

**Die Bedeutung elektrischer und hydraulischer Signale
für die Regulation des Blattgaswechsels:
Vergleichende Untersuchungen zur Kommunikation
zwischen Wurzel und Sproß in Mais (*Zea mays* L.)
und innerhalb des Blattes in Mimose (*Mimosa pudica* L.)**

Christiane Koziolk

Cuvillier Verlag Göttingen

Institut für Holzforschung und Lehrstuhl für Ökophysiologie der Pflanzen
der Technischen Universität München

**Die Bedeutung elektrischer und hydraulischer Signale für die Regulation
des Blattgaswechsels: Vergleichende Untersuchungen zur Kommunikation
zwischen Wurzel und Sproß in Mais (*Zea mays* L.) und innerhalb des
Blattes in Mimose (*Mimosa pudica* L.).**

Christiane Koziolk

Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der Studienfakultät Forstwissenschaften und
Ressourcenmanagement der Technischen Universität München

Vorsitzender: Prof. Dr. J. Fromm

Prüfer:

1. Prof. Dr. J. Fromm
2. Prof. Dr. R. Matyssek
3. Prof. Dr. A. Göttelein

Die Dissertation wurde am 06.05.2002 bei der Studienfakultät Forstwissenschaften und
Ressourcenmanagement der Technischen Universität München angenommen und am
24.6.2002 mit dem Rigorosum abgeschlossen.

*Meinen Eltern,
Gertrud und Rolf Koziolk*

Inhaltsverzeichnis		A
Abkürzungsverzeichnis		C
1	Einleitung	1
1.1	<u>Mais</u> : Reaktion des Gaswechses auf elektrische und hydraulische Signale nach der Wiederbewässerung.....	2
1.2	<u>Mimose</u> : Bedeutung elektrischer und hydraulischer Signale für den Blatt- Gaswechsel nach seimonastischer Reizung	4
1.3	Hypothese und Fragestellung	5
2	Material und Methoden	7
2.1	Pflanzenmaterial	7
2.2	Methoden	7
2.2.1	Versuchsaufbau.....	7
2.2.2	Messung des Gaswechsels.....	11
2.2.3	Messung des Zellpotentials.....	13
2.2.4	Messung des Zellurgors.....	14
2.2.5	Messung der Chlorophyll-Fluoreszenz.....	17
2.2.6	Kompensation der Saugspannung im Xylem mit Hilfe einer Wurzeldruckkammer und Bestimmung des Bodenwassergehalt	17
2.2.7	Blattkühlung	18
2.2.8	Bestimmung des Blattwassergehaltes.....	20
2.2.9	Terahertz(THz)-Messung zur Untersuchung von Veränderungen des Blattwassergehaltes.....	20
2.2.10	Statistik	22
2.2.11	Konzept der Versuchsdurchführung	22
3	Langstrecken-Kommunikation zwischen Wurzel und Sproß bei Mais:	
	Reaktion des Blatt-Gaswechsels auf elektrische und hydraulische Signale ...	25
3.1	Ergebnisse	25
3.1.1	Reaktionen auf die Wiederbewässerung unter Atmosphärendruck.....	26
3.1.2	Kompensation elektrischer und hydraulischer Signale nach der Wiederbewässerung.....	32
3.1.2.1	Kompensation des hydraulischen Signals	32
3.1.2.1.1	Kompensation der Saugspannung im Xylem durch Anlegen eines Überdruckes in der Wurzeldruckkammer	32

3.1.2.1.2	Reaktion auf Wiederbewässerung unter Überdruck in der Wurzeldruckkammer.	35
3.1.2.1.3	Reduktion des Überdrucks in der Wurzeldruckkammer	39
3.1.2.2	Kompensation des elektrischen Signals durch Kühlung des Meßblattes	41
3.1.3	Vergleich der Reaktionszeiten der untersuchten Parameter	45
3.1.4	Blattwassergehalt vor und nach Wiederbewässerung in Abhängigkeit vom Bodenwassergehalt	51
3.1.5	Veränderungen des Blattwassergehaltes nach der Wiederbewässerung: Terahertz- Messungen	52
3.2	Diskussion	58
3.2.1	Einfluß des hydraulischen Signals auf die Reaktion des Gaswechsels	59
3.2.2	Einfluß des elektrischen Signals auf die Reaktion des Gaswechsels	62
4	Kurzstrecken-Kommunikation auf Blattebene bei Mimose: Wirkung elektrischer und hydraulischer Signale auf den Blatt-Gaswechsel nach seismonastischer Reizung	70
4.1	Ergebnisse	70
4.1.1	Reaktion des Zellpotentials.....	70
4.1.2	Reaktion des Zellurgors.....	72
4.1.3	Reaktion des Gaswechsels.....	73
4.1.4	Reaktion der Chlorophyll-Fluoreszenz.....	76
4.2	Diskussion	78
5	Synopsis und Folgerungen	82
6	Zusammenfassung	85
7	Summary	88
8	Literaturverzeichnis	91
9	Anhang	99

Abkürzungsverzeichnis:

ABA	Abscisinsäure
AG	Ausbreitungsgeschwindigkeit
ALVPD	Wasserdampfsättigungsdefizit des Blattes (<u>A</u> ir to <u>L</u> eaf water <u>V</u> apor <u>P</u> ressure <u>D</u> eficit) [mbar/ bar]
ANOVA	<i>analysis of variance</i>
AP	Aktionspotential
ATP	Adenosintriphosphat
BF	projizierte Blattfläche [m ²]
BWG	Blattwassergehalt
c _e	molare CO ₂ -Konzentration vor der Küvette (≡ im Referenzgas); korrigiert um Nullpunktverschiebung und Verzerrung des Infrarotgasanalysators (IRGA)
Cl ⁻	Chlorid
CO ₂	Kohlendioxid
ΔC	Differenz der CO ₂ -Konzentration zwischen Referenzgas und Meßgas; korrigiert um Nullpunktverschiebung und Verzerrung des Infrarotgasanalysators (IRGA)
E; M; I	berechnete Messwerte auf der Blattspreite bei der Terahertz-Scanmessung
EQY	Electron Quantum Yield
EZ	Epidermistellen
F	Chlorophyll-Fluoreszenz bei Umgebungslicht
Fluss_HS	Flussrate im Hauptschluss [l min ⁻¹]
Fluss_NS	Flussrate im Nebenschluss [l min ⁻¹]
Fm'	maximale Fluoreszenz bei sättigender Lichtintensität
g _{H₂O}	stomatäre Leitfähigkeit
H ⁺ -ATPase	Protonen-ATPase
H ₂ O	Wasser
J _{CO₂}	Netto-Photosyntheserate
J _{H₂O}	Transpirationsrate (mmol m ⁻² s ⁻¹)
K ⁺	Kalium
K _{in} -Kanal	einwärts gerichteter Kaliumkanal
K _{out} -Kanal	auswärts gerichteter Kaliumkanal

LSD	<i>least significant difference</i>
MW	Mittelwert
MZ	Mesophyllzellen
n	Stichprobenumfang
NZ	Nebenzellen
p	aktueller Luftdruck [mbar]
PPFD	photosynthetisch aktive Photonenflußdichte
SD	Standardabweichung
svp	Sättigungsdampfdruck (<i>saturated vapor pressure</i>) bei der angegebenen Temperatur [mbar]
swc	<i>soil water content</i> (Bodenwassergehalt)
SZ	Schließzellen
T(d)	streckenkorrigierte Reaktionszeit
THz	Terahertz-Strahlung
T _L	Blattemperatur [°C]
TP1	Taupunkttemperatur am Eingang der Küvette [°C]
TP2	Taupunkttemperatur im Nebenschluss [°C]
TP3	Taupunkttemperatur am Ausgang der Küvette [°C]
u _e	molarer Gasstrom am Eingang der Küvette [$\mu\text{mol s}^{-1}$]
w _a	Molenbruch des Wasserdampfes in der Küvette
w _e	molare Feuchtekonzentration vor der Küvette (\equiv im Referenzgas)
w _i	Molenbruch des Wasserdampfes in den Interzellularen des Mesophylls
w _o	molare Feuchtekonzentration hinter der Küvette (\equiv im Meßgas)
VP	Variationspotential

1 Einleitung

"Die Neugier steht immer an erster Stelle eines Problems, das gelöst werden will"
(Galileo Galilei)

Die Photosyntheserate der Pflanzen wird von externen und internen Bedingungen bestimmt: neben abiotischen Faktoren wie Lichtintensität, Temperatur oder Wasserverfügbarkeit (von Willert et al. 1995) sind biochemische Prozesse und Hormonkonzentrationen (z.B. Abscisinsäure; Wilkinson & Davies 1997) von Bedeutung. Der photosynthetische Gasaustausch zwischen der Pflanze und der Umgebungsluft erfolgt über die Stomata, deren Öffnungsweite durch die Turgoränderungen der Schließzellen (SZ) individuell reguliert werden kann. Da die SZ der Stomata im Gegensatz zu den übrigen Zellen des Blattes symplastisch isoliert sind (Wille & Lucas 1984), erfolgt die für die Turgoränderung notwendige Ionenakkumulation (K^+ und Cl^-) über selektive Ionenkanäle (Cosgrove & Hedrich 1991; Grabov & Blatt 1998).

Veränderungen der Lichtintensität beeinflussen nicht nur den Gaswechsel: Wegener & Zimmermann (1998) konnten zeigen, daß es nach Erhöhung der Lichtintensität im Xylem von Mais- und Weizenwurzeln sowohl zu einem Anstieg in der Saugspannung als auch zu Reaktionen im elektrischen Potential der Gefäße kam.

Der Einfluß hydraulischer Veränderungen auf den Gaswechsel wurde sowohl in Versuchen an isolierten Blättern als auch in intakten Pflanzen untersucht. In letzteren wurde die Interaktion zwischen der stomatären Leitfähigkeit, dem Blatt- und dem Bodenwasserpotential sowohl in "split-root" Experimenten (z.B. Yao et al. 2001) als auch in Versuchen mit der Wurzeldruckkammer (z.B. Gollan et al. 1986) nachgewiesen. Es konnte gezeigt werden, daß einerseits die Applikation von Überdruck zur Regeneration des Blattwasserpotentials und der stomatären Leitfähigkeit (g_{H_2O}) führte (Yao et al. 2001). Andererseits trat jedoch der Rückgang von g_{H_2O} mit zunehmender Bodenaustrocknung auch in Blättern auf, deren Blattwasserpotential durch die Applikation von Druck auf die Wurzel konstant gehalten wurde (Gollan et al. 1986). Die Druckapplikation an separierten Blättern erbrachte den Nachweis, daß Veränderungen des Xylemdruckes direkt zu Reaktionen im Gaswechsel (Raschke 1970b) und im Zellturgor (Wei et al. 1999) führen. Über das Auftreten schneller hydraulischer Signale in intakten Pflanzen und ihrer ursächlichen Bedeutung für die Regulation der Stomataöffnung ist dagegen nichts bekannt.

Die Funktion elektrischer Signale wurde besonders bei seimonastischen Blattbewegungen, z. B. an Mimose, untersucht (Abe & Oda, 1976; Fromm & Eschrich, 1988a-c): Aktionspotentiale führen zum Efflux von Ionen aus den Motorzellen der Pulvini und lösen durch nachfolgende Wasserflüsse die Blattbewegung aus. Es konnte gezeigt werden, daß durch gezielte Stimulation auch in nicht-sensitiven Pflanzen sowohl elektrische (Malone & Stankovic 1991; Fromm & Spanswick 1993; Fromm & Bauer 1994) als auch hydraulische Signale (Malone & Stankovic 1991) induziert werden können. Über die Funktion schneller elektrischer Signale in intakten Pflanzen ist wenig bekannt. Die Ergebnisse von Fromm & Fei (1998) aus Wiederbewässerungsversuchen an Mais deuten jedoch darauf hin, daß das Auftreten elektrischer Signale in intakten Pflanzen direkten Einfluß auf die Reaktion des Gaswechsels hat.

In der vorliegenden Arbeit wurde einerseits das Auftreten und die Interaktion hydraulischer und elektrischer Signale untersucht, sowie andererseits der Einfluß dieser Signale auf die Regulation der Stomataöffnung. Um die Bedeutung nicht-chemischer Signale für die pflanzeninterne Kommunikation abschätzen zu können, wurden Versuche auf unterschiedlicher Ebene an zwei verschiedenen Pflanzenarten durchgeführt:

- Zum einen wurde in Wiederbewässerungsversuchen an trockengestressten Maispflanzen die Bedeutung elektrischer und hydraulischer Signale für die Wurzel-Sproß-Kommunikation und den Blattgaswechsel (Langstreckensignale) untersucht.
- Zum anderen wurden an einzelnen Blättern von Mimose seimonastische Reizungen (Berührung oder Verletzung) durchgeführt, um zu überprüfen, ob die als Auslöser der Blattfaltung nachgewiesenen nicht-chemischen Signale auch Einfluß auf die Photosynthese des Blattes haben (Kurzstreckensignale).

1.1 Mais: Reaktion des Gaswechsels auf elektrische und hydraulische Signale nach der Wiederbewässerung

Die Entstehung von Trockenstress hat eine Vielzahl verschiedener Auswirkungen auf die Pflanze: mit abnehmender Wasserverfügbarkeit im Boden steigt die Saugspannung im Xylem an und der Turgor in den Epidermiszellen der Blätter geht zurück. Parallel kommt es zu Veränderungen der Ionenkonzentrationen im Xylemsaft (Schurr 1991; Hartung & Radin 1989; Gollan et al. 1992). In zahlreichen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß besonders die Erhöhung der Abscisinsäurekonzentration im Xylemsaft und im Apoplasten des

Blattes Einfluß auf die Regulation der stomatären Öffnungsweite hat (Dörffling et al. 1977; Zhang & Davies 1990; Tradieu & Simonneau 1998). Abscisinsäure (ABA) wird in den Wurzeln sowie in den Blättern synthetisiert und sowohl im Xylem als auch im Phloem transportiert (Davies & Mansfield 1988; Sauter et al. 2001). Der Apoplast ungestresster Pflanzen weist einen schwach sauren pH-Wert auf, so daß ABA in die Mesophyll- und Epidermiszellen aufgenommen und abgebaut wird (Hartung et al. 1998). Durch den Anstieg des apoplastischen pH-Wertes ins basische Milieu bei Trockenstress kommt es zu einer Akkumulation von ABA im Apoplasten, der durch die Interaktion mit den Ionenkanälen der SZ-Membran zu einem Schließen der Stomata führt (Ward et al. 1995; MacRobbie 1998). Dadurch kann die Pflanze ihren Wasserverlust einschränken, gleichzeitig nimmt jedoch auch die Aufnahme von CO₂ aus der Umgebungsluft ab, so daß mit zunehmendem Trockenstress eine Grenzsituation zwischen „verhungern“ und „verdursten“ entsteht.

Im Gegensatz zu den zahlreichen Veröffentlichungen zur Reaktion der Pflanzen auf Trockenstress wurden verhältnismäßig wenige Untersuchungen zur Reaktion auf Wiederbewässerung durchgeführt (z.B.: Beardsell & Cohen 1975; Gollan et al. 1986). Beardsell & Cohen (1975) konnten an Mais zeigen, daß sowohl der stomatäre Widerstand als auch die ABA-Konzentration im Blatt ab dem 3.-4. Tag ohne Bewässerung der Pflanzen anstieg, parallel zu einem Abfall im Blattwasserpotential. Der Blattwassergehalt begann dagegen erst zeitverzögert mit zunehmender Erhöhung des Blattwasserpotentials zu sinken. Innerhalb der ersten 24 h nach der Wiederbewässerung sanken sowohl der stomatäre Widerstand als auch die ABA-Konzentration deutlich ab, beide Parameter blieben jedoch über dem Ausgangsniveau vor Beginn des Trockenstresses. Das Blattwasserpotential hingegen erreichte bereits wenige Stunden nach der Wiederbewässerung das Ausgangsniveau.

Fromm & Fei (1998) konnten zeigen, daß nach der Wiederbewässerung trockengestresster Maispflanzen vor Beginn des Anstiegs im Gaswechsel ein elektrisches Signal auftrat, das sowohl auf der Blattepidermis als auch im Phloem meßbar war. Des weiteren verursachten induzierte Aktionspotentiale in den Blättern von Mais einen Ionenefflux aus dem Phloem (Fromm & Bauer 1994). Über das Auftreten eines hydraulischen Wurzelsignals nach der Wiederbewässerung und dessen möglichen Einfluß auf den Gaswechsel, sowie über mögliche Interaktion mit elektrischen Signalen, ist nichts bekannt.

1.2 Mimose: Bedeutung elektrischer und hydraulischer Signale für den Blatt-Gaswechsel nach seimonastischer Reizung

Seimonastische wie auch nyctinastische Pflanzenbewegungen basieren auf Turgorveränderungen in den Motororganen der Blätter. Diese sogenannten Pulvini sind gegliedert in zwei einander gegenüberliegende Motorcortex-Gewebe, die das im Zentrum liegende Leitbündel umschließen und als „Extensor“ und „Flexor“ fungieren. Die nyctinastische Bewegung der Blätter wird durch die Umverteilung von Ionen, hauptsächlich K^+ und Cl^- , vom Extensor in den Flexor und *vice versa* verursacht (Satter & Galston 1981; Satter et al. 1982; Freudling et al. 1988), und unterliegt dem Einfluß von Metaboliten ('leaf movement factors'; Schildknecht 1983; Ueda & Yamamura 2000) und/ oder Photostimulation (Fondeville et al. 1966; Wantabe & Sibaoka 1973).

Seimonastische Bewegungen wurden bei Mimose hauptsächlich am primären Pulvinus untersucht, der den Petiolus mit der Sproßachse verbindet. Nach Stimulation des Petiolus breitet sich ein Aktionspotential aus, das sowohl im Extensor als auch im Flexor messbar ist (Abe & Oda 1976) und einen Efflux von Wasser sowie K^+ und Cl^- -Ionen verursacht (Kumon & Suda 1984). Mit Hilfe des NMR (Nuclear magnetic resonance) Imaging konnte der Nachweis erbracht werden, daß Wasser- und Protonenflüsse zwischen Extensor und Flexor und *vice versa* während der Blattbewegung auftreten (Tamiya et al. 1988). Sowohl die hochturgeszente colloidale Vakuole als auch die zweite, tanningefüllte Vakuole der Motorzellen schrumpften infolge von Reizung stark (Fleurat-Lessard & Roblin 1988; Fleurat-Lessard 1988). Im Tonoplast der colloidalen Vakuole wurden Aquaporine nachgewiesen, die einen schnellen Efflux von Wasser ermöglichen, sowie eine hohe Dichte der H^+ -ATPase, die für die Aufrechterhaltung des Zellpotentials und die Energetisierung der Ionenflüsse bei seimonastischen Bewegungen verantwortlich ist (Fleurat-Lessard et al. 1997a, b; Fromm & Eschrich 1988c; Kumon & Suda 1985). Das durch Reizung induzierte Aktionspotential wird vorwiegend im Phloem propagiert und verursacht die Entladung von Saccharose aus dem Phloem in den umgebenden Apoplasten des Pulvinus (Fromm & Eschrich 1988a, b; Fleurat-Lessard et al. 1997a). In den tertiären Pulvini, welche die Fiederblättchen mit der Rhachis verbinden, tritt im Zuge der Faltung der Blätter nur eine Schrumpfung in den äußeren Zellschichten des Extensors auf (Fromm 1986). Im Vergleich zum primären Pulvinus ist der Turnover von K^+ , Cl^- , und ATP deutlich reduziert (Fromm & Eschrich 1988b, c). Der derzeitige Stand des Wissens unterstützt die Hypothese, daß die seimonastische Bewegung der Pulvini durch elektrische Signale kontrolliert wird. Des weiteren wurden hydraulische

Signale, verursacht durch Turgorveränderungen, als wichtige Komponente zur Kontrolle der Blattbewegung diskutiert (Malone 1994; Tinz-Fuechtmeier & Gradmann 1990).

Die Ausbreitung des Aktionspotentials im Phloem legt die Vermutung nahe, daß das elektrische Signal Auswirkungen auf das gesamte Blatt hat. In Versuchen mit ^{14}C konnte Hodinott (1977) zeigen, daß durch die Faltung der Blättchen zwar die Kohlenstoffaufnahme reduziert wurde, die Translokation der Assimilate jedoch nicht beeinträchtigt wurde.

Über einen direkten Einfluß elektrischer oder hydraulischer Signale auf die Regulation der Stomata ist bisher nichts bekannt. Die Sensitivität sowohl der Motorzellen der Pulvini als auch des Phloems gegenüber Veränderungen des Membranpotentials (Fromm & Eschrich 1988a, c) legt jedoch die Vermutung nah, daß auch die Schließzellen der Stomata durch elektrische Signale beeinflusst werden könnten.

1.3 Hypothese und Fragestellung

Der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit lag auf der Bedeutung schneller, nicht-chemischer Signale für die Reaktion des Gaswechsels intakter Pflanzen. In den durchgeführten Versuchen stand die Prüfung der folgenden *zentralen Hypothese* im Vordergrund:

In intakten Pflanzen treten elektrische und hydraulische Signale auf, die

- an der pflanzeninternen Kommunikation beteiligt sind und
- Einfluß auf die Reaktion des Gaswechsels haben.

Fragestellung

Mais: In den durchgeführten Versuchen wurden große, intakte Maispflanzen zunehmendem Trockenstress ausgesetzt. Dabei wurden zeitgleich schnelle elektrische und hydraulische Signale nach der Wiederbewässerung, und ihre Bedeutung für die Reaktion des Gaswechsels untersucht. Als Meßgrößen für den Gaswechsel wurden die stomatäre Leitfähigkeit und die Netto-Photosyntheserate gewählt, letztere ergänzt durch Messungen der Chlorophyll-Fluoreszenz. Als Parameter für ein mögliches hydraulisches Signal diente der Zellturgor einzelner Epidermiszellen, gemessen mit der Zelldrucksonde, sowie für ein mögliches elektrisches Signal das Zellpotential, gemessen mit einer Mikroelektrode in der Blattepidermis. Ergänzend wurde Veränderungen im Blattwassergehalt ermittelt.

In den Versuchen an Mais sollten vorrangig die folgenden Fragen beantwortet werden:

- Wie verändern sich die untersuchten Parameter bei zunehmendem Trockenstress ?
- Welche Reaktionen treten innerhalb der ersten Stunde nach der Wiederbewässerung auf ?
- Wie schnell breiten sich nicht-chemische Signale in Pflanzen aus ?
- Besteht ein ursächlicher Zusammenhang zwischen dem Auftreten nicht-chemischer Signale und der Reaktion des Gaswechsels ?
- Sind hydraulische und elektrische Signale gekoppelt oder werden sie voneinander unabhängig induziert und propagiert ?

Mimose: Anhand der gleichen Parameter wie am Mais (Gaswechsel, Chlorophyll-Fluoreszenz, Zellpotential und Zellturgor) wurden die Reaktionen innerhalb eines Mimosenblattes auf zwei verschiedene seimonastische Reizungen (Berührung oder Verletzung einer Fieder) untersucht. Die durchgeführten Versuche zielten auf die Beantwortung der folgenden Fragen ab:

- Führen unterschiedliche seimonastische Reizungen (Berührung oder Verletzung) zu unterschiedlichen Reaktionen in den untersuchten Parametern ?
- Wie schnell treten Reaktionen in den verschiedenen Parametern auf ?
- Besteht ein ursächlicher Zusammenhang zwischen (i) dem Auftreten elektrischer und/oder hydraulischer Signale und (ii) einer Reaktion des Gaswechsels und der Chlorophyll-Fluoreszenz ?

2 Material und Methoden

*"Das naive menschliche Denken geht von der Sache aus,
das wissenschaftliche von der Methode"*
(C. F. von Weizsäcker)

2.1 Pflanzenmaterial

Mais: Maissaatgut (*Zea mays* L., 'Mozart') wurde zur Keimung zwischen zwei feuchte Papiertücher gelegt und die Keimlinge nach Ausbildung einer ca. 3 cm langen Keimwurzel einzeln in Kunststofftöpfe (3 Liter; Meyer, Rellingen, Deutschland) mit Blumenerde (Fruhstorfer Erde, Typ P; Archut, Lauterbach-Wallenrod, Deutschland) gepflanzt. Um Staunässe zu vermeiden, waren die Töpfe am Boden mit einer ca. 1.5 cm dicken Schicht Blähton (Dehner, Rain am Lech, Deutschland) gefüllt. Die weitere Anzucht erfolgte unter Gewächshausbedingungen (minimale Temperatur 22°C; Zusatzbeleuchtung mit Quecksilber-Dampf-Lampen, minimale photosynthetisch aktive Photonenflußdichte (PPFD) 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; 14/10 h Tag/Nachtrhythmus; fluktuierende, von der Außenluft beeinflusste Luftfeuchte). Die Pflanzen wurden in Kunststoffschalen gestellt, die konstant 3-5 cm hoch mit Wasser gefüllt waren. Für die Messungen wurden Maispflanzen von 120-140 cm Höhe ausgewählt, bei denen noch kein Ansatz zur Blütenbildung erkennbar war.

Mimose: Mimosenpflanzen (*Mimosa pudica* L.) wurden aus Samen in feuchter Blumenerde (Fruhstorfer Erde, siehe oben) bis zum Keimblattstadium angezogen. Die weitere Anzucht erfolgte in Kunststofftöpfen (1.3 Liter) unter Gewächshausbedingungen (minimale Temperatur 25°C; Zusatzbeleuchtung mit Quecksilber-Dampf-Lampen, minimale PPFD 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; 14/10 h Tag/Nachtrhythmus; fluktuierende, von der Außenluft beeinflusste Luftfeuchte). Die Messungen erfolgten an ausdifferenzierten Blättern mindestens sechs Wochen alter Pflanzen.

2.2 Methoden

2.2.1 Versuchsaufbau

Mais: Die ausgewählten Maispflanzen wurden in einer Klimakammer (York GmbH, Mannheim, Deutschland; konstante Temperatur 22°C, relative Luftfeuchte von 60%, PPFD 150-200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durch Leuchtstoffröhren [Power Twist True Lite, 30ThI2, Fa. Duro-

Test, USA], 14/10 h Tag/ Nachtrhythmus) nach einer Akklimatisationszeit von mindestens 24 Stunden untersucht. Aufgrund der niedrigen PPFD in der Klimakammer wurde das Blatt, an dem der Gaswechsel gemessen wurde, mit einem Scheinwerfer (Dr. Hönle, München, Deutschland) zusätzlich beleuchtet. Die Pflanzen wurden nicht bewässert, bis die stomatare Leitfähigkeit um 40-50 % reduziert war. Der Versuchsaufbau in der Klimakammer ist in Abb. 2.1 dargestellt. Für die Messung der verschiedenen Parameter wurden die oberen, ausdifferenzierten, 3-4 Wochen alten Blätter ausgewählt. Die Bewässerung erfolgte aus einem Wasserbehälter, der das Wasser über einen Schlauch direkt auf die Bodenoberfläche leitete. Zur Kontrolle des Bodenwassergehaltes (in Gewichts-%; Kalibrierkurve: siehe Anhang) wurde eine FDR-Sonde (ThetaProbe, UMS, München, Deutschland) wurzelnah in den Boden eingeführt, und der Bodenwassergehalt wurde kontinuierlich auf einem Schreiber (Typ: 460-06, BBC Brown Boveri, Goertz Metrawatt, Mannheim, Deutschland) und am Computer aufgezeichnet. An der Grenze zur Bodenoberfläche wurde um den Stengel ein Kunststoffzylinder gestellt, um bei der Wiederbewässerung ein elektrisches Signal durch Wasserkontakt mit dem Stengel oberhalb des Bodens zu verhindern. Die Wiederbewässerung erfolgte, sobald alle je nach Versuchsvariante parallel gemessenen Parameter ein stabiles Niveau erreicht hatten.

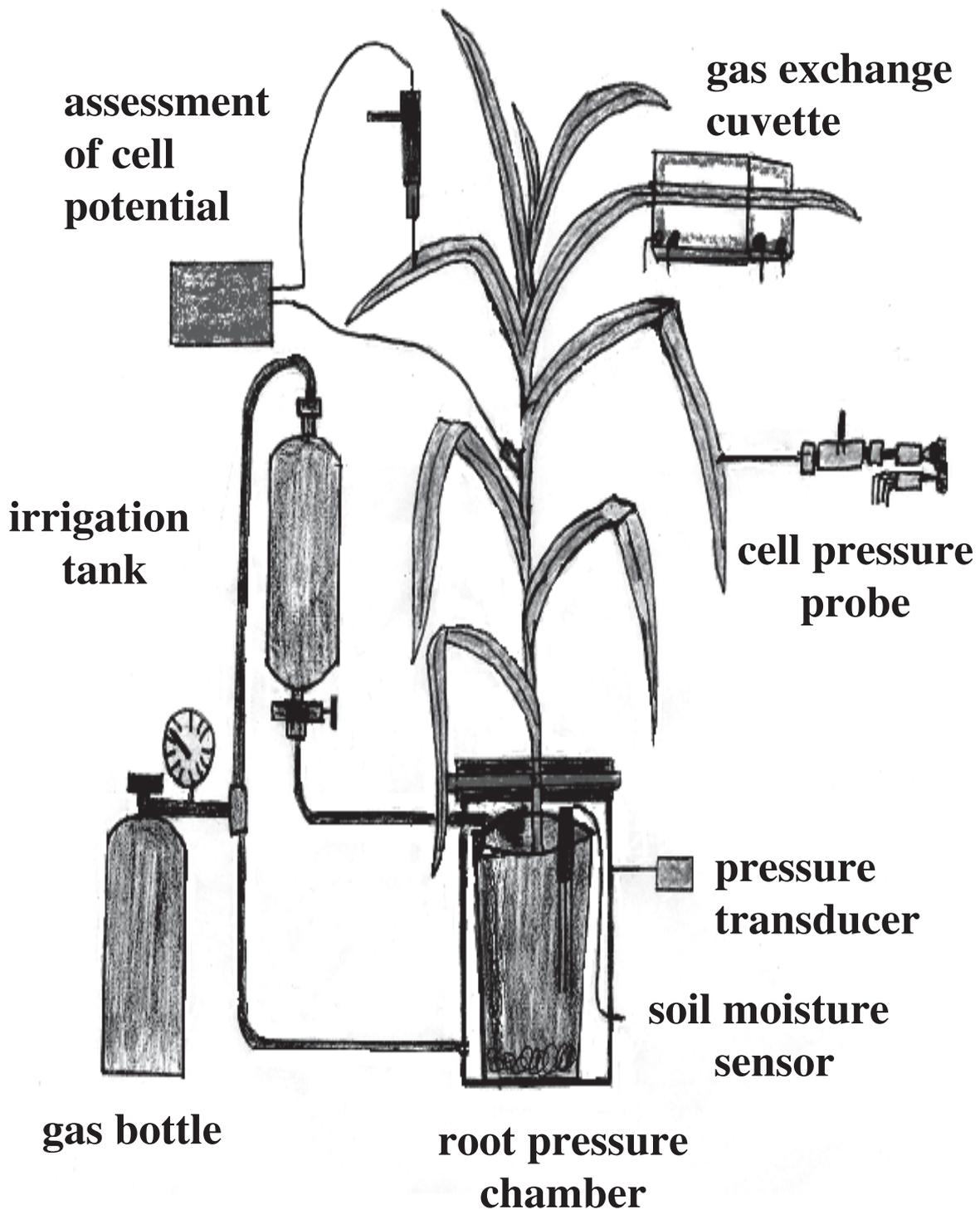


Abb. 2.1: Versuchsaufbau in der Klimakammer: an verschiedenen ausdifferenzierten, 3-4 Wochen alten Blättern einer 120-140 cm hohen, trockengestressten Maispflanze wurden parallel der Gaswechsel, das Zellpotential sowie der Zellturgor in der Epidermis vor und während der Wiederbewässerung gemessen.

Fig. 2.1: Experimental setup in the phytotron with 120-140 cm high maize. At different mature, 3 to 4-week-old leaves of a drought-stressed plant the leaf gas exchange, the electric potential and the turgor in epidermis cells were measured in parallel to each other before and during re-irrigation.

Mimose: Mit Ausnahme der Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen, die mit Zusatzbeleuchtung (Scheinwerfer: siehe oben; PPFD: $200-300\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) unter ansonsten nicht-kontrollierten Bedingungen (Luftfeuchte, Temperatur) durchgeführt wurden, fanden alle Versuche in einer Klimakammer (siehe oben) statt. Infolge der Fixierung einzelner Fiedern in der Gaswechsellkuvette oder einer Blattklemme (siehe Abb. 2.3 und Abb. 2.4) falteten sich zumeist die benachbarten Fiedern und Blätter. Die Durchführung der Versuche begann erst, wenn alle Fiedern (nach 20-30 Minuten) wieder vollständig geöffnet waren. Sobald der untersuchte Parameter einen stabilen Ausgangswert erreicht hatte, wurde die Spitze der fixierten Fieder gereizt. Es wurden zwei Arten von Reizungen appliziert: 1.) Berührung der Fiederspitze per Hand, 2.) Verletzung durch Abschneiden der Fiederspitze mit einer Schere. Bei den Turgormessungen wurde eine Nachbarfieder verletzt, da die Verletzung der Messfieder zu einem hydraulisch bedingten rapiden Druckabfall der Messung führte (siehe Abb. 2.2). Alle Messungen (siehe 2.2.2-2.2.5) wurden unabhängig voneinander an verschiedenen Blättern durchgeführt. Die Ergebnisse zeigen repräsentative Reaktionen aus $n = 5$ Wiederholungen je Versuch.

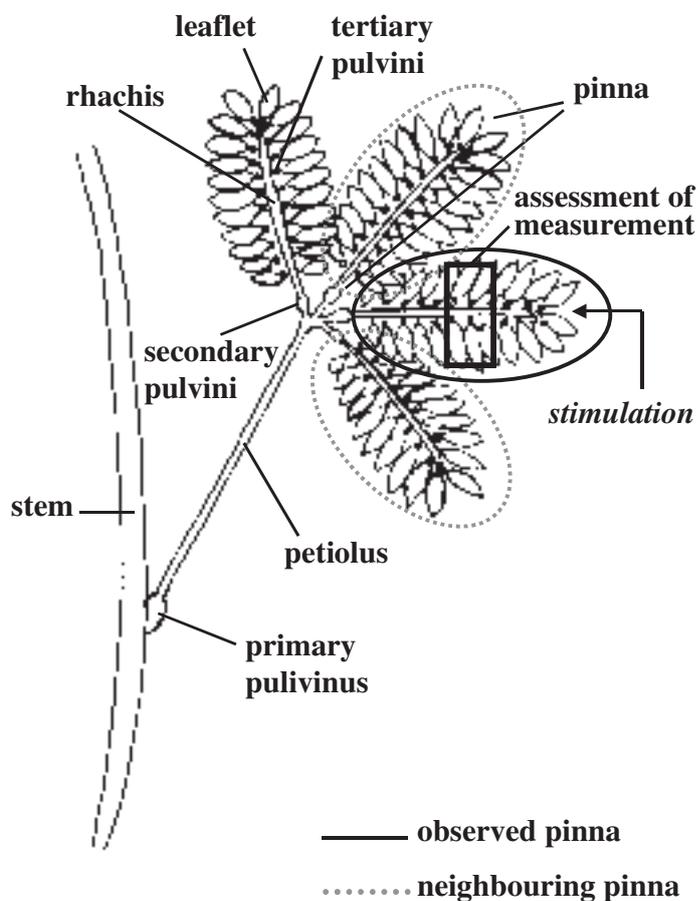


Abb. 2.2: Einzelnes Blatt von *Mimosa pudica* im ungestörten, geöffneten Zustand: an einer Pinna (= Messfieder; rot umrandet) wurde ein Teil der Fieder für die Messungen des Zellpotentials, des Zellturgors oder der Chlorophyll-Fluoreszenz mit gespreizten Fiederblättchen (schwarzes Rechteck) fixiert (siehe unten: 2.2.3-2.2.5).

Fig. 2.2: Single leaf of *Mimosa pudica* with spread, non-stimulated leaflets: part of the observed pinna (with red fram) was fixed in a leaf clip (black rectangle) for the assessment of cell potential, cell turgor or chlorophyll fluorecence (see below: 2.2.3-2.2.5).

2.2.2 Messung des Gaswechsels

Mais: Die Messung des Blattgaswechsels erfolgte ca. 5-10 cm unterhalb der Blattspitze mit einem Miniküvetten-System (Walz, Effeltrich, Deutschland; vgl. Matyssek et al. 1991a; Gaswegeplan: siehe Anhang). Das System wurde mit Druckluft gespeist, der in einem Adsorptionstrockner (Typ: KM 5, Zander, Essen, Deutschland) sowohl Feuchtigkeit als auch CO₂ entzogen worden war. Anschließend wurde der Luft mittels einer Gasmischanlage reines CO₂ (Linde, Deutschland) zudosiert und so eine konstante CO₂-Konzentration von 360 µl l⁻¹ aufgebaut. Mit Hilfe einer Befeuchtungsflasche und einer Kältefalle wurde eine konstante relative Luftfeuchte von 60 % eingestellt. Die Messungen erfolgten unter konstanten Küvettenbedingungen (24°C Lufttemperatur, PFD 400-450 µmol m⁻² s⁻¹). Die Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} ; µmol m⁻² s⁻¹) und die stomatare Leitfähigkeit (g_{H_2O} ; mmol m⁻² s⁻¹) wurde nach den folgenden Formeln (Pegasus Gaswechselprogramm, Paul Scherrer Institut, Villingen, Schweiz) berechnet:

$$J_{CO_2} = \frac{\Delta C * Fluss_HS}{22.414 * 60 * BF} * \frac{1 - \frac{svp(TP1)}{p}}{1 - \frac{svp(TP3)}{p}}$$

$$g_{H_2O} = \frac{J_{H_2O} * 1000}{ALVPD} * \left(1 - \frac{\frac{svp(T_L)}{p} + \frac{svp(TP3)}{p}}{2}\right)$$

- ΔC : Differenz der CO₂-Konzentration zwischen Referenzgas und Meßgas; korrigiert um Nullpunktverschiebung und Verzerrung des Infrarotgasanalysators (IRGA)
- Fluss_HS: Flussrate im Hauptschluss [l min⁻¹]
- BF: projizierte Blattfläche [m²]
- p: aktueller Luftdruck [mbar]
- svp: Sättigungsdampfdruck (saturated vapor pressure) bei der angegebenen Temperatur [mbar]
- J_{H_2O} : Transpirationsrate (mmol m⁻² s⁻¹)
- TP1: Taupunkttemperatur am Eingang der Küvette [°C]
- TP3: Taupunkttemperatur am Ausgang der Küvette [°C]
- T_L : Blattemperatur [°C]
- ALVPD: Wasserdampfsättigungsdefizit des Blattes (Air to Leaf water Vapor Pressure Deficit) [mbar/ bar]

$$ALVPD = \frac{svp(T_L) - svp(TP3)}{P}$$

$$J_{H_2O} = \left(\frac{\text{Fluss}_{HS} * 1000}{22.414 * 60} * \frac{\frac{\text{svp}(TP3) - \text{svp}(TP1)}{p} - \frac{\text{svp}(TP2)}{p}}{1 - \frac{\text{svp}(TP3)}{p}} + \frac{\text{Fluss}_{NS} * 1000}{22.414 * 60} * \left(\frac{\text{svp}(TP3)}{p} - \frac{\text{svp}(TP2)}{p} \right) \right) * \frac{1}{BF}$$

Fluss_NS: Flussrate im Nebenschluss [l min⁻¹]
 TP2: Taupunkttemperatur im Nebenschluss [°C]

Bei einem Teil der Messungen wurde der Blattgaswechsel mit einem Porometer (CQP 130, Walz, Effeltrich, Deutschland; Gaswegeplan: siehe Anhang) bei konstanten Küvettenbedingungen (23°C Lufttemperatur, 60 % relative Luftfeuchte, PPF 200-250 μmol m⁻² s⁻¹) und CO₂-Konzentration der Außenluft durchgeführt. Für das Porometer erfolgte die Berechnung der Netto-Photosyntheserate (J_{CO₂}; μmol m⁻² s⁻¹) und der stomatären Leitfähigkeit (g_{H₂O}; mmol m⁻² s⁻¹) nach den folgenden Formeln (Diagas Programm für CQP 130):

$$J_{CO_2} = \frac{u_e}{BF} * \frac{1 - w_e}{1 - w_o} * \Delta C - J_{H_2O} * c_e$$

$$g_{H_2O} = J_{H_2O} - \frac{1 - \bar{w}}{ALVPD}$$

u_e: molarer Gasstrom am Eingang der Küvette [μmol s⁻¹]
 BF: projizierte Blattfläche [cm²]
 w_e: molare Feuchtekonzentration vor der Küvette (≡ im Referenzgas)
 w_o: molare Feuchtekonzentration hinter der Küvette (≡ im Meßgas)
 ΔC: Differenz der CO₂-Konzentration zwischen Referenzgas und Meßgas; korrigiert um Nullpunktverschiebung und Verzerrung des Infrarotgasanalysators (IRGA)
 c_e: molare CO₂-Konzentration vor der Küvette (≡ im Referenzgas); korrigiert um Nullpunktverschiebung und Verzerrung des Infrarotgasanalysators (IRGA)
 J_{H₂O}: Transpirationsrate (mmol m⁻² s⁻¹)

$$J_{H_2O} = \frac{u_e}{BF} * \frac{w_o - w_e}{1 - w_o}$$

$$ALVPD = w_i - w_a$$

w_i: Molenbruch des Wasserdampfes in den Interzellularen des Mesophylls

$$w_i = \frac{\text{svp}(T_L)}{p}$$

svp: Sättigungsdampfdruck (saturated vapor pressure) bei der angegebenen Temperatur [mbar]

T_L: Blatttemperatur [°C]

w_a: Molenbruch des Wasserdampfes in der Küvette

Mimose: Die Gaswechsellmessung erfolgte mit einem Porometer (CQP 130; siehe oben). Für die Messungen wurde eine Fieder eines ausdifferenzierten Blattes so in die Küvette eingeschlossen, daß sich die Spitze der Fieder zur Reizung außerhalb der Küvette befand (Abb. 2.3). Für einige der Messungen wurden die geöffneten Fiederblättchen in der Küvette zwischen Drahtgeflecht fixiert, um die Bewegung der Blättchen zu verhindern.

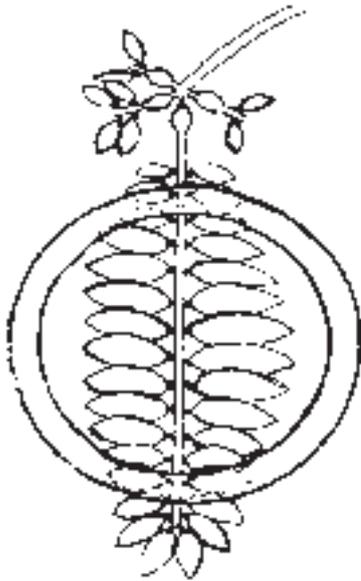


Abb. 2.3: Einbau einer Fieder eines ausdifferenzierten Mimosenblattes in der Gaswechsellküvette (CQP 130; Aufsicht). Die Spitze der Fieder befand sich zur Reizung außerhalb der Küvette.

Fig. 2.3: Assessment of gas exchange: A single pinna of a mature leaf of Mimosa pudica was enclosed into the cuvette of a steady-state porometer (CQP 130; view from above) with the pinna tip left outside to allow external stimulation.

2.2.3 Messung des Zellpotentials

Mais: Die Messung des Zellpotentials erfolgte mit einer Mikroelektrode (Ag-AgCl-Mikroelektrodenhalter MEH3S15, WPI Instruments, USA; Glaskapillaren: GB150-10, Borosilikatglas, Außen-Ø: 1.5 mm, Innen-Ø: 0.86 mm; Science Products, Hofheim, Deutschland), gefüllt mit 50 mM entgaster KCl-Lösung, in der oberen Epidermis eines ausdifferenzierten Blattes ca. 10-15 cm unterhalb der Blattspitze. Die Referenzelektrode (Ag-AgCl-Elektrode RC-1, Science Products, Hofheim, Deutschland) wurde im Abstand von 20-30 cm zur Mikroelektrode vor der Blattscheide auf der Stengeloberfläche fixiert (Abb. 2.1) und die Kontaktstelle mit 50 mM KCl-Agar befeuchtet. Bei den Messungen, in denen die Oberfläche des Meßblattes zur Kompensation des elektrischen Signals gekühlt wurde (siehe 2.2.7), war der Abstand zwischen der Mikroelektrode und der Referenzelektrode auf 2-5 cm reduziert.

Beide Elektroden waren an einen Verstärker angeschlossen (WPI-Instruments, Model 750, USA), die Messungen wurden parallel auf einem Schreiber (siehe 2.2.1) und am Computer

aufgezeichnet. Vor jedem Experiment wurden beide Elektroden in 50mM KCl-Agar kalibriert (0 mV). Der Nachweis der verwandten Chemikalien ist im Anhang aufgeführt.

Mimose: Die Messung des Zellpotentials erfolgte mit einer Mikroelektrode (siehe oben) in der Epidermis der Rhachis oder der Epidermis eines ausdifferenzierten Fiederblättchens. Die Referenzelektrode (Ag-AgCl-Elektrode) wurde in den feuchten Boden gesteckt, nachdem vor Beginn jeder Messung beide Elektroden in 50mM KCl-Agar kalibriert worden waren (0 mV). Um eine Bewegung der Fiederblättchen während der Messung zu unterbinden, wurde ein Teil der untersuchten Fieder mit gespreizten Blättchen zwischen zwei Plexiglasplatten fixiert (Abb. 2.4). Die Messungen wurden innerhalb der Aussparung der oberen Platte durchgeführt.

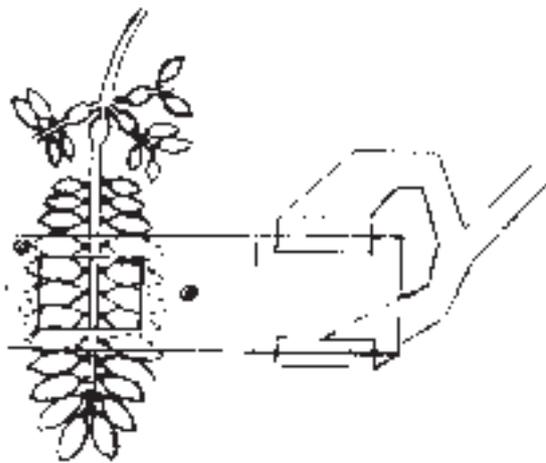


Abb. 2.4: Fixierung einer Fieder eines ausdifferenzierten Mimosenblattes zwischen zwei Plexiglasplatten. Die Messungen wurden innerhalb der Aussparung der oberen Platte durchgeführt.

Fig. 2.4: Fixation of a single pinna between two slices of plexiglass during measurement of cell potential and cell turgor; upper slice with an opening to allow the insertion of the microelectrode or pressure probe capillary.

2.2.4 Messung des Zellturgors

Mais: Der Turgor einzelner Blattepidermiszellen wurde auf der Unterseite eines ausdifferenzierten Blattes ca. 10-15 cm unterhalb der Blattspitze mit einer Zelldrucksonde (Abb. 2.5) gemessen.

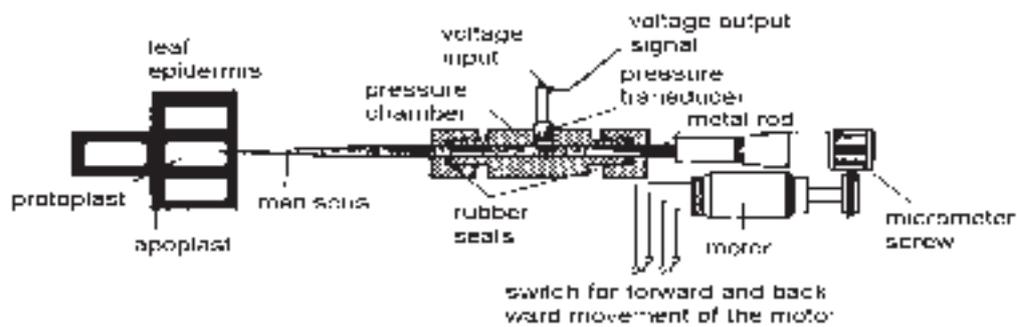


Abb. 2.5: Aufbau der Zelldrucksonde (verändert nach Steudle, 1993).

Fig. 2.5: Construction of the cell pressure probe (adapted from Steudle, 1993).

Die Kapillaren für die Zelldruckmessung (Sodaklarglas, Außen-Ø: 1.0 mm, Innen-Ø: 0.5 mm; Hilgenberg, Malsfeld, Deutschland) wurden mit einem Kapillarenziehgerät (Model PP-380, Narishige, Japan) gezogen. Die Zelldrucksonde sowie die jeweilige Kapillare wurden luftblasenfrei mit entgastem Silikonöl (AS 4, Wacker-Chemie, München, Deutschland) gefüllt und die Kapillarenspitze durch Berührung mit einem Schraubenzieher aufgebrochen. Die Druckmessungen erfolgten auf einem vibrationsgedämpften Tisch und wurden parallel auf einem Schreiber (siehe oben) und am Computer aufgezeichnet.

Bei den Zelldruckmessungen bildete sich in der Spitze der Kapillare ein Meniskus, der die eingeströmte Vakuolenflüssigkeit der punktierten Zelle vom Silikonöl der Drucksonde abgrenzt. Unter konstanten Umgebungsbedingungen schwankte der Turgor der gemessenen Blattepidermiszellen nur gering ($\pm 0.01\text{-}0.02$ MPa) und der Meniskus blieb stabil an seiner Ausgangsposition. Zur Überprüfung der hydraulischen Reaktion der Zelle wurde der Meniskus in der Kapillare mit Hilfe der Metallstange bewegt (**; Abb. 2.6): die Verschiebung des Meniskus zur Blattoberfläche hin verursachte einen Anstieg des Turgors, die Bewegung des Meniskus zur Sonde erniedrigte den Turgor.

In den Wiederbewässerungsversuchen wurde eine pflanzenintern verursachte Turgorveränderung untersucht: Nachdem sich der Turgor auf seinem Ausgangsniveau stabilisiert hatte, erfolgte die Wiederbewässerung. Infolge des Wassereinstroms in die Vakuole begann der Meniskus in der Kapillare zur Drucksonde hin zu wandern. Mit Hilfe der Metallstange wurde das Öl in der Drucksonde komprimiert und der Meniskus an seiner Ausgangsposition stabilisiert (*; Abb. 2.6). Dadurch war ein deutlicher Anstieg im Turgor erkennbar. Sofern der Zelldruck vor der Wiederbewässerung unter 0.1 MPa lag, erfolgte die Stabilisierung des

Meniskus an seiner Ausgangsposition zeitversetzt erst nach einer eindeutigen Bewegung des Meniskus in der Kapillare. Diese Vorgehensweise war nötig, da die direkte Gegenregulation des Meniskus bei Ausgangswerten von unter 0.1 MPa zur Unterbrechung der hydraulischen Reaktion der Zelle führte.

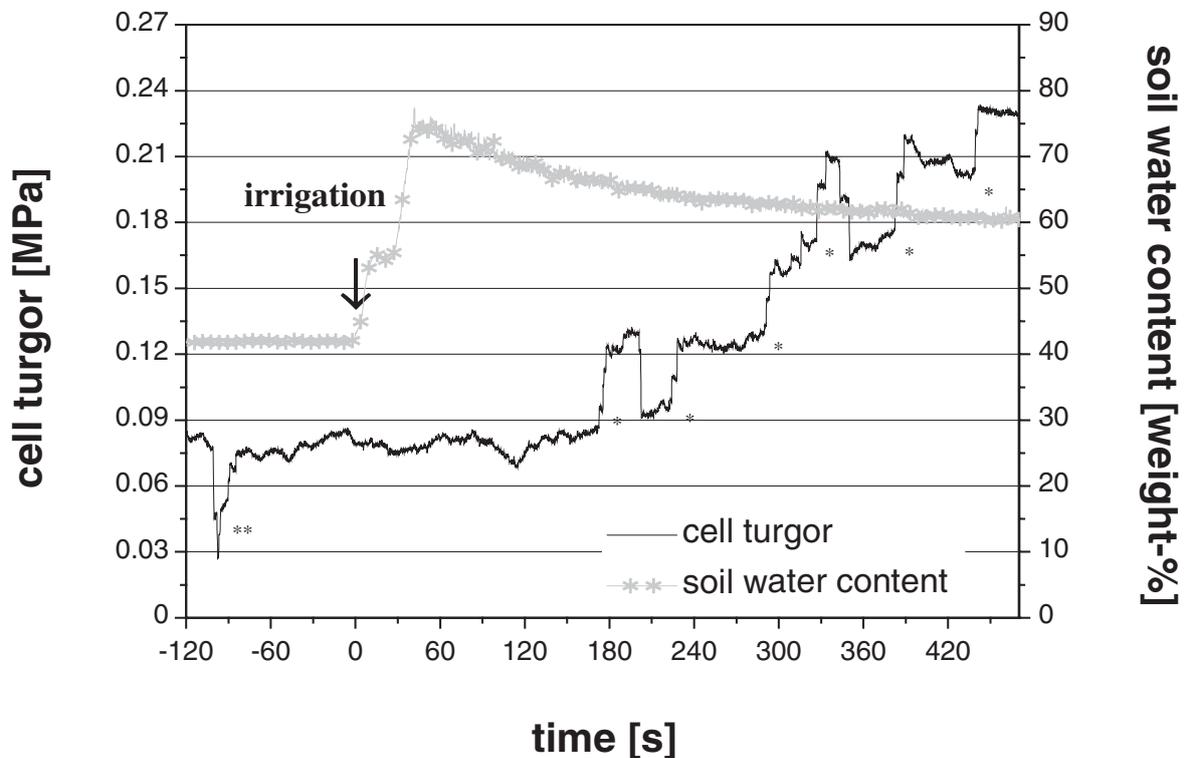


Abb. 2.6: Beispiel für die Reaktion des Zellturhors in der Blattepidermis einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung. Der Pfeil markiert die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$. *: Stabilisierung des Meniskus an seiner Ausgangsposition; **: Überprüfung der hydraulischen Reaktion der Zelle.

Fig. 2.6: Example of the response of the cell turgor in the leaf epidermis of a drought-stressed maize plant to re-irrigation. The arrow denotes the instant of irrigation at time zero. *: Stabilisation of the meniscus at its initial position; **: Check on of hydraulic continuity between cell and probe.

Mimose: Der Turgor einzelner Epidermiszellen der Rhachis wurde auf der Unterseite eines ausdifferenzierten Blattes mit einer Zelldrucksonde gemessen. Messungen in der Epidermis der Fiederblättchen oder in Extensorzellen auf der Oberseite der tertiären Pulvini waren aufgrund der geringen Zellgröße bzw. der rigiden Epidermis der Pulvini nicht möglich. Die untersuchte Fieder wurde wie in Abb. 2.4 beschrieben zwischen zwei Plexiglasplatten fixiert.

2.2.5 Messung der Chlorophyll-Fluoreszenz

Mais: Die Messung der Chlorophyll-a-Fluoreszenz erfolgte an einem ausdifferenzierten Blatt ca. 15-20 cm unterhalb der Blattspitze mit einem Mini-PAM-Gerät (Walz, Effeltrich, Germany). Das licht-adaptierte Blatt wurde alle 30 s mit einem sättigenden Lichtblitz (ca. 3500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD, Dauer 0.8 s) bestrahlt. Die Berechnung des Electron Quantum Yield erfolgte nach der folgenden Formel (Pamtrans Programm; Walz, Effeltrich, Deutschland):

$$\text{Electron Quantum Yield} = \frac{Fm' - F}{Fm'} = \frac{\Delta F}{Fm'}$$

F: Chlorophyll-Fluoreszenz bei Umgebungslicht

Fm': maximale Fluoreszenz bei sättigender Lichtintensität

Zeitgleich zu den Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen wurden an einem Nachbarblatt Gaswechsellmessungen durchgeführt. Aufgrund des Versuchsaufbaus waren zeitgleiche Messungen des Zellpotentials und des Zellurgors nicht möglich.

Mimose: Der mittlere Teil der untersuchten Fieder wurde mit gespreizten Blättchen in der Blattklammer des Mini-PAM-Gerätes fixiert.

2.2.6 Kompensation der Saugspannung im Xylem mit Hilfe einer Wurzeldruckkammer und Bestimmung des Bodenwassergehalt

Mais: Zur Kompensation der Saugspannung im Xylem wurden die Pflanzen in eine Wurzeldruckkammer (Vol. 8 l, max. Druckbelastung 20 bar, Universität Bayreuth, Deutschland) gestellt und ca. 10 cm oberhalb der Bodenoberfläche am Stengel mithilfe einer selbstgegossenen Elastosil-Dichtung (Elastosil RT 622 A und B, Drawin Vertriebs-GmbH, Ottobrun, Deutschland) und Teroson (Autozubehör, B & S GmbH, Moosburg, Deutschland) abgedichtet. Der Überdruck wurde mit Pressluft (Linde, Deutschland) ca. 1 Stunde vor der Wiederbewässerung manuell angelegt und der aktuelle Überdruck in der Wurzeldruckkammer außen an einem Druckaufnehmer (UZU 2222, RS-components, Mörfelden-Walldorf, Deutschland; Kalibrierkurve: siehe Anhang) angezeigt. Der angelegte Überdruck wurde kontinuierlich auf einem Schreiber (siehe oben) sowie am Computer aufgezeichnet. Bei allen Versuchsvarianten wurde einige der untersuchten Pflanzen in die Wurzeldruckkammer eingebaut, um mögliche Beeinflussungen durch das Eindichten des Sprosses in die Druckkammer zu überprüfen.

2.2.7 Blattkühlung

Mais: Zur Eliminierung der Ausbreitung des elektrischen Signals wurde entweder das Meßblatt ca. 10 cm vor der Gaswechsel-Küvette (Abb. 2.7A) oder das Meßblatt ca. 20-30 cm vor der Zelldrucksonde (Abb. 2.7B) gekühlt. Die Distanz zwischen der Kühlung und der Küvette bzw. der Zelldrucksonde konnte aufgrund der Anatomie der Maispflanzen und der Installation der verschiedenen Geräte nicht normiert werden. Die Kühlung erfolgte mit Hilfe zweier Aluminiumbehälter (L: 6 cm, B: 5.5 cm, H: 3 cm), die kontinuierlich von Kühlflüssigkeit (Glysantin-Wasser-Verdünnung, BASF, Ludwigshafen/ Rhein, Deutschland; Kühlbad: Haake K und F3, Berlin, Deutschland) durchströmt wurden. Um eine gleichmäßige Kühlung an der Blattoberfläche zu erreichen, wurde beidseitig zwischen Kühlkammer und Blattoberfläche ein Gelkissen (Sanitärbedarf, Parsam Großhandelsgesellschaft m.b.H., Hamburg, Deutschland; L: 12 cm, B: 7 cm, H: ca. 0.5 cm) gelegt und die Temperatur auf der Blattunterseite nahe der Mittelrippe mit einem Thermoelement (Typ: M 4011, BBC Brown Boveri, Goertz Metrawatt, Mannheim, Deutschland) permanent überwacht. Die Wiederbewässerung erfolgte, wenn die Temperatur an der Blattoberfläche nach 30-40 Minuten einen konstanten Wert von 0.1-0.5°C erreicht hatte.

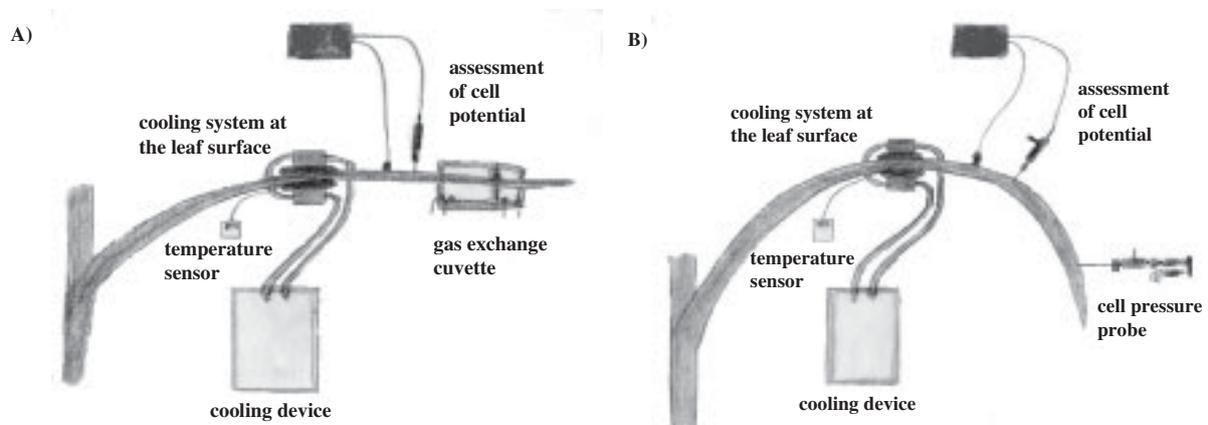


Abb. 2.7: Blattkühlung vor der Gaswechselküvette (A) oder vor der Zelldrucksonde (B) zur Kompensation des elektrischen Signals.

Fig. 2.7: Colling device at the leaf surface in front of the gas exchange cuvette (A) or cell pressure probe (B) to compensate for the electric signal.

Bei Temperaturen an der Blattoberfläche von über 0.5°C war eine Kompensation des elektrischen Signals nicht möglich, Oberflächentemperaturen von unter 0°C führten innerhalb der folgenden 5-15 Minuten zu irreversiblen Schäden des Gaswechsels (Abb. 2.8).

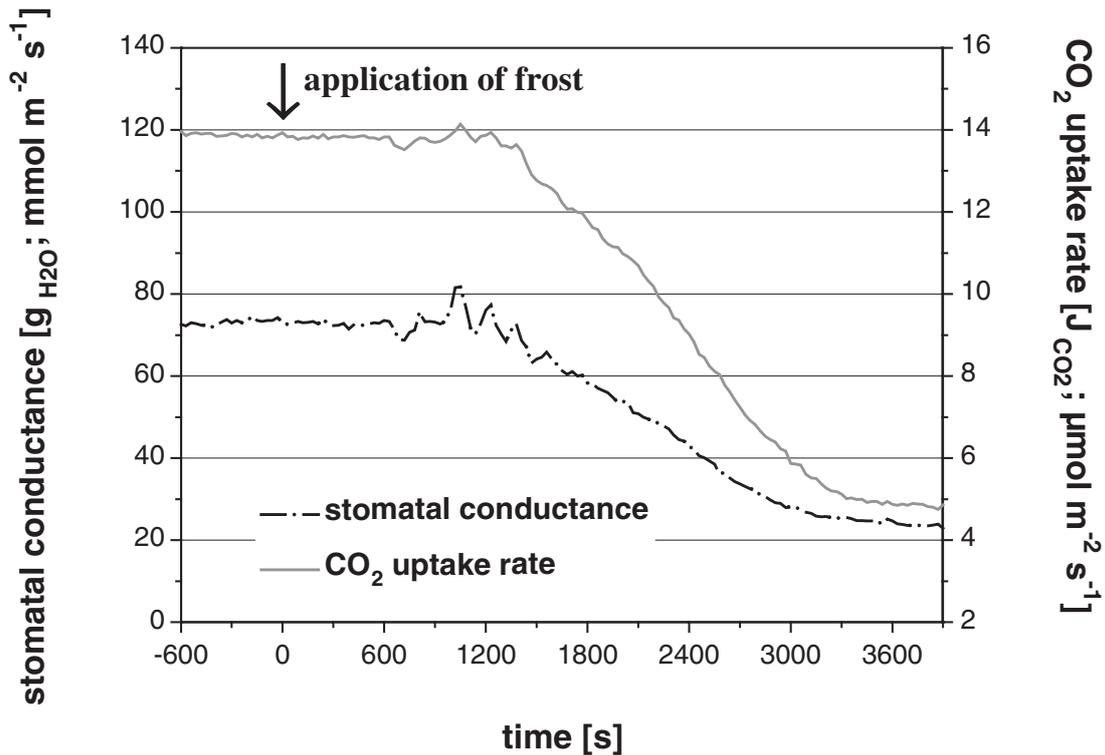


Abb. 2.8: Repräsentative Reaktion der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit ($g_{\text{H}_2\text{O}}$; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) einer trockengestressten Maispflanze auf das Absinken der Blattemperatur an der Epidermis des Messblattes (Kühlung vor der Küvette) auf Werte unter den Gefrierpunkt. Der Pfeil markiert den Beginn der Temperaturabsenkung unter 0°C zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 2.8: Representative response in the CO_2 uptake rate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and the stomatal conductance ($g_{\text{H}_2\text{O}}$; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of a drought-stressed maize plant to freezing during cooling of the leaf surface in front of the gas exchange cuvette. The arrow denotes the onset of the temperature decrease below 0°C at time zero.

Erfolgte die Kühlung vor der Gaswechselküvette (siehe Abb. 2.7A), so wurde mit dem Porometer (CQP 130; siehe 2.2.2) parallel an einem unbehandelten Nachbarblatt der Gaswechsel gemessen, um zu überprüfen, ob die Gaswechselreaktion der ungekühlten Nachbarblätter durch die Kühlung des Messblattes beeinträchtigt wurde.

2.2.8 Bestimmung des Blattwassergehaltes

Mais: Nach Ermittlung des Bodenwassergehaltes wurden von Maispflanzen unterschiedlichen Austrocknungszustandes die Blätter entfernt und von diesen Frischgewicht (FG) und Blattfläche (BF) bestimmt. Anschließend wurden die Blätter bis zur Gewichtskonstanz (= 0 % Feuchte) getrocknet und das Trockengewicht (TG) ermittelt. Die Blätter wurden von unten nach oben nummeriert, in zwei Gruppen unterteilt (Blatt 1-4 ; Blatt 5-8), und je Gruppe der flächenbezogene Wassergehalt (mg cm^{-2} ; Genauigkeit: 0.01 g) berechnet (Mittelwert (MW) \pm Standardabweichung (SD)).

2.2.9 Terahertz(THz)-Messung zur Untersuchung von Veränderungen des Blattwassergehaltes

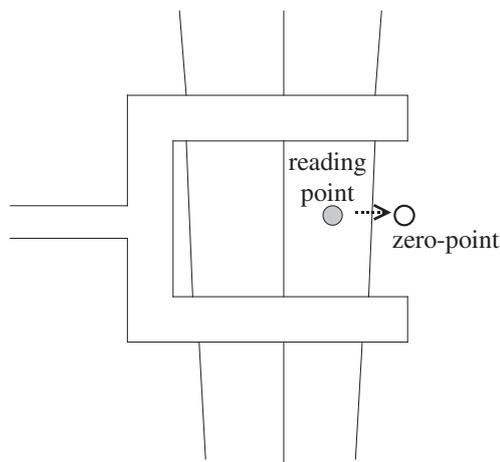
Mais: THz-Strahlung ist seit ca. 10 Jahren mit der Entwicklung von Ultra-Kurzzeitalasern für die Meßtechnik zugänglich. Der Wellenlängenbereich der Terahertz-Strahlung (10^{12} Hz) liegt zwischen Infrarot- und Mikrowellenstrahlung. Im Vergleich zur Mikrowellentechnik bietet die geringere Wellenlänge (1 THz entspricht $300 \mu\text{m}$) ein besseres Auflösungsvermögen. Auf dem Gebiet der Pflanzenphysiologie nutzt man die starke Absorption der THz-Strahlung von Wasser, um Veränderung des Blattwassergehaltes (z.B. an *Fatsia japonica*; Hadjilouca et al. 1999) zu untersuchen. Der Versuchsaufbau (Strahlengang) ist im Anhang dargestellt. Bei dem verwandten Femtosekundenlaser handelt es sich um einen gepumpten Titan:Saphir-Laser (d.h. ein mit Titan dotierter Saphir-Kristall wird in einem Resonator mit einem weiteren Laser bestrahlt), der Pulse im Bereich von 20 Femtosekunden (20 fs) emittiert. Diese optischen Impulse werden genutzt, um in einem Halbleitersubstrat THz-Impulse zu erzeugen. Eine Beschreibung der technischen Grundlagen des Messverfahrens ist in den Veröffentlichungen von Nuss (1992; 1996) zu finden.

Aus dem Gesamtfrequenzspektrum des THz-Pulses wurden sechs überlappende Teilbereiche zur Messung ausgewählt: 100-1000 GHz, 200-1000 GHz, 200-1500 GHz, 500-1250 GHz, 500-750 GHz, 200-500 GHz und 100-200 GHz. Die unterschiedliche Breite der Teilspektren ermöglichte eine Differenzierung über die gesamte Frequenz der THz-Strahlung bzw. eine feinere Auflösung einzelner Teilbereiche. Die Transmission (\equiv Integral der Kurve im definierten Frequenzbereich; = spektrale Leistungsdichte) der Probe wurde als Quotient aus Messpunkt und Umgebungsluft (\equiv Nullwert; siehe Abb. 2.9) berechnet. Die Quotientbildung zwischen Messwert und Nullwert diente als Korrektur für die Drift des Lasers bzw.

des THz-Signals.

Das in der Halterung fixierte Maisblatt (siehe Abb. 2.9) wurde wiederholt horizontal im Strahlengang des Lasers bewegt, so daß jede Messung aus dem bzw. den Transmissionswert(en) der Probe und dem Nullwert (Umgebungsluft) bestand. Die Messung der Transmission erfolgte ca. 8-10 cm unterhalb der Blattspitze. Es wurden zwei Arten von Messungen durchgeführt: 1.) Messung einer Kreisfläche von ca. 10 mm² seitlich auf der Blattspreite (= Kreisflächenmessung; Abb. 2.9A; Messintervall: 2.5 s), 2.) Messung eines Scans über die halbe Blattspreite (Abb. 2.9B; Messintervall: 230 s). Bei den Scanmessungen wurde auf dem fixierten Messblatt eine Linie von der Mittelrippe bis zum Blattrand gemessen. Aus den nebeneinander liegenden Messpunkten wurden je fünf benachbarte Werte an drei Stellen der Blattspreite (nahe am Rand [E], mittig zwischen Mittelrippe und Blattrand [M], nahe der Mittelrippe [I]) zu einem Mittelwert verrechnet.

A) point measurement



B) scan measurement

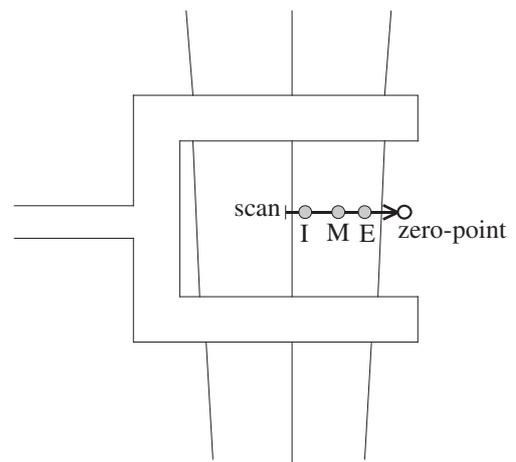


Abb. 2.9: Messbereich auf der Blattoberfläche bei der Kreisflächenmessung (A) und der Scan-Messung (B). B: Die Kreise (I, M, E) zeigen Bereiche an, die aus jeweils fünf nebeneinander liegenden Einzelwerten des Scans (Mittelwert) berechnet wurden (siehe Text).

Fig. 2.9: Measured area on the surface of a maize leaf during so-called "circular" (A) or "scan" (B) assessment. B: The positions (I, M, E) show locations, which are calculated means of five adjacent reading points of the scan.

Parallel zu den Lasermessungen wurde an einem anderen Blatt derselben Pflanze zeitgleich mit dem Porometer (CQP 130; siehe 2.2.2) bei konstanten Küvettenbedingungen (24°C Lufttemperatur, 60 % relative Luftfeuchte) und CO₂-Konzentration der Umgebungsluft der Gaswechsel gemessen. Aufgrund des Versuchsaufbaus des Lasermeßplatzes (siehe Anhang) und der Temperaturempfindlichkeit des Lasers wurden die Gaswechselfmessungen bei niedrigeren

Lichtintensitäten durchgeführt (Kreisflächenmessung: PPFD ca. $180 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Scan-Messung: PPFD ca. $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Die untersuchten Pflanzen wurden nicht in die Wurzeldruckkammer eingedichtet.

2.2.10 Statistik

Die statistische Auswertung der Daten (Reaktionszeiten des Gaswechsels, des Zellpotential und des Zellurgors; Veränderungen des Blattwassergehaltes) erfolgte mit dem Computerprogramm SPSS, Version 10.1 für Windows 4.0/NT. Der Vergleich zwischen Gruppen erfolgte mit einer einfaktoriellen ANOVA. Dies setzt zwar eine Normalverteilung voraus, da die ANOVA jedoch gegenüber geringen Abweichungen von der Normalverteilung robust ist, wurde auch bei kleineren Abweichungen eine ANOVA durchgeführt. Mit Hilfe des Levene-Testes erfolgte die Überprüfung der Varianzhomogenität, und unter dieser Voraussetzung erfolgte der Vergleich zwischen den Gruppen mit dem LSD (least significant difference)-Test. Dem Test lag ein Signifikanzniveau von $p = 0.05$ zugrunde. Signifikante Unterschiede werden mit * bei $p < 0.05$, ** bei $p < 0.01$ und mit *** bei $p < 0.001$ gekennzeichnet.

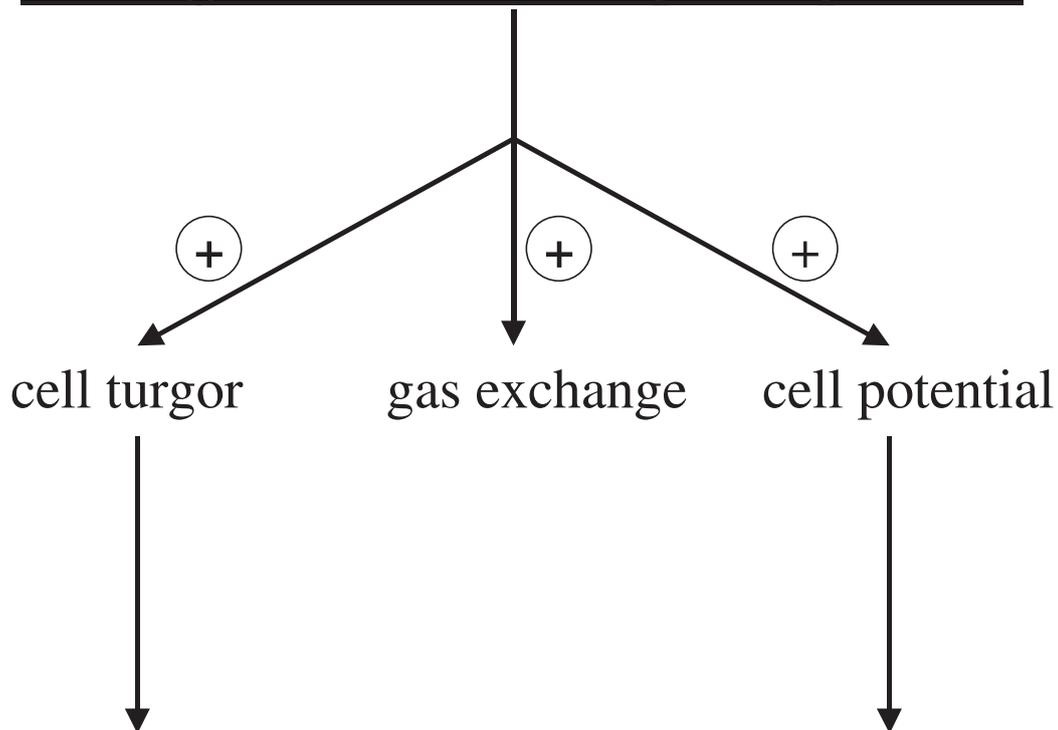
2.2.11 Konzept der Versuchsdurchführung

Mais: Soweit möglich wurde die Reaktion der Maispflanzen auf die Wiederbewässerung in den drei Hauptparametern (Gaswechsel, Zellpotential und Zellturgor) parallel gemessen. In Abb. 2.10 ist das Konzept der Versuchsdurchführung dargestellt: Ausgangspunkt war das Auftreten möglicher Reaktionen (+) im Gaswechsel, im Zellturgor und im Zellpotential nach Wiederbewässerung unter Atmosphärendruck (siehe 3.1.1). In den nachfolgenden Versuchen wurde

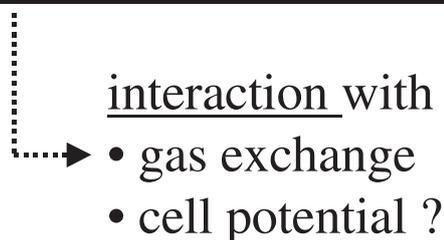
- durch die Applikation von Überdruck an der Wurzel das hydraulische Signal und
- durch die Kühlung des Messblattes das elektrische Signal

kompensiert (siehe 3.1.2), und mögliche Veränderungen in der Reaktion des Gaswechsels sowie im Zellpotential bzw. im Zellturgor zu untersuchen.

1.) Re-irrigation under atmospheric pressure



2.) compensation of the hydraulic signal



3.) compensation of the electric signal

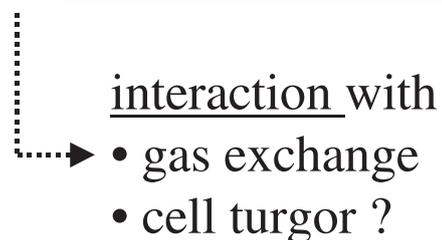


Abb. 2.10: Konzept der Versuchsdurchführung am Mais, ausgehend von den Reaktionen des Gaswechsels, des Zellurgors sowie des Zellpotentials nach der Wiederbewässerung unter Atmosphärendruck. + : Auftreten einer Reaktion.

Fig. 2.10: Concept of the experimental rational for maize, based on the responses of leaf gas exchange, cell turgor and cell potential upon re-irrigation under atmospheric pressure. + : Occurrence of a response.

Mimose: Die Versuche an Mimosen erfolgten an einzelnen, intakten Blättern. Mögliche Reaktionen des Zellpotentials, des Zellurgors, des Gaswechsel sowie der Chlorophyll-Fluoreszenz infolge der seimonastischen Stimulation wurden in getrennten Experimenten unabhängig voneinander untersucht. Es wurde verglichen, ob Berührung oder Verletzung zu unterschiedlichen Reaktionen (= ?) in den untersuchten Parametern führten.

seismonastic stimulation

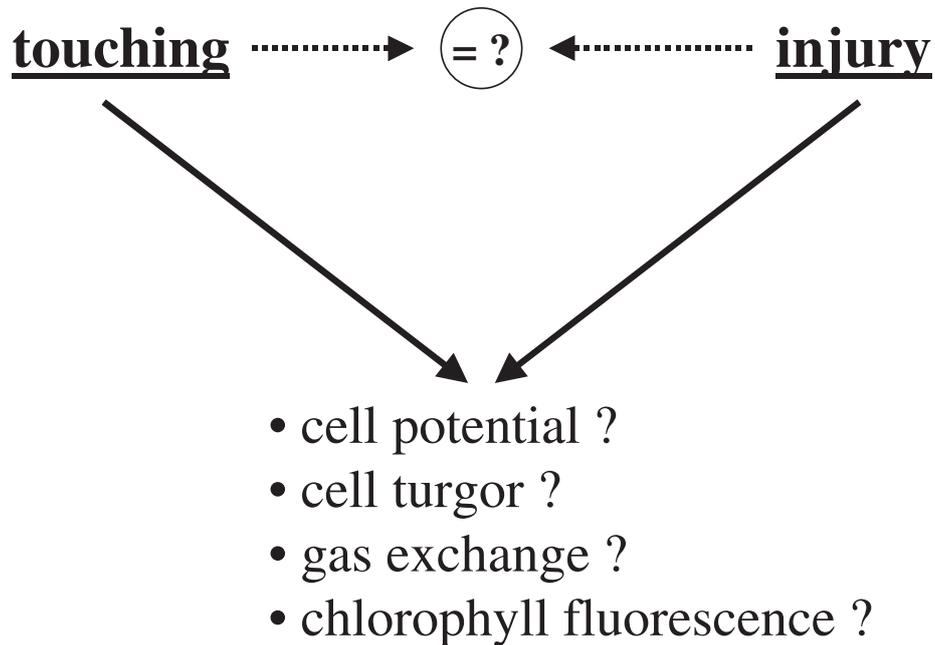


Abb. 2.11: Konzept der Versuchsdurchführung am Mimose: in separaten Versuchen wurde die Reaktion des Zellpotentials, des Zellturgors, des Gaswechsels sowie der Chlorophyll-Fluoreszenz infolge von Berührung oder Verletzung untersucht. = ? : Unterscheiden sich die Reaktionen infolge der unterschiedlichen Reizungen ?

Fig. 2.11: Concept of the experimental rationale for *Mimosa pudica*: the responses of cell potential, cell turgor, leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence upon touching or injury were measured in separate experiments. "= ?" means that different responses may occur upon the two kinds of stimulation.

3 Langstrecken-Kommunikation zwischen Wurzel und Sproß bei Mais: Reaktion des Blatt-Gaswechsels auf elektrische und hydraulische Signale

*"Die Wissenschaft kennt nur ein Gebot:
den wissenschaftlichen Beitrag"
(Leben des Galilei; B. Brecht)*

3.1 Ergebnisse

Der Gaswechsel wird von verschiedenen Umweltfaktoren wie Lichtintensität, CO₂-Konzentration der Luft, Luftfeuchte, Temperatur und Wasserversorgung im Boden bedingt. Über die Öffnungsweite der Stomata reguliert die Pflanze das Verhältnis von Wasserverlust und Kohlenstoffaufnahme. Die hier durchgeführten Messungen unter konstanten mikroklimatischen Bedingungen ermöglichten die Untersuchung der Regeneration des Gaswechsels trockengestresster Maispflanzen innerhalb der ersten Stunde nach der Wiederbewässerung unter ansonsten unveränderten Bedingungen.

Austrocknungsphase

In Abb. 3.1 ist ein repräsentativer Rückgang des Gaswechsels während einer Austrocknungsphase dargestellt. Die Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2}) voll turgeszenter Maispflanzen erreichte Werte von über $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, die stomatäre Leitfähigkeit (g_{H_2O}) lag bei maximal $140 \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Mit abnehmendem Bodenwassergehalt (swc: soil water content) trat ein leichter Rückgang in J_{CO_2} und ein deutliches Absinken in g_{H_2O} auf. Die Pflanzen wurden nicht bewässert bis der Bodenwassergehalt auf 40-50 % und die stomatäre Leitfähigkeit auf 50-60 % des Ausgangswertes bei nicht-limitierender Bodenwasserversorgung abgesunken war.

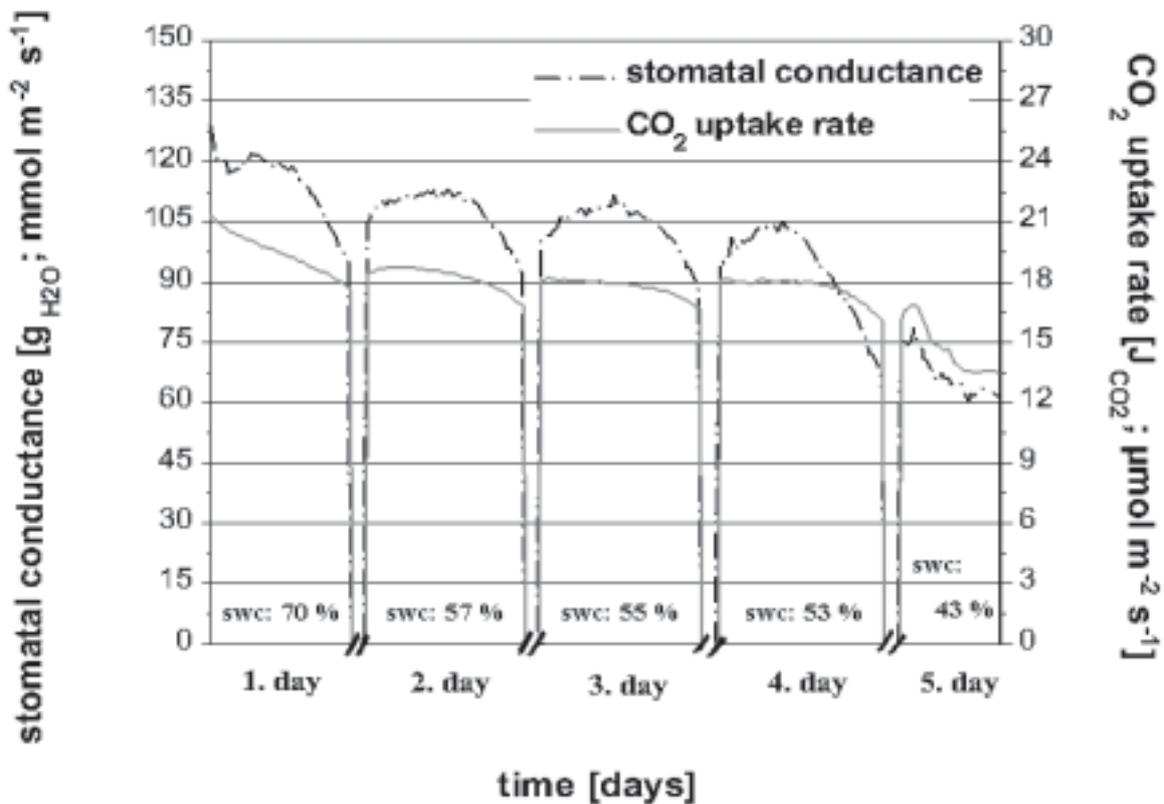


Abb. 3.1: Repräsentative Tagesverläufe der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit (g_{H_2O} ; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) einer Maispflanze bei abnehmendem Bodenwassergehalt (swc; Gewichts-%).

Fig. 3.1: Representative daily courses of the net CO_2 uptake rate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and the stomatal conductance (g_{H_2O} ; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of a maize plant during decreasing soil water content (swc; weight-%).

3.1.1 Reaktionen auf die Wiederbewässerung unter Atmosphärendruck

Reaktion des Gaswechsels

Die Wiederbewässerung erfolgte, sobald die gemessenen Parameter (je nach Versuch: J_{CO_2} , g_{H_2O} , Electron Quantum Yield, Zellturgor, Zellpotential) ein stabiles Niveau erreicht hatten. Der Einbau in die Wurzeldruckkammer hatte keinerlei Einfluß auf die Wiederbewässerungsreaktion in den untersuchten Parametern. In Abb. 3.2A ist die charakteristische Reaktion (aus $n = 10$) der Netto-Photosyntheserate und der stomatären Leitfähigkeit auf die Wiederbewässerung dargestellt: sowohl J_{CO_2} als auch g_{H_2O} gingen zunächst zurück, gefolgt von einem deutlichen Anstieg in beiden Gaswechselfparametern. In vier von zehn Versuchen ging die stomatäre Leitfähigkeit nach einem deutlichen Maximum zumeist wieder etwas zurück, stabilisierte sich aber deutlich oberhalb des reduzierten Niveaus vor der Bewässerung (vgl. Abb. 3.6). Die stomatäre Leitfähigkeit erreichte bei sechs von zehn Versuchen das Minimum

eher als die Photosyntheserate. Lagen die Werte von g_{H_2O} vor der Wiederbewässerung bei $\geq 90 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, so war die Reaktion in beiden Parametern, besonders in J_{CO_2} , stark gedämpft. Sowohl die Netto-Photosyntheserate als auch die stomatäre Leitfähigkeit stabilisierten sich oberhalb des Trockenstressniveaus, sie blieben jedoch niedriger als bei Pflanzen mit nicht-limitierender Wasserversorgung. Je stärker die Pflanzen trockengestresst waren, und je weiter g_{H_2O} vor der Wiederbewässerung abgesunken war, desto stärker ausgeprägt war die Reaktion auf die Wiederbewässerung (Abb. 3.2B). Mit zunehmender Austrocknung dauerte die vollständige Regeneration der Pflanze zum Teil bis zum nächsten Tag. Trotz der konstanten Bedingungen in der Klimakammer waren saisonale Unterschiede erkennbar: die Intensität der Gaswechselreaktion war im Sommer deutlich stärker ausgeprägt als im Winter.

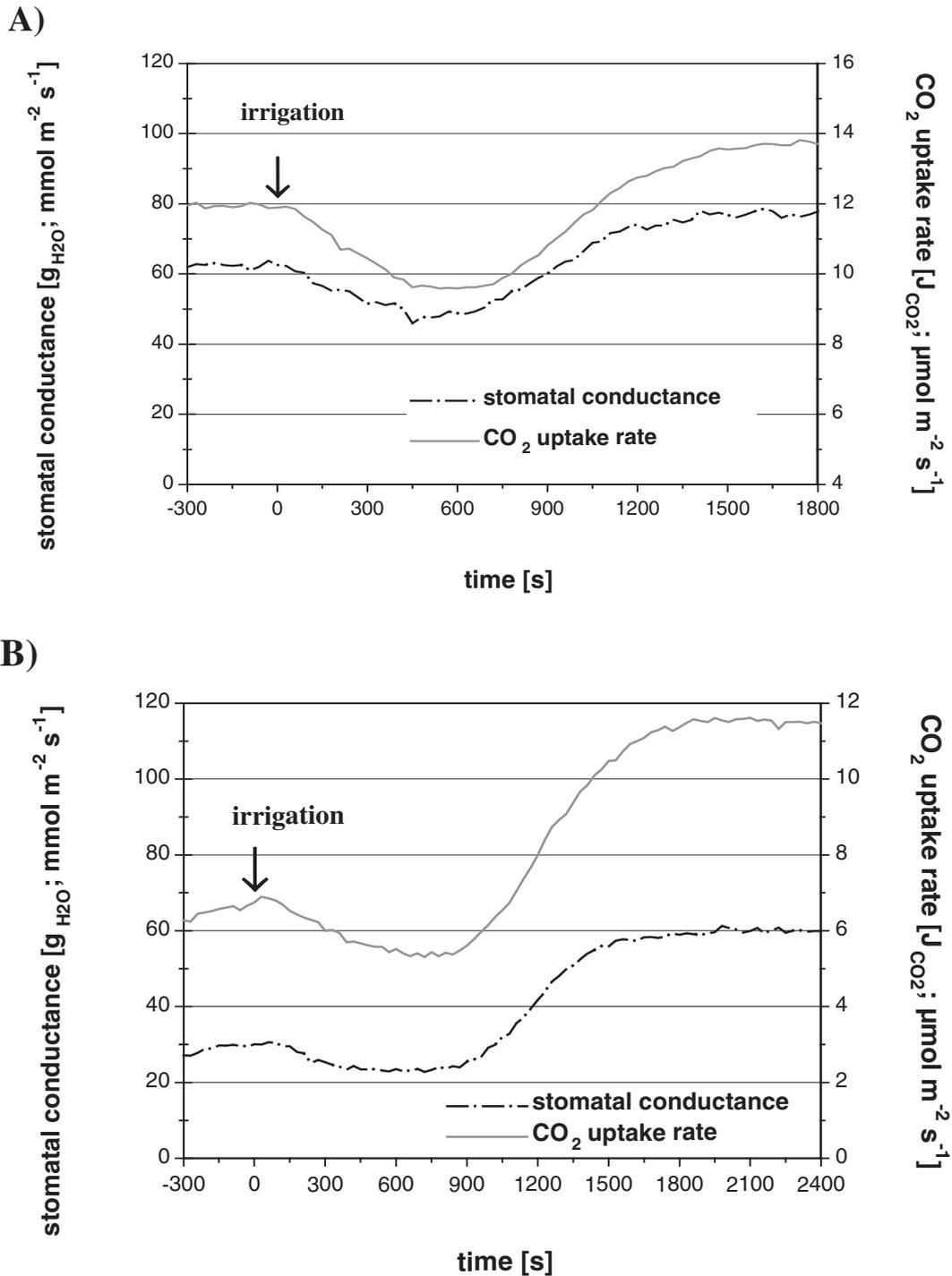


Abb. 3.2: (A) Repräsentative Reaktion der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} ; $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit (g_{H_2O} ; $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$) einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung. (B) Ausgeprägtere Reaktion in J_{CO_2} und g_{H_2O} auf Wiederbewässerung nach stärkerer Bodenaustrocknung. Die Pfeile markieren die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 3.2: (A) Representative response of the net CO_2 uptake rate (J_{CO_2} ; $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) and the stomatal conductance (g_{H_2O} ; $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$) of a drought-stressed maize plant to re-irrigation. (B) Example of distinct response in J_{CO_2} and g_{H_2O} to re-irrigation after severe drought stress. Arrows denote the instant of irrigation at time zero.

Reaktion der Chlorophyll-Fluoreszenz

Mit Hilfe der Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen wurde untersucht, ob der in der Gaswechselformel beobachtete Anstieg der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2}) auch als Zunahme des Elektronentransport am Photosystem II auftrat. Im Gegensatz zur ausgeprägten Reaktion von J_{CO_2} und g_{H_2O} war im Electron Quantum Yield (EQY) jedoch keine deutliche Veränderung erkennbar ($n = 5$; Abb. 3.3). Der kontinuierliche leichte Abwärtstrend des EQY wurde auch bei längerfristigen Chlorophyll-Fluoreszenz-Messungen an den Blättern trocken-gestresster Maispflanzen unabhängig von der Wiederbewässerung beobachtet.

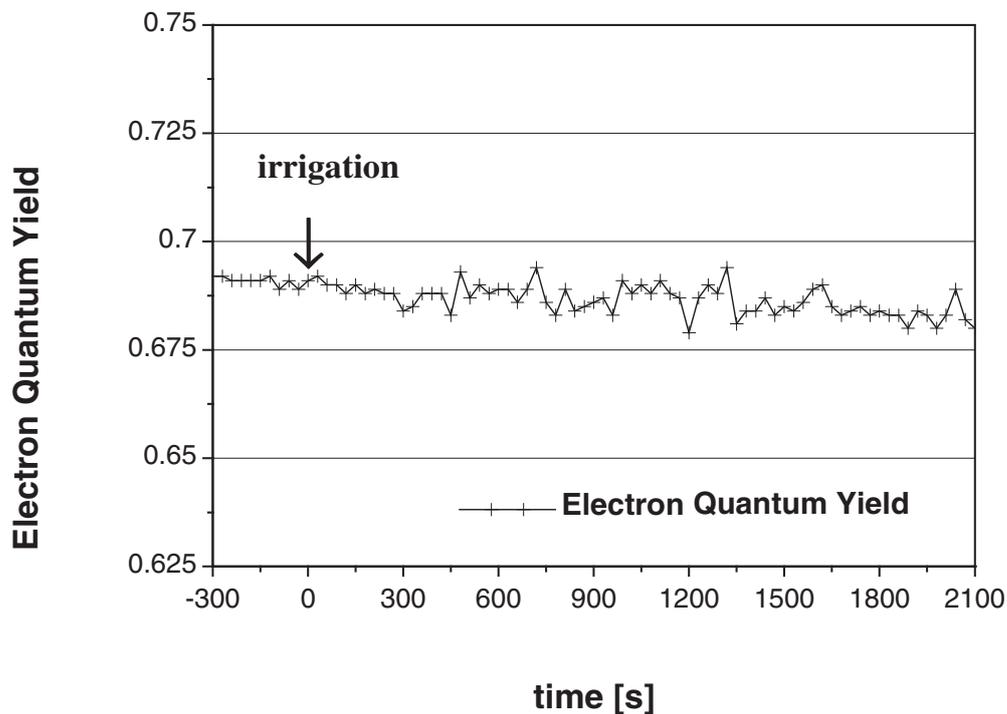


Abb. 3.3: Repräsentative Reaktion in der Chlorophyll-Fluoreszenz (Electron Quantum Yield) einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung. Der Pfeil markiert die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 3.3 Representative response of chlorophyll fluorescence (Electron Quantum Yield) of a drought-stressed maize plant to re-irrigation. The arrow denotes the instant of irrigation at time zero.

Reaktion des Zellurgors

Der Turgor der Blattepidermiszellen erreichte bei nicht-limitierender Wasserversorgung Werte von 0.4-0.6 MPa. Mit zunehmender Bodentrockenheit sank der Zelldruck (zum Teil) auf Werte unter 0.1 MPa ab. Bei Bodenwassergehalten von $\leq 40\%$ sank der Turgor in den Epidermiszellen zum Teil unter Werte von 0.08 MPa ab, so daß der Aufbau einer Turgormessung mit der Zelldrucksonde nicht mehr möglich war.

Nach der Wiederbewässerung begann der Meniskus in der Kapillare zur Drucksonde hin zu wandern, verursacht durch den Einstrom von Wasser in die Zellvakuole. Durch die Stabilisierung des Meniskus an seiner Ausgangsposition (*; siehe 2.2.4) wurde ein deutlicher Anstieg im Turgor erkennbar (Abb. 3.4).

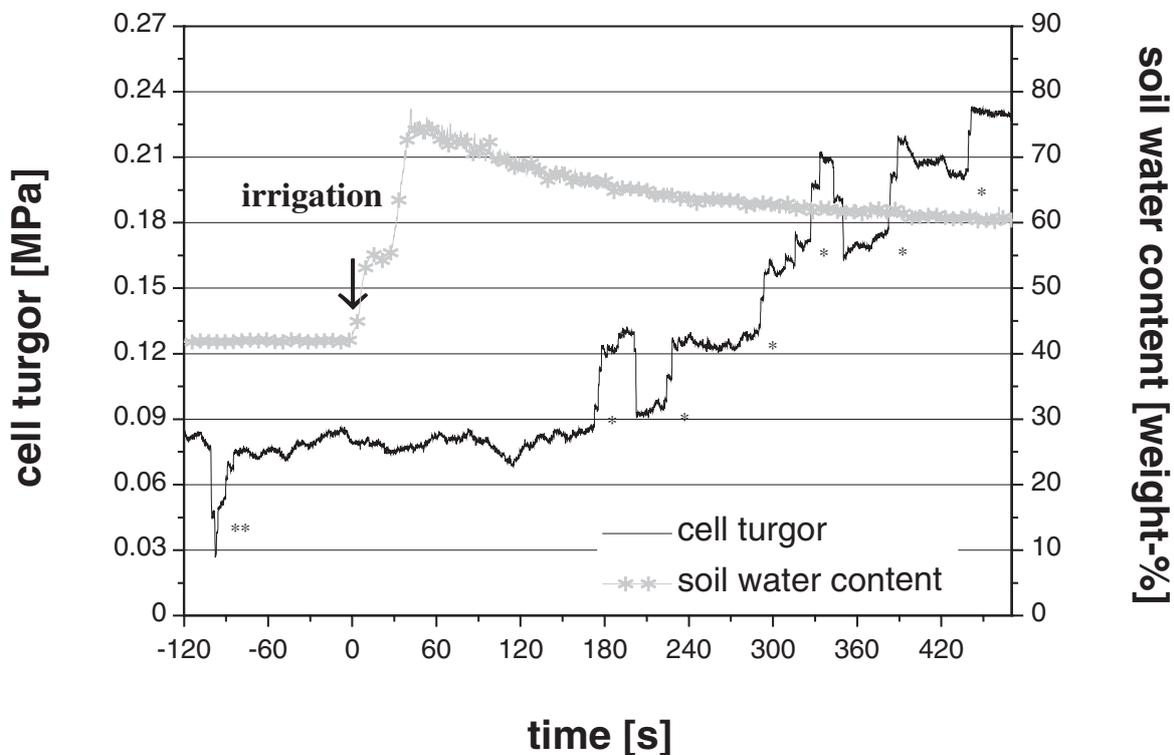


Abb. 3.4: Repräsentative Reaktion des Zellurgors in der Blattepidermis einer trocken-gestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung. Der Pfeil markiert die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$. *: Stabilisierung des Meniskus an seiner Ausgangsposition; **: Überprüfung der hydraulischen Reaktion der Zelle (siehe 2.2.4).

*Fig. 3.4: Representative response of the cell turgor, measured in the leaf epidermis of a drought-stressed maize plant, to re-irrigation. The arrow denotes the instant of irrigation at time zero. *: Stabilisation of the meniscus at its initial position; **: Check on of hydraulic continuity between cell and probe (cf. 2.2.4).*

Reaktion des Zellpotentials

Das Ruhepotential der Epidermiszellen zeigte im Verlauf der Austrocknungsphase keine deutliche Veränderung: Das Zellpotential einzelner Epidermiszellen blieb während der Messung über 30-60 Minuten konstant und erreichte, sowohl in vollturgesczten als auch in Blättern trockengestresster Pflanzen Werte von -100 bis - 250 mV. Wiederbewässerung führte zu einer deutlichen Depolarisierung um 24.2 ± 13.5 mV (Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 9$; Abb. 3.5). Der kurzfristige Anstieg des Bodenwassergehaltes auf Werte von über 100 % nach der Wiederbewässerung basiert auf der rechnerischen Ungenauigkeit der polynomischen Funktion der Kalibrierkurve des Bodenfeuchtesensors (ThetaProbe; siehe Anhang).

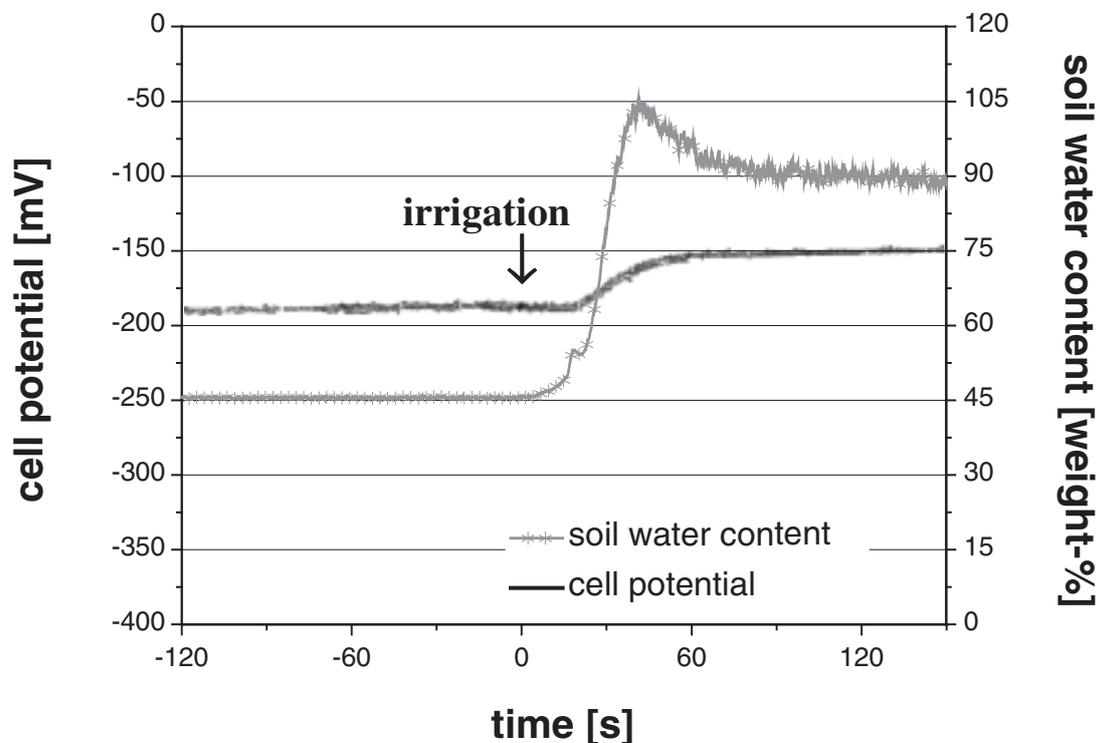


Abb. 3.5: Repräsentative Reaktion des Zellpotentials in der Blattepidermis einer trocken-gestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung. Der Pfeil markiert die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 3.5: Representative response of the cell potential, measured in the leaf epidermis of a drought-stressed maize plant, to re-irrigation. The arrow denotes the instant of irrigation at time zero.

3.1.2 Kompensation elektrischer und hydraulischer Signale nach der Wiederbewässerung

Durch Eliminierung des hydraulischen oder des elektrischen Signals nach der Wiederbewässerung einer trockengestressten Maispflanze wurde in den folgenden Versuchen untersucht, welches dieser Signale die dominierende Funktion als Signalgeber für den Gaswechsel hat.

3.1.2.1 Kompensation des hydraulischen Signals

3.1.2.1.1 Kompensation der Saugspannung im Xylem durch Anlegen eines Überdruckes in der Wurzeldruckkammer

Zur Kompensation der Saugspannung im Xylem wurde an der Wurzel applizierten trockengestresster Pflanzen in der Wurzeldruckkammer Überdruck angelegt. Die Höhe des applizierten Überdrucks variierte zwischen 0.35-0.5 MPa in Abhängigkeit vom Austrocknungszustand des Bodens und der Intensität des Rückgangs der stomatären Leitfähigkeit des Blattes in der Gaswechselküvette.

Reaktion des Gaswechsels

Nach Beginn der Druckerhöhung (Abb. 3.6) trat im Gaswechsel ($n = 7$) eine vergleichbare Reaktion wie bei Bewässerung unter Atmosphärendruck auf (Abb. 3.2): zunächst gingen sowohl J_{CO_2} als auch g_{H_2O} zurück, gefolgt von einem Anstieg des Gaswechsels. Im Gegensatz zur Wiederbewässerung (Vgl. Abb. 3.2) begannen beide Kurven deutlich früher zu sinken. Des weiteren stieg die Netto-Photosyntheserate, im Gegensatz zur stomatären Leitfähigkeit, bei sechs von sieben Messungen infolge der Druckapplikation nur geringfügig über das Trockenstressniveau hinaus an.

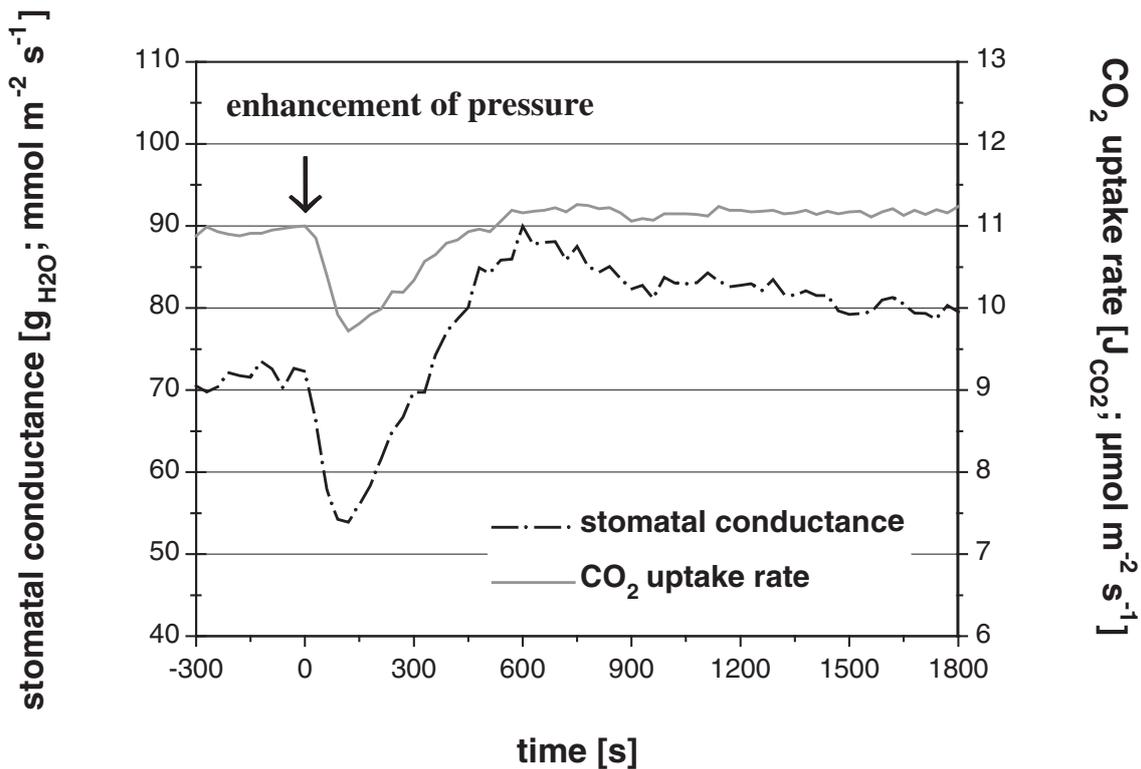


Abb. 3.6: Repräsentative Reaktion der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit ($g_{\text{H}_2\text{O}}$; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) einer trockengestressten Maispflanze auf die Applikation von Überdruck in der Wurzeldruckkammer. Der Pfeil markiert den Beginn der Druckapplikation zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 3.6: Representative response of the net CO_2 uptake rate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and the stomatal conductance ($g_{\text{H}_2\text{O}}$; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of drought-stressed maize plant to the enhancement of pressure in the root pressure chamber. The arrow denotes the beginning of pressure increase at time zero.

Reaktion des Zellurgors und des Zellpotentials

Ähnlich wie bei Bewässerung unter Atmosphärendruck trat in den Blattzellen infolge der Druckapplikation ein deutlicher Anstieg im Turgor ($n = 4$) auf, verursacht durch den Wassereinstrom in die Vakuole der Epidermiszellen. Der Bodenwassergehalt blieb dagegen konstant (Abb. 3.7A). Das Zellpotential zeigte im Gegensatz zur Bewässerung unter Atmosphärendruck eine Hyperpolarisierung um -35.9 ± 22.07 mV ($n = 7$; Abb. 3.7B).

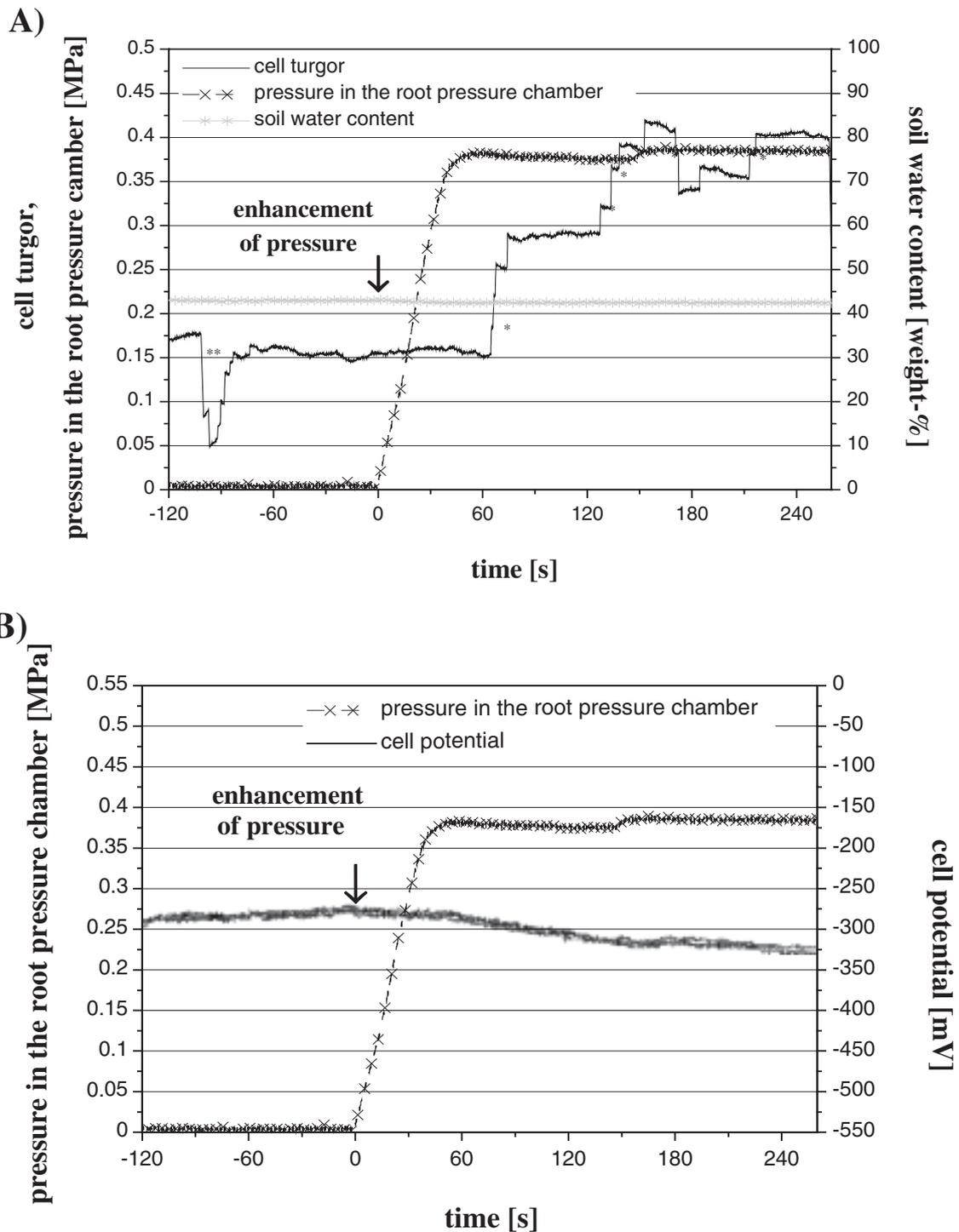


Abb. 3.7: Repräsentative Reaktion des Zellturgors (A) und des Zellpotentials (B) in der Blattepidermis einer trockengestressten Maispflanze auf die Applikation von Überdruck in der Wurzeldruckkammer. Die Pfeile markieren den Beginn der Druckapplikation zum Zeitpunkt $t=0$. *: Stabilisierung des Meniskus an seiner Ausgangsposition; **: Überprüfung der hydraulischen Reaktion der Zelle (siehe 2.2.4).

Fig. 3.7: Representative response of the cell turgor (A) and the cell potential (B), measured in the leaf epidermis of a drought-stressed maize plant to the enhancement of pressure in the root pressure chamber. Arrows denote the beginning of pressure increase at time zero. *: Stabilisation of the meniscus at its initial position; **: Check on of hydraulic continuity between cell and probe (cf. 2.2.4).

3.1.2.1.2 Reaktion auf Wiederbewässerung bei Überdruck in der Wurzeldruckkammer

Reaktion des Gaswechsels

Nach der Stabilisierung von J_{CO_2} und g_{H_2O} auf einem, infolge des an der Wurzel angelegten Überdrucks, erhöhten Niveau wurden die Maispflanzen in der Wurzeldruckkammer bewässert. Die Wiederbewässerung führte zu einem geringfügigen Anstieg der stomatären Leitfähigkeit ($n = 6$), die Netto-Photosyntheserate blieb zumeist konstant (Abb. 3.8). Der transiente Rückgang, sowohl von J_{CO_2} als auch von g_{H_2O} , der nach Wiederbewässerung unter Atmosphärendruck beobachtet wurde (siehe Abb. 3.2), trat bei Bewässerung unter Überdruck nicht auf.

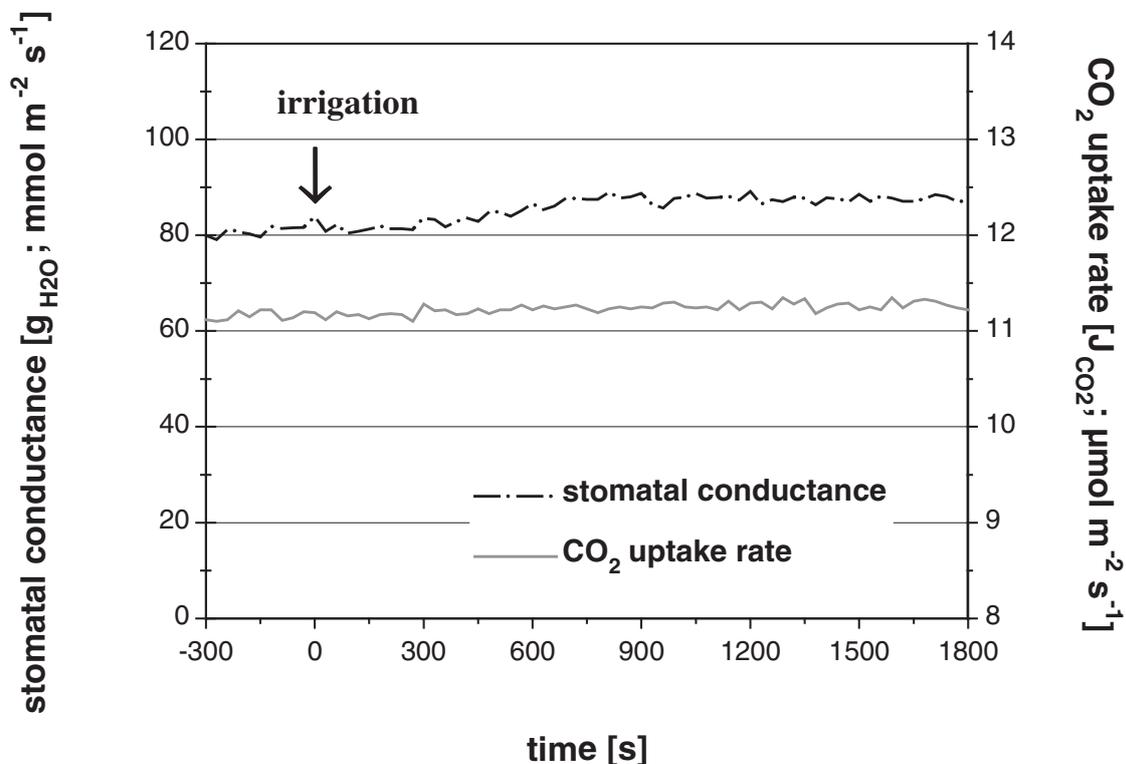


Abb. 3.8: Repräsentative Reaktion der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} ; $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit (g_{H_2O} ; $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$) einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung unter Überdruck in der Wurzeldruckkammer. Der Pfeil markiert die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 3.8: Representative response of the net CO_2 uptake rate (J_{CO_2} ; $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) and of the stomatal conductance (g_{H_2O} ; $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$) of a drought-stressed maize plant to re-irrigation under enhanced pressure in the root pressure chamber. The arrow denotes the instant of irrigation at time zero.

Reaktion des Zellurgors

Der Zellturgor lag infolge der Druckapplikation in der Wurzeldruckkammer trotz des geringen Bodenwassergehaltes bei 0.2-0.35 bar. Die Wiederbewässerung unter Überdruck führte zu keiner Veränderung im Zellturgor (Abb. 3.9; n = 3).

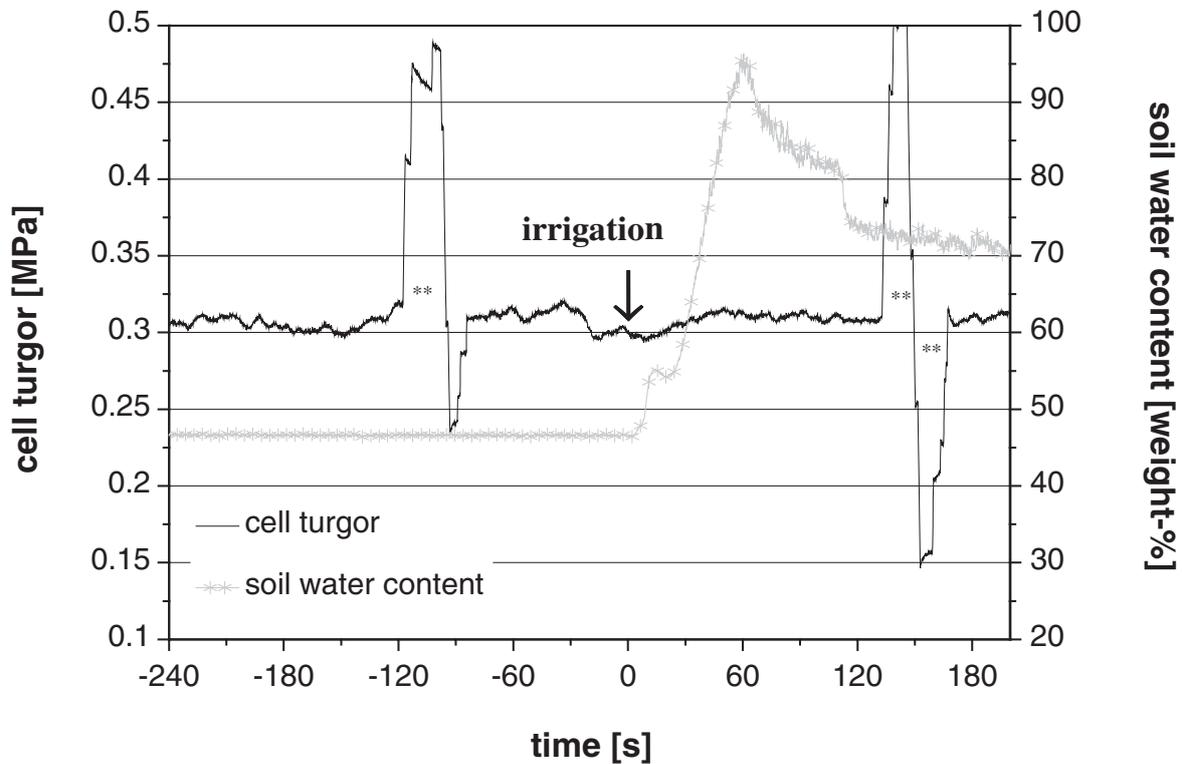


Abb. 3.9: Repräsentative Reaktion des Zellurgors in der Blattepidermis einer trocken-gestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung unter Überdruck in der Wurzel-druckkammer. Der Pfeil markiert die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$. **: Überprüfung der hydraulischen Reaktion der Zelle (siehe 2.2.4).

Fig. 3.9: Representative response of the cell turgor in the leaf epidermis of a drought-stressed maize plant to re-irrigation under enhanced pressure in the root pressure chamber. The arrow denotes the instant of irrigation at time zero. **: Check on of hydraulic continuity between cell and probe (cf. 2.2.4).

Reaktion des Zellpotentials

Die Applikation des Überdrucks in der Wurzeldruckkammer hatte keinen Einfluss auf das elektrische Signal: nach Wiederbewässerung trat im Zellpotential eine Depolarisierung vergleichbarer Intensität (Δ : 29.0 ± 20.4 mV; n = 7) wie bei Bewässerung unter Atmosphärendruck auf (Abb. 3.10).

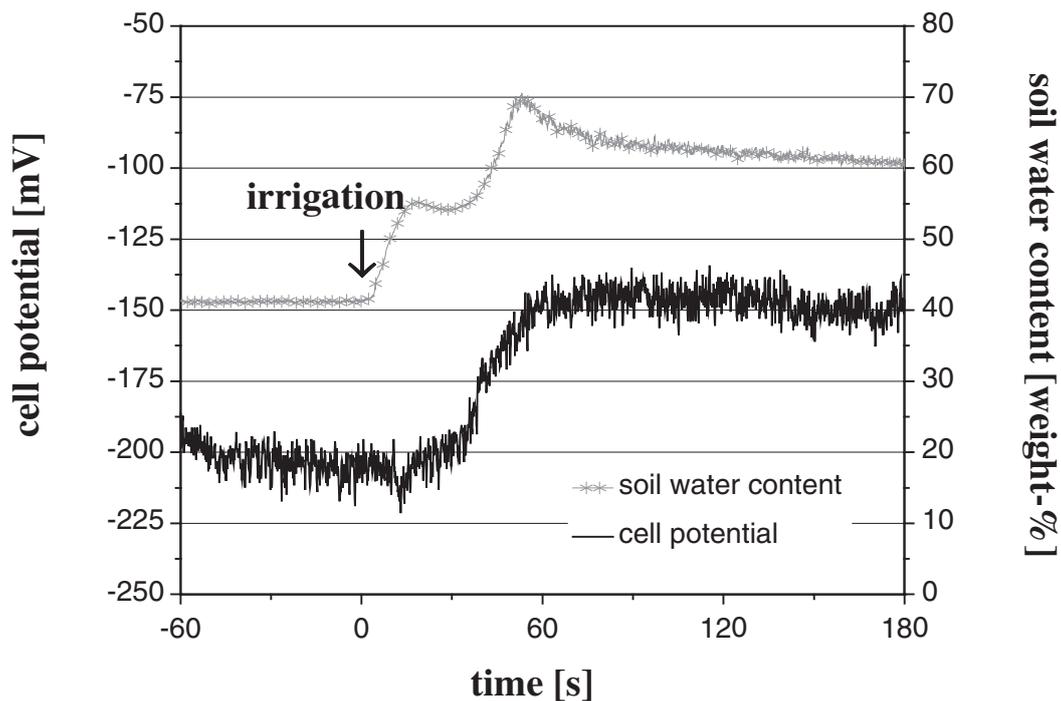


Abb. 3.10: Repräsentative Reaktion des Zellpotentials in der Blattepidermis einer trocken-gestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung unter Überdruck in der Wurzeldruckkammer. Der Pfeil markiert die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 3.10: *Representative response of the cell potential, measured in the leaf epidermis of a drought-stressed maize plant, to re-irrigation under enhanced pressure in the root pressure chamber. The arrow denotes the instant of irrigation at time zero.*

Reaktion des Gaswechsels und des Zellurgors bei unzureichender Druckapplikation an der Wurzel zur Kompensation des hydraulischen Signals

Da keine direkte Messung der Saugspannung im Xylem erfolgte, wurde der zur Kompensation des hydraulischen Signals notwendige Überdruck in der Wurzeldruckkammer anhand des Bodenwassergehalts und des Rückgangs im Gaswechsel vor der Druckapplikation abgeschätzt. Eine unzureichende Druckapplikation führte zu einer deutlichen Dämpfung des hydraulischen Signals ($n = 5$): Im Gaswechsel trat nur in der stomatären Leitfähigkeit ein abgeschwächter, transients Rückgang auf (Abb. 3.11), gefolgt von einem leichten Anstieg in J_{CO_2} und g_{H_2O} , der Zellurgor stieg geringfügig an (Abb. 3.12). Bei einigen Pflanzen trat infolge der Bewässerung unter Überdruck Guttation auf. Diese Messungen wurden aufgrund der Verfälschung der Gaswechseldaten (g_{H_2O}) verworfen.

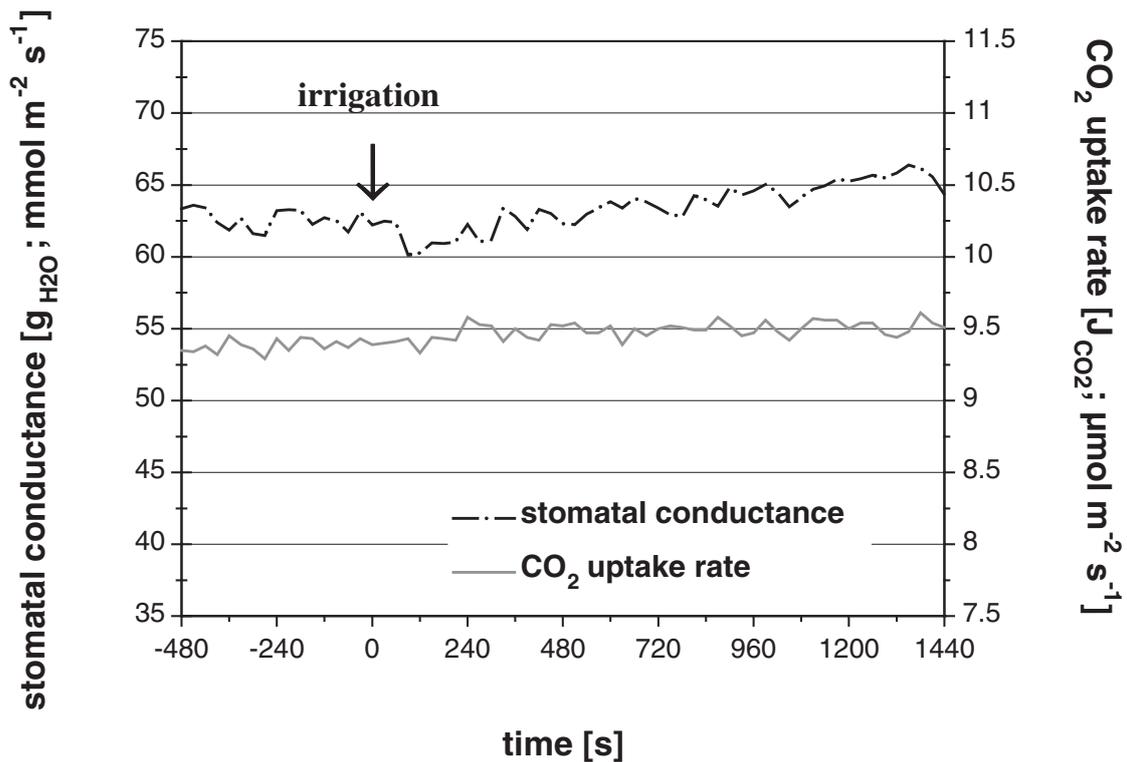


Abb. 3.11: Repräsentative Reaktion der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit ($g_{\text{H}_2\text{O}}$; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung unter Überdruck in der Wurzeldruckkammer. Der applizierte Überdruck reichte zur vollständigen Kompensation des hydraulischen Signals nicht aus. Der Pfeil markiert die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 3.11: Representative response of the net CO_2 uptake rate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and the stomatal conductance ($g_{\text{H}_2\text{O}}$; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of a drought-stressed maize plant to re-irrigation under enhanced pressure in the root pressure chamber. The enhanced pressure was insufficient to completely compensate for the hydraulic signal. The arrow denotes the instant of irrigation at time zero.

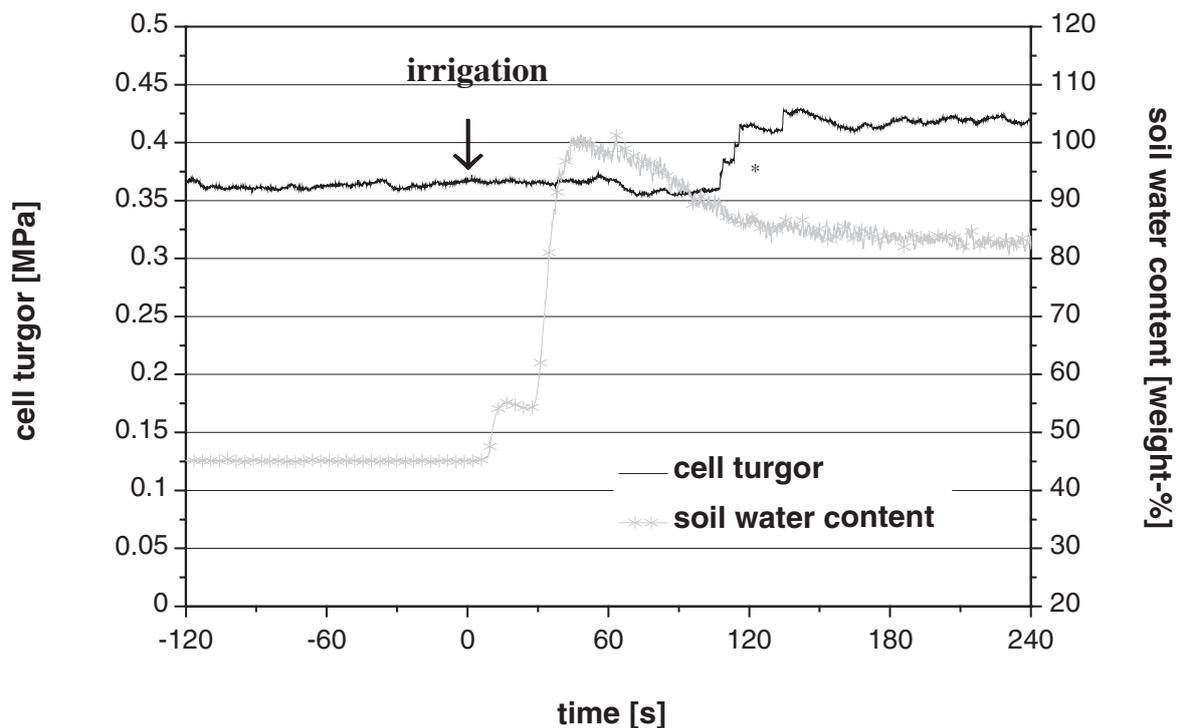


Abb. 3.12: Repräsentative Reaktion des Zellturgors in der Blattepidermis einer trocken-gestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung unter Überdruck in der Wurzeldruckkammer. Der applizierte Überdruck reichte nicht zur vollständigen Kompensation des hydraulischen Signal aus. Der Pfeil markiert die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$. *: Stabilisierung des Meniskus an seiner Ausgangsposition.

Fig. 3.12: Representative response of the cell turgor, measured in the leaf epidermis of a drought-stressed maize plant, to re-irrigation under enhanced pressure in the root pressure chamber. The arrow denotes the instant of irrigation at time zero. The enhanced pressure was insufficient to compensate the complete hydraulic signal. *: Stabilisation of the meniscus at its initial position.

3.1.2.1.3 Reduktion des Überdrucks in der Wurzeldruckkammer

Reaktion des Gaswechsels

Die Reduktion des Überdruckes in der Wurzeldruckkammer auf Atmosphärendruck erfolgte jeweils 40 Minuten nach der Wiederbewässerung. Die stomatäre Leitfähigkeit zeigte dabei einen raschen Anstieg mit anschließendem Abfall, die Photosyntheserate blieb konstant (Abb. 3.13).

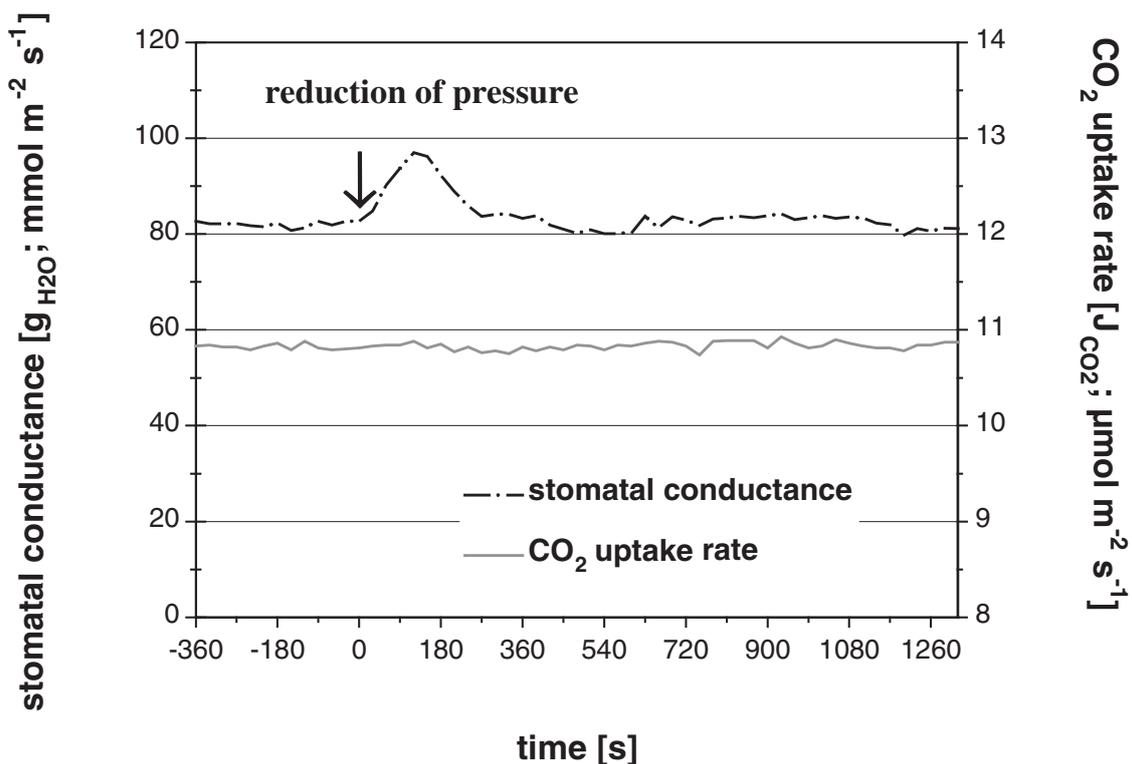


Abb. 3.13: Repräsentative Reaktion der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit ($g_{\text{H}_2\text{O}}$; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) einer trockengestressten Maispflanze auf die Reduktion des Überdrucks in der Wurzeldruckkammer. Der Pfeil markiert den Beginn der Druckreduktion zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 3.13: Representative response of the net CO_2 uptake rate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and the stomatal conductance ($g_{\text{H}_2\text{O}}$; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of a drought-stressed maize plant to the pressure reduction in the root pressure chamber. The arrow denotes the beginning of the decrease in pressure at time zero.

Reaktion des Zellurgors und des Zellpotentials

Der Zellturgor sank infolge der Druckreduktion deutlich ab (Abb. 3.14), im Zellpotential traten dagegen unterschiedliche Reaktionen auf: in einigen Messungen trat eine Depolarisation ($\Delta +22.5 \pm 8.7 \text{ mV}$; $n = 4$), in anderen eine Hyperpolarisation auf ($\Delta -16.5 \pm 11.1 \text{ mV}$; $n = 4$). Bei drei Messungen blieb die Potentialdifferenz konstant.

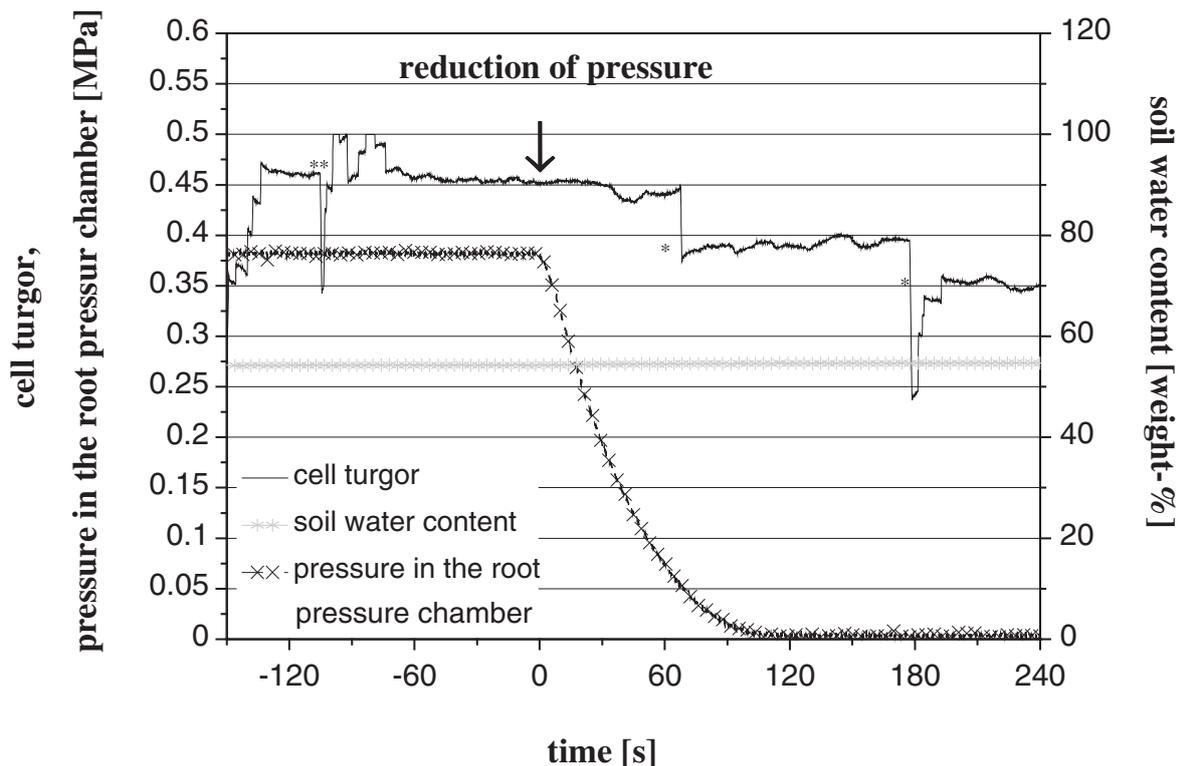


Abb. 3.14: Repräsentative Reaktion des Zellturgors in der Blattepidermis einer trocken-gestressten Maispflanze auf die Reduktion von Überdruck in der Wurzeldruckkammer. Der Pfeil markiert den Beginn der Druckreduktion zum Zeitpunkt $t=0$. *: Stabilisierung des Meniskus an seiner Ausgangsposition; **: Überprüfung der hydraulischen Reaktion der Zelle.

Fig. 3.14 Representative response of the cell turgor in the leaf epidermis of a drought-stressed maize plant, to the reduction of pressure in the root pressure chamber. The arrow denotes the beginning of the decrease in pressure at time zero. *: Stabilisation of the meniscus at its initial position; **: Check on of hydraulic continuity between cell and probe (cf. 2.2.4).

3.1.2.2 Kompensation des elektrischen Signals durch Kühlung des Meßblattes

Zur Kompensation des elektrischen Signals wurde ein Teil des Meßblattes beidseitig auf der Epidermis auf $0.1-0.5^{\circ}\text{C}$ heruntergekühlt (siehe 2.2.7).

Reaktion des Gaswechsels

Bei Bewässerung und gleichzeitiger Kühlung des Messblattes ($n = 6$) in trocken-gestressten Pflanzen zeigten J_{CO_2} und $g_{\text{H}_2\text{O}}$ lediglich einen transienten Rückgang, der jedoch schwächer ausfiel als bei Versuchen ohne Kühlung. Ein Anstieg beider Parameter über das Trocken-stressniveau hinaus trat jedoch nicht auf (Abb. 3.15).

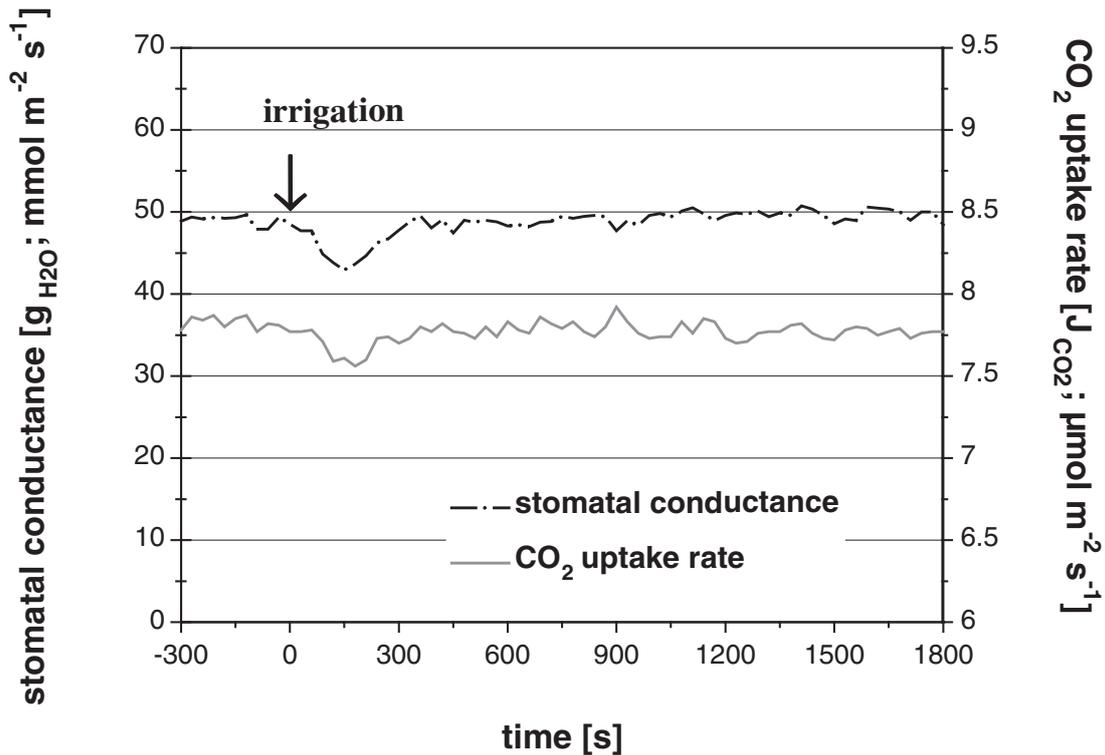


Abb. 3.15: Repräsentative Reaktion der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} ; $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit (g_{H_2O} ; $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$) einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung bei gleichzeitiger Kühlung des Messblattes vor der Gaswechsellkuvette. Der Pfeil markiert die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 3.15: Representative response of the net CO_2 uptake rate (J_{CO_2} ; $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) and the stomatal conductance (g_{H_2O} ; $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$) of a drought-stressed maize plant to re-irrigation during simultaneous cooling of the leaf surface in front of the gas-exchange cuvette. The arrow denotes the instant of irrigation at time zero.

Um zu überprüfen, ob im Gaswechsel der übrigen Blätter die zuvor beschriebene, zweiphasige Reaktion auftrat (vgl. 3.1.1, Abb. 3.2), wurde an einem ungekühlten Nachbarblatt derselben Pflanze zeitgleich die Netto-Photosyntheserate und die stomatäre Leitfähigkeit gemessen: In g_{H_2O} war die Reaktion deutlich abgeschwächt, in J_{CO_2} trat kaum eine Veränderung auf (Abb. 3.16).

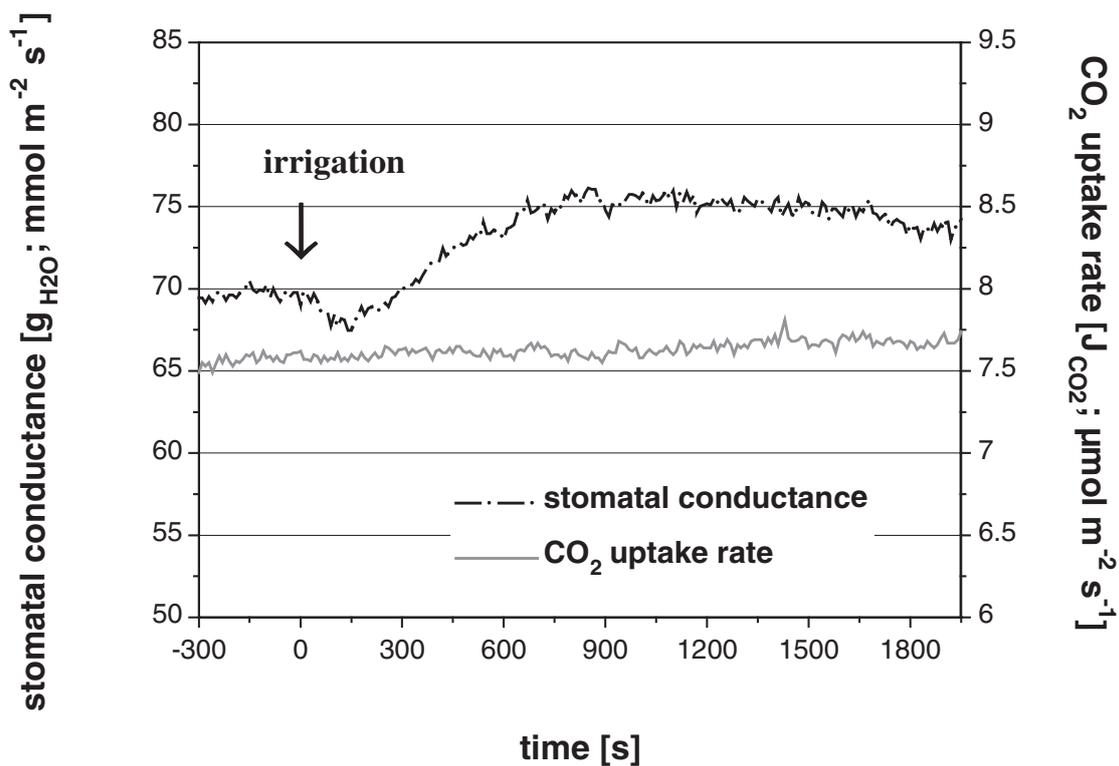


Abb. 3.16: Vergleichsmessung des Gaswechsels (gemessen mit einem Porometer) an einem ungekühlten Nachbarblatt: Repräsentative Reaktion der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit ($g_{\text{H}_2\text{O}}$; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung. Der Pfeil markiert die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 3.16: Comparative measurement of the gas exchange (measured with a porometer) on a neighbouring, non-cooled leaf: Representative response of the net CO_2 uptake rate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and the stomatal conductance ($g_{\text{H}_2\text{O}}$; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of a drought-stressed maize plant to re-irrigation. The arrow denotes the instant of irrigation at time zero.

Reaktion des Zellurgors und des Zellpotentials

Durch die Kühlung konnte die Ausbreitung des elektrischen Signals geblockt werden: Das Zellpotential zeigte nach der Wiederbewässerung keine Veränderung ($n = 7$). Im Gegensatz dazu wurde das hydraulische Signal nicht beeinträchtigt: Durch den Einstrom von Wasser in die untersuchte Epidermiszelle begann der Zellturgor anzusteigen ($n = 3$; Abb. 3.17).

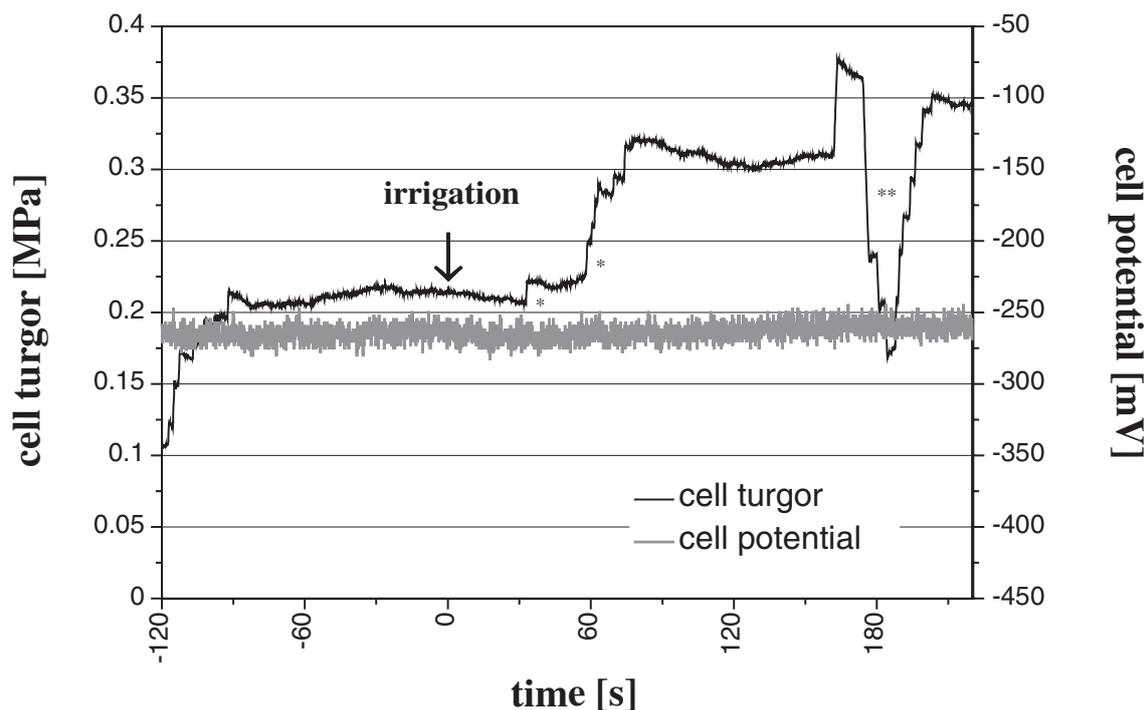


Abb. 3.17: Repräsentative Reaktion des Zellturgors und des Zellpotentials in der Blattepidermis einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung unter Kühlung des Messblattes. Der Pfeil markiert die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$. *: Stabilisierung des Meniskus an seiner Ausgangsposition; **: Überprüfung der hydraulischen Reaktion der Zelle.

*Fig. 3.17: Representative response of the cell turgor and the cell potential, measured in the leaf epidermis of a drought-stressed maize plant, to re-irrigation during simultaneous cooling of the leaf surface. The arrow denotes the instant of irrigation at time zero. *: Stabilisation of the meniscus at its initial position; **: Check on of hydraulic continuity between cell and probe (cf. 2.2.4).*

Durch die selektive Kompensation der beiden Signale konnte gezeigt werden, daß:

- 1.) der primäre, transiente Rückgang von J_{CO_2} und g_{H_2O} durch das hydraulische Signal (= Anstieg des Zellturgors) hervorgerufen wurde. Durch die Applikation von Überdruck an der Wurzel wurde das hydraulische Signal bei Wiederbewässerung kompensiert und der Gaswechsel sank nicht unter das Trockenstressniveau ab (siehe Abb. 3.8, Abb. 3.9, Abb. 3.15).
- 2.) das elektrische Signal Auslöser für den Anstieg von J_{CO_2} und g_{H_2O} war. Bei Kompensation des elektrischen Signals (= Depolarisierung des Zellpotentials) durch die Kühlung des Messblattes stieg der Gaswechsel nach dem transienten Absinken nicht über das Trockenstressniveau hinaus an (siehe Abb. 3.15, Abb. 3.17).

3.1.3 Vergleich der Reaktionszeiten der untersuchten Parameter

Streckenkorrigierte Reaktionszeit $[T(d)]$ der Parameter nach der Wiederbewässerung

Die Reaktionen in den untersuchten Parametern traten nach unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Wiederbewässerung auf. Das Zeitintervall ($T = \text{time}$) zwischen dem Beginn des Anstiegs des Bodenwassergehaltes und dem Beginn der Reaktion wurde um die unterschiedlichen Entfernungen zwischen der Bodenoberfläche und der Meßstelle am Blatt ($d = \text{distance}$) korrigiert (siehe Abb. 3.18):

$T(d) = \text{Zeitintervall zwischen dem einsetzenden Anstieg des Bodenwassergehaltes und dem Beginn der Reaktion im gemessenen Parameter [s] dividiert durch die Distanz zwischen der Bodenoberfläche und der Meßstelle am Blatt [mm]}$

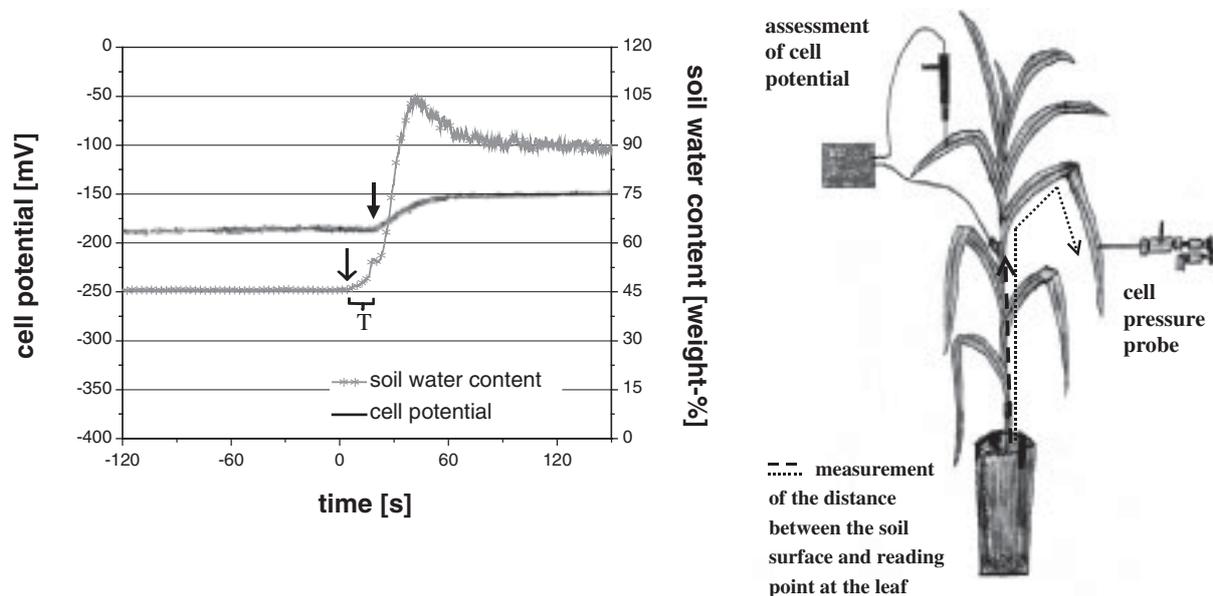


Abb. 3.18: Links: Ermittlung des Zeitintervalls (T) zwischen dem Beginn des Anstiegs des Bodenwassergehaltes (unterer Pfeil) und dem Beginn der Reaktion am Beispiel des Zellpotentials (oberer Pfeil). Rechts: Bestimmung der Distanz (d) zwischen der Bodenoberfläche und der Messtelle am Blatt. Für die Berechnung der Reaktionszeit des Zellpotentials wurde die Distanz zwischen Bodenoberfläche und Referenzelektrode verwendet.

Fig. 3.18: Left: Determination of the time interval (T) between the beginning of the rise in soil water content (lower arrow) and the incipient response of the observed parameter, exemplified for the cell potential (upper arrow). Right: Determination of the distance between the soil surface and the measuring position on the leaf. For calculating of $T(d)$ in the cell potential the distance between the soil surface and the reference electrode was used.

In Abb. 3.19 ist die streckenkorrigierte Reaktionszeit nach der Wiederbewässerung (in s cm^{-1} ; Mittelwert und Standardabweichung) in Abhängigkeit vom Experiment zusammen-

gefasst. In der Hauptgrafik geben die Quadrate T(d) für den Beginn des transienten Rückgangs des Gaswechsels wieder. Das Insert in Abb. 3.19 stellt T(d) für das Ende des transienten Rückgangs des Gaswechsels dar [für die Bewässerung unter Atmosphärendruck [atm.] und unter Überdruck [press.] entspricht dieser Zeitpunkt dem Beginn des Anstiegs des Gaswechsels über das Trockenstressniveau hinaus].

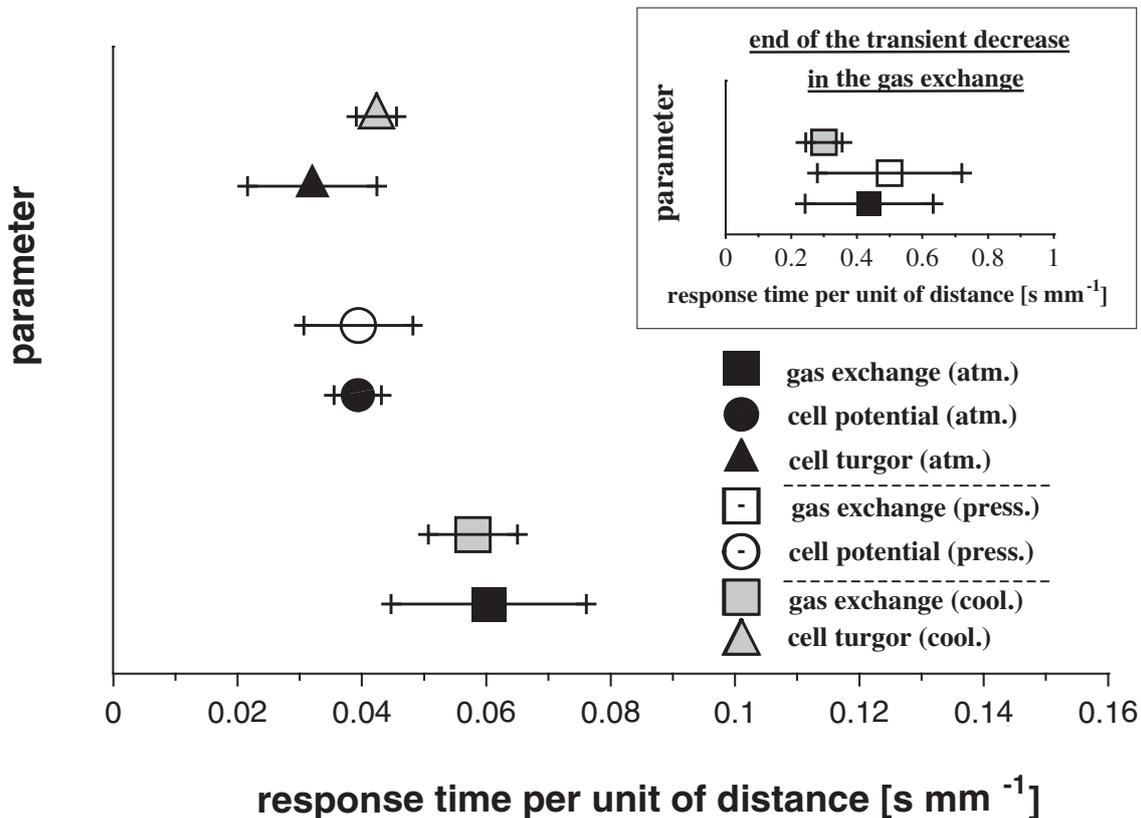


Abb. 3.19: Streckenkorigierte Reaktionszeit (= Zeitintervall zwischen dem Anstieg des Bodenwassergehaltes und dem Beginn der Reaktion im gemessenen Parameter [s] dividiert durch die Distanz zwischen der Bodenoberfläche und der Meßstelle am Blatt [mm]) der untersuchten Parametern in Abhängigkeit vom Experiment (MW \pm SD). (atm.): Bewässerung unter Atmosphärendruck (siehe 3.1.1); (press.): Bewässerung Überdruck in der Wurzeldruckkammer (siehe 3.2.1); (cool.): Bewässerung bei Kühlung des Meßblattes (siehe 3.2.2). Insert: T(d) für den Beginn des Anstiegs des Gaswechsel über das Trockenstressniveau hinaus (atm.; press.) bzw. das Ende des transienten Rückgangs im Gaswechsel nach Bewässerung unter Kühlung der Blattoberfläche (cool.).

Fig. 3.19: Response time per unit of distance (= time interval between the beginning of the increase of soil water content and the incipient response of the observed parameter [s] as divided by the distance between soil surface and measuring position on the leaf [mm]) of the observed parameters as depending on the experimental setup (mean \pm standard deviation). (atm.): Irrigation under ambient pressure (cf. 3.1.1); (press.): Irrigation under enhanced pressure in the root pressure chamber (cf. 3.2.1); (cool.): Irrigation while cooling of the leaf surface (cf. 3.2.2). Insert: Response time per unit of distance of the increase of J_{CO_2} and g_{H_2O} (atm.; press.) or the completion of the transient decrease of the gas exchange (cool.).

In Tab. 3.1 ist das Ergebnis des Signifikanztestes von T(d) nach der Wiederbewässerung zusammengefasst: Der transiente Rückgang des Gaswechsels unter Atmosphärendruck trat hochsignifikant (***) eher auf als der Anstieg von J_{CO_2} und g_{H_2O} . Des weiteren wich die Reaktionszeit des Zellpotentials hochsignifikant vom Anstieg des Gaswechsels über das Trockenstressniveau hinaus ab. Der Vergleich der übrigen streckenkorrigierten Reaktionszeiten nach der Wiederbewässerung unter Atmosphärendruck ergab keine signifikanten Abweichungen.

response time per unit of distance: response to re-irrigation	decrease of gas exchange (cool.)	increase of gas exchange (press.)	cell turgor (cool.)	cell potential (press.)	
Decrease of gas exchange (atm.)	not significant	-	-	-	
end of decrease (=increase) of gas exchange (atm.)	-	not significant	-	-	
cell turgor (atm.)	-	-	not significant	-	
cell potential (atm.)	-	-	not significant	not significant	
	increase of gas exchange (press.)	end of decrease of gas exchange (cool.)	decrease of gas exchange (atm.)	cell potential (atm.)	cell potential (press.)
increase (= end of decrease) of gas exchange (atm.)	***	*	***	***	-
increase of gas exchange (press.)	-	not significant	-	-	***
end of decrease of gas exchange (cool.)	not significant	-	-	-	-

Tab. 3.1: Signifikanztest der streckenkorrigierten Reaktionszeit nach der Wiederbewässerung innerhalb bzw. zwischen den Experimenten (*: < 0.05; **: < 0.01; ***: < 0.001).

Table 3.1: Significance levels of the time response per unit of distance between the different parameters after re-irrigation (: < 0.05; **: < 0.01; ***: < 0.001).*

Ausbreitungsgeschwindigkeit (AG) der Signale nach der Wiederbewässerung

Die Ausbreitungsgeschwindigkeit (AG = Distanz zwischen Bodenoberfläche und Meßstelle am Blatt [mm] dividiert durch das Zeitintervall zwischen dem Beginn des Anstiegs des Bodenwassergehaltes und dem Beginn der Reaktion im gemessenen Parameter [s]) des

elektrischen und hydraulischen Signals nach der Wiederbewässerung unter Atmosphärendruck und bei selektiver Kompensation eines Signals sind in Abb. 3.20 dargestellt.

Das hydraulische Signal breitete sich nach der Wiederbewässerung unter Atmosphärendruck signifikant schneller aus als das elektrische. Verglichen mit der AG nach Wiederbewässerung unter Atmosphärendruck führte die Kühlung des Messblattes zu einer signifikanten (*) Verzögerung des Turgoranstiegs. Im Gegensatz dazu trat in der Reaktion des Zellpotentials nach Bewässerung unter Überdruck keine signifikante Zeitverschiebung auf.

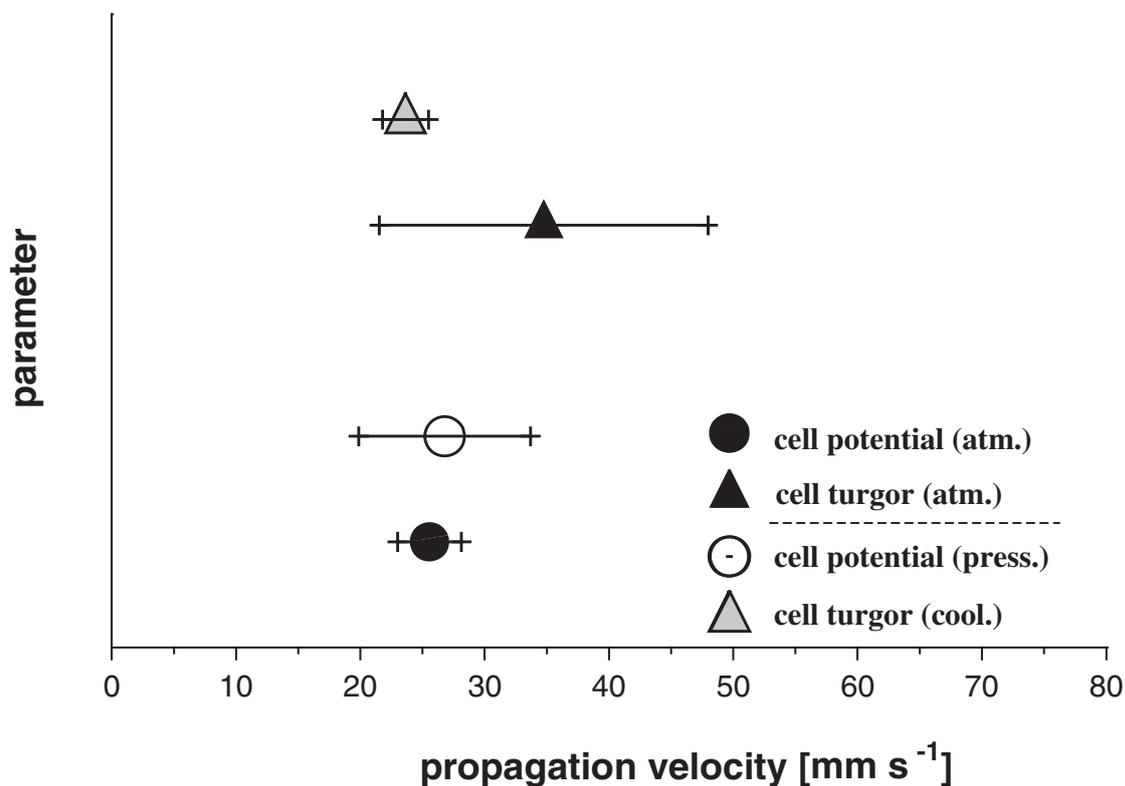


Abb. 3.20: Ausbreitungsgeschwindigkeiten (= Distanz zwischen der Bodenoberfläche und der Meßstelle am Blatt [mm] dividiert durch das Zeitintervall zwischen dem Beginn des Anstiegs des Bodenwassergehaltes und dem Beginn der Reaktion im gemessenen Parameter [s]) des elektrischen und hydraulischen Signals (MW \pm SD) in Abhängigkeit von der Versuchsvariante. (atm.): Bewässerung unter Atmosphärendruck (siehe 3.1.1); (press.): Bewässerung unter Überdruck in der Wurzeldruckkammer (siehe 3.2.1); (cool.): Bewässerung bei Kühlung des Meßblattes (siehe 3.2.2).

Fig. 3.20: Propagation velocity (= distance between soil surface and measuring position on the leaf [cm] as divided by the time interval between the beginning of the increase in soil water content and the incipient response of the observed parameter [s]) of the response in the electric and hydraulic signal (mean \pm standard deviation) as depending on the experimental setup. (atm.): Irrigation under ambient pressure (cf. 3.1.1). (press.): Irrigation under enhanced pressure in the root pressure chamber (cf. 3.2.1); (cool.): Irrigation while cooling of the leaf surface (cf. 3.2.2).

Streckenkorrigierte Reaktionszeit nach der Druckmanipulation in der Wurzeldruckkammer

In Abb. 3.21 ist die streckenkorrigierte Reaktionszeit der untersuchten Parameter infolge der Applikation und der Reduktion von Überdruck in der Wurzeldruckkammer dargestellt. Im Vergleich zur Wiederbewässerung trat die Reaktion des Gaswechsels nach der Druckmanipulation tendenziell früher auf, die Abweichung war jedoch nicht signifikant. Der Anstieg des Zellurgors erfolgte zwar tendenziell nach dem Beginn der Gaswechselreaktion, die Verzögerung war aber ebenso wie die Hyperpolarisation des Zellpotentials (Insert) nicht signifikant. Die Reaktionszeit sowohl des Zellurgors als auch des Zellpotentials nach der Druckmanipulation unterschied sich nicht signifikant von $T(d)$ der Parameter nach der Wiederbewässerung.

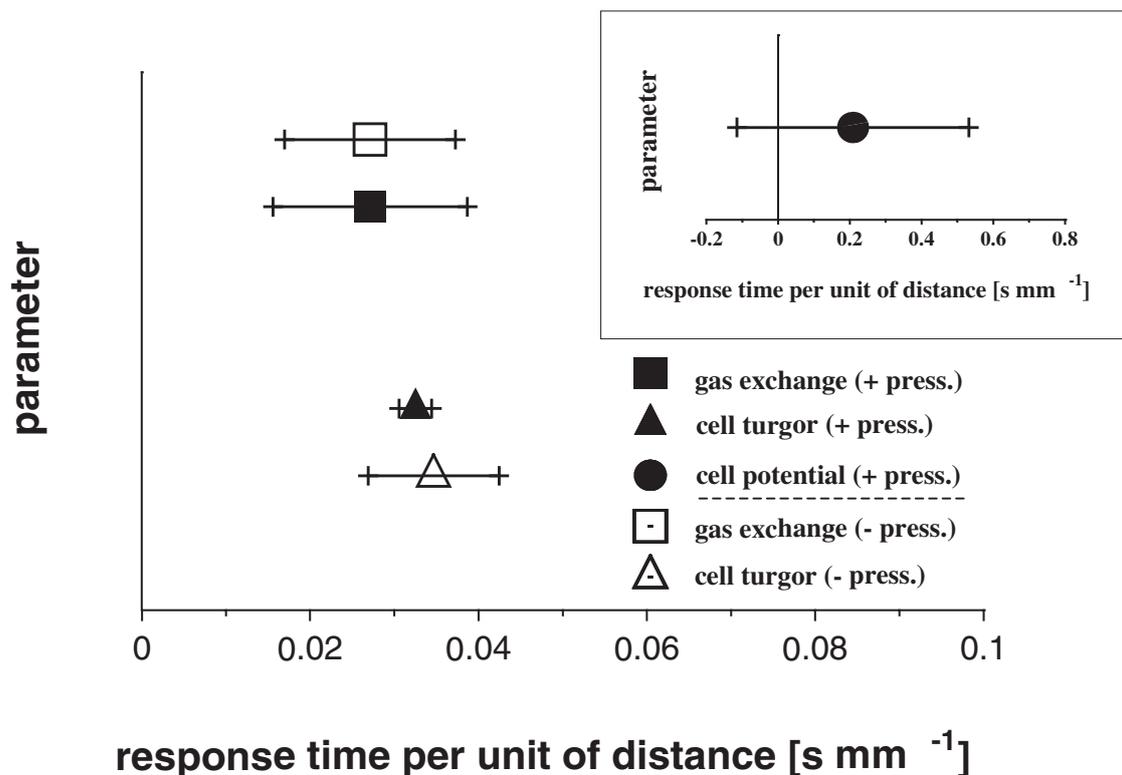


Abb. 3.21: Streckenkorrigierte Reaktionszeit (= Zeitintervall zwischen dem Beginn der Druckmanipulation in der Wurzeldruckkammer und dem Beginn der Reaktion im gemessenen Parameter [s] dividiert durch die Distanz zwischen der Bodenoberfläche und der Meßstelle am Blatt [mm]) der untersuchten Parameter (MW \pm SD) in Abhängigkeit von der Versuchsvariante. (+ press.): Applikation von Überdruck in der Wurzeldruckkammer; (- press.): Reduktion von Überdruck in der Wurzeldruckkammer (siehe 3.1.2.1).

Fig. 3.21: Response time per unit of distance (= time interval between the beginning of the pressure manipulation in the root pressure chamber and the incipient response of the observed parameter [s] as divided by the distance between soil surface and measuring position on the leaf [mm]) of the observed parameter as depending on the experimental setup (mean \pm standard deviation). (+ press.): Enhancement of pressure in the root pressure chamber; (- press.): Reduction of pressure in the root pressure chamber (cf. 3.2.1).

Ausbreitungsgeschwindigkeit der Signale nach der Druckmanipulation in der Wurzeldruckkammer

In Abb. 3.22 sind die Ausbreitungsgeschwindigkeiten des elektrischen und hydraulischen Signals infolge der Druckveränderungen in der Wurzeldruckkammer dargestellt. Im Gegensatz zu den Wiederbewässerungsversuchen breitete sich das elektrische Signal infolge der Druckapplikation in der Wurzeldruckkammer signifikant langsamer aus, in der AG des Zellurgors traten keine signifikanten Unterschiede auf.

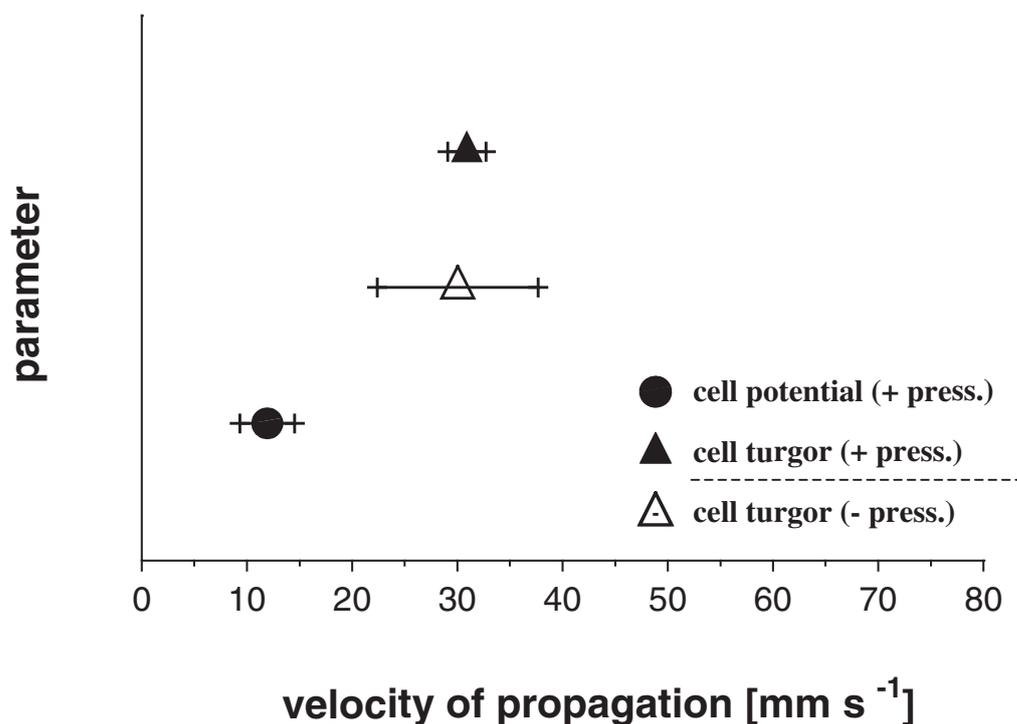


Abb. 3.22: Ausbreitungsgeschwindigkeiten (= Distanz zwischen Bodenoberfläche und Meßstelle am Blatt [cm] dividiert durch das Zeitintervall zwischen Beginn der Druckmanipulation in der Wurzeldruckkammer und Beginn der Reaktion im gemessenen Parameter [s]) des elektrischen und hydraulischen Signals (MW \pm SD). (+ press.): Applikation von Überdruck in der Wurzeldruckkammer; (- press.): Reduktion von Überdruck in der Wurzeldruckkammer (siehe 3.1.2.1).

Fig. 3.22: Propagation velocity (=distance between soil surface and measuring position on the leaf [cm] as divided by the time interval between the beginning of the pressure manipulation in the root pressure chamber and the incipient response of the observed parameter [s]) of the electric and hydraulic signal (mean \pm standard deviation). (+ press.): Enhancement of pressure in the root pressure chamber; (- press.): Reduction of pressure in the root pressure chamber (cf. 3.2.1).

3.1.4 Blattwassergehalt vor und nach Wiederbewässerung in Abhängigkeit vom Bodenwassergehalt

In Abb. 3.23 ist der relative Wassergehalt der Maisblätter (WG = FG-TG; in %) in Abhängigkeit vom Bodenwassergehalt (swc; in Gewichts-%) und der Behandlung der Pflanzen dargestellt. Der Blattwassergehalt (BWG) bei swc > 70 % wurde als 100 % gesetzt. In den oberen Blättern (Blatt 5-8) war der Blattwassergehalt infolge des erniedrigten swc bei allen drei Trockenstressvarianten hochsignifikant reduziert. Eine Stunde nach der Wiederbewässerung stieg der Blattwassergehalt in den oberen Blättern mit zunehmendem Trockenstress tendenziell an, die Zunahme war jedoch bei keiner Versuchsvariante signifikant (Abb. 3.23).

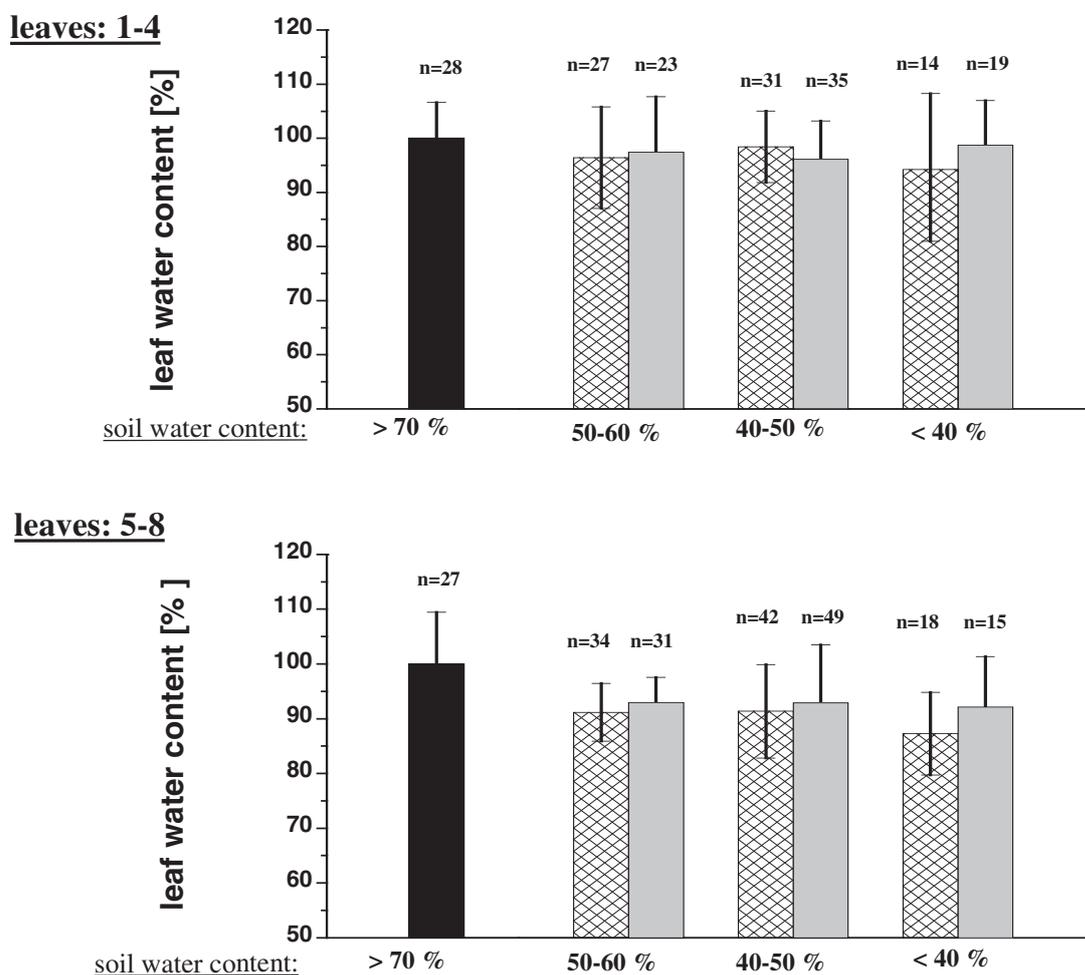


Abb. 3.23: Relativer Wassergehalt (%; MW \pm SD) der Maisblätter in Abhängigkeit vom Bodenwassergehalt (swc; in Gewichts-%) und der Behandlung der Pflanzen (■: ohne Trockenstress; ☒: unter Trockenstress; □: 1 Stunde nach Wiederbewässerung). Der Blattwassergehalt bei swc > 70 % wurde als 100 % gesetzt.

Fig. 3.23: Relative leaf water content (%; mean \pm standard deviation) of maize leaves as depending on soil water content (swc; inweight-%) and plant treatment (■: well water supplied; ☒: under drought stress; □: 1 hour after irrigation). The leaf water content at swc > 70 % was set as 100 %.

3.1.5 Veränderungen des Blattwassergehaltes nach der Wiederbewässerung: Terahertz-Messungen

Mit Hilfe der THz-Messungen wurde untersucht, ob es durch die Wiederbewässerung innerhalb der ersten Stunde zu einer Veränderung des Blattwassergehaltes kam. Die Transmission wird für zwei Frequenzbereiche dargestellt: Der Bereich 200-1500 GHz deckt nahezu das komplette gemessene Spektrum ab, die Teilfrequenz 200-500 GHz ermöglicht eine feinere Auflösung. Zeitgleich wurden mit dem Porometer Gaswechsellmessungen durchgeführt, um die Veränderung der Wasserabgabe aus dem Blatt nach der Wiederbewässerung zu überprüfen.

Reaktion der Transmission: Kreisflächenmessung

In Abb. 3.24 ist die Transmission einer Kreisflächenmessung (\equiv Messung des Blattwassergehaltes auf einer Fläche von ca. 10 mm²; Messintervall: 2.5 s; vgl. Abb. 2.9A) dargestellt: die Transmission streute sowohl vor als auch nach der Wiederbewässerung um max. 0.15 Einheiten. Innerhalb der ersten 5400 s (\equiv 1.5 h) trat keine Veränderung der Transmission (und damit des Blattwassergehaltes) auf (n = 6).

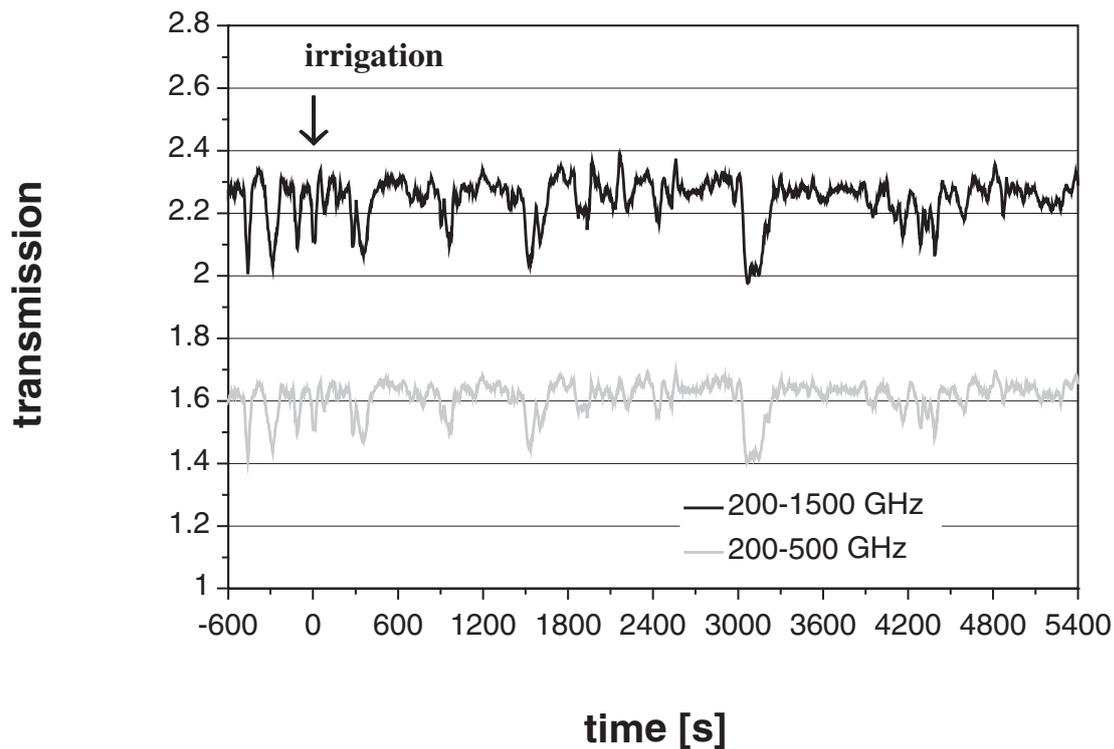


Abb. 3.24: Reaktion der Transmission auf einer Kreisfläche von ca. 10 mm² (Messintervall: 2.5 s/ Messung) seitlich auf der Blattspreite (vgl. Abb. 2.7A) einer trockengestressten Maispflanze bei Wiederbewässerung. Der Pfeil markiert die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt t=0.

Fig. 3.24: *Response of the transmission as measured within a circle area of about 10 mm² (measurement period: 2.3 s) outside the leaf center (cf. Fig. 2.7A) to irrigation of a drought-stressed maize plant. The arrow denotes the instant of irrigation at time zero.*

Reaktion des Gaswechsels

Die zuvor beschriebene Reaktion im Gaswechsel nach der Wiederbewässerung unter Atmosphärendruck (siehe 3.1.1) konnte auch bei der geringen Beleuchtungsintensität (PPFD: $\sim 180 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) während der THz-Messungen beobachtet werden. In der Gaswechselmessung ($n = 5$), die zeitgleich zur THz-Messung an einem anderen Blatt derselben Pflanze durchgeführt wurde, stieg die Netto-Photosyntheserate und, insbesondere, die stomatäre Leitfähigkeit an (Abb. 3.25). Der transiente Rückgang von J_{CO_2} und $g_{\text{H}_2\text{O}}$ konnte bei vielen Porometermessungen nicht oder abgeschwächt nur in der stomatären Leitfähigkeit dokumentiert werden.

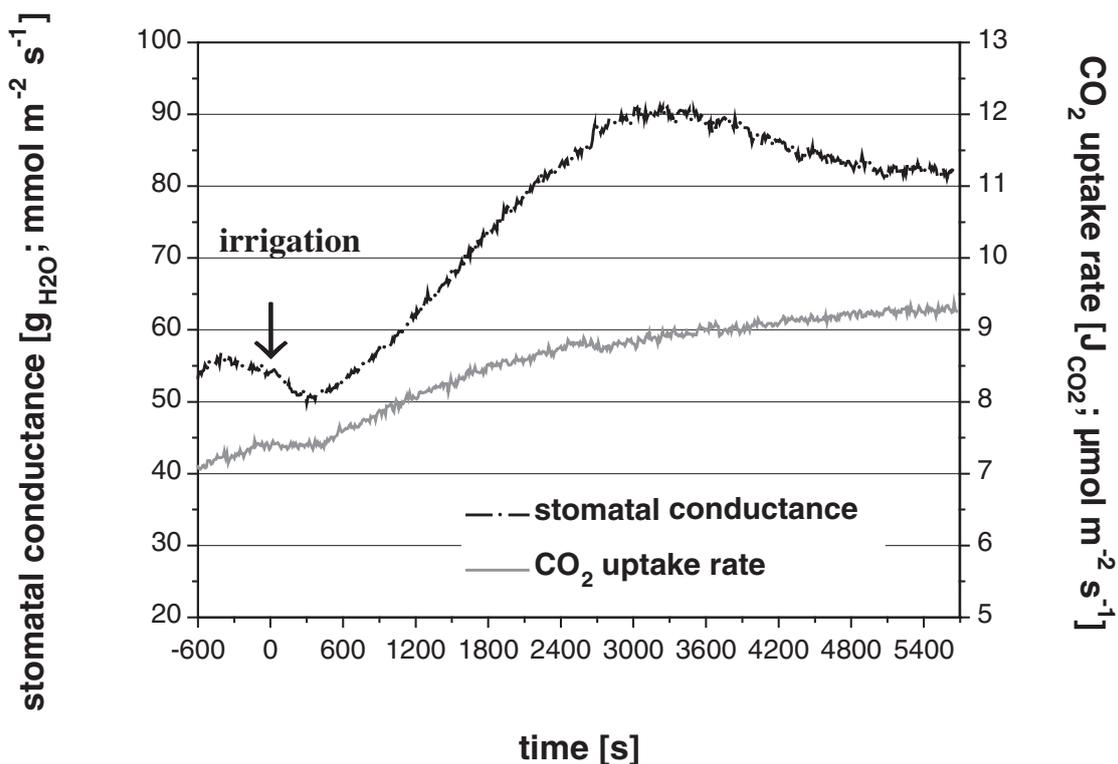


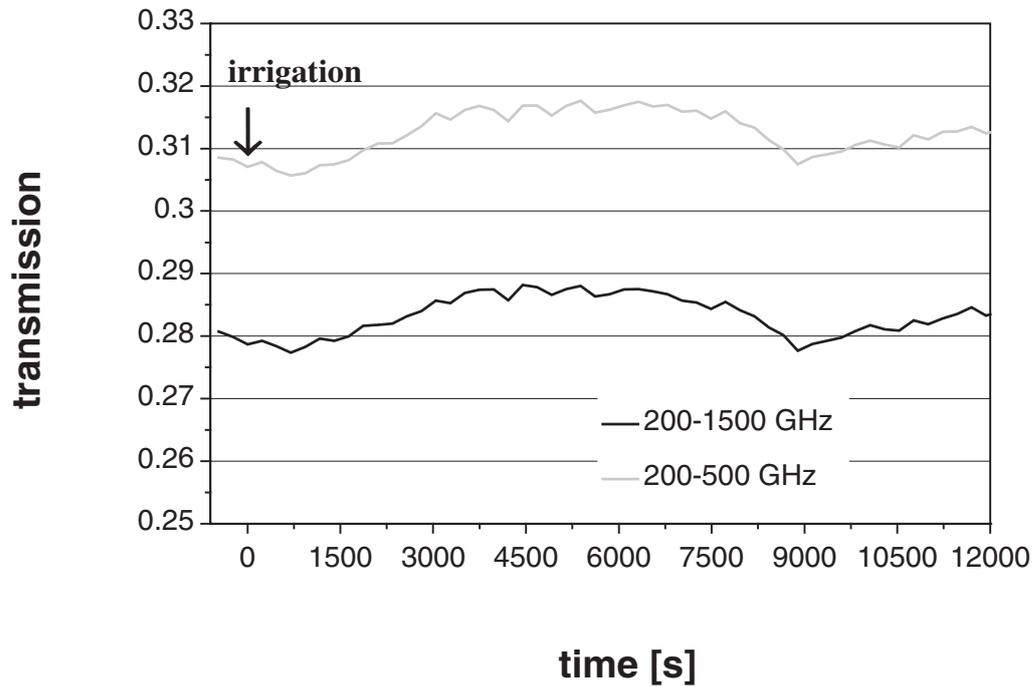
Abb. 3.25: Repräsentative Reaktion der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit (g_{H_2O} ; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung. Der Pfeil markiert die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$. PPFD: $\sim 180 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Fig. 3.25: Representative response of the net CO_2 uptake rate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and the stomatal conductance (g_{H_2O} ; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of a drought-stressed maize plant to irrigation. The arrow denotes the instant of irrigation at time zero. PPFD: $\sim 180 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

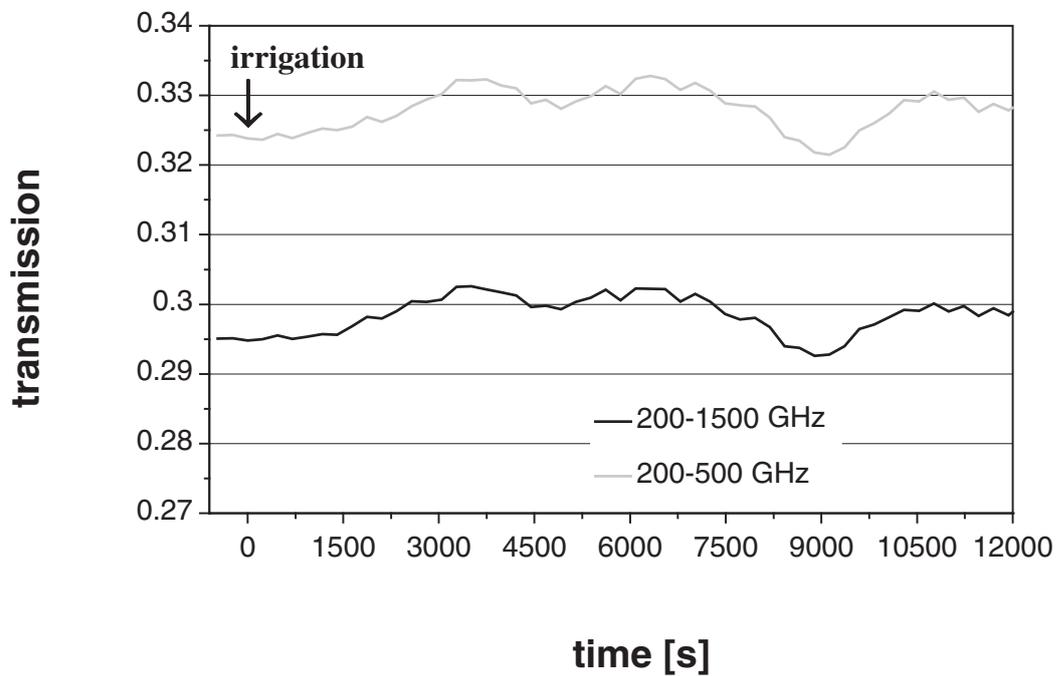
Reaktion der Transmission: Scan-Messung

Aus der Scan-Messung ($n = 3$; Messintervall: 230s) wurde die Transmission an den drei Messpunkten (nahe am Rand [E], mittig zwischen Mittelrippe und Blattrand [M], nahe der Mittelrippe [I]; vgl. Abb. 2.9B) berechnet. Infolge der Wiederbewässerung war in der Transmission nach 1200-1800 s ein geringer Anstieg zu erkennen, der nach ca. 8000 s ($2 \frac{1}{4}$ h) wieder zurück ging (Abb. 3.26). Die Veränderung der Transmission betrug maximal 0.01 Einheiten und lag damit im Bereich der Streuung der Punktmessung (Abb. 3.24).

A) measurement near the central vein [I]



B) measurement between the central vein and the edge of the leaf [M]



C) measurement near the leaf edge [E]

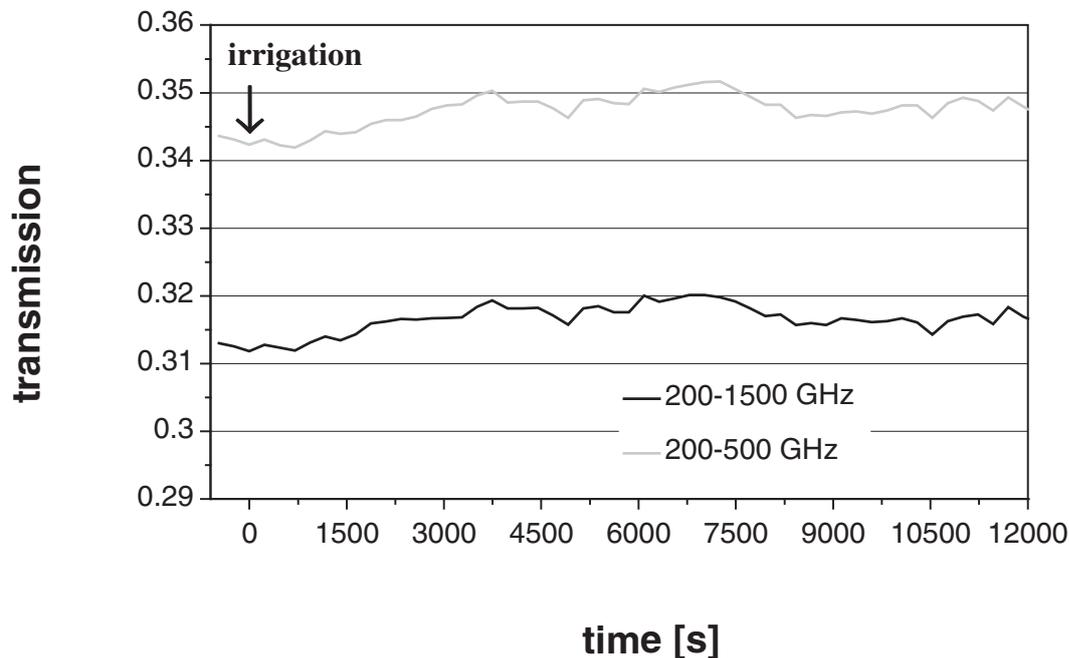


Abb. 3.26: Reaktion der Transmission an drei Messpunkten (I, M, E; Mittelwerte aus $n = 5$; Messintervall: 230 s/ Scan) in der Blattspreite (vgl. Abb. 2.7B) einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung. Die Pfeile markieren die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 3.26: Response of the transmission measured at three positions (I, M, E; mean: $n = 5$; interval of measurement: 230 s/ scan) on the leaf lamina (cf. Fig. 2.7B) of a drought-stressed maize plant to irrigation. Arrows denote the instant of irrigation at time zero.

Reaktion des Gaswechsels

In der zeitgleich zur THz-Messung an einem Nachbarblatt durchgeführten Gaswechsellmessung konnte nach der Wiederbewässerung selbst bei der sehr geringen Lichtintensität (PPFD: $\sim 60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ein deutlicher Anstieg in der Netto-Photosyntheserate und in der stomatären Leitfähigkeit gemessen werden ($n = 3$). Das transiente Absinken von J_{CO_2} und $g_{\text{H}_2\text{O}}$ trat jedoch nicht auf.

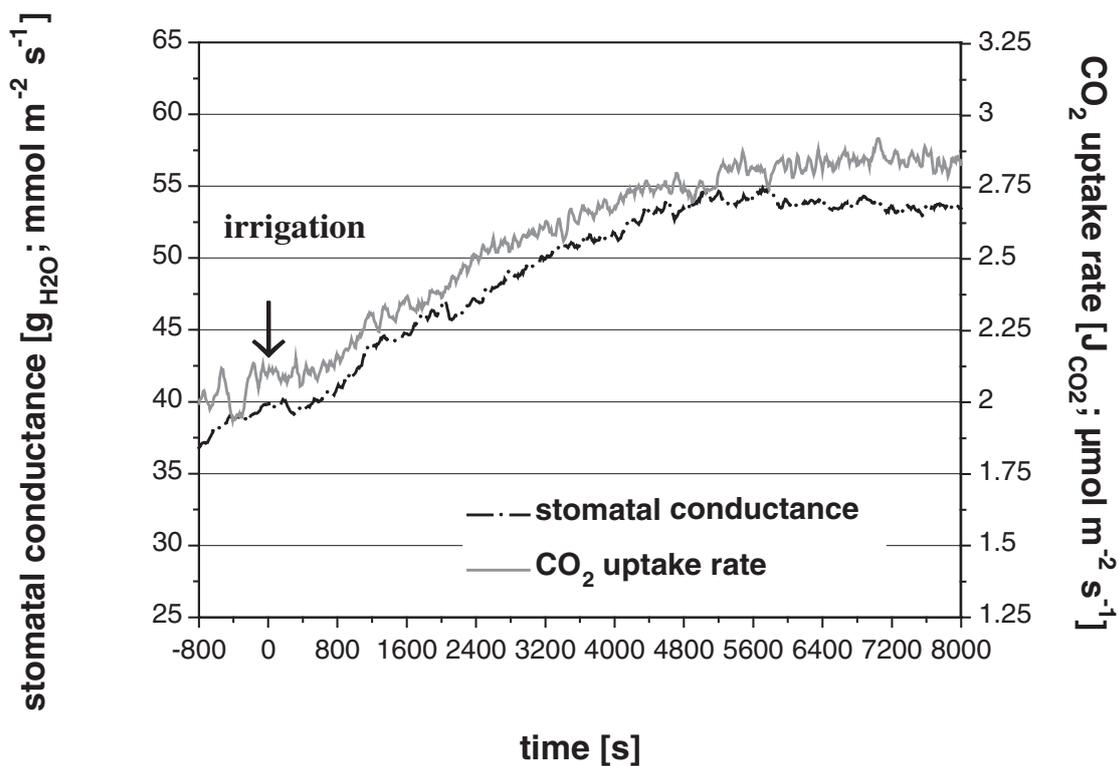


Abb. 3.27: Repräsentative Reaktion der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit ($g_{\text{H}_2\text{O}}$; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung. Der Pfeil markiert die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$. PPFD: $\sim 60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Fig. 3.27: Representative response of the net CO_2 uptake rate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and the stomatal conductance ($g_{\text{H}_2\text{O}}$; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of a drought-stressed maize plant to irrigation. The arrow denotes the instant of irrigation at time zero. PPFD: $\sim 60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

In den THz-Messungen trat bei den Scan-Messungen nach der Wiederbewässerung keine Veränderung in der Transmission auf, die über den Streubereich der Punktmessung hinausging. Auch die destruktive Bestimmung des Blattwassergehaltes ergab in den oberen Blättern keinen signifikanten Anstieg des Wassergehaltes nach der Wiederbewässerung. Im Gegensatz dazu wurde in den Gaswechsellmessungen durch den Anstieg von J_{CO_2} und $g_{\text{H}_2\text{O}}$ ein erhöhter Wasserverlust des Blattes nach der Wiederbewässerung dokumentiert. Das deutet darauf hin, daß nach der Wiederbewässerung das Verhältnis zwischen dem zusätzlichen Wassereinstrom ins Blatt einerseits, und der erhöhten Abgabe von Wasser durch den Anstieg des Transpirationsrate andererseits, nahezu ausgeglichen war.

3.2 Diskussion

Austrocknungsphase

Mit zunehmender Austrocknung des Bodens (swc: 40-50 %) trat ein Rückgang im Gaswechsel auf, wobei die stomatäre Leitfähigkeit stärker als die Netto-Photosyntheserate abnahm. Die erhöhte Sensibilität von g_{H_2O} gegenüber Trockenstress beobachtete auch Schurr (1991) an *Ricinus communis* L.: Erst ab einem Rückgang der stomatären Leitfähigkeit um mehr als 35 % begann auch die Assimilationsrate abzusinken. Die primäre Bedeutung des Bodenwassergehalts für die Stomataregulation wurde sowohl in Untersuchungen an Mais (Blackman & Davies 1985; Davies & Mansfield 1989) als auch an Sonnenblume (Turner et al. 1985) nachgewiesen: Unabhängig vom Blattwasserpotential nahm die Öffnungsweite der Stomata bei zunehmendem Trockenstress ab. Auch durch die Applikation von Überdruck an der Wurzel trockengestresster Weizen- und Sonnenblumenpflanzen, die den Turgorverlust der Blätter verhinderte, konnte das Schließen der Stomata nicht unterbunden werden (Gollan et al., 1986).

In zahlreichen Untersuchungen wurde darüberhinaus die Bedeutung von Abscisinsäure auf die Öffnungsweite der Stomata unter Trockenstress beschrieben: In ungestressten Pflanzen sammelt sich ABA in protonierter Form (ABA-H) in den alkalischen Zellbereichen wie den Chloroplasten an, und wird dort zum Teil dissoziiert (Zeevart & Creelman 1988). Dadurch geht die Membranpermeabilität des ABA-Moleküls verloren und eine Interaktion mit den apoplastischen Rezeptoren der Schließzellen wird unterbunden. Infolge von Trockenstress kommt es zu biochemischen Reaktionen in der Pflanze: Im Xylemsaft wurde ein Anstieg des schwach sauren pH-Wertes um zum Teil mehr als eine Einheit (Wilkinson 1999; Felle & Hanstein 2002), eine Erhöhung der Abscisinsäure-Konzentration (Zhang & Davies 1990; Davies & Zhang 1991) sowie eine Verschiebung der Ionenkonzentration zugunsten der Kationen dokumentiert (Hartung & Radin 1989; Gerendas & Schurr 1999). Die Alkalisierung des apoplastischen pH-Wertes wurde auch im Blatt nachgewiesen und führte zu einer Freisetzung von ABA aus den Epidermis- (EZ) und Mesophyllzellen (MZ) (Wilkinson 1999). Die Anreicherung von ABA im Apoplasten ist primär die Folge einer Umverteilung der im Blatt vorhandenen ABA als einer Erhöhung der ABA-Konzentration durch Neusynthese (vgl. Zhang & Davies 1990). Infolge dessen kommt es zu einer Depolarisation der Schließzellemembran, die durch die Aktivierung der auswärts gerichteten Kaliumkanäle den Efflux von K^+ -Ionen aus den Schließzellen (SZ), und damit den Rückgang der stomatären Öffnungsweite, hervorruft.

3.2.1 Einfluß des hydraulischen Signals auf die Reaktion des Gaswechsels

Die Regulation der Öffnungsweite der Stomata erfolgt über Turgorveränderungen der Schließzellen: mit sinkendem Turgor in den SZ verengt sich die Spaltöffnung und der Austausch von CO₂ und H₂O mit der Umgebungsluft des Blattes wird reduziert. Die Stomata von *Zea mays* bestehen aus zwei hantelförmigen Schließzellen und den zwei angrenzenden Nebenzellen (NZ), die als Ionenreservoir für die SZ fungieren. Im Gegensatz zu den Epidermis- und Mesophyllzellen sind ausdifferenzierte Schließzellen nicht über Plasmodesmen mit dem angrenzenden Blattgewebe verbunden (Wille & Lucas 1984; Willmer & Fricker, 1996). Die Öffnungsweite der Stomata im intakten Blatt wird sowohl vom Turgor der SZ als auch vom Gegendruck der Epidermis beeinflusst, wie MacRobbie (1988) in vergleichenden Versuchen von Stomatabewegungen isolierter und in intakter Epidermis eingebundener Stomata belegen konnte.

Reaktion auf die Wiederbewässerung (Abb. 3.28, Pfad ①)

Die nach der Wiederbewässerung gemessenen hydraulischen und elektrischen Signale führten zu einer charakteristischen, zweiphasigen Reaktion im Gaswechsel: J_{CO_2} und g_{H_2O} gingen zunächst parallel zurück, gefolgt von einem deutlichen Anstieg über das Trockenstressniveau hinaus. Das Absinken des Gaswechsels ist durch eine hydropassive Stomatabewegung erklärbar (Raschke 1970a): die Turgorzunahme der Epidermiszellen führte zu einem erhöhten Gewebedruck der Epidermis und drückte die Spaltöffnung passiv zusammen. Dieses Phänomen einer transienten, passiven Reaktion des Gaswechsels wurde bereits 1928 von Iwanoff beschrieben ("Iwanoff-Effekt"; Iwanoff 1928): Durch das Abtrennen erhöhte sich die Transpirationsrate separierter Blätter vorübergehend, bevor es zu einem Absinken infolge der unterbrochenen Wasserzufuhr im Xylem kam. Im Gegensatz zum Turgor der SZ, der durch die Akkumulation von Ionen (K⁺) reguliert wird (Raschke & Fellows 1971; Penny & Bowling 1974), besteht zwischen den Zellen der umliegenden Gewebe eine direkte Verbindung über Plasmodesmen (Srivastava & Singh 1972), so daß eine schnelle symplastische Aufnahme von Wasser und Ionen in die Epidermiszellen möglich ist.

Die hydropassive Stomatareaktion trat nach Wiederbewässerung tendenziell später auf als infolge von Druckveränderungen in der Wurzeldruckkammer (vgl. Abb. 3.2; 3.6). Untersuchungen an der Mittelrippe von abgetrennten Maisblättern kamen zu dem Ergebnis, daß die Wasserdiffusion durch das Blattgewebe infolge von Druckapplikation deutlich schneller erfolgt als nach Rehydratation (Westgate & Steudle 1985). Messungen mit der Zelldrucksonde in verschiedenen Gewebebereichen unterstützten die Vermutung, daß unterschiedliche

Transportwege im Blatt die Ausbreitungsgeschwindigkeit des Wassers bedingen: Während der Wasserfluß nach Rehydration vermutlich primär symplastisch verläuft, scheint infolge der Druckapplikation ein apoplastischer Wassertransport dominant zu sein.

Nach der Wiederbewässerung wurde das hydraulische Signal vermutlich über das Xylem propagiert. Dort kam es zu einer Veränderung der Saugspannung, die sich von der Wurzel bis ins Blatt ausbreitete und als Turgoranstieg in den Epidermiszellen meßbar war. Die Wasseraufnahme in die Wurzel, gefolgt von einem erhöhten Wassereinstrom in die Gefäße, verursachte eine Druckwelle im Xylem. Die Zunahme des Turgors durch den Einstrom von Wasser in die Vakuolen der EZ läßt sich durch eine erhöhte Wasserabgabe aus den Xylemgefäßen des Blattes erklären. Der schnelle Anstieg des Wassertransportes im Xylem wurde auch nach der Wiederbewässerung trockengestresster Buchen dokumentiert (Cermak et al. 1993). Das Auftreten von Guttation bei einigen Bewässerungsversuchen unter Überdruck sowie der stark abgeschwächte Rückgang des Gaswechsels bei unzureichendem Kompensationsdruck stützen die Hypothese, daß nach der Wiederbewässerung eine Druckwelle im Xylem Auslöser des hydraulischen Signals und der daraus resultierenden hydropassiven Stomatareaktion war.

Die direkte Korrelation zwischen Xylemdruck und Zellturgor an intakten Maispflanzen wurde bei der Applikation und Reduktion von Überdruck in der Wurzeldruckkammer bestätigt. Wei et al. (1999) konnten bei Messungen in den Blattxylemgefäßen großer Maispflanzen zeigen, daß die Veränderung des Xylemdruckes proportional zum angelegten Druck in der Wurzeldruckkammer auftrat. Sobald in den Xylemgefäßen Atmosphärendruck überschritten wurde, erfolgte bei weiterer Druckapplikation nur ein geringfügiger, weiterer Turgoranstieg und es trat Guttation auf.

Überdruck in der Wurzeldruckkammer

Durch die Applikation von Überdruck in der Wurzeldruckkammer wurde das Luft-Gas-Gemisch im Boden sowie in der Wurzel in gleichem Maß zusammengepresst. Es wird angenommen, daß die Druck-Volumen-Relation der Wurzel sowie der relative Wassergehalt des Wurzelgewebes konstant bleiben. Im Sproß oberhalb der Druckkammer ist der Wasserdruck im Verhältnis zum Atmosphärendruck der Umgebungsluft erhöht, wodurch ein Anstieg im Zellturgor, im relativen Blattwassergehalt und im Wasserpotential entsteht (Comstock 2002).

Auch in der vorliegenden Untersuchung wurde der Bodenwassergehalt von den Druckmanipulationen nicht beeinflusst (vgl. Abb. 3.7, 3.10). Die Auswirkung von Druckapplikationen auf den Gaswechsel wurde auch an abgeschnittenen Maisblättern beschrieben

(Raschke 1970b): die Applikation von Unterdruck rief einen transienten Anstieg der Transpiration hervor, die Druckerhöhung auf Atmosphärenniveau führte zur entgegengesetzten Reaktion. Auch in "split-root" Versuchen mit Pfefferpflanzen (Yao et al. 2001) konnte gezeigt werden, daß die infolge von Trockenstress aufgetretene Abnahme sowohl des Blattwasserpotentials als auch der stomatären Leitfähigkeit durch die Applikation von Überdruck an der Wurzel kompensiert werden konnte.

Die bei Mais beschriebene Reaktion des Gaswechsels auf Druckmanipulation an der Wurzel beruht vermutlich primär auf einem Druckausgleich zwischen den Stomata und der umgebenden Epidermis (siehe 3.2.2) und unterstützt die Hypothese, daß die Öffnungsweite der Stomata auch passiv durch hydraulische Prozesse beeinflusst wird.

Kühlung des Messblattes

Das hydraulische Signal wurde durch die Kühlung des Meßblattes zur Kompensation des elektrischen Signals nicht beeinträchtigt, die Intensität der hydropassiven Stomatabewegung war jedoch gedämpft. Eine mögliche Ursache für die abgeschwächte Reaktion in g_{H_2O} und J_{CO_2} könnten saisonale Einflüsse auf die Physiologie der Pflanzen sein, da die Messungen im Herbst/ Winter durchgeführt wurden.

Da es keine Untersuchungen über den Einfluß von partiellen Kühlungen auf die Transportprozesse an Membranen intakter Gewebe gibt, kann über eine mögliche Interaktion zwischen der Gaswechselreaktion und der Blattkühlung nur spekuliert werden: Die Dämpfung der Stomatareaktion könnte durch die Kühlung des Xylemwassers verursacht worden sein. Durch die Druckwelle erhöhte sich die Fließgeschwindigkeit des Xylemwassers, so daß das abgekühlte Wasser aus dem Bereich der Kühlung schneller in die angrenzenden, ungekühlten Xylemgefäße weitergeleitet wurde. Der Weitertransport des Wassers in die Epidermis könnte, aufgrund der Temperatursensibilität von Membrantransportsystemen, durch die erniedrigte Wassertemperatur beeinträchtigt worden sein (siehe unten).

Veränderungen des Blattwassergehaltes

Analog zu den Ergebnissen von Beardsell & Cohen (1975), sank auch in der vorliegenden Untersuchung mit zunehmendem Trockenstress der Blattwassergehalt (um ca. 10 %) im Vergleich zum Gaswechsel (um 40-50 %) nur wenig ab. Der starke Rückgang des Zellturgors in der Epidermis deutet auf eine primäre Umverteilung des vorhandenen Wassers im Blatt bei beginnendem Trockenstress hin. Die Umverteilung von Wasser zwischen verschiedenen Geweben wurde auch von Matyssek et al. (1991b, c) an Sojabohne beschrieben. Die Autoren konnten zeigen, daß sich bei reduzierter Wasserversorgung der Wasserpotentialgradient

zwischen ausdifferenziertem Gewebe und der Wachstumszone veränderte und dadurch ein Wassertransport aus dem älteren in das sich entwickelnde Gewebe erfolgte.

Im Gegensatz zur beschriebenen Konstanz des Wassergehaltes der Maisblätter nach der Wiederbewässerung, die auch in den Terahertz-Messungen dokumentiert wurde, konnten Dörffling et al. (1977) zeigen, daß sich der reduzierte Blattwassergehalt separierter, trocken-gestresster Erbsen- und Bohnenblätter innerhalb der ersten Stunde nach der Wiederbewässerung fast komplett regenerierte. In der stomatären Öffnungsweite wurde in diesem Zeitraum jedoch keine Veränderung dokumentiert.

Die Ergebnisse machen deutlich, daß in intakten Maispflanzen die Regulation der Stomata, unabhängig vom Blattwassergehalt, durch nicht-chemische Signale von der Wurzel erfolgte, während in separierten Blättern nach Literaturangaben der Wassergehalt eine wesentlich höhere Steuerungsfunktion für die Öffnungsweite der Stomata hat.

3.2.2 Einfluß des elektrischen Signals auf den Gaswechsel

Die Öffnungsweite der Stomata wird durch den Turgor der Schließzellen reguliert. Durch die Ionenakkumulation ist der Turgor der Schließzellen im Vergleich zu EZ, MZ und NZ stark erhöht (Zimmermann et al., 1980; Franks et al., 1998). Kalium (K^+) fungiert als Hauptosmotikum zur Turgorsteuerung der SZ, während Chlorid (Cl^-) als wichtiges Anion zum Ausgleich der elektrischen Ladung dient. Die Cl^- -Konzentration in den Stomata ist bei den meisten Pflanzenarten deutlich niedriger als die des K^+ , so daß auch organische Säuren wie Malat in den SZ zum Ladungsausgleich dienen (Travis & Mansfield 1977; Van Kirk & Raschke 1979). Aufgrund der symplastischen Isolierung sind die Schließzellen auf die aktive Aufnahme von Ionen und Wasser zur Öffnung der Stomata und zum Druckausgleich mit dem umliegenden Gewebe angewiesen. Die Nebenzellen fungieren als Hauptionenspeicher für die Schließzellen: Im Dunkeln ist die K^+ -Konzentration in den NZ deutlich erhöht, in den SZ dagegen gering. Bei geöffneten Stomata im Licht tritt eine starke Ionenakkumulation in den SZ auf, begleitet von einem deutlichen Rückgang der Ionenkonzentration in den NZ (Vavasseur et al., 1984).

Mit Hilfe der Patch-Clamp-Technik wurden in der Plasmamembran von Schließzellprotoplasten zahlreiche, zum Teil sehr selektive Ionenkanäle nachgewiesen, deren (De-)Aktivierung eine feinregulierte Anpassung der Stomata an wechselnde Umgebungsbedingungen ermöglicht. Als bedeutend für den Transport von K^+ -Ionen durch das Plasmalemma der SZ sind in verschiedenen Pflanzenarten zwei Typen von Kaliumkanälen nachgewiesen worden.

Zur Aufnahme von Kalium in die SZ sind die einwärtsgerichteten Kaliumkanäle (K_{in} -Kanäle) von Bedeutung, während der Efflux durch die K_{out} -Kanäle erfolgt. Die Aktivierung dieser Kanäle ist pH- und spannungsabhängig: Die K_{in} -Kanäle öffnen sich bei sinkendem apoplastischen pH-Wert und bei Hyperpolarisation des Cytosols, die K_{out} -Kanäle unter entgegengesetzten Bedingungen (Grabov & Blatt 1998; Fairley-Grenot & Assmann 1992, 1993). Ilan et al. (1994) konnten an SZ-Protoplasten von *Vicia faba* L. zeigen, daß durch Depolarisation bis zu 500 K_{out} -Kanäle je Protoplast aktiviert werden.

Über die Generierung und Propagation elektrischer Signale in höheren, nicht-sensitiven Pflanzen und ihres Einflusses auf den Transport von Ionen über das Plasmalemma im intakten Gewebe ist wenig bekannt. Vor dem Hintergrund dokumentierter Ionenflüsse zwischen den Stomata und den Epidermiszellen einerseits und den Aktivierungsmechanismen der Ionenkanäle im Plasmalemma der SZ andererseits, wird die Transmission des elektrischen Signals nach der Wiederbewässerung im Zusammenhang mit der Öffnung der Stomata diskutiert.

Reaktion auf die Wiederbewässerung (Abb. 3.28, Pfad ②)

Mit zunehmendem Trockenstress ging der Zellturgor in der Epidermis der Maisblätter stark zurück, so daß der Rückgang des Gaswechsels auf eine aktive Reaktion der Stomata, d.h. auf den Efflux von Ionen und Wasser aus den SZ, zurückzuführen ist. Die Kompensationsversuche belegen die Kopplung des elektrischen Signals nach der Wiederbewässerung mit dem Anstieg des Gaswechsels. Im Gegensatz zu den Messungen an Mimose (siehe 4.2) hatte das elektrische Signal jedoch keinen direkten Einfluß auf die Chlorophyll-Fluoreszenz, so daß die Zunahme des Gaswechsels nach Wiederbewässerung an Mais auf eine Stomataöffnung zurückzuführen ist.

Die Depolarisierung des Membranpotentials in der Epidermis ist Teil der Signaltransduktion von der Wurzel zu den Stomata im Blatt. Die Trennbarkeit der beiden Signale deutete auf eine separate Propagation des elektrischen Signals außerhalb des Xylems hin. Fromm & Fei (1998) konnten zeigen, daß nach der Wiederbewässerung trockengestresster Maispflanzen sowohl auf der Blattepidermis als auch im Phloem ein Aktionspotential mit einer Amplitude von + 50 mV auftrat. Auch elektrische Reizung löste in den Blättern von Mais Aktionspotentiale aus, die über das Phloem propagiert wurden (Fromm & Bauer 1994). Die Berechnungen von Schurr (1991) an *Ricinus communis* zeigen, daß die Druckdifferenz im Phloem zwischen Blatt und Wurzel, und damit der Transport von Assimilaten und Ionen in den Siebröhren, durch die Applikation von Überdruck an der Wurzel nicht beeinträchtigt

wird. Auch in der vorliegenden Untersuchung war die Ausbreitungsgeschwindigkeit und die Intensität des elektrischen Signals in den Bewässerungsversuchen unter Überdruck in der Wurzeldruckkammer nicht beeinträchtigt. Dies legt die Vermutung nah, daß das elektrische Signal nach der Wiederbewässerung im Phloem propagiert wurde.

Die Depolarisation in den Epidermiszellen erscheint zunächst gegensätzlich zur beobachteten Stomataöffnung, da die für die Kaliumaufnahme wichtigen K_{in} -Kanäle der Schließzellen durch Hyperpolarisation aktiviert werden. Wilhelm et al. (2000) konnten im Plasmalemma von Nebenzellen an Mais einen einwärtsgerichteten K^+ -Kanal nachweisen, der vergleichbare Eigenschaften aufweist wie die K_{in} -Kanäle der SZ. Das unterstützt die Hypothese, daß ein elektrisches Signal zur Beeinflussung der Stomata innerhalb der Epidermis unterschiedlich umgesetzt werden muss, um einen Iontentransfer zwischen den Nebenzellen (und/ oder den Epidermiszellen) und den SZ zur Bewegung der Stomata zu ermöglichen.

Die hohen Ionenkonzentrationen in den SZ bei geöffneten Stomata legen die Vermutung nahe, daß nicht nur die NZ sondern auch an die Stomata angrenzende Blattgewebe als Ionenreservoir fungieren. In der Epidermis von *Commelina communis* L. konnte bei der Bewegung der Stomata ein deutlicher Iontentransport über die NZ hinaus beobachtet werden (Penny & Bowling 1974; Penny et al., 1976; MacRobbie & Lettau 1980). Auch Versuche an Blättern von Mais deuten darauf hin, daß die Epidermiszellen als Ionenreservoir für die SZ fungieren: Raschke & Fellows (1971) konnten durch die Markierung mit Kalium-Kobaltnitrit zeigen, daß in den EZ, die an die Enden der SZ angrenzen, im Dunkeln höhere Kaliumkonzentrationen auftraten als im Licht. Laseve et al. (1987) beobachteten, daß sich, trotz der Akkumulation von Kalium in den SZ im Licht, der Kaliumgehalt in den Nebenzellen nur gering veränderte. Auch die Ergebnisse von Phallaghy (1971), daß die K^+ -Konzentration der SZ im Licht die Gesamtmenge des im Dunkeln in den SZ und den NZ gespeicherten K^+ deutlich übersteigt, sind ein Indikator dafür, daß ein Kaliumfluß aus angrenzenden Epidermiszellen in die Bewegung der Spaltöffnung involviert ist.

Messungen der apoplastischen Kalium- und Protonenkonzentration an *Commelina communis* L. und *Vicia faba* L. ergaben, daß im Verlauf der primären Stomataöffnung im Licht der Transport von H^+ -Ionen entscheidend ist: Beginnend mit der Abgabe von Protonen aus den SZ in den Apoplasten kommt es zur Hyperpolarisierung des SZ-Cytosols und damit zur Aktivierung der K_{in} -Kanäle. Die Versauerung des Apoplasten-pHs führt zur Freisetzung von Kalium im Apoplasten der Epidermiszellen. Ob die K^+ -Ionen aus den EZ freigesetzt oder ob sie im Austausch gegen H^+ -Ionen von der Zellwand der EZ abgegeben wurden, ist unklar. Es konnte jedoch gezeigt werden, daß der abnehmende pH-Wert des Apoplasten im Bereich

der Epidermiszellen für die Erhöhung der apoplastischen K^+ -Konzentration entscheidend ist (Edwards et al., 1988; Bowling & Smith 1990; Mühlhng & Läubli 2000).

Basierend auf den obigen Ergebnissen kann die Translation des elektrischen Signals im Blatt nach der Wiederbewässerung wie folgt erklärt werden: Durch das elektrische Signal kam es vermutlich zur Freisetzung von Ionen (K^+ ; Cl^-) und in geringem Umfang auch Assimilaten (Fromm & Bauer 1994) aus dem Phloem, die unter Energieaufwand wieder in die Siebzellen zurücktransportiert wurden. Die für den Ionentransfer nötige Energie könnte durch die verstärkte Aktivierung von Protonenpumpen zur Verfügung gestellt worden sein, so daß es zu einem Anstieg der H^+ -Konzentration im Apoplasten kam. Die Versauerung des apoplastischen pH-Wertes führte einerseits zu einer Aufnahme von H^+ -Ionen in die Epidermiszellen, resultierend in der Depolarisation des Zellpotentials. Dadurch kam es zur Aktivierung der K_{out} -Kanäle und dem Efflux von Kalium aus den EZ in den Apoplasten. Des weiteren führte der Anstieg der H^+ -Konzentration im Apoplasten zur Aktivierung der K_{in} -Kanäle der Schließzellen, so daß das aus den EZ freigesetzte Kalium in die SZ aufgenommen werden konnte. Durch die erhöhte Kaliumkonzentration stieg der Turgor der SZ an und verursachte, durch die Öffnung der Stomata, den Anstieg des Gaswechsels.

Die verzögerte Zunahme des Gaswechsels nach der Wiederbewässerung trockengestresster Maispflanzen wurde auch von Fromm & Fei (1998) beschrieben. Die Repolarisation des auf der Blattoberfläche gemessenen Aktionspotentials (+ 50 mV) führte zu einer starken Hyperpolarisation, die zeitgleich zum Anstieg von J_{CO_2} und g_{H_2O} auftrat. Diese Beobachtung unterstützt die Vermutung, daß es nach der Wiederbewässerung zu einer Anreicherung von positiven Ladungsträgern (H^+ , K^+) im Apoplasten kam.

Die beschriebene Depolarisation des Zellpotentials in der Blattepidermis könnte auch auf der Hemmung von Protonenpumpen, und damit auf der Akkumulation positiver Ladung in den Zellen, basieren. Verstärkt durch den Anstieg des apoplastischen pH-Wertes kommt es infolge der Depolarisation des Cytosols zur Aktivierung der K_{out} -Kanäle der EZ, resultierend in einem Efflux von Kalium in den umgebenden Apoplasten. Durch die Kühlung des Messblattes vor der Gaswechselküvette wurde die hydropassive Stomatareaktion deutlich gedämpft (vgl. Abb. 3.15). Dies deutet einerseits auf eine mögliche Interaktion zwischen dem elektrischen Signal und dem Rückgang von J_{CO_2} und g_{H_2O} , d.h. einer Aktivierung der K_{out} -Kanäle der SZ, hin. Andererseits wurde jedoch mit Hilfe der Kompensationsversuche nachgewiesen, daß das elektrische Signal die Öffnungsbewegung der Stomata verursachte. Die Transmission des elektrischen Signals in den K^+ -Influx in die Schließzellen stützt dagegen die Hypothese, daß in den SZ im Gegensatz zu den Epidermis- und Nebenzellen andere Ionenkanäle aktiviert

wurden. Die Hemmung der Protonenpumpen als Ursache der Depolarisation des Zellpotentials erscheint jedoch aufgrund der Kompensation des elektrischen Signals durch die Kühlung des Messblattes fraglich (siehe unten).

Mit Hilfe der angewandten Methoden kann über die Mechanismen der Stomataregulation durch das elektrische Signal keine genauere Aussage getroffen werden. Messungen mit ionenselektiven Elektroden in den verschiedenen Zelltypen sind notwendig um zu überprüfen, ob das elektrische Signal die vermuteten Ionenflüsse zwischen den Epidermiszellen und den Stomata hervorruft.

Überdruck in der Wurzeldruckkammer

Obwohl das elektrische Signal nach Wiederbewässerung durch die Druckapplikation nicht beeinträchtigt wurde, war der Anstieg in der stomatären Leitfähigkeit stark gedämpft und J_{CO_2} blieb zumeist konstant. Auch in Weizenpflanzen stieg die stomatäre Leitfähigkeit nach der Wiederbewässerung unter Überdruck deutlich weniger an als nach Bewässerung unter Atmosphärendruck (Gollan et al., 1986). Ursache der gedämpften Reaktion war vermutlich der Druck der Epidermis auf die Stomata: Der Turgoranstieg in den Epidermiszellen nach der Wiederbewässerung war deutlich geringer als der an der Wurzel applizierte Überdruck. Da der Gegendruck der Epidermis ein limitierender Faktor für die Öffnungsweite der Stomata ist (MacRobbie & Lettau, 1980; MacRobbie 1988), könnte der erhöhte Widerstand der EZ infolge der Druckapplikation die Öffnungsbewegung der Stomata begrenzt haben.

Im Gegensatz zur beobachteten Hyperpolarisation kamen Stahlberg & Cosgrove (1997a, b) in Versuchen am Epicotyl sechs Tage alter Erbsenpflanzen zu dem Ergebnis, daß sowohl die Applikation von Überdruck als auch die Erhöhung der Feuchtigkeit an der Wurzel zu einer Depolarisation in der Epidermis des Epicotyls führte. In *Pisum sativum* L. breitete sich das hydraulische Signal, erkennbar am Anstieg der Wachstumsrate, ebenfalls schneller aus als das elektrische. Dies führten die Autoren auf eine Verzögerung der radialen Propagation der Potentialdifferenz zurück. Mit Hilfe von chemischen Blockern konnte nachgewiesen werden, daß die Depolarisation im elektrischen Potential primär auf die Hemmung von Protonenpumpen zurückzuführen war. Unterstützt durch die Ergebnisse weiterer Versuche kamen die Autoren zu dem Schluß, daß die Druckwelle im Xylem die Hemmung der Protonenpumpen in den Gefäßen verursachte, die als elektrisches Signal in der Epidermis des Epicotyls meßbar war.

Ein Vergleich der Ergebnisse am Epicotyl junger Erbsenpflanzen mit den beobachteten elektrischen und hydraulischen Signalen an großen, intakten Maispflanzen macht deutlich,

daß an der Generation der Signale vermutlich die gleichen Prozesse (Hydraulik: Druckwelle im Xylem; Elektrik: (De-) Aktivierung von Protonenpumpen) beteiligt sind. Die Ausbreitung und Umsetzung beider Signale in reifen, intakten Pflanzen unterscheidet sich jedoch von der Reaktion junger, isolierten Pflanzenteile.

Kühlung des Messblattes

Mit Hilfe der Blattkühlung wurde die Propagation des elektrischen Signals gestoppt und die Reaktion des Gaswechsels reduzierte sich auf die hydropassive Stomatabewegung. Der Druckausgleich zwischen Epidermis und Stomata, der zur Regeneration des Gaswechsels bis auf das Trockenstressniveau führte, erfolgte durch die Anpassung des Schließzellturgors an die Druckverhältnisse im umliegenden Gewebe. Der Turgorausgleich wurde vermutlich über druckempfindliche Kanäle reguliert: Diese sogenannten „mechano-sensitive channels“ wurden sowohl im Plasmalemma als auch im Tonoplast von SZ nachgewiesen, und es wird vermutet, daß sie als hydraulisch-regulierende Ventile fungieren (Cosgrove & Hedrich 1991; Ramahelo et al., 1996).

In verschiedenen Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß die Aktivität von Protonenpumpen temperatursensitiv ist (Fisahn & Hansen 1986; Yoshida & Matsuura-Endo 1991; Mayer et al. 1994). Die Interaktion zwischen Kaliumkanälen in der Plasmamembran und der Aktivität von H^+ -ATPasen (Vogelzang & Prins 1994; Blom et al. 1997) unterstützt die Hypothese, daß an der Generation des elektrischen Signals in der Wurzel nach der Wiederbewässerung Protonenpumpen beteiligt waren. Im Bereich der Kühlung des Messblattes wurde die Propagation des elektrischen Signals vermutlich primär durch die Deaktivierung der Protonenpumpen unterbrochen, so daß im dahinter liegenden Teil des Messblattes der Kaliuminflux in die Schließzellen aufgrund des konstanten apoplastischen pH-Wertes unterblieb (siehe oben).

Dämpfung des Anstiegs im Gaswechsel

Infolge von Trockenstress kommt es im Blatt zur Alkalisierung des Apoplasten, die durch die Hemmung von Protonenpumpen hervorgerufen wird (Hartung et al. 1988; Hartung & Radin 1989). Durch die Alkalisierung des apoplastischen pH-Wertes wird Abscisinsäure aus den Epidermis- und Mesophyllzellen in den Apoplasten abgegeben (Zeevart & Creelman 1988; Wilkinson 1999). Neben der direkten Aktivierung der K_{out} -Kanäle durch ABA kommt es zu einer Depolarisation der SZ-Membran, die den Efflux von K^+ -Ionen zusätzlich stimuliert (MacRobbie 1998). Durch die Abgabe von Ionen sinkt der Turgor der Schließzellen und die

Stomata verengen sich.

In der vorliegenden Untersuchung kam es infolge der Wiederbewässerung zu einem deutlichen Anstieg der Netto-Photosynthese und der stomatären Leitfähigkeit über das Trockenstressniveau hinaus. Der Gaswechsel blieb jedoch niedriger als bei Pflanzen mit nicht-limitierender Wasserversorgung. Die reduzierte Regeneration von g_{H_2O} nach der Wiederbewässerung trockengestresster Pfefferpflanzen wurde auch von Yao et al. (2001) beschrieben.

Mit zunehmender Austrocknung dauerte die vollständige Regeneration der Pflanze zum Teil bis zum nächsten Tag. Beardsell & Cohen (1975) kamen in Versuchen an Mais zu vergleichbaren Ergebnissen: Trockenstress führte parallel zur Erhöhung des stomatären Widerstandes sowie der ABA-Konzentration im Blatt. Durch Wiederbewässerung sanken beide Parameter deutlich ab, erreichten jedoch innerhalb der ersten 24 h nicht das Ausgangsniveau ungestresster Pflanzen. Dörffling et al. (1977) konnten nachweisen, daß die sich die Öffnung der Stomata nach Wiederbewässerung mit steigender ABA-Konzentration deutlich verzögerte. Dies legt die Vermutung nahe, daß es auch in der vorliegenden Untersuchung infolge des Trockenstress zur Akkumulation von Abscisinsäure im Apoplasten kam, die nach der Wiederbewässerung nur langsam abgebaut wurde.

Die Alkalisierung des apoplastischen pH-Wertes mit zunehmendem Trockenstress spiegelt sich auch in den Messungen von Fromm & Fei (1998) an Mais wieder: Mit zunehmendem Trockenstress kam es im Oberflächenpotential der Blätter zu einer Depolarisation um > 100 mV. Der Anstieg des pH-Wertes ist für die Akkumulation von ABA im Apoplasten entscheidend: Durch die Applikation von Fusicoccin, das eine Stimulierung der Protonenpumpen verursacht, wurde bei Trockenstress die Alkalisierung des Apoplasten und damit auch die Akkumulation von ABA verhindert (Hartung et al. 1988; Hartung & Radin 1988). Es konnte gezeigt werden, daß Abscisinsäure auch direkt die Öffnung der Stomata durch die Deaktivierung der K_{in} -Kanäle sowie durch die Hemmung des Protonen-Effluxes beeinträchtigt (Zeevart & Creelman 1988; Leung & Giraudat 1998).

Der gedämpfte Anstieg des Gaswechsels nach der Wiederbewässerung wurde vermutlich durch die Blockierung der K_{in} -Kanäle der SZ durch apoplastische ABA verursacht. Die Beeinflussung der Membrantransportsysteme durch ABA unterstützt die Hypothese, daß die Stimulation von Protonenpumpen in die Translation des elektrischen Signals zur Aktivierung der K_{in} -Kanäle der SZ involviert war (siehe oben).

Im folgenden Modell (Abb. 3.28) sind die beobachteten Reaktionen nach der Wiederbewässerung trockengestresster Maispflanzen und ihre Interpretation zusammenfassend dargestellt:

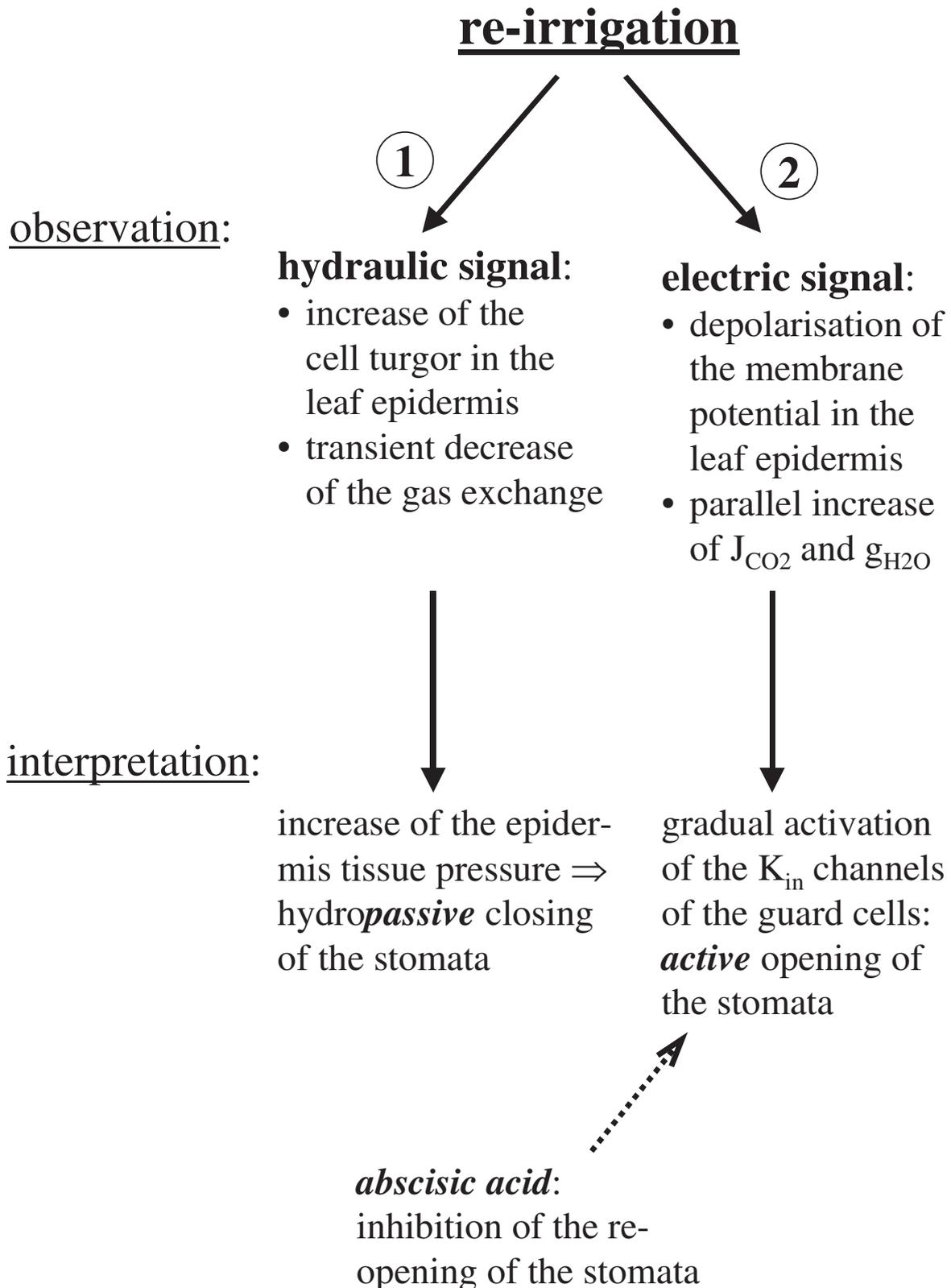


Abb. 3.28: Modell zur Erklärung der beobachteten Reaktionen nach der Wiederbewässerung trockengestresster Maispflanzen.

Fig. 3.28: Explanatory model of the observed responses after re-irrigation of drought-stressed maize plants.

4 Kurzstrecken-Kommunikation auf Blattebene bei Mimose: Wirkung elektrischer und hydraulischer Signale auf den Blatt-Gaswechsel nach seimonastischer Reizung

*"Das Höchste, wozu der Mensch
gelangen kann, ist Erstaunen"*
(J. W. Von Goethe)

4.1 Ergebnisse

Die zwei unterschiedlichen Reizungen an der Spitze der fixierten Fieder (siehe Kapitel 2.2.1) führten zu Reaktionen unterschiedlicher Intensität: Infolge von *Berührung* falteten sich zumeist nur die Blättchen der stimulierten Pinna (vgl. Abb. 2.2), die benachbarten Fiedern blieben geöffnet. Nach *Verletzung* trat zuerst eine basipetale Faltung der Blättchen der fixierten Pinna auf (von der Fiederspitze bis zum sekundären Pulvinus), gefolgt von einer akropetalen Schließbewegung der benachbarten Fiedern (vom sekundären Pulvinus zur Fiederspitze). Die akropetale Faltung der Nachbarfiedern trat verzögert auf und verlief deutlich langsamer als die basipetale Faltung an der verletzten Pinna. Die Verletzung einer Fieder führte in den meisten Fällen auch zu einer Abwärtsbewegung des primären Pulvinus. Bei einigen Verletzungsmessungen falteten sich auch die Fiedern der basipetal angrenzenden Blätter.

4.1.1 Reaktion des Zellpotentials

Im Zellpotential wurden abhängig von der Art der Reizung unterschiedliche Reaktionen dokumentiert: unmittelbar nach der *Berührung* wurde sowohl in der Rhachis (Abb. 4.1A) als auch in der Epidermis der Fiederblättchen (Abb. 4.1B) ein Aktionspotential (AP) gemessen, das durch eine deutliche Depolarisierung charakterisiert war. Berührung von Nachbarfiedern führte nur in wenigen Fällen zum Auftreten eines Aktionspotential in der fixierten Fieder. Dieses AP war jedoch deutlich schwächer (≤ 25 mV) und führte nicht zu einer Faltung der Blättchen der Messfieder. Infolge der *Verletzung* der Messfieder wurde nach 11.4 ± 7.9 s (Mittelwert \pm Standardabweichung) in der Rhachis und nach 8.7 ± 2.7 s in der Blattepidermis ein Variationspotential (VP) gemessen, das durch eine Hyperpolarisation, gefolgt von

ungleichmäßigen Fluktuationen, charakterisiert war. Dieses VP trat mit Verzögerung (22.0 ± 2.5 s) auch in den Nachbarfiedern auf, gefolgt von der akropetalen Faltung der Blättchen (Abb. 4.2B).

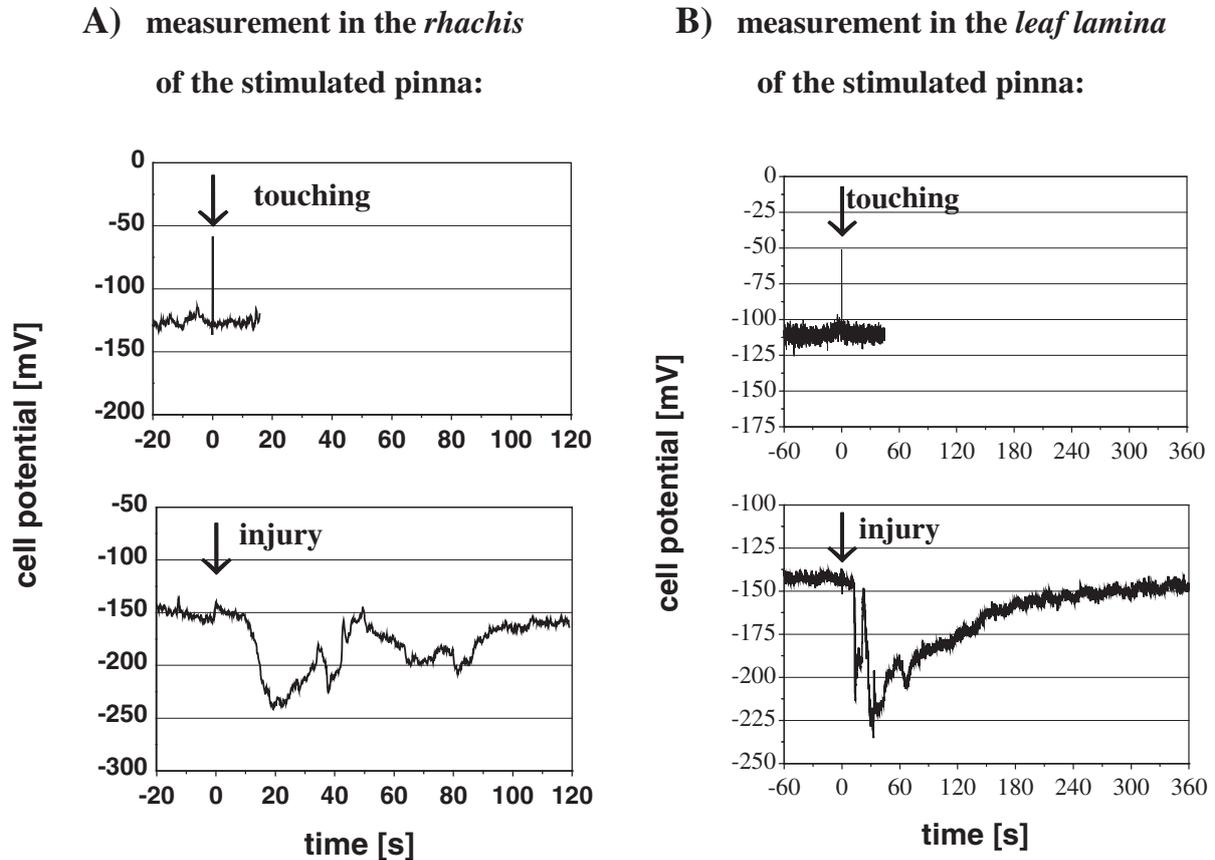


Abb. 4.1: Repräsentative Reaktion des Zellpotentials auf Reizung durch Berührung (A,B; oben) oder Verletzung (A,B; unten) der Spitze der fixierten Fieder, gemessen in der Epidermis der Rhachis (A) oder in der Epidermis eines Fiederblättchens (B). Um eine Bewegung der Fiederblättchen während der Messung zu unterbinden, wurde ein Teil der untersuchten Fieder mit geöffneten Blättchen zwischen zwei Plexiglasplatten fixiert (vgl. Abb. 2.4). Die Messungen wurden unabhängig voneinander durchgeführt. Die Pfeile markieren die Reizung zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 4.1: Representative response of the cell potential to touching (A,B; above) as recorded in the epidermis of the rhachis (A) or in the epidermis of a leaflet (B) or to injury (rhachis: A, below; leaflet: B, below). During the experiment part of the assessed pinna was fixed with the leaflets stayed spread between the two slices of plexiglass (cf. Fig. 2.4). The measurements were recorded separately from each other. Arrows denote the instant of excitation at time zero.

4.1.2 Reaktion des Zellurgors

Der Turgor der Epidermiszellen der Rhachis erreichte Werte von 0.2-0.5 MPa und schwankte unter konstanten Umweltbedingungen um maximal ± 0.01 MPa. Nach *Berührung* begann der Turgor in den Epidermiszellen der Rhachis nach 6.8 ± 3.2 s um ca. 0.02 MPa abzusinken (Abb. 4.2A, oben). Im Gegensatz dazu führte die *Verletzung* der fixierten Fieder zu einer massiven hydraulischen Störung der Turgormessung. Das Absinken des Zellurgors trat abgeschwächt mit deutlicher Verzögerung (70.7 ± 42.8) auch in der Rhachis der Nachbarfieder auf (Abb. 4.2A, unten).

**measurement in the *rhachis* of the stimulated pinna (touching)
or the neighbouring pinna (injury):**

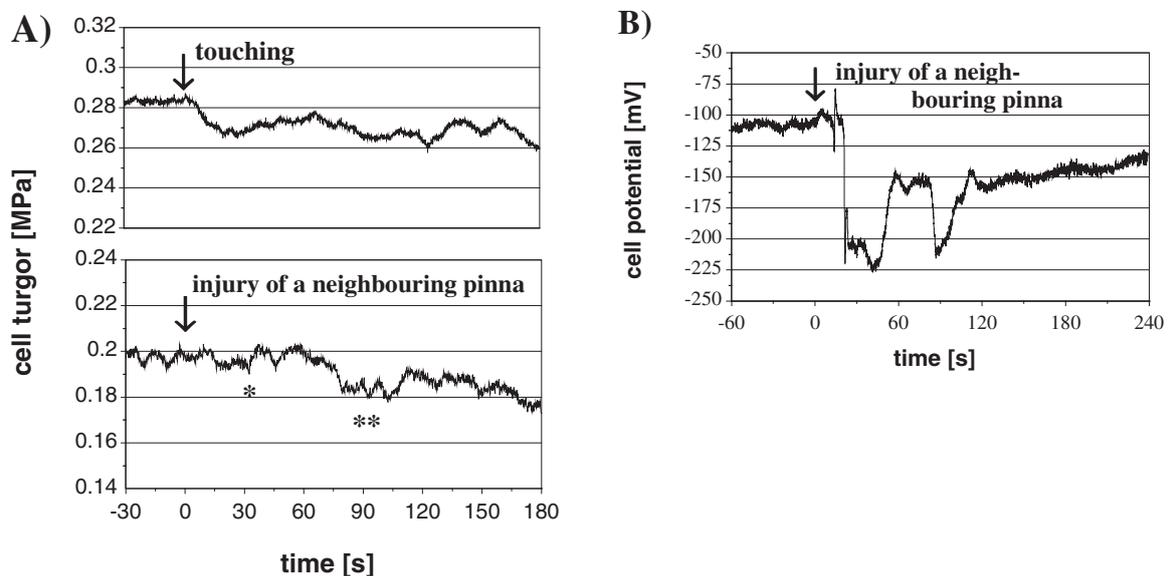


Abb. 4.2: A: Repräsentative Reaktion des Zellurgors in der Epidermis der Rhachis auf Reizung durch Berührung der Spitze der Messfieder (oben) oder Verletzung der Spitze einer Nachbarfieder (unten). B: Typische Reaktion im Zellpotential auf Verletzung der Nachbarfieder. Um eine Bewegung der Fiederblättchen während der Messung zu unterbinden wurde ein Teil der untersuchten Fieder mit geöffneten Blättchen zwischen zwei Plexiglasplatten fixiert. Die Messungen wurden unabhängig voneinander durchgeführt. Die Pfeile markieren die Reizung zum Zeitpunkt $t=0$, die Sternchen markieren die Faltung der Blättchen oberhalb (*) und unterhalb (**; Fiederspitze) der Plexiglas-klemme (siehe Abb. 2.4).

Fig. 4.2: A: Representative response of the cell turgor of a single *rhachis* cell of *Mimosa pudica* to touching (upper line) at the tip of the pinna or to injury (lower line) at the tip of the neighbouring pinna. B: Representative response of the cell potential to injury of the tip of a neighbouring pinna. During the experiment part of the assessed pinna was fixed with the leaflets spread between the two slices of plexiglass. The measurements were recorded separately from each other. Since the injury treatment caused hydraulic disruption, cell turgor was assessed in the neighbouring pinna. Arrows denote the instant of excitation at time zero, the asterisks at the lower time course denotes the inception (*) and the complete folding (**) of the leaflets of the assessed pinna (cf. Fig. 2.4).

4.1.3 Reaktion des Gaswechsels

Reizung an der Spitze der Messfieder außerhalb der Gaswechsellmessküvette (siehe Abb. 2.3) führte zur Faltung der Blättchen in der Küvette. Die fächerförmig gefalteten Fiederblättchen waren senkrecht zum von oben einfallenden Licht orientiert. In Abb. 4.3A, B ist die Reaktion in der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit (g_{H_2O} , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) dargestellt: Nach durchschnittlich 25.0 ± 7.1 s infolge *Berührung* und 30.0 ± 10.0 s nach *Verletzung* falteten sich die Fiederblättchen in der Küvette zusammen, und sowohl J_{CO_2} als auch g_{H_2O} sanken parallel rapide ab. Die Netto-Photosyntheserate ging auf Werte um Null zurück, die stomatäre Leitfähigkeit sank in Abhängigkeit von der Art der Reizung um ca. 25-40 % ab. Verzögert zur erneuten Entfaltung der Fiederblättchen in der Küvette (siehe Nummern 1-4 in Abb. 4.3) war ein allmählicher Anstieg in beiden Parametern zu beobachten.

Wurden die Blättchen der Messfieder in der Küvette im offenen Zustand fixiert, so traten in J_{CO_2} und g_{H_2O} abweichende Reaktionen auf (Abb. 4.4A, B). Die Netto-Photosyntheserate sank abrupt ab (Berührung: 40.0 ± 10.0 s; Verletzung: 39.0 ± 7.4 s), parallel stieg die stomatäre Leitfähigkeit kurzfristig deutlich an. Nach dem primären Anstieg sank g_{H_2O} unter den Anfangswert ab und regenerierte sich dann zeitgleich mit der Assimilationsrate bis auf das Ausgangsniveau. Verletzung rief eine stärkere Reaktion hervor als Berührung, nach beiden Reizen hatten sich die Parameter nach ca. 25 Minuten wieder auf dem Ausgangsniveau stabilisiert. Infolge der Faltung der Fiederblättchen in der Küvette trat eine etwas längere Regenerationszeit auf als bei der Fixierung der Blättchen (siehe Abb. 4.3).

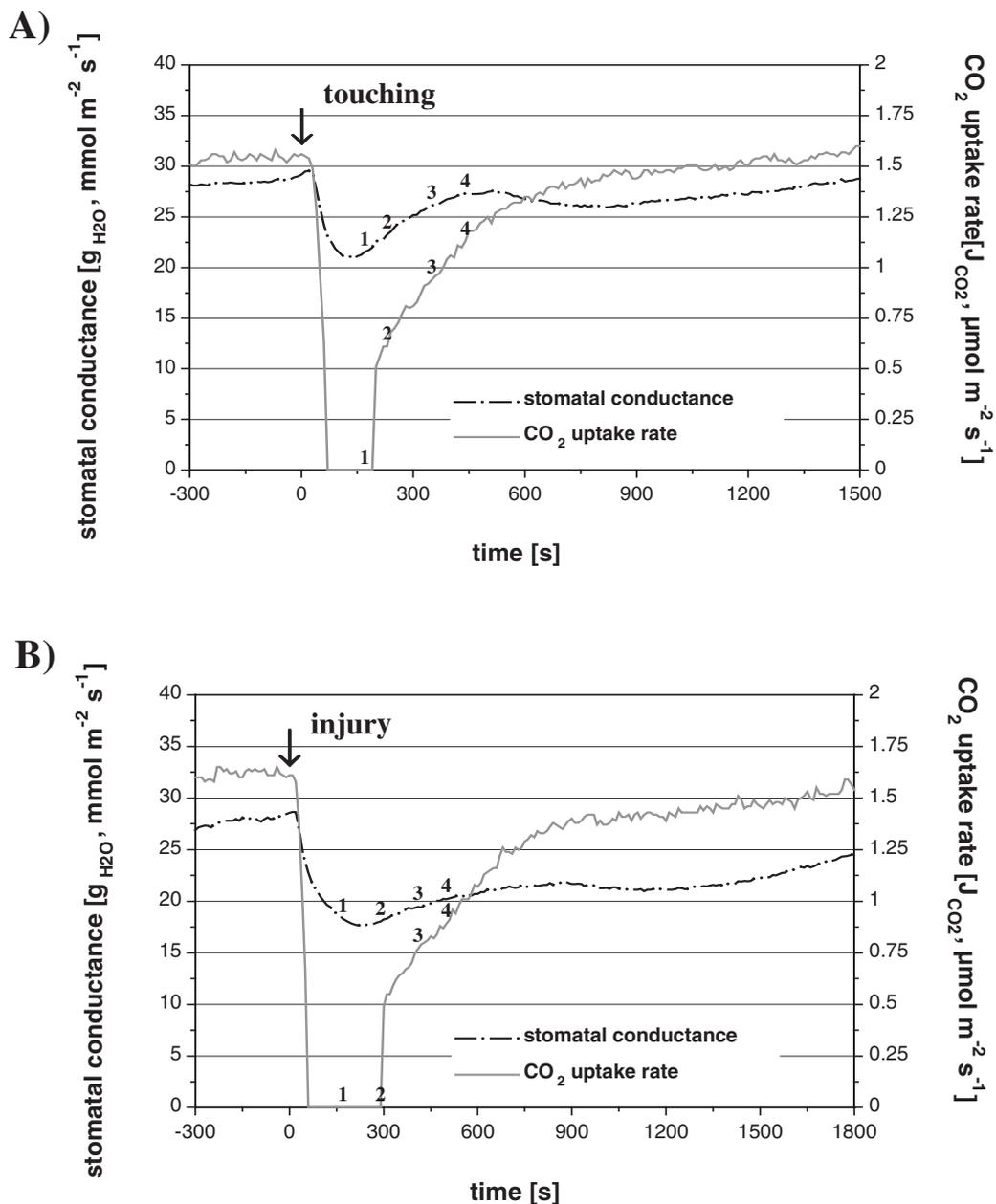
leaflets of the enclosed pinna *folded up* after stimulation:

Abb. 4.3: Repräsentative Reaktion der Netto-Photosyntheserate ($J_{\text{CO}_2}, \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit ($g_{\text{H}_2\text{O}}, \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) einer einzelnen Fieder, deren Blättchen sich infolge von Reizung schliessen konnten. Die Pfeile markieren die Berührung (A) oder die Verletzung (B) der Spitze der Messfieder zum Zeitpunkt $t=0$. Die Messungen wurden unabhängig voneinander durchgeführt. Die Zahlen geben den Öffnungszustand der Fiederblättchen während der erneuten Entfaltung in der Küvette an (A, B): 1 = 20%, 2 = 40%, 3 = 60%, 4 = 80% geöffnet.

Fig. 4.3: Representative response of the net CO_2 uptake rate ($J_{\text{CO}_2}, \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and the stomatal conductance ($g_{\text{H}_2\text{O}}, \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of a single pinna with folding leaflets upon excitation. Arrows denote the instant of touching (A) or injury (B) at the tip of the measured pinna at time zero. The measurements were recorded separately from each other. The numbers reflect the state of re-opening of the leaflets inside the cuvette (A, B): 1 = 20%, 2 = 40%, 3 = 60%, 4 = 80% open.

leaflets of the enclosed pinna were *fixed to prevent unfolding* after stimulation:

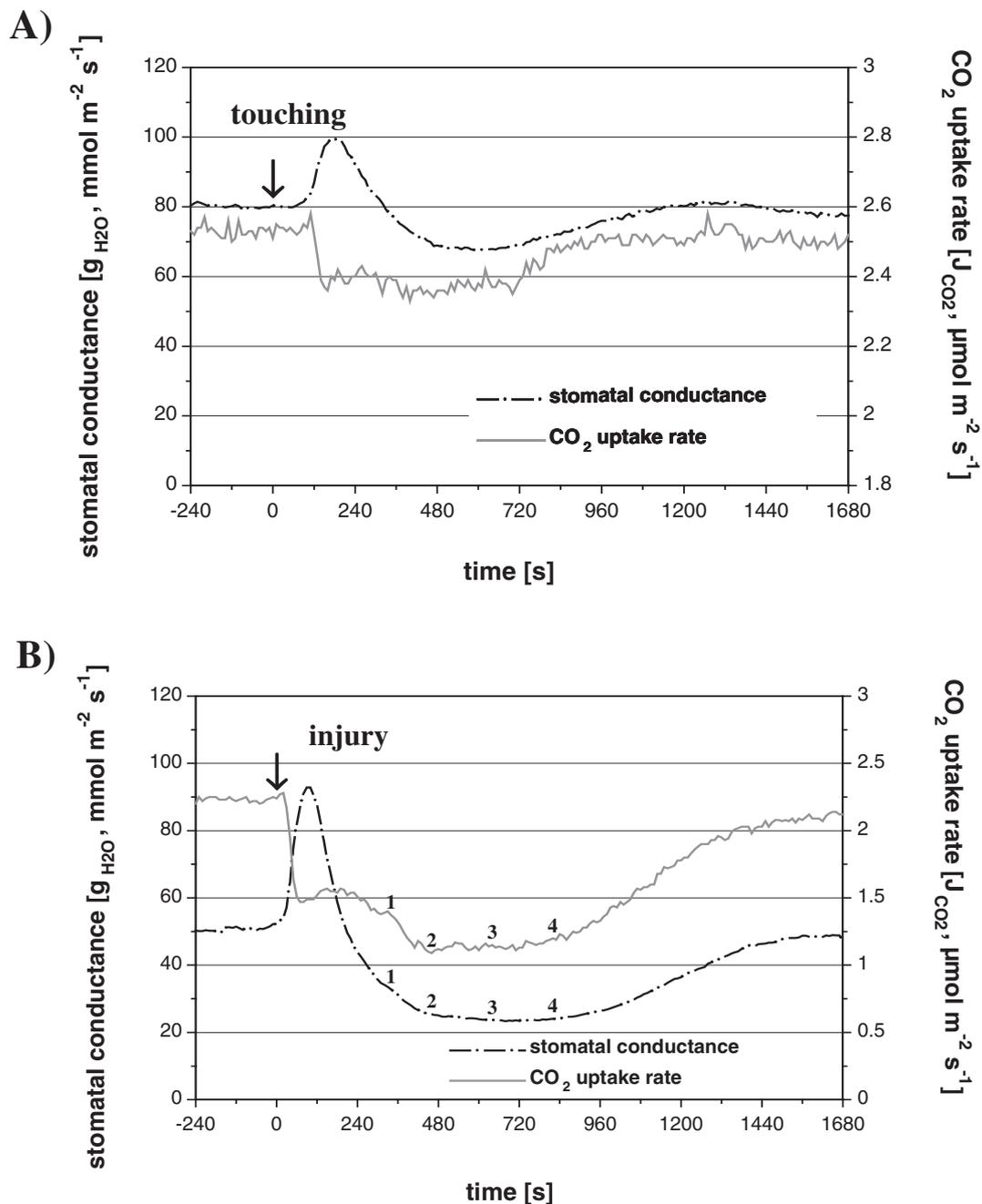


Abb. 4.4: Repräsentative Reaktion der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit ($g_{\text{H}_2\text{O}}$, $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) einer einzelnen Fieder, deren Blättchen im offenen Zustand fixiert waren. Die Pfeile markieren die Berührung (A) oder Verletzung (B) der Spitze der Messfieder zum Zeitpunkt $t=0$. Die Messungen wurden unabhängig voneinander durchgeführt. Die Zahlen in Grafik (B) geben den Öffnungszustand während der erneuten Entfaltung der Nachbarfiedern an: 1 = 20%, 2 = 40%, 3 = 60%, 4 = 80% geöffnet.

Fig. 4.4: Representative response of the net CO_2 uptake rate (J_{CO_2} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and the stomatal conductance ($g_{\text{H}_2\text{O}}$, $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of a single pinna, with the leaflets being fixed in spread position inside the cuvette. Arrows denote the instant of touching (A) or injury (B) at the tip of the measured pinna. The measurements were recorded separately from each other. The numbers in (B) reflect the state of re-opening of the neighbouring pinna of the observed leaf (B): 1 = 20%, 2 = 40%, 3 = 60%, 4 = 80% open.

4.1.4 Reaktion der Chlorophyll-Fluoreszenz

Eine Reaktion der Photosynthese konnte auch mit Hilfe der Chlorophyll-Fluoreszenz gemessen werden. Wie in Abb. 4.5A dargestellt, rief *Verletzung* nach (im Mittel) 72.0 ± 26.8 s einen stärkeren, länger andauernden Rückgang im Electron Quantum Yield (EQY) hervor als *Berührung* (nach 48.0 ± 16.4 s). Die Reaktion der beiden Photosyntheseparameter (J_{CO_2} und EQY) auf Verletzung zeigte eine deutliche Übereinstimmung: der Rückgang des EQY erfolgt parallel zum ersten Absinken der Netto-Photosyntheserate (Abb. 4.5B). Im Gegensatz zur schnellen Regeneration des Electron Quantum Yield, das nach 258 ± 34.2 s nahezu wieder sein Ausgangsniveau erreicht hatte, sank J_{CO_2} weiter ab und regenerierte sich erst deutlich später parallel mit g_{H_2O} (siehe oben).

Die zunächst gegensätzliche Reaktion von J_{CO_2} und g_{H_2O} sowie der Rückgang im EQY deuten darauf hin, die Reaktion der Gaswechselrate nicht nur auf eine Beeinflussung der Stomata zurückzuführen ist (vgl. 3.1), sondern daß es kurzfristig zu einer direkten Beeinträchtigung der an der Photosynthese beteiligten Elektronentransportketten kommt.

response of EQY and J_{CO_2} of the *fixed* leaflets after stimulation of the observed pinna:

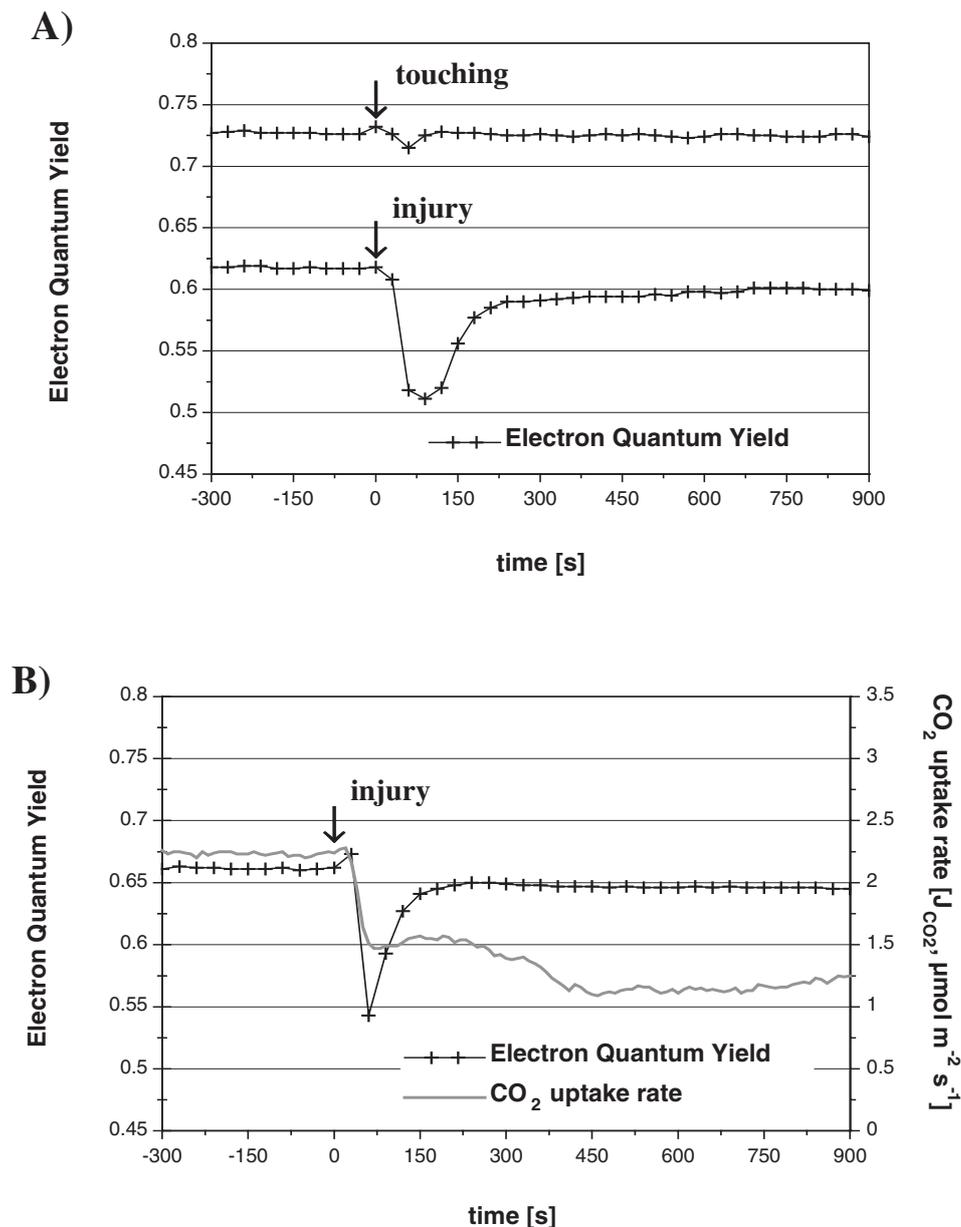


Abb. 4.5: A: Repräsentative Reaktion des Electron Quantum Yield einer einzelnen Fieder auf Berührung (A, oben) oder Verletzung (A, unten). Die Blättchen waren während der Messung in der Blattklemme des Mini-PAM-Gerätes in geöffnetem Zustand fixiert. Die Messungen wurden voneinander unabhängig durchgeführt. B: Reaktion des Electron Quantum Yield und der Netto-Photosyntheserate während der ersten 15 Minuten nach Verletzung der Spitze der Messfieder. Die beiden Kurven wurden unabhängig voneinander an verschiedenen Blättern der gleichen Pflanze gemessen. Die Pfeile markieren die Reizung zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 4.5: A: Representative response of the electron quantum yield of a single pinna due to touching or injury. The two measurements were recorded separately from each other. The leaflets were fixed in spread position in the leaf clip of the Mini-PAM to prevent movement after excitation. B: Response of the Electron Quantum Yield and the net CO₂ uptake rate during 15 min following injury of the tip of the fixed pinna. The two curves were measured separately at different leaves of the same plant. Arrows denote the instant of excitation at time zero.

4.2 Diskussion

In Abhängigkeit von der Art der Reizung wurden zwei verschiedene elektrische Signale gemessen: eine kurzes Aktionspotential (Depolarisation) nach Berührung und ein länger andauerndes Variationspotential (Hyperpolarisation) infolge von Verwundung. Trotz der unterschiedlichen Veränderung des Zellpotentials wurden in J_{CO_2} und g_{H_2O} , und tendenziell auch im EQY, vergleichbare Reaktionen dokumentiert. Sowohl im Gaswechsel als auch im EQY war die Reaktion auf Verwundung deutlich intensiver als auf Berührung.

Konnten sich die Fiederblättchen in der Gaswechselküvette infolge der Reizung falten, so war die geschlossene Fieder senkrecht zum einfallenden Licht orientiert. Der rapide Einbruch der Netto-Photosyntheserate kann daher als Lichteffect interpretiert werden. Im Gegensatz dazu trat in der stomatären Leitfähigkeit nur ein Rückgang um maximal 50 % auf. In Versuchen mit ^{14}C wies Hodinott (1977) einen Rückgang der Kohlenstoffaufnahme um 40 % während der kontinuierlichen Reizung eines Blattes über 30 Minuten nach. Die Translokationsrate der Assimilate blieb während des Untersuchungszeitraumes konstant, was die Vermutung nahelegt, daß die C-Aufnahme und die Zuckertranslokation auf verschiedene Weise mit der Blattbewegung korreliert sind.

Wurden die Fiederblättchen in der Küvette im geöffneten Zustand fixiert um den Lichteffect zu kompensieren, so trat nach Reizung sowohl in J_{CO_2} als auch im EQY ein abrupter Rückgang auf (vgl. Abb. 3.31B). Im Gegensatz dazu trat in g_{H_2O} ein transienter, signifikanter Anstieg auf, gefolgt von einem kontinuierlichen Abfall unter das Ausgangsniveau. Der rapide Abfall in der Netto-Photosyntheserate und im Electron Quantum Yield könnte durch verschiedene Prozesse verursacht worden sein (Abb. 4.6, Pfad ①):

- (1) Hemmung der Enzymaktivität (z.B. H^+ -ATPase, Ribulose-1,5-Bisphosphatase) und/ oder des Turnovers des D1-Proteins in den Chloroplasten (Haeder 1999).
- (2) Beeinträchtigung der Elektronentransportketten in den Chloroplasten durch direkte Einwirkung des elektrischen Signals (Bulychev et al., 1987; Niyazova & Bulychev 1990).

Eine Beeinflussung der biochemischen Prozesse ist denkbar (siehe (1)), wurde aber im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht untersucht. Der schnelle Beginn der beobachteten Reaktion lässt eine enzymatische Regulation jedoch eher fraglich erscheinen. Andererseits stützt die deutliche Reaktion im Electron Quantum Yield die Möglichkeit (2).

Der zu Beginn der Reaktion in der stomatären Leitfähigkeit beobachtete Anstieg ist aufgrund der kurzen Dauer vermutlich nicht auf eine aktive Bewegung der Stomata zurückzuführen. Dieser Effect ist eher durch eine hydropassive Stomatabewegung erklärbar: Das

elektrische Signal trat mit gleicher Intensität in den Epidermiszellen der Rhachis und der Fiederblättchen auf. Dort kam es vermutlich, analog zu der Reaktion in den Extensorzellen der Pulvini (Fromm & Eschrich 1988c), zu einer direkten Aktivierung von Ionenkanälen und dadurch zu einem (geringfügigen) Efflux von Ionen und Wasser in den Apoplasten. Der daraus resultierende abnehmende Gewebedruck der Blattepidermis verursachte dann vermutlich die beobachtete hydropassive Öffnung der Stomata (Abb. 4.6, Pfad ③).

Durch die Verletzung wurde vermutlich eine andere Signalkette aktiviert als nach Berührung. Das nach der hydraulischen Störung auftretende Variationspotential könnte auf der Stimulation von stress-aktivierten Kanälen im Plasmalemma beruhen (siehe unten). Das Auftreten des VP in der Nachbarfieder vor Beginn des Turgorabfalls in der Rhachis ist ein Indikator dafür, daß primär das elektrische Signal über das gesamte Blatt propagiert wurde und als Auslöser für die Faltung der angrenzenden Fiedern fungierte. Zu vergleichbaren Ergebnissen kam auch Malone (1994), der in *Mimosa pudica* einen Rückgang der Blattdicke nahe der Verwundungsstelle beschrieb. Die Wundreaktion wurde als zweiphasiges hydraulisches Signal interpretiert: die erste Phase war durch einen rapiden, sowohl akropetal als auch basipetal verlaufenden, Wasserfluß infolge eines hydraulischen Signals gekennzeichnet, gefolgt von einem deutlich geringeren Fluß verursacht durch Transpiration. Hydraulische Signale infolge von Verwundung wurden auch an anderen Pflanzen (z.B. Weizen) gemessen und als mögliche Auslöser für die systemische Induktion von Variationspotentialen diskutiert (Malone & Stankovic 1991).

Nach der bei Fixierung der Fiederblättchen anfänglich gegensätzlichen Reaktion in der Netto-Photosyntheserate und der Transpiration gingen J_{CO_2} und g_{H_2O} parallel auf ein deutliches Minimum zurück, gefolgt von einer sukzessiven Erholung bis zum Ausgangsniveau. Diese langsame Stabilisierung ist durch eine aktive Stomatabewegung erklärbar (Abb. 4.6, Pfad ②), da J_{CO_2} und g_{H_2O} zunächst noch reduziert waren, obwohl sich die Fiedern bereits wieder zu mehr als 60% geöffnet hatten (vgl. Abb. 4.4).

In Patch-Clamp-Messungen konnte gezeigt werden, daß auswärts gerichtete Kaliumkanäle (K_{out}) der Schließzellen nur durch Depolarisation aktiviert wurden, Hyperpolarisation dagegen führte zu einer Öffnung der K_{in} -Kanäle (e.g. Schroeder et al. 1987; Hedrich & Schroeder 1989). Stoeckel & Takeda (1993) wiesen in Protoplasten von Extensorzellen primärer Pulvini einen K_{out} -Gleichrichter nach, der ebenfalls durch Depolarisation aktiviert wurde. In der vorliegenden Untersuchung konnte dagegen gezeigt werden, daß die Hyperpolarisation des VP zu prinzipiell denselben Reaktionen führte wie das AP. Die Schließbewegung der Stomata ist aufgrund verschiedener Prozesse vorstellbar:

- I. Der Efflux von Kalium aus den SZ könnte durch die bekannten K_{out} -Kanäle im Plasmalemma erfolgen, wenn die primäre Hyperpolarisation des VP in eine Depolarisation umgewandelt würde.
- II. Der Turgorverlust der SZ nach Verletzung könnte durch die Stimulierung stress-aktivierter (sogenannter "mechano-sensitiver") Kanäle induziert werden.

Eine Transformation des VP könnte auf Ca^{2+} -Flüssen aus der Tanninvakuole basieren, die als sekundäres Signal zur Aktivierung der K_{out} -Kanäle führen könnten (Toriyama & Jaffe 1972; Fleurat-Lessard & Roblin 1988; Okihara et al. 1991; Vanden-Driessche 2000). Des Weiteren wurden stress-aktivierte Kanäle für K^+ , Cl^- und Ca^{2+} in der Plasmamembran von Schließzellen in *Vicia faba* L. nachgewiesen (Cosgrove und Hedrich, 1991) und eine mögliche Funktion dieser Kanäle als hydraulisch-regulierende Ventile für den Gaswechsel diskutiert. Der primären Hyperpolarisation des Variationspotentials folgten in allen Messungen ungleichmäßige Fluktuationen, was für die Involvierung verschiedener Membrantransportsysteme spricht.

Im folgenden Modell (Abb. 4.6) sind die verschiedenen Reaktionen in den untersuchten Parametern und ihre Interpretation zusammengefaßt. Die Ergebnisse stützen die Hypothese, daß bei *Mimosa pudica* das elektrische Signal nicht nur die Faltung der Fiederblättchen auslöst, sondern auch die Photosynthese und die Transpiration beeinflusst, obwohl das VP nach der Verletzung vermutlich durch die hydraulische Störung generiert wird.

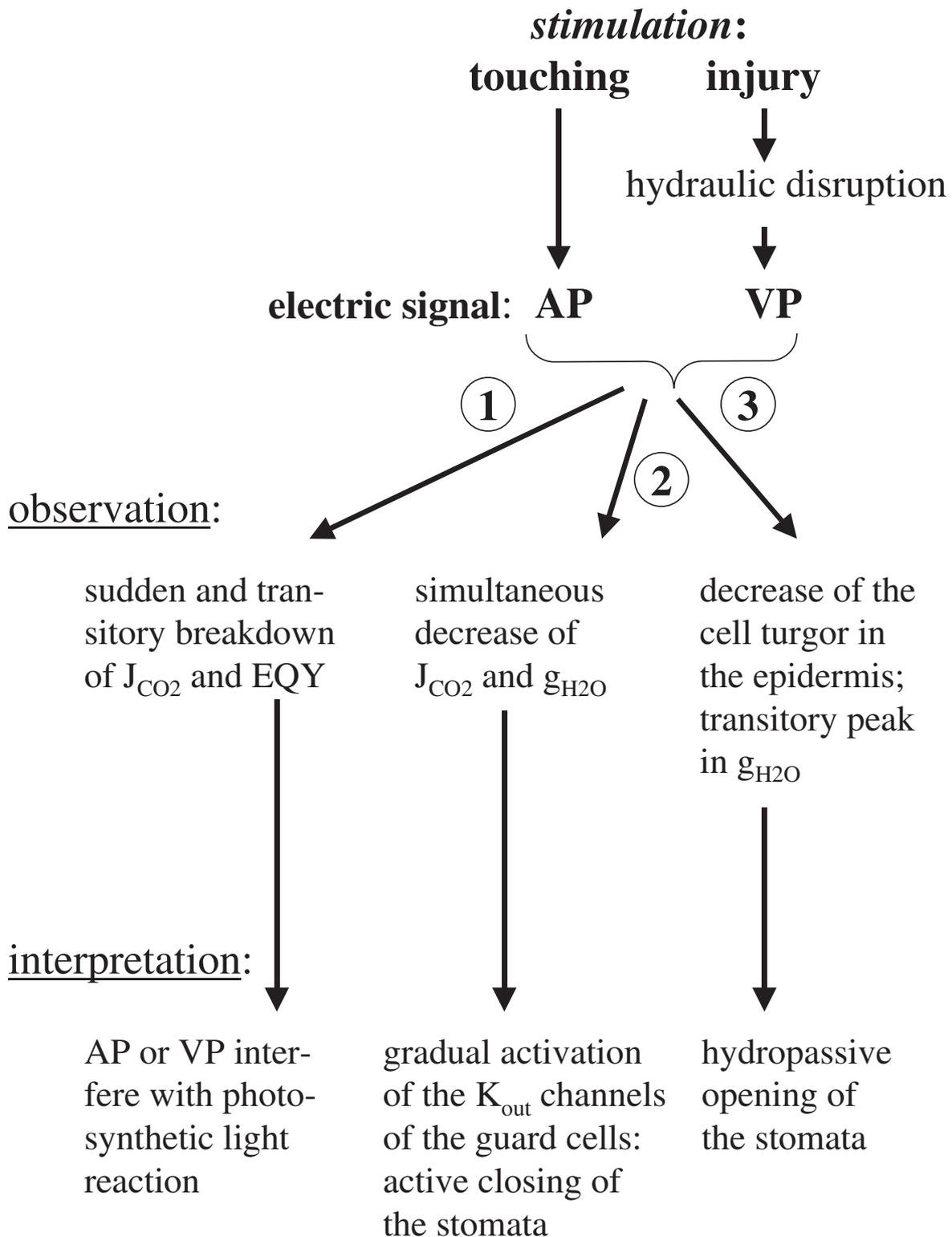


Abb. 4.6: Modell zur Erklärung der verschiedenen beobachteten Reaktionen bei Mimose infolge seimonastischer Reizung.

Fig. 4.6: Explanatory model of the different responses of *Mimosa pudica* upon seimonastic stimulation.

5 Synopsis und Folgerungen

"Das Wesentliche ist für die Augen unsichtbar"
(Der kleine Prinz; A. de Saint-Exupéry)

Sowohl bei Mais als auch bei Mimose beeinflussten das hydraulische und das elektrische Signal den Gaswechsel. Die nicht-chemischen Signale nach der Wiederbewässerung trockengetresster Maispflanzen sowie nach der Reizung (Berührung oder Verletzung) eines Mimosenblattes lösten sowohl passive als auch aktive Stomatabewegungen aus. Die beobachteten Signale und die daraus resultierende Reaktion des Gaswechsels sind ein Indikator für generelle nicht-chemische Reaktionsmechanismen in intakten Pflanzen:

1. Das hydraulische Signal, dokumentiert über Turgorveränderungen in der Epidermis, verursachte die hydropassiven Reaktionen des Gaswechsels, die besonders in der stomatischen Leitfähigkeit auftraten. Beim Mais löste die Wiederbewässerung den Druckanstieg in der Epidermis aus, gefolgt von der *Verengung der Stomata*. Im Gegensatz dazu trat bei Mimose vermutlich eine hydropassive *Stomataöffnung* auf, resultierend aus einem Turgorverlust in den Epidermiszellen. Die Veränderung im Gaswechsel durch das hydraulische Signal war bei beiden Pflanzen transient und wurde abgelöst durch eine längerfristige, physiologische Veränderung, basierend auf dem elektrischen Signal. Es konnte gezeigt werden, daß das hydraulische Signal beim Mais unabhängig vom elektrischen Signal im Xylem propagiert wird.

Im Gegensatz dazu liegt die Vermutung nahe, daß der Turgorverlust im Mimosenblatt nach Berührung sekundär als Folge des Aktionspotentials auftritt und nicht an hydraulische Veränderungen im Xylem gekoppelt ist. Die schnellere Ausbreitung des elektrischen Signals im Vergleich zum hydraulischen (AP bei Berührung; VP in der Nachbarfieder nach Verletzung) rief vermutlich in den Epidermiszellen einen geringen Efflux von Ionen hervor, analog zum Efflux von K^+ und Cl^- in den Extensorzellen der Pulvini. Bedingt durch den Druckverlust in der Epidermis begann auch bei der Mimose die Gaswechselreaktion (g_{H_2O}) mit einer hydropassiven Stomatareaktion.

Bei Verletzung des Mimosenblattes scheint sich dagegen eine komplexere Reaktionskette aus elektrischen und hydraulischen Signalen aufzubauen: Durch die Verletzung kam es zu einer massiven Störung des hydraulischen Systems, die zur Generierung des Variationspotentials führte. Dieses sekundäre elektrische Signal wurde über die verletzte Pinna hinaus auf das gesamte Blatt übertragen: Die benachbarten Fiedern falteten sich und

der primäre Pulvinus klappte nach unten. Nach dem Auftreten des VP kam es auch in den Nachbarfiedern zum Turgorverlust und, in abgeschwächter Form, auch zur charakteristischen Reaktion im Gaswechsel. Hydraulische Veränderungen waren demzufolge bei Mimose lokal zur Signalgeneration von Bedeutung, während die Ausbreitung über das gesamte Blatt dem VP oblag. Auch beim Mais wurden sekundäre elektrische Signale infolge der Druckapplikation an der Wurzel beobachtet, die vermutlich die Folge ähnlicher drucksensitiver Prozesse waren (siehe unten).

2. Im Gegensatz zur passiven Stomatareaktion rief das elektrische Signal nach Wiederbewässerung (Mais) oder Berührung (Mimose) durch die direkte Stimulation von Ionenkanälen eine aktive Veränderung des Schließzellturgors hervor. Das elektrische Signal wurde vermutlich bei beiden Pflanzen über das Phloem propagiert und initialisierte im Blatt Reaktionsketten, die sowohl in den Schließzellen als auch in den Epidermis- und Nebenzellen den Austausch von Ionen mit dem umgebenden Apoplasten hervorriefen. Im Vergleich zu den EZ reagierten die SZ zeitlich verzögert auf das elektrische Signal. Die Zeitverzögerung bis zum Beginn der Reaktion im Gaswechsel wurde vermutlich durch die Translation des elektrischen Signals bedingt und ist eine mögliche Erklärung für das Aufeinanderfolgen passiver und aktiver Stomatabewegungen.

Im Gegensatz zum elektrischen Signal nach Wiederbewässerung oder Berührung, das direkt durch die Aktivierung selektiver, pH- und spannungsabhängiger Membrantransportsysteme hervorgerufen wurde, ist das VP nach Verletzung (Mimose) vermutlich eine Folge der hydraulischen Störung. Die beobachtete Hyperpolarisation nach Verletzung wie auch nach Druckapplikation (Mais) läßt sich durch die Aktivierung von drucksensitiven Kanälen erklären. Dieser Typ von Kanälen wird bei Veränderungen des Druckes auf die Zellmembranen aktiviert, um Schäden am Plasmalemma oder am Tonoplast zu verhindern und damit die Funktionsfähigkeit der Zelle zu gewährleisten.

Während das elektrische Signal beim Mais nur über die Regulation der Stomata Einfluß auf den Gaswechsel hatte, wurde bei der Mimose die Photosyntheserate direkt beeinflusst. Der Einbruch sowohl in J_{CO_2} als auch im EQY nach Verletzung erfolgte unabhängig von der parallel beobachteten hydropassiven Stomatabewegung. Im Gegensatz zur schnellen Erholung des Electron Quantum Yield dauerte die Regeneration von J_{CO_2} deutlich länger. Dies deutet darauf hin, daß die unmittelbare Störung der Photosynthese (EQY und J_{CO_2}) durch die Regeneration der betroffenen Elektronentransportketten schnell ausgeglichen werden konnte, während die Bewegung der Stomata, und die (gegensätzliche) Kanalaktivierung zur Regeneration des Gaswechsels, einen zeitaufwendigeren Prozess darstellt.

Nach Abklingen der Reizung erreichten sowohl das Zellpotential als auch der Gaswechsel des Mimosenblattes wieder ihr Ausgangsniveau. Im Gegensatz dazu blieb bei Mais das depolarisierte Zellpotential bis zum Ende der Messung (1 h nach Wiederbewässerung) konstant. Der Gaswechsel stieg zwar deutlich über das Trockenstreßniveau hinaus an, erreicht im Untersuchungszeitraum jedoch nicht das Ausgangsniveau vor Beginn der Austrocknungsphase. Infolge länger andauernder Stresseinwirkung kam vermutlich zur Erhöhung der ABA-Konzentration im Blatt. Der allmähliche Abbau der Stressmetabolite könnte die Intensität der Gaswechselreaktion durch die Hemmung der Kaliumaufnahme in die Schließzellen gedämpft haben. Die Interaktion der Gaswechselreaktion mit der Akkumulation von Abscisinsäure ist ein Indikator dafür, daß biochemische Prozesse die Wirkung elektrischer Signale beeinflussen können.

Die Ergebnisse stützen die Hypothese, daß besonders elektrische Signale für die schnelle physiologische Reaktion des Gaswechsels von Bedeutung sind. Schnelle elektrische Signale bieten der Pflanze viele Vorteile, die durch langsamere biochemische Prozesse nicht gewährleistet werden können:

- Die Ausbreitung über das Phloem ermöglicht eine schnelle Signaltransduktion in alle Pflanzenteile und ist unabhängig von hydraulischen Prozessen im Xylem.
- Durch die Aktivierung spezieller Ionenkanäle kann die Akkumulation von Ionen innerhalb einzelner Zelltypen wie den Schließzellen gesteuert werden.
- Die vermutliche Beteiligung von Protonenpumpen (H^+ -ATPasen) an der Ausbreitung und Umsetzung der Signale deutet darauf hin, daß eine Kopplung mit Stoffwechselkreisläufen zur Bereitstellung der notwendigen Energie (ATP) besteht.

Demnach verfügen Pflanzen über zwei verschiedene, miteinander verknüpfte Regulationsmechanismen: Einerseits erfolgt die langfristige Regulation des Gaswechsels über biochemische Prozesse, andererseits ermöglicht die Generierung und Ausbreitung schneller Signale die Möglichkeit, in die biochemischen Prozesse einzugreifen.

6 Zusammenfassung

"Das also war des Pudels Kern !"
(Faust I; J. W. Goethe)

Die vorliegende Arbeit hatte die Klärung der Reaktion des Gaswechsels auf elektrische und hydraulische Signale zum Ziel. Hierbei wurde die Bedeutung von Langstreckensignalen zwischen der Wurzel und dem Sproß nach der Wiederbewässerung trockengestresster Maispflanzen mit Kurzstreckensignalen im Mimosenblatt infolge seimonastischer Reizungen (Berührung oder Verletzung) verglichen.

Zea mays

Mit zunehmendem Trockenstress (Absinken des Bodenwassergehaltes auf 40-50 %) ging der Zellturgor in der Blattepidermis auf Werte bis unter 0.1 MPa zurück. Parallel sank die stomatare Leitfähigkeit auf 50-60 % im Vergleich zu ungestressten Pflanzen ab. Nach der Wiederbewässerung trat zuerst ein hydraulisches Signal auf, gemessen als Anstieg des Zellturgors in der Epidermis, gefolgt von einer Depolarisation des Zellpotentials in der Blattepidermis. Im Gaswechsel trat eine zweiphasige Reaktion auf: nach einem transienten Absinken der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2}) und der stomatären Leitfähigkeit (g_{H_2O}) stiegen beide Parameter über das vorangegangene Trockenstressniveau hinaus an. Im Gegensatz dazu trat in der Chlorophyll-Fluoreszenz nach der Wiederbewässerung keine Reaktion des Electron Quantum Yield (EQY) auf.

Durch die selektive Kompensation des hydraulischen oder elektrischen Signals konnte nachgewiesen werden, daß beide Signale unabhängig voneinander Einfluß auf den Gaswechsel hatten:

- Durch die Applikation von Überdruck an der Wurzel konnte das hydraulische Signal nach der Wiederbewässerung kompensiert werden, die Depolarisation des Zellpotentials wurde nicht beeinträchtigt. Im Gaswechsel zeigte sich nur ein abgeschwächter Anstieg von J_{CO_2} und g_{H_2O} , eine hydropassive Stomatareaktion trat nicht auf.
- Die Kompensation des elektrischen Signals durch die Kühlung des Messblattes reduzierte die Reaktion des Gaswechsels auf eine hydropassive Stomatareaktion, ein Anstieg in J_{CO_2} und g_{H_2O} über das Trockenstressniveau hinaus unterblieb.

Der Blattwassergehalt sank infolge des Trockenstresses signifikant um ca. 10 % ab. Innerhalb der ersten Stunde nach der Wiederbewässerung trat weder in den Terahertz-

Messungen noch im destruktiv bestimmten Blattwassergehalt eine signifikante Veränderung auf. Demzufolge steht der erhöhte Wasserinflux ins Blatt nach der Wiederbewässerung, dokumentiert durch den Anstieg des Zellurgors in der Epidermis, im Gleichgewicht mit dem erhöhten Wasserverlust durch den Anstieg des Gaswechsels.

Trotz des Anstiegs von J_{CO_2} und g_{H_2O} nach der Wiederbewässerung blieb der Gaswechsel im Vergleich zu ungestressten Pflanzen reduziert. Dies könnte die Folge der Akkumulation von Abscisinsäure im Apoplasten der Schließzellen bei zunehmendem Trockenstress sein, die nach der Wiederbewässerung nur langsam abgebaut wurde.

Mimosa pudica

Nach *Berührung* der Spitze der untersuchten Pinna trat sowohl in der Epidermis der Rhachis als auch in der Epidermis der Fiederblättchen ein schnelles Aktionspotential (AP; transiente Depolarisation) auf, das zur Faltung der Fiederblättchen der gereizten Pinna führte; die Nachbarfiedern blieben geöffnet. *Verletzung* führte im Gegensatz dazu zu einem Variationspotential (VP), beginnend mit einer Hyperpolarisation. Das VP breitete sich über das gesamte Blatt aus und führte zur Faltung aller Fiedern.

Im Zellturgor in der Epidermis der Rhachis trat nach *Berührung* ein geringfügiger Turgorabfall auf, der vermutlich durch das Aktionspotential verursacht wurde. Infolge von *Verletzung* kam es in der betroffenen Fieder zu einer starken hydraulischen Störung, die vermutlich die Generation des Variationspotentials hervorrief. In den Nachbarfiedern trat dagegen nur ein geringfügiger Turgorabfall in der Rhachis auf, der als Folgeerscheinung des sich ausbreitenden elektrischen Signals interpretiert wurde.

Der Gaswechsel sank, besonders J_{CO_2} , durch die Faltung der Fiedern stark ab. Im Vergleich zum Öffnungszustand Fiederblättchen während der erneuten Entfaltung war die Regeneration von J_{CO_2} und g_{H_2O} deutlich verzögert. Die Fixierung der Fiederblättchen im gespreiztem Zustand führte zunächst zu einer gegensätzlichen Reaktion: In der stomatären Leitfähigkeit trat ein transienter Anstieg auf, gefolgt von einem Abfall unter das Ausgangsniveau. Die Netto-Photosynthese sank abrupt und deutlich ab, gefolgt von einer allmählichen Regeneration zeitgleich mit g_{H_2O} . Messungen der Chlorophyll-Fluoreszenz ergaben einen Rückgang im EQY, der parallel zum Einbruch von J_{CO_2} auftrat.

Obwohl die beiden elektrischen Signale als Veränderungen des Zellpotentials in entgegengesetzter Richtung auftraten, riefen sie prinzipiell die gleiche Reaktion im Gaswechsel und in EQY hervor, wobei die Reaktion auf Verwundung stärker ausgeprägt war als nach *Berührung*. Der längerfristige Wiederanstieg des Gaswechsels ist vermutlich die Folge einer

aktiven Stomatareaktion: Infolge der Reizung kam es durch den Efflux von Ionen und Wasser zum Turgorverlust der Schließzellen, der durch einen aktiven Rücktransport der Ionen ausgeglichen wurde. Die Ergebnisse belegen, daß sowohl das elektrische als auch das hydraulische Signal nicht nur die Faltung der Fiederblättchen verursachen, sondern auch direkten Einfluß auf den Gaswechsel haben.

Synopsis

Es konnte gezeigt werden, daß hydraulische und elektrische Signale sowohl zwischen der Wurzel und dem Sproß als auch auf Blattebene auftreten und Einfluß auf die Reaktion des Gaswechsels haben. In beiden Pflanzen erfolgte die anhaltende, aktive Stomataregulation vermutlich durch das elektrische Signal, das wahrscheinlich die Aktivierung von selektiven Ionenkanälen in der Schließzellenmembran hervorrief. Die transienten, passiven Reaktionen des Gaswechsels waren dagegen eher die Folge hydraulischer Signale, die durch kurzfristige Veränderungen des Druckgleichgewichtes zwischen den Stomata und den angrenzenden Zellen der Blattepidermis verursacht wurden.

7 Summary

The study aims at clarifying the regulation of the leaf gas exchange upon the occurrence of rapid electric and hydraulic signals. The importance of long-distance signals between root and shoot after re-irrigation of drought-stressed maize plants (*Zea mays L.*) was compared with responses to short-distance signals at the leaf level upon seismonastic stimulation (touching or injury) of *Mimosa pudica L.*

Zea mays

As a consequence of soil water content decreasing by 50 to 60 %, the turgor in the epidermal cells decreased in part to below 0.1 MPa. In parallel, the stomatal conductance declined to 50-60 % as compared to the level of unstressed plants. After re-irrigation, a hydraulic signal, indicated by an increase in the cell turgor, was initiated, which was succeeded by a depolarisation of the cell potential in the leaf epidermis. In the leaf gas exchange a two-phase response was observed: After a transient decrease of the net CO₂ uptake rate (J_{CO_2}) and stomatal conductance (g_{H_2O}) both parameters exceeded the level of drought-stress. Additional measurements of the chlorophyll fluorescence showed no response to re-irrigation.

Applying selective compensation, it could be demonstrated that the two signals independently affected the leaf gas exchange:

- Pressurising the root compensated for the hydraulic signal after re-irrigation, whereas the electric signal was not affected. In the gas exchange only a minor increase of J_{CO_2} and g_{H_2O} was documented; an initial transitory decrease (hydropassive stomatal response) was omitted.
- The compensation of the electric signal by leaf cooling restricted the response of the gas exchange to a transitory hydropassive decline. An increase of J_{CO_2} and g_{H_2O} exceeding the drought-stress level did not occur.

Under drought-stress, the leaf water content declined significantly by about 10 %. However, during the first hour after re-irrigation neither T-Ray Imaging nor destructive assessment reflected a significant increase in leaf water content. Regarding the increase of the cell turgor in the epidermis, the water influx into the leaf after re-irrigation appears to be balanced by the increased leaf transpiration.

Despite the stomatal opening, the gas exchange did not reach the level of well-irrigated plants. This might be caused by an accumulation of abscisic acid in the apoplast of the guard

cells under persisting drought. The substrat-exchanging transport systems of the guard cell membranes might, therefore, stay inhibited after re-irrigation, and as a result, the increase of J_{CO_2} and g_{H_2O} remained restricted.

Mimosa pudica

Immediately after *touching* the tip of the observed pinna, an action potential (depolarisation) appeared in the epidermis of the rhachis and the leaf lamina, provoking the unfolding of the leaflets. In contrast, the neighbouring pinnae were not affected. Upon *injury*, however, a variation potential (beginning with a hyperpolarisation) was observed, which spread across the entire leaf and was succeeded by unfolding of the neighbouring pinnae.

Upon *touching*, only a minor decrease of cell turgor occurred in the epidermis of the rhachis and was probably determined by the electric signal. In contrast, *injury* caused a hydraulic disruption in the affected pinna, which appears to trigger the variation potential. In the neighbouring pinnae only a delayed, minor decrease of the cell turgor was observed, which was interpreted as a result of the spreading electric signal.

If the leaflets inside the gas exchange cuvette closed due to stimulation, a rapid decline occurred, in particular, in J_{CO_2} . Unlike the gradual unfolding of the leaflets, the recovery of the gas exchange was delayed. When preventing unfolding by leaflet fixation, stomatal conductance distinctly increased and then was followed by a gradual decline. In parallel, both the CO_2 uptake rate and the Electron Quantum Yield (EQY) displayed significant decreases immediately after excitation.

Although the two electric signals affected the cell potential in opposite ways, the gas exchange and EQY displayed similar responses. However, upon injury the response was more instinct upon injury as compared to touching. The long-term recovery of J_{CO_2} and g_{H_2O} appears to be caused by active stomatal regulation: Upon stimulation, an efflux of ions and water probably determined turgor loss in the guard cells - an effect to be counterbalanced through an active return transport. In summary, it is concluded that electric and hydraulic signals not only determine the folding movements of the leaflets, but also trigger accompanying changes in photosynthesis and stomatal conductance.

Synopsis

It is demonstrated that hydraulic and electric alterations both function as long-distance signals between root and shoot and communicate short-distance signals within leaves. At both scales, leaf gas exchange is affected. In *Zea mays* and *Mimosa pudica* the long-term,

Summary

physiological regulation of the stomata appears to be triggered by the electric signal, determining the activation of ion channels in the plasmalemma of the guard cells. In contrast, the transitory, hydropassive response of the leaf gas exchange is regarded to be determined by the hydraulic signal and depends on temporary imbalances in the tissue pressure between the stomata and the adjacent epidermal cells.

8 Literaturverzeichnis

Abe T., Oda K. (1976): Resting and action potentials of excitable cells in the main pulvinus of *Mimosa pudica*. *Plant and Cell Physiology*, 17: 1343-1346.

Beardsell M.F., Cohen, D. (1975): Relationship between leaf water status, abscisic acid levels, and stomatal resistance in maize and sorghum. *Plant Physiology* 56: 207-212.

Blackman P.G., Davies W.J. (1985): Root to shoot communication in maize plants of the effects of soil drying. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 36, No. 162: 39-48.

Blom Z.M., Koot H., Van Hattum J., Vogelzang S.A. (1997): Transient light-induced changes in ion channel and proton pump activities in the plasma membrane of tobacco mesophyll protoplasts. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 48, No. 314: 1623-1630.

Bowling, D.J.F., Smith G.N. (1990): Apoplastic transport in the leaf epidermis in relation to stomatal activity. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 186: 309-316.

Bulychev A.A., Niyazova M.M., Rubin A.B. (1987): Fluorescence changes in chloroplasts caused by the shifts of membrane potential and their dependence on the redox state of the acceptor of photosystem II. *Biologicheskie Membrany* 4 (3): 262-269.

Cermak J., Matyssek R., Kucera J. (1993): Rapid response of large, drought-stressed beech trees to irrigation. *Tree physiologie* 12:281-290.

Comstock J.P. (2002): Hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and transpiration. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 53, No. 367: 195-200.

Cosgrove D.J., Hedrich R. (1991): Stretch-activated chloride, potassium and calcium channels coexisting in plasma membranes of guard cells of *Vicia faba* L.. *Planta* 186: 143-153.

Davies W.J., Mansfield T.A. (1988): Abscisic acid and drought resistance in plants. *ISI Atlas of Science: Plant & Animals*, Vol. 1: 263-269.

Davies W.J., Zhang J. (1991): Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42:55-76.

Dörffling K., Streich J., Kruse W., Muxfeldt M. (1977): Abscisic acid and the after-effect of water stress on stomatal opening potential. *Z. Pflanzenphysiol.*, Bd. 81: 43-56.

Edwards M.C., Smith G.N., Bowling D.J.F. (1988): Guard cells extrude protons prior to stomatal opening-A study using fluorescence microscopy and pH micro-electrodes. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 39, No. 208: 1541-1547.

Fairley-Grenot K.A., Assmann S.M. (1992): Whole-cell K⁺ current across the plasma membrane of guard cells from a grass: *Zea mays*. *Planta* 186: 282-293.

- Fairley-Grenot K.A., Assmann S.M.** (1993): Comparison of K⁺-channel activation and deactivation in guard cells from a dicotyledon (*Vicia faba* L.) and a graminaceous monocotyledon (*Zea mays* L.). *Planta* 189: 410-419.
- Felle H.H., Hanstein S.** (2002): The apoplastic pH of the substomatal cavity of *Vicia faba* leaves and its regulation responding to different stress factors. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 53, No. 336: 73-82.
- Fisahn J., Hansen U.-P.** (1986): The influence of temperature on a K⁺-channel and on a carrier-type transporter in *Nitella*. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 37, No. 177: 440-460.
- Fleurat-Lessard P.** (1988): Structural and ultrastructural features of cortical cells in motor organs of sensitive plants. *Biological Review* 63: 1-22.
- Fleurat-Lessard P., Roblin G.** (1988): Rapid motility in leaf pulvini: involvement of definite cytoskeletal elements. In: *Intra- and Intercellular Communications in Reception-Transmission-Storage and Expression of Messages* (eds B. Millet, H. Greppin), pp. 51-62. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris.
- Fleurat-Lessard P., Bouche-Pillon S., Leloup C., Bonnemain J.-L.** (1997a): Distribution and activity of the plasma membrane H⁺-ATPase in *Mimosa pudica* L. in relation to ionic fluxes and leaf movements. *Plant Physiology* 133: 747-754.
- Fleurat-Lessard P., Frangne N., Maeshima M., Ratajczak R., Bonnemain J.-L., Martinoia M.** (1997b): Increased expression of vacuolar aquaporin and H⁺-ATPase related to motor cell function in *Mimosa pudica* L.. *Plant Physiology* 114: 827-834.
- Fondeville J.C., Borthwick H.A., Hendricks S.B.** (1966): Leaflet movement of *Mimosa pudica* L. indicative of phytochrome action. *Planta* 69: 357-364
- Freudling C., Starrach N., Gradmann D., Mayer W.-E.** (1988): Cell walls as reservoirs of potassium ions for reversible volume changes of pulvinar motor cells during rhythmic leaf movements. *Planta* 175: 193-203.
- Franks P.J., Cowan I.R., Farquhar G.D.** (1998): A study of stomatal mechanics using the cell pressure probe. *Plant, Cell and Environment* 21: 94-100.
- Fromm J.** (1986): Untersuchungen zum Assimilattransport in ungereizten und gereizten Blattgelenken von *Mimosa pudica*. Dissertation, Forstliche Fakultät, Universität Göttingen.
- Fromm J., Eschrich W.** (1988). Transport processes in stimulated and non-stimulated leaves of *Mimosa pudica*.
- (a) I: The movement of ¹⁴C-labelled photoassimilates. *Trees* 2: 7-17.
- (b) II: Energenesis and transmission of seismic stimulations. *Trees* 2: 18-24.

(c) II: Displacements of ions during seismonastic movements. *Trees* 2: 65-72.

Fromm J., Spanswick R. (1993): Characteristics of action potentials in willow (*Salix viminalis* L.). *Journal of Experimental Botany*, Vol. 44, No. 264: 1119-1125.

Fromm J., Bauer T. (1994): Action potentials in maize sieve tubes change phloem translocation. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 45, No. 273: 463-469.

Fromm J., Fei H. (1998): Electrical signaling and gas exchange in maize plants of drying soil. *Plant Science* 132: 203-213.

Genty B., Briantais J.-M., Baker N.R. (1989): The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* 990: 87-92.

Gerendas J., Schurr U. (1999): Physiochemical aspects of ion relations and pH regulation in plants - a quantitative approach. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 5, No. 336: 1101-1114.

Gollan T., Passioura J.B., Munns R. (1986): Soil water status affects the stomatal conductance of fully turgid wheat and sunflower leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* 13: 459-464.

Gollan T., Schurr Z., Schulze E.-D. (1992): Stomatal response to drying soil in relation to changes in the xylem sap composition of *Helianthus annuus*. I. The concentration of cations, anions, amino acids in, and pH of, the xylem sap. *Plant, Cell and Environment* 15: 551-559.

Grabov A., Blatt M. (1998): Co-ordination of signalling elements in guard cell ion channel control. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 49, Special Issue: 351-360.

Hadjiloucas S., Karatzas L.S., Bowen J.W. (1999): Measurements of leaf water content using terahertz radiation. *IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques*, Vol.47, No. 2: 142-149.

Haeder D-P. (1999): Photosynthese. Thieme Verlag, Stuttgart.

Hartung W., Radin J.R., Hendrix D.L. (1988): Abscisic acid movements into the apoplastic solution of water stressed cotton leaves. *Plant Pysiol.* 86: 908-913.

Hartung W., Radin W.J. (1989): Abscisic acid in the root xylem sap of water stressed plants: the significance of pH gradients. *Current Topics in Plant Biochemistry and Physiology*, Vol. 8: 110-124.

Hartung W., Wilkinsin S., Davies W.J. (1998): Factors that regulate abscisic acid concentrations at the primary site of action at the guard cell. *Journal of Experimental Botany* Vol. 49, Special Issue: 361-367.

Hedrich R., Schroeder J.I. (1989): The physiology of ion channels and electrogenic pumps in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* 40: 539-569.

- Hoddinott J.** (1977): Rates of translocation and photosynthesis in *Mimosa pudica* L.. *New Phytologist* 79, 269-272.
- Ilan N., schwartz A., Moran N.** (1994): External pH effects on the depolarisation-activated K channels in guard cell protoplasts of *Vicia faba*. *J. Gen. Physiol*, Vol. 103: 807-831.
- Iwanoff L.** (1928): Zur Methodik der Transpiationsbestimmung am Standort. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 46: 306-310.
- Kumon K., Suda S.** (1984): Ionic fluxes from pulvinar cells during the rapid movement of *Mimosa pudica* L.. *Plant and Cell Physiology* 25 (6): 975-979.
- Kumon K., Suda S.** (1985): Changes in extracellular pH of the motor cells of *Mimosa pudica* L. during movement. *Plant and Cell Physiology* 26 (2): 375-377.
- Lasceve G., Couchat P., Vavasseur A., Bossy J.P.** (1987): Changes in K⁺, Cl⁻ and P contents in stomata of zea mays leaves exposed to different light and CO₂ levels. *Physiologia Plantarum* 69: 709-715.
- Leung J., Giraudat J.** (1998): Abscisic acid signal transduction. *Annu. Rev. Plant PhysiolPlant Mol. Biol.* 49: 199-222.
- MacRobbie E.A.C., Lettau J.** (1980): Potassium content and aperture in "intact" stomatal and epidermal cells of *Commelina communis* L. *Journal of Membrane Biology* 56: 249-256.
- MacRobbie E.A.C.** (1988): Control of ion fluxes in stomatal guard cells. *Botanica Acta* 101: 140-148.
- MacRobbie E.A.C.** (1998): Signal transduction and ion channels in guard cells. *Phil. Trans. R. Soc. London* 353: 1475-1488.
- Malone M., Stankovic B.** (1991): Surface potentials and hydraulic signals in wheat leaves following localized wounding by heat. *Plant, Cell and Environment* 14: 431-436
- Malone M.** (1994): Wound-induced signals and stimulus transmission in *Mimosa pudica* L.. *New Phytologist* 128: 49-56.
- Matyssek R., Günthardt-Goers, M. S., Keller, T., Scheidegger, C.** (1991a): Impairment of the gas exchange and structure in birch leaves (*Betula pendula*) caused by low ozone concentrations. *Trees* 5: 5-13
- Matyssek R., Maruyama S., Boyer J.S.** (1991b): Growth-induced water potentials may mobilize internal water for growth. *Plant, Cell an Environment* 14: 917-923.
- Matyssek M., Tang A.-C., Boyer J.S.** (1991c): Plants can grow on internal water. *Plant, Cell an Environment* 14: 925-930.

- Mayer W.E., Betz S., Schoeffel S.** (1994): Are K⁺ channels and H⁺-ATPase of the plasma membrane involved in control and generation of circadian rhythmicity in pulvinar motor cells of phaseolus ? *Biological Rhythm Research* 25 (3): 301-314.
- Mühling K.H., Läuchli A.** (2000): Light-induced pH and K⁺ changes in the apoplast of intact leaves. *Planta* 21: 9-15.
- Niyazova M.M., Bulychev A.A.** (1990): Reversible fall in the yield of fluorescence of chlorophyll a on generation of an action potential in the cells of the Liverwort anthoceros. *Biophysics* 34 (2): 290-293.
- Nuss M.C.** (1992): Zeitaufgelöste Terahertz-Spektroskopie. *Pys. Bl.* 48, No. 6 :469-471.
- Nuss M.C.** (1996): Chemistry is right for T-ray imaging. *IEEE Circuits & Devices*, März 1999: 25-30.
- Okihara K., Ohkawa T.-A., Tsutsui I., Kasai M.** (1991): A Ca²⁺- and voltage-dependent CL⁻-sensitive anion channel in the *Chara* plasmalemma: a patch-clamp study. *Plant and Cell Physiology* 32 (5): 593-601.
- Pallaghy C.K.** (1971): Stomatal movement and potassium transport in epidermal stripes of *Zea mays*: The effect of CO₂. *Planta* 101: 287-295.
- Penny M.G., Bowling D.J.F.** (1974): A study of potassium gradients in the epidermis of intact leaves of *Commelina communis* L. in relation to stomatal opening. *Planta* 119: 17-25.
- Penny M.G., Kelday L.S., Bowling D.J.F.** (1976): Active chloride transport in the leaf epidermis of *Commelina communis* L. in relation to stomatal opening. *Planta* 130: 291-294.
- Ramahaleo T., Alexandre J. Lassalles J.-P.** (1996): Stretch activated channels in plant cells. A new model for osmoelastic coupling. *Plant Physiol Biochem.* 34 (3): 327-334.
- Raschke K.** (1970a): Leaf hydraulic system: rapid epidermal and stomatal responses to changes in water supply. *Science*, Vol. 167: 189-191.
- Raschke K.** (1970b): Stomatal response to pressure changes and interruptions in the water supply of detached leaves of *Zea mays* L.. *Plant Physiology* 45: 415-423.
- Raschke K. , Fellows M.P.** (1971): Stomatal movement in *Zea mays*: Shuttle of potassium and chloride between guard cells and subsidiary cells. *Planta* 101: 296-316.
- Satter R.L., Galston A.W.** (1981): Mechanisms of control of leaf movements. *Annual Review of Plant Physiology* 32: 83-110.
- Satter R.L., Garber R.C., Khairallah L., Cheng Y.-S.** (1982): Elemental analysis of freeze-dried sections of *Samanea* motor organs: barriers to ion diffusion through the apoplast. *Journal of Cell Biology* Vol. 95: 893-902.

- Sauter A., Davies W.J., Hartung W.** (2001): The long-distance abscisic acid signal in the droughted plant: the fate of the hormone on its way from root to shoot. *Journal of Experimental Botany* Vol. 529, No. 363: 1991-1997.
- Schildknecht H.** (1983): Turgorine, Hormone der endogenen Tagesrhythmik hoher organisierter Pflanzen- Nachweis, Isolierung, Strukturaufklaerung, Synthese und Wirkung. *Angewandte Chemie* 95. Jahrgang Heft 9: 689-705.
- Srivastava L.M., Singh A.P.** (1972): Stomatal structure in corn leaves. *Journal of Ultrastructure Research* 39:345-363.
- Schroeder J.I., Raschke K., Neher E.** (1987): Voltage dependence of K⁺ channels in guard-cell protoplasts. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* Vol. 84: 4108-4112.
- Schurr U.** (1991): Die Wirkung von Bodentrockenheit auf den Xylem- und Phloemtransport von *Ricinus communis* und deren Bedeutung für die Interaktion zwischen Wurzel und Sproß Inaugural-Dissertation, Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften, Universität Bayreuth.
- Stahlberg R., Cosgrove D.J.** (1996): Induction and ionic basis on slow wave potentials in seedlings of *Pisum sativum* L. *Planta* 200: 416-425.
- Stahlberg R., Cosgrove D.J.** (1997): The propagation of slow wave potentials in pea epicotyls. *Plant Physiology* 113: 209-217.
- Stedle E.** (1993): Pressure probe technique: basic principles and applications to studies of water and solute relations at the cell, tissue and organ level. In: *Water Deficits: Plant Responses from Cell to Community* (eds J.A.C. Smith and H. Griffith), pp. 5-36. BIOS Scientific Publishers, Oxford.
- Stoeckel H., Takeda K.** (1993): Plasmalemmal, voltage-dependent ionic currents from excitable pulvinar motor cells of *Mimosa pudica*. *Journal of Membrane Biology* 131: 179-192.
- Tamiya T., Miyazaki T., Ishikawa H., Iriguchi N., Maki T., Matsumoto J.J., Tsuchiya T.** (1988): Movement of water in conjunction with plant movement visualised by NMR imaging. *Journal of Biochemistry* 104: 5-8.
- Tardieu F., Simonneau T.** (1988): Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporation demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours.
- Tinz-Fuechtmeier A., Gradmann D.** (1990): Laser-Interferometric re-examination of rapid conductance of excitation in *Mimosa pudica*. *Journal of Experimental Botany* Vol. 49, Special Issue: 419-432.

- Tinz-Fuechtmeier A., Gradmann D.** (1990): Laser-Interferometric re-examination of rapid conductance of excitation in *Mimosa pudica*. *Journal of Experimental Botany* Vol. 41, No. 222: 15-19.
- Toriyama H., Jaffe M.J.** (1972): Migration of calcium and its role in the regulation of seismonasty in the motor cell of *Mimosa pudica* L.. *Plant Physiology* 49: 72-81.
- Travis A.J., Mansfield T.A.** (1977): Studies of malate formation in 'isolated' guard cells. *New Phytologist* 78: 541-546.
- Turner N.C., Schulze E.-D., Gollan T.** (1985): The response of stomata and leaf gas exchange to vapour pressure deficits and soil water content. II: In the mesophytic herbaceous species *Helianthus annuus*. *Oecologia* 65: 348-355.
- Ueda M., Yamamura S.** (2000): Chemie und Biologie der Blattbewegungen. *Angewandte Chemie* 112: 1456-1471.
- Vanden-Driessche T.** (2000): Nutations in shoots and in desmodium lateral leaflets, nyctinastism and seismonastism in *Mimosa pudica*. Comparison and evolution of morphology and mechanism. *Biological Rhythm Research* Vol. 31 No. 4: 451-468.
- Vavasseur A., Garrec J.-P., Laffray D.** (1984): Electronic microprobe study of variation in potassium concentration of stomatal complexes of two Commelinaceae. *Physiol. Veg.* 22(6): 841-849.
- Van Kirk C.A., Raschke K.** (1978): Release of malat from epidermal stripes during stomatal closure. *Plant Physiol.* 61: 474-475.
- Vogelzang S.A., Prins H.B.A.** (1994): Patch clamp analyses of the dominant plasma membrane K⁺ channel in root cell protoplasts in *Plantago media* L. its significance for the P and K state. *Journal of Membrane Biology* 141 (2): 113-122.
- Von Willert D.J., Matyssek R., Herppich W.** (1995): Experimentelle Pflanzenökologie. Grundlagen und Anwendungen. Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
- Ward J.M., Pei Z.-M., Schroeder J.I.** (1995): Roles of ion channels in initiation of signal transduction in higher plants. *The Plant Cell*, Vol. 7: 833-844.
- Wegener L.H., Zimmerman 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.

- Westgate M.E., Steudle E.** (1985): Water transport in the midrib of maize leaves. *Plant Physiology* 78: 183-191.
- Wilhelm B., Majore I., Marten I.** (2000): Identification of K⁺ uptake channels in subsidiary cells from maize. *Plant Physiology and Biochemistry* 38 (Supplement S17-17): 165.
- Wilkinsin S., Davies W.J.** (1997): Xylem sap pH increase: a drought signal received at the apoplastic face of the guard cell that involves the suppression of saturable abscisic acid uptake by the epidermal symplast. *Plant Physiology* 113: 559-573.
- Wilkinsin S.** (1999): pH as a stress signal. *Plant Growth Regulation* 29: 87-99.
- Wille A.C., Lucas W.J.** (1984): Ultrastructural and histochemical studies on guard cells. *Planta* 160: 129-142.
- Willmer C., Fricker M.** (1996): Stomata. Second edition, Chapman & Hall, London.
- Wantabe S., Sibaoka T.** (1973): Site of photo-reception to opening response in *Mimosa* leaflets. *Plant and Cell Physiology* 14: 1221-1224.
- Yao C., Moreschet S., Aloni B.** (2001): Water relations and hydraulic control of stomatal behaviour in bell pepper plant in partial soil drying. *Plant, Cell and Environment* 24 (2): 227-236.
- Yoshida S., Matsuura-Endo C.** (1991): Comparison of temperature dependency of tonoplast proton translocation between plants sensitive and insensitive to chilling. *Plant Physiology* 95 (2): 504-508.
- Zeevart J.A.D., Creelman R.A.** (1988): Metabolism and physiology of abscisic acid. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 39: 439-473.
- Zhang J., Davies W.J.** (1990): Changes in the concentration of ABA in xylem sap as a function of changing soil water status can account for changes in leaf conductance and growth. *Plant, Cell and Environment* 13: 227-285.
- Zimmermann U., Hüskén D., Schulze E.-D.** (1980): Direct turgor pressure measurements in individual leaf cells of *Tradescantia virginiana*. *Planta* 149: 445-453.

9 Anhang

Gaswegeplan des Miniküvetten-Systems:

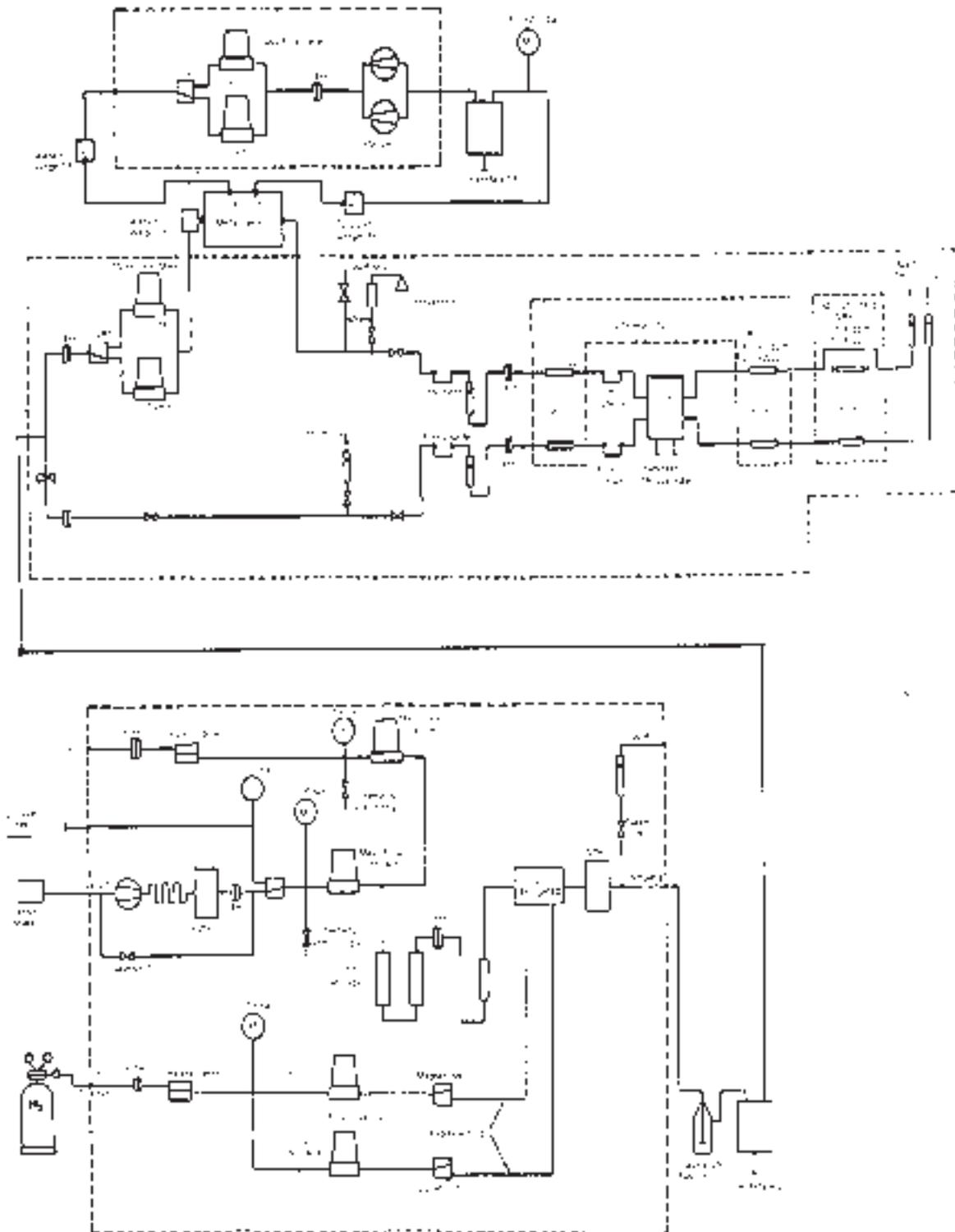


Abb. 9.1: Gaswegeplan des Miniküvetten-Systems zur Messung des Blattgaswechsels an Mais.

Fig. 9.1: Pneumatic set-up of the minicuvette system used for measurement of leaf gas exchange in maize.

Gaswegeplan des Porometers (CQP 130):

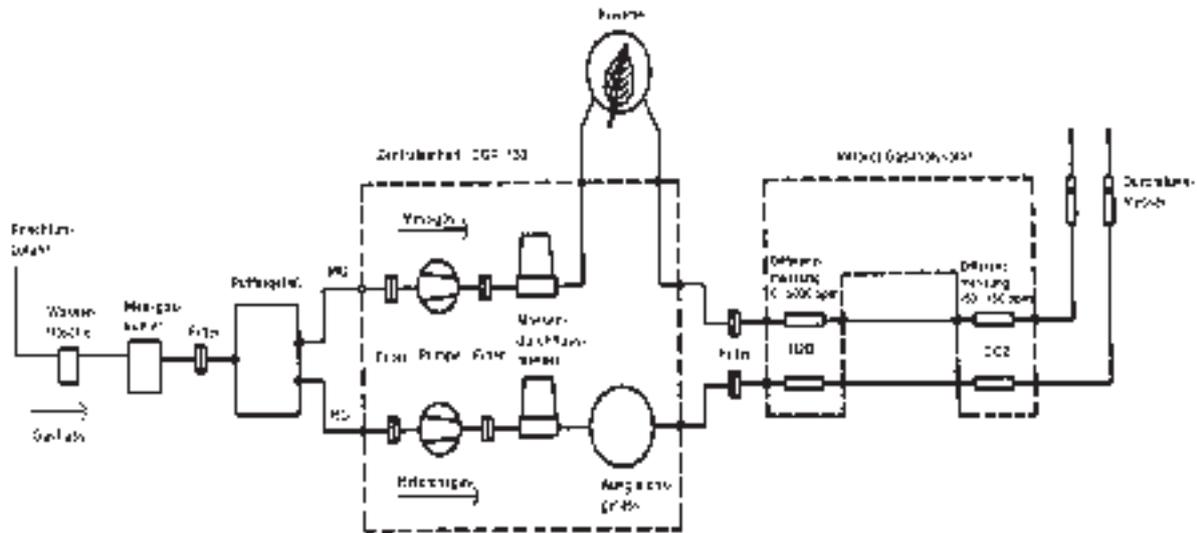


Abb. 9.2: Gaswegeplan des Porometers CQP 130 zur Messung des Blattgaswechsels an Mais und Mimose.

Fig. 9.2: Pneumatic set-up of the diffusion CO₂/H₂O-porometer CQP 30 used for measurements of leaf gas exchange in Zea mays and Mimosa pudica.

Herstellernachweis der verwandten Chemikalien:

Name	Charge	Hersteller
KCl-Agar		
Kalium-Chlorid (KCl); 99.5%	K23982436737	Merck, Darmstadt, Deutschland
Agar	1241	Behrens & Co., Hamburg, Deutschland

Tab. 9.1: Herstellernachweis der Chemikalien, die bei den Zellpotentialmessungen verwandt wurden.

Table 9.1: Manufacturer register of the chemicals used for the assessment of cell potential.

Kalibrierkurve der Theta-Probe zur Bestimmung des Bodenwassergehaltes (swc):

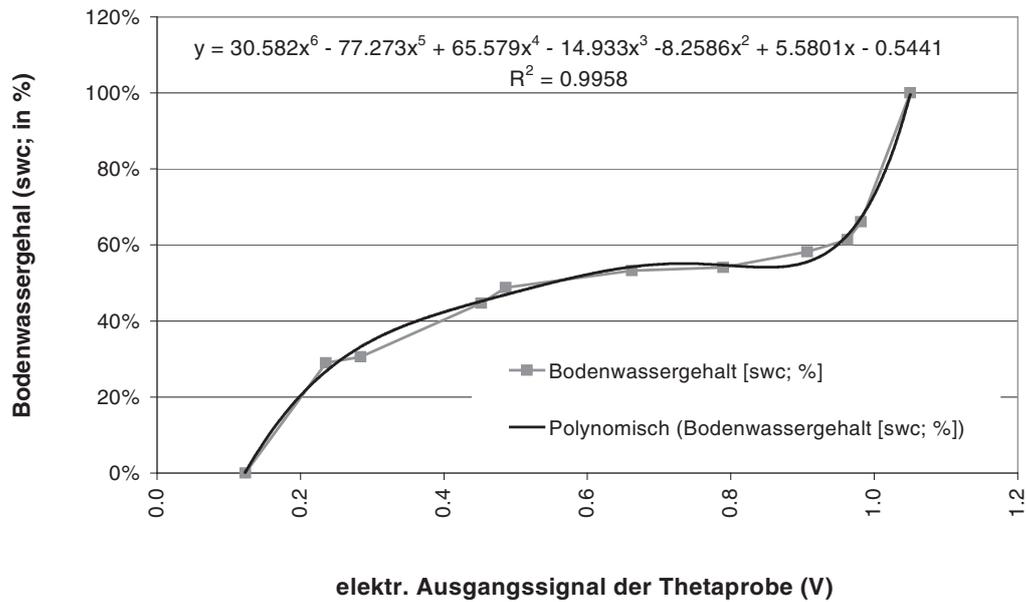


Abb. 9.3: Kalibrierkurve und Regressionsfunktion der Thetaprobe zur Bestimmung des Bodenwassergehaltes (swc).

Fig. 9.3: Calibration curve and its regression function of the Thetaprobe, used for the determination of soil water content (swc).

Kalibrierkurve des Druckaufnehmers an der Wurzeldruckkammer :

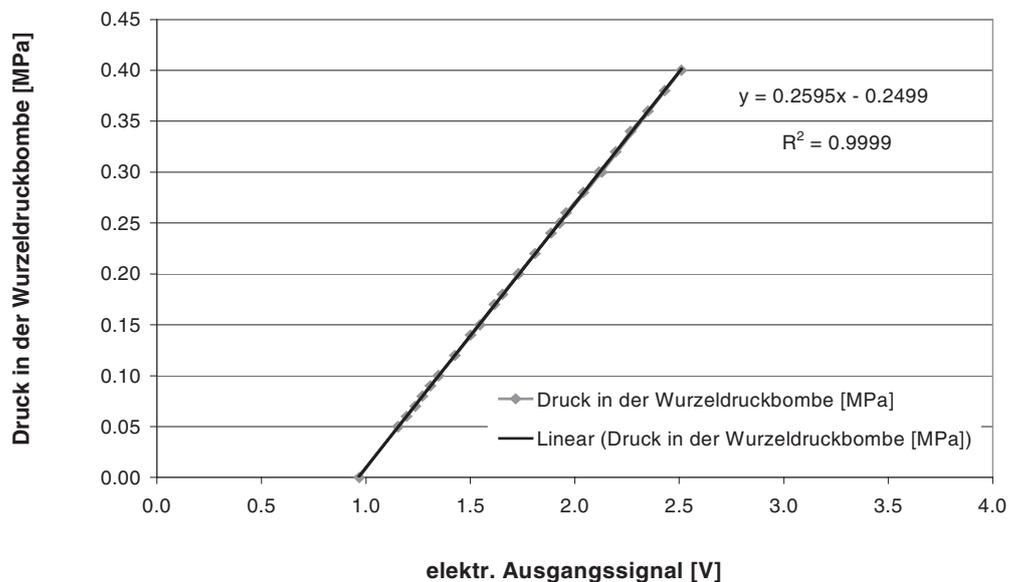


Abb. 9.4: Kalibrierkurve und Regressionsfunktion des Druckaufnehmers an der Wurzeldruckkammer zur Kontrolle der Höhe des applizierten Überdrucks an der Wurzel der Maispflanzen.

Fig. 9.4: Calibration curve and its regression function of the pressure transducer at the root pressure chamber, used for the monitoring of the pressure applied to the root of maize plants.

Versuchsaufbau zur Terahertz-Messung mit Verlauf des Strahlenganges

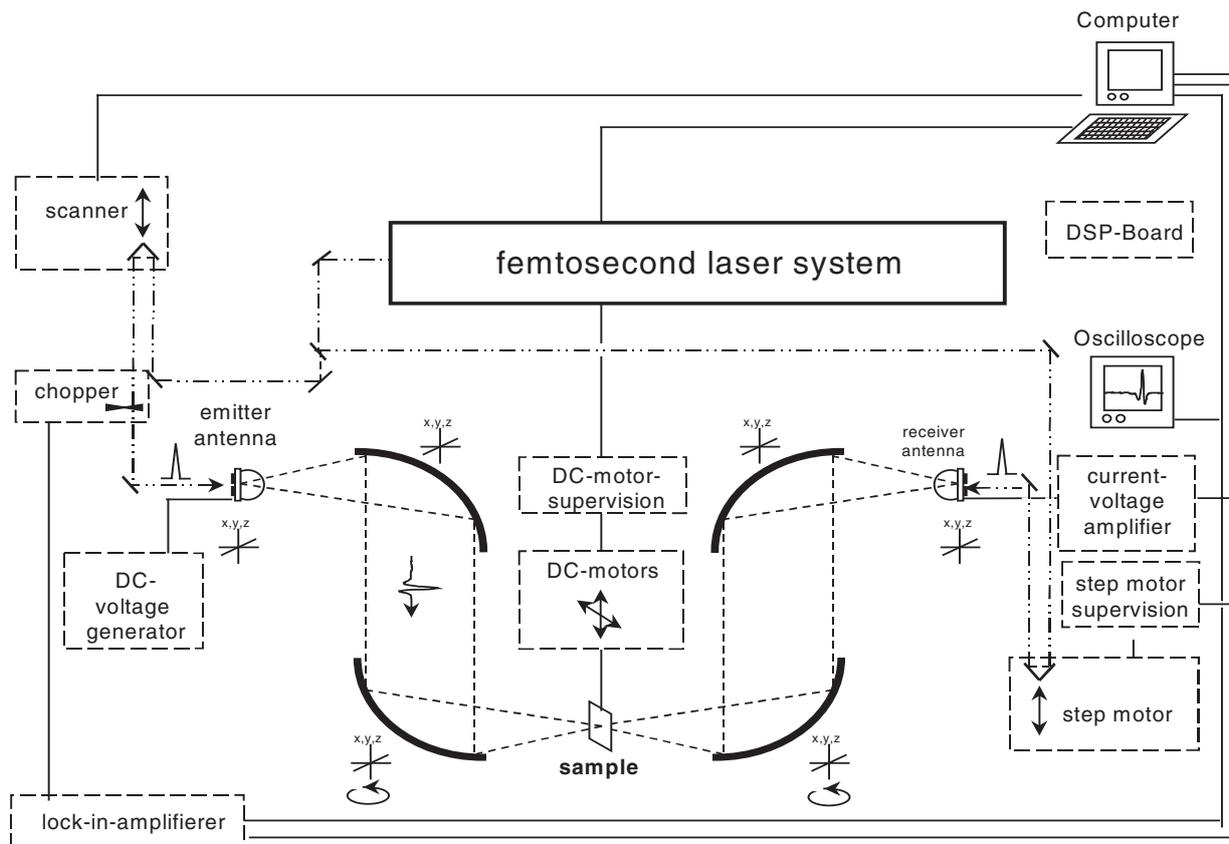


Abb. 9.5: Versuchsaufbau des Terahertz-Messplatzes sowie der Verlauf des Strahlenganges; nach P. Knobloch, Institut für Hochfrequenztechnik, TU Braunschweig.

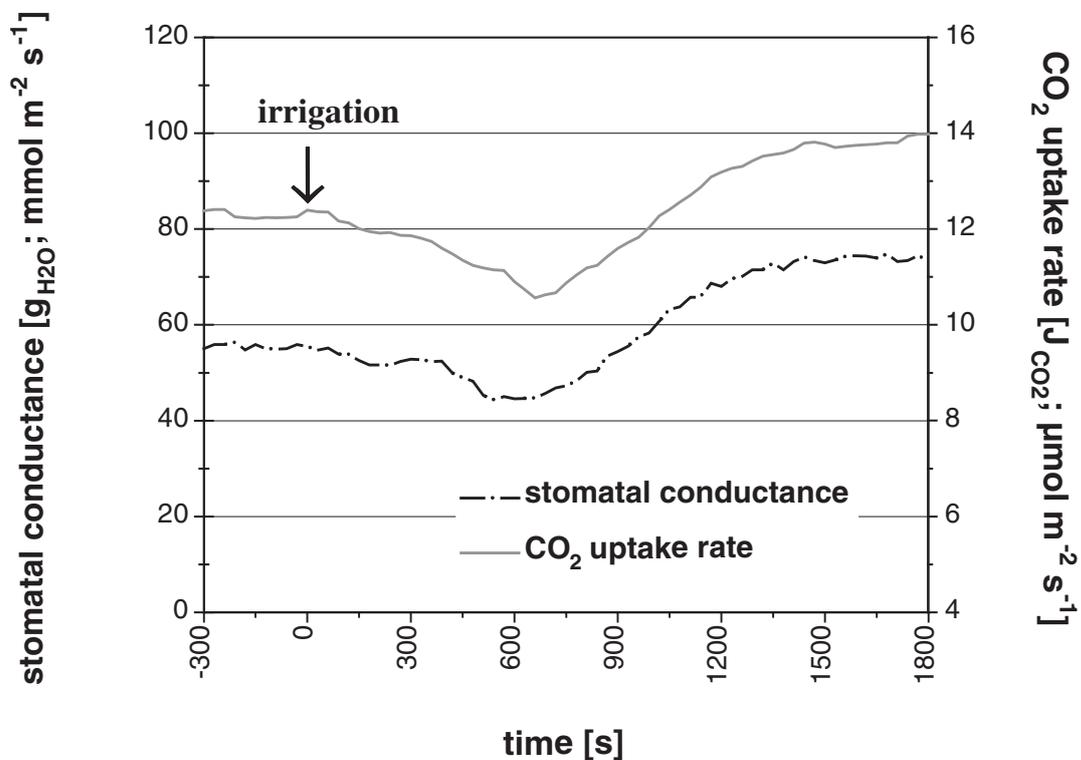
Fig. 9.5: Experimental setup of the Terahertz methodology and the path of the measuring ray; after P. Knobloch, Institut für Hochfrequenztechnik, TU Braunschweig.

Zusatzkurven:

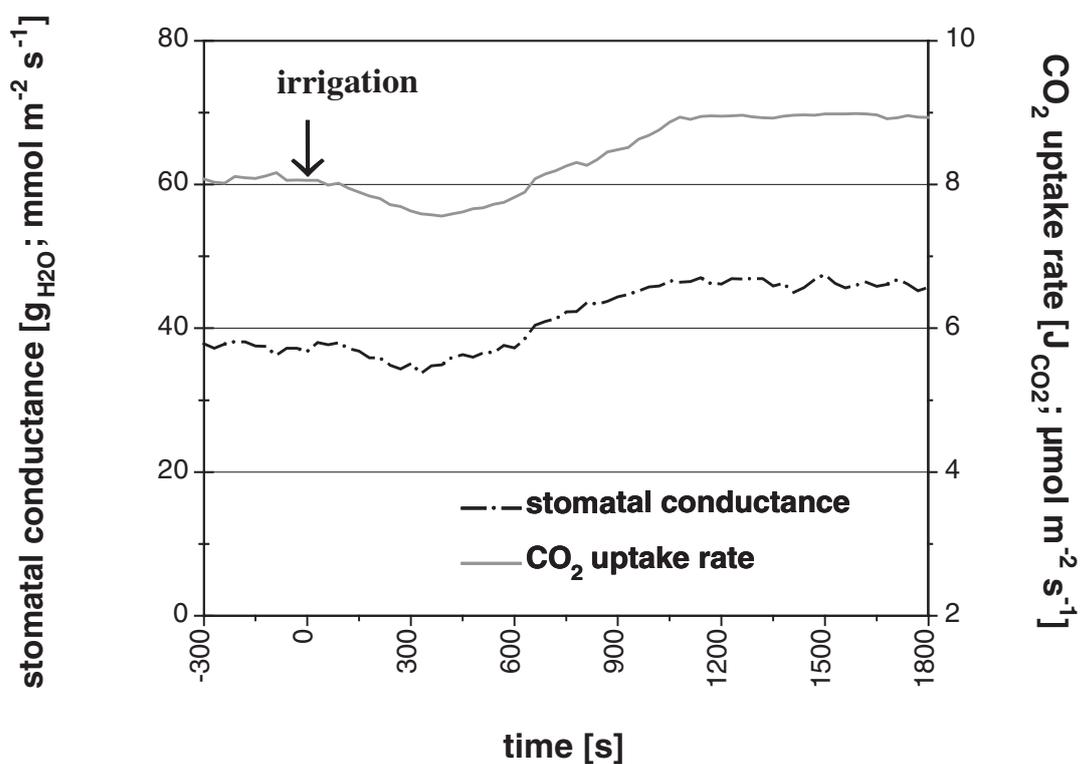
I) Mais

A) Reaktion im Gaswechsel auf Wiederbewässerung unter Atmosphärendruck:

1)



2)



3)

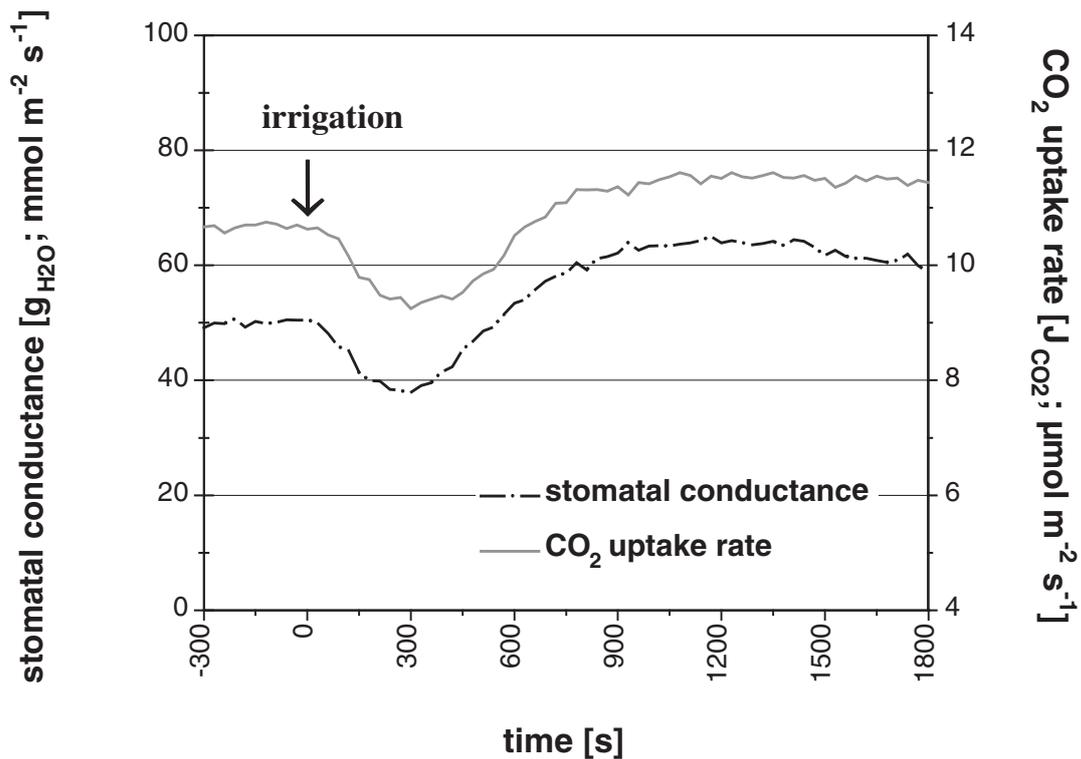
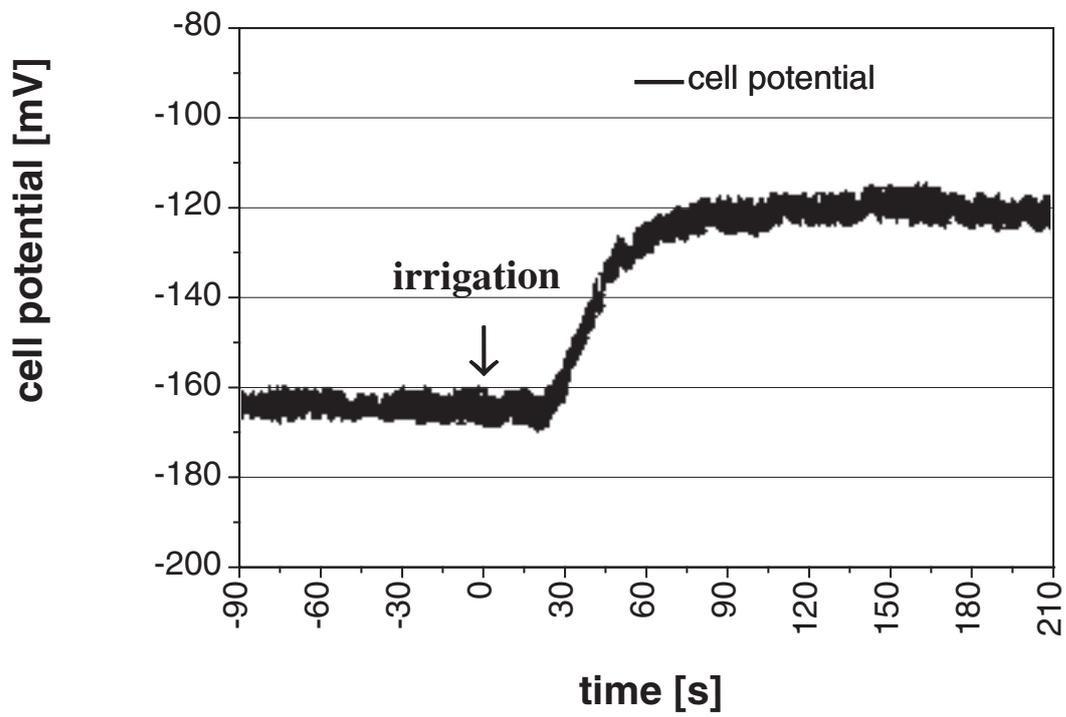


Abb. 9.6: (1)-(3): Repräsentative Reaktion der Netto-Photosyntheserate ($J_{\text{CO}_2}; \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit ($g_{\text{H}_2\text{O}}; \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung. Die Pfeile markieren die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$.

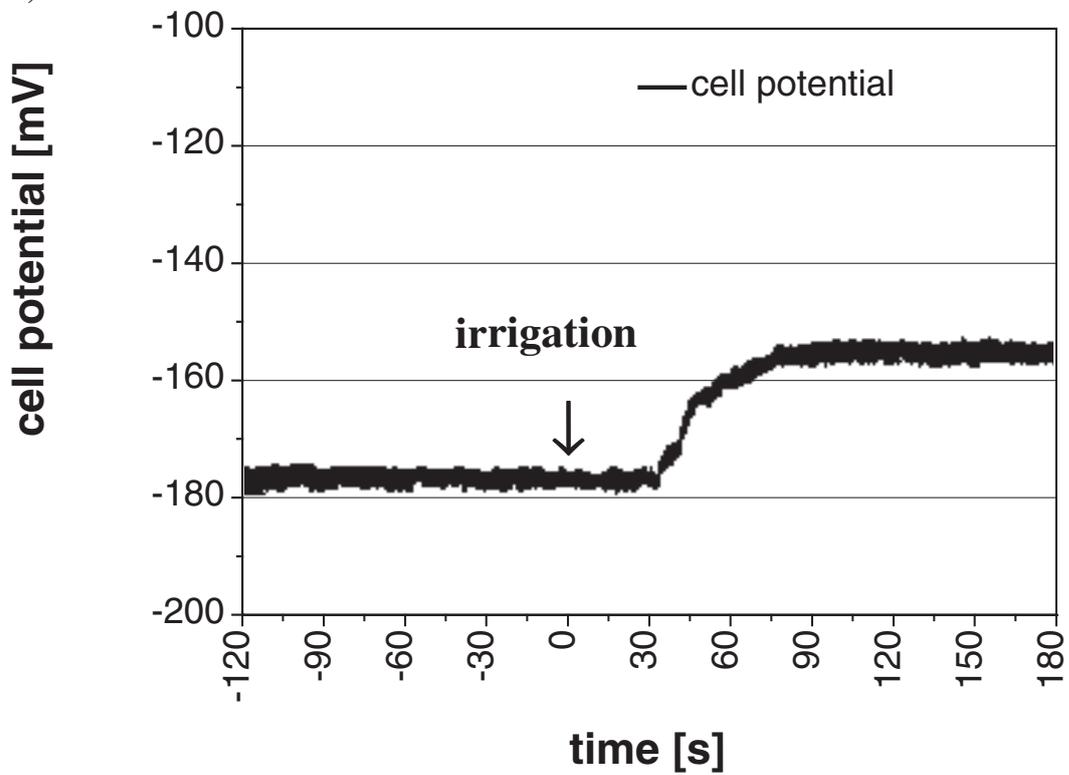
Fig. 9.6: (1)-(3): Representative response of the net CO_2 uptake rate ($J_{\text{CO}_2}; \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and the stomatal conductance ($g_{\text{H}_2\text{O}}; \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of a drought-stressed maize plant to re-irrigation. Arrows denote the instant of irrigation at time zero.

B) Reaktion des Zellpotentials auf Wiederbewässerung unter Atmosphärendruck:

1)



2)



3)

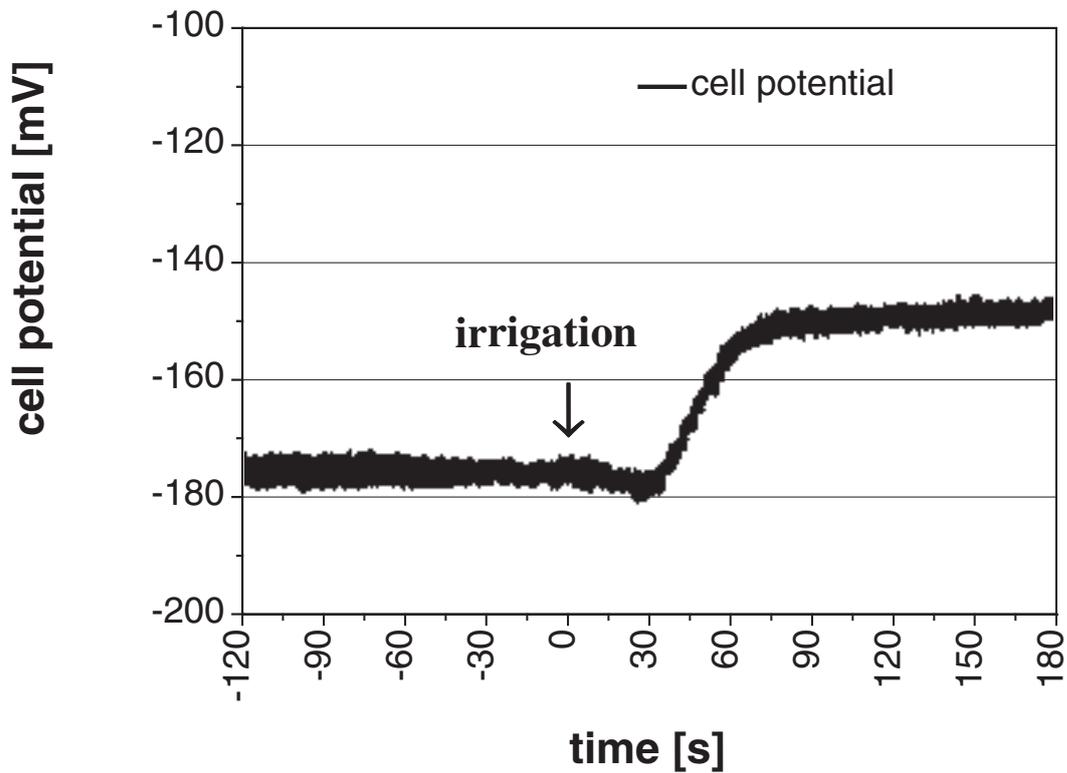
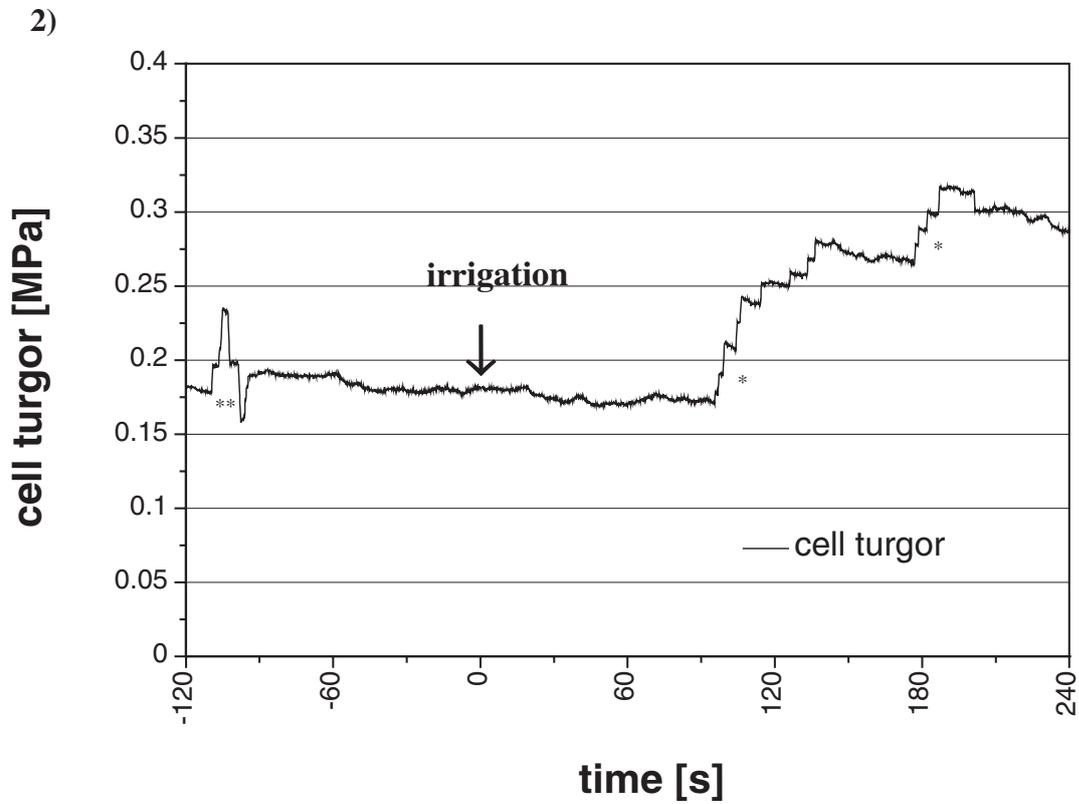
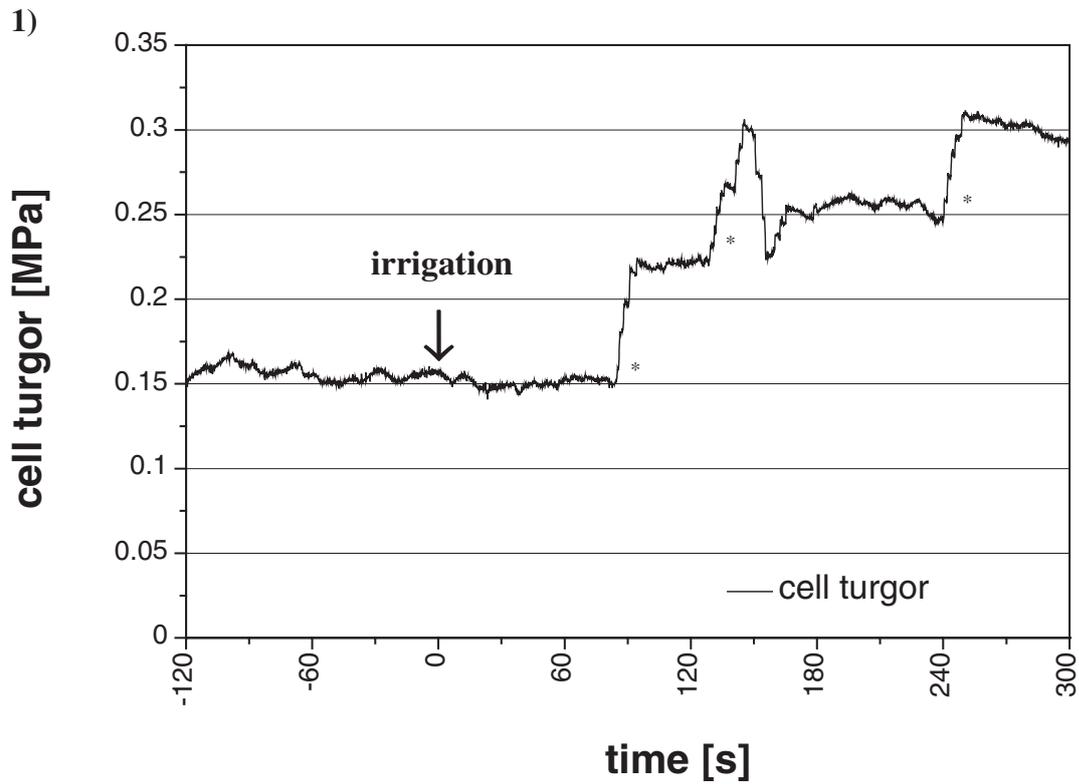


Abb. 9.7: (1)-(3): Repräsentative Reaktion des Zellpotentials in der Blattepidermis einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung. Die Pfeile markieren die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 9.7: (1)-(3): Representative response of the cell potential, measured in the leaf epidermis of a drought-stressed maize plant, to re-irrigation. Arrows denote the instant of irrigation at time zero.

C) Reaktion des Zellurgors auf Wiederbewässerung unter Atmosphärendruck:



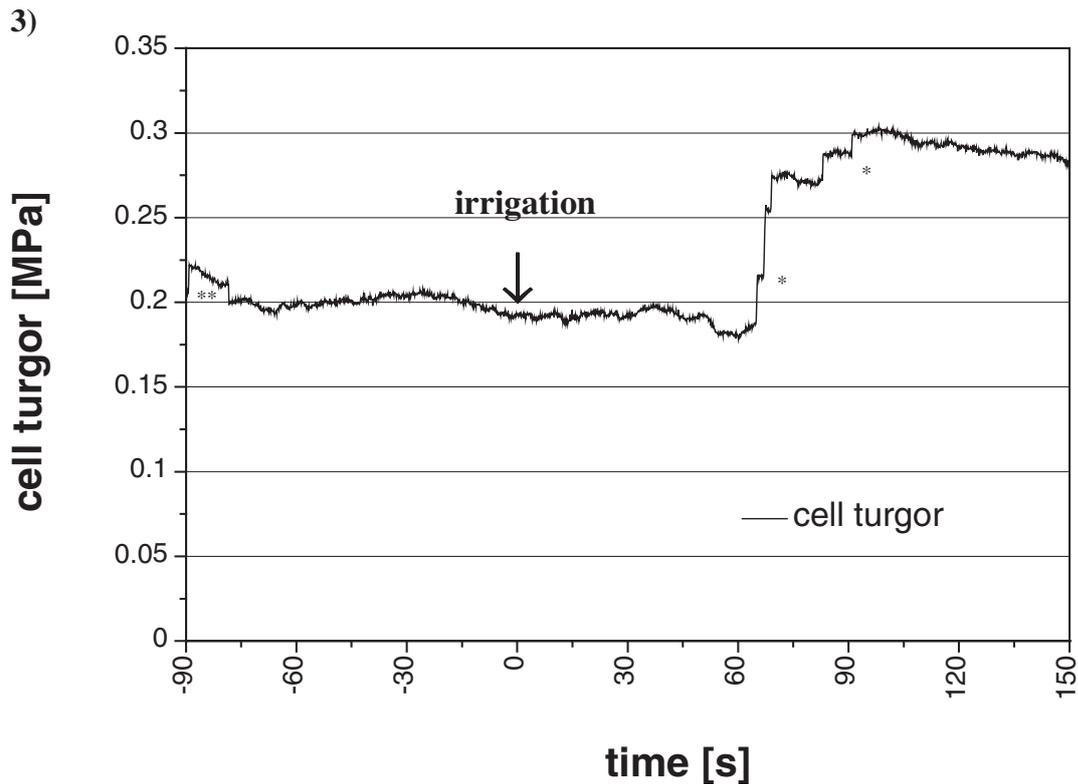
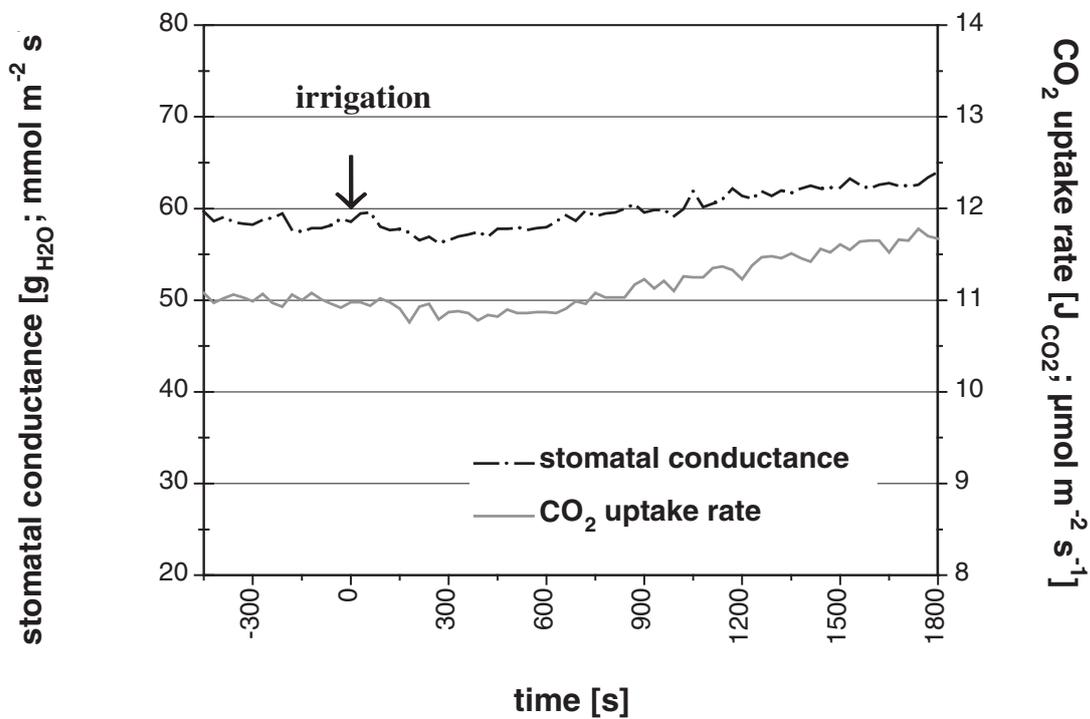


Abb. 9.8: (1)-(3): Repräsentative Reaktion des Zellurgors in der Blattepidermis einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung. Die Pfeile markieren die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$. *: Stabilisierung des Meniskus an seiner Ausgangsposition; **: Überprüfung der hydraulischen Reaktion der Zelle.

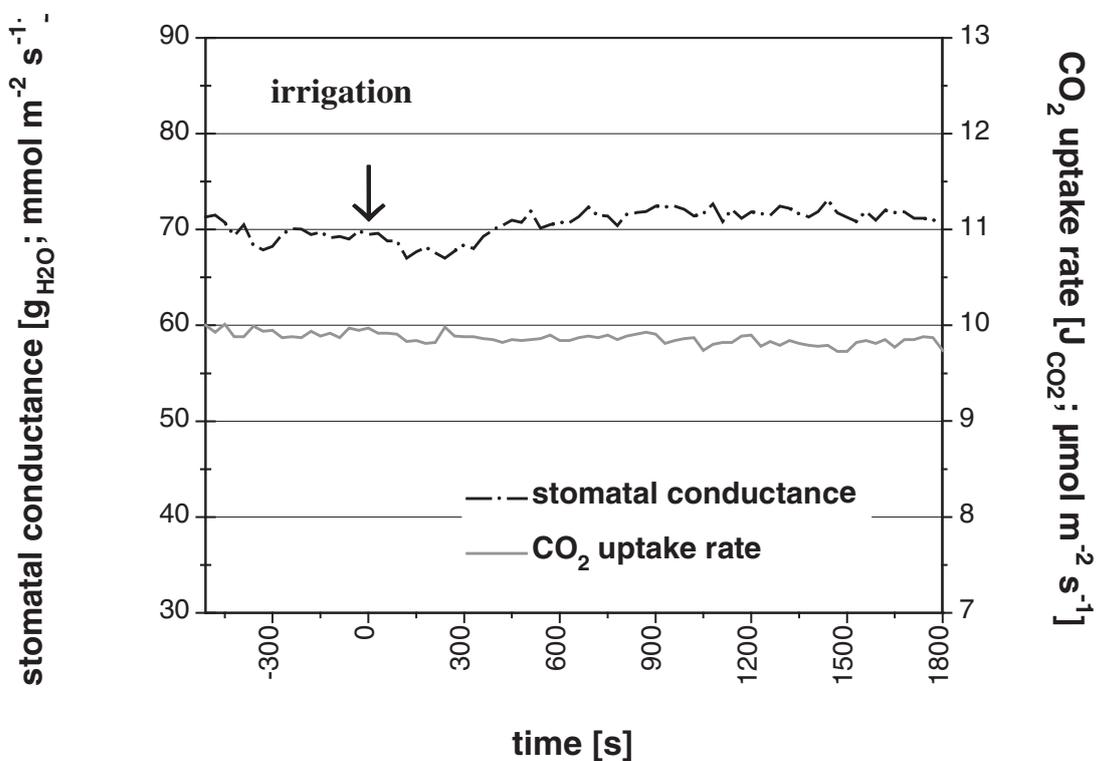
Fig. 9.8: (1)-(3): Representative response of the cell turgor in the leaf epidermis of a drought-stressed maize plant to re-irrigation. Arrows denote the instant of irrigation at time zero. *: Stabilisation of the meniscus at its initial position; **: Check on of hydraulic continuity between cell and probe.

D) Reaktion im Gaswechsel auf Wiederbewässerung bei Überdruck in der Wurzeldruckkammer:

1)



2)



3)

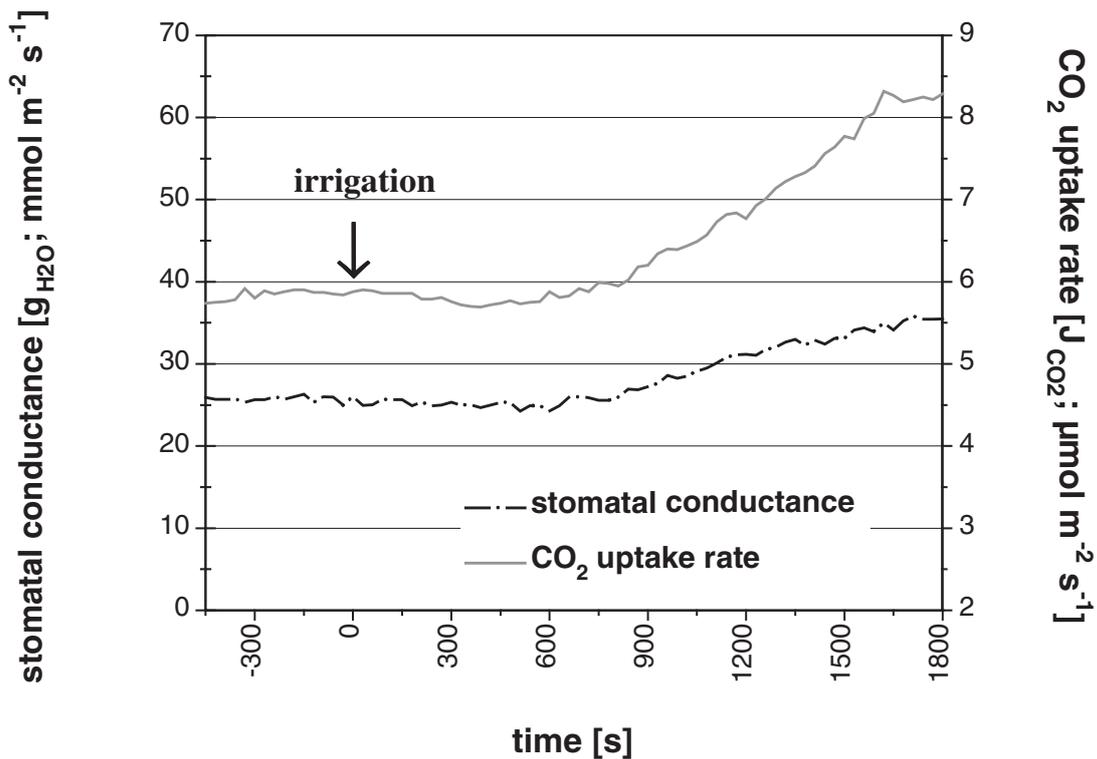
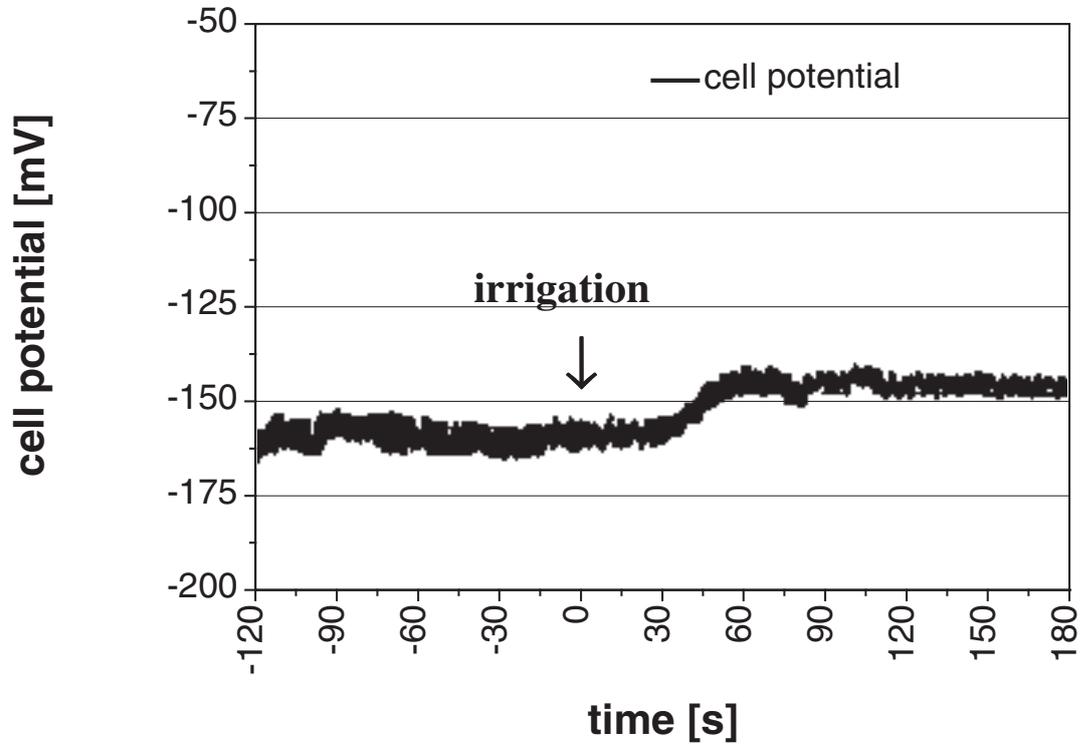


Abb. 9.9: (1)-(3): Repräsentative Reaktion der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit ($g_{\text{H}_2\text{O}}$; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung unter Überdruck in der Wurzeldruckkammer. Die Pfeile markieren die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$.

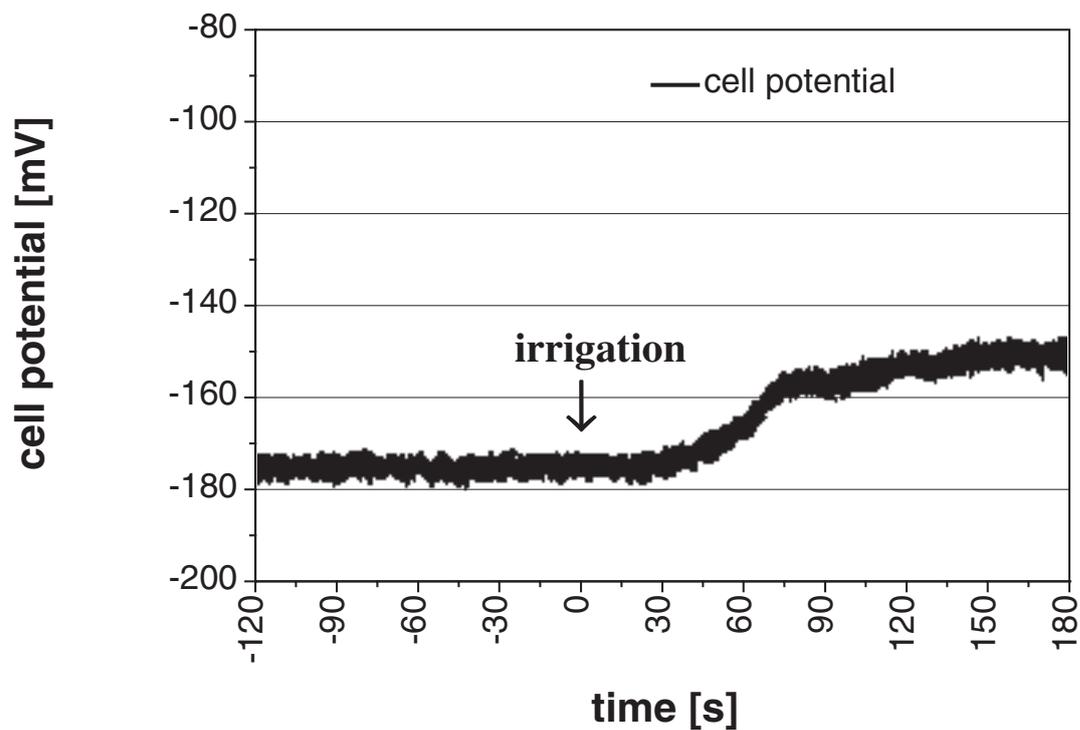
Fig. 9.9: (1)-(3): Representative response of the net CO_2 uptake rate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and of the stomatal conductance ($g_{\text{H}_2\text{O}}$; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of a drought-stressed maize plant to re-irrigation under enhanced pressure in the root pressure chamber. Arrows denote the instant of irrigation at time zero.

E) *Reaktion des Zellpotentials auf Wiederbewässerung unter Überdruck in der Wurzel-druckkammer:*

1)



2)



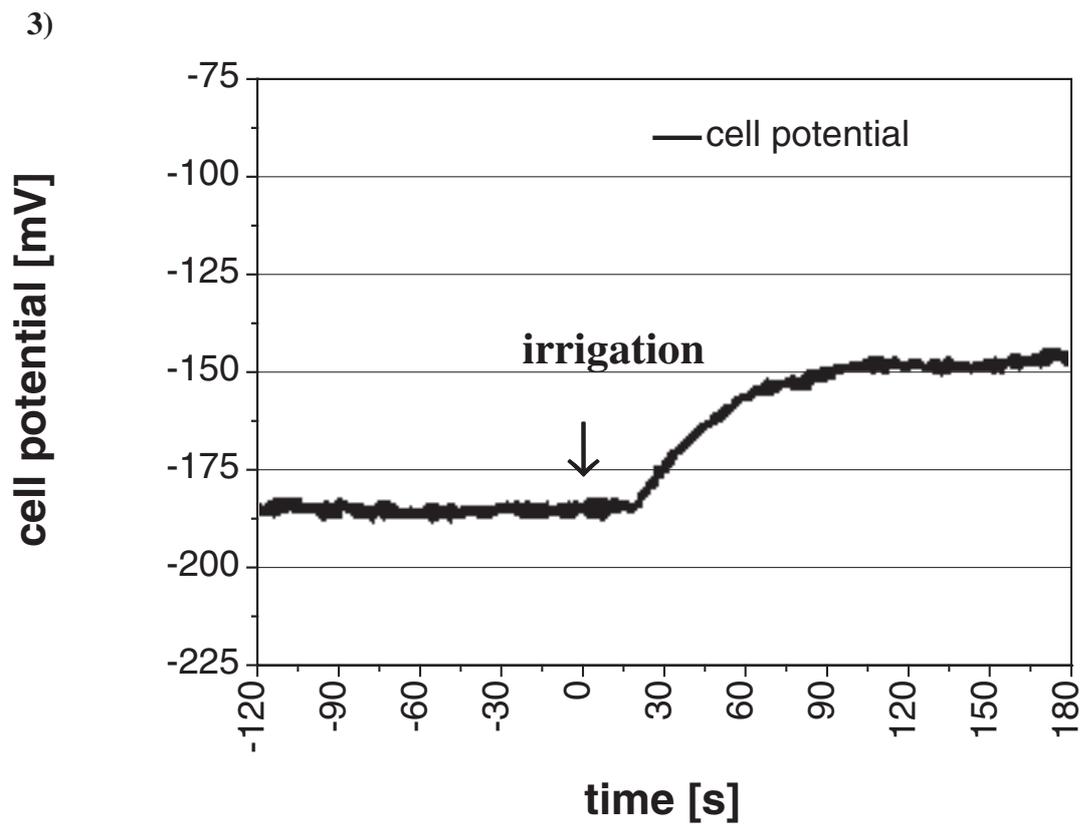
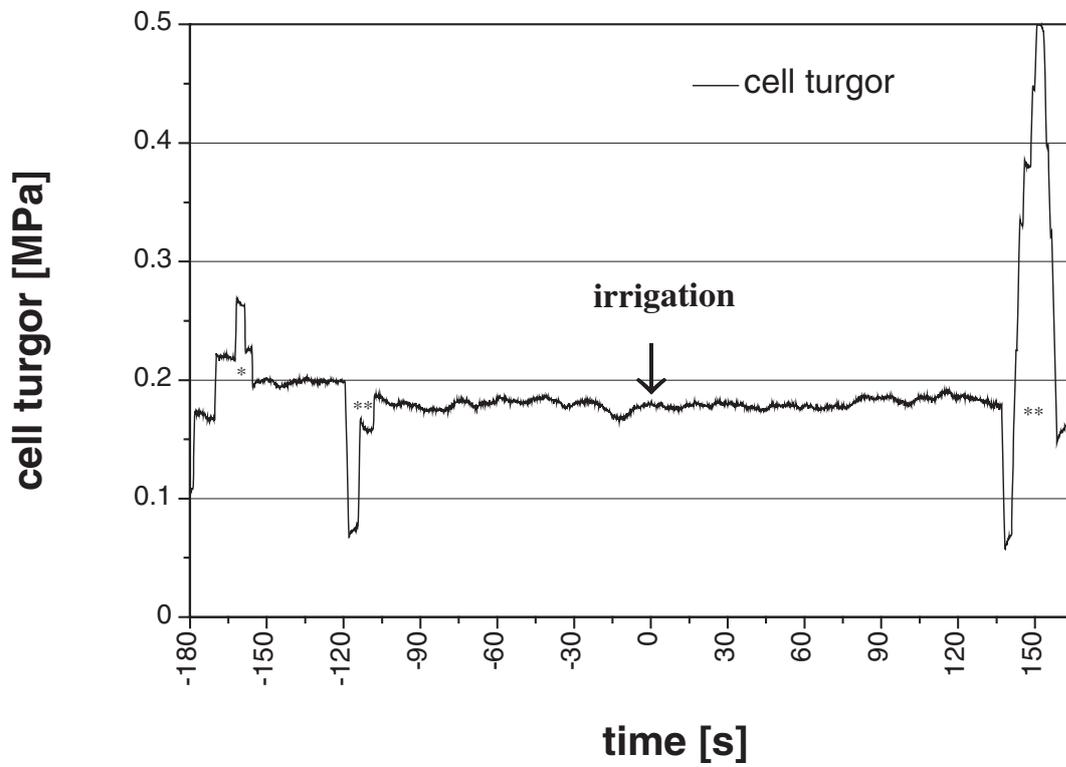


Abb. 9.10: (1)-(3): Repräsentative Reaktion des Zellpotentials in der Blattepidermis einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung unter Überdruck in der Wurzeldruckkammer. Die Pfeile markieren die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$.

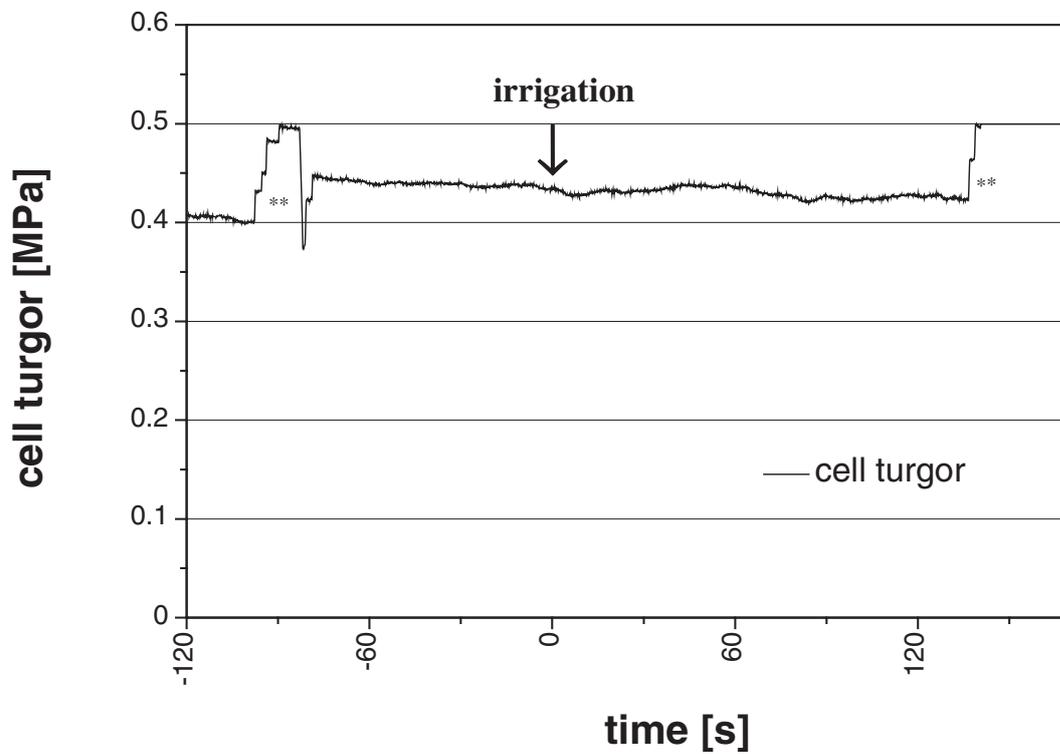
Fig. 9.10: (1)-(3): Representative response of the cell potential, measured in the leaf epidermis of a drought-stressed maize plant, to re-irrigation under enhanced pressure in the root pressure chamber. Arrows denote the instant of irrigation at time zero.

F) *Reaktion des Zellurgors auf Wiederbewässerung unter Überdruck in der Wurzel-druckkammer:*

1)



2)



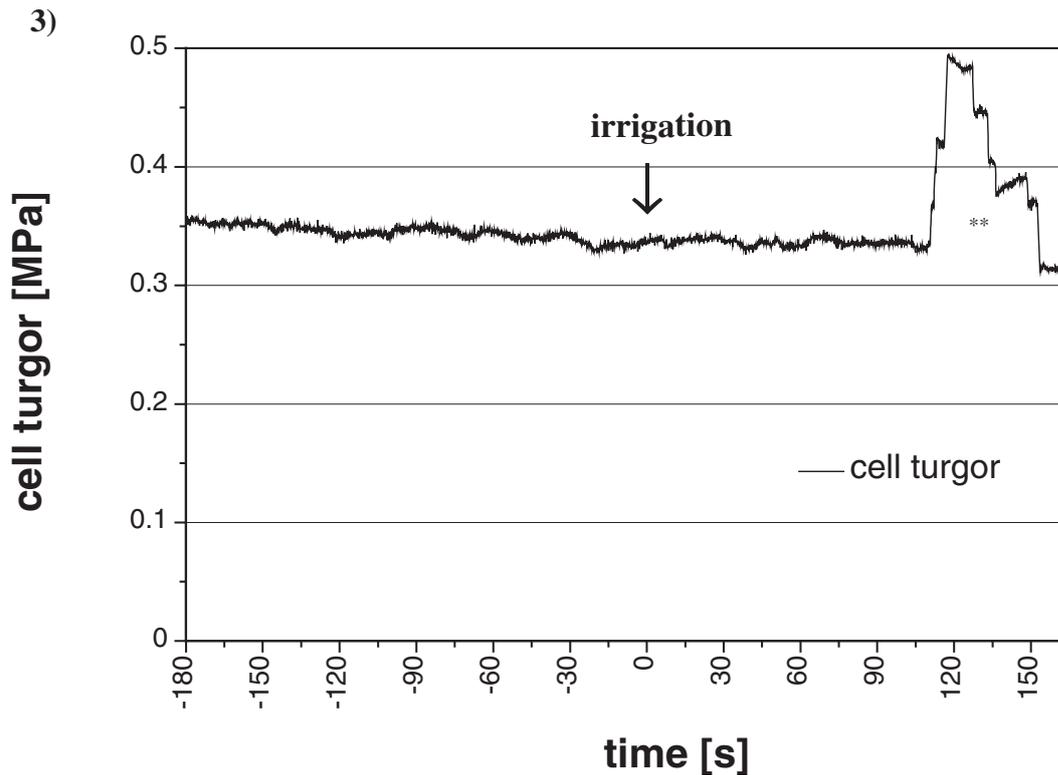
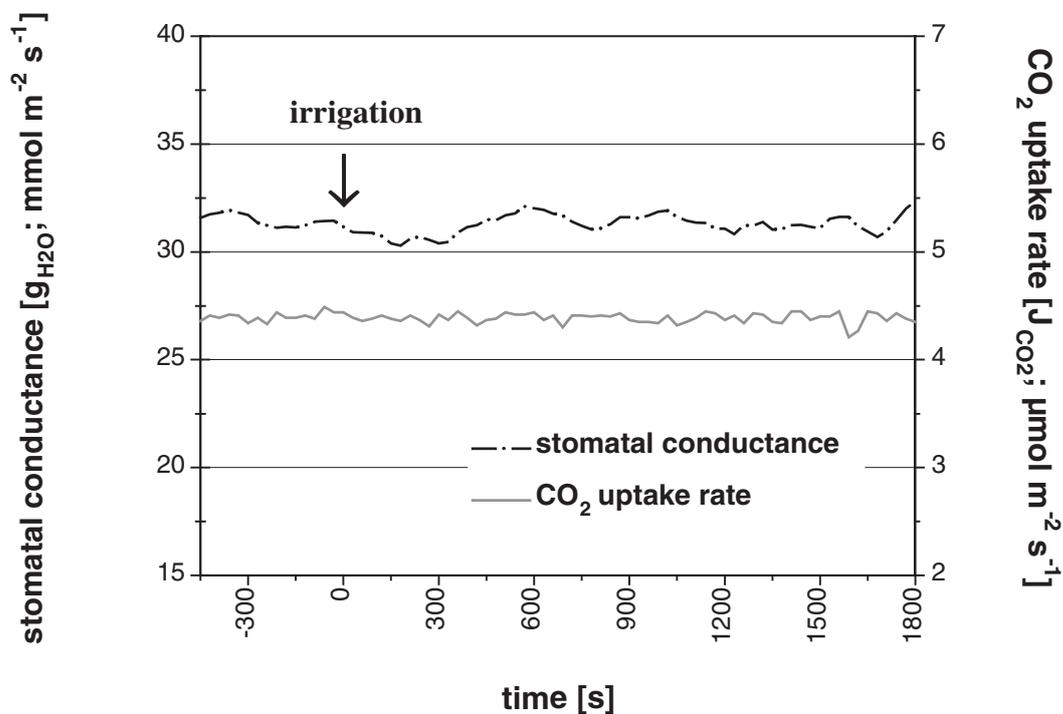


Abb. 9.11: (1)-(3): Repräsentative Reaktion des Zellturgors in der Blattepidermis einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung unter Überdruck in der Wurzel-druckkammer. Die Pfeile markieren die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$. **: Überprüfung der hydraulischen Reaktion der Zelle.

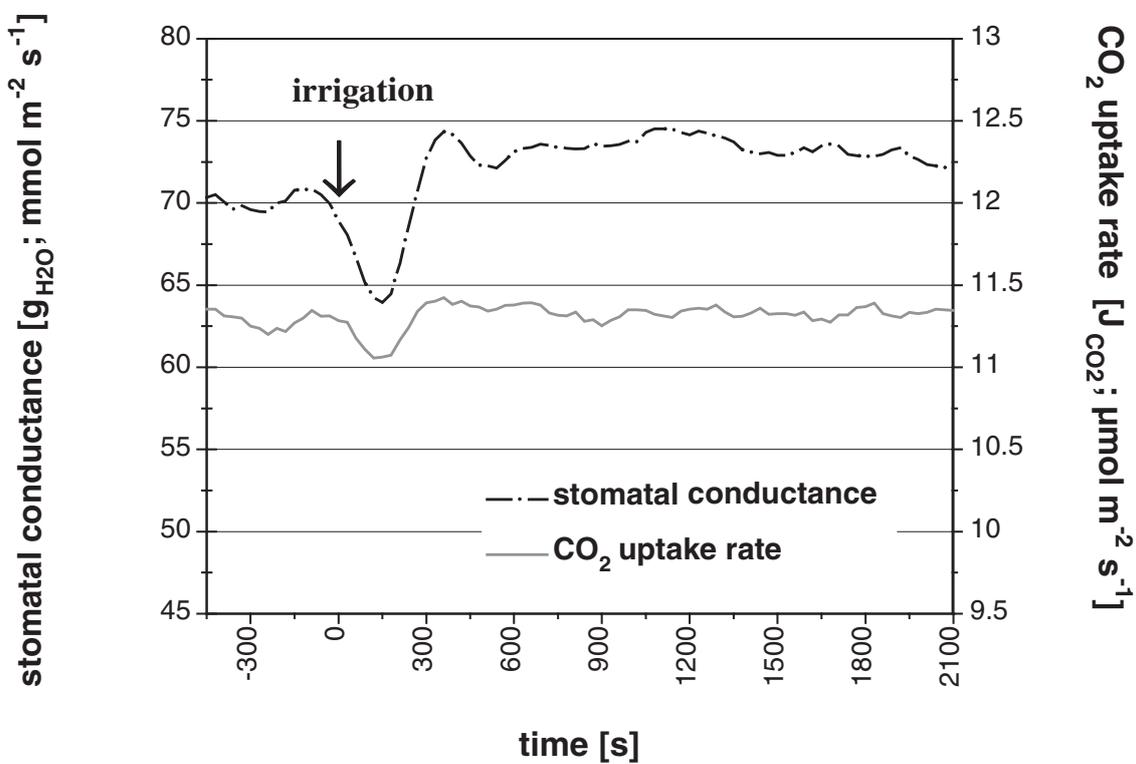
Fig. 9.11: (1)-(3): Representative response of the cell turgor in the leaf epidermis of a drought-stressed maize plant to re-irrigation under enhanced pressure in the root pressure chamber. Arrows denote the instant of irrigation at time zero. **: Check on of hydraulic continuity between cell and probe.

G) Reaktion im Gaswechsel auf Wiederbewässerung unter Kühlung des Blattes vor der Gaswechselküvette:

1)



2)



3)

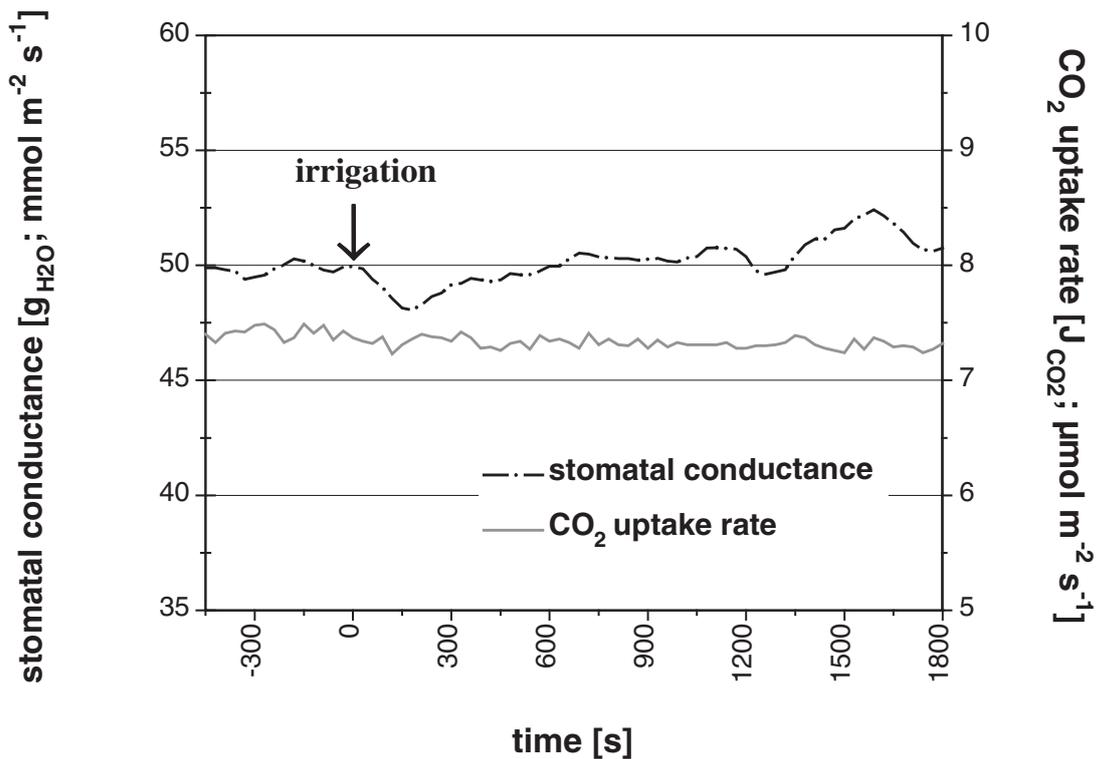


Abb. 9.12: (1)-(3): Repräsentative Reaktion der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit ($g_{\text{H}_2\text{O}}$; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung bei gleichzeitiger Kühlung des Messblattes vor der Gaswechsellkuvette. Die Pfeile markieren die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 9.12: (1)-(3): Representative response of the net CO_2 uptake rate (J_{CO_2} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and the stomatal conductance ($g_{\text{H}_2\text{O}}$; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of a drought-stressed maize plant to re-irrigation and simultaneous cooling of the leaf surface in front of the gas-exchange cuvette. Arrows denote the instant of irrigation at time zero.

H) Reaktion des Zellpotentials und des Zellurgors auf Wiederbewässerung unter Kühlung des Messblattes:

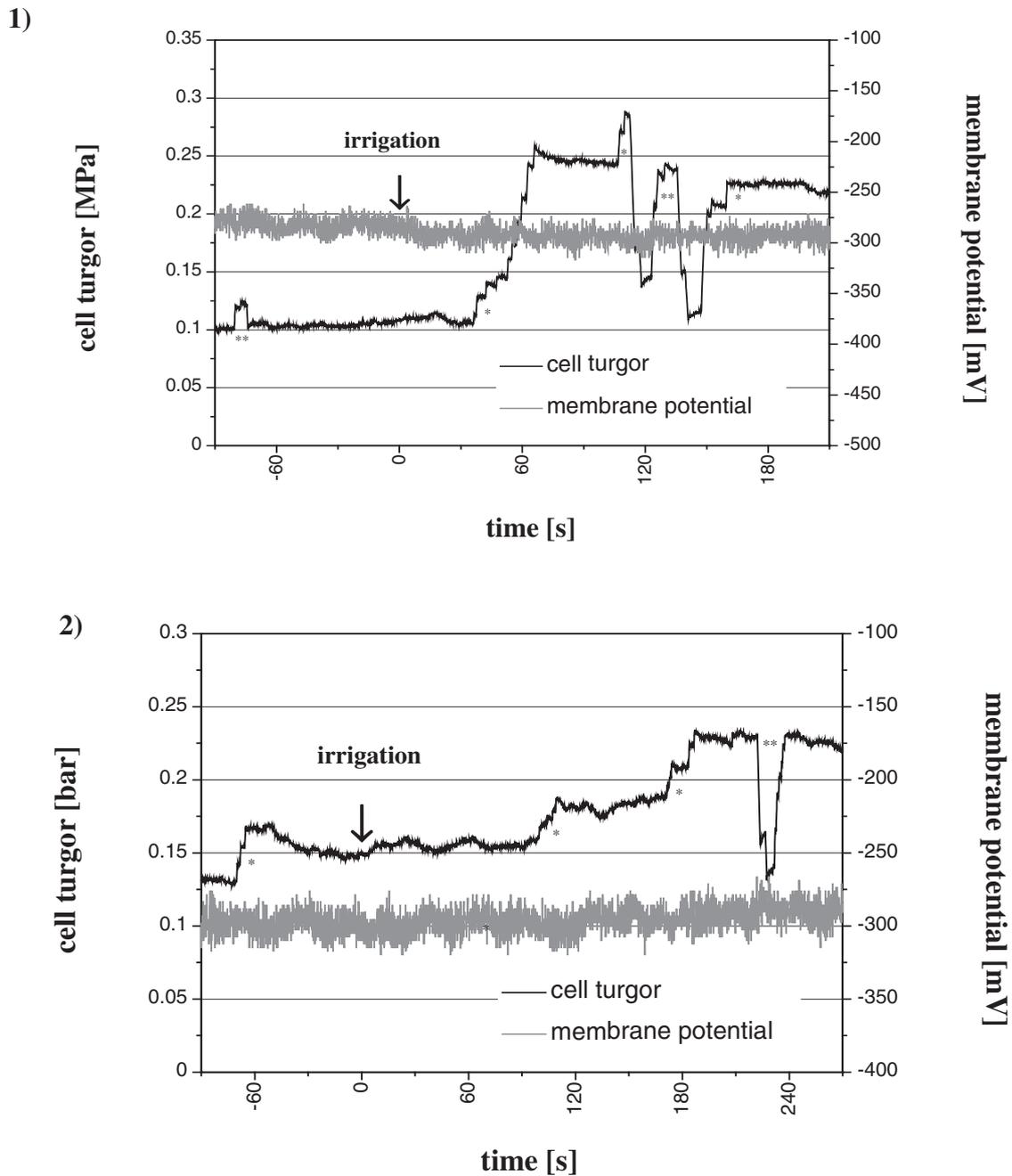


Abb. 9.13: (1)-(2): Repräsentative Reaktion des Zellurgors und des Zellpotentials in der Blattepidermis einer trockengestressten Maispflanze auf Wiederbewässerung unter Kühlung des Messblattes. Die Pfeile markieren die Wiederbewässerung zum Zeitpunkt $t=0$. *: Stabilisierung des Meniskus an seiner Ausgangsposition; **: Überprüfung der hydraulischen Reaktion der Zelle.

Fig. 9.13: (1)-(2): Representative response of the cell turgor and the cell potential, measured in the leaf epidermis of a drought-stressed maize plant, to re-irrigation during simultaneous cooling of the leaf surface. The arrows denote the instant of irrigation at time zero. *: Stabilisation of the meniscus at its initial position; **: Check on of hydraulic continuity between cell and probe.

II) Mimose

A) Reaktion im Zellpotential: Rhachis

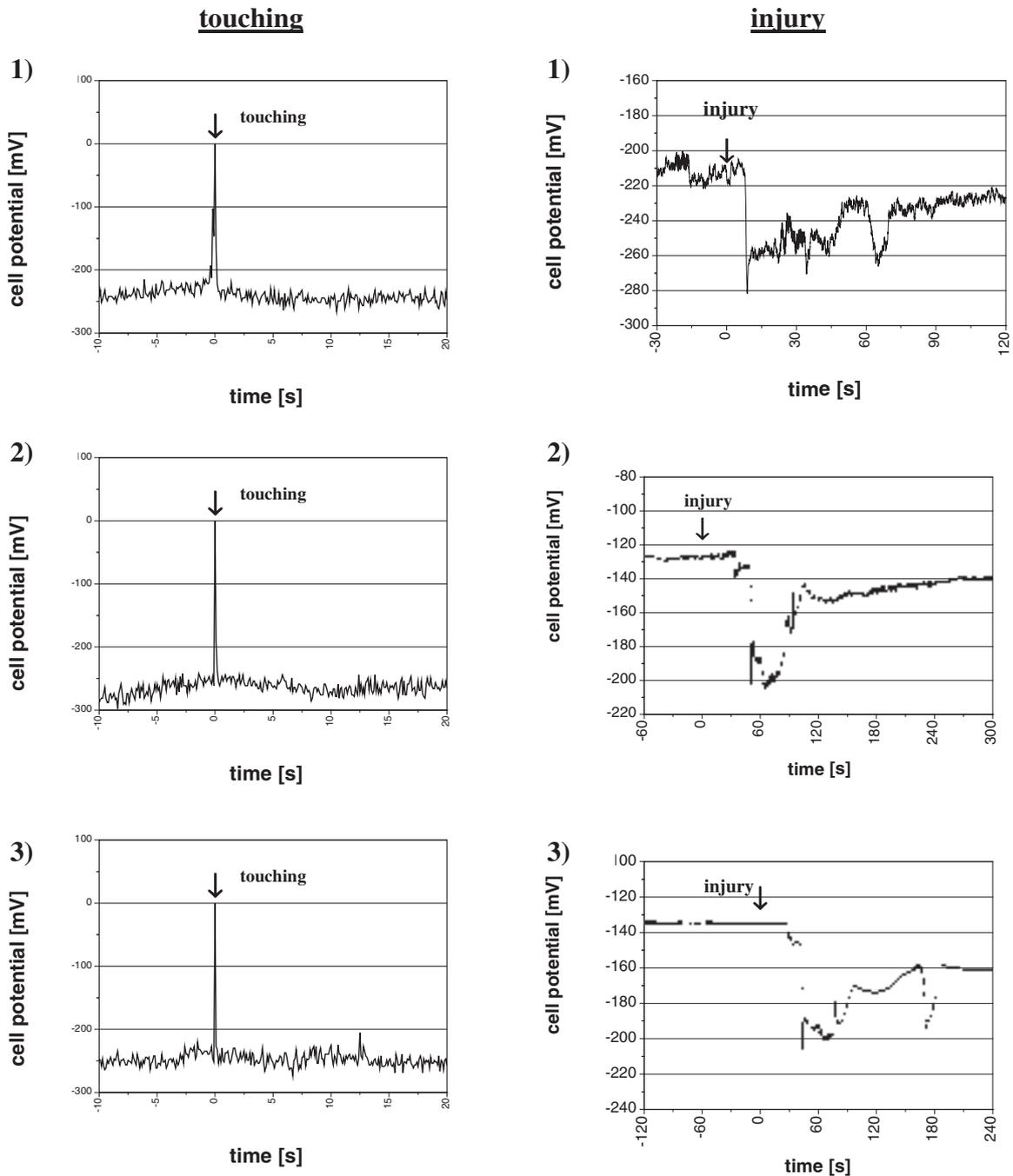


Abb. 9.14: Repräsentative Reaktion im Zellpotential auf Reizung durch Berührung ((1)-(3) links) oder Verletzung ((1)-(3) rechts) der Spitze der fixierten Fieder in der Epidermis der Rhachis. Um eine Bewegung der Fiederblättchen während der Messung zu unterbinden, wurde ein Teil der untersuchten Fieder mit geöffneten Blättchen zwischen zwei Plexiglasplatten fixiert. Die Pfeile markieren die Reizung zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 9.14: Representative response of the cell potential to touching ((1)-(3) left) or injury ((1)-(3) right) as recorded in the epidermis of the rhachis. The part of the assessed pinna was fixed so that leaflets stayed spread between two slices of plexiglass. Arrows denote the instant of excitation at time zero.

B) Reaktion im Zellpotential: Blatt

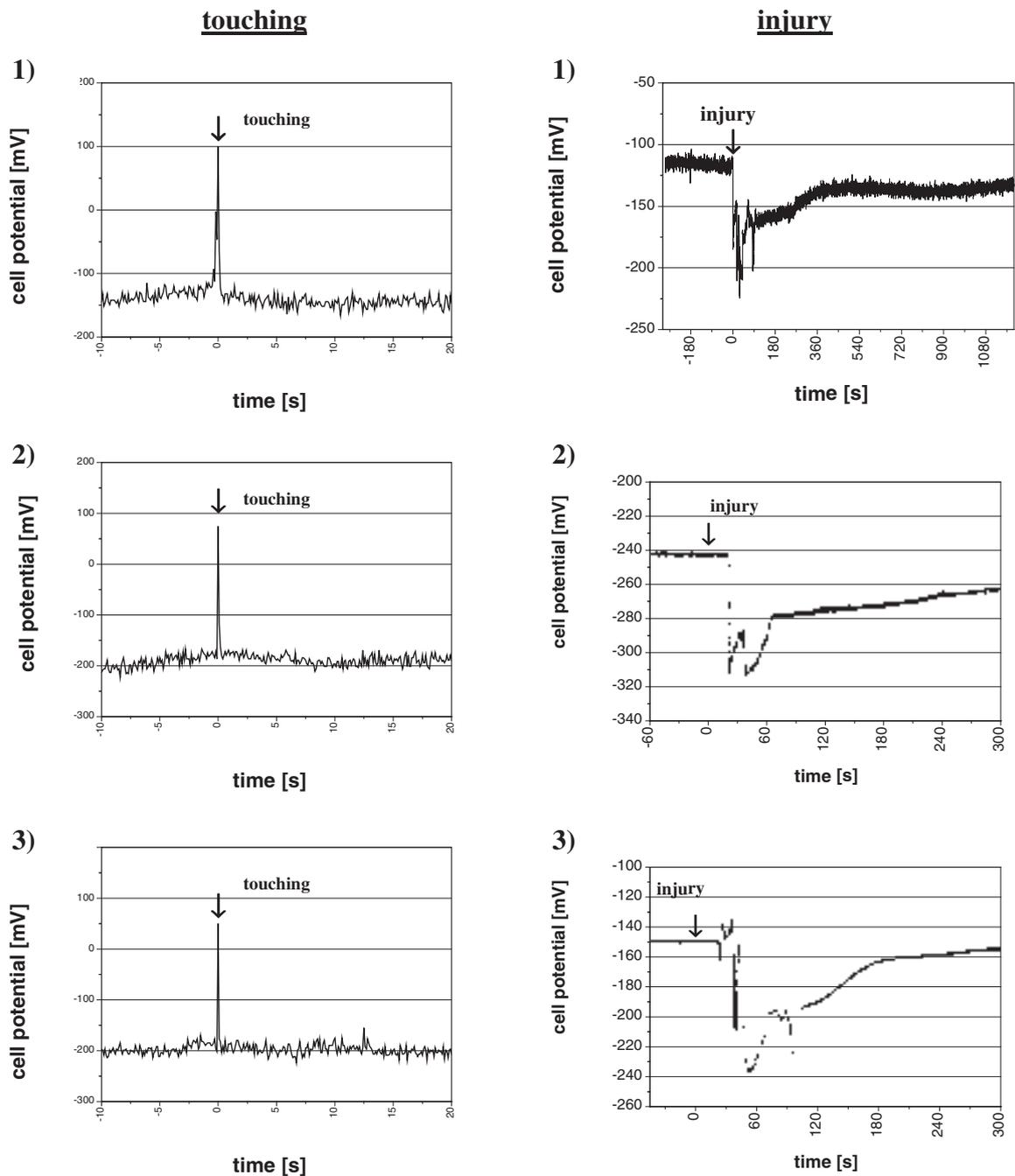
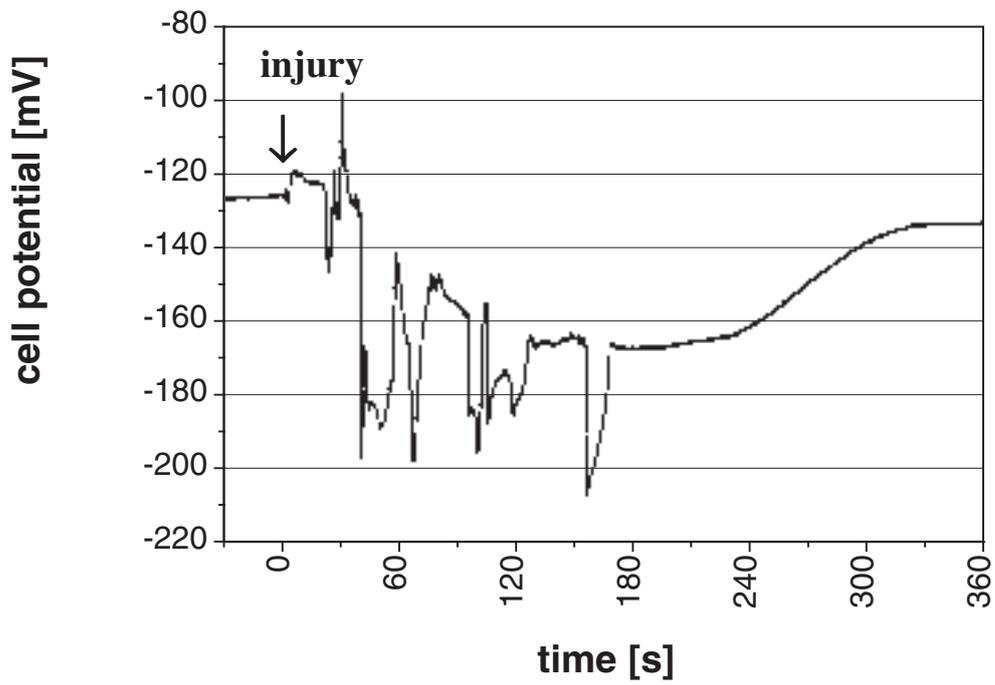


Abb. 9.15: Repräsentative Reaktion im Zellpotential auf Reizung durch Berührung ((1)-(3) links) oder Verletzung ((1)-(3) rechts) der Spitze der fixierten Fieder in der Epidermis eines Fiederblättchens. Um eine Bewegung der Fiederblättchen während der Messung zu unterbinden, wurde ein Teil der untersuchten Fieder mit geöffneten Blättchen zwischen zwei Plexiglasplatten fixiert. Die Pfeile markieren die Reizung zum Zeitpunkt $t=0$.

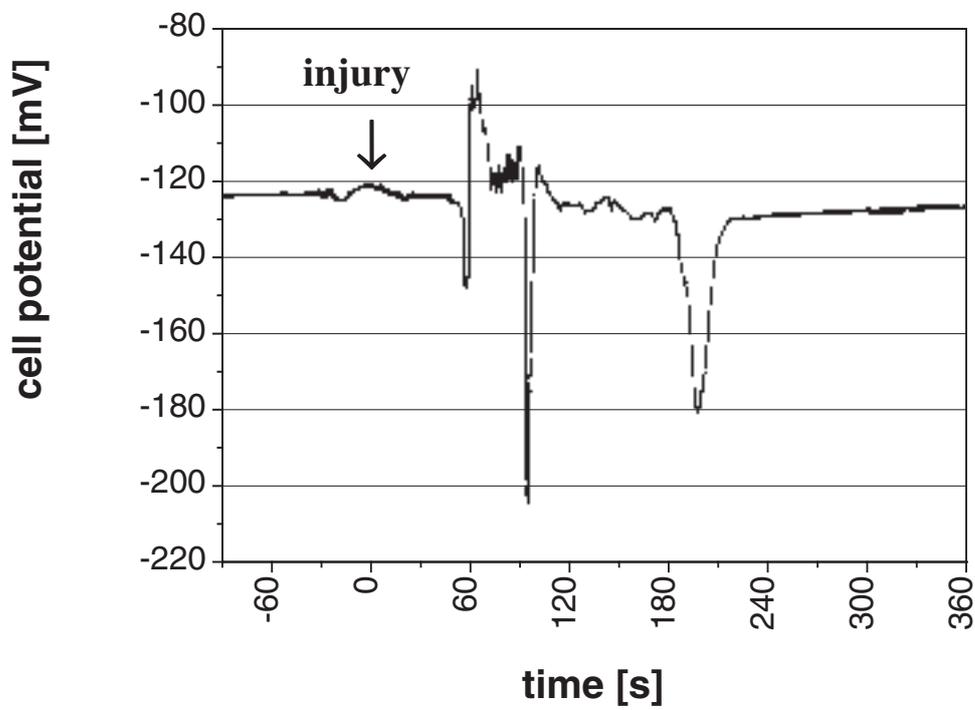
Fig. 9.15: Representative response of the cell potential to touching ((1)-(3) left) or injury ((1)-(3) right) as recorded in the epidermis of a leaflet. The part of the assessed pinna was fixed so that leaflets stayed spread between two slices of plexiglass. The arrows denote the instant of excitation at time zero.

C) Reaktion im Zellpotential auf Verletzung der Nachbarfieder

1)



2)



3)

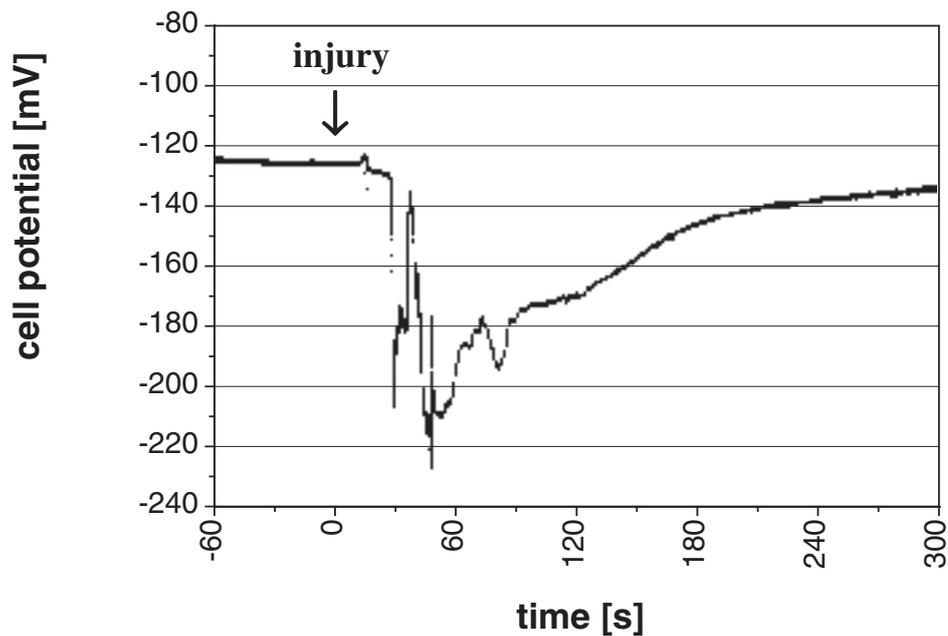


Abb. 9.16: (1)-(3): Repräsentative Reaktion im Zellpotential auf Verletzung der Nachbarfieder. Um eine Bewegung der Fiederblättchen während der Messung zu unterbinden wurde ein Teil der untersuchten Fieder mit geöffneten Blättchen zwischen zwei Plexiglasplatten fixiert. Die Messungen wurden unabhängig voneinander durchgeführt. Die Pfeile markieren die Reizung zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 9.16: (1)-(3): Representative response of the cell potential to injury of the tip of a neighbouring pinna. During the experiment part of the pinna was fixed with the leaflets spread between the two slices of plexiglass. The two measurements were recorded separately from each other. Arrows denote the instant of excitation at time zero.

D) Reaktion im Zellturgor: Rhachis

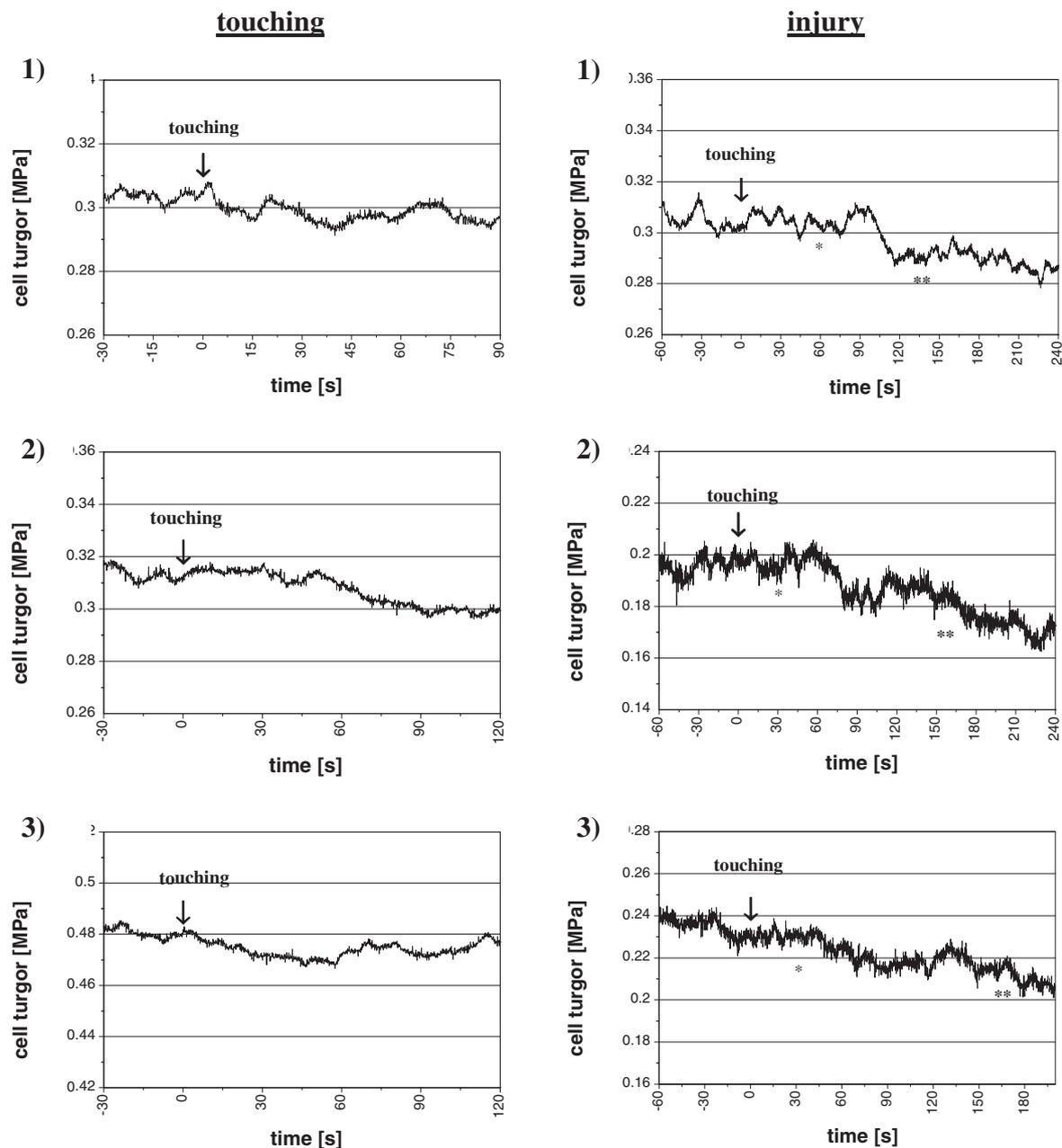


Abb. 9.17: Repräsentative Reaktion im Zellturgor in der Epidermis der Rhachis auf Reizung durch Berührung der Spitze der Messfieder ((1)-(3) links) oder Verletzung der Spitze einer Nachbarfieder ((1)-(3) rechts). Um eine Bewegung der Fiederblättchen während der Messung zu unterbinden wurde ein Teil der untersuchten Fieder mit geöffneten Blättchen zwischen zwei Plexiglasplatten fixiert. Die Messungen wurden unabhängig voneinander durchgeführt. Die Pfeile markieren den Zeitpunkt der Reizung, die Sternchen markieren die Faltung der Blättchen oberhalb (*) und unterhalb (**; Fiederspitze) der Plexiglasclammer.

Fig. 9.17: Representative response of the cell turgor of a single rhachis cell of *Mimosa pudica* to touching ((1)-(3) left) at the tip of the pinna or injury ((1)-(3) right) at the tip of a neighbouring pinna. During the experiment part of the pinna was fixed with the leaflets spread between the two slices of plexiglass. The two measurements were recorded separately from each other. Since the injury treatment caused hydraulic disruption, cell turgor was assessed in the neighbouring pinna. Arrows denote the instant of excitation at time zero.

E) Reaktion im Gaswechsel: Blättchen falten sich

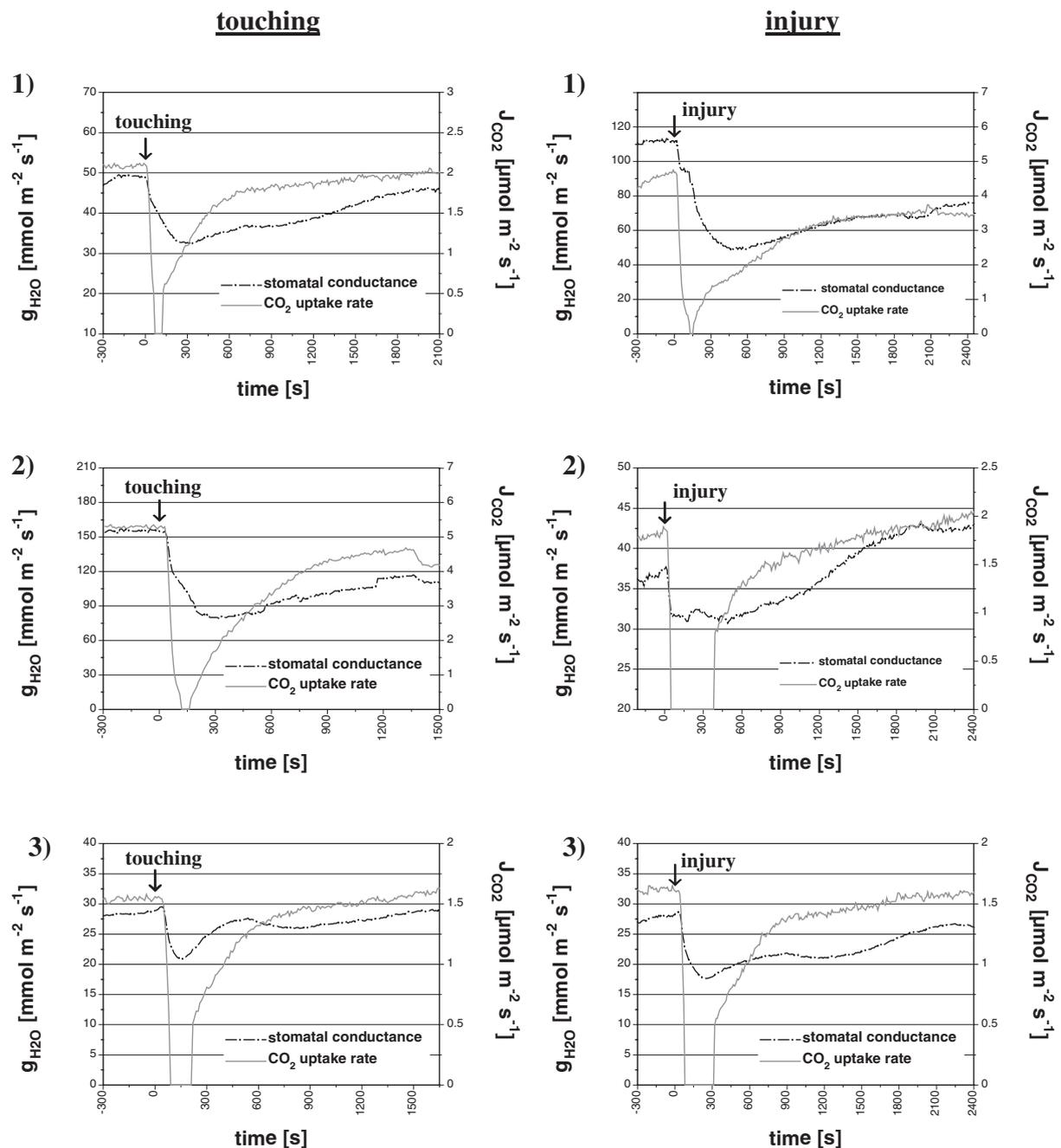


Abb. 9.18: Repräsentative Reaktion der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit (g_{H_2O} , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) einer einzelnen Fieder, deren Blättchen sich infolge von Berührung ((1)-(3) links) oder Verletzung ((1)-(3) rechts) schließen konnten. Die Pfeile markieren die Berührung (A) oder Verletzung (B) der Spitze der Messfieder zum Zeitpunkt $t=0$. Die Zahlen geben den Öffnungszustand der Fiederblättchen während der erneuten Entfaltung in der Küvette an (A, B): 1 = 20% , 2 = 40%, 3 = 60%, 4 = 80% geöffnet.

Fig. 9.18: Representative response of the net CO_2 uptake rate (J_{CO_2} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and the stomatal conductance (g_{H_2O} , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of a single pinna with folding leaflets upon touching ((1)-(3) left) or injury ((1)-(3) right). Arrows denote the instant of touching (A) or injury (B) at the tip of the measured pinna at time zero. The numbers reflect the state of reopening of the leaflets inside of the cuvette (A, B): 1 = 20%, 2 = 40%, 3 = 60%, 4 = 80% open. The measurements were recorded separately from each other.

F) Reaktion im Gaswechsel: Blättchen im geöffneten Zustand fixiert

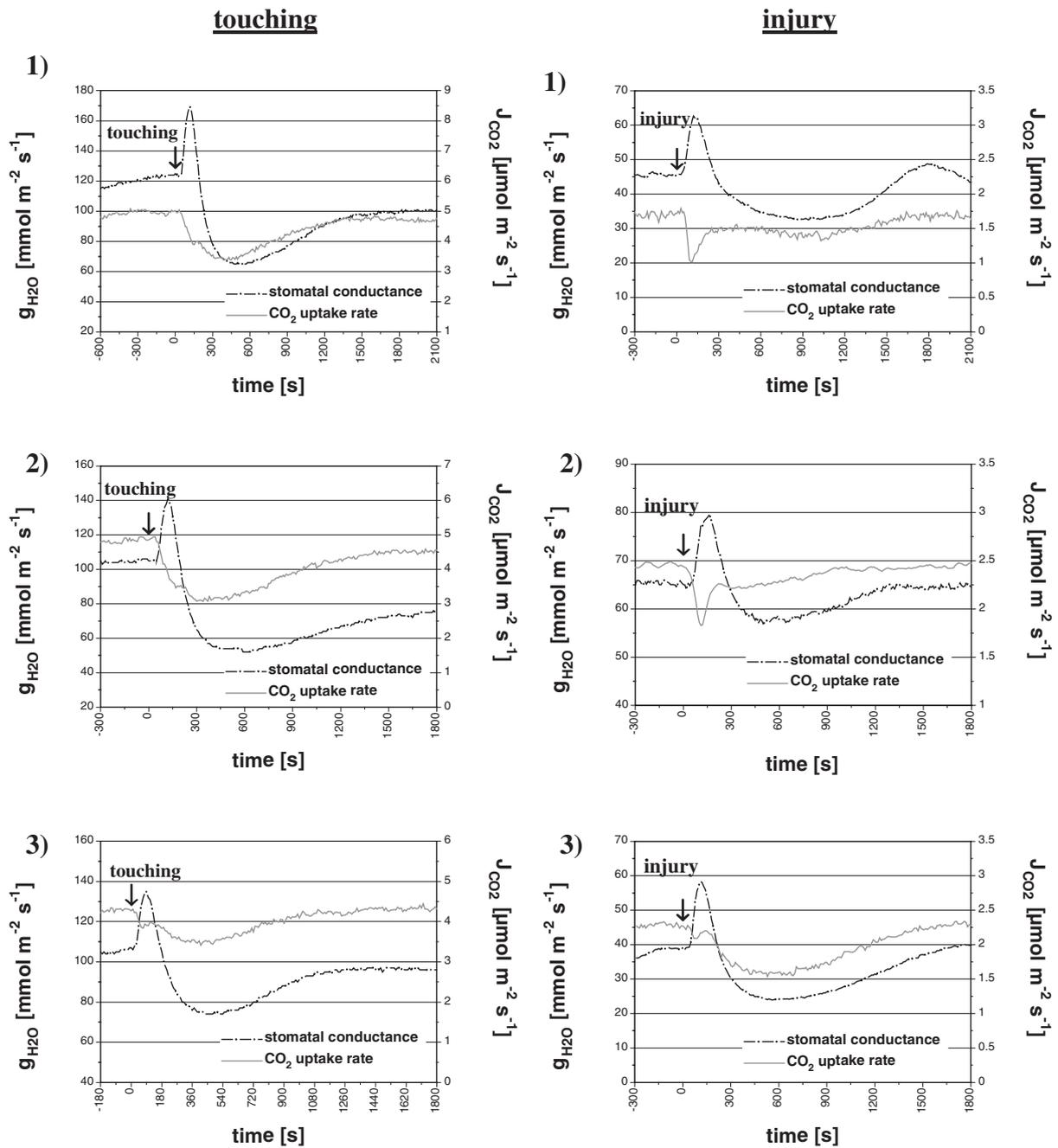


Abb. 9.19: Repräsentative Reaktion der Netto-Photosyntheserate (J_{CO_2} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) und der stomatären Leitfähigkeit (g_{H_2O} , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) einer einzelnen Fieder, deren Blättchen im offenen Zustand fixiert waren. Die Pfeile markieren den Zeitpunkt der Berührung ((1)-(3) links) oder der Verletzung ((1)-(3) rechts) der Spitze der Messfieder. Die Zahlen in Grafik (B) geben den Öffnungszustand während der erneuten Entfaltung der Nachbarfiedern an: 1 = 20%, 2 = 40%, 3 = 60%, 4 = 80% geöffnet.

Fig. 9.19: Representative response of the CO_2 uptake rate (J_{CO_2} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and the stomatal conductance (g_{H_2O} , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) of a single pinna, with the leaflets being fixed in spread position inside the cuvette. Arrows denote the instant of touching ((1)-(3) left) or injury ((1)-(3) right)) at the tip of the measured pinna at time zero. The numbers at graph (B) reflect the state of re-opening of the neighbouring pinna of the observed leaf (B): 1 = 20%, 2 = 40%, 3 = 60%, 4 = 80% open. The measurements were recorded separately from each other.

G) Reaktion in der Chlorophyll-Fluoreszenz:

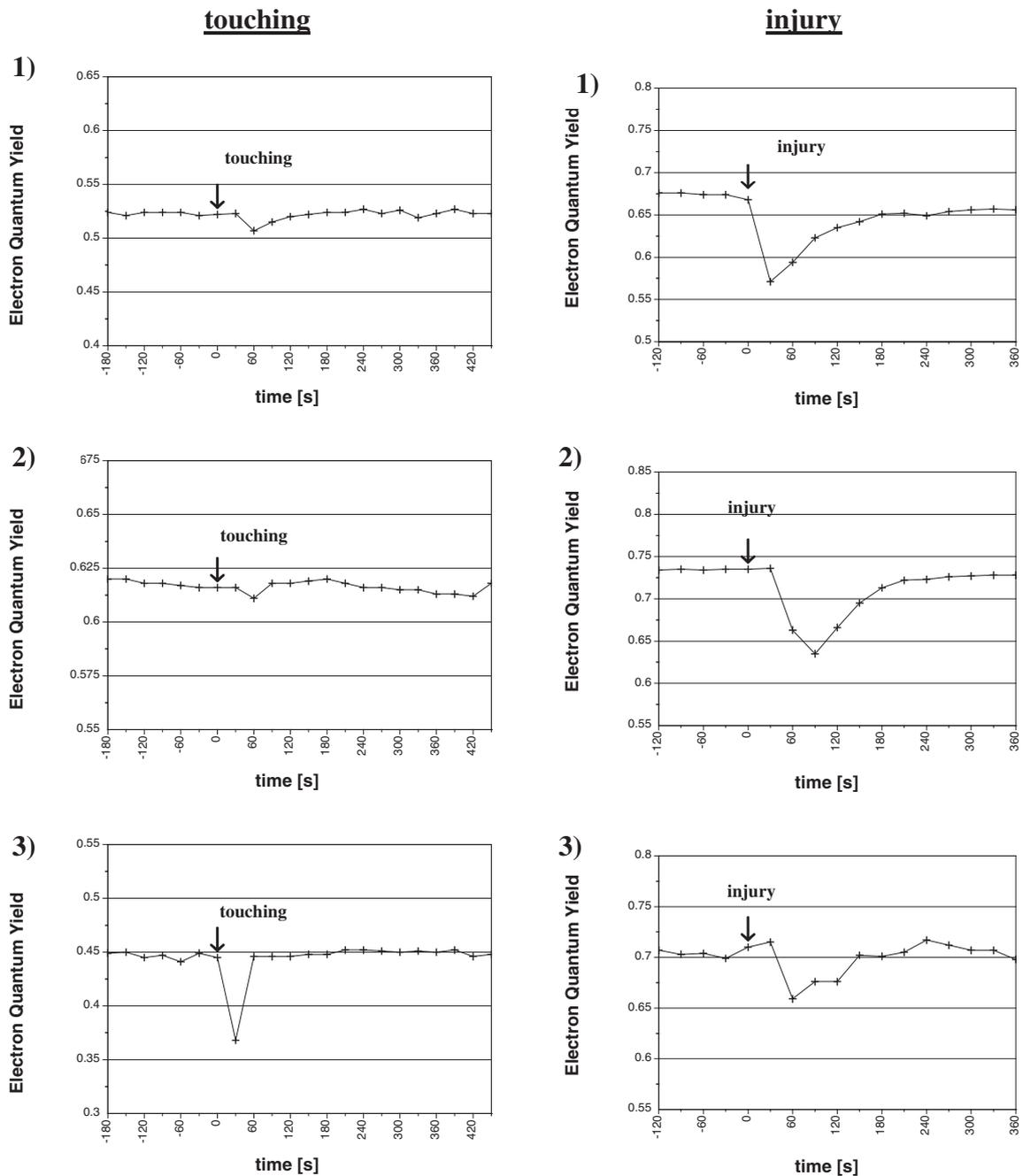


Abb. 9.20: Repräsentative Reaktion des Electron Quantum Yield einer einzelnen Fieder auf Berührung ((1)-(3) links) oder Verletzung ((1)-(3) rechts). Die Blättchen waren während der Messung in der Blattklemme des Mini-PAM-Gerätes in geöffnetem Zustand fixiert. Die Pfeile markieren die Reizung zum Zeitpunkt $t=0$.

Fig. 9.20: Representative response of the electron quantum yield of a single pinna due to touching ((1)-(3) left) or injury ((1)-(3) right). The measurements were recorded separately from each other. The leaflets were fixed in spread position in the leaf clip of the Mini-PAM to prevent movement after excitation. Arrows denote the instant of excitation at time zero.

Die vorliegende Arbeit wurde als Gemeinschaftsprojekt zwischen dem Fachgebiet Angewandte Holzbiologie und dem Lehrstuhl für Ökophysiologie der Pflanzen (ehemals: Lehrstuhl für Forstbotanik) am Wissenschaftszentrum Weihenstephan der TU München von 1999 bis 2002 durchgeführt. Das Projekt wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft finanziert.

Mein Dank gilt Prof. Dr. J. Fromm und Prof. Dr. R. Matyssek für die Themenstellung sowie für Ihre Anregung und Unterstützung bei der Durchführung der Versuche und Ihre ständige Diskussionsbereitschaft. Des weiteren gilt mein Dank Dr. T. E. E. Grams für vielerlei praktische Unterstützung bei der Durchführung der Versuche und hilfreiche Anregungen zur Interpretation der Ergebnisse.

An dieser Stelle möchte ich mich auch bei Prof. Dr. E. Steudle und Dipl.-Ing. B. Stumpf, Lehrstuhl für Pflanzenökologie der Universität Bayreuth, bedanken, die mich mit der Anwendung der Zelldrucksonde vertraut gemacht haben, und mich mit Ihrer Diskussionsbereitschaft und Ihrer Hilfe bei technischen Problemen unterstützt haben. Darüber hinaus danke ich Prof. Dr. E. Steudle für das Gutachten dieser Arbeit.

Für die Durchführung der Terahertz-Messungen und die Unterstützung bei der Auswertung und Interpretation der Messergebnisse danke ich Prof. Dr. M. Koch sowie Dipl.-Ing. P. Knobloch, Institut für Hochfrequenztechnik der TU Braunschweig.

Darüber hinaus gilt mein Dank

- Dipl.-Ing. T. Feuerbach und Hr. P. Kuba, Lehrstuhl für Ökophysiologie der Pflanzen, für die praktische Hilfe bei zahlreichen technischen Problemen.
- Dr. F. Fleischmann, insbesondere für die Hilfe bei Computerproblemen.
- Dipl.-Ing. X. Gaede, Institut für Holzforschung, für die Vibrationsmessungen zur Dämpfung des Messtisches in der Klimakammer.
- Allen weiteren MitarbeiterInnen des Lehrstuhls für Ökophysiologie der Pflanzen für die angenehme, motivierende Arbeitsatmosphäre.

Ein Dankeschön auch an Kristina Groß, Tilman Rilling und Annika Rosin, die mich mit vielen guten Ratschlägen und Diskussionen unterstützt haben .

Ganz besonderer Dank gebührt meinen Eltern, die mir das Studium und die Promotion ermöglicht haben und die mich jederzeit tatkräftig unterstützt haben !

Lebenslauf:

Name: Christiane Koziolk

Anschrift: Thanner Strasse 7B
85406 Zolling

geboren am, in: 16.05.1974, Herford

Schulausbildung: 1980-1984 Grundschule Landsberger Straße, Herford
1984-1993 Ravensberger Gymnasium, Herford
1993 Abitur

Sozialdienst: 1993-1994 Freiwilliges Soziales Jahr im MSD des Deutschen
Roten Kreuzes, Bielefeld

Studium: 1994-1999 Studium der Forstwissenschaften an der Georg-August-
Universität, Göttingen
1999 Diplom

Berufliche Tätigkeit: seit 1999 wissenschaftliche Angestellte am Institut für Holzfor-
schung, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Technische
Universität München