

Universität Hohenheim
Fakultät für Agrarwissenschaften
Institut für Pflanzenproduktion und Agrarökologie in den Tropen und Subtropen
Fg. Wasserstress-Management bei Kulturpflanzen in den Tropen und Subtropen

Prof. Dr. Folkard Asch



**Auswirkungen von Bodenhilfsstoffen auf Wurzel-Spross-Signal von Mais
unter Trockenstress**

Freie wissenschaftliche Arbeit zur Erlangung
des akademischen Grades Bachelor of Science

Sandra Abendschein

Universität Hohenheim, 02. August 2011

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	II
Abbildungsverzeichnis.....	IV
Tabellenverzeichnis.....	IV
Abkürzungsverzeichnis.....	V
1. Einleitung.....	6
2. Material und Methoden.....	8
2.1 Bodenhilfsstoffe – Geohumus.....	8
2.2 Abscisinsäure (ABA).....	9
2.3 Pflanzenmaterialien.....	9
2.3.1 Auswahl der Pflanzen.....	9
2.3.2 Mais.....	10
2.3.3 Aufzucht.....	10
2.4 Bestimmung der maximalen Wasserhaltekapazität.....	11
2.5 Bestimmung des Trockengewichts des Bodens.....	11
2.6 Versuchsaufbau.....	12
2.6.1 Bau der „split-root“-Systeme.....	12
2.6.2 Befüllung der „split-root“-Systeme.....	13
2.6.3 Behandlung.....	15
2.7 Versuchsdurchführung.....	17
2.7.1 Messung des Wasserpotentials mit Hilfe der Scholander-Bombe.....	17
2.7.2 Blattflächenbestimmung.....	19
2.7.3 ELISA-Test.....	20
2.8 Statistik.....	22
3. Ergebnisse.....	23
3.1 Blattfläche.....	23
3.2 Transpiration der Röhren.....	24
3.3 Wasserpotential.....	25
3.4 ABA.....	28
4. Diskussion.....	31
4.1 Blattfläche.....	31
4.2 Transpiration.....	33
4.3 Wasserpotential.....	35

4.4 ABA-Gehalte.....	36
5. Zusammenfassung.....	38
6. Verbesserung.....	39
Literatur.....	XL
Anhang.....	XLIII
Danksagung.....	XLVI
Eidesstattliche Erklärung.....	XLVII

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 leeres "split-root"-System.....	-11 -
Abbildung 2 rechts: Maispflanzen mit geteilter Wurzel und mit Ceaprenstopfen umschlossener Spross; links: Maispflanze in „split-root“-System mit Beschriftung der Röhren.....	- 13 -
Abbildung 3 Beobachtung der Schnittfläche mit einer Lupe und das Barometer.....	- 18 -
Abbildung 4 Screenshot des Kalkulationsblattes für ABA.....	- 21 -
Abbildung 5 Blattfläche [cm ²] aller Behandlungen, Mittelwerte mit Standardabweichung...	- 23 -
Abbildung 6 Transpiration der linken und rechten Röhre [g], Mittelwerte mit Standardabweichung	- 24 -
Abbildung 7 Wasserpotential [bar] aller 40 Versuchspflanzen	- 25 -
Abbildung 8 Wasserpotential [bar] der Behandlungen, Mittelwerte mit Standardabweichung	- 26 -
Abbildung 9 Liniendarstellung der Wasserpotentiale der acht Behandlungen.....	- 27 -
Abbildung 10 ABA-Gehalte [pmol/mL] der Behandlungen, Mittelwerte mit Standardabweichung	- 28 -
Abbildung 11 Liniendarstellung der ABA-Gehalte der acht Behandlungen	- 30 -
Abbildung 12 Maispflanze mit Schaden, vertrocknete Blätter.....	- 30 -

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Behandlungen, Verteilung der Zusammensetzung auf die Seiten der „split-root“- Systeme	- 15 -
Tabelle 2 Kreuztabelle der Wasserpotentiale der acht Behandlungen.....	- 27 -
Tabelle 3 Kreuztabelle der ABA-Gehalte der acht Behandlungen	- 29 -

Abkürzungsverzeichnis

ABA	Abscisinsäure
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
d.h.	das heißt
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
<i>et al.</i>	„und andere“ (lateinisch)
°C	Grad Celsius
h	Stunde
HCl	Salzsäure
H ₂ O	Wasser
L	Liter
max.	maximal
µl	Mikroliter
mg	Milligramm
min	Minuten
mm	Millimeter
mL	Milliliter
mL/L	Milliliter pro Liter
NaCl	Natriumchlorid
Na ₂ HPO ₄	Dinatriumhydrogenphosphat
NaH ₂ PO ₄	Natriumhydrogenphosphat
O ₂	Sauerstoff
PAR	p-amminohippuracid-BSA
PBS	Phosphat-Puffer
PE	Polyethylen
pmol/ml	Pikomol pro Milliliter
%	Prozent
PVC	Polyvinylchlorid
PVP	Polyvinylporrolidon
TRIZMA	Tris[hydroxymethyl]aminomethan
WHK	Wasserhaltekapazität

1. Einleitung

Durch die Ausbreitung der ariden Gebiete, in denen lange und häufige Trockenheit herrscht, wird es immer schwerer, Acker- und Gemüsebau zu betreiben. Auch durch die immer größer werdende Knappheit an Wasser, ist es oft schwierig und abwegig die eigenen Topf- und Gartenpflanzen regelmäßig zu bewässern. Aus diesen Gründen und um Wasser einzusparen wurde der Bodenhilfsstoff entwickelt. Bodenhilfsstoffe sind Hydroabsorber, die Wasser absorbieren, es über einen Zeitraum speichern und es dann der Wurzel zur Verfügung stellen.

In dieser Arbeit soll herausgefunden werden, ob dieser Bodenzusatz der Pflanze über eine Trockenheit hinweg helfen kann und es eine Auswirkung auf das Signal zwischen Wurzel und Spross gibt. Dafür wurden Maispflanzen aufgezogen, die mit ihrem Wurzelsystem und ihren Wuchseigenschaften sich bestens für diesen Versuch eigneten. Auch die Herkunft und die mittlerweile große Verbreitung der Maispflanze trugen dazu bei, diese Pflanze für diesen Versuch heranzuziehen.

Der Bodenhilfsstoff der zum Einsatz kam, ist ein in Deutschland entwickelter Humus, der Geohumus® (Gattinger, 2009). Laut Hersteller soll dieses Substrat in der Lage sein, das Wasser zu absorbieren, es über einen längeren Zeitraum halten zu können, um es der Pflanze in trockenen Zeiten zur Verfügung stellen zu können (Gattinger, 2009). Damit dies getestet werden konnte, wurde der Versuch in einem Gewächshaus durchgeführt und ein spezielles System gebaut, das „split-root“-System. Bereits einige Veröffentlichungen beschäftigten sich mit der Aufteilung der Wurzel mit Hilfe eines „split-root“-Systems, zum Beispiel Hou (2009).

In diesem System wuchsen die Wurzeln der Pflanzen in zwei unterschiedlichen Bodenzusammensetzungen, die verschiedenen Seiten beinhalteten jeweils andere Bedingungen. Die Wurzeln der Maispflanzen wuchsen in diesem Versuch in bewässertem und trockenem Boden. Der verwendete Bodenhilfsstoff wurde einigen Seiten untergemischt. Anhand dieser Wurzelaufteilung können Wurzeln dazu angeregt werden Abscisinsäure zu bilden. Abscisinsäure ist ein Phytohormon und gilt als Wurzel-Spross-Signal (Steudle, 2000).

Die Wurzel-Spross-Signale wurden bereits in vielen Veröffentlichungen untersucht, dabei spielte Abscisinsäure eine wichtige Rolle. Jeschke *et al.* (1997), Bahrn *et al.*

(2001) und Asch *et al.* (2009) sind nur einige der vielen Arbeiten, die sich mit der Abscisinsäure als Wurzel-Spross-Signal beschäftigten. Auch in dieser Arbeit soll der Xylemsaft auf Abscisinsäure getestet und der Gehalt bestimmt werden.

Dazu wurde die von Scholander entwickelte Technik herangezogen, die auch „Scholander-Bombe“ genannt wird. Ehlers *et al.* (1996) und Waring (1970) erklärten, dass aufgrund des Druckaufbaus dieser Technik, sich an den Schnittstellen Xylemsaft sammelt. Dieser gesammelte Saft wird in diesem Versuch im Labor ausgewertet. Hier findet der ELISA-Test Anwendung.

2. Material und Methoden

2.1 Bodenhilfsstoffe - Geohumus

Geohumus gehört zu den Bodenhilfsstoffen. Dies bedeutet, dass diese Form des Humus Wasser absorbiert und über einen gewissen Zeitraum speichert. Er wird unter den Boden gemischt, mit der Aufgabe, das absorbierte Wasser der Pflanze zur Verfügung zu stellen.

Geohumus wird in Deutschland produziert und besteht aus fein gemahlenden, anorganischen Gesteinsmehlen, die die Pflanze mit Nährstoffen und Mineralien versorgt. Durch ein Polymernetz sind die Gesteinpartikel fest verbunden, darin wird das Wasser gespeichert. Es findet auch Anwendung in anderen Bereichen, wie bei Kontaktlinsen, Verpackungen von Lebensmitteln oder Babywindeln (www.geohumus.com). Bei Wassermangel im Boden kann so die Pflanze auf das gespeicherte Wasser zurückgreifen und damit einen Trockenzeitraum überstehen (Gattinger, 2009). Geohumus dehnt sich und quillt bei der Aufnahme von Wasser auf. Der Hersteller verspricht eine verbesserte Bodenstruktur und Bodendurchlüftung, eine verstärkte Wasserspeicherkapazität und bessere mikrobielle Arbeit des Bodens. (Gattinger, 2009). Geohumus ist circa 3 bis 5 Jahre funktionsfähig, danach kann es biologisch abgebaut werden.

In diesem Gewächshausversuch wurden 5 g Geohumus dem Boden untergemischt. Jede Seite des „split-root“-Systems konnte nur ein Volumen von 180 g aufnehmen, aus diesem Grund wurde diese Menge verwendet. Diese 5 g wurden unter den Boden gemischt und in die Röhren gefüllt, in den verschiedenen Röhren wurden jeweils die gleichen Mengen verwendet.

2.2 Abscisinsäure (ABA)

Abscisinsäure (ABA) gehört zu den Phytohormonen der Pflanzen und ist ein Langstreckenstresssignal (Steudle, 2000). In einigen Untersuchungen wurde herausgefunden, dass in wassergestressten Pflanzen das Hormon in den Wurzeln gebildet und über das Xylem zum Spross transportiert wird. ABA kann über weite Strecken im Xylem transportiert werden (Weiler und Nover, 2008). Die Biosynthese findet in allen Zellen der Wurzel statt. Entsteht Wassermangel und der Turgordruck in den Schließzellen sinkt, wird das Hormon verstärkt synthetisiert. Bei den Blättern angekommen, häuft es sich dort an (Campbell *et al.*, 2006) und gibt das Signal zum Stomataschluss (Schubert, 2006). Dieser Verschluss hilft der Pflanze ihre Transpiration zu senken (Campbell *et al.*, 2006) und damit Wasser zu sparen.

2.3 Pflanzenmaterialien

2.3.1 Auswahl der Pflanze

Für den Versuch standen Sonnenblume (*Helianthus annuus*), Rizinus (*Ricinus communis*), Baumwolle (*Gossypium*) und Mais (*Zea mays*) zur Verfügung. Alle vier Pflanzen wurden in einer Multitopfplatte mit Sand angezogen, bis sie ein Alter von ca. zwei Wochen erreicht hatten, danach wurden die Wurzeln verglichen. Damit ein guter Vergleich möglich war, wurden die Pflanzen aus dem Sand gelöst und die Wurzeln unter Wasser gereinigt. Nach der Begutachtung der Wurzeln kam man zu der Entscheidung, dass die Wurzeln von Sonnenblume, Baumwolle und Rizinus sich nicht für den Versuch in einem „split-root“-System eigneten. Bei Mais dagegen konnten die Wurzeln leicht getrennt werden. Dies und die gute Standfestigkeit, benötigt für die Arbeit mit der Scholander-Bombe, sprachen für eine Entscheidung zu Gunsten des Mais.

2.3.2 Mais

Mais (*Zea mays*), der seinen Ursprung in Mittel- und Südamerika hat, ist eine Pflanze der Tropen und Subtropen (Diepenbrock *et al.*, 2005). Der Mais gehört zu der Familie der Süßgräser und zählt zu den drei wichtigsten Getreidearten der Welt (Asch, 2009).

Mais ist eine einjährige (Lieberei *et al.*, 2007), Wärme liebende Pflanze mit hohen Ansprüchen an die Temperatur (Zscheischler *et al.*, 1990). Obwohl der Mais hohe Temperaturen bevorzugt, wachsen auch einige Sorten in Deutschland (gemäßigtes Klima [Walter/Breckle, 1999]).

Mais gehört zu den C₄-Pflanzen und ist eine an die Trockenheit angepasste Kulturpflanze (Weiler und Nover., 2008), die sparsam im Umgang mit Wasser und effizient in der CO₂-Assimilation ist (Schubert, 2006).

2.3.3 Aufzucht

Der Aufwuchs der Pflanzen fand im Gewächshaus statt, bei einer Tageslichtdauer von 16 h und einer Dunkelphase von 8 h. Mit einer Durchschnittstemperatur von 28 °C am Tag und 23 °C bei Nacht, einem Temperaturunterschied von 5 °C. Während der kompletten Wachstumsphase waren die Pflanzen dem normalen Tageslicht ausgesetzt, auf zusätzliche Lichtquellen wurde verzichtet.

Für den Aufwuchs wurden Multitopfplatten verwendet und mit Sand befüllt. Die Samen der Maispflanzen wurden circa 10 mm leicht in den Sand eingedrückt, anschließend mit Sand bedeckt und über den kompletten Zeitraum feucht gehalten. Nach nur wenigen Tagen sprossen die ersten Maispflanzen. Es wurden 100 Pflanzen angezogen, davon wurden die besten 40 ausgewählt.

Um die Pflanzen ausreichend mit Nährstoffen versorgen zu können, wurde jeden zweiten Tag 4 mL/L des Universaldüngers Algoflash® dem Wasser zugefügt.

2.4 Bestimmung der maximalen Wasserhaltekapazität (WHK)

Die maximale Wasserhaltekapazität (WHK) wird von Alef (1991) definiert, als das Wasservolumen, welches von 100 g Trockensubstanz aufgenommen werden kann.

Um diese Kapazität zu testen, wurde eine einzelne „split-root“-Röhre gewogen und mit Boden befüllt. Um eine Lösung des Bodens am Ende einer Röhre zu verhindern, wurde dieses mit einem feinen Netz abgedichtet. Anschließend wurde langsam Wasser zugeführt. Zu Beginn konnte kein Wasseraustritt am Röhrenende festgestellt werden. Später tropfte Wasser, welches nicht vom Boden aufgenommen werden konnte, durch das Netz in einen Auffangbehälter. Nachdem kein weiteres Wasser mehr abtropfte, wurde der Boden erneut gewogen und das Gewicht der leeren „split-root“-Röhre abgezogen. Der damit neu errechnete Wert war die 100%ige Wasserhaltekapazität des Bodens (Alef, 1991).

2.5 Bestimmung des Trockengewichts des Bodens

Zur Bestimmung des Trockengewichtes wurden 100 g Boden in einem Trockenschrank bei 105 °C aufbewahrt. Regelmäßig wurde das Gewicht des Bodens neu bestimmt, bis eine Gewichtskonstante erreicht wurde, d.h. bis das Gewicht sich nicht mehr veränderte. Die Temperatur im Trockenschrank von 105 °C sollte dabei nicht überschritten werden, da sonst das Wasser, welches in Zwischenschichten der Tonmineralen oder Kristallen gebunden ist, entweicht (Stahr *et al.*, 2008).

2.6 Versuchsaufbau

2.6.1 Bau der „split-root“-Systeme

Für die Herstellung der „split-root“-Systeme wurden PVC-Rohre verwendet. Diese hatten einen Durchmesser von 40 mm und wurden auf eine Länge von 200mm zugeschnitten.

Anschließend säuberte man mit Tangit®-Reiniger (Henkel) die Schnittstellen. Dieser Reiniger sorgte für eine schmutzfreie Fläche und somit für eine später benötigte wasserdichte Klebestelle.

Jeweils zwei Rohre wurden an den Seitenmitten vollständig mit Kleber bestrichen und zusammengeklebt. Nach Aushärten des Klebers wurden die verbundenen Rohre auf die inzwischen gesäuberte PVC-Platte, ebenfalls fest verklebt. Die Platte hatte eine Länge von 100 mm und eine Breite von 50 mm.

Um die Klebestellen zwischen den Röhren und der Platte wasserdicht zu bekommen, wurde eine weitere Klebeschicht von außen aufgetragen. Damit das System auf Wasserdichte getestet werden konnte, wurden die Röhren mit Wasser befüllt und eine Nacht stehen gelassen. Konnte man am nächsten Tag kein ausgetretenes Wasser feststellen, wurden die Rohre ausreichend abgedichtet. Erschienen jedoch an den Klebestellen Wassertropfen, so wurde dieses System erneut verklebt, so lange bis kein Wasser mehr austrat. PE-Rohre, mit einem Durchmesser von 40 mm und einer Länge von 50 mm, wurden gekürzt und anschließend mit Schleifpapier sorgfältig

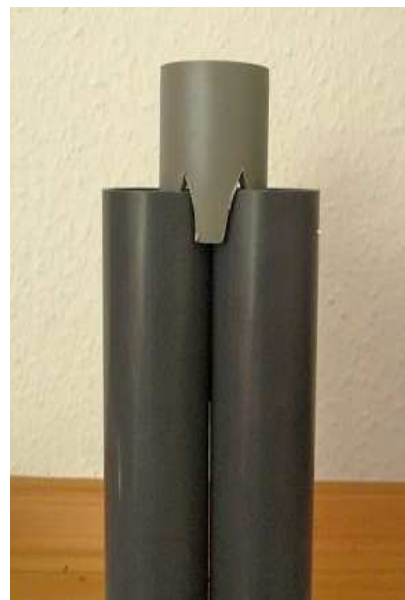


Abbildung 1 leeres "split-root"-System

abgeschliffen. Diese Rohre erhielten Fixierungspunkte an vier gegenüber liegenden Stellen, die mit Hilfe eines LötKolbens 20 mm tief eingelötet wurden. Somit erhielt man vier gleichgroße Kerben, mit denen das PE-Rohr mittig auf das „split-root“-System gesteckt werden konnte. Hierbei wurde kein Kleber verwendet, da die Kerben für einen

stabilen Halt des PE-Rohres sorgten. In Abbildung 1 kann man das aufgesetzte PE-Rohr sehen.

Zum Ende wurde jedes „split-root“-System gewogen und das Gewicht notiert. Die gemessenen Werte, wurden zu einem späteren Zeitpunkt für Wasserverteilung benötigt (Abschnitt 2.6.3).

2.6.2 Befüllung der „split-root“-Systeme

Nach einer zweiwöchigen Entwicklungszeit der Pflanzen wurde der aufgezogene Mais in die „split-root“-Systeme gesetzt.

Zuerst musste bestimmt werden, wie viel Volumen Boden eine Röhre aufnehmen kann. Dazu wurde das leere Gewicht einer Röhre bestimmt. Danach wurde dieser Röhre mit Boden befüllt und erneut gewogen. Die Differenz der beiden Werte ergab ein Volumen von 180 g. Da Geohumus unter den Boden gemischt wurde, musste das Gewicht des reinen Bodens, um das Gewicht des Geohumus verringert werden. Dies entsprach einem neuen Gewicht von 175 g Boden und 5 g Geohumus.

Um die ideale Siebgröße festzustellen wurden der Geohumus und der Boden in einem Vorversuch mit drei unterschiedlichen Siebgrößen (2 mm, 3 mm, 5 mm) gesiebt. Das 2-mm-Sieb eignete sich am Besten für den späteren Versuch, da man somit die richtige Aggregatsgröße erzielte. Auch die geeignete Füllmenge und eine gute Bodendichte waren dadurch gegeben. Im Anschluss wurden Boden und Geohumus gesiebt, miteinander vermengt und bis zur Hälfte in die Röhren gefüllt.

Die Maispflanze wurde der Multitopfplatte entnommen und die Wurzeln unter Wasser sorgfältig und vorsichtig ausgewaschen. Zum Einen konnten die Wurzeln durch das Wasser leichter entwirrt werden und zum Anderen die Wahrscheinlichkeit von Verletzungen und Beschädigungen verringert werden.

Damit die Pflanze fixiert werden konnte, nahm man einen Ceaprenstopfen, mit einem Durchmesser von 40 mm und einer Länge von 35 mm und schnitt diesen mit einem Messer bis zur Mitte auf. Oberhalb der Wurzel wurde der Ceaprenstopfen um den Spross der Pflanze gelegt. Das Ganze wurde durch die Öffnung des PE-Rohrs gefädelt, bis der Stopfen bündig mit dem oberen Rand des PE-Rohrs war (siehe Abbildung 2). Das Rohr wurde daraufhin auf die verklebten PVC-Rohre gesteckt und die geteilten Wurzeln gleichmäßig auf beide Seiten der „split-root“-Systeme verteilt. Der restliche Boden

konnte im Anschluss in die Röhren gegeben werden. Dabei war zu beachten, dass beide Seiten die gleiche Menge an Boden und Geohumus erhielten.

Ein leichtes Klopfen gegen die PVC-Platte verhinderte beim Befüllen der Röhre mit Boden, eine Bildung von kleinen Hohlräumen.

Bis zu der Messung des Wasserpotentials vergingen zwei Wochen, in denen die Pflanzen genügend Zeit hatten, sich an die neuen Bedingungen zu gewöhnen und ihre Wurzeln auszubreiten.

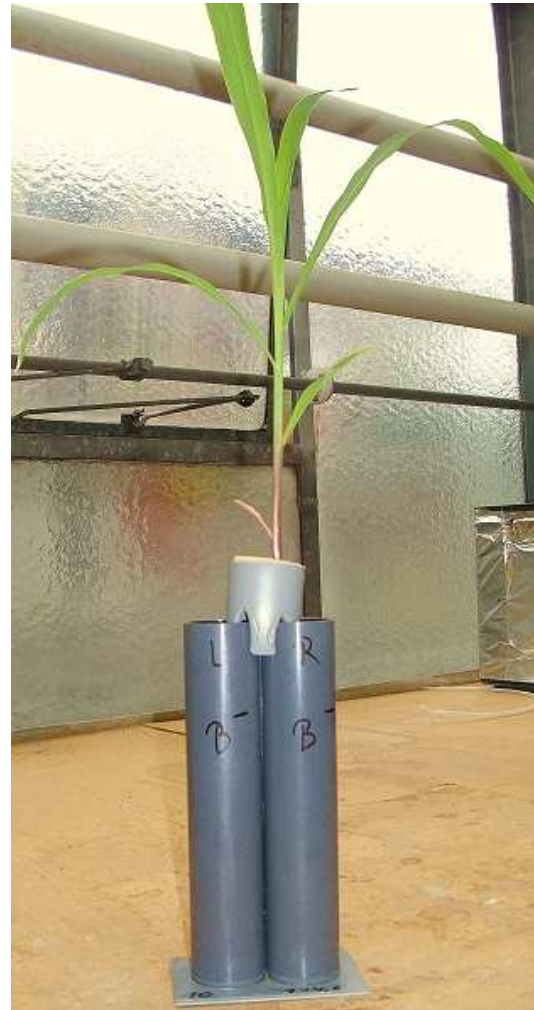


Abbildung 2 rechts: Maispflanzen mit geteilter Wurzel und mit Ceaprenstopfen umschlossener Spross

links: Maispflanze in „split-root“-System mit Beschriftung der Röhren

2.6.3 Behandlung

Wie bereits in Abschnitt 2.6.2 erklärt wurde, erhielt jede Röhre und damit jedes „split-root“-System die gleiche Menge an Boden. Jedoch gab es einen Unterschied in der Verteilung des Geohumus und der Wassergabe.

In der folgenden Tabelle ist die Verteilung des Bodens und des Geohumus dargestellt, sowie die Verteilung der Wassergaben.

Tabelle 1 Behandlungen, Verteilung der Zusammensetzung auf die Seiten der „split-root“-Systeme

Behandlung	Wiederholung	Behandlung	
		Beidseitig	
1	1-5	Boden bewässert, 180g (Kontrolle)	
2	6-10	Boden trocken	
3	11-15	Boden bewässert + Geohumus	
		linke Seite	Rechte Seite
4	16-20	Boden bewässert	Boden bewässert + Geohumus
5	21-25	Boden bewässert	Boden trocken
6	26-30	Boden bewässert + Geohumus	Boden trocken
7	31-35	Boden bewässert	Boden trocken + Geohumus
8	36-40	Boden trocken	Boden bewässert + Geohumus

Die Wassergabe für den bewässerten Boden wurde berechnet, indem dafür das Gesamtgewicht des „split-root“-Systems bestimmt wurde. Von diesem Wert musste das Gewicht des leeren „split-root“-Systems und des Bodens abgezogen werden. Somit erhielt man den Wasserverbrauch der beiden Seiten. Halbte man dieses Ergebnis, erhielt man den Wasserverbrauch einer Seite. Boden, welcher trocken gestresst werden sollte, wurde mit nur 40% der maximalen Wasserhaltekapazität gegossen.

Die Evaporation wurde bei diesem Versuch außer acht gelassen, da der Durchmesser der „split-root“-Systeme so gering war, dass die Verdunstung über den Boden vernachlässigt werden konnte. Evaporation beinhaltet die Verdunstung durch die Bodenoberfläche (Stahr *et al.*, 2008).

Über den Zeitraum des Versuches lag die Durchschnittstemperatur am Tag bei 29 °C und bei Nacht bei 18 °C. Die relative Luftfeuchte betrug sich im Durchschnitt tagsüber auf 53,51 % und bei Nacht auf 78,2 %.

2.7 Versuchsdurchführung

2.7.1 Messung des Wasserpotentials mit Hilfe der Scholander-Bombe

Die Scholander-Bombe ist ein Gerät, das mit Hilfe von Druck, Messungen des Gesamtwasserpotentials zulässt (Ehlers, 1996). Hierbei übersteigt der Druck in der Kammer die Spannung im Pflanzengewebe, Xylemsaft wird nach oben gedrückt und tritt an der Schnittstelle aus.

Das Wasserpotential definierte Campbell *et al* (2006) als eine Kombination der Faktoren Druck und Konzentration von gelösten Stoffen.

Zuerst wurde die Pflanze (mit „split-root“-System) in die Druckkammer der Scholander-Bombe gestellt. Dabei musste beachtet werden, dass sie möglichst genau in der Mitte stand. Damit für diesen Versuch nicht zu viel Gas verbraucht wurde, stellte man leere, unbenutzte Töpfe mit in die Kammer. Diese nahmen Platz ein, weniger Gas wurde für die Messung einer Pflanze benötigt und die Pflanze erhielt zusätzlich noch die richtige Höhe, da die Druckkammer sehr tief war.

Es durften weder Blätter der Pflanze abgeknickt, noch der Stiel verletzt werden, da an diesen Stellen später beim Druckaufbau Xylemsaft austreten könnte und somit kein Wasserpotential messbar wäre.

Nachdem die Pflanze sicher im Druckbehälter stand, wurde mit einem Rasiermesser unterhalb des ersten Blattes die Pflanze durchgeschnitten (Ehlers, 1996). Dazu sollte das Messer scharf sein, damit ein glatter, sauberer und gleichmäßiger Schnitt möglichst gegeben ist.

Im Anschluss wurde der Deckel der Scholander-Bombe vorsichtig aufgesetzt. In diesem befand sich in der Mitte eine kleine Öffnung, durch die die Pflanze ohne Verletzungen gefädelt werden musste.

Um einen luftdichten Verschluss zu erhalten, legte man einen Dichtungsring um die Pflanze, welcher genau in die Mitte der Öffnung passte. Auf diesen Ring wurde ein weiterer Deckel mit Drehgewinde aufgesetzt und festgeschraubt. Zusammen ergeben die beiden Teile einen luftdichten Verschluss, aus dem kein Gasaustritt mehr möglich ist.

Im Anschluss konnten nun alle Druckregelventile der Scholander-Bombe der Reihe nach geöffnet werden, beginnend mit den Ventilen nahe der Gasflasche.

Mit Hilfe eines Druckreglers an der Druckkammer ließ man langsam den Druck im Behälter ansteigen, dabei wurde mit einer Lupe die Schnittfläche der Pflanze und das Barometer beobachtet (Abbildung 3). War Wasseraustritt aus dem Xylem zu erkennen, wurde die Zufuhr gestoppt und der vom Barometer angezeigte Wert notiert. Dieser Wert entsprach dem Wasserpotential der Pflanze. Das Xylem wurde beobachtet, da nur in diesen Leitbahnen Wassertransport stattfindet (Weiler und Nover, 2008).



Abbildung 3 Beobachtung der Schnittfläche mit einer Lupe und das Barometer

Damit eine größere Menge an Xylemsaft gesammelt werden konnte, wurde 30 % des Wasserpotentials mit dem ursprünglichen Wert addiert.

Wasserpotential + 30 % = neuer Druckwert

Der neue Wert wurde daraufhin mit Hilfe des Druckregelventils langsam eingestellt. Nun trat Flüssigkeit aus, die mit einer Pipette aufgenommen und in einem Eppendorf-Gefäß gesammelt werden konnte. Ließ der Flüssigkeitsstrom nach oder wurde ausreichend Xylemsaft gesammelt, musste das Eppendorf-Gefäß in Dunkelheit und in

Eis aufbewahrt werden. Das Eis und die Dunkelheit verhinderten die Zerstörung der Abscisinsäure, welche für den ELISA-Test (Kapitel 2.7.3) benötigt wurde.

Einige bisherige Veröffentlichungen benutzten den Druckaufbau für den Versuch Abscisinsäure zu gewinnen, zum Beispiel Wei *et al.* (1999) oder Maslak *et al.* (2010).

In diesem Versuch wurde die Abscisinsäure nach Entnahme der Pflanze eingefroren, da die Auswertung im Labor zu einem späteren Zeitpunkt statt fand.

Nach jeder zweiten Pflanze wurde das Gewinde und die Verschlüsse der Druckkammer mit einer kleinen Menge Silikon eingerieben. Dies entfernt Schmutz, verhindert eine erneute Verschmutzung der Scholander-Bombe und stellt den reibungslosen Ablauf sicher.

2.7.2 Blattflächenbestimmung

Noch während dem Versuch mit der Scholander-Bombe konnte die Blattfläche jeder Pflanze bestimmt werden. Dazu wurde ein Gerät verwendet, welches aus einer Kamera, einem Lichttisch, einem Monitor und Regeleinheiten bestand.

Zuerst wurden die Blätter vorsichtig mit einem Rasiermesser vom Spross getrennt, danach kalibrierte man die Kamera mit Hilfe einer Schablone und dem Monitor.

Nun konnten die ersten Blätter auf den Lichttisch gelegt werden. Diese durften dabei nicht übereinander liegen und nicht aus dem Erfassungsbereich der Kamera herausragen.

An Hand der Farbunterschiede erkannte das Gerät die aufgelegten Blätter und berechnete die Blattfläche. War nicht genügend Platz für alle Blätter einer Pflanze, gab es einen Knopf, der die nachfolgenden Blätter dazurechnete. Somit konnten alle Blätter erfasst und die Werte notiert werden.

2.7.3 ELISA-Test

Nach dem der Xylemsaft aufgetaut wurde, konnte nun der Saft auf die ABA-Konzentration getestet werden, dafür wurde der ELISA-Test herangezogen. [ELISA nach Asch (2000)]

Das Prinzip des ELISA-Test (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) beruht auf einer beschichteten Mikrotiterplatte, auf der ein Antikörper gebunden wird und mit einem Antigen eine Bindungsreaktion eingeht (Sauter 2002).

Im folgenden Abschnitt werden die einzelnen Schritte erläutert.

Am ersten Tag begann man die Mikrotiterplatte vorzubereiten. Dazu wurden 200 µl des ABA-4'-BSA-Konjugat in jedes Well der Platte pipettiert und bei 4 °C über Nacht, in einer Plastikbox, die mit feuchten Tücher ausgelegt und mit dem Deckel verschlossen wurde, inkubiert.

Am folgenden Tag wurde im ersten Schritt die Flüssigkeit entfernt, indem die Mikrotiterplatte auf trockene Tücher geschlagen wurde. So beförderte man die letzten Reste der Flüssigkeit heraus. Im Anschluss wurde die gesamte Platte mit dem Wasch-Puffer dreimal sorgfältig ausgewaschen. Beim letzten Waschschrift verweilte der Wasch-Puffer für 20 min bei 37 °C im Trockenschrank. Dabei wurde die Platte erneut in eine Plastikbox mit feuchten Tüchern gelegt und mit dem Deckel verschlossen. Nach Ablauf der Zeit holte man die Platte heraus und schlug sie zum dritten Mal auf Tüchern trocken.

Im darauf folgenden Schritt wurden 100 µl der Standardlösungen und die jeweils zu untersuchenden Proben aufgetragen. Da die Mengen des gesammelten Xylemsafts teilweise zu niedrig waren, um damit in ELISA arbeiten zu können, fügte man einige Exsudate der gleichen Behandlung zusammen oder verdünnte die Xylemsäfte.

Aus Behandlung 1 (Kontrolle, beidseitig bewässert) wurden die Exsudate der Pflanze 3 und 4 zusammen genommen, bei Behandlung 2 (Boden trocken) waren es Pflanze 6 und 9. Für Behandlung 3 (Boden + Geo-Humus bewässert) fügte man Pflanze Nummer 12 und 13 zusammen. Pflanze Nummer 26 und 29 wurden in Behandlung 6 (Boden + Geo-Humus bewässert/Boden trocken) gemeinsam ausgewertet, ebenso Pflanze 27, 28 und 30. Für die Behandlung 7 (Boden bewässert/Boden + Geo-Humus trocken) vermischte man Pflanze 31 und 34. In der letzten Behandlung (Boden trocken/Boden + Geo-Humus

bewässert) fügte man Pflanze 36 und 37 zusammen, ebenso 38, 39 und 40. Vier Behandlungen gaben keine Exsudation, somit auch keine Möglichkeit auf ABA zu testen.

Im Anschluss daran wurde die 8-Kanal-Pipette mit 100 µl des verdünnten 1. Antikörpers befüllt und in jedes Well pipettiert. Die Mikrotiterplatte wurde nun für etwa eine Minute kontinuierlich geschüttelt und dann für 3 h bei 4 °C inkubiert.

Nach diesen 3 h nahm man die Platte heraus, wusch sie dreimal mit dem Wasch-Puffer und schlug sie erneut trocken. Danach zog man erneut die 8-Kanal-Pipette zu Hilfe, pipettierte mit ihr 200 µl des 2. Antikörpers in jedes Well und ließ die Platte bei einer Temperatur von 37 °C genau 1 h im Trockenschrank stehen. Anschließend wurde die Platte fünfmal mit dem Wasch-Puffer gewaschen und trocken geschlagen.

Eine Tablette (20 mg) p-Nitrophenylphosphat wurde in einer Natriumhydrogencarbonatlösung aufgelöst und davon 200 µl mit der 8-Kanal-Pipette auf die gesamte Platte aufgetragen.

Im letzten Schritt wurde die Platte in das Wasserbad bei 37 °C gelegt; nach etwa 10 min konnte die erste Messung vorgenommen werden.

Je heller die einzelnen Wells waren, desto besser die späteren Ergebnisse. Ausgewertet wurde die Platte in einem dafür speziellen Gerät, einem Photometer. Die erhaltenen Daten wurden in eine Excel-Tabelle eingefügt.

The screenshot shows an Excel spreadsheet titled 'ABA-Standard'. The data is organized as follows:

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
6														
7	sample distribution			Extinction entry			Samples							
8														
9		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
10	A	B+	B+	B+	1	1	1	17	17	17	29	29	29	
11	B	B-	B-	B-	2	2	2	18	18	18	30	30	30	
12	C	4000	4000	4000	5	5	5	19	19	19	31	31	31	
13	D	2000	2000	2000	9	9	9	21	21	21	32	32	32	
14	E	1000	1000	1000	11	11	11	22	22	22	33	33	33	
15	F	500	500	500	12	12	12	23	23	23	34	34	34	
16	G	250	250	250	14	14	14	24	24	24	35	35	35	
17	H	125	125	125	15	15	15	25	25	25	36	36	36	
18														
19	Extinction measurements			Corrected readings			Bmax calculation							
20														

Abbildung 4 Screenshot des Kalkulationsblattes für ABA

Für die Auswertung in Excel wurde ein Kalkulationsblatt (Abbildung 4) herangezogen. In dieses wurden die erhaltenen Daten eingetragen. Werte die außerhalb des Messbereiches lagen, erschienen gelb hinterlegt, die ABA-Konzentration war entweder zu hoch oder zu niedrig.

Eine Regressionsanalyse ($y=ax+b$) wurde durchgeführt, dafür wurden der X-Koeffizient (a) und der Intercept (b) berechnet.

Zum Schluss wurde noch der Wert des Koeffizienten (r^2) berechnet, dieser sollte nicht unter 0,98 liegen. Damit das nicht geschieht, kann B+ (100 µl reines Wasser) mit Hilfe B- (100 µl ABA Stock solution) verändert werden, dazu subtrahierte man den B--Wert von dem B+-Wert.

2.8 Statistik

Die Auswertung der Daten fand mit dem Statistikprogramm SAS 9.2 (Deutsch) statt, dazu wurde im Editor mit Proc Mixed gearbeitet.

Ausgewertet wurden die erhaltenen Daten der Blattfläche und des Wasserpotentials bezogen auf die unterschiedlichen Behandlungen.

Dafür wurde ein Test auf Varianzhomogenität, sowie eine Test auf Normalverteilung der Residuen durchgeführt. Im Anschluss wurde eine 1-faktorielle Varianzanalyse durchgeführt.

Die Ergebnisse wurden in Form von Diagrammen und Tabellen dargestellt. Behandlungen mit demselben Buchstaben waren nicht signifikant voneinander verschieden, Behandlungen mit unterschiedlichen Buchstaben waren signifikant verschieden.

3. Ergebnisse

In den anschließenden Abschnitten werden die Ergebnisse anschaulich aufgeführt, dazu wurden Tabellen sowie Diagramme verwendet.

Bevor auf den folgenden Seiten die Ergebnisse aufgeführt werden, sollte darauf hingewiesen werden, dass die Ergebnisse nicht den Erwartungen entsprachen. Da in der Nacht vom 2. auf den 3. Tag des Versuchszeitraumes (8 Tage) ein technischer Defekt auftauchte, der die Temperatur im Gewächshaus stark ansteigen ließ, sind die Ergebnisse leider verfälscht bzw. stark verändert. Näheres soll in Abschnitt 4 „Diskussion“ erläutert werden.

3.1 Blattfläche

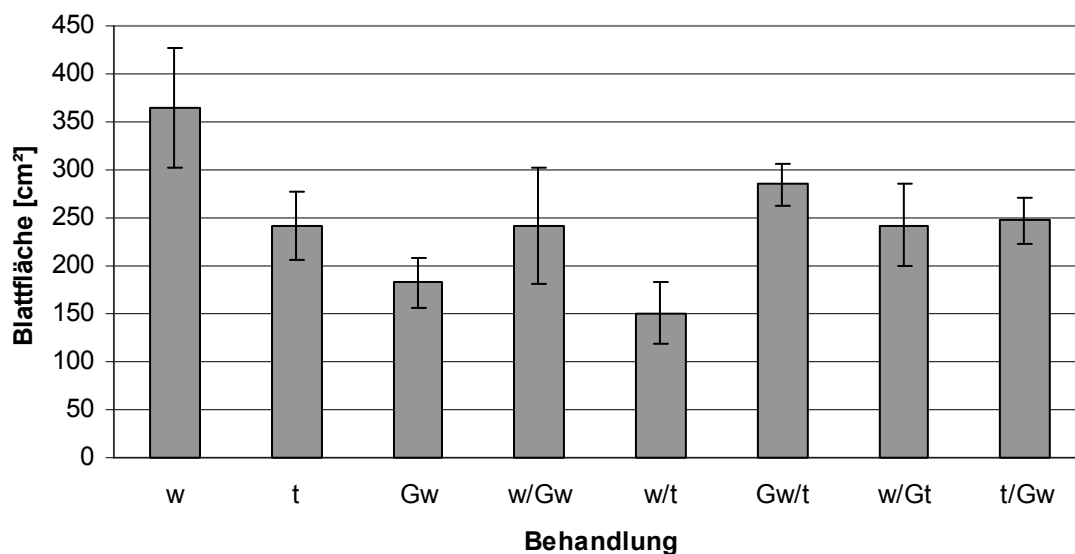


Abbildung 5 Blattfläche [cm²] aller Behandlungen, Mittelwerte mit Standardabweichung
Abkürzungen: w = bewässert, t = trocken, G = Geohumus, linke und rechte Röhre sind mit einem Schrägstrich unterteilt

Die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Blattflächen wurden für alle 8 Behandlungen bestimmt und in Abbildung 5 dargestellt.

Die Größenunterschiede in der Blattfläche sind bei manchen Behandlungen nur gering. Mit 360 cm² hatte die Behandlung 1 (Kontrolle; beidseitig bewässert) die größte Blattfläche. Hier ist anzumerken, dass Behandlung 1 am wenigsten geschädigte Blätter

hatte. Behandlung 6 hatte (Boden bewässert + Geohumus/Boden trocken) die zweitgrößte Blattfläche. Die Behandlungen 2 (beide Seiten trocken), Behandlung 4 (Boden bewässert/Boden trocken), Behandlung 7 (Boden bewässert/Boden trocken + Geohumus) und Behandlung 8 (Boden trocken/Boden bewässert + Geohumus) hatten mit ca. 240 cm² ähnliche Blattflächen. Den niedrigsten Wert lieferte Behandlung 5 (Boden bewässert/Boden trocken) mit nur 150 cm².

3.2 Transpiration der Röhren

In Abbildung 6 sind die acht Behandlungen mit der durchschnittlichen Transpiration der einzelnen Röhren bzw. der acht Behandlungen dargestellt.

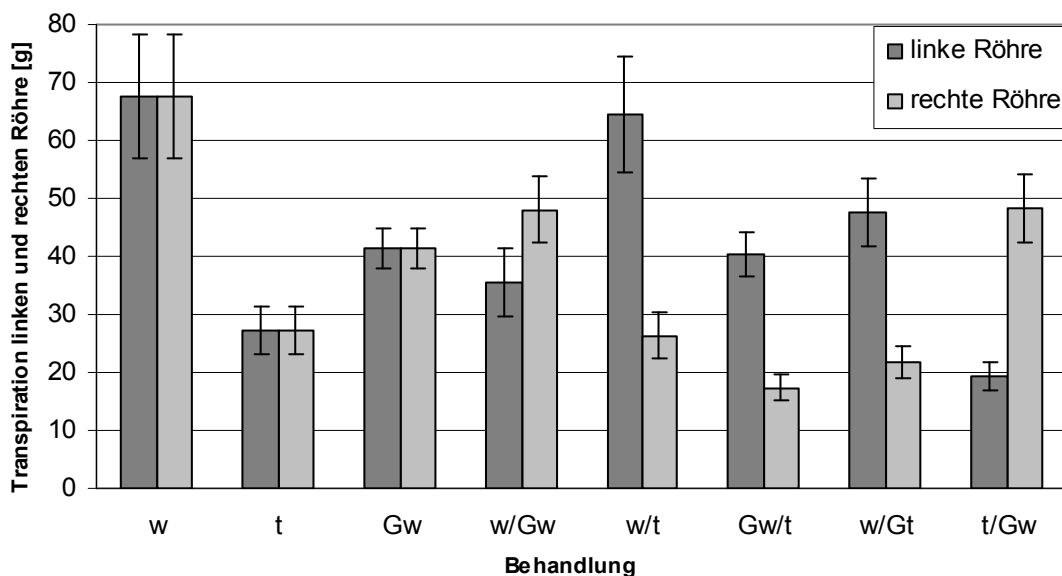


Abbildung 6 Transpiration der linken und rechten Röhre [g], Mittelwerte mit Standardabweichung

Abkürzung: w = bewässert, t = trocken, G = Geohumus, linke und rechte Röhre sind mit einem Schrägstrich unterteilt

Für die ersten drei Behandlungen war die Transpiration im Durchschnitt der acht Tage gleich, da hier beide „split-root“-Seiten die gleichen Bodenbedingungen hatten. Für Behandlung 4 bis 8 wies jede Röhre eine unterschiedliche Transpiration auf. Bei Behandlung 8 (Boden trocken/Boden bewässert + Geohumus) wies die linke „split-root“-Röhre den höchsten Wasserverbrauch auf, der nächst höhere Verlust gehörte zu

Behandlung 4 (Boden bewässert/Boden bewässert + Geohumus). Behandlung 5 (Boden bewässert/Boden trocken) bis 7 (Boden bewässert/Boden trocken + Geohumus) hatten jeweils auf der rechten Seite Trockenstress und somit für die linke Seite eine höheren Transpiration. Bei Behandlung 4 waren beide Seiten trocken gestresst, jedoch wies die rechte Seite (Seite enthält Geohumus) einen höheren Verbrauch auf. Ebenso bei Behandlung 8, hier hatte die rechte Seite untergemischten Geohumus und die linke Seite wurde trocken gestresst.

3.3 Wasserpotential

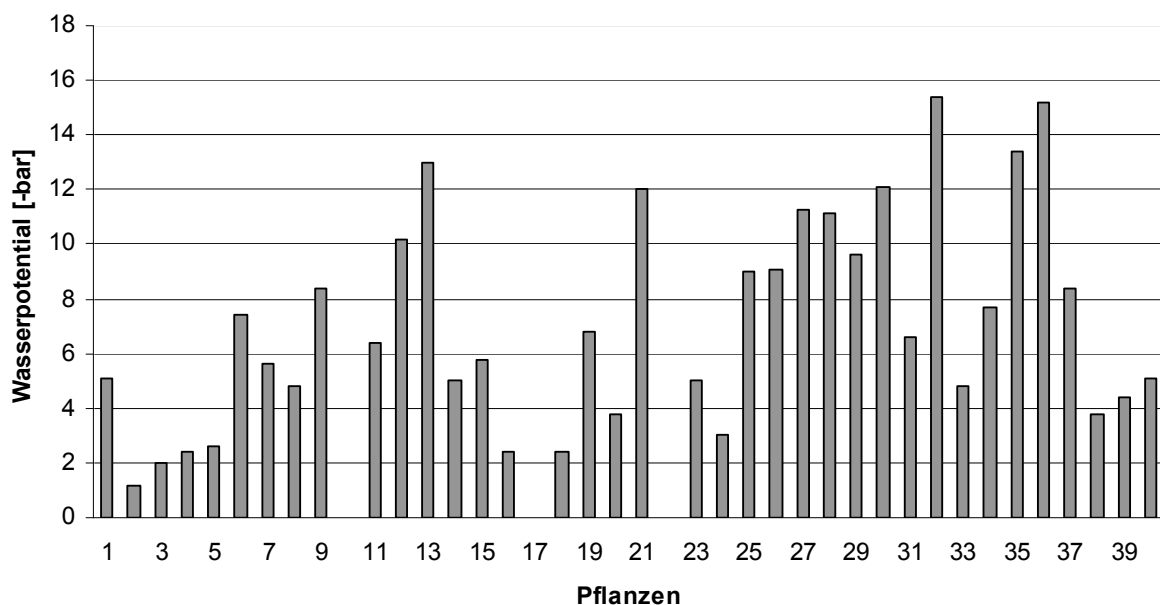


Abbildung 7 Wasserpotential aller 40 Versuchspflanzen

In der oben dargestellten Abbildung 7 sind die Pflanzen 1-40 (Behandlung 1-5 mit jeweils 5 Wiederholungen) dargestellt. Mit Hilfe dieser Grafik lässt sich erkennen, dass bei jeder Pflanze das Wasserpotential einen anderen Wert hat, unabhängig von der Behandlung. Den niedrigsten Wert lieferte Pflanzen Nummer 2 mit 1,2 bar. Bei Nummer 10, 17 und 22 erhielt man den Wert 0, da bei diesen Pflanzen kein Xylemsaft aus der Schnittfläche austrat. Pflanze 32 und 36 lieferten den höchsten Wert des Wasserpotentials. Die gesammelten Xylemsäfte waren in ihrer Menge sehr klein, kaum einer Pflanze konnte eine größere Menge an Xylemsaft entnommen werden. Die höchste gesammelte Menge lieferte Pflanze 2, aus der Behandlung 1 (beiden Seiten bewässert),

dieselbe Pflanze mit dem niedrigsten Wasserpotential. Einige der Pflanzen konnte kein Saft entnommen werde, da sich weder ein Wasserpotential einstellen lies, noch sammelte sich Xylemsaft an der Schnittfläche.

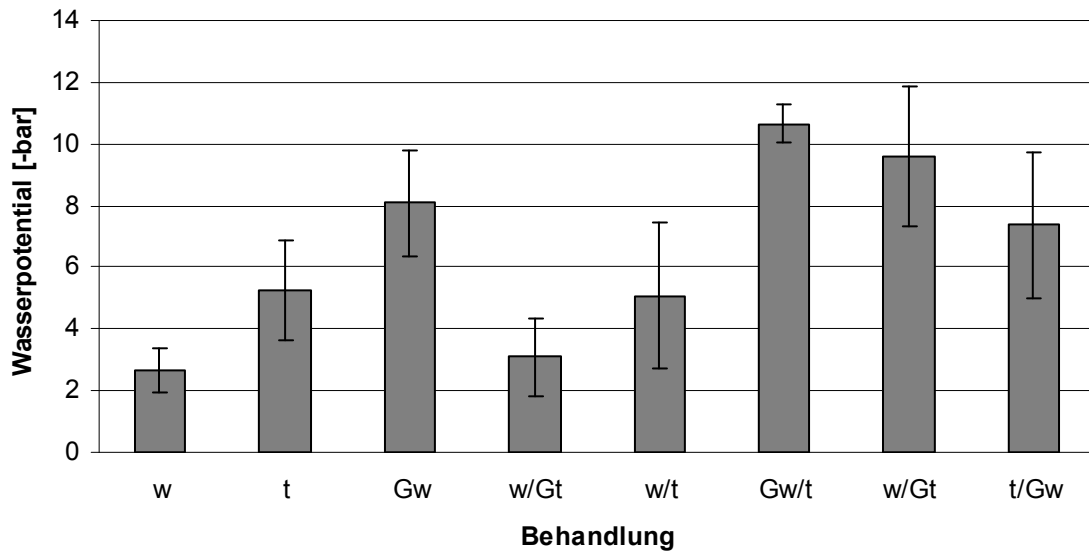


Abbildung 8 Wasserpotential der Behandlungen, Mittelwerte mit Standardabweichung
 Abkürzung: w = bewässert, t = trocken, G = Geohumus, linke und rechte Röhre sind mit einem Schrägstrick unterteilt

Um heraus zu finden ob die jeweiligen Behandlungen einen Einfluss auf die Wasserpotentiale hatten, wurde eine 1-faktorielle Varianzanalyse durchgeführt. Die aus den Wiederholungen berechneten Mittelwerte und die dazugehörigen Standardabweichungen sind in Abbildung 8 dargestellt. Das niedrigste Wasserpotential hatte Behandlung 1 (Kontrolle), den zweit niedrigsten Wert Behandlung 4. Beide Behandlungen hatten auf beiden Seiten gut bewässerten Boden. Den höchsten Wert wies Variante 6 auf, beiden Seiten wurden mit Geohumus behandelt. Die restlichen Behandlungen schwankten zwischen 5 und 8,5 bar.

In der folgenden Tabelle 2 sind die Ergebnisse in einer Kreuztabelle dargestellt.

Tabelle 2 Kreuztabelle der Wasserpotentiale der acht Behandlungen

	Gw/t	w/Gt	Gw	t/Gw	w/t	t	w/Gw	w
Gw/t (10,64)		ns	ns	ns	*	*	*	*
w/Gt (9,58)			ns	ns	ns	ns	*	*
Gw (8,08)				ns	ns	ns	*	*
t/Gw (7,38)					ns	ns	*	*
w/t (5,8)						ns	ns	ns
t (5,24)							ns	ns
w/Gw (3,08)								ns
w (2,66)								

* P < 0,05 signifikant, ns = nicht signifikant (P > 0,05)

Aus der Kreuztabelle abgeleitet Liniendarstellung ist in Abbildung 9 veranschaulicht.

Behandlung	Gw/t	w/Gt	Gw	t/Gw	w/t	t	w/Gw	w
	_____ a				_____ b			
		_____ c						

Abbildung 92 Liniendarstellung der Wasserpotentiale der acht Behandlungen

Abkürzung: w = bewässert, t = trocken, G = Geohumus, linke und rechte Röhre sind mit einem Schrägstrich unterteilt

Behandlungen, die den gleichen Buchstaben haben, sind nicht signifikant ($P > 0,05$) verschieden. Behandlung 6, 7, 3 und 8 sind nicht signifikant, ebenso Behandlung 7, 3, 8 und 5 und bei Behandlungen 5, 2, 4 und 1 gibt es ebenfalls keinen signifikanten Unterschied.

3.4 ABA

Die Auswertung der ABA-Konzentrationen ergab folgende Ergebnisse.

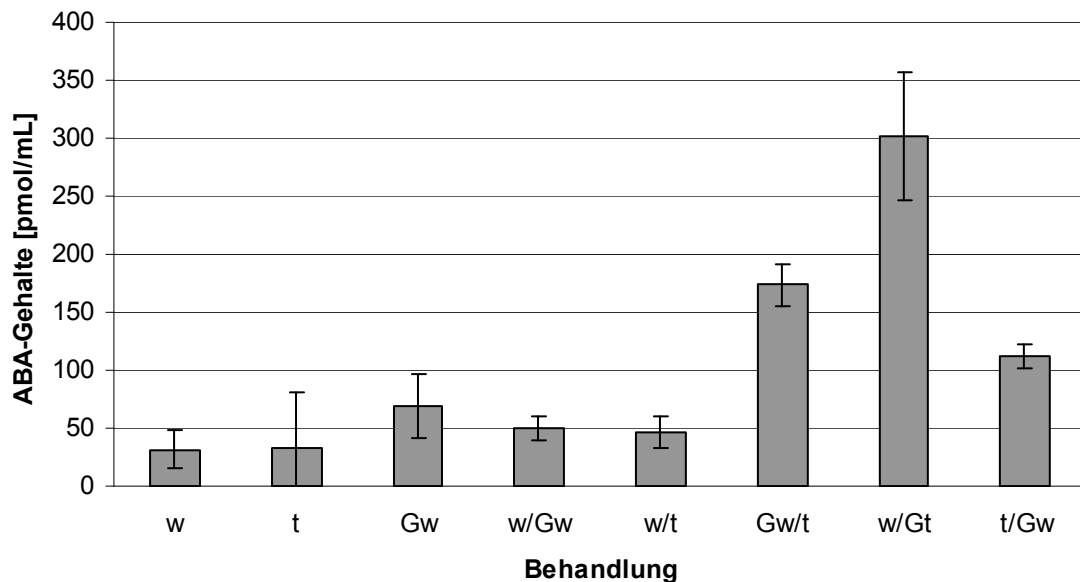


Abbildung 10 ABA-Gehalte [pmol/mL] der Behandlungen, Mittelwerte mit Standardabweichung

Abkürzung: w = bewässert, t = trocken, G = Geohumus, linke und rechte Röhre sind mit einem Schrägstrich unterteilt

Für die Auswertung der erhaltenen ELISA-Daten wurde eine 1-faktorielle Varianzanalyse durchgeführt. Die Mittelwerte mit den dazugehörigen Standardabweichungen der Daten sind in der obigen Abbildung 10 dargestellt.

Die Behandlung 7 (Boden bewässert/Boden trocken + Geohumus) hatte mit 302 pmol/mL den höchsten ABA-Gehalt, den nächst höheren Wert besaß Behandlung 6 (Boden bewässert + Geohumus/ Boden trocken) mit 173 pmol/mL. Die restlichen ABA-Gehalte lagen alle unter 120 pmol/mL. Da die Xylemmengen bei dem Versuch mit der Scholander-Bombe sehr niedrig waren, mussten einige Proben zusammen genommen und analysiert werden, wie bereits im Abschnitt 2.7.3 erläutert.

In der folgenden Tabelle 3 sind die signifikanten und nicht signifikanten Unterschiede der Behandlungen aufgeführt. Sie sind in einer Kreuztabelle dargestellt.

Tabelle 3 Kreuztabelle der ABA-Gehalte der acht Behandlungen

	w/ Gw	Gw /t	t/ Gw	Gw	w/ Gw	w/t	t	w
w/Gw (302)		*	*	*	*	*	*	*
Gw/t (173,5)			ns	*	*	*	*	*
t/Gw (112,25)				ns	ns	ns	ns	ns
Gw (68,25)					ns	ns	ns	ns
w/Gw (49,5)						ns	ns	ns
w/t (46,25)							ns	ns
t (33,33)								ns
w (31,5)								
* P < 0,05 signifikant, ns = nicht signifikant (P > 0,05)								

Die von der Kreuztabelle abgeleitete Liniendarstellung befindet sich in Abbildung 11.

Behandlung	w/Gw	Gw/t	Gw	Gw	w/Gw	w/t	t	w
		_____ a						_____ b

Abbildung 31 Liniendarstellung der ABA-Gehalte der acht Behandlungen

Behandlungen, die den gleichen Buchstaben besitzen, sind nicht signifikant ($P > 0,05$) verschieden. Behandlung 7 (Boden bewässert/Boden trocken + Geohumus) ist signifikant zu allen restlichen Behandlungen. Behandlung 6 (Boden bewässert + Geohumus /Boden trocken + Geohumus) ist nur zu Behandlung 8 (Boden trocken/Boden bewässert + Geohumus) nicht signifikant, zu den anderen sechs Behandlungen besteht ein signifikanter Unterschied.

4. Diskussion

Die erhaltenen Ergebnisse sollen nun auf den folgenden Seiten erläutert und diskutiert werden. In diesem Abschnitt wird besonders auf den Gewächshausdefekt eingegangen, der im Ergebnissteil (Abschnitt 3) bereits erwähnt wurde.

Dieser technische Defekt des Gewächshauses blockierte die Belüftung durch die Fenster über einen Zeitraum von mehr als 24 h, was zur Folge hatte, dass die Temperatur im Gewächshaus sehr stark anstieg. Während dieser Zeit betragen die höchsten Temperaturen am Tag über 50 °C und in der Nacht über 40 °C. Einige der Pflanzen waren an ihren Blättern stark vertrocknet und zerfielen bei einer Berührung. Somit waren die Pflanzen nicht immer in der Lage die erhofften Ergebnisse zu erzielen.

4.1 Blattfläche

In Abbildung 5 lies sich kaum ein Zusammenhang zwischen Blattfläche und Behandlung erkennen. Ähnliche Behandlungen wiesen keine entsprechenden Gemeinsamkeiten der Blattflächen auf. Vergleich man Behandlung 4 (Boden bewässert/Boden bewässert + Geohumus) und 7 (Boden bewässert/ Boden trocken + Geohumus) miteinander, konnte man erkennen dass diese Blattfläche gleich groß ist. Betrachtete man dazu noch die Behandlungsunterschiede (Seite mit Geohumus bei Behandlung 7 nicht bewässert), lies sich hervorheben, dass die trocken gestresste Seite in diesem Fall keinen negativen Einfluss auf die Größe der Blattfläche hatte. Man könnte davon ausgehen, dass der untergemischte Geohumus, das aufgenommene Wasser der Pflanzen zur Verfügung gestellt hatte. Es wäre aber auch denkbar, da die Wurzel auf einer Seite gut bewässerten Boden hatte, die Wurzel das komplett benötigte Wasser aus dieser Seite gewann, ohne Wasser aus der Seite mit Geohumus zu ziehen. Betrachtete man zu Behandlung 4 und 7 noch Behandlung 2, die auf beiden Seiten trocken gestresst war, aber trotzdem eine ähnlich große Blattfläche aufwies, so konnte wiederum keine Gemeinsamkeit festgestellt werden. Die Behandlung besaß weder Geohumus, noch war sie ausreichend mit Wasser versorgt.

Behandlung 6 und 8, die sowohl eine Seite mit Geohumus bewässert, als eine Seite trockenen Boden hatten, sind in ihrer Blattfläche ähnlich. Jedoch ist auch Verfahren 2, 4 und 7 ähnlich zu Behandlung 8 und diese hatten ganz unterschiedliche Komponenten. Behandlung 1 (beide Seiten Boden bewässert) wies die größte Blattfläche auf, was daran liegen könnte, dass an dieser Behandlung der geringsten Schaden nachgewiesen werden konnte.

Bei den Unterschieden der Größe der Blattfläche spielte auch der Defekt des Gewächshauses eine Rolle. Am 3. Tag der Messung des Wasserverbrauchs war die Temperatur bereits am Morgen auf über 40 °C gestiegen, bis zum Mittag betrug die Temperatur bereits über 50 °C, mit einer relativen Luftfeuchte von unter 20 %.

Damit die Proteine nicht denaturieren, können Pflanzen die Temperatur ihrer Blätter mit Hilfe der Transpiration senken. Dazu benötigt die Wurzel jedoch ausreichend Wasser, da aber einige der Pflanzen auf nur 40 % ihrer maximalen WHK aufgegosen wurden, stand ihnen nicht genügend Wasser zur Verfügung. Die Transpiration, welche die Kühlung der Blätter bewirkt, war verringert, da die Pflanze unter Wassermangel stand (Schulze *et al.*, 2002).

Auch das äußere Erscheinungsbild der Blätter war minderwertig, viele Blätter hatten starke Welkeerscheinungen (Abbildung 12). Sie hatten sich eingerollt, waren vertrocknet oder fielen bei der ersten Berührung ab. Dies



Abbildung 12 Maispflanze mit Schaden, vertrocknete Blätter

machte es schwierig, die Blattfläche zu bestimmen, auch konnten einige Blätter nicht zur Größenbestimmung herangezogen werden.

4.2 Transpiration

Wie in Tabelle 6 dargestellt, war die Transpiration der Behandlungen über den Versuchszeitraum (8 Tage) sehr unterschiedlich.

Um einen Rückschluss auf die Transpirationsrate der Behandlungen zu ziehen, musste zunächst noch einmal die Bodenzusammensetzung betrachtet werden.

Für Behandlung 1-3 waren die gleichen Bodenbedingungen gegeben, da bei jeder Behandlung die jeweiligen „split-root“-Seiten die gleichen Zusammensetzungen hatten. Variante 2 (auf beiden Seiten trocken gestresst) im Vergleich mit Variante 1 bzw. der Kontrolle (beide Seiten bewässert) hatte einen niedrigeren Verbrauch, was auf den Trockenstress der Pflanze zurück zu führen war. Durch eine hohe Transpiration der Maispflanzen hatte man eine Steigerung des Wasserverbrauchs erwartet, da bei steigender Transpiration der Wasserbedarf ebenfalls ansteigt. Hinzu kommt noch die hohe Temperatur (ca. 50 °C), die eine erhöhte Transpiration mit sich bringt (Ehlers, 1996), die hier jedoch nicht möglich war, da diese Variante trocken gestresst wurde.

Variante 3 (Boden bewässert + Geohumus) hatte einen höheren Verlust wie Variante 2 (beide Seiten trocken). Da man davon ausgeht, dass der Bodenhilfsstoff Wasser absorbiert und gespeichert hatte (Gattinger, 2009), kann bei diesem Vergleich die erhöhte Transpiration mit dem Geohumus in Verbindung gebracht werden. Jedoch hatte man erwartet, dass bei dieser Behandlung die Transpiration am höchsten gewesen wäre, da hier Geohumus zur Verfügung stand.

An Behandlung 4 (Boden bewässert/Boden bewässert + Geohumus) war ein Unterschied zwischen den bewässerten Seiten festzustellen. Die Transpiration der rechten Seite ist um mehr als 10 g erhöht, da dies die Seite mit untergemischtem Geohumus war, kann auch hier ein Rückschluss auf das absorbierte Wasser durch den Bodenhilfsstoff gemacht werden.

Für Behandlung 5 (Boden bewässert/Boden trocken), 6 (Boden bewässert + Geohumus /Boden trocken) und Behandlung 7 (Boden bewässert/Boden trocken + Geohumus) lies sich erkennen, dass jeweils die linke Röhre die höchste Transpiration hatte. Betrachtet man dazu nun die Bodenbedingungen so lies sich feststellen, dass alle linken Röhren bewässert wurden, es aber einen Unterschied gab in der Verteilung des Bodenhilfsstoffes. Variante 5 (Boden bewässert/Boden trocken) verhielt sich wie erwartet. Behandlung 6, die mit der linken Seite mit Geohumus behandelt wurde, hatte

auch auf dieser Seite die höhere Transpiration. Behandlung 7 im Vergleich wurde auf der rechten Seite mit Geohumus behandelt, hatte jedoch trotzdem die höhere Transpiration auf der linken Seite. Die Maispflanzen deckte bei dieser Variante ihren Wasserbedarf trotz Bodenhilfsstoff über die linke bewässerte Seite. Die Behandlung 8 verhielt sich gegensätzlich. Die linke Seite wurde nicht bewässert, die rechte Seite hingegen schon, zusätzlich enthielt die rechte Röhre noch Geohumus. Diese Behandlung verhielt sich wie erwartet, der Wasserbedarf wurde hier über die bewässerte mit Geohumus behandelte Seite gedeckt.

Behandlung 6 und 8 hatten die gleichen Bodenbedingungen (beide mit Geohumus, jedoch seitenverkehrt). Ihre Transpiration hatte jeweils einen höheren Wert auf der Seite mit Geohumus, was auf einen Zusammenhang hindeutete.

Betrachtet man nun erneut die Abbildung 6 aus den Ergebnissen, lässt sich feststellen, dass nur Behandlung 7 (Boden bewässert/Boden trocken + Geohumus) sich nicht wie erwartet verhielt. Alle restlichen Behandlungen hingegen hatten ihre höhere Transpiration auf der bewässerten oder mit Geohumus behandelten Seite. Damit könnte man einen Rückschluss auf den Bodenhilfsstoff ziehen. Bei 4 von 5 Varianten mit Geohumus verhalf die Wasserabsorption der Pflanze die Trockenheit zu überstehen und ihren Wasserbedarf über die mit Geohumus behandelte Seite zu decken.

Jedoch ist der Defekt des Gewächshauses hier mit zu betrachten.

Durch die Welkeerscheinungen (Einrollen) einiger Blätter, konnten die Pflanze keine Transpiration mehr betreiben bzw. nur noch eingeschränkt betreiben.

Da sich die Fenster im Gewächshaus nicht mehr selbständig in einem geregelten Ablauf öffneten und schlossen, konnte auch keine Frischluftzufuhr stattfinden. Allerdings benötigt die Pflanze für die Transpiration nicht nur ausreichend Wasser, es muss auch ein Austausch des Wasserdampfes von den Blättern mit der Umgebungsluft stattfinden können (Ehlers, 1996).

Ein weiteres Problem stellt die Energieversorgung dar. Geht das Wasser von der flüssigen in die gasförmige Phase über, dies geschieht im Blatt, benötigt dieser Vorgang Energie. Energie kann in der Pflanze nur produziert werden, wenn ein Gasaustausch in der Stomata möglich ist (Campbell *et al.*, 2006). Dabei geht bei offener Stomata Sauerstoff (O_2) und Wasserdampf heraus und Kohlenstoffdioxid (CO_2) hinein. Kohlenstoffdioxid wird für die Photosynthese benötigt. Die Pflanze kann somit entweder Wasser verlieren oder sie kann weniger, bis kein Kohlenstoffdioxid aufnehmen und entsprechend keine Photosynthese betreiben.

In diesem Versuch senkten einige der Pflanzen die Aktivität der Stomata und setzten somit ihre Transpiration herab.

4.3 Wasserpotential

Die Wasserpotentiale, welche in Abbildung 7 und 8 dargestellt sind, haben einen starken unterschiedlichen Wert. Für die Ergebnisse wurden hier andere Werte erwartet. Erhofft wurden Wasserpotentiale, die bei gleichem Verfahren, ähnliche Wasserpotentiale erzielten.

Auch hier kann mit dem Defekt des Gewächshauses argumentiert werden. Bei der Entdeckung des Defektes war es kaum möglich die „split-root“-Systeme zu berühren, da die Röhren sehr heiß waren. Somit hatte sich nicht nur das Gewächshaus aufgeheizt, sondern auch die Röhren bzw. der Boden hatten die Wärme aufgenommen. Bei der Entnahme des Wasserpotentials, wurden die Pflanzen komplett aus den Röhren gelöst, dabei konnte keine Schädigung der Wurzel optisch erkannt werden. Allerdings ist bekannt, dass hohe Temperaturen den Wurzeln schaden. Nach Stahr *et al.*, (2008), können gerade sehr hohe Temperaturen (über 45 °C) im Boden den Hitzetod der Wurzel herbeiführen. Hätte man zu diesem Zeitpunkt die Bodentemperatur gemessen, wäre es möglich, eine Schädigung der Wurzeln in Erwägung zu ziehen und damit die Wasserpotentiale zu erklären.

Mit Hilfe der starken Schädigung der Blätter könnte man die verschiedenen Wasserpotentiale erläutern. Da durch die Welke und das Einrollen der Blätter die Transpiration vermindert war, gab es einen verringerten Transpirationssog in den Xylemgefäßen (Weiler und Nover, 2008). Nach Waring (1970) hört durch das Abschneiden des Sprosses die Zugspannung auf, da die Wasserfäden innerhalb der Pflanze getrennt werden. Mit unterschiedlicher Stärke des Transpirationssogs, ergibt sich eine unterschiedliche Ausprägung der Wassermenge, welche das Xylem liefert. Hätte man somit einen „normalen“ Sog von den Wurzeln zu den Blättern, könnte man einheitliche Wasserpotentiale nachweisen. Hier jedoch ist die gesammelte Xylemmenge sehr unterschiedlich, jedoch bei allen Behandlungen sehr klein (siehe Abschnitt 3.3 Wasserpotential).

Betrachtet man die Mittelwertvergleiche, so sind Behandlung 1 (beide Seiten bewässert) und Behandlung 4 (Boden bewässert/Boden bewässert + Geohumus), die Behandlungen

mit den niedrigsten Wasserpotentialen. Diese beiden Behandlungen benötigten beim Druckaufbau den geringsten Druck, bis sich der erste Xylemsaft an der Schnittfläche sammelte. An dieser Stelle sei erwähnt, dass die fünf Wiederholungen der Behandlung 1 (Kontrolle), die am wenigsten geschädigten Pflanzen hatte. Mit diesem Wissen konnte davon ausgegangen werden, dass diese Wasserpotentiale nicht abgewichen sind. erinnert man sich an die Blattfläche zurück, auch hier war Behandlung 1 die Variante mit der größten Blattfläche

4.4 ABA-Gehalte

ABA ist ein Hormon, das bei Trockenstress in den Wurzeln gebildet und über den Spross zu den Blättern transportiert wird (Jeschke *et al.*, 1997). Anhand der Ergebnisgrafik (Abbildung 10) kann man erkennen, dass ABA sehr unterschiedlich hoch in den Behandlungen konzentriert war. Mit dem Wissen, dass bei Wassermangel ABA einen Verschluss der Stomata auslöst (Weiler und Nover, 2008), kann der Gehalt der Abscisinsäure erläutert werden.

Behandlung 1, die Kontrolle, hatte den niedrigsten ABA-Gehalt, was ein Hinweis auf den bewässerten Boden war. Diese Pflanzen wurden ausreichend mit Wasser versorgt, es musste kein Stresshormon gebildet werden und der Wasserverbrauch und damit die Transpiration konnten normal ablaufen. Bei Behandlung 2 hätte man einen höheren ABA-Gehalt erwartet, da diese Pflanzen auf beiden Seiten trocken gestresst waren. Denn je höher die Störungen im Wasserhaushalt, desto mehr ABA wird gebildet (Weiler und Nover, 2008). Für Behandlung 3 gilt dasselbe, wie für Behandlung 1, auch hier wurde kein Trockenstress induziert. Im Gegenteil, beide Seiten enthielten zusätzlich Geohumus, was die Wasserversorgung der Pflanze unterstützte. Eine ABA-Synthese war bei diesen Behandlungen nicht nötig. Behandlung 5 und 6 hatten jeweils einen niedrigen ABA-Gehalt, was wiederum auf die wenig trocken gestressten Pflanzen (nur eine der beiden Seiten litt unter Trockenstress) zurück zu führen war. Behandlung 7 hatte den größten ABA-Gehalt. Bei dieser Behandlung wurden eine Seiten trocken gestresst. Trotz Geohumus konnte den Pflanzen nicht genügend Wasser zur Verfügung gestellt werden, als Folge wurde ABA gebildet. Behandlung 7 hatte zu allen anderen Behandlungen

einen signifikanten Unterschied. Behandlung 8 wurde auf einer Seite trocken gestresst, auch hier war ein höherer ABA-Gehalt nachzuweisen.

5. Zusammenfassung

In diesem Versuch ging es darum, die Auswirkung von Bodenhilfsstoffen auf die Signale zwischen Wurzel und Spross bei Trockenheit herauszufinden. Dazu wurde ein System gebaut, das ermöglichte, die Wurzeln von *Zea mays* zu trennen und in unterschiedlichen Bodenverhältnissen wachsen zu lassen. Die zu untersuchenden Pflanzen wurden dafür in Sand angezogen und in einem Zeitraum von 2 Wochen wachsen gelassen. Im Anschluss wurden die Pflanzen in das „split-root“-System verpflanzt. Dort hatten sie für einen gewissen Zeitraum die Möglichkeit sich an die neuen Bedingungen anzupassen.

Um die Auswirkung von Bodenhilfsstoffen aufzuzeigen, wurde einigen Seiten des Systems ein solcher Hilfsstoff untergemischt. Dabei wurden einige Seiten des Systems bewässert und bei einigen Seiten wurde die Wurzel einem Trockenstress ausgesetzt. Der Versuch wurde über einen Zeitraum von 8 Tagen im Gewächshaus durchgeführt. In diesen 8 Tagen wurden die Pflanzen gemäß ihrer Behandlung bewässert bzw. trocken gestresst. Nach Ablauf der 8 Tage wurde der Pflanzenstil durchgeschnitten. Mit Hilfe der Scholander-Bombe wurde die „restliche“ Pflanze einem Druck ausgesetzt, mit dem es möglich war, Xylemsaft an der Schnittfläche austreten zu lassen. Dieser Saft wurde gesammelt und in einem späteren Laborversuch ausgewertet. Dafür verwendete man den ELISA-Test. Dieser Test ermöglichte es, den Xylemsaft auf die ABA-Konzentration zu testen.

Die abgeschnittenen Blätter wurden auf ihre Blattfläche gemessen. Dafür wurde jedes Blatt vom Stiel getrennt und mit einem speziellen Apparat ausgemessen, die Ergebnisse wurden dabei automatisch zusammen gerechnet und später ausgewertet.

Zusammengefasst hätte es bei diesem Versuch sicher einige interessante Ergebnisse gegeben, jedoch durch den Defekt des Gewächshauses in der Nacht vom 2. auf den 3. Versuchstag, sind die Ergebnisse teilweise anders ausgefallen als ursprünglich erwartet. Die erhöhte Temperatur hatte Auswirkungen auf den Wasserverbrauch und damit auf die Transpiration der Blätter. Auch die Beschädigung der Pflanze bzw. der Blätter veränderte die Transpiration. Eine Auswirkung des Geohumus konnte bei Behandlung 4, 6 und 8 nachgewiesen werden. Behandlung 7 verhielt sich entgegen der Erwartungen.

Diese Variante bezog ihr Wasser aus der „split-root“-Seite die keinen Geohumus enthielt.

6. Verbesserungen

Für die zukünftigen Versuche in diesem Bereich empfiehlt es sich, ein intaktes Gewächshaus zu verwenden, um sicher zustellen, dass die Ergebnisse besser auf die Behandlungen zurück zu führen sind.

Auch die Aufteilung der Behandlungen sollte besser gestaltet werden, da Behandlung 6 und 8 die gleichen Komponenten aufweisen. Für diesen Versuch war es ein Vorteil, da somit der Zusammenhang zwischen Geohumus und der Transpiration belegt wurde.

Auch wäre es in Zukunft von Vorteil, wenn die Pflanzen eine größere Wuchshöhe für den Versuch mit der Scholander-Bombe hätten. Dies würde den Versuch einfacher gestalten, da die verwendete Scholander-Bombe nicht mit leeren Töpfen aufgefüllt werden müsste.

An der Schnittstelle würde ein größerer Durchschnitt des Sprosses von Vorteil sein, da somit der Austritt des Xylemsaftes leichter erkennbar wäre und eine noch genauere Messung des Wasserpotentials ermöglichen würde.

Ebenso könnte der Versuch in normalen Pflanzgefäßen stattfinden, was den Umgang mit den Pflanzen, das Eintopfen und das Herausnehmen der Pflanzen erleichtern würde.

Literatur

Alef K. (1991) Methodenhandbuch Bodenmikrobiologie: Aktivität, Biomasse, Differenzierung. 1. Auflage. Ecomed Verlagsgesellschaft Landsber/Lech

Asch F. (2000) Laboratory Manual on Determination of Abscisic Acid by indirect Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)

Asch F, Bahrn A, Jensen C. (2009) Root-shoot communication of field-grown maize drought-stresses at different rates as modified by atmospheric conditions. Journal Plant Nutrition and Soil Science. **172**. 678-687

Bahrn A, Jensen C, Asch F, Mogensen V. (2001) Drought-induced changes in xylem pH, ionic composition, and ABA concentration act as early signals in field-grown maize (*Zea mays* L.). Journal of Experimental Botany. **53**. 251-263 (2002)

Campbell N, Reece J, Markl J. (2006) Biologie. 6. Auflage. Pearson Studium

Diepenbrock W, Ellmer F, Léon J. (2005) Ackerbau, Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung. 1. Auflage. Eugen Ulmer Verlag Stuttgart

Ehlers W. (1996) Wasser in Boden und Pflanze – Dynamik des Wasserhaushaltes als Grundlage von Pflanzenwachstum und Ertrag. 1. Auflage. Eugen Ulmer Verlag Stuttgart

Gattinger A. (2009) Was hat Geohumus mit Umweltschutz zu tun? Bodenökologie & Projektmanager, Geohumus International GmbH

Jeschke W, Holobradá M, Hartung W. (1997) Growth of *Zea mays* L. plants with their seminal roots only. Effects on plant development, xylem transport, mineral nutrition and the flow and distribution of abscisic acid (ABA) as a possible shoot to root signal. Journal of Experimental Botany. **48**. 1229-1239

Lieberi R, Reisdorff C, Franke W. (2007) Nutzpflanzenkunde. 7. Auflage. Georg Thieme Verlag Stuttgart New York

Maslak J, Janowiak F, Asch F. (2010) Root to shoot signalling in maize under partial root chilling and different air humidity. London. Proceedings SEB. 310-311

Hou N, You J, Pang J, Xu M, Chen G, Yang Z. (2009) The accumulation and transport of abscisic acid in soybean (*Glycine max L.*) under aluminum stress. *Plant Soil.* 127-137

Sauter A. (2002) Die Bedeutung von ABA-Konjugaten als hormonelles Langstreckensignal in Pflanzen. Dissertation an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Schubert S. (2006) Pflanzenernährung. 1. Auflage. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart

Schulze E, Beck E, Müller-Hohenstein K. (2002) Pflanzenökologie. Spektrum Akad. Verlag Heidelberg

Stahr K, Kandeler E, Herrmann L, Streck T. (2008) Bodenkunde und Standortlehre. 1. Auflage. Eugen Ulmer Verlag Stuttgart

Stedle E. (2000) Water uptake by roots: effects of water deficit. *Journal of Experimental Botany.* **51.** 1531-1542

Waring R. (1970) Die Messung des Wasserpotentials mit der Scholander-Methode und ihre Bedeutung für die Forstwissenschaft. Gastvorlesung an der Forstlichen Forschungsanstalt München

Walter H, Breckle S. (1999) Vegetation und Klimazonen. 7. Auflage. Eugen Ulmer Verlag Stuttgart

Wei C, Tyree M, Bennink J. (1999). The transmission of gas pressure to xylem fluid pressure when plants are inside a pressure bomb. *Journal of Experimental botany* **51.** 309-316

Weiler E, Nover L. (2008) Allgemeine und molekulare Botanik. 1. Auflage. Georg Thieme Verlag Stuttgart

Zscheischler J, Estler M, Staudacher W, Groß F, Burgstaller G, Rechmann T. (1990) Handbuch Mais. 4. Auflage. DLG-Verlags-GmbH Frankfurt am Main

Internetquelle

www.geohumus.com. Geohumus International GmbH. Frankfurt

Anhang

Die Zusammensetzung und Herstellung der Lösungen, die für den ELISA-Test verwendet wurden, sind im folgenden Abschnitt aufgelistet. Die Mengen und Bearbeitungsschritte wurden Asch (2000) entnommen.

ABA-4'-BSA-Konjugat

Für die Herstellung des ABA-4'-BSA-Konjugat wurden unter anderem Abscisic acid-4-tyrosolhydrazon und p-amminohippuracid-BSA (PAR) benötigt. Die Zusammensetzung und Schritte für die Herstellung werden hier nicht erläutert.

Das gefriergetrocknete ABA-4'-BSA-Konjugat (7 mg) wurde in 1 ml Natriumhydrogencarbonatlösung (pH 9,6) gelöst und bei -20 °C in 60 µl Aliquots gelagert.

Für die Verwendung in ELISA wurden 60 µl der Stock solution in 120 ml Natriumhydrogencarbonatlösung und in 20 ml Aliquots gelagert.

Puffer 1

6,05 g Tris[hydroxymethyl]aminomethan (TRIZMA), Magnesiumchloridhexahydrat (0,2 g) und Natriumchlorid (88 g) wurden unter ständigem rühren in Wasser gelöst und mit Salzsäure (37%ige HCl) ein pH-Wert von 7,8 eingestellt. Die Lösung wurde anschließend in zehn 100 ml Gefäße aufgeteilt und bei -20 °C eingefroren. Für die Verwendung muss der Puffer 1 aufgetaut werden und mit Wasser auf eine Menge von einem Liter aufgefüllt werden.

Puffer 2 (Wasch-Puffer)

Zu Puffer 1 wurde 1 g BSA und 0,5 g des Tween 20 gegeben und mit H₂O auf einen Liter aufgefüllt, das Ganze kann bei -20 °C gelagert werden. Bevor es verwendet werden kann, muss es auf Zimmertemperatur aufgewärmt werden.

Phosphat-Puffer (PBS)

Benötigt für die Herstellung des Antikörper-Puffer für MAC 252.

1,7249 g Natriumhydrogenphosphat (NaH_2PO_4) wurde mit Wasser auf ca. 200 ml aufgefüllt. Um den pH 6 einzustellen, wurden ca. 30 ml Na_2HPO_4 hinzugefügt und auf 250 ml aufgefüllt. Nachdem der pH-Wert eingestellt wurde, kamen noch 1,461 g Natriumchlorid (NaCl) hinzu. Das Ganze wurde bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ gelagert und kann bis zu sechs Monate aufbewahrt werden.

Antikörper-Puffer

Für die Herstellung des Antikörper-Puffer wurden 100 ml des Phosphat-Puffers (PBS) mit 0,4 g Polyvinylporrolidon (PVP) 40 und 0,5 g BSA vermischt und bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ gelagert.

Stock solution MAC 252

987,5 μl des Antikörper-Puffers mit 12,5 μl des MAC 252 Antikörper in ein 1,5 ml großes Eppendorf-Gefäß pipettieren und auch bei -20°C lagern. Mit dieser angegebenen Menge konnte man zwanzig 1,5 ml Eppendorf-Gefäße befüllen. In ELISA wurden jedoch verdünnte 1. Antikörper benötigt. Für die Verdünnung wurden 1 ml der Stock solution mit 100 ml des Antikörper-Puffer aufgefüllt und wieder bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ gelagert.