INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Naturwissenschaftlich-Mathematischen Gesamtfakultät

der

Ruprecht-Karls-Universität

Heidelberg

vorgelegt von Diplom-Biologe Frank Gilmer aus Fontainebleau (F)

Tag der mündlichen Prüfung:

1-2

Thema

Der Nährstofftransport im Fernleitungssystem des Xylem

und dessen Beeinflussung durch Transpiration bei Ricinus und Pappel

Gutachter:

Prof. Dr. Ulrich Schurr Prof. Dr. Thomas Rausch Universität Düsseldorf HIP, Heidelberger Institut für Pflanzenforschung, Heidelberg

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1-8
1.1. Der Wassertransport durch die Pflanze	1-8
1.2. Der Nährstofftransport in der Pflanze	1-9
1.2.1. Die Xylembeladung in der Wurzel am Beispiel des Kalium	1-10
1.2.2. Der laterale Austausch von Nährstoffen auf dem Transportweg	1-10
1.2.3. Die Blattspreite: Ort der Transpiration - Ort des Nährstoff - Bedarfs?	1-11
1.3. Ist der Nährstofftransport unabhängig vom Wassertransport ?	1-12
1.4. Aufgabenstellung	1-12
2. Material und Methoden	2-14
2.1. Pflanzen und deren Anzucht	2-15
2.1.1. Ricinus communis L.	2-15
2.1.2. Populus tremula x Populus alba	2-17
2.1.3. Die Pflanzenanzucht in Sprühkultur - Das Aeroponic - System	2-18
2.2. Die Xylemsaft - Probennahme durch Druckapplikation	2-19
2.2.1. Das Prinzip der Druckapplikation	2-19
2.2.2. Weiterentwicklung der Regelung zur Druckapplikation	2-20
2.2.3. Der Aufbau der Spray - Druckkammer	2-25
2.2.4. Die Xylemsaft - Probennahme	2-26
2.3. Die Wasser - Flussbestimmung	2-27
2.3.1. Die "stem heat balance" - Methode	2-27
2.3.2. Die gravimetrische Methode	2-28
2.3.3. Die Sprossküvette zur Transpirationsvariation	2-29
2.4. Versuchsdesign: Nährstoffaufnahme über die Wurzel	2-31
2.5. Versuchsdesign: Perfusion von Stammstücken	2-32
2.6. Versuchsdesign: Nährstoffkonzentrations - Gradienten an Pappel	2-33
2.7. Analytik	2-34
2.7.1. Ionenselektive Elektroden zur kontinuierlichen Kalium- und Nitrat - Messung	2-34
2.7.1.1 Grundlagen - Ionenselektive Elektroden	2-34
2.7.1.2 Weiterentwicklung der ISE-Messapparatur und Datenerfassung	2-37
2.7.1.3 Kalibrierung und Auswertung	2-39
2.7.2. Kapillarelektrophorese	2-41
2.7.2.1 Funktion	2-41
2.7.2.2 Trennbedingungen	2-41
2.7.3. Ionenchromatografie	2-42

3. Ergebnisse	
3.1. Xylemsaft - Konzentrationen an der intakten Pflanze in Abhängigkeit vo	m internen
Wasserfluss	
3.1.1. Probennahme an der Petiole	
3.1.1.1 Probenfluss und Konzentration	3-45
3.1.1.2 ISE - Messung von Nitrat und Kalium	
3.1.1.3 Ergebnisse aus Probenmessungen mittels Ionenchromatografie	3-49
3.1.1.4 Zusammenfassung	3-56
3.1.2. Probennahme am Blatt	
3.2. Aufnahme, lateraler Austausch und Verteilung von Nährstoffen in Abhäng	igkeit vom
internen Wasserfluss	
3.2.1. Nährstoffaufnahme über die Wurzel	
3.2.2. Lateraler Austausch im Spross	
3.2.3. Konzentrationsverteilung im Spross	
3.3. Zusammenfassung	
4. Diskussion	4-78
4.1. Nitrat-Transport	4-79
4.2. Phosphat-Transport	4-80
4.3. Sulfat-Transport	4-81
4.4. Kalium-Transport	4-82
4.5. Magnesium-Transport	4-83
4.6. Calcium-Transport	4-84
4.7. Transpiration und Nährstofftransport	4-85
4.7.1. Das Xylem - ein homogenes System?	4-86
4.7.2. Lateraler Transport, Gewebe- und Zellwandkapazitäten	4-88
4.7.3. Einfluss der Transpiration auf den Nährstofftransport - eine einfache Frage?.	4-92
5. Zusammenfassung	5-93
6. Literaturverzeichnis	6-94
7. Abbildungsverzeichnis	
8. Tabellenverzeichnis	8-102
9. Anhang	
9.1. Berechnungskorrelationen	9-103
9.2. Wärmeflussberechnung am Flow2	9-104
9.3. Virtuelle Instrumente	9-105
9.3.1. Max132s8.vi	

9.3.2. Max132vi.vi	
9.3.3. Max132mc.vi	
9.3.4. Max132sp.vi	
9.3.5. Max132pc.vi	
9.3.6. Max132vc.vi	
9.3.7. Max132mk.vi	
9.3.8. Steuerbefehl für Druckventile	
9.3.9. Steuerbefehl für Messkanäle	
9.3.10. Max132mcise.vi	
9.4. Layout - Regler	
9.5. Layout - ISE	

1. Einleitung

Pflanzen wandeln die Strahlungsenergie des Lichts in chemische Energie in Form von Zucker um. Sie benötigen dazu Wasser und Nährstoffe aus dem Boden und Kohlendioxid aus der Luft. Der Ort für die Energieumwandlung, für die Photosynthese ist das Blatt. Wasser und mineralische Nährstoffe werden aus dem Boden aufgenommen. Die im Wasser gelösten Nährstoffe werden über die Wurzel und den Spross zum Blatt transportiert. Dieser Ferntransport findet in speziellen Röhren statt - den apoplastischen Xylemgefäßen. Wasser und Nährstoffe werden im gleichen System transportiert. Die zentrale Frage dieser Arbeit ist eine **Abhängigkeit des Nährstofftransports vom Wassertransport** auf dem Weg durch das gleiche Transportsystem.

1.1. Der Wassertransport durch die Pflanze

Die Pflanze benötigt Wasser als Substrat und Medium bei biochemischen Prozessen, zur Aufrechterhaltung ihrer Struktur mittels Turgor und als Medium für intra- und interzellulären Transport.

Bei der Aufnahme von Kohlendioxid über die Blattfläche geht Wasser an die Umgebung verloren. Kutikula- und Stomatabildung an der Blattoberfläche können den Wasserverlust reduzieren, aber nicht vollständig verhindern. Dieser Wasserverlust muss ersetzt werden.

Wasser muss aus dem Boden über die Wurzeln aufgenommen und in den Spross transportiert werden. Als Energiequelle für diesen Transport nutzt die Pflanze den natürlichen Wasser-Fluss bei der Verdunstung, Evaporation, vom Boden in die Atmosphäre. Treibende Kraft bei dieser Evaporation ist die Wasserpotentialdifferenz. Das Potential des Wassers, seine Fähigkeit Arbeit zu verrichten, ist als Wasserdampf in der Luft geringer als in flüssiger Form am Boden. Erst in wassergesättigter Luft ist das Wasserpotential gleich dem Potential der flüssigen Phase. Es findet dann keine Evaporation statt.

Die Pflanze nutzt die Evaporation an ihren Blättern. Die Evaporation an der Oberfläche von Zellzwischenräumen im Blatt, die Transpiration, erzeugt einen Wassermangel im umliegenden Gewebe und damit einen Wasser-Sog (Lösch 2001). Diese Sogwirkung reicht über einen kontinuierlichen Wasserfaden bis hinunter in die Wurzel. Dort wird wiederum Wasser aufgenommen. Die Wasseraufnahme ist, abhängig von der pflanzenspezifischen Wasserspeicherkapazität, gegenüber der Transpiration zeitlich verzögert. Die Pflanze kann kurzfristig Wasserverlust aufgrund von Transpiration ohne erhöhte Wasseraufnahme kompensieren. Der Wasserfluss von der Wurzel in das Blatt ist abhängig von der treibenden Kraft, der Wasserpotentialdifferenz, und der den Fluss ermöglichenden Wasserleitfähigkeit. Je höher die Wasserleitfähigkeit oder je höher die Wasserpotentialdifferenz, desto höher der Wasserfluss. Mit der Entfernung zwischen dem Bereich erhöhter Wasserverfügbarkeit und dem Bereich erhöhten Wasserbedarfs wächst auch der Widerstand bei konstanter spezifischer Leitfähigkeit und verringert sich der Wasserfluss.

Damit eine Pflanze ein erforderliches Volumen an Wasser über eine gegebene Entfernung transportieren kann, ist eine Transportstruktur mit entsprechender Leitfähigkeit Voraussetzung. Die Leitfähigkeit von parenchymatischem Gewebe ist für einen Wassertransport über mehrere Dezimeter bis Meter zu gering um einen ausreichenden Wasserfluss zu erreichen. Dies wird erst mit Xylemelementen in Leitbündeln, den Tracheiden oder Tracheen möglich. In diesem weitlumigen röhrenartigen System kann Wasser als Xylemsaft bei geringem Durchflusswiderstand über weite Strecken aus der Wurzel, dem Ort der Wasseraufnahme, zu den Blättern als Ort der Wasserabgabe transportiert werden.

Der Xylemsaftfluss im Ferntransport von der Wurzel zum Blatt ist der für die Fragestellung bedeutende Anteil am Wasser-Transport.

Die Wasseraufnahme in die Wurzel wird durch aktive Beladung des apoplastisch isolierten Zentralzylinders mit osmotisch aktiven Ionen unterstützt. Damit wird ein diffusiver Wassereinstrom erzeugt. Bei dekaptierten Pflanzen wird dieser Wassereinstrom in die Wurzel als Wurzeldruckwasser an der Schnittstelle sichtbar.

Das Ferntransport-System ist nicht abgeschlossen oder isoliert. Sym- und apoplastische Übergangszonen von Protoxylem zwischen der Rhizoendodermis der Wurzelspitze und dem Metaxylem im bis zu 8 cm höher beginnenden apoplastischen Zentralzylinder (Scott 1949, Scott 1965), oder apoplastische Übergangszonen zwischen Blattader, Zellwandzwischenräumen, Interzellularräumen und Stomata verbinden das Röhrensystem mit den Bereichen der Aufnahme und Abgabe. Weiterhin sind auch auf der gesamten Transportstrecke umliegende Gewebe zu versorgen.

Weitere Xylemsaftflüsse entstehen durch die Xylem-Phloem-Relokation sowie durch den Wasserbedarf in wachsenden Geweben. Diese Flüsse sind kurzzeitig konstant und werden mit zunehmendem Xylemsaftfluss aufgrund von Transpiration mehr und mehr vernachlässigbar.

1.2. Der Nährstofftransport in der Pflanze

Eine Pflanze, z.B. Ricinus (*Ricinus communis* L.), besteht, bezogen auf Trockenmasse, zu ca. 90 % aus den Elementen Wasserstoff, Kohlenstoff und Sauerstoff. Die verbleibenden 10 % Trockenmasse, 5 ‰ des Frischgewichts, verteilen sich auf die Makronährelemente Stickstoff (ca. 3,8 %), Kalium (ca. 3,2 %), Calcium (ca. 2,1 %), Magnesium (ca. 0,4 %), Phosphor (ca.0,4 %) und Schwefel (ca. 0,2 %) sowie auf Mikronährelemente (Walter 1997). Diese für pflanzliches Wachstum und Entwicklung essentiellen Nährelemente werden als wasserlösliche Salze von der Wurzel aufgenommen.

Höchster Bedarf an Nährelementen besteht in wachsenden Geweben. Die Bodenverfügbarkeit, der pflanzeninterne Bedarf wie auch die relative Zusammensetzung der Nährelemente können sich stark unterscheiden. Die Nährstoffversorgung muss eine selektive und geregelte Aufnahme sowie Verteilung einzelner Nährelemente an die Orte des Bedarfs sicherstellen. Jedes Nährelement hat eigene physikalische Eigenschaften wie Ladung, Größe oder Löslichkeit, welche sich auf den Transport auswirken. Der Transport des Nährelements ist deshalb einzeln auf seine Interaktion mit dem Wassertransport zu untersuchen. Die Nährelemente können sich aber auch gegenseitig im Transport beeinflussen.

1.2.1. Die Xylembeladung in der Wurzel am Beispiel des Kalium

Unabhängig ob das Kalium über das Phloem aus dem Sprossbereich oder über die Wurzelendodermis aus der Rhizosphäre kommt, muss es in den apoplastischen Raum des Zentralzylinders transportiert werden. Das Xylemparenchym mit seinem ausgeprägten ER, seinen zahlreiche Mitochondrien und seine durch Faltung vergrößerte Plasmamembranoberfläche erscheint dafür besonders geeignet (De Boer 1999). Derzeit wird diskutiert (De Boer 2003), ob nicht auch der Zentralzylinder gegenüber den Xylemgefäßen apoplastisch isoliert ist und die Beund Entladung der Gefäße fast ausschließlich direkt über den Symplast der angrenzenden Xylemparenchymzellen läuft. Der Apoplast der Stele wäre folglich nur indirekt und zwar über die Parenchymzellen mit den Xylemgefäßen gekoppelt. Die Verbindung zwischen Xylemgefäß - Lumen und Plasmamembran der angrenzenden Parenchymzellen ist durch Hoftüpfel gegeben. Die Matrix der Tüpfel-Membran ähnelt der primären Zellwand, aus der diese auch entstanden ist. Sie ist gut Wasser- und Ionendurchlässig, im Gegensatz zu der als hydrophob beschriebenen Auskleidung der Gefäße mit sekundärer Zellwand.

1.2.2. Der laterale Austausch von Nährstoffen auf dem Transportweg

Allgemein besitzen Xylembündel entwicklungsabhängig Gefäße mit unterschiedlichen Durchmessern. Dabei wächst bei zunehmendem Radius die Querschnittsfläche weit mehr als der Umfang, d.h. je größer ein Xylemgefäß, desto mehr verringert sich das Oberflächen / Volumen-Verhältnis. Der Einfluss der Adhäsionskräfte an der Gefäßoberfläche nimmt mit dem Durchmesser des Gefäßes ab. Je größer der Durchmesser, desto geringer der Strömungswiderstand. Weite Gefäße sind geeignet zum Transport von Wasser und Ionen auf weite Entfernung. Gefäße mit geringen Durchmesser aber relativ mehr Oberfläche sind aufgrund des geringeren Flusses und erhöhten Austauschoberfläche zum Ionenaustausch geeignet zur Versorgung des umliegenden Gewebes.

Dass dieser Austausch mit dem umliegenden Gewebe stattfindet, zeigen frühere Perfusionsexperimente mit Kalium. Fließt eine Kaliumlösung durch die Xylemgefäße eines abgeschnittenen Stammstückes, können sich Eingangs- und Ausgangskonzentration unterscheiden (Herdel 2001a). Überschreitet die Eingangskonzentration an Kalium einen Schwellwert, findet keine weitere Erhöhung der Ausgangskonzentration statt. Das Kalium wurde im Stammstück aus dem Xylem austransportiert.

1.2.3. Die Blattspreite: Ort der Transpiration - Ort des Nährstoff - Bedarfs?

Der Fluss des Xylemsaftes ist, anders als im Phloem, überwiegend zum Blatt hin gerichtet, da die Wasserabgabe an die Umgebung über die Blätter stattfindet. Alle mineralischen Nährstoffe, welche nicht auf dem Transportweg dem Xylemsaft entnommen werden, werden in die Blattspreite eintransportiert.

Im Stadium des exponentiellen Wachstums, also von Ende der Keimphase bis zum Beginn der reproduktiven Phase, benötigen Blätter je nach Entwicklungsstadium Nährstoffe für ihr Wachstum. Unter normalen physiologischen Bedingungen zeigen Blätter in der Anfangsphase die höchsten Zuwachsraten, welche sich im Laufe der Blattentwicklung reduzieren.

Im Wuchsstadium mit hohen relativen Wachstumsraten stellt das Blatt eine starke Senke für Nährstoffe dar. Mit fortschreitend absinkender Wuchsrate sinkt auch der relative Nährstoffbedarf. Wächst das Blatt am Tag um 5 % seiner Blattfläche an, so reicht ein täglicher Eintransport an Nährstoffen von 5 % der im Blatt gegebenen Nährstoffmenge aus, um den durch den Zuwachs entstandenen Bedarf auszugleichen und die blattflächenspezifische Konzentration an Nährstoffen konstant zu halten. Ein darüber hinaus gehender Eintransport würde zu einer Akkumulation an Nährstoffen und damit zur Erhöhung der blattflächenspezifischen Konzentration führen. Eine Erhöhung der blattflächenspezifischen Konzentratiter 1997), aber gibt es einen übermäßigen Nährstoffeintransport?

Dazu kann eine Beispielrechnung erste Auskünfte geben: Aus früheren Untersuchungen ist das spezifische Blattfrischgewicht¹ bekannt. Daraus ergibt sich bei bekanntem Anteil an Kalium am Frischgewischt² ein spezifischer Kaliumgehalt pro Blattfläche³. Mittlere, auf die Blatt-

¹ spezifisches Blattfrischgewicht bei Ricinus communis L. ca. 18 mg/cm² (Roggatz 1999)

² Anteil von 0,16 % Kalium am Frischgewicht (Walter 1997)

³ spezifischer Kaliumgehalt pro Blattfläche ca. 29 µg/cm²

fläche bezogenen Xylemflussraten⁴ und üblichen Kalium-Xylemsaft-Konzentrationen⁵ ergeben einen stündlichen **Kalium**eintransport ins Blatt⁶ der ca. 3% der Blattmasse entspricht Selbst wenn man den Nährstoffeintransport auf den Zeitraum erhöhter Transpiration am Tag beschränkt, also auf ca. 10 Stunden, würde der Nährstoffgehalt im Blatt bei Kalium um 30 %, bei Calcium um 15 % und bei Magnesium um 50 % pro Tag ansteigen.

Die Xylem - Konzentrationsmessungen wurden an fast ausgewachsenen Blättern durchgeführt, deren relativer Zuwachs unter 10% am Tag liegt. Dies macht deutlich, dass eine massive Relokation und Export von Kalium, Magnesium und Calcium aus dem Blatt notwendig ist, um einen konstanten Massenanteil aufrecht zu erhalten.

1.3. Ist der Nährstofftransport unabhängig vom Wassertransport?

"...dass auch erhebliche Änderungen in der Intensität der Transpiration weder die Ionenaufnahme noch die Versorgung des Sprosses mit Nährstoffen signifikant beeinflussen......dass in der Wurzel der Einstrom von Ionen in das Xylemwasser die regulierte Größe ist, unabhängig vom Ausmaß der Transpiration..."

Mohr H., Schopfer P., Pflanzenphysiologie, Springer Verlag Heidelberg 1999, ISBN 3-540-64231-5

Diese Feststellung lässt vermuten, dass der Nährstofftransport weitgehend unabhängig von den Wasserflüssen im Xylem stattfindet. Der Massenfluss und damit die Menge an Ionen würde entsprechend der Beladung im Wurzelraum in der Pflanze verteilt.

Diese Feststellung erlaubt jedoch keine Aussage über Veränderungen der Massenflüsse auf dem Weg durch das Xylem durch lateralen Transport in umliegende Gewebe oder aktive Umverteilung entlang der Sprossachse. Gerade diese Massenfluss-Modifikationen auf dem Transportweg könnten durchaus Abhängigkeiten vom Wasserfluss zeigen.

1.4. Aufgabenstellung

Generell war deshalb in dieser Arbeit ein Einfluss kurzfristiger Wasserflussänderung auf die mittelfristige Dynamik des Nährstofftransports an einer intakten Pflanze zu untersuchen. Dazu waren die Nährstoffkonzentrationen und Saftflüsse im Xylem der Pflanze zu messen und zu variieren, möglichst ohne dabei die Stoffflüsse durch die Pflanze zu beeinflussen.

Voraussetzung für diese Untersuchungen war die dauerhafte, minimalinvasive Gewinnung von Xylemsaft-Proben an Pflanzen unter konstanten physiologischen Bedingungen.

⁴ spezifische Xylemflussraten ca. 8 µl/h*cm²

⁵ Xylem - Konzentrationen ca. 3 mM, bzw. 117 mg/l

⁶ blattflächenspezifischer stündlicher Kaliumeintransport ca. 0,9 μg/h*cm²

Frühere Methoden zur Xylemsaftprobennahme waren häufig destruktiv und erlaubten keine Beobachtung dynamischer Prozesse. Eine kontinuierliche Xylemsaftprobennahme wurde durch die Wurzeldruckkammer möglich, oxidative Prozesse bei der Verwendung von Pressluft aber auch hohe Druckschwankungen waren zu vermeiden. Die Wurzeldruckkammer war deshalb in der Druckapplikation zu verbessern.

Ebenso war die Nährstoffkonzentrations-Analyse von Kalium und Nitrat im Xylemsaft mittels ionenselektiver Elektroden zu verbessern.

Der interne Wasserfluss war über die Transpiration zu manipulieren ohne dass andere Stoffwechsel-Prozesse wie die Photosynthese oder CO_2 - Assimilation beeinträchtigt wurden. Die Transpiration war deshalb über die relative Luftfeuchte bei konstantem Licht und Temperatur zu variieren. Dies erforderte die Entwicklung einer temperaturregulierten Sprossküvette.

Die Weiterentwicklung der Druckapplikation zur Xylemsaftgewinnung und der Sprossküvette zur Transpirationsvariation sollten die Grundlage für die Untersuchung des Nährstofftransports und dessen Abhängigkeit vom Wasserfluss in der Pflanze bilden.

Neben der zentralen Fragestellung nach der Abhängigkeit des Nährstofftransports vom Wasserfluss in der Pflanze wurde auch die Nährstoffaufnahme und -verteilung sowie deren Abhängigkeit vom Wassertransport gemessen um die Nährstoffaufnahme in das Wurzelxylem als möglichen regulierenden Prozess zu untersuchen. Ob auch der laterale Nährstofftransport kann, in Abhängigkeit vom Wassertransport, den axialen Nährstofftransport durch den Spross beeinflussen kann, wurde destruktiv mittels Perfusion von Pflanzenabschnitten untersucht.

Inhalt der Arbeit war damit die Weiterentwicklung der Xylemsaft - Probennahme und Xylemsaftanalyse um im Folgenden die Auswirkung unterschiedlicher Wasserflüsse auf die Konzentration von im Xylemsaft gelösten Mineralien, deren Aufnahme, Transport, lateraler Austausch und axialer Verteilung zu untersuchen.

2. Material und Methoden

Zur Untersuchung der Abhängigkeit zwischen Wasser- und Nährstofftransport war es notwendig, einerseits den Wasserfluss in der Pflanze messen und kontrollieren zu können. Andererseits mussten die Xylemsaftkonzentrationen gemessen werden, um Massenflüsse bestimmen zu können.

Die Versuche wurden an *Ricinus communis* L. und *Populus tremula* x *Populus alba* durchgeführt. *Ricinus communis* L. war geeignet wegen seiner übersichtlichen und gleichbleibenden Sprossform, was eine gute Vergleichbarkeit bei Wasserfluss- und Transpirationsmessungen ermöglichte, und wegen seines langsamen Wundverschlusses, was eine langfristige Probennahme von Xylemsaft über mehrere Tage ermöglichte. Weiterhin lagen Grundlagenuntersuchungen zu Druckapplikation und diurnalen dynamischen Nährstoffkonzentrationen vor. *Populus tremula* x *Populus alba* wiederum eignete sich aufgrund der homogenen Blattverteilung am Spross zur Messung von Konzentrationsverteilungen entlang der Sprossachse.

Bei beiden Pflanzen wurde zur exakten Kontrolle des Nährstoffangebotes im Wurzelbereich auf Erde als Substrat verzichtet. Eine Anzucht im Nährlösungsbad, Hydroponic, war mit der Xylemsaftgewinnung per Wurzeldruckkammer nicht kompatibel, da eine Druckapplikation bei eingetauchter Wurzel zur Infiltration von Wasser und zu Schäden im Wurzelgewebe führte. Dies machte die Anzucht in einer Sprühkultur, **Aeroponic (Kap. 2.1.3.)**, notwendig.

Es war ein zentraler experimenteller Aufbau zur **Xylemprobennahme** und **Flusskontrolle** an *Ricinus communis* L. zu entwickeln und realisieren. Zusätzlich zu den direkten Messungen zu den Wasser-Nährstoff-Interaktionen waren die kurzfristige **Nährstoffaufnahme** über die Wurzel bei unterschiedlicher Transpiration zu untersuchen. **Perfusionsexperimente** ermöglichten weiterhin die Bestimmung des lateralen Nährstoffaustausches in und aus den Xylemgefäßen. Abschließend war die **Nährstoffverteilung** im Spross an *Populus tremula* x *Populus alba* zu untersuchen.

2.1. Pflanzen und deren Anzucht

Die Untersuchungen wurden an zwei Pflanzen-Spezies durchgeführt.

Ricinus communis L. wurde zur Untersuchung der Nährstoffaufnahme, zur Xylemsaftuntersuchung bei variierenden Transpirationsbedingungen und bei destruktiven Untersuchungen der lateralen Austauschprozesse verwendet. *Ricinus communis* L. zeigt in seiner Sprossstruktur nur geringe Variationen zwischen den einzelnen Pflanzen. Es existiert für *Ricinus communis* L. aus Voruntersuchungen eine Datenbasis bezüglich der Xylemsaftkonzentrationen und deren zeitliche Dynamik.

Populus tremula x *Populus alba* eignet sich aufgrund seiner gleichmäßigen und dichten Blattverteilung am Stamm zu Untersuchungen von Nährstoffgradienten in der Sprossachse.

2.1.1. Ricinus communis L.

Ricinus communis L. Var. Carmencita ist eine mehrjährige dikotyle Staude aus der Familie der Euphorbiaceae.



Abbildung 2-1 *Ricinus communis* L. Var. Carmencita, Sprossbereich mit paarigen Kotyledonen, paarigen Primärblättern und zwei einzeln stehenden Folgeblättern

Der Untersuchungszeitraum in der vorliegenden Arbeit umfasst die exponentielle Wachstumsperiode bis zur ersten Blütenbildung. Es entwickeln sich in dieser Periode zu dem stark ausgeprägten Hypokotyl und den zwei Kotyledonen ein kreuzgegenständiges Primärblattpaar sowie bis zu vier einzelstehende Folgeblätter. Die Kotyledonen zeigen eine runde Form und glatte Blattränder; die Primärblätter sind aus sieben Blattlappen mit gesägtem Rand, die Folgeblätter aus acht Blattlappen mit gesägtem Rand zusammengesetzt. Das zur Xylemsaftentnahme zugängliche Ferntransportsystem beschränkt sich auf den Sprossbereich und die Blattadern. Die Xylemgefäße verlaufen in offen kollateralen Leitbündeln. Auf Höhe der Nodien lösen sich einzelne Leitbündelstrukturen auf und biegen in Septen, welche Markhöhlen in den einzelnen Internodien voneinander abgrenzen.

Samen von *Ricinus communis* L. wurden über Nacht in VE-Wasser gequollen, sich lösende Beizstoffe wurden durch Wechseln der Quelllösung entfernt. Die Samen keimten für 72 Stunden abgedunkelt bei 25°C in Sand; das Anbrechen der Samenhülle an der Keimspitze erhöhte die Keimungsrate.

Die weitere Anzucht der Pflanzen erfolgte für ca. 6 Wochen in Sprühkultur, Aeroponic. Der Wurzelbereich wurde dabei kontinuierlich mit Nährlösung besprüht. Eine 5mM Ingestad-Nährlösung wurde entsprechend früherer Ergebnisse (Gilmer 1999) in der Zusammensetzung modifiziert.

Nitrat	5mM	Kalium	2mM
Phosphat	300µM	Ammonium	1mM
Sulfat	155μΜ	Calcium	450μΜ
Borat	1µM	Magnesium	150µM
Molybdat	10nM	Mangan	5μΜ
		Zink	0.5µM

Tabelle 2-1 modifizierte 5mM Ingestad-Nährlösung. Frühere Versuche zeigten eine Kalium-Akkumulation in Sprühkultur. In der modifizierten Zusammenstellung wurde die Kalium-Konzentration reduziert und zum Ladungsausgleich durch Ammonium ersetzt.

In Sprühkultur ist die laminare Grenzschicht an der Wurzeloberfläche reduziert. Die Nährstoffe erreichen höhere Konzentrationen an der Wurzeloberfläche. Kupfer zeigte unter diesen Umständen toxisches Verhalten. Auf Kupfer wurde verzichtet, Spuren durch Wasserverunreinigungen waren ausreichend, Kupfermangelsymptome traten nicht auf.

2.1.2. Populus tremula x Populus alba

Keimlinge von Pappelhybriden (*Populus tremula* x *Populus alba*, Klon INRA 717 - 1B4) wurden in speziellen Kulturröhrchen mit Deckel ("Culture tubes" 25 x 150 mm, Fa. Sigma) in sterilem Agar - Medium aus der Arbeitsgruppe Tischner des botanischen Institutes der Universität Göttingen gestellt.



Abbildung 2-2 Populus tremula x Populus alba, in aeroponischer Anzucht, in Spraydruckkammer, Probennahme

Die Keimlinge wurde in Flüssigkultur, Hydroponic über ca. 3 bis 4 Wochen an geringe Luftfeuchten adaptiert und bei einer Sprosslänge um 4 cm in die Sprühkultur, Aeroponic-Anzucht überführt. Sie wurden mit 5 mM modifizierter Ingestad-Nährlösung (siehe *Ricinus communis* L.) besprüht und bei 120 - 200 μ E, 20°C und ca. 30 - 50 % rH bis auf eine Höhe von 60 cm (25 Blatt-Stadium) angezogen.

2.1.3. Die Pflanzenanzucht in Sprühkultur - Das Aeroponic - System

Das Besprühen der Pflanzenwurzeln mit Nährlösung ermöglichte die Kontrolle der Nährstoffverfügbarkeit und Nährstoffaufnahme im Wurzelbereich ohne den bei Erdanzucht gegebenen Pufferkapazitäten. Eine Anzucht mit in Nährlösung eingetauchten Wurzeln (Hydroponic) war nicht sinnvoll, da eine Druckapplikation im Nährlösungsbad zur Schädigung der Wurzel aufgrund von Wasserinfiltration führte.

Die Aeroponic-Anzucht wurde in 210-Liter-Großwannen (790*605*680 L*B*H) der Firma Schäfer-Shop durchgeführt Die Wannen waren mit einer 10mm Deckelplatte mit 3*3 100mm-Bohrungen nach oben abgeschlossen. Auf diese Bohrungen wurden runde Deckelplatten mit einer zentralen Bohrung für den Pflanzen-Keimling spritzwasserdicht eingesetzt.

Die Anzuchtwannen wurden mit lichtundurchlässiger Folie beschichtet, um das Wachstum von Mikroorganismen sowie Grünalgen zu minimieren. Geringer Besatz an Mikroorganismen, welche Wurzelexudate als Nahrungsquelle nutzen, hatte keinen störenden Effekt auf die Ernährung der Pflanzen (Ingestad & Lund 1987).

Metalle wurden als Material innerhalb der Aeroponic gemieden, da die Nährlösung korrodierend wirkte. Es wurden Tauchpumpen mit einer magnetischen Kupplung verwendet. Neue Kunststoffbehälter wurden durch Waschungen mit 1 mM Salzsäure und darauffolgend mit 1 mM Natronlauge sowie einer 24 h Spülung mit Nährlösung gereinigt und konditioniert.

Die Nährlösung wurde von Pumpen (Firma ubbink) mit einer Pumpleistung von 32 l/min zu den aufgesetzten Spraydüsen (Firma Gardena, Rotor-Sprühregner) gepumpt. Die Düsen wurden zentral in der Wanne 120 mm unterhalb der Wannenabdeckung positioniert.

Die Temperatur der Nährlösung wurde nicht geregelt, erreichte aber aufgrund der Tauchpumpenabwärme einen konstanten Wert von 28°C. Eine aktive Sauerstoffversorgung des Wurzelraumes war nicht notwendig, da die aeroponische Anzucht einen optimalen Gasaustausch des Wurzelraumes mit der Umgebung ermöglichte.

Im Aeroponic-System wurden die Keimlinge in den Bohrungen der runden Deckelplatten fixiert. Die Wurzel der Pflanzen hing frei in die Wanne und wurde kontrolliert mit definierter Nährlösung besprüht. Dabei wurde die bei Erdanzucht vorhandene Ionenaustauschkapazität vermieden. Die der Nährlösung zugegebenen Ionen waren in Menge und Konzentration fast vollständig und damit kontrolliert für die Wurzel verfügbar.

Die Besprühung der Wurzelballen erfolgte kontinuierlich über 24 Stunden. Bei einem Nährlösungsvolumen von 25 Litern sowie einer maximalen Wasseraufnahme von 8 * 300 ml/d bei *Ricinus communis L.* im späten Versuchsstadium wurde ein Nährlösungswechsel alle 4 Tage notwendig. Eine Abreicherung einzelner Ionensorten und daraus folgende pH-Verschiebungen in der Nährlösung wurde so vermeiden.

2.2. Die Xylemsaft - Probennahme durch Druckapplikation

Xylemsaftanalysen wurden bislang hauptsächlich an destruktiv gewonnenen Xylemsaft-Proben durchgeführt. Xylemsaft wurde an Stümpfen abgeschnittener Pflanzen gesammelt, welches dort getrieben vom Wurzeldruck hochkonzentriert exudierte. Xylemsaft wurde auch aus Gewebestücken durch Zentrifugation oder Austreiben mittels Druckentspannung gewonnen. Die Probennahme erlaubte jedoch nur eine Momentaufnahme und auch die Xylemsaftzusammensetzung wurde durch diese Methoden beeinflusst. Mit der Methode der Druckapplikation im Wurzelbereich zur Xylemprobennahme am Spross, entwickelt von J. Passioura Anfang der Achtziger, wurde eine längerfristige Xylemsaftentnahme an einer intakten, transpirierenden Pflanze durch Eröffnen einer einzelnen Blattader möglich.

2.2.1. Das Prinzip der Druckapplikation

Die im Wasser enthaltene Energie, wird als Wasserpotential bezeichnet. Das Wasserpotential entspricht dem hydrostatischen Druck minus dem osmotischen Druck und wird in Pascal (Pa) angegeben. Im Vergleich zum hohen Potential des Bodenwassers kann das Potential des Wassers in dem die Pflanze umgebenden Gasraum aufgrund des verringerten hydrostatischen Drucks sehr negative Werte annehmen. Der Wasserfluss verläuft entlang eines Potentialgradienten vom Ort positiveren Wasserpotentials zum Ort negativeren Wasserpotentials. Das Wasser verdunstet aus dem Boden in den umgebenden Gasraum. In diesen Fluss bindet sich die Pflanze ein. Durch Verdunstung von Wasser an den Blättern wird im Xylem eine Saugspannung induziert und über die Wurzel Wasser nachgeführt.

Der Weg des Wassers durch die Pflanze lässt sich vereinfacht auch in Anlehnung an das Ohmsche Gesetz beschreiben (Nobel 1999). Der Wasserfluss durch die Pflanze (Strom) wird angetrieben durch die Wasserpotentialdifferenz (Spannung) und begrenzt durch die verschiedenen Phasenübergänge, Gewebearten und Leitungssysteme (Widerstand). Verschiedene Pflanzenabschnitte wie Rhizoendodermis, Zentralzylinder, Hypokotyl, Nodien und Internodien, Petiolen und Blattadern, Interzellularen und Spaltöffnungen besitzen unterschiedliche und charakteristische Widerstände, welche als in Reihe oder Serie geschaltet betrachtet werden können.

Das Wasserpotential im Xylem kann bei entsprechender Saugspannung und entsprechend geringem hydrostatischen Druck z.B. einen Wert um - 300 kPa annehmen. Bei einem ange-

nommenen Bodenwasserpotential von 0 Pa entspricht dies einer Potentialdifferenz von 300 kPa.

Würde per Druckapplikation im Wurzelraum der hydrostatische Druck und (bei gleichbleibendem osmotischen Druck) damit das Bodenwasserpotential auf + 300 kPa angehoben, steigt auch der hydrostatische Druck im Xylem. Der hydrostatische Druck im Xylem könnte damit auf den Umgebungsdruck angehoben werden. Die Saugspannung im Xylem könnte kompensiert und Xylemsaft kann entnommen werden.

Würde die Druckapplikation im Wurzelbereich mit komprimierter Luft durchgeführt, stiege mit der Druckerhöhung auch der Sauerstoffpartialdruck - dies könnte zu unerwünschten oxidativen Prozessen an der Wurzel führen. Maßgeblich für die Funktion von Stoffwechselprozessen sowie für ein Vermeiden von unphysiologischen Oxidationsprozessen wäre ein Sauerstoffpartialdruck entsprechend den Bedingungen unter Normaldruck von ca. 20 kPa. Um diesen zu erhalten, wurde eine druckabhängige Mischung von Pressluft und Stickstoff appliziert. Über einen Sauerstoffsensor wurde dazu der relative Sauerstoffanteil gemessen.

2.2.2. Weiterentwicklung der Regelung zur Druckapplikation

Die zu Beginn der Arbeit vorhandene Druckregelung war veraltet und in den Regelungsmöglichkeiten eingeschränkt. Ziel der Modifizierung war eine in und während der Anwendung flexible Steuerung des Druckes in der Spraydruckkammer bei gleichzeitig kontrolliertem Sauerstoffpartialdruck. Um dies zu ermöglichen, wurden folgende Änderungen durchgeführt. Ein Portieren der Regelungssoftware von Windows DOS 5.0 auf das multitaskingfähige Win-

dows Win98 ermöglichte den Parallelbetrieb der Anwendung mit anderen Programmen der Messwerterfassung und -verarbeitung. Dies ermöglichte auch die Datenerfassung und direkte Weiterverarbeitung im Spreadsheet-Format (Excel). Die Hardware zur Messsignalerfassung und Drucksteuerung wurde vereinfacht und in ein Gerät zusammengefasst. Damit entfiel der Einbau von PC-Einsteckkarten bei PC-Wechsel. Dies ermöglichte einen einfachen Anschluss der Druckregelung an den PC über serielle Schnittstellen.

Die Regeldaten und Steuer-Befehle wurden per Software verarbeitet. Dies ermöglicht eine Änderung und Anpassung der Signalverarbeitung und Befehlsgenerierung an zukünftige Anforderungen. Die verwendete Software war LabView 5.1 (National Instruments, Software für industrielle Steuerung und Regelung, später LabView 7.0 mit Win2000), mit der aufgrund ihrer grafischen Struktur auch komplexe parallele Prozeduren einfach und übersichtlich programmiert werden konnten. Die flexible Programmierung ermöglichte unterschiedliche Druckapplikationsverläufe, eine Erhöhung der Signalauflösung und Beschleunigung der Steuerungsprozesse. Die Verwendung dieser modernen industrieüblichen Regelungssoftware sowie von multifunktionellen elektronischen Bauteilen ermöglichte die konsequente Trennung der Datenerfassung und Ventilsteuerung auf der Hardwareseite von der Datenverarbeitung auf der Softwareseite und damit eine flexible und erweiterbare Ansteuerung der letztlich zur Druckapplikation verwendeten Komponenten.



Abbildung 2-3 Funktionsschema der Druckregelung: Messwerte werden über Sensoren erfasst, digitalisiert und an die Regelungssoftware übermittelt. Steuerbefehle werden von der Regelungssoftware empfangen und die Druckapplikation über die Ventilsteuerung durchgeführt.

Ablauf der Druckregelung

Der Ablauf der Regelung der Druckapplikation lässt sich in Messwerterfassung, Befehlsgenerierung und Befehlsausführung unterteilen. Diese Aufgaben können weiter untergliedert werden.

Zu Beginn wurde die Druckdifferenz zwischen dem Kammerdruck und dem Umgebungsdruck, also der in der Kammer gegebene Überdruck gemessen. Die verwendeten Druckmessumformer waren WEGAtronic (0 - 40 bar, 0 - 5 V) und Vegabar14 (0 - 25 bar, 4 - 20 mA). Beide arbeiteten nach dem Prinzip des Plattenkondensators - eine Druckapplikation veränderte den Plattenabstand und die Kapazität, welche damit ein Maß für den Druck darstellte. Messstelle an der Spraydruckkammer war der Kammereingang der druckführenden Leitung. Feuchtigkeit am Druckmessumformer wurde dadurch vermieden.

Parallel wurde der prozentuale Sauerstoffanteil der Kammerluft gemessen. Der verwendete Messumformer war ein Zirkonoxydsensor von Fujikura. Der Sensor FCX-U-CH (in Verbindung mit Modul FCX-MEP2-CH, 0 - 25 % O₂, 4 - 20 mA) funktionierte nach dem Prinzip des gasdiffusionsabhängigen Begrenzungsstromes und war werksseitig kalibriert. Die Messstelle befand sich im Reglergehäuse. Die Gaszuführung war über einen Bypass des Gasausgangsventils dauerhaft gegeben und über ein Nadelventil flussreguliert.

Beide Messsignal-Ausgangsströme (4 - 20 mA) wurden über einen "current loop receiver" (RCV420, Burr-Brown) zu einer Ausgangsspannung von 0 - 5 V umgewandelt. Die Signalspannungen wurden über einen Spannungsteiler auf 0 - 500 mV umgesetzt und über einen 8 -Kanal - Multiplexer (ADG528A, Analog Devices) auf den Eingang eines Analog-Digital-Wandlers gegeben. Es konnten neben den Signalen der Druck- und Sauerstoffmessumformer 6 weitere Messsignale eingespeist und die Anwendungsmöglichkeiten entsprechend erweitert werden.

Der Analog-Digital-Wandler (max132, Maxim-IC) war das Herzstück der Steuerelektronik. Neben dem 1 - Kanal - ±18Bit - A/D - Wandler waren eine serielle Schnittstelle sowie 4 programmierbare digitale Ausgänge integriert.

Die Messwerte wurden über eine serielle Schnittstelle auf den PC übertragen. Die Kommunikation zwischen der seriellen Schnittstelle des A/D-Wandlers max132 und der Regelungssoftware LabView 5.1 erfolgte über das Bitweise Auslesen der Wandlerinternen Register durch das direkte Ansprechen der PC-Register des entsprechenden seriellen Ports in Lab-View. Die benötigte Treiber - Programmierung wurde als Unterprogramm Max132s8.vi als Diagramm des grafischen Quellcodes im Anhang dargestellt. Vi steht dabei für Virtuelles Instrument, eine Programmbezeichnung unter LabView.

Softwareseitig konnte nun der Kanal gewählt und die Spannungsmesswerte abgerufen werden. Dies ermöglichte das Unterprogramm max132vi.vi (Quellcode siehe Anhang).



Abbildung 2-4 Frontpanel von max132vi.vi. Ein virtuelles Instrument (vi) in LabView besteht neben dem grafischen Quellcode aus einem Frontpanel mit Bedienelementen.



Abbildung 2-5 Die Bedien- und Anzeigeelemente können sich zwischen dem Frontpaneel (zur direkten Anwendung) und der grafischen Subroutine (zur Einbindung in höhere Programmhierarchien) unterscheiden.

Die Spannungssignale wurden über das Unterprogramm Max132mc.vi kalibriert und die Druckwerte in [bar] (= 0,1 MPa) sowie die Sauerstoffkonzentration in [%] umgerechnet.

Entsprechend der Druck- und Sauerstoffdaten wurden die aktuellen Sollwerte, der Solldruck und das Druckluft-Sauerstoff-Mischungsverhältnis mit dem Unterprogramm Max132sp.vi berechnet.

Der Druck war langsam zu verändern, um Schäden an den Wurzeln zu vermeiden. Es wurden drei Möglichkeiten der Druckänderung realisiert.

- stufenweise Änderung vom Anfangs- zum Endwert mit definierter Stufenhöhe und -dauer
- lineare Änderung vom Anfangs- zum Endwert mit definierter Steigung
- exponentielle Änderung vom Anfangs- zum Endwert mit definierter maximaler Steigung

Die **stufenweise Änderung** des Kammerdruckes wurde aus älteren Regeleinheiten übernommen, wurde aber in den laufenden Experimenten nicht angewendet.

Üblich war die **lineare Druckänderung**. Bei einer verwendeten Steigung von 200 mbar/min war eine hinreichende wie auch schonende Änderungsgeschwindigkeit gegeben.

Möglich war auch die Anwendung der **exponentiellen Änderung**: Eine absolute Druckänderung von z.B. 1 bar bedeutete bei anfänglichem Atmosphärendruck eine Verdopplung und damit eine hohe relative Druckänderung um 100%.

Bei einem gegebenen Druck von z.B. 5 bar im laufenden Experiment bedeutete jedoch ein Anstieg um 1 bar nur eine relative Änderung um 20%.

Um also bei drucksensitiven Wurzeln die hohen relativen Druckänderungen im unteren Druckbereich zu verringern, wurde eine grundlegend lineare Änderungscharakteristik mit einer exponentiellen Sättigungsfunktion im unteren Bereich gedämpft. Diese Funktion fand jedoch bei den laufenden Experimenten keine Anwendung.

Auf der obersten Programmebene im Programm Max132pc.vi (siehe Anhang) wurden die Sollwerte wie Enddruck, Druckänderung und Sauerstoffanteil über Bedienelemente eingegeben. Soll- und Ist-Werte von Druck und Sauerstoffanteil wie auch der aktuelle Sauerstoffpartialdruck wurden angezeigt.



Abbildung 2-6 Frontpaneel mit Sollwert-Eingabe und Datenanzeige

Entsprechend der gemessenen Ist-Werte und berechneten Soll-Werte wurden die Steuerbefehle für die Ventilsteuerung generiert

Sie wurden dann durch das Unterprogramm max132vc.vi an den Druckregler übertragen. Hier verlässt der Ablauf die Software-Ebene. Die weiteren Schritte sind wieder als Hardware implementiert.

Je nach Status der digitalen Ausgänge am A/D-Wandler wurden Eingangskanäle gewählt oder Ventile angesteuert, um Druck und Sauerstoffanteil einzustellen. Der Ablauf wurde innerhalb einer Sekunde durchlaufen und an deren Ende begann ein neuer Programmzyklus.

2.2.3. Der Aufbau der Spray - Druckkammer

Die Spray - Druckkammer wurde als eine Wurzeldruckkammer mit integriertem aeroponischen Sprühsystem in der AG Schurr am botanischen Institut der Universität Heidelberg entwickelt. Die Kammer war für einen maximalen Arbeitsdruck von 0,6 MPa ausgelegt. Alle Gehäuseteile wurden aus Macrolon[®] gefertigt.



Ein Rohrstück von 20,5 cm Höhe und einem Durchmesser von 18 cm bildeten das Nährlösungsreservoir. Eine Tauchpumpe am Boden [①](ubbink power 250) pumpte die Nährlösung durch das Sprühsystem [②] (Gardena). Auf dieses basale Rohrstück war ein schmales, langes Rohr als Wurzelraum aufgesetzt (Höhe: 35 cm, Durchmesser: 14,7 cm). Die Bereiche wurden durch ein Plastikgitternetz [③]getrennt, so dass die Wurzeln der Versuchspflanzen nicht in die Nährlösung eintauchen konnten. Um Nährlösung zu ergänzen oder deren Zusammensetzung unter Druck zu verändern, war ein Druckzylinder von 300 ml [④] als Bypass an die Kammer angeschlossen.

Abbildung 2-7 Schematische Zeichnung der Spraydruckkammer nach K. Herdel

2.2.4. Die Xylemsaft - Probennahme

In der experimentellen Phase wurden auf Höhe des ersten Folgeblattes von *Ricinus communis* L. der Transpirationssog leicht überkompensiert. Je nach Wasserpotentialdifferenz, z.B. abhängig von der Luftfeuchte, und der pflanzeninternen Wasserleitfähigkeit, z.B. abhängig von der Spaltöffnung zur CO₂-Aufnahme wurden Drücke im Wurzelbereich von 0,3 bis 0,6 MPa zur Kompensation benötigt. Am ersten Folgeblatt wurde eine Blattader geöffnet und ein Silikonschlauch übergezogen. Die ersten Tropfen waren wegen Schnittverunreinigungen zu verwerfen. Durch den geringen Wundverschluss bei *Ricinus communis* L. konnte über Stunden und Tage durchgehend Xylemsaft entnommen werden.

Bei langfristiger Druckapplikation bei konstanter Sauerstoffversorgung mit 20 kPa Partialdruck und maximalen Druckänderungen von 20 kPa/min zeigten die Pflanzen keinerlei sichtbaren Schädigungen an der Wurzel.

Bei Untersuchungen an *Ricinus communis* L. zur Emission von VOC (volatile organic compounds) unter Stress wurden Hexanalemissionen gemessen. Hexanalemissionen waren demnach Indikatoren für Stresssituationen der Pflanzen. Bei Messungen von VOC unter Druckapplikation wurden keine Hexanalemission gemessen. Dies war ein Indiz für die Verträglichkeit der Methode.

2.3. Die Wasser - Flussbestimmung

Zur Bestimmung des Massenflusses an Nährstoffen im Xylem wurde neben der Konzentration der Nährstoffe auch der Fluss des Xylemwassers benötigt. Indirekte Methoden waren zum einen die Gewichtsbestimmung zur Messung der Volumenabnahme der Nährlösung und zum anderen die Kalkulation der Transpiration durch den Wasseraustransport aus der Sprossküvette.

Eine direkte Methode war die Bestimmung des Saftflusses im Stamm über die Stem - Heat -Balance - Methode mittels dem Saftfluss-Messgerät flow2 (Dynamax).

2.3.1. Die "stem heat balance" - Methode

Dem Sprossbereich wurde eine konstante Wärmemenge zugeführt und anhand des unterschiedlichen axialen "Wärmetransports" die Saftflussrate kalkuliert. Über ein sprossumschließendes Heizband wurde dem Sprossbereich eine konstante Wärmeleistung (P_{in}) zugeführt. Diese diffundierte in radiale und axiale Richtung und wurde über Temperatursensoren oberhalb, unterhalb und radial zum Heizband gemessen.

Bei einem axialen Saftfluss wurde zusätzlich zur Diffusion Wärme in Flussrichtung transportiert. Da die axiale Diffusion in und gegen die Flussrichtung gleich groß war, wurde eine Differenz im axialen Wärmetransport durch den Saftfluss bedingt.

Abkürzungen:

P_in= zugeführte WärmemengeQ_flow= transportierte WärmemengeQ_radial= radiale Wärmediffusionqu, qd= vertikale Wärmediffusionaufwärts (u) oder abwärts (d) gerichtetdx= SensorenabstanddT= Temperaturzunahme

A, B, C, Ha, Hb, Hc = Temperatursensoren



Abbildung 2-8 Schematischer Aufbau des Flow2

Qf = Pin - Qr - qu - qd (W) Die mit dem Xylemsaft transportierte Wärmemenge ergab sich aus der Differenz von zugeführter und durch Diffusion relokalisierter Wärmemenge. Die axiale wie auch radiale Wärmediffusion war durch die Temperatursensoren messbar. Im Unterschied zur Messung der axialen Wärmediffusion durch Differenzmessung an 2 Sensoren A + B und Ha + Hb war die Messung der radialen Wärmediffusion durch Absolutmessung mit nur einem Sensor abhängig vom Sitz der Manschette. Die radiale Wärmeleitfähigkeit war deshalb nach jedem Anlegen der Manschette oder einer Veränderung ihres Sitzes neu zu bestimmen. Dabei war der axiale Wärmetransport durch Saftfluss zu minimieren.

Über die spezifische Wärmekapazität von Wasser und die durch Wärmezufuhr bedingte Temperaturzunahme des Xylemsaftes konnte die Saftflussrate (Menge / Zeiteinheit) kalkuliert werden (Sakuratani 1981, Baker und Van Bavel 1987).

Entsprechend dem Stammdurchmesser von *Ricinus communis* L. und *Populus tremula* x *Populus alba* von ca. 10 mm wurde eine entsprechende Messmanschette SGA 9 verwendet. Sie wurde dicht an die Stammoberfläche angelegt. Unebenheiten oder Blattansätze (Pappel) wurden vorher geglättet und Lücken mit wärmeleitendem Schmierfett auf Silikonbasis aufgefüllt. Die Manschette wurde gegen äußere Temperaturschwankungen isoliert. Die Aufzeichnung der Daten erfolgte mit einem externen Daten-Logger, da das Gerät für den Freilandeinsatz konzipiert wurde Das Messprogramm für den Daten-Logger wurde über ein DOS-Programm am PC erstellt und per serieller Schnittstelle RS232 übertragen.

Die im Daten-Logger errechneten und gespeicherten Flussdaten wurden per RS232 an den PC übertragen, in Excel importiert und weiterverarbeitet.

2.3.2. Die gravimetrische Methode

Der Xylemfluss könnte auch über die Abnahme des Nährlösungsvolumens bestimmt werden. Da jedoch der Druckkammer-Aufbau ein hohes Eigengewicht besaß, war eine Gewichtsbestimmung in hoher zeitlicher Auflösung nicht mit ausreichender Zeitauflösung möglich.

Bei Versuchen zur Nährstoffaufnahme außerhalb der Druckkammer wurde die gravimetrische Methode verwendet. Das Eigengewicht der Nährlösung war ausreichen klein um den kurzfristigen Wasserverbrauch (Messung alle ¹/₂ Stunde) und die damit verbundene geringe Gewichtsabnahme messen zu können.

Auch bei der Anzucht in Aeroponic - Behältern wurde die gravimetrische Methode verwendet. Das Eigengewicht der Nährlösung war zwar hoch, aber die Messauflösung der Waage ausreichend, um langfristig (Messung täglich) den Wasserverbrauch und die damit verbundene Gewichtsabnahme messen zu können.

2.3.3. Die Sprossküvette zur Transpirationsvariation

Zur Kontrolle und Variation der Sprossumgebung wurde der Sprossbereich von *Ricinus communis* L. mit einer Küvette umschlossen. Die Messung der Luftfeuchte, Temperatur in der Küvette und des Gasflusses durch die Küvette ermöglichte die Berechnung des Wasserflusses von der Pflanze in die Küvette und von der Küvette in die Umgebung. Die Küvette konnte mit Luft definierter Menge und Feuchte gespült werden. Je mehr trockene Luft durch die Küvette strömte, desto geringer wurde die Feuchte und desto geringer wurde das Wasserpotential in der Küvette. Die Erhöhung der Wasserpotentialdifferenz bewirkte eine erhöhte Transpiration. Die Variation der Luftspülung in der Küvette ermöglichte damit einen Einfluss auf den Xylemsaftfluss.

Die Sprossküvette bestand aus einem Kubus aus 20x20 mm starken Aluminiumstangen mit den Außenmaßen 400x400x450 mm (LxBxH), dessen sechs Seiten mit durchsichtigen 10 mm starken Makrolanplatten gasdicht verschlossen wurden. An der Rückwand wurde durch 2 Ventilatoren von 100 mm Durchmesser am Ein- und Auslass eines Bypasses die Luft der Küvette konstant verwirbelt. Die Luftfeuchte innerhalb der Küvette wurde konstant gemessen. Innerhalb des Bypasses konnte über einen Anschluss trockene Pressluft mit einstellbarem Gasfluss eingeleitet werden. Der Gasauslass fand an der Stammdurchführung statt.



Abbildung 2-9 Sprossküvette mit Einschubfläche für Druckkammer



Abbildung 2-10 Experimenteller Aufbau zur Untersuchung von Nährstoffflüssen in Abhängigkeit von der Transpiration. *Ricinus communis* L. mit Sprossbereich in Küvette und Wurzelbereich in Spraydruckkammer.

2.4. Versuchsdesign: Nährstoffaufnahme über die Wurzel

6 Pflanzen von *Ricinus communis* L. wurden mit 7,5 mM und 6 Pflanzen wurden mit 0,75 mM modifizierte Ingestad-Nährlösung in Aeroponic angezogen. Diese je 6 Pflanzen wurden zu Versuchsbeginn in 200 ml 7,5 mM und 0,75 mM modifizierte Ingestad-Nährlösung umgesetzt. Die Nährlösungen wurden bei jeweils 3 der 6 Pflanzen bei ca. 200 Pa VPD oder ca. 2200 Pa VPD beprobt.

Dies ergab:

3 Pfl. bei hoher NL-Konz. u. hoher VPD3 Pfl. Bei hoher NL-Konz. u. geringer VPD3 Pfl. bei geringer NL-Konz. u. hoher VPD3 Pfl. Bei geringer NL-Konz. u. geringerVPD



Abbildung 2-11 Gravimetrische Wasserverbrauchsmessung an *Ricinus communis* L.

2.5. Versuchsdesign: Perfusion von Stammstücken

Zur Untersuchung lateraler Bewegung von Nährstoffen aus dem Xylem in das umliegende Gewebe und aus dem umliegenden Gewebe in das Xylem wurden Stammstücke aus dem Spross von *Ricinus communis* L. herausgeschnitten und mit Versuchslösung durchspült, perfundiert. Die Perfusion wurde mit unterschiedlichen Flussgeschwindigkeiten durchgeführt um den Einfluss der Flussgeschwindigkeit auf laterale Nährstoffbewegungen zu untersuchen.

Das Ausschneiden der Stammstücke erfolgte unter Wasser um Embolien im Gefäßsystem zu vermeiden. Mittels Luer-Lok-Adapter (Fa. Neolab) wurden Silikon-Schlauch-Abschnitte mit minimalem Volumen an die Schnittenden angeflanscht.

Perfusionslösung von 1 und 10 mM (N-Ingestad-Lösung) bei pH 5,6–5,8 wurde flussreguliert in Flussrichtung durch das Hypokotyl (upside-down) perfundiert und die Konzentration der Ionen in der perfundierten Lösung per Ionenchromatografie (siehe Analytik) gemessen.

Die Perfusionskonzentration wurde einstufig um den Faktor 10 erhöht und die verzögerte Konzentrationsänderung am Hypokotyl - Ausgang gemessen.





Der Konzentrationswechsel innerhalb der Gefäße fand in den ersten 10 min statt. Dieser Konzentrationswechsel in axialer Richtung wurde durch longitudinale Kinetiken beschrieben Der Austausch in lateraler Richtung erreichte nach ca. 2 Stunden einen steady-state und wurde durch transversale Kinetiken beschrieben.

Das Probennahmeintervall und damit die zeitliche Auflösung war abhängig von der für die Analyse benötigten Probenmenge. Die Ionenchromatografie (siehe Analytik) benötigte ein minimales Probenvolumen von 500 μ l. Bei einer Perfusion mit 60 μ l/min wurde eine Zeitauflösung von 10 min erreicht. Bei einer Perfusion mit 240 μ l/min wurde eine Zeitauslösung von 5 min gewählt.

2.6. Versuchsdesign: Nährstoffkonzentrations - Gradienten an Pappel

Der Versuch wurde an Pappel durchgeführt, da diese gegenüber Rizinus eine homogenere und dichtere Blattverteilung entlang der Sprossachse besitzt.

An aeroponisch angezogenen Pappeln wurden an verschiedenen Blättern entlang der Sprossachse parallel Xylemsaftproben gewonnen.

Das Experiment wurde im Gewächshaus bei 28°C, ca. 50 % rH und ca. 120 µE durchgeführt

Der Probenfluss ergab sich aus Probenvolumen pro Dauer der Probennahme





Abbildung -2-13 Xylemsaftprobennahme an Blatt 1, 9, 13, 17 und 23(Sprossspitze).

Abbildung -2-14 Xylemflussraten wurden mittels Heat-balance-Methode (Flow2) an der Sprossbasis und in der Sprossmitte zwischen Blatt 9 und 10 gemessen.

2.7. Analytik

Die Konzentrationen an mineralischen Nährstoffen im Xylemsaft wurde mit unterschiedlichen Methoden gemessen.

Kontinuierlich wurden Kalium und Nitrat mittels ionenselektiver Elektroden direkt an der Entnahmestelle gemessen. Die Konzentrationen weiterer mineralischer Nährstoffe wie Phosphat, Sulfat, Calcium, Magnesium und Ammonium wurden in Xylemsaftproben nach der Entnahme mittels Kapillar - Elektrophorese und Ionen - Chromatographie gemessen.

2.7.1. Ionenselektive Elektroden zur kontinuierlichen Kalium- und Nitrat - Messung

2.7.1.1 Grundlagen - Ionenselektive Elektroden

Ionenselektive Elektroden wurden zur Online - Messung von Nitrat - und Kalium - Konzentrationen in Xylemsaft-Proben und Perfusionslösungen verwendet. Dazu wurden Durchflusselektroden mit minimalem Volumen direkt mit der eröffneten Blattader verbunden, so dass der Xylemsaft direkt an die Elektroden geleitet wurde.

Angewendet wurden Silber/Silberchlorid-Elektroden, welche über interne Massenströme eine eigenes Potential aufbauten. Bei einer chloridhaltigen Elektrolytlösung hatte jede Änderung der Chloridkonzentration Auswirkungen auf das gelöste oder ungelöste Silberchlorid und damit auf die Silber/Silberchlorid-Ströme. Die Folge war ein verändertes Potential.

Eine Änderung der Chloridkonzentration konnte wiederum durch eine Änderung der Konzentration eines Gegenions, z.B. der Kaliumkonzentration bei einem KCl-Elektrolyt, bewirkt werden. Eine Silber/Silberchlorid-Elektrode mit Kaliumchlorid als Elektrolyt war

Primär	Kalium-Sensitiv	(K ⁺ -Elektrode)
	Protonen-Sensitiv	(pH-Elektrode)
	Elektronen-Sensitiv	(Referenz-Elektrode)

Die Selektivität der Elektroden ergab sich aus der Verwendung von ionenselektiven Membranen mit Ionophoren, die nur spezifische Ionen in den Elektrolytraum diffundieren ließen. Wurde dem KCI-Elektrolyten ein weiterer Elektrolyt beigemengt, konnten auch selektiv andere Ionen erfasst werden. In einem KCI/KNO₃-Elektrolyt veränderte sich bei selektivem Zugang von Nitrat-Ionen die Nitrat-Konzentration, damit das KNO₃/KCI-Verhältnis, damit die Chlorid-Konzentration und damit die Potentialdifferenz an der Ag/AgCI-Elektrode. Sie war Sekundär Nitrat-Sensitiv (NO₃⁻Elektrode) Die Potentialänderung der ionenselektiven Elektroden erfolgte nach der Nernst'schen Gleichung: $\Delta \phi = RT / z_i F * \ln(C_1/C_2)$ Durch Einsetzen der universellen Gaskonstante *R* (Produkt der BOLTZMANN-Konstante *k* und der AVOGADRO-Konstante N_A , $R = kN_A = 8,3143$ JK⁻¹mol⁻¹), der FARADAY-Konstante *F* (Produkt der elektrischen Elementarladung *e* und der AVOGADRO-Konstante N_A , $F = eN_A = 96485$ Cmol⁻¹), einer absoluten Temperatur von 293 K (20°C) und einer Ionenladung von 1 sowie bei Umrechnung in den

dekadischen Logarithmus erhielt man eine vereinfachte Gleichung:

 $\Delta \phi \qquad = \qquad 58,136 * \log(C_1/C_2) \qquad [mV]$

Wurde die Konzentration an den Elektroden um den Faktor 10 verändert, bewirkte dies bei 20°C eine theoretische Potentialänderung von 58,136 mV. Diese Potentialsteigung wird auch Steilheit der Elektrode genannt und war ein Qualitätsmerkmal für die Güte der Elektrode.

Referenzelektrode

Das Potential konnte nicht direkt, sondern nur im Vergleich zu einem bekannten Referenzpotential gemessen werden. Das Referenzpotential sollte auch bei variierender Messlösung konstant bleiben, um die messbare Spannungsänderung im Meßsystem allein der zu bestimmenden Konzentrationsänderung der Ionen der Messlösung zuordnen zu können.

Die Messanordnung, speziell das Referenzsystem, sollte in den Phasenübergängen eine hohe Leitfähigkeit besitzen, um die Störanfälligkeit gegenüber möglicherweise parallel laufenden elektrochemischen Prozessen wie Ionenaustausch- und Redox-Prozessen (z.B. mit Luftsauerstoff) zu minimieren.

Für ein konstantes Referenzpotential benötigt man eine konstante Ionenkonzentration an der Referenzelektrode. Der Elektrolyt wurde über einen Stromschlüssel mit der Messlösung verbunden, so dass eine elektrische Kopplung bestand ohne dass Ionen hinein- oder herausdiffundieren konnten und die Elektrolytkonzentration konstant blieb. Der Stromschlüssel bewirkte ein möglichst geringes und stabiles Diffusionspotential und einen minimalen Flüssigkeitsaustausch. Das Diffusionspotential wurde durch Verwendung eines Elektrolyten (wie z.B. KCl-Lösung) minimiert, dessen Anionen und Kationen ähnliche Beweglichkeit haben.

Über PVC-Membranen konnte ein direkter Kontakt zur Messlösung aufgebaut werden. Da jedoch Störsubstanzen eindringen konnten und nur langsam wieder herausdiffundierten, konnten nachteilige Erinnerungseffekte (Memory-Effekte) entstehen.

Diese Nachteile sowie Unverträglichkeiten zwischen Messlösung und Referenzelektrolyt konnten umgangen werden, indem zwischen die beiden Lösungen ein weiterer Brückenelektrolyt angeordnet wurde. Der Übergang zwischen Referenz- und Brückenelektrolyt wurde dann mittels einer Salzbrücke, der Übergang zwischen Brückenelektrolyt und Messlösung mittels der PVC-Membran realisiert. Die Silberionen-Konzentration wurde über Silberchlorid konstant gehalten, entweder kristallin im Elektrolyten oder auf der Silberelektrode aufgelagert.

PVC-Membranelektroden zur Ionenmessung

Verwendet wurde ein Elektrodenset mit funktionsbereiten pH-, Kalium- und Nitratelektroden sowie einer Elektrodenhalterung mit integrierter Referenzelektrode der Firma Fresenius (Fresensius Medizintechnik AG, Bad Homburg). Die Durchflusselektroden besaßen jeweils eine Ein- und Ausgangsbohrung, welche die zu untersuchende Flüssigkeit durch einen Hohlraum leiteten, der an einer Seite durch eine Membran von einem angrenzenden Elektrolytraum abgeschlossen wird. Zur selektiven Messung einzelner Ionenkonzentrationen wurden Membranen mit eingebauten ionenselektiven Carriern zur Diffusion einzelner Ionen in den Elektrolytraum verwendet (Mager / Schmehl 1991). Die Elektroden mit integrierten Membranen wurden aus der klinischen Anwendung der "bedside"- Analytik zur Elektrolytbestimmung im Vollblut übernommen.

Bei der Reihenfolge der Anordnung der Durchflusselektroden war darauf zu achten, dass die zu untersuchende Lösung die Referenzelektrode zuletzt passiert, da aus der Referenzelektrode ausdiffundierende Ammoniumionen die Potentiale der anderen Elektroden stören konnten. Allgemein reagierten diese Elektroden empfindlich auf Fremdionen, die dem zu untersuchenden Ion glichen (Querempfindlichkeit).

Bei der Kalium-Elektrode wurde eine PVC-Membran mit Valinomycin als Ionophor eingesetzt.

Elektrolyt: 0,1 M KCl-Lösung Schema: Ag;AgCl, KCl 0,1 M // Membran // Probe

Bei der Nitrat-Elektrode wurde eine PVC-Membran mit Tridodecyl-Ammonium-Nitrat als Ionophor eingesetzt. Die Anwendungsdauer von PVC-Membran-Elektroden beträgt 6 bis 18 Monate (Mager / Schmehl 1991).

Elektrolyt: 0,1 M KCl + 0,1 M NaNO₃ Schema: Ag;AgCl, KCl + NaNO₃ // Memb. // Probe

Die Referenz-Elektrode enthielt eine Ammoniumchloridlösung mit einer 1,7 M Anfangskonzentration, welche durch Diffusion über längere Zeit auf minimal 0,6 M absinken darf.

Elektrolyt: 1,7 M NH₄Cl Schema: Ag;AgCl, NH₄Cl // Salzbrücke // NH₄Cl // Memb. // Probe
Die Anwendungsdauer der Referenz-Elektrode beträgt 6 bis 12 Monate (Mager / Schmehl 1991).

Um die Diffusion des Elektrolyten in die Messlösung gering zu halten, sind die Elektroden in den Messpausen mit Luft zu füllen. Die hohe Querempfindlichkeit gerade bei Elektroden zur Messung von zweiwertigen Ionen verhindert eine sichere Anwendung z.B. bei Calcium.

2.7.1.2 Weiterentwicklung der ISE-Messapparatur und Datenerfassung

Ziel der durchgeführten Modifizierung war eine verbesserte Signalauflösung, verringerte Störanfälligkeit sowie vereinfachte Signalverarbeitung und -speicherung. Die Verwendung moderner industrieüblicher Regelungssoftware sowie multifunktioneller elektronischer Bauteile ermöglichten wie bei der Modernisierung der Druckregelung die konsequente Trennung hardwareseitiger Datenerfassung von softwareseitiger Datenverarbeitung.

Da die gleiche Software und der gleiche A/D-Wandler genutzt wurde, waren auch die Modifizierungen vergleichbar.

Besonderheiten der Ionenselektive Elektroden waren ihre Quellenwiderstände im Gigaohm -Bereich. Der Eingangswiderstand der Messelektronik musste folglich um den Faktor 100 bis 1000 höher liegen damit die Messströme maßgeblich durch den Quellenwiderstand bestimmt wurden.

Je höher der Eingangswiderstand der Messelektronik und je geringer damit der Messstrom war desto geringer fielen die durch Übergänge zwischen Kontakten, flüssigen oder festen Phasen und deren Widerstände erzeugten Spannungs- oder Potentialabfälle ins Gewicht.

Minimierte Messströme durch maximierte Eingangswiderstände erhöhten aber auch die Empfindlichkeit gegenüber elektromagnetischer Störstrahlung von außen. Erreichte der Eingangswiderstand die Größenordnung des elektrischen Widerstandes der umgebenden Luft, welcher bei erhöhter Luftfeuchte verringert war, so war der dadurch registrierte Fehlerstrom durch Spülung des umgebenden Gasraumes mit trockener Luft oder sogar sauerstofffreien Gasen wie Stickstoff zu minimieren. Weiterhin minimierten kurze Leitungswege und gute Abschirmung Störeinflüsse von außen.

<u>Aufbau</u>

In einem Plexiglas-Halter wurden die Elektroden mitsamt der Referenzelektrode eingespannt. An diesem Halter befand sich auch die Messelektronik. Die Leitungslänge von der Elektrode zum Messverstärkereingang wurde auf 50 mm reduziert und durch das Messgehäuse vergoldet kontaktiert. Elektrodenhalter und Messverstärker wurden mit Folie transparent und gasdicht umhüllt. Der Gasraum wurde im Versuch kontinuierlich mit Stickstoff gespült.



Abbildung 2-15 Aufbau und Anordnung des Messverstärkers an der Halterung der ionenselektiven Elektroden

Das Elektrodenpotential wurde direkt an den Eingang einer Impedanzwandlerschaltung (Spannungsfolger, $U_A = U_E$) gelegt. Der verwendete Operationsverstärker (OPA132, Burr-Brown) besaß einen Eingangswiderstand von 10¹³ Ohm (10 Terraohm). Die Ausgangsspannungen wurden über einen Multiplexer (Max 4518, Maxim-IC) an den positiven Eingang des A/D-Wandlers (Max132, Maxim-IC) gelegt. Das Referenzpotential lag mit Masse am negativen Eingang an. Die Potentiale der Elektroden (Kalium, Nitrat, pH) lagen in einem Konzentrationsbereich von 0,1 bis 10 mM bei ± 300 mV. Der Spannungsbereich des A/D-Wandlers lag bei ± 512 mV. Eine direkte 1:1 Digitalisierung war damit möglich. Eine Wandlung bei ± 18 bit ergab eine maximale Auflösung von 2 μ V, welche jedoch nicht ausgeschöpft wurde, da das Signalrauschen bei ca. 50 μ V lag. Das Rauschen war überwiegend von der Konzentration der Messlösung unabhängig. Bei einer linearen Darstellung der aus den Potentialen berechneten Konzentrationen erscheinen deshalb die niedrigen Konzentrationen rauschärmer obwohl sie eine vergleichbare relative Größe besitzt. Das Schaltbild des Messverstärkers findet sich in Anhang.

Die Datenverarbeitungssoftware basierte auf den gleichen Treibern wie bei der Druckreglung im vorangegangenen Abschnitt beschrieben. Das zugehörige virtuelle Instrument Max132mcise.vi wurde ist im Anhang beschrieben.

2.7.1.3 Kalibrierung und Auswertung

Flusskalibrierung

Aufgrund schwankender Transpiration konnten Flussunterschiede bei der Entnahme von Xylemsaft auftreten. Die Auswirkung auf das Signal der Ionenselektiven Elektroden waren zu quantifizieren und gegebenenfalls in Rechnung zu tragen.

Flussabhängigkeit der ISE



Abbildung 2-16 Nitratelektrodenpotentiale und deren Flussabhängigkeit. Die Elektrodenpotentiale waren bis zu einer Flussgeschwindigkeit von 200 µl/min in den Elektroden konstant

Flussabhängigkeit der ISE



Abbildung 2-17 Kaliumelektrodenpotentiale und deren Flussabhängigkeit. Die Elektrodenpotentiale waren bis zu einer Flussgeschwindigkeit von 200 μ l/min in den Elektroden konstant

Die ionenselektiven Elektroden zeigten mit höheren Flüssen eine zunehmende Flussabhängigkeit. Eine Flussabhängigkeit wurde jedoch erst ab einem Fluss oberhalb 200 µl/min messbar, die Probenflüsse lagen im Bereich von 50 bis 100 µl/min und gingen nur kurzfristig bis auf 150 µl/min. Konzentrationsänderungen beruhten damit nicht auf elektrodeneigenen Flusseffekten.

Konzentrationskalibrierung

Kalibrierreihen mit 0,5 / 1 / 5 / 10 mM KNO₃ ergaben keine Querempfindlichkeiten und eine durchschnittliche Steilheit von 56,5 mV. Wurden die gemessenen Spannungen der Kalibrierung als lineare Abszisse gegen die Konzentrationen als dekadisch logarithmische Ordinate aufgetragen, erhielt man eine Regressionsgerade ax + b, deren Werte bei der späteren Umrechnung der Spannungen in Konzentrationen in die Formel [mM] = $10^{a[mV]+b}$ eingesetzt wurden.

Sollten Querempfindlichkeiten bei der Kalibrierung mit unterschiedlichen pH-Werten und Ionenkonzentrationen auftreten, war zu unterscheiden, ob diese Querempfindlichkeit den Y -Achsenabschnitt oder die Steigung der Eichgeraden oder beides beeinflusste. Im ersten Fall war ein Offset in die Berechnung aufzunehmen, im zweiten Fall - einer veränderten Steigung - konnte ein Ausgleichsfaktor eingesetzt werden.

Volumina der Messapparatur

Bei Perfusionsexperimenten war nach Konzentrationswechsel eine zeitliche Verzögerung zu beachten, welche durch die Durchflussvolumen des Aufbaus und der ionenselektiven Elektroden bedingt wurden.

	Ausgang	Y-Stück	Brücke	Verbindung	Ionenselektive
	Mini-Dreiwegehahn	mit Anschlüssen	Stammersatz	Stamm - ISE	Elektroden
[µ1]	100	100	150	100	170
Flusszeit [s] bei					K(20) N(22)
240µl/min	25	25	38	25	42
120µl/min	50	50	76	50	84
60 µl/min	100	100	152	100	168
Spülzeit	4	4	6	4	7

Tabelle 2-2 Durchflussvolumen des Perfusionsaufbaus und die entsprechende zeitliche Verzögerung bei unterschiedlichen Durchflussgeschwindigkeiten.

2.7.2. Kapillarelektrophorese

2.7.2.1 Funktion

Ein weites Spektrum an Ionen und deren Konzentrationen ließ sich mit der Kapillarelektrophorese bestimmen. In den Anfangsbereich einer elektrolytgefüllten Quarzkapillare wurde ein minimales Probenvolumen (ca. 2 µl) gesogen. Im elektrischen Feld einer an die Enden der Kapillare angelegte Spannung von bis zu 30 kV wanderten je nach Polarität Anionen oder Kationen durch die Kapillare. Die Wanderungsgeschwindigkeit war ionenspezifisch und entsprach:

v = $(z * e * E) / (6 * * \eta * r)$

z - Ionenladung; e - Elementarladung; E - elektr. Feld; η - Elektrolytviskosität; r - Ionenradius

Die Detektion erfolgte nach dem Prinzip der indirekten UV-Detektion: Passierten die getrennten Ionenbanden einen UV – Detektor, verringerten sie die hohe UV-Absorption des Elektrolyten und konnten somit indirekt nachgewiesen werden. Durch einen Standard wurden Reihenfolge, Laufzeit und durch zeitliche Integration quantifizierte Absorptionsänderung der einzelnen Ionensorten festgelegt.

Die Messung erfolgte mit dem Kapillarelektrophorese-System Spectra Phoresis 1000 (Firma ThermoSeparation, Darmstadt-Arheiligen), die Auswertung mit PC 1000 System Software (ebenfalls TSP).

2.7.2.2 Trennbedingungen

Die Kationen wurden in der Reihenfolge Cs, NH₄, K, Na, Ca, Mg und Li gemessen. Als UVabsorbierender Elektrolyt wurde eine 6 mM Imidazol-Lösung (pH 4,5 (H₂SO₄)) verwendet. Sie hatte bei der angelegten Spannung eine ähnliche Wanderungsgeschwindigkeit wie die Ionen; damit wurde eine Verzerrung der Ionenwolke vermieden. Die Fläche der Kapillarinnenseite war aufgrund der Silanolgruppen negativ geladen. Kationen lagerten sich auf dieser Oberfläche an. Bei ihrer Wanderung hin zur Kathode führten sie die gesamte Flüssigkeit in der Kapillare mit sich. Dabei handelte es sich nicht um eine laminare Strömung, sondern um eine Kolbenströmung, so dass es zu keiner zusätzlichen Bandenverbreiterung kam. Diese Strömung wurde elektroosmotischer Fluss genannt.

Ammonium und Kalium besaßen in diesem Elektrolyt gleiche Wanderungsgeschwindigkeiten. Um die beiden Fraktionen zu trennen, wurde 2 mM 18-Krone-6 zugegeben, dieser komplexierte mit Kalium, jedoch nicht mit Ammonium. Die Wanderungsgeschwindigkeit von Kalium wurde verzögert; die beiden Ionensorten wurden voneinander separiert. Die Kapillare hatte einen Durchmesser von 75 µm und eine Vorlaufstrecke von 35cm bis zum Detektor. Die Detektion erfolgte bei 214 nm. Die angelegte Spannung betrug +20.000 V bei einer Temperatur von 20 °C.

Die Methode: Die Injektionszeit betrug 5 Sekunden. Die Spannung wurde 4 Minuten angelegt, wobei nach ¹/₂ Minute die Nullabsorptionslinie eingestellt wurde. Nach dem Lauf folgte noch ein Waschgang von 2 Minuten Dauer. Dann wiederholte sich der Zyklus für die nächste Messung.

Die Anionen wurden in der Reihenfolge Cl, SO₄, NO₂, NO₃, Citrat, Malat und PO₄ gemessen. Als UV-absorbierender Elektrolyt wurde eine 13,3 mM Tris-, pH 8,5 und 5 mM Kaliumdichromat-Lösung verwendet. Sie hatte bei der angelegten Spannung eine ähnliche Wanderungsgeschwindigkeit wie die Ionen; damit wurde eine Verzerrung der Ionenwolke vermieden. Bei der Anionenmessung gab es im Gegensatz zur Kationenelektrophorese ein Problem mit dem elektroosmotischen Fluss und der negativ geladenen Kapillarinnenwand. Deshalb wurde als Additiv 0,55 mM DoTAOH zum Elektrolyt gegeben. Aufgelagert auf die Kapillarinnenwand bewirkte es eine Umkehrung ihrer Polarität. Die Oberfläche wurde positiv, so dass sich Anionen anlagern konnten und ein elektroosmotischer Fluss in Richtung der Anode möglich wurde. Die Kapillare hatte einen Durchmesser von 50µm und eine Vorlaufstrecke von 35 cm bis zum Detektor. Die Detektion erfolgte bei 276 nm. Die angelegte Spannung betrug -30.000 V bei einer Temperatur von 25 °C.

Die Methode: Die Injektionszeit betrug 5 Sekunden. Die Spannung wurde 6 Minuten angelegt, wobei nach ½ Minute die Nullabsorptionslinie eingestellt wurde. Nach dem Lauf folgte noch ein Waschgang von 2 Minuten Dauer mit H₂O bidest.. Dann wiederholte sich der Zyklus für die nächste Messung.

2.7.3. Ionenchromatografie

Die Analytik per Ionenchromatografie wurde in der Zentralabteilung für chemische Analysen am Forschungszentrum Jülich durchgeführt. Gegenüber der Kapillarelektrophorese besaß die Ionenchromatografie den Vorteil, auch Proben analysieren zu können, welche nach Durchfluss durch die ionenselektiven Elektroden mit hohen Konzentrationen von Ammoniumchlorid verunreinigt waren.

3. Ergebnisse

Die Weiterentwicklung der Druckapplikation im Wurzelbereich und der damit verbundenen Möglichkeit der Xylemsaft - Probennahme wie auch die Weiterentwicklung der Analytik mit ionenselektiven Elektroden ermöglichte die Untersuchung der **Auswirkung von variieren**-

den Xylemsaftflüssen auf die Nährstoffkonzentration an der intakten Pflanze.

Zur Konzentrationsuntersuchung wurde eine **Xylemsaftentnahme an der Petiole** und eine **Xylemsaftentnahme am Blatt** von Ricinus durchgeführt.

Über die **Perfusion von Stammabschnitten** von Ricinus wurde der laterale Nährstofftransport und seine Abhängigkeit von unterschiedlichen Flussraten im Ferntransportsystem untersucht

Über die **Nährstoffaufnahme in die Wurzel** von Ricinus und deren Abhängigkeit von unterschiedlichen Xylemflussraten wurde der Einfluss des Wasser-Transport auf die Xylembeladung untersucht.

Über Xylemsaftentnahmen an Pappel wurden Konzentrationsverteilung und Xylemflussraten im Sprosssystem untersucht.

3.1. Xylemsaft - Konzentrationen an der intakten Pflanze in Abhängigkeit vom internen Wasserfluss

Mit der methodischen Weiterentwicklung von Druckkammer und ionenselektiven Elektroden ist in Verbindung mit der Sprossküvette und weiteren analytischen Methoden ein experimenteller Aufbau gegeben, mit dem sich Xylemsaftflüsse variieren und Xylemsaftproben gewinnen und analysieren lassen.

Schon bei früheren Messungen der diurnalen Variation der Nitrat- und Kaliumkonzentration (Herdel 1999, Gilmer 1999) wurden bei Änderung der umgebenden Vapour Pressure Difference tendenzielle Effekte in der Konzentrationsvariation sichtbar. Die Vapour Pressure Difference, VPD, ist die Differenz zwischen aktuellem Wasserpartialdruckes der Luft und dem Wasserpartialdruck bei wasserdampfgesättigter Luft bei gleicher Temperatur, damit treibende Kraft der Transpiration und des Xylemsaftflusses.

Dieser Effekt sollte nun experimentell untersucht werden. Um einen direkten Zugang zum Stammxylem-System zu bekommen, wurde die Xylemprobennahme an der Petiole des ersten Folgeblattes von *Ricinus communis* L. durchgeführt

3.1.1. Probennahme an der Petiole

Zur Untersuchung der Interaktion zwischen Nährstofftransport und Wassertransport wurde die Konzentration des jeweiligen Nährelements und eine signifikante Änderung der Flussgeschwindigkeit des Xylemsaftes benötigt.



Abbildung 3-1 Messung der Xylemsaftflüsse mit Flow2. Die Erhöhung der VPD (Vapour Pressure Difference) durch Erhöhung des Wasseraustransports aus der Sprossküvette (60. bis 180. Minute) zeigte signifikante Änderungen im Xylemsaftfluss.

Die Flussmessungen mit dem Flow2 zeigten eine hohe zeitliche Auflösung. Ihre Kalibrierung am Stamm war jedoch nicht ohne Probleme durchzuführen. Deshalb wurden die relativen Änderungen auf die Summe des maximalen Wasseraustransports, der über die Wasserflüsse aus der Sprossküvette und dem Probenfluss errechnet wurde, kalibriert

Der maximale Austransport ergab sich aus dem Wassergehalt des Küvettenvolumens, entsprechend der Temperatur und dem VPD, und aus dem Spülvolumen. Er betrug ca. $27,2 \pm 2$ [ml/h] (n=4).

Der Probenfluss wurde durch Auswiegen der Proben berechnet.

Flussbestimmung Flow2 & Sprossküvette



Abbildung 3-2 Kalibrierung der Flow2-Messung durch den berechneten Spülfluss plus Probenfluss. Darstellung der Abhängigkeit von der VPD.

Zum Versuch stand keine Klimakammer zur Verfügung. Der Wärmeeintrag der Beleuchtung kommte nicht minimiert werden. Die Küvetteninnen und -außentemperatur konnte nicht angepasst werden. Aufgrund von daraus resultierenden Kältefallen an der Sprossküvette wurde bei minimalen VPDs kein minimaler Fluss erreicht. Eine Spülung der Küvette mit trockener Pressluft und eine sich daraufhin einstellende VPD von ca. 1,2 kPa bewirkte deshalb nur eine relative Flusserhöhung um 35 - 50 %.

3.1.1.1 Probenfluss und Konzentration

Der Xylemsaft wurde an der Petiole gesammelt. Die Konzentrationen im Xylemsaft wurden direkt und online mit den ionenselektiven Durchflusselektroden gemessen. Die gleichen Proben wurden zur Konzentrationsmessung per Ionenchromatografie verwendet. Bei Änderung der VPD änderte sich auch der Kompensationsdruck. Erhöhte Transpiration bewirkte einen erhöhten Transpirationssog im Spross. Zur Probenentnahme musste der erhöhte Transpirationssog mit erhöhter Druckapplikation an der Wurzel kompensiert werden. Für einen konstanten Probenfluss musste daher der Druck in der Spraydruckkammer nachreguliert werden. Dies

führte zu kurzfristigen Probenflussschwankungen, bis die Druckregelung den neuen Kompensationsdruck eingestellt hatte.

Es war deshalb zu klären ob die per ionenselektiven Elektroden und Ionenchromatografie gemessenen Konzentrationen Abhängigkeiten vom Probenfluss zeigten oder aber mit den Änderungen des Xylemsaftflusses der Gesamtpflanze korreliert werden konnten.



Abbildung 3-3 Kalium- und Nitratkonzentrationen sowie Flüsse bei der Xylemsaftprobennahme a - d. Kurzfristige Schwankungen in den Probenahmeflüssen zeigten keinen Einfluss auf die Xylemsaftkonzentration.

Kurzfristige Änderungen der Probenflüsse führten zu keinen entsprechenden Konzentrationsänderungen. Die Konzentrationsänderungen konnten mit den Gesamtflussänderungen korreliert werden.

3.1.1.2 ISE - Messung von Nitrat und Kalium

Bei der Online-Messung waren die ionenselektiven Elektroden über den Xylemsaft elektrisch an die Pflanze gekoppelt. Die Potentiale der Elektroden erhielten dadurch eine Drift, welche die direkte Umrechnung in Konzentrationen erschwerte. Potentialänderungen ließen sich jedoch gut in relative Konzentrationsänderungen umrechnen, führte doch eine Potentialänderung um ca. 58 mV (entsprechend der Elektrodensteilheit) immer zu einer Konzentrationsänderung um den Faktor 10.



Abbildung 3-4 Abhängigkeit von Konzentration und Elektrodenpotential. Eine Konzentrationsveränderung um den Faktor 10 führte zu einer Potentialänderung von ca. 58 mV (entsprechend der Elektrodensteilheit).



10% & 20% rel Konzentrationsänderung



Bei Anionen bedeutete entsprechend

eine Potentialänderung von x mV

eine relative Konzentrationsänderung von y %:

Die Konzentrationsmessungen mit den Ionenselektiven Elektroden waren aufgrund ihrer hohen Zeitauflösung im Minutenbereich gut geeignet, die Dynamik in der Konzentrationsänderung darzustellen.

5,62 mV	- 20 %
2,65 mV	- 10 %
-2,40 mV	+ 10 %
-4,59 mV	+ 20 %



Abbildung 3-6 Eine Erhöhung des VPD (blauer Pfeil) und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylemsaftflusses bedingt eine Potentialänderung um 12 mV und entsprechend eine Konzentrationsverdünnung bei Nitrat um 37 % und bei Kalium um 40 %.



Abbildung 3-7 Eine Erhöhung des VPD (blauer Pfeil) und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylemsaftflusses bedingt eine Potentialänderung um 20 mV und entsprechend eine Konzentrationsverdünnung bei Nitrat um 55 %. Bei Kalium ist keine Potentialänderung zu erkennen.



Abbildung 3-8 Eine Erhöhung des VPD (blauer Pfeil) und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylemsaftflusses bedingt eine Potentialänderung um 5 mV und entsprechend eine Konzentrationsverdünnung bei Nitrat um 5 % und bei Kalium um 6 %.

Eine Erhöhung der VPD, der Vapour Pressure Difference als treibende Kraft der Transpiration, führte zu einer Erhöhung des Xylemsaftflusses. Mit der Erhöhung des Xylemsaftflusses wurde eine Potentialänderung an den Elektroden feststellbar, welche nicht auf den veränderten Probenfluss zurückzuführen war. Bei Nitrat und Kalium konnte für die Phase der Xylemsaftfluss - Erhöhung eine Konzentrationsabnahme und damit eine signifikante Verdünnung der Konzentrationen beobachtet werden.

3.1.1.3 Ergebnisse aus Probenmessungen mittels Ionenchromatografie

Die Ionenchromatografie ermöglichte im Gegensatz zur Messung mit ionenselektiven Elektroden auch die Analyse der Xylemsaftkonzentration von mehrwertigen Ionen. Bedingt durch die benötigte Probenmenge war die Zeitauflösung auf 20 Minuten beschränkt.

Gemessen wurden die Xylemsaft - Konzentrationen von Nitrat, Phosphat, Sulfat, Kalium, Magnesium und Calcium.

Nitrat - Konzentration bei Erhöhung des Xylemsaftflusses von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn.



Abbildung 3-9 Absolutwerte der Nitratmessung mit Ionenchromatografie. Eine 2-stündige Erhöhung des VPD von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylemsaftflusses bedingte eine Konzentrationsverdünnung bei Nitrat.



Abbildung 3-10 Jede Absolutmessung wurde auf ihren Maximalwert normiert. Die normierten Einzelmessungen wurden gemittelt (n=5) und die Standardabweichung bestimmt. Eine 2-stündige Erhöhung des VPD von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylemsaftflusses bedingte eine signifikante mittlere Konzentrationsverdünnung bei Nitrat um 30 %.

Über den Zeitraum der Erhöhung des Xylemsaftflusses nahm die Nitrat - Konzentration im Xylemsaft signifikant ab. Ein erhöhter Xylemsaftfluss bedingte eine Verdünnung der Nitrat - Konzentration.

Phosphat - Konzentration bei Erhöhung des Xylemsaftflusses von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn.



Abbildung 3-11 Absolutwerte der Phosphatmessung mit Ionenchromatografie. Eine 2-stündige Erhöhung des VPD von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylem-saftflusses bedingte eine Konzentrationsverdünnung bei Phosphat.



Abbildung 3-12 Jede Absolutmessung wurde auf ihren Maximalwert normiert. Die normierten Einzelmessungen wurden gemittelt (n=5) und die Standardabweichung bestimmt. Eine 2-stündige Erhöhung des VPD von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylemsaftflusses bedingte eine signifikante mittlere Konzentrationsverdünnung bei Phosphat um ca. 40 %.

Über den Zeitraum der Erhöhung des Xylemsaftflusses nahm die Phosphat - Konzentration im Xylemsaft signifikant ab. Ein erhöhter Xylemsaftfluss bedingte eine Verdünnung der Phosphat - Konzentration.

Sulfat - Konzentration bei Erhöhung des Xylemsaftflusses von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn.



Abbildung 3-13 Absolutwerte der Sulfatmessung mit Ionenchromatografie. Eine 2-stündige Erhöhung des VPD von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylemsaftflusses bedingte eine Konzentrationsverdünnung bei Sulfat.



Abbildung 3-14 Jede Absolutmessung wurde auf ihren Maximalwert normiert. Die normierten Einzelmessungen wurden gemittelt (n=5) und die Standardabweichung bestimmt. Eine 2-stündige Erhöhung des VPD von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylemsaftflusses bedingte eine signifikante mittlere Konzentrationsverdünnung bei Sulfat um ca. 40 %.

Über den Zeitraum der Erhöhung des Xylemsaftflusses nahm die Sulfat - Konzentration im Xylemsaft signifikant ab. Ein erhöhter Xylemsaftfluss bedingte eine Verdünnung der Sulfat - Konzentration.

Kalium - Konzentration bei Erhöhung des Xylemsaftflusses von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn.



Abbildung 3-15 Absolutwerte der Kaliummessung mit Ionenchromatografie. Eine 2-stündige Erhöhung des VPD von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylemsaftflusses bedingte eine Konzentrationsverdünnung bei Kalium.



Abbildung 3-16 Jede Absolutmessung wurde auf ihren Maximalwert normiert. Die normierten Einzelmessungen wurden gemittelt (n=5) und die Standardabweichung bestimmt. Eine 2-stündige Erhöhung des VPD von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylemsaftflusses bedingte eine tendenzielle mittlere Konzentrationsverdünnung bei Kalium um ca. 25 %.

Über den Zeitraum der Erhöhung des Xylemsaftflusses nahm die Kalium - Konzentration im Xylemsaft tendenziell ab. Ein erhöhter Xylemsaftfluss bedingte eine Verdünnung der Kalium - Konzentration.

Magnesium - Konzentration bei Erhöhung des Xylemsaftflusses von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn.



Abbildung 3-17 Absolutwerte der Magnesiummessung mit Ionenchromatografie. Eine 2-stündige Erhöhung des VPD von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylem-saftflusses bedingte eine Konzentrationsverdünnung bei Magnesium.



Abbildung 3-18 Jede Absolutmessung wurde auf ihren Maximalwert normiert. Die normierten Einzelmessungen wurden gemittelt (n=5) und die Standardabweichung bestimmt. Eine 2-stündige Erhöhung des VPD von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylemsaftflusses bedingte eine signifikante mittlere Konzentrationsverdünnung bei Magnesium um ca. 28 %.

Über den Zeitraum der Erhöhung des Xylemsaftflusses nahm die Magnesium - Konzentration im Xylemsaft tendenziell ab. Ein erhöhter Xylemsaftfluss bedingte eine Verdünnung der Magnesium - Konzentration. Calcium - Konzentration bei Erhöhung des Xylemsaftflusses von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn.



Abbildung 3-19 Absolutwerte der Calciummessung mit Ionenchromatografie. Eine 2-stündige Erhöhung des VPD von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylemsaftflusses bedingte eine Konzentrationsverdünnung bei Calcium.



Abbildung 3-20 Jede Absolutmessung wurde auf ihren Maximalwert normiert. Die normierten Einzelmessungen wurden gemittelt (n=5) und die Standardabweichung bestimmt. Eine 2-stündige Erhöhung des VPD von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylemsaftflusses bedingte eine signifikante mittlere Konzentrationsverdünnung bei Calcium um ca. 30 %.

Über den Zeitraum der Erhöhung des Xylemsaftflusses nahm die Calcium - Konzentration im Xylemsaft tendenziell ab. Ein erhöhter Xylemsaftfluss bedingte eine Verdünnung der Calcium - Konzentration.

3.1.1.4 Zusammenfassung

Wird der Wasserfluss signifikant erhöht und die Xylemsaftkonzentration an der Petiole gemessen, zeigt sich zeitgleiche in den Xylemsaftkonzentrationen eine Verringerung. Bei mehrwertigen An- und Kationen wie bei Nitrat zeigt die Transpiration dabei einen signifikanten Einfluss auf die Konzentration. Eine Erhöhung des Wasserflusses führt zu einer Verdünnung der darin gelösten Ionen. Kurzfristig ist der Ionentransport in den Spross nicht Konzentrationsreguliert sondern tendenziell Massenflussreguliert.

3.1.2. Probennahme am Blatt

Die Messung der Ionenkonzentration des Xylemsaft an der Petiole zeigte eine signifikante Verdünnung bei erhöhter Xylemflussgeschwindigkeit. Bei Vorversuchen wurde eine Probennahme an der Blattader durchgeführt. Bei dem Vorversuch stand kein Flow2 zur Xylemsaftflussmessung zur Verfügung.

Die Flussrate konnte nur durch den Wassertransport aus der Küvette ermittelt werden. Im Gegensatz zur Probennahme an der Petiole stand jedoch eine Klimakammer zur Verfügung. Der gesamte Aufbau, insbesondere die Sprossküvette und deren Umgebung waren konstant temperiert. Der Wärmeeintrag durch die Beleuchtung war minimiert. Kältefallen konnten ausgeschlossen und bei niedriger VPD der Xylemsaftfluss minimiert werden.

	Vanour pressure difference [Pa]	Wasserfluss [ml/h]	
	vapour pressure arreferiee [1 a]	Pflanze \rightarrow Küvette \rightarrow Umgebung	
offen	1453,8 ± 37,1 (n=5)	8,06 ± 0,72 (n=5)	
Verschluss	215,6 ± 45,2 (n=5)	n.d.	
Spülung	2079,5 ± 153,1 (n=5)	$11,92 \pm 1,49 \text{ (n=5)}$	

 Tabelle 3-1
 Dampfdruckdifferenzen und Wasserflüsse bei offener, geschlossener und gespülter Sprossküvette.

 Wasserfluss bei Spülung errechnet aus Wassergehalt und Spülvolumen. Kein Wasserfluss messbar im geschlossenen System bei konstanter VPD ohne Spülung. Wasserfluss im offenen System errechnet aus Anfangssteigung der exponentiellen Sättigung bei Küvettenverschluss.

Die kurzfristigen Flussänderungen erreichten nach dieser Berechnung mehrere Größenordnungen und entsprechende qualitative Effekte sollten sichtbar werden, wenn auch eine Quantifizierung nicht möglich war.

Neben der Transpiration führte auch die interne Xylem-Phloem-Rezirkulation, wie auch "Wuchswasser" (Wassereinlagerung im Sprossbereich bei Zellstreckung) und Gutation bei hohen Luftfeuchten zu Xylemflüssen. Auch wenn damit bei wasserdampfgesättigter Luft ein

Wasserfluss im Xylem gegeben war, so war doch bei maximaler Transpirationsänderung eine Flussänderung anzunehmen.

Entsprechend der Messungen bei der Probennahme an der Petiole wurde nach Potentialänderung gesucht, welche eine Konzentrationsänderung anzeigten. Eine Verdünnung oder Aufkonzentrierung der Ionen im Xylemsaft sollte durch gegensinnige Potentialänderungen sichtbar werden.



Abbildung 3-21 Es wurde nach Änderung der VPD (blauer Pfeil) und des Xylemsaftflusses keine signifikanten gegensinnigen Potentialänderungen und damit keine signifikanten Verdünnungs- oder Aufkonzentrierungseffekte festgestellt.

Es ließen sich bei der Messung an der Blattader eines intakten Blattes keine signifikanten Änderungen der Konzentration in Abhängigkeit von der Transpiration feststellen.

3.2. Aufnahme, lateraler Austausch und Verteilung von Nährstoffen in Abhängigkeit vom internen Wasserfluss

Am Gesamtsystem Pflanze konnte festgestellt werden, dass eine Flussänderung im Wassertransport eine Änderung der Nährstoffkonzentrationen im Xylemsaft bewirkte. Mit mehr Wasser wurden also nicht gleich viel mehr Nährstoffe transportiert, was gegen eine direkte Kopplung der beiden Transportprozesse spricht.

Da damit der Wasserfluss nicht primär regulierend auf den Nährstofftransport wirkte, stellte sich die Frage nach den Regulationsmechanismen und wo sie zu suchen waren? Untersucht wurden dazu die Teilbereiche der Pflanze, der Wurzelbereich als Ort der Nährstoffaufnahme und der Sprossbereich als Ort des Nährstofftransportes.

3.2.1. Nährstoffaufnahme über die Wurzel

Um die Nährstoffaufnahme in die Wurzel und deren Abhängigkeit vom Wassertransport zu untersuchen, wurden Ricinus communis L. unter unterschiedlichen VPDs unterschiedliche Nährstoffkonzentrationen angeboten.



water uptake

Abbildung 3-22 Wasserflüsse bei unterschiedlichen VPDs. Eine VPD von ca. 2200 Pa bewirkte eine blattflächenspezifische Wasseraufnahmerate von $10,6 \pm 1,2 \,\mu$ l/h*cm² (n=6). Eine VPD von ca. 200 Pa bewirkte eine blattflächenspezifische Wasseraufnahmerate von $6,0 \pm 1,1 \,\mu$ l/h*cm² (n=6). Die Wasseraufnahmeraten waren signifikant unterschiedlich

Untersucht wurde, wie viel mg Nitrat bei unterschiedlichen VPDs aus der Nährlösung aufgenommen wurden



Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.



Abbildung 3-24 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.

Nitrataufnahme: Bei hoher VPD und damit hoher Wasseraufnahmerate wurde bei niedriger Nährlösungskonzentration signifikant mehr Nitrat aus der Nährlösung in die Pflanze aufgenommen als bei geringer VPD.

Bei hoher Nährlösungskonzentration gab es keinen signifikanten Unterschied der Nitrataufnahme bei unterschiedlichen VPDs. Dies könnte darauf zurückgeführt werden, dass die Nitrataufnahme anfangs nicht angebotsabhängig sowie relativ klein gegenüber der angebotenen Menge war. Nach drei Stunden erhöhte sich die Aufnahme deutlich. Untersucht wurde, wie viel mg Phosphat bei unterschiedlichen VPDs aus der Nährlösung aufgenommen wurden



Abbildung 3-25 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Phosphat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.



Abbildung 3-26 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Phosphat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.

Phosphataufnahme: Bei hoher VPD und damit hoher Wasseraufnahmerate wurde bei niedriger Nährlösungskonzentration tendenziell mehr Phosphat aus der Nährlösung in die Pflanze aufgenommen als bei geringer VPD.

Bei hoher Nährlösungskonzentration gab es keinen signifikanten Unterschied der Phosphataufnahme bei unterschiedlichen VPDs. Dies könnte darauf zurückgeführt werden, dass die Phosphataufnahme anfangs nicht angebotsabhängig sowie relativ klein gegenüber der angebotenen Menge war. Nach drei Stunden erhöhte sich die Aufnahme tendenziell. Untersucht wurde, wie viel mg Sulfat bei unterschiedlichen VPDs aus der Nährlösung aufgenommen wurden



Abbildung 3-27 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Sulfat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.



Abbildung 3-28 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Sulfat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.

Sulfataufnahme: Bei hoher VPD und damit hoher Wasseraufnahmerate wurde bei niedriger Nährlösungskonzentration tendenziell mehr Sulfat aus der Nährlösung in die Pflanze aufgenommen als bei geringer VPD.

Bei hoher Nährlösungskonzentration gab es keinen signifikanten Unterschied der Sulfataufnahme bei unterschiedlichen VPDs. Dies könnte darauf zurückgeführt werden, dass die Sulfataufnahme anfangs nicht angebotsabhängig sowie relativ klein gegenüber der angebotenen Menge war. Nach drei Stunden war keine signifikant erhöhte Aufnahme festzustellen. Untersucht wurde, wie viel mg Kalium bei unterschiedlichen VPDs aus der Nährlösung aufgenommen wurden



Abbildung 3-29 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Kalium in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.



Abbildung 3-30 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Kalium in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.

Kaliumaufnahme: Bei niedriger Nährlösungskonzentration ergab sich tendenziell eine Zunahme an Kalium in der Nährlösung. Dies konnte darauf zurückgeführt werden, dass Kalium von der Wurzel an die Nährlösung, eventuell aufgrund mechanischer Belastung, abgegeben wurde. Bei hoher VPD wurde tendenziell weniger Kalium an die Nährlösung abgegeben als bei geringer VPD.

Bei hoher Nährlösungskonzentration gab es eine zur niedrigen Nährlösungskonzentration vergleichbare absolute Kaliumabgabe. Unterschiedliche VPDs ergaben keinen signifikanten Unterschied der Kaliumabgabe. Nach drei Stunden war eine tendenzielle Aufnahme festzustellen. Untersucht wurde, wie viel mg Magnesium bei unterschiedlichen VPDs aus der Nährlösung aufgenommen wurden



Abbildung 3-31 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Magnesium in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.



Abbildung 3-32 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Magnesium in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.

Magnesiumaufnahme: Bei niedriger Nährlösungskonzentration gab es keinen signifikanten Unterschied der Magnesiumaufnahme bei unterschiedlichen VPDs.

Bei hoher Nährlösungskonzentration gab es keinen signifikanten Unterschied der Magnesiumaufnahme bei unterschiedlichen VPDs. Nach drei Stunden war eine deutlich erhöhte Aufnahme bei beiden VPDs festzustellen. Untersucht wurde, wie viel mg Calcium bei unterschiedlichen VPDs aus der Nährlösung aufgenommen wurden



Abbildung 3-33 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Calcium in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.



Abbildung 3-34 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Calcium in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.

Calciumaufnahme: Bei niedriger Nährlösungskonzentration gab es keinen signifikanten Unterschied der Calciumaufnahme bei unterschiedlichen VPDs.

Bei hoher Nährlösungskonzentration gab es keinen signifikanten Unterschied der Calciumaufnahme bei unterschiedlichen VPDs. Nach drei Stunden war signifikant erhöhte Aufnahme bei beiden VPDs festzustellen. Untersucht wurde, wie viel mg Ammonium bei unterschiedlichen VPDs aus der Nährlösung aufgenommen wurden



Abbildung 3-35 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Ammonium in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.



Abbildung 3-36 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Ammonium in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.

Ammoniumaufnahme: Bei hoher VPD und damit hoher Wasseraufnahmerate wurde bei niedriger Nährlösungskonzentration signifikant mehr Ammonium aus der Nährlösung in die Pflanze aufgenommen als bei geringer VPD.

Bei hoher Nährlösungskonzentration gab es keinen signifikanten Unterschied der Ammoniumaufnahme bei unterschiedlichen VPDs. Nach drei Stunden erhöhte sich die Aufnahme signifikant.

Zusammenfassung

Bei niedriger Nährlösungskonzentration war bei erhöhter VPD eine signifikant erhöhte Aufnahme aus der Nährlösung bei Nitrat, Phosphat und Ammonium festzustellen.

Bei niedriger Nährlösungskonzentration war bei erhöhter VPD eine tendenziell erhöhte Aufnahme aus der Nährlösung bei Sulfat und Kalium festzustellen.

Bei niedriger Nährlösungskonzentration war bei erhöhter VPD keine erhöhte Aufnahme aus der Nährlösung bei Magnesium und Calcium festzustellen.

Bei hoher Nährlösungskonzentration war bei allen Nährstoffen keine Abhängigkeit der Aufnahme von der VPD festzustellen. Nach drei Stunden war bei allen Nährstoffen außer Sulfat, unabhängig von der VPD eine erhöhte Aufnahme aus der Nährlösung festzustellen.

3.2.2. Lateraler Austausch im Spross

Das Ferntransportsystem Xylem ist von Xylemparenchym umgeben. Das gesamte Leitbündel ist wiederum im Mesophyll der Sprossachse eingebettet. Lignin-bindendes Berberin-Hemisulfat, im Xylemgefäß transportiert, zeigt auch eine Färbung der angrenzenden Gewebe. Die Gefäße sind demnach nicht vom umliegenden Gewebe isoliert. Folglich können auch Nährstoffe mit dem Gewebe ausgetauscht werden. Dies könnte wiederum den Nährstofftransport im Xylem beeinflussen. Dieser Nährstoffaustausch könnte wiederum abhängig vom Fluss des Xylemsaftes sein. Um eine solche Abhängigkeit zu untersuchen, wurden Stammstücke bei unterschiedlichen Flüssen mit wechselnden Konzentrationen perfundiert und die Ausgangskonzentrationen analysiert. Untersucht wurde, ob Nitrat abhängig von der Durchflussgeschwindigkeit unterschiedlich in das Xylem importiert oder aus dem Xylem ausportiert wurde.



Abbildung 3-37 Stammperfusion mit 1,75 und 18,9 mM Nitrat. Ausgangskonzentrationen bei Perfusions-Flüssen von 240 und 60 µl/min (n=3).



Abbildung 3-38 Abbildung wie oben, Zeitachse gespreizt.

Die Ausgangskonzentrationen bei der Nitrat - Perfusion zeigten im Rahmen der Standardabweichung (n = 3) keine signifikante Abhängigkeit vom Perfusions-Fluss. Die Ausgangskonzentrationen waren nach der Konzentrationserhöhung tendenziell, in einzelnen Fällen auch signifikant geringer als die Eingangskonzentrationen. Untersucht wurde, ob Phosphat abhängig von der Durchflussgeschwindigkeit unterschiedlich in das Xylem importiert oder aus dem Xylem ausportiert wurde.



Abbildung 3-39 Stammperfusion mit 0,24 und 2,7 mM Phosphat. Ausgangskonzentrationen bei Perfusions-Flüssen von 240 und 60 µl/min (n=3).



Abbildung 3-40 Abbildung wie oben, Zeitachse gespreizt.

Die Ausgangskonzentrationen bei der Phosphat - Perfusion zeigten im Rahmen der Standardabweichung (n = 3) eine tendenzielle Abhängigkeit vom Perfusions-Fluss. Bei geringem Perfusions-Fluss waren die Ausgangskonzentrationen tendenziell höher als bei hohem Perfusions-Fluss. Die Ausgangskonzentrationen waren nach der Konzentrationserhöhung signifikant geringer als die Eingangskonzentrationen. Untersucht wurde, ob Sulfat abhängig von der Durchflussgeschwindigkeit unterschiedlich in das Xylem importiert oder aus dem Xylem ausportiert wurde.



Abbildung 3-41 Stammperfusion mit 0,13 und 1,60 mM Sulfat. Ausgangskonzentrationen bei Perfusions-Flüssen von 240 und 60 µl/min (n=3).



Abbildung 3-42 Abbildung wie oben, Zeitachse gespreizt.

Die Ausgangskonzentrationen bei der Sulfat - Perfusion zeigten im Rahmen der Standardabweichung (n = 3) eine tendenzielle Abhängigkeit vom Perfusions-Fluss. Bei geringem Perfusions-Fluss waren die Ausgangskonzentrationen tendenziell höher als bei hohem Perfusions-Fluss. Die Ausgangskonzentrationen waren nach der Konzentrationserhöhung signifikant geringer als die Eingangskonzentrationen. Untersucht wurde, ob Kalium abhängig von der Durchflussgeschwindigkeit unterschiedlich in das Xylem importiert oder aus dem Xylem ausportiert wurde.



Abbildung 3-43 Stammperfusion mit 1,15 und 12,66 mM Kalium. Ausgangskonzentrationen bei Perfusions-Flüssen von 240 und 60 µl/min (n=3).



Abbildung 3-44 Abbildung wie oben, Zeitachse gespreizt.

Die Ausgangskonzentrationen bei der Kalium - Perfusion zeigten im Rahmen der Standardabweichung (n = 3) keine Abhängigkeit vom Perfusions-Fluss. Die Ausgangskonzentrationen waren vor der Konzentrationserhöhung bis auf Ausnahmen signifikant höher und nach der Konzentrationserhöhung bis auf Ausnahmen signifikant geringer als die Eingangskonzentrationen. Untersucht wurde, ob Magnesium abhängig von der Durchflussgeschwindigkeit unterschiedlich in das Xylem importiert oder aus dem Xylem ausportiert wurde.



Abbildung 3-45 Stammperfusion mit 0,24 und 1,37 mM Magnesium. Ausgangskonzentrationen bei Perfusions-Flüssen von 240 und 60 μ l/min (n=3).



Abbildung 3-46 Abbildung wie oben, Zeitachse gespreizt.

Die Ausgangskonzentrationen bei der Magnesium - Perfusion zeigten im Rahmen der Standardabweichung (n = 3) keine Abhängigkeit vom Perfusions-Fluss. Die Ausgangskonzentrationen waren vor der Konzentrationserhöhung tendenziell geringer als die Eingangskonzentrationen. Untersucht wurde, ob Calcium abhängig von der Durchflussgeschwindigkeit unterschiedlich in das Xylem importiert oder aus dem Xylem ausportiert wurde.



Abbildung 3-47 Stammperfusion mit 0,27 bzw. 0,50 und 1,88 bzw. 1,81 mM Magnesium. Ausgangskonzentrationen bei Perfusions-Flüssen von 240 und 60 μ l/min (n=3). Nur bei Calcium war eine Variation der Eingangskonzentration bei verschiedenen Flüssen gegeben.



Abbildung 3-48 Abbildung wie oben, Zeitachse gespreizt.

Die Ausgangskonzentrationen bei der Calcium - Perfusion zeigten im Rahmen der Standardabweichung (n = 3) eine Abhängigkeit vom Perfusions-Fluss. Bei geringem Perfusionsfluss war die Ausgangskonzentration nach Konzentrationswechsel signifikant geringer als die Eingangskonzentration. Bei hohem Perfusionsfluss war die Ausgangskonzentration nach Konzentrationswechsel tendenziell höher als die Eingangskonzentration. Die Ausgangskonzentra-
tionen waren vor der Konzentrationserhöhung signifikant geringer als die Eingangskonzentrationen.

Zusammenfassung

Bei der Perfusion wurde der Einfluss des Perfusionsflusses auf den lateralen Austausch der Nährstoffe untersucht.

Bei **Calcium** konnte ein signifikanter Einfluss des Perfusionsflusses auf den lateralen Austausch festgestellt werden. Während bei hohem Perfusionsfluss und hoher Calciumkonzentration kein lateraler Austausch festzustellen war, wurde bei niedrigem Fluss bei hoher wie bei niedriger Calciumkonzentration ein lateraler Austransport in das umliegende Gewebe festgestellt.

Bei Kalium, Nitrat, Phosphat und Sulfat wurde unabhängig vom Perfusionsfluss bei hohen Konzentrationen ein lateraler Austransport in das umliegende Gewebe festgestellt.

Bei **Magnesium** wurde kein lateraler Austausch festgestellt. Eine mögliche Austauscherkapazität der umliegenden Zellwände für zweiwertige Kationen konnte nicht beobachtet werden.

Die Ionenkonzentration des Xylemsaftes kann bei vereinzelten Ionen durch lateralen Austransport verändert werden. Eine Flussabhängigkeit wurde hierbei für Calcium gezeigt.

3.2.3. Konzentrationsverteilung im Spross

Die Untersuchungen zeigten bisher, dass Änderungen im Xylemsaftfluss der Gesamtpflanze nicht in vergleichbarer Weise den Massenfluss an Nährstoffen beeinflussen. Weiterhin war auch die Nährstoffaufnahme bei hohen Nährstoffkonzentrationen in der Nährlösung unabhängig von der Wasseraufnahmerate. Xylemsaftflussabhängiger lateraler Austausch war Ionenspezifisch. Daraus ergab sich das Bild eines Röhrensystems, in dem unabhängig vom Wasserfluss Nährstoffe beladen und transportiert würden. Ein lateraler Austausch konnte darin die Konzentration einzelner Ionensorten modifizieren. Es stellte sich jedoch die Frage, ob darüber hinaus in diesem Röhrensystem aktiv die Konzentration entlang der Sprossachse verändert würde.

Dazu wurden an Pappel Xylemsaftproben entlang der Sprossachse entnommen und die Nährstoffkonzentrationen analysiert.



Abbildung 3-49 Nitrat-, Phosphat-, Sulfat-, Kalium-, Magnesium- und Calcium-Konzentrationen entlang der Sprossachse von Pappel. Im Untersuchungszeitraum sanken die Konzentrationen aller Ionen an allen Probennahmestellen

Nitrat und Kalium zeigten deutlich höhere Konzentrationen an höher gelegenen Probennahmestellen. Phosphat, Sulfat und Magnesium zeigten tendenziell höhere Konzentrationen an höher gelegenen Probennahmestellen. Calcium-Konzentrationen zeigten keine Abhängigkeit von der Probennahmestelle. Phosphat und Sulfat als zweiwertige Anionen zeigten inhomogene, zur Sprossspitze ansteigende Konzentrationen. Kalium und Nitrat als einwertige Ionen zeigten deutlich inhomogene, zur Sprossspitze ansteigende Konzentrationen. Calcium und Magnesium als zweiwertige Kationen zeigen keinen deutlichen Anstieg der Konzentrationen zur Sprossspitze hin. Nur direkt an der Sprossspitze war die Konzentration erhöht.

Waren diese Konzentrationsverteilungen Artefakte aufgrund des Blattanschnitts und damit der Flussänderung des Xylemsaftes in die einzelnen Blätter oder war diese ein Hinweis auf aktive Verteilung von Ionen entlang der Sprossachse?

Flüsse

Xylemsaftflussmessungen mit der heat-balance-Methode (Flow2) unterhalb des untersten Blattes und auf halber Sprosshöhe zeigten, dass die Xylemsaftflüsse in der unteren und oberen Sprosshälfte der Gesamtblattfläche in der unteren und oberen Sprosshälfte entsprachen. Es konnte eine konstante blattflächenspezifische Transpiration angenommen werden.

Über den Versuchszeitraum der Probennahme war der Gesamtfluss mit 669 \pm 22 µl/min (n=127) konstant. Abzüglich der mittleren Probennahmeflüsse von 150 \pm 6,7 µl/min (n=96) ergab sich eine Transpirationsrate von ca. 520 µl/min.

		Transpiration		Maximaler	Relative	
Blatt	Blattfläche	vor Schnitt	Probenfluss	Gesamtfluss	Flusserhöhung	
#	[cm ²]	[µl/min]	[µl/min]	[µl/min]	Faktor	
1	146.6	26.8	29 ± 1,93	ca 55.8	2.08	
1	140,0	20,0	n=12	cu . 55,6	2,00	
0	101 /	35.0	54 ± 3,17	co. 80.0	2.54	
	191,4	55,0	n=12	Ca. 89,0	2,34	
12	140.1	28.0	36 ± 2,05	on 64.9	2.25	
15	149,1	28,7	n=11	Ca. 04,9	2,23	
18	146.5	28.4	$26 \pm 1,58$	ca 54.4	1.02	
10	140,5	20,4	n=10	Ca. 54,4	1,72	
23	33.5	6.5	6 ± 0,27	ca 12.5	1.02	
23	33,3	0,5	n=3	Ca. 12,5	1,72	

Tabelle 3-2 Probennahmestellen für Xylemsaft. Dargestellt wurde die Transpiration entsprechend der Blattfläche, der Probenfluss nach Anschnitt und der daraus resultierende maximale Fluss am jeweiligen Probennahmeblatt. Die durch Probennahme induzierte relative Flusserhöhung lag im Bereich von 1,92 bis 2,54. An den unteren Blättern wurden die geringsten und am obersten Blatt die höchsten Konzentrationen gemessen werden. Durch die Xylemsaftprobennahme am Adernanschnitt konnte der Xylemsaftfluss in das jeweilige Blatt, bedingt durch die blattflächenspezifische Transpiration, maximal um den Probennahmefluss erhöht sein. Es stellte sich die Frage, ob aufgrund des zusätzlichen Probennahmeflusses an den unteren Blättern eine Xylemsaftflusserhöhung erreicht werden konnte, welche die Konzentrationsdifferenz begründen könnte.

Bei der Annahme, dass zum einen am Blatt 9 die Transpiration erhalten blieb, also eine maximale Flusserhöhung um den Faktor 2,54 (Tabelle 3-2) gegeben war und zum anderen an Blatt 23 der Transpirationsfluss durch den Probenfluss ersetzt wurde, konnte von einer maximalen Flussänderung durch die Probennahme um den Faktor 2,54 ausgegangen werden. Wie hoch waren dazu im Vergleich die Konzentrationsunterschiede der einzelnen Ionen?

Um die Unterschiede in den Konzentrationen zu berechnen, wurde der Probennahmezeitraum entsprechend der Probennahme an der Sprossspitze in drei Bereiche unterteilt. Die Konzentrationen von Blatt 9 (höchste Flusserhöhung) und Blatt 23 (Sprossspitze) wurden in diesen Zeiträumen gemittelt und verglichen.

Nährsalz	Messperiode 1	Messperiode 2	Messperiode3
Nitrat	4,1	2,7	2,1
Phosphat	3,3	3,2	1,8
Sulfat	3,1	4,5	3,4
Malat	4,8	n.d.	0,9
Kalium	6,3	6,3	3,2
Calcium	2,4	3,5	n.d.
Magnesium	8,3	11,5	n.d.
Ammonium	21,4	6,9	7,6

 Tabelle 3-3
 relativer Konzentrationsunterschied als Quotient von mittleren Konzentrationen von Sprossspitze

 und Sprossbasis, [C]_{Blatt 23} / [C] _{Blatt 9}.

Gegenüber der Sprossspitze war an Blatt 9 eine maximale Flusserhöhung um den Faktor 2,54 möglich. Bei einer daraus resultierenden passiven Konzentrationsverdünnung konnte demnach auch nur ein Faktor von max. 2,54 erwartet werden. Konzentrationsverdünnungen oberhalb dieses Faktors konnten nicht alleine durch eine Verdünnung erklärt werden.

- Kalium, Magnesium und Ammonium zeigten deutlich höhere Konzentrationsunterschiede.

- Sulfat zeigte tendenziell höhere Konzentrationsunterschiede.

- Nitrat, Phosphat und Malat zeigten nur zu Beginn der Beprobung tendenziell höhere Konzentrationsunterschiede.

- Calcium zeigte keine höheren Konzentrationsunterschiede.

Bei einzelnen Nährstoffen zeigte sich ein Konzentrationsgradient, der nicht durch unterschiedliche Flüsse in die einzelnen Blätter als Folge des Adernanschnitt erklärt werden konnte.

Der Konzentrationsgradient war für jeden Nährstoff unterschiedlich. Die Abweichung der Konzentrationsdifferenzen von den Flussdifferenzen war für jeden Nährstoff unterschiedlich. Eine passive Verdünnung durch Flusserhöhung sollte alle Nährstoffe gleichermaßen betreffen. Es wurden jedoch nährstoffspezifische, durch passive Verdünnungen nicht zu erklärende Konzentrationsdifferenzen beobachtet. Dies wurde als Hinweis auf aktive Prozesse in der Nährstoffverteilung im Spross gewertet.

3.3. Zusammenfassung

Die kontinuierliche Xylemsaftprobennahme bei gleichzeitiger Variation der Transpiration zeigte bei der Probennahme an der Petiole Abhängigkeiten zwischen Ionenkonzentration und Xylemsaftflüsse. Bei einer Erhöhung des Xylemsaftflusses verringerte sich die Ionenkonzentration und vice versa. Die war ein Hinweis, dass die Ionenmenge kurzfristig konstant und flussunabhängig war. Bei der Probennahme am Blatt konnte keine signifikante Konzentrationsschwankung bei Flussänderung festgestellt werden. Es gilt zukünftig zu untersuchen, ob auf dem Weg durch die Blattader die Ionenkonzentration modifiziert wurde.

In Nährstoffaufnahme-Experimenten konnte gezeigt werden, dass eine erhöhte Wasseraufnahme nicht zu einer signifikant erhöhten Nährstoffaufnahme führte. Dies war eine weitere Bestätigung für eine flussunabhängig vom Boden in das Blatt transportierte Ionenmenge.

Auch die Untersuchung zum lateralen Ein- und Austransport von Ionen zeigte generell keine Flussabhängigkeit. Nur der Calcium-Austransport war deutlich flusssensitiv.

Wenn sich der Ionentransport durch die Pflanze auch weitgehend unabhängig von den Wasserflüssen darstellte, so wurden doch Konzentrationsgradienten entlang der Sprossachse sichtbar, welche durch die unterschiedlichen Wasserflüsse nicht erklärbar waren. Nimmt man diese Feststellung als Hinweis für aktive Umlagerungsprozesse der Ionen im Xylem, so ist zu Untersuchen, ob und wo es neben der Xylembeladung in der Wurzel weitere aktive Be- und Entladungsprozesse gibt.

4. Diskussion

Nährstofftransport und Wassertransport in der Pflanzen verwenden dieselbe anatomische Struktur, das Xylem. Dessen Gefäße ermöglichen aufgrund ihrer hohen Wasserleitfähigkeit den Ferntransport von Wasser von der Wurzel in die Blätter und sichern die Wasserversorgung der Pflanze trotz Wasserverlust durch die Transpiration. Die Pflanze nutzt diesen Ferntransportweg gleichzeitig auch zur Aufnahme und Verteilung von Nährstoffen. Der Zusammenhang von Nährstofftransport und Transpirationsstrom ist deshalb ein zentrale Frage der Pflanzenernährung.

Untersuchungen der Entwicklung von Pflanzen und der Netto-Nährstoffaufnahme über mehrere Wochen hinweg zeigten, dass diese sich bei unterschiedlichen Transpirationsraten nicht signifikant unterschieden (Tanner, 2001). Ist der Nährstofftransport also unabhängig vom Wasserfluss in der Pflanze?

Mechanistische Untersuchungen des Zusammenhangs waren bislang nur in eingeschränktem Maße möglich, da zur Untersuchung der Abhängigkeit des Nährstofftransports vom Fluss des Wassers in den Xylemgefäßen *in vivo* ein adäquater experimenteller Aufbau fehlte. Notwendig wäre es an einer intakten, transpirierenden Pflanze kontinuierlich die Nährstoffkonzentrationen im Xylem zu messen und zeitgleich den Wasserfluss im Xylem, den Xylemsaftfluss messen und verändern zu können.

Eine kontinuierliche Xylemsaftprobennahme ermöglicht eine Wurzeldruckkammer nach Passioura, allerdings sind bisherige Aufbauten dieses Prinzips an den Anbau in Erde gebunden, was keine ausreichend exakte Einstellung der Randbedingungen ermöglicht. Zudem ist die Gaszusammensetzung von essentieller Bedeutung: Würde eine solche Druckkammer nur mit Druckluft betrieben, würde dies zu einem gesteigertem Sauerstoffpartialdruck und damit zu oxidativen Stresserscheinungen führte. Bisherige Steuergeräte dieser Anlage erlaubten zwar die Mischung von mehreren Gasen zur Vermeidung oxidativen Stresses, ermöglichten aber nur eine eingeschränkte Möglichkeiten, die Druckänderung zu steuern. Benötigt wurde eine kontrollierte und lineare Druckänderung bei kontrolliertem Sauerstoffpartialdruck. In der hier vorliegenden Arbeit wurde eine entsprechende Druckkammerregelung entwickelt und eingesetzt. Die Aufgabe bestand auch darin, den Aufbau der Regelung aus elektronischen Bauelementen zu minimieren und robust zu machen. So wurden nur die notwendigen Aufgaben wie Messwerterfassung und Ventilsteuerung mittels "Hardware" realisiert. Die Datenverarbeitung wie Sensorkalibrierung, Regelungsalgorithmen und Steuerbefehlsgenerierung selbst sollten hingegen in einem Software-Programm realisiert werden. Somit sollten die Regelaufgaben flexibel gelöst und die Programmstruktur auch nachträglich an veränderte Erfordernisse angepasst und weiterentwickelt werden können. Die Verwendung einer dem Industriestandard entsprechenden Regelungssoftware sollte die Weiterführung der Programmentwicklung auch bei zukünftigen PC- und Betriebssystemen sowie die individuelle Anpassung der Programmstruktur für andere Anwender ermöglichen.

Die hier beschriebene und verwendete Methode der Druckapplikation im Wurzelraum bei langsamen Drucksteigungen und konstantem Sauerstoffpartialdruck ermöglichte die kontinuierliche Xylemsaftprobennahme am Blatt und im Sprossbereich. Die Nährstoffkonzentrationen in den Xylemsaftproben und ihre dynamischen Veränderungen konnten für Kalium und Nitrat mittels ionenselektiver Elektroden mit hoher Zeitauflösung gemessen werden. Mittels Ionenchromatografie und Kapillarelektrophorese konnten bei verringerter Zeitauflösung auch die Konzentrationen mehrwertiger Anionen und Kationen analysiert werden.

Die Kontrolle des Gasraumes um den Spross durch die beschriebene Sprossküvette und die Xylemsaftflussmessung durch die "heat-balance-Methode (Flow2) ermöglichte die Kontrolle und Variation des Xylemsaftflusses.

Die methodische Weiterentwicklung ermöglichte es, Konzentrationen bei variierenden Flüssen *in vivo* zu messen. Durchgeführt wurden diese Messungen an der Gesamtpflanze und an Teilsystemen wie Wurzel oder Spross. Allen Ergebnissen gemeinsam war, dass die Konzentrationen unterschiedlicher Nährstoffe sich unterschiedlich bei Flussvariationen veränderten. Deshalb werden hier die Einzeluntersuchungen jeweils im Hinblick auf einen bestimmten Nährstoff interpretiert. Als Einschränkung gilt, dass die Versuche bei konstanter Temperatur und konstantem Licht durchgeführt wurden. Alle Effekte, welche aufgrund variierender Stoffwechselprozesse oder Assimilation direkt oder via Phloem die Aufnahme und den Transport von Nährstoffen beeinflussen, müssen deshalb unberücksichtigt bleiben.

4.1. Nitrat-Transport

Eine Änderung des Xylemsaftflusses bewirkt eine in der Größenordnung vergleichbar schnelle Konzentrationsänderung an Nitrat im Xylemsaft bei der Messung an der Petiole. Dies deutet auf einen unabhängig vom Wassertransport geregelten Transport von Nitrat in den Spross und in die Blätter hin.

Die Aufnahme an Nitrat aus einer Nährlösung ist bei hohen Konzentrationen von unterschiedlichen Wasserflüssen unabhängig. Bei geringer Nitratkonzentration in der Nährlösung ist eine Abhängigkeit der Nitrataufnahme vom Wasserfluss feststellbar. Dies muss jedoch nicht zwingend eine flussabhängige Beladung des Xylem bedeuten. Bereits auf dem Weg zur Wurzelendodermis können im Cortex entsprechend dem Eintransport Ionen aufgenommen werden

(Jeschke 1984). Weiterhin könnte bei niedriger Nitratkonzentration eine Nitratverarmung in der Rhizosphäre oder dem Rindenkortex entstehen, welche durch höhere Wasserflüsse besser überbrückt würde. Der Anstieg der Nitrataufnahme bei hoher Nährlösungskonzentration nach ca. 3 Stunden steht im Einklang mit Untersuchungen über konstitutive und induzierbare Nitrattransporter (cHATS und iHATS, Glass 2002) wenn auch zum einen diese Untersuchungen nicht an Ricinus communis durchgeführt wurden und zum anderen eine differenzierte Lokalisierung in der Wurzel, ob in Endodermis oder Xylemparenchym, fehlt. Die Eigenschaften der Wurzel, insbesondere hinsichtlich der zeitlichen Dynamik der Nitratspeicherung sind größtenteils unbekannt. Aus früheren Arbeiten (Herdel, unpublished) wurde die zeitliche Entkopplung der Nitrataufnahme vom Transport in den Spross ersichtlich. Die Wurzel kann also bezüglich Nitrat als Puffer- oder Speicherort angesehen werden. In wie weit der Nitratstatus der Wurzel oder des Sprosses primär die Nitrataufnahme reguliert ist unklar (Schurr 1999). Stoffwechselprodukte können via Phloem den Stickstoffstatus des Sprosses an die Wurzel signalisieren. Aminosäuren als Produkte der Nitratreduktion signalisieren in hohen Konzentrationen einen verringerten Nitratbedarf - Der Zusatz von Aminosäuren in der Nährlösung verringert die Nitrataufnahme (Muller 1995). Malat als Produkt der Assimilation wiederum signalisiert in hohen Konzentrationen einen erhöhten Nitratbedarf. Der Zusatz von Malat in der Nährlösung erhöht die Nitrataufnahme (Delhon 1996). Diese Prozesse sind stark abhängig von diurnalen Variationen.

Die Perfusionsexperimente durch isolierte Stammstücke zeigen entgegen früheren Untersuchungen (Gilmer 1999) eine Tendenz zu lateralem Austransport. Dieser scheint vom Wasserfluss unabhängig zu sein. Generell kann Nitrat auch entlang des gesamten Transportwegs aus dem Xylem heraustransportiert werden. Im Phloem wurden hingegen nur geringe Nitratkonzentrationen nachgewiesen, Nitrat wird also nicht wesentlich über das Phloem reloziert.

Auch die Untersuchung von Konzentrationsgradienten an Pappel zeigt nur zu Beginn einen tendenziellen Gradienten, eine über die Flussunterschiede hinausgehende höhere Nitratkonzentration in der Sprossspitze.

Die Daten weisen auf eine wasserflussunabhängige, kontrollierte und regulierte Beladung des Xylem mit Nitrat und seinen passiven Transport mit geringem lateralen Austausch (ebenfalls kontrolliert) zum Ort des Verbrauches in den Blättern hin.

4.2. Phosphat-Transport

Ähnlich wie bei Nitrat bewirkt eine Änderung des Xylemsaftflusses eine in der Größenordnung vergleichbar schnelle und hohe Konzentrationsänderung an Phosphat im Xylemsaft bei der Messung an der Petiole. Dies deutet wiederum auf einen unabhängig vom Wassertransport konstanten Transport von Phosphat in den Spross und in die Blätter hin.

Auch die Aufnahme an Phosphat aus der Nährlösung ist von unterschiedlichen Wasserflüssen unabhängig. Phosphat ist in Erde, der natürlichen Wurzelmatrix, immobil. Dies begründet auch die hauptsächliche Aufnahme von Phosphat über die äußersten Schichten des Cortexes mit einer hohen Dichte an Phosphattransportern (Daram 1998, Liu 1998). Ein höherer Wasserfluss kann bei gegebener Transporterkapazität kaum einen Einfluss auf die Aufnahme haben. Reguliert wird die Phosphataufnahme über die Phosphatkonzentration im Phloem (Delhaize 1995, Peuke 2001), mithin durch ein Phosphatbedarfs-Signal vom Spross.

Die Perfusionsexperimente zeigen einen signifikanten lateralen Austransport von Phosphat bei Konzentrationserhöhung, der tendenziell bei hohem Wasserfluss erhöht war. Die Xylem-Phloem-Relokation nimmt generell einen hohen Anteil im Xylemtransport von Phosphat ein (Jeschke 1995) was wegen des niedrigen Löslichkeitsprodukts von Calciumphosphat den freien Calciumtransport im Xylem beeinflussen kann. Weiterhin übernimmt das Phosphat im Xylem eine dem Carbonat nachgelagerte Pufferfunktion zur Stabilisierung des pH und damit der Membranpotentiale angrenzender Zellen (Gerendas 1999).

Die Untersuchung von Konzentrationsgradienten an Pappel zeigen hingegen keine aktiven Verteilungsprozesse von Phosphat hin zur Sprossspitze auch wenn Remobilisation und Umlagerung von Sink- zu Source-Blättern belegt sind (Pitmann 1988).

Die Interpretation der Daten weist auf eine wasserflussunabhängige, kontrollierte und regulierte Beladung des Xylem mit Phosphat hin. Laterale Entladung und Relokation über das Phloem sind nachweisbar, zeigen jedoch keinen signifikanten unmittelbaren Einfluss auf den Ferntransport. Eine aktive Umverteilung Richtung Sprossspitze konnte nicht festgestellt werden.

4.3. Sulfat-Transport

Auch bei dem dritten untersuchten Anion, dem Sulfat, bewirkt eine Änderung des Xylemsaftflusses eine in der Größenordnung vergleichbare Konzentrationsänderung im Xylemsaft bei der Messung an der Petiole. Der Sulfattransport wird demnach unabhängig vom Wassertransport geregelt.

Die Aufnahme an Sulfat aus einer Nährlösung ist von den Wasserflüssen unabhängig. Bei niedriger Sulfatkonzentration könnte eine Sulfatverarmung in der Rhizosphäre entstehen, welche durch höhere Wasserflüsse besser überbrückt würde. Der Eintransport von Sulfat ist wiederum abhängig vom Bedarf des Ions im Spross (Rennenberg 1995), welcher seinen Bedarf an die Wurzel über die Phloemkonzentration an Glutathion signalisiert (Lappartient 1999). Die Funktion von S-Methylmethionin, Hauptform reduzierten Schwefels beim Phloemtransport in die Früchte, und dessen Bedeutung für die Aufnahme an der Wurzel, ist ungeklärt (Bourgis 1999).

Stammperfusionsexperimente zeigen einen signifikanten lateralen Austransport von Sulfat, wenn sich die Konzentration von Sulfat im Xylem erhöht. Tendenziell wird dieser bei hohem Wasserfluss gesteigert. Im Phloem konnte Sulfat nachgewiesen werden (Peuke 2001). Schwefel könnte also auch nicht reduziert als Sulfat über das Phloem reloziert werden.

Die Untersuchung von Konzentrationsgradienten an Pappel zeigt die Tendenz eines Gradienten, eine über die Flussunterschiede hinausgehende höhere Sulfatkonzentration in der Sprossspitze. Dies wäre ein Hinweis auf aktive Verteilungsprozesse von Sulfat hin zur Sprossspitze neben dem Transport von reduziertem Schwefel.

Sulfattransport wird demnach unabhängig vom Wasserfluss durch kontrollierte und regulierte Beladung des Xylem mit Sulfat kontrolliert. Laterale Entladung und Relokation über das Phloem sind nachweisbar, zeigen jedoch keinen signifikanten Einfluss auf den passiven Ferntransport. Eine aktive Umverteilung Richtung Sprossspitze ist tendenziell gegeben.

4.4. Kalium-Transport

Entgegen den Ergebnissen bei den vorangegangenen Anionen bewirkt eine Änderung des Xylemsaftflusses nur eine leichte Konzentrationsänderung an Kalium im Xylemsaft bei der Messung an der Petiole. Der Massenfluss an Kalium erscheint damit schneller variierbar als bei den anderen Nährstoffen, Kaliumionen können demnach im höheren Maße in und aus dem Xylemsaftstrom transportiert werden.

Die Aufnahme an Kalium aus einer Nährlösung ist von den Wasserflüssen unabhängig. Auch bei früheren Versuchen blieb die Rate der Kaliumaufnahme in die Wurzel von *Ricinus com-munis* L. auch nach Änderung der Wasseraufnahmerate über Stunden stabil (Bowling 1965). Wie in der Einleitung dargestellt, kann die Kaliumaufnahme in die Wurzel und der Kaliumtransport in das Xylem durch die massive Phloem-Xylem-Relokation als entkoppelt angesehen werden. Neben den hoch- (HKT1) und niederaffinen (AKT1) Transportern zum Kaliumtransport durch die Rhizoendodermis (Roberts 2000) konnte in der Plasmamembran der Xylemparenchymzellen von Gerste und Mais ein Kanal identifiziert werden, ein K⁺⁻Outward-Rectifying-Channel KORC (Wegner 1997), welcher für die Xylembeladung geeignet scheint. KORC ist selektiv für Kalium, fast undurchlässig für Natrium, jedoch gering durchlässig für Calcium. Es ist durchlässig für Rubidium, dessen Verweildauer jedoch im Kanal wegen erhöhter Interaktionen mit der Kanal-Pore verlängert und der Fluss verringert ist (Roberts 1997). Eine Depolarisierung über Calcium- oder Anionenkanäle und eine folgende KORC- Öffnung führten zu einem Ausstrom an Kalium in den Apoplasten. Da Kalium als Gegenion beim Nitrattransport im Xylem zum Ladungsausgleich dient, stellte sich die Frage ob die Freisetzung von Nitrat als Anion in den Apoplasten mit der folgenden Depolarisierung der Membran als primär KORC-aktivierend einen entsprechenden Kalium-Nachfluss bewirken könnte.

Anaerobiose bei Versuchen von DeBoer soll einwärts- und auswärtsgerichtete Kanäle für den Kaliumtransport im Xylemparenchym unterschiedlich beeinflussen (Hans Lambers, pers. Mitteilung). Anaerobiose ließe sich kontrolliert in der Spraydruckkammer realisieren und eine Manipulation des Kaliumaufnahme/Beladungs-Verhältnisses erreichen und könnte dadurch zur weiteren Klärung der Transportverhältnisse eingesetzt werden.

Diskutiert wird auch, ob bei der Xylem-Metamorphose von lebenden Metaxylem zur rein apoplastischen Tracchee relevante Mengen an Kalium in das Xylem freigesetzt werden. Die Kaliumkonzentration in lebenden Metaxylemzellen ist ca. 2-mal so hoch wie im Xylemparenchym und ca. 10-mal so hoch wie in den abgestorbenen Xylemgefäßen (Enns 1998). Durch die geringe Masse und die vereinzelte Freisetzung bei der Xylem-Morphose ist eine quantitative Beeinflussung der Konzentration im Xylemsaft eher fraglich.

Entsprechend der bekannten Xylem-Phloem-Relokation zeigen Stammperfusionsexperimente einen Austransport von Kalium bei hoher Xylemsaftkonzentration und Eintransport von Kalium bei niedriger Xylemsaftkonzentration. Diese lateralen Flüsse sind jedoch in den hier verwendeten Konzentrationsbereichen unabhängig vom Wasserfluss.

Die Untersuchung von Konzentrationsgradienten an Pappel zeigt einen signifikanten Gradienten der Kaliumkonzentration mit deutlich an der Sprossspitze erhöhten Kaliumkonzentrationen. Dies ist ein Hinweis auf aktive Verteilungsprozesse von Kalium hin zur Sprossspitze. Kalium ist in der Pflanze in hohen Konzentrationen omnipräsent, insbesondere in seiner Funktion als Osmotikum wie auch zum Ladungsausgleich. In den Daten der anderen Nährstoffe zeigt sich kein so massiver Gradient, es stellt sich damit die Frage nach der Funktion dieser Kaliumanreicherung zur Sprossspitze hin.

Die Ergebnisse weisen auf eine wasserflussunabhängige, kontrollierte und regulierte Beladung des Xylem mit Kalium hin. Laterale Entladung und Beladung sowie Relokation über das Phloem sind massiv und zeigen signifikanten Einfluss auf den passiven Ferntransport. Eine aktive Umverteilung Richtung Sprossspitze über Xylem-Phloem- und Xylem-Xylem-Relokation ist wahrscheinlich.

4.5. Magnesium-Transport

Eine Änderung des Transpirationsflusses bewirkt eine nicht signifikante Konzentrationsänderung an Magnesium im Xylemsaft bei der Messung an der Petiole. Dies deutet auf einen eher massenflussregulierten Transport und damit auf einen unabhängig vom Wassertransport kontrollierten Transport von Magnesium in den Spross und in die Blätter.

Die Aufnahme an Magnesium aus einer Nährlösung ist bei hohen wie bei geringen Konzentrationen von unterschiedlichen Wasserflüssen unabhängig. Gemäß Untersuchungen mit dem stabilen Isotop ²⁵Magnesium verläuft der Transport von Magnesium durch den Wurzelcortex zwar auf dem apoplastischen Weg um ca. 2 Größenordnungen schneller als über dem symplastischen Weg (Kuhn 2000). Die Endodermis ist jedoch wieder symplastisch zu durchqueren und stellt damit eine der potentiellen Kontrollstellen für den Magnesiumtransport dar. Die für den symplastischen Transport bis zur Abgabe des Ions in das Xylem zuständigen Transportproteine sind derzeit nicht bekannt (Shaul 2002).

Stammperfusionsexperimente zeigen keinen ausgeprägten lateralen Austransport von Magnesium bei Konzentrationserhöhung. Zu beachten ist hierbei auch ein möglicher Ionenaustausch mit der umgebenden Zellwandmatrix, welche für zweiwertige Kationen vielfältige Bindungsstellen besitzt. Die Ergebnisse deuten jedoch nicht auf einen solchen Austausch hin, entsprechende Bindungsstellen können als gesättigt angenommen werden. Dass ein Ionenaustausch auch bei gesättigten Bindungsstellen stattfindet, wird bei Perfusionsversuchen mit stabilen Isotopen sichtbar. Bei gleich bleibenden Konzentrationen war ein lateraler Austausch unter den verschiedenen Isotopen über mehrere Stunden zu beobachten (Herdel 2001a) ein. Neben der Zellwandmatrix dient insbesondere die Vakuole der angrenzenden Zellen als Magnesiumspeicher zum Erhalt einer Magnesium-Homöostase im Cytoplasma (Shaul 2002). Auch im Phloem konnte Magnesium nachgewiesen werden (z. B. Peuke 2001), so dass hier ebenfalls ein möglicher Puffer vorhanden ist.

Die Untersuchung von Konzentrationsgradienten an Pappel zeigte keinen durchgehenden Gradienten, aber eine über die Flussunterschiede hinausgehende höhere Magnesiumkonzentration in der Sprossspitze. Dies wäre ein Hinweis auf aktive Verteilungsprozesse von Magnesium hin zur Sprossspitze.

Die Interpretation der Daten weist auf einen wasserflussunabhängigen, kontrollierten und regulierten Transport von Magnesium im Xylem hin. Eine laterale Entladung und Relokation über das Phloem ist weder nachweisbar noch zeigt sie signifikanten Einfluss auf den passiven Ferntransport. Eine aktive Umverteilung Richtung Sprossspitze erscheint tendenziell gegeben.

4.6. Calcium-Transport

Eine Änderung des Wasserflusses bewirkt eine in der Größenordnung vergleichbare Konzentrationsänderung an Calcium im Xylemsaft. Calciumfluss in den Spross und in die Blätter wird demnach ebenfalls unabhängig vom Wassertransport geregelt. Eine Abhängigkeit der Aufnahme an Calcium der Wurzel vom Transpirationsfluss kann nicht beobachtet werden. Dies würde wiederum für eine kontrollierte Passage der Rhizoendodermis sprechen. Zwar deckt sich dies mit dem schnellen apoplastischen Durchqueren des Cortex entsprechend Versuchen mit stabilen Isotopen (Kuhn 2000). Es stellt sich jedoch spätestens an der Endodermis die Frage nach einem symplastischen Calciumtransport bei Aufrechterhalten der für die Signaltransduktion benötigten niedrigen Konzentrationen im Cytoplasma. Zumal bei Versuchen mit einer der Wurzel angebotenen Calcium-Barium-Strontium-Mischung das gefundene Mischungsverhältnis im Spross unverändert ist obwohl bei einer symplastischen stattfinden sollte (White 2001).

Stammperfusionsexperimente zeigten einen signifikanten lateralen Austransport bei geringerer Konzentration der bei niedrigem Wasserfluss erhöht war. Sie zeigten ebenfalls einen tendenziellen lateralen Austransport von Calcium bei Konzentrationserhöhung und niedrigem Wasserfluss, und einen tendenziellen lateralen Eintransport von Calcium bei Konzentrationserhöhung und hohem Wasserfluss. Möglich ist hierbei auch ein Ionenaustausch mit der umgebenden Zellwandmatrix, welche für zweiwertige Kationen vielfältige Bindungsstellen besitzt. Dass ein Ionenaustausch bei ungesättigten wie bei gesättigten Bindungsstellen stattfindet, wird bei Perfusionsversuchen mit stabilen Isotopen sichtbar (Gilmer 1999). Im Phloem konnte Calcium nachgewiesen werden (Peuke 2001). Die Untersuchung von Konzentrationsgradienten an Pappel zeigt keinen signifikanten Gradienten.

Die Ergebnisse zeigen, dass Calcium unabhängig vom Wasserfluss kontrolliert transportiert wird. Die Funktion möglicher Regulationsstellen (z.B. Rhizoendodermis) ist bislang nicht abschließend geklärt. Laterale Entladung und Relokation über das Phloem sind nachweisbar und zeigen tendenziellen Einfluss auf den passiven Ferntransport wobei eine aktive Umverteilung Richtung Sprossspitze jedoch nicht festgestellt werden konnte.

4.7. Transpiration und Nährstofftransport

Die Transportprozesse von Nährstoffen sind, wie zu erwarten war, ionenspezifisch. Zu einem unabhängig vom Wasserfluss geregelten Ferntransport wurde je nach Nährstoff aktive Beund Entladung des Xylem entlang der Transportstrecke festgestellt. Die Umgebung der Transportstrecke, die Zellwände der Xylemgefäße und der angrenzenden Xylemparenchymzellen besitzt insbesondere für zweiwertige Kationen viele potentielle Bindungsstellen. Diese könnten vergleichbar mit Austauschersäulen in der Chromatographie Kationen binden und wieder freisetzen. Sind diese Bindungsstellen jedoch gesättigt, ist keine Auswirkung auf den Nettofluss zu erwarten. Die Austauschkapazität wurde bei der Perfusion mit stabilen Isotopen sichtbar (Herdel 2001).

4.7.1. Das Xylem - ein homogenes System?

Einzelne Nährstoff-Konzentrationen in Pappel zeigen einen Basis - Spitze - Gradienten. Die Konzentrationen an Calcium, Magnesium und Ammonium sind im Sink-Blatt signifikant erhöht. Ist dies mit einem offenen Röhrensystem vereinbar?

Bereits in der Einleitung wurde dargestellt, dass gerade in die source-Blätter Ionen importiert werden, welche wegen des geringen Biomassezuwachses entweder im Blatt akkumulieren oder wieder exportiert werden müssen. Da eine Akkumulation nicht festgestellt wurde (Walter 1997) ist ein zumindest in diesen Fällen ein Export anzunehmen, der den über dem Bedarf liegenden Eintransport kompensiert. Dies kann nur über das Phloem stattfinden. Werden die Nährstoffe über die Petiole in den Spross rücktransportiert, können diese über das Phloem in die Wurzel oder den Spross oder nach erneuter Umladung in Xylembahnen, die weiter nach oben führen, wieder in den Spross transportiert werden.

Das Xylem ist aber kein einfaches Röhrensystem. So sind die unterschiedlichen "Transportröhren" von ganz unterschiedlichem Durchmesser. Die Durchflussgeschwindigkeit nimmt bei verringertem Durchmesser ab und dies nach dem Hagen-Poiseuille-Gesetz mit der 4. Potenz. Großlumige Gefäße eignen sich deshalb zur schnellen Durchleitung von Wasser auf größere Entfernungen. Engere Gefäße mit im Vergleich des Volumen/Oberflächen-Verhältnisses erhöhter Oberfläche und verringerter Flussgeschwindigkeit aufgrund erhöhten Strömungswiderstandes erleichtern den lateralen Austausch an Ionen und anderen Substanzen.

Auch die Wandstruktur des Xylems ist bezüglich des lateralen Transports von Bedeutung: Entgegen der modellhaften Annahme eines Überganges zwischen flüssiger Phase und porösem Bereich sind die Gefäßwände der Tracheen zudem durch Einlagerungen von Lignin in Form von Spiralen oder wie in diesem Fall von Netzen verstärkt. Die Innenseite der Xylemwände ist zudem hydrophob mit Lipiden ausgekleidet (Schneider 2003).

Welchen Einfluss diese Inhomogenität auf eine eventuelle laminare Grenzschicht hat, den Strömungswiderstand beeinflusst oder den lateralen Austausch mit den umgebenden Xylemparenchymzellen begünstigt oder behindert ist nicht bekannt.

Des Weiteren beeinflussen Verbindungsstellen einzelner Tracheen als "bottle-neck" die Strömung. Auch ein möglicher Einfluss der Kaliumkonzentration auf die Leitfähigkeit der Xylemgefäße, insbesondere der Leitfähigkeit ihrer Übergänge durch "pit membranes" ist noch nicht abschließend geklärt (De Boer 2003). Führt eine Verdünnung des Xylemsaftes zur Quellung der "pit membranes" und damit zur Verringerung des Xylemsaftflusses?



Abbildung 4-1 Polystyrol-Abgüsse von Xylemgefäßen von Ricinus. Erhebungen im Styrol stellen entsprechend Vertiefungen im Xylem dar. Sichtbar wird die verstärkende Netzstruktur an der Gefäßwand.



Abbildung 4-2 Polystyrol-Abgüsse von Xylemgefäßen von Ricinus. Erhebungen im Styrol stellen entsprechend Vertiefungen im Xylem dar. Tracheenübergänge und Netzstruktur werden sichtbar.

4.7.2. Lateraler Transport, Gewebe- und Zellwandkapazitäten

Perfusionsexperimente dienen der Untersuchung von Interaktionen und Abhängigkeiten zwischen lateralem und longitudinalem Ionentransport. Der Untersuchung an *Ricinus communis L.* sind bisher Hypokotyl, Nodien, Internodien und Petiolen zugänglich - mithin der Sprossbereich ohne Blätter. Austauschprozesse im gesamten Wurzelbereich, in den Blattadern und spreiten werden mit derartigen Perfusionsexperimenten nicht erfasst.

Besitzt der Sprossbereich neben der mechanischen Stabilisierung und der physiologischen Verbindung von Wurzeln und Blättern weitere Funktionen? Unbestritten ist die Notwendigkeit der Nährstoffversorgung des umliegenden Gewebes. Weitere Funktionen sind allerdings nach den hier gefundenen Ergebnissen vorher zu sagen:

- Pufferung möglicher Konzentrationsschwankungen innerhalb der Xylemgefäße.



Diskutiert wird eine Pufferung von mehrwertigen Kationen in der Zellwandmatrix der Xylemgefäße. Deren Bindung an den Carboxyl-Gruppen der sekundären Zellwand wäre bei gesättigter wie bei ungesättigter Kapazität variabel. Die Kapazität zur Pufferung könnte abhängig sein von der Protonenkonzentration in der Umgebung. Entsprechend dem SID-Konzept (strong ion difference, Gerendás 1999) führt ein Kaliumaustransport aus dem Xylem zu einem Anstieg der Protonen-Konzentration. Eine solche Erhöhung der Protonenkonzentration könnte eine erhöhte Protonierung der anionischen Bindungsstellen, der Carboxyl-Gruppen der Zellwandmatrix und damit eine Verringerung der Kationenbindungskapazität bewirken oder muss durch einen Eintransport von Gegenionen ins Xylem ausgeglichen werden.

Bei ungesättigter Kapazität wäre der Bindungseffekt abhängig vom Anteil freier Kationen. Wären die mehrwertigen Kationen durch organische Säuren, Aminosäuren oder Peptiden im Xylemsaft komplexiert, würde deren Bindungsmöglichkeit an die Zellwandmatrix herabgesetzt.

Komplexierte Kationen stehen für den Ladungsausgleich mit transportierten Anionen nicht zur Verfügung. Aussagen wie "Kationen- und Anionentransport sind immer miteinander gekoppelt" (Sattelmacher 2001) benötigen jedoch eine ionenspezifische Differenzierung. So erscheint der Ladungsausgleich über Kaliumimport und -export bei den gegebenen, im Vergleich zu mehrwertigen Kationen bis zu 10-fach höheren Konzentrationen effektiver und ausreichend gegenüber den Ladungsänderungen aufgrund von Komplexierung eben dieser mehrwertigen Kationen. Eine solche Pufferung setzt den Zugang der Kationen an die Carboxyl-Gruppen der Zellwände voraus. Untersuchungen über die Lignifizierung der Gefäßinnenwände widersprechen diesem Ansatz, beschreiben sie doch die Gefäßinnenwände als relativ impermeabel (DeBoer 2003)

- Be- und Entladung der Xylemgefäße von und in Xylemparenchymzellen über Ionenkanäle.



Die Offenwahrscheinlichkeit und damit der Ionenstrom durch Kanäle kann potentialabhängig sein. Der auswärts gerichtete Kalium-Kanal KORC z.B. öffnet bei depolarisierender Membran. Der Ionenfluss ist dabei zusätzlich abhängig vom Konzentrationsunterschied zwischen Zelle und apoplastischem Raum. In der Regel besitzt die Plasmalemma-Membran zwischen Xylemparenchymzellen und dem über Hoftüpfeln verbundenen Xylemgefäß-Volumen ein Membranpotential um -100 mV. Dies gilt so weit für Einzelzell-Betrachtungen. Im Zellverbund der Xylemparenchymzellen kann angenommen werden, dass die symplastische Leitfähigkeit über Plasmodesmata von Zelle zu Zelle um Größenordnungen niedriger ist als die apoplastische Leitfähigkeit über das angrenzende Xylemgefäß (Lühring pers. Mitteilung). Wenn es also zu einer Ladungsverschiebung über die Zellmembran hinweg kommt, so kann die Ladungsänderung auf der apoplastischen Seite über das Xylem schneller abgeleitet werden als auf der symplastischen Seite über Plasmodesmata. Darauf folgt, dass die eigentliche Potentialänderung im Symplasten stattfindet, während das apoplastische Potential relativ stabiler bleibt. Potentialänderungen an Einzelzellen haben demnach nur einen kleinen Einfluss auf das Xylempotential.

Gilt dies auch umgekehrt? Hat eine translokale Potentialänderung im Xylem simultane Auswirkungen auf viele angrenzende Xylemparenchymzellen? Wäre eine Änderung des elektrischen Potentials des Xylem, z.B. durch Ladungsverschiebungen, insbesondere an Kalium, möglich? Einerseits bedingen schon kleinste Abweichungen von der Elektroneutralität im Apoplasten Änderungen des Membranpotentials angrenzender Zellen, andererseits können Ladungsveränderungen über Carbonat- und Phosphat-Puffer ausgeglichen werden (Gerendás 1999).

- Relokation von Ionen über Zellschichten in andere Xylemgefäße



Bei *Ricinus communis* L. kann eine frühzeitige Separierung der Xylemgefäße , welche in unterschiedliche Petiolen einmünden, beobachtet werden. Über eine Länge von mehreren Internodien verlaufen Xylembündel parallel, welche in eine Petiole einbiegen oder das Nodium axial durchqueren. Ist ein Transport von Bündel zu Bündel möglich? An *Lycopersicon esculentum* L. konnte festgestellt werden, dass bei heterogener Wasserversorgung durch entsprechend unterschiedliche Ionenkonzentrationen ein Wasserfluss zwischen zwei Xylemgefäße induziert wurde (Zwieniecki 2003). Dis ist ein passiver Fluss. Sind hei homogener Wasserversorgung Transportgeschwindigkeit und Konzentration in benachbarten Bündeln vergleichbar oder differieren diese je nach Ziel? Gibt es sogar einen Antrieb für einen aktiven lateralen Transport von Ionen?

c. Relokation von Ionen in das Phloem



Gerade für Kalium gilt eine direkte Xylem-Phloem-Relokation als wahrscheinlich. Im offen kollateralen Leitbündelsystem wäre dazu eine Passage des Kambium erforderlich.



Abbildung 4-3 Im internodialen Bereich trennt im offen kollateralen Leitbündel das meristematische Kambium die Xylem- und Phloemgefäße.



Abbildung 4-4 In der Ringstruktur im nodialen Bereich kann im Bereich des Petiolenansatzes (links) eine Neuorganisation der Leitbündelstruktur beobachtet werden. In diesem Bereich können Übergangszonen realisiert sein.

Zur Klärung der Frage, ob Ionen in größeren Mengen das Kambium passieren oder spezialisierte Austauschbereiche notwendig sind, in denen sich Gefäßstrukturen auflösen und möglicherweise Übergangszonen von Xylem- zu Xylemgefäßen oder zu Phloemgefäßen ausgebildet sind, müssten weiterführende Studien auf Gewebeebene betrieben werden.

4.7.3. Einfluss der Transpiration auf den Nährstofftransport - eine einfache Frage?

Der Nährstofftransport ist überwiegend über den Massenfluss kontrolliert und reguliert. Aber werden Nährstoffe in genau der benötigten Menge an den Ort des Bedarfs geliefert, verbleiben Überschüsse im Kreislauf der Xylem-Phloem-Relokation oder werden diese akkumuliert? Transpirationsänderungen an intakten Pflanzen zeigen zwar ausgeprägte Veränderungen der Konzentrationen im Xylem an Petiolen aber bis jetzt keine signifikante Konzentrationsänderung an Blattadern. Werden in den Blattadern bereits Nährstoffe umgelagert? Transpiration nimmt mit der Blattfläche zu, ist also bei entwickelten Blättern mit nur noch geringen Zuwachsraten hoch. Der Nährstoffbedarf jedoch ist bei jungen, stark expandierenden Blättern maximal. Aktive Nährstoffumlagerung von Xylem zu Xylem und Xylem zu Phloem und Pufferung im Ferntransportbereich scheinen geeignet, unterschiedliche Nährstoffanforderungen wie auch mittelfristige Schwankungen zu glätten.

5. Zusammenfassung

Die Abhängigkeit des Nährstofftransports vom Wassertransport auf dem Weg durch das gleiche Transportsystem war die zentrale Frage dieser Arbeit. Um die Untersuchung dieser zentralen Fragestellung der Pflanzenernährung an intakten Pflanzen zu ermöglichen, wurde die Wurzeldruckkammern nach Passioura in wesentlichen Punkten fortentwickelt. Insbesondere wurde die Druckregelung deutlich flexibler gestaltet, auf ein Software-basiertes System umgestellt und die Hardware-Komponenten soweit als möglich minimiert. Zudem sollten Teilkomponenten des Transportsystems für Nährstoffe (Wurzelaufnahme, lateraler Transport auf der Transportstrecke) auf ihre Abhängigkeit vom Wasserfluss untersucht werden.

Gemeinsam ist den untersuchten Nährstoffen Nitrat, Phosphat, Sulfat, Kalium, Calcium und Magnesium, dass der Massenfluss im Xylem aber auch die Aufnahme über die Wurzel stark reguliert ist und somit Änderungen des Transpirationsflusses ausgeglichen werden. Je nach Menge, chemischer Eigenschaft und physiologischer Funktion konnte der Massenfluss in Xylemstrom modifiziert werden. Während die Anionen-Massenflüsse dem Bedarf im Spross und dem Spross-Wurzel-Signaling entsprechend reguliert sind, wurden Hinwiese darauf gefunden, dass der Kalium-Massenfluss durch seine starke Xylem-Phloem-Relokation und seine Funktion als Ladungsausgleich variiert. Ursachen für Variationen im Massenfluss von Magnesium und Calcium wurden diskutiert.

Der Nährstofftransport im Xylem wird nach diesen Ergebnissen in intakten Pflanzen ionenspezifisch reguliert. Zudem war ein Kontrolle über die Aufnahme bei allen Nährstoffen zu beobachten.

Diese Arbeit fokussiert auf den Einfluss kurzfristige Änderungen der Transpirationsraten im Stundenbereich. Mit dem entwickelten Instrumentarium können zukünftig auch Prozesse untersucht werden, die mit diurnaler Rhythmik die Massenflüsse beeinflussen könnten. Der nun vorhandene experimentelle Aufbau ermöglicht Untersuchungen des Nährstofftransports und seiner Abhängigkeit von internen Wasserflüssen unter kombiniert variierenden Transpirations- und Photosynthesebedingungen.

6. Literaturverzeichnis

Baker D.A. (1969) Water and solute transport by exuding root systems of *Ricinus communis*. Journal of Experimental Botany **20**, 485 - 495.

Baker J.M., Van Bavel C.H.M. (1987) Measurement of mass flow of water in stems of herbaceous plants. Plant Cell and Environment **10**, 777 - 782.

Bowling D.J.F. (1965) The relationship between transportation and potassium uptake in *Ricinus communis*. Journal of Experimental Botany **16**, 732-741.

Daram P. (1998) Functional analysis and cell-specific expression of a phosphate transporter from tomato. Planta (Berlin) **206**, 225 - 233.

DeBoer A.H. (1999) Potassium transport into the root xylem, Plant Biology 1, 36 - 45.

DeBoer A.H. (2003) Logistics of water and salt transport through the plant: structure and function of the xylem, Plant Cell and Environment **26**, 87 - 101.

Delhaize E. Randall P.J. (1995) Characterization of a phosphate-accumulator mutant of *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiology **107**, 207 - 213.

Delhon P. (1996) Diurnal regulation of nitrate uptake in soybean plants, Journal of Experimental Botany **47**, 885-892.

Enns L.C., McCully M.E., Canny M.J. (1998) Solute concentrations in xylem sap along vessels of maize primary roots at high root pressure. Journal of Experimental Botany **49**, 1539 -1544.

Gerendás J. (1999) Physicochemical aspects of ion relations and pH regulation in plants - a quantitative approach. Journal of Experimental Botany **50**, 1101 - 1114.

Herdel K. (2001a) Axial and lateral transport of calcium, magnesium and potassium in *Ricinus communis*, Progress in Plant Nutrition, XIV International plant nutrition colloquium, Kluver academic publishers.

Herdel K. (2001b) Dynamics of concentrations and nutrient fluxes in the xylem of *Ricinus communis* - diurnal course, impact of nutrient availability and nutrient uptake, Plant, Cell and Environment **24**, 41 - 52.

Hueve K. (2002) Water transport in impaired leaf vein systems, Plant Biology 4, 603 - 611.

Jeschke W.D. (1984) Effects of transpiration on potassium and sodium fluxes in root cells and the regulation of ion distribution between roots and shoots of barley plants, Journal of Plant Physiology **117**, 267 - 285.

Kuhn A. (2000) The kinetics of calcium and magnesium entry into mycorrhizal spruce root, Planta **210**, 488 - 496.

Liu C. (1998) Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissues by phosphorus. Plant Physiology **116**, 91 - 99.

Lösch R. (2001) Wasserhaushalt der Pflanzen, Quelle und Meyer, ISBN 3-8252-8141-8.

Mohr H., Schopfer P. (1999) Pflanzenphysiologie, Springer Verlag Heidelberg, ISBN 3-540-64231-5.

Muller B. (1995) Nitrate fluxes in soybean seedling roots and their responses to amino acids: an approach using ¹⁵N, Plant Cell and Environment **18**, 1267 - 1279.

Niklas K.L. (1992) Plant Biomechanics: an engineering approach to plant form and function; The University of Chicago Press; ISBN: 0-226-58641-6.

Nobel P.S. (1999) Physicochemical and environmental plant physiology, 2nd Ed. Academic Press, San Diego.

Peuke A.D. (2001) Simultaneous measurement of water flow velocity and solute transport in xylem and phloem of adult plants of *Ricinus communis* over a daily time course by nmr spectrometry, Plant Cell and Environment **24**, 491 - 503.

Pitman M.G. (1988) Whole plants, in: Baker D.A. and Hall J.L. (eds) Solute transport in plant cells and tissues, Longman Scientific & Technical, New York, 346 - 391.

Rennenberg H. (1995) Sulfur nutrition of trees: a comparison of spruce and beech, Journal of plant nutrition and soil science **158**, 513 - 517.

Roberts S., Tester M. (1997) Permeation of Ca^{2+} and monovalent cations through an outward rectifying channel in maize root stelar cells, Journal of Experimental Botany **48**, 839 - 846.

Roberts S., Snowman B. (2000) The effects of ABA on channel-mediated K⁺ transport across higher plant roots, Journal of Experimental Botany **51**, 1585 - 1594.

Roggatz U. (1999) Einfluß der externen Stickstoffverfügbarkeit auf das Wachstum von *Ricinus communis* L. Dissertation Uni Heidelberg.

Sakuratani T. (1981) A heat balance method for measuring water flux in the stem of intact plants. J. Agric. Met. (Japan) **37**, 9-17.

Sattelmacher B. (2001) The apoplast and its significance for plant mineral nutrition. New Phytologist **149**, 167 - 192.

Schneider H., Zimmermann U. (2003) The impact of lipid distribution, composition and mobility on xylem water refilling of the resurrection plant *Myrothamnus flabellifolia*. New Phytologist. **159** (2), 487-505.

Schurr U. (1999) Dynamics of Nutrient Transport from the Root to the Shoot, Progress in Botany **60**, 234 - 253

Schurr U., Walter A. (2000) Leaf development in *Ricinus communis* during drought stress: dynamics of growth processes, of cellular structure and of sink-source transition, Journal of Experimental Botany **51**, 1515 - 1529.

Scott F.M., (1949) Plasmodesmata in xylem vessels, Botanical Gazette, March 1949, 492 - 495.

Scott F.M., (1965) The Anatomy of plant roots. In "Ecology of Soil-borne Pathogens" pp. 145-153 (K.F. Baker and W.C.Snyder, eds). University of California Press, Berkeley.

Shaul O. (2002) Magnesium transport and function in plants: the tip of the iceberg, BioMetals **15**, 309 - 323.

Tanner W. (2001) Transpiration, a prerequisite for long-distance transport of minerals in plants? PNAS 98, 16, 9443 - 9447.

Tester M., Leigh R.A. (2001) Partitioning of nutrient transport processes in roots, Journal of Experimental Botany **52**, 445 - 457.

Walter A. (1997) Quantitative Analyse des Wachstums von *Nicotiana Tabac*um unter besonderer Berücksichtigung des sink-source-Verhältnisses, Diplomarbeit Uni Heidelberg.

Wegner L.H., DeBoer A.H. (1997) Properties of two outward rectifying channels in root xylem parenchyma cells suggest a role in K^+ Homeostasis and long distance signalling, Plant Physiology **115**, 1707 - 1719.

White P. (2001) The pathways of calcium movement to the xylem, Journal of Experimental Botany **52**, 891 - 899.

Zwieniecki M. (2003) Ionic control of the lateral exchange of water between vascular bundles in tomato, Journal of Experimental Botany **54**, 1399 - 1405.

7. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2-1 Ricinus communis L. Var. Carmencita, Sprossbereich mit paarigen Kotyledonen, paarigen
Primärblättern und zwei einzeln stehenden Folgeblättern
Abbildung 2-2 Populus tremula x Populus alba, in aeroponischer Anzucht, in Spraydruckkammer, Probennahme
Abbildung 2-3 Funktionsschema der Druckregelung: Messwerte werden über Sensoren erfasst, digitalisiert und
an die Regelungssoftware übermittelt. Steuerbefehle werden von der Regelungssoftware empfangen und
die Druckapplikation über die Ventilsteuerung durchgeführt
Abbildung 2-4 Frontpanel von max132vi.vi. Ein virtuelles Instrument (vi) in LabView besteht neben dem
grafischen Quellcode aus einem Frontpanel mit Bedienelementen
Abbildung 2-5 Die Bedien- und Anzeigeelemente können sich zwischen dem Frontpaneel (zur direkten
Anwendung) und der grafischen Subroutine (zur Einbindung in höhere Programmhierarchien) unterscheiden
Abbildung 2-6 Frontpaneel mit Sollwert-Eingabe und Datenanzeige
Abbildung 2-7 Schematische Zeichnung der Spraydruckkammer nach K. Herdel
Abbildung 2-8 Schematischer Aufbau des Flow2
Abbildung 2-9 Sprossküvette mit Einschubfläche für Druckkammer
Abbildung 2-10 Experimenteller Aufbau zur Untersuchung von Nährstoffflüssen in Abhängigkeit von der
Transpiration. Ricinus communis L. mit Sprossbereich in Küvette und Wurzelbereich in
Spraydruckkammer
Abbildung 2-11 Gravimetrische Wasserverbrauchsmessung an Ricinus communis L
Abbildung 2-12 Perfusions-Aufbau
Abbildung -2-13 Xylemsaftprobennahme an Blatt 1, 9, 13, 17 und 23(Sprossspitze)
Abbildung -2-14 Xylemflussraten wurden mittels Heat-balance-Methode (Flow2) an der Sprossbasis und in der
Sprossmitte zwischen Blatt 9 und 10 gemessen
Abbildung 2-15 Aufbau und Anordnung des Messverstärkers an der Halterung der ionenselektiven Elektroden 2-
38
Abbildung 2-16 Nitratelektrodenpotentiale und deren Flussabhängigkeit. Die Elektrodenpotentiale waren bis zu
einer Flussgeschwindigkeit von 200 µl/min in den Elektroden konstant
Abbildung 2-17 Kaliumelektrodenpotentiale und deren Flussabhängigkeit. Die Elektrodenpotentiale waren bis zu
einer Flussgeschwindigkeit von 200 µl/min in den Elektroden konstant
Abbildung 3-1 Messung der Xylemsaftflüsse mit Flow2. Die Erhöhung der VPD (Vapour Pressure Difference)
durch Erhöhung des Wasseraustransports aus der Sprossküvette (60. bis 180. Minute) zeigte signifikante
Änderungen im Xylemsaftfluss
Abbildung 3-2 Kalibrierung der Flow2-Messung durch den berechneten Spülfluss plus Probenfluss. Darstellung
der Abhängigkeit von der VPD
Abbildung 3-3 Kalium- und Nitratkonzentrationen sowie Flüsse bei der Xylemsaftprobennahme a - d.
Kurzfristige Schwankungen in den Probenahmeflüssen zeigten keinen Einfluss auf die
Xylemsaftkonzentration

Abbildung 3-4 Abhängigkeit von Konzentration und Elektrodenpotential. Eine Konzentrationsveränderung um den Faktor 10 führte zu einer Potentialänderung von ca. 58 mV (entsprechend der Elektrodensteilheit).3-47
 Abbildung 3-5 Eine Potentialverschiebung führte zu einer entsprechenden relativen Konzentrationsänderung in

- Abbildung 3-7 Eine Erhöhung des VPD (blauer Pfeil) und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylemsaftflusses bedingt eine Potentialänderung um 20 mV und entsprechend eine Konzentrationsverdünnung bei Nitrat um 55 %. Bei Kalium ist keine Potentialänderung zu erkennen. . 3-48

Abbildung 3-17 Absolutwerte der Magnesiummessung mit Ionenchromatografie. Eine 2-stündige Erhöhung des
VPD von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn und eine damit einhergehende Erhöhung des
Xylemsaftflusses bedingte eine Konzentrationsverdünnung bei Magnesium
Abbildung 3-18 Jede Absolutmessung wurde auf ihren Maximalwert normiert. Die normierten Einzelmessungen
wurden gemittelt (n=5) und die Standardabweichung bestimmt. Eine 2-stündige Erhöhung des VPD von
1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylemsaftflusses
bedingte eine signifikante mittlere Konzentrationsverdünnung bei Magnesium um ca. 28 %
Abbildung 3-19 Absolutwerte der Calciummessung mit Ionenchromatografie. Eine 2-stündige Erhöhung des
VPD von 1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn und eine damit einhergehende Erhöhung des
Xylemsaftflusses bedingte eine Konzentrationsverdünnung bei Calcium
Abbildung 3-20 Jede Absolutmessung wurde auf ihren Maximalwert normiert. Die normierten Einzelmessungen
wurden gemittelt (n=5) und die Standardabweichung bestimmt. Eine 2-stündige Erhöhung des VPD von
1:00 bis 3:00 Stunden nach Versuchsbeginn und eine damit einhergehende Erhöhung des Xylemsaftflusses
bedingte eine signifikante mittlere Konzentrationsverdünnung bei Calcium um ca. 30 % 3-55
Abbildung 3-21 Es wurde nach Änderung der VPD (blauer Pfeil) und des Xylemsaftflusses keine signifikanten
gegensinnigen Potentialänderungen und damit keine signifikanten Verdünnungs- oder
Aufkonzentrierungseffekte festgestellt 3-57
Abbildung 3.22 Wasserflüsse bei unterschiedlichen VPDs Eine VPD von ca. 2200 Pa bewirkte eine
Abbituting 5-22 wasserhusse bei untersemedielich virbs. Eine virb von ca. 2200 ra bewirkte eine blattflächensnezifische Wasseraufnehmerete von 10.6 ± 1.2 ul/h*om ² (n=6). Eine VPD von ca. 200 Pa
bautilationspezification wasserautilation was a second was seco
bewirkte eine blatthächenspezitische wasserauthännerate von $0,0 \pm 1,1$ µl/n·cm ² (n–6). Die Wasserauthachenspezitische von significant unterschiedlich
wasserannanneraren waren signinkani innerscheonich
Albeildung 2.22 Des Disgramm -sist die Änderung der ehselten Messe en Nitzet in der 0.75 mM Nährläume
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung.
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-59
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-59 Abbildung 3-24 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 7,5 mM Nährlösung.
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-59 Abbildung 3-24 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-59
 Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. Abbildung 3-24 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. Abbildung 3-24 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. Abbildung 3-25 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Phosphat in der 0,75 mM
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.
 Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. Abbildung 3-24 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. Abbildung 3-25 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Phosphat in der 0,75 mM Nährlösung. Abbildung 3-25 Das Diagramm zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. Abbildung 3-26 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Phosphat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-60 Abbildung 3-26 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Phosphat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. Abbildung 3-24 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. Abbildung 3-24 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. Abbildung 3-25 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Phosphat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. Abbildung 3-26 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Phosphat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung der absoluten Masse an Phosphat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung der absoluten Masse an Phosphat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-59 Abbildung 3-24 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-59 Abbildung 3-24 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-59 Abbildung 3-25 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Phosphat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-60 Abbildung 3-26 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Phosphat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-60 Abbildung 3-27 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Sulfat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-60 Abbildung 3-28 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Sulfat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Ä
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.
Abbildung 3-23 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-59 Abbildung 3-24 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Nitrat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-59 Abbildung 3-25 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Phosphat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-60 Abbildung 3-26 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Phosphat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung der absoluten Masse an Phosphat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung der absoluten Masse an Phosphat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-60 Abbildung 3-27 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Sulfat in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-61 Abbildung 3-28 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Sulfat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-61 Abbildung 3-28 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Sulfat in der 7,5 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-61 Abbildung 3-29 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Kalium in der 0,75 mM Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD. 3-61

Abbildung 3-36 Das Diagramm zeigt die Änderung der absoluten Masse an Ammonium in der 7,5 mM
 Nährlösung. Der rote Graph zeigt die Änderung bei hoher VPD, der blaue Graph zeigt die Änderung bei niedriger VPD.
 3-65
 Abbildung 3-37 Stammperfusion mit 1,75 und 18,9 mM Nitrat. Ausgangskonzentrationen bei Perfusions-Flüssen

von 240 und 60 µl/min (n=3).
3-67
Abbildung 3-38 Abbildung wie oben, Zeitachse gespreizt.
3-67
Abbildung 3-39 Stammperfusion mit 0,24 und 2,7 mM Phosphat. Ausgangskonzentrationen bei Perfusions-Flüssen von 240 und 60 µl/min (n=3).
3-68
Abbildung 3-40 Abbildung wie oben, Zeitachse gespreizt.
3-68
Abbildung 3-41 Stammperfusion mit 0,13 und 1,60 mM Sulfat. Ausgangskonzentrationen bei Perfusions-Flüssen von 240 und 60 µl/min (n=3).

 Abbildung 3-42 Abbildung wie oben, Zeitachse gespreizt.
 3-69

 Abbildung 3-43 Stammperfusion mit 1,15 und 12,66 mM Kalium. Ausgangskonzentrationen bei Perfusions-Flüssen von 240 und 60 μl/min (n=3).
 3-70

 Abbildung 3-44 Abbildung wie oben, Zeitachse gespreizt.
 3-70

Abbildung 3-45 Stammperfusion mit 0,24 und 1,37 mM Magnesium. Ausgangskonzentrationen bei Perfusions-Flüssen von 240 und 60 μl/min (n=3).
Abbildung 3-46 Abbildung wie oben, Zeitachse gespreizt.
Abbildung 3-47 Stammperfusion mit 0,27 bzw. 0,50 und 1,88 bzw. 1,81 mM Magnesium. Ausgangskonzentrationen bei Perfusions-Flüssen von 240 und 60 μl/min (n=3). Nur bei Calcium war eine Variation der Eingangskonzentration bei verschiedenen Flüssen gegeben.

Abbildung 3-49 Nitrat-, Phosphat-, Sulfat-, Kalium-, Magnesium- und Calcium-Konzentrationen entlang der
Sprossachse von Pappel. Im Untersuchungszeitraum sanken die Konzentrationen aller Ionen an allen
Probennahmestellen
Abbildung 4-1 Polystyrol-Abgüsse von Xylemgefäßen von Ricinus. Erhebungen im Styrol stellen entsprechend
Vertiefungen im Xylem dar. Sichtbar wird die verstärkende Netzstruktur an der Gefäßwand
Abbildung 4-2 Polystyrol-Abgüsse von Xylemgefäßen von Ricinus. Erhebungen im Styrol stellen entsprechend
Vertiefungen im Xylem dar. Tracheenübergänge und Netzstruktur werden sichtbar
Abbildung 4-3 Im internodialen Bereich trennt im offen kollateralen Leitbündel das meristematische Kambium
die Xylem- und Phloemgefäße
Abbildung 4-4 In der Ringstruktur im nodialen Bereich kann im Bereich des Petiolenansatzes (links) eine
Neuorganisation der Leitbündelstruktur beobachtet werden. In diesem Bereich können Übergangszonen
realisiert sein

8. Tabellenverzeichnis

Tabelle 2-1 modifizierte 5mM Ingestad-Nährlösung. Frühere Versuche zeigten eine Kalium-Akkumulation in
Sprühkultur. In der modifizierten Zusammenstellung wurde die Kalium-Konzentration reduziert und zum
Ladungsausgleich durch Ammonium ersetzt
Tabelle 2-2 Durchflussvolumen des Perfusionsaufbaus und die entsprechende zeitliche Verzögerung bei
unterschiedlichen Durchflussgeschwindigkeiten
Tabelle 3-1 Dampfdruckdifferenzen und Wasserflüsse bei offener, geschlossener und gespülter Sprossküvette.
Wasserfluss bei Spülung errechnet aus Wassergehalt und Spülvolumen. Kein Wasserfluss messbar im
geschlossenen System bei konstanter VPD ohne Spülung. Wasserfluss im offenen System errechnet aus
Anfangssteigung der exponentiellen Sättigung bei Küvettenverschluss
Tabelle 3-2 Probennahmestellen für Xylemsaft. Dargestellt wurde die Transpiration entsprechend der
Blattfläche, der Probenfluss nach Anschnitt und der daraus resultierende maximale Fluss am jeweiligen
Probennahmeblatt. Die durch Probennahme induzierte relative Flusserhöhung lag im Bereich von 1,92 bis
2,54
Tabelle 3-3 relativer Konzentrationsunterschied als Quotient von mittleren Konzentrationen von Sprossspitze
und Sprossbasis, [C] _{Blatt 23} / [C] Blatt 9

9. Anhang

9.1. Berechnungskorrelationen

Die Perfusion von Pflanzenabschnitten zeigt Gewebespezifische Widerstände und Potentialdifferenzen. Wie stehen diese zueinander und lassen sie sich berechnen?

	Elektrische Einheiten	versus	Hydraulische Einheiten
Strom	A = C/s = Ladung pro Zeit	\rightarrow	$m^3/s = Volumen pro Zeit$
	Ladungsstrom	\rightarrow	Volumenstrom
Spannung	V = J/C = Arbeit pro Ladung	\rightarrow	$Pa = kg/m s^{2} = Arbeit pro Volumen$
	Ladungsarbeit	\rightarrow	(- J/III - Kg/III /S · · I/III) Volumenarbeit
Widerstand	$R = V/A = J^*s/C^2$	\rightarrow	$? = J_S/m^6$

Zur Perfusion eines 10 cm langen Hypokotylstückes (r = 5mm) mit physiologischem Volumenstrom von $\sim 300 \ \mu l/min = 300 \ mm^3/min = 5 \ mm^3/s = 5 \ \mu l/s$ benötigt man eine Wassersäule von $50 \ cm = 0,05 \ bar = 5000 \ Pa = 5000 \ J/m^3 = 5 \ \mu J/mm^3 = 5 \ \mu J/\mu l$

Der Flusswiderstand beträgt damit

 $5 \mu J/\mu l$ / $5 \mu l/s = 1 \mu J s/\mu l^2 = 1 J s/l^2$

Der spezifische Flusswiderstand (pro cm) beträgt dann 0,1 Js/l²cm

9.2. Wärmeflussberechnung am Flow2

Der Eintrag an Wärmeenergie verteilt sich auf radiale und axiale Wärmeflüsse:

$$\mathbf{P}_{in} = \mathbf{Q}_r + \mathbf{Q}_v + \mathbf{Q}_f \qquad (W) \qquad (1)$$

Der Eintrag an Wärmeenergie ist abhängig von und einstellbar mit der Heizspannung:

$$P_{in} = V^2/R$$
 (W)

Die axialen (vertikalen) Wärmediffusionskomponenten setzen sich zusammen aus:

$\mathbf{Q}_{\mathbf{v}} = \mathbf{Q}_{\mathbf{u}} + \mathbf{Q}_{\mathbf{d}}$	(2)
$Q_u = K_{st} A dTu/dx$	
$Q_d = K_{st} A dT d/dx$	
$K_{st} = W$ ärmeleitfähigkeit Stamm	(W/m * °K)
A = Stammfläche	(m^2)
dTd/dx = Temperaturgradient	(°C/m)
dx = Sensorabstand	(m)
Die radiale Wärmediffusionskompone	nte ist bei Flow = $0 \rightarrow Q_f = 0$ zu bestimmen:

$Q_r = P_{in} - Q_v$	(W)	
$Q_r = K_{sh} * CH$	(W)	(3)
$K_{\rm sh} = (P_{\rm in} - Q_{\rm v})/CH$	(W/mV)	(4)
$K_{sh} =$ Mantel (sheath) Leitfähigkeit	(W/mV)	
CH = Radialsensorenspannung	(mV)	

Der Fluss wird dann bestimmt über:

$\mathbf{F} = (\mathbf{P}_{\rm in} - \mathbf{Q}_{\rm v} - \mathbf{Q}_{\rm r})/\mathbf{C}_{\rm p} * \mathbf{dT}$	(g/s)	(5)
C _p = spez. Wärmekapazität des Wassers	(J/g * °C)	
dT = Temperaturdifferenz	(°C)	
dT = (A-Ha + B-Hb)/2	(°C)	

9.3. Virtuelle Instrumente

9.3.1. Max132s8.vi

Die Basisadresse (BA) z.B. für COM1 am Personal Computer (PC) ist 3F8 hex. Die benötigten Register von COMx sind Offset 3, 4 und 6.

- \rightarrow 3F8 + 3 = 3FB = Leitungs-Steuerregister
- \rightarrow 3F8 + 4 = 3FC = Modem-Steuerregister
- \rightarrow 3F8 + 6 = 3FE = Modem-Statusregister

Register	27	2 ⁶	2 ⁵	2 ⁴	2 ³	2 ²	2 ¹	2 ⁰
BA + 3 Leitungs-Steuerregister	DLAB	BRK	PAR2	PAR1	PAR0	STOP	DAB1	DAB0
BA + 4 Modem-Steuerregister	0	0	0	LOOP	OUT2	OUT1	RTS	DTR
BA + 6 Modem-Statusregister	DCD	RI	DSR	CTS	DDCD	DRI	DDSR	DCTS

BRK	-	Sperre oder Freigabe über Steuerleitung TxD	\rightarrow	CS des Wandlers
RTS	-	Setzen der Datentransferleitung (PC zu Wandler)	\rightarrow	Din des Wandlers
DTR	-	Setzen der Registersteuerleitung	\rightarrow	SCLK des Wandlers
	SCLK	auf $0 \rightarrow$ Verschieben des Bit-Wertes im Ausgangs	s-Regis	ter bit $0 \rightarrow$ bit1 usw.
	SCLK	auf 1 \rightarrow Anlegen des aktuellen Bit des Ausgangs-	Registe	r an Dout
DSR	-	Lesen der Datentransferleitung (Wandler zu PC)	\rightarrow	Dout des Wandlers

Das Leitungssteuerregister wird auf 0 gesetzt und damit die Datenleitung freigegeben.

0 an BA+3 \rightarrow Clear CS | **BRK** = Break wird aufgehoben



In einer 8-fach Schleife werden die einzelnen Bits des Steuerbefehls von bit7 bis bit0 absteigend ausmaskiert und über bit1 des Modem-Steuerregisters die RTS-Leitung mit dem jeweiligen Wert (0 oder 1) gesetzt



In einem weiteren Schritt über bit0 des Modem-Steuerregisters die DTR-Leitung auf 1 gesetzt, damit vom A/D-Wandler ein entsprechender Wert seines Registers auf D-OUT = DSR geschrieben und an COMx gesendet wird.



Das Modem-Statusregister wird gelesen und dessen bit5 ($2^5 = 32$) = DSR ausmaskiert. Sendet der A/D-Wandler über DSR eine 0, so wird eine 0 in das Summations-Array der 8-fach-Schleife geschrieben. Sendet der A/D-Wandler über DSR eine 1, so wird ein Wert entsprechend dem ausgelesenen Bit (bit7 bis bit0) in das Summations-Array der 8-fach-Schleife geschrieben.



Zum Schleifenabschluss wird die DTR-Leitung wieder auf 0 und der A/D-Wandler wieder in den Empfangsmodus gesetzt. Dies geschieht insgesamt 8 mal so dass in einem Zyklus ein komplettes Steuerbyte vom PC an den Wandler und ein Datenbyte vom Wandler an den PC übertragen werden.


Eine 40 (40 hexadezimal = 64 dezimal = 2^6 = 01000000) an das Leitungs-Steuerregister (BA + 3) setzt den Break (**BRK** = CS) wieder auf 1 und sperrt die serielle Datenleitung.



Eine 0 an das Modem-Steuerregister (BA + 4) setzt RTS und DTR auf 0.



Die Werte der einzelnen übertragenen Bits des Wandlers aus dem Schleifenarray werden summiert und als Byte im binären, dezimalen und hexadezimalen Code ausgegeben. Je ein Byte wurde vom PC zum Wandler und vom Wandler zum PC übertragen und die Routine ist abgeschlossen. Da diese Kernroutine den direkten Zugriff auf die Register der seriellen Schnittstelle des PCs bedingt, ist eine Portierung von Win98 auf Win2000 (NT5) oder WinXP bisher nicht möglich.

Mit der Funktion shift8 kann mit dem A/D-Wandler kommuniziert werden. Zur Ansteuerung und zum Datenversand stehen seitens des Wandlers 5 Register zur Verfügung: Zwei Register, in welche Befehle geschrieben werden \rightarrow die Command Input Register Drei Register, welche ausgelesen werden \rightarrow die Output und Output Status Register

Bit	7	6	5	4	3	2	1	0	
Value	128	64	32	16	8	4	2	1	
									Command
1	Start	50 Hz	Sleep	Read Zero	Don't care	RS0	RS1	0	Input
									Register 0
0	FOC	60 Hz	Awake	Read Vin	Don't care	RS0	RS1	0	
· ·	200		/		201110010			Ū	
									Command
	Set P3	Set P2	Set P1	Set P0	Don't care	Don't care	Don't care	1	Input
									Register 1
									Output
	B10	R9	B8	B7	B6	B5	R4	B3	Register 0
	510	50	50	51	50	50	DT	50	RS1 = 0
									RS0 = 0
									Output
	B18	B17	B16	B15	B14	B13	B12	B11	Register 1
	DIO	DIT	DIO	DIS	114	DIG	012	DII	RS1 = 0
									RS0 = 1
									Output
			Integrating						Status
1	Collision	EOC	Innut	Sleep	- Polarity	B2	B1	B0	Register
			mput						RS1 = 1
									RS0 = 0
0	No Collisi-	Converting	Not In-	Awake	+ Polarity	B2	B1	BO	
U	on	Converting	tegrating	Aware	· i olanty	02	יט	DU	

Das Command Input Register 0 definiert sich über die 0 an bit0. bit1 bis bit7 sind je nach Anforderung mit 0 oder 1 zu setzen.

Beispiel: Der Befehlsbyte mit dem Wert 194 wird gesendet. Der Dezimalwert 194 entspricht dem Binärwert 11000010 (bit7 - bit0).

bit0 = 0	\rightarrow	Der Befehl geht an das Command Input Register 0
bit1 = 1	\rightarrow	RS1 = 1
bit2 = 0	\rightarrow	RS0 = 0, mit $RS1 = 1$ wird das Output Status Register an den Ausgang gelegt
bit $3 = 0$	\rightarrow	Don't care
bit $4 = 0$	\rightarrow	Read Vin - die Spannung am Wandlereingang wird gemessen
bit $5 = 0$	\rightarrow	Awake - der Wandler befindet sich im Aktivmodus (Sleep = Stromsparmodus)
bit6 = 1	\rightarrow	50 Hz - Konversion bei 50 Hz Netzfrequenz, Modus minimiert Störeinflüsse
bit7 = 1	\rightarrow	Start - startet eine Konversion

Das Command Input Register 1 definiert sich über die 1 an bit0 und erlaubt die Programmierung der digitalen Ausgänge P0 bis P4.

Das Output Register 0 enthält bit3 - bit10 des Messwertes

Das Output Register 1 enthält bit11 - bit18 des Messwertes

Das Output Status Register enthält bit0 - bit2 des Messwertes sowie das Vorzeichen und weitere Statusinformationen

Wird ein Output Register gewählt, wird dieses an das Ausgangs-Schieberegister angelegt.

Die verwendeten Befehle sind:

210 - Start, 50 Hz	, Awake, Rea	ad Zero, (Output St	atus Regi	ister				
80 - EOC, 50 Hz	, Awake, Rea	ad Zero, (Output R	egister 0					
84 - EOC, 50 Hz	, Awake, Rea	ad Zero, (Output R	egister 1		für eir	ne Nullpunk	ct-Messung	
194 - Start, 50 Hz	94 - Start, 50 Hz, Awake, Read Vin, Output Status Register								
64 - EOC, 50 Hz	, Awake, Rea	ad Vin, O	utput Re	gister 0					
68 - EOC, 50 Hz	, Awake, Rea	ad Vin, O	utput Reg	gister 1		für eir	ne Spannui	ngsmessung	
Ventilansteuerung	j: 17	1 49	-2- 81	12- 113	3 145	1-3 177	-23 209	123 241	
Kanalansteuerung	g: ch1 1	ch2 33	ch3 65	ch4 97	ch5 129	ch6 161	ch7 193	ch8 225	

9.3.2. Max132vi.vi

Die Funktion beginnt mit der Fallunterscheidung ob Kanal 0 (interne Nullpunktmessung) oder Kanal 1 - 8 (Spannungsmessung) durchgeführt wird. Nach der Fallunterscheidung in der Case-Struktur erfolgt in der internen Sequenz das Senden des zu messenden Kanals an den Wandler.



Der Kanal $\neq 0 \rightarrow$ es wird der "false-case" gewählt, und der Start der Konversion befohlen, ebenfalls wurde das Output Status Register ausgewählt.



In einer "while-Schleife" wird alle 100 ms das Output Status Register abgefragt, ob die Konversion läuft oder beendet ist.



Ist die Konversion beendet, werden die einzelnen Statusinformationen ausmaskiert und auf dem Frontpanel dargestellt. Bit0 - bit2 werden ausgelesen, addiert und an den Sequenz- wie auch Case-Ausgang geleitet. Zeitgleich wird ein neuer Befehl an den Wandler gegeben, das Output Register 0 an den Ausgang zu legen.



Output Register 0 wird ausgelesen und Output Register 1 wird angewählt. Der Wert des Bytes wird mit 8 multipliziert, da seine Wertigkeit nicht mit 2⁰ sondern mit 2³ beginnt.



Output Register 1 wird ausgelesen, der Wert in seiner Wertigkeit um 11 bit verschoben ($2^{11} = 2048$) und die Sequenz beendet. Die einzelnen Werte werden addiert und je nach Status des Vorzeichenbits positiv oder negativ ausgegeben. Da bei dem A/D-Wandler ±512 mV mit ±18bit-Auflösung konvertiert werden, ergibt eine einfache Umrechnung den direkten Spannungswert in mV.



Nach Eingabe des Kanals und der Basisadresse erhält man nach Abschluss der Funktion max132.vi den entsprechenden Spannungswert.

Die Auswahl der Kanäle, welche pro Messzyklus in der Anwendung verwendet werden, geschieht über die Funktion max132mc.vi (mc = measure and calibrate). Daran schließt sich eine direkte Umrechnung in [bar] bzw. [%] an.



Die Funktion erlaubt auch eine gleitende Mittelwertbildung der Wandlerinternen Abweichung von der Nullspannung, des internen Offset.

9.3.4. Max132sp.vi

Der Funktionsablauf beginnt mit der Fallunterscheidung, ob der aktuell eingestellte Druck **setpoint in** dem eingestellten Enddruck **pressure** in den Grenzen des in dieser Sekunde gegebenen Steigungsbereiches entspricht. Wenn ja, so entspricht der aktuell einzustellende Druck **setpoint out** dem eingestellten Enddruck. Der setpoint out wird über ein externes Schieberegister für den nächsten Durchlauf auf den setpoint in zurückgeschleift.



Stellt man nun einen neuen Enddruck ein und ist der aktuell eingestellte Druck setpoint in damit außerhalb der oben genannten Grenzen, so tritt die kontrollierte Nachführung des einzustellenden Druckes setpoint out ein. Notwendig wird zuerst eine Fallunterscheidung, ob der Enddruck pressure höher oder geringer ist als der aktuell eingestellte Druck setpoint in. Ist dieser wie in der unteren Abbildung geringer, wird aus dem aktuell eingestellte Druck setpoint in und der Steigung cline (:60000 \rightarrow Umrechnung von [mbar/min] zu [bar/sec]) der neue erniedrigte einzustellende Druck setpoint out berechnet und ausgegeben. Dies gilt für lineare Änderungen.



Es zeigt sich dass die lineare Drucknachführung für gegebene Experimente ausreichen ist, so dass bei einer erneuten Modifikation des Programms auf die stufige wie auch die exponentielle Druckänderung verzichtet werden kann, was das Programm verschlankt.

Ergänzend zur Darstellung des Quellcode bei linearer Druckänderung sind die stufige und exponentielle Druckänderung wie folgt realisiert.

Stufige Druckänderung

Wurde ein negativ vom aktuell eingestellten Druck **setpoint in** abweichender Enddruck **pressure** festgestellt, aktiviert eine 0 in der Fallunterscheidung der eingestellten Druckänderung **mode of pressure change** folgenden Quellcode.

Der time out Wert wird extern über Schieberegister für den nächsten Durchlauf an time in zurückgeschleift. Dieser Wert wird bei jedem Durchlauf um eins erhöht. Liegt dieser Wert unterhalb von dem in timestep (*60 \rightarrow Umrechnung von min zu sec) voreingestellten Zeitraum, wird der inkrementierte Wert an time out weitergegeben wie auch setpoint in an setpoint out unverändert weitergegeben wird. Im Fall das time in + 1 dem timestep entspricht, wird der neue setpoint out aus setpoint in und pr-step berechnet und time out wieder auf 0 zurückgesetzt. Eine neue Druckstufe kann gefahren werden.



Wurde ein negativ vom aktuell eingestellten Druck **setpoint in** abweichender Enddruck **pressure** festgestellt, aktiviert eine 2 in der Fallunterscheidung der eingestellten Druckänderung **mode of pressure change** folgenden Quellcode.

Generell funktioniert die Druckänderung wie im linearen System. Nur die eingestellte Steigung **cline** wird nachträglich abhängig von dem aktuell eingestellten Druck **setpoint in** gedämpft mit der Funktion: $Y = x^*(1-0,5e^{(-0,5z)})$







9.3.5. Max132pc.vi

Der Quellcode war zur Gesamtdarstellung zu umfangreich, ließ sich jedoch funktionell in drei Teilbereichen darstellen. Zentrale Programmschleife, Datenspeicherung und Ventilansteuerung

In der zentralen Schleife wurden jede Sekunde die Bedienelemente abgefragt, Messungen durchgeführt und Sollwertänderungen berechnet. Hier wurden auch die Anzeigeelemente angesprochen und Variablen für Nebenschleifen gesetzt



Die Speicherung der Soll- und Messwerte mit Zeit- und Datumsstempel erfolgt über ActivX-Elemente direkt in Excel



In der Schleife für die Ventilsteuerung wurden die Variablen aus der Hauptschleife gelesen und verglichen. Anhand der folgenden Entscheidungskriterien wurden entsprechende Ventilschaltungen angesteuert.

Die oberste Fallunterscheidung in der Case-Struktur diente jedoch der Sicherheit. Wurde bei laufendem Betrieb der Stop-Button auf dem Haupt-Frontpaneel betätigt, wurden alle Ventile geschlossen.



Die Fallunterscheidung in der nächsttieferen Ebene besitzt 3 Fälle. Sie ist abhängig vom Vergleich des aktuellen Soll- und Ist-Druckwertes. Erlaubt ist eine Abweichung von \pm 0,05 bar ohne Ventiländerung. Entspricht der aktuelle Kammerdruck dem aktuellen Sollwert in den Grenzen der erlaubten Abweichung geben die beiden UND-Glieder je eine 0 aus, welche bei einer gegebenen 0 der ersten select - Funktion an deren Ausgang weitergegeben wird. In den angereihten select -Funktionen werden 2 mal die 0 gewählt, addiert und entsprechend als 0 an den case - Eingang gegeben. Im Case 0 der zweiten Case-Struktur findet sich eine 3. Fallunterscheidung. Ist der eingestellte Enddruck höher als der aktuelle Solldruck, verbleiben die Ventile geschlossen.



Ist der eingestellte Enddruck nicht höher als der aktuelle Solldruck, ergibt sich eine weitere Case-Struktur. Ist der aktuelle Sauerstoffwert nicht kleiner als der aktuelle Sauerstoffsollwert, verbleiben die Ventile geschlossen.



Ist der aktuelle Sauerstoffwert kleiner als der aktuelle Sauerstoffsollwert, wird in einer untersten Case-Struktur entschieden, an welchem Gasanschluss, mit welchem Ventil die Pressluft geschaltet wird. Dieses Ventil wird geöffnet



Diese erste Case-Struktur-Sequenz verdeutlicht auch das Grundprinzip der Ventilsteuerung. Zum einen wird primär der Druck und erst sekundär der relative Sauerstoffanteil reguliert. Des weiteren muss bei einer Druckerhöhung nur Stickstoff zugegeben werden, da mit dem vorhandenen Sauerstoff auch dessen Partialdruck unverändert bleibt. Wird jedoch der Druck wieder verringert, muss das überschüssige Stickstoff mittels Pressluft ausgespült werden um bei einem Gasausstrom aus der Kammer nicht gleichzeitig den Sauerstoffpartialdruck zu verringern.

Überschreitet der aktuelle Kammerdruck den aktuellen Sollwert über die Grenzen der erlaubten Abweichung hinaus (Case1), öffnet generell das Auslassventil und nur bei Sauerstoffmangel zusätzlich das Pressluftventil (was einer Kammerspülung gleichkommt). Unterschreitet der aktuelle Kammerdruck (aufgrund der durch den Sauerstoff-Bypass gegebenen Leckrate) den aktuellen Sollwert über die Grenzen der erlaubten Abweichung hinaus (Case2), öffnet je nach Sauerstoffstatus das Eingangsventil für Pressluft oder Stickstoff.

9.3.6. Max132vc.vi

Ist eine Fallunterscheidung in der Ventilsteuerung getroffen, wird ein entsprechendes Ventil über dieses Unterprogramm angesteuert.



Index	0	1	2	3	4	5	6	7
Ventil	-	1	2	1 + 2	3	1 + 3	2 + 3	1+2+3

Je nach ausgewähltem Index wird ein Steuerbefehl aus dem Eingangsarray ausgewählt und an den A/D-Wandler gesendet. Der Ventilstatus wird über LED angezeigt



9.3.7. Max132mk.vi

Die Funktion max132mk.vi dient der Ausmaskierung einzelner bestimmter Bits aus einem Byte. Beispiel: bei einem Eingangs- **Byte-Value** von 170 dezimal (= 10101010 binär) wird der Status von bit1 (**Bit-Value** $= 2^1 = 2$) abgefragt. Der Status ist 1, der Wert an **Bypass in** wird an **Bypass out** ausgegeben.



9.3.8. Steuerbefehl für Druckventile

Gemäß Steuerbefehl werden die 4 digitalen Ausgänge D0 - D3 des Analog-Digital-Wandlers auf 0 (= L = Low) oder 1 (= H = High) gesetzt. Der Ausgang D0 bestimmt, ob ein Messkanal gewählt (D0 = 0) oder ein Ventil angesteuert wird (D0 = 1).

| D3 D2 D1 D0 |
|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| X X X 0 | 0 0 0 1 | 0 0 1 1 | 0 1 0 1 | 1001 | 0 1 1 1 | 1011 | 1 1 0 1 | 1 1 1 1 |
| Ventil- | Alle | Ventil |
| ansteuerung | Ventile | 1 | 2 | 3 | 1 + 2 | 1 + 3 | 2 + 3 | 1 + 2 + 3 |
| gesperrt | zu | auf |

Um die Ventilansteuerung bei D0 = 0 zu sperren wird vor jedes Ventil eine logische Schaltung gesetzt, deren Eingang E1 mit D0 und entsprechend E2 mit D1 bis D3 verbunden wurde. Die Schaltung entspricht einem sperrbaren (latched) Flip-Flop. Die Schaltung ist in TTL -Technik (0 = 0V, 1 = 5V) mit NOR - Gattern (TC4001BP, Toshiba) realisiert



Mit dem Ausgang von TTL - Logic - Bausteinen kann keine Last geschaltet werden. Als Interface zwischen Low-Level-Logic und hoher Stromlast wird ein invertierender 4-fach Leistungs-Treiber (CA3242, Intersil) verwendet, welcher Lasten bis 600 mA schalten kann. Der Leistungs-Treiber steuert ein elektronisches Lastrelais (V23107-S4022-B404, ELR, Siemens), dessen Ausgang bei 220 V bis 4 A belastet werden kann. Dieses schaltet ein Druckluft-Ventil (6013, Bürkert, 0 - 25 bar).

Zur Gasflussbegrenzung und -regulierung sind Feindosierventile (Serie M, Swagelok) in den Gasweg eingesetzt. Sie sind manuell zur Gasflussanpassung an unterschiedliche Druckkammerausführungen zu bedienen.

9.3.9. Steuerbefehl für Messkanäle

Da ein 1 - Kanal - A/D - Wandler verwendet wird, sind die Messwerte einzeln und in Serie zu konvertieren und zu übertragen. Die Auswahl erfolgt über die Ansteuerung des sperrbaren (latched) 8 - Kanal - Multiplexer durch die 4 digitalen Ausgänge D0 - D3.

| D3 D2 D1 D0 |
|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| X X X 1 | 0 0 0 0 | 0 0 1 0 | 0 1 0 0 | 0 1 1 0 | 1 0 0 0 | 1 0 1 0 | 1 1 0 0 | 1 1 1 0 |
| Multi- | | | | | | | | |
| plexer | Kanal 1 | Kanal 2 | Kanal 3 | Kanal 4 | Kanal 5 | Kanal 6 | Kanal 7 | Kanal 8 |
| gesperrt | | | | | | | | |

9.3.10. Max132mcise.vi

Die 4 Kanäle, interner Offset, Nitrat, Kalium und pH werden nacheinander abgefragt, die Messwerte um den gemittelten internen Offset korrigiert und die Werte an die Ausgänge gelegt.



Integriert in das Druckregler-Frontpaneel ist eine zusätzliche Anzeige für die Elektrodenwerte in mV.

ise					
512,0 -					
400,0 -					
200,0 -					
0,0-					
-200,0 -					
-400,0 -					
-512,0 -	1				
					100
	nitrate	\sim	0,00	nitrate	
	potassium	~	0,00	potassium	
	рН	\sim	0,00	pН	

Die Excel-Speicherfunktion im Druckregler-Quellcode wird für die Elektrodenwerte mitverwendet. Die Werte werden über lokale Variablen in die Speicherschleife übertragen.



9.4. Layout - Regler

Steuerplatine für Druckregler



Bestückung der Steuerplatine



Leiterbahnen der Steuerplatine (Sicht von Bestückungsseite) Euro-Format 100*160 mm



9.5. Layout - ISE



