

## 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 CO<sub>2</sub> 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  $^{14}\text{C}$  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 stomatare 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.