprechend dem radialen Wasserfluss war auch der radiale ABA-Fluss in Keimlingen aus CaSO_4 -Kultur gesteigert (Tab. 17), was sich auf die Kombination aus Kalium-, Nitrat- und Phosphatmangel zurückführen lässt. Sowohl in Kalium- als auch in Nitratdefizienten Keimlingen war J_{ABA} gesteigert, während Phosphatmangel keine

Auswirkungen nach sich zog. Im Gegensatz zum alleinigen Kalium- oder Nitratmangel war der endogene ABA-Gehalt des Wurzelgewebes nicht gesteigert. Vermutlich war zwar auch hier die ABA-Biosynthese erhöht, aufgrund des vermehrten Abtransportes über das Xylem kam es jedoch nicht zu einer Akkumulation von ABA im Wurzelgewebe. Dass die ABA-Konzentration im Xylemsaft nicht durch den erhöhten Wasserfluss verdünnt wurde, sondern ebenfalls zunahm, spricht für einen apoplastischen bypass der ABA

4.2.4.2 Auswirkungen von Salzstress auf die endogene ABA und den ABA-Fluss

Der radiale ABA-Fluss in NaCl-gestressten Maiskeimlingen war trotz eines deutlich gesteigerten endogenen ABA-Gehaltes (Lachno und Baker 1986, Wolf et al. 1990) unverändert (Tab. 19; Azaizeh und Steudle 1991, Azaizeh et al. 1992, Wan et al. 2004). Setzt man einen hauptsächlich apoplastischen bypass von ABA voraus, müsste der ABA-Fluss aufgrund des drastisch reduzierten Wasserflusses ebenfalls deutlich erniedrigt sein. Da jedoch die ABA-Biosynthese unter NaCl-Stress deutlich stimuliert wird, kann ABA aufgrund des Konzentrationsgradienten transportiert werden. Das Umsetzen NaCl-gestresster Keimlinge in NaCl-freies Medium führte zu einer spürbaren Abnahme des endogenen ABA-Gehaltes. Das Absinken war durch den stark gesteigerten radialen Wasserfluss bedingt, der die im Wurzelgewebe akkumulierte ABA durch einen apoplastischen bypass abtransportierte. Da die ABA-Konzentration im Xylemsaft jedoch nicht, wie vermutet, stark sondern lediglich schwach anstieg, muss die Abnahme des endogenen ABA-Gehaltes auf einen sofortigen Stopp der stressbedingten ABA-Biosynthese zurückzuführen sein. Dies würde die Rolle von ABA als „Stresssignal“ unterstützen.

4.2.4.3 Auswirkungen eines hypoxischen Nährmediums auf die endogene ABA und den ABA-Fluss

In Maiskeimlingen aus unbelüftetem Nährmedium konnten, entgegen Literaturdaten (Else et al. 1995a, b, Jackson et al. 1996), keine Veränderungen im endogenen ABA-Gehalt des Wurzelgewebes und im ABA-Fluss nachgewiesen werden. Dies spricht für einen wenig ausgeprägten Sauerstoffmangel. Tatsächlich konnte im Nährmedium zwar ein bis zu 40% reduzierter Sauerstoffgehalt gemessen werden, mit 6-8 mg/l Sauerstoff

gegenüber 10 mg/l kann die Sauerstoffkonzentration aber noch nicht als ausgeprägt hypoxisch angesehen werden. Für die ABA-Biosynthese ist Sauerstoff unerlässlich (Zeevaart al. 1989) und unter hypoxischen Bedingungen müsste daher die Biosynthese und damit auch der ABA-Gehalt der Wurzel sinken.

4.2.5 Auswirkungen externer ABA auf den Wasserfluss

Der Zusatz externer ABA in das Nährmedium führte unter allen untersuchten Nährstoffbedingungen, mit Ausnahme von Kaliummangel, zu einer Stimulation von J_v . Da in kaliumdefizienten Keimlingen der radiale Wassertransport von vornherein weitaus höher war als unter allen anderen Nährstoffbedingungen, wird angenommen, dass die Kapazitäten für den Transport für Wasser bereits ausgeschöpft waren und externe ABA daher nicht zu einer weiteren Stimulation führen konnte.

In Keimlingen aus unbelüfteter Nährlösung konnte kein Unterschied zu belüfteten Keimlingen festgestellt werden, die Stimulation von J_v war identisch.

In NaCl-gestressten bzw. mit NaCl vorbehandelten Keimlingen wurde kein bzw. kaum ein stimulierender Effekt auf J_v durch die Zugabe externer ABA erreicht. Dies erlaubt die Vermutung, dass ABA eine mögliche Interaktion von NaCl mit Aquaporinen nicht verhindern kann.

4.3 Die Rolle von ABA als Wurzel-Spross-Stresssignal (J_{ABA})

Um die Rolle von ABA als Wurzel-Spross-Stresssignal zu verstehen, muss geklärt werden, auf welchem Weg ABA in die Xylemgefäße gelangt. Wird ABA symplastisch oder apoplastisch transportiert? Zur Klärung dieser Frage reicht es nicht aus, nur Transportstudien für Wasser und ABA aufzustellen. Es ist auch notwendig, die genaue Verteilung von ABA in den einzelnen Geweben zu untersuchen.

4.3.1 Symplastischer versus apoplastischer ABA-Transport

Else et al. (1994, 1995 b) und Jackson et al. (1996) gingen von einem rein symplastischen ABA-Transport aus. Ein rein symplastischer Transport beinhaltet Membrantransportprozesse, welche geschwindigkeitslimitierend sind. Eine Verstärkung der Transpiration würde den Wassertransport erhöhen und zu einer Verdünnung der ABA-Konzentration im Xylemsaft führen (Freundl et al. 1998, Hose et al. 2001, Slovik

et al. 1995). Hose et al. (2001) konnten jedoch in Experimenten mit Maiswurzeln zeigen, dass mit ansteigendem Druckgradienten trotz eines verstärkten Wasserflusses keine Verdünnung der ABA-Konzentration stattfindet. Die Schlussfolgerung daraus ist, dass ABA durch einen apoplastischen Bypass mit dem Wasserstrom transportiert werden kann. Je nach äußeren Bedingungen, wie etwa der Transpiration, sollte einer der beiden Transportwege favorisiert werden (Hose et al. 2001, Steudle 1989, Steudle 2000a, Steudle und Peterson 1998). Wird ABA tatsächlich durch einen apoplastischen Bypass transportiert, müssten apoplastische Barrieren (Endo- und Exodermis) nicht nur den Wasser- sondern auch den ABA-Transport blockieren.

4.3.1.1 Apoplastische Barrieren

Die Endodermis und Exodermis von Pflanzenwurzeln sind anatomisch gesehen Abschlussgewebe und bilden eine Barriere für den radialen Transport von Wasser und Nährstoffen. Sie sind jedoch keine totalen Barrieren, sondern verändern ihre Durchlässigkeit je nach Entwicklungsstufe der Wurzel durch Lignin- und Suberineinlagerungen (Freundl et al. 2000, Schreiber et al. 1999, Steudle 2000a, Zimmermann et al. 2000, Zimmermann und Steudle 1998). Im ersten Stadium der Ausbildung von Endo- und Exodermis werden die Caspary-Streifen (Caspary 1866) ausgebildet. Es handelt sich hierbei um Einlagerungen von Suberin und Lignin in die radialen Zellwände. Die apoplastische Barrierewirkung ist in diesem Stadium schon voll ausgebildet. Im sekundären Stadium erfolgt die Auflagerung einer Suberinlamelle auf die radialen und tangentialen Zellwände. Eine Zellwandverdickung durch Ausbildung weiterer Celluloseschichten mit Inkrustierungen von Lignin und Suberin erfolgt im tertiären Stadium. Während die Endodermis eine apoplastische Barriere zwischen dem Cortex und der Stele von allen Pflanzenwurzeln bildet, ist die Bildung einer Exodermis abhängig von der Pflanzenart und von Stressbedingungen. Die Bildung von Endo- und Exodermis kann durch Stress wie Trockenheit, Temperatur, Salz und Anaerobiose stimuliert werden (Clarkson et al. 1987, Enstone und Peterson 1998, Freundl et al. 2000, Hose et al. 2001, Karahara et al. 2004, North und Nobel 1991, Zimmermann et al. 2000). Nicht nur die Ausbildung sondern auch die chemische Zusammensetzung der apoplastischen Barrieren (Lignin und Suberin) kann sich durch Stress verändern und damit auch die radiale hydraulische Leitfähigkeit der Wurzel beeinflussen (Schreiber et al. 1999, Zimmermann et al. 2000). Inwieweit der Wasser- und ABA-Transport durch

apoplastische Barrieren behindert wird, konnte in der vorliegenden Arbeit durch ein immunologisches Nachweisverfahren der ABA mit hochspezifischen monoclonalen Antikörpern (Immunolokalisierung), durch Anfärbung von Suberin mit Oil blue N und durch die statistischen Analyse der Beziehung von J_V zu J_{ABA} gezeigt werden.

4.3.1.2 Histologische Untersuchungen

Eine Möglichkeit die Effektivität von apoplastischen Barrieren zu überprüfen ist die Anfärbung von Suberin mit Oil blue N. Caspary-Streifen werden durch Einlagerungen der hydrophoben Polymere Lignin und Suberin ausgebildet. Je mehr Lignin und Suberin eingelagert wird, desto höher ist die Barrierewirkung für den Wassertransport. Suberinfärbungen ergaben eine deutlich stärkere Markierung in der Endodermis und Hypodermis von Nitratmangelkeimlingen. Caspary-Streifen waren sowohl in der Endodermis als auch in der Exodermis deutlich zu erkennen (Abb. 64 c, d). Exodermis und Endodermis stellen somit in Nitratmangelkeimlingen eine effektivere Barriere für den Wassertransport dar als in vollernährten Keimlingen, J_V war daher reduziert. Unter Kaliummangel war hingegen keine Anfärbung von Suberin zu erkennen, weder in der Hypo- noch in der Endodermis. Die Barrierewirkung war daher nicht erhöht. Ob eine verringerte Suberineinlagerung vorlag, konnte anhand der vorliegenden Bilder nicht geklärt werden. Falls die Barrierewirkung tatsächlich herabgesetzt ist, könnte hiermit der gesteigerte Wasserfluss erklären werden.

4.3.1.3 Visualisierung des ABA-Transportes

Eine immunologische Bestimmung von ABA mittels monoclonaler Antikörper ist in der Vergangenheit oft gescheitert. Dies lag zum einen an dem geringen endogenen ABA-Gehalt der meisten pflanzlichen Gewebe, dem geringen Molekulargewicht, welches leicht eine Diffusion und Extraktion während der Aufarbeitung ermöglicht, dem raschen Metabolismus und an einem fehlenden monoclonalen Antikörper mit der notwendigen hohen Spezifität für Abscisinsäure (Pastor et al. 1995). Die immunologische Bestimmung von ABA mit hochspezifischen monoclonalen Antikörpern (wurde erstmals von Sossountzov et al. 1986 anhand der Immunogold-Methode erfolgreich durchgeführt) erfordert ein striktes Vorgehen nach Protokoll und eine Reihe von Kontrollversuchen. Das erste Problem ist die Vermeidung einer Diffusion von Abscisinsäure. ABA, wie auch andere Phytohormone (Cytokinin oder Auxin), kann

aufgrund seines niedrigen Molekulargewichtes leicht in umgebendes Gewebe diffundieren, was eine genaue Lokalisierung von ABA in den einzelnen Kompartimenten erschweren, wenn nicht sogar unmöglich machen würde. Die Diffusion von ABA kann durch physikalische oder chemische Methoden sehr schnell unterbunden werden. Die physikalische Fixierung durch Schockgefrieren, eventuell unter reduziertem Druck, ist die beste Methode um ABA zu immobilisieren, erfordert aber eine relativ aufwendige und teure Ausrüstung. Die chemische Fixierung bietet den Vorteil gezielt Substanzgruppen zu fixieren und so Kreuzreaktionen des Antikörpers zu reduzieren (Dewitte und Van Onckelen 2001). Ein weiteres Kriterium ist die Spezifität des Antikörpers. Polyclonale Antikörper sind nicht hochspezifisch und können Ergebnisse verfälschen. Dieses Risiko kann durch die Verwendung monoclonaler Antikörper minimiert werden. Der in den Experimenten benutzte hochspezifische monoclonale Antikörper für ABA wurde von Weiler (1986) entwickelt. Er erkennt 2-cis-trans-(S)-ABA zu 100 % und reagiert nur sehr geringfügig in Kreuzreaktion (Phaseinsäure < 0,1 %, Dihydrophaseinsäure < 0,1 %, ABA-Methylester < 0,1 %). Um den Antikörper zu lokalisieren, ist ein gut detektierbarer spezifischer Marker notwendig. Die Auswahl des Markers muss nicht nur nach der zu bestimmenden Verbindung (ABA, Cytokine, Auxine) sondern auch nach dem Gewebe und den Besonderheiten des Gewebes, in dem die Lokalisierung erfolgen soll, ausgewählt werden. Im Falle der ABA-Bestimmung in Maiswurzelgewebe wurde zu Beginn das Alexa-fluor-Konjugat 488 benutzt. Da jedoch dessen Fluoreszenz durch die Fluoreszenz der lignifizierten Zellwände verfälscht wurde, wurde auf Alexa 568 zurückgegriffen. Dieses Konjugat ist jedoch für chloroplastenreiche Gewebe nicht geeignet (persönliche Mitteilung von Ullrich-Eberius). Die Detektion erfolgte durch konfokale Laserscanningmikroskopie und konnte mit einem Bildgebungsprogramm (Pascal LSM 5) ausgewertet werden. Mit dieser Methode können jedoch keine Aussagen über die absolute ABA-Konzentration in einzelnen Pflanzengeweben gemacht werden. Es sind nur vergleichende Aussagen über den ABA-Gehalt möglich, die bei jedem Versuchsansatz durch entsprechende Kontrollen zu belegen sind. Ohne eine strikte Beachtung der Arbeitsvorschriften und entsprechende Kontrollen ist eine verlässliche Aussage über die Abscisinsäureverteilung in pflanzlichen Geweben nicht möglich.

Um die Spezifität des ABA-Antikörpers und des Alexa-Konjugates zu testen, musste eine Reihe von Kontrollversuche durchgeführt werden. Neben einer Kontrolle, die

weder mit dem primären (ABA-AK) noch mit dem sekundären Antikörper (Alexa) behandelt wurde, sind auch Versuche mit nur jeweils einem Antikörper, entweder dem primären oder dem sekundären, notwendig. Die Spezifität des ABA-Antikörpers musste weiterhin getestet werden, indem der Antikörper vor Beschichtung des Gewebes mit dem zu bestimmenden Hormon abgesättigt wurde. Nur auf diese Weise konnte die Spezifität der verwendeten Antikörper getestet werden. Eine Totalkontrolle (ohne beide Antikörper) und die Kontrolle mit dem abgesättigten Antikörper müssen bei jedem Versuchsansatz unbedingt durchgeführt werden.

Da Verfälschungen der Ergebnisse durch die Eigenfluoreszenz der Zellwände auch durch einen Wechsel des sekundären Antikörpers auf Alexa 568 nicht ausgeschlossen, sondern nur reduziert wurden, war eine Unterdrückung der Eigenfluoreszenz notwendig. Dies war durch Toluidinblau möglich (Peterson 1988). Die Aufnahmen aus Abb. 65 e-g verdeutlichen die Spezifität sowohl von primärem als auch sekundärem Antikörper und die erfolgreiche Unterdrückung der Eigenfluoreszenz der Zellwände durch Toluidinblau (b, d).

4.3.1.4 Ergebnisse der Immunlokalisation

In der vorliegenden Arbeit konnte zum ersten Mal die ABA-Verteilung im Wurzelgewebe anhand einer immunologischen Bestimmung mit hochspezifischen monoclonalen Antikörpern visualisiert werden. Pflanzen können ABA nicht nur durch Biosynthese selbst erzeugen sondern auch externe ABA aus dem Bodenwasser absorbieren (Hartung et al. 1996). Die im Boden vorhandene Abscisinsäure wird von Algen und Pilzen produziert oder von anderen Pflanzen über die Wurzel abgegeben. In dieser Arbeit sollte geklärt werden, auf welchem Wege aus der Rhizosphäre aufgenommene ABA radial zu den Xylemgefäßen transportiert wird und ob der Transport durch apoplastische Barrieren behindert wird. Wenn für ABA, wie von Hose et al. (2001) gezeigt, neben einem symplastischen Transport auch ein nicht zu unterschätzender apoplastischer Bypass existiert, dürfte es nicht zu einem Anstau von ABA vor den apoplastischen Barrieren Endo- und Exodermis kommen.

Wurzelquerschnitte von Maiskeimlingen zeigten die stärksten ABA-Signale im Bereich der Zellwände und Cytoplasmaschläuche. Eine Differenzierung ob ABA ausschließlich in den Zellwänden oder auch im Cytoplasma transportiert wird, konnte anhand der vorliegenden Bilder nicht getroffen werden. Vacuolen waren aufgrund ihrer, im

Vergleich zum Cytosol, niedrigen ABA- und Protein-Konzentration (Kaiser et al. 1985) nicht oder nur extrem schwach markiert. Da durch die Fixierung mit EDAC die ABA-Moleküle an die vorhandenen Proteine gebunden werden, können nur Signale aus gleichen Kompartimenten verglichen werden.

In hydroponisch in Vollmedium kultivierten Maiskeimlingen (Abb. 62 a-k, n-u, 63 a-b) konnten die stärksten Fluoreszenzsignale im Bereich der Rhizodermis, Hypodermis, Endodermis und den Metaxylemgefäßen detektiert werden. An der Rhizodermis erfolgt die Aufnahme von ABA aus der Nährlösung, die ABA-Signale waren folglich hier besonders stark. Aufgrund der simulierten Transpiration durch einen subatmosphärischen Druck von $-0,06$ MPa wurde ABA relativ rasch durch das Cortexgewebe transportiert. Die Zellen waren daher nicht oder nur extrem schwach markiert, vereinzelt konnten Signale in den radialen Zellwänden des Cortexgewebes detektiert werden. Die Endodermis stellt eine natürliche Barriere für den apoplastischen Wassertransport dar. Wird ABA durch einen apoplastischen Bypass transportiert, dürfte es nicht zu einem Anstau vor der Endodermis kommen und die Caspary-Streifen in den radialen Zellwänden müssten sichtbar sein. Die radialen Wände der Endodermis zeigten unter hydrostatischem Druck starke Fluoreszenzsignale (Abb. 62 c, h, k), die Caspary-Streifen waren als deutlich schwächer markierte Bereiche gut zu erkennen (Abb. 62 c, h, o). Die Endodermis stellt also tatsächlich eine Barriere für den radialen ABA-Transport dar. Diese ist jedoch, analog zum Wasserfluss, keine totale Barriere, die nach dem Alles-oder-Nichts-Prinzip funktioniert. Durch einen apoplastischen Bypass mit dem Wasserstrom kann diese apoplastische Barriere überwunden werden, wie die schwach markierten Caspary-Streifen zeigen. Liegt kein hydrostatischer Druck an der Wurzel an, wird Wasser vorwiegend durch osmotischen Druck symplastisch durch Diffusion über Plasmamembranen transportiert und nicht über den Apoplasten (Steudle 2000a, Steudle und Frensch 1996, Steudle und Peterson 1998). Versuche mit Maiswurzeln, an denen kein Transpirationssog anlag, bestätigen diese Aussage, die radialen Zellwände der Endodermis waren deutlich schwächer markiert (Abb. 62 i) als unter hydrostatischem Druck. Die geringen Signale resultieren aus dem Wurzelndruck, der durch die Abgabe von Xylemsaft an der Schnittfläche des Mesokotyls noch zu einer geringen Sogwirkung führt.

Die Metaxylemgefäße waren unter allen Bedingungen stark markiert. Hier muss die ABA in den Apoplasten übertreten um im Xylem abtransportiert werden zu können. Die frühen Metaxylemgefäße (PX) befinden sich noch in einem frühen Entwicklungsstadium. Da sie kaum Wasser transportieren (Aubin et al. 1986) waren sie nicht oder nur sehr schwach markiert.

Dass die starken Fluoreszenzsignale wirklich von einem radialen Transport externer ABA aus der Nährlösung in die Wurzel stammen, zeigte die Darstellung der endogenen ABA (Abb. 62 m, n). Die Fluoreszenzsignale waren wesentlich schwächer. Die Versuchsbedingungen waren vergleichbar, das Medium enthielt jedoch keine externe ABA.

Längs- und Querschnitte 1,7-1,8 mm hinter der Wurzelspitze zeigten eine starke Markierung des Cytosols in den nicht vakuolisierten Zellen (Abb. 62 s) und eine gleichmäßige Markierung des gesamten Wurzelquerschnittes (Abb. 62 u, 63 d). Das Cytosol von Zellen ohne Vakuole ist laut Hartung et al. (1999) der Hauptort der ABA-Biosynthese der Wurzel. In dieser Zone ermöglicht eine erhöhte ABA-Konzentration ein verstärktes Wachstum der Wurzelspitze z.B. bei Wasserstress (Saab et al. 1990).

Werden Maiskeimlinge unter aeroponischen Bedingungen angezogen (Abb. 62 l, p, q), was den Bedingungen in einem gut durchlüfteten Boden eher entspricht, bilden sich Caspary-Streifen in der Hypodermis (Hose et al. 2001) aus. Es konnte in der Vergangenheit gezeigt werden, dass eine Exodermis die Aufnahme externer ABA aber auch die Abgabe interner ABA aus der Wurzel in den Boden reduziert (Freundl et al. 2000, Hose et al. 2001). Caspary-Streifen in der Exodermis waren als deutlich schwächer markierte Bereiche in den radialen Zellwänden gut zu erkennen (Abb. 62 l, q). Die Barrierewirkung ließ sich gut an der starken Markierung der Rhizodermis und der äußeren Tangentialwand der Exodermis erkennen, während die innere Tangentialwand der Exodermis wesentlich schwächer markiert war (Abb. 62 q, 63 c). Auch die radialen Zellwände der Endodermis waren stark markiert, die innere und äußere Tangentialwand etwas schwächer (Abb. 62 p, 63 c). Die stärkere Fluoreszenz der äußeren Tangentialwand von Exo- und Endodermis, die eine erhöhte Akkumulation von ABA anzeigt, demonstrierte deren Barriereigenschaften für den ABA-Transport. Die schwache Markierung der Caspary-Streifen zeigte abermals, dass es sich nicht um eine perfekte Barriere handelt. Im Gegensatz zur Hydrokultur waren auch die

Parenchymzellen der Stele und des Cortex stärker markiert. Auch dies kann durch die Caspary-Streifen der Exodermis erklärt werden, die nicht nur den Einstrom in die Wurzel, sondern auch die Abgabe interner ABA an den Boden verringern.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen zwar nicht erkennen, zu welchem Anteil ABA symplastisch oder apoplastisch transportiert wird, es konnte aber gezeigt werden, dass apoplastische Barrieren den ABA-Transport zwar behindern, aber nicht vollständig unterbinden können. Zu einem gewissen Anteil wird ABA durch einen apoplastischen Bypass transportiert.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich die radialen Wasser- und ABA-Flüsse unter Stressbedingungen verändern können. Sind diese Ergebnisse auf veränderte Barriereigenschaften des Apoplasten zurückzuführen, müsste sich dies auch durch die Immunolokalisation von ABA belegen lassen.

Die Auswirkungen von Kaliummangel auf die ABA-Verteilung im Wurzelgewebe

In kaliumdefizienten Maiskeimlingen (Abb. 62 w, 64 e, f) waren die kompletten radialen Zellwände der Endodermis stark markiert und daher die Caspary-Streifen weit weniger deutlich zu erkennen und auch ein Anstau von ABA vor der Endodermis konnte nicht festgestellt werden. Die Ergebnisse lassen den Rückschluss zu, dass die Endodermis unter K^+ -Mangel, vermutlich aufgrund einer geringeren Suberinisierung und Lignifizierung, eine weniger effektive Barriere für den Wasser- und ABA-Transport darstellt, was den erhöhten Wasser- und ABA-Fluss erklären würde.

Die Auswirkungen von Nitratmangel auf die ABA-Verteilung im Wurzelgewebe

Die Ursache für den erniedrigten Wassertransport in Maiskeimlingen unter Nitratmangelbedingungen liegt in der Ausbildung einer Exodermis. Die Suberinfärbung zeigte eindeutig Caspary-Streifen in der Exodermis (Abb. 64 d). Die immunologische Bestimmung von ABA zeigte ebenfalls klar Caspary-Streifen in der Hypodermis (Abb. 62 v). Dies widerspricht den Berichten von Carvajal et al. (1996), wonach sich Nitratmangel nicht auf die Anatomie der Wurzel auswirkt. Neben der Ausbildung einer Exodermis war auch eine verstärkte Suberinisierung der Endodermis festzustellen (Abb. 64 c), die mit einer erhöhten Barriere für den Wassertransport einhergeht. Im Gegensatz zum Wassertransport scheint die Endodermis für den ABA-Transport eine geringere Barriere darzustellen. Die Endodermis war zwar überaus stark markiert, mit den

stärksten Signalen in den radialen und etwas abgeschwächten Signalen in den tangentialen Zellwänden, Caspary-Streifen waren aber nur undeutlich zu erkennen und es konnten kaum Intensitätsunterschiede zwischen der äußeren und der inneren Tangentialwand und auch kein Anstau von ABA vor der Endodermis festgestellt werden. Die effektivere Barriere für den ABA-Transport scheint unter Nitratmangel die Exodermis zu sein, in der Rhizodermis war eine klare Akkumulation von ABA zu erkennen, während die innere Tangentialwand der Exodermis deutlich abgeschwächte Signale aufwies, zudem waren Caspary-Streifen klar zu erkennen. Dieses Bild wurde durch den Vergleich der Wasser- und ABA-Flüsse mit vollernährten Keimlingen bestätigt. Während der radiale Wasserfluss abnahm, stieg der ABA-Fluss an.

4.3.2 Beziehung zwischen dem radialen Wasser- und ABA-Fluss und dem endogenen ABA-Gehalt im Wurzelgewebe

Ein wichtiges Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob ein Zusammenhang zwischen dem endogenen ABA-Gehalt der Wurzel und dem radialen Wasser- bzw. ABA-Fluss besteht.

Es konnte klar gezeigt werden, dass eine signifikant hohe Korrelation zwischen dem ABA-Gehalt im Wurzelgewebe und dem Wasserfluss J_v (Abb. 53) besteht. Es lässt sich eine Kalibriergerade aufstellen, aus der, unter vergleichbaren transpirierenden Bedingungen, aus einem gegebenen ABA-Gehalt der Wurzel der Wasserfluss geschätzt werden kann. Je höher der ABA-Gehalt im Wurzelgewebe ist, desto höher ist auch der radiale Wasserfluss bei gegebenem Unterdruck. Diese Beziehung trifft vor allem nach der Zugabe externer ABA zu, also für die Beziehung zwischen interner ABA und J_v . Für die endogene ABA besteht nur ein positiver Trend, dennoch lassen sich auch hier aus dem ABA-Gehalt des Wurzelgewebes Rückschlüsse auf J_v ziehen. Dieser positive Zusammenhang zwischen dem ABA-Gehalt des Wurzelgewebes und J_v konnte auch unter den durchgeführten hypoxischen Bedingungen bestätigt werden (Abb. 55). Bei einem bekannten ABA-Gehalt können auch hier direkte Rückschlüsse auf den Wasserfluss gezogen werden, J_v ist nur etwas geringer als in belüfteter Hydrokultur. In NaCl-gestressten Keimlingen (50mM) konnte hingegen kein Zusammenhang festgestellt werden (Abb. 54). Wurde die Stresssituation durch Umsetzen in NaCl-freies Medium aufgehoben, bestand die positive Beziehung wieder. Offensichtlich wird,

anders als bei HgCl_2 , NaCl schnell von den Aquaporinen entfernt (Steudle, Universität Bayreuth; persönliche Mitteilung). ABA hat keinen Einfluss auf diese Interaktion.

Eine ebenso hohe Korrelation wie zwischen dem ABA-Gehalt und J_v konnte auch zwischen dem ABA-Gehalt des Wurzelgewebes und dem ABA-Fluss (Abb. 56) beobachtet werden. Auch hier lassen sich aus einem bekannten ABA-Gehalt direkte Rückschlüsse auf den radialen ABA-Transport ziehen. Je mehr ABA im Wurzelgewebe vorliegt, desto mehr ABA wird auch zu den Xylemgefäßen transportiert. Dass diese Beziehung, im Gegensatz zu J_v , auch für die endogene ABA besteht, spricht für die große Bedeutung der ABA-Biosynthese in der Wurzel und deren Beteiligung an der Stressantwort. Unter Stress steigt die ABA-Biosynthese nicht nur im Spross, sondern auch in der Wurzel an, und erhöht durch den gesteigerten ABA-Transport die ABA-Konzentration im Spross und somit auch an den Stomata. ABA aus der Wurzel ist an der Regulation der Stomataöffnung beteiligt. Im Gegensatz zu J_v konnte auch in NaCl -gestressten Maiskeimlingen und nicht nur in mit NaCl vorbehandelten Keimlingen ein positiver Zusammenhang zwischen dem ABA-Gehalt des Wurzelgewebes und dem ABA-Fluss festgestellt werden (Abb. 57). Während die Wasseraufnahme gehemmt wurde, hatte NaCl keinen Einfluss auf J_{ABA} . Hier scheint auch ein symplastischer Transport von ABA ins Xylem von Bedeutung zu sein.

Eine hoch signifikante Korrelation konnte auch für die Beziehung von radialen Wasser- und ABA-Fluss (Abb. 59) gezeigt werden. Je höher J_v , desto höher ist auch J_{ABA} . Mit zunehmendem Wasserfluss kommt es nicht zu einer Verdünnung der ABA-Konzentration im Xylemsaft, wie bei einem alleinigen symplastischen Transport zu erwarten wäre. Der mit steigendem Wasserfluss ebenfalls zunehmende ABA-Fluss bestätigt den von Freundl et al. (1998) postulierten apoplastischen Bypass von ABA. Die Beziehung von J_v zu J_{ABA} hängt jedoch zusätzlich noch von der Zugabe externer ABA ab. 100 nM externe ABA, eine Konzentration die auch im Apoplasten gestresster Keimlinge vorkommt, erhöht sowohl den radialen Wasser- als auch den radialen ABA-Fluss. Sie wirkt umso stärker stimulierend auf J_{ABA} desto höher der Wasserfluss ist, d.h. bei einem hohen J_v wird proportional mehr ABA transportiert als bei niedrigem J_v . Je höher der hydrostatische Druck und damit auch J_v ist, desto mehr Wasser wird apoplastisch transportiert (Steudle 2000a, Steudle und Frensch 1996, Steudle und

Peterson 1998) und desto mehr ABA kann durch einen apoplastischen bypass transportiert werden.

Die in dieser Arbeit durchgeführten Experimente zum Nährstoffmangel unter hydrostatischen Druckbedingungen ließen nur für Keimlinge aus NO_3^- , K^+ - und Ca^{2+} -Mangelmedium und aus CaSO_4 -Kultur ein gesteigertes ABA-Wurzel-Spross-Stresssignal erkennen. Nur unter diesen Nährstoffbedingungen war die ABA-Konzentration im Xylemsaft erhöht, und somit der ABA-Langstreckentransport in den Spross klar gesteigert. Unter PO_4^{3-} -und SO_4^{2-} -Mangel, in NaCl-gestressten und in hypoxischen Maiskeimlingen war das ABA-Stresssignal hingegen unverändert.

5 Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es den Zusammenhang zwischen dem endogenen und internen ABA-Gehalt des Wurzelgewebes und dem radialen ABA- und Wasserfluss zu untersuchen und zu überprüfen ob diese Faktoren durch unterschiedliche Nährstoffbedingungen beeinflusst werden. Der radiale Transportweg von ABA wurde ebenfalls untersucht.

- In dieser Arbeit konnte das erste Mal gezeigt werden, dass ein direkter Zusammenhang zwischen dem endogenen und internen ABA-Gehalt des Wurzelgewebes und dem radialen Wasser- und ABA-Transport besteht. Unter vergleichbaren Bedingungen können aus einem gegebenen ABA-Gehalt Rückschlüsse auf die radialen Wasser- und ABA-Flüsse gezogen werden.
- Während Kalium- und Calciummangel und die Kultur in CaSO_4 den radialen Wasserfluss von Maiskeimlingen stimulierten, war J_v unter Nitratmangel reduziert. Phosphat- und Sulfatmangel wirkten sich nicht auf den Wasserhaushalt von Maiskeimlingen aus, trotz einem deutlich reduzierten P- bzw. S-Gehalt konnten keine klaren Defizienzsymptome festgestellt werden.
- Der endogene ABA-Gehalt im Wurzelgewebe von Maiskeimlingen war nur unter Kalium- und Nitratmangel erhöht.
- Der radiale ABA-Transport wurde unter Kalium-, Nitrat-, Calciummangel und in CaSO_4 -Kultur gesteigert. Der erhöhte ABA-Fluss in Kaliumdefizienten Keimlingen resultiert aus einer gesteigerten ABA-Biosynthese und dem erhöhten Wassertransport. Unter Nitratmangelbedingungen lässt sich der gesteigerte ABA-Fluss anhand des erhöhten ABA-Gehaltes im Wurzelgewebe erklären. Die erhöhte ABA-Konzentration im Xylemsaft von Keimlingen aus Calciummangel- und CaSO_4 -Kultur ist das Ergebnis des gesteigerten Wassertransportes. Phosphat- und Sulfatmangel hatten keine Auswirkungen auf den ABA-Fluss.
- Salzstress (50 mM) reduzierte den radialen Wasserfluss deutlich. Der erhöhte endogene ABA-Gehalt im Wurzelgewebe hatte keinen Einfluss auf J_v und J_{ABA} . Die Auswirkungen von Salzstress waren voll reversibel.

- 100 nM externe ABA wirkte sich unter allen untersuchten Nährstoffbedingungen gleichermaßen stimulierend auf J_V und J_{ABA} aus. In NaCl-gestressten Keimlingen zeigte externe ABA keinen Effekt.
- Eine Möglichkeit zur Immunlokalisation von ABA in Wurzelquerschnitten von Maiskeimlingen wurde entwickelt und optimiert.
- Die Visualisierung des radialen ABA-Transportes anhand der Immunlokalisation mit monoclonalen Antikörpern zeigte, dass Endo- und Exodermis eine apoplastische Barriere für den ABA-Transport darstellen. Die Ergebnisse lassen den Rückschluss zu, dass die Exodermis die wirksamere Barriere für den ABA-Transport ist.
- Wurzeln von Maiskeimlingen bildeten unter Nitratmangelbedingungen eine Exodermis aus und verstärkten die Suberinisierung der Endodermis. Unter Kaliummangel konnten keine verstärkten Barriereigenschaften beobachtet werden.

In der vorliegenden Arbeit konnte zum ersten Mal aufgezeigt werden, dass eine signifikant hohe Korrelation zwischen dem endogenen ABA-Gehalt des Wurzelgewebes und dem ABA- bzw. Wassertransport besteht. Die ebenfalls positiv signifikant hohe Korrelation zwischen dem radialen Wasser- und ABA-Transport zeigt einen apoplastischen ABA-Transport an. Mit zunehmendem Wasserfluss steigt auch die ABA-Konzentration im Xylem. Ein apoplastischer radialer Bypass der ABA konnte auch mit Hilfe der Immunlokalisation nachgewiesen werden.

6 Summary

The objective of this study has been to investigate the relations between the endogenous and internal ABA content in root tissues and the radial ABA- and water-flows and how these individual factors can be affected by different conditions of nutrient deficiency. The radial transport paths also have been studied.

- The experiments of this study, for the first time, show a direct correlation between endogenous and internal ABA content in root tissue and radial water- and ABA-transport. From differences of the endogenous ABA content, conclusions can be drawn about changes of the radial water- and ABA-flows under comparable transpiring conditions.
- Whereas potassium and calcium deficiencies and CaSO₄-culture are stimulating the radial water flow of maize seedlings, nitrate-deficiency will reduce J_v. Phosphorus and sulphur deficiencies do not have an effect on the water balance of maize seedlings because, despite clearly reduced internal P- and S-content no serious deficiency symptoms developed.
- The endogenous ABA-content of maize root tissues is enhanced by potassium and nitrate deficiencies only.
- Radial ABA-transport is enhanced by potassium, nitrate, calcium deficiencies and in CaSO₄-culture. The increased ABA-flow in potassium deficient seedlings is a result of the enhanced ABA-biosynthesis and the increased water-transport. Under conditions of nitrate deficiency the enhanced ABA-content in root tissue results in an increased ABA-flow. In maize seedlings cultivated under calcium deficiency or in CaSO₄ the enhanced ABA-concentration of xylem sap is a result of the stimulated water-flow. No effect can be seen under phosphate and sulphate deficiencies.
- Salt stress (50 mM) reduces the radial water flow drastically. Although endogenous ABA is accumulated under salt stress J_v remains unaffected. The salt effect is fully reversible.

- Under all nutrient deficient and hypoxic conditions, 100 nM external ABA stimulates water and ABA-flows in a comparable way. In NaCl-stressed seedlings external ABA proved to be ineffective.
- A technique of immunolocalisation of ABA in cross sections of maize roots has been developed and optimised.
- Visualisation of the radial ABA-transport by immunolocalisation with monoclonal antibodies demonstrated the barrier properties of endodermis and exodermis for radial ABA-transport. From the results of immunolocalisation it is concluded that the exodermis only is a significant barrier for radial ABA transport.
- Roots of maize seedling build up an exodermis and enhance the suberisation of the endodermis under nitrogen deficiency, whereas under potassium deficiency no increased barrier properties could be observed.

The presented work, for the first time, shows the tight and significant correlation between the endogenous and internal ABA-content of root tissue and the radial ABA- respectively water-transport. Likewise, there is a positive highly significant correlation between the radial water- and ABA-transport, indicating an apoplastic bypass of ABA. With increasing water flow, the ABA-concentration in xylem-sap is increasing as well. A radial apoplastic ABA-flow could also be demonstrated by immunolocalisation.

7 Abkürzungsverzeichnis

ABA	Abscisinsäure
Abb.	Abbildung
Ca	Calcium
CLSM	<u>C</u> onfocal <u>L</u> aser <u>S</u> canning <u>M</u> icroscopie
df	<u>d</u> egrees of <u>f</u> reedom (Freiheitsgrade)
DW	Trockengewicht (dry weight)
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Essay
EM	early metaxylem
EN	Endodermis
EX	Exodermis
FG	Frischgewicht
h	Stunde
HY	Hypodermis
ICP	inductively coupled plasma
J_{ABA}	Abscisinsäurefluss
$J_{ABA(ABA)}$	ABA-Fluss nach ABA-Zugabe
J_v	Wasserfluss
$J_{V(ABA)}$	Wasserfluss nach ABA-Zugabe
K	Kalium
LM	late metaxylem
L_o	osmotische Leitfähigkeit
Lpr	hydraulische Leitfähigkeit der Wurzel
MPa	Megapascal = 0,1 bar
MW	Mittelwert

n	Anzahl an unabhängigen Stichproben
N	Stickstoff
p	Signifikanzniveau
P	Phosphor
P&S	Nährlösung modifiziert nach Pirson und Seidel, Vollmedium
pmol	Picomol
ppm	parts per million
RH	Rhizodermis
s	Sekunde
S	Schwefel
SD	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
v/v	Volumen/Volumen
w/v	Gewicht/Volumen

8 Literaturverzeichnis

- Addicott FT, Carns HR, Lyon JL, Smith OE, McMeans JL** (1964) On the physiology of abscisins. In: Nitsch JP (Editor) *Régulateurs Naturels de la Croissance Végétale. Cent Natl Rech Sci*, Paris, 687-703.
- Aubin GST, Canny MJ, McCully** (1986) Living vessel elements in the late metaxylem of sheathed maize roots. *Annals of Botany* 58, 577-588.
- Azaizeh H, Steudle E** (1991) Effects of salinity on water transport of excised maize (*Zea mays* L.) roots. *Plant Physiology* 97, 1136-1145.
- Azaizeh H, Gunse B, Steudle E** (1992) Effects of NaCl and CaCl₂ on water transport across cells of maize (*Zea mays* L.) seedlings. *Plant Physiology* 99, 886-894.
- Baker DA, Lachno DR** (1989) Induction of abscisic acid in excised maize roots by osmotic and salt stress. *Structural and functional aspects of transport in roots*. Eds.: BC Loughman et al. Kluwer Academic Publishers, 241-246.
- Bates TR, Lynch JP** (1996) Stimulation of root hair elongation in *Arabidopsis thaliana* by low phosphorus availability. *Plant, Cell and Environment* 19, 529-538.
- Behl R, Hartung W** (1984) Transport and compartmentation of abscisic acid in roots of *Hordeum distichon* under osmotic stress. *Journal of Experimental Botany* 3, 159, 1433-1440.
- Belitz H-D, Grosch W** (1992) *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg.
- Benech-Arnold RL, Fenner M, Edwards PJ** (1995) Influence of potassium nutrition on germinability, abscisic acid content and sensitivity of the embryo to abscisic acid in developing seeds of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *New Phytologist* 130, 207-216.
- Bewell MA, Maathuis FJM, Allen GJ, Sanders D** (1999) Calcium-induced calcium release mediated by a voltage-activated cation channel in vacuolar vesicles of red beet. *FEBS Letters* 458, 41-44.

- Birner TP, Steudle E** (1993) Effects of anaerobic conditions on water and solute relations and active transport in roots of maize (*Zea mays* L.). *Planta* 190, 474-483.
- Blackmann PG, Davies WJ** (1985) Root to shoot communication in maize plants and the effects of soil drying. *Journal of Experimental Botany* 36, 39-48.
- Brewitz E, Larsson CM, Larsson M** (1995) Influence of nitrate supply on concentrations and translocation of abscisic acid in barley (*Hordeum vulgare*). *Physiologia Plantarum* 95, 499-506.
- Brummell DA, Hall JL** (1987) Rapid cellular responses to auxin and the regulation of growth. *Plant, Cell and Environment* 10, 523-543.
- Cakmak I, Hengeler C, Marschner H** (1994) Partitioning of shoot and root dry matter and carbohydrates in bean plants suffering from phosphorus, potassium and magnesium deficiency. *Journal of Experimental Botany* 45, 1245-1250.
- Carvajal M, Cooke DT, Clarkson DT** (1996) Responses of wheat plants to nutrient deprivation may involve the regulation of water-channel function. *Planta* 199, 372-381.
- Carvajal M, Martinez V, Alcaraz CF** (1999) Physiological function of water channels as affected by salinity in roots of paprika pepper. *Physiologia Plantarum* 105, 95-101.
- Caspary R** (1866) Bemerkungen über die Schutzscheide und die Bildung des Stammes und der Wurzel. *Jahr wiss Bot* 4, 101-123.
- Cheeseman JM** (1988) Mechanism of salinity tolerance in plants. *Plant Physiology* 87, 547-550.
- Chérel I** (2004) Regulation of K⁺ channel activities in plants: from physiological to molecular aspects. *Journal of Experimental Botany* 55, 396, 337-351.
- Chevalier F, Pata M, Nacry P, Doumas P, Rossignol M** (2003) Effects of phosphate availability on the root system architecture: large-scale analysis of the natural variation between *Arabidopsis* accessions. *Plant, Cell and Environment* 26, 1839-1850.

- Chrispeels MJ, Maurel C** (1994) Aquaporins: The molecular basis of facilitated water movement through living plant cells? *Plant Physiology* 105, 9-13.
- Clarkson DT, Carvajal M, Henzler T, Waterhouse RN, Smyth AJ, Cooke DT, Steudle E** (2000) Root hydraulic conductance: diurnal aquaporin expression and the effects of nutrient stress. *Journal of Experimental Botany* 51, 342, 61-70.
- Clarkson DT, Hanson JB** (1980) The mineral nutrition of higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* 31, 239-298.
- Clarkson DT, Robards AW, Stephens JE, Stark M** (1987) Suberin lamellae in the hypodermis of maize (*Zea mays*) roots; development and factors affecting the permeability of hypodermal layers. *Plant, Cell and Environment* 10, 83-93.
- Cornish K, Zeevaart JAD** (1985) Abscisic acid accumulation by roots of *Xanthium strumarium* L. and *Lycopersicon esculentum* Mill. in relation to water stress. *Plant Physiology* 79, 653-658.
- Cramer GR, Läuchli A, Epstein E** (1986) Effects of NaCl and CaCl₂ on ion activities in complex nutrient solutions and root growth of cotton. *Plant Physiology* 81, 792-797.
- Cramer GR, Lynch J, Läuchli A, Epstein E** (1987) Influx of Na⁺, K⁺, and Ca²⁺ into roots of salt-stressed cotton seedlings. *Plant Physiology* 83, 510-516.
- Crawford NM, Glass ADM** (1998) *Trends in plant science* 3, 10, 389-395.
- Creelman RA, Gage DA, Stults JT, Zeevaart JAD** (1987) Abscisic acid biosynthesis in leaves and roots of *Xanthium strumarium* L. *Plant Physiology* 85, 726-732.
- De la Guardia MD, Benlloch M** (1980) Effects of potassium and gibberellic acid on stem growth of whole sunflower plants. *Physiologia Plantarum* 49, 443-448.
- De la Guardia MD, Fournier JM, Benlloch M** (1985) Effect of potassium status on K⁺ (Rb⁺) uptake and transport in sunflower roots. *Physiologia Plantarum* 63, 176-180.
- Dewitte W, Van Onckelen H** (2001) Probing the distribution of plant hormones by immunocytochemistry. *Plant Growth Regulation* 33, 67-74.

- Dietrich P, Sanders D, Hedrich R** (2001) The role of ion channels in light-dependent stomatal opening. *Journal of Experimental Botany* 52, 363, 1959-1967.
- Else MA, Davies WJ, Malone M, Jackson MB** (1995a) A negative hydraulic message from oxygen-deficient roots of tomato plants. *Plant Physiology* 109, 1017-1024.
- Else MA, Davies WJ, Whitford PN, Hall KC, Jackson MB** (1994) Concentrations of abscisic acid and other solutes in xylem sap from root systems of tomato and castor-oil plants are distorted by wounding and variable sap flow rates. *Journal of Experimental Botany* 45, 317-323.
- Else MA, Hall KC, Arnold GM, Davies WJ, Jackson MB** (1995b) Export of abscisic acid, 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic acid, phosphate, and nitrate from roots to shoots of flooded tomato plants. *Plant Physiology* 107, 377-384.
- Enstone DE, Peterson CA** (1998) Effects of exposure to humid air on epidermal viability and suberin deposition in maize (*Zea mays* L.) roots. *Plant, Cell and Environment* 21, 837-844.
- Fiscus EL** (1982) Effects of abscisic acid in the root: communication between shoot and root. *Plant Growth Substances*. Eds: Wareing PF, Academic Press, London, 591-598.
- Forde BG** (2000) Nitrate transporters in plants: structure, function and regulation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1465, 219-235.
- Fortmeier R, Schubert S** (1995) Salt tolerance of maize (*Zea mays* L.): the role of sodium exclusion. *Plant, Cell and Environment* 18, 1041-1047.
- Fournier JM, Benlloch M, De la Guardia MD** (1987) Effect of abscisic acid on exudation of sunflower roots as affected by nutrient status, glucose level and aeration. *Physiologia Plantarum* 69, 675-679.
- Franco-Zorrilla JM, González E, Bustos R, Linhares F, Leyva A, Paz-Ares J** (2004) The transcriptional control of plant responses to phosphate limitation. *Journal of Experimental Botany* 55, 396, 285-293.
- Freundl E, Steudle E, Hartung W** (1998) Water transport by roots of maize and sunflower affects the radial transport of abscisic acid and its concentration in the xylem. *Planta* 207, 8-19.

- Freundl E, Steudle E, Hartung W** (2000) Apoplastic transport of abscisic acid through roots of maize: effect of the exodermis. *Planta* 210, 222-231.
- Haeder HE, Beringer H** (1981) Influence of potassium nutrition and water stress on the content of abscisic acid in grains and flag leaves of wheat during grain development. *Journal of Scientific Food Agriculture* 32, 522-526.
- Hartung W, Davies WJ** (1991) Drought induced changes in physiology and ABA. *Abscisic acid, physiology and biochemistry*. Eds: Davies WJ, Jones HG. BIOS Scientific Publishers, Oxford. 63-79.
- Hartung W, Peuke AD, Davies WJ** (1999) Abscisic acid – a hormonal long-distance stress signal in plants under drought and salt stress. *Handbook of plant and crop stress*. Ed. Mohammad Pessarakli, Marcel Dekker Inc, New York.
- Hartung W, Sauter A, Hose E** (2002) Abscisic acid in the xylem: where does it come from, where does it go to? *Journal of Experimental Botany*, 53, 366, 27-32.
- Hartung W, Sauter A, Turner NC, Fillery I, Heilmeier H** (1996) Abscisic acid in soils: What it is function and which factors and mechanisms influence its concentration. *Plant and Soil* 184, 105-110.
- Hartung W, Turner NC** (1997) Abscisic acid relations in stressed roots. *Biology of Root Formation and Development*. Eds. Altman and Waisel, Plenum Press, New York.
- Hartung W, Wilkinson S, Davies WJ** (1998) Factors that regulate abscisic acid concentrations at the primary site of action at the guard cell. *Journal of Experimental Botany* 49, Special issue, 361-367.
- Hartung W, Zhang J, Davies WJ** (1994) Does abscisic acid play a stress physiological role in maize plants growing in heavily compacted soil? *Journal of Experimental Botany* 45, 271, 221-226.
- Hasegawa PM, Bressan RA, Zhu J-K, Bohnert HJ** (2000) Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology* 51, 463-499.
- Henzler T, Waterhouse RN, Smyth AJ, Carvajal M, Cooke DT, Schäffner AR, Steudle E, Clarkson DT** (1999) Diurnal variations in hydraulic conductivity

and root pressure can be correlated with the expression of putative aquaporins in the roots of *Lotus japonicus*. *Planta* 210, 50-60.

- Hiron RWP, Wright STC** (1973) The role of endogenous abscisic acid in the response of plants to stress. *Journal of Experimental Botany* 24, 769-781.
- Hogh-Jensen H, Schjoerring JK, Soussana JF** (2002) The influence of phosphorus deficiency on growth and nitrogen fixation of white clover plants. *Annals of Botany* 90, 745-753.
- Holleman AF, Wiberg N** (1995) Lehrbuch der anorganischen Chemie. 101. Auflage, de Gruyter-Verlag, Berlin, New York.
- Hose E** (2000) Untersuchungen zum radialen Abscisinsäure- und Wassertransport in Wurzeln von *Helianthus annuus* L. und *Zea mays* L. *Dissertation*. Universität Würzburg.
- Hose E, Clarkson DT, Steudle E, Schreiber L, Hartung W** (2001) The exodermis: a variable apoplastic barrier. *Journal of Experimental Botany* 52, 365, 2245-2264.
- Hwang SY, VanToai TT** (1991) Abscisic acid induces anaerobiosis tolerance in corn. *Plant Physiology* 97, 593-597.
- Jackson MB, Davies WJ, Else MA** (1996) Pressure-flow relationships, xylem solutes and root hydraulic conductance in flooded tomato plants. *Annals of Botany* 77, 17-24.
- Jeschke WD** (1977) K^+ - Na^+ -exchange and selectivity roots: effect of Na^+ on the Na^+ fluxes. *Journal of Experimental Botany* 28, 1289-1305.
- Jeschke WD, Atkins CA, Pate JS** (1985) Ion circulation via phloem and xylem between root and shoot of nodulated white lupin. *Journal of Plant Physiology* 117, 319-330.
- Jeschke WD, Hartung W** (2000) Root-shoot interactions in mineral nutrition. *Plant and Soil* 226, 57-69.
- Jeschke WD, Holobradá M, Hartung W** (1997a) Growth of *Zea mays* L. plants with their seminal roots only. Effects on plant development, xylem transport, mineral nutrition and the flow and distribution of abscisic acid (ABA) as a possible shoot to root signal. *Journal of Experimental Botany* 48, 311, 1229-1239.

- Jeschke WD, Kirkby EA, Peuke AD, Pate JS, Hartung W** (1997b) Effects of P deficiency on assimilation and transport of nitrate and phosphate in intact plants of castor bean (*Ricinus communis* L.). *Journal of Experimental Botany* 48, 75-91.
- Jeschke WD, Peuke AD, Pate JS, Hartung W** (1997c) Transport, synthesis and catabolism of abscisic acid (ABA) in intact plants of castor bean (*Ricinus communis* L.) under phosphate deficiency and moderate salinity. *Journal of Experimental Botany*, 48, 314, 1737-1747.
- Kaiser G, Weiler EW, Hartung W** (1985) The intracellular distribution of abscisic acid in mesophyll cells – the role of the vacuole. *Journal of Plant Physiology* 119, 237-145.
- Karmoker JL, Clarkson DT, Saker LR, Rooney JM, Purves JV** (1991) Sulphate deprivation depresses the transport of nitrogen to the xylem and the hydraulic conductivity of barley (*Hordeum vulgare* L.) roots. *Planta* 185, 269-278.
- Karahara I, Ikeda A, Kondo T, Uetake Y** (2004) Development of the casparian strip in primary roots of maize under salt stress. *Planta* 219, 1, 41-47.
- Kefu Z, Munns R, King RW** (1991) Abscisic acid levels in NaCl-treated barley, cotton and saltbush. *Australian Journal of Plant Physiology* 18, 17-24.
- Khamis S, Chaillou S, Lamaze T** (1990) CO₂ assimilation and partitioning of carbon in maize plants deprived of orthophosphate. *Journal of Experimental Botany* 41, 1619-1625.
- Lachno DR, Baker DA** (1986) Stress induction of abscisic acid in maize roots. *Physiologia Plantarum* 68, 215-221.
- Lillie, Conn** (1977) RD Biological stains.
- López-Bucio J, Cruz-Ramírez A, Herrera-Estrella L** (2003) The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Current Opinion in Plant Biology* 6, 280-287.
- Lynch JP** (1995) Root architecture and plant production. *Plant Physiology* 109, 7-13.
- Lynch J, Brown KINT** (1997) Ethylene and plant responses to nutritional stress. *Physiologia Plantarum* 100, 613-619.

- Maathuis FJM, Filatov V, Herzyk P, Krijger GC, Axelsen KB, Chen S, Green BJ, Li Y, Madagan KL, Sánchez-Fernández R, Forde BG, Palmgren MG, Rea PA, Williams LE, Sanders D, Amtmann A** (2003) Transcriptome analysis of root transporters reveals participation of multiple gene families in the response to cation stress. *The Plant Journal* 35, 675-692.
- Maathuis FJM, Sanders D** (1996) Mechanisms of potassium absorption by higher plant roots. *Physiologia Plantarum* 96, 158-168.
- Maathuis FJM, Verlin D, Smith FA, Sanders D, Fernández JA, Walker NA** (1996) The physiological relevance of Na⁺-coupled K⁺-transport. *Plant Physiology* 112, 1609-1616.
- Maggio A, Joly RJ** (1995) Effects of mercuric chloride on the hydraulic conductivity of tomato root systems: evidence for a channel-mediated pathway. *Plant Physiology* 109, 331-335.
- Marschner H** (1995) Mineral nutrition in higher plants. 2nd edition. Academic Press Inc., San Diego.
- Martinez-Ballesta MDC, Martinez V, Carvajal M** (2000) Regulation of water channel activity in whole roots and in protoplasts from roots of melon plants grown under saline conditions. *Australian Journal of Plant Physiology* 27, 685-691.
- Maurel C, Kado RT, Guern J, Chrispeels MJ** (1995) Phosphorylation regulates the water channel activity of the seed-specific aquaporin alpha-tip. *EMBO Journal* 14, 3028-3035.
- Mengel K, Arneke WW** (1982) Effect of potassium on the water potential, the osmotic potential, and cell elongation in leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Physiologia Plantarum* 54, 402-408.
- Milborrow BV** (1967) The identification of (+)-abscisin II in plants and measurement of its concentration. *Planta* 76, 93-113.
- Milborrow BV** (2001) The pathway of biosynthesis of abscisic acid in vascular plants: a review of the present state of knowledge of ABA biosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 52, 359, 2245-1164.

- Mittelheuser CJ, van Steveninck RFM** (1969) Stomatal closure and inhibition of transpiration induced by (RS)-abscisic acid. *Nature* 221, 281-282.
- Mollier A, Pellerin S** (1999) Maize root system growth and development as influenced by phosphorus deficiency. *Journal of Experimental Botany* 50, 333, 487-497.
- Munns R** (1993) Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell and Environment* 16, 15-24.
- North GB, Nobel PS** (1991) Changes in hydraulic conductivity and anatomy caused by drying and rewetting roots of *Agave desertii* (Agavaceae). *American Journal of Botany* 78, 906-915.
- Okhuma K, Lyon JL, Addicott FT, Smith OE** (1963) Abscission II, an accelerating substance from young cotton fruit. *Science* 142, 1592-1593.
- Parry AD, Horgan R** (1992) Abscisic acid biosynthesis in roots. *Planta* 187, 185-191.
- Pastor A, Cortadellas N, Alegre L** (1995) Immunolocalisation of abscisic acid by monoclonal antibodies in *Lavandula stoechas* L. leaves. *Plant Growth Regulation* 16, 287-292.
- Pastor A, Lopéz-Carbonell M, Alegre L** (1999) Abscisic acid immunolocalisation and ultrastructural changes in water-stressed lavender (*Lavandula stoechas* L.) plants. *Physiologia Plantarum* 105, 272-279.
- Pei ZM, Ward JM, Schroeder JI** (1999) Magnesium sensitizes slow vacuolar channels to physiological cytosolic calcium and inhibits vacuolar channels in fava bean guard cell vacuoles. *Plant Physiology*. 121, 977-986.
- Peterson CA** (1987) The exodermal Casparian band of onion roots blocks the apoplastic movement of sulphate ions. *Journal of Experimental Botany* 38, 197, 2068-2081.
- Peterson CA** (1988) Exodermal Casparian bands: their significance for ion uptake by roots. *Physiologia Plantarum* 72, 204-208.
- Peterson CA** (1989) Significance of the exodermis in root function. *Structural and functional aspects of transport in roots*. Eds. B.C. Loughman et al., 35-40.

- Peterson CA, Murrmann M, Steudle E** (1993) Location of the major barriers to water and ion movement in young corn roots of *Zea mays* L. *Planta* 190, 127-136.
- Peuke AD, Jeschke WD, Hartung W** (1994) The uptake and flow of C, N and ions between roots and shoots in *Ricinus communis* L. III. Long-distance transport of abscisic acid depending on nitrogen nutrition and salt stress. *Journal of Experimental Botany* 45, 741-747.
- Peuke AD, Jeschke WD, Hartung W** (2002) Flows of elements, ions and abscisic acid in *Ricinus communis* and site of nitrate reduction under potassium limitation. *Journal of Experimental Botany* 53, 367, 241-250.
- Peyrano G, Taleisnik E, Quiroga M, de Forchetti SM, Tigier H** (1997) Salinity effects on hydraulic conductance, lignin content and peroxidase activity in tomato roots. *Plant Physiology and Biochemistry* 35, 387-393.
- Philip JR** (1958) Propagation of turgor and other properties through cell aggregations. *Plant Physiology* 33, 271-274.
- Pirson A, Seidel F** (1950) Zell- und stoffwechselphysiologische Untersuchungen an der Wurzel von *Lemna minor* L. unter Berücksichtigung von Kalium- und Kalziummangel. *Planta* 38: 431-473.
- Plénet D, Etchebest S, Mollier A, Pellerin S** (2000) Growth analysis of maize field crops under phosphorus deficiency. *Plant and Soil* 223, 117-130.
- Quintero JM, Fournier JM, Ramos J, Benlloch M** (1998) K⁺ status and ABA affect both exudation rate and hydraulic conductivity in sunflower roots. *Physiologia Plantarum* 102, 279-284.
- Radin JW** (1990) Responses of transpiration and hydraulic conductance to root temperature in nitrogen- and phosphorus-deficient cotton seedlings. *Plant Physiology* 92, 855-857.
- Radin JW, Ackerson RC** (1981) Water relations of cotton plants under nitrogen deficiency. III. Stomatal conductance, photosynthesis, and abscisic acid accumulation during drought. *Plant Physiology* 67, 115-119.

- Radin JW, Boyer JS** (1982) Control of leaf expansion by nitrogen nutrition in sunflower plants: role of hydraulic conductivity and turgor. *Plant Physiology* 69, 771-775.
- Radin JW, Eidenbock MP** (1984) Osmotic hydraulic conductance as a factor limiting leaf expansion of phosphorus-deficient cotton plants. *Plant Physiology* 75, 372-377.
- Radin JW, Matthews MA** (1989) Water transport properties of cortical cells in roots of nitrogen- and phosphorus-deficient cotton seedlings. *Plant Physiology* 89, 264-268.
- Raghothama KG** (1999) Phosphate acquisition. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50, 665-693.
- Raghothama KG** (2000) Phosphate transport and signalling. *Current Opinion in Plant Biology* 3, 182-187.
- Reinbott TM, Blevins DG** (1999) Phosphorus nutritional effects on root hydraulic conductance, xylem water flow and flux of magnesium and calcium in squash plants. *Plant and Soil* 209, 263-273.
- Reinhardt DH, Rost TL** (1995) Salinity accelerates endodermal development and induces an exodermis in cotton seedling roots. *Environmental and Experimental Botany* 35, 563-574.
- Roberts SK** (1998) Regulation of K⁺ channels in maize roots by water stress and abscisic acid. *Plant Physiology* 116, 145-153.
- Roberts SK, Snowman BN** (2000) The effects of ABA on channel-mediated K⁺ transport across higher plant roots. *Journal of Experimental Botany* 51, 350, 1585-1594.
- Saab IN, Sharp RE, Pritchard J, Voetberg GS** (1990) Increased endogenous abscisic acid maintains primary root growth and inhibits shoot growth of maize seedlings at low water potentials. *Plant Physiology* 93, 1329-1336.
- Sachs MM, Freeling M, Okimoto R** (1980) The anaerobic proteins of maize. *Cell* 20, 761-767.

- Schreiber L, Hartmann K, Skrabs M, Zeier J** (1999) Apoplastic barriers in roots: chemical composition of endodermal and hypodermal cell walls. *Journal of Experimental Botany* 50, 337, 1267-1280.
- Skinner PW, Matthews MA** (1990) A novel interaction of magnesium translocation with the supply of phosphorus to roots of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Plant, Cell and Environment* 13, 821-826.
- Slovik S, Daeter W, Hartung W** (1995) Compartemental redistribution and long-distance transport of abscisic acid (ABA) in plants as influenced by environmental changes in the rhizosphere – a biomathematical model. *Journal of Experimental Botany* 46, 881-894.
- Sossountzov L, Sotta B, Maliney R, Sabbagh I, Miginiac E** (1986) Immunoelectron-microscopy localization of abscisic acid with colloidal gold on lowricryl-embedded tissues of *Chenopodium polyspermum* L. *Planta* 168, 471-481.
- Steudle E** (1989) Water flow in plants and its coupling to other processes; an overview. *Methods of Enzymology*, 174, Biomebranes part U: cellular and subcellular transport: eukaryotic (nonepidermal) cells. Eds. S. Fleischer and B. Fleischer. Academic Press, New York, 183-225.
- Steudle E** (1997) Water transport across plant tissue: Role of water channels. *Biology of the Cell* 89, 259-273.
- Steudle E** (2000) Water uptake by plant roots: an integration of views. *Plant and Soil* 226, 45-56.
- Steudle E** (2000) Water uptake by roots: effects of water deficit. *Journal of Experimental Botany* 51, 350, 1531-1542.
- Steudle E, Frensch J** (1996) Water transport in plants: role of the apoplast. *Plant and Soil* 187, 67-79.
- Steudle E, Henzler T** (1995) Water channels in plants: do basic concepts of water transport change? *Journal of Experimental Botany* 46, 290, 1067-1076.
- Steudle E, Peterson CA** (1998) How does water get through roots? *Journal of Experimental Botany* 49, 775-788.

- Steudle E, Zimmermann HM, Henzler T** (1999) Water uptake by plant roots: modes of regulation. Genetic improvement of rice for water-limited environments. Eds. Ito O, O'Toole J, Hardy B. Manila (Philippines): International Rice Research Institute. 353 p, 73-88.
- Subbaiah CC, Sachs MM** (2001) Altered patterns of sucrose synthase phosphorylation and localization precede callose induction and root tip death in anoxic maize seedlings. *Plant Physiology* 125, 585-594.
- Subbaiah CC, Sachs MM** (2000) Maize cap 1 encodes a novel SERCA-type calcium ATPase with tze calmodulin-binding domain. *Journal of Biological Chemistry* 275, 21678-21687.
- Subbaiah CC, Sachs MM** (2003) Molecular and cellular adaptations of maize to flooding stress. *Annals of Botany* 91, 119-127.
- Taiz L, Zeiger E** (1998) *Plant Physiology*, 2nd ed., Sinauer Associates, Inc.
- Tyerman SD, Bohnert HJ, Maurel C, Steudle E, Smith JAC** (1999). Plant aquaporins: their molecular biology, biophysics and significance for plant water relations. *Journal of Experimental Botany* 50, 1055-1071.
- Véry AA, Sentenac H** (2003) Molecular mechanisms and regulation of K⁺ transport in higher plants. *Annual Review of Plant Biology* 54, 575-603.
- Veselov D, Langhans M, Hartung W, Aloni R, Feussner I, Götz C, Veselova S, Schlomski S, Dickler C, Bächmann K, Ullrich CI.** 2003. Development of *Agrobacterium tumefaciens* C58-induced plant tumors and impact on host shoots are controlled by a cascade of jasmonic acid, auxin, cytokinin, ethylene, and abscisic acid. *Planta* 216, 512-522.
- Vitha S, Baluška F, Mews M, Volkintann D.** 1997. Immunofluorescence detection of F-actin on low melting point wax sections from plant tissue. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 45, 89-95.
- Wan X, Steudle E, Hartung W** (2004) Reversible inhibition of water channels (aquaporins) in cortical cells of young corn roots by mechanical stimuli (pressure pulses): effects of ABA and HgCl₂. *Journal of Experimental Botany* 55, 396, 411-422.

- Weiler EW** (1986) Plant hormone immunoassays based on monoclonal and polyclonal antibodies. In: Linskens HF, Jackson JF. *Modern methods of plant analysis* 4. Springer Verlag, Berlin 1-17
- White PJ, Broadley MR** (2003) Calcium in plants. *Annals of Botany* 92, 487-511.
- Wissuwa M** (2003) How do plants achieve tolerance to phosphorus deficiency? Small causes with big effects. *Plant Physiology* 133, 1947-1958.
- Wolf O, Jeschke WD, Hartung W** (1990) Long distance transport of abscisic acid in salt stressed *Lupinus albus* plants. *Journal of Experimental Botany* 41, 593.
- Wright STC, Hiron RWP** (1969) (+)-Abscisic acid, the growth inhibitor induced in detached wheat leaves by a period of wilting. *Nature* 224, 719-720.
- Zeevaart JAD, Heath TG, Gage DA** (1989) Evidence for a universal pathway of abscisic acid biosynthesis in higher plants from ^{18}O incorporation patterns. *Plant Physiology* 91. 1594-1601.
- Zeier J** (1998) Pflanzliche Abschlussgewebe der Wurzel: Chemische Zusammensetzung und Feinstruktur der Endodermis in Abhängigkeit von Entwicklung und äußeren Einflüssen. *Dissertation*. Universität Würzburg.
- Zhang J, Davies WJ** (1987) ABA in roots and leaves of flooded pea plants. *Journal of Experimental Botany* 38, 649-659.
- Zhang J, Davies WJ** (1989) Abscisic acid produced in roots may enable the plant to measure the water status of the soil. *Plant, Cell and Environment* 12, 73-81.
- Zhang J, Schurr U, Davies WJ** (1987) Control of stomatal behaviour by abscisic acid which apparently originates in the roots. *Journal of Experimental Botany* 38, 1174-1181.
- Zimmermann HM, Steudle E** (1998) Apoplastic transport across young maize roots: effect of the exodermis. *Planta* 206, 7-19.
- Zimmermann HM, Hartmann K, Schreiber L, Steudle E** (2000) Chemical composition of apoplastic transport barriers in relation to radial hydraulic conductivity of corn roots (*Zea mays* L.). *Planta* 210, 302-311.

Zimmermann S, Sentenac H (1999) Plant ion channels: from molecular structures to physiological functions. *Current Opinion in Plant Biology* 2, 477-482.

Publikationsliste

Schraut D, Ullrich CI, Hartung W (2004) Lateral ABA transport in maize roots (*Zea mays*): visualization by immunolocalisation. *Journal of Experimental Botany* 55, 1635-1641.

Schraut D, Heilmeier H, Hartung W (2004) Radial transport of water and abscisic acid (ABA) in roots of *Zea mays* under conditions of nutrient deficiency. *Journal of Experimental Botany* (angenommen).

Schraut D, Jiang F, Hartung W (2004) Physiology of abscisic acid (ABA) in roots under stress. *Australian Journal of Agricultural Research* (eingereicht).

Posterpräsentationen

Zhu C, Affenzeller M, Schraut D, Hose E, Hartung W, Schäffner AR (2002) Aquaporins and root water uptake. Botanikertagung Freiburg, September 2002.

Schraut D, Hartung W (2003) Immunolocalisation of ABA in maize roots: the role of apoplastic barriers. *Comparative Biochemistry and Physiology* 134 (Suppl.) S165.

Zhu C, Schraut D, Hose E, Hartung W, Schäffner AR (2003) Maize aquaporin expression and regulation of hydraulic conductivity by ABA. *Molekularbiologie der Pflanze*, Dabringhausen 2003.

Schraut D, Hartung W (2004) Radial transport of abscisic acid (ABA) in maize roots under conditions of nutrient deficiency. *Comparative Biochemistry and Physiology* 137 (Suppl.) S213.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Daniela Maria Schraut
Anschrift	Allesgrundweg 20, 97218 Gerbrunn
Geburtsdatum	21.03.1976
Geburtsort	Werneck
Familienstand	ledig
Staatsangehörigkeit	deutsch

Schulausbildung

1982-1986	Grundschule Erbshausen-Sulzwiesen
1986-1996	Siebold-Gymnasium Würzburg
1996	Allgemeine Hochschulreife

Studium

1996-2001	Studium der Lebensmittelchemie an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg
2001	Erstes Staatsexamen
2001-2004	Promotionsstudium bei Prof. Dr. W. Hartung am Lehrstuhl für Botanik I, Julius-von-Sachs-Institut für Biowissenschaften der Universität Würzburg

Gerbrunn, 16.10.2004

Danksagung

Am Ende dieser Arbeit möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. W. Hartung für die Vergabe des interessanten und vielfältigen Themas und für die freie und angenehme Arbeitsatmosphäre.

Bei Frau Prof. Dr. Cornelia Ullrich-Eberius und Dr. Markus Langhans möchte ich mich dafür bedanken, dass ich die Immunolokalisierung erlernen durfte.

Bei Herrn Robin Wacker (Universität Würzburg) für die Hilfe am Mikrotom und den Anfärbungen von Suberin.

Herrn PD Dr. Hermann Heilmeyer danke ich für die statistischen Auswertungen meiner Ergebnisse.

Herrn Prof. Dr. E. Weiler danke ich für die Überlassung von Immuno-Chemikalien.

Bei Dr. Anton Schöffner und C. Zhu möchte ich mich für die Diskussionsbereitschaft, vor allem am Ende meiner Arbeit, bedanken.

Ich möchte mich bei Bianca Röger und den Auszubildenden unserer Arbeitsgruppe, vor allem bei Valentina Ilusev, für ihre tatkräftige Unterstützung im Labor bedanken.

Bei Elfriede Reisberg bedanke ich mich für die prompte CHN- und ICP-Analyse.

Fan Jiang danke ich für die stets freundschaftliche Atmosphäre.

Bei meinem Freund Alexander Beck bedanke ich mich für die Korrektur der Arbeit, für seine Unterstützung, seine Hilfsbereitschaft und seinen Beistand auch in schwierigen Zeiten.

Bei meiner Mutter und Bernd, bei meiner Schwester Alexandra und ihrer Familie und bei meinen Großeltern möchte ich mich für die Unterstützung und die stets aufmunterten Worte bedanken.

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation in allen Teilen selbst angefertigt und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Weiterhin erkläre ich, dass die vorliegende Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form einer anderen Universität mit dem Ziel vorgelegt worden ist, einen akademischen Titel zu erwerben.

Hiermit bewerbe ich mich erstmals um den Doktorgrad der Naturwissenschaften der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg.

Gerbrunn, den 16.10.2004

Daniela Schraut