

Universität Hohenheim

Fakultät für Agrarwissenschaften

Institut für Pflanzenproduktion und Agrarökologie in den Tropen und  
Subtropen

Wasserstressmanagement in den Tropen und Subtropen

Prof. Dr. Folkard Asch



**Auswirkungen externer Applikation von Abscisinsäure auf die  
hydraulische Leitfähigkeit der Wurzel von *Ricinus communis* L.**

Bachelorarbeit

von

Elena Bégué

Hohenheim, Juli 2011

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	II
Abbildungsverzeichnis .....	IV
Tabellenverzeichnis.....	V
Abkürzungsverzeichnis .....	VI
1. Einführung .....	1
2. Material und Methoden.....	5
2.1. Material.....	5
2.1.1. Auswahl des Pflanzenmaterials.....	5
2.1.2. Anzucht und Kultivierung.....	6
2.1.3. „Split-Root“-System.....	7
2.1.4. Belüftungssystem .....	8
2.1.5. Abscisinsäure .....	10
2.1.6. Versuchsaufbau und Durchführung .....	10
2.2. Methoden.....	12
2.2.1. Umsetzung der Pflanzen in das „split-root“- System.....	12
2.2.2. Bestimmung der maximalen Wasserhaltekapazität (WHK <sub>max</sub> ) .....	13
2.2.3. Messung der Transpiration.....	14
2.2.4. Messung der Exsudation .....	16
2.2.5. Bestimmung der Blattfläche.....	17
2.2.6. Bestimmung der Xylem ABA Konzentration (ELISA-Test).....	17
2.2.7. Test auf Kreuzreaktionen .....	19
2.2.8. Statistik.....	21
3. Ergebnisse .....	22
3.1. Transpiration.....	22
3.1.1. Gesamttranspiration .....	22
3.1.2. Gesamttranspiration bezogen auf die Blattfläche.....	24
3.1.3. Transpiration pro Röhre .....	26
3.2. Blattfläche.....	28
3.3. Exsudation .....	30
3.4. Abscisinsäurekonzentration.....	32
4. Diskussion.....	34
4.1. Transpiration.....	34

4.2. Blattfläche.....	36
4.3. Hydraulische Leitfähigkeit .....	36
4.4. Exsudation .....	37
4.5. Abscisinsäurekonzentration.....	38
5. Zusammenfassung.....	39
6. Literaturverzeichnis .....	VIII
7. Anhang.....	XI
Dank .....	XIX
Eidesstattliche Erklärung.....	XX

# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Wurzelsystem eines 2 Wochen alten Rizinus-keimlings nach Anzucht in sandgefüllten Multipotfplatten .....	6
Abbildung 2 Anzucht der Rizinuspflanzen in sandgefüllten Einzeltöpfen .....	7
Abbildung 3 Aufbau eines „split-root“-System .....	7
Abbildung 4 Schema des Belüftungssystems.....	9
Abbildung 5 Belüftungssystem Seitenansicht.....	9
Abbildung 6 Belüftungssystem Frontansicht .....	9
Abbildung 7 Rizinuspflanze in „split-root“-System .....	12
Abbildung 8 Messung der Exsudation mit Hilfe eines Schlauchstücks, das eng über den dekapitierten Spross gestülpt wurde.....	16
Abbildung 9 Pipettierung des Exsudats mit Hilfe einer Glaspipette in Eppendorfgefäße .....	16
Abbildung 10 Kreuzreaktionstest des Rizinusexudats in [pg/g] .....	20
Abbildung 11 Gesamttranspirationsverlust gemessen über einen Zeitraum von sechs Tagen	22
Abbildung 12 Gesamttranspirationsverlust gemessen über einen Zeitraum von sechs Tagen mit Zusammenfassung aller Pflanzen mit gleicher Behandlung.....	23
Abbildung 13 Gesamttranspirationsverlust bezogen auf die Blattfläche.....	24
Abbildung 14 Gesamttranspirationsverlust bezogen auf die Blattfläche mit Zusammenfassung aller Pflanzen mit gleicher Behandlung.....	25
Abbildung 15 Transpirationsverluste pro Röhre, gemessen über einen Zeitraum von sechs Tagen.....	26
Abbildung 16 Transpirationsverluste pro Röhre, gemessen über einen Zeitraum von sechs Tagen mit Zusammenfassung aller Pflanzen mit gleicher Behandlung.....	27
Abbildung 17 Blattfläche .....	28
Abbildung 18 Blattfläche mit Zusammenfassung aller Pflanzen mit gleicher Behandlung. ...	29
Abbildung 19 Xylemexsudation gemessen über einen Zeitraum von 3h.....	30
Abbildung 20 Abscisinsäurekonzentration im Xylemsaft. ....	32

# Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Versuchsvarianten .....	11
Tabelle 2 Pipettierschema der Mikrotiterplatte, ELISA-Test .....	18
Tabelle 3 Pipettierschema der Mikrotiterplatte, Kreuzreaktionstest .....	20
Tabelle 4 Zusammensetzung der Nährlösung .....	XI
Tabelle 5 Kreuztabelle der Gesamttranspiration .....	XVI
Tabelle 6 Kreuztabelle der Gesamttranspiration in Abhängigkeit der Blattfläche .....	XVI
Tabelle 7 Kreuztabelle der Blattfläche .....	XVII
Tabelle 8 Kreuztabelle der Exsudation .....	XVII
Tabelle 9 Kreuztabelle der Abscisinsäurekonzentration im Xylem.....	XVIII

## Abkürzungsverzeichnis

ABA	:	Abscisinsäure
B+	:	Die Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden gefüllt, welcher eine $WHK_{max}$ von 80 % aufweist
B-	:	Die Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden gefüllt, welcher eine $WHK_{max}$ von 25 % aufweist
BSA	:	Bovines Serumalbumin
bzw.	:	beziehungsweise
cm	:	Zentimeter
EDC	:	1-Ethyl-3-(3-Dimethylaminopropyl)-Carbodiimid
ELISA	:	<b>E</b> nzyme <b>L</b> inked <b>I</b> mmunsorbent <b>A</b> ssay
<i>et al.</i>	:	et alii (Lat. für „und Andere“)
g	:	Gramm
H	:	Die Röhre des „split-root“-Systems ist mit Nährlösung gefüllt
h	:	Stunde
HCl	:	Chlorwasserstoff
H <sub>2</sub> O	:	Wasser
L	:	Liter
LEA	:	Late Embryogenesis Abundant
L <sub>p<sub>r</sub></sub>	:	hydraulische Leitfähigkeit des Wurzelsystems
M	:	Mol Liter <sup>-1</sup>
mg	:	Milligramm
MG	:	Molekulargewicht
min	:	Minute
mL	:	Milliliter
mm	:	Millimeter
mM	:	Millimolar [mmol L <sup>-1</sup> ]
mol	:	Mol Liter <sup>-1</sup>
NaHCO <sub>3</sub>	:	Natriumhydrogencarbonat
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	:	Natriumhydrogenphosphat
NaOH	:	Natriumhydroxid
PAR	:	Poly-adenosyl ribose
PE	:	Polyethylen

pH	:	Potential Hydrogenii
pg	:	Pikogramm
pmol	:	Pikomol
PVC	:	Polyvinylchlorid
WHK <sub>max</sub>	:	maximale Wasserhaltkapazität
°C	:	Grad Celsius
%	:	Prozent

# 1. Einführung

Alle in pflanzlichen Organismen vorkommenden Hormone werden Phytohormone oder auch Wachstumsstoffe genannt. Im Allgemeinen definiert man sie als „eine organische Substanz, die in geringer Konzentration (mikromolarer Bereich) wirkt, an einem Syntheseort gebildet wird, in der Pflanze zum Wirkort transportiert wird und dort eine spezifische Reaktion auslöst“ (Kutschera, 1995). Es handelt sich hierbei um fünf verschiedene Gruppen, die sich in ihrer Wirkungsweise unterscheiden. Während Auxine, Gibberelline und Cytokinine eine eher wachstumsfördernde Wirkung haben und dadurch auch als Antagonisten der Abscisinsäure bezeichnet werden, besitzen Ethylen und Abscisinsäure eine hemmende Wirkung.

Anfang der sechziger Jahre wurde erstmals eine Substanz isoliert, die die Abscission von Baumwollfrüchten fördert und daher Abscisin II genannt wurde (Ohkuma *et al.* 1963). Wenige Zeit später wurde ein Hemmstoff aus Buchenblättern gewonnen, der an den Knospen Dormanz hervorruft und aus diesem Grunde den Namen Dormin erhielt. Daraufhin fand man heraus, dass die chemische Struktur von Abscisin II und Dormin identisch ist. In Folge dessen erhielt diese Substanz den Namen Abscisinsäure (ABA) (Addicott *et al.* 1968; Milborrow, 1967). Heute ist jedoch bekannt, dass ABA keinen Einfluss auf den Blatt- und Fruchtfall hat, der Name aber aus historischen Gründen beibehalten wurde.

ABA reguliert verschiedene Prozesse während des Pflanzenwachstums und der Entwicklung und wird vermehrt unter ungünstigen Umweltbedingungen wie Trockenstress, Salinität oder niedrige Temperaturen gebildet. Die ABA-Biosynthese erfolgt im Cytoplasma aller pflanzlichen Gewebe und wird im Phloem, sowie im Xylem transportiert (Libbert 1993).

Zu den wichtigsten Funktionen während der embryonalen Phase zählt die Dormanz der Embryonen unter ungünstigen Bedingungen, die Akkumulation von Reservestoffen während der mittleren bis späten Embryogenese, sowie die anschließende Synthese von LEA-Proteinen (**L**ate **E**mbr**y**ogenesis **A**bundant). Diese Proteine sind stark hydrophil und man nimmt daher an, dass sie die Embryonen vor Dehydration schützen (Heß 2008). Desweiteren hemmt ABA die Zellteilung, induziert die Knospenruhe, sowie die Seneszenz der Zellen (Libbert 1993).

Eines der bekanntesten Reaktionsmechanismen von ABA auf Trockenstress ist die Induktion des Stomataschlusses. Dabei beeinflusst ABA den Ionentransport, welcher den Turgordruck der Schließzellen reduziert und dadurch den Stomatschluss impliziert. Folglich führt dies zu einer Verminderung der Transpiration (Borel *et al.* 2001).



Im Rahmen dieser Arbeit sollte ein weiterer ABA induzierter Reaktionsmechanismus auf Trockenstress untersucht werden. Hierbei ging es um die Auswirkung verschiedener Konzentrationen exogen applizierter ABA auf die hydraulische Leitfähigkeit der Wurzeln von Rizinus (*Rizinus communis L.*). Denn laut Hose (2000) können Pflanzen durch ABA den transzellulären Transportweg für Wasser reversibel verbessern, was kurzfristigem Trockenstress entgegen wirkt. Bei starkem und langanhaltendem Stress wird dieser Transportweg jedoch wieder versperrt. Es wird angenommen, dass der Grund für die erhöhte Wasseraufnahme bei kurzfristigem Trockenstress durch ein Öffnen von Aquaporinen in der Zellmembran erfolgt. Wenn diese geöffnet sind, ermöglichen sie einen passiven Transport der Wassermoleküle entlang des Wasserpotentialgradienten (Steudle 2000; Kjellbom *et al.* (1999).

In der Vergangenheit wurde diese Auswirkung von ABA schon an anderen Pflanzenarten getestet, jedoch sind die Ergebnisse nicht eindeutig. Ludewig *et al.* (1988) untersuchte anhand von unterschiedlichen ABA-Konzentrationen ( $10^{-10}$  –  $10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>) die Auswirkungen von ABA auf die Exsudationsrate nach Dekapitierung von Sonnenblumen. Es stellte sich heraus, dass sich bei allen Konzentrationen die Exsudation erhöht, jedoch bei einer Konzentration von  $10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> am höchsten ist. Glinka (1980), Fournier *et al.* (1987), sowie Quintero *et al.* (1998) konnten bei einer Konzentration von  $10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> ABA einen stimulierenden Effekt auf die hydraulische Leitfähigkeit bei unterschiedlichen Pflanzenarten feststellen. Weiterhin fanden Markhart *et al.* (1979) und Fiscus (1981 und 1982a) heraus, dass bei hohen ABA-Konzentrationen die hydraulische Leitfähigkeit reduziert wird. Um Unterschiede zwischen verschiedenen ABA-Konzentrationen bzw. einer Reduktion der hydraulischen Leitfähigkeit bei höheren Konzentrationen zu untersuchen, wurden in diesem Versuch Konzentrationen von  $10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> und  $10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> getestet.

Gemäß Hose (2000) erhöht sich die hydraulische Leitfähigkeit nach der Applikation über einen Zeitraum von zwei Stunden mit einem Maximum nach einer Stunde. Glinka (1973) stellte fest, dass die Exsudationsrate 30 Minuten nach der Applikation anstieg. Nach 60 Minuten wurde eine gleichbleibende Exsudationsrate erreicht, die mindestens für drei Stunden anhielt. Daher wurden in diesem Versuch die verschiedenen ABA-Konzentrationen eine Stunde vor Messung der Exsudation appliziert. Die Menge wurde über einen Zeitraum von drei Stunden gesammelt.

Dieser Versuch wurde mit Hilfe eines „split-root“-Systems durchgeführt. Hierbei wurde das Wurzelsystem der Rizinuspflanzen in gleichgroße Hälften geteilt und in zwei separaten Pflanzentöpfen eingepflanzt. Diese „split-root“-Systeme ermöglichten die Durchführung unterschiedlicher Behandlungen an dem Wurzelsystem der gleichen Pflanze. Dadurch wurden die Voraussetzungen geschaffen lediglich eine Hälfte des Wurzelsystems einer ABA-Applikation zu unterziehen und die daraus resultierenden Auswirkungen auf die hydraulische Wurzeleitfähigkeit zu untersuchen. So konnten schon Blackman und Davis (1985) mit Hilfe eines „split-root“-Systems feststellen, dass in den Wurzeln produziertes ABA zu einem Schließen der Stomata führt. Sie bewässerten die eine Hälfte des Wurzelsystems ausreichend, während die andere Hälfte einem Trockenstress ausgesetzt wurde. Dies führte zu einem Stomataschluss, obwohl das Blattwasserpotential, der Turgordruck und die ABA Konzentration der Blätter unverändert blieben. Hierbei fungiert ABA also als Wurzel-Spross-Signal. Bei mildem Trockenstress, registrieren die Pflanzenwurzeln das Wasserdefizit im Boden und synthetisieren vermehrt ABA. Über das Xylem wird ABA in den Spross transportiert und induziert in den Blättern einen Stomataschluss, obwohl sich das Blattwasserpotential noch nicht merklich verringert hat (Jeschke *et al.* 1997).

Ein weiteres Beispiel ist der Versuch von Gowing *et al.* (1990), in dem Apfelbäume (*Malus domestica*) ebenfalls in einem „split-root“-System heranwachsen. Auch hier wurde ein Teil des Wurzelsystems nicht bewässert. Dadurch reduzierte sich die Blattentwicklung drastisch, obwohl die Pflanze durch die gut bewässerte Hälfte des Wurzelsystems ausreichend mit Wasser versorgt wurde. Diese Reaktionsmechanismen auf Trockenstress sollten ebenfalls in diesem Versuch untersucht werden, indem über einen Zeitraum von sechs Tagen täglich die Transpirationsverluste, sowie zu Versuchsende die Blattflächen gemessen wurden.

In diesem Experiment wurden zudem auch Pflanzen getestet, deren eine Hälfte des Wurzelsystems einem bodenbürtigen Trockenstress ausgesetzt waren. Die maximale Wasserhaltkapazität dieses Bodens sollte 25 % betragen. Dieser Wassergehalt führt zwar laut Xu und Zhou (2006) zu einem extremen Trockenstress, sollte aber in Zusammenhang mit der anderen Hälfte des Wurzelsystems, die sich in Nährlösung befand, zu einem milden und kurzen Trockenstress führen, da dies die Akkumulation von ABA in den Wurzeln stimuliert während hingegen bei starkem und langanhaltendem Trockenstress, die Wurzeln absterben (Sharp und Davis 1989).

Zusätzlich wurden Pflanzen getestet, deren eine Hälfte des Wurzelsystems mit ABA behandelt wurde, während die Andere einem bodendürftigen Trockenstress ausgesetzt war. Um anschließend Vergleiche ziehen zu können, wurden ebenfalls Pflanzen untersucht, deren gesamtes Wurzelsystem gut bewässert wurde, sowie Pflanzen die sich ausschließlich über Nährlösung versorgten.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Material

#### 2.1.1. Auswahl des Pflanzenmaterials

Die hydraulische Leitfähigkeit der Wurzeln wurde in diesem Versuch näherungsweise über die Xylemexsudation bestimmt. Da in dieser Arbeit ohne Hilfsmittel wie zum Beispiel das Anlegen von Drücken gearbeitet wurde, wurden Pflanzen benötigt, die nach Dekapitierung des Sprosssystems, eine ausreichende Menge an Blutungssaft bilden können. Da dieser Versuch mit Hilfe eines „split-root“-Systems durchgeführt wurde, ist ein weiteres wichtiges Kriterium, die Wurzelstruktur der Pflanzen, die das Umsetzen in „split-root“-Systeme ermöglichte. Nachteilig wäre hierbei eine dominante Pfahlwurzel, sowie zahlreiche Feinwurzeln, die das Teilen des Wurzelsystems erschweren würde.

Es wurden Rizinus (*Ricinus communis*), Sonnenblume (*Helianthus annuus*), Baumwolle (*Gossypium hirsutum*) und Mais (*Zea mays*) getestet.

Jeweils 20 Samen jeder Pflanzenart wurden in sandgefüllte Multitopfplatten eingepflanzt, die bis zur Keimung abgedeckt und regelmäßig befeuchtet wurden. Nach zweiwöchiger Wachstumsdauer wurden die Pflanzen in Einzeltöpfe (Durchmesser 9,0 cm; Höhe 6,9 cm; Volumen 280 mL) umgesetzt, die ebenfalls mit Sand gefüllt waren. Nach einer weiteren Woche wurden sie dekapitiert, um einen Eindruck über die Exsudationsmenge zu gewinnen. Hierzu wurde ein Schlauchstück (C-Flex®, Durchmesser: 4 mm, Novodirect) der Länge 3 cm eng über den restlichen Spross gestülpt und über einen Zeitraum von etwa 1 h das Exsudat gesammelt.

Für Rizinus und Mais ergaben sich im Vergleich zu Baumwolle und Sonnenblume größere Exsudationsmengen. Anschließend wurden die Pflanzen vorsichtig herausgelöst und die Wurzel mit Wasser von restlichem Sand befreit. Die Wurzeln von Baumwolle und Sonnenblume erwiesen sich als ungeeignet, da diese eine dominante Pfahlwurzel besaßen, welche das Teilen des Wurzelsystems in gleich große Teile unmöglich machte. Im Unterschied zu Rizinus hatte Mais ein sehr ausgeprägtes Wurzelsystem mit zahlreichen dünnen Seitenwurzeln, was das Teilen des Wurzelsystems erschwerte.

Daraus folgte, dass Rizinus die geeignet Pflanze ist, um die hydraulische Leitfähigkeit mit Hilfe eines „split-root“-Systems zu untersuchen (Abb. 1).



Abbildung 1 Wurzelssystem eines 2 Wochen alten Rizinuskeimlings nach Anzucht in sandgefüllten Multitopfplatten

### 2.1.2. Anzucht und Kultivierung

Alle Untersuchungen wurden an selbstkultivierten Rizinuspflanzen durchgeführt. Das Saatgut stammte von dem botanischen Garten der TU Dresden. Die Anzucht der Rizinuspflanzen fand in einem Gewächshaus der Universität Hohenheim statt. Die Durchschnittstemperatur in dieser Zeit betrug tagsüber  $31,2^{\circ}\text{C} \pm 6,2^{\circ}\text{C}$ , die Luftfeuchtigkeit lag bei  $38,7 \% \pm 16,2 \%$ . Nachts betrug die Durchschnittstemperatur  $23,5^{\circ}\text{C} \pm 2,7^{\circ}\text{C}$ , während die Luftfeuchtigkeit bei  $60,3 \% \pm 7,1 \%$  lag. Die Photoperiode während dieser Zeit betrug etwa 16 h. Die Samen wurden für 24 Stunden in destilliertem Wasser vorgequollen. Vorherige Versuche an anderen Pflanzenarten zeigten, dass dies die Keimfähigkeit der Samen verbessert (Vidal *et al.* 2010). Anschließend wurden 120 Rizinussamen in sandgefüllte Multitopfplatten gepflanzt, die bis zur Keimung abgedeckt und regelmäßig befeuchtet wurden.

Nachdem die Pflanzen die Bodenoberfläche durchbrochen hatten, wurde der Deckel abgenommen. Ab dem ersten Keimblattstadium wurden die Pflanzen mit Nährlösung (Zusammensetzung siehe Anhang) gegossen, welche 1:1 mit Wasser verdünnt wurde. Nach 14 Tagen war das Wurzelwachstum so weit fortgeschritten, dass sie in den Multitopfplatten nicht mehr ausreichend Platz hatten. Daraufhin wurden sie in Einzeltöpfe (Durchmesser 9,0 cm; Höhe 6,9 cm; Volumen 280 mL) umgesetzt, die ebenfalls mit Sand gefüllt waren (Abb. 2). Nun wurden sie mit reiner Nährlösung versorgt, um sie ausreichend mit Nährstoffen zu

versorgen und sie an die Bedingungen im „split-root“-System zu gewöhnen. Nach einer weiteren Woche hatten sich zwei weitere Laubblätter ausgebildet und die Rizinuspflanzen konnten in die „split-root“-Pflanzentöpfe umgesetzt werden.



Abbildung 2 Anzucht der Rizinuspflanzen in sandgefüllten Einzeltöpfen

### 2.1.3. „Split-Root“-System

Als Röhren wurden PVC-Kunststoffrohre (Polyvinylchlorid) gewählt, da diese wasserdicht verklebt werden können. Die PVC-Rohre hatten einen Durchmesser von 40 mm und eine Länge von 200 mm. Die Enden wurden sorgfältig an den Schnittstellen mit Schleifpapierpads (600er Körnung) entgratet und mit Tangit-Reiniger (Henkel) abgerieben, um Fremdkörper zu entfernen und dadurch eine ausreichende Dichtigkeit herzustellen. Anschließend wurden zwei PVC-Rohre mit wasserdichtem Tangit PVC-U Kleber (Henkel) seitlich aneinander geklebt. Um die zwei PVC-Rohre an einer Seite abzudichten und eine ausreichende Standfestigkeit zu gewährleisten, wurden PVC-Platten der Dimension 2 x 50 x 100 mm gewählt, welche ebenfalls mittels PVC-U Kleber mit den PVC-Rohren verbunden wurden. Um die Dichtigkeit zu überprüfen, wurden diese nach 24 h Trocknungszeit mit 100 mL Wasser gefüllt und zur Vermeidung von Evaporation



Abbildung 3 Aufbau eines „split-root“-Systems

abgedeckt und nach weiteren 24 h auf Wasserverlust untersucht. Um eine Halterung für die Pflanzen anzufertigen wurden PE-Rohre (Polyethylen) mit einem Durchmesser von 40 mm und einer Länge von 50 mm verwendet. Da diese direkt in der Mitte der beiden PVC-Rohre platziert werden sollten, erhielten sie mit Hilfe eines LötKolbens vier Kerben der Tiefe 20 mm. Dadurch konnte die Halterung genau auf die Mitte der beiden PVC-Rohre aufgesteckt werden, wie in Abbildung 3 dargestellt.

Es wurden PE-Rohre gewählt, da diese elastischer sind als PVC-Rohre und somit das Aufstecken auf die PVC-Rohre erleichtern. Ceaprenstopfen dienten zum Halt der Pflanze innerhalb des PE-Rohrs. Diese besaßen einen Schlitz, durch den das Hypokotyl in die Mitte des Ceaprenstopfen eingeführt wurde. Jedes „split-root“- System wurde nach der Fertigstellung gewogen und das Gewicht darauf vermerkt. Dies diente zur späteren Ermittlung der Transpiration.

#### 2.1.4. Belüftungssystem

Sauerstoffmangel im Wurzelbereich führt bei den meisten Pflanzenarten zu einer Störung des Energiestoffwechsels, was sich entweder in einer Wachstumsreduktion oder sogar im Absterben der gesamten Pflanze äußert (Heß 2008). Um eine ausreichende Sauerstoffversorgung der Wurzeln zu gewährleisten, wurden diejenigen Röhren, welche mit Nährlösung gefüllt waren alle zwei Stunden für fünfzehn Minuten belüftet.

Zur Installation des Belüftungssystems, wurde eine Membran-Vakuumpumpe und Kompressorpumpe (KNF Neuberger, Typ: N022AN.18, Förderleistung: 15 L min<sup>-1</sup>, Überdruck: 4 bar) mit einem Schlauch (C-Flex®, Durchmesser: 4 mm, Novodirect) verbunden. Damit jede der 40 Pflanzen eine Sauerstoffzufuhr erhielt, wurden an diesen Schlauch zwei Y-Verteiler (Material: Polypropylen, Durchmesser: 4 mm, Novodirect) hintereinander angebracht. Die nun ausgehenden vier Schläuche, mündeten jeweils in einer Verteilerleiste mit Drosseln und fünf Ausgängen (Polycarbonat-Verteilerleiste, Durchmesser 4 mm, Novodirect). Nach jedem dieser Ausgänge wurde ein weiterer Y-Verteiler angebracht. Die davon ausgehenden 40 Schläuche mündeten am Ende in Pipettenspitzen (Standard Universal 1-200 µL, Carl Roth). Der schematische Aufbau der Belüftungsanlage ist in Abbildung 4 dargestellt. Die Pipettenspitzen wurden fest auf die Schläuche aufgesteckt und sorgten zum Einen dafür, dass der Druck im Schlauch nicht allzu stark abfiel und zum

Anderen, dass die Luft in kleinen Blasen entweichen konnte. Dadurch wurde ein Übersprudeln der Nährlösung in den „split-root“-Systemen verhindert.

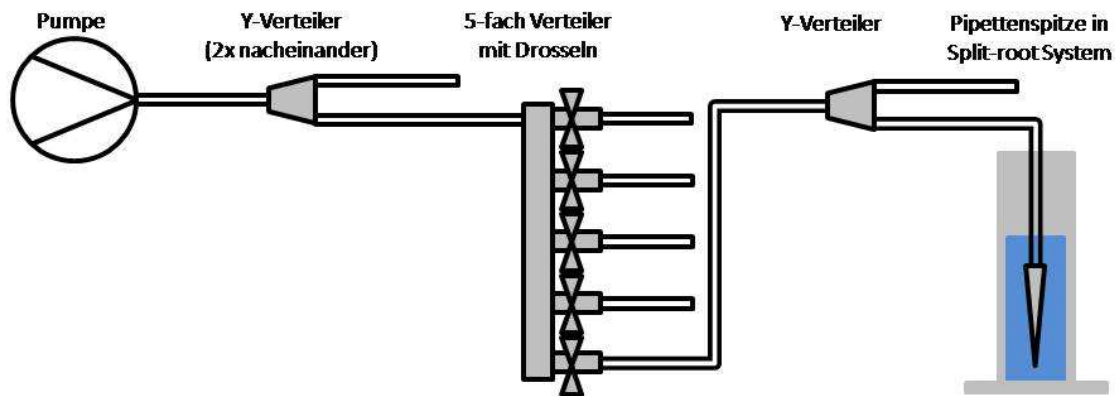


Abbildung 4 Schema des Belüftungssystems

Die Verteilerleisten waren an Bambusstangen etwa 60 cm oberhalb der Versuchspflanzen angebracht. Von dort aus hingen die Schläuche senkrecht in die „split-root“-Systeme hinein (Abb. 6 und 7). Dadurch wurden mögliche Knicke in den Schläuchen vermieden, welche die Luftzufuhr verhindert hätten. Nach jedem Y-Verteiler, sowie nach jeder Verteilerleiste, waren die jeweiligen Schläuche exakt gleich lang dimensioniert, um eine gleichmäßige Druckverteilung zu gewährleisten. Über die Drosseln wurde die Luftzufuhr reguliert und eine gleichmäßige Luftverteilung an alle Versuchspflanzen sichergestellt. Die Membran- Vakuumpumpe und Kompressorpumpe war an eine Zeitschaltuhr angeschlossen. Diese sorgte dafür, dass die Pflanzenwurzeln alle zwei Stunden für 15 Minuten belüftet wurden.



Abbildung 6 Belüftungssystem Frontansicht

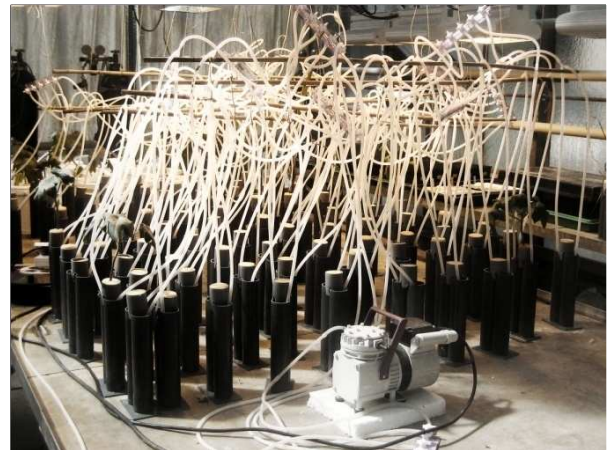


Abbildung 5 Belüftungssystem Seitenansicht



### 2.1.5. Abscisinsäure

ABA wurde ins Wurzelmedium der mit Nährlösung versorgten Wurzeln appliziert. Hierzu wurden im Labor Nährlösungen mit den entsprechenden ABA-Konzentrationen hergestellt. Um eine Nährlösung mit  $10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> ABA herzustellen, wurden 0,0528 g (molare Masse von ABA: 264,32 g) ABA zu zwei Liter Nährlösung hinzugegeben und in einem Messkolben mit Hilfe eines Magnetrührers aufgelöst. Da ABA sehr lichtempfindlich und schwer löslich ist, wurde der Messkolben mit Alufolie abgedeckt und für 24 h durchgerührt.

Zur Herstellung der Nährlösung mit  $10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> ABA wurde zunächst 0,0264 g ABA in demineralisiertem Wasser nach dem oben beschriebenen Prinzip gelöst. Anschließend wurden 20 mL dieser Lösung zu zwei Litern Nährlösung gegeben. Die Lösungen wurden in Kanistern dunkel und kühl gelagert.

Eine Stunde vor Messung der Exsudation wurden bei allen Pflanzen, welche eine ABA Applikation erhielten, jeweils 180 g der mit ABA versetzten Nährlösung in die Röhren der „split-root“-Systeme gefüllt.

### 2.1.6. Versuchsaufbau und Durchführung

Der Versuch fand in einem Gewächshaus der Universität Hohenheim statt. Die Durchschnittstemperatur am Tag lag bei  $29,9^{\circ}\text{C} \pm 5,9^{\circ}\text{C}$  mit einer Luftfeuchtigkeit von  $47,9\% \pm 20,3\%$ . Während der Nacht war die durchschnittliche Temperatur  $22,9^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ , die Luftfeuchtigkeit lag bei  $70,8\% \pm 11,5\%$ . Diese Daten wurden mittels eines Tinytags (Meaco Measurement and Control) erhoben und aufgezeichnet. Die Photoperiode während der Versuchsdauer (17. Juli – 24. Juli 2010) lag bei etwa 16 h.

In diesem Versuch wurden acht verschiedene Varianten untersucht (siehe Tab. 1). Jede Variante wurde fünf Mal wiederholt.

Linke Röhre des „split-root“-Systems	Rechte Röhre des „split-root“-Systems
Boden 80 % WHK <sub>max</sub>	Boden 80 % WHK <sub>max</sub>
Boden 80 % WHK <sub>max</sub>	Nährlösung
Boden 80 % WHK <sub>max</sub>	Nährlösung mit 10 <sup>-6</sup> mol L <sup>-1</sup> ABA
Boden 80 % WHK <sub>max</sub>	Nährlösung mit 10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup> ABA
Boden 25 % WHK <sub>max</sub>	Nährlösung
Boden 25 % WHK <sub>max</sub>	Nährlösung mit 10 <sup>-6</sup> mol L <sup>-1</sup> ABA
Boden 25 % WHK <sub>max</sub>	Nährlösung mit 10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup> ABA
Nährlösung	Nährlösung

Tabelle 1 Versuchsvarianten

Die Pflanzentöpfe wurden nach Behandlung und Wiederholung vollständig randomisiert aufgestellt, um unbekannte Einflussfaktoren gleichmäßig auf alle Prüfglieder zu verteilen. Die Randomisierung erfolgte durch auslosen. Jeder Platz auf dem Tisch erhielt eine Zahl zwischen 1 und 40, ebenso wurden alle „split-root“-Pflanzentöpfe von 1 bis 40 durchnummeriert und beschriftet. Diese Zahlen wurden auf kleine Karteikarten geschrieben, sodass man zwei Stapel mit jeweils 40 Karten erhielt. Anschließend wurde ein dritter Stapel angefertigt, der nur zwei Karten enthielt. Diese gaben an, ob das „split-root“-System mit der beschrifteten oder unbeschrifteten Seite nach vorne aufgestellt werden sollte. Der Abstand zwischen den „split-root“-Pflanzentöpfe betrug 10 cm, damit sich die Pflanzen nicht gegenseitig beschatteten. Um möglichen Randeffekten vorzubeugen wurden Randpflanzen, die sich ebenfalls in „split-root“-Systemen befanden und dadurch die gleiche Höhe aufwiesen, um die Versuchspflanzen herum platziert. Die Pflanzen wurden in fünf Reihen mit jeweils acht Pflanzen aufgestellt. Die Transpirationsrate bzw. der Wasser und Nährstoffverbrauch der Pflanzen wurde über einen Zeitraum von sechs Tagen täglich gemessen. Nährlösungswechsel und die Wasserversorgung der Pflanzen fand ebenfalls täglich statt. Nach sechs Tagen wurden die Pflanzen dekapitiert und über einen Zeitraum von drei Stunden das Exsudat gesammelt. Im Anschluss daran fand die Blattflächenbestimmung der einzelnen Pflanzen statt. Zusätzlich wurde noch die Xylem ABA Konzentration mittels ELISA-Test im Labor bestimmt. Die Durchführungen dieser Methoden werden in folgenden Kapiteln detailliert beschrieben.

## 2.2. Methoden

### 2.2.1. Umsetzung der Pflanzen in das „split-root“- System

Um homogene Versuchsbedingungen zu schaffen, wurden alle Pflanzen mit gleichem Entwicklungsstadium ausgewählt. Diese wurden vorsichtig aus den mit sandgefüllten Einzeltöpfen herausgelöst. Anschließend wurde unter fließendem Wasser der restliche Sand an den Wurzeln ausgewaschen. Um keine Verletzungen der Wurzeln, während der Teilung, hervorzurufen und um das Stressniveau der Pflanze so gering wie möglich zu halten, geschah die Teilung der Wurzeln unter Wasser. Alle Pflanzen mit Verletzungen oder einem unterschiedlich entwickelten Wurzelsystem wurden aussortiert. Besaßen Pflanzen eine dominante Hauptwurzel, die das Teilen in zwei gleich große Anteile nicht unterstützte, wurde diese mit Hilfe einer Schere entfernt. Nachdem die Wurzeln in einem mit Wasser gefüllten Eimer geteilt wurden, wurden sie vorsichtig durch das PE-Rohr gesteckt. Um den Pflanzen nun Halt zu verleihen, wurde das Hypokotyl in den Schlitz der Ceaprenstopfens eingeführt, sodass sich die Pflanze genau in der Mitte des Ceaprenstopfens befand. Anschließend wurde das PE-Rohr über den Ceaprenstopfen geschoben und auf die beiden PVC-Rohre gesteckt (Abb. 7). Wurde das gesamte Wurzelsystem mit Nährlösung versorgt, waren die zwei PVC-Rohre bereits mit 180 g Nährlösung gefüllt. Diese wurden anschließend mit Alufolie abgedeckt, um Evaporation zu vermeiden. Pflanzen der Kontrollvariante, bei der sich in beiden Röhren des „split-root“- Systems Boden befand, wurde das PE-Rohr mit der Pflanze zuerst aufgesteckt. Anschließend wurde mit Hilfe eines Plastiktrichters der vorgeseibte Boden (Maschenweite 3 mm) eingefüllt. Dies geschah immer nach dem gleichen Schema, damit die Dichtigkeit des Bodens in jeder Röhre identisch ist. Zuerst wurden 100 g Boden jeweils in beide Röhren eingefüllt. Damit der Boden sich verfestigt, wurde das „split-root“- System vier Mal auf den Tisch geklopft.



Abbildung 7 Rizinuspflanze in „split-root“-System

Daraufhin wurden weitere 70 g Boden beiden Röhren eingetrichtert und anschließend erneut vier Mal auf den Tisch geklopft. Abschließend wurden die letzten 40 g Boden eingefüllt und zum Schuss nochmals vier Mal geklopft. Insgesamt enthielt nun jede Röhre 210 g Boden. Zuletzt wurde der Boden jeder Röhre auf eine Bodenfeuchte von 80 %  $WHK_{max}$  eingestellt. Bei Pflanzen, deren Hälften des Wurzelsystems sich sowohl in Boden als auch in Nährlösung befanden, wurde das PE-Rohr mit der Pflanze ebenfalls zuerst aufgesteckt. Der Boden wurde nach dem gleichen Prinzip, wie zuvor beschrieben, in eine Röhre gefüllt. Anschließend wurde die andere Röhre mit Nährlösung aufgefüllt. Sowohl der Boden der trockengestressten Pflanzen, als auch der, der gut bewässerten Pflanzen wurde auf eine Bodenfeuchte von 80 %  $WHK_{max}$  eingestellt. Da ABA nur bei kurzfristigem Trockenstress einen positiven Einfluss auf die hydraulische Leitfähigkeit der Wurzeln hat (Hose, 2000), sollte der Trockenstress langsam induziert werden. Während des Adaptionszeitraumes von zehn Tagen wurde der Boden der gut bewässerten Pflanzen konstant auf einem Wassergehalt von 80 %  $WHK_{max}$  gehalten. Trockengestresste Pflanzen hingegen wurden schon während des Adaptionszeitraumes nicht mehr bewässert um eine Austrocknung auf 25 %  $WHK_{max}$  zu erreichen, da die Evaporation in den schmalen Röhren sehr gering war. Röhren, die Boden enthalten, wurden aus diesem Grund nicht mit Alufolie abgedeckt. Alle „split-root“-Systeme wurden nummeriert und die entsprechenden Behandlungen darauf vermerkt. Die Nährlösung wurde täglich ausgewechselt.

### 2.2.2. Bestimmung der maximalen Wasserhaltekapazität ( $WHK_{max}$ )

Als 100 %-ige Wasserkapazität des Bodens wird das von 100 g Trockensubstanz aufgenommene Wasservolumen bezeichnet (Alef 1991). Um diese nun festzustellen wurde eine 200 mm PVC-Röhre (Durchmesser 40 mm) mit einem Fliegengitter (Maschenweite 1,5 mm) an der unteren Öffnung des PVC-Rohrs mit Klebeband befestigt. Dies diente dazu, dass überschüssiges Wasser ablaufen konnte, der Boden jedoch in der Röhre gehalten wurde. Um später die vom Boden gehaltene Wassermenge bestimmen zu können, wurde das Gewicht der leeren PVC-Röhre ermittelt. 100 g gesiebter Boden (Maschenweite 3 mm) wurde mit Hilfe eines Plastiktrichters in die Röhre eingefüllt. Anschließend wurde dem Boden mit Hilfe einer Spritzflasche langsam Wasser zugeführt. Dies geschah so lange, bis reichlich Wasser aus der unteren Öffnung austrat. Danach wurde die Röhre mit Alufolie abgedeckt, um Evaporation zu vermeiden. Nachdem der Boden gründlich abgetropft war und kein Wasser mehr austrat, waren die Bodenkapillaren gesättigt und es wurde anhand des Gewichts des wassergesättigten

Bodens seine Wasseraufnahme bestimmt. Schließlich wurde noch die Restfeuchte des Bodens ermittelt. Hierzu wurden 100 g Boden bei 105°C im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet (Stahr *et al.* 2008). Anschließend wurde durch Differenzwägung die Restfeuchte bestimmt. Aus der aufgenommenen Wassermenge und der Restfeuchte des Bodens konnte die maximale Wasserhaltekapazität ( $WHK_{max}$ ) berechnet werden.

In diesem Versuch werden die gut bewässerten Pflanzen konstant auf einer Bodenfeuchte von 80 %  $WHK_{max}$  gehalten. Die trockengestressten Pflanzen hingegen, sollen zu Versuchsende eine Bodenfeuchte von 25 %  $WHK_{max}$  aufweisen. Durch langsame Austrocknung des Bodens sollen die Pflanzen nur kurzfristig gestresst werden. Hierzu werden sie zu Versuchsbeginn ebenfalls auf eine Bodenfeuchte von 80 %  $WHK_{max}$  gebracht.

### 2.2.3. Messung der Transpiration

24 h vor dem Messungszeitraum wurde der Wassergehalt des Bodens der trockengestressten Pflanzen ermittelt. Anhand des Gewichts der „split-root“-Systeme, des Bodens, sowie der Wassermenge, die nach der Einsetzung der Pflanzen in das „split-root“-System verabreicht wurde, konnte dies berechnet werden. Das Pflanzengewicht wurde dabei vernachlässigt. Ebenso wurden alle Röhren, die Nährlösung enthalten, erneut mit 180 g Nährlösung befüllt und der Boden ungestresster Pflanzen auf eine Bodenfeuchte von 80 %  $WHK_{max}$  gebracht.

Die Transpirationsverluste wurden über einen Zeitraum von sechs Tagen täglich um neun Uhr gemessen. Da das jedoch einige Zeit benötigte, erfolgte dies bei allen 40 Pflanzen jeden Tag in der gleichen Reihenfolge.

Bei der Variante, in der beide Röhren mit Nährlösung gefüllt waren, wurde die Pflanze zusammen mit dem PE-Rohr und dem Schaumstoffstopfen vorsichtig abgenommen. Zur Feststellung des Nährstoffverbrauchs, wurde ein Becherglas auf eine Waage gestellt. Da der Nährstoffverbrauch jeder Röhre getrennt betrachtet werden sollte, wird eine Röhre mit der Handfläche fest verschlossen, während der Inhalt der Anderen in das Becherglas geschüttet wurde. Aus der Differenz der Ausgangsmenge und der ermittelten Menge konnte der Verbrauch berechnet werden. Anschließend wurde jede Röhre erneut mit 180 g Nährlösung aufgefüllt und die Pflanze wie zuvor, auf dem „split-root“-System angebracht. Hierbei wurde

beachtet, dass jede Hälfte des Wurzelsystems wieder in der gleichen Röhre des „split-root“-Systems gelangt.

Bei der Variante, in der beiden Röhren Boden enthielten, wurde das gesamte Gewicht des „split-root“-Pflanzentopfes ermittelt. Anschließend wurde das Leergewicht des „split-root“-Systems, welches zu Beginn des Versuches ermittelt wurde, von dem Gesamtgewicht abgezogen. Das Pflanzengewicht wurde hierbei vernachlässigt. Bei dieser Variante konnte der Wasserverbrauch der Röhren nicht getrennt voneinander betrachtet werden. Es wurde angenommen, dass jeder Wurzelteil die gleiche Menge Wasser verbraucht. Die Differenz zwischen dem Ausgangsgewicht des 80 %  $WHK_{max}$  gesättigten Boden und dem ermittelten Gewicht durch zwei geteilt, ergab den Wasserverbrauch der einzelnen Röhre. Diese wurden ebenfalls danach wieder auf einen Wassergehalt von 80 %  $WHK_{max}$  aufgefüllt.

Bei Pflanzen, deren Hälften des Wurzelsystems sich sowohl in Boden als auch in Nährlösung befanden, wurde mit Hilfe von Alufolie der Boden abgedeckt, um diesen beim Ausschütten der Nährlösung in der Röhre zu halten. Der Verbrauch der Nährlösung erfolgte nach dem gleichen Prinzip wie zuvor beschrieben. Anschließend wurde die Röhre erneut mit 180 g Nährlösung aufgefüllt. Um den Wasserverbrauch der Bodenseite zu ermitteln, wurde wieder der gesamte „split-root“-Pflanzentopf gewogen und das Leergewicht des „split-root“-Systems, sowie das Gewicht der Nährlösung abgezogen. Auch hier wurde das Pflanzengewicht vernachlässigt. Die Differenz des Ausgangsgewicht und des ermittelten Gewichts ergab den Transpirationsverlust. Bei Pflanzen, die gut bewässert wurden, wurde der Boden erneut auf einen Wassergehalt von 80 %  $WK_{max}$  gebracht. Pflanzen, die trockengestresst werden sollten, wurden nicht mit Wasser versorgt. Ihr ermitteltes Gewicht ergab das Ausgangsgewicht der nächsten Messung.

### 2.2.4. Messung der Exsudation

Die Messung der Exsudation erfolgte morgens um 5 Uhr. Vor Sonnenaufgang herrscht eine sehr hohe Luftfeuchtigkeit, dies führt zu einer Senkung der Transpiration, dadurch herrscht in den Gefäßen ein Überdruck, was folglich zu einer Erhöhung des Wurzeldrucks führt. Das Abschneiden des Sproßsystems führt dazu, dass keine Transpiration statt finden kann. Dies führt ebenfalls zu einer Erhöhung des Wurzeldrucks (Libbert 1993). Um ausreichenden Blutungssaft zu erhalten, musste daher kein Druck angelegt werden. Eine Stunde vor der Messung wurde erneut der Wasserverbrauch aller Pflanzen ermittelt und die Nährlösung ein letztes Mal ausgetauscht. Pflanzen, die mit ABA behandelt wurden, erhielten die Nährlösung mit der entsprechenden ABA-Konzentration. Die Uhrzeiten der Applikation der einzelnen Pflanze wurden auf den „split-root“-Systemen vermerkt, damit genau nach einer Stunde die Pflanzen mit Hilfe einer Rasierklinge dekapitiert werden konnten. Die Schnittstelle befand sich 5 cm über der Wurzelbasis. Für die spätere Blattflächenmessung, wurden die abgetrennten Sproßsysteme in ein Wasserglas gestellt und mit der Behandlungsnummer versehen, um ein Welken der Blätter zu verhindern. Anschließend wurde ein Schlauchstück (C-Flex®, Durchmesser: 4 mm, Novodirect) der Länge 3 cm eng über den restlichen Spross gestülpt, damit kein Exsudationssaft seitlich abfließen konnte (Abb. 8). Über einen Zeitraum von drei Stunden wurde der Exsudationssaft in den Schläuchen gesammelt. Anschließend wurde mittels einer Glaspipette das gesamte Exudat jeder Pflanze in Eppendorfgefäße (1,5 mL) überführt (Abb. 9). Diese wurden zuvor gewogen und nummeriert. Um später die Xylem ABA Konzentration feststellen zu können, wurden sie mittels einer mit Eis gefüllten Thermobox aus Styropor noch im Gewächshaus kühl gehalten. Um die Exsudationsmenge festzustellen, wurden die



Abbildung 9 Messung der Exsudation mit Hilfe eines Schlauchstücks, das eng über den dekapitierten Spross gestülpt wurde



Abbildung 8 Pipettierung des Exsudats mit Hilfe einer Glaspipette in Eppendorfgefäße

Eppendorfgefäße erneut gewogen und das Leergewicht abgezogen. Bis zur späteren ABA-Analyse wurden die Exsudate in einem Gefrierschrank bei  $-23^{\circ}\text{C}$  gelagert.

### 2.2.5. Bestimmung der Blattfläche

Die Blattflächen wurden mittels eines Blattflächenmessgeräts noch vor Sonnenaufgang bestimmt, um eine Beeinflussung durch Lichteinflüsse zu verhindern. Nachdem das Sprosssystem von der restlichen Pflanze entfernt wurde, wurden mit Hilfe einer Rasierklinge die einzelnen Blätter abgetrennt. Anschließend wurden diese mit der Blattunterseite nach oben auf dem Messtisch so platziert, dass sie sich in dem optischen Messfeld des Geräts befanden. Die Blattflächen wurden einseitig gemessen. Nach Addition der einzelnen Blattflächen einer Pflanze, erhielt man die Gesamtblattfläche.

### 2.2.6. Bestimmung der Xylem ABA Konzentration (ELISA-Test)

Das nach der Dekapitierung gewonnene Exsudat wurde mittels ELISA-Test (enzyme linked immunosorbent assay) auf seine ABA Konzentration hin untersucht. Hierbei reagieren spezifische Antikörper mit der Abscisinsäure. Die Durchführung des Tests erfolgte gemäß Asch (2001).

Zunächst wurde jedes Well der Mikrotiterplatte mit  $200\ \mu\text{L}$  ABA-4'-BSA-Konjugat ( $60\ \mu\text{L}$  Stocklösung +  $120\ \text{mL}$  Natriumhydrogencarbonat  $50\ \text{mM}$ ;  $\text{pH } 9,6$ ) mit Hilfe einer 8-Kanal-Pipette beschichtet. Diese Lösung enthielt das Antigen-Träger-Protein und das Antigen. Anschließend wurde die Mikrotiterplatte in einer mit feuchten Papiertüchern ausgekleideten Plastikbox bei  $4^{\circ}\text{C}$  für  $15\ \text{h}$  über Nacht gelagert. Im nächsten Schritt, wurden die zu untersuchenden Proben in eine vorgefertigte Excel Tabelle eingetragen, um später die Ergebnisse zu den einzelnen Proben zuordnen zu können. Nach der Inkubationszeit wurde die Flüssigkeit in den einzelnen Wells ausgeschlagen und daraufhin mit dem Wasch-Puffer 2 drei Mal ausgewaschen, um den Überschuss zu entfernen. Beim letzten Waschschrift verblieb der Wasch-Puffer in den Wells und die Mikrotiterplatte, welche sich erneut in einer mit feuchten Papiertüchern ausgekleideten Plastikbox befand, wurde für  $20\ \text{Minuten}$  bei  $37^{\circ}\text{C}$  im Wasserbad inkubiert. Anschließend wurde der Wasch-Puffer ausgeschüttet und die Platte solange auf Papiertücher geschlagen, bis diese vollständig trocken war. Im nächsten Schritt



wurden zunächst 100 µL H<sub>2</sub>O, dann 100 µL ABA-Stocklösung (80000 pg), sowie 100 µL Abscisinsäure-Standards (4000 pg, 2000 pg, 1000 pg, 500 pg, 250 pg, 125 pg) und die zuvor verdünnten Xylemsaftproben, welche die Antigene enthielten, in die einzelnen Wells nach folgendem Schema pipettiert:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	B+	B+	B+	1	1	1	9	9	9	17	17	17
B	B-	B-	B-	2	2	2	10	10	10	18	18	18
C	4000	4000	4000	3	3	3	11	11	11	19	19	19
D	2000	2000	2000	4	4	4	12	12	12	20	20	20
E	1000	1000	1000	5	5	5	13	13	13	21	21	21
F	500	500	500	6	6	6	14	14	14	22	22	22
G	250	250	250	7	7	7	15	15	15	23	23	23
H	125	125	125	8	8	8	16	16	16	24	24	24

**Tabelle 2 Pipettierschema der Mikrotiterplatte, ELISA-Test**

B+: 100 µL H<sub>2</sub>O

B-: 100 µL ABA Stocklösung (80 000 pg)

4000, 2000, 1000, 500, 250, 125: 100 µL ABA-Standards

1 - 23: 100 µL der zu untersuchenden Proben

Daraufhin wurde 100 µL verdünnter Antikörper (20 µL Original Anti-rat IgG + 20 mL Puffer 1) ebenfalls in jedes Well pipettiert und anschließend für etwa eine Minute vorsichtig geschüttelt und für 3 h bei 4°C im Kühlschrank gelagert. In diesem Inkubationsschritt band sich das Antigen an die im Überschuss vorliegenden Antikörper. Es konkurrierten hierbei die Antigene der Proben mit den Antigenen des ABA-4<sup>+</sup>-BSA-Konjugats, das sich im ersten Schritt an die Wände der Wells angelagert hatte. Es folgten drei weitere Waschrunde mit dem gleichen Wasch-Puffer, sowie das Trockenschlagen. Im nächsten Schritt wurden 200 µL eines zweiten Enzym-markierenden Antikörper (200 µL MAC 252 + 11 mL PBS), ebenfalls mit einer 8-Kanal-Pipette in die einzelnen Wells hinzugegeben und anschließend für eine Stunde bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Nach dieser Zeit, wurde die Mikrotiterplatte erneut fünf Mal mittels Wasch-Puffer gereinigt und im Folgenden trockengeschlagen. Im Anschluss daran, wurden 200 µL eines Enzymsubstrates (20 mg p-Nitrophenylphosphat in 20 mL Natriumhydrogencarbonatlösung) in jedes Well pipettiert und anschließend bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Der zweite Antikörper enthielt ein spezifisches Enzym, welches mit dem Enzymsubstrat reagiert und eine Gelbverfärbung hervorruft. Diese Verfärbung war negativ korreliert mit der Menge an Antigenen in der Probe. Mittels eines ELISA-Readers (Model 680 Microplate Reader S/N 18688, Messwellenlänge 405nm) wurden die

Extinktionen der Proben bestimmt. Nach zehn Minuten wurde die erste Messung vorgenommen. Die Berechnung der Ergebnisse erfolgt mit Hilfe einer vorgefertigten Excel Kalkulationstabelle von Asch (2001). Die Extinktionswerte wurden in eine zweite Tabelle eingetragen. Die nächste Tabelle, zeigt alle Werte an, welche sich außerhalb des Bereichs der Standardkurve befanden, d.h. wenn sie eine zu schwache oder zu hohe Konzentration aufwiesen. Diese waren gelb unterlegt und konnten korrigiert werden. Anschließend wurde der korrigierte B+-Wert bestimmt, indem man die Mittelwerte aller drei Wiederholungen von B+ und B- ermittelte und daraufhin subtrahierte. Um eine lineare Regression zwischen den Logit transformierten Messwerten und den logarithmisch transformierten angenommenen Konzentrationen berechnen zu können, wurde der B+-Wert für alle Werte in der Standardkurve in Prozent umgerechnet. Mit Hilfe dieser Umrechnung konnte der Regressionskoeffizient ( $r^2$ ), der x-Koeffizient (a) und der Achsenabschnitt (b) berechnet werden. Die Mittelwerte der drei Wiederholungen aller Proben wurden anschließend nach dem gleichen Prinzip wie die Kalibrierungskurve umgewandelt. Mit Hilfe der Regression  $x = (y-b) / a$  konnte nun die ABA-Konzentration jeder Probe berechnet werden. (Zusammensetzung und Herstellung aller Lösungen siehe Anhang).

### 2.2.7. Test auf Kreuzreaktionen

Die ABA Konzentration sollte mittels ELISA-Test festgestellt werden. Um sicherzugehen, dass dies mit Exsudaten von Rizinus möglich war, musste ein Test auf Kreuzreaktionen erfolgen. Hierbei wurde überprüft, ob in den Exsudaten neben den Antigenen noch andere Inhaltsstoffe enthalten waren, die mit den Antikörpern reagieren. Um mögliche Fehler auszuschließen, wurde dieser Test drei Mal wiederholt. Die Durchführung dieses Tests erfolgte ebenfalls wie nach Asch (2001) beschrieben.

Die Bearbeitung der Mikrotiterplatte erfolgte bis zum Auftragen der Xylemsaftproben nach dem gleichen Schema wie im vorherigen Kapitel beschrieben. Es wurde hierfür eine Probe ausgesucht, deren ABA Konzentration bekannt war und nach Durchführung des ELISA-Tests noch eine ausreichende Menge an Xylemexsudat vorhanden war. Wie die folgende Tabelle zeigt, wurde die Mikrotiterplatte ebenfalls mit einer normalen Standardreihe versehen. Anschließend wurden jeweils 50  $\mu$ L der einzelnen Standards zusammen mit 50  $\mu$ L H<sub>2</sub>O in die nächsten Wells pipettiert und anschließend 50  $\mu$ L des jeweiligen Standards mit 50  $\mu$ L der Probe zusammen in die einzelnen Wells gegeben.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>A</b>	B+	B+	B+	4000+H	4000+H	4000+H	1000+P	1000+P	1000+P	
<b>B</b>	B-	B-	B-	2000+H	2000+H	2000+H	500+P	500+P	500+P	
<b>C</b>	4000	4000	4000	1000+H	1000+H	1000+H	250+P	250+P	250+P	
<b>D</b>	2000	2000	2000	500+H	500+H	500+H	125+P	125+P	125+P	
<b>E</b>	1000	1000	1000	250+H	250+H	250+H				
<b>F</b>	500	500	500	125+H	125+H	125+H				
<b>G</b>	250	250	250	4000+P	4000+P	4000+P				
<b>H</b>	125	125	125	2000+P	2000+P	2000+P				

**Tabelle 3 Pipettierschema der Mikrotiterplatte, Kreuzreaktionstest**

B+: 100 µL H<sub>2</sub>O

B-: 100 µL ABA Stocklösung (80 000pg)

4000, 2000, 1000, 500, 250, 125: 100 µL ABA-Standards

4000+H, 2000+H, 1000+H, 500+H, 250+H, 125+H: 50 µL ABA-Standards + 50 µl H<sub>2</sub>O

4000+P, 2000+P, 1000+P, 500+P, 250+P, 125+P: 50µL ABA-Standards + 50µL der zu untersuchenden Probe

Alle weiteren Schritte verliefen exakt nach dem gleichen Schema wie zuvor beschrieben. Nach Berechnung der Ergebnisse mittels der Excel Kalkulationstabelle wurden diese Daten gegen den bekannten ABA-Input geplottet (Abb. 10)

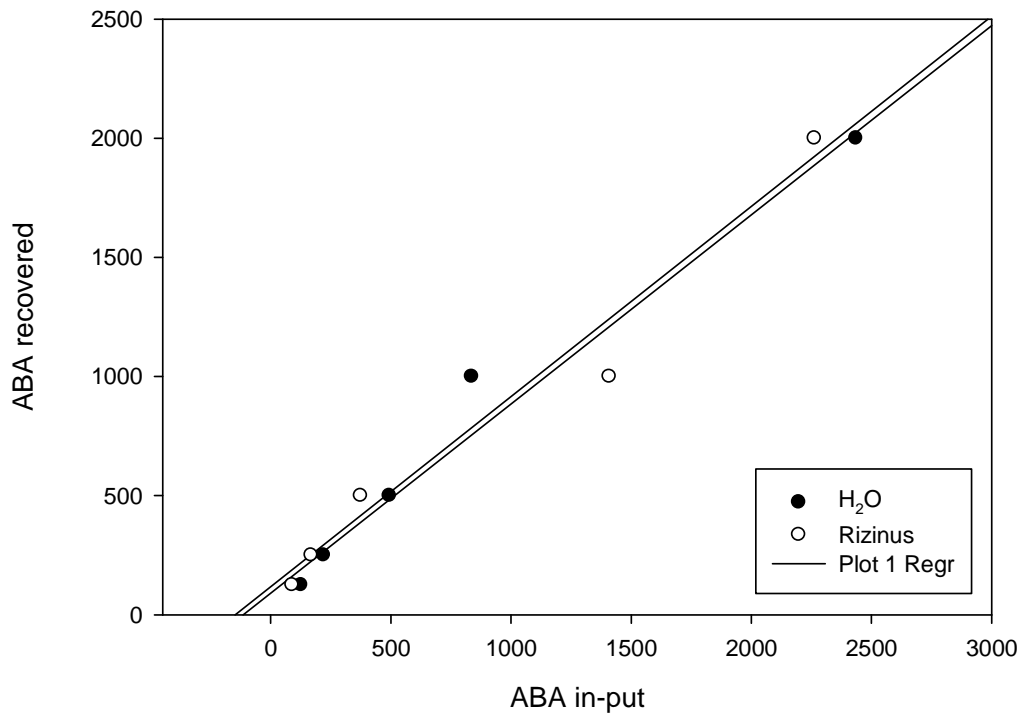


Abbildung 10 Kreuzreaktionstest des Rizinusexudats in [pg/g]

Abbildung 10 zeigt, dass keine Kreuzreaktion vorlag. Hätten sich die zwei Geraden überkreuzt, wäre das Gegenteil der Fall gewesen. Demzufolge waren die Ergebnisse des zuvor durchgeführten ELISA-Tests gültig und konnten ausgewertet werden.

### 2.2.8. Statistik

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte unter der Verwendung des Programms SAS<sup>®</sup> Version 9.2. Um signifikante Unterschiede der Messdaten festzustellen, wurde eine 1-faktorielle Varianzanalyse durchgeführt. Das Modell lautete:

$$y = \mu + a + e$$

$\mu$  bezeichnet den allgemeinen Mittelwert,  $a$  die Variante und  $e$  den Restfehler. Das Signifikanzniveau betrug 5 %. Anschließend wurden eine Kreuztabelle und eine Buchstabendarstellung angefertigt (siehe Anhang). Um mögliche Zusammenhänge zwischen zwei Variablen festzustellen, wurde zusätzlich eine Korrelationsanalyse durchgeführt.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Transpiration

##### 3.1.1. Gesamttranspiration

Bei der Ermittlung der Gesamttranspiration wurden die Messergebnisse der sechs Messtage zusammengefasst und der Mittelwert, sowie der Standardfehler berechnet. Da die ABA-Applikation erst eine Stunde vor Messung der Exsudation erfolgte, wird in Abbildung 11 lediglich zwischen vier verschiedenen Behandlungen unterschieden. Um jedoch Vergleiche mit anderen Messergebnissen wie Exsudation und Xylem ABA Konzentration zu ziehen, werden die Pflanzen mit der gleichen Behandlung zunächst noch getrennt ausgewertet und in der folgenden Grafik dargestellt.

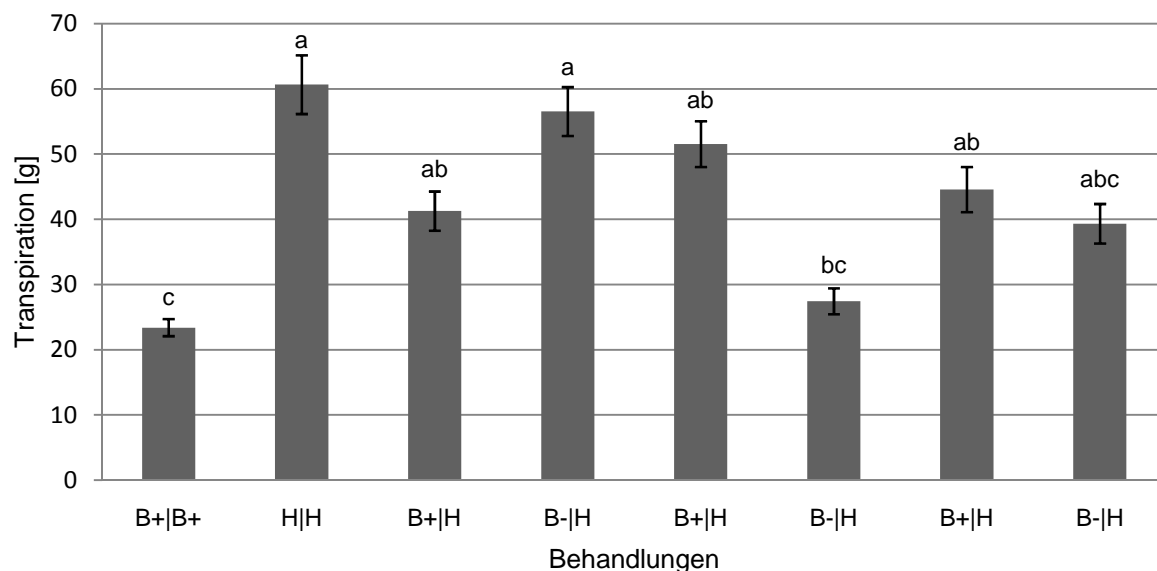


Abbildung 11 Gesamttranspirationsverlust über einen Zeitraum von sechs Tagen (in g; Mittelwerte der 5 Wiederholungen  $\pm$  Standardfehler). Behandlungen: B+|B+: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Boden, der eine  $WHK_{max}$  von 80 % aufweist, gefüllt; H|H: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Nährlösung gefüllt. B+|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine  $WHK_{max}$  von 80 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt; B-|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine  $WHK_{max}$  von 25 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt. Säulen mit dem gleichen Buchstaben sind nicht signifikant verschieden ( $P > 0.05$ ).

Die Abbildung 11 zeigt, dass Pflanzen, die ausschließlich mit Nährlösung versorgt wurden, mit durchschnittlich 61 g die höchsten Transpirationsverluste aufwiesen. Diese unterschieden sich signifikant von den Pflanzen, deren gesamtes Wurzelsystem sich in gut bewässertem Boden befand. Diese wiesen nur einen Transpirationsverlust von durchschnittlich 23 g auf.

Um konkrete Unterschiede zwischen Pflanzen, die über eine Hälfte des Wurzelsystems trockengestresst wurden und Pflanzen, die keinem Trockenstress ausgesetzt wurden, festzustellen, wurden in Abbildung 12 alle Pflanzen, mit der gleichen Behandlung zusammengefasst und erneut ausgewertet.

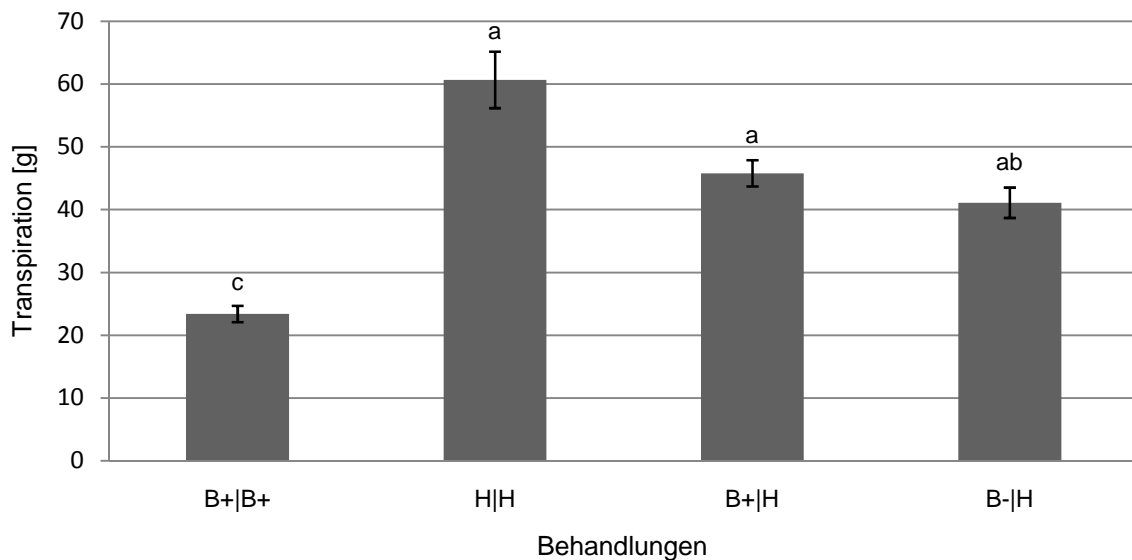


Abbildung 12 Gesamttranspirationsverluste über einen Zeitraum von sechs Tagen mit Zusammenfassung aller Pflanzen mit gleicher Behandlung (in g; Mittelwerte aller 5 bzw. 15 Wiederholungen  $\pm$  Standardfehler). Behandlungen: B+|B+: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Boden, der eine  $WHK_{max}$  von 80 % aufweist, gefüllt; H|H: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Nährlösung gefüllt. B+|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine  $WHK_{max}$  von 80 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt; B-|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine  $WHK_{max}$  von 25 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt. Säulen mit dem gleichen Buchstaben sind nicht signifikant verschieden ( $P > 0.05$ ).

Abbildung 12 zeigt, dass die Transpirationsverluste der Pflanzen, deren eine Hälfte des Wurzelsystems einem bodenbürtigen Trockenstress ausgesetzt wurden, sich nicht signifikant von den gut bewässerten Pflanzen, bei denen sich mindestens eine Hälfte des Wurzelsystems in Nährlösung befand unterschieden. Dennoch ist zu erkennen, dass die Transpirationsverluste im Vergleich zu den Pflanzen, deren geteiltes Wurzelsystem sich sowohl in gut bewässertem Boden, als auch in Nährlösung befand um ca. 10 % geringer waren. Pflanzen, deren Wurzelsysteme sich ausschließlich in gut bewässertem Boden befanden, wiesen signifikant geringere Transpirationsverluste im Vergleich zu Pflanzen mit anderen Behandlungen auf.

Die Durchführung der Korrelationsanalyse ergab einen signifikanten Zusammenhang zwischen Transpiration und Blattfläche. Aus diesem Grund wurde die Gesamttranspiration erneut in Anhängigkeit der Blattfläche ausgewertet.

### 3.1.2. Gesamttranspiration bezogen auf die Blattfläche

Abbildung 13 zeigt die Gesamttranspiration aller sechs Messtage bezogen auf die Blattfläche.

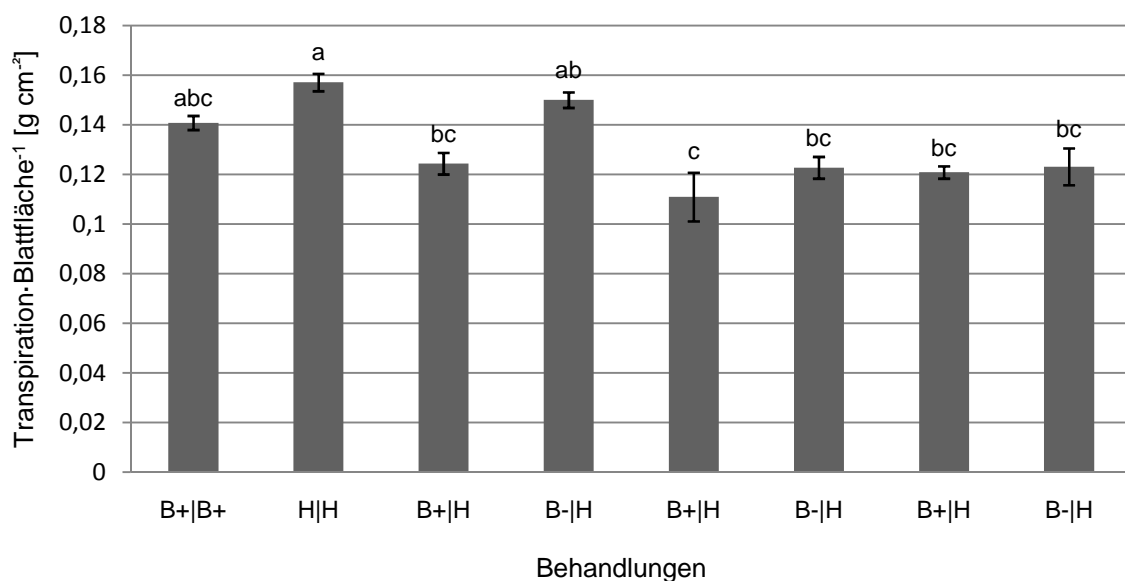


Abbildung 13 Gesamttranspirationsverluste bezogen auf die Blattfläche (in g·cm<sup>-2</sup>; Mittelwerte der 5 Wiederholungen ± Standardfehler). Behandlungen: B+|B+: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Boden, der eine WHK<sub>max</sub> von 80 % aufweist, gefüllt; H|H: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Nährlösung gefüllt. B+|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine WHK<sub>max</sub> von 80 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt; B-|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine WHK<sub>max</sub> von 25 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt. Säulen mit dem gleichen Buchstaben sind nicht signifikant verschieden (P > 0.05).

Pflanzen, die ausschließlich mit Nährlösung versorgt wurden wiesen mit 0,16 g cm<sup>-2</sup> die höchsten Transpirationsverluste pro cm<sup>2</sup> Blattfläche auf, jedoch besteht nun kein signifikanter Unterschied mehr gegenüber Pflanzen, deren Wurzelsysteme sich ausschließlich in Boden befanden. Um auch hier eine vereinfachte Darstellung der Unterschiede zwischen trockengestressten und gut bewässerten Pflanzen zu erhalten, wurden diese zusammengefasst und erneut ausgewertet.

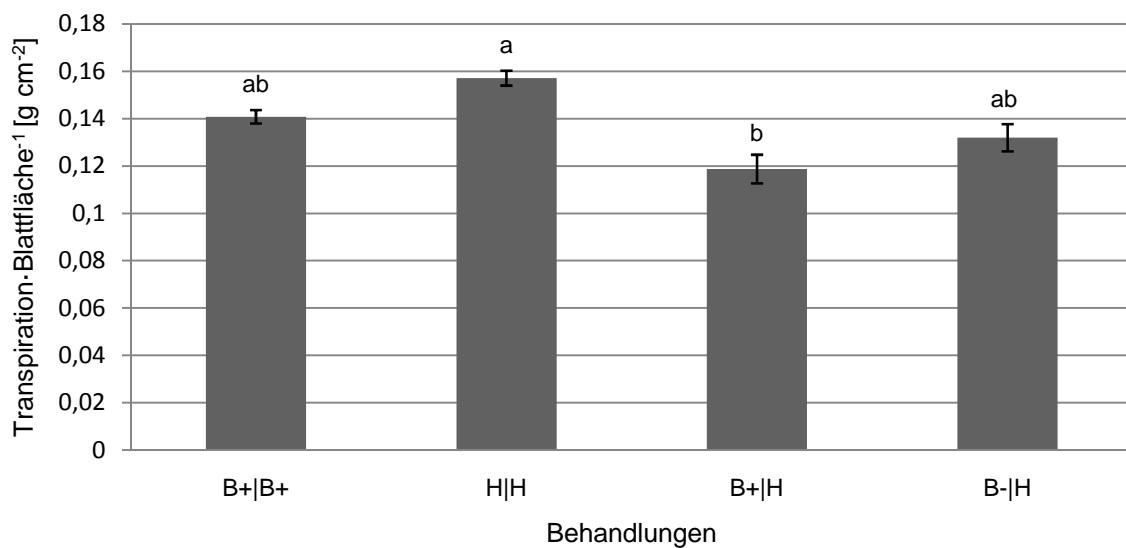


Abbildung 14 Gesamttranspiration bezogen auf die Blattfläche mit Zusammenfassung aller Pflanzen mit gleicher Behandlung (in g cm<sup>-2</sup>; Mittelwerte aller 5 bzw. 15 Wiederholungen ± Standardfehler). Behandlungen: B+|B+: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Boden, der eine WHK<sub>max</sub> von 80 % aufweist, gefüllt; H|H: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Nährlösung gefüllt. B+|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine WHK<sub>max</sub> von 80 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt; B-|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine WHK<sub>max</sub> von 25 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt. Säulen mit dem gleichen Buchstaben sind nicht signifikant verschieden (P > 0.05).

Im Vergleich zu Abbildung 12 erkennt man, dass es nun keinen signifikanten Unterschied mehr gibt, zwischen Pflanzen, deren Wurzeln sich ausschließlich in gut bewässertem Boden befanden und Pflanzen, die mindestens über eine Hälfte des Wurzelsystems mit Nährlösung versorgt wurden. Weiterhin ist zu erkennen, dass nun Pflanzen, deren eine Hälfte des Wurzelsystems einem Trockenstress ausgesetzt wurde, einen um etwa 10 % höheren Transpirationsverlust pro cm<sup>2</sup> Blattfläche aufwiesen als Pflanzen, deren Wurzelsysteme sich sowohl in gut bewässertem Boden, als auch in Nährlösung befanden. Einen signifikant höheren Transpirationsverlust pro cm<sup>2</sup> Blattfläche besaßen Pflanzen, die sich über beide Hälften des Wurzelsystems mit Nährlösung versorgten im Vergleich zu Pflanzen, bei denen sich ca. 50 % des Wurzelsystems in gut bewässertem Boden befanden.



### 3.1.3. Transpiration pro Röhre

In Abbildung 15 sind die Transpirationsverluste pro Röhre dargestellt.

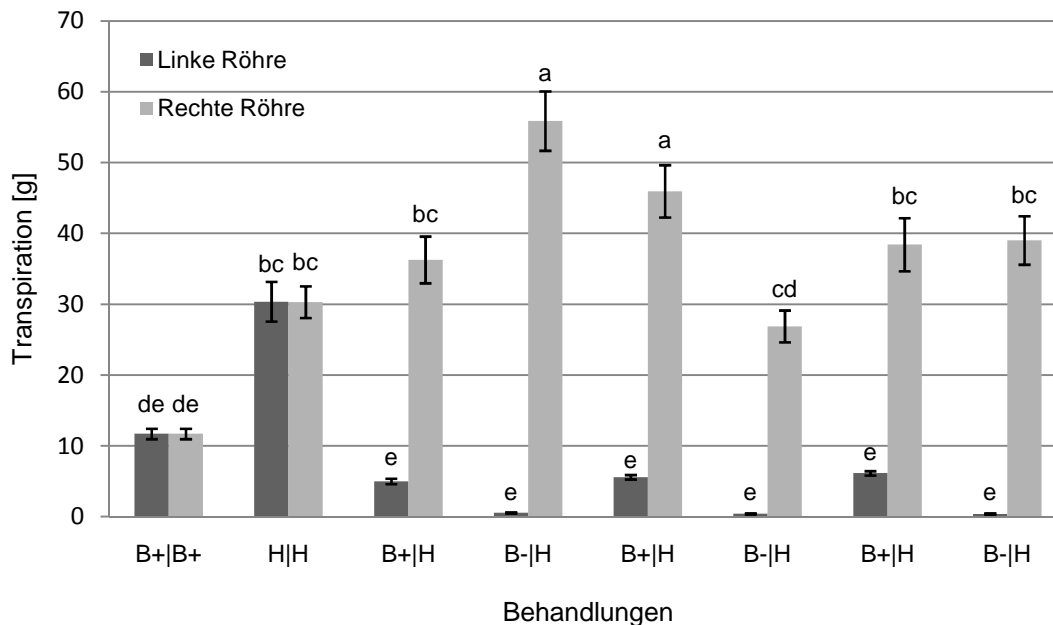


Abbildung 15 Transpirationsverluste pro Röhre, gemessen über einen Zeitraum von sechs Tagen (in g; Mittelwerte der 5 Wiederholungen  $\pm$  Standardfehler). Behandlungen: B+|B+: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Boden, der eine  $WHK_{max}$  von 80 % aufweist, gefüllt; H|H: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Nährlösung gefüllt. B+|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine  $WHK_{max}$  von 80 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt; B-|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine  $WHK_{max}$  von 25 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt. Säulen mit dem gleichen Buchstaben sind nicht signifikant verschieden ( $P > 0.05$ )

Die Abbildung 15 zeigt, dass Pflanzen, deren Hälften des Wurzelsystems unterschiedlich behandelt wurden, signifikante Unterschiede in den Transpirationsverlusten aufwiesen. Bei diesen Pflanzen wurde die rechte Röhre des „split-root“-Pflanzentopfes mit Nährlösung, die linke Röhre mit Boden gefüllt. Während die Hälfte des Wurzelsystems, welche sich in Boden befand einen sehr geringen Transpirationsverlust aufzeigte, wies der andere Teil des Wurzelsystems einen erhöhten Verlust auf. Bei Pflanzen, deren Hälften des Wurzelsystems die gleichen Behandlungen erhielten, ist die Transpiration annähernd identisch. Jedoch waren die Transpirationsverluste der Pflanzen, die mit Nährlösung versorgt wurden, signifikant höher, als die der Pflanzen, deren Wurzelsysteme sich ausschließlich in Boden befanden. In Abbildung 16 wurden die trockengestressten und gut bewässerten Pflanzen erneut zusammengefasst, um Unterschiede besser darzustellen.

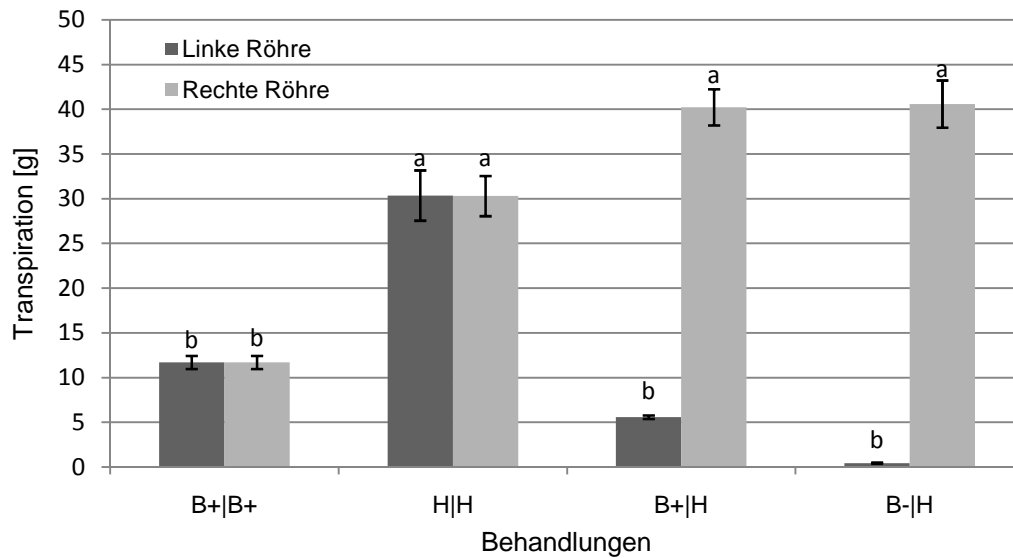


Abbildung 16 Transpirationsverluste pro Röhre, gemessen über einen Zeitraum von sechs Tagen mit Zusammenfassung aller Pflanzen mit gleicher Behandlung (in g; Mittelwerte der 5 bzw. 15 Wiederholungen  $\pm$  Standardfehler). Behandlungen: B+|B+: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Boden, der eine  $WHK_{max}$  von 80 % aufweist, gefüllt; H|H: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Nährlösung gefüllt. B+|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine  $WHK_{max}$  von 80 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt; B-|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine  $WHK_{max}$  von 25 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt. Säulen mit dem gleichen Buchstaben sind nicht signifikant verschieden ( $P > 0.05$ ).

Abbildung 16 zeigt, dass Pflanzen, deren Hälften des Wurzelsystems unterschiedlich behandelt wurden, nahezu die gleichen Transpirationsverluste über die rechte Hälfte des Wurzelsystems verzeichneten. Die linke Hälfte des Wurzelsystems, welche sich in Boden befand, übernahm jedoch bei den gut bewässerten Pflanzen etwa 12 % an der Gesamttranspiration, während bei den trockengestressten Pflanzen die linke Hälfte des Wurzelsystems lediglich 1 % an der Gesamttranspiration beteiligt war.

### 3.2. Blattfläche

Die Ergebnisse der Blattflächenmessungen sind in Abbildung 17 dargestellt.

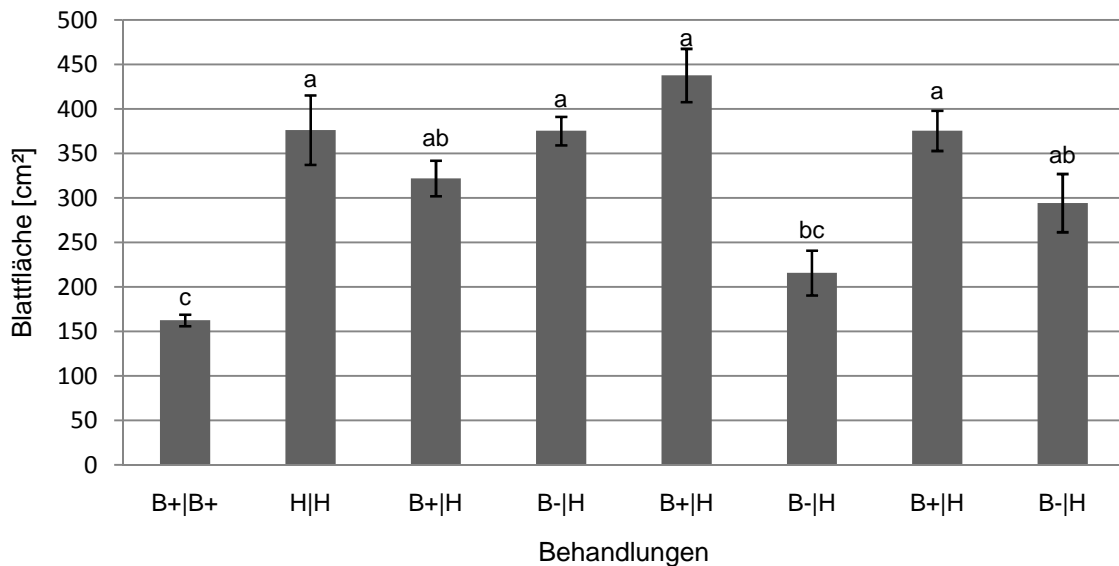


Abbildung 17 Blattfläche (in  $\text{cm}^2$ ; Mittelwerte der 5 Wiederholungen  $\pm$  Standardfehler). Behandlungen: B+|B+: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Boden, der eine  $\text{WHK}_{\text{max}}$  von 80 % aufweist, gefüllt; H|H: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Nährlösung gefüllt. B+|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine  $\text{WHK}_{\text{max}}$  von 80 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt; B-|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine  $\text{WHK}_{\text{max}}$  von 25 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt. Säulen mit dem gleichen Buchstaben sind nicht signifikant verschieden ( $P > 0.05$ ).

Die Pflanzen, deren gesamtes Wurzelsystem sich in gut bewässertem Boden befand, zeigten mit  $163 \text{ cm}^2$  die geringste durchschnittliche Blattfläche auf und unterschieden sich signifikant von Pflanzen, die ausschließlich über Nährlösung versorgt wurden. Diese wiesen eine Blattfläche von  $376 \text{ cm}^2$  auf. Alle anderen Pflanzen, die über eine Hälfte des Wurzelsystems mit Nährlösung versorgt wurden, verfügen ebenfalls über eine deutlich höhere Blattfläche. Die Darstellung der Signifikanzen bestätigte dies. In der folgenden Abbildung 18 wurden die Pflanzen mit den gleichen Behandlungen zusammengefasst, um Unterschiede zwischen trockengestressten und gut bewässerten Pflanzen feststellen zu können.

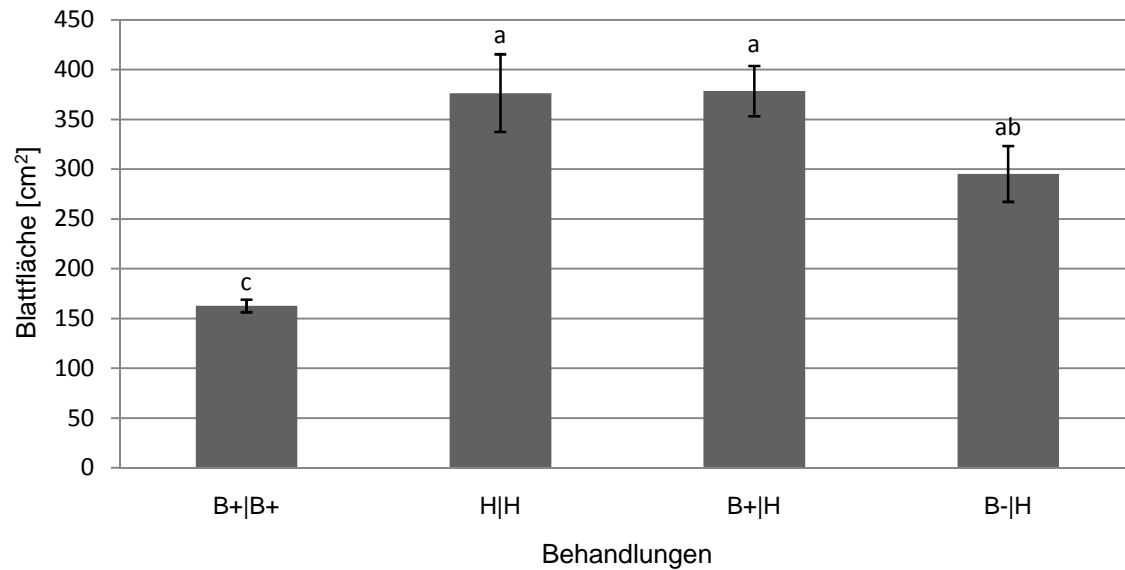


Abbildung 18 Blattfläche mit Zusammenfassung aller Pflanzen mit gleicher Behandlung (in cm<sup>2</sup>; Mittelwerte der 5 Wiederholungen  $\pm$  Standardfehler). Behandlungen: B+|B+: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Boden, der eine WHK<sub>max</sub> von 80 % aufweist, gefüllt; H|H: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Nährlösung gefüllt. B+|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine WHK<sub>max</sub> von 80 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt; B-|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine WHK<sub>max</sub> von 25 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt. Säulen mit dem gleichen Buchstaben sind nicht signifikant verschieden ( $P > 0.05$ ).

In Abbildung 18 wurden alle Pflanzen, die über eine Hälfte des Wurzelsystems einem Trockenstress ausgesetzt wurden und Pflanzen, deren Wurzelsystem sich sowohl in gut bewässertem Boden, als auch in Nährlösung befand, zusammengefasst. Auch wenn zwischen diesen Pflanzen keine signifikanten Unterschiede der Blattflächen zu verzeichnen waren, hatten die gut bewässerten Pflanzen im Durchschnitt eine Blattfläche von 379 cm<sup>2</sup>, während hingegen die trockengestressten Pflanzen eine Blattfläche von 295 cm<sup>2</sup> aufwiesen. Die Blattflächenentwicklung verringerte sich somit um 22 % bei den Pflanzen, die über einen Teil des Wurzelsystems einem bodenbürtigen Trockenstress ausgesetzt wurden.

### 3.3. Exsudation

In Abbildung 19 ist die durchschnittliche Exsudation dargestellt. Diese wurde nach dekapitierung des Sprosssystems über einen Zeitraum von 3h gemessen.

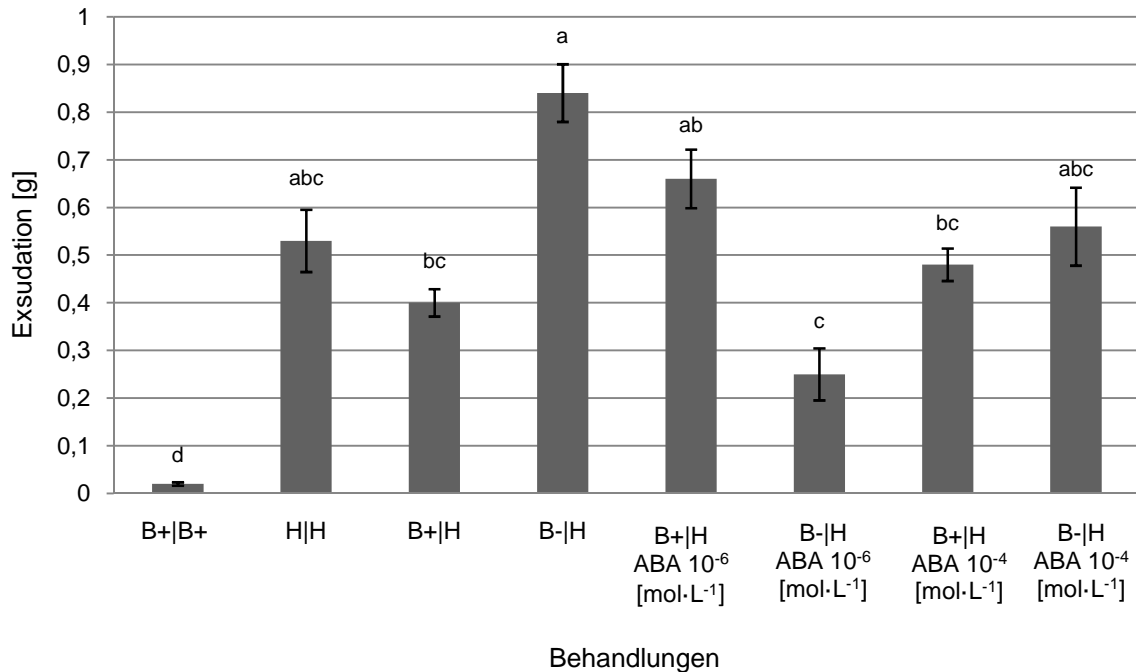


Abbildung 19 Xylemexsudation gemessen über einen Zeitraum von 3h (in g; Mittelwerte der 5 Wiederholungen  $\pm$  Standardfehler) Behandlungen: B+|B+: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Boden, der eine  $WHK_{max}$  von 80 % aufweist, gefüllt; H|H: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Nährlösung gefüllt. B+|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine  $WHK_{max}$  von 80 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt; B-|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine  $WHK_{max}$  von 25 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt; bei den nachfolgenden Behandlungen wurde 1h vor Messung der Exsudation den Pflanzen eine mit ABA versetzte Nährlösung der Konzentration  $10^{-6}$  bzw.  $10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup> verabreicht. Säulen mit dem gleichen Buchstaben sind nicht signifikant verschieden ( $P > 0.05$ ).

Pflanzen, die ausschließlich in gut bewässertem Boden wuchsen, hatten mit einer durchschnittlichen Menge von 0,02 g die geringste Exsudation und unterschieden sich signifikant von allen Pflanzen die eine andere Behandlung erhielten.

Pflanzen, die über eine Hälfte ihres Wurzelsystems einem bodenbürtigen Trockenstress ausgesetzt wurden, wiesen mit einer durchschnittlichen Menge von 0,84 g die höchste Exsudation auf, obwohl keine ABA appliziert wurde. Diese besaßen eine signifikant höhere Exsudation um etwa 50 %, im Vergleich zu Pflanzen, die gut bewässert wurden und ebenfalls keine ABA-Applikation erhielten.

Bei Pflanzen, die ABA der Konzentration  $10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> appliziert bekamen, verhielt es sich umgekehrt. Pflanzen die zusätzlich über einen Teil des Wurzelsystems trockengestresst wurden, hatten mit 0,25 g eine signifikant geringere Exsudation um ca. 60 % im Vergleich zu den gut bewässerten Pflanzen, die eine ABA-Applikation der gleichen Konzentration erhielten.

Bei Pflanzen, die vor Messung der Exsudation eine ABA versetzte Nährlösung mit der Konzentration  $10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> erhielten, konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den trockengestressten und gut bewässerten Pflanzen festgestellt werden. Dennoch haben Pflanzen, welche einseitig trockengestresst wurden, mit einer durchschnittlichen Menge von 0,56 g eine höhere Exsudation um etwa 15 % im Vergleich zu den gut Bewässerten.

Pflanzen, die ausschließlich über Nährlösung versorgt wurden, unterschieden sich mit einer durchschnittlichen Exsudationsmenge von 0,53 g lediglich von den Pflanzen, deren gesamtes Wurzelsystem sich in gut bewässertem Boden befand.

Vergleicht man die Exsudationsmengen der Pflanzen, die über einen Teil des Wurzelsystems trockengestresst wurden, stellt man fest, dass Pflanzen, die keine ABA-Applikation erhielten, die höchsten Exsudationen aufwiesen. Pflanzen, die ABA der Konzentration  $10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> appliziert bekamen, wiesen hierzu im Vergleich eine geringere Exsudation um etwa 70 % auf, während Pflanzen die eine ABA-Applikation der Konzentration von  $10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> erhielten, die Exsudation nur um etwa 30 % geringer war.

Bei Pflanzen, deren Hälften des Wurzelsystem sich sowohl in gut bewässertem Boden, als auch in Nährlösung befanden, führte eine ABA-Applikation der Konzentration  $10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> zu der höchsten Exsudation. Eine ABA Konzentration von  $10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> verringert die Exsudation um ca. 30 %. Keine ABA-Applikation führte in diesem Fall zu der geringsten Exsudation und ist im Vergleich zu den Pflanzen die eine Applikation der Konzentration  $10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> erhielten um etwa 40 % verringert.

### 3.4. Abscisinsäurekonzentration

Die Bestimmung der Xylem ABA Konzentration mittels ELISA-Test ergab folgende Ergebnisse.

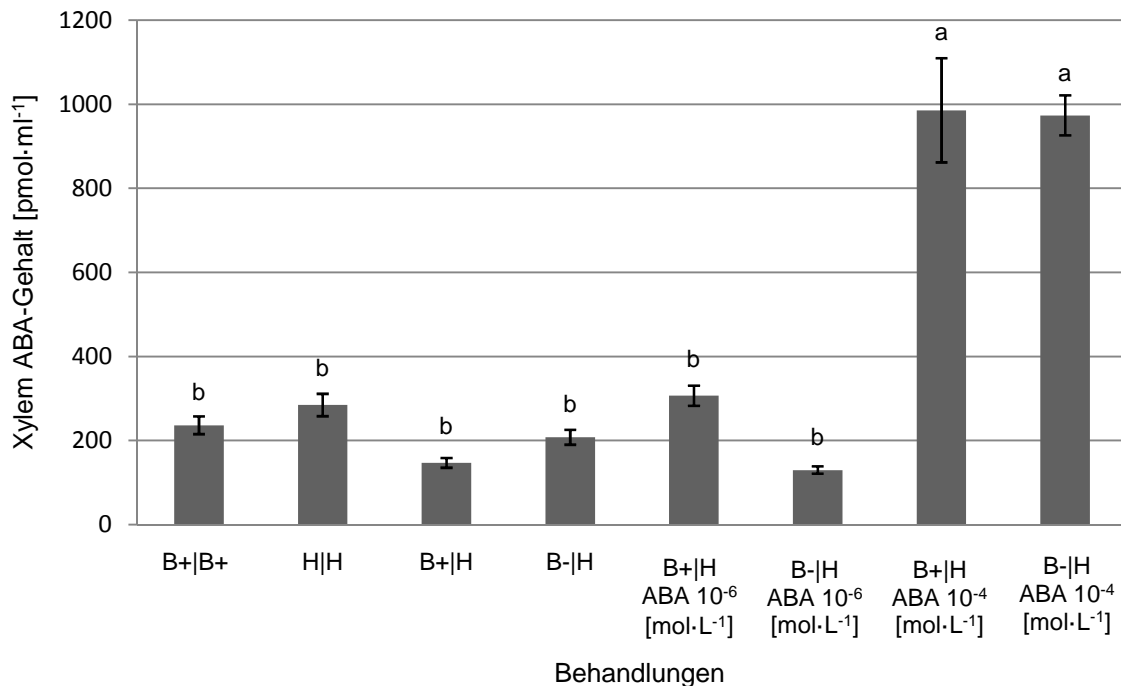


Abbildung 20 Abscisinsäurekonzentration im Xylemsaft (in pmol·mL<sup>-1</sup>; Mittelwerte der 5 Wiederholungen ± Standardfehler). Behandlungen: B+|B+: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Boden, der eine WHK<sub>max</sub> von 80 % aufweist, gefüllt; H|H: beide Röhren des „split-root“-Systems sind mit Nährlösung gefüllt. B+|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine WHK<sub>max</sub> von 80 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt; B-|H: eine Röhre des „split-root“-Systems ist mit Boden, der eine WHK<sub>max</sub> von 25 % aufweist, die andere Röhre ist mit Nährlösung gefüllt; bei den nachfolgenden Behandlungen wurde 1h vor Messung der Exsudation den Pflanzen eine mit ABA versetzte Nährlösung der Konzentration 10<sup>-6</sup> bzw. 10<sup>-4</sup> mol·L<sup>-1</sup> verabreicht. Säulen mit dem gleichen Buchstaben sind nicht signifikant verschieden (P > 0.05).

Es wurden in den Xylemexsudaten der Pflanzen, die eine ABA-Applikation der Konzentration von 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> erhielten, während der andere Teil des Wurzelsystems gut bewässert wurde, die höchsten ABA Konzentrationen mit 985 pmol mL<sup>-1</sup> nachgewiesen. Bei Pflanzen, die ebenfalls eine Applikation dieser Höhe erhielten, zusätzlich jedoch einem bodenbürtigen Trockenstress ausgesetzt wurden, zeigten eine ähnlich hohe ABA Konzentration mit 973 pmol mL<sup>-1</sup> im Xylemexsudat auf. Pflanzen, die diesen Behandlungen unterzogen wurden, unterschieden sich signifikant von allen Anderen.

Pflanzen, deren Hälften des Wurzelsystems sich in Boden mit einer  $WHK_{max}$  von 25 %, sowie einer mit ABA der Konzentration  $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  versetzten Nährlösung befanden, zeigten mit einer ABA-Konzentration von  $130 \text{ pmol mL}^{-1}$  im Exsudat die geringste Konzentration auf.

Pflanzen, die ebenfalls mit dieser Konzentration behandelt wurden, jedoch aber keinem Trockenstress ausgesetzt waren, wiesen eine höhere Xylem ABA Konzentration von etwa 12 % im Exsudat auf.

Bei den Versuchspflanzen, die keine ABA-Applikation erhielten, verhielt es sich umgekehrt. Hier wiesen Pflanzen, die über einen Teil des Wurzelsystems trockengestresst wurden mit einer Konzentration von  $209 \text{ pmol mL}^{-1}$  im Xylemexsudat eine ca. 30 % höhere Konzentration auf, als die gut Bewässerten.

Vergleicht man die Pflanzen, deren geteiltes Wurzelsystem sich sowohl in gut bewässertem Boden, als auch in Nährlösung befand, stellt man fest, dass die ABA Konzentration im Xylemexsudat mit zunehmender Konzentration an appliziertem ABA anstieg. Während die Pflanzen, die keine Applikation erhielten eine Xylem ABA Konzentration von durchschnittlich  $147 \text{ pmol mL}^{-1}$  aufwiesen, stieg die Konzentration nach Applikation von  $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  konzentrierter ABA um etwa 50 % an. Bei einer ABA-Applikation der Konzentration von  $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  stieg die Xylem ABA Konzentration im Vergleich zu den Pflanzen, die keine Applikation erhielten um etwa 85 % an.

Bei Pflanzen, die zusätzlich einem bodenbürtigen Trockenstress ausgesetzt wurden, verhält sich konträr. Hier wiesen die Pflanzen, die keine ABA-Applikation erhielten im Vergleich zu denen, denen ABA der Konzentration von  $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  appliziert wurde, eine höhere Xylem ABA Konzentration von etwa 40 % im Exsudat auf.

Pflanzen, deren gesamtes Wurzelsystem ausschließlich mit Nährlösung behandelt wurde, wiesen eine Xylem ABA Konzentration von  $285 \text{ pmol mL}^{-1}$  auf. Dies überstieg somit die Xylem ABA Konzentrationen aller Pflanzen, denen kein ABA appliziert wurde, sowie die Pflanzen, die eine ABA Applikation der Konzentration von  $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  erhielten und keinem Trockenstress ausgesetzt wurden. Dies gilt ebenfalls für Pflanzen, deren gesamtes Wurzelsystem sich in gut bewässertem Boden befand. Die Xylem ABA Konzentrationen dieser lag bei  $236 \text{ pmol mL}^{-1}$ .



## 4. Diskussion

### 4.1. Transpiration

Einer der Reaktionsmechanismen von Pflanzen unter Trockenstress ist das Schließen der Stomata. Diese Reaktion wird durch die Synthese von ABA induziert und verringert dadurch die Transpiration, was größeren Wasserverlusten vorbeugt (Jones 1998, Borel *et al.* 2001). Hierbei fungiert ABA als Wurzel-Spross Signal. Die Pflanzenwurzeln registrieren das Wasserdefizit im Boden und synthetisieren vermehrt ABA, welche über den Transpirationsstrom zu den Blättern transportiert wird, was das Schließen der Stomata zu Folge hat, obwohl sich das Blattwasserpotential noch nicht verringert hat (Jeschke *et al.* 1997). In diesem Experiment konnte dieser Mechanismus nicht belegt werden. Betrachtet man die Transpiration bezogen auf die Blattfläche (Abb. 14) wird deutlich, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Pflanzen, deren ein Teil des Wurzelsystems einem bodenbürtigen Trockenstress ausgesetzt wurde und den gut bewässerten Pflanzen gab. Es sind hingegen die gut bewässerten Pflanzen die durchschnittlich eine geringere Transpiration aufwiesen, wenn auch nicht signifikant. Der Grund für diese fehlende Reaktion könnte die Tatsache sein, dass nur eine Hälfte des Wurzelsystems einem Trockenstress ausgesetzt wurde, während sich die andere Hälfte in Nährlösung befand. Dadurch könnte es sein, dass nicht ausreichend ABA synthetisiert werden konnte, um die Transpiration signifikant zu verringern. Blackman und Davis (1985) jedoch untersuchten diese Anpassungsstrategie ebenfalls mit einem „split-root“-System anhand von Mais (*Zea Mays*). Ein Hälfte des Wurzelsystems wurde bewässert, während die Andere einem Trockenstress ausgesetzt wurde. Obwohl die Pflanze dadurch ausreichend mit Wasser versorgt wurde, führte dies trotzdem zu einem Stomataschluss. Ein überzeugenderer Grund könnte der Umstand sein, dass die Pflanzen keinen ausreichenden Trockenstress hatten, um überhaupt ABA zu bilden. Ziel war es die Pflanzen langsam an den Stress heranzuführen. Daher wurden sie zu Versuchsbeginn auf eine maximale Wasserhaltekapazität von 80 % gebracht. Der Boden sollte langsam austrocknen und zu Versuchsende eine maximale Wasserhaltekapazität von 25 % aufweisen. Zusätzlich war der Durchmesser der Röhren des „split-root“-Systems zu gering, was den Wasserverlust durch die Evaporation verringerte.

Aus Abbildung 15 und 16 ist ersichtlich, dass der Teil des Wurzelsystems, der einem Trockenstress ausgesetzt wurde, lediglich 1 % an der Gesamttranspiration beteiligt war. Der Teil des Wurzelsystems hingegen, der sich in Nährlösung befand wies im Durchschnitt

höhere Transpirationsverluste auf, als eine Hälfte des Wurzelsystems der Pflanzen, die ausschließlich mit Nährlösung versorgt wurden. Demnach sind Pflanzen in der Lage, Unterschiede in der Bodenfeuchte auszugleichen, indem die gut bewässerte Hälfte des Wurzelsystems die geringe Wasserversorgung der anderen Hälfte kompensiert. Green und Clothier (1995) untersuchten diese Reaktion anhand von Kiwi (*Acinidia deliciosa*). Sie konnten belegen, dass Pflanzen bevorzugt Wasser aus feuchteren Bodenregionen aufnehmen und dementsprechend weniger Wasser aus trockneren Teilen des Bodens. Diese Wurzeln sind also in der Lage, erheblich größere Mengen an Wasser aufzunehmen, als Pflanzen, deren gesamtes Wurzelsystem mit Wasser versorgt wird. Moreshet *et al.*(1983) fand ebenfalls heraus, dass Bäume über den Teil des Wurzelsystems, der sich in feuchtem Boden befand, mit etwa 90 % an der Gesamttranspiration beteiligt war, während der andere Teil des Wurzelsystems, der sich in trockenem Boden befand, mit nur etwa 10 % an der Gesamttranspiration beteiligt war.

Ein weiterer wichtiger Aspekt ist, dass es sich bei der Hälfte des Wurzelsystems, die sich in Boden befand genau genommen um die Evapotranspiration handelte. Dadurch, dass nur eine Röhre des „split-root“-Systems abgedeckt wurde, sollte sichergestellt werden, dass der Boden der anderen Röhre austrocknen konnte. Die Hälfte des Wurzelsystems, die sich in trockenem Boden befand war mit nur 1 % an der Gesamttranspiration beteiligt. Zusätzlich muss für diese Röhre noch die Evaporation über einen Zeitraum von sechs Tagen bei einer durchschnittlichen Tagestemperatur von  $29,9^{\circ}\text{C} \pm 5,9^{\circ}$  mit einer Luftfeuchtigkeit von 47,9 % berücksichtigt werden. Da dieser Evapotranspirationsverlust von 1 % zu gering erscheint, liegt die Vermutung nahe, dass eine Wasserumverteilung über die Pflanzenwurzeln zwischen den Röhren des „split-root“-Systems stattfand. Laut Caldwell *et al.* (1998) sind Pflanzenwurzeln in der Lage, Wasser zu Bodenregionen mit geringerem Wasserpotential zu transportieren. Mc Michael und Lucano (2010) untersuchten dieses Phänomen anhand von Baumwolle mit Hilfe eines „split-root“-Systems und konnten feststellen, dass die Wasserumverteilung von feuchteren zu trockeneren Bodenregionen über die Wurzeln passiv transportiert wird. Während der Nacht, wenn die Transpirationsrate gering ist, wird das Wasser von den Wurzeln in den Boden abgegeben. Während des Tages, bei höheren Transpirationsraten, wird dieses Wasser dann erneut absorbiert. Um diese Tatsache jedoch eindeutig bestätigen zu können, wäre in diesem Versuch die Ermittlung der Evaporation, sowie die täglichen Zunahme an Biomasse nötig gewesen.

## 4.2. Blattfläche

Trockenstress führt bei Pflanzen zu einer Änderung des Wurzel-Spross Verhältnisses. Um Wasser auch in tieferen Bodenzonen zu erschließen, nimmt die Wurzelmasse zu, während die Blattentwicklung reduziert wird (Sharp und Davis 1979). Diese Anpassungsstrategie an Trockenstress wurde ebenfalls in diesem Experiment untersucht. In Abbildung 17 und 18 sind die Ergebnisse dargestellt. Auch wenn keine signifikanten Unterschiede der Blattflächen zu verzeichnen waren, haben die gut bewässerten Pflanzen im Durchschnitt eine Blattfläche von  $378 \text{ cm}^2$ , während hingegen die trockengestressten Pflanzen eine Blattfläche von  $295 \text{ cm}^2$  aufwiesen. Die Blattflächenentwicklung verringerte sich somit um 22 % bei den trockengestressten Pflanzen. Ein ähnlicher „split-root“-Versuch mit Apfelbäumen (*Malus domestica*) von Gowing *et al.* (1990) zeigt vergleichbare Ergebnisse. Auch hier wurde eine Hälfte des Wurzelsystems gut bewässert, während bei der anderen Hälfte die Bewässerung eingestellt wurde. Die Blattflächenentwicklung reduzierte sich bei diesen Pflanzen um rund 40 %, obwohl sich das Blattwasserpotential der Pflanzen nicht verringerte. Somit ist anzunehmen, dass die Veränderung der Blattfläche ein Ergebnis von Wurzel-Spross Signalen ist.

In diesem Versuch wurden jedoch lediglich visuell homogen erscheinende Pflanzen ausgesucht. Um dieses Verhalten eindeutig bestätigen zu können, hätte man vor Versuchsbeginn alle Blattflächen messen müssen.

## 4.3. Hydraulische Leitfähigkeit

Die hydraulische Leitfähigkeit der Wurzeln beschreibt die Geschwindigkeit des Wasserflusses und bezieht sich auf die Wurzeloberfläche, sowie auf die treibenden Kräfte (Hose 2000). Laut Smit *et al.* (2000) berechnet sich die hydraulische Leitfähigkeit der Wurzeln wie folgt:

$$L_{pr} = \frac{J_v}{\Delta\psi \cdot A}$$

$J_v$  beschreibt den maximalen Wasserfluss,  $\Delta\psi$  die Wasserpotentialdifferenz zwischen Wasser und Boden und  $A$  die Gesamtwurzeloberfläche. Da es in diesem Versuch nicht möglich war,

die Gesamtwurzeloberfläche zu bestimmen, wurde die hydraulische Leitfähigkeit näherungsweise durch die Exsudation beschrieben.

#### 4.4. Exsudation

Die Tatsache, dass ABA die Exsudationsrate positiv beeinflusst ist umstritten. Ludewig *et al.* (1988) kam zu dem Ergebnis, dass die Exsudationsrate bei jeder ABA Konzentration erhöht wird, jedoch bei einer Konzentration von  $10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> am Höchsten ist. Dieses Ergebnis kann nur zum Teil bestätigt werden, wie Abbildung 19 verdeutlicht. Während eine ABA Konzentration von  $10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> bei den gut bewässerten Pflanzen zu einem starken Anstieg der Exsudation führte, ist dies bei den Pflanzen, deren ein Teil des Wurzelsystems einem bodenbürtigen Trockenstress ausgesetzt wurde, nicht der Fall. Nimmt man nun an, dass die trockengestresste Pflanzen zusätzlich zu der ABA Applikation noch selbst ABA synthetisiert haben, entspricht dies wiederum der Aussage von Markhart *et al.* (1979) und Fiscus (1981 und 1982a), die feststellten, dass höhere ABA Konzentrationen die Exsudation reduzieren. Dies würde auch erklären, warum die Pflanzen, welche keine ABA Applikation erhielten, jedoch aber trockengestresst wurden, die höchste Exsudationsrate aufwies. Glinka (1980), Fournier *et al.* (1987) und Quintero *et al.* (1998) stellten fest, dass sich ABA Konzentrationen von  $10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> positiv auf die Exsudation auswirken. Dies konnte in diesem Versuch nicht bestätigt werden. Behandlungen mit dieser Konzentration zeigten keine signifikanten Unterschiede. Die einzige Behandlung, die sich signifikant von allen anderen Behandlungen unterschied ist lediglich die Kontrollvariante, bei der sich beide Hälften des Wurzelsystems in gut bewässertem Boden befanden. Dies überrascht jedoch nicht, wenn man berücksichtigt, dass die Wasseraufnahme unter erschwerten Bedingungen stattfand. Es ist für die Pflanze leichter reine Nährlösung aufzunehmen, als das Wasser aus dem Boden zu ziehen. Mit diesem Versuch kann also nicht eindeutig belegt werden, dass ABA die Exsudation erhöht. Um aussagekräftigere Ergebnisse zu erhalten, wäre eine Bestimmung der Wurzeltrockenmasse nötig gewesen.

## 4.5. Abscisinsäurekonzentration

Um Aussagen über die Xylem ABA Konzentration zu machen, wurde die ABA Konzentration mittels ELISA-Test bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 20 dargestellt. Wie vermutet unterschieden sich die Pflanzen, welche eine ABA Applikation der Konzentration von  $10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> erhielten, signifikant von allen Pflanzen mit anderen Behandlungen. Überraschend ist jedoch, dass die gut bewässerten Pflanzen eine minimal höhere Konzentration aufwiesen, als die trockengestressten Pflanzen. Dies entspricht nicht den Ergebnissen von Zhang und Davies (1990). Sie stellten fest, dass die Xylem ABA Konzentration bei trockengestressten Pflanzen wesentlich höher ist als die der bewässerten Pflanzen. Desweiteren fanden sie heraus, dass sich die Xylem ABA Konzentration in dem Ausmaß der Bodentrockenheit widerspiegelt. Dies führt demnach zu der Annahme, dass der Boden nicht ausreichend trocken war. Um dies festzustellen, hätte man den Boden nach Versuchsende auf seinen Wassergehalt hin untersuchen müssen.

Alle anderen Behandlungen unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Jedoch sind kleine Unterschiede zu erkennen. Auch bei den Pflanzen, welche ABA Konzentrationen von  $10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> appliziert bekamen, war die ABA Konzentration im Xylem der bewässerten Pflanzen höher als die der trockengestressten. Bei den ABA unbehandelten Pflanzen wiederum war es umgekehrt. Die trockengestressten Pflanzen zeigten im Vergleich zu den bewässerten Pflanzen eine höhere ABA Konzentration im Exsudat auf, was der Annahme über die Bodentrockenheit widerspricht. Weithin ist zu erkennen, dass sowohl die Kontrollpflanzen, als auch die Pflanzen, die ausschließlich mit Nährlösung versorgt wurden, eine relativ hohen ABA Konzentration im Exsudat aufwiesen, obwohl kein Trockenstress vorhanden war. Dass Pflanzen auch unter normalen Bedingungen ständig ABA in geringen Konzentrationen bilden ist bekannt. Jedoch überschritt die Xylem ABA Konzentration dieser Pflanzen einige andere, die sowohl Trockenstress hatten, als auch eine ABA Applikation erhielten. Um genauere Ergebnisse zu erhalten, wäre auch hier eine Bestimmung der Wurzel trockenmasse nötig gewesen.

## 5. Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Auswirkungen des Phytohormons Abscisinsäure auf die hydraulische Leitfähigkeit der Wurzeln zu untersuchen. Desweiterm wurde getestet, welchen Effekt Trockenstress einer Hälfte des Wurzelsystems auf die Transpiration und die Blattflächenentwicklung hat. Zusätzlich wurde mittels ELISA-Test der Xylemsaft auf seinen ABA Konzentration hin untersucht. Für diesen Versuch wurde ein „split-root“-System angewendet, das es zum Einen möglich machte, nur eine Hälfte des Wurzelsystems einem Trockenstress auszusetzen und zum Anderen verschiedene Behandlungen zu kombinieren.

Es konnte mit dieser Arbeit gezeigt werden, dass sich Trockenstress einer Hälfte des Wurzelsystems im Durchschnitt negativ auf die Blattflächenentwicklung auswirkte. Dadurch kann angenommen werden, dass dies das Ergebnis von Wurzel-Spross Signalen ist. Hierbei wird ABA in den trockengestressten Wurzeln gebildet und zum Spross transportiert. Da die Pflanze über die andere Hälfte des Wurzelsystems ausreichend mit Wasser versorgt wurde, wird nicht angenommen, dass ABA selbst in den Blättern synthetisiert wurde. Diese Hypothese kann jedoch nicht durch die Ergebnisse der Transpirationsraten unterstützt werden. Hier konnten keine eindeutigen Ergebnisse festgestellt werden.

Interessant ist die Tatsache, dass sich Pflanzen, deren geteilte Wurzelsysteme sich sowohl in Nährlösung, als auch in Boden befanden, zum größten Teil über die Nährlösung versorgten. Sehr deutlich wird dies bei den trockengestressten Pflanzen. Hier wurde die geringe Wasseraufnahme der Wurzeln auf Grund des fehlenden Wassergehalts des Bodens, durch eine erhöhte Wasseraufnahme der anderen Hälfte des Wurzelsystems, die sich in Nährlösung befand, kompensiert.

Desweiterm konnte nicht belegt werden, dass ABA die Xylemexsudation beeinflusst. Es konnten zwar signifikante Unterschiede bei den verschiedenen Behandlungen festgestellt werden, jedoch ist kein eindeutiger Trend zu erkennen.

Aus der Xylem ABA Konzentration lassen sich ebenfalls keine eindeutigen Schlüsse ziehen. Für den gesamten Versuch hätte eine Analyse der Wurzeltrockenmasse wahrscheinlich eindeutigere Ergebnisse gebracht. Man hätte unter Anderem feststellen können, ob sich das Blattwachstum auf Kosten des Wurzelwachstums verringert hat. Weiterhin hätte man die Exsudation in Abhängigkeit der Wurzelmasse bestimmen können und dadurch vermutlich

genauere Ergebnisse erzielt. Außerdem ist die Gesamtwurzeloberfläche eine wichtige Größe bei der Berechnung der hydraulischen Leitfähigkeit.

Ein weiteres Problem dieses Versuches war die Austrocknung des Bodens. Bei Wiederholung dieses Versuches muss sichergestellt sein, dass der Boden bis zu Versuchsende die gewünschte maximale Wasserhaltekapazität aufweist. Eine Analyse der Bodenfeuchte zu Versuchsende hätte sicherlich zu besser interpretierbaren Ergebnissen geführt.

## 6. Literaturverzeichnis

- Addicott FT, Ohkuma K, Thiessen WE, Carns HR.** 1968. Abscisic acid: a new name for abscisin II (Dormin). *Science* **159**, 1493.
- Alef K.** 1991. Methodenhandbuch Bodenmikrobiologie - Aktivitäten, Biomasse, Differenzierung. Ecomed Verlagsgesellschaft mbh; Landsberg / Lech.
- Asch F.** 2000. Laboratory Manual on Determination of Abscisic Acid by indirect Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA). The Royal Veterinary and Agricultural University. Denmark Agrohydrology & Bioclimatology Technical Series 1-2000.
- Blackmann PG, Davies WJ.** 1985. Root to shoot communication in maize plants and the effects of soil drying. *J Exp Bot* **36**, 39-48.
- Borel C, Frey A, Marion-Poll A, Tardieu F, Simonneau T.** 2001. Does engineering abscisic acid biosynthesis in *Nicotiana plumbaginifolia* modify stomatal response to drought?. *Plant, Cell and Environment*. **24**, 477-489.
- Caldwell MM, Dawson TE, Richards JH.** 1998. Hydraulic lift: consequences of water efflux from roots to plants. *Oecologia*. **113**, 151-161.
- Fiscus EL.** 1981. Effects of abscisic acid on the hydraulic conductance and the total ion transport through *Phaseolus* root systems. *Plant Physiol* **68**, 169-174.
- Fiscus EL.** 1982a. Effects of abscisic acid in the root: communication between shoot and root. In: Wareing PF (Editor) *Plant Growth Substances*, Academic Press, London, pp 591-598.
- Fournier JM, Benlloch M, Diaz de la Guardia M.** 1987. Effect of abscisic acid on exudation of sunflower roots as affected by nutrient status, glucose level and aeration. *Physiol Plant* **69**, 675-679.
- Glinka Z.** 1973. Abscisic Acid Effect on Root Exudation Related to Increased Permeability to Water. *Plant Physiol*. **51**, 217-219.
- Glinka Z.** 1980. Abscisic Acid Promotes Both Volume Flow and Ion Release to the Xylem in Sunflower Roots. *Plant Physiol*. **65**, 537-540.
- Gowing DJ, Davies WJ, Jones HG.** 1990. A positive root-sourced signal as an indicator of soil drying in apple, *Malus x domestica* Borkh. *J Exp Bot* **41**, 1535-1540.
- Green SR, Clothier BE.** 1995. Root water uptake by kiwifruit vines following partial wetting of the root zone. *Plant and soil* **173**, 317-328.
- Heß D.** 2008. Pflanzenphysiologie, 11. Auflage. Eugen Ulmer Verlag; Stuttgart.
- Hose E.** 2000. Untersuchungen zum radialen Abscisinsäure- und Wassertransport in Wurzeln von *Helianthus annuus* L. und *Zea Mays* L. Dissertation (PhD thesis). Universität Würzburg.



- Jeschke WD, Peuke AD, Pate JS, Hartung W.** 1997. Transport, synthesis, and catabolism of abscisic acid (ABA) in intact plants of castor bean (*Ricinus communis L*) under phosphate deficiency and moderate salinity. *Journal of Experimental Botany*. **48**, 1737-1747.
- Jones HG.** 1998. Stomata control of photosynthesis and transpiration. *Journal of Experimental Botany* **49**, 387-398.
- Kjellbom P, Larsson C, Johansson I, Karlsson M, Johanson U.** 1999. Aquaporins and water homeostasis in plants. *Trends in Plants Science*. **4**, 308-314.
- Kutschera U.** 1995. Kurzes Lehrbuch der Pflanzenphysiologie. Quelle und Meyer Verlag; Wiesbaden.
- Libbert E.** 1993. Lehrbuch der Pflanzenphysiologie, 5. Auflage. Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Ludewig M, Dörffling K, Seifert H.** 1988. Abscisic Acid and water transport in Sunflowers. *Planta*. **175**, 325-333.
- Markhart AH III, Fiscus EL, Naylor AW, Kramer PJ.** 1979. Effect of Abscisic Acid on Root Hydraulic Conductivity'. *Plant Physiol*. **64**, 611-614.
- Mc Michael BL, Lascano RJ.** 2010. Evaluation of hydraulic lift in cotton (*Gossypium hirsutum L.*) germplasm. *Environmental and Experimental Botany*. **68**, 26-30.
- Milborrow RV.** 1967. The identification of (+)-Abscisic acid ((+)-Dormin) in plants and measurement of its concentrations. *Planta* **76**, 93-113.
- Moreschet S, Cohen Y, Fuchs M.** 1983. Response of mature 'Shamouti' orange trees to irrigation of different soil volumes and similar levels of available water. *Irrigation Science* **3**, 223-236.
- Ohkuma K, Lyon JL, Addicott ET.** 1963 Abscisic acid as an abscission accelerating substance from young cotton fruit. *Science* **142**, 1592-1593.
- Quintero JM, Fournier JM, Ramos J, Benlloch M.** 1998. K<sup>+</sup> status and ABA affect both exudation rate and hydraulic conductivity in sunflower roots. *Physiol Plant* **102**, 279-284.
- Sharp RE, Davies WJ.** 1979. Solute Regulation and Growth by Roots and Shoots of Water-Stressed Maize Plants. *Planta* **147**, 43-49.
- Sharp RE, Davies WJ.** 1989. Regulation of growth and development of plants growing with a restricted supply of water. In: Jones HG, Flowers TJ, Jones MB. Eds. *Plants under stress*. Cambridge, Cambridge University Press, 71-95.
- Smit AL, Bengough AG, Engels C, Van Noordwijk M, Pellerin S, Van de Geijn SC.** 2000. Root Methods. A handbook. Springer-Verlag, Berlin.
- Stahr K, Kandeler E, Herrmann L, Streck T.** 2008. Bodenkunde und Standortlehre Grundwissen Bachelor; Verlag Eugen Ulmer; Stuttgart.

**Steudle E.** 2000. Water uptake by the roots: effects of water deficit. *Journal of Experimental Botany* **51**, Special Issue, 1531-1542.

**Vidal LM, Delgado PS, Ancaten LC.** 2010. Tratamientos pregerminativos para *Myrceugenia exsucca* (Myrtaceae). *BOSQUE*. **31(3)**, 243-246.

**Xu ZZ, Zhou GS.** 2006. Combined effects of water stress and high temperature on photosynthesis, nitrogen metabolism und lipid peroxidation of a perennial grass *Leymus chinensis*. *Planta*. **224**, 1080-1090.

**Zhang J, Davies WJ.** 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 & Environment* **13**, 277-285.

## 7. Anhang

### Zusammensetzung der Nährlösung

Salzform	MG [g]	Stammlösung mol L <sup>-1</sup>	mL / L
Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	236,15	1	4,00
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	80,04	2	0,50
MgSO <sub>4</sub>	246,48	0,5	1,00
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	174,27	0,5	2,00
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	136,09	0,1	1,00
KCL	74,56	0,1	1,00

Tabelle 4 Zusammensetzung der Nährlösung

### Zusammensetzung und Herstellung der Lösungen für den ELISA-Test

#### Abscisic acid-4-tyrosolhydrazon

4,5 mg	Abscisic acid
15,1 mg	L-Tyrosinehydrazide
1,5 ml	Methanol
0,1 ml	Acetic acid

- Alles zusammen in einem 50 ml Rundkolben mit einem Rührfisch mischen, Kolben mit Alufolie abdecken
- Kolben mit den Waschflaschen verbinden und 5 Tage bei 50°C (Wasserbad) mit Stickstoffzufuhr rühren lassen
- Jeweils die 2. und die 4. Waschflasche ist mit einem Methanol / Essigsäure – Gemische 95:5 gefüllt
- Immer wieder Methanol nachfüllen
- Nach 5 Tagen: Kolben mit ca. 20 ml Methanol spülen und Methanol im Rotationsverdampfer entfernen
- Bei 20°C lagern

**PAR**

200 mg	p-amminohippuracid
200 mg	BSA
200 mg	EDC
120 ml	H <sub>2</sub> O

- BSA und p-amminohippuracid in H<sub>2</sub>O lösen
- Mit NaOH (1 M) auf pH 8 einstellen
- 50 % (100 mg) EDC dazu und mit HCl (1 M) auf pH 6,4 einstellen
- 6 h bei Raumtemperatur rühren lassen
- Restliches EDC dazu und weitere 14 h rühren lassen
- 24 h dialysieren und alle 12 h destilliertes H<sub>2</sub>O austauschen
- Abzentrifugieren, Pellett entfernen
- Überstand gefriertrocknen (ca. 2 Tage)

**ABA-4`-BSA-Konjungat****PAR-Vorbereitung**

29 mg	p-amminohippuracid-BSA (dialysierte gefriergetrocknetes Produkt)
60 mg	sodium nitrite
30 mg	ammoniumamidosulfonate

- 29 mg PAR in 5 ml H<sub>2</sub>O lösen mit HCL (1N) auf pH 1,5 einstellen
- 60 mg sodium nitrite in 500 µl H<sub>2</sub>O lösen und unter rühren dazugeben; 5 min. rühren lassen
- 30 mg ammoniumamidosulfonate in 500 µl H<sub>2</sub>O lösen und dazugeben; 10 min. rühren lassen

**Zusammenschluss von PAR und abscisic acid-4-tyrosylhydrazone**

- 10 mg abscisic acid-4-tyrosylhydrazone in 500 µl Methanol und 10 ml Borate Puffer 0,1 M (pH 9,0) lösen
- Vorbereitete PAR-Lösung vorsichtig unter rühren und 30 min. rühren lassen
- Lösung in einen Dialyseschlauch geben und 4 Tage bei 4°C im Dunkeln gegen Millipore-H<sub>2</sub>O dialysieren.
- Alle 12 h H<sub>2</sub>O austauschen
- Gefriertrocknen und bei -20°C lagern

**Stocklösung von ABA-4'-BSA-Konjugat**

7 mg des gefriergetrockneten ABA-4'-BSA-Konjugat in ml 50 mM Natriumhydrogencarbonat (pH 9,6) lösen und in 60 µl Aliquots bei -20°C lagern

Für das beschichten der Mikrotiterplatte: 60 µl in 120 ml Natriumhydrogencarbonatlösung (50 mM; pH 9,6) lösen. In 20 ml Aliquots lagern

Natriumhydrogencarbonatlösung 50mM (pH 9,6): 4,2 g NaHCO<sub>3</sub> in 1 l H<sub>2</sub>O lösen und pH 9,6 einstellen in 100 ml Aliquots bei -20°C aufbewahren

**Puffer 1**

60,5 g	Tris
2,0 g	Magnesiumchloridhexahydrat
88,0 g	Natriumchlorid

- Mit H<sub>2</sub>O auf 1 l auffüllen; pH 7,8 mit 37 % ig HCl einstellen
- 10 x 100 ml bei -20°C einfrieren
- Zum Gebrauch auftauen und auf 1 l mit H<sub>2</sub>O auffüllen

**Puffer 2**

100 ml	Puffer 1 auftauen
1,0 g	BSA
0,5 ml	Tween 20

- Mit H<sub>2</sub>O auf 1 l auffüllen; kann bei -20°C gelagert werden

**Phosphat-Puffer (PBS)**

1,7149 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> x H<sub>2</sub>O

- Mit H<sub>2</sub>O auf ca. 200 ml auffüllen; muss noch mit ca. 30 ml Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> auf pH 6 eingestellt werden. Auf 250 ml auffüllen

0,3549 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>

- Mit H<sub>2</sub>O auf 50 ml auffüllen
- Wenn pH auf 6 eingestellt ist, werden 1,461 g NaCl dazugegeben; bei -20°C lagern

## Antikörper-Puffer

100 ml	PBS-Puffer
0,4 g	PVP 40
0,5 g	BSA

- Alles vermischen; bei -20°C lagern

## Stocklösung MAC 252

Je 12,5 µl MAC 252 Antikörper (Original) und 987,5 µl Antikörper-Puffer in 1,5 ml Eppendorfgefäße pipettieren. Bei -20°C lagern

Verdünnung 1: 1 Eppendorfgefäß (1 ml) der Stocklösung auf 100 ml mit dem Antikörper-Puffer auffüllen. Bei -20°C in je 1 ml Aliquots lagern

Für ELISA-Platte: Verdünnung 1 (1 ml Aliquot) mit 1 ml PBS verdünnen.

## 2. Antikörper

Für ELISA-Platte: 20 µl Anti-rat IgG in 20 ml Puffer 1 lösen.

## P-Nitro-phenylphosphatlösung

20 mg	p-Nitrophenylphosphat
20 ml	Natriumhydrogencarbonatlösung 50 mM; pH 9,6

## Abcisinsäure-Standards

### Original-Lösung

- 4 mg ABA in 100 ml H<sub>2</sub>O lösen; 12 h im Dunkeln bei 40°C aufbewahren
- Anschließend eventuell Verdunstung auffüllen und einige Minuten weiter rühren lassen
- Bei -20°C lagern

### Stocklösung (80000 pg / 100 µl)

2 ml von Original-Lösung mit H<sub>2</sub>O auf 100 ml auffüllen

8000 ± pg / 100 µl: 5 ml Stocklösung mit H<sub>2</sub>O auf 50 ml auffüllen. Dies entspricht dem 4000 pg / 100 µl Standard, da nur + ABA gemessen wird.

**Gebrauchstandards**

2000 pg / 100 µl: 10 ml von der 8000 ± pg / 100 µl + 10 ml H<sub>2</sub>O

1000 pg / 100 µl: 10 ml von der 2000 pg / 100 µl + 10 ml H<sub>2</sub>O

500 pg / 100 µl: 10 ml von der 1000 pg / 100 µl + 10 ml H<sub>2</sub>O

250 pg / 100 µl: 10 ml von der 500 pg / 100 µl + 10 ml H<sub>2</sub>O

125 pg / 100 µl: 10 ml von der 250 pg / 100 µl + 10 ml H<sub>2</sub>O

## Kreuztabellen mit Liniendarstellungen

	8 (60,7)	2 (56,4)	6 (51,5)	7 (44,6)	5 (40,4)	4 (39,4)	3 (27,3)	1 (23,0)
8 (60,7)		ns	ns	ns	ns	ns	*	*
2 (56,4)			ns	ns	ns	ns	*	*
6 (51,5)				ns	ns	ns	ns	*
7 (44,6)					ns	ns	ns	ns
5 (40,4)						ns	ns	ns
4 (39,4)							ns	ns
3 (27,3)								ns
1 (23,0)								

Tabelle 5 Kreuztabelle der Gesamttranspiration  
1-8 Behandlungen mit Mittelwerten; ns = nicht signifikant; \*  $P > 0,05$



	8 (0,1571)	2 (0,1500)	1 (0,1408)	5 (0,1244)	4 (0,1232)	3 (0,1228)	7 (0,1209)	6 (0,1110)
8 (0,1571)		ns	ns	*	*	*	*	*
2 (0,1500)			ns	ns	ns	ns	ns	*
1 (0,1408)				ns	ns	ns	ns	ns
5 (0,1244)					ns	ns	ns	ns
4 (0,1232)						ns	ns	ns
3 (0,1228)							ns	ns
7 (0,1209)								ns
6 (0,1110)								

Tabelle 6 Kreuztabelle der Gesamttranspiration in Abhängigkeit der Blattfläche  
1-8 Behandlungen mit Mittelwerten; ns = nicht signifikant; \*  $P > 0,05$





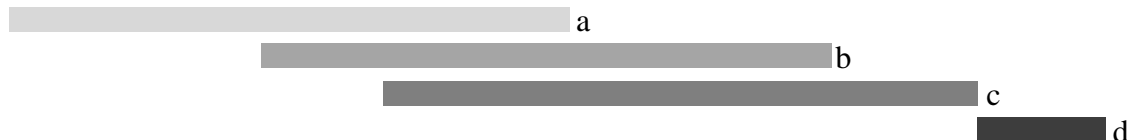
	6 (437,0)	8 (376,4)	7 (375,6)	2 (375,4)	5 (322,0)	4 (294,4)	3 (215,8)	1 (162,6)
6 (437,0)		ns	ns	ns	ns	ns	*	*
8 (376,4)			ns	ns	ns	ns	*	*
7 (375,6)				ns	ns	ns	*	*
2 (375,4)					ns	ns	*	*
5 (322,0)						ns	ns	*
4 (294,4)							ns	ns
3 (215,8)								ns
1 (162,6)								

Tabelle 7 Kreuztabelle der Blattfläche  
 1-8 Behandlungen mit Mittelwerten; ns = nicht signifikant; \* P > 0,05



	2 (0,84)	6 (0,66)	4 (0,56)	8 (0,53)	7 (0,48)	5 (0,4)	3 (0,25)	1 (0,02)
2 (0,84)		ns	ns	ns	*	*	*	**
6 (0,66)			ns	ns	ns	ns	*	**
4 (0,56)				ns	ns	ns	ns	**
8 (0,53)					ns	ns	ns	*
7 (0,48)						ns	ns	*
5 (0,4)							ns	*
3 (0,25)								*
1 (0,02)								

Tabelle 8 Kreuztabelle der Exsudation  
 1-8 Behandlungen mit Mittelwerten; ns = nicht signifikant; \* P > 0,05; \*\* P > 0,01



	7 (985,4)	4 (973,4)	6 (306,6)	8 (284,6)	1 (236,3)	2 (207,8)	5 (146,8)	3 (129,8)
7 (985,4)		ns	**	**	*	**	**	**
4 (973,4)			**	**	*	**	**	**
6 (306,6)				ns	ns	ns	ns	ns
8 (284,6)					ns	ns	ns	ns
1 (236,3)						ns	ns	ns
2 (207,8)							ns	ns
5 (146,8)								ns
3 (129,8)								

Tabelle 9 Kreuztabelle der Abscisinsäurekonzentration im Xylem

1-8 Behandlungen mit Mittelwerten; ns = nicht signifikant; \* P &gt; 0,05; \*\* P &gt; 0,01

a

b

## Dank

Herzlichen Dank an alle, die mich bei meiner Bachelorarbeit unterstützt haben.

Herrn Prof. Asch für die Chance meine Bachelorarbeit bei ihm im Institut zu schreiben und für die Vergabe dieses interessanten Themas, sowie für die gute Betreuung.

Tanja Berndl für die tolle Unterstützung, die vielen Tipps, die helfende Hand und ihre Geduld.

Oliver Schnitzler für seine Hilfe und Unterstützung.

Sandra Abendschein für die frühmorgendliche Unterstützung im Gewächshaus, ihre großartige Hilfe im Labor, ihre Wochenendgießdienste und für ihre Freundschaft.

Leah Kuppinger für die Inspiration und den Austausch beim Schreiben und Lernen. Für das gießen an den Wochenenden und für ihre Freundschaft.

Moritz Rönneper für die tolle Zusammenarbeit in vielen Bereichen der Bachelorarbeit.

Frau Dr. Hartung für ihre Hilfe und Beratung bei der Planung und Auswertung in statistischen Angelegenheiten.

Der Universitätswerkstatt für die tollen Tipps und Tricks, sowie für das Zuschneiden der Materialien.

Der TU Dresden für die Bereitstellung des Rizinussaatguts.

## Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich,

Bégué, Elena

Geboren am 03.07.1987

Matrikelnummer 435895

an Eides statt, dass die vorliegende, an diese Erklärung angefügte Bachelor-Arbeit selbständig und ausschließlich unter Zuhilfenahme der im Literaturverzeichnis genannten Quellen angefertigt wurde und noch an keiner anderen Stelle vorgelegt wurde.

Betreuender Dozent: Prof. Dr. Asch

Thema der Arbeit: Auswirkungen externer Applikation von Abscisinsäure auf die hydraulische Leitfähigkeit der Wurzeln von *Ricinus communis L.*

Semester: Sommersemester 2011

Ich erkläre weiterhin, dass der betreuende Dozent ein unverschlüsseltes digitales Textdokument (in einem Format doc, docx, odt, pdf, rtf) der Arbeit übermittelt wurde, das in Inhalt und Wortlaut ausnahmslos der gedruckten Ausfertigung entspricht. Mir ist bekannt, dass diese digitale Version anhand der Analyse auf Plagiate überprüft werden kann.

---

Ort, Datum, Unterschrift