

**UNTERSUCHUNGEN ZUM MECHANISMUS DES
WASSERTRANSPORTES IN HÖHEREN PFLANZEN MIT HILFE DER
DRUCKMEßSONDEN- UND NMR-BILDGEBUNGSTECHNIK**

DISSERTATION ZUR ERLANGUNG DES
NATURWISSENSCHAFTLICHEN DOKTORGRADES
DER BAYERISCHEN JULIUS-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT
WÜRZBURG

VORGELEGT VON
NICOLE WISTUBA
AUS GÜNZBURG

WÜRZBURG 2000

Eingereicht am:

Mitglieder der Promotionskommission:

Vorsitzender: Prof. Dr. rer. nat. W. Goebel

Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. U. Zimmermann

Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. A. Haase

Tag des Promotionskolloquiums:

Doktorurkunde ausgehändigt am:

MEINEN ELTERN

1	Einleitung.....	1
2	Material und Methoden	5
2.1	Pflanzenmaterial.....	5
2.1.1	<i>Epipremnum aureum</i>	5
2.1.2	<i>Nicotiana tabacum</i>	7
2.1.3	<i>Myrothamnus flabellifolia</i>	8
2.2	Mikroskopie	10
2.3	Die Druckmeßsonden.....	11
2.3.1	Aufbau und Funktionsweise.....	11
2.3.2	Technische Voraussetzungen	12
2.3.3	Turgordruckmessungen	13
2.3.4	Xylemdruckmessung.....	13
2.4	Messung von Umweltparametern und Datenaufnahme.....	14
2.5	Flußmessung mit Hilfe der NMR-Bildgebung	14
2.5.1	NMR-Bildgebung.....	15
2.5.2	Flußmessung.....	16
2.5.3	NMR-Mikroskop und Klimakammer	17
2.6	Picoliterosmometer	18
3	Ergebnisse.....	20
3.1	Längenabhängige Druckgradienten- welchen Einfluß hat die Schwerkraft?.....	20
3.1.1	Probleme bei Xylemdruckmessungen an <i>E.aureum</i>	20
3.1.2	Diurnale Xylem- und Turgordruckgradienten.....	22
3.1.3	Der osmotische Druck der Zellen.....	30
3.2	Simultane und parallele Fluß-Druckmessungen an wassergesättigten und gestreßten pflanzen.....	31
3.2.1	Simultane Fluß-Druckmessungen an <i>E. aureum</i>	32
3.2.2	Fluß- und Druckmessungen an <i>Nicotiana tabacum</i> unter Trockenstreß.....	36
3.3	<i>Myrothamnus flabellifolia</i> - Modellpflanze für Wiederbefüllung nach Kavitationen?.....	41
3.3.1	Rehydratisierung von trockenen Zweigen.....	41
3.3.1.1	Wasseraufstieg in aufrechten Zweigen	42
3.3.1.2	Radiale Befüllungsmuster	44
3.3.1.3	Wasseraufnahmeraten und Transpiration.....	45
3.3.1.4	Farbstoffaufstieg in aufrechten Zweigen	46

3.3.1.5	Einfluß des osmotischen Druckes auf den Wasseraufstieg in aufrechten Zweigen.....	47
3.3.1.6	Wasseraufstieg in aufrechten, geschälten Zweigen	48
3.3.1.7	Einfluß von hydrostatischem Druck auf die Befüllung.....	49
3.3.1.8	Temperaturabhängigkeit der Wiederbefüllung	51
3.3.1.9	Wasseraufstieg in horizontal orientierten Zweigen	52
3.3.1.10	Wasseraufstieg in umgedrehten Zweigen.....	52
3.3.1.11	Aufstieg von organischen Lösungsmitteln in trockenen Zweigen	52
3.3.1.12	Theoretische Überlegungen zur Datenauswertung und Beurteilungen der experimentellen Ergebnisse.....	54
3.4	Untersuchungen zum Wassertransport ergründer <i>Myrothamnus</i> Pflanzen.....	58
3.4.1	Xylemdruckmessungen an intakten Pflanzen	58
3.4.2	Turgordruck und osmotischer Druck der Zellen	62
4	Diskussion	64
5	Zusammenfassung	84
6	Summary.....	87
7	Literaturverzeichnis	89
8	Anhang.....	100

1 EINLEITUNG

Die Frage, wie Wasser von der Wurzel durch das Xylem bis zur Spitze hoher Bäume transportiert wird, hat Pflanzenphysiologen wie auch Physiker seit langem beschäftigt. Die verschiedensten Theorien wurden entwickelt (Sachs, 1865, Pfeffer, 1877, Ursprung & Blum, 1916, Godlewski, 1884), bis sich zu Anfang des letzten Jahrhunderts die von Dixon & Joly, (1894) und Askenasy, (1895) formulierte sog. Kohäsionstheorie durchsetzte. Diese Theorie besagt, daß durch die Transpiration und dem damit verbundenen Wasserverlust eine Zugspannung in der Wasserphase des Xylems entsteht, über die das Wasser gegen die Schwerkraft nach oben gezogen wird. Diese Theorie war zunächst nicht unumstritten, da sie beinhaltete, daß das Wasser in dem hydraulisch zusammenhängenden Leitungsbahnssystem von hohen Bäumen unter einem negativen Druck stehen sollte. Eine Wassersäule von 10 m übt einen Druck von 0.1 MPa aus, so daß der Druck im Xylem eines 100 m hohen Baumes -1 MPa bzw., wenn Leitungswiderstände mit in die Betrachtungen eingeschlossen werden, etwa -2 MPa betragen sollte. Die Kritik wurde aber leiser, als Renner (1915) in seinem berühmten Vakuumpumpe/Zweig Experiment nachweisen konnte, daß die 'Saugkraft' der Blätter die 'Saugkraft' einer Vakuumpumpe übertrifft. Die von Renner anfänglich publizierten Werte für den negativen Druck im Xylem von abgeschnittenen Blättern und Zweigen erwiesen sich allerdings als falsch. 1925 publizierte Renner korrigierte Werte, die zwischen +0.05 MPa und etwa -0.9 MPa lagen. Diese korrigierten Werte von Renner haben keine Aufnahme in die Lehrbücher gefunden. Vielmehr findet man heute weit größere negative Druckwerte (bis zu -17 MPa) in der Literatur. Diese Werte wurden mit der von Scholander et al. (1965) publizierten Druckkammermethode gemessen. Bei dieser Methode wird ein abgeschnittenes Blatt unter Gasdruck komprimiert, bis Wasser an der unter Atmosphärendruck stehenden Schnittstelle heraustritt. Der dafür notwendige Gasdruck wird numerisch dem Xylemdruck gleichgesetzt, der vor Abschneiden im Xylem geherrscht hat.

Ogleich in den letzten dreißig Jahren viele kritische Arbeiten erschienen sind, in denen die hohen, mit der Scholander-Technik gemessenen negativen Drücke bezweifelt wurden, wird heute noch von vielen Lehrbüchern die Existenz von hohen negativen Druckwerten im Xylem Höherer Pflanzen als richtig angesehen.

Vom thermodynamischen Standpunkt aus ist die Kohäsionstheorie sicherlich richtig, da negative Druckwerte von -17 MPa und größer in einer flüssigen (und festen) Phase möglich sind. Der Druck hängt nicht nur vom thermischen Term, dP/dT , ab, sondern auch von dem Volumenterm der inneren Energie, dU/dV , ($P = T (dP/dT)_V - (dU/dV)_T$). Bei Gasen ist dU/dV gleich Null, bei Flüssigkeiten (und Festkörpern) kann dagegen dieser Term aufgrund der Kohäsionskräfte zwischen den Wassermolekülen (siehe Briggs, 1950) Werte annehmen, die den Wert des thermischen Terms überschreiten. Hohe negative Druckwerte in einer flüssigen Phase sind andererseits recht unwahrscheinlich, da dieser Zustand metastabil ist. Der Gleichgewichtsdampfdruck von Wasser liegt nahe bei Vakuum ($+0.0023$ MPa für 20°C). Daher kommt es bei kleinsten Erschütterungen bzw. bei Vorhandensein von 'Keimen', die die Gasblasenbildung erleichtern, zu einer Kavitation, d.h. zu einer schlagartigen Verdampfung des Wassers. Analog zum Siedeverzug steigt die Gefahr einer Kavitation, je größer der negative Druck ist und je schwächer die Adhäsionskräfte zwischen den Wassermolekülen und der Wand sind. Mauro (1981), Smith (1994), Balling, Zimmermann, et al. (1988) und andere haben in Modellexperimenten nachgewiesen, daß (in Übereinstimmung mit den Daten von Renner) nur negative Drücke bis maximal -0.4 MPa für längere Zeit in einer Wasserphase existieren können, vor allem dann, wenn die Wand der Gefäße gut benetzbar ist, was sicherlich für das Xylem aufgrund seiner partiell hydrophoben Wandeigenschaften nicht richtig ist (Scott, 1966, Laschimke & Laschimke, 1998). Negative Druckwerte in der Größenordnung von -1 MPa konnten in diesen Modellexperimenten nur für den Bruchteil einer Sekunde verifiziert werden.

Experimentell konnte vor 10 Jahren erstmals durch Balling und Zimmermann (1990) mit Hilfe einer Druckmeßsondentechnik die Existenz von subatmosphärischen oder negativen Druckwerten in der Größenordnung von $+0.05$ bis -0.6 MPa im Xylem **intakter, transpirierender** Pflanzen nachgewiesen werden.

Die von diesen Autoren entwickelte minimal-invasive Xylemdruckmeßsonde basiert auf der Turgordruckmeßsonde von Zimmermann, Råde & Steudle (1969). Sie wurde so modifiziert, daß sie in ein einzelnes Gefäß des Leitungsbahnsystems, das unter negativem Druck steht, eingeführt werden kann, ohne daß es zu einer Kavitation oder zum Auftreten eines Lecks

kommt. Inzwischen liegen umfangreiche Untersuchungen mit dieser Xylemdruckmeßsondentechnik an Pflanzen unter verschiedenen Transpirationsbedingungen und auch für hohe Bäume vor. Ebenfalls sind Messungen publiziert, in denen die Xylemdruckmeßsonde in Kombination mit der Scholandertechnik eingesetzt wurde (Balling und Zimmermann, 1990; Melcher et al., 1998; Wei et al., 1999). Die Ergebnisse zeigen, daß (1) der Gasdruck in der Scholanderkammer nur partiell auf das Xylem übertragen wird (so daß es zu einer erheblichen Überschätzung des Xylemdrucks kommt), daß (2) Druckwerte unter -0.6 MPa - selbst in sehr welken Pflanzen - nicht auftreten und daß (3) im Xylem von Blättern von 30 m hohen Bäumen nur negative Druckwerte bis maximal -0.2 MPa beobachtet werden konnten (Zimmermann, Bentrup & Haase, 1995), die mit der Kohäsionstheorie nicht im Einklang sind.

Beim heutigen Stand der Forschung ist es klar, daß neben der Zugspannung auch andere Kräfte eine Rolle für den Wasseraufstieg in hohen Bäumen beteiligt sind. Es gibt genügend Hinweise dafür, daß osmotische Kräfte im Xylem und im Gewebe, elektrische Potentialgradienten und Grenzflächenkräfte im Xylem, Kapillarkräfte, konvektive Kräfte etc. pflanzenspezifisch und unter verschiedenen diurnalen und saisonalen Bedingungen eine Rolle spielen können (sog. 'Multi Force Theory'; siehe Benkert et al., 1995; Thürmer et al., 1999, Schneider et al., 1999, Schneider, Zhu & Zimmermann, 1997, Thürmer, 1998). Ebenso ist es klar geworden, daß neben der Messung dieser Kräfte auf dem Niveau einzelner Xylemelemente und auf dem Niveau einzelner Gewebezellen auch die Flüsse auf dem Niveau einzelner Xylemelemente bzw. einzelner Leitbündel sowie im Phloem gemessen werden müssen, um zu einer detaillierteren Beschreibung der komplizierten Fluß-Kraft-Verhältnisse in dem (hydraulisch gekoppelten) Xylem-Gewebe-System zu kommen.

Flußmessungen an intakten und transpirierenden Pflanzen auf dem Niveau einzelner Leitbündel sind in den letzten Jahren durch enorme technische Weiterentwicklungen der NMR-Bildgebung durch Prof. Dr. Haase und Mitarbeitern möglich geworden. Heute kann man nicht-invasiv Flußgeschwindigkeiten innerhalb von wenigen Minuten in den Xylembahnen (Kuchenbrod et al., 1996, Rokitta, Zimmermann & Haase, 1997) wie auch in den Assimilatleitbahnen, dem Phloem (Rokitta et al., 1999), messen, so daß dynamische, durch die Transpiration hervorgerufene Änderungen in den Flußgeschwindigkeiten akkurat erfaßt werden können. Derartige Messungen sind mit der Hitzepulsmethode (die nur Durchschnittswerte mißt, siehe Zimmermann & Brown, 1980) oder mit der Farbstoffinjektionsmethode (Benkert, Balling & Zimmermann, 1991) nicht möglich.

Ziel dieser Arbeit war es, vier Fragen zum Wasserfernttransport, die sich aufgrund der bisherigen Untersuchungen, unter Verwendung der nicht- bzw. minimal-invasiven Methoden der NMR-Bildgebungs- und Druckmeßsondentechnik ergeben haben, zu beantworten:

- 1) Sind längenabhängige Gradienten im Druck transpirations- und/oder schwerkraftsinduziert?
- 2) Bestimmt die Transpirationsrate zusammen mit der Wasserversorgung über die Wurzel den Xylemdruck oder wird der Xylemdruck durch den hydrostatischen/osmotischen Druck der Gewebezellen bestimmt?
- 3) Welche der weiter oben aufgeführten Kräfte spielen neben der Zugspannung für den Wasserfernttransport von der Wurzel bis zum Apex einer Pflanze eine Rolle?
- 4) Wie können kavitierte oder leere Xylemgefäße wieder aufgefüllt werden?

Bedingt durch technische Limitationen der Methoden konnten diese grundlegenden Fragen nicht durch Messungen an einer einzigen Pflanzenspezies beantwortet werden. Vielmehr wurden drei verschiedene Spezies herangezogen. Die diurnale Ausbildung longitudinaler Xylem- und Turgordruckgradienten und die daraus resultierenden Flüsse wurden in Abhängigkeit von der Transpiration und der Schwerkraft an der Liane *Epipremnum aureum* untersucht. Die zur Verfügung gestandenen Exemplare dieser Liane waren bis zu 13 m lang, so daß simultane Xylem-/Turgordruck- sowie Flußmessungen möglich waren. Weiterhin wurden umfangreiche Versuche an *Myrothamnus flabellifolia*, einer südafrikanischen Auferstehungspflanze, durchgeführt, d.h. an einer Spezies, die an Standorten mit extremen Umweltbedingungen lebt und bei der das Befüllen leerer Xylemgefäße zur Überlebensstrategie gehört. Modellexperimente an trockengestreßten Tabakpflanzen (*Nicotiana tabacum*) ergänzten die Untersuchungen an der Liane und der Auferstehungspflanze.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 PFLANZENMATERIAL

2.1.1 *EPIPREMNUM AUREUM*

Untersucht wurden Topfpflanzen der Spezies *Epipremnum aureum* (goldgefleckte Efeute). Sie gehört zur Familie der Araceen (Aronstabgewächse) und ist einkeimblättrig (monokotyl). In der Natur kommt diese Lianenart im tropischen Regenwald vor. Dort wächst sie bevorzugt an großen Bäumen empor, wo es zu einer berührungsvermittelten Vergrößerung der Blattspreite kommt. Dies wird als Thigmomorphogenese (Steinitz & Hagiladi, 1987; Steinitz, Hagiladi, & Anav, 1992) bezeichnet. Die Efeute wächst auch als Bodendecker. In diesem Fall zeigt sie (wie auch die verwendeten Topfpflanzen) keine Thigmomorphogenese. Entscheidend für diese unterschiedlichen Lebensweisen ist die Fähigkeit der Pflanze, Haftwurzeln sowie Nodialwurzeln zu bilden, mit denen sie über die ganze Länge Wasser aus dem Boden aufnehmen kann. In asiatischen Ländern wird *Epipremnum aureum* als Naturheilmittel gegen Rheuma und Krebs in Form von Tee bzw. Suppe angewendet (Chen & Turner, 1998). Die in Deutschland erhältlichen Exemplare dieser beliebten Zimmerpflanze, die für die Messungen in dieser Arbeit verwendet wurden, stammen allerdings nicht aus dem Regenwald, sondern wurden in den Niederlanden kultiviert. Sie besitzen aufgrund der anderen Umweltbedingungen normalerweise weder Haft- noch Nodialwurzeln. Für längenabhängige Druckmessungen sowie simultane Xylemdrucksonden- und NMR-Flußmessungen wurden Pflanzen mit sehr langen Einzelsprossen von bis zu 13.7 m ausgewählt.

Der Sproß besteht aus einem inneren Zylinder mit einer großen Anzahl von Leitbündeln (Abb. 2 a), die zum Teil sehr große Xylemelemente (Radius $38 \pm 20 \mu\text{m}$; $n = 56$) beinhalten,

und einem äußeren Ring, der im Vergleich zur Fläche wenige Leitbündel mit kleinen Xylemelementen (Radius $18 \pm 8 \mu\text{m}$; $n = 23$) besitzt. Der Aufbau des Sprosses ähnelt dem einer Wurzel, da zwischen dem äußeren Ring und dem zentralen Zylinder eine Endodermis mit CASPARYschen Punkten zu finden ist. Diese Strukturelemente können mit Berberin-Sulfat nachgewiesen werden. Der Leitbündeltyp wird in der Literatur als einfach kollateral bezeichnet, da sich das Sklerenchym nur auf einer Seite befindet (Solereeder & Meyer, 1928). Diesem folgt das Phloem und schließlich das Xylem. Ein Kambium ist, wie es für eine monokotyledone Pflanze zu erwarten ist, nicht vorhanden. Die äußeren Leitbündel des inneren Zylinders sind mit dem Sklerenchym nach außen angeordnet, so daß ein 'innerer Sklerenchymring' ausgebildet wird. Die Zellen, die sich um die Leitbündel herumziehen, weisen eine große Anzahl von Chloroplasten auf, während die sich anschließenden Parenchymzellen wenige bis keine beinhalten. Auffällig sind die großen Gefäße im inneren Zylinder ohne Querwandversteifungen. Es könnte sich entweder um noch nicht fertig ausgebildete, oder um bereits ausgediente Gefäße handeln, wie es in der Literatur für andere Araceen beschrieben wurde (Solereeder & Meyer, 1928).

Anfärbung mit Alcianblau deutete in manchen Gefäßen auf die Existenz von Mucopolysacchariden hin, wobei es allerdings nicht sicher war, ob diese Gefäße wirklich leitend waren.

Die Fluß- sowie die meisten Xylem- und Turgordruckmessungen wurden im Laboratorium bzw. im Treppenhaus des Biozentrums der Universität Würzburg durchgeführt. Das Treppenhaus hat gegenüber dem Laboratorium den Vorteil, daß es eine große Fensterfront besitzt, und es dadurch möglich war, natürliche Tagesgänge im Xylem- und Turgordruck zu messen. Um Rückschlüsse aus diesen Messungen auf die Verhältnisse unter natürlichen (tropischen) Umweltbedingungen ziehen zu können, wurde der gesamte Meßaufbau (Xylemdruck- und Turgordruckmeßsonden) mit einigen Meßpflanzen auch an das Pflanzenphysiologische Institut der Universität Salzburg transportiert. Dort standen zwei Schaugewächshäuser zur Verfügung, die sowohl den gewünschten Umweltaforderungen entsprachen als auch den Vorteil boten, auf unterschiedlichen Höhen Druckmessungen durchführen zu können. Dies erlaubte auch, gravitationsabhängige Untersuchungen vorzunehmen. Die Umweltparameter im Gewächshaus wurden automatisch über eine entsprechende Sensorik geregelt. Allerdings konnte die künstliche Beleuchtung auch manuell ein- und ausgeschaltet werden. Bei automatischem Betrieb wurde die künstliche Beleuchtung eingeschaltet, wenn die Lichtintensität tagsüber unter $45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fiel. Dies geschah in der

Regel zur Zeit des Sonnenauf- und -untergangs. Eine Berieselungsanlage hielt die Luftfeuchtigkeit über 60%; die Temperatur wurde über eine Heizung zwischen 16 und 20°C eingeregelt. Nachts waren Berieselungsanlage und Beleuchtung abgeschaltet, aber die Heizung blieb aktiv. Anhand der permanent aufgezeichneten Umweltparameter (siehe 2.4.) lassen sich diese Regelvorgänge nachvollziehen.

2.1.2 *NICOTIANA TABACUM*

Nicotiana tabacum gehört zu den Nachtschattengewächsen (Solanaceen) und ist damit eine dikotyledone Pflanze. Im Gegensatz zu *Epipremnum aureum* weist Tabak keine abgegrenzten Leitbündel auf, vielmehr handelt es sich hier um einen Leitbündelring, der sich um das Mark zieht (siehe Abb. 2 c).

Die Aufzucht der Pflanzen erfolgte in einer Klimakammer (Heraeus Vötsch, Hanau) mit folgenden Umweltbedingungen:

Tageslänge: 14 Stunden, zuvor und danach eine Stunde Dämmerlicht.

Temperatur: 25°C Tag; 22°C Nacht.

Luftfeuchtigkeit: 50% Tag; 60% Nacht.

Lichtintensität: 180 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, bei Dämmerlicht 80 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Die Pflanzen wurden in einem Aufzuchtsgefäß aus Ton aufgezogen und im Alter von ca. drei Wochen in Blumentöpfe mit einem Durchmesser und einer Tiefe von 20 cm gesetzt. Die Substratzusammensetzung bestand zum größten Teil aus Blumenerde (wenig und stark zersetzter Hochmoortorf, Firma Dehner, Würzburg) und einem kleineren Anteil Sand. Einmal pro Woche wurden die Pflanzen mit einem handelsüblichen Dünger (Mairol, Gussenstadt) gegossen. Für die Messungen wurden Pflanzen im Alter von sechs bis vierzehn Wochen verwendet. Pflanzen, die für die NMR-Messungen verwendet wurden, wurden zum Teil in 5 cm schmale und 10 cm hohe Gefäße in reinen Sand gesetzt, um eine schnelle Austrocknung zu erreichen. Die Bodenfeuchte wurde mittels einer Bodensonde gemessen (Theta-Sonde, Delta T Devices LTD, Cambridge, England) oder gravimetrisch bestimmt.

2.1.3 *MYROTHAMNUS FLABELLIFOLIA*

Myrothamnus flabellifolia (Buschmanns- oder Wundertee) zählt zu den sogenannten Auferstehungspflanzen, einer unspezifischen Gruppe von Pflanzen, die sich von nahezu kompletter Austrocknung wieder erholen können (Schröder, 1886; Hambler, 1961; Bewley & Krochko, 1982; Gaff, 1989; Bartels et al., 1990). Während der Trockenperioden (April bis November) falten sich die Blätter wie kleine Fächer zusammen und schmiegen sich dem Stamm an, die Pflanze zeigt eine graubraune Färbung (Thoday, 1921; Child, 1960). In diesem Stadium liegt der Wassergehalt ungefähr bei 7-11% des Gewichts der Pflanze (ermittelt durch Trocknen im Ofen; Gündel, 1968). Nach Regen falten sich die Blätter innerhalb kurzer Zeit auf und geben den Blick auf die tief grüne Blattspreite frei. Bereits nach 30 Minuten wird Transpiration (Jones, 1992), nach 4 Stunden Photosynthese meßbar; wahrscheinlich ist das auf die spezifischen, ultrastrukturellen Anpassungen der Blattzellen zurückzuführen (Wellburn, 1976). Die maximale Photosyntheseaktivität ist bei einer Temperatur von 30°C nach 8 Stunden erreicht (Gündel, 1968). Etwa 36 Stunden nach Bewässerung ist der Wassergehalt des Sprosses 70-75% (Child, 1960). Diese rasche 'Wiederauferstehung' ist eine Anpassung an die kurze Verfügbarkeit von Wasser, das schnell durch die Granitplatten abfließt, weil es aufgrund der geringen Humusmenge nicht lange konserviert werden kann.

Der Mechanismus, der es den Blättern erlaubt, lange Trockenphasen zu überleben, ist bislang noch ungeklärt. Biochemische Studien haben gezeigt, daß wichtige lösliche Enzyme im ausgetrockneten Gewebe möglicherweise aktiv bleiben (Kluge, 1976) und der Carotinoid- wie auch der Chlorophyllgehalt in den Blättern während der Austrocknung und Rehydratisierung gleich bleiben (Hoffmann, 1968). Die Aufrechterhaltung des osmotischen Milieus der Zellen während der Austrocknung wird durch Trehalose (Crowe & Crowe, 1984; Goldworthy, 1992; Drennan et al., 1993), Saccharose, Arbutin (Suau et al., 1991) und Glucopyranosyl- β -glycerol (Bianchi et al., 1993) erreicht. Glycosyl-glycerol ist auch als hoch wirksame osmotische Substanz in Cyanobakterien bekannt, die mit Salztoleranz in Verbindung gebracht wird (Richardson, Reed & Stewart, 1983; Reed & Stewart, 1985; Warr, Reed & Stewart, 1985; Hagemann, Erdmann & Wittenburg, 1987; Stal & Reed, 1987; Erdmann, Fulda & Hagemann, 1992).

In Namibia findet man *Myrothamnus flabellifolia* in Höhenlagen zwischen 900 und 1200 m, oft bevorzugt auf Granituntergrund. Die Pflanze kommt ebenso in Tansania, Kenia, Sambia, Simbabwe, Angola, Swasiland und im Transvaal vor.

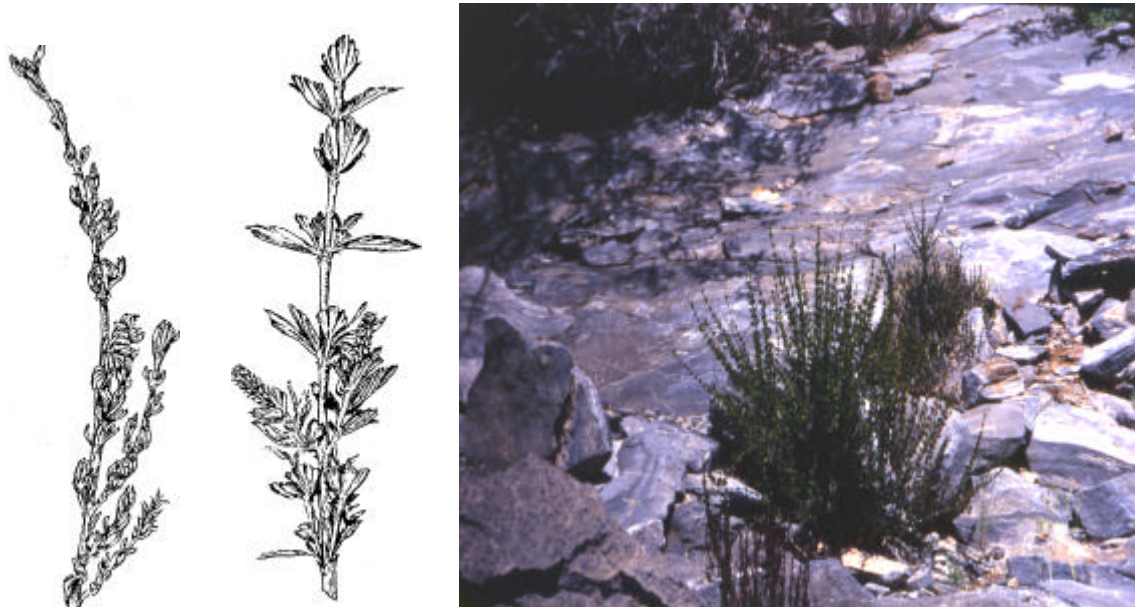


Abbildung 1

Zweige von *Myrothamnus flabellifolia* im trockenen (links) und im rehydratisierten Zustand (Mitte); Ausschnitte aus Verdoorn (1935) und intakte grüne Pflanzen am natürlichen Standort (rechts).

Während es sich bei *Nicotiana tabacum* und *Epipremnum aureum* um krautige Pflanzen handelt, ist *Myrothamnus flabellifolia* ein holziger Strauch. Das Holz wird als zerstreutporig beschrieben (Sherwin et al., 1998). Die Gefäße treten meist einzeln auf und sind im Querschnitt mehr eckig (siehe Abb. 2 e, f). Der mittlere Durchmesser der Gefäße wird mit 36 μm angegeben (Carlquist, 1976). Die Perforationsplatten werden als 'scalariform' beschrieben (Tippo, 1938). Xylemparenchymzellen werden durch langlebige Tracheiden ersetzt (Carlquist, 1976). Das Mark der Zweige bildet eine Kreuzfigur (Grundell, 1933), und die Markstrahlparenchymzellen sind einreihig.

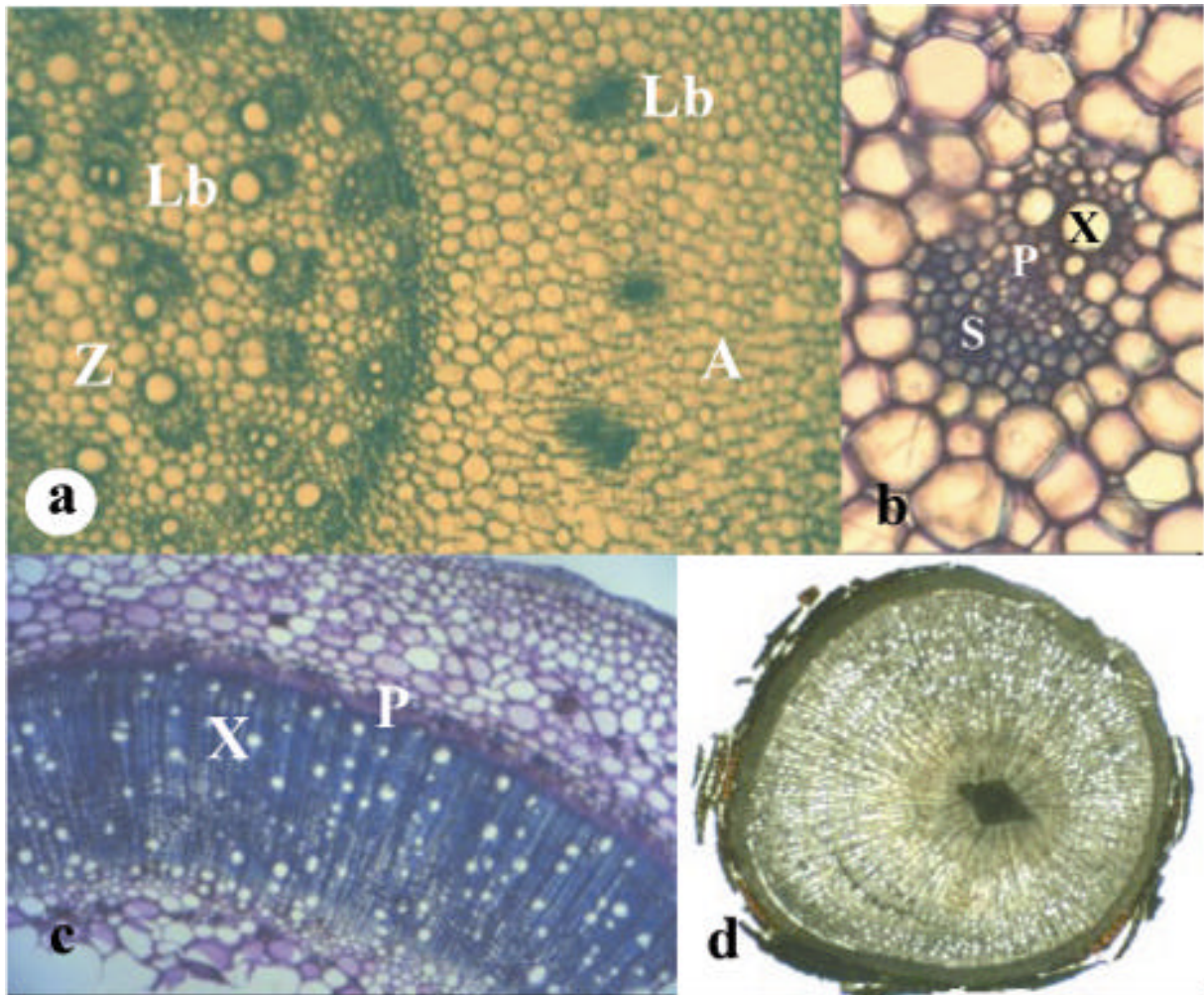


Abbildung 2
 Mikroskopische Aufnahmen von *Epipremnum aureum* (a,b), *Nicotiana tabacum* (c) und *Myrothamnus flabellifolia* (d). Z: innerer Zylinder, A: äußerer Ring, Lb: Leitbündel, X: Xylem, P: Phloem, S: Sklerenchym, M: Markstrahlparenchym. Sproßquerschnitt 65x vergrößert (a); Leitbündel im äußeren Ring, Toluidinblau, 200x vergrößert (b); Sproßquerschnitt, Toluidinblau, 40x (c); Sproßquerschnitt 20x (d).

2.2 MIKROSKOPIE

Mikroskopische Schnitte wurden per Hand mit einer Rasierklinge oder einem Handmikrotom angefertigt und mit Hilfe eines Lichtmikroskops mit Epifluoreszenzeinrichtung und Fotoaufsatz (Axiophot, Zeiss, Oberkochen) betrachtet und dokumentiert. Für den 'Lebend-Tot'-Nachweis wurde der Farbstoff Toluidinblau O (O'Brien et al., 1964) in einer Konzentration von 0.05% in H₂O verwendet. Außerdem wurden die Schnitte mit Alcianblau

(0.5% in H₂O), einem Farbstoff, der zum Nachweis von Mucopolysacchariden dient, angefärbt.

Des Weiteren wurden Fluoreszenz-Untersuchungen mit Berberin-Sulfat (0.1% in H₂O) durchgeführt, die es ermöglichten, eine Lignifizierung von Gefäßen und Zellen sowie Suberinisierung (CASPARY-Sreifen) zu erkennen. Zum Teil wurden auch Aufnahmen ohne Farbstoff gemacht, da Lignin bei 365 nm Eigenfluoreszenz aufweist.

2.3 DIE DRUCKMEßSONDEN

2.3.1 AUFBAU UND FUNKTIONSWEISE

Für die Messung des Turgordrucks in den Blattepidermiszellen wurde die mit Silikonöl befüllte Druckmeßsonde verwendet, die ursprünglich von Zimmermann, Råde & Steudle (1969) für Druckmessungen an Algenzellen entwickelt wurde (Abb. 3). Für die Messungen des hydrostatischen Drucks in den Xylemelementen des Sprosses der Pflanzen wurde die von Balling & Zimmermann (1990) auf der Basis der Turgordrucksonde entwickelte wasserbefüllte Xylemdruckmeßsonde verwendet. Beide Sonden bestehen aus einer Plexiglasskammer mit ca. 20-30 µl Volumen, in die zwei T-förmig aufeinandertreffende Kanäle eingefräst sind. In den einen Kanal werden auf gegenüberliegenden Seiten eine Glaskapillare und ein Metallstab über Silikondichtungen eingeführt. Durch die Verschiebung des Metallstabes über eine Mikrometerschraube kann das Volumen der Kammer verändert werden (z.B. für einen Druckpuls). Die Glaskapillaren wurden mit einem Kapillarziehgerät (List-electronic, Darmstadt) hergestellt. Der andere Kanal endet in einem Miniaturdruckwandler (KPY 16, Firma Siemens, Nürnberg), der aus einer Siliziummembran besteht, auf welche vier druckempfindliche Widerstandsbahnen zu einer Wheatstone'schen Brückenschaltung aufgedampft sind. Bei Druckänderung in der Kammer führt die Deformation der Membran zu einer proportionalen Spannungsänderung, welche über einen Schreiber (Rikadenki R02, Nürnberg) oder ein digitales Speichergerät (siehe 3.4.) aufgezeichnet werden kann. Da die Membran über ein Ausgleichsrohr mit der Umgebung verbunden ist, werden relative Drücke zum Atmosphärendruck gemessen. Der Druckwandler hat einen Meßbereich von ±1,5 MPa bei einer Auflösung von 0,0002 MPa. Die Eichung

erfolgt mit Druckluft sowohl im positiven (Druckapplikation auf den Kanal) als auch im negativen Druckbereich (Druckapplikation auf die Referenzseite).

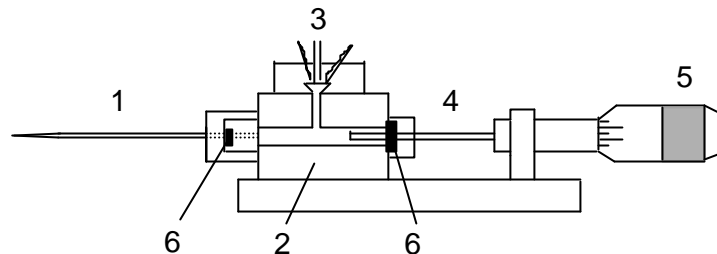


Abbildung 3 Schematische Abbildung der Druckmeßsonde.
1 Mikrokapillare, 2 Plexiglas-Kammer mit T-förmigem Quergang 3 Druckwandler mit Kabelverbindung zur Spannungsquelle und zum Voltmeter, 4 Metallstab, 5 Mikrometerschraube, 6 Silikonkondichtungen

2.3.2 TECHNISCHE VORAUSSETZUNGEN

Da sich die Druckwandler der Druckmeßsonden in ihrem Druck-Spannungs-Proportionalitätsfaktor leicht unterscheiden, war es notwendig, jede Sonde in Bezug auf den Spannungsverstärker (Voltmeter) zu eichen. Bei Abgleich auf den Nullpunkt entspricht die Ausgangsspannung in Volt genau dem Druck in bar, der in der Sonde herrscht. Um das Ausgangssignal des Voltmeters mit dem CR10X Datalogger aufnehmen zu können, ist es zusätzlich nötig, über einen Spannungsteiler die Spannung auf 1/10tel zu verringern, da der Datalogger nur in einem Bereich von $\pm 2,5$ V arbeitet.

Die Sonde wurde auf einem Mikromanipulator (Leitz) fixiert, der ein mikrometerweises und erschütterungsfreies Bewegen der Kapillare über den Feintrieb ermöglichte. Penetrationswinkel und -stelle konnten über den Grobtrieb in allen Raumrichtungen verändert werden.

Ein großes Problem, vor allem bei Drucksonden-Messungen außerhalb der Laboratorien, stellten Schwingungen und Erschütterungen dar. Wichtig war eine sorgfältige Fixierung der Pflanze unter Verwendung von Stativmaterial. Geeignete Dämpfungsmaterialien sowie schwere Steinplatten und Tische waren für den Aufbau eines vibrationsarmen Meßplatzes häufig ebenfalls notwendig.

2.3.3 TURGORDRUCKMESSUNGEN

Bei der Turgordruckmessung wurde die Druckmeßsonde mit Silikonöl befüllt, und die Kapillarspitze in eine Zelle eingeführt. Durch den in der Zelle herrschenden überatmosphärischen Druck schiebt sich der Zellsaft in die Kapillare, und es kommt zur Ausbildung eines Öl-Zellsaftmeniskus, der unter dem Mikroskop deutlich zu erkennen ist. Durch Verschieben des Metallstabes mit der Mikrometerschraube wird der Meniskus zur Kapillarspitze hin verschoben und während der gesamten Messung an diesem Ort konstant eingeregelt. In diesem Zustand entspricht der Druck in der Sonde genau dem herrschenden Turgordruck der Zelle.

2.3.4 XYLEMDRUCKMESSUNG

Für Messungen des hydrostatischen Druckes in den Xylemleitungsbahnen wurde die Druckmeßsonde mit deionisiertem Wasser befüllt. Dies war möglich, da der Druckwandler (KPY 16) mit Wasser benetzbar ist. Wasser bietet einige Vorteile gegenüber Öl, da es nahezu inkompressibel sowie in seinen chemischen Eigenschaften dem Xylemsaft ähnlicher ist, so daß das Auftreten einer Kavitation minimiert wird. Um das Kavitationsrisiko zu reduzieren, wurde außerdem das deionisierte Wasser mittels eines Exsikkators und einer Vakuumpumpe ca. 30 Stunden lang entgast.

Das Eindringen der Kapillarspitze der Xylemdruckmeßsonde in ein Xylemgefäß wurde durch einen schlagartigen Druckabfall unter den atmosphärischen Druck angezeigt. Dieser Druckabfall entsteht dadurch, daß Wasser aufgrund der im Gefäß herrschenden Saugspannung aus der Sonde gesogen wird.

In Wasser mit Drücken unter Vakuum kann es zu einer schlagartigen Wasserdampfbildung (Kavitation) kommen, da der Gleichgewichtswasserdampfdruck bei +0.0023 MPa liegt. Dieser Wasserdampfdruckwert kann nach einer Kavitation minutenlang gemessen werden, bevor durch das Eindringen von Luft in das getroffene Xylemgefäß der Druck gegen Atmosphäre relaxiert. Kavitation kann im Sondenkörper, in der Kapillare oder auch im Gefäß auftreten. In den ersten beiden Fällen sind die entstehenden Gasbläschen oft mit bloßem Auge erkennbar. Kleine Gasbläschen ließen sich über die Injektion von Druckpulsen, die durch Verschiebung des Metallstabes erzeugt werden (Abb. 3), nachweisen. Da Gasblasen

kompressibel sind, ließ sich unter diesen Bedingungen kein oder nur ein sehr geringer Druck aufbauen.

2.4 MESSUNG VON UMWELTPARAMETERN UND DATENAUFNAHME

Bei allen Messungen wurden die Umgebungsparameter Temperatur, Luftfeuchtigkeit und Lichtintensität kontinuierlich unter Verwendung von Sensoren aufgezeichnet.

Temperatur- und Luftfeuchtigkeitssensoren:

Thermohygrometer Rotronic HP101A (Rotronic AG, Bassersdorf, Schweiz) mit einem Meßbereich von 0 bis 100% relative Luftfeuchtigkeit und -20 bis 60°C bei einer Genauigkeit (für 23°C) von $\pm 1,5\%$ (10-90% LF), $\pm 2,5\%$ ($<10\%$ und $>95\%$), sowie $\pm 0,3^{\circ}\text{C}$.

Handsensoren Testo625 (Firma Testo, Lenzkirch; nicht an Datalogger angeschlossen).

Lichtsensor:

LiCor Spherical SPQA1865 (LI-COR Inc., Lincoln Nebr., USA).

Die Spannungssignale aller Druckmessungen sowie von Thermohygrometer und Lichtsensor wurden kontinuierlich mit einem Datalogger (CR10X, Campbell Scientific Ltd., Leicestershire, UK; oder LI 1000, LI-COR Inc., Lincoln Nebr., USA) aufgenommen.

Zusätzlich wurden die Signale der Druckmessungen mit einem Schreiber (Firma Rikadenki, Freiburg) aufgezeichnet.

2.5 FLUßMESSUNG MIT HILFE DER NMR-BILDGEBUNG

Jedes Proton und Neutron besitzt einen sogenannten Spin, einen Eigendrehimpuls. Durch diese Bewegung wird ein Magnetfeld erzeugt. In einem Atomkern mit einer geraden Anzahl von Nukleonen kompensieren sich die Spins paarweise, so daß der Kern magnetisch neutral ist. Kerne mit ungerader Anzahl dieser Nukleonen weisen einen resultierenden Kernspin mit

einem magnetischen Moment auf. Für die NMR-Bildgebung sind hauptsächlich die Protonen des Wasserstoffes interessant, da dieser in biologischen Geweben sehr häufig ist.

In einem feldfreien Raum sind die Spins zufällig orientiert und kompensieren sich gegenseitig, so daß keine Magnetisierung resultiert. Wird jedoch ein homogenes Magnetfeld angelegt, ordnen sich die Spins entlang der Feldlinien in einem Abwärts- und Aufwärtsspin an, wobei letzterer bevorzugt wird, da er energetisch günstiger ist. Durch diese Ungleichverteilung entsteht eine Nettomagnetisierung der Probe.

Die Spins drehen sich um ihre eigene Achse (präzidieren); je stärker das Magnetfeld, um so schneller ist die Präzession. Werden die Spins durch ein hochfrequentes magnetisches Wechselfeld (Hochfrequenzpuls) quer zum Hauptfeld mit der Rotationsfrequenz der Protonen angeregt (Larmorfrequenz), präzidieren alle Spins mit der gleichen Phase (Phasenkohärenz). Da der Puls quer zum Hauptmagnetfeld erfolgt, werden die Spins immer weiter ausgelenkt, bis die Längs- in eine Quermagnetisierung übergegangen ist. Die Quermagnetisierung rotiert mit der Larmorfrequenz. Diese Larmorfrequenz induziert in der Spule eine elektrische Spannung (elektromagnetische Induktion), das NMR-Signal. Sobald der Hochfrequenzpuls beendet ist, erholt sich die Längsmagnetisierung wieder.

Die Stärke des Signals hängt von der Spindichte, der Pulssequenz und den Relaxationszeiten T_1 und T_2 ab. T_1 beschreibt die Erholung der Längsmagnetisierung. Die T_2 Relaxationszeitkonstante ist abhängig von den Spin-Spin-Wechselwirkungen und bestimmt die Lebensdauer der Phasenkohärenz.

2.5.1 NMR-BILDGEBUNG

Die räumliche Auflösung wird dadurch erreicht, daß dem homogenen Magnetfeld ein magnetischer Feldgradient überlagert wird. Dadurch herrschen an den unterschiedlichen Orten unterschiedliche Feldstärken, und da die Larmorfrequenz von der Magnetfeldstärke abhängig ist, zeigen die Spins entlang des Gradienten bei unterschiedlichen Frequenzen Resonanz. Mit drei aufeinander senkrecht stehenden Feldgradienten bekommt man eine dreidimensionale Ortsauflösung. Der z-Gradient ist für die Schichtauswahl verantwortlich, der y-Gradient oder Phasengradient baut das Bild Zeile für Zeile auf. Der x- oder read-Gradient bestimmt die Position innerhalb der Zeile in Spaltenrichtung. Die Gradienten werden zu unterschiedlichen Zeiten aktiviert. Eine Spinecho-Pulssequenz setzt sich aus zwei Pulsen

zusammen, einem 90° Puls, der eine Quermagnetisierung anregt und einem darauffolgenden 180° Puls, der eine Rephasierung hervorruft, die wiederum das Spinecho-Signal bildet. Die Signale werden dann durch zweidimensionale Fouriertransformation rekonstruiert (Zeit in Frequenz), indem jeder Frequenz ein bestimmter Ort zugeschrieben wird, da die räumliche Information in verschiedenen Frequenzen beinhaltet ist.

2.5.2 FLUBMESSUNG

Die NMR-Flußmessung erfolgt durch die Trennung in Flußcodierung und Bildgebung. Um die Elementierung stationärer Spins zu erreichen, wird zuerst ein 90° Puls eingesetzt, der eine Quermagnetisierung verursacht. Durch einen kurzzeitig eingeschalteten Gradientenpuls in Flußrichtung wird eine schnelle Dephasierung der Spins hervorgerufen. Ein darauffolgender 180° Puls dreht alle Spins in ihrer Präzession um. Danach wird wieder ein Gradientenpuls angelegt, der exakt dem vorangehenden gleicht. Spins, die sich entlang des Gradienten nicht bewegt haben, rephasieren zur Echozeit ohne Phasenverschiebung. Die Spins, die sich bewegt haben, weisen beim Zurückdrehen nach dem 180° Puls eine andere Frequenz auf als beim Hindrehen (durch Bewegung entlang des Gradienten erfahren Spins unterschiedliche Magnetfeldstärken). Bei der Rephasierung kommt es deshalb zu einer von Null verschiedenen Phasenverschiebung. Diese Phasenverschiebung ist proportional zur Flußgeschwindigkeit.

Um ein Bild aufzunehmen, wird ein zweiter 90° Puls appliziert, der die stationären Spins in die Längsmagnetisierung zurückklappt. Das übriggebliebene Signal der fließenden Spins dient der Bildgebung (zu näheren Angaben siehe Haase, Brandl et al., 1993 , Kuchenbrod, Landeck et al., 1996).

Die zeitliche Auflösung dieser Methode konnte von Rokitta, Zimmermann, & Haase (1997) verbessert werden; man nennt dieses Verfahren FLASH-Methode. Diese wurde vor allem für die Austrocknungsexperimente im zweiten Teil der Arbeit verwendet (für nähere Angaben, siehe Rokitta, Zimmermann, & Haase, 1997).

2.5.3 NMR-MIKROSKOP UND KLIMAKAMMER

Die NMR-Experimente wurden an einem 7T Bruker Biospec Spektrometer (Bruker Analytische Meßtechnik, Rheinstetten) mit horizontaler Bohrung von ca. 12 cm durchgeführt. Die maximale Gradientenstärke betrug 196 mT m^{-1} und wurde innerhalb von $240 \mu\text{s}$ geschaltet. Die Pflanzen wurden in eine selbstgebaute Klimakammer (Landschütz et al., 1996), die eine Helmholzspule mit einem Durchmesser von 20 mm enthielt, eingebaut. Die Spule war auf die Protonenresonanzfrequenz von 300 MHz abgestimmt.

Verwendete Parameter:

Für Simultane Fluß-Druckmessungen

FOV (field of view): $0,5\text{cm} \times 0,5\text{cm}$;

Spinechobild: 256×256 Punkte, zerofilled auf 512×512 Punkte;

Echozeit (TE): 11 ms Flußbild: 128×32 Punkte, 4 Mittelungen, Zerofilling auf 128×128 Punkte,

Flußgradientendauer: 0,75 ms;

Flußgradientenabstand: 200 ms

Der Gradient wurde in 12 Schritten von 7,5% auf 90% der maximalen Stärke von $84,464 \text{ kHz/cm}$ erhöht.

Parallele Fluß-Druckmessung:

FOV: $0.6 \times 0.6 \text{ cm}^2$

TE: 11 ms

TR: 0.5 s

Spinechobild: 256×256 , zerofilled auf 1024×1024

16 Mittelungen, Auflösung $23 \mu\text{m}$ pro Pixel

2.6 PICOLITEROSMOMETER

Für die Messung des osmotischen Druckes einzelner Blattepidermiszellen wurde ein Picoliterosmometer (Laboratorium D. Tomos, Bangor, UK) verwendet. Das Meßprinzip bei dieser Methode beruht, wie bei Mikroliter- oder Nanoliterosmometern, auf einer Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung im Vergleich zu reinem Wasser. Die Stoffkonzentration läßt sich aus der gemessenen Gefrierpunktserniedrigung nach folgender Formel berechnen:

$$c = \mathbf{DT} / \mathbf{DT}_0$$

Gleichung 1

wobei c (mol l^{-1}) die Stoffkonzentration, \mathbf{DT} ($^{\circ}\text{C}$) die gemessene Gefrierpunktserniedrigung und \mathbf{DT}_0 ($=1,855^{\circ}\text{C l mol}^{-1}$) die Gefrierpunktserniedrigung einer idealen einmolalen Lösung ist.

Der osmotische Druck des Zellsaftes ergibt sich dann aus:

$$\mathbf{p} = c R T$$

Gleichung 2

wobei \mathbf{p} (MPa) der osmotische Druck des Zellsaftes, R ($= 0,0083 \text{ MPa l mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) die ideale Gaskonstante und T (K) die absolute Temperatur zur Zeit der Probenentnahme ist.

Die Meßkammer kühlt unter Ausnutzung des Peltier-Effekts beim Einschalten des Stromes bis auf -25°C ab. Dabei erhitzt sich die Ummantelung der Kammer, was mit einer Wasserkühlung ausgeglichen wird. Um Kondensation des Wassers der Umgebungsluft an der Kammer zu verhindern, wird zusätzlich mit getrockneter Luft ventiliert. Um den Taupunkt der Proben feststellen zu können, wird unter einem Mikroskop gearbeitet. Die Eichung des Gerätes erfolgt mit reinem Wasser und einer NaCl-Referenzlösung (300 mOsmol).

Das Hauptproblem bei der Messung des osmotischen Druckes von pl-Tropfen stellt die Gefahr der Evaporation von Wasser aus der Probe dar, so daß der osmotische Wert in der Probe überschätzt wird.

Die Proben wurden in einer Glaskapillare mit einem Innendurchmesser von weniger als 5µm aufgenommen. Vor der Probenentnahme wurde wassergesättigtes Paraffinöl in die Kapillarspitze eingesaugt, um eine Evaporation von Wasser aus der Kapillare zu vermeiden. Zum Sammeln des Zellsaftes wurde ein Blatt an seiner Unterseite wiederholt vorsichtig mit der Kapillarspitze punktiert. Der Zellturgordruck drückte bei diesem Vorgang kleinste Mengen Zellsaft in die Kapillarspitze. Nach Abschluß dieser Behandlung wurde die Spitze sofort in ein Gefäß mit wassergesättigtem Paraffinöl gegeben.

Für die Bestimmung des osmotischen Drucks in der Probe wurde ein Deckgläschen mit Thermopaste in die Kühlkammer geklebt und ein Tropfen (ca. 5 µl) wassergesättigtes Paraffinöl darauf gegeben. Anschließend wurden mit Hilfe eines Mikromanipulators vorsichtig kleinste Tröpfchen der Proben unter den Öltropfen gelegt. Die Proben wurden schnell auf unter -25°C eingefroren und langsam wieder aufgetaut. Der Taupunkt war erreicht, wenn der letzte Eiskristall in der Probe geschmolzen war. Nun wurde der Temperaturunterschied des Taupunktes der Probe bzgl. des Taupunktes des Referenz-Wassertröpfchens ermittelt und daraus der osmotische Druck des Zellsaftes errechnet.

3 ERGEBNISSE

3.1 LÄNGENABHÄNGIGE DRUCKGRADIENTEN- WELCHEN EINFLUß HAT DIE SCHWERKRAFT?

Der erste Teil dieser Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, ob längenabhängige Xylemdruckgradienten schwerkraftsinduziert sind, und inwieweit Turgordruckgradienten bei der Ausbildung von Xylemdruckgradienten beteiligt sind. Diese Frage wurde durch Messungen der Xylem- und Turgordruckgradienten an *E. aureum* beantwortet, indem die Pflanze in verschiedenen Raumrichtungen orientiert wurde. Bei Messungen im aufrechten Zustand erfolgt der Wasserfernttransport im Xylem gegen die Schwerkraft, im hängenden Zustand in Richtung der Schwerkraft und in der horizontal liegenden Position unter Ausschluß der Schwerkraft. Die Liane wurde aufgrund ihrer Länge und des unverholzten Sprosses ausgewählt. Es konnte ohne Schwierigkeiten an jeder beliebigen Stelle über die gesamte Länge der Pflanze gemessen werden.

3.1.1 PROBLEME BEI XYLEMDRUCKMESSUNGEN AN *E. AUREUM*

Ein großes Problem bei den Untersuchungen an *E. aureum* war, daß nicht ausreichend große Mengen an Pflanzenmaterial zur Verfügung standen. Daher mußten viele Messungen an ein und derselben Pflanze durchgeführt werden. Für simultane Messungen des Xylem- und Turgordrucks wurde aber in der Regel auf 'frisches' Pflanzenmaterial zurückgegriffen. Die Messungen wurden an insgesamt 15 Pflanzen durchgeführt, aber etwa 30-60 Pflanzen von ausreichender Länge wären notwendig gewesen. Der Grund hierfür war, daß die

Xylemdruckmeßsonde zwar relativ gut in die Gefäße eingeführt werden konnte, aber das Auftreten von Lecks oder die Induzierung von Kavitationen konnte nicht immer vermieden werden. Das Kavitationsrisiko nahm während der Messungen außerdem zu, wenn im Verlaufe der Morgenstunden der Xylemdruck schnell auf negative Werte abfiel. Wenn Kavitation aufgetreten war, mußten deshalb die Sonden nach Herausziehen aus dem kavitierten Gefäß in neue Gefäße eingeführt werden. Dies konnte – allerdings erst nach mehreren Tagen – dazu führen, daß Luft in die getroffenen Gefäße drang und die Gefäße damit ihre Wasserleitfähigkeit verloren.

In Übereinstimmung hiermit konnte mittels ^1H -NMR-Spinocho-Bildgebung gezeigt werden, daß nach tagelangen Messungen ein großer Teil der großen Xylemelemente im inneren Zylinder kein Wasser mehr führten.

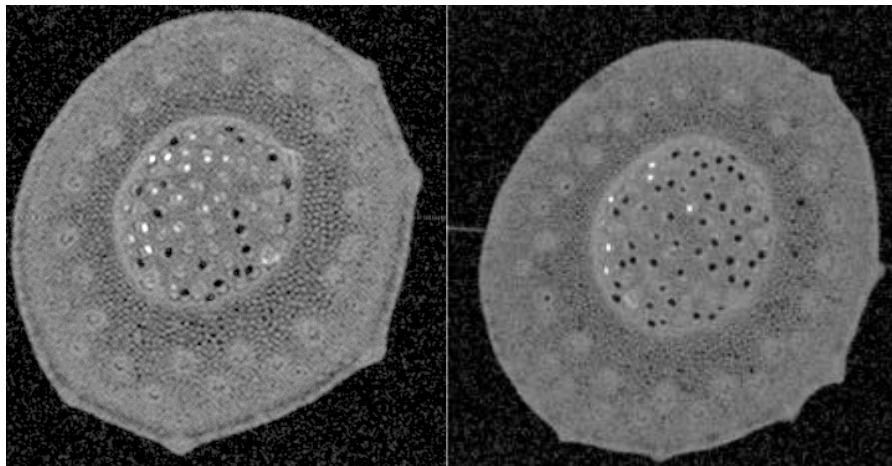


Abbildung 4
Spinochobild knapp unterhalb einer Xylemsondenmeßstelle (links) und ca. 1 m darüber (rechts).

Wie man in Abbildung 4 deutlich erkennen kann, sind oberhalb einer Xylemdrucksondenmeßstelle deutlich weniger Gefäße wassergefüllt, als kurz unterhalb. Dies läßt sich auf wiederholte Penetration von Gefäßen mit der Xylemdruckmeßsonde zurückführen. Da beim Zurückziehen der Kapillarspitze aus einem kavitierten Gefäß auch Luft unterhalb der Meßstelle eindringen sollte, ist auch dieser Teil der Gefäße – wie Abbildung 4 zeigt - leer. Aufgrund dieser Befunde läßt sich schließen, daß die mittlere Gefäßlänge mehr als 1 m betragen muß.

Wie die Xylemdruckmessungen zeigten, kompensierte die Pflanze die Abnahme in der leitenden Fläche offensichtlich mit einer Zunahme der treibenden Kraft, d.h. der Xylemdruck wurde negativer (siehe auch Benkert, Balling & Zimmermann, 1991, die mit Tabak ähnliche

Resultate erzielten). Dies hatte allerdings keine Konsequenzen im Bezug auf die Fragestellung in diesem Abschnitt, in dem die diurnalen Gänge von Xylemdruckgradienten bei verschiedener Raumorientierung der Pflanze untersucht werden sollten (Kapitel 3.1.2). Wiederholungsmessungen an Pflanzen, bei denen infolge tagelanger Druckmessungen die Absolutwerte im Xylemdruck im Durchschnitt negativer geworden waren, zeigten nämlich nach wie vor die gleichen diurnalen Änderungen (Abb. 9).

3.1.2 DIURNALE XYLEM- UND TURGORDRUCKGRADIENTEN

Das mehrfache Messen an einer bestimmten Xylemposition der Pflanze zeigte, daß immer die gleichen Druckwerte (mit wenigen Ausnahmen) gemessen wurden. Farbstoffexperimente zeigten zudem, daß sich die Meßstellen sowohl im äußeren Ring, wie auch im inneren Zylinder befanden, so daß anzunehmen war, daß der Xylemdruck in allen Gefäßen an einer bestimmten Position der Pflanze gleich war.

Simultane oder aufeinanderfolgende Einführungen von drei oder vier Xylemdruckmeßsonden in Gefäße von *E. aureum* an verschiedenen Stellen zeigten, daß sich tagsüber longitudinale Xylemdruckgradienten ausbildeten – und zwar auch in Abwesenheit der Schwerkraft.

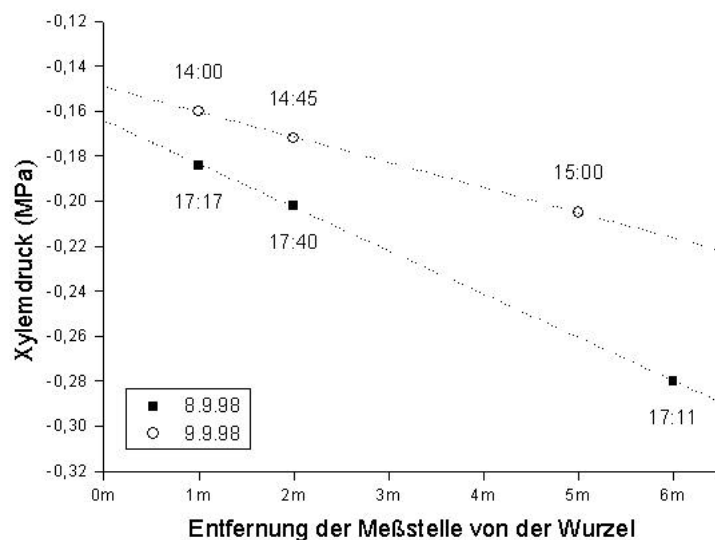


Abbildung 5:

Longitudinale Xylemdruckgradienten in einer 11 m langen, **horizontal** positionierten *E. aureum* Pflanze, die an zwei aufeinanderfolgenden Tagen im Laboratorium gemessen wurden. Die Luftfeuchtigkeit lag am 9.9.98 um bis zu 6% höher als am Vortag, während Temperatur und Lichtintensität vergleichbar waren (23-24°C; bis ca. 20 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$). Es ist deutlich zu erkennen, daß der Gradient von der Transpirationsrate abhängt.

Abbildung 5 zeigt typische longitudinale Xylemdruckgradienten¹, die an einer 11 m langen horizontal positionierten Pflanze unter Laboratoriumsbedingungen gemessen wurden. Die Messungen wurden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen im September 1998 durchgeführt (Lichtintensität 5-20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Temperatur 23-24°C, Luftfeuchtigkeit 51-57%). Wie die Abbildung zeigt, nahm der Xylemdruck mit zunehmender Entfernung zur Wurzel an beiden Meßtagen annähernd linear ab, die Steigung war jedoch unterschiedlich (8.9.98: $18.9 \cdot 10^{-3} \text{ MPa m}^{-1}$; 9.9.98: $11.4 \cdot 10^{-3} \text{ MPa m}^{-1}$). Der Unterschied in der Steigung der Gradienten beruhte mit großer Wahrscheinlichkeit auf unterschiedlichen Transpirationsraten der Pflanze an den beiden Meßtagen. Die Transpirationsrate ist bei *E. aureum* unter den o.g. Laboratoriumsbedingungen extrem gering, so daß sie mit der Gaswechsellanlage (Firma Walz, Effeltrich) praktisch nicht erfaßt werden konnte. Bestätigung für diese Interpretation der Daten konnte aber durch Messungen im Treppenhaus des Biozentrums der Universität Würzburg erhalten werden, wo die Pflanzen einer intensiven Sonneneinstrahlung ausgesetzt waren (siehe in diesem Abschnitt weiter unten). Unter diesen Bedingungen wurden Gradienten von bis zu $44 \cdot 10^{-3} \text{ MPa m}^{-1}$ gemessen.

Der entscheidende Einfluß der Transpiration auf die Ausbildung von longitudinalen Xylemdruckgradienten konnte auch weiterhin durch Messungen im tropischen Gewächshaus der Universität Salzburg bestätigt werden. Im Gewächshaus war die Luftfeuchtigkeit im Durchschnitt weit höher als im Laboratorium (siehe Abb. 6, 8 und 9), und damit sollte die Transpirationsrate entsprechend niedriger sein. Wie Abbildung 6 zeigt, wurden in der Tat unter diesen Bedingungen (Lichtintensität 11 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; Temperatur 19°C; Luftfeuchtigkeit 69%) sehr viel kleinere longitudinale Xylemdruckgradienten ($22 \cdot 10^{-3} \text{ MPa m}^{-1}$) an einer **horizontal** positionierten, 3.4 m langen Pflanze im Februar 1999 gemessen. Wie zu erwarten, waren die absoluten Xylemdruckwerte ebenfalls weit weniger negativ als die unter Laborbedingungen gemessenen.

Während der Nacht nahmen die longitudinalen Xylemdruckgradienten unter Laboratoriums- und Treppenhausbedingungen ab, verschwanden aber nicht vollständig. Messungen im September 1998 zeigten, daß die Steigung der longitudinalen Gradienten im Bereich von $18 \cdot 10^{-3} \text{ MPa m}^{-1}$ lagen. Im Gegensatz dazu blieb der Gradient im tropischen Gewächshaus nachts nahezu unverändert ($22 \cdot 10^{-3} \text{ MPa m}^{-1}$; Abb. 6 b). Der Grund hierfür war

¹ Der Xylemdruck wird absolut zur Atmosphäre, während der Turgor relativ (Atmosphäre 0.0 MPa) dazu angegeben wird.

höchstwahrscheinlich, daß der fehlende positive Einfluß des Lichtes auf die Transpirationsrate durch eine Abnahme der Luftfeuchtigkeit (hervorgerufen durch die nahegelegene Heizung) kompensiert wurde (Abb. 6 c). Diese Schlußfolgerung ergibt sich daraus, daß unter diesen Bedingungen der Xylemdruck auf kleinste Änderungen in Luftfeuchtigkeit, Temperatur und Lichtintensität nach wie vor sofort reagierte (siehe Abb. 6b).

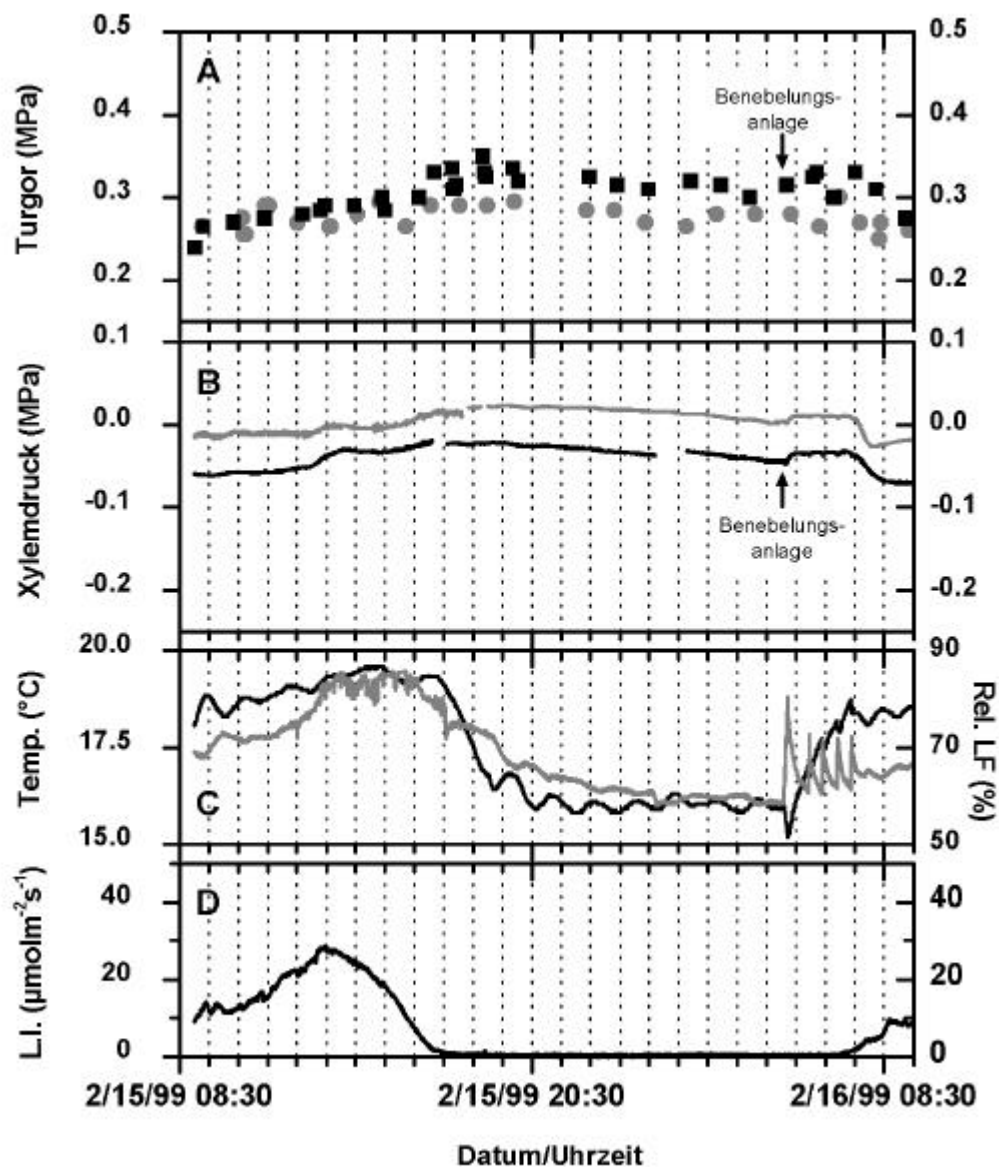


Abbildung 6: Longitudinale Turgor- (a) und Xylemdruckgradienten (b) einer horizontal orientierten Pflanze im Gewächshaus der Universität Salzburg. Die Quadrate geben den Turgordruck in 3 m, die runden Symbole in 1 m Entfernung von der Wurzel an. Die schwarze Linie stellt den Xylemdruck in 3.6 m und die graue Linie in 1.5 m Entfernung zur Wurzel dar. Temperatur- (Temp., schwarze Linie) und Luftfeuchtigkeitsprofile (Rel. LF, graue Linie) sind in (c) und Lichtintensität (L.I.) in (d) dargestellt. Die Sensoren befanden sich zwischen den Meßplätzen. Die Pfeile zeigen das Einsetzen der Nebelungsanlage an.

Parallel zu den in Abbildung 6 beschriebenen diurnalen Änderungen des Xylemdrucks und der longitudinalen Xylemdruckgradienten wurden die Änderungen im Turgordruck in 1 m und 3 m Abstand von der Wurzel gemessen. Wie Abb. 6 a zeigt, bilden sich ebenfalls longitudinale Turgordruckgradienten aus – allerdings nicht während des Tages, sondern während der Nacht. Während des Tages war der Turgordruck an beiden Meßstellen innerhalb der Meßgenauigkeit gleich. Er schwankte zwischen 0.24 und 0.30 MPa und war damit geringer als während der Nacht. Dies weist darauf hin, daß der Turgordruck wie der Xylemdruck bei Transpiration abnimmt. Abends (gegen 18:00 Uhr) entwickelte sich deshalb ein longitudinaler Druckgradient, weil der Turgordruck an der Meßstelle in der Nähe der Spitze stärker als am Meßplatz in der Nähe der Wurzel zunahm. Gegen Mitternacht hatte sich, wie die Abbildung 6 a zeigt, ein longitudinaler Gradient mit der Steigung von $18 \cdot 10^{-3} \text{ MPa m}^{-1}$ ausgebildet. Bei dieser Langzeitmessung konnte gezeigt werden, daß das Verschwinden eines longitudinalen Turgordruckgradienten während des Tages reversibel war. Bei Einschaltung des Lichtes am nächsten Morgen verschwand der Turgordruckgradient wieder, und die Werte stellten sich an beiden Meßplätzen um 9 Uhr auf 0.28 MPa ein.

Ähnliche Ergebnisse wurden unter Treppenhausbedingungen im Oktober 1998 an einer 4.5 m langen, horizontal orientierten Pflanze erhalten, obgleich die longitudinalen Xylemdruckgradienten aufgrund der höheren Transpirationsrate unter diesen Bedingungen weit höher waren. Trotz einer relativ großen Variationsbreite in den Werten wurde generell gefunden, daß während des Tages der Turgordruck auf beiden Meßplätzen nahezu auf Null (0.025-0.040 MPa) abfiel - und zwar zu einem Zeitpunkt, zu dem relativ negative Xylemdrücke (-0.25 MPa bei 0.8 m und -0.37 MPa bei 3.8 m) und große longitudinale Xylemdruckgradienten ($44 \cdot 10^{-3} \text{ MPa m}^{-1}$) gemessen wurden (nicht dargestellt). Wie Abbildung 7 zeigt, entwickelte sich während der Nacht (wie unter den Bedingungen des tropischen Gewächshauses) ein longitudinaler Turgordruckgradient von $27 \cdot 10^{-3} \text{ MPa m}^{-1}$. Im Unterschied zu den Messungen im tropischen Gewächshaus blieb der longitudinale Xylemdruckgradient nicht konstant, sondern verringerte sich auf $18 \cdot 10^{-3} \text{ MPa m}^{-1}$. Der Grund hierfür war mit großer Wahrscheinlichkeit die wesentlich stärkere Abnahme der Transpirationsrate im Treppenhaus während der Nacht.

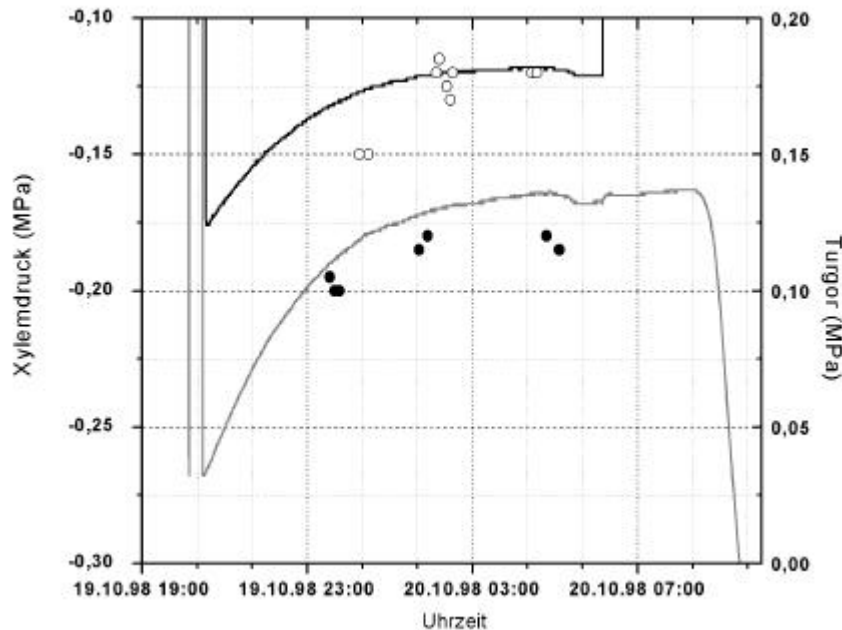


Abbildung 7:

Parallele Messung des Turgor- und Xylemdrucks an einer 4.5 m langen horizontal positionierten Pflanze in jeweils zwei Entfernungen zur Wurzel. Die Messungen wurden im Treppenhaus des Biozentrums der Universität Würzburg durchgeführt. Am Tag (nicht dargestellt), in Gegenwart relativ negativer Xylemdrücke (-0.25 MPa auf 0.8 m und -0.37 MPa auf 3.8 m), war der Turgordruck auf beiden Meßplätzen gleich niedrig (0.025-0.040 MPa). Erst als am Abend der Xylemdruckgradient kleiner wurde, etablierte sich ein Turgordruckgradient mit höheren Werten an der Pflanzenspitze.

Um zu einer Interpretation der obigen Daten zu kommen, wurden im folgenden parallele Xylem- und Turgordruckmessungen an hängenden Pflanzen im Gewächshaus durchgeführt, d.h. das basale Ende der Pflanze befand sich auf 5 m und der Apex auf 1 m. Wie weiter oben ausgeführt wurde, erfolgt der Wasserferntransport unter diesen Bedingungen in Richtung der Schwerkraft, d.h. in Gegenwart einer zusätzlichen Kraft. Eine typische Messung ist in Abbildung 8 wiedergegeben. Wie deutlich zu sehen ist, entwickelte sich in dem in Abbildung 8 dargestellten Experiment ein longitudinaler Xylemdruckgradient am Morgen, der um 10:30 Uhr mit $12 \cdot 10^{-3} \text{ MPa m}^{-1}$ einen Maximalwert erreichte. Zu diesem Zeitpunkt war der Xylemdruck an der Spitze -0.15 MPa und an der Basis -0.50 MPa. Während des Nachmittags stieg der Xylemdruck an beiden Meßplätzen bis zu leicht positiven, subatmosphärischen Werten wieder an. Entsprechend verschwand der longitudinale Xylemdruckgradient gegen 19:00 Uhr (gegen 4:00 Uhr war er bei $-2 \cdot 10^{-3} \text{ MPa m}^{-1}$, 16-17°C, 70-75%), d.h. der Xylemdruck am Topf wurde negativer als der an der Spitze. Beim Einsetzen der Transpiration am folgenden Tag entwickelte sich wiederum der übliche positive Gradient.

Wie aus Abbildung 8 auch deutlich wird, entwickelten sich während der Nacht longitudinale Turgordruckgradienten von $21 \cdot 10^{-3} \text{ MPa m}^{-1}$. An der Basis wurde ein Maximalwert von

0.375 MPa und am Apex von 0.480 MPa registriert, d.h. ein wesentlich höherer Druckwert, als er bei horizontal positionierten Pflanzen am Apex während der Nacht gemessen worden war (vergleiche Abb. 6 und 7). Trotz des höheren Turgordruckwerts am Apex der Pflanze verschwand der longitudinale Turgordruckgradient - wie im Fall von horizontal orientierten Pflanzen - auch bei der hängenden Pflanze tagsüber. Wie die Abbildung 8 zeigt, fiel der Turgordruck an beiden Meßplätzen auf Werte von 0.2-0.3 MPa.

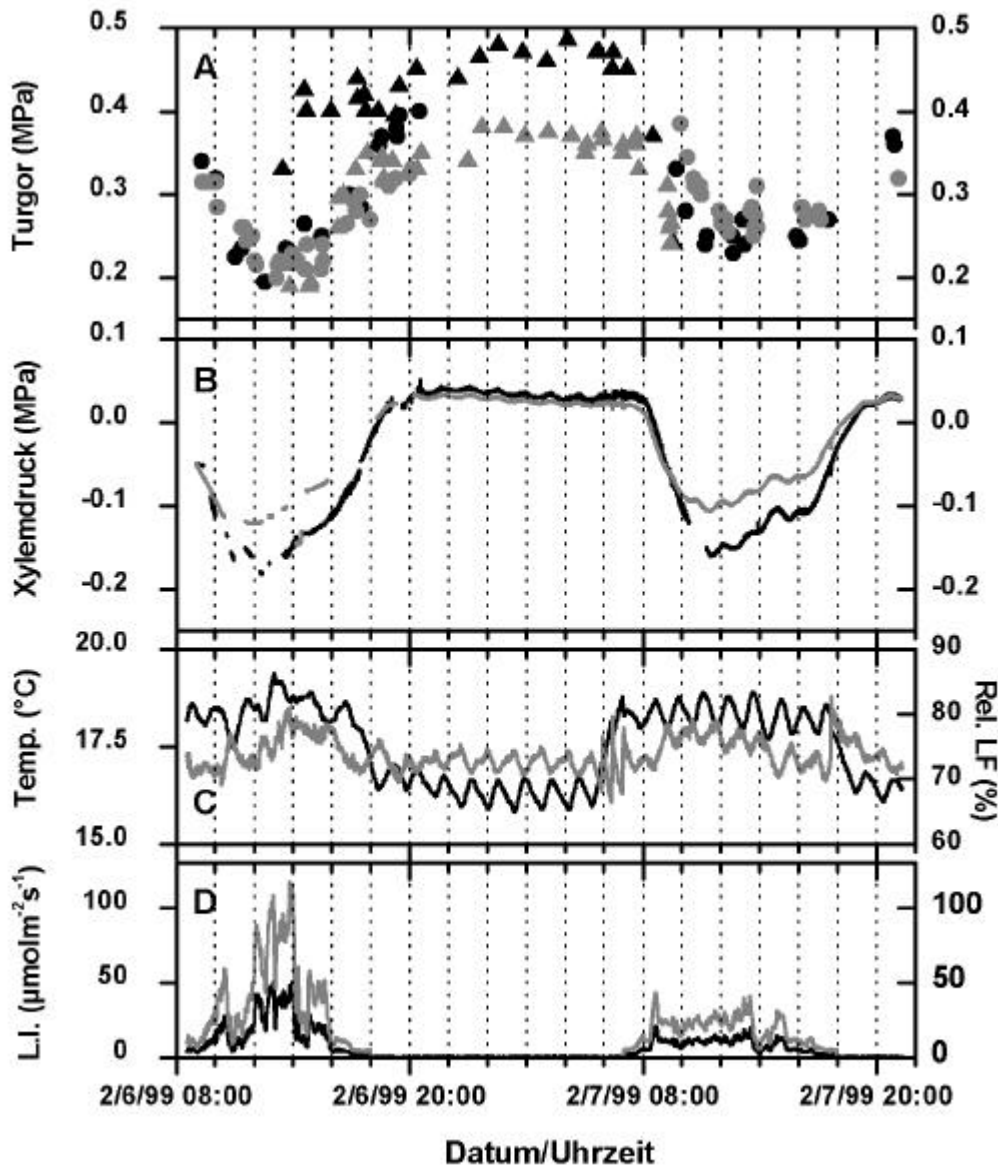


Abbildung 8: Turgor- (a) und Xylemdruckmessung (b) an einer hängenden Pflanze im Gewächshaus der Universität Salzburg. Luftfeuchtigkeits- (schwarze Linie) und Temperaturprofil (graue Linie) (c) und Lichtintensität (graue Linie: Topf; schwarze Linie: Spitze) (d). Für eine bessere Übersicht wurden Turgordruckdaten von zwei verschiedenen Tagen, aber vergleichbaren Umweltparametern zusammengefaßt. Graue Symbole stehen für den Turgordruck in Topfnähe, schwarze für den Turgordruck an der Pflanzenspitze. Die graue Linie in (b) stellt den Xylemdruck in Topfnähe, die schwarze den an der Pflanzenspitze dar. Distanz: Turgordrucksonden: 4.8 m, Xylemdrucksonden: ca. 5 m.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen, die an **hängenden** Pflanzen erhalten wurden, aber in Übereinstimmung mit den Ergebnissen, die an horizontal positionierten Pflanzen gemessen wurden, wurde bei aufrechten Pflanzen sowohl tagsüber wie auch während der Nacht ein longitudinaler Xylemdruckgradient gemessen (Tag: $26 \cdot 10^{-3} \text{ MPa m}^{-1}$; Nacht: $14 \cdot 10^{-3} \text{ MPa m}^{-1}$; siehe Abb. 9). Die Xylemdruck-Absolutwerte erreichten ihre negativsten Werte gegen Mittag. Sie nahmen auch bei dieser Orientierung der Pflanze während des Nachmittags wieder zu.

Zieht man die diurnalen Xylemdruckwerte an Topf und Spitze voneinander ab, bildet den Gradienten, und stellt den hängenden Zustand dem aufrecht stehenden gegenüber (Abb. 10), so zeigt sich, daß beide longitudinale Gradienten zwar unterschiedlich groß sind, sich aber im Tagesverlauf um denselben Betrag ändern, d.h. exakt denselben diurnalen Verlauf zeigen. Diese Schlußfolgerung läßt sich trotz der 'kleinen Schwankungen' eindeutig aus der Abbildung 10 ziehen. Diese Schwankungen sind auf Änderungen in der Temperatur und in der Luftfeuchtigkeit zurückzuführen, die anscheinend unterschiedlich schnell von Apex und topfnahen Bereichen beantwortet wurden.

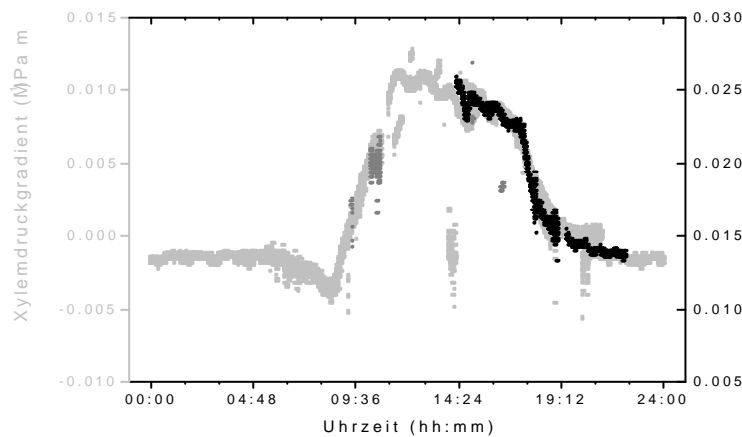


Abbildung 9:
Longitudinale Xylemdruckgradienten in MPa m^{-1} der hängenden Pflanze (hellgrau, linke y-Achse) und der aufrechten Pflanze (dunkelgrau, erste Messung, schwarz Wiederholungsmessung, beides rechte y-Achse). Die rechte y-Achse ist um den Wert 0.015 MPa m^{-1} zur linken verschoben, für beide Pflanzenpositionierungen ändern sich die Gradienten im Tagesverlauf aber um denselben Betrag.

Ein weiteres interessantes Resultat erbrachten die gleichzeitig zu den Xylemdruckmessungen durchgeführten Turgordruckmessungen. Wie Abbildung 9 a zeigt, fiel der Turgordruck

während des Tages an beiden Meßstellen maximal auf etwa 0.30 MPa gegen 16:00 Uhr ab. Während der Nacht stieg er an beiden Meßplätzen leicht und um den gleichen Betrag wieder an, um gegen 0:00 Uhr einen Maximalwert von ca. 0.375 MPa zu erreichen. Mit anderen Worten, im Gegensatz zu horizontal positionierten und vor allem zu hängenden Pflanzen entwickelte sich unter diesen Bedingungen kein longitudinaler Turgordruckgradient während der Nacht.

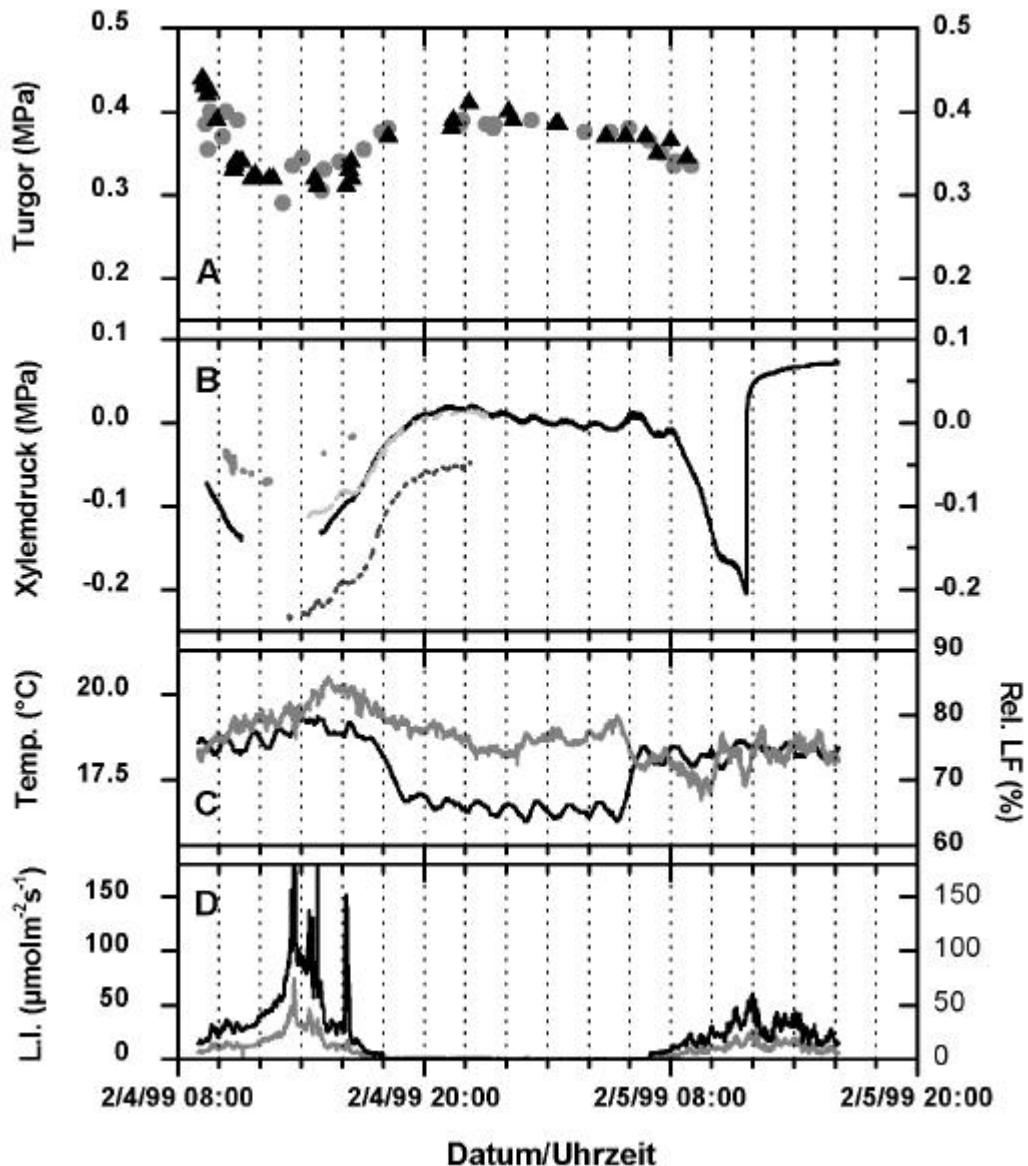


Abbildung 10: Turgordruck (a) und Xylemdruckmessung (b) an einer aufrecht stehenden Pflanze im Gewächshaus der Universität Salzburg. Runde Symbole stellen den Turgordruck in Topfnähe, die Dreiecke den an der Pflanzenspitze dar. Die mittelgraue Linie in (b) steht für den Xylemdruck an der Pflanzenbasis, die schwarze für denjenigen an der Pflanzenspitze.

Die hellgraue (Topf) und dunkelgraue (Spitze) Linie in (b) zeigen die Wiederholungsmessung, die zwei Tage später durchgeführt wurde. Zwischen den beiden dargestellten Messungen wurde die Pflanze weiterhin für Druckmessungen benutzt. Man sieht deutlich, daß sich der Xylemdruck in den negativeren Bereich verschoben hat, dennoch blieben die Gradienten ungefähr gleich. Distanz Turgordrucksonden: 6 m, Xylemdrucksonden: 4.1 m.

Zusammenfassend lassen sich deshalb aus diesen Versuchen an verschiedenen orientierten Pflanzen folgende Aussagen treffen:

Tagsüber konnte in keinem Fall, d.h. unabhängig von der Orientierungsrichtung, ein longitudinaler Turgordruckgradient beobachtet werden.

Im **horizontalen** Fall war sowohl tagsüber als auch in der Nacht ein longitudinaler Xylemdruckgradient vorhanden. Der Xylemdruckgradient wurde nachts kleiner (Treppenhaus) oder blieb gleich (Gewächshaus), und es entwickelte sich ein Turgordruckgradient.

Im **hängenden** Fall verschwand der longitudinale Xylemdruckgradient nachts, und es bildete sich ein longitudinaler Turgordruckgradient aus.

Im **aufrechten** Fall war sowohl tagsüber als auch nachts ein longitudinaler Xylemdruckgradient vorhanden, es bildete sich jedoch kein longitudinaler Turgordruckgradient aus.

3.1.3 DER OSMOTISCHE DRUCK DER ZELLEN

Eine mögliche Ursache für die Ausbildung von Turgordruckgradienten könnten Unterschiede im osmotischen Druck der Zellen der Pflanzenspitze im Vergleich zur Pflanzenbasis darstellen. Deshalb wurden Zellsaftproben gesammelt und der osmotische Druck mittels Gefrierpunktsniedrigung (siehe Kapitel 2.6) bestimmt.

Der osmotische Druck wurde in Zellen der unteren Epidermis, an der Stelle, an der auch der Turgordruck gemessen wurde, sowohl im Gewächshaus als auch im Laboratorium jeweils an zwei Stellen der Pflanzen bestimmt. Es ergab sich eine große Standardabweichung, trotzdem zeigte sich eine Tendenz zu höheren osmotischen Drücken an der Pflanzenspitze mit einem Größenunterschied von ca. 0.05 MPa, sowohl im Gewächshaus als auch im Laboratorium. Durch den T-Test einer groß angelegten Meßreihe, die an einer horizontal positionierten Pflanze im Laboratorium durchgeführt wurde, ließ sich aber kein signifikanter Unterschied (nur 94%ige Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied beider Meßstellen) feststellen. Die

Laborwerte sind jedoch niedriger als die im Gewächshaus gewonnenen (Tabelle 1), was auf eine deutliche Varianz zwischen unterschiedlichen Pflanzen hinweisen könnte. Die Werte wurden in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1
Osmotischer Druck der Zellen in MPa bei unterschiedlicher Orientierung der Pflanzen.

	GEWÄCHSHAUS SALZBURG (MPa)			LABOR (MPa)
	aufrecht	hängend	liegend	liegend
Topf	0.770 ± 0.027 (n = 5)	0.786 ± 0.015 (n = 3)	0.716 ± 0.022 (n = 4)	0.560 ± 0.070 (n = 15)
Spitze	0.825 ± 0.037 (n = 5)	0.822 ± 0.033 (n = 3)	0.753 ± 0.026 (n = 4)	0.610 ± 0.040 (n = 12)

3.2 SIMULTANE UND PARALLELE FLUß-DRUCKMESSUNGEN AN WASSERGESÄTTIGTEN UND GESTREßTEN PFLANZEN

Im vorhergehenden Kapitel wurde für die Liane *E. aureum* gezeigt, daß der Xylemdruck und der Turgordruck in den benachbarten Zellen infolge von Transpiration gleichmäßig abnehmen, wie es für ein hydraulisches System zu erwarten ist. Die damit verbundene Ausbildung von longitudinalen Druckgradienten im Xylem und im Gewebe scheint dagegen auf den ersten Blick hin auf einen komplizierteren hydraulischen Zusammenhang zwischen den beiden Kompartimenten hinzuweisen. Eine vollständige Beschreibung der Prozesse, die beim Wasserferntransport eine Rolle spielen, erfordert deshalb nicht nur eine Messung der involvierten Kräfte, sondern auch der resultierenden Flüsse. Flußmessungen auf der Ebene der Leitbündel mit Hilfe der NMR-Bildgebung bei gleichzeitiger Messung des Xylemdrucks mittels der Sonde sind schwierig und bisher in der Literatur noch nicht beschrieben. Derartige kombinierte Messungen konnten aber bei *E. aureum* durchgeführt werden, da die Sonde aufgrund der Länge der Pflanze außerhalb des Magneten in das Xylem eingeführt werden kann. Dies war wegen der ferromagnetischen Bauteile der Sonde notwendig. Nachteilig war allerdings, daß *E. aureum* nur in einem gut gewässerten Zustand untersucht werden konnte. Gründe hierfür waren, daß nicht genügend Pflanzen für Untersuchungen über den Einfluß von Trockenstreß auf den Wasserferntransport zur Verfügung standen (siehe Kapitel 3.1.1) und

daß das Einführen der Sonde in ein Xylemgefäß von *E. aureum* bei Trockenstreß große Schwierigkeiten machte.

Untersuchungen über den Xylemfluß und -druck bei unzureichender Wasserversorgung über die Wurzel sind aber von generellem Interesse (siehe Einleitung), da unter diesen Bedingungen Kavitation in den Gefäßen auftreten sollte und die Mechanismen der anschließenden Wiederbefüllung von kavitierten Gefäßen mit Wasser bis heute nicht verstanden werden. Im Hinblick auf die Arbeiten an der Auferstehungspflanze *Myrothamnus flabellifolia*, die im nächsten Kapitel beschrieben werden, waren derartige Untersuchungen ebenfalls von großem Interesse.

Deshalb wurde als Modellsystem, wie bereits eingangs erwähnt, *Nicotiana tabacum* in die Untersuchungen miteinbezogen. Tabakpflanzen sind gegenüber Trockestreß tolerant und können deshalb nach Austrocknung durch erneute Bewässerung des Bodens wieder hydratisiert werden. Nachteilig war aber, daß Xylemfluß und -druck nicht gleichzeitig an der gleichen Pflanze gemessen werden konnte, da die Pflanzen keine ausreichende Länge für simultane Druck- und NMR-Messungen aufweisen.

3.2.1 SIMULTANE FLUß-DRUCKMESSUNGEN AN *E. AUREUM*

Zeitgleiche Messungen des Xylemdrucks mit Hilfe der Druckmeßsonde und der Flußgeschwindigkeiten in den Leitungsbahnen mittels NMR-Bildgebung wurden an *E. aureum* Pflanzen bis zu etwa 13 m Länge durchgeführt. Es wurden sowohl Pflanzen verwendet, die in Erde wie auch in Hydrokulturen angezogen worden waren. Der Sproß wurde jeweils in ca. 1-2 m Entfernung von der Wurzel mittig in der Hochfrequenzspule des Klimakammerprobenkopfs fixiert. Daraufhin wurde die Pflanze mit dem Apex voran durch das Gradientenrohr geführt, bis die Hochfrequenzspule an der homogensten Stelle des Magnetfeldes positioniert war. Der Rest des aus dem Magneten herausragenden Sprosses wurde, so weit wie möglich vom Magneten (7T) entfernt, an der Xylemdrucksondenapparatur fixiert. Die Fixierung wurde in einer Entfernung von 9 bis 12 m von der Wurzel vorgenommen. Flußmessungen konnten aufgrund der horizontalen Bohrung des Magneten

nur an horizontal positionierten Pflanzen durchgeführt werden, d.h. in Abwesenheit von Schwerkraft.

Alle 30 Minuten wurde die Flußgeschwindigkeit für mehrere Gefäße ermittelt, indem wiederholt eine jeweils ca. 30 Minuten lange Serie, bestehend aus 12 flußgewichteten Spinechoaufnahmen mit unterschiedlicher Gradientenstärke, erzeugt wurde. Diese 12 Aufnahmen (4 Mittelungen) wurden dann für jeden Bildpunkt mit einer speziellen Fitfunktion (sin2-Fit) angefitet (Rokitta et al. 1999b). Dies ergab die mittlere Flußgeschwindigkeit für jedes Pixel und somit ein vollständiges Flußbild (wobei die Annahme einer laminaren Strömung gemacht wurde, siehe Kuchenbrod et al., 1996). Im Anschluß hieran wurden Flußbereiche (ROIs = Regions of Interest) ausgewählt, die Flußgeschwindigkeiten in verschiedenen Leitbündeln/Xylemgefäßen widerspiegeln, und über alle Flußbilder hin verfolgt. Während der NMR-Aufnahmen wurden am apikalen Ende der Pflanze Xylemdruckmessungen mit einer Druckmeßsonde durchgeführt und zusätzlich Lichtintensität, Temperatur und Luftfeuchtigkeit aufgezeichnet.

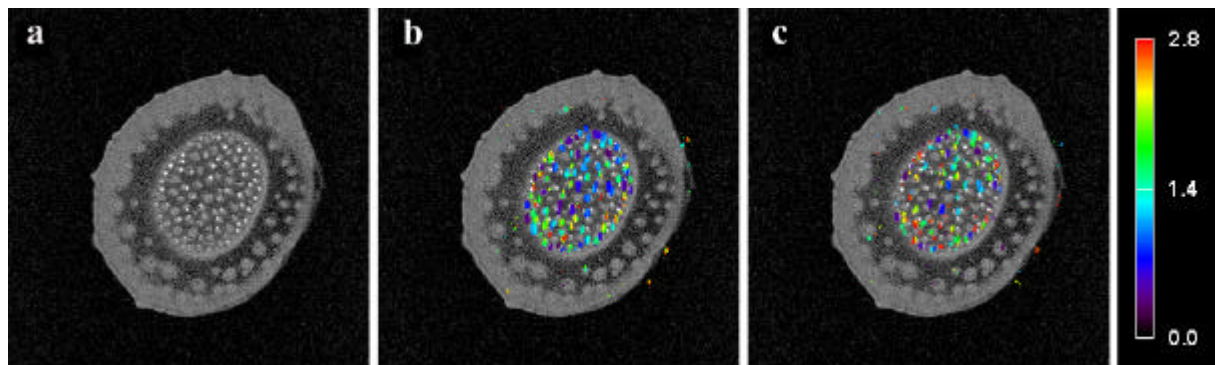


Abbildung 11

Hoch aufgelöstes Spinechobild (a), Spinechobild mit 'langsam fließendem' Flußbild überlagert (b); (14.8.99: 9:33 Uhr, $7.8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 18.8°C , 52.3%), Spinechobild mit 'schnell fließendem' Flußbild überlagert (c); (13.8.99:20:07 Uhr, $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 23.9°C , 35%).

In Abbildung 11 a ist ein hochaufgelöstes Spinechobild gezeigt, das in Abbildung 11 b mit einem langsamen und in Abbildung 11 c mit einem schnellen Flußbild überlagert ist. Die Messungen wurden an einer 13.4 m langen Hydrokulturlpflanze in 1.1 m Entfernung von der Wurzel durchgeführt (Lichtintensität 7.8 bzw. $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; Temperatur 18.8 bzw. 23.9°C , Luftfeuchtigkeit 52.3 bzw. 35% in Abb. 12 b bzw. c). Die Abbildung zeigt deutlich, daß unterschiedliche Bereiche mit verschiedenen Flußgeschwindigkeiten existierten. Ein Vergleich mit lichtmikroskopischen Querschnittsaufnahmen (siehe Abb. 2 a) zeigte, daß die 'NMR-Fluß-Bereiche' offensichtlich mit Bereichen in inneren Zylinder, die große Gefäße

aufwiesen, identisch waren. Die Geschwindigkeit in diesen Gefäßen variierte zwischen 0.53 mm s^{-1} und 2.75 mm s^{-1} . Im Xylem des äußeren Rings konnte kein Fluß detektiert werden; entweder war dieser zu langsam oder die Menge an fließenden Spins war zu gering oder nicht vorhanden.

Die Flußgeschwindigkeiten des inneren Zylinders nahmen zwar unter Umweltbedingungen, die zu einer erhöhten Transpiration führen sollten (z.B. durch Erniedrigung der Luftfeuchtigkeit) zu, aber das Auftreten verschiedener Flußbereiche blieb erhalten. Repräsentative Flußgeschwindigkeits-Profile für drei verschiedene Flußbereiche sind in Abbildung 12 a dargestellt. Der parallel in 11.7 m Entfernung von der Wurzel gemessene Xylemdruck ist in Abbildung 12 b zusammen mit dem Flußgeschwindigkeitsprofil eines ROIs aus Abbildung 12 a dargestellt ². In Abbildung 12 c sind außerdem die korrespondierenden Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsprofile gezeigt.

Eine Betrachtung der Abbildung 12 zeigt, daß die Änderungen des Xylemdrucks als Antwort auf Änderungen in der Transpirationsrate qualitativ ähnlich waren wie diejenigen, die für die tropische Liane *Tetrastigma voinerianum* gemessen worden sind (Thürmer et al., 1999). Um 15:25 Uhr wurde ein Gefäß mit einem Druck von -0.29 MPa getroffen (Temperatur 23.9°C ; Luftfeuchtigkeit 35%, ca. $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), der kontinuierlich mit abnehmender Luftfeuchtigkeit und zunehmender Temperatur abnahm. Gegen 19:30 Uhr wurde der negativste Xylemdruckwert mit -0.35 MPa gemessen (23.8°C , 34.3%, $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Während der Nachtstunden stieg der Druck im Xylem wieder langsam an, da die Temperatur ab- und die Luftfeuchtigkeit zunahm. Der 'positivste' Wert mit -0.26 MPa wurde am nächsten Morgen um 9:10 Uhr erreicht (Temperatur 18.9°C ; Luftfeuchtigkeit 52%, $3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

Wie Abbildung 12 b zeigt, schien sich der Fluß mit dem Xylemdruck (= Spannung) völlig synchron zu ändern. Zunahme in der Xylemspannung führte zu einem äquivalenten Anstieg in den Flußgeschwindigkeiten; Abnahme in der Xylemspannung zu einer entsprechenden Reduzierung der Flußgeschwindigkeiten. Die 'positive' Korrelation zwischen Fluß und Kraft wird deutlich, wenn man den Xylemdruck (bzw. die Xylemspannung) gegen die mittlere Flußgeschwindigkeit in einem Flußgeschwindigkeitsbereich aufträgt (Abb. 12 d; Flußbereich aus Abb. 12 b). Wie die Abbildung 12 d zeigt, ergibt sich ein linearer Zusammenhang

² Man beachte, daß die Druckachse invertiert dargestellt wurde (diese Auftragung entspricht formal der Auftragung des Flusses als Funktion der Xylemspannung). Diese Auftragung wurde gewählt, um den Grad der Übereinstimmung von dynamischen, transpirationsbedingten Änderungen in Druck und Fluß besser abzuschätzen zu können.

zwischen Kraft und Fluß. Dieser Zusammenhang wird auch erhalten, wenn die mittlere Flußgeschwindigkeit anderer Flußbereiche gegen den Xylemdruck aufgetragen wurde. Die in grün dargestellten Datenpunkte sind aus den Flußbildern in Abbildung 11 b und c entnommen.

Für Erdkulturpflanzen wurden die gleichen Ergebnisse erhalten.

Aufgrund der obigen Daten läßt sich deshalb feststellen, daß bei guter Wässerung der Pflanzen Xylemspannung und -fluß sich auf Transpirationsänderungen hin in der gleichen Richtung ändern.

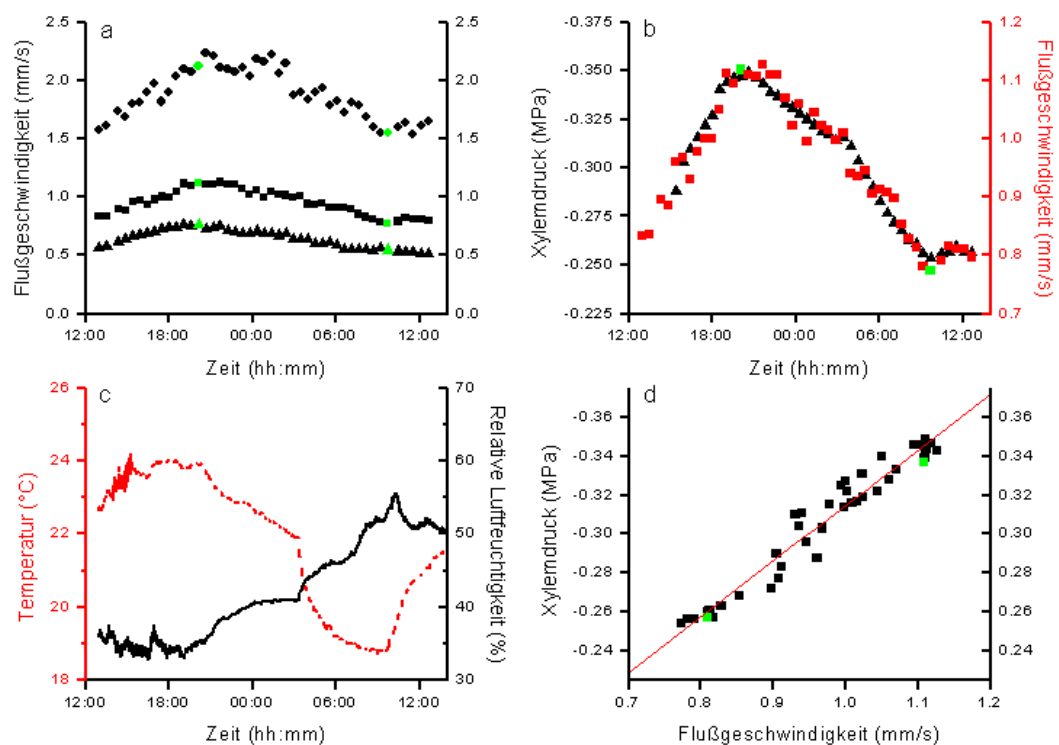


Abbildung 12

Änderungen der Flußgeschwindigkeiten von drei verschiedenen ROIs in 1.1 m Entfernung von der Wurzel im Tagesverlauf, gemessen an einer Hydrokulturpflanze (a); parallel wurde in 11.7 m Entfernung von der Wurzel der Xylemdruck (gefüllte Dreiecke) gemessen, mit einem ROI dargestellt (gefüllte Rechtecke) (b); dazugehörige Temperatur- und Luftfeuchtigkeits-Profile (c). Trägt man Xylemdruck gegen Flußgeschwindigkeit auf, so ergibt sich ein linearer Zusammenhang (d). Für weitere Erklärungen, siehe Text.

3.2.2 FLUß- UND DRUCKMESSUNGEN AN *NICOTIANA TABACUM* UNTER TROCKENSTREß

Tabakpflanzen unter Trockenstreß zeigten im Unterschied zu den gut gewässerten *E. aureum* Exemplaren eine umgekehrte Korrelation zwischen Xylemspannung und -fluß, wie im folgenden gezeigt wird. Auch hier mußten die Pflanzen im NMR-Magneten, aufgrund apparativer Gegebenheiten, horizontal positioniert gemessen werden.

Abbildung 13 zeigt typische Xylemdruckmessungen in Abhängigkeit von der Bodenfeuchte. Die Messungen wurden bei zwei verschiedenen Lichtintensitäten durchgeführt. Für beide Lichtintensitäten wurde der sogenannte 'permanente Welkepunkt' der Blätter bei einer Bodenfeuchte von ca. 30% bestimmt.

Wie Abbildung 13 a zeigt, trat bei niedrigen Lichtintensitäten bei Absenken der Bodenfeuchte auf 45% keine statistisch signifikante Änderung im Xylemdruck auf (Luftfeuchte 17-34%, Temperatur 19.5-23°C, Lichtintensität 5-10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Der Xylemdruck lag oberhalb von 45% im Mittel bei -0.1 MPa. Bei einer Bodenfeuchte unterhalb von 45% jedoch fiel der Xylemdruck mit sinkender Bodenfeuchte stark ab. Bei einer Bodenfeuchte von etwa 20 - 30% wurde ein Xylemdruck von ca. -0.45 MPa gemessen. Umfangreiche Untersuchungen zeigten, daß anscheinend viele Gefäße kavitiert waren, da keine negativen, sondern nur noch positive, subatmosphärische Werte gemessen wurden (nicht dargestellt). Bei höheren Lichtintensitäten ergab sich ein ähnlicher Befund (Abb. 13 b), mit dem Unterschied allerdings, daß der Xylemdruck bereits auf eine Abnahme der Bodenfeuchte unterhalb von 80% (Luftfeuchtigkeit 15-55%, Temperatur 21-25°C, Lichtintensität 25-29 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) reagierte. Außerdem nahm der Xylemdruck mit weiter abnehmender Bodenfeuchte langsamer ab als im vorhergehenden Fall.

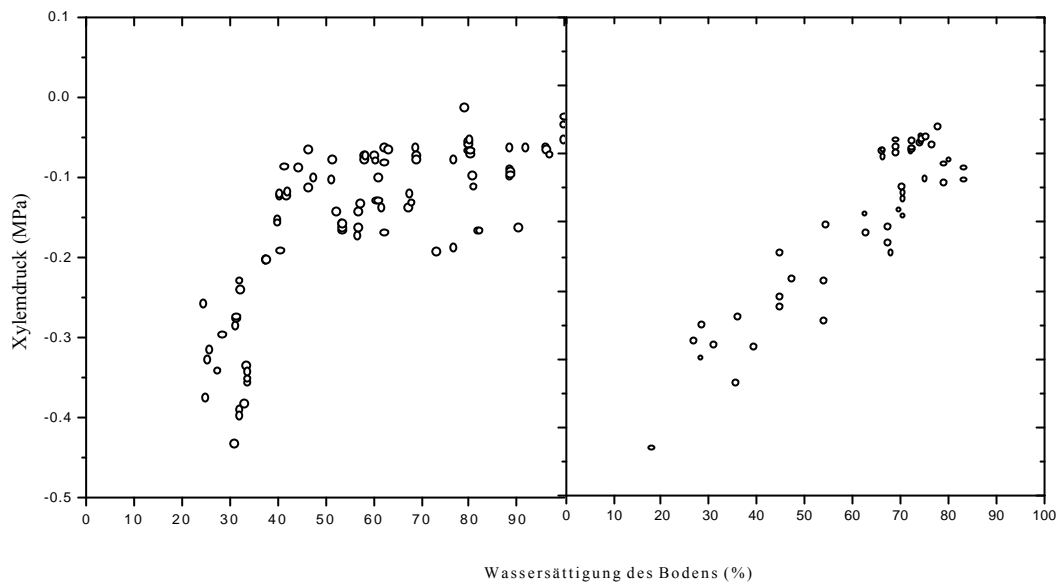


Abbildung 13

Xylemdruck in Abhängigkeit von der Wassersättigung des Boden von *Nicotiana tabacum* bei niedrigen (a) (ca. $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und bei höheren Lichtintensitäten (b) (ca. $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Die NMR- Untersuchungen ergaben weitere interessante Informationen über die Prozesse, die beim Austrocknen der Tabakpflanzen auftreten. Da die Meßzeiten am NMR Magneten begrenzt waren, konnten nur wenige Langzeitmessungen durchgeführt werden, die aber durch eine große Anzahl von Kurzzeitmessungen ihre volle Bestätigung fanden.

Wurde die Pflanze im NMR-Magneten über mehrere Tage hinweg nicht bewässert, dann schrumpfte der gesamte Sproß im Durchmesser um ca. 10% relativ zum wiederbewässerten Sproß. Dies konnte über ^1H -NMR-Spinecho-Bildgebung eindeutig nachgewiesen werden (Abb. 14). Außerdem traten im Mark und in der Rinde der Pflanze mit zunehmender Austrocknung immer größere Bereiche auf, die keine ^1H -Signalintensität mehr aufzeigten (Abb. 14 a-c). Nach erneuter Bewässerung der Pflanze verschwanden diese Bereiche allmählich wieder (Abb. 14 d, e). Die Signalintensitätszunahme schien im Mark schneller vorstatten zu gehen als in der Rinde. Über den Wassergehalt der Xylemregion konnte aus diesen Experimenten leider keine Aussagen getroffen werden, da die absoluten Signalintensitäten von Bild zu Bild aufgrund apparativer Eigenschaften variierten, so daß nur relative Intensitäten innerhalb eines Bildes verglichen werden konnten.

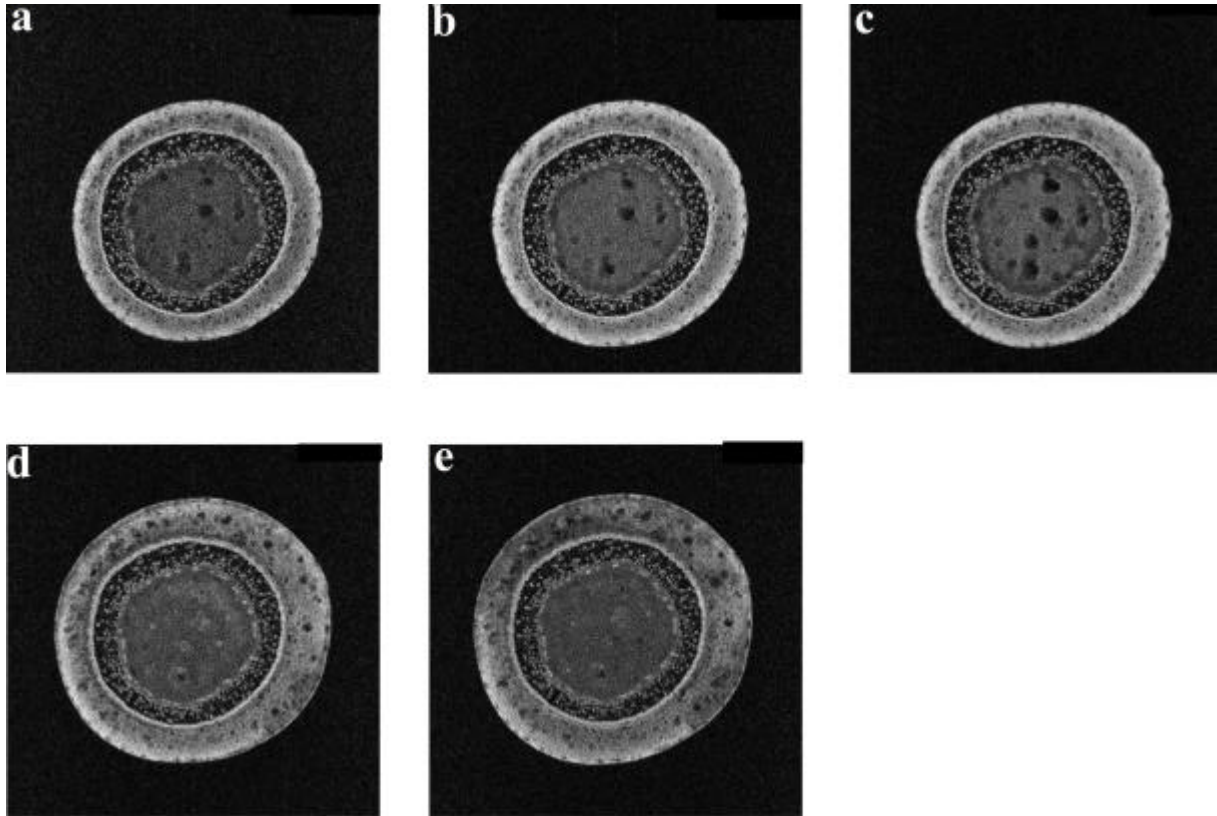


Abbildung 14

Spinechoserie über 5 Tage an einer Tabakpflanze in Sandkultur, die ca. eine Woche lang ausgetrocknet wurde (a-c) und nach deren Wiederbewässerung (d-e). a: 1. Tag: 19:00 Uhr; b: 2. Tag: 10:20 Uhr; c: 3. Tag: 13:50 Uhr; ca. 30 Stunden nach Bewässerung, d: 4. Tag: 20:10 Uhr; e: 5. Tag: 9:00 Uhr (TE=11 ms, TR=0.5s, FOV=6x6mm², Matrix=256x256, zerofilled auf 1024x1024; Schichtdicke=0.6 mm, 16 Mittelungen).

In Abbildung 15 ist eine Spinechoaufnahme mit überlagertem Flußbild und ein reines Flußbild dargestellt. Es handelte sich hierbei um eine Langzeitflußmessung, bei der die Pflanze vier Tage lang im Magneten ausgetrocknet wurde. Das linke Bild wurde am ersten Tag aufgenommen und zeigt die Pflanze im gut hydratisierten Zustand. Die mittlere Geschwindigkeit lag bei 0.5 mm s^{-1} . Das rechte Bild wurde am vierten Tag aufgenommen, nachdem die Pflanze für die Dauer des Experiments nicht gegossen wurde. Die mittlere Geschwindigkeit betrug hier nur noch 0.35 mm s^{-1} . Leider konnte aus technischen Gründen kein Spinechobild aufgenommen werden. Zur Auswertung der Flußdaten siehe Kapitel 3.2.1.

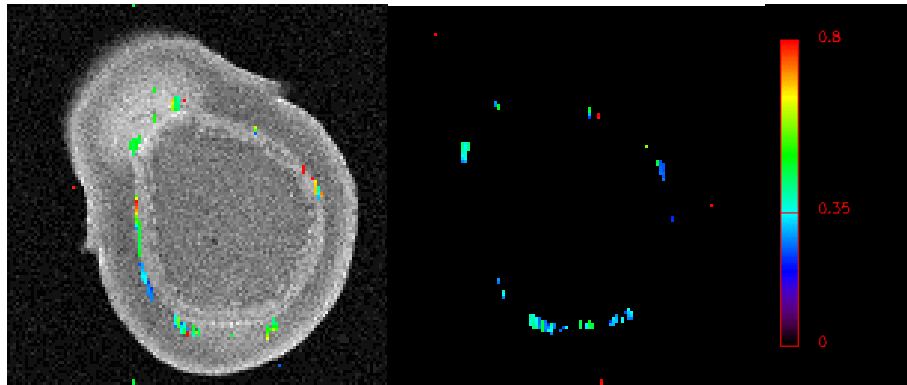


Abbildung 15

Die Abbildung zeigt ein Spinechbild (4 Mittelungen, 21 min Zeitauflösung) mit überlagerten Flußgeschwindigkeitsaufnahme und ein reines Flußbild (FOV 8x8 mm², Matrix 128x32, Schichtdicke 4 mm, TE =11ms; TR=1s). Dargestellt sind die Aufnahmen am ersten und vierten Tag einer Langzeitmessung. Am ersten Tag betrug die mittlere Geschwindigkeit 0.5 mm s⁻¹ (Pflanze gut hydratisiert). Mit zunehmender Austrocknung des Bodens nahm die mittlere Geschwindigkeit ab und betrug am vierten Tag nur noch 0.35 mm s⁻¹. Rechts ist der Referenzbalken zu den Flußgeschwindigkeiten dargestellt. Siehe auch Abb. 16.

Die Abbildung 16 zeigt die mittleren Flußgeschwindigkeiten der auch in Abbildung 15 dargestellten Flußmessung, die über vier Tage durchgeführt wurde. Es ist evident, daß die Flußgeschwindigkeit mit zunehmender Trockenheit des Bodens abnahm. Nach Einschalten des Lichtes (ca. 1000 µmol m⁻² s⁻¹) am Morgen des folgenden Tages (erster und zweiter Tag um 7:00 Uhr, dritter und vierter Tag um 6:00 Uhr) stiegen die Flußgeschwindigkeiten jeweils zwar temporär an, dennoch wurden sie im Verlauf der Tage immer niedriger.

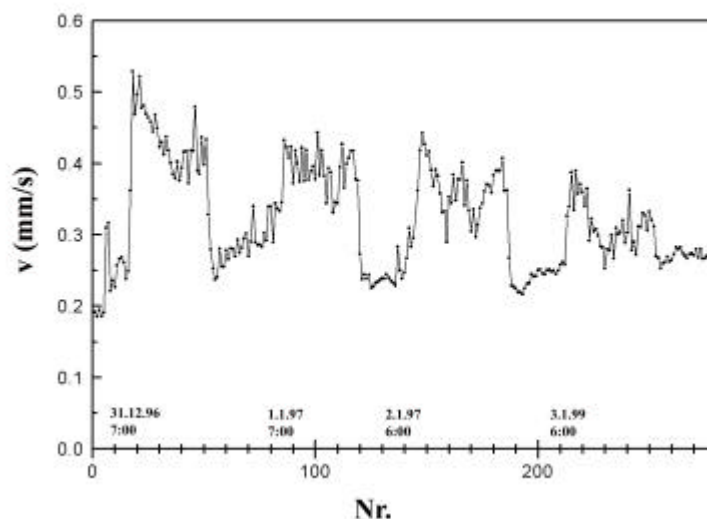


Abbildung 16

Die Graphik zeigt den zu Abbildung 15 zugehörigen Verlauf der Flußgeschwindigkeiten einer Langzeit-Flußmessung über 4 Tage an einer austrocknenden Tabakpflanze in Erdkultur (4 Mittelungen, 21min Zeitauflösung); v: Flußgeschwindigkeit, Nr.: Zahl der Aufnahmen. Am ersten und zweiten Tag wurde um 7:00 und am dritten und vierten Tag um 6:00 Uhr das Licht eingeschaltet (ca. 1000 µmol m⁻² s⁻¹). Die Lichtphase betrug am ersten Tag 12 h, an den darauffolgenden Tagen wurde sie auf 14 h, bzw. 15 h erhöht, um eine schnellere Austrocknung des Bodens zu erreichen.

In den Leitbahnen der Pflanzen konnte kein Fluß mehr detektiert werden (Detektionsgrenze ca. 0.15 mm s^{-1}) wenn die Bodenfeuchte auf ca. 20% fiel. Unmittelbar nach erneuter Bewässerung der Pflanzen waren die Flußgeschwindigkeiten aber wieder meßbar (nicht dargestellt). Lag der Bodenfeuchtwert jedoch unter 20%, etablierte sich der Fluß erst ca. zwei Stunden nach der Bewässerung wieder (Abb. 17). Die Pflanzen waren zu dieser Zeit so welk, daß die Blätter ganz gerade an ihnen herabhingen.

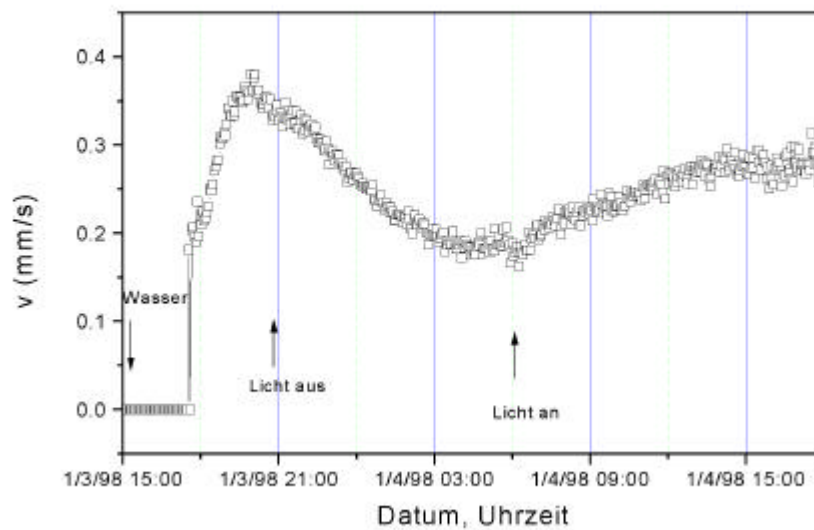


Abbildung 17

Flußmessung an einer welken Tabakpflanze in Sandkultur, deren Bodenfeuchte unterhalb 20% lag (32 Mittelungen, 7 min Zeitauflösung). Erst ca. zwei Stunden nach Bewässerung konnte wieder Fluß detektiert werden.

Die Bodenfeuchte konnte aus technischen Gründen bei den NMR-Flußbildgebungsmessungen nicht gleichzeitig mitgemessen werden, so daß die NMR-Daten nicht quantitativ mit den Druckdaten verglichen werden können. Die oben aufgeführten Messungen zeigen aber eindeutig, daß bei Trockenstreß keine 'positive' Korrelation zwischen Druck und Fluß mehr vorhanden ist. Eine Erhöhung der Xylemspannung führte nicht (wie bei *E. aureum*) zu einer Erhöhung, sondern zu einer Abnahme der Flußgeschwindigkeiten. Bei mangelnder Wasserversorgung ergibt sich also eine 'negative' Korrelation zwischen Xylemdruck und Flußgeschwindigkeiten.

3.3 *MYROTHAMNUS FLABELLIFOLIA*- MODELLPFLANZE FÜR WIEDERBEFÜLLUNG NACH KAVITATIONEN?

Die Untersuchungen an trockengestreßten Tabakpflanzen, die im vorangegangenen Abschnitt vorgestellt worden sind, haben gezeigt, daß die NMR-Bildgebung interessante Informationen über die Wasserverteilung und über die Flußgeschwindigkeit im Xylem bei ausreichender, wie auch mangelnder Wasserversorgung geben kann. Die Ergebnisse ließen auch – in Kombination mit Sondenmessungen - indirekte Schlüsse über das Auftreten der Kavitation zu. Allerdings erlaubt die NMR-Bildgebung zur Zeit nicht, Kavitationen, d.h. die Bildung von kleinen Gasbläschen, wie sie auch bei gewässerten Pflanzen bei hohen Transpirationsraten (=Xylemzugspannungen) auftreten, nachzuweisen. Ebenso wenig reicht die Auflösung der NMR-Bildgebung aus, das Verschwinden der Gasbläschen bei Wiederbefüllung der kavitierten Gefäße mit Wasser zu detektieren. Diese Prozesse sind, wie schon mehrfach erwähnt wurde, noch völlig unverstanden.

Antworten zu diesem Problemkreis können von Untersuchungen an Auferstehungspflanzen erwartet werden, da diese Pflanzen an ihrem natürlichen Standort mit dem Problem der Rehydratisierung des Xylems und des Gewebes in extremer Weise konfrontiert sind. Im folgenden soll deshalb zunächst auf Experimente zur Wiederbefüllung des Xylems von trockenen *M. flabellifolia* Zweigen eingegangen werden, um dann anschließend im nächsten Kapitel durch Xylem- und Turgordruckmessungen an gut gewässerten Pflanzen aufzuzeigen, wie weit die Ergebnisse mit denen vergleichbar sind, die an *E. aureum* erhalten wurden.

3.3.1 REHYDRATISIERUNG VON TROCKENEN ZWEIGEN

Wasseraufstiegskinetiken wurden an abgeschnittenen, luftgetrockneten Zweigen im Laboratorium und am natürlichen Standort durchgeführt. Wie bei der Efeutute, wurden die Zweige acropetal (in Richtung Zweigspitze) in verschiedene Raumrichtungen (aufrecht, horizontal liegend, über Kopf hängend) orientiert, gemessen. Die Flüssigkeitsgefäße waren ca. 3 bis 4 cm mit den zu untersuchenden Flüssigkeiten (Wasser oder Farbstofflösungen, sowie organische Lösungsmittel) gefüllt. Die maximale Steighöhe wurde entweder durch sukzessives Abschneiden (Schneidemethode) von ca. 1 mm dicken 'Scheiben' vom trockenen

Ende des Zweiges her (bis die Wasserfront, aufgrund der unterschiedlichen Lichtbrechung, zu erkennen war) oder durch Beobachten des Abspreizens (Abspreizmethode) der Blattstiele ermittelt. Die zweite Methode hatte den Vorteil, kontinuierliche Aufstiegskinetiken an einem Zweig messen zu können. So daß ein hoher Materialverbrauch und große Meßwertstreuungen vermieden werden konnten.

Verwendet wurden Zweige mit einer Länge von 60 bis 80 cm mit möglichst ähnlicher Geometrie.

Vorversuche mit Farbstoff (Tinte, Fluoreszein), die sowohl im Laboratorium als auch im Freiland durchgeführt wurden, zeigten, daß der Aufstieg nicht in allen Xylemgefäßen gleichmäßig stattfand, sondern vielmehr in einigen wenigen Gefäße schneller erfolgte als in den übrigen. Die Gefäße mit schnellen Aufstiegsraten wurden zur Datenauswertung herangezogen.

3.3.1.1 WASSERAUFSTIEG IN AUFRECHTEN ZWEIGEN

In Abbildung 18 a ist der Wasseraufstieg in trockenen Zweigen gegen die Zeit aufgetragen. Dargestellt sind die verschiedenen verwendeten Methoden, wie das Schneiden, der Farbstoffaufstieg und die Blattabspreiz-Methode. Wie man deutlich erkennen kann, werden mit allen drei Methoden ähnliche Kinetiken für den Wasseraufstieg (für Farbstoff gilt dies jedoch nur in der Anfangsphase) gemessen. Die Standardabweichung für die Blattabspreizmethode war deutlich am geringsten. Die Endhöhe des Flüssigkeitsaufstiegs, die nach 32 Stunden erreicht wurde, lag zwischen 40 und 55 cm.

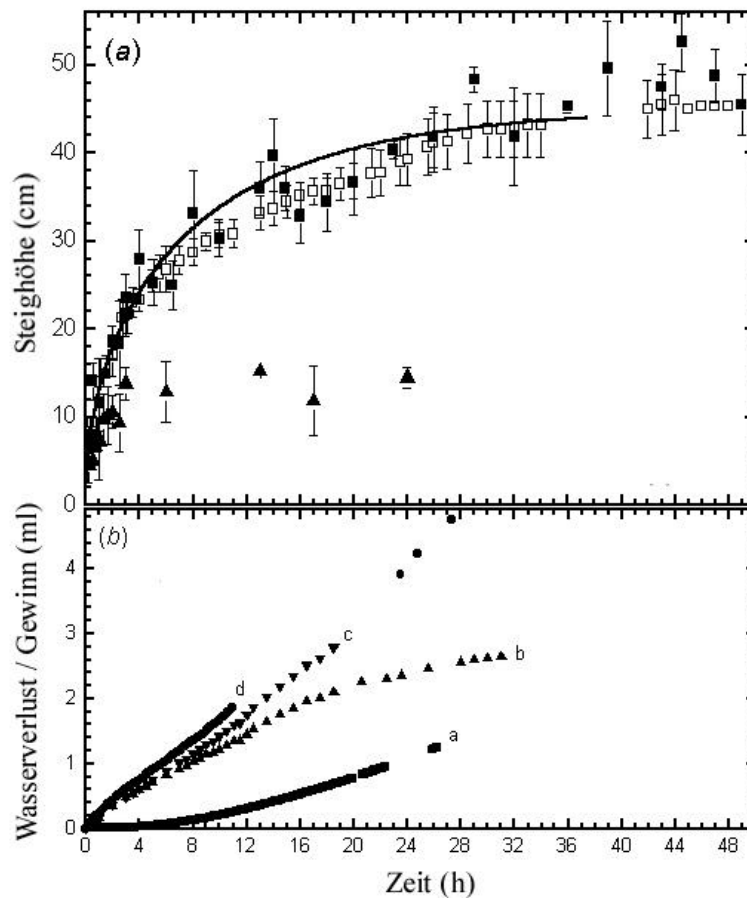


Abbildung 18

Wasseraufstiegskinetiken im Xylem (a) und Wasseraufnahmekinetiken (b) von abgeschnittenen, trockenen, 60-80 cm langen, beblätterten Zweigen von *Myrothamnus flabellifolia* Welw. gegen die Schwerkraft. Die Messungen wurden im Laboratorium bei einer Temperatur von 20-24°C durchgeführt. (a): 'Abspreizmethode' (offene Quadrate), 'Schneidemethode' (gefüllte Quadrate) und 'Aufstieg von Tinte' (gefüllte Dreiecke). Die Datenpunkte stellen Mittelwerte (\pm Standardabweichung) aus mindestens drei unabhängigen Experimenten dar. Die durchgehende Linie zeigt den besten Fit, der für den Wasseraufstieg (siehe Kapitel 3.3.1.12) erhalten wurde. (b): Transpiration (Kurve a); Gewichtszunahme (Kurve b); Gesamtwasseraufnahme (Kurve c) berechnet durch Übereinanderlegen von Kurve a und b; Gesamtwasseraufnahme gemessen mit einem potometerähnlichen Aufbau (Kurve d). Die Daten sind Mittelwerte von mindestens drei unabhängigen Experimenten. Verändert nach Schneider et al., 2000.

Die gleiche Steighöhe konnte auch beobachtet werden, wie in Abbildung 19 dargestellt, wenn die Blätter entfernt wurden. Diese Tatsache beweist, daß der Wasseraufstieg in trockenen Zweigen nicht von dem transpirationsbedingten Wasserverlust durch die Blätter beeinflusst wird.

Der obere Teil des Zweiges füllte sich unter diesen Bedingungen nie. Versuche mit abgeschnittener Spitze (Apex) wurden durchgeführt, um auszuschließen, daß ein Luftwiderstand im Apex der Zweige den Wasseraufstieg behinderte. Es zeigte sich kein Unterschied zu intakten Zweigen (nicht dargestellt), so daß ein Luftwiderstands-Effekt damit ausgeschlossen werden konnte.

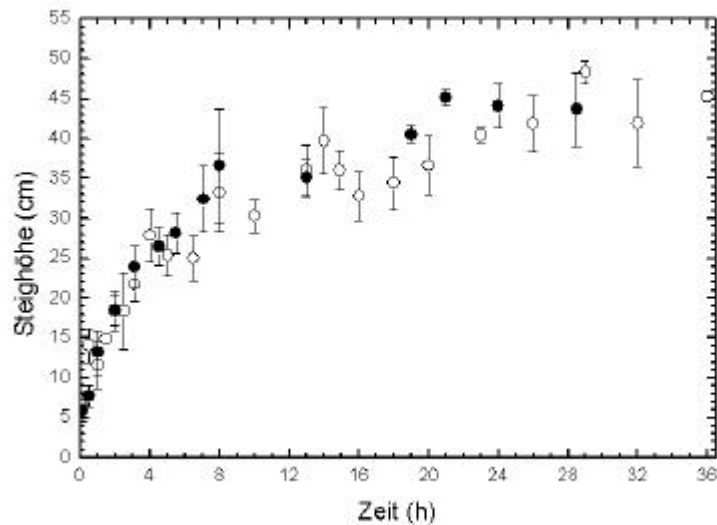


Abbildung 19

Vergleich von Wasseraufstieg in beblätterten (offene Kreise) und blattlosen (gefüllte Kreise) Zweigen ('Schneidemethode'). Die Datenpunkte stellen Mittelwerte (\pm Standardabweichung) aus mindestens drei unabhängigen Experimenten dar.

3.3.1.2 RADIALE BEFÜLLUNGSMUSTER

Aufnahmen, die mittels der NMR-Bildgebung gemacht wurden, um die Wiederbefüllung trockener Zweige zu untersuchen, konnten aufgrund technischer Beschränkungen nur horizontal durchgeführt werden. Pro Experiment konnte nur ein Datenpunkt für die Wiederbefüllungszeit und die dazugehörige Höhe gewonnen werden, da nach Einbau in den Meßkopf die Position der Zweige nicht mehr verändert werden konnte.

Um die Zeitabhängigkeit der Aufstiegskinetik einzuschätzen, wurden Aufnahmen in 4.5 – 38 cm Höhe an abgeschnittenen Zweigen vorgenommen. Diese Messungen zeigten die gleiche Wasseraufstiegskinetik wie die Abspreiz- und Schneidemethode. Aus den NMR-Bildern wurde analog zu den Schneideexperimente deutlich, daß die Befüllung des Zweigquerschnittes nicht gleichmäßig erfolgte.

Abbildung 20 a-c zeigt einen ^1H NMR Querschnitt eines trockenen Zweiges von *M. flabellifolia* 6.5 cm entfernt von der Schnittstelle 12 (a), 30 (b) und 70 (c) Minuten nach Wasserzugabe. Die weißen Punkte und Bereiche korrespondierten mit hoher Signalintensität. Man beachte, daß der Wasseraufstieg anfangs auf wenige axial gefüllte Gefäße oder Gruppen von Gefäßen, in Übereinstimmung mit der Lichtmikroskopie, beschränkt war. Die Anzahl der

axial befüllten Gefäße erhöhte sich nach gewisser Zeit (b), aber die radiale Expansion der Punkte dominierte. Das bedeutet, daß die axiale Befüllung weniger Gefäße zu einer radialen Befüllung weiterer Gefäße, bis hin zur kompletten Rehydratisierung der gesamten leitenden Xylemregion, führte. In Abbildung 20 (c) ist zu erkennen, daß sich nach 70 min (c) der geschlossene Ring von leitendem Gewebe (einschließlich Phloem) gebildet hatte, wobei das Zentrum trocken blieb. Es zeigte sich, daß der Anstieg der Signalintensität innerhalb des betrachteten Querschnitts linear mit der Zeit verlief. Dieses radiale Befüllungsmuster zeigte sich für jede beliebige Meßhöhe mit der gleichen Zeitkonstante.

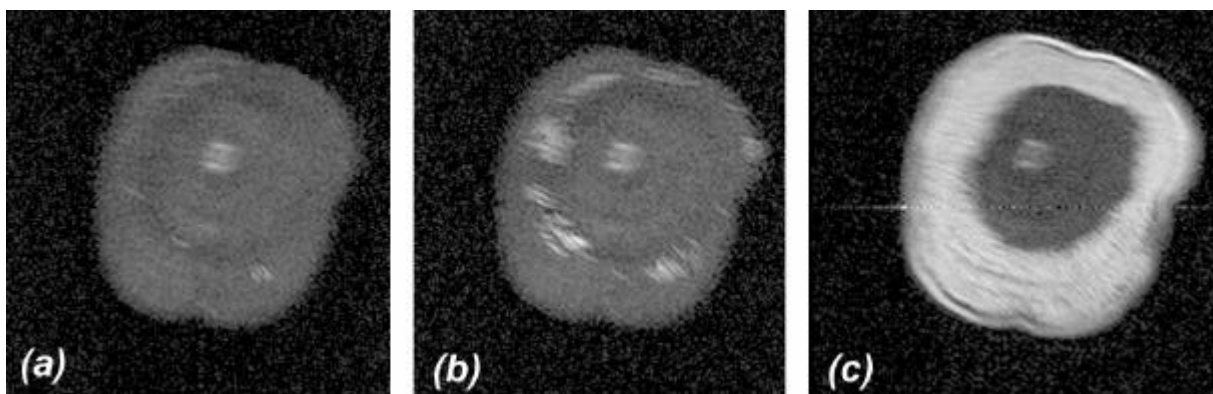


Abbildung 20

Die Abbildung zeigt einen ^1H NMR Querschnitt durch einen abgeschnittenen, 70 cm langen Zweig von *M. flabellifolia*. Die Aufnahmen wurden in 6 cm Entfernung zur Schnittfläche erstellt. Die Bilder sind 12 min (a), 30 min (b) und 70 min (c) nach der Wasserzugabe entstanden. Verändert nach Wistuba, Reich et al. (2000).

3.3.1.3 WASSERAUFNAHMERATEN UND TRANSPIRATION

Zusätzlich zu den Aufstiegskinetiken und den NMR-Aufnahmen wurden auch Wasseraufnahme- und Transpirationraten bestimmt.

Bei diesen Experimenten wurde beobachtet, daß sich nach der Bewässerung die basalen Blätter der Zweige auffalteten und innerhalb der folgenden drei Stunden ergrünten. Nach und nach ergrünten auch die darüberliegenden Blätter. Das Einsetzen der Transpiration wurde nach 4 Stunden beobachtet. Danach nahm sie kontinuierlich mit der Zeit zu (siehe Kurve a in Abb. 18 b). Die Bestimmung der Gewichtszunahme zeigte einen linearen Anstieg über einen Zeitraum von 5- 6 Stunden (siehe Kurve b in Abb. 18 b). Mit Einsetzen einer verstärkten Transpiration verringerte sich die Gewichtszunahme, bis sich nach ca. 32 Stunden ein Plateauwert einstellte. Nach dieser Zeit waren die Blätter bis zu einer Höhe von 40 – 50 cm

ergrünt. Durch das Übereinanderlegen von Kurve a und b erhielt man die totale Wasseraufnahme der Zweige (Kurve c), die nahezu linear mit der Zeit war. Diese berechnete totale Wasseraufnahmerate konnte durch die direkte Messung unter Verwendung eines potometerähnlichen Versuchsaufbaus (Kurve d) bestätigt werden.

3.3.1.4 FARBSTOFFAUFGSTIEG IN AUFRECHTEN ZWEIGEN

Abbildung 18 a zeigt ebenso Aufstiegsexperimente mit Farbstoffen. Der Aufstieg von Tinte war bereits nach 3 h beendet. Die erreichte Endhöhe lag dabei zwischen 8 und 20 cm. Außerdem ergrünten die Zweige nicht, wenn Tinte als Marker verwendet wurde. Andere Farbstoffe, wie Fluoreszein, Toluidinblau und Anilinblau hingegen zeigten ein ähnliches Verhalten wie Wasser (nicht dargestellt). Der Effekt der Tinte auf die Aufstiegs kinetik läßt sich möglicherweise auf die in dieser Flüssigkeit enthaltenen, kationischen Detergenzien (Adamson & Gast, 1997) und/oder auf den hohen osmotischen Druck dieser Farblösung (290 mOsmol, kryoskopisch gemessen) zurückführen. Ein Viskositätseffekt dürfte dagegen keine signifikante Rolle spielen, denn die dynamische Viskosität unterschied sich praktisch nicht von der des Wassers. Allerdings läßt sich eine Aufkonzentrierung der Tinte in den Gefäßen, und damit eine Viskositätserhöhung, nicht ausschließen. Dies könnte durch eine radiale Wasserextraktion aus den Xylemgefäßen bei langer Beladungszeit auftreten (Canny, 1990, Canny, 1993).

Der Einfluß von Detergenzien auf den Wasseraufstieg im Xylem wurde durch die Beladung der Zweige mit verschiedenen kationischen oder anionischen Detergenzien untersucht (1%ige SDS-, CASS-, CTAB+ Lösungen). Die erzielten Endhöhen lagen im Durchschnitt 10 cm niedriger als die von Wasser. Diese Reduktion war damit geringer als die, die für Tinte beobachtet wurde. Dieser Sachverhalt deutet darauf hin, daß der osmotische Druck der Tinte hauptsächlich für die schlechten Marker-Eigenschaften dieses Farbstoffes verantwortlich war.

3.3.1.5 EINFLUSS DES OSMOTISCHEN DRUCKES AUF DEN WASSERAUFSTIEG IN AUFRECHTEN ZWEIGEN

Die spezifische Leitfähigkeit von Tinte betrug ca. 3 mS cm^{-1} . Dies entspricht der Leitfähigkeit von 23 mM KCl- oder NaCl-Lösungen (ca. 40 mOsmol), wenn man die Ladung der kolloidalen Partikel der Tinte vernachlässigt. Tinte enthält ca. 250 mOsmol eines Nichtelektrolyten.

Abbildung 21 zeigt Aufstiegskinetiken für trockene *Myrothamnus*-Zweige bei Verwendung unterschiedlicher Osmotika in der Befüllungslösung. Wurden ansteigende Konzentrationen von wässriger KCl-Lösung verwendet, so zeigte sich erst ab einer Konzentration von 100 mM KCl eine Beeinflussung der Aufstiegskinetik und damit der Endhöhe. Eine 1000 mM KCl-Lösung (1800 mOsmol) reduzierte die Endhöhe auf 20-25 cm. Zucker wie Mannit, Trehalose und Raffinose zeigten bereits in Konzentrationen von 50 mM bis 200 mM den gleichen Effekt. Je höher das Molekulargewicht des eingesetzten Zuckers war, desto höher war seine Effizienz. Neben der Reduktion der Endhöhe bewirkten die Zucker häufig eine Verzögerung des Ergrünens oder verhinderten dieses sogar vollständig.

Messungen der Viskosität der Elektrolyt- und Zuckerlösungen zeigten keine signifikanten Unterschiede zu Wasser. Der Effekt von KCl und den Zuckern schien osmotischer Natur zu sein, obwohl auch für den Fall der Zucker eine Akkumulation im Xylem und eine damit einhergehende Viskositätserhöhung nicht ganz ausgeschlossen werden konnte (siehe Kapitel 3.3.1.4). Das läßt darauf schließen, daß das Xylem ein osmotisch wirksames Kompartiment, umgeben von longitudinalen und radialen selektiv permeablen Barrieren, darstellt. In diesem Fall müssen die Reflexionskoeffizienten für Zucker und speziell für KCl aber aufgrund der wirksamen Konzentrationen an Osmotikum sehr niedrig sein.

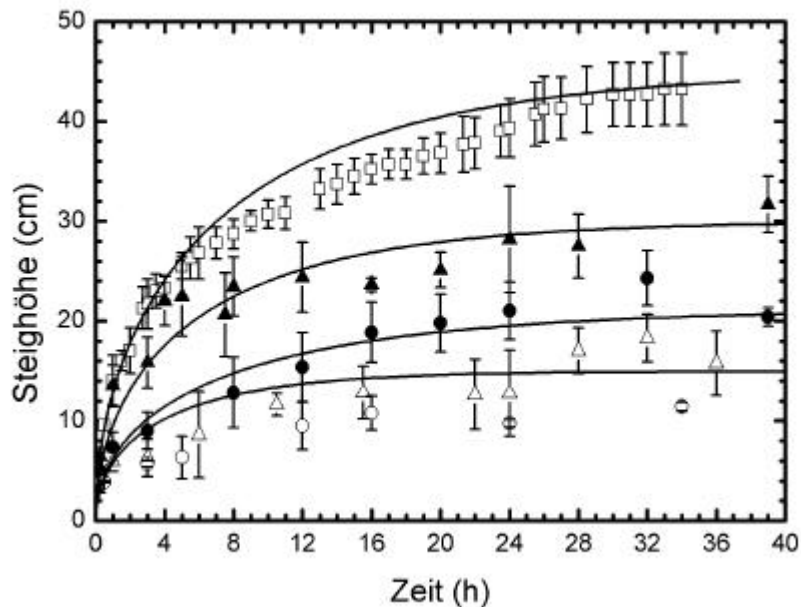


Abbildung 21

Experimente zum Einfluß verschiedener osmotisch wirksamer Substanzen auf den Wasseraufstieg in trockenen beblätterten Zweigen. 100 mM KCl (gefüllte Dreiecke), 1 M KCl (gefüllte Kreise), 200 mM Mannit (offene Dreiecke), 50 mM Raffinose (offene Kreise), Wasser (offene Rechtecke). Die Messungen wurden mittels der Schneidemethode und im Fall von Wasser mit der Abspreizmethode durchgeführt. Die Datenpunkte stellen Mittelwerte (\pm Standardabweichung) von mindestens drei unabhängigen Experimenten dar. Die durchgehenden Linien zeigen die besten Fits, die für den Wasseraufstieg (siehe Kapitel 3.3.1.12) erhalten wurden. Verändert nach Schneider, Wistuba, et al. 2000.

3.3.1.6 WASSERAUFSTIEG IN AUFRECHTEN, GESCHÄLTEN ZWEIGEN

Eine nähere Charakterisierung derjenigen Gewebebereiche, die für die radiale Wasserextraktion eine Rolle spielen könnten, wurde durchgeführt, in dem man Zweige verwendete, deren Rinde, Phelloderm, Kortex und Phloem vorsichtig mit einer Rasierklinge abgeschabt wurde. Die Zweige wurden zusätzlich mit Silikon umgeben und mit Parafilm versiegelt, um den Wasserverlust über die gesamte Länge zu verhindern.

Abbildung 22 a zeigt, daß Wasser mit einer ähnlichen Kinetik in diesen Zweigen aufsteigt, wie in intakten Zweigen bei denen das aufsteigende Wasser osmotisch aktive Substanzen (z.B. 100 mM KCl; siehe Abb. 21) enthielt. In beiden Fällen wurde eine Endhöhe von 20-28 cm erreicht. Für die Wasseraufnahmeraten (siehe Abb. 22 b) ergab sich eine drastische Reduktion im Vergleich zu intakten Zweigen. Bereits nach 32 Stunden wurde ein Plateauwert erreicht.

Im Gegensatz dazu zeigte sich eine schnellere Wasseraufnahme bei geschälten, nicht versiegelten Zweigen (Abb. 22 b). Das deutete darauf hin, daß das äußere lebende Gewebe als

Evaporationsschutz dient. Abgesehen davon waren die Wasseraufstiegskinetiken und das Wasservolumen, das von diesen Zweigen aufgenommen wurde (bestimmt durch Wägen), ähnlich dem von geschälten, versiegelten Zweigen (Abb. 22 a und b). Damit konnte ausgeschlossen werden, daß eine seitliche Evaporation über die gesamte geschälte Astlänge den Wasseraufstieg im Xylem reduzierte. Die Tatsache, daß bei versiegelten und nicht-versiegelten Zweigen die Endhöhe des Wasseraufstiegs geringer ist als in intakten Zweigen, beweist, daß die radiale Wasserbefüllung des äußeren lebenden Gewebes einen entscheidenden Einfluß auf den longitudinalen Wasseraufstieg hat.

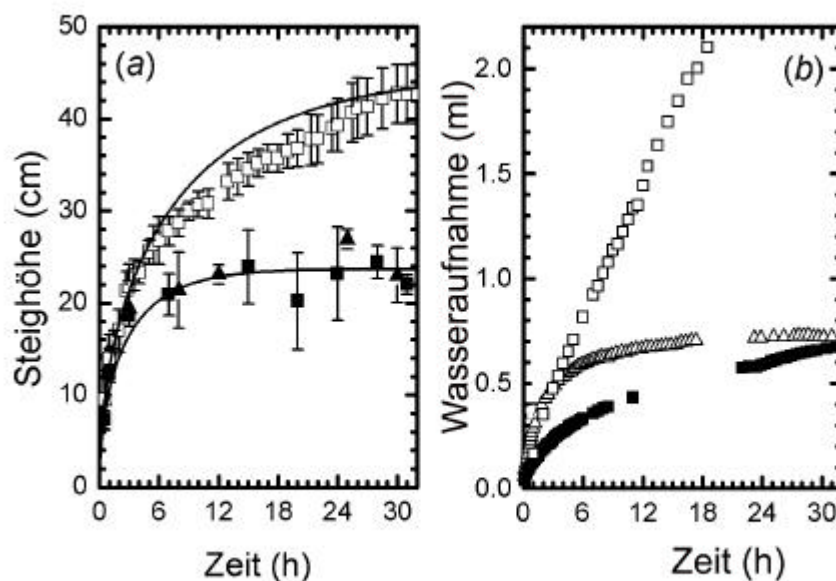


Abbildung 22

Effekt der Entfernung des äußeren, lebenden Gewebes von trockenen Zweigen auf die Wiederbefüllung, den Wasseraufstieg gegen die Schwerkraft (a) und auf die Wasseraufnahme (b). Wasseraufstiegskinetiken von intakten (offene Rechtecke) und geschälten, aber mit Silikon und Parafilm versiegelten Zweigen (gefüllte Quadrate), und ohne Versiegelung (gefüllte Dreiecke). Die durchgehenden Linien zeigen die besten Fits, die für den Wasseraufstieg (siehe Kapitel 3.3.1.12) erhalten wurden. (b) Wasseraufnahme von intakten, beblätterten Zweigen (Wägen, offene Quadrate), von geschälten und versiegelten Zweigen (Potometer, gefüllte Quadrate) und geschälten Zweigen (Wägen, offene Dreiecke). Die Datenpunkte stellen Mittelwerte (\pm Standardabweichung) von mindestens drei unabhängigen Experimenten dar. Verändert nach Schneider, Wistuba, et al. 2000.

3.3.1.7 EINFLUSS VON HYDROSTATISCHEM DRUCK AUF DIE BEFÜLLUNG

Der Schwerkraftsterm $\rho g h$ kompensiert die axialen Kapillarkräfte und den radialen Wasserverlust, wenn die Endhöhe von 40–55 cm erreicht ist. Eine Steighöhe von 45 cm

entspricht einem hydrostatischen Druck einer Wassersäule von 4.0-5.5 kPa. Aus diesem Grund sollte eine hydrostatische Druckapplikation von gleicher oder höherer Größenordnung den Aufstieg im Xylem erleichtern. In Übereinstimmung hiermit, zeigt Abbildung 23, daß bei einer Druckapplikation von 8 kPa, nach ca. 4 Stunden eine Endhöhe von 50 cm erreicht wurde. Bei einer Druckapplikation von 100 kPa wurde diese Endhöhe bereits nach 30 Minuten erreicht. Erwähnenswert ist auch die Tatsache, daß mit Hilfe von nur 8 kPa Druck 60 – 80 cm lange Zweige bis zur Spitze befüllt werden konnten.

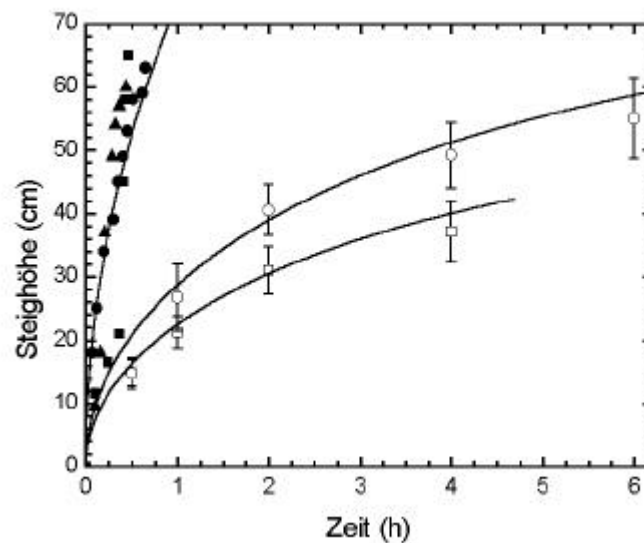


Abbildung 23

Externe Druckapplikation auf die acropetale Wiederbefüllungskinetik von aufrechten, beblätterten (trockenen) Zweigen im Laboratorium. Symbole: Druckapplikation mittels vertikaler Wassersäule: 4.5 kPa (offene Quadrate) und 8 kPa (offene Kreise), bestimmt mit 'Schneidemethode', Mittelwerte (\pm Standardabweichung) von mindestens drei unabhängigen Experimenten. Applikation von Luftdruck auf ein Wasserdepot über eine Membran: 100 kPa (gefüllte Symbole), bestimmt mit 'Abspreizmethode', vollständige Kinetik einzelner Zweige. Die durchgehenden Linien zeigen die besten Fits, die für den Wasseraufstieg (siehe Kapitel 3.3.1.12) erhalten wurden. Verändert nach Schneider et al., 2000.

Intakte Pflanzen im Freiland zeigten ähnliche Aufstiegskinetiken wie Zweige, die mit einem Druck von 13.5 kPa befüllt wurden. Auch hier ergrünten die Zweige einschließlich Apex. Bei intakten Pflanzen muß dementsprechend ein Wurzeldruck vorhanden sein. Dies konnte im Freiland bestätigt werden, indem man einen Schlauch mit 3 mm Innendurchmesser auf den Stumpf eines abgeschnittenen Zweiges einer trockenen Pflanze anbrachte. Nach Bewässerung der Pflanze erfolgte die Exudation aus dem Stumpf linear mit einer Rate von $20 \mu\text{l min}^{-1}$, und die Endhöhe im Schlauch betrug etwa 1.3 m (entspricht einem hydrostatischen Druck von ca. 13 kPa). Dieser Wert liegt höher als in der Literatur beschrieben (2.4 kPa, Sherwin et al., 1998).

3.3.1.8 TEMPERATURABHÄNGIGKEIT DER WIEDERBEFÜLLUNG

Die Temperatur im Freiland variierte besonders am Tag sehr stark (Lufttemperatur bis 40°C) im Gegensatz zu der nahezu konstanten Laboratoriumstemperatur (ca. 20°C). Zusätzlich existierten Temperaturgradienten zwischen Basis und Apex der Pflanze von bis zu 20°C (nicht dargestellt). Gegensätzliche Gradienten bildeten sich zwischen der Bodenoberfläche und den unteren Bodenschichten aus: Durchschnittlich war die Temperatur in 10 cm Tiefe um 15°C geringer als an der Oberfläche.

Diese Gradienten konnten im Laboratorium nicht nachgestellt werden, aus diesem Grund wurden Experimente mit erhöhter konstanter Lufttemperatur (bis 40°C) durchgeführt (nicht dargestellt). Es zeigte sich, daß die Aufstiegskinetik anfänglich zwar schneller war als bei normaler Raumtemperatur (20°C), dennoch blieb die Endhöhe gleich. Diese anfänglich schnellere Kinetik ließ sich auf die durch die erhöhte Temperatur hervorgerufene Verminderung der Viskosität des Wassers zurückführen.

Die Temperatur im Freiland überschritt selbst an der Basis der intakten Pflanzen auf Granituntergrund niemals 60 – 70°C. Experimente mit weitaus höheren Temperaturen wurden durchgeführt, um die Zellen abzutöten und um weitere Hinweise auf deren Einfluß auf den Wasseraufstieg zu erhalten. Zu diesem Zweck wurden Zweige 3 cm tief in 80 – 100°C heißes Wasser eingetaucht. Es konnte beobachtet werden, daß sich die Anfangskinetik nicht von der normal behandelten Zweige unterschied. Die Endhöhe jedoch überschritt 20 cm selbst nach 16 Stunden nicht. Die mikroskopische Begutachtung der Zweigbereiche, die mit dem heißen Wasser in Kontakt kamen, stellte heraus, daß die lebenden Zellen stark beschädigt oder zerstört waren. Schnitt man nun den unteren, zerstörten Teil des Zweiges ab und stellte den oberen, intakten Teil wieder in 20°C warmes Wasser, so konnte man eine ganz normale Aufstiegskinetik, wie sie in Abbildung 18 a dargestellt ist, beobachten.

Wurden Zweige 6 Stunden mit 20°C warmem Wasser beladen und 1 – 2 Wochen im Ofen bei 90°C getrocknet, stellte sich ebenfalls eine Reduktion der Endhöhe heraus. Auch in diesem Fall wurde eine Endhöhe von 20 cm nicht überschritten. Ähnliches konnte bei grünen Zweigen, die 1 min in die Mikrowelle gelegt und dann bei 20°C getrocknet wurden, beobachtet werden. Auch hier zeigten mikroskopische Untersuchungen, daß die jeweilige Behandlung die meisten Parenchymzellen getötet hatte.

3.3.1.9 WASSERAUFSTIEG IN HORIZONTAL ORIENTIERTEN ZWEIGEN

Die Experimente unter Ausschluß der Schwerkraft, also mit horizontal orientierten Zweigen, zeigten, daß die Wasseraufstiegsrate (abgesehen von der Anfangsphase) ähnlich der von aufrechten Zweigen, die mit 4.5 kPa Druck befüllt wurden, war. Innerhalb von 15 Stunden wurde eine Höhe von 70 cm (nicht dargestellt) erreicht und die Blätter ergrünten bis zu dieser Höhe. Die Anfangsgeschwindigkeit war vergleichbar mit der aufrechter Zweige ohne Druck. Dies war zu erwarten, da der Schwerkrafteinfluß der Wassersäule in aufrechten Zweigen innerhalb der ersten Stunde (ca. 1 kPa) vernachlässigbar ist.

Der Temperatureffekt (40°C) auf den Wasseraufstieg in horizontalen Zweigen war vergleichbar mit dem bei aufrechten Zweigen. Eine Erhöhung der Temperatur resultierte auch hier in einer Beschleunigung der Anfangskinetik von Wasser, aber die Endhöhe wurde nicht von der Temperatur beeinflusst.

3.3.1.10 WASSERAUFSTIEG IN UMGEDREHTEN ZWEIGEN

Eine deutlich schnellere Kinetik, als gegen und ohne die Schwerkraft, erhielt man, wenn die Zweige in Richtung der Schwerkraft beladen wurden. Die Befüllungsrate war über die gesamte Zweiglänge annähernd konstant. In diesem Fall konnten 80 cm lange Zweige innerhalb von 7 Stunden bis zum Apex befüllt werden (nicht dargestellt) und die Blätter wurden innerhalb eines Tages grün.

Diese Versuche wurden im Laboratorium durchgeführt (22-24°C; 20-40%; $6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

3.3.1.11 AUFSTIEG VON ORGANISCHEN LÖSUNGSMITTELN IN TROCKENEN ZWEIGEN

Die Benetzungseigenschaften der Xylemwände wurden untersucht, in dem man organische Lösungsmittel an Stelle von Wasser in trockenen Zweigen aufsteigen ließ. Wie in Abbildung 24 deutlich wird, konnte bei der Verwendung von Benzol als Aufstiegsflüssigkeit eine ähnlich schnelle Kinetik wie beim Wasseraufstieg beobachtet werden. Die erreichte Endhöhe des Benzols lag im Durchschnitt sogar höher als die, die für Wasser gemessen wurde.

Nach dem Benzolaufstieg getrocknete Zweige zeigten bei anschließender Wasserbeladung keinen Unterschied zu den nicht benzolbehandelten Kontrollen. Daraus ließ sich schließen, daß das aufsteigende Benzol offensichtlich die Oberflächeneigenschaften der Xylemwände nicht veränderte und ebenso keine toxische Wirkung auf das umliegende Gewebe hatte. Dies wurde auch von mikroskopischen Untersuchungen gestützt, die auf keinerlei Zellschädigungen nach dem Benzolaufstieg hindeuteten. In mikroskopischen Schnitten aber, bei denen das zugegebene Benzol direkten Kontakt zu den Zellen unbehauelter Zweigquerschnitte hatte, zeigten sich starke Zellschädigungen. Dies bedeutete für die Benzolaufstiegsexperimente, daß das Benzol nicht in das umliegende, lebende Gewebe gelangt sein konnte. Ein Einfluß dieses Gewebes auf den Benzolaufstieg kann damit ausgeschlossen werden. Dies läßt darauf schließen, daß die größere Endhöhe im Vergleich zu Wasser nur aufgrund von besseren Benetzungseigenschaften der Xylemwände für Benzol zustande kommen kann. Diese müssen daher einen hydrophoben Charakter aufweisen.

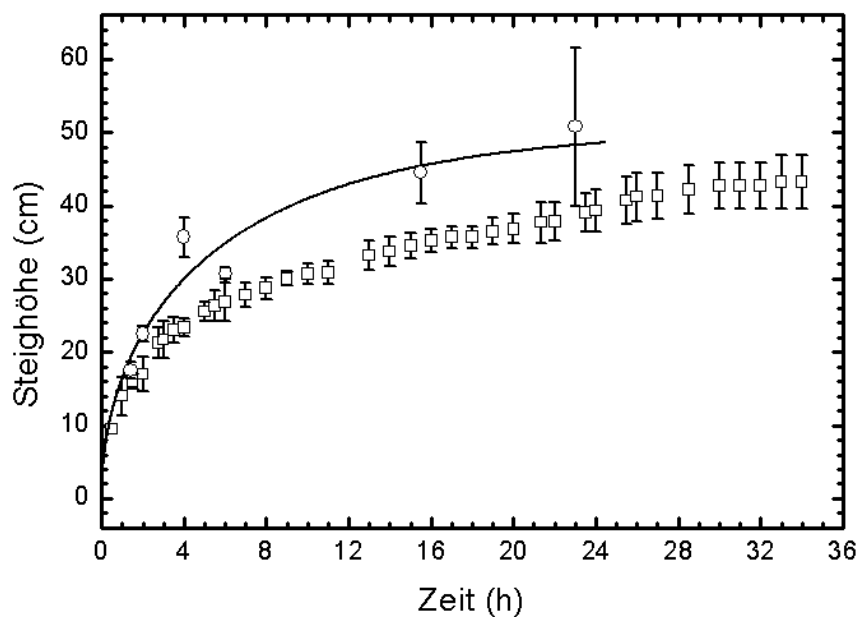


Abbildung 24

Aufstieg von Benzol (Kreise) im Vergleich zur Wasseraufstiegskinetik (Quadrate). Die Messungen wurden im Laboratorium, bei einer Temperatur von 20-24°C mit der ‚Schneidemethode‘ und der ‚Abspreizmethode‘ durchgeführt. Die Daten zeigen Mittelwerte (\pm Standardabweichung) von mindestens drei unabhängigen Experimenten. Die durchgehende Linie zeigt den besten Fit, der für den Wasseraufstieg (siehe Kapitel 3.3.1.12) erhalten wurde. Verändert nach Wagner, Schneider, et al. 2000.

3.3.1.12 THEORETISCHE ÜBERLEGUNGEN ZUR DATENAUSWERTUNG UND BEURTEILUNGEN DER EXPERIMENTELLEN ERGEBNISSE

Eine Wiederbefüllung mittels Kapillarkräften erschien zu Anfang der Experimente in diesem System aufgrund der vorliegenden Literatur wahrscheinlich (Gaff 1977). Wie die vorgestellten Ergebnisse jedoch zeigten, handelt es sich beim Xylem von *M. flabellifolia* nicht um undurchlässige Kapillaren, d.h. es findet eine Wasserextraktion durch die Wände (Tüpfel) statt (siehe Kapitel 3.3.1.2). Der radiale Wasserfluß greift in den axialen (longitudinalen) Fluß während der Wiederbefüllung des Xylems ein, dies wird u.a. dadurch deutlich, daß die aufsteigende Wasserfront und das Abspreizen der Blätter nur wenig zeitlich verzögert zu beobachten waren. Außerdem konnte gezeigt werden, daß im intakten System eine Befüllung allein über den Wurzeldruck möglich ist, während im abgeschnittenen System eine Kapillarbefüllung unter Berücksichtigung der radialen Wasserextraktion angenommen werden kann (außer im Fall von Druckapplikation).

Berücksichtigt man diese Wasserextraktion aus dem Xylem, müssen die klassischen Gleichungen zur Kapillarbefüllung von Washburn (1921) und Rideal (1922) in Analogie zu Canny (1991) und Altus, Canny & Blackman (1985b) mit Hilfe der Hagen-Poiseuille-Gleichung (Gleichung 3), für die Aufstiegsgeschwindigkeit einer Kapillare mit undurchlässigen Wänden, modifiziert werden.

$$v = r^2 \Delta P / (8 \mathbf{h} l)$$

Gleichung 3

Mit Geschwindigkeit v , Radius r , Druckdifferenz ΔP , Viskosität η und Länge l .

Daraus ergibt sich als Endgleichung:

$$t = \frac{1}{2a} \ln \left(\frac{ah^2 + bh + c}{c} \right) + \frac{b}{a\sqrt{-\Delta}} \cdot \left[\operatorname{arctanh} \left(\frac{2ah + b}{\sqrt{-\Delta}} \right) - \operatorname{arctanh} \left(\frac{b}{\sqrt{-\Delta}} \right) \right]$$

$$\text{mit } a = \frac{-V_l}{2\rho r^2}, \quad b = \pm \frac{\mathbf{r} g r^2}{8 \mathbf{h}}; \quad c = \frac{\mathbf{s} r \cdot \cos \Theta}{4 \mathbf{h}}, \quad \text{und } \Delta = 4ac - b^2$$

Gleichung 4

Mit t Zeit, V_l radiale Extraktionsrate, r Radius, h Höhe, ρ Dichte, g Gravitationskonstante, η Viskosität, σ Oberflächenspannung, Θ Kontaktwinkel.

Der Term b stellt den Schwerkräftenanteil dar, der bei horizontalen Zweigen wegfällt, bei aufrechten abgezogen und bei Befüllung mit der Schwerkraft (umgedrehte Zweige) addiert wird. Zur näheren Erläuterung siehe Schneider et al. (2000), Wagner (2000).

Um die Zahl der Unbekannten zu reduzieren wurden die Dichte und Viskosität des Wassers bei 20°C und 40°C mit $\rho_{20} = 998 \text{ kg m}^{-3}$, $\eta_{20} = 1.002 \cdot 10^{-3} \text{ kg m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ und $\rho_{40} = 992 \text{ kg m}^{-3}$, $\eta_{40} = 0.653 \cdot 10^{-3} \text{ kg m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ angenommen.

Die oben gezeigte Gleichung 4 war nötig um befriedigende Fits für den Wasseraufstieg abgeschnittener Zweige gegen und in Abwesenheit der Schwerkraft (Tabelle 2) zu erlangen. Wie theoretisch erwartet wurde, beeinflusste die Annahme eines radialen Wasserverlustes aus dem Xylem die Endhöhe des Wasseraufstiegs, aber nicht die Anfangskinetik (bis ca. 10 cm). Die Aufstiegskinetiken, die mit Druck durchgeführt wurden (in Richtung Schwerkraft, externer Druck, Wurzeldruck) konnten sowohl mit der Gleichung für undurchlässige Kapillaren (nicht dargestellt), als auch mit Gleichung 4 gut angefitet werden. Dies ist verständlich, da die radiale Komponente in diesen Fällen im Vergleich zum axialen Fluß sehr viel kleiner ist.

Eine gute Übereinstimmung der experimentellen Daten mit der Theorie (Gleichung 4), konnte nur dann erreicht werden, wenn die Datenpunkte der ersten 10 min (bis zu einer Höhe von 4-6 cm) vernachlässigt wurden und der Radius der Kapillare mit sehr kleinen Werten, im Vergleich zur mittleren Größe der Radien der Gefäße (18 μm , Carlquist, 1976), angenommen wurde. Das Fitten der Abspreizdaten in Abb. 18 ergab einen Radius von 1 μm und eine radiale Extraktionsrate von $1 \cdot 10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ (Tabelle 2). Die Verwendung eines größeren Radius führte zu schlechteren Fits, worauf der Radius von 1 μm für das Fitten der anderen Kurven verwendet wurde (Abb. 21, 22 a). Ausnahmen ergaben sich beim Wasseraufstieg mit Druck (besonders wenn der Druck 8 kPa überstieg), hier wurden bei einem Radius von 1.7-4.4 μm ebenso gute Fits erhalten und auch- in manchen Fällen- wenn die Kapillarkraft vernachlässigt wurde (siehe Tabelle 3).

Werte für die radiale Extraktionsrate, V_l , und den Term $\sigma \cos \Theta$, die aus den Fits erhalten wurden sind ebenso in Tabelle 2 und 3 dargestellt. Es zeigte sich, daß V_l annähernd konstant für den Aufstieg unter eigenem Kapillardruck war, aber variierte, wenn ein Druck angelegt wurde (Schwerkraft, externer Druck oder Wurzeldruck). Die Werte für den Kontaktwinkel zwischen aufsteigender Flüssigkeit und Xylemwand hingen von der Oberflächenspannung ab und umgekehrt. In Tabelle 2 und 3 wurden die Kontaktwinkel für $\sigma = 7 \cdot 10^{-2} \text{ N m}^{-1}$ (entspricht der Oberflächenspannung von reinem Wasser zu Luft), für $\sigma = 5 \cdot 10^{-2} \text{ N m}^{-1}$ (entspricht einer Öl/Wasser Grenzfläche, Ohki, 1988) und für $\sigma = 3 \cdot 10^{-2} \text{ N m}^{-1}$ (simuliert den Fall, wenn Lipide im Wasser gelöst sind, vergleiche Johansson, Curstedt & Robertson, 1994) berechnet. Die Betrachtung der Daten aus Tabelle 2 und 3 zeigt, daß entweder die Oberflächenspannung

sehr niedrig oder der Kontaktwinkel sehr hoch ist und daß ein Ansteigen der treibenden Kraft den Kontaktwinkel verringert.

Das Fitten der Wasseraufstiegskinetiken von osmotisch behandelten, erhitzten oder geschälten Zweigen war wegen der großen Meßwertstreuung und den niedrigen Endhöhen (ca. 20 cm) nicht besonders gut. Angemessene Fits wurden erhalten, wenn V_I nahe 0 oder auf sehr niedrige Werte gesetzt wurde (nicht dargestellt). Im Fall der Aufstiegskinetik von 100 mM-KCl wurden die besten Fits bei einem V_I von $3\text{-}7\cdot 10^{-17} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ erhalten, dies deutet auf eine signifikante radiale Wasserextraktion hin. Es zeigte sich weiterhin, daß die Kontaktwinkel für manipulierte Zweige unabhängig von der ausgewählten Oberflächenspannung noch höher als bei nicht manipulierte Zweige lagen (80-89°). In beiden Fällen weisen die großen berechneten Kontaktwinkel auf eine schlechte Benetzbarkeit der Xylemwände für Wasser hin.

Tabelle 2. Werte für die radiale Extraktionsrate, V_I , den Kontaktwinkel, Θ , und die Oberflächenspannung, σ erhalten durch das Fitten der Kurven in Abbildung 18a, 21, 22a (limitierender Radius: $r = 1 \mu\text{m}$). Werte für Θ wurden für drei verschiedene Oberflächenspannungen berechnet, um einer möglichen Reduktion von σ während der Wiederbefüllung gerecht zu werden.

ΔP	T (°C)	V_I ($10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$)	$\sigma \cos \Theta$	σ (10^{-2} N m^{-1})	Θ	Abb.
gegen die Schwerkraft (aufrecht)	21	0.95	0.0137	7	79°	18a, 21, 22a
				5	74°	
				3	63°	
	24	0.8	0.0114	7	81°	-
				5	77°	
				3	68°	
	40	0.96	0.0125	7	80°	-
				5	76°	
				3	65°	
ohne Schwerkraft (horizontal)	21	0.7	0.0175	7	76°	-
				5	70°	
				3	55°	
	40	1.6	0.0264	7	68°	-
				5	58°	
				3	28°	

Tabelle 3 Werte für den limitierenden Radius, r , die radiale Wasserextraktionsrate, V_l , den Kontaktwinkel, Θ , und die Oberflächenspannung, σ die durch das Fitten der Aufstiegskinetiken unter Druck erhalten wurden (Linien in Abb. 23) (Temperatur: 21°C). Die Werte für Θ wurden für drei unterschiedliche Oberflächenspannungen berechnet, um einer möglichen Reduktion von σ während der Wiederbefüllung gerecht zu werden. Man beachte, daß im Fall der Druckbefüllung mehrere Fits möglich waren, die unterschiedliche Werte für den limitierenden Radius erzielten.

ΔP	r (10^{-6}m)	V_l ($10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$)	$\sigma \cos\Theta$	σ (10^{-2} N m^{-1})	Θ	Abb.
gegen die Schwerkraft $P_{\text{ext}} = 4.5 \text{ kPa}$	1.0	1.1	0.033	7	62°	23
				5	49°	
				3.3	0°	
gegen die Schwerkraft $P_{\text{ext}} = 8 \text{ kPa}$	1.0	1.0	0.0468	7	48°	
				5	20°	
gegen die Schwerkraft $P_{\text{ext}} = 100 \text{ kPa}$	4.0	0.0-2.0	0	-	-	
	1.9	0-2.3	0.0696	7	6°	
	2.8	0-5	0	-	-	

3.4 UNTERSUCHUNGEN ZUM WASSERTRANSPORT ERGRÜNTER *MYROTHAMNUS* PFLANZEN

3.4.1 XYLEMDRUCKMESSUNGEN AN INTAKTEN PFLANZEN

Die durch das Fitten erhaltenen großen Kontaktwinkel (schlechte Benetzung), sowie der schnelle Aufstieg von Benzol im Vergleich zu Wasser, die im letzten Kapitel herausgearbeitet wurden, weisen auf eine hydrophobe Beschichtung der Xylemwand hin. Diese Eigenschaft der Gefäßwände sollte einen großen Einfluß auf die Xylemspannung haben. Deshalb wurden Xylemdruckmessungen an ergrüntem, intakten Pflanzen durchgeführt.

Diese Messungen wurden sowohl im Laboratorium in Würzburg als auch auf einer Farm nahe Outjo, Namibia durchgeführt. Die klimatischen Bedingungen dort entsprachen weitgehend den Bedingungen des Originalstandortes in 10 km Entfernung. Die Pflanzen wurden vorsichtig samt Wurzeln und daran befindlicher Erde ausgegraben und ohne Verzögerung zum Meßort transportiert. Die räumlichen Gegebenheiten der Farm ermöglichten die Installation von drei Xylemdruckmeßapparaturen, die es erlaubten, in einem Zeitraum von 3 Wochen simultan ganztägig Messungen durchzuführen. Einer der Meßplätze befand sich in der Sonne (A), der zweite Meßplatz ganztägig im Schatten, konnte aber über einen Spiegel mit reflektiertem Sonnenlicht erhellt werden (B), der dritte befand sich im Schatten mit nur kurzzeitiger direkter Beleuchtung am Abend (C).

Häufige Kavitationen bei geringen negativen Xylemdruckwerten (-0.050 bis -0.150 MPa) gaben Hinweise auf die Existenz einer hydrophoben Wandbeschichtung oder lipophiler Substanzen in den Xylemgefäßen (s.o.). Der negativste Wert, der sowohl im Laboratorium als auch im Freiland gemessen wurde, lag bei -0.30 MPa. Die tageszeitliche Dynamik des Xylemdrucks war mit der anderer Pflanzen vergleichbar (Benkert et al., 1995, Zimmermann, Bentrup & Haase, 1995, Zimmermann, Meinzer & Bentrup, 1995, Schneider, Wistuba et al., 1997, Thürmer et al., 1999). Der Unterschied bestand aber in kleinen Fluktuationen des Xylemdrucks bei geringer Beleuchtung, deren Amplitude sich mit zunehmender Lichtintensität erhöhte. Diese Fluktuationen waren offensichtlich auf lokale Änderungen der Umweltparameter (Temperatur und Luftfeuchtigkeit) zurückzuführen. Es wurden keine derartigen Fluktuationen mehr beobachtet, wenn man die Pflanzen in eine Umgebung mit konstanten Bedingungen, z.B. in eine Klimakammer, überführte. Unter natürlichen

Bedingungen im Freiland wurden diese Fluktuationen immer beobachtet. Abbildung 25 zeigt einen Xylemdrucktagesgang, der am Meßplatz in der Sonne (A) gemessen wurde.

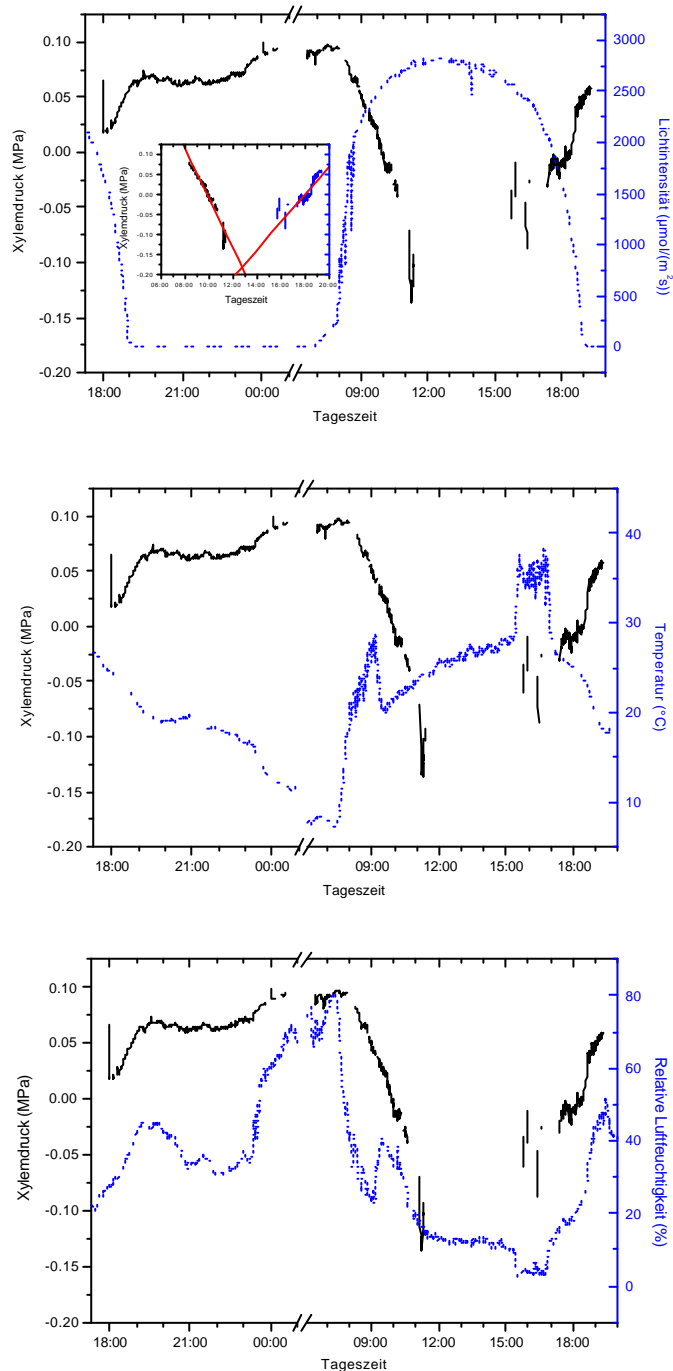


Abbildung 25

Tageszeitliche Änderung im Xylemdruck einer intakten *M. flabellifolia* Pflanze an Meßplatz A. Zusammen mit dem Xylemdruck (durchgezogene Linie) wurde hier die Lichtintensität (oben), die Temperatur (Mitte) und die Luftfeuchtigkeit (unten) dargestellt (gepunktete Linie, für Temperatur und Luftfeuchtigkeit zum Teil extrapoliert). Um die negativsten Werte des Tages abschätzen zu können, wurden die Xylemdruckwerte am Mittag im Inset der oberen Graphik extrapoliert. Verändert nach Schneider et al., (1999).

Die in Abbildung 25 dargestellte Messung startete um 18:00 Uhr mit einem Wert von +0.020 MPa, die Lichtintensität betrug zu diesem Zeitpunkt noch $1700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (25°C ; 27%). In den folgenden 2 Stunden nahm der Druck entsprechend der Entwicklung der Umweltparameter Temperatur und Luftfeuchtigkeit immer mehr zu und blieb dann bis Mitternacht konstant. Dann jedoch erfolgte eine weitere Zunahme bis zu einem Wert knapp unterhalb des Atmosphärendruckes um 6:40 Uhr (Lichtintensität $0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 8°C , 75%). Zu diesem Zeitpunkt waren die Blätter mit Tau bedeckt. Zwischen 7:00 und 8:00 Uhr wurde der Meßplatz immer stärker beleuchtet, dennoch blieb der Xylemdruck nahezu konstant im positiven subatmosphärischen Bereich. In der nächsten Stunde stieg die Lichtintensität von 250 auf $2200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ an. Gegen 8:18 Uhr wurde erneut ein Xylemgefäß penetriert, und es zeigte sich, daß der Druck immer negativer wurde. Der Tau auf den Blättern war zu diesem Zeitpunkt verschwunden, die Temperatur stieg auf 28°C , die Luftfeuchtigkeit fiel auf 20%. Im Laufe des Tages mußte die Sonde immer wieder in ein neues Gefäß eingeführt werden, da ständig Kavitationen, die durch Bewegung der Kapillarspitze aufgrund starken Windes hervorgerufen wurden, auftraten.

Um die Mittagszeit konnten nur Unterdruckwerte gemessen werden (nicht dargestellt). Dieser Umstand wurde als ein Hinweis darauf gewertet, daß viele Gefäße kavitiert waren. Die Umweltparameter erreichten in dieser Zeit Extremwerte ($2800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 28°C , 10%). Ein negativer Wert von -0.05 MPa konnte erst wieder gegen 16:00 Uhr gemessen werden. Um 17:20 Uhr konnte schließlich eine Langzeitmessung gestartet werden, wobei der Xylemdruck, wie am Vortag, einen linearen Anstieg zu positiven, subatmosphärischen Werten zeigte. Diese Linearität erlaubte eine Einschätzung der Xylemdruckwerte gegen Mittag durch das Extrapolieren der vorher und nachher gemessenen Werte. Dabei wurden Xylemdruckwerte von -0.2 MPa bis -0.3 MPa (siehe Abb. 25 oben) ermittelt. Diese zeigten eine gute Übereinstimmung mit der auch im Laboratorium gemessenen Kavitationsschwelle (siehe oben).

Durch die Wahl der Meßplätze und den Vergleich der Xylemdruckänderungen in Abhängigkeit vom Standort konnte gezeigt werden, daß für *M. flabellifolia* die Beleuchtung nicht der ausschlaggebende Faktor für die Änderungen im Xylemdruck war, sondern vielmehr Temperatur und Luftfeuchtigkeit. Dies konnte, wie die Abbildungen 26 und 27 darstellen, beobachtet werden, wenn man die erhaltenen Xylemdruckwerte der einzelnen Meßplätze jeweils gegen die Lichtintensität, Temperatur und Luftfeuchtigkeit auftrug.

Abbildung 26 zeigt Xylemdruckeinzelwerte, erhalten an Meßplatz A, die gegen die einzelnen Umweltparameter aufgetragen wurden. Im Durchschnitt lagen die Werte zwischen $+0.1 \text{ MPa}$

und -0.1 MPa bei Lichtintensitäten von bis zu $3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Für diesen Meßplatz zeigte der Xylemdruck eine deutliche Abhängigkeit von allen Umweltparametern. Betrachtet man aber Abbildung 27 links, dargestellt ist der Einfluß der Lichtintensität auf Meßplatz B und der Einfluß der Temperatur und Luftfeuchtigkeit auf Meßplatz C, wird deutlich, daß große Änderungen der Lichtintensität (hervorgerufen durch Beleuchtung mittels eines Spiegels) keine signifikanten Änderungen im Xylemdruck nach sich zogen. In Übereinstimmung mit Abbildung 25 konnten Xylemdrücke bis -0.150 MPa bei geringen Lichtintensitäten auftreten, wenn die Luftfeuchtigkeit gering war (ca. 20%, siehe Abb. 26 rechts). Vielmehr kann man einen deutlichen Zusammenhang zwischen Xylemdruck und der Luftfeuchtigkeit sowie der Temperatur erkennen (Abb. 27 Mitte und links).

Messungen im Laboratorium unter kontrollierten Umgebungsbedingungen lieferten vergleichbare Ergebnisse zu den Freilandexperimenten (vergleiche Schneider, Thürmer, et al. 1999)

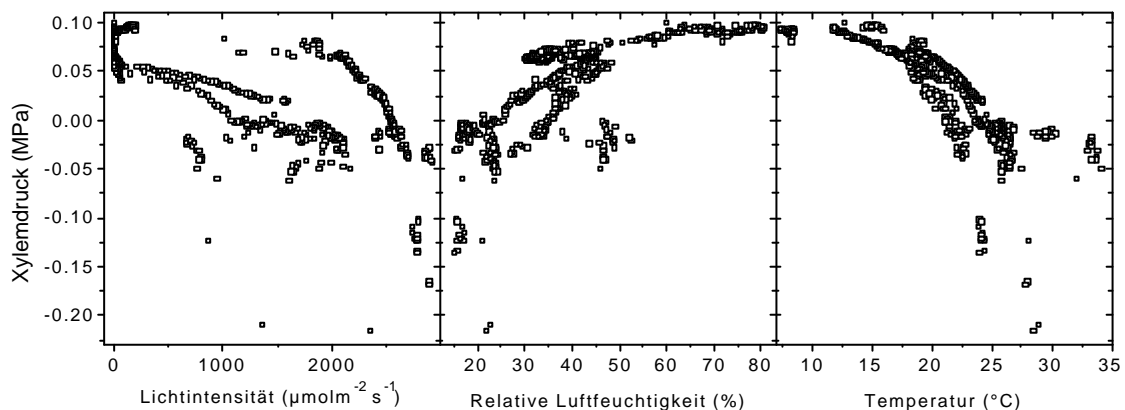


Abbildung 26

Kumulative Darstellung der Xylemdruckwerte in Abhängigkeit von der Lichtintensität (links), der Temperatur (Mitte) und der Luftfeuchtigkeit (rechts) bei verschiedenen intakten Exemplaren von *Myrothamnus flabellifolia*. Die Messungen wurden an Meßplatz A, der den ganzen Tag in der Sonne lag, durchgeführt. Für eine bessere Übersicht sind nur einige Datenpunkte dargestellt. Verändert nach Schneider et al., (1999).

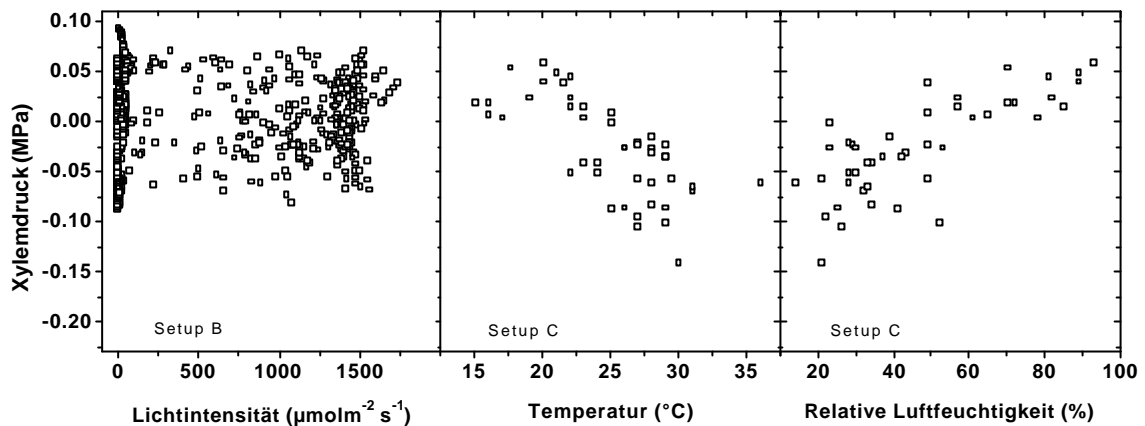


Abbildung 27

Kumulative Darstellung der Xylemdruckwerte in Abhängigkeit von der Beleuchtung (links, Meßplatz B), der Temperatur (Mitte, Meßplatz C) und der Luftfeuchtigkeit (rechts, Meßplatz C) bei verschiedenen intakten Exemplaren von *Myrothamnus flabellifolia*. Meßplatz B lag zwar den ganzen Tag im Schatten, konnte aber mit Hilfe eines Spiegels mit natürlichem Licht beleuchtet werden. Für eine bessere Übersicht sind nur einige Datenpunkte dargestellt. Verändert nach Schneider et al., (1999).

3.4.2 TURGORDRUCK UND OSMOTISCHER DRUCK DER ZELLEN

Turgordruckmessungen an Blattzellen der unteren Epidermis bei verschiedenen Lichtintensitäten (3-9, 600 und 1400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) wurden ausschließlich im Laboratorium durchgeführt. Die Luftfeuchtigkeit variierte zwischen 20 und 40%, die Temperatur zwischen 24 und 29°C. Die Transpirationsraten lagen zwischen 0.05 und 0.1 $\text{g h}^{-1} \text{g}^{-1}$ Frischgewicht bei 10 bzw. 600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Diese Werte stimmten gut mit den Werten, die im Freiland erhalten wurden, überein (0.03-0.05 $\text{g h}^{-1} \text{g}^{-1}$ Frischgewicht für Pflanzen im Schatten und 0.2 $\text{g h}^{-1} \text{g}^{-1}$ Frischgewicht bei einer Lichtintensität von ca. 2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Die Turgordruckmessungen wurden an gut gewässerten Pflanzen, 2 bis 5 Stunden nach Veränderung der Lichtintensität, durchgeführt. Die lange Adaptationszeit wurde eingehalten, um sicherzustellen, daß sich ein neuer Gleichgewichtsturgordruckwert eingestellt hatte. Die Werte sind in Tabelle 4 dargestellt. Offensichtlich nahm der Turgordruck mit zunehmender Lichtintensität ab, obwohl die Änderungen nur gering waren (0.15 MPa bei Erhöhung der Lichtintensität auf 1400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Vergleicht man die Änderungen von Xylemdruck (unter Feldbedingungen) und Turgordruck (im Laboratorium) bei einer Lichtintensität von 600-700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, erhält man ein Verhältnis von 1:0.7.

Tabelle 4 Turgor- und osmotischer Druck der Blattzellen von *Myrothamnus flabellifolia* bei verschiedenen Lichtintensitäten. Mittelwert \pm SD (Anzahl der Messungen).

LICHTINTENSITÄT ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	TURGORDRUCK (MPa)	OSMOTISCHER DRUCK DER ZELLEN (MPa)
3-9	0.63 \pm 0.06 (n=28)	1.03 \pm 0.08 (n=4)
600	0.52 \pm 0.05 (n=10)	1.22 \pm 0.10 (n=12)
1400	0.48 \pm 0.04 (n=15)	1.31 \pm 0.04 (n=5)

Zusätzlich wurde der osmotische Druck der Blattzellen (untere Epidermis) der gleichen Pflanzen bei vergleichbaren Umweltparametern gemessen. Wie in Tabelle 4 dargestellt, stieg dieser von 1 MPa bei geringer Beleuchtung auf 1.3 MPa bei 1400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ an.

4 DISKUSSION

Der Langstrecken-Wassertransport in Höheren Pflanzen wird der Kohäsionstheorie zufolge ausschließlich durch die Transpiration angetrieben. Der transpirationsbedingte Wasserverlust führt dazu, daß sich negative Drücke im Xylem etablieren. Es bilden sich höhenabhängige Druckgradienten aus, die einen kontinuierlichen Nachstrom von Wasser sorgen. Je negativer der Druck, desto höher ist die Flußgeschwindigkeit. Diese Annahme fordert, daß durchgehende Wasserfäden in den Leitungsbahnen, die ein isoliertes Röhrensystem darstellen, existieren. Ein kavitiertes Gefäß kann demnach nicht mehr am Wassertransport beteiligt sein. Dank neuer Methoden zur Untersuchung von Druck und Fluß in Leitbündeln Höherer Pflanzen, der Xylemdruckmeßsonde und der NMR-Bildgebung, konnten viele Daten gesammelt werden, die darauf hindeuten, daß neben der Transpiration weitere Kräfte am Wassertransport beteiligt sind (sog. 'Multi Force Theory', siehe Benkert et al., 1995, Thürmer et al., 1999, Schneider et al., 1999, Schneider, Zhu & Zimmermann, 1997, Thürmer, 1998). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnten mit Hilfe dieser innovativen Techniken vier entscheidende Fragen zur Funktionsweise des Wassertransportes in Höheren Pflanzen aufgeklärt werden:

- 1) Sind längenabhängige Druckgradienten transpirations- und/oder schwerkraftsinduziert?
- 2) Bestimmt die Transpirationsrate zusammen mit der Wasserversorgung über die Wurzel den Xylemdruck, oder wird der Xylemdruck durch den hydrostatischen/osmotischen Druck der Gewebezellen bestimmt?
- 3) Welche Kräfte spielen neben der Zugspannung für den Wasserfernttransport von der Wurzel bis zum Apex einer Pflanze eine Rolle?
- 4) Wie können kavitierte oder leere Xylemgefäße wieder aufgefüllt werden?

Zur Bearbeitung dieser komplexen Fragen wurden drei verschiedene Pflanzenspezies verwendet. Für die Untersuchung von longitudinalen Druckgradienten und die simultanen Fluß-/Druckmessungen wurde die Liane *Epipremnum aureum* aufgrund ihrer Länge und Flexibilität herangezogen. Fragestellungen zum Einfluß der Wasserversorgung der Wurzel und zur Wiederbefüllung kavittierter Gefäße wurden für *Nicotiana tabacum* als Vertreter einer krautigen Pflanzenspezies sowie für die (verholzte) afrikanische Auferstehungspflanze *Myrothamnus flabellifolia* bearbeitet.

Für alle untersuchten Pflanzenarten ergaben sich typische Änderungen des Xylemdrucks aufgrund veränderter Umgebungsbedingungen: Erhöhte Lichtintensitäten und Temperaturwerte sowie reduzierte Luftfeuchtigkeiten führten stets zu negativeren Xylemdruckwerten, eine Reduktion der Lichtintensität und der Temperatur sowie erhöhte Luftfeuchtigkeiten bewirkten eine Zunahme des Xylemdrucks. Entsprechende diurnale Muster wurden bereits für andere Pflanzentypen beschrieben (Zimmermann et al., 1994b, Zimmermann et al., 1994a, Benkert et al., 1995, Schneider, Zhu & Zimmermann, 1997, Thürmer et al., 1999, Wistuba, Reich et al., 2000). Erstaunlicherweise wurden für *M. flabellifolia* trotz extremer tageszeitlicher Änderungen der Umgebungsparameter wesentlich geringere Xylemdruckänderungen registriert, als man erwarten würde (Benkert et al., 1995, Zimmermann, Bentrup & Haase, 1995, Zimmermann, Meinzer & Bentrup, 1995, Thürmer et al., 1999, Thürmer, 1998, Schneider, Zhu & Zimmermann, 1997, Schneider et al., 1997, Wegner & Zimmermann, 1998). Dieser Umstand zeigt deutlich, daß die Auferstehungspflanze an ihrem Extremstandort offensichtlich geeignete Mechanismen entwickelt hat, um starken Xylemspannungen entgegenzuwirken.

Der Einfluß der Lichtintensität auf den Xylemdruck war sowohl bei *E. aureum* als auch bei *M. flabellifolia* im Vergleich zu anderen Pflanzen (z.B. *Tetrastigma voinierianum*; Thürmer et al., 1999) nur gering. Vielmehr schienen Temperatur und Luftfeuchtigkeit eine Schlüsselrolle bei der tageszeitlichen Regulation des Xylemdrucks zu spielen, wie auch beispielsweise durch Messungen an *Anacardium excelsum* gezeigt werden konnte (Zimmermann et al., 1993b).

Bei *M. flabellifolia* kann dieser Effekt durch die anatomische Besonderheit eingesenkter Stomata in den Furchen der fächerförmigen Blätter (Goldsworthy, 1992) erklärt werden. Durch diese 'Vorrichtung' könnten die Stomata vor direkter Sonneneinstrahlung geschützt werden, und durch eine Wassersättigung der Luft in den Furchen könnte die Transpiration deutlich reduziert sein.

Im Fall von *E. aureum* wird dieser Zusammenhang bei Betrachtung der Messungen an

hängenden Exemplaren deutlich, bei denen trotz geringerer Lichtintensität an der Spitze der Xylemdruck negativer war (Kapitel 3.1.2). Auch kombinierte Fluß-Druckmessungen (Kapitel 3.2.1) zeigten dies deutlich.

Die in Kapitel 3.1.1 vorgestellten Xylemdruckmessungen an *Epipremnum aureum* belegten die Existenz von Druckunterschieden in Abhängigkeit von der Entfernung der Meßstelle zur Wurzel. Da, wie in Kapitel 3.1.1 beschrieben, die Pflanze auch in horizontaler (liegender) Position, also unter Ausschluß der Schwerkraft, gemessen wurde, können die gemessenen longitudinalen Druckgradienten nicht ausschließlich schwerkraftsinduziert sein.

Da bei der Xylemdruckmeßtechnik ohne Verwendung von Farbstoffen und anschließende Mikroskopie nicht bekannt ist, welches Gefäß beim Einführen der Xylemdruckmeßsonde getroffen wird, könnte man argumentieren, daß an den beiden Meßorten unterschiedliche Gefäße mit verschiedenen Drücken gemessen wurden (vergleiche innerer Zylinder und äußerer Ring). Betrachtet man allerdings die Tatsache, daß (mit sehr selten auftretenden Ausnahmen) bei kurz nacheinander ausgeführten Druckmessungen auf derselben Meßhöhe praktisch immer ein in etwa identischer Druckwert gemessen wurde, der mit Sicherheit (etwa durch eine Kavitation der ersten Messung) von unterschiedlichen Gefäßen stammte, so ist der obige Einwand auszuschließen. Zudem wäre nicht zu erklären, warum stets am Meßort, der weiter von der Wurzel entfernt lag, negativere Drücke gemessen wurden. Ebenso wurde durch Farbstoffversuche gezeigt, daß Messungen sowohl im inneren Zylinder als auch im äußeren Ring möglich waren. Dies läßt den Schluß zu, daß in beiden Bereichen der gleiche Druck an einer beliebigen Xylemdruckmeßstelle herrschte.

Die Größe des longitudinalen Xylemdruckgradienten unterlag einem tageszeitlichen Rhythmus in Abhängigkeit von den Änderungen der Umweltbedingungen. Bei Bedingungen, die ein Ansteigen der Transpiration zur Folge hatten, d.h. in diesem Falle vorwiegend bei steigender Temperatur sowie sinkender Luftfeuchtigkeit, nahm auch die Größe des Gradienten zu. Das bedeutete, daß der Xylemdruck in größerer Entfernung zur Wurzel stärker abnahm als in Wurzelnähe. Bei einer Abnahme der Transpiration verhielt sich der Gradient genau umgekehrt. In der diurnalen Rhythmik führte dieser Zusammenhang morgens zu einem zunehmenden Gradienten und mittags zu einem maximalen Druckunterschied. Abends erfolgte eine Abnahme des Gradienten und führte schließlich nachts zu einem minimalen Druckunterschied.

Die Messungen stellten auch heraus, daß der Gradient unter vergleichbaren Umweltbedingungen bei verschiedenen Pflanzenexemplaren unterschiedlich stark ausgeprägt

war. Für diese Beobachtung könnte die Beblätterung (die Anzahl der Blätter insgesamt, die Anzahl der Blätter pro Meter Länge und auch die durchschnittliche Größe der Blätter), aber evtl. auch die Gesamtlänge und der mittlere Sproßdurchmesser der verwendeten Pflanzen eine Rolle gespielt haben.

Die in Kapitel 3.1.1 dargestellten Turgordruckmessungen zeigten im Vergleich zum Xylemdruck einen ähnlichen diurnalen Verlauf. Wie der Xylemdruck sank auch der in den Zellen der unteren Blattepidermis gemessene Turgordruck tagsüber ab und wurde bei abnehmenden Transpirationsbedingungen in der Nacht wieder größer, was deutlich auf eine enge hydraulische Kopplung zwischen Gewebe und Xylem hinwies. Diese Kopplung, die auch für *M. flabellifolia* beobachtet wurde, steht im Gegensatz zu den Aussagen der Kohäsionstheorie, die das Xylem als isoliertes, durchgehendes Röhrensystem ohne Kontakt zum und Wasseraustausch mit dem umgebenden Gewebe beschreibt.

Wie beim Xylemdruck existierte auch beim Turgordruck ein Gradient, dessen Größe sich im Tagesverlauf änderte. Allerdings zeigte dieser Gradient andere Charakteristika als der Xylemdruckgradient. Bei geringer Transpiration (Nacht) etablierte sich in den Blättern, die sich näher an der Pflanzenspitze befanden, ein höherer Turgordruck als in wurzelnahen Blättern. Nahm die Transpiration zu (Tag), so sank der Zelldruck in den spitzennahen Blättern stärker als in den wurzelnahen Blättern, bis kein Gradient mehr meßbar war. Betrachtet man das Wassertransportsystem der Pflanze unter dem Aspekt der hydraulischen Kopplung zwischen den Leitungsbahnen und den von diesen mit Wasser versorgten Geweben, so erkennt man einen direkten Zusammenhang zwischen den sich verändernden Drücken im Xylem und in den Zellen. Grundsätzlich ist die Wasserverfügbarkeit für das umliegende Gewebe umso geringer, je niedriger der Druck im Xylem ist, da sich eine immer stärkere Gegenkraft zur Wasserentnahme etabliert. Verliert das Gewebe Wasser durch Transpiration in den Blättern, so wird dieser Verlust durch die Aufnahme von Wasser aus den Xylemgefäßen kompensiert. Das Xylem gleicht seinerseits diese Wasserentnahme durch Wasseraufnahme an der Wurzel wieder aus. Übersteigt die Wasserabgabe aus dem Xylem an das Gewebe die Wasseraufnahme in der Wurzel, steigt die Spannung in den Xylemgefäßen an. Die Folge ist eine Erniedrigung des Zellurgordrucks. Gibt das Xylem unter diesen Bedingungen über die Länge des Stengels an jeder Stelle gleich viel Wasser an des Gewebe ab, so etabliert sich aufgrund der begrenzten Wasseraufnahme ein Druckgradient im Xylem mit immer höheren Spannungen, je größer die Entfernung zur Wurzel ist. Wie oben beschrieben, können folglich auch die spitzennahen Zellen weniger Wasser aufnehmen, und somit erniedrigt sich ihr Turgordruck stärker als in den wurzelnahen Zellen. Allerdings könnte man sich ebenso

vorstellen, daß die Zellen Wasser an das Xylem abgeben, wenn der Xylemdruck aufgrund erhöhter Transpiration tagsüber negativer wird. Auch wenn dies der Fall wäre, könnte man sich vorstellen, daß dann der Turgordruck an der Pflanzenspitze stärker abnimmt, da der Xylemdruck an der Spitze negativer ist, als an der Basis. Egal jedoch wie sich diese Gradienten ausbilden, durch die Abnahme des Turgordrucks entsteht eine Kraft, die einerseits Wasser vom Xylem in die Zellen ziehen kann, zum Beispiel abends, wenn die Spannung geringer wird, aber auch den Wassertransport über das Gewebe ankurbeln könnte.

Eine sinnvolle Erklärung für den größeren Turgordruck an der Pflanzenspitze ist, daß mit größerer Distanz zur Wurzel der Pflanze der osmotische Druck in den Zellen der Blätter ebenfalls größer wird. Die Messungen des osmotischen Druckes mittels Gefrierpunktserniedrigung (Kapitel 3.1.3) unterstützen diese Annahme. Durch den höheren osmotischen Druck in Spitzennähe ist die Pflanze zudem möglicherweise in der Lage, die Gefahr der Plasmolyse für die Zellen in der Wachstumszone zu vermindern.

Eine Zunahme osmotisch wirksamer Teilchen zur Pflanzenspitze hin ($\Delta\pi_c \approx 0.05$ MPa) bedeutet eine zusätzliche Kraft für den Wassertransport, die in der Kohäsionstheorie nicht berücksichtigt wurde (siehe ‚Multi-Force-Theorie‘; s.w.o. und Einleitung).

Längenabhängige Gradienten im osmotischen Druck des Xylemsaftes, die ebenfalls eine treibende Kraft für den longitudinalen Wassertransport darstellen würden, sofern das Xylem in osmotisch wirksame Kompartimente unterteilt ist (Zimmermann et al., 1995), konnten aufgrund zu großer Streuung der Daten nicht ermittelt werden. Der osmotische Druck des Xylemsaftes, p_x , kann nach der Gleichung $rgh + P_x - p_x = P_c - p_c$ mit dem Schwerkraftsterm rgh , dem Xylemdruck P_x , dem Turgordruck in **Absolutwerten** P_c und dem osmotischen Druck des Zellsaftes p_c , berechnet werden (Thürmer et al., 1999). Es ergaben sich für *E. aureum* Werte um 0.3 MPa (Wistuba, Reich et al., 2000), die um etwa 0.1 MPa niedriger lagen als diejenigen von *Tetrastigma voinierianum* (Thürmer et al., 1999). Interessant ist, daß sich auch für die Auferstehungspflanze *M. flabellifolia*, die im Pflanzenreich eine Ausnahmestellung einnimmt, Werte in der gleichen Größenordnung ergaben (0.25 MPa bei geringen und 0.4 MPa bei hohen Lichtintensitäten; Schneider et al., 1999).

Die Auswirkungen der Schwerkraft auf die Druckverhältnisse von *Epipremnum aureum* wurden, wie in Kapitel 3.1.1 beschrieben, durch erstmalige Drucksondenmessungen in unterschiedlichen Raumrichtungen untersucht.

Obwohl im Vergleich zu den Messungen, die in Würzburg an langen *Epipremnum*-Exemplaren durchgeführt wurden, die Pflanzen unter 'tropischen' Bedingungen im Gewächshaus aufgrund der permanent geringeren Transpirationsbedingungen sowohl größere Xylemdruckwerte als auch höhere Zellturgordrücke aufwiesen, ließen alle untersuchten Pflanzen unabhängig vom Meßort folgende Zusammenhänge erkennen:

Befindet sich die Pflanze im **aufrechten** Zustand, so erhöht der von der Gravitation erzeugte hydrostatische Druck den Xylemdruck in den wurzelnahen Bereichen der Gefäße. Dadurch entsteht ein Xylemdruckgradient mit negativeren Werten an der Pflanzenspitze. Unter der Annahme, daß der osmotische Druck in den Blättern mit der Entfernung von der Wurzel zunimmt, verhindert die mit der Entfernung ebenfalls zunehmende Xylemspannung die Ausbildung eines Turgordruckgradienten. In der natürlichen Wuchsrichtung der Pflanze sind die Druckverhältnisse also so eingeregelt, daß jedes Blatt die gleiche Wasserversorgung erhält, egal wie weit das Blatt von der Wurzel entfernt ist.

In der **hängenden** Pflanze erzeugt die Gravitation nachts einen höheren hydrostatischen Druck in den Leitungsbahnen im Bereich der Pflanzenspitze gegenüber der Basis. Der Xylemdruck an der Spitze wird dadurch erhöht, so daß der Xylemdruckgradient nachts verschwindet oder sich sogar geringfügig umkehrt (positivere Drücke an der Spitze). Die Xylemspannung ist somit über die gesamte Länge der Pflanze in etwa gleich groß, so daß der sich manifestierende Turgordruckgradient praktisch nur durch den osmotischen Druck der Zellen bestimmt wird, der mit der Entfernung der Blätter von der Wurzel zunimmt. Auch diese Tatsache deutet auf den großen Einfluß der Zellen auf den Xylem-Wassertransport hin.

Fällt der Anteil der Gravitation wie bei **horizontalen** (liegenden) Pflanzen weg, so bleibt nachts der Anteil des Xylemdruckgradienten erhalten, der von Flußwiderständen und auch von der nicht völlig zum Erliegen kommenden Resttranspiration hervorgerufen wird. Der Turgordruckgradient kann sich in diesem Fall nicht zu voller Stärke (vgl. hängender Zustand) ausbilden, ist aber dennoch erwartungsgemäß vorhanden. Daß sich im Falle der **horizontalen** Pflanze tagsüber im Gewächshaus die Drücke im Xylem und in den Zellen nicht wesentlich im Vergleich zur Nacht erniedrigten, lag offensichtlich daran, daß die Messungen an einer Stelle des Gewächshauses durchgeführt wurden, an der tagsüber nur sehr geringe Lichtintensitäten herrschten und die Luftfeuchtigkeit höher war als nachts. Dadurch waren die effektiven Transpirationsbedingungen tagsüber kaum höher als in der Nacht, so daß die Drücke nahezu konstant blieben.

Aus obiger Ausführung läßt sich folgern, daß der Einfluß der Gravitation tagsüber von den Effekten anderer Faktoren überlagert wird. Hier wirken sich Transpiration,

Wasserverfügbarkeit und Flußwiderstände so stark auf die Druckverhältnisse in der Pflanze aus, daß der Schwerkraftsanteil nicht ins Gewicht zu fallen scheint. Kleine Schwankungen der Luftfeuchtigkeit und Temperatur spiegeln sich sofort im Druck wider (siehe Kapitel 3.1.2). Ganz anders verhält es sich, wenn während der Nacht oben genannte Faktoren nicht mehr zum Tragen kommen. Da die Pflanze kaum mehr Wasser an ihre Umgebung abgibt, verschieben sich die Gleichgewichte der Wasserverteilung zwischen den Drücken in den Zellen und dem Xylemdruck. Hierbei sind die entscheidenden Kräfte einerseits der osmotische Druck in den Zellen sowie die entgegengesetzt wirkende noch vorhandene Xylemspannung in den Leitungsbahnen, aber auch der Schwerkraftseinfluß. Nimmt man an, daß der osmotische Druck der Zellen zwar von der Entfernung des Blattes zur Wurzel abhängt, aber innerhalb einer Zelle im Tagesverlauf konstant ist, so hängt der resultierende Zellturgordruck nur noch von der herrschenden Spannung im Xylem ab.

Die bisher beschriebenen Druckmessungen wurden ausschließlich an gut gewässertem Pflanzenmaterial durchgeführt. Unter diesen Bedingungen kann man eine positive Korrelation zwischen Xylemspannung und Flußgeschwindigkeit in den Leitbahnen beobachten (Thürmer, 1998). Erste simultane Messungen mit Hilfe von Xylemdrucksonden und flußgewichteter NMR-Bildgebung zeigten auch für *E. aureum* eine solche positive Korrelation auf: Einzelne 'ROIs' des betrachteten Sproßquerschnittes zeigten eine Zunahme der Flußgeschwindigkeit mit Zunahme der Xylemspannung und umgekehrt. Obwohl die Kombination der Meßtechniken es nicht erlaubte, an derselben Stelle der Pflanze gleichzeitig Flußgeschwindigkeiten und Xylemdruck zu messen, kann angenommen werden, daß trotz einer Reduktion des Xylemdrucks mit zunehmendem Abstand zur Wurzel (s. Kapitel 3.2.1) die Flußgeschwindigkeiten über die gesamte Länge (bei in etwa gleichbleibendem Radius der einzelnen Gefäße) konstant sind (Hagen-Poiseuille-Gleichung, siehe Gleichung 3). Die Beobachtung unterschiedlicher Flußgeschwindigkeiten in verschiedenen 'ROIs' derselben Meßstelle kann nach der Hagen-Poiseuille Gleichung nur durch unterschiedliche Radien der Gefäße erklärt werden, wenn der Druck, wie experimentell gezeigt (s.o.), an einer Meßstelle überall gleich ist.

Die Auftragung des Drucks, P_x , gegen die Geschwindigkeit eines Flußbereiches, v , ergab einen linearen Zusammenhang, d.h. $v = L_{pp} (P_x - P_{ref})$, wobei L_{pp} ein Maß für die hydraulische Leitfähigkeit des Gesamtweges zwischen der Meßstelle für P_x und einem Ort mit Referenzdruck P_{ref} ist. Aus der Steigung und den Extrapolationsschnittpunkten von verschiedenen $v = f(P_x)$ Kurven wurden L_{pp} und P_{ref} berechnet mit $2.4 - 10 \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$

und 0- 100 kPa. Die Größenordnung und Konstanz von P_{ref} läßt vermuten, daß dieser Druck mit den (luftgefüllten) Interzellularräumen in der Wurzel in Verbindung steht.

Die hydraulische Leitfähigkeit der einzelnen Xylemgefäße kann durch zeitgleiche Messungen der Flußgeschwindigkeiten und der zugehörigen Xylemdruckwerte für mindestens zwei Meßpunkte erhalten werden. Simultane Messungen der Flußgeschwindigkeit, v , und des Druckgradienten $(P_{x1} - P_{x2})/l$ erzielten Werte von $16 - 48 \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$ für die hydraulische Leitfähigkeit der einzelnen Gefäße, L_p , d.h. die L_p -Werte waren - wie erwartet - um einen Faktor 8 größer als die korrespondierenden L_{pp} -Werte.

Die oben beschriebene 'positive Korrelation' von Xylemspannung und Flußgeschwindigkeiten gilt allerdings nur bei guter Wasserverfügbarkeit für die Pflanzen. Wie die Messungen an *Nicotiana tabacum* (siehe Kapitel 3.2.2), aber auch Messungen an *Zea mays* und *Solanum tuberosum* zeigten (Thürmer, 1998), änderten sich bei induziertem Wassermangel die Reaktionsmuster insofern, als eine zunehmende Xylemspannung nicht zu einer Erhöhung der Flußgeschwindigkeit führte. Vielmehr erniedrigte sich diese, bis ab einer Bodenfeuchte von ca. 20% Wassersättigung kein Fluß mehr zu detektieren und die Transpiration Null war. Es besteht somit eine 'negative Korrelation' zwischen Xylemspannung und Flußgeschwindigkeiten, sobald die Wasserversorgung der Wurzel limitiert wird. Wie in Kapitel 3.2.2 beschrieben, zeigte sich für *Nicotiana tabacum*, daß der Xylemdruck bei niedriger Lichtintensität bis zu einer Boden-Wassersättigung von ca. 40% relativ konstant war. Fiel die Wassersättigung unter diesen Wert, so nahm der Xylemdruck rapide ab. Bei erhöhter Lichtintensität konnte dagegen über einen Wassersättigungsbereich von ca. 80% bis ca. 18% eine lineare Abnahme des Xylemdrucks mit abnehmender Bodenfeuchte beobachtet werden. Der negativste Wert wurde mit ca. -0.5 MPa bei einer Bodenfeuchte von ca. 18% gemessen; in diesem Zustand war die Pflanze bereits stark gewelkt. Der permanente Welkepunkt wurde für beide Lichtintensitäten bei ca. 30% festgestellt. NMR-Bildgebungsexperimente ließen erkennen, daß der Sproßquerschnitt der Tabakpflanzen mit zunehmender Trockenheit des Bodens sichtbar schrumpfte. Dies läßt sich offenbar auf das Schrumpfen der Rindenzellen zurückführen. Zusätzlich entstanden im Markbereich der Tabaksprosse ausgedehnte Regionen, für die kein ^1H NMR-Signal mehr detektiert werden konnte. Nach Wiederbewässerung füllten sich diese Bereiche ebenso wie die Rindenzellen jedoch zum Teil wieder auf. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, daß die Zellen auch im Fall von Tabak Wasser an das Xylem abgeben, um die Gefäße möglichst lange vor Kavitation zu schützen. Wahrscheinlich ist, daß im Rahmen der Austrocknungsexperimente an Tabak

zumindest zum Teil Messungen in Anwesenheit kavittierter Gefäße durchgeführt wurden, da in einigen Fällen meßbarer Fluß erst ca. 2 Stunden nach Bewässerung wieder einsetzte. Man könnte mutmaßen, daß die Zellen an der Wiederbefüllung der Xylemröhren beteiligt sind und daß die Wiederauffüllung der Gewebe nach Bewässerung über den zellulären Weg erfolgt, da die Zellen zum Teil sehr weit vom Xylem entfernt liegen.

Die Wiederbefüllung trockener oder kavittierter Gefäße ist eine entscheidende Fragestellung, besonders im Hinblick auf die Aussagen der Kohäsionstheorie, die einen rein spannungsgetriebenen Wassertransport ohne Wechselwirkung des Xylemwassers mit den lebenden Zellen annimmt. Somit sollte eine Wiederbefüllung einmal kavittierter Gefäße der Kohäsionstheorie zufolge nicht möglich sein. Kavitationen sowie deren Beseitigung im Tagesverlauf scheinen aber normale Prozesse im Alltag Höherer Pflanzen zu sein. Hinweise auf diesen Sachverhalt wurden unter Verwendung der Xylemdrucksondentechnik bereits für zahlreiche Pflanzentypen erarbeitet (s. z.B. Schneider, Wistuba et al., 1997). Auch für die afrikanische Auferstehungspflanze *M. flabellifolia* wurden unter Bedingungen starker Transpiration wie beispielsweise am Mittag unter Freilandbedingungen häufige Kavitationsereignisse beobachtet (Schneider, Thürmer, et al. 1999).

Bislang waren wenige Versuche zur Wiederbefüllung trockener Zweige von *M. flabellifolia* unternommen worden. Child (1960) stellte fest, daß der größte Teil der Wiederbefüllung trockener Zweige über die Wurzel ablaufen muß und eine Aufnahme von Wasser über die Blätter keine Rolle für die Befüllung spielt. Gaff (1977) beobachtete eine gleich schnelle Wiederbefüllung der ersten 10 cm, egal ob er nur den Boden bewässerte oder die Blätter zusätzlich kontinuierlich mit Wasser besprühte. Allerdings falteten sich die Blätter der darüberliegenden 20 cm für besprühte Pflanzen innerhalb von 14 Stunden auf, während unbesprühte Pflanzen dafür 2 Tage brauchten. Daraus zog Gaff die Schlußfolgerung, daß die Wurzeln nur das untere Drittel der Pflanze unter natürlichen Bedingungen befüllen. Nach einem einzigen Regenschauer blieben die Blätter bis 10 cm ca. eine Woche lang grün. Gaff nahm an, daß sich von den Wurzeln über das Xylem bis zu den Blättern ein Wasser-Kontinuum etabliert hatte. Für die Befüllung machte er aufgrund seiner Ergebnisse sowohl den Wurzeldruck als auch Kapillarkräfte verantwortlich. Auch Sherwin et al. (1998) machten nach Studien über die hydraulischen Eigenschaften des Xylems von *Myrothamnus* Kapillarkräfte für die Wiederbefüllung verantwortlich, schlossen aber den Wurzeldruck aufgrund seines geringen Wertes von 2.4 kPa als treibende Kraft explizit aus.

Die in dieser Arbeit gesammelten Daten für den Wasseraufstieg lassen detailliertere Schlüsse zum Mechanismus der Wiederbefüllung trockener Zweige von *M. flabellifolia* zu. Die Gleichung, die in Kapitel 3.3.1.12 vorgestellt wurde, ist nur eine grobe Annäherung für einen kapillar getriebenen Wasseraufstieg, dennoch konnten die Aufstiegskinetiken aufrechter, horizontaler und umgedrehter abgeschnittener Zweige damit zufriedenstellend beschrieben werden (Schneider, Wistuba et al., 2000; Wagner 2000). Es zeigte sich, daß der Wasseraufstieg in trockenen Zweige mit Hilfe des eigenen Kapillardrucks zu langsam ist und damit zu ineffizient, um das Überleben dieser Pflanze in einer trockenen Umgebung zu gewährleisten. Die Aufstiegsrate und die erreichte Endhöhe an abgeschnittenen Zweigen konnte durch das Anlegen eines externen Druckes oder durch die Orientierung der Zweige ohne den Einfluß der Schwerkraft (liegend) und in Richtung Schwerkraft (umgedreht) erhöht werden. Die Messungen im Freiland an intakten Pflanzen zeigten, daß *M. flabellifolia* offensichtlich mit Hilfe von hydrostatischem Druck leere Xylemgefäße rehydratisiert. Es stellte sich heraus, daß der Wurzeldruck, der sich unmittelbar nach der Bewässerung entwickelt, entgegen den Aussagen von Sherwin et al. (1998) ausreicht, um einen leeren senkrechten Schlauch innerhalb von etwa 10 Stunden bis zu einer Höhe von 1.3 m mit Xylemexudat zu befüllen. Es können also leere Xylemelemente selbst der größten Exemplare dieser Pflanze am ausgewählten Standort (ca. 1 m) in relativ kurzer Zeit rehydratisiert werden. Die von Sherwin et al. (1998) publizierten geringeren Werte für den Wurzeldruck können möglicherweise durch die Verwendung von Topfpflanzen erklärt werden. Diese Vermutung ergibt sich aufgrund eigener Meßergebnisse für Topfpflanzen im Laboratorium, deren Wurzeldruckwerte ebenfalls im Bereich von 2.0-4.0 kPa lagen (Schneider et al., 2000). Vermutlich ist dieses Ergebnis auf ein wesentlich geringeres Wurzelvolumen der Kulturpflanzen im Vergleich zu den Freilandexemplaren zurückzuführen.

Die kapillare Befüllung mit Wasser scheint dagegen bei intakten Pflanzen eine untergeordnete Rolle zu spielen. Der Hauptgrund dafür ist der kleine Radius der leitenden Elemente und die geringe Benetzbarkeit der trockenen Xylemwände durch Wasser. Die Beschreibung der Befüllungskinetik für abgeschnittene Zweige als kapillarer Aufstieg mit radialer Komponente (vergleiche Kapitel 3.3.1.12) war nur dann annähernd gut, wenn für den Kapillarradius ca. 1 μm angenommen wurde. Dieser Radius ist deutlich kleiner als der Durchschnittsradius der Gefäße (10 – 18 μm) und auch kleiner als der Radius der Tracheiden (ca. 3 μm). Folglich ist der kapillare Wasseraufstieg sehr viel langsamer, als man es für den Gefäß- und Tracheiden-Radius annehmen würde.

Ein Radius von 1 μm läßt sich sehr gut mit dem mittleren Radius der Poren der Perforationsplatten und auch mit dem Öffnungswinkel der Ecken der Tracheiden in Einklang bringen. Ecken von rhombusförmigen Kapillaren erhöhen die Benetzungsrate von Wasser deutlich, sogar mehr als durch die Gleichung (siehe Kapitel 3.3.1.12), die von runden Kapillaren abgeleitet ist, vorausgesagt wird (siehe Finn, 1989). Analysiert man die experimentellen Daten, so scheinen beide Wege gleich wahrscheinlich in Frage zu kommen. Die Werte für die Kontaktwinkel, die sich aus den Fits der Daten ergeben, sind mit ca. 80° relativ hoch und nehmen mit einem Anstieg der treibenden Kraft ab (Schneider, Wistuba et al. 2000, Wagner 2000). Obwohl verschiedene Oberflächeneigenschaften die Größe des Kontaktwinkels beeinflussen, ist es doch sehr wahrscheinlich, daß die Größe und Abhängigkeit von der treibenden Kraft aus den hydrophoben Eigenschaften der inneren Xylemwand resultieren (Schneider et al., 1999). Dies konnte durch mikroskopische Untersuchungen bestätigt werden. Abbildung 28 zeigt, daß im trockenen Zustand die Wand und vor allem die Tüpfel der Gefäße von einem lipophilen Film bedeckt sind (Abb. 28a). Im ergrünten Zustand jedoch löst sich dieser unter Bildung von lipophilen Tröpfchen ab, die mit entsprechenden Farbstoffen angefärbt werden können (Abb. 28b).

Solche Öltröpfchen könnten den experimentellen Befund der niedrigen Kavitationsschwelle von minimal -0.15 MPa unter Freilandbedingungen erklären (s.o. und Kapitel 3.4.1), obwohl aufgrund des hohen Turgordrucks in grünen Pflanzen (0.6 MPa) theoretisch sehr negative Xylemdrücke existieren könnten (Balling & Zimmermann, 1990, Zimmermann, Meinzer & Bentrup, 1995, Zimmermann, Bentrup & Haase, 1995, Thürmer et al., 1999, Schneider et al., 1999). Lipophile Komponenten im Xylemsaft setzen bekanntlich dessen Kohäsionskräfte stark herab und können als Kavitationskeime wirken (Laschimke, 1989, Yount, 1989, Smith, 1994).

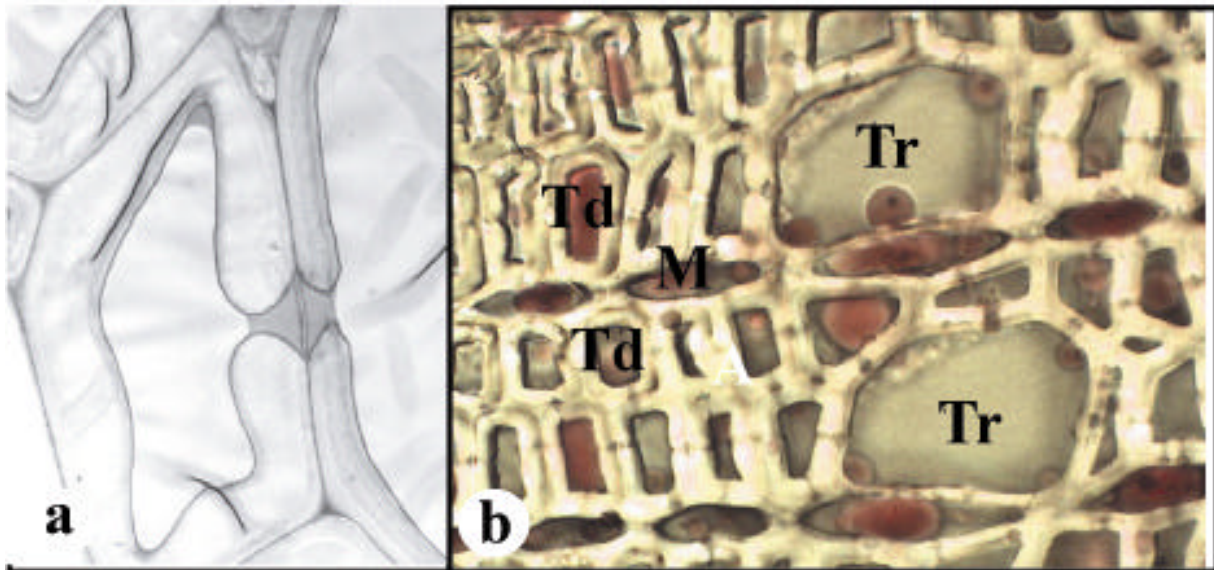


Abbildung 28

Elektronenmikroskopische Aufnahme eines trockenen (a) und lichtmikroskopische Aufnahme eines ergrünten Zweiges von *M. flabellifolia* (b). Td: Tracheide, Tr: Trachee. Elektronenmikroskopische Aufnahme einer trockenen Tracheide (links), die über einen Tüpfel (Mitte) mit einer Trachee (rechts) verbunden ist. Man kann deutlich die Ölsammlungen in den Tüpfeln und in der oberen Ecke der Tracheide, sowie eine lipophile (als dunkle Linie sichtbare) Auflagerung auf den inneren Xylemwänden sehen. Referenzbalken: 1,7 μm (a). Querschnittsausschnitt eines ergrünten Zweiges mit Öltröpfchen in den Tracheen und Tracheiden, Sudan III, 1080x (b).

Die chemische Zusammensetzung der Lipide im Holz der *Myrothamnus*-Zweige konnte bisher nicht bestimmt werden. Die Schwierigkeit besteht in der Extraktion aus den Xylemelementen, ohne Verunreinigung durch die Lipide der Zellen. Die Lipide aus den Parenchymzellen und anderen Gewebeteilen bestehen aus ätherischen Ölen wie Diosphenol und Eukalyptol (Gildemeister & Hoffmann, 1959; Treibs, Da Cunha & Rodrigues Roque, 1974). Diese Komponenten sind leicht flüchtig und unterscheiden sich deshalb von denen des Xylems. Ein möglicher Kandidat wäre vielleicht DPPC (Dipalmitylphosphatidylcholin), das auch als Lungentensid in Säugerlungen vorhanden ist. Der lipophile Film auf der Xylemwand scheint eine Art 'innere Kutikula' zu sein, die dem kompletten Wasserverlust vorbeugt (Schneider et al., 1999). Diese Vermutung wird auch von der Tatsache unterstützt, daß *Myrothamnus*-Zweige selbst nach langer Trockenzeit und nach Erhitzen auf 80°C noch 7-11% Wasser enthalten (Thoday, 1921, Child, 1960, Gündel, 1968). Die räumliche Verteilung der Zellorganellen im trockenen Zustand wird wahrscheinlich durch Öleinlagerungen aufrechterhalten, die sowohl in den Wurzelhaaren und in der Wurzelspitze als auch in den Mesophyllzellen und dem Leitbündelbereich beobachtet wurden (Goldworthy, 1992, Wilson & Drennan, 1992).

Eine hydrophobe Imprägnierung der Wände verringert den kapillaren Aufstieg von Wasser deutlich im Vergleich zu Kapillaren mit hydrophilen Innenwänden. Deshalb muß der hydrophobe Film der Wände bei Wiederbefüllung erst einmal unter Tröpfchenbildung abgelöst werden. Das bedeutet, daß sich der Benetzungswinkel beim Eindringen in den Lipidfilm und mit fortschreitender Befüllung der Zweige verändert. Deshalb ist der Kontaktwinkel, der aus dem Anfitzen der Kurven abzulesen ist (siehe Kapitel 3.3.1.12), ein zeitlicher Durchschnittswert des gesamten Wiederbefüllungsprozesses der Gefäße. Das heißt, daß der 'wirkliche' Kontaktwinkel mit zunehmender Wasseraufstiegsrate abnehmen sollte, insbesondere, wenn zusätzliche Kräfte (Wurzeldruck, angelegter Druck, Schwerkraft) hinzukommen oder wenn der kapillare Wasseraufstieg ohne Schwerkraft erfolgt (horizontal). Dies stimmt mit den experimentellen Daten überein und wird ebenso von einer großen Anzahl veröffentlichter experimenteller und theoretischer Beweise getragen (Huppert, 1982, Melo, Joanny & Fauve, 1989, Troian et al., 1989, Troian, Herbolzheimer & Safran, 1990, Cazabat et al., 1992). Die genannten Autoren zeigten, daß im Fall einer erzwungenen Benetzung, z.B. unter Druck, die Front der Flüssigkeit unregelmäßig fingerförmig aufsteigt ('fingering instability'). Es ist wahrscheinlich, daß solche Effekte den Benetzungsprozeß und die anschließende Tröpfchenbildung in den Zweigen von *M. flabellifolia* forcieren. Die Entfernung des Lipids verändert die Oberflächenspannung des Wassers. Unterstützt wird diese Annahme durch die Beobachtung, daß der anfängliche Wasseraufstieg in aufrechten und horizontalen Zweigen schneller ist (4-6 cm in 10 min), als durch die Gleichungen vorausgesagt. Man könnte das mit der Annahme erklären, daß die Lipidablösung Zeit braucht, daher ist der Wasseraufstieg der basalen 6 cm vermutlich rein kapillar. Die abgelösten Lipide erniedrigen jedoch dann die Oberflächenspannung und verlangsamen damit den axialen Wasseraufstieg.

Aufgrund des Lipidfilms in radialer und von Luft in axialer Richtung sollte das Xylem von *M. flabellifolia* – zumindest zeitweise - ein Kompartiment mit einer effektiven selektiv permeablen Barriere für die Wiederbefüllung darstellen. Es konnte experimentell gezeigt werden, daß der Reflexionskoeffizient für Zucker und KCl größer als null war, aber dennoch kleiner, als es für Zellmembranen gemessen wurde (für Zucker gewöhnlich 1, Zimmermann, 1989). Diese niedrigen Reflexionskoeffizienten könnten auf einen nicht ganz durchgehenden Lipidfilm oder auf die Ablösung des Lipidfilms während des Benetzungsprozesses hindeuten.

Während der Aufstiegsversuche konnten nach ca. 4 Stunden ansteigende Transpirationsraten, verbunden mit zunehmender Ergrünung der Blätter von der Basis zur Spitze hin, gemessen

werden. Da die Aufstiegskinetiken sowohl für beblätterte als auch für unbeblätterte Zweige vergleichbar waren, scheint klar zu sein, daß transpirationsbedingte Zugspannungen im Xylem den radialen Wasserfluß kaum beeinflussen.

Die Experimente mit geschälten Zweigen zeigten die Bedeutung der Rinden- und/oder Phloemzellen für den Wasseraufstieg auf eine maximale Höhe von 40 – 55 cm (aufrechte Zweige). Der funktionelle Beitrag dieser Kompartimente für den Wasseraufstieg kann nur vom Turgordruck herrühren, der durch den osmotischen Druck der Zellen bei der Wasseraufnahme entsteht (s. auch Abb. 30). Das Auffüllen der Markstrahlparenchymzellen geht der Befüllung der weiter außen liegenden Gewebe voran. Wenn die Zweige geschält sind, so steigt der Turgordruck in den Markstrahlparenchymzellen schnell an, und bei einem Gleichgewichtswert verschwindet die radiale treibende Kraft. Im Gegensatz dazu werden die Parenchymzellen von ungeschälten Zweigen nur zum Teil turgeszent, da der ansteigende Turgordruck das Wasser sowohl in die angrenzenden trockenen Rinden- und Phloemzellen treibt (Abb. 30), als auch in andere trockene Xylemelemente (in Analogie zum Doppelmembran-Modell von Katchalsky & Curran, 1975, Zimmermann & Steudle, 1978). Wenn der axiale Transport weitergeht, werden die Zellen unterhalb der Wasserfront schrittweise voll turgeszent, aber die Zellen oberhalb sind trocken und damit osmotisch aktivierbar.

Die oben diskutierten Daten zeigen eindeutig, daß lebende Zellen essentiell für die Wiederbefüllung leerer Gefäße sind. Die Annahme, daß der turgordruckgetriebene radiale Wassertransport den axialen Aufstieg fördert, steht zunächst scheinbar im Gegensatz zur Theorie durchlässiger Kapillaren. Diese Diskrepanz zwischen Theorie und Praxis kann einfach gelöst werden, indem man annimmt, daß der radiale Fluß für die Ablösung der Lipide von der inneren Xylemwand notwendig ist.

In geschälten Zweigen war die Endhöhe im Vergleich zu den Kontrollen drastisch reduziert, was ganz offensichtlich darauf hinweist, daß dem Benetzen der inneren Xylemwände eine radiale Wasserextraktion vorausgehen muß. Diese Hypothese erklärt ebenso, warum der axiale Wasseraufstieg in Zweigen, die wieder eingetrocknet oder gekocht wurden, nicht die Höhe von 20-30 cm überschritt. Unter diesen Umständen waren die meisten der Zellen zerstört. Zusätzlich sollte der hydraulische Widerstand der Xylemleitungsbahnen durch die Freisetzung von Öltröpfchen aus den zerstörten Zellen zunehmen. Durch das Fehlen des turgordruckgetriebenen radialen Wassertransportes wird die Ablösung des Lipidmantels der inneren Xylemwand durch den axialen Wasseraufstieg verhindert.

Wie gezeigt wurde, verläuft der kapillare Wasseraufstieg in undurchlässigen Kapillaren in Abwesenheit von Schwerkraft exakt mit der Wurzel aus der Zeit (Washburn, 1921). Die Zeitabhängigkeit gibt es nicht nur bei der durch Kapillarkraft induzierten Wasserbefüllung, sondern spricht ebenso für einen Marangoni-Effekt, der erstmals korrekt von Thomson (1855) beschrieben wurde. Der Effekt beruht auf einem Fluß, der von Unterschieden in der Oberflächenspannung getrieben wird. Gradienten in der Oberflächenspannung erzeugen einen Scher-Streß an einer Luft/Wasser- oder Öl/Wasser-Grenzfläche (in Richtung der höheren Oberflächenspannung), der eine Bewegung an der Grenzfläche und den nebenliegenden Flüssigkeitsschichten bewirkt.

Bei *Myrothamnus* können Gradienten in der Oberflächenspannung entlang der ölbedeckten Xylemwände durch große axiale Temperaturgradienten hervorgerufen werden. Tagsüber sind diese vom Granit zu den oberen Blättern der Zweige gerichtet, die die Flüssigkeit zur Region hoher Oberflächenspannung (d.h. zur Spitze hin) ziehen. Während Messungen im Laboratorium zeigten, daß ein Anstieg der Umgebungstemperatur (ohne Simulation der Gradienten) die Aufstiegs kinetik lediglich anfänglich beschleunigte, die Endsteighöhe jedoch nicht beeinflusste, können die Temperaturgradienten, die sich tagsüber im Freiland ausbilden, also möglicherweise eine zusätzliche Kraft zum Wurzeldruck für die Befüllung intakter Pflanzen darstellen.

Die Aufstiegsrate von benetzenden Filmen, die durch temperaturinduzierte Oberflächenspannungsgradienten getrieben werden, ist ausreichend durch entsprechende Gleichungen der Hydrodynamik beschrieben worden (Langbein & Heide, 1986, Troian et al., 1989, Troian, Herbolzheimer & Safran, 1990, Cazabat et al., 1992). In der Praxis wurden deutlich kompliziertere Flüsse mit Rezirkulation beobachtet (Zimmermann et al., 1993a). Wichtig in diesem Zusammenhang ist, daß gemischte Effekte von Schwerkraft und Oberflächenspannung häufig die oben erwähnten 'fingering instabilities' und konvektionelle Verwirbelungen hervorrufen, die die Benetzung durch die Flüssigkeit schneller antreiben, als Kapillarkräfte allein. Deshalb könnten die axialen Temperaturgradienten neben dem Wurzeldruck und der radialen Wasserextraktion eine wichtige Rolle für die Ablösung des Lipidfilms von der Xylemwand spielen.

Wurde Benzol für die Aufstiegsexperimente an trockenen *Myrothamnus*-Zweigen verwendet, so zeigte sich, daß offensichtlich keine Interaktion zwischen Benzol und lebenden Zellen stattgefunden hat. Dennoch war die durchschnittliche Endhöhe größer, als die der Kontrollen. Ein Grund hierfür ist in der besseren Benetzbarkeit der Xylemwände für Benzol zu finden, die

sich auch in niedrigeren Kontaktwinkeln im Vergleich zu den Werten für die Wasserbefüllung ausdrückt. Da Benzol lipophil ist, ergibt sich aus den Ergebnissen wiederum die Schlußfolgerung, daß ein Lipidfilm an den Wänden der Gefäße vorhanden sein muß (s.o.).

Auch für einheimische Bäume wie z.B. Birke wurden bei Benzolbefüllung ähnliche Aufstiegskinetiken und Endhöhen im Vergleich zu Wasser beobachtet, die ebenfalls auf hydrophobe Xylemwände schließen lassen.

Unter Berücksichtigung des Lipidfilms und der lipidgefüllten Tüpfel kann man sich den Mechanismus des Wasseraufstiegs wie folgt vorstellen.

Nach dem Austrocknungsprozeß sind einige Xylemelemente mit einem unregelmäßigen Lipidfilm bedeckt, der vielleicht sogar Lufteinschlüsse enthält. Diese Eigenschaften erleichtern den axialen Wasseraufstieg. Die Kapillarkräfte sind am Anfang stark, da die Oberflächenspannung ähnlich der reinen Wassers ist. Deshalb erfolgt der Wasseraufstieg schnell auf 10 cm innerhalb von 30 min. Dabei lösen sich die Lipide, und die Oberflächenspannung nimmt rapide ab. Die Konsequenz ist eine Verlangsamung des Aufstiegs. Ab diesem Zeitpunkt dienen die bereits befüllten Gefäße als Quelle für eine radiale Befüllung von anderen Gefäßen, Tracheiden und Parenchymzellen und scheinen dabei die Lipideinschlüsse der Tüpfel zwischen diesen zu entfernen.

Auch die NMR-Bildgebungsexperimente zeigten, daß die Xylemgefäße nicht synchron befüllt wurden (s. auch Abb. 29 a-c). Es zeigte sich, daß nur mittels dieser Technik sowohl die axiale als auch die radiale Befüllung von *Myrothamnus*-Zweigen sehr gut untersucht werden konnte. Wie auch mit den Farbstoff- und Schneideexperimenten beobachtet, konnte unter nichtinvasiven Bedingungen beobachtet werden, daß der erste Aufstieg zunächst nur in einem kleinen Bereich erfolgt. Mit fortschreitender Zeit kamen dann weitere, unabhängige Punkte hinzu. Der größte Teil der leitenden Elemente und des Gewebes wurde aber radial befüllt. Im Gegensatz dazu zeigte sich für trockene Zweige einheimischer Bäume wie z.B. Birke (Abb. 29 d-f) und Weide (die ähnliche Gefäßgrößen besitzen), daß die Befüllung offensichtlich axial und relativ gleichmäßig in allen leitenden Elementen erfolgt. Durch Druckapplikation konnte der axiale Aufstieg beschleunigt werden, aber das radiale Befüllungsmuster und die Geschwindigkeit blieben gleich.

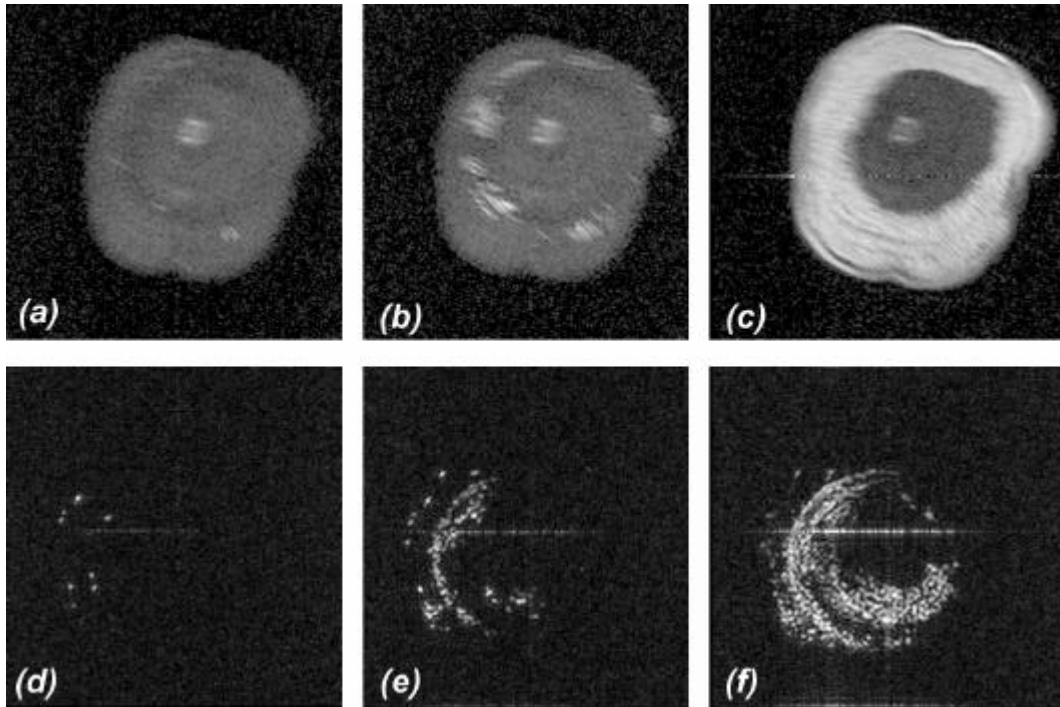


Abbildung 29

^1H NMR Querschnitt, der den Wasseraufstieg in einem abgeschnittenen, 70 cm langen Zeig von *M. flabellifolia* (a-c) und einem 20 cm langen Birkenzweig (d-f). Die Bilder wurden auf einer Höhe von ca. 6 cm gemacht. Die oberen Bilder wurden 12 min (a), 30 min (b) und 70 min (c) nach Wasserzugabe gemacht, die unteren nach 35 min (d), 60 min (e) und 100 min (f). Veröffentlicht in (Wistuba, Reich, et al. 2000).

Die Analyse der Aufstiegskinetiken zeigte, daß sowohl die Gefäße als auch die Tracheiden bei der anfänglichen axialen Befüllung beteiligt sein könnten (s.o.). Leider ist die räumliche Auflösung der NMR-Bilder zu grob für die Unterscheidung von Gefäßen und Tracheiden. Dennoch kann man aus diesen Bildern indirekt Schlüsse über die übergeordnete Rolle der Gefäße ziehen, wenn man die treibende Kraft für das radiale Befüllen der zusammenschalteten leitenden Elemente betrachtet. Hierfür kommt die sogenannte Kapillarkondensation in Frage (Wagner, Schneider, et al. 2000).

Die Kapillarkondensation basiert auf der Tatsache (Carman, 1952), daß eine gekrümmte Oberfläche (konkav in Richtung der Gasphase) nicht nur die Spannung oder den Druck der Flüssigkeit, sondern auch den Gleichgewichtsdampfdruck (p) unter den der Wasserphase (p_0) reduziert gemäß der thermodynamischen Beziehung $\ln(p_0/p) = MP/(rRT)$.

Wobei M , R , T und r die übliche Bedeutung haben und P der Kapillardruck ist. Das Ersetzen von P durch $2\sigma \cos \Theta / r$ (r = Radius) führt zur Kelvin-Gleichung ($\ln(p_0/p) = 2\sigma \cos \Theta M / (r r R T)$).

Es ist offensichtlich, daß die Umverteilung von kapillar gehaltenen Flüssigkeiten zwischen zusammenhängenden Kapillaren unterschiedlicher Größe durch zwei Mechanismen stattfinden kann, nämlich durch Destillation und Flüssigkeitsfluß. Nach der Kelvin-Gleichung

ist der Dampfdruck in einer großen Kapillare größer als in einer kleinen. Es bildet sich ein Wasserfilm an der Wand der leeren Kapillare und läuft aufgrund der Schwerkraft nach unten. Das Resultat ist Flüssigkeitskondensation und Befüllung des Lumens der kleinen Kapillare. Der resultierende Kapillardruck der kondensierten Flüssigkeit induziert wiederum einen Fluß von großen zu kleinen Kapillaren, denn der Kapillardruck ist umgekehrt proportional zum Radius. Die großen Kapillaren werden sozusagen ausgesaugt, aber das fehlende Wasser wird sofort wieder aus dem Wasserbad (falls vorhanden) aufgenommen. Die radiale Befüllung ist dann beendet, wenn die Höhe des Meniskus an allen Stellen gleich ist. Dieser Prozeß der Befüllung scheint über den ganzen Zweig hinweg in gleicher Weise abzulaufen, da auch die NMR-Experimente zeigten, daß die Signalintensität an allen gemessenen Stellen immer linear anstieg und somit die radiale treibende Kraft über die gesamte Zweiglänge konstant sein muß.

Das Prinzip der axialen Xylembefüllung mit Hilfe radialer treibender Kräfte könnte nicht nur für die Wiederbefüllung trockener *Myrothamnus*-Zweige verwirklicht sein. Einige der oben aufgeführten Kräfte, wie z.B. Kapillarkondensation, osmotische Wirkung der Zellen oder auch Marangoni-Konvektion, könnten ebenfalls für die Wiederbefüllung kavittierter Gefäße grüner Pflanzen eine wichtige Rolle spielen.

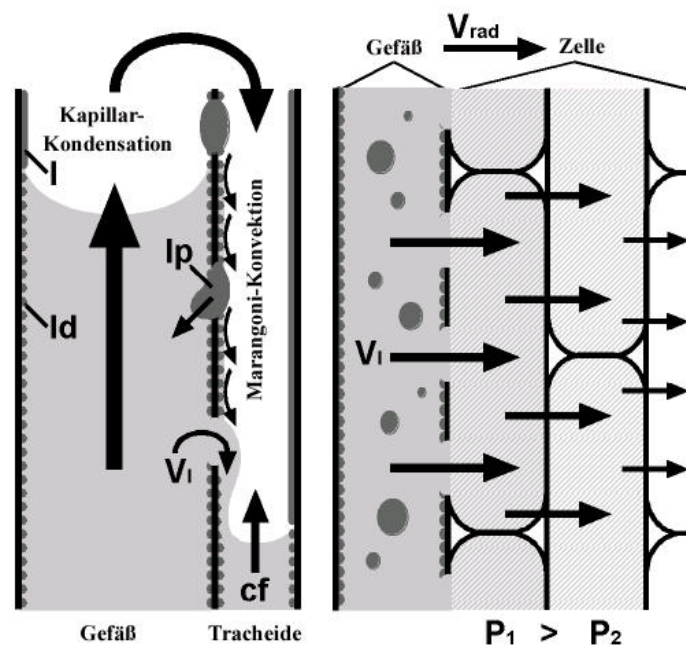


Abbildung 30. Schematisches Diagramm der radialen Befüllung anhand eines großen und eines kleinen leitenden Elementes, d.h. eines Gefäßes und einer Tracheide, die über Tüpfel miteinander in Verbindung stehen (links), und auf der Xylem/Gewebe Ebene (rechts). l = Lipidschicht; ld = abgelöste Lipidschicht; lp = Lipideinschluß in den Tüpfeln; cf = Kapillarkraft; V_1 = radiale Extraktionsrate; v_{rad} = radiale Ausbreitungsgeschwindigkeit für Wasser im Gewebe; P = Turgordruck. Veröffentlicht in Wagner, Schneider, et al. 2000.

Zusammenfassend läßt sich sagen:

- Längenabhängige Druckgradienten sind nicht in erster Linie schwerkraftsabhängig, sondern werden vor allem durch die Transpiration und Flußwiderstände bestimmt. Der Anteil der Schwerkraft fällt erst bei geringer Transpiration ins Gewicht.
- Die wiederholt beobachtete enge hydraulische Kopplung von Xylem und umgebenden Geweben läßt den Schluß zu, daß der Xylemdruck vor allem durch den Zellturgordruck bestimmt wird, der offensichtlich abhängig von der Transpirationsrate ist.
- Neben der Zugspannung spielen weitere Kräfte wie z.B. der osmotische Druck der Zellen und möglicherweise auch der osmotische Druck des Xylemsaftes eine wichtige Rolle für den Wasserferntransport.
- Die Kräfte und Hilfskomponenten, die die Auferstehungspflanze *M. flabellifolia* für die Wiederbefüllung leerer Xylemgefäße benutzt, sind auch in 'normalen' Pflanzen nachweisbar (osmotischer Druck der Zellen) oder zumindest vorstellbar (Kapillarkondensation, Marangoni-Strömung) und könnten somit auch auf die Eliminierung von Embolien im Xylem anderer Pflanzen übertragbar sein.

Die Druckmessungen an *M. flabellifolia* haben gezeigt, daß sich diese Pflanze trotz extremer Standortbedingungen nicht unterschiedlich zu anderen Pflanzen verhält. Oft ist es sinnvoll, gerade solche Pflanzen an Extremstandorten für Untersuchungen auszuwählen, da diese bestimmte Mechanismen ausprägen, um extreme Standortbedingungen auszugleichen (siehe auch Mangrove, Zimmermann et al. 1994). Diese Mechanismen könnten in 'normalen' Pflanzen auch vorhanden sein, jedoch nicht so stark ausgeprägt. Als Beispiel dafür wären die hydrophoben Auflagerungen der Xylemwand von *Myrothamnus* zu nennen. Auch für andere Pflanzen sind hydrophobe Xylemwandimprägnierungen beschrieben (Scott, 1966, Laschimke & Laschimke, 1998). Bei *Myrothamnus* wurden Ölauf lagerungen in den Tüpfeln gefunden, die nach Wiederbefüllung verschwunden waren. Tüpfelauf lagerung unbekannter chemischer Zusammensetzung wurden bei *Fraxinus* während des Winters beobachtet, die nach dem Frühjahrsausschlag verschwanden (Sano, Utsumi & Ohtani, 1998). Die Beteiligung lebender Zellen an der Wiederbefüllung kavierter Gefäße wurde jüngst auch von anderen Autoren in Erwägung gezogen (Tyree et al. 1999, Holbrook & Zwieniecki, 1999) und hat sich in dieser Arbeit durch die Neubefüllung bei *M. flabellifolia* bestätigt. Die Untersuchungen an trockengestrebten Tabakpflanzen zeigten, daß im Gewebe 'Löcher' entstanden, die nach Wiederbewässerung verschwanden. Auch hier kann man mutmaßen, daß die lebenden Zellen in Wechselwirkung mit dem Xylem stehen, um den Druck im Xylem nicht zu negativ werden

zu lassen. Die deutlichsten Hinweise auf die aktive Beteiligung lebender Zellen am Wassertransport konnten im Rahmen dieser Arbeit für *Epipremnum aureum* erarbeitet werden. Die Gradienten im Xylem- und im Turgordruck in aufrechten Pflanzen verhielten sich so, wie die für andere Lianen beschriebenen (Thürmer, Zhu, et al. 1999, Benkert, Zhu, et al. 1995). Im Gegensatz zu *Tetrastigma*, bei der der Turgordruck passiv auf die Änderung des Xylemdrucks zu reagieren schien (Thürmer et al., 1999), konnte für *Epipremnum* durch die Orientierung in verschiedene Raumrichtungen gezeigt werden, daß die lebenden Zellen *a priori* Gradienten im hydrostatischen und osmotischen Druck aufwiesen, die offensichtlich eine zusätzliche treibende Kraft für den Wassertransport darstellten. Diese wichtige Rolle der lebenden Zellen für den Langstrecken-Wassertransport wurde von der Kohäsionstheorie nicht in Betracht gezogen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Dank neuer Methoden zur Untersuchung von Druck und Fluß in den Leitbündeln Höherer Pflanzen, der Xylemdruckmeßsonde und der NMR-Bildgebung, konnten viele Daten gesammelt werden, die auf die Beteiligung zahlreicher treibender Kräfte für den Wassertransport neben der Zugspannung hindeuten (sog. 'Multi Force Theory'; siehe Benkert et al., 1995; Thürmer et al., 1999; Schneider et al., 1999; Schneider, Zhu & Zimmermann, 1997; Thürmer, 1998). Ziel dieser Arbeit war es, mit Hilfe der oben beschriebenen Techniken auf die vier folgenden Fragen einzugehen, die für das Verständnis des Langstrecken-Wassertransportes in Höheren Pflanzen essentiell sind:

- 1) Sind längenabhängige Gradienten im Druck transpirations- und/oder schwerkraftsinduziert?
- 2) Bestimmt die Transpirationsrate zusammen mit der Wasserversorgung über die Wurzel den Xylemdruck, oder wird der Xylemdruck durch den hydrostatischen/osmotischen Druck der Gewebezellen bestimmt?
- 3) Welche zusätzlichen Kräfte spielen neben der Zugspannung für den Wasserferntransport von der Wurzel bis zum Apex einer Pflanze eine Rolle?
- 4) Wie können kavitierte oder leere Xylemgefäße wieder aufgefüllt werden?

Die untersuchten Pflanzenarten zeigten ein 'normales' Verhalten im Xylemdruck in Abhängigkeit von den Umweltparametern, wie es bereits für viele Pflanzenarten bekannt ist. Selbst die Auferstehungspflanze *Myrothamnus flabellifolia*, die unter Extrembedingungen wächst, zeigte keine außergewöhnlich hohen Xylemspannungen. Es zeigte sich, wie auch für die tropische Liane *Epipremnum aureum*, eine geringe Empfindlichkeit gegenüber Änderungen in der Lichtintensität; vielmehr schienen Temperatur und Luftfeuchtigkeit den

Xylemdruck maßgeblich zu beeinflussen. Auf ähnliche Weise wie das Xylem von *Epipremnum aureum* ist auch das von *Myrothamnus flabellifolia* mit den lebenden Zellen gekoppelt. Es zeigte sich auch hier, daß eine Zunahme der Xylemspannung zu einer Abnahme des Turgordrucks führte. Die wiederholt beobachtete enge hydraulische Kopplung von Xylem und umgebenden Geweben läßt den Schluß zu, daß der Xylemdruck vor allem durch den Zellturgordruck bestimmt wird, der offensichtlich abhängig von der Transpirationsrate ist.

Neben der Zugspannung spielen also weitere Kräfte wie z.B. der osmotische Druck der Zellen und möglicherweise auch der osmotische Druck des Xylemsaftes eine wichtige Rolle für den Wasserferntransport.

Im Rahmen der Untersuchungen zur Entstehung längenabhängiger Druckgradienten an der Liane *Epipremnum aureum* wurde sowohl ein Xylemdruckgradient als auch ein Gradient im Zellturgordruck entlang der Sproßachse beobachtet: Mit zunehmender Entfernung von der Wurzel nahm der Xylemdruck linear ab, der Turgordruck hingegen zu. Die Größe der Gradienten war transpirationsabhängig. Bei starken Transpirationsbedingungen war im Unterschied zum Xylemdruckgradient kein Turgordruckgradient meßbar. Dagegen bildete sich dieser bei geringer Transpiration der Blätter aus. Dieser Sachverhalt erklärte sich durch die Existenz eines zusätzlichen Gradienten im osmotischen Druck der Zellen.

Messungen der Pflanzen in verschiedenen Raumrichtungen zeigten, daß längenabhängige Druckgradienten nicht in erster Linie schwerkraftabhängig sind, sondern vor allem durch die Transpiration und Flußwiderstände bestimmt werden. Der Anteil der Schwerkraft fällt erst bei geringer Transpiration ins Gewicht.

Wie mittels NMR-Bildgebung und Xylemdruckmeßsonde an *E. aureum* gezeigt werden konnte, existiert eine 'positive Korrelation' zwischen Kraft und Fluß mit zunehmender Flußgeschwindigkeit bei erhöhten Xylemspannungen nur solange, wie die Pflanze gut gewässert ist. Messungen an trockengestreßten Tabakpflanzen zeigten hingegen eine 'negative Korrelation' beider Parameter. In diesem Fall führt eine Erhöhung der Kraft nicht zu einer Erhöhung der Flußgeschwindigkeiten, sondern diese nehmen ab, je trockener der Boden und je negativer der Xylemdruck wird. Ab einer gewissen Trockenheit des Bodens sind offensichtlich viele der Xylemgefäße kavitiert.

Eine Wiederbefüllung kavittierter Gefäße kann möglicherweise nach ähnlichen Prinzipien erfolgen, wie sie für die Befüllung trockener Zweige der afrikanischen Auferstehungspflanze *M. flabellifolia* erarbeitet wurden:

Die Xylemwände von *M. flabellifolia* sind mit einem Lipidfilm als 'innerer Kutikula' ausgestattet, der die Pflanze vor kompletter Austrocknung bewahrt. Bei Wiederbefüllung muß dieser zuerst abgelöst werden. Es zeigte sich, daß die Befüllung einen komplexen Prozeß darstellt, an dem mehrere Kräfte beteiligt sind. Eine wichtige Rolle spielt offensichtlich eine radiale Extraktion von Wasser aus dem Xylem, die an das Vorhandensein lebender Zellen gekoppelt ist. Abgeschnittene Zweige konnten nur mit Druck bis zur Spitze gefüllt werden. Für intakte Pflanzen konnte gezeigt werden, daß der Wurzeldruck die entscheidende Kraft für die Wiederbefüllung ist.

Die Kräfte und Hilfskomponenten, die die Auferstehungspflanze *M. flabellifolia* für die Wiederbefüllung leerer Xylemgefäße benutzt, sind auch in 'normalen' Pflanzen nachweisbar (osmotischer Druck der Zellen, Wurzeldruck) oder zumindest vorstellbar (Kapillarkondensation, Marangoni-Strömung), da die strukturellen Voraussetzungen auch in diesen Pflanzen zu finden sind (z.B. lipophile Xylemwände in Birken), und könnten somit auch auf die Eliminierung von Embolien im Xylem der 'normalen' Pflanzen übertragbar sein.

6 SUMMARY

Recently developed methods for the investigation of pressure and flow within vascular bundles of higher plants allowed to collect various data indicating the involvement of several forces besides tension in water transport ('Multi Force Theory'; Benkert et al., 1995; Thürmer et al., 1999; Schneider et al., 1999; Schneider, Zhu & Zimmermann, 1997; Thürmer, 1998)

Four questions concerning water transport were investigated:

- 1) Are longitudinal pressure gradients induced by transpiration- and/or gravity?
- 2) Is xylem pressure determined by transpiration along with the water supply of the root or by hydrostatic/osmotic pressure of tissue cells?
- 3) Which additional forces besides tension are involved in long –distance water transport from root to apex?
- 4) Is it possible to refill cavitated or empty xylem vessels?

All plants used to answer these questions showed 'normal' response of xylem pressure to changes of environmental conditions as described for many other plant species. Even the african resurrection plant *Myrothamnus flabellifolia*, growing under extreme conditions, did not show high xylem tensions. *M. flabellifolia* as well as the tropical liana *Epipremnum aureum* demonstrated lower sensibility for changes in light intensity than for temperature and relative humidity. Tight hydraulic coupling between xylem and adjacent tissue was observed for both species. An increase in xylem tension resulted in a decrease of turgor pressure. Repeated observations of the tight hydraulic connection of xylem with living cells allowed the conclusion that the xylem pressure is particularly determined by cell turgor pressure which depends on the transpiration rate.

Several forces besides tension for example the osmotic pressure of the cells and probably also the osmotic pressure of the xylem sap, are involved in long distance transport of water.

In the Liana *E. aureum*, a gradient in xylem pressure as well as in turgor pressure along the stem was observed: The xylem pressure decreased with increasing distance to the root while turgor pressure increased. The steepness of the gradients depended on the transpiration rate. At high transpiration a xylem pressure gradient existed, but no turgor pressure gradient was observed. When transpiration was low, a turgor pressure gradient developed. This was due to the fact that a gradient in osmotic pressure of cells existed.

Measurements of plants orientated in different directions showed that longitudinal pressure gradients did not only depend on gravity, but were determined by transpiration and flow resistances. Gravity influence was observed at low transpiration rates.

NMR-imaging in combination with recordings of xylem pressure in *E. aureum* revealed a 'positive' correlation of force and flow, with an increase of flow velocities with increasing xylem tension, as long as the plant is well-watered. Measurements on drought stressed tobacco plants, however, showed 'negative' correlation of both parameters. In this case, an increase in xylem tension led to a decrease in flow velocities. After a certain drought status of the soil a lot of vessels seem to cavitate.

A refilling of cavitated vessels may work with similar principles as used by the african resurrection plant *M. flabellifolia* for refilling of dry branches:

The xylem walls of *M. flabellifolia* are covered with a lipidfilm that forms a 'inner cuticula' preventing total desiccation. During refilling, this film must be dissolved. It was observed that the refilling is a complex process where several forces are involved. An important role is apparently played by a radial extraction of water from the xylem by living cells. Cutted branches could only be refilled by application of pressure. In intact plants root pressure is the important mean for refilling.

The forces for refilling used by the resurrection plant are also existent in 'normal' plants (osmotic pressure of cells, root pressure) or at least imaginable (Marangoni-convection, capillary condensation) because the structural requirements can also be found in other plants (e.g. lipophilic xylem walls in birch) and therefore may help to refill embolised vessels in 'normal' plants.

7 LITERATURVERZEICHNIS

- Adamson, A. W., Gast, A. P. 1997. *Physical Chemistry of Surfaces*. J. Wiley & Sons, Inc. New York, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto
- Altus, D. P., Canny, M. J., Blackman, D. R. 1985a. Water pathways in wheat leaves. II Water-conducting capacities and vessel diameters of different vein types, and the behaviour of the integrated vein network. *Australian Journal of Plant Physiology* **12**:183-199
- Altus, D. P., Canny, M. J., Blackman, D. R. 1985b. Water pathways in wheat leaves. II*water-conducting capacities and vessel diameters of different vein types, and the behaviour of the integrated vein network. *Australian Journal of Plant Physiology* **12**:183-199
- Andrews, F. C. 1976. Colligative Properties of Simple Solutions. *Science* **194**:567-571
- Askenasy, E. 1895. Über das Saftsteigen. *Verhandlungen des Naturhistorisch-Medizinischen Vereins Heidelberg N. F.* **5**:325-345
- Balling, A., Zimmermann, U., Büchner, K.-H., Lange, O.L. 1988. Direct measurement of negative pressure in artificial-biological systems. *Naturwissenschaften* **75**:409-411
- Balling, A., Zimmermann, U. 1990. Comparative measurements of the xylem pressure of *Nicotiana* plants by means of the pressure bomb and pressure probe. *Planta* **182**: 325-338
- Bartels, D., Schneider, K., Terstappen, G., Piatkowski, D., Salamini, F. 1990. Molecular cloning of abscisic acid-modulated genes which are induced during desiccation of the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *Planta* **181**:27-34
- Benkert, R., Zhu, J.-J., Zimmermann, G., Türk, R., Bentrup, F.-W., Zimmermann, U. 1995. Long-term xylem pressure measurements in the liana *Tetrastigma voinierianum* by means of the xylem pressure probe. *Planta* **196**:804-813

-
- Benkert, R., Balling, A., Zimmermann, U. 1991. Direct Measurements of the Pressure and Flow in the Xylem Vessels of *Nicotiana tabacum* and their Dependence on Flow Resistance and Transpiration Rate. *Botanica Acta* **104**:405-464
- Bewley, J. D., Krochko, J. E. 1982. Desiccation-Tolerance. *Physiological Plant Ecology II. :Encyclopedia of Plant Physiology* **12B**:325-378
- Bianchi, G., Gamba, A., Limiroli, R., Pozzi, N., Elster, R., Salamini, F., Bartels, D. 1993. The unusual sugar composition in leaves of the resurrection plant *Myrothamnus flabellifolia*. *Physiologia Plantarum* **87**:223-226
- Biles, C. L., Abeles, F. B. 1991. Xylem Sap Proteins. *Plant Physiology* **96**:597-601
- Braun, H. J. 1984. The Significance of the Accessory Tissues of the Hydrosystem for Osmotic Water Shifting as the Second Principle of Water Ascent, with some Thoughts Concerning the Evolution of Trees. *IAWA Bulletin n. s.* **5**:275-294
- Briggs, L. J. 1950. Limiting negative pressure of water. *Journal of Applied Physics* **21**:721-722
- Canny, M. J. 1990. Tansley Review No.22 What becomes of the transpiration stream? *New Phytologist* **114**:341-368
- Canny, M. J. 1991. The xylem wedge as a functional unit - Speculations on the consequences of flow in leaky tubes. *New Phytologist* **118**:367-374
- Canny, M. J. 1993. The transpiration stream in the leaf apoplast: water and solutes. *Philosophical Transactions of the Royal Society London. B* **341**:87-100
- Canny, M. J. 1995. A new theorie for the ascent of sap: cohesion supported by tissue pressure. *Annals of Botany* **75**:343-357
- Canny, M. J. 1997. Vessel contents during transpiration, embolism and refilling. *American Journal of Botany* **84**:1223-1230
- Canny, M. J. 1998. Applications of the Compensating Pressure Theory of Water Transport¹. *American Journal of Botany* **85**:897-909
- Carlquist, S. 1976. Wood Anatomy of *Myrothamnus Flabellifolia* (Myrothamnaceae) and the Problem of Multiperforate Perforation Plates. *Journal of the Arnold Arboretum* **57**:119-126
- Carman, P. C. 1952. Properties of capillary-held liquids. *Journal of Physical Chemistry* **57**:56-64

-
- Cazabat, A. M., Heslot, F., Carles, P., Troian, S. M. 1992. Hydrodynamic Fingering Instability of Driven Wetting Films. *Advances in Colloid and Interface Science* **39**:61-75
- Chen, L. J. M., Turner, I. M. 1998. The use of *Epipremnum pinnatum* (Araceae) in Singapore in the treatment of cancer: an unreported application of herbal medicine. *Economic Botany* :108-109
- Child, G. F. 1960. Brief Notes on the Ecology of the Resurrection Plant (*Myrothamnus flabellifolia*) With Mention of its Water-Absorbing Abilities. *Journal of South Africa Botany* **26**
- Crowe, J. H., Crowe, L. M. 1984. Preservation of Membranes in Anhydrobiotic Organisms: The Role of Trehalose. *Science* **223**:701-703
- Da Cunha, A. P., Rodrigues Roque, O. 1974. Identificacao e dosagem dos principais constituintes do oleo essencial do *Myrothamnus flabellifolius* Welw., de Angola (*). *Boletim Cientifico* **34**:49-61
- Dainty, J., Croghan, P. C., Fensom, D. S. 1963. Electro-osmosis, with some applications to plant physiology. *Canadian Journal of Botany* **41**:953-966
- Dixon, H. H. 1914. Transpiration and the ascent of sap in plants. *Macmillan and Co. ,Ltd. , London*
- Dixon, H. H., Joly, J. 1894. On the ascent of sap. *Annals of Botany, London* **8**, **168**:468-470
- Drennan, P. M., Smith, M. T., Goldsworthy, D., van Staden, J. 1993. The Occurrence of Trehalose in the Leaves of the Desiccation-Tolerant Angiosperm *Myrothamnus flabellifolius* Welw. *Journal of Plant Physiology* **142**:493-496
- Elliott, G. E. P., Riddiford, A. C. 1962. Dynamic Contact Angles and Rates of Adsorption. *Nature* **195**:795-796
- Erdmann, N., Fulda, S., Hagemann, M. 1992. Glucosylglycerol accumulation during salt acclimation of two unicellular cyanobacteria. *Journal of General Microbiology* **138**:363-368
- Esau, K. 1969. Pflanzenanatomie. G. Fischer Verlag Stuttgart
- Ewers, F. W. 1985. Xylem structure and water conduction in conifer trees, dicot trees, and lianas. *IAWA Bulletin n. s.* **6**:309-317
- Fensom D.S. 1957. The Bio-Electric Potentials of Plants and Their Functional Significance 1. An Electokinetic Theory of Transport. *Canadian Journal of Botany* **35**:573-581

-
- Finn, R. 1989. Capillary Surfaces: A Partly Historical Survey. *Symposia Mathematica* **30**:45-71
- Fisher, L. R., Lark, P. D. 1979. An experimental study of the Washburn equation for liquid flow in very fine capillaries. *Journal of Colloid and Interface Science* **69**:486-492
- Gaff, D.F. 1989. Responses of desiccation tolerant "resurrection" plants to water stress. In: Kreeb K.H., Richter H., Hinckley T.M., (Hrsg.) *Structural and functional responses to environmental stresses*. The Hague, The Netherlands: SPB Academic Publishing bv, 255-268.
- Gaff, D. F. 1977. Desiccation Tolerant Vascular Plants of Southern Africa. *Oecologia (Berl.)* **31**:95-109
- Gildemeister, E., Hoffmann, F. 1959 Die Ätherischen Öle. Spezieller Teil B, Band V. 4. Aufl. Akademie-Verlag Berlin
- Goldworthy, D.-A. 1992. Dessication tolerance in *Myrothamnus flabellifolia* Welw. Thesis for Master of Science, University Natal, Pietermaritzburg
- Grundell, R. 1933. Zur Anatomie von *Myrothamnus flabellifolia*. *Symbolae Botanice Upsaliensis* **2**:3-17
- Gündel, R. 1968. Poikilohydre Kormophyten- Anatomische und physiologische Untersuchungen an *Myrothamnus flabellifolia*, Welwitsch. Zulassungsarbeit, Botanisches Institut Darmstadt
- Haase, A., Brandl, M., Kuchenbrod, E., Link, A. 1993. Magnetization-prepared NMR microscopy. *Journal of Magnetic Resonance Series A* **105**:230-233
- Haberlandth, G. 1924. *Physiologische Pflanzenanatomie*. Wilhelm Engelmann Verlag
- Hagemann, M., Erdmann, N., Wittenburg, E. 1987. Synthesis of glucosylglycerol in salt-stressed cells of the cyanobacterium *Microcystis firma**. *Archives of Microbiology* **148**:275-279
- Hales, S. 1728. *Vegetable Statics*. W. und J. Innys und T. Woodward, London
- Hamblen, D. J. 1961. A Poikilohydrous, Poikilochlorophyllous Angiosperm from Africa. *Nature* **191**:1415-1416
- Hoffmann, P. 1968. Pigmentgehalt und Gaswechsel von *Myrothamnus*-Blättern nach Austrocknung und Wiederaufsättigung*. *Photosynthetica* **2**:245-252
- Holbrook, M.N., Zwieniecki, M.A. 1999. Embolism repair and xylem tension: Do we need a miracle? *Plant Physiology* **120**:7-10

-
- Howard, R. A. 1974. The Stem-Node-Leaf Continuum of the Dicotyledoneae. *Journal of the Arnold Arboretum* **55**:125-181
- Huppert, H. E. 1982. Flow and instability of a viscous current down a slope. *Nature* **300**:427-429
- Johansson, J., Curstedt, T., Robertson, B. 1994. The proteins of the surfactant system. *European Respiratory Journal* **7**:372-391
- Jones, H. G. 1992. *Plants and microclimate: a practical approach*. 2. Aufl. Cambridge University Press, Cambridge
- Katchalsky, A., Curran, P. F. 1975. *Nonequilibrium thermodynamics in biophysics*. Harvard University Press, Cambridge, Mass.
- Kluge, M. 1976. Carbon and nitrogen metabolism under water stress. In: O.L. Lange, L. Kappen, E.-D. Schulze (Hrsg.) *Water and plant life: problems and modern approaches*. *Ecological Studies* 19. Springer Verlag, Berlin: 243-252
- Kuchenbrod, E., Haase, A., Benkert, R., Schneider, H., Zimmermann, U. 1995. Quantitative NMR Microscopy on Intact Plants. *Magnetic Resonance Imaging* **13**:447-455
- Kuchenbrod, E., Landeck, M., Thürmer, F., Haase, A., Zimmermann, U. 1996. Measurement of Water Flow in the Xylem Vessels of Intact Maize Plants using Flow-Sensitive NMR Imaging. *Botanica Acta* **109**:184-186
- Landschütz, W., Meininger, M., Jakob, P. M., Thürmer, F., Zimmermann, U., Haase, A. 1996. In-vivo functional NMR imaging on plants at 7T. *ESMRMB* **209**:125
- Langbein, D., Heide, W. 1986. Study of Convective Mechanisms under Microgravity Conditions. *Advances in Space Research* **6**:5-17
- Laschimke, R. 1989. Investigation of wetting behaviour of natural lignin- a contribution to the cohesion theory of water transport in plants. *Thermochimica acta* **151**:35-56
- Laschimke, R., Laschimke, K. 1998. Observations of wall adherent gas bubbles at the xylem vessel walls of 8 tree species by means of a pressure chamber microscope. *Meeting of the Botanical Society, Bremen*
- Lucas, R. 1918. Über das Zeitgesetz des kapillaren Aufstiegs von Flüssigkeiten. *Kolloid-Zeitschrift* **23**:15-22
- Malone, M. 1993. Hydraulic signals. *Philosophical Transactions of the Royal Society London B* **341**:33-39
- Mauro, A. 1965. Osmotic flow in a Rigid Porous Membrane. *Science* **149**:867-869

-
- Mauro, A. 1981 The role of negative pressure in osmotic equilibrium and osmotic flow. In: *Water Transport Across Epithelia* (Hrsg. Ussing, H.H., Bindslev, N., Lassen, N.A., Sten-Knudsen, O., 107-119. Munksgaard, Kopenhagen.
- Melcher, P. J., Meinzer, F. C., Yount, D. E., Goldstein, G., Zimmermann, U. 1998. Comparative measurements of xylem pressure in transpiring and nontranspiring leaves by means of the pressure chamber and the xylem pressure probe. *Journal of Experimental Botany* **49**: 1757-1760
- Melo, F., Joanny, J. F., Fauve, S. 1989. Fingering instability of spinning drops. *Physical Review Letters* **63**:1958-1961
- Milburn, J. A. 1973. Cavitation in *Ricinus* by Acoustic Detection: Induction in Excised Leaves by Various Factors. *Planta* **110**:253-265
- Milburn, J. A., Covey-Crump, P. A. K. 1971. A Simple Method for the Determination of Conduittlength and Distribution in Stems. *New Phytologist* **70**:427-434
- Ohki, S. 1988. Surface tension, hydration energy and membrane fusion. In: Ohki, S., Doyle, D., Flanagan, Th.D., Hui, S.W., Mayhew E. (Hrsg.) *Molecular Mechanisms of Membrane Fusion*. New York, USA: Plenum Press:123-138
- Pfeffer, W.F.P. 1877. *Osmotische Untersuchungen*. Verlag Wilhelm Engelmann, Leipzig
- Pickard, W. F. 1981. The Ascent of Sap in Plants. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* **37**:181-229
- Plumb, R. C., Bridgman, W. B. 1972. Ascent of Sap in Trees. *Science* **176**:1129-1131
- Preston, R. D. 1961. Theoretical and Practical Implications of the Stresses in the Water-Conducting System. *Recent Advances in Botany*
- Reed, R. H., Stewart, W. D. P. 1985. Osmotic adjustment and organic solute accumulation in unicellular cyanobacteria from freshwater and marine habitats. *Marine Biology* **88**:1-9
- Renner, O. 1915. Theoretisches und Experimentelles zur Kohäsionstheorie der Wasserbewegung. *Jahrbuch der Wissenschaftlichen Botanik* **56**:617-667
- Renner, O. 1925. Zum Nachweis negativer Drucke im Gefässwasser bewurzelter Holzgewächse. *Flora* **119**:402-408
- Richardson, D. L., Reed, R. H., Stewart, W. D. P. 1983. Synechocystis PCC6803: a euryhaline cyanobacterium. *FEMS Microbiology Letters* **18**:99-102
- Rideal, E. K. 1922. On the flow of liquids under capillary pressure. *London, Edinburgh and Dublin Philosophical Journal* **44**:1152-1159

-
- Rokitta, M., Peuke, A. D., Zimmermann, U., Haase, A. 1999a. Dynamic Studies of Phloem and Xylem Flow in Fully Differentiated Plants Using Fast NMR Microimaging. *Protoplasma* **209**: 126-131
- Rokitta, M., Zimmermann, U., Haase, A. 1999b. Fast NMR Flow Measurements in Plants Using FLASH Imaging. *Journal of Magnetic Resonance* **137**: 29-32
- Rokitta, M. 2000. Funktionelle NMR-Bildgebung an intakten Pflanzen. Dissertation, Physikalisches Institut, Universität Würzburg
- Sachs, J. 1865. *Handbuch der Experimentalphysiologie der Pflanzen*. Verlag Wilhelm Engelmann, Leipzig
- Sano, Y., Utsumi, Y., Ohtani, J. 1998. Seasonal changes in the structure of intervessel and vessel-parenchyma pit membranes in *Fraxinus mandshurica* var. *japonica*. *IAWA Journal* **19**:477
- Sakuratani, T., Aoe, T., Higuchi, H. 1999. Reverse flow in roots of *Sesbania rostrata* measured using the constant power heat balance method. *Plant, Cell and Environment* **22**:1153-1160
- Sauter, J. J. 1986. I. Xylem: Structure and Function. *Progress in Botany* **48**:388-405
- Schneider, H., Thürmer, F., Zhu, J. J., Wistuba, N., Gessner, P., Lindner, K., Herrmann, B., Zimmermann, G., Hartung, W., Bentrup, F.-W., Zimmermann, U. 1999. Diurnal changes in xylem pressure of the hydrated resurrection plant *Myrothamnus flabellifolia*: evidence for lipid bodies in conducting xylem vessels. *New Phytologist* **143**:471-484
- Schneider, H., Wistuba, N., Miller, B., Gessner, P., Thürmer, F., Melcher, P., Meinzer, F., Zimmermann, U. 1997. Diurnal variation in the radial reflection coefficient of intact maize roots determined with the xylem pressure probe. *Journal of Experimental Botany* **48**:2045-2053
- Schneider, H., Wistuba, N., Wagner, H.-J., Thürmer, F., Zimmermann, U. 2000. Water rise kinetics in refilling xylem after desiccation in a resurrection plant. *New Phytologist*: in press
- Schneider, H., Zhu, J. J., Zimmermann, U. 1997. Xylem and cell turgor pressure probe measurements in intact roots of glycophytes: transpiration induces a change in the radial and cellular reflection coefficients. *Plant, Cell and Environment* **20**:221-229
- Scholander, P. F., Hammel, H. T., Bradstreet, E. D., Hemmingsen, E. A. 1965. Sap Pressure in Vascular Plants. *Science* **148**:339-346
- Schröder, G. 1886. Über die Austrocknungsfähigkeit der Pflanzen. *Untersuchungen aus dem Botanischen Institut zu Tübingen* :1-51

-
- Scott, F. M. 1966. Cell wall surface of higher plants. *Nature* **210**:1015-1017
- Shackel, K. 1996. To tense, or not too tense: reopening the debate about water ascent in plants. *Trends in plant science* **1**:105-106
- Sherwin, H. W., Pammenter, N. W., February, E., Willigen, C. V., Farrant, J. M. 1998. Xylem Hydraulic Characteristics, Water Relations and Wood Anatomy of the Resurrection Plant *Myrothamnus flabellifolius* Welw. *Annals of Botany* **81**:567-575
- Smith, A. M. 1994. The cohesive strength of water and xylem transport. *Annals of Botany* **74**:647-651
- Smith, J. A. C., Lüttge, U. 1985. Day-night changes in leaf water relations associated with the rhythm of crassulacean acid metabolism in *Kalanchoe daigremontiana*. *Planta* **163**:272-282
- Solereeder, H., Meyer, F. J. 1928. In: Solereeder H., Meyer F.J. (Hrsg.) *Systematische Anatomie der Monokotyledonen*. Verlag von Gebrüder Borntraeger
- Stal, L. J., Reed, R. H. 1987. Low-molecular mass carbohydrate accumulation in cyanobacteria from a marine microbial mat in response to salt. *FEMS Microbiology Ecology* **45**:305-312
- Stamm, A. J. 1967. Movement of Fluids in Wood - Part I: Flow of Fluids in Wood. *Wood Science and Technology* **1**:122-141
- Stamm, A. J., Wagner, E. 1961. Interstructural Openings in Wood¹. *Forest Products Journal* **11**:141-144
- Steinitz, B., Hagiladi, A. 1987. Thigmomorphogenesis in *Epipremnum aureum*, *Monstera expilata* and *Philodendron scandens* (Araceae). *Journal of Plant Physiology* **128**: 461-466
- Steinitz, B., Hagiladi, A., Anav, D. 1992. Thigmomorphogenesis and its interactions with gravity in climbing plants of *Epipremnum aureum*. *Journal of Plant Physiology* **140**:571-574
- Strasburger, E., Noll, F., Schenck, A., Schimper, A. F. W. 1983. *Lehrbuch der Botanik*. 32. Aufl. G. Fischer Verlag, Stuttgart, New York
- Suau, R., Cuevas, A., Valpuesta, V., Reid, M. S. 1991. Arbutin and sucrose in the leaves of the resurrection plant *Myrothamnus flabellifolia*. *Phytochemistry* **30**:2555-2556
- Talboys, P. W. 1978. Dysfunction of the Water System. *Plant Disease, an Advanced Treatise: How Plants Suffer from Disease*. Academic press, New York:141-162

-
- Thoday, M.A. 1921. On the behaviour during drought of leaves of two cape species of *Passerina*, with some notes on their anatomy. *Annals of Botany* **35**:587-601
- Thomson, J. 1855. On certain curious motions observable at the surfaces of wine and other alcoholic liquors. *The London, Edinburgh and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science* **10**: 330-333.
- Thürmer, F. 1998. Untersuchungen zum Mechanismus des Langstrecken-Wassertransportes in der Höheren Pflanze unter Verwendung der Druckmeßsondentechnik und der NMR-Bildgebung. Dissertation, Biologische Fakultät, Universität Würzburg
- Thürmer, F., Zhu, J. J., Gierlinger, N., Schneider, H., Benkert, R., Gessner, P., Herrmann, B., Bentrup, F.-W., Zimmermann, U. 1999. Diurnal changes in xylem pressure and mesophyll cell turgor pressure of the liana *Tetrastigma voinierianum*: the role of cell turgor in long-distance water transport. *Protoplasma* **206**:152-162
- Tippo, O. 1938. Comparative anatomy of the Moraceae and their presumed allies. *Botanical Gazette* **100**:1-99
- Troian, S. M., Herbolzheimer, E., Safran, S. A. 1990. Model for the fingering instability of spreading surfactant drops. *Physical Review Letters*. **65**:333-336
- Troian, S. M., Herbolzheimer, E., Safran, S. A., Joanny, J. F. 1989. Fingering instabilities of driven spreading films. *Europhysical Letters* **10**:25-30
- Tyree, M.T., Salleo, S., Nardini, A., Assunto Lo Gullo, M., Mosca, R. 1999. Refilling of embolized vessels in young stems of laurel. Do we need a new paradigm? *Plant Physiology* **120**:11-21
- Ursprung, A., Blum, G. 1916. Zur Kenntnis der Saugkraft. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* **34**:539-555
- Van Alfen, N. K., McMillan, B. D., Turner, V., Hess, W. M. 1983. Role of Pit Membranes in Macromolecule-Induced Wilt of Plants¹. *Plant Physiology* **73**:1020-1023
- Wagner, H.-J., Schneider, H., Thürmer, F., Wistuba, N., Zimmermann, U., Haase, A. 1999. Xylem conduits of a resurrection plant contain a unique lipid lining and refill following a distinct pattern after desiccation. *New Phytologist*: in press
- Wagner, H.-J. 2000. NMR-Bildgebung an Pflanzen. Dissertation, Biologische Fakultät, Universität Würzburg
- Warr, S. C. R., Reed, R. H., Stewart, W. D. P. 1985. Carbohydrate accumulation in osmotically stressed cyanobacteria (blue-green algae): interactions of temperature and salinity. *New Phytologist* **100**:285-292

-
- Washburn, E. W. 1921. The Dynamics of Capillary Flow. *The Physical Review* **17**:273-283
- Wegner, L. H., Zimmermann, U. 1998. Simultaneous recording of xylem pressure and trans-root potential in roots of intact glycophytes using a novel xylem pressure probe technique. *Plant, Cell and Environment* **21**:849-865
- Wei, C., Tyree, M. T., Steudle, E. 1999. Direct measurement of xylem pressure in leaves of intact maize plants. a test of the cohesion-tension theory taking hydraulic architecture into consideration. *Plant Physiology* **121**:1191-1205
- Wellburn, F. A. M. W. A. R. 1976. Novel chloroplasts and unusual cellular ultrastructure in the 'resurrection' plant *Myrothamnus flabellifolia* Welw. (Myrothamnaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **72**:51-54
- Wilson, L., Drennan, P. M. 1992. The distribution of lipids in *Myrothamnus flabellifolia* Welw. *Electron Microscopy Society of Southern Africa* **22**:99-100
- Wistuba, N., Reich, R., Wagner, H.-J., Wegner, L.-H., Zimmermann, U., Schneider, H. 2000. Minimal- and non invasive characterization of the flow-force pattern of higher plants. In Terazawa, M., McLeod, C.A., Tamai, Y. (Hrsg.) *Tree sap*. Hokkaido University Press: in Druck
- Wistuba, N., Reich, R., Wagner, H.-J., Zhu, J.J., Schneider, H., Bentrup, F.-W., Haase, A., Zimmermann, U. 2000. Xylem flow and driving forces in a tropical liana: concomitant flow-sensitive NMR imaging and pressure probe measurements. *Plant Biology*: eingereicht
- Yount, D. E. 1989. Growth of Bubbles From Nuclei. In: Brubakk A.O., Hemmingsen B.B., Sundnes G. (Hrsg.) *Supersaturation and Bubble Formation in Fluids and Organisms*. The Royal Norwegian Society of Sciences and Letters, The Foundation
- Zimmermann, M. H. 1983. *Xylem structure and the ascent of sap*. Springer Verlag Berlin Heidelberg New York
- Zimmermann, M. H., Brown, C. L. 1980. *Trees- Structure and Function*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- Zimmermann, M. H., Jeje, A. A. 1981. Vessel-length distribution in stems of some American woody plants. *Canadian Journal of Botany* **59**:1882-1892
- Zimmermann, M. H., McDonough, J. 1978. Dysfunction in the Flow of Food. In: Horsfall J.G., Cowling E.B. (Hrsg.). *Plant Disease, an Advanced Treatise: How Plants Suffer from Disease*. Academic press, New York:117-140
- Zimmermann, U. 1989. Water Relations of Plant Cells: Pressure Probe Technique. *Methods in Enzymology* **174**:338-366

-
- Zimmermann, U., Benkert, R., Schneider, H., Rygol, J., Zhu, J. J., Zimmermann, G. 1993b. Xylem pressure and transport in higher plants and tall trees. In: Smith J.A.C., Griffiths H. (Hrsg.) *Water Deficits: Plant Responses from Cell to Community*. Bios Scientific Publishers:87-108
- Zimmermann, U., Bentrup, F.-W., Haase, A. 1995. Xylem pressure, flow, and sap composition of trees determined by means of the xylem pressure probe. In Terazwa M., McLeod C.A., Tamai Y. (Hrsg.) *Tree sap*. Hokkaido University Press: 47-58
- Zimmermann, U., Haase, A., Langbein, D., Meinzer, F. 1993a. Mechanisms of long-distance water transport in plants: a re-examination of some paradigms in the light of new evidence. *Philosophical Transactions of the Royal Society London B* **341**:19-31
- Zimmermann, U., Meinzer, F., Bentrup, F.-W. 1995. How Does Water Ascend in Tall Trees and Other Vascular Plants? *Annals of Botany* **76**:545-551
- Zimmermann, U., Meinzer, F. C., Benkert, R., Zhu, J. J., Schneider, H., Goldstein, G., Kuchenbrod, E., Haase, A. 1994b. Xylem water transport: is the available evidence consistent with the cohesion theory? *Plant, Cell and Environment* **17**:1169-1181
- Zimmermann, U., Råde, H., Steudle, E. 1969. Kontinuierliche Druckmessung in Pflanzenzellen. *Naturwissenschaften* **56**:634
- Zimmermann, U., Steudle, E. 1978. Physical aspects of water relations of plant cells. *Advances in Botanical Research* **6**:45-117
- Zimmermann, U., Zhu, J. J., Meinzer, F. C., Goldstein, G., Schneider, H., Zimmermann, G., Benkert, R., Thürmer, F., Melcher, P., Webb, D., Haase, A. 1994a. High Molecular Weight Organic Compounds in the Xylem Sap of Mangroves: Implications for Long-Distance Water Transport. *Botanica Acta* **107**:218-229

8 ANHANG

Veröffentlichungen

Schneider,H., Wistuba,N., Miller,B., Geßner,P., Thürmer,F., Melcher,P., Meinzer,F., Zimmermann,U. (1997) Diurnal variation in the radial reflection coefficient of intact maize roots determined with the xylem pressure probe. *Journal of Experimental Botany* **48**, 2045-2053

Schneider,H., Thürmer,F., Zhu,J.J., Wistuba,N., Gessner,P., Lindner,K., Herrmann,B., Zimmermann,G., Hartung,W., Bentrup,F.-W. and Zimmermann,U. (1999) Diurnal changes in xylem pressure of the hydrated resurrection plant *Myrothamnus flabellifolia*: evidence for lipid bodies in conducting xylem vessels. *New Phytologist* **143**, 471-484

Schneider,H., Wistuba,N., Wagner,H.-J., Thürmer,F., Zimmermann,U. (2000) Water rise kinetics in refilling xylem after desiccation in a resurrection plant. *New Phytologist* in Druck

Wagner,H.-J., Schneider,H.; Mimietz,S., Wistuba,N., Krohne,G., Haase,A., Zimmermann,U. (2000) Xylem conduits of a resurrection plant contain unique lipid lining and refill following a distinct pattern after desiccation. *New Phytologist* in Druck

Wistuba,N., Reich,R., Wagner,H.-J., Wegner,L.-H., Zimmermann,U., Schneider,H. (2000) Minimal- and noninvasive characterization of the flow-force pattern of higher plants. In Terazwa M., McLeod C.A., Tamai Y. (Hrsg.) *Tree sap*. Hokkaido University Press: in Druck

Wistuba,N., Reich,R., Wagner,H.-J., Zhu, J.J., Schneider,H., Bentrup, F.-W., Haase,A., Zimmermann, U (2000). Xylem flow and driving forces in a tropical liana: concomitant flow-sensitive NMR imaging and pressure probe measurements. *Plant Biology*: eingereicht.

'Danke'

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Zimmermann für die interessante und facettenreiche Themenstellung bedanken. Seine ständige Diskussionsbereitschaft brachte für die Bearbeitung des Themas immer neue Anregungen. Er ermöglichte das Erlernen von vielerlei Methoden und ermöglichte ebenso die Teilnahme an Auslandsaufenthalten, die mit interessanten Fragestellungen verknüpft waren. Außerdem möchte ich mich für die finanzielle Unterstützung während der gesamten Arbeit bedanken.

Herrn Prof. Dr. Haase danke ich für die Erlaubnis der Benutzung der NMR-Tomographen an seinem Lehrstuhl; ohne diese hätte das Thema in dieser Form nicht bearbeitet werden können. Vor allem aber möchte ich ihm dafür danken, daß ich die Möglichkeit hatte, an vielen Seminaren und Diskussionen teilzunehmen, die mir das Erlernen fachübergreifender Themen gestattete.

Herrn Prof. Dr. Bentrup danke ich für die Erlaubnis, Experimente in seinen Gewächshäusern am Institut für Pflanzenphysiologie der Universität Salzburg durchzuführen, die einen großen Teil dieser Arbeit darstellen. Außerdem danke ich für die Diskussion über die dort gewonnen Daten.

Bei Herrn Prof. Dr. Krohne möchte ich mich dafür bedanken, daß ich die Elektronenmikroskopie als wichtige Technik zur Aufklärung der Wassertransportmechanismen von *M. flabellifolia* nutzen konnte.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die Bereitstellung des Promotionsstipendiums im Rahmen des Graduiertenkollegs 'Magnetische Kernresonanz in vivo und in vitro für biologische und medizinische Grundlagenforschung'.

Die Untersuchungen zum Wassertransport von *Myrothamnus flabellifolia* erfolgten aufgrund der Fragestellung teilweise in parallelen Drucksondenmessungen, die nur von einem gut zusammenspielenden Team durchgeführt werden konnten. Für diese Arbeiten danke ich Frau Dr. H. Schneider, Herrn Dr. F. Thürmer, Herrn Dr. J.J. Zhu, Herrn H.-J. Wagner, Frau P. Geßner, Frau B. Herrmann, Frau S. Mimietz und Frau G. Zimmermann. In derselben

Teamarbeit sind auch die Daten über *Epipremnum aureum* zustande gekommen, hierfür danke ich Herrn R. Reich, Herrn H.-J. Wagner und Herrn Dr. J.J. Zhu.

Für Datendiskussionen und Hilfestellungen danke ich besonders Frau Dr. H. Schneider, Herrn Dr. L.-H. Wegner und Herrn Dr. F. Thürmer.

Herrn M. Rokitta danke ich für die Hilfe bei den NMR-Messungen für die Trockenstreßexperimente.

Den Kollegen aus den elektronischen und mechanischen Werkstätten danke ich für Ratschläge und praktische Hilfen bei der Entwicklung und dem Aufbau der verwendeten Apparaturen, Herrn W. Bauer, Herrn T. Igerst, Herrn A. Gessner und Herrn M. Behringer.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Nicole Waltraud Wistuba
Dominikanerplatz 3B
97070 Würzburg
geboren am 31.08.1971 in Günzburg

Schulbildung:

1978-1982 Volksschule Rettenbach/Offingen
1982-1991 St. Thomas Gymnasium Wettenhausen
Juli 1991 Erwerb der Allgemeinen Hochschulreife

Hochschulausbildung:

Okt. 1991-1996 Studium der Biologie an der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Sept. 1996 Diplom
Diplomarbeit am Lehrstuhl für
Biotechnologie der Universität Würzburg
mit dem Thema 'Wassertransport in Höheren
Pflanzen: Abhängigkeit des Xylemdrucks von der
Bodenfeuchte'

Nov. 1996 –Okt. 1999 Stipendiatin des Graduiertenkollegs
'Magnetische Kernresonanz in vivo und in vitro
für biologische und medizinische
Grundlagenforschung', Universität Würzburg

ab Nov. 1996 Promotion bei Prof. Dr. U. Zimmermann
am Lehrstuhl für Biotechnologie
der Universität Würzburg

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, daß ich die vorliegende Dissertation selbständig angefertigt und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Die Dissertation wurde bisher weder vollständig noch teilweise einer anderen Hochschule mit dem Ziel, einen akademischen Grad zu erwerben, vorgelegt.

Würzburg, den 25.07.2000

Nicole Wistuba