



UNIVERSITÄT HOHENHEIM

Fakultät Agrarwissenschaften

Institut für Tropische Agrarwissenschaften (Hans-Ruthenberg-Institut)

Fachgebiet Wasserstress-Management bei Kulturpflanzen in den Tropen und
Subtropen (490g)

Bewertung von Lichtstresseffekten auf Blattgewebe unterschiedlich lichtadaptierter Pflanzen

Bachelorarbeit

Sonja Wild

Nachwachsende Rohstoffe und Bioenergie

Prüfer: Prof. Dr. Folkard Asch

Eingereicht: September 2021

Zusammenfassung

Das Wachstum und die Entwicklung von Pflanzen werden durch Licht beeinflusst. In der Photosynthese dient Licht als Energielieferant für den Aufbau von Biomasse. Licht ist demnach ein lebensnotwendiger Umweltfaktor von Pflanzen. Bei zu hoher Intensität oder in Kombination mit anderen Stressoren, kann Strahlung jedoch auch Stress auslösen. Um vor dieser potenziell schädigenden Wirkung von Licht geschützt zu sein und dennoch genug Licht einzufangen, um Photosynthese betreiben zu können, müssen sich Pflanzen den Strahlungsbedingungen ihres Standorts anpassen. Da sich die Lebensräume der Erde in ihren Strahlungsbedingungen unterscheiden, konnten sich Pflanzen entwickeln, die an schattige oder an sonnige Standorte angepasst sind. Man nennt sie auch Schatten- und Sonnenpflanzen. Die Einteilung in Sonnen- und Schattenpflanzen gibt die Standortpräferenz der Arten vor und bestimmt das Ausmaß ihrer Anpassungsmöglichkeiten.

Um diese Verschiedenheit von Pflanzen hinsichtlich ihrer Lichtadaption experimentell zu untersuchen, wurden in diesem Versuch unterschiedlich lichtadaptierte Pflanzen Lichtstress ausgesetzt. Dafür wurde zunächst die bisherige Versuchsdurchführung des Fachgebiets 490g verbessert.

Es konnte die Bedeutung des Waschens der Proben nach dem Ausstanzen der Blattproben nachgewiesen werden. Von den Methoden Kochen, Mikrowelle und flüssiger Stickstoff, eignet sich ergebnisbetrachtet jede zur Erreichung des Maximalwerts. In den Versuchen konnte der Einfluss des Faktors Zeit nach der Behandlung der Blattproben auf das Ergebnis nachgewiesen werden. Bei der Anwendung von flüssigem Stickstoff ist die Zeit, bis der Maximalwert erreicht wird, länger als bei Kochen oder Mikrowelle. Aus diesem Aspekt und durch Unterschiede in ihrer Praktikabilität erwies sich die Methode Kochen als besonders geschickt. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Lichtbehandlung in den untersuchten Blattscheiben Lichtstress ausgelöst hat. Der Grad der Schädigung stieg mit zunehmender Dauer der Lichtbehandlung. Um messbare Schäden zu erzielen, sollte die Lichtbehandlung mindestens auf zwei Stunden angesetzt werden, bei Möglichkeit länger.

Die Auswahl der unterschiedlich lichtadaptierten Pflanzenarten bestand aus Kaffee, Sorghum, Mais sowie Süßkartoffeln, von denen eine Hälfte in Licht und die andere Hälfte im Schatten heranwuchsen. Aufgrund von Schwierigkeiten bei den Messungen mit den Süßkartoffelproben wurden die Versuche mit den Süßkartoffeln nicht abgeschlossen. Bei Vergleich der anderen drei Pflanzenarten wurde gezeigt, dass die Lichtbehandlung in den Blattproben der Schattenpflanze Kaffee eine höhere Schädigung auslöste als in den Lichtpflanzen Sorghum und Mais.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	II
Inhaltsverzeichnis.....	III
Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	V
Abkürzungsverzeichnis.....	VI
1 Einleitung.....	1
2 Stand der Forschung.....	3
2.1 Photoinhibition und photooxidativer Stress	3
2.2 Anpassung von Pflanzen an unterschiedliche Strahlungsverhältnisse	4
2.3 Die verwendeten Pflanzen.....	6
2.3.1 Mais.....	6
2.3.2 Sorghum	6
2.3.3 Kaffee	7
2.3.4 Süßkartoffel.....	7
3 Material und Methoden	9
3.1 Pflanzenmaterial.....	9
3.2 Vorbereitung der Blattscheiben	10
3.3 Messung der elektrischen Leitfähigkeit.....	10
3.4 Nullwert	10
3.5 Maximalwert.....	11
3.5.1 Mikrowelle	11
3.5.2 Kochen.....	12
3.5.3 Flüssiger Stickstoff	12
3.6 Lichtstress	13
3.6.1 Unterschiedliche Anzahl an Blattscheiben	13
3.6.2 Abhängigkeit des Lichtstress von der Beleuchtungsdauer	13
3.7 Die optimierte Versuchsdurchführung.....	14
3.8 Bestimmung der Trockenmasse	14
3.9 Auswertung der Ergebnisse	14
4 Ergebnisse.....	15
4.1 Vorbereitung der Blattscheiben	15
4.2. Nullwert	15
4.2 Maximalwert.....	17

4.2.1 Mikrowelle	17
4.3.2 Kochen.....	18
4.3.3 Flüssiger Stickstoff	20
4.3.4 Vergleich der Behandlungen.....	24
4.4 Trockenmasse	25
4.4 Lichtstress	26
4.5 Die Ergebnisse der optimierten Versuchsdurchführung	29
5 Diskussion.....	30
5.1 Vorbereitung der Blattscheiben	30
5.2 Nullwert	30
5.3 Maximalwert.....	31
5.3.1 Mikrowelle	31
5.3.2 Kochen.....	32
5.3.3 Flüssiger Stickstoff	33
5.3.4 Vergleich der Behandlungen.....	33
5.4 Die Auswirkung von Lichtstress auf die elektrische Leitfähigkeit	34
5.5 Schädigung des Blattgewebes durch Lichtstress	35
5.6 Vergleich der Süßkartoffeln.....	36
5.6 Mögliche Fehlerquellen und Verbesserungsvorschläge.....	37
6 Fazit	39
7 Literaturverzeichnis	40
8 Anhang.....	44
8.1 Die optimierte Versuchsdurchführung.....	44

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Lichtsättigungskurven der Photosynthese.	4
Abbildung 2: Aufbau Lichtstressversuch.	13
Abbildung 3: EC gereinigter und ungereinigter Blattscheiben von Kaffee	15
Abbildung 4: EC unbeschädigter Blätter im Verlauf der Zeit	16
Abbildung 5: EC nach unterschiedlich langer Mikrowellenbehandlung von Kaffeeblattscheiben	17
Abbildung 6: EC im Verlauf der Zeit nach 10-minütiger Mikrowellenbehandlung von Kaffeeblattscheiben	18
Abbildung 7: EC bei unterschiedlicher Temperatur nach 10 min Kochen von Blattscheiben von Kaffee.....	18
Abbildung 8: EC nach unterschiedlicher Kochdauer von Blattscheiben von Kaffeeblättern... ..	19
Abbildung 10: EC nach unterschiedlicher Dauer der Behandlung mit N ₂	21
Abbildung 11: EC im Verlauf der Zeit nach unterschiedlich langer Behandlung mit N ₂	22
Abbildung 12: EC im Verlauf der Zeit nach 10-minütiger Behandlung mit flüssigem N ₂	23
Abbildung 13: EC im Verlauf der Zeit von Kaffeeblattscheiben nach 10 Minuten Kochen, Mikrowelle oder flüssigem N ₂	24
Abbildung 14: EC über die Zeit nach 10 Minuten Kochen, Mikrowelle oder LN ₂ von Kaffeeblattscheiben und deren Trendlinie	25
Abbildung 15: Trockenmasse von 3 Blattscheiben einer Pflanzenart.....	26
Abbildung 16: EC nach Lichtstress mit Proben unterschiedlicher Anzahl von Blattscheiben von Kaffee.....	26
Abbildung 17: EC nach unterschiedlicher Bestrahlungsdauer	28
Abbildung 18: Schaden [%] in Abhängigkeit von der Dauer der Lichtbehandlung.....	29
Abbildung 19: Nekrotisches Gewebe einer Blattprobe von Kaffee nach Bestrahlung.	35
Abbildung 20: links: Süßkartoffeln am Lichtstandort. Rechts: Süßkartoffeln am Schattenstandort.....	37
Abbildung A1: Aufbau Lichtstressversuch.....	44
Abbildung A2: Proben auf der Heizplatte. Aluminiumfolie als Verdampfungsschutz.	45
Abbildung A3: Lichtstressversuch.	45

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Dauer der Mikrowellenbehandlung und benötigtes Milliporewasser.....	11
--	----

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
ATP	Adenosintriphosphat
cm	Zentimeter
EC	Elektrische Leitfähigkeit
h	Stunde
m	Meter
mm	Millimeter
min	Minute
ml	Milliliter
μS	Microsiemens
N ₂	Stickstoff
NADP	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
NADP ⁺	Oxidierte Form von NADP
NADPH	Reduzierte Form von NADP

1 Einleitung

Sonnenlicht ist die universelle Energiequelle der Biosphäre (Schopfer und Brennicke 2010). In der Photosynthese wird die Strahlungsenergie zum Aufbau von Biomasse genutzt und bildet somit die Grundlage photoautotrophen und heterotrophen Lebens. Allerdings beschränkt sich die Funktion von Licht in Pflanzen nicht auf den Aufbau von Biomasse. Es gibt neben den Photosynthesepigmenten auch Photorezeptoren, die den Pflanzen Informationen über Lichtintensität und die Lichtzusammensetzung liefern und so Einfluss auf die Morphologie und Physiologie von Pflanzen haben (Schopfer und Brennicke 2010). Dadurch wird die Wichtigkeit dieses Umweltfaktors deutlich, dessen Übermaß aber auch Fehlen zu Stress führen kann. Aufgrund ihrer Ortsgebundenheit können sich Pflanzen ungenügsamen Umweltbedingungen ihres Standorts nicht entziehen. Deshalb müssen sie sich an die vorherrschenden Bedingungen anpassen. Im Laufe der Evolution haben sich verschiedene Arten genetisch an ihre Umweltbedingungen angepasst (Schopfer und Brennicke 2010). Betrachtet man den Umweltfaktor Licht, entwickelten sich so Sonnen- und Schattenpflanzen. Durch die gegebenen genetischen Voraussetzungen wird bestimmt, in welchem Ausmaß eine Pflanze auf variierende Strahlung ihres Standorts reagieren kann (Larcher 1994). Reichen die Möglichkeiten einer Pflanze sich an eine hohe Strahlungsintensität anzupassen nicht aus, kann dies zu Lichtstress führen.

Diese Arbeit verfolgte zwei Ziele: 1. Die Methodik des Versuchs sollte modifiziert und eine optimale Durchführung aufgestellt werden. 2. Die Diversität der Pflanzen hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit gegenüber Lichtstress experimentell zu untersuchen. Deshalb wurden Pflanzen mit Eigenschaften von Sonnenpflanzen, Mais und Sorghum, und eine Art mit Schattenpflanzeigenschaften, Kaffee, verwendet. Zusätzlich wurden Süßkartoffeln genutzt, die unter Licht oder unter Schatten herangezogen wurden. Damit sollte untersucht werden, ob die unterschiedlichen Lichtbedingungen während des Heranwachsens Einfluss auf die Reaktion auf Lichtstress haben.

Das Experiment, auf dem diese Arbeit basiert, lehnt sich an ein Experiment zur Bestimmung von Effekten unterschiedlicher Lichtintensitäten auf das Blattgewebe von Mais und Kaffee. Der Versuch wurde in Gruppen von Studierenden im Rahmen eines Praktikums durchgeführt. Die Ergebnisse des Versuchs waren teilweise gegensätzlich, weshalb in dieser Arbeit versucht wurde, mögliche Fehlerquellen zu beseitigen und die Versuchsdurchführung zu optimieren. Das Prinzip des Versuchs beruht darauf, die Schädigung der Blattproben indirekt über die elektrische Leitfähigkeit (EC) des umgebenden Wassers zu messen. Blattscheiben der beprobten Pflanzenarten wurden unter einer Lampe positioniert, um lichtstressinduzierende Bedingungen zu erzeugen. Dadurch sollte in den Blattproben die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies begünstigt werden (Wituszynska und Karpinski 2013). Reaktive Sauerstoffspezies können Zellmembranen schädigen und diese durchlässig machen (Sharma et al. 2012). Kommt es in den Blattproben zu Membranschäden können Ionen aus der Zelle diffundieren. Dadurch würde die EC des umgebenden Wassers steigen. Je höher die

EC ist, desto höher ist also der lichtstressinduzierte Schaden der Pflanzenzelle. Um den mit der EC verbundenen Schaden einzuordnen, wurde ein Nullwert und ein Maximalwert eingeführt. Für den Nullwert wurden Blattscheiben, welche keiner Behandlung ausgesetzt wurden in Wasser gegeben und anschließend die EC dieses Gemischs bestimmt. Um den 100% Schaden herauszufinden, sollten die Zellmembranen vollständig zerstört werden, um die maximal mögliche EC zu messen. Hierfür wurde in dieser Arbeit das Erhitzen der Blattscheiben in der Mikrowelle, das Kochen der Blattscheiben und das Einfrieren der Blattscheiben in flüssigem Stickstoff angewandt.

2 Stand der Forschung

2.1 Photoinhibition und photooxidativer Stress

Licht bezeichnet den für den Menschen sichtbaren Bereich des Spektrums elektromagnetischer Wellen. Es befindet sich im Wellenbereich von 390-750nm und liegt somit zwischen dem kurzwelligeren UV-Licht und dem langwelligeren Infrarotbereich (Weiler et al. 2008). Der Wellenbereich des Lichts deckt sich mit dem der photosynthetisch aktiven Strahlung (Weiler et al. 2008). Photosynthese beschreibt den Prozess, in dem die Energie dieser Strahlung genutzt wird, um organische Moleküle aufzubauen. Licht wird von den Antennenpigmenten absorbiert. Dort wird die Energie in das Reaktionszentrum geleitet, welches dadurch in den angeregten Zustand übergeht. Im angeregten Zustand kann das Reaktionszentrum ein Elektron abgeben und eine Elektronentransportkette in Gang setzen. Sie beginnt bei der Spaltung von Wasser und endet bei der Reduktion von NADP^+ zu NADPH . Gleichzeitig wird an der Thylakoidmembran ein Protonengradient aufgebaut, mit dessen Hilfe ATP generiert wird. Diese Moleküle, NADPH und ATP, sind die Produkte der Lichtreaktion. Sie werden im Calvin-Zyklus, der lichtunabhängigen Reaktion genutzt, um Kohlenstoff zu assimilieren. Die Produktivität der Photosynthese ist von unterschiedlichen Faktoren abhängig, von denen jeder zugleich limitierend wirken kann (Weiler et al. 2008). Strahlung ist einer dieser Einflussfaktoren. Mit der Intensität der Strahlung steigt zunächst auch die Photosyntheseleistung, bis die Zunahme geringer und die Reaktion schließlich lichtgesättigt wird (Larcher 1994). Ab hier wirken enzymatische Vorgänge und die CO_2 -Konzentration der Atmosphäre begrenzend auf die Photosyntheseleistung (Larcher 1994). Demnach kann unter hoher Lichtintensität oder unter Bedingungen, die die Photosynthese einschränken, die bereitgestellte Energie durch die Anregung der Photosysteme höher sein, als für die CO_2 -Assimilation benötigt wird (Inzé und van Montagu 2005). Als Folge kann es zu einer Minderung der Photosyntheseleistung kommen, die als Photoinhibition bezeichnet wird (Krause 1988). Ausgelöst wird dies durch eine Veränderung im Reaktionszentrum des Photosystems II, durch die es zu einer Einschränkung des Elektronentransports kommt (Critchley 1981; Krause 1988). Lang anhaltende photoinhibitorische Bedingungen können zu oxidativen Schäden des Pflanzengewebes führen (Krause 1988; Jones und Kok 1966; Powles 1984). Durch den Überschuss an Lichtenergie kommt es zu einem Rückstau von Elektronen der dazu führt, dass diese auf alternative Akzeptoren als NADP^+ übertragen werden (Schopfer und Brennicke 2010). Wird als alternativer Akzeptor Sauerstoff genutzt, kommt es zur Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (Foyer et al. 1994). Mithilfe antioxidativer Schutzmechanismen können Pflanzen diese unschädlich machen (Asada 2006). Wird die Kapazität der Schutzmechanismen von der Bildung reaktiver Sauerstoffspezies übertroffen, können diese das umliegende Gewebe schädigen (Wituszynska und Karpinski 2013). Dabei kommt es zur Oxidation von Lipiden und Proteinen und damit zu Schädigungen an Membranen, die bis zum Zelltod führen können (Wituszynska und Karpinski 2013). Diese lichtabhängige Bildung reaktiver Sauerstoffspezies und damit verbundene Schädigung des Gewebes wird als photooxidativer Stress, auch Lichtstress, bezeichnet (Foyer et al. 1994).

Die Aufnahme von Strahlungsenergie, die Bildung von Reduktionsäquivalenten und das Vorhandensein von Sauerstoff, machen die Chloroplasten zu einer Hauptquelle reaktiver Sauerstoffspezies (Foyer et al. 1994).

2.2 Anpassung von Pflanzen an unterschiedliche Strahlungsverhältnisse

Lebensräume von Pflanzen sind verschieden. Selbst an einem Standort variieren Umweltbedingungen im Tages- und Jahresverlauf oder durch Beeinflussung anderer Organismen. Zum einen beeinflussen diese Faktoren die Entwicklung von Pflanzen, zum anderen passen sich Pflanzen an die Bedingungen ihrer Umwelt aktiv an. Bezogen auf Strahlung bedeutet dies, dass Pflanzen auf die Qualität und Quantität der Strahlung in ihrem Lebensraum reagieren. Nach Larcher (1994) lassen sich die Anpassungen der Pflanzen an Strahlungsbedingungen drei Kategorien zuordnen: modulative, modifikative sowie evolutive Adaptation. Bedingt durch ihre evolutive Anpassung, kann man Pflanzen in Schattenpflanzen und Sonnenpflanzen einteilen (Larcher 1994). Sie ist genetisch festgelegt und wird nicht durch Umwelteinflüsse bestimmt. Allerdings bestimmt sie das Ausmaß der Möglichkeiten von Pflanzen, sich an gegebene Strahlungsbedingungen anzupassen (Larcher 1994). Schatten- und Sonnenpflanzen unterscheiden sich in der Höhe ihres Lichtkompensationspunktes.

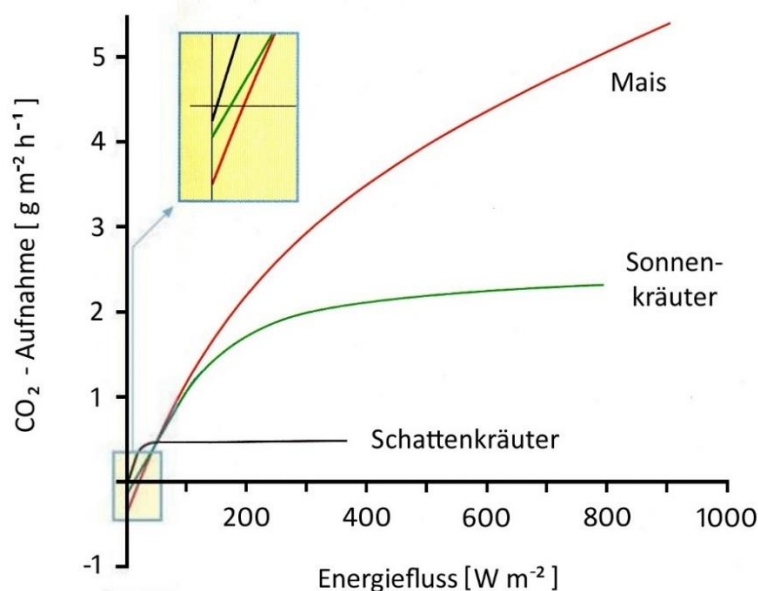


Abbildung 1: Lichtsättigungskurven der Photosynthese. Photosyntheseleistung in CO₂- Fixierung je Zeiteinheit und Blattfläche in Abhängigkeit vom Energiefluss. Für Schatten- und Sonnenkräuter (beide C₃-Pflanzen) sind durchschnittliche Lichtsättigungskurven angegeben. In Anlehnung an: Weiler und Nover, 2008, S.289.

Am Schnittpunkt der Graphen mit der X-Achse befindet sich der Lichtkompensationspunkt. Bei diesem Energiefluss ist die Menge des fixierten CO₂ in der Photosynthese gleich dem bei der Atmung ausgeschiedenen (Weiler et al. 2008). Wie man in Abbildung 1 sehen kann, ist der Lichtkompensationspunkt für Schattenpflanzen am niedrigsten. Demnach können Schattenpflanzen selbst bei geringen Lichtflüssen Biomasse aufbauen, bei denen die CO₂-Bilanz der Sonnenpflanzen noch negativ ist. Dafür ist die Photosynthese der Schattenpflanzen bereits bei Energieflüssen lichtgesättigt, bei denen die Photosyntheseleistung der Sonnenpflanzen noch steigt und erst deutlich später Lichtsättigung erreicht. Lichtsättigung herrscht vor, wenn die Photosynthese nicht durch photochemische Prozesse limitiert wird, sondern durch die Verfügbarkeit von CO₂ und die Geschwindigkeit von Enzymen (Larcher 1994). Andauernde hohe Lichtintensität kann zu Photoinhibition und schließlich zu Photooxidation führen (Powles 1984). Um dieser Schädigung vorzubeugen und dennoch bei geringen Lichtflüssen genug Energie zu erbeuten, passen sich Pflanzen an die gegebenen Lichtbedingungen ihres Standorts an. Modulative Adaptationen lassen sich als Anpassungen, die „rasch und [...] reversibel“ (Larcher, 1994, S.62) sind, beschreiben. Hierzu gehören beispielsweise die Bewegung von Blättern, um möglichst viel oder wenig Blattfläche zum Licht zu exponieren. Auch die Lage der Chloroplasten wird durch die Lichtintensität beeinflusst. In schwächerem Licht lagern sich die Chloroplasten so an, dass eine möglichst große Fläche zum Licht zeigt. Im Gegensatz dazu ordnen sie sich bei stärkerer Lichtintensität senkrecht zur Lichtquelle (Chabot und Chabot 1977). Nach Abklingen des Stressfaktors stellt sich wieder das Ausgangsverhalten der Pflanze ein (Larcher 1994). Dagegen steht die modifikative Anpassung, zu der, nach Larcher (1994), die strukturelle Differenzierung der Gewebe und Organe während des Heranwachsens gehört. Sie ist in der Regel nicht reversibel. Ändern sich die Lichtbedingungen, so passen sich die neu gebildeten Organe den aktuellen Verhältnissen an und die alten, nun unangepassten Blätter sterben ab (Larcher 1994). Schatten- und Sonnenpflanzen weisen einige morphologische Unterschiede auf. Blätter der Schattenpflanzen haben eher eine größere Blattfläche (Chabot und Chabot 1977) und sind dabei dünner als die der Sonnenpflanzen (Willmot und Moore 1973), welche ein mehrschichtiges Palisadenparenchym vorweisen (Schopfer und Brennicke 2010). Auch in der Form der Zellen des Palisadenparenchyms gibt es Unterschiede (Schopfer und Brennicke 2010). Zellen des Palisadenparenchyms von Sonnenblättern sind länglich geformt, während die der Schattenblätter sich kaum vom Schwammparenchym unterscheiden (Kratzmann 1914). Des Weiteren enthalten Schattenblätter mehr Antennenpigmente in den Chloroplasten, um die einfallende Strahlung optimal aufzufangen (Anderson et al. 1995). Sonnenblätter investieren dagegen mehr in den Elektronentransport und enzymatische Vorgänge der Photosynthese (Rühle und Wild 1985). Sie weisen mehr der Moleküle auf, die am Elektronentransport beteiligt sind (Marcelle 1975), sowie eine höhere Aktivität von Enzymen wie beispielsweise RUBISCO (Rühle und Wild 1985). Das ermöglicht eine hohe Photosyntheseleistung bei Ausnutzung hoher Strahlungsintensität. Außerdem kann die Bildung von Wachsschichten oder Trichomen die Reflektion erhöhen (Holmes und Keiller 2002) und so den Anteil der aufgenommenen Strahlung vermindern.

Zu beachten ist, dass nicht nur zwischen Schattenpflanzen und Sonnenpflanzen allgemein differenziert wird. Auch Individuen einer Art können bei Anzucht unter unterschiedlichen Lichtbedingungen entweder Charakteristika von Sonnenpflanzen oder von Schattenpflanzen ausprägen, wie Grahl und Wild an Weißem Senf zeigten (Grahl und Wild 1973). Selbst die Lichtverhältnisse, die auf eine Pflanze wirken, variieren zur gleichen Zeit durch den Stand der Pflanze zur Sonne oder durch Beschattung durch sich selbst oder andere Individuen. Deshalb sind an Pflanzen sowohl Blätter mit schattentypischer Ausprägung, als auch Blätter mit sonnentypischer Ausprägung zu finden (Larcher 1994). Dabei wird die Geschwindigkeit sowie das Ausmaß der Anpassungen durch die genetische Konstitution vorgegeben (Larcher 1994).

2.3 Die verwendeten Pflanzen

2.3.1 Mais

Das Ursprungsgebiet von Mais (*Zea mays* L.) liegt vermutlich in Mexiko (Franke 1997), wobei er mittlerweile in unterschiedlichen Ökozonen angebaut wird (Paliwal 2000). Der Ertrag, die Wachstumsperiode und Größe variieren stark, abhängig vom Standort an dem er angebaut wird (García-Lara und Serna-Saldivar 2019). Mais ist ein einjähriges Gras innerhalb der Familie der Poaceae. Sein Halm ist bis zu 5cm dick und 2,5m hoch (Franke 1997), wobei ihm auch eine Höhe von bis zu 6m zugesprochen wird (Miedaner 2014). Im Gegensatz zu dem Großteil der anderen Getreidearten ist Mais den einhäusig getrenntgeschlechtlichen Pflanzen zugehörig (Franke 1997). Seine Blätter können zwischen 4 und 10cm breit sein und eine Länge von bis zu 150cm erreichen (Franke 1997). Die optimalen Wachstumsbedingungen liegen bei einer Temperatur von 30°C und einem Niederschlag zwischen 500 und 700mm (Franke 1997). Mais gehört zu den C₄-Pflanzen. Diese zeichnen sich durch eine hohe Photosyntheseleistung sowie eine hohe Lichtsättigung aus (Schopfer 1973), wie auch in Abbildung 1 zu sehen ist. Somit ist Mais gut an eine hohe Strahlungsintensität angepasst.

2.3.2 Sorghum

Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) gehört zur Familie der Poaceae. Die Größe der Pflanze variiert von 0,45m bis 4m (Dogget 1988). Junge Blätter sind meist erectophil (Dogget 1988), wodurch die Strahlung in einem spitzen Winkel auf die Blätter trifft und diese vor Lichtstress und Überhitzung schützt (Larcher 1994). Insgesamt erinnert sein Habitus an Mais und auch ihre Physiologie weist Gemeinsamkeiten auf. Auch Sorghum betreibt Photosynthese nach dem C₄-Weg. Beide Pflanzen haben eine hohe Lichtsättigung, die selbst bei hoher Strahlung nicht erreicht wird (Larcher 1994). Bei anhaltender Trockenheit fällt Sorghum in eine Art Trockenstarre, die erst durch Niederschläge gebrochen wird (Franke 1997). Somit ist Sorghum optimal an trockene Standorte mit hohen Temperaturen und

hoher Strahlung angepasst. Die Anbaugelände liegen demnach vor allem in subtropischen sowie trockenen tropischen Gebieten (Franke 1997).

2.3.3 Kaffee

Die für den Versuch verwendeten Kaffeepflanzen gehören zu Arabica-Kaffee (*Coffea arabica*), dessen Heimat im Hochland Äthiopiens liegt (Franke 1997). Kaffee wird in den Tropen angebaut, wobei Arabica-Sorten Höhenlagen zwischen 600 und 1200m ü. NN. bevorzugen (Franke 1997). Kaffeepflanzen wachsen als Baum, der 3-8m hoch werden kann (Franke 1997). Die immergrünen Blätter glänzen, sind ledrig und oval geformt. Arabica ist im Gegensatz zu den anderen Arten selbstfertil. Als optimale klimatische Bedingungen wird eine durchschnittliche Jahrestemperatur von 18-22°C und ein Jahresniederschlag von 500-1500mm genannt (Franke 1997). Die traditionelle Anbauform von Kaffee ist unter Schattenbäumen, was seinem natürlichen Habitat im Unterholz von Wäldern nachempfunden ist (Clifford und Willson 1987, 1985). Die Eigenschaften der Photosynthese von Kaffee lässt ihn den Schattenpflanzen zuordnen (Clifford und Willson 1987, 1985). Hierfür spricht zum Beispiel die Photosyntheserate, welche mit Werten zwischen 7 und 14 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ im Maximum, verglichen mit anderen Bäumen, im unteren Bereich liegt (Clifford und Willson 1987, 1985). Außerdem wird die Sättigung der Photosynthese bei einer Strahlung zwischen 300 und 600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ erreicht (Kumar und Tieszen 1980). Dies ist nur ein geringer Teil dessen, was unter sonnigen Bedingungen, zu Mittag, in den Tropen vorherrschen kann (2500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (Clifford und Willson 1987, 1985). Bei anhaltender hoher Strahlung kann es selbst in den Sonnenblättern zu Schädigungen des Gewebes kommen (Clifford und Willson 1987, 1985).

2.3.4 Süßkartoffel

Die Süßkartoffel (*Ipomoea batatas*) gehört zur Familie der Windengewächse, auch Convolvulaceae, in der Gattung der nachtschattenartigen Gewächse. Ihr Herkunftsgebiet liegt vermutlich in Mittelamerika (Zhang et al. 2001), aber ihr Anbaugelände erstreckt sich mittlerweile über die gesamten Tropen und Subtropen (Franke 1997). Temperaturen von 26-30°C und Niederschläge von 850-900 mm gelten als optimale Anbaubedingungen (Franke 1997). Neben dem hohen Zuckergehalt, der der Süßkartoffel ihren süßlichen Geschmack verleiht, hat die Knolle einen hohen Stärkegehalt und beinhaltet einige Vitamine (Loebenstein und Thottappilly 2009). Das Aussehen von Süßkartoffeln ist variabel, was auch an der großen Vielfalt von Blattformen liegt (Gupta et al. 2020). Diese reicht von rund über dreieckig bis zu gelappten Blättern (Brücher 2014). Süßkartoffeln gehören zu den C_3 -Pflanzen. Lichtsättigung wird zwischen einer Lichtintensität von 750 (Vines et al. 1983) und 900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Kubota et al. 1991) erreicht. In Experimenten, bei denen Süßkartoffeln unter unterschiedlichen Lichtbedingungen herangezogen wurden, konnten Anpassungen der im Schatten wachsenden Pflanzen an eine geringe Lichtintensität nachgewiesen werden

(Johnston und Onwueme 1998). Dazu gehören beispielsweise die Ausbildung eines dünneren Palisadenparenchyms und die Verminderung des Chlorophyll a:b-Verhältnisses (Onwueme und Johnston 2000).

3 Material und Methoden

Der praktische Teil dieser Arbeit wurde im Labor des Instituts für Tropische Agrarwissenschaften, Fachgemeinschaft Wasserstress-Management bei Kulturpflanzen in den Tropen und Subtropen durchgeführt. Die Pflanzenanzucht fand im dazugehörigen Gewächshaus statt.

Für alle beschriebenen Laborarbeiten wurde Reinstwasser benutzt (Simplicity 185, Firma Merck, elektrische Leitfähigkeit: 0,083 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Im Folgenden wird dafür der Begriff Milliporewasser verwendet.

Für die Vorversuche wurden ausschließlich Blattscheiben von Kaffee verwendet.

Die Versuche wurden mit 15 Blattscheiben in 20 ml Milliporewasser durchgeführt. Da sich die Menge von 15 Blattscheiben erst im Verlauf der Versuchsreihe ergab, wurden manche Messungen mit 5 Blattscheiben durchgeführt. Auf Messungen mit reduzierter Blattscheibenanzahl wird in der Durchführung hingewiesen.

Es wurden drei Wiederholungen pro Versuch durchgeführt.

3.1 Pflanzenmaterial

Für die Maispflanzen wurde die Sorte *Ronaldinio* verwendet. Jeweils zwei Körner wurden in Komposterde gesät und nach der Keimung vereinzelt. Die Maispflanzen wurden einen Meter unterhalb einer Natriumdampflampe (Modell: SON-K-400, Professional Lightning) positioniert. Die Beleuchtungszeit war täglich von 8:00 bis 20:00 Uhr. Um das Verbrennen der wachsenden Maispflanzen durch die Nähe zur Lampe zu vermeiden, wurden die Pflanzen bei fortgeschrittenem Wachstum neben die Lampe gestellt.

Die Süßkartoffeln (Sorte BARI SP8) wurden durch Stecklinge vermehrt, welche aus Triebspitzen gewonnen wurden. Als Substrat wurde ebenfalls Komposterde verwendet. Ein Teil der Süßkartoffeln wurden mit Beleuchtung aufgezogen und der andere Teil im Schatten. Als Schattenstandort wurde eine Position gewählt, die nicht zusätzlich durch Lampen beleuchtet wurde und sich im Schatten von Kaffeepflanzen befand. Die Pflanzen mit Schattenstandort werden im Weiteren als Süßkartoffel_{Schatten} bezeichnet. Der Lichtstandort befand sich unter einer Natriumdampflampe, die ebenfalls circa einen Meter über den Pflanzen installiert war. Diese Pflanzen werden im Folgenden als Süßkartoffel_{Licht} bezeichnet. Insgesamt wurden jeweils sechs Süßkartoffel_{Licht}- und Maispflanzen und sechs Süßkartoffel_{Schatten}-Pflanzen angezogen.

Die verwendeten Kaffeepflanzen stammten aus dem Gewächshausbestand. Die Pflanzen gehören zu der Art des Arabica-Kaffees, wobei die Sorte unbekannt ist. Der Standort der Kaffeepflanzen war vor und während des Versuchs unterhalb der Gewächshausbeschattung ohne direkten Lichteinfall.

Als Vertreter für Sorghum wurde eine Zwergsorghumvarietät verwendet. Die Sorghumpflanzen stammten ebenfalls aus dem Gewächshausbestand. Die Beleuchtung wurde wie bei den Maispflanzen durchgeführt.

3.2 Vorbereitung der Blattscheiben

Für eine Probe wurden (im Vorversuch 5), später 15 Blattscheiben verwendet. Mit einem Korkbohrer (Durchmesser 1 cm) wurden Blattscheiben ausgestochen. Diese wurden in eine Petrischale mit Milliporewasser überführt, vorsichtig untergetaucht und nach 5 Minuten im Milliporewasser auf Papiertüchern getrocknet. Es wurde eine Pinzette mit ungeriefter Spitze verwendet, um mechanische Beschädigungen der Blattscheiben zu vermeiden.

3.3 Messung der elektrischen Leitfähigkeit

Zur Messung der elektrischen Leitfähigkeit (EC) wurde ein Mikro-EC-Meter benutzt (1901-00 Cole-Parmer Instrumets Co.), welches an eine Schlauchpumpe zum Einsaugen der Probenflüssigkeit gekoppelt war. Dieses EC-Meter eignete sich besonders, da man Messungen mit geringen Mengen durchführen kann. Zu Beginn jedes Versuchstags wurde das Mikro-EC-Meter kalibriert. Dafür wurde eine Standardlösung mit einer EC von 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$ verwendet. Die Probe wurde vor der Messung umgeschwenkt und der Saugschlauch während der Messung in der Probe bewegt. Die vom Messgerät angezeigte EC steigt im Verlauf der Messzeit, weshalb der höchste stabile Wert als Ergebnis festgehalten wurde. Es war hilfreich, die Schlauchpumpe zu pausieren, bis sich der Wert stabilisiert hat. Nach der Messung wurde die Flüssigkeit in ein Abfallbehältnis geleitet. Für Proben, die mehrere Messungen benötigten, wurde die Flüssigkeit wieder in das Probengefäß rückgeführt, um die Flüssigkeitsmenge nicht zu verändern. Bei einer großen Anzahl von Proben, die in kurzen Zeitabständen gemessen wurden, war dies jedoch nicht immer möglich. Um mögliche Überreste im Saugschlauch des Messgeräts auszuschließen, wurde der Schlauch vor und nach jeder einzelnen Messung mit Milliporewasser gespült, bis sich die EC zwischen 0 und 1 $\mu\text{S}/\text{cm}$ befand.

3.4 Nullwert

Hierfür wurde die EC von Blattscheiben, die keiner Behandlung unterzogen wurden, gemessen. Diese Blattscheiben werden im Folgenden als unbeschädigte Blattscheiben bezeichnet.

3.4.1 Elektrische Leitfähigkeit gewaschener und ungewaschener Blattscheiben

Für die Versuchsreihe „Gewaschen“ wurden die Blattscheiben wie bei Punkt 3.3 beschrieben vorbereitet. Für die Versuchsreihe „Ungewaschen“ wurden die ausgestanzten Scheiben direkt in ein Becherglas (100ml; Roth) gegeben. In die Bechergläser beider Behandlungen

wurde 20 ml Milliporewasser hinzugegeben, die Zeit gestoppt und die erste Messung durchgeführt. Dann wurde im 15-Minuten-Takt bis Minute 45 gemessen. Die Versuchsreihen wurden mit fünf Blattscheiben von Kaffeeblättern durchgeführt.

3.4.2 Elektrische Leitfähigkeit unbeschädigter Blattscheiben

In der Untersuchung des Nullwerts im Verlauf der Messzeit wurden fünf Blattscheiben je Probe verwendet. Die vorbereiteten Blattscheiben wurden mit Milliporewasser in ein Becherglas (100 ml; Roth) gegeben. Mit einer Stoppuhr wurde die Zeit gestoppt und in 15-minütigen Intervallen die EC gemessen.

3.5 Maximalwert

Zum Erreichen des Maximalwerts wurden in dieser Arbeit folgende Methoden angewandt: Erhitzen der Blattscheiben in der Mikrowelle (im Folgenden abgekürzt als „Mikrowelle“), Kochen der Blattscheiben („Kochen“) und Einfrieren der Blattscheiben in flüssigem Stickstoff („flüssiger Stickstoff“).

3.5.1 Mikrowelle

Die vorbereiteten Blattscheiben wurden mit Milliporewasser in Bechergläser (100 ml; Roth) gegeben. Die Mikrowelle wurde auf 600Watt eingestellt. Um die Verdunstung zu vermindern, wurden die Bechergläser mit Urgläsern abgedeckt. Nach der Behandlung in der Mikrowelle wurde mit Messzylindern (50ml; Roth) die Flüssigkeitsmenge bestimmt und gegebenenfalls auf 20 ml aufgefüllt.

3.5.1.1 Unterschiedlich lange Behandlung in der Mikrowelle

Es wurde die EC nach unterschiedlich langer Verweildauer in der Mikrowelle gemessen. Trotz der verwendeten Urgläser war ein Großteil des Wassers der Proben verdampft. Um zu verhindern, dass während der Behandlung kein Wasser mehr vorhanden ist und die Blattscheiben anbrennen, wurde die Wassermenge, die zu Beginn zugegeben wurde, an die Zeit in der Mikrowelle angepasst. Daraus ergab sich der in Tabelle 1 ersichtliche Zusammenhang zwischen Mikrowellenzeit und benötigter Flüssigkeitsmenge.

Zeit in Mikrowelle [min]	Millipore [ml]
3	20
5	30
10	50

Tabelle 1: Wasserzugabe je Probe, abhängig von der Behandlungsdauer in der Mikrowelle.

Die Proben wurden 3/5/10 Minuten in der Mikrowelle erwärmt. 35 Minuten nach dem Start der Mikrowellenbehandlung wurde die EC gemessen. Die Wartezeit von 35 Minuten ergab

sich aus den unterschiedlichen nachträglichen Auffüllmengen und daraus ergebenden Abkühlzeiten. Der Versuch wurde mit 5 Blattscheiben je Probe mit Kaffee durchgeführt.

3.5.1.2 Elektrische Leitfähigkeit im Verlauf der Zeit nach der Mikrowelle

Es wurde untersucht, ob sich die EC verändert, wenn man die Probe nach der Mikrowellenbehandlung stehen lässt. Es wurden 15 Blattscheiben verwendet und wie im obigen Versuch (3.6.1.1) bei 10-minütiger Behandlung 50 ml Milliporewasser. Die Proben wurden direkt nach der Behandlung und anschließend in 10-minütigen Intervallen bis Minute 90 EC-Messungen unterzogen.

3.5.2 Kochen

Jeweils 15 vorbereitete Blattscheiben wurden mit 20 ml Milliporewasser in Messkolben (100 ml; Roth) gefüllt, die mit Aluminiumfolie verschlossen wurden, um den Wasserverlust beim Kochen gering zu halten. Dennoch konnte das Verdampfen nicht vollständig verhindert werden. Bevor in einer Probe kein Wasser mehr vorhanden war, wurde während des Kochens Milliporewasser nachgefüllt. Die Proben wurden auf die vorgeheizte Heizplatte gestellt. Die Zeit wurde gestoppt, sobald das Wasser der Proben den Siedepunkt erreichte. Nach dem Kochen wurde mit einem Messzylinder (50 ml; Roth) das Volumen der Probenflüssigkeit bestimmt und bei Bedarf auf 20 ml mit Milliporewasser aufgefüllt.

3.5.2.1 Elektrische Leitfähigkeit bei unterschiedlicher Temperatur

Dieser Versuch wurde mit 5 Blattscheiben von Kaffeeblättern pro Probe durchgeführt. Die vorbereiteten Proben wurden auf die vorgeheizte Heizplatte gestellt. Nach zehn Minuten Kochen wurden die Proben von der Heizplatte genommen. Anschließend wurde bei 30, 25 und 21°C (Raumtemperatur) die EC gemessen.

3.5.2.2 Elektrische Leitfähigkeit bei unterschiedlicher Kochdauer

Der Versuch wurde mit 5 Blattscheiben von Kaffeeblättern durchgeführt. Die vorbereiteten Proben wurden auf die bereits vorgeheizte Heizplatte gestellt. Nach 5/10/20/30/40 Minuten wurden die Proben von der Heizplatte entfernt. Sie wurden auf 20ml aufgefüllt und nach dem Abkühlen die EC gemessen.

3.5.2.3 Elektrische Leitfähigkeit im Verlauf der Zeit nach dem Kochen

Die Proben wurden 10 Minuten auf der Heizplatte gekocht. Danach wurde die EC im 10-Minuten-Takt bis Minute 90 gemessen. Da die Proben direkt nach dem Kochen zu heiß waren, fand die erste Messung 10 Minuten nach der Entnahme von der Heizplatte statt.

3.5.3 Flüssiger Stickstoff

Es wurde die EC im Verlauf der Zeit nach unterschiedlich langer Behandlung mit flüssigem Stickstoff gemessen. Die vorbereiteten Pflanzenscheiben wurden in kleine Mörserschalen gegeben. Dort wurden sie für 1/2,5/5/10 Minuten flüssigem Stickstoff ausgesetzt. Dieser

wurde mit einer Mörserschüssel, die mit einer Zange festgehalten wurde, aus dem Isoliergefäß geschöpft und über die Blattscheiben gegossen. Um der Verflüchtigung des Stickstoffs entgegenzuwirken, wurde die Mörserschale mit einer Plastikschale abgedeckt. Dennoch musste regelmäßig nachgefüllt werden. Nachdem die bestimmte Zeit abgelaufen war, wurden die Blattscheiben mit 20 ml Milliporewasser in Bechergläser (100 ml; Roth) gegeben. Unmittelbar danach wurde die elektrische Leitfähigkeit bestimmt und die Messung in einem Intervall von 10 Minuten bis Minute 90 wiederholt.

3.6 Lichtstress

Um Lichtstress zu erzeugen, wurden die Blattscheiben von einer LED Grow-Lampe (360 Watt) beleuchtet. Die Lampe wurde so positioniert, dass eine Photonenflussdichte von $4446 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Meteon Irradiance Meter 163, Kipp & Zonen) erreicht wurde, wofür die Lampe mit 18 cm Abstand zur Tischplatte auf zwei Boxen gestellt wurde. Als Behältnisse für die Blattscheiben wurden Petrischalen (Nerbe plus, Deutschland) mit einem Durchmesser von 8,5 cm verwendet. Die 15 Blattscheiben wurden mit ihrer Blattoberseite nach oben in die Petrischalen gelegt und 20 ml Milliporewasser dazugegeben. Die Deckel der Petrischalen wurden nicht verwendet.

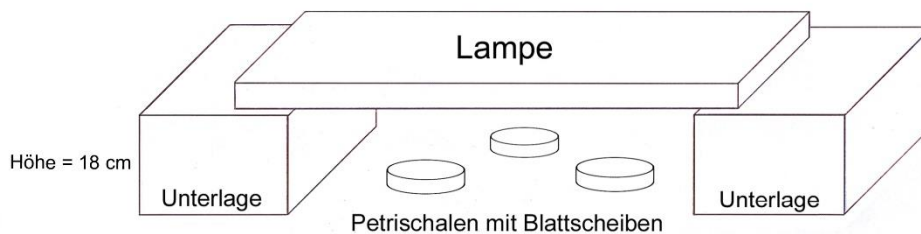


Abbildung 2: Aufbau Lichtstressversuch.

3.6.1 Unterschiedliche Anzahl an Blattscheiben

In eine Petrischale wurden jeweils 5/10/15 der vorbereiteten Blattscheiben mit 20 ml Milliporewasser gegeben. Die Proben wurden unter die Lampe gestellt und nach 1/2/3 Stunden die EC gemessen.

3.6.2 Abhängigkeit des Lichtstress von der Beleuchtungsdauer

Die mit 15 Blattscheiben und 20 ml Milliporewasser vorbereiteten Petrischalen wurden 1/2/3 Stunden beleuchtet und anschließend die EC bestimmt.

3.7 Die optimierte Versuchsdurchführung

Das Protokoll zur optimierten Versuchsdurchführung befindet sich im Anhang.

3.8 Bestimmung der Trockenmasse

Hierfür wurden von einer Pflanzenart 3 Blattscheiben je Probe in Papiertüten für 3 Tage im Trockenschrank (Firma Memmert) getrocknet. Danach wurden die Proben im Exsikkator (Firma Schott) gekühlt und anschließend gewogen.

3.9 Auswertung der Ergebnisse

Zur Erfassung der Daten und Berechnung der Mittelwerte und Standardfehler wurde Microsoft Excel verwendet. Zur statistischen Auswertung wurden einfaktorielle Varianzanalysen und t-Tests zum Signifikanzniveau $\alpha=0,05$ durchgeführt. Diese wurden mit Microsoft Excel berechnet. Die Graphiken wurden mit SigmaPlot erstellt.

4 Ergebnisse

4.1 Vorbereitung der Blattscheiben

Das vorherige Abwaschen der Kaffee-Blattscheiben führte zu einer geringeren EC (Abbildung 3). Bereits die Messung direkt nach Zugabe der Blattscheiben in das Milliporewasser ergab für die ungewaschenen Blattscheiben eine signifikant höhere EC ($p=0,0002$). In beiden Proben stieg die EC über die Zeit und blieben bis in Minute 60 signifikant verschieden. In der Probe mit ungewaschenen Blattscheiben wurde mit einer Erhöhung von 7 auf 12 $\mu\text{S}/\text{cm}$ innerhalb der ersten 15 Minuten die höchste Zunahme gemessen. Bis zum Ende der Messreihe bei Minute 60 steigt dieser Wert nur noch um 1 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Bei den gewaschenen Blattproben hat sich die EC über den Messzeitraum von 2 auf 4 $\mu\text{S}/\text{cm}$ verdoppelt. Innerhalb beider Behandlungen konnte ein signifikanter Unterschied zwischen der EC bei Minute 0 und bei Minute 60 nachgewiesen werden (gewaschen: $p=0,006$; ungewaschen: $p=0,0003$).

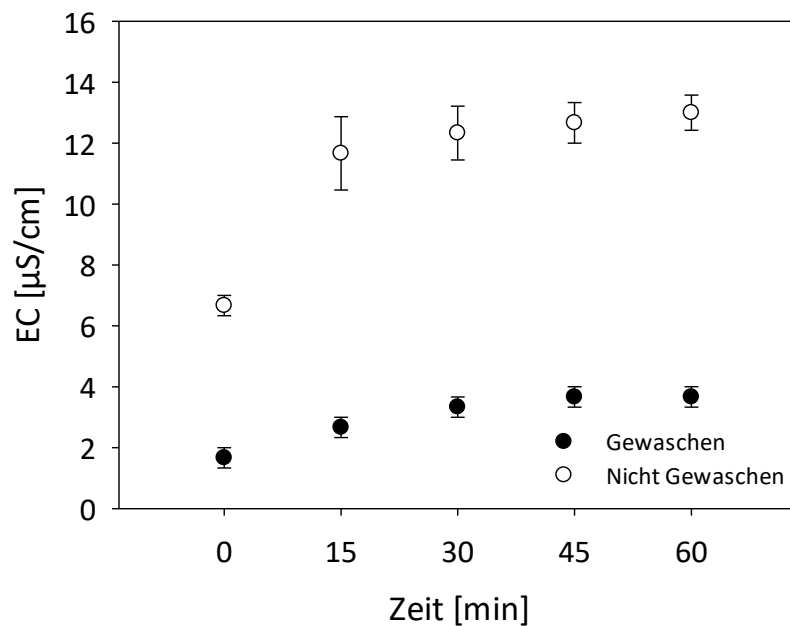


Abbildung 3: EC gereinigter und ungereinigter Blattscheiben von Kaffee im Verlauf der Zeit. Dargestellt sind die Mittelwerte ($n=3$) und Standardfehler.

4.2. Nullwert

Im obigen Versuch (4.1) wurde beobachtet, dass der zeitliche Abstand der Messung nach der Zugabe von Milliporewasser zu den Blattscheiben von Kaffee Einfluss auf die EC hat. Dies wurde unter Einbeziehung aller verwendeter Pflanzenarten weiter untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4 dargestellt. Die runden Symbole stellen die Mittelwerte der einzelnen Pflanzenarten dar, die Quadrate die gemittelten Werte aller Pflanzenarten.

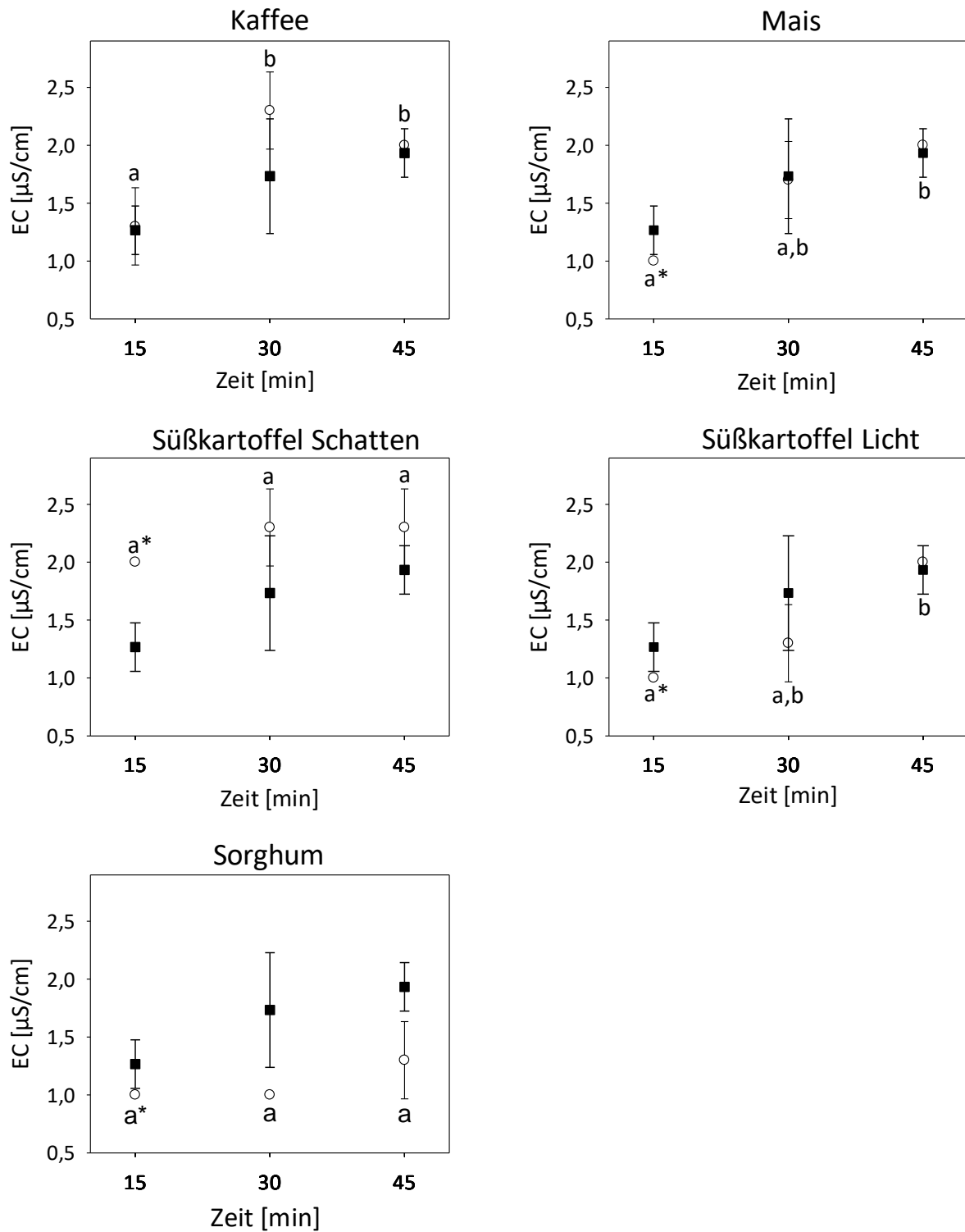


Abbildung 4: EC unbeschädigter Blätter im Verlauf der Zeit. In jeder Teilgraphik sind die Mittelwerte (n=3) und Standardfehler der einzelnen Pflanzenarten (Kreis), außerdem die gemittelten Werte aller Pflanzenarten (Quadrat) dargestellt. Die Mittelwerte der einzelnen Pflanzen mit verschiedenen Buchstaben sind signifikant verschieden (p<0,05). Werte mit einem * sind zum Mittelwert signifikant verschieden (p<0,05).

In allen Proben stieg die EC über den Versuchszeitraum. Allerdings befand sich der Höchstwert von Kaffee bei 30 Minuten und sank bis Minute 45 um auf 2 µS/cm. Kaffee war

die einzige Probe, in der die EC bei 15 Minuten zu der bei 30 Minuten signifikant verschieden war. In Kaffee, Mais und Süßkartoffel_{Licht} wurde eine signifikante Erhöhung der EC von Minute 15 zu Minute 45 nachgewiesen. In keiner Probe konnte eine signifikante Änderung der EC von Minute 30 zu Minute 45 festgestellt werden. Nach 15 Minuten war nur die Probe von Kaffee nicht signifikant verschieden zum Mittelwert. Zu diesem Zeitpunkt wurden auch signifikante Unterschiede zwischen den Pflanzenarten vermerkt. Nach 60 Minuten wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Pflanzenarten oder dem Mittelwert verzeichnet.

Um herauszufinden, ob sich die EC von reinem Milliporewasser bei Kontakt zu Luft verändert, wurden dazu Messungen über die Zeit durchgeführt. Bei Messbeginn betrug die EC $1 \mu\text{S}/\text{cm}$ und veränderte sich über den Zeitraum von 45 Minuten nicht. Abgesehen von Sorghum war dieser Wert somit zu den Proben mit Blattscheiben signifikant verschieden.

4.2 Maximalwert

4.2.1 Mikrowelle

Der Versuch, dessen Ergebnisse in Abbildung 5 dargestellt sind, wurde nur mit 5, statt mit 15 Blattscheiben durchgeführt. Deshalb befindet sich die EC auf einem niedrigeren Niveau als bei den anderen Versuchen, in denen 100%-Schaden bestimmt wurden. Bei Erhöhung der Behandlungszeit von 3 auf 5 Minuten konnten keine signifikanten Unterschiede der EC nachgewiesen werden. Nach einer Verweildauer der Proben von 10 Minuten in der Mikrowelle hat sich die EC im Vergleich zu den anderen Werten signifikant erhöht.

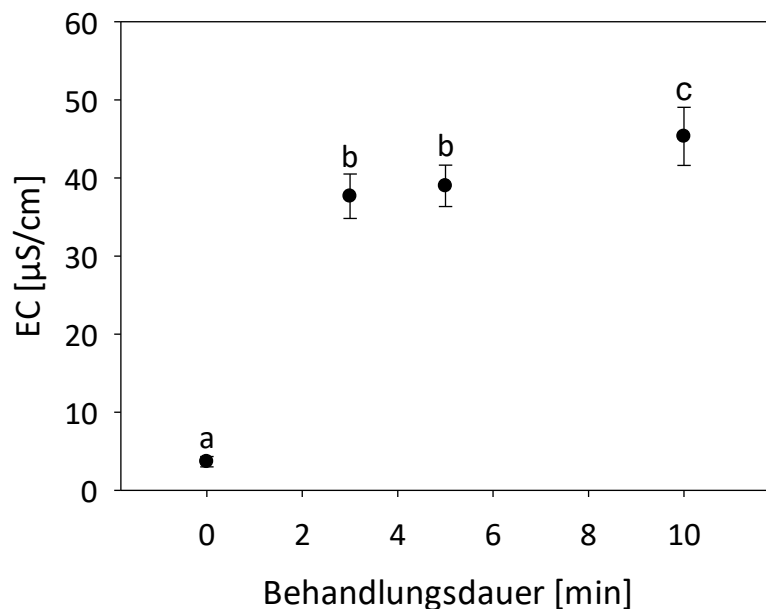


Abbildung 5: EC nach unterschiedlich langer Mikrowellenbehandlung von Kaffeeblattscheiben. Dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardfehler. Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben sind signifikant verschieden ($p=0,05$).

Die EC der Probe verändert sich in Abhängigkeit der Zeit, die seit der Behandlung in der Mikrowelle vergangen ist, wie in Abbildung 6 zu sehen ist. Die Messung direkt nach der Entnahme aus der Mikrowelle (und nach dem Auffüllen auf 20 ml) ergab eine EC von 71 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Bereits zehn Minuten später war der Wert auf 101 $\mu\text{S}/\text{cm}$ gestiegen. Bis Minute 20 war die Erhöhung der EC nicht signifikant zum Messwert bei Minute 10. Ab Minute 40 hat sich der Wert bis zum Ende der Messreihe nicht mehr signifikant verändert. Insgesamt hat sich die EC über den Zeitraum von 90 Minuten um den Faktor 2,68 auf 190 $\mu\text{S}/\text{cm}$ erhöht.

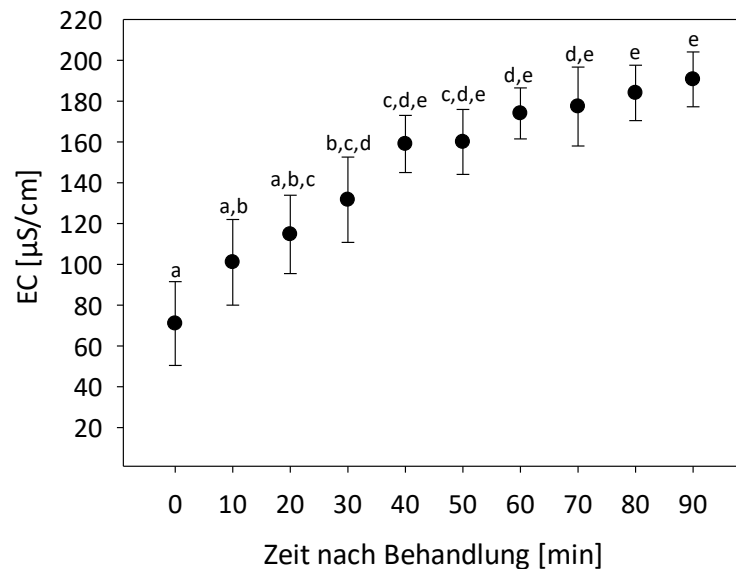


Abbildung 6: EC im Verlauf der Zeit nach 10-minütiger Mikrowellenbehandlung von Kaffeeblattscheiben. Zu sehen sind die Mittelwerte ($n=3$) und Standardfehler. Zeitpunkt 0 entspricht der Messung direkt nach der Mikrowellenbehandlung. Mittelwerte mit unterschiedlichen Buchstaben sind signifikant verschieden ($p<0,05$).

4.3.2 Kochen

Die Temperatur der Probe zum Messzeitpunkt beeinflusst die gemessene EC nicht signifikant (Abbildung 7). Eine marginale Erhöhung der EC ist bei abnehmender Temperatur erkennbar.

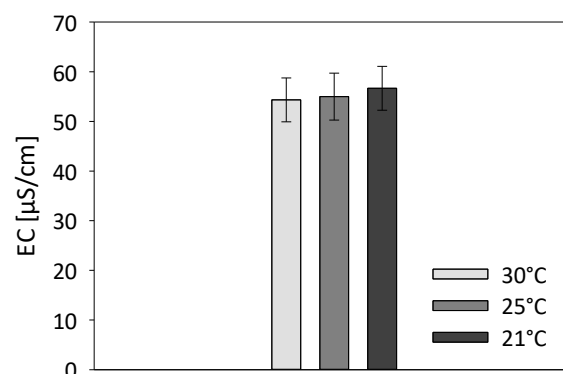


Abbildung 7: EC bei unterschiedlicher Temperatur nach 10 min Kochen von Blattscheiben von Kaffee. Dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardfehler.

Eine längere Kochdauer bewirkte eine Erhöhung der EC (Abbildung 8). Bis zur Erhöhung der Kochdauer auf 20 Minuten stieg die EC bei jeder Behandlung auf einen signifikant höheren Wert. Die Verlängerung von 20 auf 30 und von 30 auf 40 Minuten Kochzeit erbrachte keine signifikante Änderung der EC.

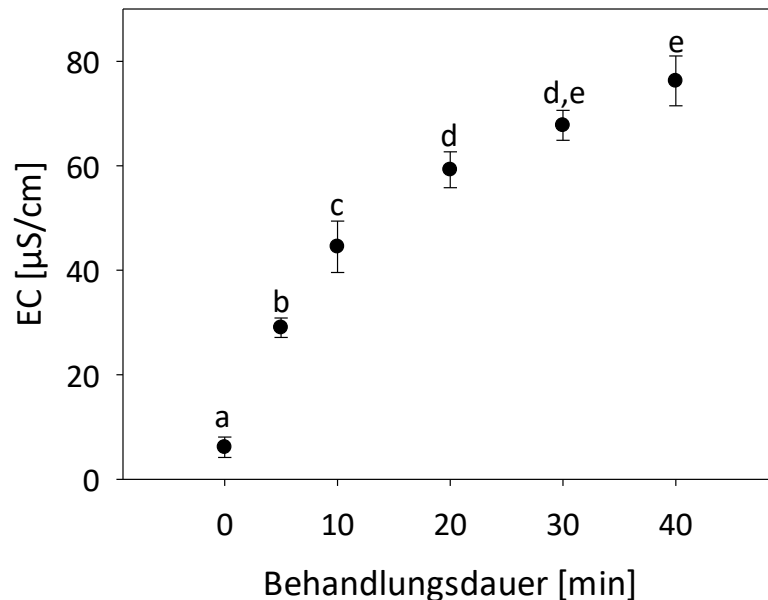


Abbildung 8: EC nach unterschiedlicher Kochdauer von Blattscheiben von Kaffeeblättern. Dargestellt sind die Mittelwerte ($n=3$) und Standardfehler. Mittelwerte mit unterschiedlichen Buchstaben sind signifikant verschieden ($p<0,05$).

In Abbildung 9 ist der Verlauf der EC, im Zeitraum von 90 Minuten von Kaffee, Sorghum und Mais nach 10 Minuten Kochen, dargestellt. Außerdem der Mittelwert aller beprobten Pflanzenarten (Quadrat). In allen Proben stieg die EC über den Messzeitraum. Die EC der Probe von Sorghum stieg insgesamt um 41% von 74 auf 107 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Ab Minute 60 war die EC nicht signifikant verschieden zum Endwert. Dagegen stieg die EC von Kaffee bei jeder Messung auf ein signifikant höheres Niveau, außer bei Minute 50 zu Minute 60. Für Kaffee wurde mit einer Erhöhung um 52% von Minute 10 (113 $\mu\text{S}/\text{cm}$) zu Minute 90 (171 $\mu\text{S}/\text{cm}$) die höchste Steigerung verzeichnet. Die Proben von Mais unterschieden sich ab der Messung bei Minute 50 (159 $\mu\text{S}/\text{cm}$) nicht mehr signifikant von der bei Minute 90 (178 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Für Kaffee war zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied zum Mittelwert aller Pflanzenarten zu verzeichnen. Die Werte von Sorghum befanden sich im Vergleich zum Mittelwert durchgehen auf einem signifikant niedrigeren Niveau. Bei Mais waren die Messwerte bei Minute 70 ($p=0,0049$) signifikant verschieden zum Mittelwert aller beprobten Pflanzenarten. Zwischen Mais und Kaffee konnten keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden. Sorghum war sowohl zu Kaffee als auch zu Mais über den gesamten Messzeitraum signifikant geringer.

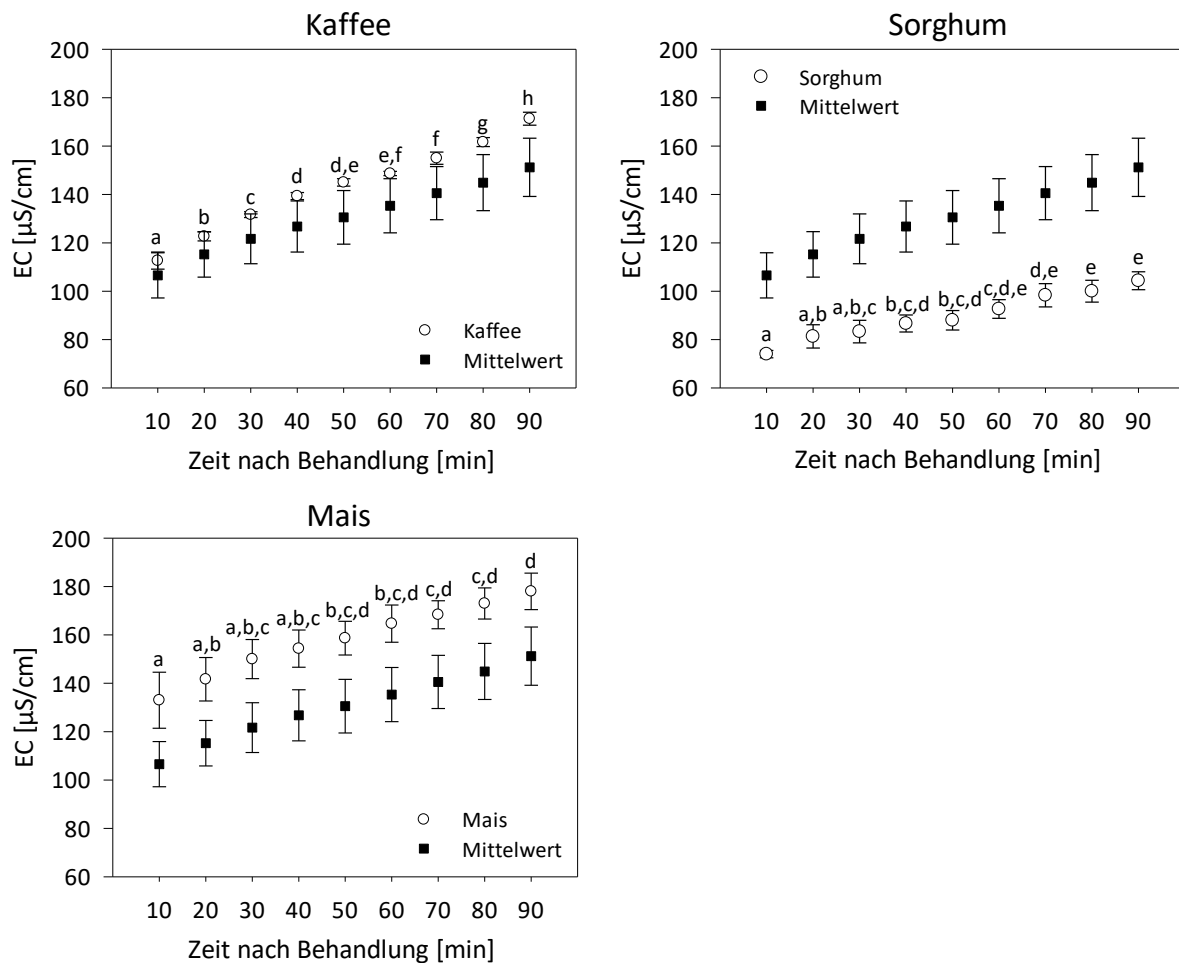


Abbildung 9: EC im Verlauf der Zeit nach 10 Minuten Kochen. In jeder Teilgraphik sind die Mittelwerte (n=3) und Standardfehler der einzelnen Pflanzenarten (Kreis) und der gemittelten Werte aller Proben (Quadrat) dargestellt. Der erste Messzeitpunkt war 10 Minuten nach dem Kochen. Mittelwerte der einzelnen Pflanzenarten mit unterschiedlichen Buchstaben sind signifikant verschieden ($p < 0,05$).

4.3.3 Flüssiger Stickstoff

Die Erhöhung der Dauer der Behandlung mit flüssigem Stickstoff hatte keinen erkennbaren Einfluss auf die EC nach 90 Minuten (Abbildung 10). Die EC der Proben von Kaffee befanden sich für alle Behandlungen im Bereich von 139 bis 142 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Bei Sorghum ergab die einminütige Behandlung (67 $\mu\text{S}/\text{cm}$) eine geringere EC als die der anderen Behandlungen, welche mit 75 $\mu\text{S}/\text{cm}$ im Mittelwert alle identisch waren. Bei den Proben von Mais, Süßkartoffel_{Schatten} und Süßkartoffel_{Licht} waren die Messwerte nach den unterschiedlichen Behandlungen variabler. In beiden Süßkartoffelproben war die EC nach 2,5 Minuten in flüssigem Stickstoff am geringsten. Bei Süßkartoffel_{Schatten} wurde nach der fünfminütigen Behandlung der Maximalwert erreicht, für Süßkartoffel_{Licht} dagegen nach der einminütigen Behandlung. Bei Mais war die EC nach der 10 Minuten-Behandlung maximal. Allerdings war innerhalb einer Pflanzenart keiner der Unterschiede nach den verschiedenen Behandlungen signifikant.

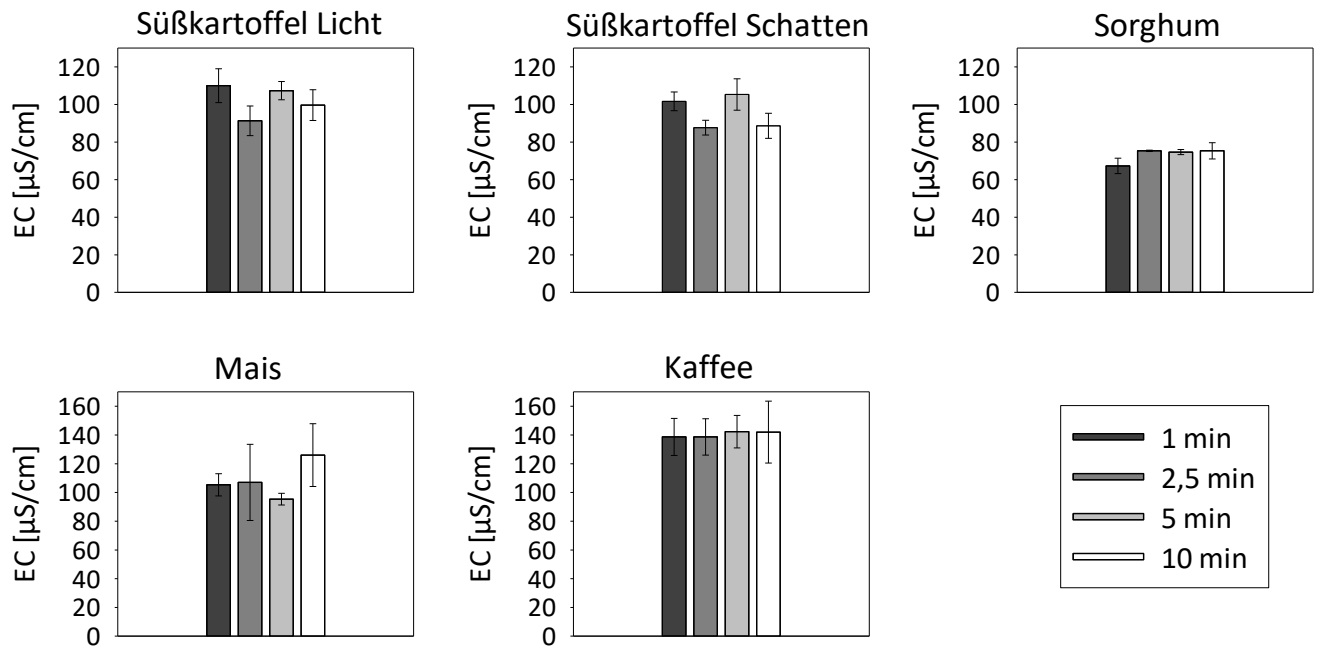


Abbildung 10: EC nach unterschiedlicher Dauer der Behandlung mit N_2 . Dargestellt sind die Mittelwerte der einzelnen Pflanzenarten ($n=3$) 90 Minuten nach der Anwendung von N_2 und die Standardfehler.

In Abbildung 11 ist die EC im Zeitraum von 90 Minuten nach unterschiedlich langer Stickstoffbehandlung, exemplarisch für Mais und Kaffee, dargestellt. Die Messwerte der unterschiedlichen Behandlungen lagen für Kaffee bei jedem Messzeitpunkt nah beieinander. Nur die Messwerte nach der fünfminütigen Anwendung von Stickstoff waren nach Minute 20 sichtbar höher als die anderen, aber glichen sich bis Minute 90 den anderen Werten an. Es wurden zu keinem der Messzeitpunkte signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungen festgestellt. Die Messreihen von Sorghum ähneln der von Kaffee, nur, dass sie sich insgesamt auf einem niedrigeren Niveau bewegen. Bei Mais war die Spannweite der EC der unterschiedlichen Behandlungen größer. Ab Minute 20 hat die Messreihe nach der 10 Minuten-Behandlung die höchsten Werte. Die fünfminütige Behandlung erbrachte bis Minute 90 die niedrigsten Werte für Mais. Auch bei Mais ist der Großteil dieser Unterschiede nicht signifikant. Lediglich die EC bei Minute 10, im Vergleich zwischen der 1- und 2,5-Behandlung, sowie bei Minute 20 zwischen der 5- und der 10-Minuten Behandlung mit Stickstoff, war signifikant verschieden. In den Proben von Sorghum, Süßkartoffel_{Schatten} und Süßkartoffel_{Licht} waren die Messwerte der unterschiedlichen Behandlungen nicht signifikant verschieden.

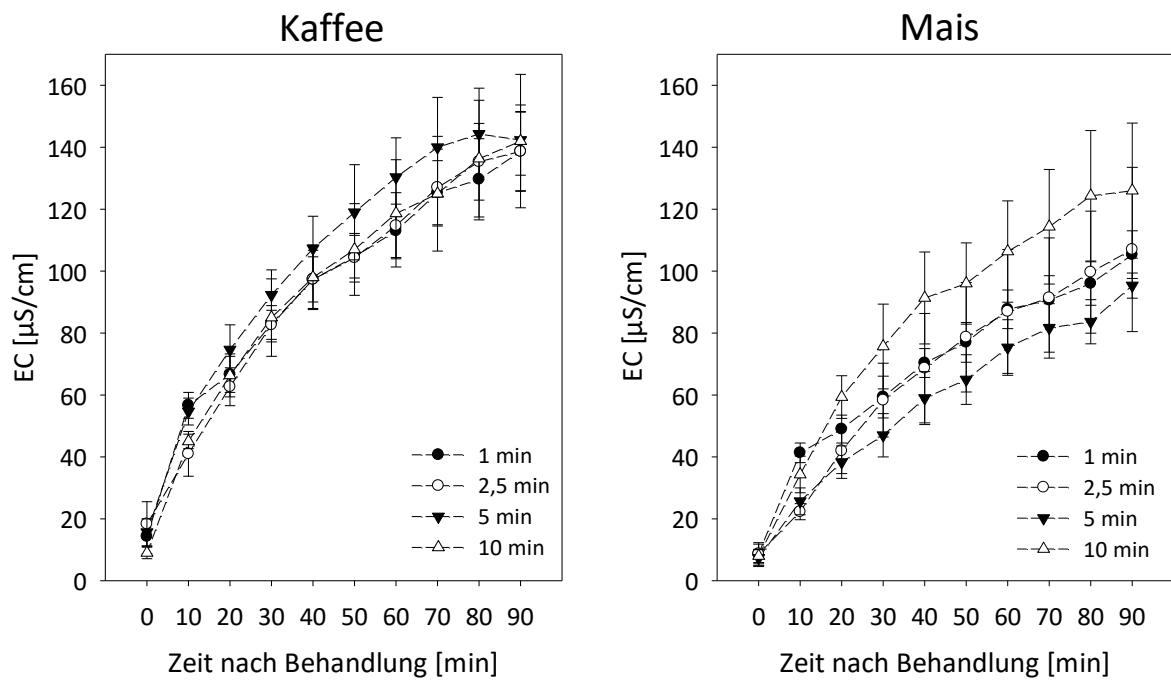


Abbildung 11: EC im Verlauf der Zeit nach unterschiedlich langer Behandlung mit N_2 . Dargestellt sind die Mittelwerte ($n=3$) und Standardfehler. Minute 0 bezeichnet den Zeitpunkt der Messung, die direkt nach der N_2 -Behandlung stattfand. Exemplarisch wurden die Verlaufskurven von Kaffee und Mais ausgewählt. Zur besseren Lesbarkeit sind die einzelnen Messwerte einer Behandlung mit Linien verbunden.

Abbildung 12 stellt die EC der beprobten Pflanzenarten nach 10-minütiger Stickstoffbehandlung dar. Wie im vorherigen Versuch gezeigt wurde, gab es zwischen der EC, nach unterschiedlich langer Dauer der Stickstoffbehandlung, keine signifikanten Unterschiede. Im folgenden Abschnitt wird nur die 10-Minuten Anwendung von flüssigem Stickstoff genauer betrachtet. Für alle beprobten Pflanzenarten wurde ein Anstieg der EC über den gesamten Messzeitraum festgestellt. Durchschnittlich hat sich die EC um den Faktor 13, von 8 auf $106 \mu\text{S}/\text{cm}$, erhöht. In den Proben von Kaffee, Süßkartoffel_{Licht} und Süßkartoffel_{Schatten} war die EC ab Minute 50 nicht von den später gemessenen Werten signifikant verschieden. Bei Mais bereits ab Minute 40. Bei Sorghum war erst ab Minute 70 keine Signifikanz zum Endwert zu verzeichnen. Bei der ersten Messung befanden sich die EC der Proben bei allen Pflanzenarten auf einem ähnlichen Niveau zwischen $6,6$ und $10,3 \mu\text{S}/\text{cm}$. Innerhalb der ersten 10 beziehungsweise 20 Minuten stieg die EC der Proben von Mais und Kaffee über den Durchschnitt und blieb bis zum Ende der Messungen darüber. Dagegen war die EC der Probe von Sorghum ab dem ersten Messzeitpunkt niedriger als der Mittelwert aller Pflanzenarten. Die EC von Süßkartoffel_{Schatten} befand sich auch leicht unter dem Durchschnitt, während die von Süßkartoffel_{Licht} nahezu dem Mittelwert aller Pflanzen gleich. Bei Minute 90 war der Messwert von Sorghum zu Kaffee ($p=0,0387$), sowie zum Mittelwert ($p=0,0221$) signifikant geringer. Zwischen den anderen Pflanzen war zu diesem Zeitpunkt kein signifikanter Unterschied zu verzeichnen.

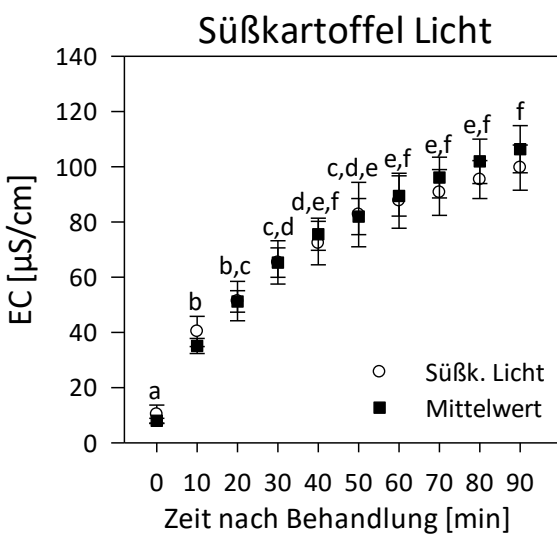
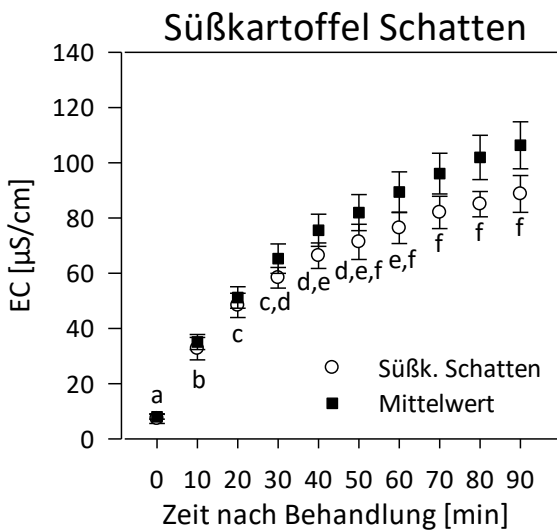
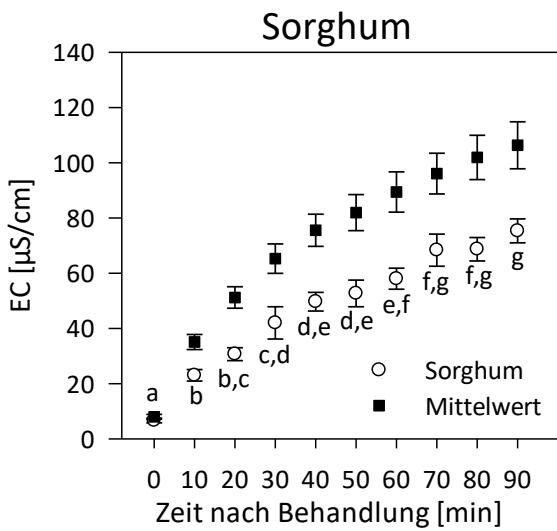
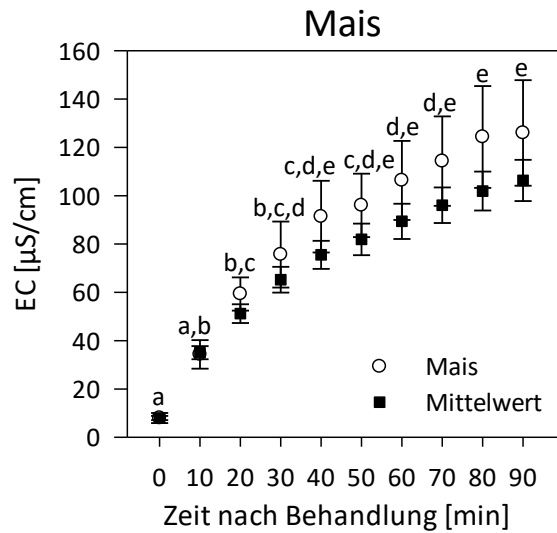
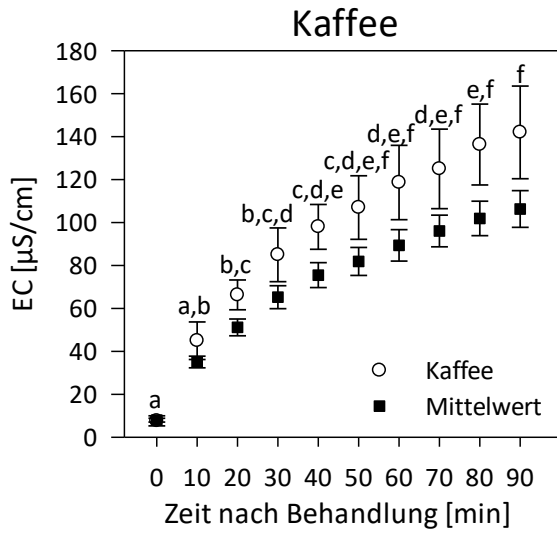


Abbildung 12: EC im Verlauf der Zeit nach 10-minütiger Behandlung mit flüssigem N₂. In jeder Teilgraphik sind die Mittelwerte (n=3) und Standardfehler der einzelnen Pflanzen (Kreis) sowie der gemittelten Werte aller Pflanzen (Quadrat) dargestellt. Mittelwerte der einzelnen mit unterschiedlichen Buchstaben sind signifikant verschieden (p<0,05).

4.3.4 Vergleich der Behandlungen

Am Beispiel von Kaffeeblattscheiben wurde die EC vor der Behandlung und dann im Zeitraum von 90 Minuten nach einer 10-minütigen Behandlung mit flüssigem Stickstoff, in der Mikrowelle oder Kochen untersucht (Abbildung 13).

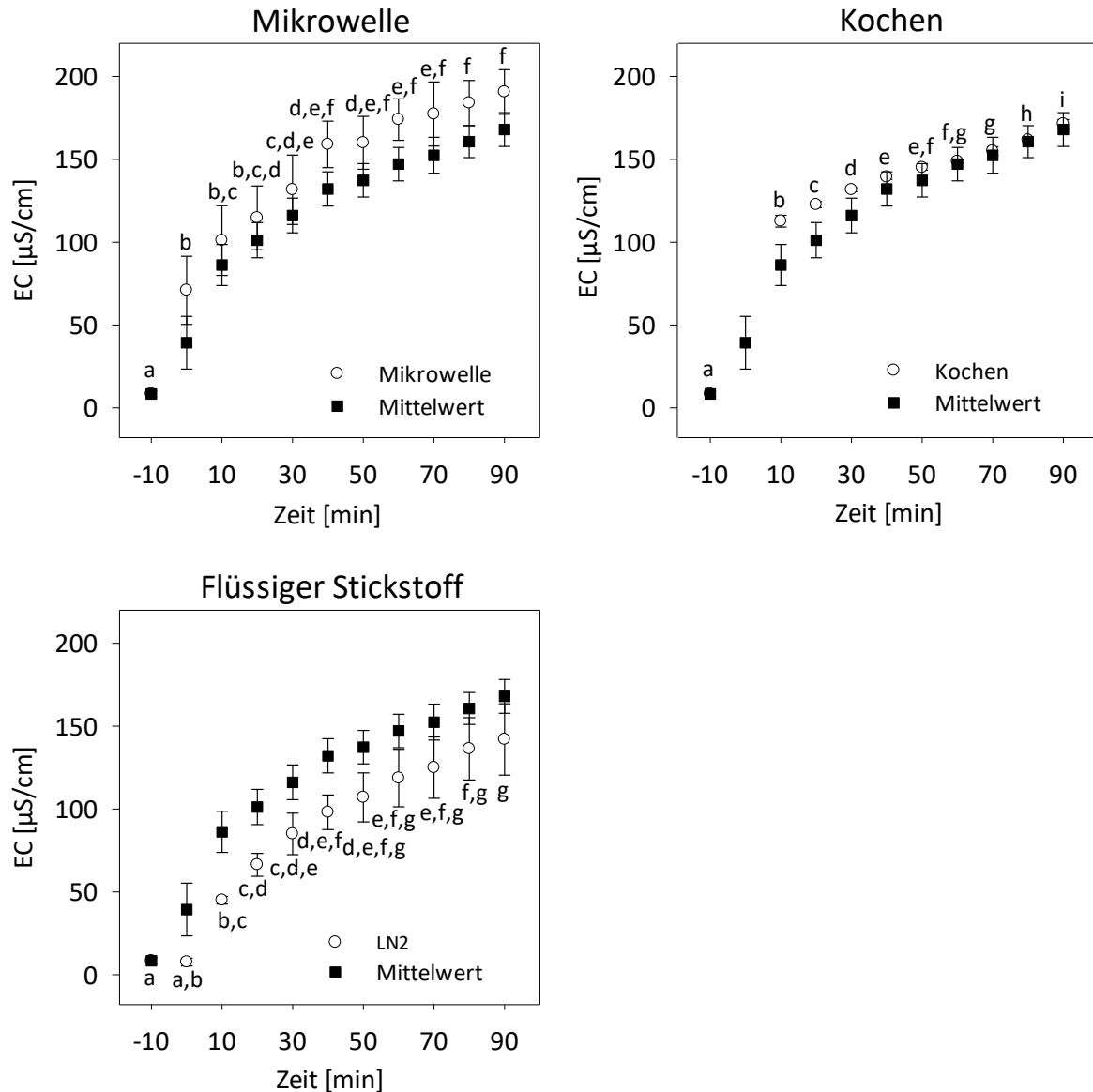


Abbildung 13: EC im Verlauf der Zeit von Kaffeeblattscheiben nach 10 Minuten Kochen, Mikrowelle oder flüssigem N_2 . Zeitpunkt -10 ist der Messzeitpunkt vor der Behandlung, Zeitpunkt 0 die Messung direkt nach der Behandlung. Für Kochen fehlt dieser Wert, da die Probe noch zu warm für das EC-Meter war. Dargestellt sind die Mittelwerte ($n=3$) und Standardfehler der einzelnen Behandlungen sowie gemittelt über alle Methoden. Mittelwerte der einzelnen Pflanzen mit unterschiedlichen Buchstaben sind signifikant verschieden ($p<0,05$).

Die EC nach dem Kochen und nach der Mikrowelle stieg innerhalb von 10 Minuten auf über 100 $\mu\text{S/cm}$ und war signifikant höher als die EC vor der Behandlung. Die EC bei Messung direkt nach der Behandlung mit flüssigem Stickstoff unterschied sich nicht von der EC der noch unbeschädigten Blätter und stieg bis Minute 10 auf 45 $\mu\text{S/cm}$. Die EC der gekochten Blattscheiben stieg zunächst stärker an als der Durchschnitt, aber befand sich ab Minute 60

auf Durchschnittsniveau. Zwischen Minute 70 und 90 stieg die EC zu jedem Messzeitpunkt auf einen signifikant höheren Wert. Dagegen unterschied sich die EC der Proben nach der Mikrowelle ab Minute 40 und die nach flüssigem Stickstoff ab Minute 50 nicht signifikant zum Endwert. Nach der Mikrowelle befand sich die EC der Proben stets über dem Durchschnitt und erreichte mit $190 \mu\text{S}/\text{cm}$ bei Minute 90 insgesamt den höchsten Wert. Die Behandlung mit flüssigem Stickstoff erbrachte die über den gesamten Messzeitraum geringste EC. Bei Minute 90 wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen der EC der Behandlungen festgestellt.

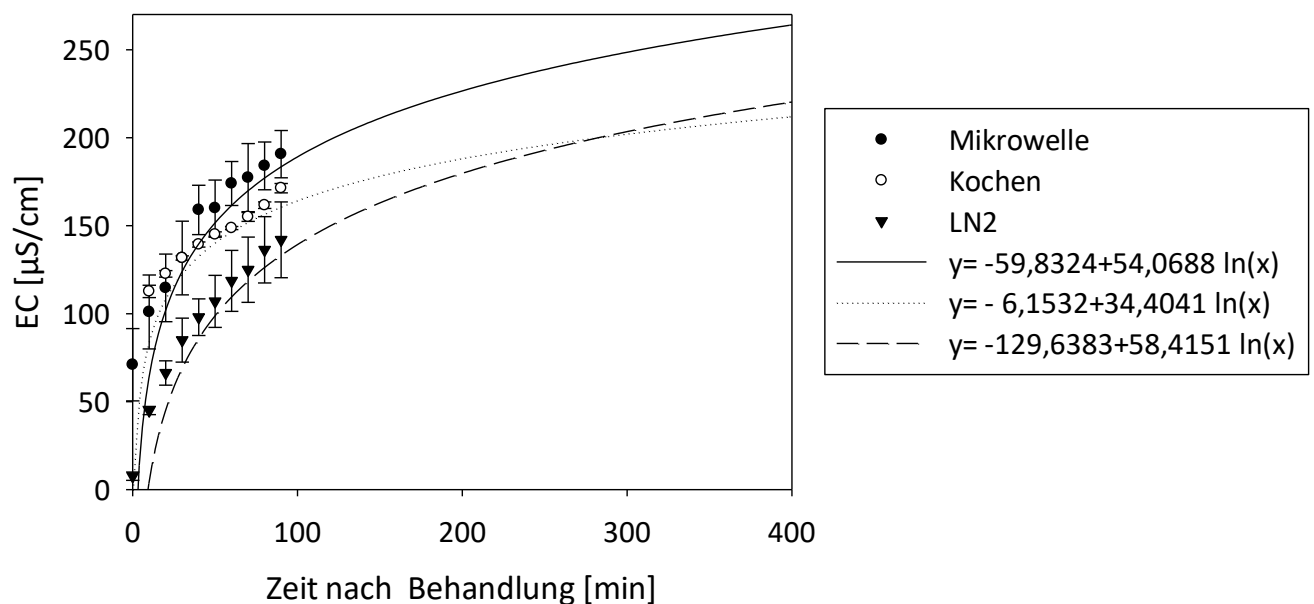


Abbildung 14: EC über die Zeit nach 10 Minuten Kochen, Mikrowelle oder LN2 von Kaffeeblattscheiben und deren Trendlinie. Dargestellt sind die Mittelwerte ($n=3$) und Standardfehler.

Abbildung 15 zeigt die Trendlinien der Messwerte nach den unterschiedlichen Behandlungen. Die Behandlung Kochen und Mikrowelle bewirkten einen etwa gleich schnellen Anstieg der EC. Ab Minute 50 flacht die Kurve der gekochten Proben jedoch ab. Dagegen steigt der Graph der Proben nach der Mikrowellenbehandlung weiter auf das höchste Niveau. Die Werte der Proben, die mit flüssigem Stickstoff behandelt wurden, stiegen am langsamsten und blieben im Messzeitraum am niedrigsten. Ihre Trendlinie nähert sich der der Behandlung Kochen und prognostiziert nach dem Ablauf von circa 280 Minuten eine höhere EC als die der gekochten Proben.

4.4 Trockenmasse

Wie in Abbildung 16 ersichtlich ist, sind die Trockenmassen der Blätter der beprobten Pflanzenarten sehr unterschiedlich. Die Trockenmasse der Blattscheiben von Kaffee war am höchsten und unterschied sich signifikant zu den anderen Arten. Die Trockenmasse der

Blätter von Süßkartoffel_{Schatten} waren dagegen signifikant geringer als die anderen Proben. Auch für die Maisproben wurde zu jeder anderen Probe ein signifikanter Unterschied festgestellt. Nur zwischen der Trockenmasse der Süßkartoffel_{Licht}- und der Sorghumblätter konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

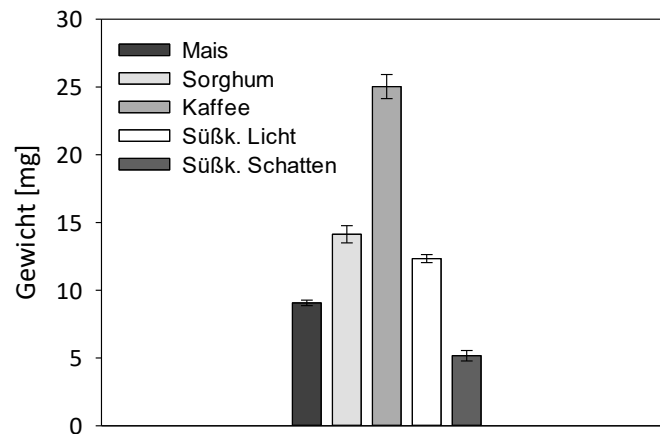


Abbildung 15: Trockenmasse von 3 Blattscheiben einer Pflanzenart. Dargestellt sind die Mittelwerte (n=3) und Standardfehler.

4.4 Lichtstress

Abbildung 15 zeigt die EC nach unterschiedlicher Dauer der Lichtbehandlung bei verschiedener Anzahl von Blattscheiben. Abgesehen von den Messwerten nach 2 Stunden Beleuchtung der Probe, mit 5 beziehungsweise mit 10 Blattscheiben, waren die Messwerte der unterschiedlichen Proben signifikant verschieden.

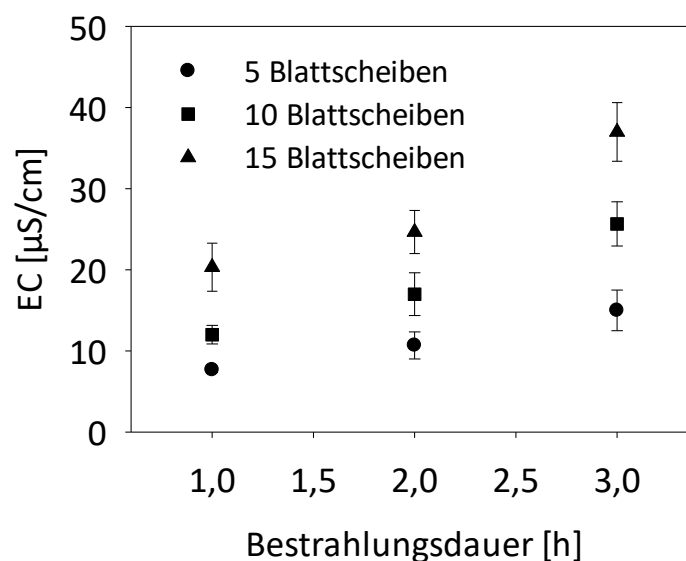


Abbildung 16: EC nach Lichtstress mit Proben unterschiedlicher Anzahl von Blattscheiben von Kaffee. Dargestellt sind die Mittelwerte (n=3) und Standardfehler.

Für alle Pflanzenproben stieg die EC mit ansteigender Beleuchtungsdauer, wie in Abbildung 17 zu sehen ist. Nur in den Proben von Süßkartoffel_{Licht} und Süßkartoffel_{Schatten} brachte die Erhöhung der Behandlung von einer auf zwei Stunden eine signifikante Erhöhung der EC hervor ($p=0,0065$; $p=0,0016$). Während bei letztgenannter sich die EC nach der dreistündigen Bestrahlung von der nach der zweistündigen Behandlung signifikant unterschied ($p=0,0025$), war bei Süßkartoffel_{Licht} dort keine Signifikanz zu verzeichnen. Bei Kaffee wurde nur bei der Verlängerung von einer auf drei Stunden Beleuchtung eine signifikante Erhöhung der EC vermerkt ($p=0,0425$). Ebenso war dies für die Messwerte der Proben von Mais ($p=0,0247$) und Sorghum ($0,0461$). Für jede der beprobten Pflanzenarten war der absolute Anstieg der EC von zwei zu drei Stunden Bestrahlung größer als der von eins zu zwei Stunden. Die EC der Proben von Mais und Süßkartoffel_{Licht} befanden sich über den Messzeitraum auf einem leicht niedrigeren Niveau als der Mittelwert aller Pflanzenarten. Die EC der Sorghumproben war nahezu identisch zum Mittelwert. Dagegen war die EC der Proben von Süßkartoffel_{Schatten} durchgehend geringer, und die von Kaffee durchgehend höher als der gemittelte Wert aller Arten. Keiner dieser Unterschiede zum Mittelwert war signifikant. Zwischen den Pflanzenarten wurden signifikante Unterschiede festgestellt. Bei den ersten beiden Messzeitpunkten war die EC der Kaffeeproben signifikant höher als die Proben der anderen Pflanzenarten. Nach 3 Stunden Beleuchtung war keiner der Unterschiede zwischen den Pflanzenarten signifikant.

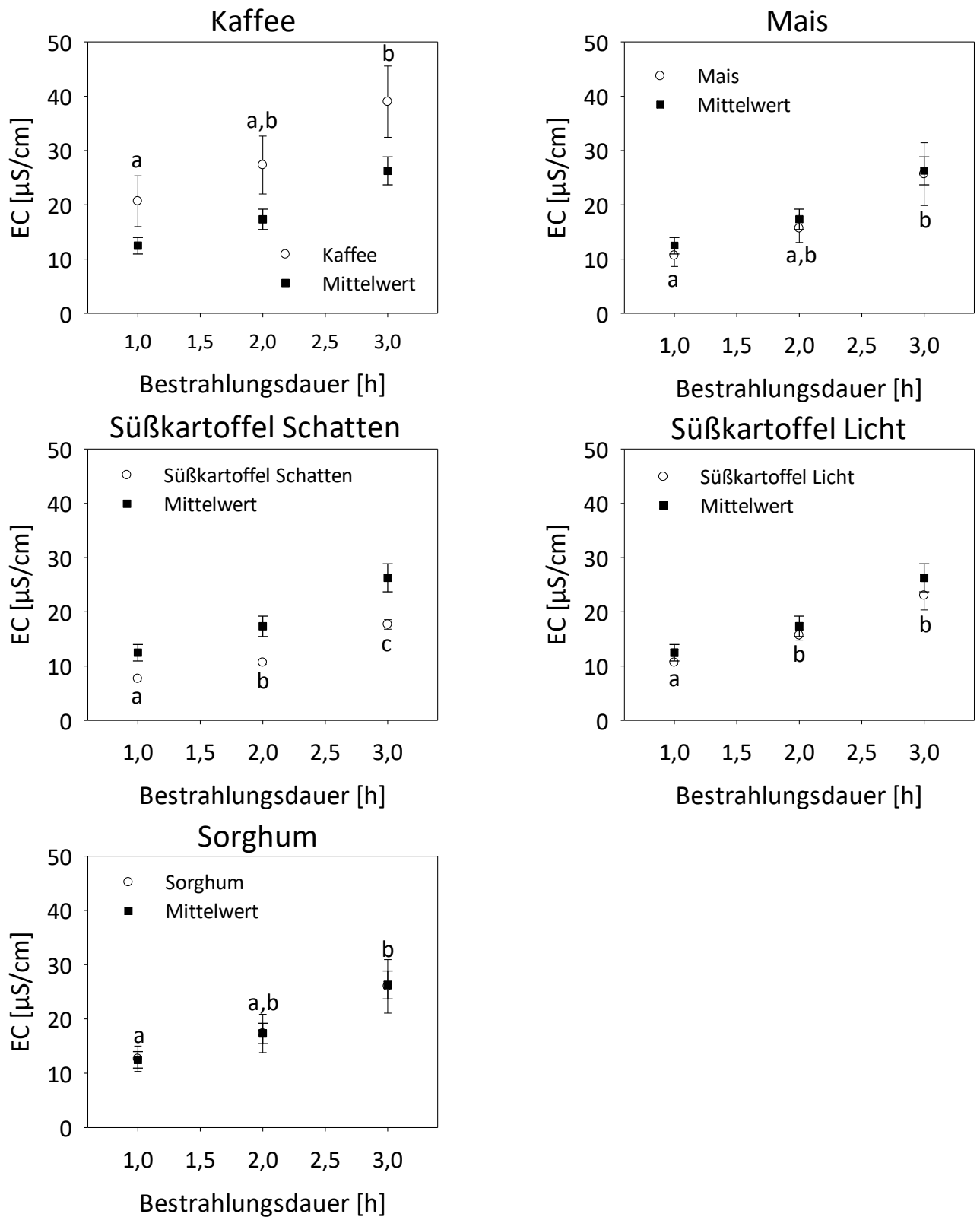


Abbildung 17: EC nach unterschiedlicher Bestrahlungsdauer. Dargestellt sind die Mittelwerte (n=3) und Standardfehler der Pflanzenarten. Mittelwerte der einzelnen Pflanzen mit unterschiedlichen Buchstaben sind signifikant verschieden (p<0,05).

4.5 Die Ergebnisse der optimierten Versuchsdurchführung

Das Protokoll zur optimierten Versuchsdurchführung befindet sich im Anhang.

Die gemessenen EC-Werte wurden wie folgt in % Schaden umgerechnet:

$$\text{Schaden [\%]} = (\text{EC}_{\text{Lichtstress}} - \text{EC}_{\text{Nullwert}}) / (\text{EC}_{\text{Maximalwert}} - \text{EC}_{\text{Nullwert}}) * 100$$

Wie in Abbildung 18 zu erkennen ist, resultierte die Zunahme der Bestrahlungsdauer bei allen beprobten Pflanzenarten in einer Zunahme der verursachten Schädigung. Bei Kaffee war diese am höchsten. Mit 14% nach zwei Stunden lag sie doppelt so hoch als die von Mais und 4% über der Schädigung von Sorghum. Die Erhöhung der Schädigung nach einer Stunde Bestrahlung war weder für die Proben von Kaffee noch für die von Sorghum signifikant. Auch die Schädigung nach zwei Stunden Belichtung unterschied sich nicht signifikant von der nach einer Stunde. Nach zwei Stunden war die Schädigung von Kaffee ($p=0,0246$) und Sorghum ($p=0,0159$) signifikant höher als zu Beginn. Die Maisproben wiesen die geringste Schädigung vor. Die Erhöhung der Bestrahlungsdauer von einer auf zwei Stunden ergab eine signifikante Erhöhung der Schädigung von Mais ($p=0,0099$). Zu keinem Messzeitpunkt konnten signifikante Unterschiede zwischen den Pflanzen festgestellt werden.

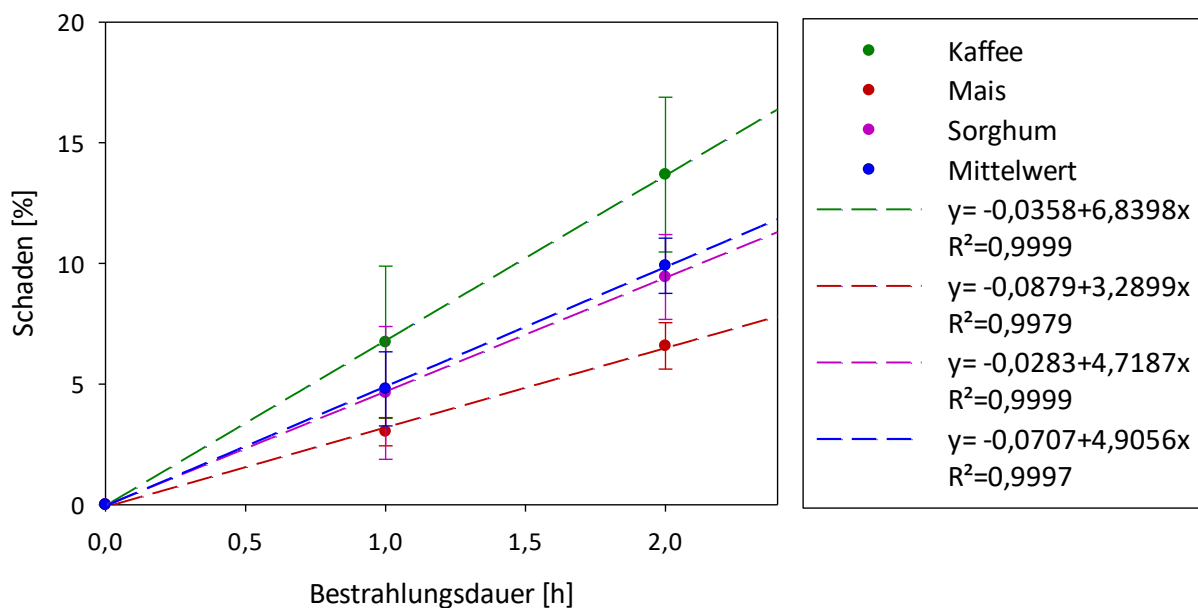


Abbildung 18: Schaden [%] in Abhängigkeit von der Dauer der Lichtbehandlung. Dargestellt sind die Mittelwerte (n=3) und Standardfehler sowie die Trendlinien der Werte der einzelnen Pflanzen.

5 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es zunächst, die Durchführung dieses Versuchs zu modifizieren, Fehlerquellen zu beseitigen und das Experiment so zu optimieren. Mit dem sich daraus entwickelten Versuch wurde die Empfindlichkeit von Lichtstress unterschiedlich lichtadaptierter Pflanzen verglichen. Hierfür wurden die Sonnenpflanzen Mais und Sorghum und die Schattenpflanze Kaffee verwendet. Die Süßkartoffeln wurden aus dem in Abschnitt 5.5.2 genannten Grund nicht untersucht.

5.1 Vorbereitung der Blattscheiben

Es konnte ein signifikanter Unterschied zwischen der EC ungewaschener und der EC gewaschener Blattscheiben nachgewiesen werden. Es ist davon auszugehen, dass bei dem Ausstechen der Blattscheiben Zellen mechanisch verletzt werden. Die EC der ungewaschenen Blattscheiben war bereits bei Minute 0 deutlich höher als die der gewaschenen Proben (Abbildung 3). Durch den Korkbohrer wurden vermutlich sowohl die Zellmembran als auch die Zellwand beschädigt, wodurch das Zytoplasma sich ohne Barriere in das umgebende Wasser ausbreiten konnte und durch darin enthaltene Ionen rasch die EC erhöhen konnte. Für diese Annahme spricht, dass die EC bereits bei der Messung direkt nach Zugabe des Wassers in den ungewaschenen Proben deutlich höher war als in den gewaschenen Blattproben. Innerhalb der ersten 15 Minuten erhöhte sich die EC der Proben der ungewaschenen Blattproben von 7 auf 12 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Allerdings könnte diese starke Erhöhung auch mit Verschmutzungen auf der Blattoberfläche zusammenhängen. Darüber könnte ein weiterer Versuch Aufschluss geben, bei dem die Blätter vor dem Ausstanzen abgespült werden und ein Teil der Blattscheiben anschließend nochmals gewaschen wird. In ähnlichen Versuchsdesigns wurden die Blattscheiben, wie in diesem Versuch, einmal gewaschen (Sairam et al. 1997), teilweise wurden jedoch auch drei Waschgänge durchgeführt (Agarie et al. 1995; Blum und Ebercon 1981). Möglicherweise ist dadurch die Verunreinigung der Proben durch das Auslaufen verwundeter Zellen noch geringer.

5.2 Nullwert

Diese Proben entsprechen der 0% Kontrolle. Dieser Wert wurde benötigt, um die Veränderung der EC durch Lichtstress oder der 100% Kontrollen auf die Behandlung zurückzuführen. Wie in Abbildung 4 zu sehen ist, stieg für alle beprobten Pflanzenarten die EC innerhalb von 45 Minuten. Durchschnittlich betrug die Zunahme in diesem Zeitraum 47% von 1,3 auf 1,9 $\mu\text{S}/\text{cm}$ und war signifikant ($p=0,0002$). Es ist möglich, dass das einmalige Waschen der Blattscheiben nach dem Ausstanzen nicht ausreicht, um das ausgetretene Zytoplasma verletzter Zellen abzuspülen, oder eine längere Waschdauer nötig gewesen wäre. In den Versuchen wurde Milliporewasser verwendet. Daher bestand ein Konzentrationsgefälle von Ionen im Blattgewebe zum umgebenden Milliporewasser. Somit war der Antrieb für die Diffusion von Ionen aus dem Blattgewebe gegeben. Nach Kocheva et al. (2005) kann der Austausch von Ionen zwischen dem Pflanzengewebe und der

Umgebungsflüssigkeit durch die Einteilung in zwei Phasen charakterisiert werden: Die erste Phase, in der die EC schnell steigt und die zweite Phase, in der die EC langsamer zunimmt. Der schnelle Anstieg geschieht durch Diffusion der Ionen aus dem Apoplasten. In der zweiten Phase hat die Funktionalität der Plasmamembran und der Ionengehalt der Zelle Einfluss auf die Erhöhung der EC (Kocheva et al. 2005). Der Übergang von Phase 1 in Phase 2 geschieht ungefähr nach einer Stunde (Kocheva et al. 2005). Da der Messzeitraum dieses Versuchs eine Stunde betrug, ist die Erhöhung der EC wahrscheinlich hauptsächlich auf Diffusion aus dem Apoplasten zurückzuführen. Neben physikalisch-chemischen Faktoren ist der Ionenaustausch auch von der Dicke der Zellwand und Ionenkonzentration im Apoplasten abhängig (Kocheva et al. 2005). Dies könnten auch die Ursachen der unterschiedlichen EC der beprobten Pflanzenarten sein. Bei der Messung nach 15 Minuten wurden signifikante Unterschiede zwischen Pflanzenarten festgestellt. Am Ende des Messzeitraums waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Pflanzenarten und zum Mittelwert zu bemerken. Dennoch wurde in der optimierten Versuchsdurchführung für jede Pflanzenart jeweils ein Nullwert bestimmt, da die Durchführung zur Messung des Nullwerts kaum Mehraufwand bedarf. Außerdem bezieht sich dieser Nullwert nur auf die beprobten Pflanzen Kaffee, Mais, Sorghum und Süßkartoffel. Würde der Versuch mit anderen Pflanzen wiederholt, ist nicht gewährleistet, dass deren Nullwert dem dieser Pflanzen ähnelt.

5.3 Maximalwert

5.3.1 Mikrowelle

Es konnte nachgewiesen werden, dass die Erhöhung der Dauer der Mikrowellenbehandlung die EC beeinflusst (Abbildung 5). Die 10-minütige Behandlung resultierte in der höchsten EC ($45 \mu\text{S}/\text{cm}$), welche sich signifikant von den Werten der 3- und 5-minütigen Behandlung unterschied. Die kürzeren Behandlungszeiten reichten wahrscheinlich nicht aus, um die Zellmembran im selben Ausmaß wie nach 10 Minuten Behandlung zu zerstören. Außerdem wurde die Stoppuhr gleichzeitig mit dem Beginn der Behandlung in der Mikrowelle gestartet. Somit wurde die Zeit, in der die Proben noch nicht gekocht wurden, mitgezählt. Der Anteil dieser Zeit am gesamten Messzeitraum ist im Verhältnis für die 3 und 5 Minutenbehandlung größer als für die 10-Minütige. Dennoch ist festzuhalten, dass die kürzeren Behandlungszeiten nicht ausreichten, um die maximale Schädigung der Blattscheiben zu bewirken. Um eine Aussage darüber zu treffen, ob die 10-minütige Behandlungsdauer ausreicht, um den Maximalwert zu erreichen, müsste der Versuch mit längeren Behandlungszeiten wiederholt werden.

Bei Betrachtung der Abbildung 6 ist zu sehen, dass sich die EC nach einer 10-minütigen Mikrowellenbehandlung, mit zunehmendem Zeitabstand zur Behandlung, erhöht. Direkt bei Start der Messreihe betrug die EC $71 \mu\text{S}/\text{cm}$ und erhöhte sich innerhalb von 90 Minuten auf $190 \mu\text{S}/\text{cm}$. Der Wert direkt nach der Behandlung entspricht also nicht dem Maximalwert. Das liegt vermutlich daran, dass die Diffusion der Ionen aus der Zelle zu diesem Zeitpunkt nicht abgeschlossen war. Ab Minute 40 unterschieden sich die Messwerte nicht signifikant zum Endwert bei Minute 90. Bei Betrachtung der Trendlinie für die Behandlung Mikrowelle in Abbildung 14 ist auch nach der 90. Minute eine Steigerung der EC zu erwarten.

5.3.2 Kochen

Mit Zunahme der Kochdauer erhöhte sich die gemessene EC, wie in Abbildung 8 ersichtlich ist. Durch die Erhöhung der Kochdauer von 5 auf 20 Minuten hatte sich die EC von 28,5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ auf 59,25 $\mu\text{S}/\text{cm}$ mehr als verdoppelt. Die Erhöhung von 20 auf 40 Minuten erbrachte einen Anstieg der EC um 29% auf 76,25 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Es ist also eine Abflachung der Erhöhung der EC in diesem Kochzeitraum erkennbar. Versuche von Prášil und Zámečník (1990) zeigten, dass zwischen der Kochdauer von 5, 15 und 30 Minuten kein Unterschied in der dadurch erreichbaren maximalen EC besteht (Prášil und Zámečník 1990). In ihren Versuchen wurde festgestellt, dass durch die Kochdauer die Zeit, in der der Maximalwert erreicht wird, beeinflusst wird. Sie zeigten für Proben von Rapsblättern, nach 30 Minuten Kochen, ein Erreichen des Maximalwerts nach einer Dauer von 30 Minuten. Bei 5 Minuten Kochen war der Maximalwert nach 2 Stunden und nach 15 Minuten Kochen nach 1-2 Stunden erreicht. Dieser Anstieg der EC bei zunehmendem Zeitabstand zu einer Behandlung konnte auch in dieser Arbeit gezeigt werden (Abbildung 9). Die Proben wurden nach 10-minütigem Kochen über den Zeitraum von 90 Minuten beobachtet. Für alle beprobten Pflanzenarten stieg die EC über den gesamten Zeitraum. Aus der Trendlinie für Kaffeeproben nach Kochen in Abbildung 14 ist eine Sättigung der EC nach circa 250 Minuten abzuleiten. Im Gegensatz zu dem Versuch von Prášil und Zámečník, wurden die Proben in diesem Versuch nicht geschüttelt. Möglicherweise ist das der Grund für die längere Zeitspanne bis Erreichen des Maximalwerts, die sich aus diesem Versuch ergab.

Zwischen den beprobten Pflanzenarten konnten Unterschiede in der maximal erreichbaren EC nachgewiesen werden (Abbildung 9). Die Proben von Mais und Kaffee waren im gesamten Messzeitraum höher als der Mittelwert aller beprobten Arten. Am niedrigsten waren die Werte der Sorghumproben. Sie waren signifikant verschieden zu den Proben von Mais und Kaffee und dem Mittelwert. Die Sorghumpflanzen hatten zum Zeitpunkt der Versuche bereits Samen gebildet. Einjährige Pflanzen sterben nach der Reproduktion ab (Larcher 1994). Demnach ist in diesen Pflanzen die Reproduktion mit der Alterung der Pflanze verknüpft (Krupinska 2007). Es kommt zur Translokalisierung von mobilisierbaren Molekülen und Nährstoffen in die reproduktiven Organe. Somit wäre ein geringerer Gehalt an Ionen im Blattgewebe vorhanden. Möglicherweise ist das die Ursache des geringen Maximalwerts, der für Sorghum ermittelt wurde. Die Maispflanzen befanden sich im Zeitraum der Versuche vor und während der Blüte.

Die Unterschiede der EC der Pflanzenarten könnten auch durch verschiedenes Diffusionsverhalten ihrer Blattproben entstanden sein, was unter Punkt 5.2 genauer betrachtet wird.

In den Versuchen dieser Arbeit wurde mit einer definierten Blattfläche gearbeitet. Die Massen der Blattscheiben der unterschiedlichen Pflanzenarten sind signifikant verschieden (Abbildung 15). Die Trockenmasse der Kaffeeblattscheiben war am höchsten. Damit könnte die überdurchschnittlich hohe EC der Kaffeeblattscheiben erklärt werden. Die Maisblätter hatten im Vergleich mit Kaffee und Sorghum die geringste Masse, erzielten jedoch nach 10 Minuten Kochen die höchste EC. Möglicherweise enthielten die Blattscheiben der gekochten

Probe mehr Leitbahnen. Durch Austritt des Xylemsafts in das Milliporewasser könnte die EC diese hohen Werte erreicht haben.

5.3.3 Flüssiger Stickstoff

Bei der Untersuchung des Effekts verschieden langer Behandlungen mit flüssigem Stickstoff auf die EC, waren die Ergebnisse diffus (Abbildung 10 & 11). Die EC der Proben von Kaffee und Sorghum waren 90 Minuten nach der Stickstoffbehandlung für alle Behandlungslängen ähnlich hoch. Bei Mais wurde der höchste Wert nach der 10-minütigen Behandlung erreicht. Bei Süßkartoffel_{Schatten} dagegen nach der 5-minütigen Behandlung. Keiner der Unterschiede zwischen den Behandlungen war signifikant. Daher lagen diese Unterschiede wahrscheinlich an der Heterogenität der Blattproben.

Der Anstieg der EC mit zunehmendem Zeitabstand zur Behandlung konnte auch für die Anwendung von flüssigem Stickstoff beobachtet werden (Abbildung 12). Allerdings vollzieht sich die Erhöhung langsamer als bei den Proben nach der Mikrowelle oder nach dem Kochen. Der Diffusion liegt die Brownsche Molekularbewegung zugrunde und sie ist somit temperaturabhängig. Je niedriger die Temperatur ist, desto geringer ist die Teilchenbewegung und desto langsamer vollstreckt sich die Diffusion. Die Temperatur von flüssigem Stickstoff beträgt -196°C . Der verzögerte Anstieg der EC nach der Stickstoffbehandlung ergibt sich wahrscheinlich aus der niedrigen Temperatur der Probe und der damit verbundenen langsamen Diffusion. Dieser Befund deckt sich mit den Ergebnissen der Versuche von Prášil und Zámečník (1990). Die Kältebehandlung mit Stickstoff in ihrem Versuch bestand aus dem kurzen Eintauchen der Proben in flüssigen Stickstoff. Anschließend wurden die Proben in destilliertes Wasser gegeben und geschüttelt. Der Maximalwert der Blattproben wurde nach 3 Stunden erreicht. Nach der Trendlinie in Abbildung 14 tritt die Sättigung der EC erst nach circa 6 Stunden auf. Vermutlich ist die Zunahme der EC aus diesem Versuch langsamer, da die Proben nicht geschüttelt wurden.

5.3.4 Vergleich der Behandlungen

Wie in Abbildung 14 zu sehen ist, wurden mit der Behandlung in der Mikrowelle die höchsten Werte erreicht. Dennoch wurde diese Methode nicht weiter untersucht. Das war vor allem durch praktische Gründe bedingt. In dem Labor, in dem die Versuche stattfanden, war keine Mikrowelle verfügbar und es musste dafür die Mikrowelle im Labor eines anderen Fachgebiets genutzt werden. Dieses Problem könnte auch bei Wiederholung des Versuchs auftreten. Dagegen ist beispielsweise eine Heizplatte universeller Bestandteil eines Labors.

Die Behandlung mit flüssigem Stickstoff resultierte in den niedrigsten Maximalwerten und stieg im Vergleich mit den anderen Behandlungen langsamer an. Außerdem muss Stickstoff an der Stickstoffausgabestelle der Universität Hohenheim bestellt werden. Es kam vor, dass dort zeitweise kein Stickstoff verfügbar war. Insgesamt ist mit der Arbeit mit flüssigem Stickstoff ein höherer organisatorischer Aufwand verbunden und die Handhabung ist vergleichsweise schwieriger als die anderen Methoden. Die genannten Gründe sprechen

gegen die Anwendung von flüssigem Stickstoff als Methode zum Erreichen des Maximalwerts.

Für die optimierte Versuchsdurchführung wurde die Behandlung Kochen angewandt. Die Methode ist simpel durchzuführen und die benötigten Utensilien sind in der Regel in jedem Labor verfügbar. Prášil und Zámečník (1990) führen in den Ergebnissen ihrer Versuche die Methode Kochen als die schnellere und effektivere Variante zur Ermittlung des Maximalwerts, als Kältemethoden, an.

Insgesamt ist aus den Versuchen zur Erhebung des Maximalwerts zu schließen, dass sich alle Methoden dazu eignen. Wichtiger ist das Abwarten der Zeitspanne nach der Behandlung, in der die Diffusion vollständig ablaufen kann.

5.4 Die Auswirkung von Lichtstress auf die elektrische Leitfähigkeit

Die EC der Proben hat sich für alle Pflanzenarten erhöht, nachdem sie lichtstressinduzierenden Bedingungen ausgesetzt wurden (Abbildung 17). Lichtstress entsteht durch die lichtabhängige Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (Foyer et al. 1994). Treffen reaktive Sauerstoffspezies auf antioxidative Schutzmechanismen, werden sie unschädlich gemacht (Sharma et al. 2012). Reichen die antioxidativen Schutzmechanismen einer Pflanze nicht aus die reaktiven Sauerstoffspezies zu beseitigen, führen sie zur oxidativen Schädigung von Lipiden, Proteinen und Membranen (Wituszynska und Karpinski 2013). Dadurch können Zellmembranen undicht werden und das Austreten von Ionen ermöglichen. Die ausgetretenen Ionen würden zu einer Erhöhung der EC führen. Da sich die EC aller Pflanzenarten erhöht hatte, ist anzunehmen, dass durch die Bestrahlung der Blattscheiben Lichtstress induziert wurde. Für jede beprobte Pflanzenart war die Erhöhung der EC bei Erhöhung der Behandlung von 1 auf 3 Stunden signifikant. Die zweistündige Behandlung war nur in den beiden Süßkartoffel-Proben signifikant verschieden zur längeren und kürzeren Behandlungsdauer. Wie in Abbildung 17 zu sehen ist, war die Erhöhung der EC zwischen 1 und 2 Stunden geringer als zwischen 2 und 3 Stunden. Das war für jede der beprobten Pflanzen zu beobachten. Durchschnittlich erhöhte sich die EC nach 2 Stunden um $5 \mu\text{S}/\text{cm}$ auf $17 \mu\text{S}/\text{cm}$, und nach 3 Stunden um $9 \mu\text{S}/\text{cm}$. Biologischer Stress wird neben der Intensität eines Stressfaktor auch durch die Dauer der Einwirkung bestimmt (Larcher 1994). Der Einfluss der Zeitkomponente bei biologischem Stress ist möglicherweise die Ursache des höheren Anstiegs der EC von 2 auf 3 Stunden als von 1 auf 2 Stunden.

Zwischen den beprobten Pflanzenarten wurden signifikante Unterschiede festgestellt. Die EC der Proben von Kaffee waren bei der Messung nach 1 und 2 Stunden signifikant höher als die der anderen Pflanzen. Diese Unterschiede sind vermutlich auf die unterschiedliche Lichtadaption der Pflanzen sowie auf die unterschiedlichen Massen der Blattscheiben zurückzuführen (Abbildung 15). Für die Blattscheiben von Kaffee wurde die höchste Trockenmasse verzeichnet. Für die Blattscheiben von Süßkartoffel_{Schatten} dagegen die Niedrigste. Die Masse der Blattscheiben von Mais, Sorghum und Süßkartoffel_{Licht} befanden sich dazwischen. Ist das Blattgewebe dicker, stehen wahrscheinlich mehr Ionen zur Verfügung, die aus dem Blatt diffundieren können und die EC erhöhen. Dass für

Süßkartoffel_{Schatten} die niedrigste EC und für Kaffee die höchste EC zu verzeichnen war, könnte an der Verschiedenheit der Blattdicke liegen. Auf den Einfluss unterschiedlicher Lichtadaption der beprobten Pflanzenarten auf die EC wird in Abschnitt 5.5 eingegangen.

Der Versuch mit einer unterschiedlichen Anzahl von Blattscheiben wurde durchgeführt, um die optimale Anzahl Blattscheiben pro Probe herauszufinden. Die Anzahl sollte groß genug sein, sodass die EC nach der Bestrahlung deutlich unterschiedlich zum Nullwert ist. Da sich die Blattscheiben nicht gegenseitig verdecken sollten und der verfügbare Platz unter der Lampe begrenzt ist, ergab sich die Blattscheibenanzahl von 15.

5.5 Schädigung des Blattgewebes durch Lichtstress

Um Verschiedenheiten der EC der Proben auf die Anpassung an unterschiedliche Lichtbedingungen zurückführen zu können, wird die EC der lichtgestressten Proben in Verhältnis zu den zugehörigen Maximalwerten gesetzt und in Prozent angegeben. Dadurch soll ausgeschlossen werden, dass die Unterschiede der EC durch die ungleichen Massen und damit der Anzahl der Zellen der Blattproben zustande kommen. Kaffee ist den Schattenpflanzen zuzuordnen, Mais und Sorghum dagegen den Sonnenpflanzen. Sonnenpflanzen weisen eine höhere Anzahl und Aktivität von Enzymen vor, die an der Photosynthese beteiligt sind (Anderson et al. 1995). Das ermöglicht ihnen die Aufrechterhaltung der Photosynthese bei hoher Lichtintensität. Lichtsättigung wird bei Kaffee zwischen einer Strahlung von 300 und 600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ erreicht. Auf Höhe der Blattproben wurde in diesem Versuch eine Strahlung von 4446 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ bestimmt. Es ist daher zu erwarten, dass die Blattscheiben von Kaffee während des Versuchs Lichtstress erfuhren, was durch die Ergebnisse bestätigt wurde (Abbildung 18). Neben dem gemessenen Schaden durch die Messung der EC konnte bei manchen Blattscheiben von Kaffee Lichtschädigung mit bloßem Auge als nekrotisches Gewebe beobachtet werden.



Abbildung 19: Nekrotisches Gewebe einer Blattprobe von Kaffee nach Bestrahlung.

Die Photonenflussdichte von 4446 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ist deutlich höher als die an sonnigen Tagen in den Tropen zu messende (2500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; (Clifford und Willson 1987, 1985)). Demnach ist anzunehmen, dass auch in den Blattscheiben von Mais und Sorghum Lichtstress ausgelöst

wurde. Die Ergebnisse bestätigen diese Annahme. Die Schädigung von Mais und Sorghum befindet sich unter dem Durchschnitt aller drei Pflanzenarten. In Mais löste die Beleuchtung einen geringeren Schaden aus als in Sorghum. Wie in Abschnitt 5.3.2 erklärt wird, wurde in den Sorghumpflanzen bereits die Seneszenz eingeleitet. In Versuchen mit Blättern von *Nicotiana tabacum* konnte bei zunehmender Seneszenz ein verstärktes Austreten von Flüssigkeit nachgewiesen werden (Dhindsa et al. 1981). Das kann als Hinweis der Verringerung der Membranfunktionalität betrachtet werden. Außerdem wurde in dem Versuch von Dhindsa (1981) eine Verminderte Aktivität der antioxidativen Enzyme Katalase und Superoxid-Dismutase beobachtet. Beide Aspekte könnten die Ursache für die im Gegensatz zu Mais höhere Schädigung der Sorghumblattproben sein. Die Unterschiede zwischen den Pflanzenarten waren nicht signifikant. Das könnte an den hohen Standardfehlern der Messwerte liegen. Betrachtet man die Messwerte ohne Ausreißer (in Kaffee und Sorghum), ergeben sich nach zweistündiger Bestrahlung signifikante Unterschiede zwischen den Proben von Mais und Kaffee ($p=0,0099$), sowie zwischen Sorghum und Kaffee ($p=0,0192$). Um die Standardfehler geringer zu halten und mögliche Ausreißer zu erkennen, sollte bei erneuter Durchführung des Versuchs die Anzahl der Wiederholungen erhöht werden.

Der Trendlinie in Abbildung 18 liegt die Annahme eines linearen Anstiegs der EC zu Grunde. Diese Annahme sollte durch weitere Messungen, auch über einen längeren Zeitraum, verifiziert werden.

5.6 Vergleich der Süßkartoffeln

Während der Durchführung dieser Arbeit gab es Schwierigkeiten bei der Messung der EC. Die zu messende Flüssigkeit wurde teilweise so langsam eingezogen, dass Messungen zu einem bestimmten Zeitpunkt nicht möglich waren. Manchmal wurde die Flüssigkeit sprunghaft eingezogen, sodass das EC-Meter keinen stabilen Wert anzeigte. Durch stundenlanges Durchspülen mit Milliporewasser und Änderung der Laufrichtung der Pumpe, konnte dieses Problem beseitigt werden. Diese Verstopfungen wurden auf das in den Süßkartoffeln enthaltene Latex zurückgeführt. Latex wird in Vertretern verschiedener Pflanzenfamilien, so auch in Süßkartoffeln, gebildet und dient der Abwehr von Herbivoren (Agrawal und Konno 2009). Um die Versuche ohne weitere Behinderungen zu beenden, wurden seit dieser Erkenntnis keine Messungen mit Süßkartoffelproben durchgeführt. Deshalb ist ein Vergleich zwischen den unter verschiedenen Lichtbedingungen angebauten Süßkartoffeln nur bedingt möglich. In Abbildung 17 ist die EC der Pflanzenproben nach unterschiedlicher Dauer von Lichtstress zu sehen. Die EC beider Proben steigt mit zunehmender Behandlungsdauer. Die EC von Süßkartoffel_{Licht} befindet sich zu allen Messzeitpunkten über der von Süßkartoffel_{Schatten}. Die EC nach 3 Stunden unter der Lampe war für Süßkartoffel_{Licht} 30% höher als die von Süßkartoffel_{Schatten}. Die EC nach 3 Stunden unter der Lampe betrug für die Proben von Süßkartoffel_{Schatten} 19,8% der EC, die 90 Minuten nach der 10-minütigen Stickstoffbehandlung zu verzeichnen war, und für Süßkartoffel_{Licht} 23%. Tendenziell reagierte also die Süßkartoffel_{Schatten} weniger empfindlich auf Lichtstress als die Süßkartoffel_{Licht}. Die Süßkartoffeln breiteten sich durch ihre auf dem Boden windenden

Triebe weit aus. Die im Schatten stehenden Pflanzen wuchsen so teilweise aus dem Schatten in Bereiche, die zwar nicht von einer Lampe beleuchtet wurden, sich jedoch nicht mehr im Schatten der Kaffeepflanzen befanden. Die Pflanzen unter Licht bildeten viel Biomasse wodurch die einzelnen Individuen durch sich selbst und andere beschattet wurden. An den Versuchstagen wurde jeweils eine Pflanze mit ins Labor genommen und dort die Blätter nach Bedarf entfernt. Dadurch war nicht immer zu erkennen, welche der Blätter im Gewächshaus eher beschattet wurden und welche sich in vollem Licht entwickelten. Möglicherweise wurden so Blätter ausgewählt, deren Wachstumsbedingungen hinsichtlich des Lichtangebots sich nicht stark genug unterschieden. Abgeschwächt wird diese Annahme dadurch, dass zwischen den Süßkartoffeln im Licht und im Schatten morphologische Unterschiede zu bemerken waren. Die Süßkartoffeln unter Licht bildeten mehr Biomasse und ihre Stängel waren rötlich gefärbt. Dagegen wiesen die im Schatten wachsenden Individuen längere Internodien, sowie größere und dünnere Blätter auf. Dieser Effekt von Beschattung auf das Wachstum von Süßkartoffeln wurde auch in anderen Versuchen beobachtet (Johnston und Onwueme 1998).



Abbildung 20: links: Süßkartoffeln am Lichtstandort. Rechts: Süßkartoffeln am Schattenstandort. Die Anzahl an Individuen ist an den Standorten gleich, das Foto wurde am selben Tag aufgenommen.

5.6 Mögliche Fehlerquellen und Verbesserungsvorschläge

Bei Anzucht der Maispflanzen sollte ein Standort gewählt werden, über dem die Lampe weit genug hängt, sodass die Pflanzen auch bei fortgeschrittenem Wachstum unter der Lampe positioniert bleiben können und dennoch nicht verbrennen. Außerdem wäre es interessant, die Lichtintensität der unterschiedlichen Standorte zu messen. Dadurch wäre der Unterschied in den Umgebungsbedingungen der Pflanzen quantifizierbar. Zur Zeit der Pflanzenanzucht breiteten sich im Gewächshaus Schädlinge aus. An den Süßkartoffeln wurden Schäden durch Thripse und an Sorghum und Mais Schäden durch Spinnmilben verursacht. Es wurde versucht Blätter zu verwenden, an denen keine oder nur geringe Schäden sichtbar waren. Dadurch war die Blattwahl stark eingeschränkt und es konnte nicht immer gewährleistet werden, Blätter einer Pflanzenart zu verwenden, die sich in ihrer Exposition zum Licht glichen.

Beim Kochen der Blattproben wurde für alle Proben eine Stoppuhr gestellt. Teilweise fingen die Proben jedoch nicht zum selben Zeitpunkt an zu kochen und hatten daher leicht unterschiedliche Behandlungsdauern. Bei separierter Zeitmessung würde dieser Fehler umgangen werden. Da trotz der Alufolien teilweise viel Wasser verdunstete, mussten die Probengefäße von der Heizplatte genommen und Milliporewasser nachgefüllt werden. Man könnte zukünftig, wie bei den Mikrowellenversuchen, vor dem Kochen mehr als 20 ml Milliporewasser hinzugeben, sodass die Flüssigkeit trotz Verdunstung ausreicht.

Bei der Lichtbehandlung wurden die Deckel der Petrischalen nicht benutzt, da der Wasserdampf am Deckel kondensierte und so die Proben beschattete. Da der Wasserdampf ohne die Deckel entweichen konnte, wurde die Flüssigkeitsmenge geringer. Die Höhe des Flüssigkeitsverlusts wurde nicht bestimmt, weshalb keine Aussage über die Relevanz dieses Faktors getroffen werden kann. Interessant wäre, nach dem letzten Messzeitpunkt die Flüssigkeitsmenge zu bestimmen, um die Höhe des Verlusts herauszufinden. Bei erneuter Durchführung des Versuchs könnte außerdem die Intensität des Lichts variiert werden. Möglicherweise kann bei höherer Lichtintensität die Behandlungsdauer verringert werden. Bei den Proben zur Messung des Maximalwerts waren zwischen der Behandlung und der EC-Messung circa 110 Minuten vergangen. Dagegen wurde die EC der Lichtstress-Proben direkt nach der Lichtbehandlung gemessen. Zeit wirkt sich auf die Diffusion der Ionen aus der Zelle aus. Die Diffusion beeinflusst wiederum die EC. Da den Proben nach der Lichtbehandlung weniger Zeit bis zur Messung „gelassen“ wurde, wurde die EC dieser Proben möglicherweise unterschätzt. Daher wäre es interessant herauszufinden, wie sehr sich die EC nach der Lichtbehandlung verändert, wenn man die Proben stehen lässt.

In anderen Versuchen, in denen die Schädigung von Pflanzengewebe über die EC der umgebenden Flüssigkeit gemessen wurde, wurden die Proben geschüttelt. Das Integrieren des Schüttelns der Proben in diese Versuchsdurchführung könnte sinnvoll sein. Da dieser Versuch mit Studenten im Rahmen eines Praktikums durchgeführt wird, ist die verfügbare Zeit jedoch begrenzt. Allerdings könnten die Proben während der Lichtbehandlung regelmäßig geschwenkt werden, was die Diffusion womöglich auch beschleunigen könnte.

Die Anzahl der Wiederholungen des Versuchs sollte höher sein, um hohe Standardfehler wie sie in diesem Versuch zu verzeichnen waren, zu vermeiden.

6 Fazit

Diese Arbeit verfolgte zunächst das Ziel, die bisherige Versuchsdurchführung zur Bewertung von Lichtstresseffekten auf unterschiedlich lichtadaptiertes Blattgewebe, zu verbessern. Die optimierte Versuchsdurchführung wurde anschließend an Kaffee, Mais und Sorghum angewandt. In den Proben jeder dieser drei Pflanzen konnte ein lichtstressinduzierter Schaden festgestellt werden. In der Schattenpflanze Kaffee war der induzierte Schaden höher als für die Sonnenpflanzen Mais und Sorghum. Damit decken sich die Ergebnisse des Versuchs mit der Annahme, dass Schattenpflanzen empfindlicher gegenüber Lichtstress sind, als Sonnenpflanzen.

Durch die Experimente dieser Arbeit konnten wichtige Faktoren, welche die Ergebnisse beeinflussen, herausgefunden werden. Hierzu gehört die Wichtigkeit der Reinigung der Blätter nach dem Ausstanzen. Außerdem die Bedeutung der Zeit für die Diffusion der Ionen aus der Zelle und somit für die Höhe der EC. Allerdings wurden auch Mängel des Versuchs erkannt (5.6), wodurch deutlich wird, dass weitere Verbesserungen der Versuchsdurchführung nötig sind.

Die aus dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse bilden eine Basis, auf der die erneute Durchführung des Versuchs aufbauen und weitere Verbesserungen stattfinden können.

7 Literaturverzeichnis

- Agarie, Sakae; Hanaoka, Naomi; Kubota, Fumitake; Agata, Waichi; Kaufman, Peter B. (1995): Measurement of Cell Membrane Stability Evaluated by Electrolyte Leakage as a Drought and Heat Tolerance Test in Rice (*Oryza sativa* L.). In: *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University* 40 (1/2), S. 233–240. DOI: 10.5109/24109.
- Agrawal, Anurag A.; Konno, Kotaro (2009): Latex: A Model for Understanding Mechanisms, Ecology, and Evolution of Plant Defense Against Herbivory. In: *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 40 (1), S. 311–331. DOI: 10.1146/annurev.ecolsys.110308.120307.
- Anderson, J. M.; Chow, W. S.; Park, Y. I. (1995): The grand design of photosynthesis: Acclimation of the photosynthetic apparatus to environmental cues. In: *Photosynthesis research* 46 (1-2), S. 129–139. DOI: 10.1007/BF00020423.
- Asada, Kozi (2006): Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. In: *Plant physiology* 141 (2), S. 391–396. DOI: 10.1104/pp.106.082040.
- Blum, A.; Ebercon, Adelina (1981): Cell Membrane Stability as a Measure of Drought and Heat Tolerance in Wheat1. In: *Crop Science* 21 (1), S. 43. DOI: 10.2135/cropsci1981.0011183X002100010013x.
- Brücher, H. (2014): Tropische Nutzpflanzen. Ursprung, Evolution und Domestikation. Softcover reprint of the original 1st ed. 1977. Berlin: Springer Berlin.
- Chabot, Brain F.; Chabot, Jean Fincher (1977): Effects of light and temperature on leaf anatomy and photosynthesis in *Fragaria vesca*. In: *Oecologia* 26 (4), S. 363–377. DOI: 10.1007/BF00345535.
- Clifford, M. N.; Willson, K. C. (1987, 1985): Coffee. Botany, biochemistry, and production of beans and beverage. London: Croom Helms.
- Critchley, C. (1981): Studies on the Mechanism of Photoinhibition in Higher Plants: I. EFFECTS OF HIGH LIGHT INTENSITY ON CHLOROPLAST ACTIVITIES IN CUCUMBER ADAPTED TO LOW LIGHT. In: *Plant physiology* 67 (6), S. 1161–1165. DOI: 10.1104/pp.67.6.1161.
- Dhindsa, Rajinder S.; Plumb-Dhindsa, Pamela; Thorpe, Trevor A. (1981): Leaf Senescence: Correlated with Increased Levels of Membrane Permeability and Lipid Peroxidation, and Decreased Levels of Superoxide Dismutase and Catalase. In: *J Exp Bot* 32 (1), S. 93–101. DOI: 10.1093/jxb/32.1.93.
- Dogget, Hugh (1988): Sorghum. 2nd ed. Singapore: Longman.
- Foyer, Christine H.; Lelandais, Maud; Kunert, Karl J. (1994): Photooxidative stress in plants. In: *Physiol Plant* 92 (4), S. 696–717. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1994.tb03042.x.
- Franke, Wolfgang (1997): Nutzpflanzenkunde. Nutzbare Gewächse der gemäßigten Breiten, Subtropen und Tropen. 2. Aufl. Stuttgart: Thieme.
- García-Lara, Silverio; Serna-Saldivar, Sergio O. (2019): Corn History and Culture. In: *Corn: Elsevier*, S. 1–18.

- Grahl, Helmut; Wild, Aloysius (1973): Lichtinduzierte Veränderungen im Photosynthese-Apparat von *Sinapis alba*. In: *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 86 (5-9), S. 341–349. DOI: 10.1111/j.1438-8677.1973.tb02417.x.
- Gupta, Sonal; Rosenthal, David M.; Stinchcombe, John R.; Baucom, Regina S. (2020): The remarkable morphological diversity of leaf shape in sweet potato (*Ipomoea batatas*): the influence of genetics, environment, and G×E. In: *The New phytologist* 225 (5), S. 2183–2195. DOI: 10.1111/nph.16286.
- Holmes, M. G.; Keiller, D. R. (2002): Effects of pubescence and waxes on the reflectance of leaves in the ultraviolet and photosynthetic wavebands: a comparison of a range of species. In: *Plant, cell & environment* 25 (1), S. 85–93. DOI: 10.1046/j.1365-3040.2002.00779.x.
- Inzé, D.; van Montagu, Marc (2005): *Oxidative Stress in Plants*. 1st ed. Boca Raton: CRC Press.
- Johnston, M.; Onwueme, I. C. (1998): EFFECT OF SHADE ON PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN THE TROPICAL ROOT CROPS: YAM, TARO, TANNIA, CASSAVA AND SWEET POTATO. In: *Ex. Agric.* 34 (3), S. 301–312. DOI: 10.1017/S0014479798343033.
- Jones, L. W.; Kok, B. (1966): Photoinhibition of Chloroplast Reactions. II. Multiple Effects. In: *Plant physiology* 41 (6), S. 1044–1049. DOI: 10.1104/pp.41.6.1044.
- Kocheva, Konstantina V.; Georgiev, Georgi, IV.; Kochev, Valery K. (2005): A diffusion approach to the electrolyte leakage from plant tissues. In: *Physiol Plant* 125 (1), S. 1–9. DOI: 10.1111/j.1399-3054.2005.00533.x.
- Kratzmann, Ernst (1914): Sonnen- und Schattenblätter bei *Asarum europaeum* L. In: *Osterr. botan. Zeitschrift* 64 (5), S. 169–174. DOI: 10.1007/BF01631242.
- Krause, G. Heinrich (1988): Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. In: *Physiol Plant* 74 (3), S. 566–574. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1988.tb02020.x.
- Krupinska, Karin (2007): Altern und Alter bei Pflanzen. Auch sie haben kein ewiges Leben. In: *Biologie in unserer Zeit* 37 (3), S. 174–182. DOI: 10.1002/biuz.200610335.
- Kubota, Fumitake; Agata, Waichi; Morokuma, Masahiro (1991): Photosynthetic Control Factors in a Single Leaf of Sweet Potato, *Ipomoea batatas* Lam. I. Leaf epidermis peeling method and photosynthetic rate of peeled leaf. In: *Jpn. J. Crop Sci.* 60 (4), S. 510–514. DOI: 10.1626/jcs.60.510.
- Kumar, D.; Tieszen, Larry L. (1980): Photosynthesis in *Coffea arabica*. I. Effects of Light and Temperature (1), zuletzt aktualisiert am 05.07.2021, zuletzt geprüft am 05.07.2021.
- Larcher, Walter (1994): *Ökophysiologie der Pflanzen* (5. Auflage). Stuttgart: Ulmer (UTB für Wissenschaft - Große Reihe).
- Loebenstein, Gad; Thottappilly, George (2009): *The Sweetpotato*. Dordrecht: Springer Netherlands.
- Marcelle, R. (1975): *Environmental and Biological Control of Photosynthesis*. Dordrecht: Springer Netherlands.

Miedaner, Thomas (2014): Kulturpflanzen. Botanik - Geschichte - Perspektiven. Berlin: Springer (Spektrum).

Onwueme, I. C.; Johnston, M. (2000): Influence Of Shade On Stomatal Density, Leaf Slize And Other Leaf Characteristics In The Major Tropical Root Crops, Tannia, Sweet Potato, Yam, Cassava And Taro. In: *Ex. Agric.* 36 (4), S. 509–516. DOI: 10.1017/S0014479700001071.

Paliwal, Ripusudan L. (2000): Tropical maize. Improvement and production. Rome: FAO (FAO plant production and protection series, 28).

Powles, S. B. (1984): Photoinhibition of Photosynthesis Induced by Visible Light. In: *Annu. Rev. Plant. Physiol.* 35 (1), S. 15–44. DOI: 10.1146/annurev.pp.35.060184.000311.

Prášil, I.; Zámečník, J. (1990): Time course of electrolyte leakage from various samples killed by frost, liquid nitrogen or boiling. In: *Biol Plant* 32 (1), S. 77–80. DOI: 10.1007/BF02897348.

Rühle, Wolfgang; Wild, Aloysius (1985): Die Anpassung des Photosyntheseapparates hherer Pflanzen an die Lichtbedingungen. In: *Naturwissenschaften* 72 (1), S. 10–16. DOI: 10.1007/BF00405321.

Sairam, R. K.; Deshmukh, P. S.; Shukla, D. S. (1997): Tolerance of Drought and Temperature Stress in Relation to Increased Antioxidant Enzyme Activity in Wheat. In: *J Agron Crop Sci* 178 (3), S. 171–178. DOI: 10.1111/j.1439-037X.1997.tb00486.x.

Schopfer, Peter (1973): Erfolgreiche Photosynthese-Spezialisten: Die „C4-Pflanzen“. In: *Biologie in unserer Zeit* 3 (6), S. 172–183. DOI: 10.1002/biuz.19730030604.

Schopfer, Peter; Brennicke, Axel (2010): Pflanzenphysiologie. 7. Aufl. Heidelberg: Spektrum, Akad. Verl.

Sharma, Pallavi; Jha, Ambuj Bhushan; Dubey, Rama Shanker; Pessaraki, Mohammad (2012): Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. In: *Journal of Botany* 2012, S. 1–26. DOI: 10.1155/2012/217037.

Über den Mechanismus der lichtinduzierten Orientierungsbewegung der Chloroplasten. Online verfügbar unter <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1111/j.1438-8677.1971.tb02342.x?download=true>, zuletzt geprüft am 18.08.2021.

Vines, H. M.; Tu, Z. P.; Armitage, A. M.; Chen, S. S.; Black, C. C. (1983): Environmental Responses of the Post-lower Illumination CO₂ Burst as Related to Leaf Photorespiration. In: *Plant physiology* 73 (1), S. 25–30. DOI: 10.1104/pp.73.1.25.

Weiler, Elmar W.; Nover, Lutz; Nultsch, Wilhelm (2008): Allgemeine und molekulare Botanik. Stuttgart: G. Thieme.

Willmot, Alan; Moore, Peter D. (1973): Adaptation to Light Intensity in *Silene alba* and *S. dioica*. In: *Oikos* 24 (3), S. 458. DOI: 10.2307/3543822.

Wituszynska, Weronika; Karpinski, Stanisaw (2013): Programmed Cell Death as a Response to High Light, UV and Drought Stress in Plants. In: Kourosh Vahdati (Hg.): Abiotic Stress - Plant Responses and Applications in Agriculture: InTech.

Zhang, D. P.; Carbajulca, D.; Ojeda, L.; Rossel, G.; Milla, S.; Herrera, C.; Ghislain, M. (2001): Microsatellite analysis of genetic diversity in sweetpotato varieties from Latin America. In: *Scientist and farmer: partners in research for the 21st Century. Program Report 1999-2000*, S. 295–301.

8 Anhang

8.1 Die optimierte Versuchsdurchführung

Material:

Korkbohrer (\varnothing 1 cm), Pinzette, Becherglas (100ml; Roth), Messkolben (100ml; Roth), Messzylinder (50ml; Roth), Petrischale (\varnothing 16 cm; Roth), Petrischale (\varnothing 8,5 cm; Nerbe plus), Milliporewasser (Simplicity 185, Firma Merck), LED Grow Lampe (390 Watt), Stoppuhr (Roth), Alufolie, Mikro-EC-Meter (1901-00 Cole-Parmer Instruments Co.), Meteon Irradiance Meter (Kipp & Zonen), Box (2 Stück; Höhe 18 cm), Heizplatte (VELP Scientifica), Sorghum-, Mais-, und Kaffeeblätter

Durchführung:

1. Mit dem Korkbohrer werden die Blattscheiben aus den zu probenden Blättern gestanzt. Für jede Probe werden 15 Blattscheiben einer Pflanzenart benötigt.
2. Die ausgestochenen Blattscheiben werden gewaschen. Dafür werden diese in eine Petrischale, gefüllt mit Milliporewasser getunkt. Die Blattscheiben sollten von allen Seiten befeuchtet werden. Nach circa 5 Minuten werden die Blattscheiben mit einer Pinzette herausgenommen und zum Trocknen auf Papiertüchern ausgebreitet. In der Zwischenzeit wird die Heizplatte zum Vorheizen angeschaltet und die Lampe aufgebaut. Dafür wird die Lampe, gestützt von zwei Boxen, circa 18 cm über der Tischoberfläche aufgestellt.

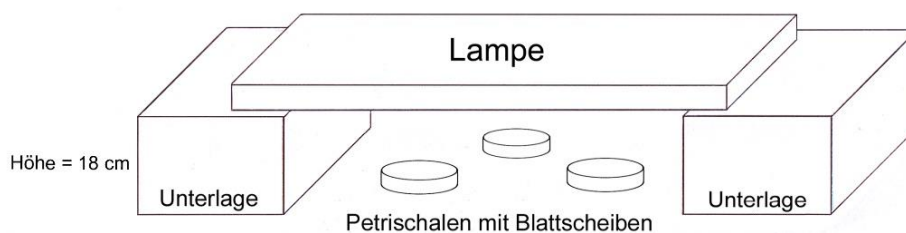


Abbildung 21: Aufbau Lichtstressversuch.

3. Dann werden die Blattscheiben in ihre Gefäße entsprechend ihrer weiteren Nutzung verteilt. Für die 100%-Kontrolle werden Messkolben verwendet und für die 0%-Kontrolle Bechergläser. Die Blattscheiben, die von Licht gestresst werden sollen, werden in Petrischalen (\varnothing 8,5 cm) gelegt. Hierbei muss darauf geachtet werden, die Blattscheiben so zu legen, dass die Blattoberseite nach oben zeigt.
4. Nachdem alle Blattscheiben auf ihre Gefäße verteilt wurden, wird jeweils 20 ml Milliporewasser beigefügt. Jede Probe besteht aus 15 Blattscheiben und 20 ml

Milliporewasser. Über der Öffnung der Messkolben der 100%-Kontrolle wird, um die Verdunstung zu reduzieren, Alufolie angebracht.

5. Die vorbereiteten Messkolben werden auf die Heizplatte gestellt. Zeitgleich werden die Petrischalen ohne Deckel unter der Lampe positioniert und eine Stoppuhr (1 Stunde) gestartet. Sobald die Proben in den Messkolben zu kochen beginnen, wird eine weitere Stoppuhr auf 10 Minuten gestellt. Während des Kochens muss darauf geachtet werden, dass das Milliporewasser nicht vollständig verdampft, da die Blattproben anbrennen können. Gegebenenfalls muss während dem Kochen Milliporewasser nachgefüllt werden.

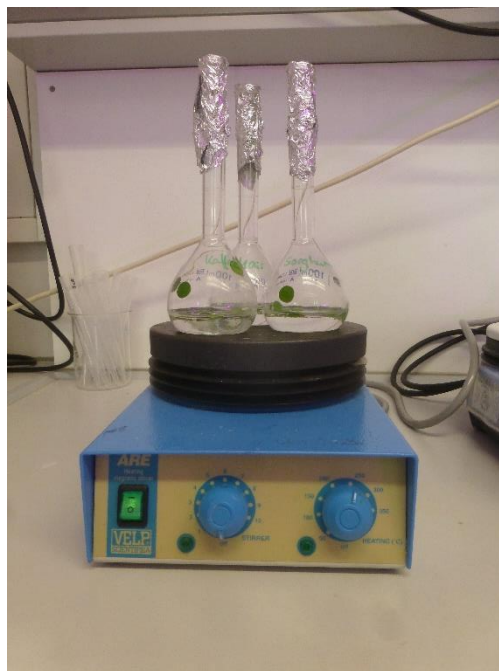


Abbildung 22: Proben auf der Heizplatte. Aluminiumfolie als Verdampfungsschutz.

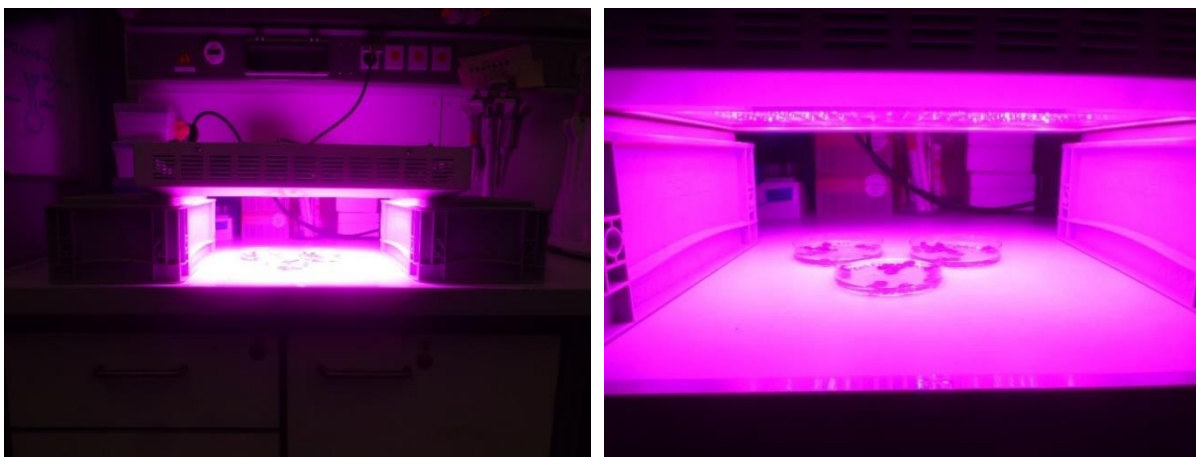


Abbildung 23: Lichtstressversuch.

6. Nach Ablauf der 10 Minuten werden die Proben von der Heizplatte genommen. Mit den Messzylindern wird die Menge an Flüssigkeit, die noch vorhanden ist, bestimmt. Ist diese geringer als 20 ml, wird mit Milliporewasser aufgefüllt. Danach wird die Flüssigkeit zurück in die Messkolben gefüllt, sodass die Blattscheiben wieder von Flüssigkeit umgeben sind.
7. Nachdem die Stunde abgelaufen ist, werden die Proben außerhalb des Lichts neben der Lampe abgestellt und zügig die EC dieser Proben gemessen. Danach werden sie erneut für eine Stunde unter der Lampe positioniert.
8. Nach Ablauf dieser Stunde wird die EC aller Proben, also der 100%- und 0%-Kontrollen sowie der Lichtgestressten, gemessen.

Auswertung:

1. Um die gemessenen EC- Werte vergleichen zu können, werden diese wie folgt in % Schaden umgerechnet:

$$\text{Schaden [\%]} = (\text{EC}_{\text{Lichtstress}} - \text{EC}_{\text{Nullwert}}) / (\text{EC}_{\text{Maximalwert}} - \text{EC}_{\text{Nullwert}}) * 100$$

2. Aus diesen Daten lässt sich ein Diagramm erstellen, bei dem der Schaden in % gegen die Bestrahlungszeit aufgetragen wird.
3. Nun sind die unterschiedlichen Pflanzenarten in ihrem Grad der Schädigung, zu einer bestimmten Bestrahlungsdauer, vergleichbar.