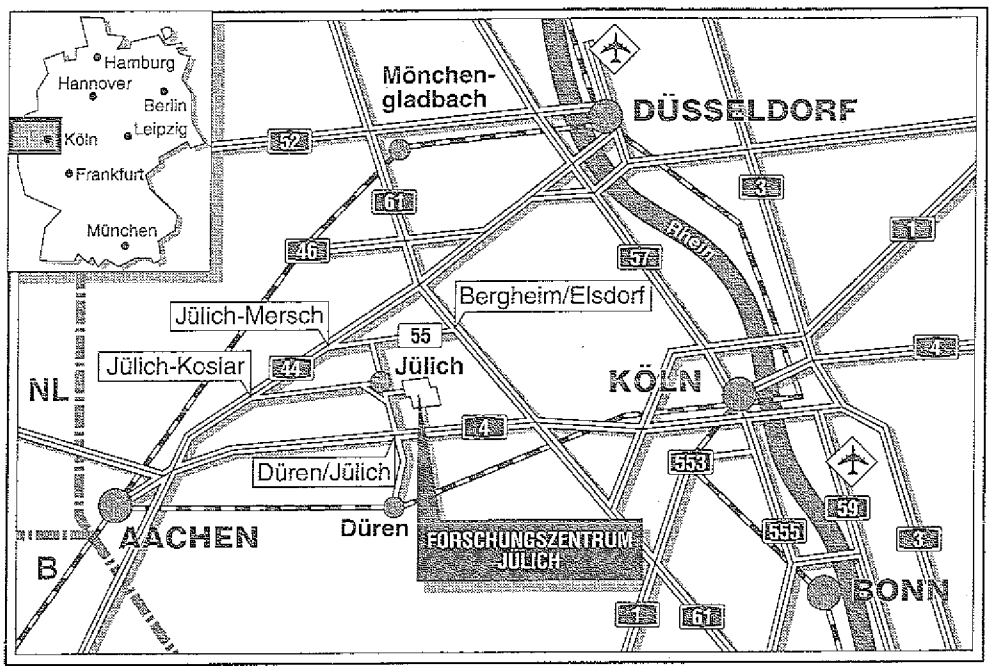
FORSCHUNGSZENTRUM JÜLICH GmbH KFA

Institut für Biologische Informationsverarbeitung

Mikrosonden-Analysen zur Ionenaufnahme in Fichten (*Picea abies* [L.] Karst.)

Arnd-Jürgen Kuhn



Berichte des Forschungszentrums Jülich ; 2744
ISSN 0366-0885
Institut für Biologische Informationsverarbeitung Jül-2744
D18 (Diss. Universität Hamburg)

Zu beziehen durch: Forschungszentrum Jülich GmbH · Zentralbibliothek
Postfach 1913 · D-5170 Jülich · Bundesrepublik Deutschland
Telefon: 02461/61-6102 · Telefax: 02461/61-6103 · Telex: 833556-70 kfa d

Mikrosonden-Analysen zur Ionenaufnahme in Fichten (*Picea abies* [L.] Karst.)

Arnd-Jürgen Kuhn

Gliederung:

Microprobe Analysis of Ion Uptake in Spruce (*Picea abies* [L.] Karst.)

Summary: The influence of several parameters on the nutrient supply of trees in a forest ecosystem was object of the presented work. Quantitative element analysis of bulk samples was performed by use of inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES) and total-reflection X-ray fluorescence spectrometry (TRFA). The main interest was focused on the cellular level by analysing thin sections using the laser-microprobe-mass-analyser (LAMMA) and the energy-dispersive X-ray analyser (EDXA).

The nutrient supply was described in 90- to 120-year-old spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) growing in a forest decline stand and was compared to a model-system of two- and three-year-old spruce cultured in different soils. The investigations were focused on

- the element content and the element distribution in mycorrhized spruce roots in relation to soil depth and damage class of the trees analysed
- the comparison between the relative element distribution in mycorrhized roots and in the shoot of spruce cultured in different soils.

Stable isotope labelling was performed under defined conditions with spruce trees grown in soil and spruce seedlings from sterile cultures to study the following points concerning the physiological mechanisms of nutrient uptake have been of main interest:

- Ion-exchange capacity of mycorrhized roots for Mg, K and Ca in relation to element-concentration, pH and addition of Al
- accessibility for Mg, K and Ca to mycorrhized finest roots
- temperature dependence of the uptake kinetics for Mg, K and Ca
- comparison of ion-uptake in sterile and mycorrhized spruce seedlings
- balance of ion-uptake in spruce cultured in soil and the influence of Al-addition.

Nutrient status of old spruce and spruce cultured in soil: Two old spruce trees of differing vitality (stand "POSTTURM", forestry commission Farchau / Ratzeburg; damage class 0 and 3, respectively) were analysed. Finest roots as well as the surrounding soil were collected in 3 soil depths (0-10cm, 10-30cm, 30-50cm). The element distribution within the mycorrhizas determined with LAMMA and the element content of the mycorrhizas and of the centrifuged soil solutions were measured by use of ICP-OES. There were no clear correlations between element distribution, element content of mycorrhizas and element content of soil solutions. The Al content of mycorrhizas rises with increasing soil depth. The element distribution clearly shows higher Al contents in the cortex than in the walls of the primary xylem. In all samples the Mg content is clearly higher in the lumen of cortical cells than in the corresponding cell walls. The distribution of Ca is reverse. Mycorrhizas from trees of damage class 3 collected in 30-50cm soil-depth show lower element contents of Na, Mg, K and Ca relative to those from trees of damage class 0 grown in the same depth. The largest difference in the element distribution in mycorrhizas from soil depth are manifested as higher Na- and lower K-contents over the entire cross-section and as lower Mg content in the lumina of cortex cells at damage class 0.

Two- and three-year-old spruce grown in soil were used as a model-system reflecting natural conditions. A "normal nursery soil" was chosen as a culture-medium with a high nutrient content as well as two soils from the above mentioned stand were chosen (upper soil 0-10cm; mineral soil 10-30cm). In consequence of the culture conditions the nutrient status of the soils from the stand was clearly changed relative to that under conditions of the natural stand. The element distribution in cross-sections of mycorrhizas and shoots was determined by LAMMA.

Nutrient-labelling experiments under controlled conditions: In order to examine the ion-exchange capacities and the element uptake characteristics of mycorrhizas, respectively, three-year-old spruce trees grown in "normal nursery soil" were transfered to a nutrient solution for 24 and 48h, respectively, which was labeled by enriched stable isotopes of Mg, K and Ca. The concentrations of Na, Mg, K and Ca in the solution were varied and in further experiments the pH was changed and Al was added. In all experiments distinct differences in the ion-exchange capacities of finest roots could be demonstrated between K on one hand and Mg and Ca on the other hand. While under the chosen experimental conditions nearly the entire Ca- and Mg-content of the cell walls from mycorrhizas was exchangeable with the labeled solution, only approximately 40% of the K content could be substituted. By varying the concentrations (Na, Mg, K, Ca; pH 4.5) of one single element each, it should be examined to what extent the element distribution and the ion-exchange of the element under consideration and of the other elements was affected. Supporting and inhibiting effects on the ion uptake could be observed. Variation of pH (2.5 to 6.7) in the labelling solution results in a reduction of the Ca content of app. 45% and a reduction of Mg content of app. 35% in the outermost cell walls of the cortex at the highest proton concentrations, while the exchange of these elements with the solution is not affected. Furthermore, the low pH (2.5) causes a redistribution of Al which is mainly localized in the outermost cell walls of the cortex in these plants. The Al content e.g. in the xylem rises about 10-20 fold relative to the original content. A reduction of the pH from 4.5 to 3.4 combined with the addition of 2mmol/l Al results in a decrease of the content of Mg and Ca and the exchanged portion of Mg as well as in a strong enhancement of Al- and Na-content within the whole apoplast of the mycorrhizas.

Studies concerning the accessibility of Mg, K and Ca to mycorrhized finest roots were performed with intact spruce cultured in soil. The roots were transfered to a labeled (Mg, K, Ca) solution for different periods of time (2min to 48h). The complete Ca content of the cortical cell walls is exchanged in a $T_{½}$ of a few minutes range, with only a short delay between outer and inner cortex. In the cell walls of the primary xylem the label increases with a large retardation ($T_{½}$ about 200min). With the same delay the Mg portion which origins from the solution amounts to only 5% after 250min and to about 17-20% after 48h, without showing a delay between cortex and central cylinder.

To investigate whether the ion uptake is an active or a passive process, the influence of the incubation temperature was examined. Parallel to the above described experiments concerning the accessibility at +22°C root temperature a second series was performed at +6°C root temperature under the same experimental conditions. The comparison of both experiments does not show any significant difference for the Mg and Ca uptake kinetics, whereas the K exchange is clearly inhibited at +6°C.

Investigations concerning the role of the mycorrhiza in element uptake were performed with four-month-old spruce seedlings grown under sterile culture conditions, either sterile or infected with *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch. Originally, the mycorrhized plants had about 30-40% higher Ca content in the shoot and needles, an about 30% lower P content in the shoot and an 30-50% lower S content in the whole plant relative to sterile plants. Cross-sections from sterile and mycorrhized finest roots show an about 3-times higher P content and half the Mn content in the primary xylem of sterile finest roots. In the cortex about twice the P content was measured in the hyphae of the Hartig net and in the hyphae layer relative to the cortical cell walls of mycorrhized and sterile finest roots. The cortex cell walls show a 5-10 fold higher Ca content than the hyphae. Labelling of nutrient uptake for 5 days shows only few differences between mycorrhized sterile finest roots concerning the isotope ratios of Mg, K and Ca in the primary xylem. In contrast, sterile finest roots had a 4-fold higher relative Na content. In the hyphae layer similiar isotope ratios for Mg, K and Ca were found as in the cortex of finest roots. The Mg- and Ca-portion originating from the labeled solution is about 70-80% in the xylem of the basal shoot region of mycorrhized plants and about 45-60% in the apical shoot region (about 10-20% lower in the phloem). The corresponding K-portion is about 15-25%. In the spruce seedlings the fraction of the label (Mg, K, Ca) is about 10% lower.

For further experiments concerning the role of the Al antagonism in element uptake a split-root system was chosen. The root mass of intact two-year-old spruce grown in mineral soil was divided and both sides were incubated with different stable isotopes of Mg and Ca (side A: ^{25}Mg and ^{42}Ca; side B: ^{26}Mg and ^{44}Ca). In only one side Al was added to the labelling solution. In bulk samples of mycorrhizas the addition of 2mmol/l Al results in a 4-fold increase of the Al content, a decrease of the Ca content of about 50% and of the Mg content of about 20%.

The use of stable isotopes in the incubation solutions, the quantitative isotope analysis in bulk samples of the solutions and of the plant fractions allows a differentiated view of the element fluxes between the labelling solution and the plant in both directions. The balance of element-uptake and -exchange in the above described experiment shows for the side without Al-addition that the net uptake of Ca during the 7 days of labelling is only about 10% of the total exchanged Ca. The Ca uptake from the solution is about 3-times higher than the Ca content of the corresponding root mass. Al-addition results in an about 50% reduction of the Ca-exchange accompanied by a net uptake of Ca from the solution. 25-30% of Mg taken up by the plant is released again to the solution. At the side with Al-addition the exchanged K-portion is about twice relative to the side without Al-addition, with the K net release being about 1/8 of the totally released amount. Analysing cross-sections of shoots after 7 days labelling, about 60-70% of the Mg- and Ca-content and about 25-30% of K content of the cell walls in the apical shoot of the spruce originates from the labelling solutions. It was also found that 15-20% more Mg and 5-10% more Ca detected in the xylem of the apical shoot originated from the roots to which Al was added.

Detection of the isotope ratios in cross-sections of the shoot after labelling gives evidence of a bidirectional radial transfer of Ca and Mg between xylem, cambium and phloem.

1. Einführung und Problemstellung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß verschiedener Faktoren auf die Nährstoffversorgung von Bäumen im Ökosystem Wald untersucht. Die Motivation zur Bearbeitung dieser Thematik folgte aus dem Auftreten der "neuartigen Waldschäden" in Mitteleuropa seit Ende der 70er Jahre und der daraufhin einsetzenden Ursachenforschung.

Erste überregional auftretende Schädigungen wurden in Form von Nadelverlusten und Nadelverfärbungen in größerem Ausmaß bei der Tanne beobachtet (z.B. *Schütt* 1977; *Bauch et al.* 1978). Später wurde von ähnlichen Schadsymptomen bei Fichte, Kiefer (*Schütt* 1981) und im weiteren von Wuchsanomalien bei Buche und Eiche (*Schütt & Summerer* 1983) berichtet. Bis zum Jahre 1985 waren in der alten Bundesrepublik bereits etwa die Hälfte aller Waldbäume geschädigt. In den folgenden Jahren mit für die Vegetation im allgemeinen günstigen Witterungsbedingungen stagnierten die Waldschäden auf hohem Niveau. So waren 1988 ca. 52% aller Waldbäume in ihrer Vitalität geschwächt oder geschädigt, jeder dritte Baum davon wies mittlere oder starke Schäden auf. Auch in anderen europäischen Ländern wurde im Rahmen einer europäischen Waldschadenserhebung ein hoher Anteil mittel bis stark geschädigter Bäume ermittelt. Bei nicht exakt vergleichbaren Zahlen wiesen z.B. in Griechenland ca. 17%, in der Schweiz 12%, in Großbritannien 20% und in Finnland ca. 16% aller Waldbäume diese deutliche Schädigung auf (*BMFT* 1990).

Im Rahmen der bundesweiten Waldschadenserhebungen wird die Vitalität der Bäume ausschließlich nach sichtbaren Symptomen wie Nadel- bzw. Blattverlust und Nadel- bzw. Blattzustand bewertet (*Knabe et al.* 1986). Untersuchungen besonders an Fichten (*Picea abies* [L.] Karst.), der in der Bundesrepublik ökonomisch wichtigsten und häufigsten Baumart, zeigen jedoch in vielen Fällen keine Korrelation zwischen dem als Vitalitätsweiser geltenden Holzzuwachs (*Athari & Kramer* 1983; *Kenk et al.* 1984; *Röhle* 1985; *Bauch et al.* 1986) oder ernährungsphysiologischen Parametern (*Fedderrau-Himme et al.* 1984; *Horn & Zech* 1987; *Naumann et al.* 1988) und dem Nadelzustand. Bei Nadelbaumarten treten deutliche Zuwachseinbußen in der Regel erst ab einem Nadelverlust von 25-50% auf (*BMFT* 1990). Jedoch konnte auch bei stark reduziertem bzw. ausfallendem Holzzuwachs im Stamm von geschädigten Buchen und Fichten z.T. noch deutliches, gelegentlich verstärktes Dickenwachstum in stammnahen Hauptwurzeln nachgewiesen werden (*Krause* 1992).

Obwohl die wesentlichen, äußerlich sichtbaren Symptome bei Nadeln bzw. Blättern sowie das Absterben von Beständen in Rauchschadensgebieten bekannt sind, wird das zunächst als "Waldsterben" in der Öffentlichkeit bekanntgewordene Phänomen als "neuartige Waldschäden" bezeichnet, da die weite geographische Ausdehnung, die stärkere Ausdehnung in den einzelnen Regionen und die Erkrankung mehrerer Baumarten innerhalb weniger Jahre als neuartig anzusehen ist. Infolge der weitgehend unbekannten Zusammenhänge von Ursachen und Wirkungen wurde eine breit gefächerte Forschung mit unterschiedlichen Ursachen-/Wirkungshypothesen durchgeführt, wobei die große Komplexität dieser Thematik deutlich wurde. Der Forschungsbeirat "Waldschäden/Luftverunreinigungen" stellte in einer Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse im Zeitraum von 1987 bis 1989 u.a. fest, daß die "neuartigen Waldschäden" auf einen Ursachenkomplex aus abiotischen und biotischen Faktoren zurückzuführen sind, wobei die wesentliche Ursache in der Belastung durch Luftschadstoffe (vor allem SO_2, NO_x u. O_3) zu sehen ist. Nach diesem Erkenntnisstand können die "neuartigen Waldschäden" nicht allein durch direkte Effekte von Luftschadstoffen auf Blätter bzw. Nadeln verursacht sein. Zwar sind Begasungen mit Luftschadstoffen in der Lage, metabolische Streßreaktionen und histologische Veränderungen auszulösen, deren Art und Ausmaß wird jedoch vom

chemischen Bodenzustand beeinflußt (*BMFT* 1990). Über den Eintrag in den Boden schädigen Luftschadstoffe das Ökosystem Wald (*Ulrich* 1981a+b). Daraus kann z.B. ein Nährstoffmangel resultieren und zu typischen Schadausprägungen in der Pflanze führen, wobei u.a. Photooxidantien für Schädigungen an oberirdischen Pflanzenteilen mitverantwortlich sein können. Die verschiedenen Schadausprägungen wurden bei *Picea abies* (L.) Karst., der am meisten untersuchten Baumart, in 5 unterschiedliche Schadtypen eingeteilt. Lediglich beim Schadtyp "Nadelvergilbung der Fichte in höheren Lagen der Mittelgebirge" an Standorten im Fichtelgebirge und im Harz wurde bisher ein klarer Zusammenhang zwischen Vergilbung, Magnesiummangel und überhöhtem Stickstoffangebot nachgewiesen, wobei eine ungünstige bzw. unausgewogene Ionenaufnahme im Wurzelbereich und ein ungünstiges Kationen/Aluminium-Verhältnis der Bodenlösung zu diesem Schadbild führen sollen (*Zech & Popp* 1983; *Zöttl & Hüttl* 1985; *Mohr* 1986; *Schulze & Lange* 1990; u.a.). Bei allen anderen Schadtypen, wie auch beim häufigsten Schadsymptom, dem vorzeitigen Nadelverlust, konnte bisher nicht die genaue Ursachen-Wirkungskette aufgeklärt werden. Jedoch sollten Veränderungen im Boden zumindest als prädisponierender Stressor wirken. Großräumige Witterungsbedingungen wie Trockenheit und Frostereignisse könnten dabei für die Synchronisation beim Auftreten der verschiedenen Schadtypen verantwortlich sein (*Rehfuess* 1981, 1988). Dendroklimatologische Untersuchungen von *Eckstein et al.* (1983) zeigten keinen ursächlichen Zusammenhang zwischen klimatischen Faktoren und dem Auftreten von Schäden bei der Tanne Mitte der 70er Jahre. Sie machten ursächlich Ereignisse für eine Schädigung dieser Bäume verantwortlich, die Jahrzehnte vorher auftraten (vgl. *Eckstein* 1988; *Schweingruber et al.* 1990). Zusammenfassend stellte der Forschungsbeirat weiterhin fest: "Die Ursachenforschung hat keine einfache, für alle Wälder gleichermaßen gültige Erklärung gebracht und wird sie angesichts der vielfältigen Zusammenhänge von Standorts-, Bestands-, Bewirtschaftungs- und Belastungsfaktoren auch nicht erbringen können. Einer allgemeingültigen Erklärung steht nach dem jetzigen Kenntnisstand entgegen, daß die Ursachen-Wirkungsketten durch unterschiedliche Standorts- und Belastungsbedingungen überlagert und variiert werden." (*BMFT* 1990).

Bei der Diskussion der Ursachen-Wirkungskette ist die Frage nach dem Einfluß des chemischen Bodenzustandes auf die Versorgung von Bäumen mit mineralischen Nährstoffen und Wasser über die Wurzeln von zentraler Bedeutung. In der vorliegenden Arbeit wurde mit Mikrosonden- und Bulkproben-Analysemethoden auf Zell- und Gewebeebene die Aufnahme einiger ausgewählter Elemente untersucht. In Verbindung mit der Markierung der Makronährelemente Mg, K und Ca mit stabilen Isotopen und der Radioaktiv-Markierung von Ca stand hier die Charakterisierung der zugrundeliegenden physiologischen Mechanismen im Vordergrund. Dabei umfaßten die Analysen folgende Schwerpunkte:

- Gehalt und Verteilung einiger Elemente in mykorrhizierten Altfichten-Feinstwurzeln eines Waldschadensstandortes in Abhängigkeit von Bodentiefe und Schadklasse
- Vergleich der relativen Elementverteilung in mykorrhizierten Feinstwurzeln und im Sproß von Fichten aus unterschiedlichen Erdkulturen
- Ionenaustauscher-Eigenschaften für Mg, K und Ca in mykorrhizierten Feinstwurzeln in Abhängigkeit von Elementkonzentrationen, pH-Wert und Al-Zugabe
- Ionenaufnahme und Zugänglichkeit von Mg, K und Ca in mykorrhizierte Feinstwurzeln bei zwei unterschiedlichen Temperaturen
- Bedeutung der Mykorrhiza bei der Ionenaufnahme in Fichten
- Einfluß von Al auf Ionenaufnahme, -verteilung und -transport in Fichten aus Erdkulturen

2. Kenntnisstand

Die Aufnahme von mineralischen Nährstoffen über das Wurzelsystem eines Baumes wird auf der Angebotsseite durch den physikalischen, biologischen und chemischen Bodenzustand und auf der Aufnahmeseite durch die Struktur des Wurzelsystems und durch den physiologischen Zustand des Baumes bestimmt.

Angebotsseite - Boden

Der Boden ist nicht nur als ein "Substrat" für das Pflanzenwachstum anzusehen. Nach *Blume* (1990) stellen Böden einen Naturkörper dar, der den obersten, belebten, durch Humus- und Gefügebildung, Verwitterung und Mineralbildung sowie von Zersetzungs- und Verwitterungsprodukten umgestalteten Teil der Erdkruste bildet. Je nach ihrer Entwicklung entstehen in Abhängigkeit von der Ausgangs-Gesteinsart, den klimatischen Verhältnissen, dem Landschaftsrelief, den Grundwasser-Verhältnissen, der Vegetation und der Nutzung sehr unterschiedliche Böden (*Scheffer & Schachtschabel* 1976; *Rehfuess* 1981a).

Voraussetzung für die Aufnahme von Nährelementen durch die Pflanzen ist deren Vorliegen in der wässrigen Phase des Bodens - in der Bodenlösung. Der weitaus größte Teil des Elementgehaltes im Boden liegt jedoch in der Regel in verschiedenen Bindungsformen vor. Die Nährelemente können entweder mineralisch oder organisch gebunden sein und durch Verwitterungs- bzw. Zersetzungsprozesse (= Mineralisierung) freigesetzt werden, oder aber aufgrund der Ionen-Austauschkapazität (vor allem für Kationen) an Tonmineralen oder Huminstoffen sorbiert vorliegen, wobei die sorbierten Elemente mit der Bodenlösung im Gleichgewicht stehen und damit mittelbar pflanzenverfügbar sind. Die gelösten Elemente gelangen entweder über Massenfluß mit der Bodenlösung oder über Diffusion entlang eines Konzentrationsgradienten zur Wurzel- bzw. Pilzhyphen-Oberfläche (*Scheffer & Schachtschabel* 1976; *Mengel* 1984). Inwieweit u.a. Komplexierungsvorgänge und die mikroheterogene Ionenverteilung im Boden in unmittelbarer Umgebung der Wurzeln und möglicher assoziierter Pilze das tatsächlich pflanzenverfügbare Elementangebot beeinflussen ist bisher jedoch wenig bekannt (*Barber* 1984; *Marschner* 1985; *Hildebrand* 1986; *Curl & Truelove* 1986; *Horn* 1987). Die Pflanzen können weiterhin die Konzentrationen bzw. die Mobilität der Mineralstoffe im Nahbereich (= Rhizosphäre) durch Ausscheidung von H-Ionen, organischen Säuren und chelatisierenden Verbindungen und auch über Veränderungen des Redoxpotentials sowie über Redoxprozesse an der Wurzeloberfläche - der Rhizoplane - unmittelbar beeinflussen (*Nye* 1981; *Marschner & Römheld* 1983; *Rovira et al.* 1983; *Marschner* 1985). Indirekt beeinflussen Pflanzen die Nährstoffdynamik in der Rhizosphäre durch ihre Wirkung u.a. auf die bei der Mineralisierung mitwirkenden verschiedenen Mikroorganismen (insbesondere Bakterien), deren Besiedelungsdichte in der Regel in der Rhizosphäre viel höher ist als im wurzelfernen Raum, da Wurzelexsudate und vor allem abgestorbene Wurzelzellen als Substrat für die Mikroorganismen dienen (*Harley & Russel* 1979; *Topp* 1981).

Der Nährstoffgehalt der durchwurzelten Böden hängt neben den oben aufgeführten grundlegenden Bedingungen bei der Entwicklung der Böden aus dem Ausgangsgestein und dem Entzug durch Pflanzen auch vom Eintrag aus der Atmosphäre und von der Auswaschung der Nährstoffe ab. Die vor allem anthropogen bedingten Einträge von SO_2 und NO_x und der assozierten Säuren führen im Boden

zu einer Absenkung des pH-Wertes und zu einer Auswaschung von Nährstoffkationen wie Ca, Mg und K in tiefere Bodenschichten. Weiterhin werden je nach pH und Boden Kationen der Metalle Mn, Al und Fe freigesetzt. Sie treten neben den Protonen an verschiedenen Adsorptionsstellen in Konkurrenz zu den Erdalkali-Ionen. Langfristig kann hierdurch, in Verbindung mit dem atmosphärischen Eintrag von Schwermetallen, die Akkumulation von Luftverunreinigungen zur Destabilisierung der Waldökosysteme führen. Als baumschädigender Mechanismus wird dabei die direkte Schädigung der Wurzeln und der Zersetzerketten im Boden und in der Folge eine Entkoppelung der Nährstoff-Umsetzungsprozesse im Boden (*Ulrich* 1981a+b, 1982) und / oder eine durch die atmogene Säuredeposition beschleunigte Verarmung an Basenkationen - insbesondere bei von vornherein Ca- und Mg-armen Böden - und damit bedingter Mineralstoffmangel angesehen (z.B. *Zech & Popp* 1983; *Rehfuess* 1989; *Schulze* 1989; u.a.). Da die Eintragsraten von Säuren die Basennachlieferung durch Silikatverwitterung bei den meisten mitteleuropäischen Böden übersteigen, versauern diese Böden zunehmend (*Ulrich* 1987). Dieser Effekt wird weiter dadurch verstärkt, daß lange vor der Industrialisierung die Verarmung und Versauerung der Waldböden durch die vielfältige anthropogene Nutzung der Wälder wie Holzeinschlag, Rodung, Beweidung und Streunutzung beschleunigt wurde (*BMFT* 1990). Dies hat insgesamt zur Folge, daß die sogenannte Basensättigung, d.h. der Anteil basisch wirkender Kationen an der Summe der austauschbaren Kationen, der effektiven Austauschkapazität, deutlich abnimmt. So weisen viele Waldböden einen austauschbaren Ca-Sättigungsgrad von unter 5% auf. Untersuchungen z.B. im Solling zeigen, daß dort der im Wurzelraum zur Verfügung stehende pflanzenverfügbare Vorrat an Ca und Mg nur noch ca. die Hälfte dessen beträgt, was im aufstockenden Bestand gespeichert ist. Der Eintrag dieser Kationen in das Ökosystem (vor allem durch Stäube) entspricht etwa dem Austrag mit dem Sickerwasser. Weiterhin wird durch den hohen Sulfateintrag und durch das freigesetzte Aluminium z.T. Aluminiumhydroxosulfat gebildet, wobei befürchtet wird, daß deren Anlagerung an die Oberfläche von Tonmineralen langfristig zum völligen Verlust der Bindungsfähigkeit für basische Kationen wie Ca und Mg am Ionenaustauscher Boden führt (*Ulrich* 1982).

Aufnahmeseite - Wurzelsystem und Mykorrhiza

Auf der Nährstoff-Aufnahmeseite kann das Wurzelsystem in einem Fichtenwald eine Länge von über 100000 km / ha erreichen. Feinwurzeln unter 2mm Durchmesser bilden dabei einen hohen Anteil. Untersuchungen in einem 16 Jahre alten Fichtenbestand wiesen zwar nur einen ca. 15%-igen Anteil dieser Feinwurzeln an der gesamten Wurzel-Biomasse (ca. 25000 kg / ha) auf, wobei sie mit ca. 5000 kg / ha jedoch ca. 60% der jährlichen Wurzelbiomasse-Produktion ausmachten (*Werner* 1987). Die Anzahl von Wurzelspitzen kann dabei sehr groß sein. So wurden z.B. in einem Kiefern-Jungbestand (15 bis 20 Jahre alt) in Mittelschweden während der Vegetationsperiode ca. 60000 Wurzelspitzen / m^2 und in einem benachbarten Kiefern-Altbestand (120 bis 150 Jahre alt) ca. 300000 Wurzelspitzen pro m^2 Waldbodenfläche nachgewiesen (*Puhe et al.* 1986).

Fichten sind - wie der größte Teil der mitteleuropäischen bestandsbildenden Baumarten - mit Pilzen vergesellschaftet und bilden mit diesen sogenannte Ektomykorrhizen aus. Diese sind morphologisch dadurch gekennzeichnet, daß ein Pilzmantel die nicht verholzten Feinstwurzeln umschließt und deren Spitzen keulig verdickt sind, wobei die Wurzeln sich dichtom oder bäumchenartig verzweigen. Einzelne Hyphen oder Rhizomorphen dringen ins Erdreich (*Duddridge et al.* 1980). Weiterhin weisen Ektomykorrhizen ein Geflecht von Pilzhyphen zwischen den Wurzelrindenzellen (Cortexzellen) auf, das als "Hartig'sches Netz" bezeichnet wird. In der Regel dringen in intakten Mykorrhizen die Pilzhyphen nicht in die Wurzelzellen (außer in abgestorbene Zellen) und in den Zentralzylinder ein, der zum

Cortexbereich hin durch die Endodermis abgeschlossen ist. Wie die Pilzhyphen in die Wände der Cortexzellen eindringen ist dabei noch weitgehend unbekannt (*Harley & Smith* 1983; *Nylund* 1987). Weitere anatomische Merkmale sind die radiale Streckung der Cortexzellen, reduziertes Wurzelmeristem und Tanninschichten, vor allem in der Endodermis (*Harley* 1978).

Nach *Fortin* (1981) sind ca. 90% aller Gefäßpflanzen mykorrhiziert (endo-, ektoendo- oder ektomykorrhiziert), jedoch weisen nur 3% aller Arten der Samenpflanzen, aber die waldbildenden Bäume in mehr als der Hälfte der Waldfläche der Erde Ektomykorrhizen auf. Die mehr als 140 Gattungen sind besonders verbreitet in den Familien der *Pinaceen, Fagaceen, Rosaceen* und *Caesalpiniaceen.* Bisher sind mindestens 65 Gattungen, vor allem aus den Familien der *Ascomyceten* (Schlauchpilze) und der *Basidiomyceten* (Ständerpilze), als Ektomykorrhiza-Pilze nachgewiesen worden, wobei weitere Mycelien z.T. wegen fehlender Fruchtkörperbildung nicht identifiziert werden können. Dabei wird die Spezifität zwischen Pilz und Pflanze zueinander im allgemeinen als gering angesehen (*Werner* 1987). So kann z.B. die Gemeine Kiefer (*Pinus sylvestris*) mit mehr als 25 verschiedenen identifizierten Pilzen Ektomykorrhizen bilden (*Harley & Smith* 1983). Für die Fichte zählt *Trappe* (1962) über 100 Pilzarten auf. In Fichten-Altbeständen (*Picea abies*) im Schwarzwald konnte *Haug* (1987) 25 verschiedene Mykorrhizaformen charakterisieren mit der größten Artenvielfalt in 0-30cm Bodentiefe. In der Regel sind 80% und mehr - bis über 95% bei Kiefern (*Persson* 1980) - der Feinstwurzeln mykorrhiziert. Es entwickeln sich unterschiedlich strukturierte Hyphenmäntel, aber ein gleichförmiges Hartig'sches Netz in den Mykorrhizen (*Blasius et al.* 1986; *Kottke & Oberwinkler* 1986).

Die Ektomykorrhiza als Vergesellschaftung von Pilz und Pflanze wird insbesondere aufgrund des engen räumlichen Kontaktes allgemein als eine Symbiose bezeichnet. Dieser Begriff wurde erstmals 1879 von dem Botaniker *De Bary* eingeführt und definiert als engstes Zusammenleben verschiedener Arten. Diese erste weitgefaßte Definition beinhaltete verschiedene Wechselwirkungen, die *Werner* (1987) begrifflich voneinander trennt. Er unterscheidet in: Kommensalismus, als Nutzen des einen Partners und nicht erkennbare Beeinflussung des anderen Partners; Parasitismus (Antagonismus), als Ausnutzung durch und Nutzen für den einen Partner mit Schädigung des anderen Partners; Symbiose (Mutualismus), als Ausnutzung durch und Nutzen für beide Partner in einem engen morphologischen Kontakt. Dabei ist jedoch eine klare Zuordnung einer bestimmten Wechselwirkung zu diesen Begriffen oft schwierig, da in der Entwicklung des Zusammenlebens der unterschiedlichen Partner alle drei Wechselbeziehungsarten auftreten können. Die Ektomykorrhiza entspricht als Symbiose einem diffizilen Gleichgewicht, so daß *Hock & Bartunek* (1984) hierbei von einem "reziproken Parasitismus" sprechen und *Meyer* (1985a) dies als "Kampfgleichgewicht" bezeichnet.

Wege der Nährstoffaufnahme in mykorrhizierten Feinstwurzeln

Bei der Nährstoff-Aufnahme in Fichten über die Wurzeln wird allgemein davon ausgegangen, daß der Pilzpartner einen entscheidenden Einfluß auf die Ionenaufnahme und den Ionenaustausch ausübt, da der äußere Hyphenmantelbereich und die abgehenden Hyphen, nicht aber die Oberfläche der Wurzelzellen im direkten Kontakt zur Bodenlösung stehen (*Harley* 1978; *Hock & Bartunek* 1984; *Meyer* 1985a; *Kottke & Oberwinkler* 1986; *Agerer et al.* 1986). Wasser und Ionen können daher nur entweder apoplasmatisch über einen extrazellulären Weg (durch die Zellwände des Hyphenmantels) zu den Rindenzellen gelangen, oder auf dem Weg über den Pilz aufgenommen werden, der bei vollständig entwickeltem Hartig'schen Netz im Cortex bis an die Endodermis reicht. Ionenaufnahme und

-transport in Ektomykorrhizen sind daher noch komplexer als z.B. von *Anderson* (1975) in sterilen Wurzeln zusammenfassend dargestellt wurde. Die Mykorrhiza unterdrückt die Bildung von Wurzelhaaren und bewirkt dadurch eine enorme Verringerung der sonst möglichen Nährstoff-Absorptionsfläche bei unmykorrhizierten Feinstwurzeln. Jedoch vergrößern die abgehenden Hyphen der Mykorrhizen die mit dem Boden in Kontakt stehende Oberfläche und durch deren Dimensionen - mit 1-2µm Durchmesser sind sie ca. 1/10 so dick wie Wurzelhaare und z.T. deutlich länger - erschließen sie Bodenporen, in die die Feinstwurzeln nicht gelangen bzw. aus bodenmechanischen Gründen nicht gelangen können (*Duddrige et al.* 1980). So wurden z.B. pro cm^3 Boden ca. 2-4cm Wurzeln, 1-2cm Wurzelhaare, aber bis zu 50m abgehende Mykorrhizen-Pilzhyphen nachgewiesen (*Allen* 1991). Weiterhin werden durch die abziehenden Hyphen bzw. Rhizomorphen unterschiedliche Bäume miteinander vernetzt (*Brownlee et al.* 1983). In Symbiose, als morphologische und funktionelle Einheit, soll der Pilzpartner die Funktion der Mobilisierung und Aufnahme von Nährstoffen übernehmen, Wirkstoffe an die Pflanze abgeben und darüberhinaus auf verschiedene Art und Weise vor dem Eindringen abiotischer und biotischer Pathogene in die Pflanze schützen, von der er als "Gegenleistung" gelöste Kohlenhydrate, aber auch Vitamine erhält bzw. entzieht. Zudem sind viele Mykorrhizapilze in der Lage, organische Substanzen teilweise abzubauen und somit weitere Nährelemente zu erschließen (*Abuzinadah & Read* 1986). Es wird berichtet, daß verschiedene Pilzpartner, z.T. auch die verschiedenen Stämme der gleichen Art, Unterschiede bei der Ionenaufnahme zeigen (*Clement et al.* 1977; *Le Tacon et al.* 1983). Zum Einfluß der Hyphenmantelstruktur auf die Stoffaufnahme liegen keine Untersuchungen vor, doch wären auch von daher Unterschiede denkbar.

Die Frage, zu welchen Anteilen die Aufnahme bestimmter Ionen in die Wurzeln über den symplasmatischen (im Plasma) oder den apoplasmatischen (in Zellwänden) Transportweg erfolgt, ist - trotz vielfältiger Untersuchungen an verschiedenen Pflanzengattungen - noch weitgehend ungeklärt (*Anderson* 1975; *Läuchli* 1976; *Spanswick* 1976; *Pitman* 1977; *Lüttge & Higinbotham* 1979). Für divalente Kationen wie Mg^{2+} und Ca^{2+} wird vorzugsweise der apoplasmatische Transportweg bis zur Endodermis angenommen (*Roy et al.* 1988; *Clarkson & Lüttge* 1989; u.a.), für K^+ und weitere monovalente Kationen wie auch für Anionen der symplasmatische Transportweg (*Anderson* 1975). Die Aufnahme von Ionen über die Membranen in Plasma und Vakuole wird als aktiv und hochgradig selektiv angesehen (*Mohr & Schopfer* 1978). Ein symplasmatischer Ionentransport wird außer für die Endodermis auch zwischen Hyphen und zwischen lebenden Rindenzellen im Bereich des Hartig'schen Netzes angenommen (*Harley & Smith* 1983). Für Pilzhyphen und Mykorrhizen ist über eine aktive Aufnahme und einen symplasmatischen Transport von P und K berichtet worden (*Melin & Nilson* 1950; *Harley & Wilson* 1959; *Harley & Loughman* 1963; *Beever & Burns* 1980; *Rygiewicz & Bledsoe* 1984; *Finlay & Read* 1986).

Mykorrhizen haben in der Regel eine Lebensdauer von ca. 9 bis 14 Monaten (*Werner* 1987), diese kann aber auch nur wenige Wochen betragen (*Puhe et al.* 1986). Zunächst sterben die Rindenzellen und anschließend die Hyphen des Hartig'schen Netzes ab, werden jedoch nicht abgebaut (*Ritter et al.* 1986). Da Leitgewebe und Endodermis noch für einen weiteren Zeitraum funktionsfähig bleiben, muß davon ausgegangen werden, daß in diesem Entwicklungsstadium der Mykorrhizen noch ein apoplasmatischer Ionentransport über die Zellwände der Hyphen und Rindenzellen bis zur Endodermis prinzipiell möglich ist. Untersuchungen hierzu liegen bisher nicht vor.

Anthropogene Veränderungen der Nährstoffaufnahme-Situation

Im Rahmen der Waldschaden-Ursachenforschung ist die Frage nach dem Einfluß der vor allem anthropogenen Veränderungen des chemischen Bodenzustandes bzw. der Bodenlösung auf die Versorgung von Bäumen mit mineralischen Nährstoffen und Wasser über die mykorrhizierten Feinstwurzeln von zentraler Bedeutung. Störungen der "normalen", ungeschädigten Wechselbeziehung zwischen Aufnahme- und Angebotsseite lassen sich dabei grob in primär zwei Kategorien aufteilen, die sich jedoch wiederum gegenseitig auf sehr komplexe Art und Weise beeinflussen und durch verschiedenste "äußere" Parameter beeinflußt werden. Herauszustellen sind Veränderungen auf der biologischen Seite, d.h. eine primäre direkte Schädigung des Wurzelsystems mit der sekundären Folge einer Beeinträchtigung der Vitalität des gesamten Baumes. Zum anderen kann eine geringe bzw. nicht ausgewogene Versorgung mit mineralischen Nährstoffen von einem gestörten Bodenchemismus abhängen, was zu primären Schädigungen in verschiedenen Pflanzenorganen durch Mangelerscheinungen mit entsprechendem Vitalitätsverlust führen kann.

Ob und inwieweit eine durch Stoffeinträge über die Atmosphäre ausgelöste bodenchemische Veränderung Auswirkungen auf den Wasser- und Lufthaushalt des Bodens, auf seine mechanische Stabilität sowie auf die Durchwurzelung und Bodenbiologie hat, ist noch weitgehend unbekannt. Eine intensivere Bearbeitung dieser Fragestellungen ist daher nach dem Programmreport des *BMFT* (1990) für eine umfassende Gesamtdarstellung der Waldschadensproblematik erforderlich.

Von direkten Auswirkungen auf das Wurzelsystem durch das umgebende chemische Milieu wurde sowohl bei verschiedenen Untersuchungen im Freiland wie auch unter Laborbedingungen berichtet. Als ursächliche Ausgangspunkte (- einzeln und in Kombination -) für direkte Schädigungen der Feinstwurzel / Mykorrhizen werden dabei vor allem in der Bodenlösung vorliegende niedrige pH-Werte, hohe Al^{3+}- und $AlOH^{2+}$-Konzentrationen, Nährstoffmangel, "ungünstige" relative Elementkonzentrationsverhältnisse und eine unmittelbare Schädigung der Mykorrhiza (pilzseitig) durch zu hohen NO_3^- / NH_4^+-Eintrag in den Vordergrund gestellt (*Meyer* 1985b; *Mohr* 1986; *Schulze et al.* 1989).

Untersuchungen im Freiland

Während umfangreiche Untersuchungen zur Säure-, Al- und Schwermetall-Toxizität im landwirtschaftlichen Bereich schon seit längerem durchgeführt und dabei unterschiedliche Toxizitäts- und Toleranzmechanismen beschrieben wurden (umfassende Übersicht: *Foy et al.* 1978; *Foy* 1984) berichtete zunächst *Blaschke* (1980, 1981) bei geschädigten Tannen (*Abies alba*) von deutlichen Veränderungen der Struktur, Enzymaktivität und Biomasse von Wurzeln, wobei er einen kausalen Zusammenhang mit Assimilat-Mangel für wahrscheinlich ansah. Die Bestimmung der während des Jahresablaufes z.T. stark schwankenden Feinwurzel- (1-2mm Durchmesser) und Feinstwurzel-Biomasse (<1mm Durchmesser) und eine morphologische und anatomische Charakterisierung des Wurzelsystems sind wesentliche Punkte bei Freiland-Untersuchungen. Dabei erschwert die - mit der sehr heterogenen horizontalen und vertikalen Verteilung und Ausbildung des Wurzelsystems verbundene - hohe Variabilität gesicherte Aussagen über den Zustand des Wurzelsystems (*Köstler et al.* 1968). Weitere methodische Schwierigkeiten bestehen darin, "normale, natürliche" Alterungs- und Absterbeprozesse, z.B. im Rahmen der Ontogenese - vor allem der mykorrhizierten Feinstwurzeln -, von durch Veränderungen des bodenchemischen Zustandes hervorgerufenen Schädigungen zu unterscheiden (*Kottke et al.* 1986). Des weiteren lassen sich aus morphologischen und anatomischen Befunden nur bedingt Aussagen über die Funktionsfähigkeit des jeweiligen Gewebes treffen. Dies läßt sich zumindest in Grenzen durch den Nachweis mit Vital-Fluoreszenz-Farbstoff-Markierungen

bewerkstelligen. Mit dieser Methode bestimmten z.B. *Ritter et al.* (1986) die physiologische Aktivität von Ektomykorrhizen.

Liss et al. (1984) beobachteten bei Wurzeluntersuchungen an erkrankten Altfichten im Vergleich zu gesunden ein vermehrtes Absterben und reduziertes Regenerationsvermögen von Feinstwurzeln. *Murach* (1984) stellte bei umfangreichen Untersuchungen des Wurzelwachstums von zwei, auf unterschiedlichen Standorten stockenden Fichten-Altbeständen ein starkes Abnehmen der durchschnittlichen Feinwurzelbiomasse (< 2mm Durchmesser) mit der Bodentiefe fest. Weiter stellte er eine Beziehung zwischen der Dynamik der Feinwurzelbiomasse-Entwicklung und den in den Böden auftretenden Versauerungsschüben her, die besonders nach Trockenperioden auftreten. Als Schädigungsursache schloß er letalen Kohlenhydratmangel in den Feinwurzeln aus, da Schäden sich in einer Erhöhung des toten Feinwurzelanteils bei konstanter Feinwurzelbiomasse äußerten (siehe auch: *Ulrich et al.* 1984; *Eichhorn* 1987). Statt dessen führte er das Absterben der Feinwurzeln im wesentlichen auf eine starke Versauerung der Feinwurzeln zurück und sah die durchweg niedrigeren Ca / Al - Verhältnisse in den toten gegenüber den lebenden Feinwurzeln als Beleg an. Nach Einschätzung von *Rehfuess* (1989) fehlt jedoch bisher der eindeutige Nachweis, "... daß es neuartige Walderkrankungen gibt, die primär auf Feinwurzelschäden beruhen ...".

Bei der Interpretation der Bedeutung von abnehmender Feinstwurzel-Biomasse für den gesamten Baum besteht das Problem, daß trotz zahlreicher Untersuchungen die Angaben zur Korrelation zwischen Wurzel- und Sproßwachstum widersprüchlich sind (*Kottke* 1986). So berichtete z.B. *Meyer* (1962, 1967), daß bei Jungpflanzen eine höhere Mykorrhizazahl das Sproßwachstum begünstigte, während er bei Altfichten eine höhere Mykorrhizadichte bei schlechter wüchsigen Beständen fand. *Kottke* (1986) zeigte u.a. in verschiedenen Sterilkulturen von Fichten bei Sandboden eine negative Korrelation zwischen Sproß- und Wurzelwachstum, bei Ton und Perlite dagegen eine positive Korrelation. Der Forschungsbeirat "Waldschäden / Luftverunreinigungen" stellte weiterhin in seinem Programmreport (*BMFT* 1990) in Bezug auf die Versorgung der Bäume fest: "Die Wurzelmenge im Boden dürfte dabei eine untergeordnete Rolle spielen; sie ist als Anpassungsmechanismus auf die jeweiligen Standortsverhältnisse zu sehen. Durch Biomassenerhebungen kann daher über den Funktionszustand des absorbierenden Wurzelsystems keine wesentliche Aussage erwartet werden."

Vergleich zu Untersuchungen unter Laborbedingungen

Die oben aufgeführten verschiedenen bodenchemisch bedingten Faktoren, - die möglicherweise direkte Schäden des Wurzelsystems hervorrufen -, lassen sich unter Freilandbedingungen wegen der komplexen Beziehung der einzelnen Faktoren und der durch verschiedene Parameter bedingten Dynamik im Einzelnen in ihrer tatsächlichen Auswirkung nicht oder nur mit großer Unsicherheit behaftet beschreiben. Auch ist die Vergleichbarkeit des Untersuchungsmaterials u.a. aufgrund der bereits oben erwähnten Heterogenität der Bedingungen, der genetischen Variabilität und der Variabilität insbesondere der verschiedenen Mykorrhiza-Formen nur bedingt gegeben. Zu diesen Fragestellungen wurden daher von verschiedenen Autoren Untersuchungen an Fichtenkeimlingen, -stecklingen und -jungpflanzen vor allem in Hydrokultur-Experimenten unter kontrollierten Nährlösungsbedingungen im Labor mit definierten "äußeren" Wachstumsbedingungen durchgeführt. Da die vollständige Nachbildung der natürlichen Verhältnisse im Freiland in diesen Experimenten jedoch nicht möglich ist, sind diese in ihrer Aussagefähigkeit sehr begrenzt (*BMFT* 1990). Auch weisen z.B. Fichten in Hydrokulturen keine unter Freilandbedingungen obligatorischen Mykorrhizen und in der Regel einen deutlich höheren

Wurzelanteil an der Gesamtbiomasse (mit hohem Anteil an Langwurzeln) im Vergleich zum Sproßanteil auf. Trotz dieser Gegebenheiten sollten nach Meinung der meisten Autoren die erzielten Befunde prinzipiell auch im Freiland gelten, was eine Überprüfung ihrer Gültigkeit im natürlichen Bestand erfordert.

Umfangreiche Untersuchungen an Fichtenkeimlingspflanzen in Hydrokultur z.B. von *Rost-Siebert* (1983, 1985) und *Tischner et al.* (1983) zeigten Wurzelschäden in Abhängigkeit vom pH-Wert und von der Al-Konzentration. Die in früheren Untersuchungen im landwirtschaftlichen Bereich beobachtete Nährstoffangebot-abhängige Toleranz von Pflanzen gegenüber Al- und H-Ionen (*Foy* 1984) zeigte sich auch in diesen Untersuchungen. So waren nicht die absoluten Konzentrationen an H- und Al-Ionen allein auschlaggebend, sondern auch die gleichzeitig vorhandenen Ca- und Mg-Konzentrationen von entscheidender Bedeutung (*Rost-Siebert* 1985; *Jorns* 1988). *Rost-Siebert* (1985) gab unter seinen Kulturbedingungen eine Toxizitätsschwelle für das molare Ca / Al-Verhältnis in der Nährlösung von 1,0 - 0,5 beim Wurzellängenwachstum (mehr als 50% Reduktion gegenüber der Kontrolle) und für Wurzelschäden (wenn weniger als 50% der Primärwurzeln gesund oder regeneriert waren) von 0,5- 0,2 an. H^+-Toxizität (ohne Al-Zugabe in der Versuchslösung) traten bei pH-Werten ≤ 4 auf, wenn das molare Ca^{2+} / H^+ - Verhältnis Werte < 0,1 erreichte, wobei sich das Schadbild äußerlich nicht von dem der Al-Toxizität unterschied (*Rost-Siebert* 1985). *Jorns* (1988) beobachtete bei einem Al-Angebot von 0,17 - 0,52 mmol / l Al (pH 3,8) licht- und elektronenoptisch sichtbare Veränderungen an der Wurzelspitze, wie vorzeitige Vakuolisierung des äußeren Wurzelkörpers und Schädigungen im Plasmalemma bei Meristemzellen ab einem Mg / Al - Molverhältnis ≤ 0,18 bzw. Ca / Al - Molverhältnis ≤ 0,75. Im Al-Konzentrationsbereich von 0,52 - 5,20 mmol / l traten beim Unterschreiten der gleichen Molverhältnisse neben weiteren lichtmikroskopischen Veränderungen, wie geschwollenen Cortexzellen und Cortexrisse in der Streckungszone, auch makroskopische Veränderungen an den Wurzelspitzen, wie Gelb- und Braunfärbung, Verdickungen und Hemmung der apikalen Dominanz auf. Weiterhin beschreibt *Jorns* (1988) eine Al-induzierte spezifische Metakutisierung durch Suberinisierung der das Wurzelmeristem umgebenden Zellwände, die so ein Abschlußgewebe darstellt, welches das Meristem der Wurzel auch vor anderen Stressfaktoren schützen soll. Die Al-induzierte Metakutinisierung führte in diesen Experimenten zu einer Hemmung der absoluten Mg-Aufnahme in die Wurzeln sowie zu einer K-Abgabe aus den Wurzelzellen. Ähnliche anatomische Veränderungen in den Feinwurzeln neben weiteren Einlagerungen von Polyphenolen im Zentralzylinder und vermehrter Einlagerung von Gerbstoffen beschreiben z.B. *Stienen* (1985) und *von Alten* (1986) an geschädigten Altfichten am Waldstandort.

Im Gegensatz zu den obigen an Fichtenkeimlingspflanzen erzielten Befunden wiesen Experimente von *Evers* (1983) an zweijährigen bewurzelten Fichtenstecklingen nach vier Monaten Behandlungszeit mit 0,2 - 1,5 mmol / l Al-Angebot in Nährlösung (mit einem minimalen molaren Ca / Al - Verhältnis von 0,67 bzw. Mg / Al - Verhältnis: 0,4) keine äußerlich erkennbaren morphologischen oder farblichen Veränderungen der Wurzeln auf, bei einem nur gering verminderten Wurzelwachstum. Dies stimmt mit Befunden an verschiedenen Pflanzengattungen überein, die eine größere Al-Toleranz bei älteren gegenüber jungen Pflanzen zeigten (*Foy* 1984). Die Gesamt-Elementgehalte in den Wurzeln der Fichtensteckling zeigten im Vergleich zur Kontrollreihe mit steigender Al-Zugabe in der angebotenen Nährlösung einen bis 25fachen höheren Al-Gehalt und eine damit verbundene Minderung des Ca-Gehaltes auf 1/10 und des Mg-Gehaltes auf ca. die Hälfte. Der K-Gehalt verringerte sich dagegen nur gering, bei einer Erhöhung des Phosphatgehaltes, was viele Autoren (*Clarkson* 1967; *McCormick & Borden* 1974; u.a.) auf eine Aluminium-Phosphat-Ausfällung zurückführen. Besonders die deutliche Erniedrigung der Ca-

und Mg-Gehalte in Wurzeln bei Al-Zugabe im angebotenen Medium ist mit der bereits oben erwähnten Konkurrenz als eine kompetitive Verdrängung an Bindungsstellen der Zellwände ("Al-Antagonismus") erklärbar, wie auch in den bereits erwähnten Hydrokultur-Experimenten mit Fichtenkeimlingspflanzen festgestellt wird (*Junga* 1984; *Rost-Siebert* 1985; *Jorns & Hecht-Buchholz* 1985; *Stienen* 1985). Auch Gesamtanalysen von Feinwurzeln geschädigter Altfichten aus Waldschadensgebieten wiesen relativ niedrige Mg- und Ca-Gehalte auf, die häufig mit erhöhten Al- und Schwermetallgehalten einhergingen (z.B. *Ulrich et al.* 1984; *Murach* 1984; *Rademacher* 1986). Untersuchungen mit Mikrosonden-Analysemethoden zur Elementbestimmung auf zellulärer Ebene (*Bauch & Schröder* 1982; *Stienen et al.* 1984) zeigten im Vergleich von gesunden und geschädigten mykorrhizierten Feinstwurzeln von Altfichten eine deutliche Verringerung der relativen Ca- und Mg-Gehalte in den Zellwänden der Cortex-Schicht bei einer gleichzeitigen Erhöhung der relativen Al-Gehalte im Cortex. Im Zentralzylinder der intakten Feinstwurzeln waren die relativen Al-Gehalte dagegen deutlich geringer bzw. z.T. nicht nachweisbar.

Die Befunde der Elementbestimmung in Wurzeln zeigen, daß neben der direkten Schädigung der Feinwurzeln durch Al- und / oder H-Ionen auch ein Mangel an Mg und Ca als Auslöser der Schädigungen denkbar ist, wie dies z.B. *Zöttl* (1983) und *Hüttl & Zöttl* (1985) beschrieben. *Zöttl* (1983) wies darauf hin, daß Fichten allgemein im Vergleich zu anderen Pflanzen als sehr Al-tolerant gelten müssen. Dabei wird die Versorgung mit "Nährkationen" durch Kalkungen als Kompensationsdüngung auf sauren Fichten-Standorten deutlich verbessert, was sich nach *Stienen* (1985) im Elementgehalt der Feinwurzeln, dem Zuwachsverhalten im Stamm sowie der Aktivität im Kambium wiederspiegeln soll.

Neben der Erniedrigung der Ca- und Mg-Gehalte in Fichtenwurzeln bei höheren Al-Angeboten in der Nährlösung, bzw. bei geschädigten Freilandfichten je nach chemischem Bodenzustand, finden sich auch in Abhängigkeit von den Versuchsbedingungen im Sproß der Pflanzen im Vergleich zu Kontrollpflanzen erniedrigte Gehalte. Dabei wurden in der Regel die Elementgehalte in den Nadeln bestimmt und als möglicher Schädigungsindikator herangezogen. Vor allem in Hydrokultur-Experimenten (s.o.) mit Fichtenkeimlingspflanzen und bewurzelten Stecklingen konnte in der Regel nach genügend langer Versuchzeit eine Verringerung besonders des Mg- aber auch im Ca-Gehalt nach hohem Al-Angebot nachgewiesen werden (*Evers* 1983; *Jorns & Hecht-Buchholz* 1985). Bei erkrankten Altfichten von verschiedenen Waldschadensstandorten stellte *Rademacher* (1986) in umfangreichen Untersuchungen neben standortbedingten Veränderungen im Gehalt der Makronährelemente K, Mg und Ca in den Feinwurzeln auch dieses in den Nadeln fest. Dabei korreliert die niedrigere Versorgung in der Regel mit einer Verarmung auf der Angebotsseite in der Bodenlösung. Im Stammxylem fand er dagegen keine niedrigeren Makronährelement-Gehalte im Vergleich von gesunden und erkrankten Altfichten (siehe auch *Bauch et al.* 1985). Unterschiede fand er hier in einer Erhöhung des Gehaltes an löslichen Zuckern und Erniedrigung des Wassergehaltes bei erkrankten Fichten (vgl. *Göttsche-Kühn* 1988; *Puls & Rademacher* 1988).

Nach *Fink* (1988, 1989a+b) führt Mineralstoffmangel (Mg, Ca, K) - auch ohne eine direkte Schadwirkung gasförmiger Luftschadstoffe über die Nadeloberfläche annehmen zu müssen - zu einem vorzeitigen Kollaps der Siebzellen im zentralen Leitbündel von Fichtennadeln. Dies fand er sowohl an vergilbten wie auch an grünen Nadeln erkrankter und experimentell behandelter Fichten. *Ruetze et al.* (1988) und *Schmitt & Ruetze* (1990) beschrieben eine direkte Schädigung bei Nadeln nach Begasung mit Luftschadstoffen vor allem als nekrotische Veränderungen im Mesophyll. Seneszenzbedingte wie auch pathologische Strukturveränderungen im Mesophyll von Fichtennadeln fanden *Meyberg et al.*

(1988) bei Probennahmen aus einem Waldschadensstandort. Untersuchungen von *Stienen et al.* (1985) und *Jurat & Schaub* (1988) an Fichtensämlingen in Klimakammern zeigten z.T. nach Begasung mit Schadgasen (SO_2 ; O_3) eine Veränderung der Mineralstoff-Aufnahme. Weiterhin führt eine saure Beregnung bzw. saurer Nebel bei Nadeln zur Auswaschung von Nährelementen (="*Leaching*"; *Kreutzer & Bittersohl* 1986; *Mengel et al.* 1987; *Guderian et al.* 1987). Unter Standortbedingungen macht der ausgewaschene Elementanteil meist nur einen geringen Anteil am gesamten Elementgehalt der Nadeln aus.

Eine Erhöhung der K-, Mg- und Ca-Gehalte in den Nadeln - bei zunächst festgestellten relativ niedrigen Gehalten - läßt sich durch entsprechende Kompensationsdüngung mit Zeitverzögerung und langfristiger Wirkung nachweisen (z.B. *Kenk et al.* 1984; *Aldinger* 1987; *Isermann* 1987; *Hüttl* 1989). Während man über den Einfluß des Nährstoffangebotes auf die Entwicklung von Bäumen in Hydrokulturen und über deren Nährstoff-Aufnahme und -Festlegungsraten und -Bedarf auf umfangreiche Daten und Befunde zurückgreifen kann (z.B. *Ingestad* 1959, 1979, 1982), ist dies für Bäume im Bestand - gegenstands- und methodenbedingt - weniger möglich und oft auf empirische Beobachtungen und Schlußfolgerungen angewiesen. Auch ist das Wissen über die Mechanismen und Einflußparameter nicht nur beim Kurzstrecken- und Mittelstrecken-Transport der Nährstoffe in der (mykorrhizierten) Feinstwurzel von der Rhizoplanen aus bis ins primäre Xylem nicht ausreichend (s.o.), sondern auch beim anschließenden Langstrecken-Transport bis in den Stamm und darüber hinaus in die Blattorgane. Gezeigt worden ist, daß hier Adsorptionsvorgänge, antagonistische Effekte, Komplexierungsvorgänge und der physiologische Zustand der gesamten Pflanze eine große Rolle spielen (z.B. *Thomas* 1967, 1969; *Isermann* 1969, 1978; *Wieneke* 1969, 1974; *Wieneke & Führ* 1973; *Bradfield* 1976; *Korte* 1985; *Türk* 1990).

Eigenes Untersuchungsprogramm

Für eine möglichst detaillierte Beschreibung des Einflusses des chemischen Bodenzustandes auf die Versorgung von Bäumen unter Berücksichtigung umweltrelevanter Parameter sind Untersuchungen zur Charakterisierung der physiologischen Mechanismen bei der Ionenaufnahme aus der Bodenlösung und des aktiven wie passiven Ionentransportes im Pflanzengewebe von grundlegender Bedeutung. Dabei spielen aktive und passive Ionenaufnahme in Feinstwurzeln, Ionenaustauscher-Eigenschaften und Zugänglichkeit der Feinstwurzeln und der nachfolgenden Gewebe, Ionentransport-Mechanismen im Nah- und Ferntransport innerhalb der Gewebe, Funktion der Mykorrhiza, Kontrollmechanismen beim Zugang von möglicherweise toxischen Substanzen, Reaktionen auf Stressoren, morphologische, anatomische und funktionelle Zusammenhänge und nicht zuletzt die Übertragbarkeit auf natürliche Gegebenheiten eine wesentliche Rolle.

Diese Fragen lassen sich nur bedingt mit den häufig angewandten Bulkanalyse-Methoden zum Elementnachweis beantworten. Bulkanalysen lassen z.B. wegen der engen räumlichen Beziehung von Hyphen und Cortexzellen nur beschränkte Aussagen über Ionentransportvorgänge in Mykorrhizen zu. Besonders für entwicklungsabhängige Unterschiede von Ionenaufnahme und -speicherung oder ihre Verteilung in Mykorrhizen muß mit lokalisierenden Methoden gemessen werden. Daher wurden in der vorliegenden Arbeit insbesondere Messungen auf zellulärer Ebene mit Hilfe zweier Methoden der Mikrosonden-Analyse durchgeführt. Dabei handelt es sich um die Energie-Dispersive-Röntgen-Analyse (EDXA) und die Laser-Mikrosonden-Massen-Analyse (LAMMA).

Die Energie-Dispersive-Röntgen-Analyse ermöglicht die Messung von Elementzusammensetzungen an Präparate-Dünnschnitten mit örtlicher Auflösung von deutlich unter 1µm. Die Methode wurde von *Läuchli* (1967) zum erstenmal für Messungen von Ionenverteilungen in Pflanzengeweben benutzt. Erste Untersuchungen zum zellulären Nachweis von Elementen in Feinstwurzeln von Fichten wurden mit dieser Methode von *Bauch & Schröder* (1982) und von *Stienen et al.* (1984) durchgeführt, wobei sie deutliche Unterschiede zwischen gesunden und geschädigten Fichten im Gehalt verschiedener Elemente lokalisieren konnten (s.o.).

Ebenfalls an Dünnschnitten kann mit der Laser-Mikrosonde die Isotopenzusammensetzung in zellulären Bereichen von 1-2µm Durchmesser gemessen werden. Erste Messungen mit LAMMA an mykorrhizierten Feinstwurzeln wurden von *Bauch & Schröder* (1982) an gesunden und geschädigten Tannen und Fichten durchgeführt (s.o.). *Schröder et al.* (1988) wandten erstmals die Markierung der Versuchslösungen mit stabilen Isotopen auf Wurzeln aus Fichten-Erdkulturen und *Kuhn et al.* (1988) auch auf unmykorrhizierte Fichten und an Fichten mit definierter Mykorrhizierung aus Sterilkulturen an. Dabei hat eine Isotopen-Markierung - vor allem die Markierung mit stabilen Isotopen in zellulären Bereichen - gegenüber "normalen" reinen Elementgehalt-Bestimmungsmethoden (z.B. EDXA) entscheidende methodische Vorteile. Mit Hilfe von LAMMA konnte so zwischen bereits vorhandenen und aus den Lösungen neu aufgenommenen Elementen (Mg, K, Ca) anteilmäßig unterschieden werden. Die Versorgung mit diesen mineralischen Makronährelementen (die weiteren sind S, N und P) ist für die Aufrechterhaltung vielfältiger physiologischer Funktionen in Pflanzen ausschlaggebend (*Baumeister & Ernst 1978*; *Mengel* 1984), die im Rahmen der Waldschaden-Ursachenforschung eine wesentliche Rolle spielen (s.o.). Die Kombination der relativen Aussagen der Massenspektrometrie (LAMMA) mit quantitativen Bulk-Elementanalyse-Methoden (ICP-OES, TRFA) eröffnet darüber hinaus die Möglichkeit, eine Gesamtbilanz der mineralischen Nährstoffaufnahme und -verteilung in Pflanzen für Mg, K und Ca zu erstellen.

Um unter kontrollierten Laborbedingungen den Gegebenheiten am Standort möglichst nahe zu kommen, wurden Fichten aus verschiedenen Erdkulturen benutzt. Auf Grund der oben aufgeführten Fragestellung kamen - vor allem wegen der anatomisch funktionellen Zusammenhänge, speziell in diesem System - die in der Regel verwendeten Nährlösung-Hydrokulturen nicht in Betracht. Für Experimente zur Bedeutung der Mykorrhiza für die Nährstoffaufnahme wurden sterile Fichten und solche mit definierter Mykorrhizierung verwendet (*Kottke et al.* 1987). Zur Beurteilung der an diesen Modellsystemen erhaltenen Aussagen wurden Untersuchungen an Mykorrhizen von 90- bis 120-jährigen Fichten aus einem Waldschadensgebiet durchgeführt, von dem Untersuchungen im Rahmen eines umfassenden Forschungsprogrammes vorlagen (*Bauch & Michaelis* 1988).

3. Pflanzenmaterial

Die dieser Arbeit zugrundeliegenden Fragestellungen nach den Einflußfaktoren auf die Versorgung von Fichten mit mineralischen Nährstoffen und nach den dabei zugrundeliegenden Mechanismen erfordern methodenbedingt unterschiedliches Ausgangs-Pflanzenmaterial. Der Beschreibung der Ausgangslage der Elementversorgung von Altfichten mit unterschiedlicher Schadklasse am Naturstandort, die in umfangreichen weiteren Untersuchungen eingebettet sind, folgen Untersuchungen unter kontrollierten Bedingungen an zwei- und dreijährigen Fichten aus verschiedenen Erdkulturen wie auch an Sterilkulturen von Fichtensämlingen zur Frage nach dem Einfluß der Mykorrhizierung auf die Elementversorgung von Fichten.

3.1 Altfichten am Standort

Beim Naturstandort handelt es sich um den Standort "POSTTURM" im Forstamt Farchau / Ratzeburg (Revier Gretenberge, Abteilung: 82 u. 83) ca. 30km nordöstlich von Hamburg. Hier wurden im Rahmen eines Waldschaden-Forschungsprogrammes umfangreiche Untersuchungen durchgeführt (*Bauch & Michaelis* 1988). Erste deutliche Schäden im Bestand traten erstmals etwa 1981 auf. Das Waldschadensgebiet mit ausgeprägtem urbanen Einfluß besteht aus einer geschlossenen Waldfläche von ca. 140ha eines 90 bis 120 Jahre alten Mischbestandes (vorwiegend Fichte; durchmischt mit Kiefer, Buche und Eiche). Schwach lehmige Sande mittleren Silikatgehaltes überwiegen auf der meist sandig/ kiesig ausgeprägten Endmoräne. Als Bodentyp haben sich schwach bis mäßig podsolige Braunerden gebildet.

Als Untersuchungsmaterial dienten Feinstwurzeln zweier, etwa 20m voneinander entfernter Altfichten (*Picea abies* [L.] Karst.). Die Bäume wurden zum Zeitpunkt der Probennahme in die Schadklassen 3 (Baum 729) bzw. 0 (Baum 730) eingestuft. Es wurden Hauptwurzelstränge mitsamt deren - in der Regel mykorrhizierten - Feinstwurzeln und dem sie umgebenden Boden aus 3 aufeinanderfolgenden Tiefen geborgen. Dabei handelt es sich um den obersten, intensiv durchwurzelten Bodenhorizont (0-10cm [O_h / A_{eh} / A_eB_s]) und um zwei weniger stark durchwurzelte Tiefen des nachfolgenden Mineralbodens (10-30cm [B_s / B_{sv}] und 30-50cm [B_v / C_v]; *Rademacher et al.* 1988; Bezeichnung der Bodenhorizonte: *Scheffer & Schachtschabel* 1976). Die Probennahme für die hier dargestellten Untersuchungen erfolgte zum Ende der Vegetationsperiode (Oktober 1989). Nach der Probennahme wurden die Wurzeln bis zur Probenpräparation (16-20h später) für Bulk- und Mikrosonden-Analysen bei ca. +4°C mit der sie umgebenden Erde aufbewahrt.

Neben den Elementkonzentrationen und den Mikrosonden-Analysedaten der Feinstwurzeln werden im Kap. 6.1.1. einige mit der Ionenchromatographie erhaltene Daten, pH-Werte und Elementkonzentrationen der zentrifugierten Bodenlösungen dargestellt.

3.2 Erdkulturen zwei- und dreijähriger Fichten

Einjährige Fichtensämlinge (*Picea abies* [L.] Karst.) einer Provenienz (Harzvorland / Westerhof; Abteilung: 840-03, 840-10 u. 840-13) wurden in Pflanzgefäßen (ca. 1000ccm) auf verschiedenen Erden 1 Jahr bzw. 2 Jahre im Gewächshaus angezogen. Während dieser Zeit änderte sich der chemische Zustand der Böden. Vor allem führte eine zeitweise Bewässerung mit städtischem Leitungswasser zu einem nachteiligen deutlichen Elementeintrag in die Erdkulturen und damit zur Nivellierung der Elementgehalt-Unterschiede in den Bodenlösungen der Standortböden (siehe Diskussion, Kap. 7.1; Ausgangszustand der Standort-Böden: siehe Kap. 6.1.1.). Bei den gewählten Substraten handelt es sich um Gärtnerei-Normalerde mit hohem Nährelementgehalt, bestehend aus 50% Quarzsand und 50% Gärtnereikompost, und um zwei Böden des Waldschadensstandortes "POSSTURM", Forstamt Farchau/ Ratzeburg (Auflage: 0-10cm; Mineralboden: 10-30cm; siehe auch Kap. 3.1.; z.T. wurden für eine vergleichende Versuchsserie Böden aus dem Forstamt Fichtelberg / Bayern benutzt, *Riedel* 1989). Die Werte für die Elementzusammensetzung der zentrifugierten Bodenlösungen und des Boden pH-Wertes zum Zeitpunkt des Austopfens (August) sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Wie die Untersuchungen zeigten, waren die Feinstwurzelsysteme der Fichten-Erdkulturen nahezu vollständig mykorrhiziert. Querschnitte im Bereich des sich entwickelnden Xylem der nicht identifizierten Mykorrhizen zeigten ein bis an die Endodermis reichendes, einschichtiges Hartig'sches Netz und einen dünnen Hyphenmantel (vgl. Abb. 4). Abziehende Hyphen oder Rhizomorphen wurden in den Erdkulturen nur selten festgestellt. Die Mykorrhizen aus Mineralboden ließen sich optisch nicht eindeutig von denen aus der Auflage unterscheiden. Im Mittel zeigten sie einen geringfügig breiteren Hyphenmantel als Mykorrhizen aus Gärtnerei-Normalerde.

Tab.1: Elementkonzentrationen (bestimmt mit ICP-OES) und pH-Werte der zentrifugierten Bodenlösungen der Gärtnerei-Normalerde, der Auflage und des Mineralbodens des Standortes "Postturm" im Forstamt Farchau/Ratzeburg zum Zeitpunkt des Austopfens.

Element [ppm]	Normalerde	Auflage	Mineralboden
Ca	285,6	13,7	15,9
Mg	40,6	4,1	6,0
K	212,1	8,4	28,7
Na	25,3	15,0	19,7
P	3,6	2,3	0,3
S	115,5	15,0	21,1
Al	1,5	3,2	10,8
Bodenlösung - pH	5,90	3,39	3,49
Boden - pH (KCl)	6,36	2,90	3,34

3.3 Sterilkulturen von Fichtensämlingen

Im Rahmen einer wissenschaftlichen Kooperation (*Kuhn et al.* 1988) wurden an der Universität Tübingen (Spezielle Botanik / Mykologie) zur Anzucht von sterilem und definiert mykorrhiziertem Pflanzenmaterial Sterilkulturen angelegt (*Kottke et al.* 1987). Dazu wurde Samen von *Picea abies* (L.) Karst. (Staatsklenge Nagold), 25 Minuten lang in 30% H_2O_2 oberflächensterilisiert und auf MMN-Agar (modifiziert nach *Marx* 1969; s.u.) ausgelegt. Zwei Wochen später wurden die Keimlinge in 500ml Erlenmeyerkolben mit 300ml Perlit-Torfmoos-Gemisch und 150ml MMN-Lösung eingepflanzt. Die Kolben, in denen die Pflanzen ca. 8 Wochen verblieben, wurden mit sterilisierten Baumwollstopfen verschlossen. Anschließend wurden die Keimlinge in Petrischalen übertragen, wobei der Sproß durch ein Loch im Deckel der verschlossenen Schale außerhalb zu liegen kam, das Wurzelsystem sich hingegen im Innern der Schale befand (Abb. 1). Ein Teil der Pflanzen wurde weiter steril aufgezogen, der andere Teil wurde durch Zugabe eines mit Mycel bewachsenen Kohlefilterpapiers und zusätzlichen Impfstücken inokuliert. Als Pilzpartner wurde für den größten Teil der Untersuchungen *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch. ["Erbsenstreuling"] und zusätzlich für einen Vergleich *Hebeloma crustuliniforme* (Bull. ex. Fr.) Quèl. ["Tonblasser Fälbling"] gewählt. Beide Spezies lassen sich erfolgreich in Petrischalen kultivieren. Die Nährstoffe wurden auf zwei verschiedene Weisen angeboten. Im ersten Fall wurde das Kohlefilterpapier mit MMN-Lösung getränkt und durch regelmäßige Zugabe von MMN-Lösung feuchtgehalten. Im zweiten Fall wurde die Petrischale mit MMN-Agar gefüllt und ein abgekochtes Cellophanpapier aufgelegt, um zu verhindern, daß die Wurzeln in den Agar einwachsen (Zusammensetzung: siehe unten, nach *Kottke et al.* 1987). Nach der Beimpfung wurden die Pflanzen ca. 8 Wochen unter einer Plastikhaube im Klimaraum in H_2O-gesättigter Atmosphäre bei 20°C aufgezogen. Mit der Filterpapiermethode wurde eine Mykorrhizierung von 50 bis 80% erreicht, bei der Agarmethode von 90 bis 100%.

- **MMN-Flüssigmedium:** je Liter: 50mg $CaCl_2$; 25mg NaCl; 500mg KH_2PO_4; 250mg $(NH_4)_2HPO_4$; 150mg $MgSO_4{*}7H_2O$; 1mg $FeCO_3{*}6H_2O$; 0,1mg Thiamin-Hydrochlorid; 5g Glucose-Monohydrat; 10ml Spurenelementlösung (s.u.);
- **MMN-Agar:** wie oben, jedoch 10g Glucose-Monohydrat; 5g Malz-Extrakt; 1g Kasein; 2% Agar Agar (Merck 1614);
- **Spurenelementlösung:** je Liter: 3,728g KCl; 1,546g H_3BO_3; 0,845g $MnSO_4{*}H_2O$; 0,575g $ZnSO_4{*}7H_2O$; 0,125g $CuSO_4{*}5H_2O$; 0,018g $(NH_4)_6Mo_7O_{24}{*}4H_2O$;

Die Mykorrhizen aus Sterilkulturen hatten bei Entnahme einen sehr dicken Hyphenmantel und ein teilweise mehrschichtiges Hartig'sches Netz entwickelt. Abb. 2 zeigt einen Querschnitt einer *Pisolithus tinctorius - Picea abies* - Mykorrhiza. Die übermäßige Entwicklung des Pilzes könnte auf den hohen Kohlenhydrat-Gehalt im Nährmedium zurückzuführen sein (*Haug, pers. Mitt.*). Die steril angezogenen Fichten in Petrischalen wiesen zahlreiche Wurzelhaare auf (Abb. 3).

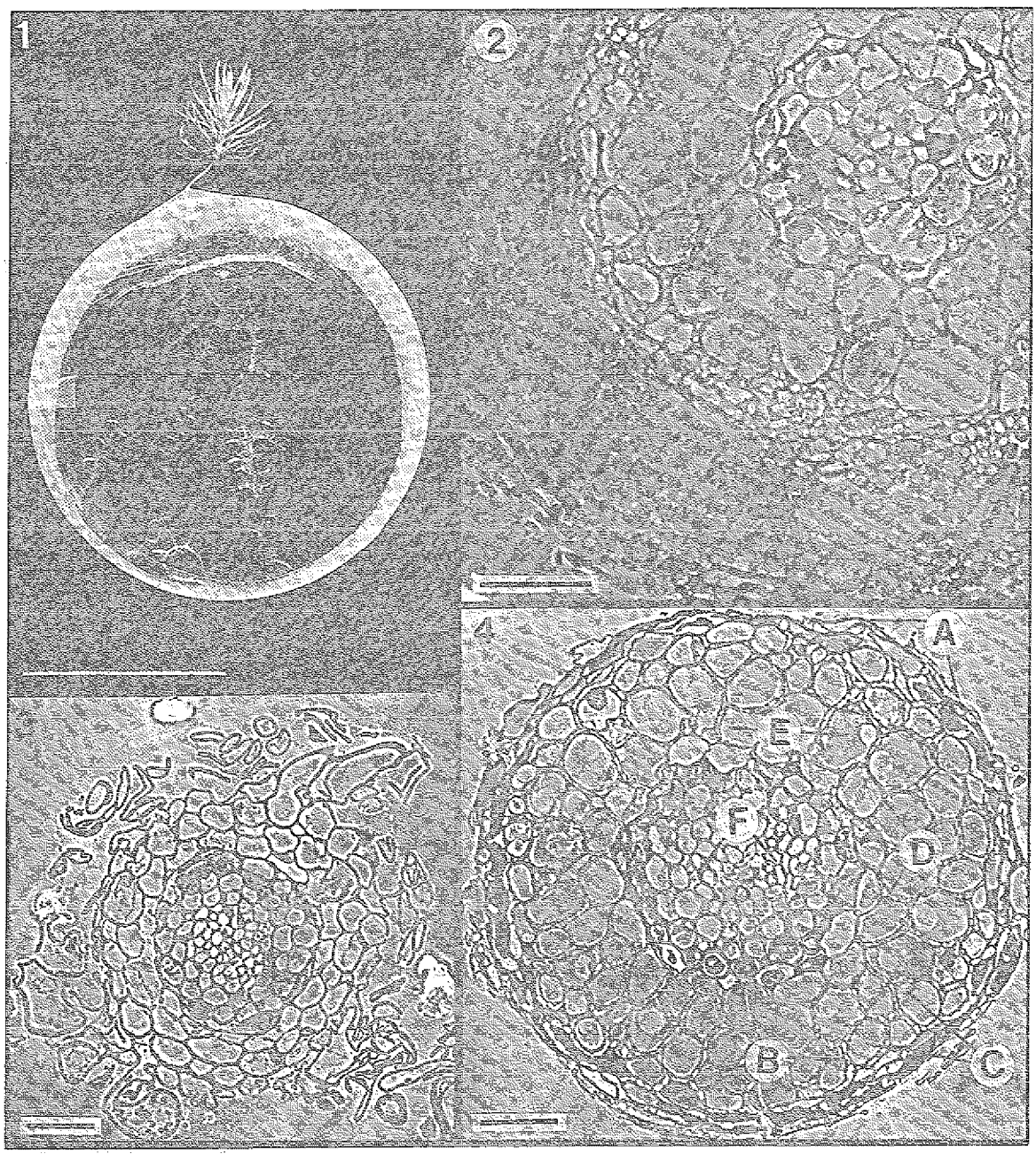


Abb. 1: Sterilkultur eines 4 Monate alten Fichtensämlings (*Picea abies* [L.] Karst.) mit *Pisolithus tinctorius* - Mykorrhizen; (Balken: 5cm)
Abb. 2: Ausschnitt eines Semidünnschnittes einer mit *Pisolithus tinctorius* mykorrizierten Feinstwurzel aus Sterilkultur, mit stark entwickeltem Hyphenmantel und z.T. mehrschichtigem Hartig'schen Netz zwischen den Cortexzellen, (Schnittdicke: 1µm; gefriersubstituiert; ohne Nachkontrastierung oder Anfärbung; Balken: 50µm)
Abb. 3: Semidünnschnitt einer sterilen Feinstwurzel eines Fichtensämlings aus Sterilkultur mit Wurzelhaaren; (Schnittdicke: 1,5µm; gefriersubstituiert; Balken: 50µm)
Abb. 4: Semidünnschnitt einer mykorrhizierten Feinstwurzel einer dreijährigen Fichte aus Normalerde-Kultur; dünner Hyphenmantel, einschichtiges Hartig'sches Netz (Schnittdicke: 1,5µm; gefriersubstituiert; Balken: 50µm); Meßpunkte bei der Mikroanalyse (s.u.): Zone A: Cortex-außen, Zone B: Zellwand - 2.Cortex-Zellreihe, Zone C: Lumen - 2.Cortex-Zellreihe, Zone D: Zellwand - 3.+4.Cortex-Zellreihe, Zone E: Lumen - 3.+4.Cortex-Zellreihe, Zone F: Zellwand - Primäres Xylem (Abb. 1 bis 4 aus: *Kuhn et al.* 1988)

4. Meßmethoden

Den zugrundeliegenden Fragestellungen entsprechend wurden in Kombination verschiedene Mikrobereichs- und Bulkproben-Analysemethoden eingesetzt. Zur Bestimmung der Element- und Isotopenverteilung im Pflanzengewebe wurden zwei sich ergänzende Mikrobereichs-Analysemethoden angewendet, die Laser-Mikrosonden-Massen-Analyse (LAMMA) und die Energie-Dispersive-Röntgenfluoreszenz-Mikroanalyse (EDXA). Als Hauptnachweis-Methoden für eine quantitative simultane Elementbestimmung in Bulkproben von Fraktionen des eingesetzten Pflanzenmaterials bzw. der Versuchslösungen wurden die optische Emissionsspektrometrie mit induktiv geheizter Argonplasmafackel (ICP-OES) und in Ergänzung die Totalreflexions-Röntgen-Fluoreszenz-Analyse (TRFA) eingesetzt. Für methodische Untersuchungen und bei einigen Versuchsreihen zum Verhalten von Ca in Bulkproben diente eine Markierung mit radioaktivem ^{45}Ca.

4.1 Laser-Mikrosonden-Massen-Analyse (LAMMA)

Mit einem Laser-Mikrosonden-Massen-Analysator werden mit hoher Empfindlichkeit positive oder negative Ionen massenspektrometrisch nachgewiesen. Der grundlegende Aufbau dieses Gerätes besteht aus einer Kombination eines Lichtmikroskopes mit einem Flugzeit-Massenspektrometer. Abb. 5 zeigt ein Schema des Aufbaues des verwendeten Laser-Mikrosonden-Massen-Analysators "LAMMA 500" zur Analyse dünner Proben, in der Regel in Form von Dünnschnitten oder Folien einer Dicke zwischen 0,1 und 2µm (Geräte-Hersteller: LEYBOLD-HERAEUS; *Hillenkamp et al.* 1975; *Wechsung et al.* 1978). Dieses Gerät wurde zur Analyse von Elementverteilungen in biologischen und medizinischen Proben entwickelt.

Beim hier verwendeten LAMMA 500 dient das Lichtmikroskop nicht nur zur Betrachtung der zu analysierenden Probe, sondern gleichzeitig auch zur Fokussierung zweier kolinearer Laserstrahlen auf den gewünschten Analysenbereich. Diese werden zwischen Okular (10x) und dem UV-durchlässigen Objektiv (hier:100x) in den Strahlengang des Lichtmikroskopes eingekoppelt. Die auf einem, in der Elektronen-Mikroskopie üblicherweise benutzten, Präparat-Trägernetz aus Kupfer (Außendurchmesser: 3,05mm; hier: Sandwich-Grid Typ: DH 75 von VECO) aufgebrachte Probe (hier: 0,5µm dicker Dünnschnitt) befindet sich hinter einem dünnen Quarzglas (Dicke: 0,2mm) auf einem in X-Y - Richtung verschiebbaren Probentisch am Anfang der Vakuumkammer des Massenspektrometers bei 10^{-6} bis 10^{-5} mbar (siehe Abb. 5). Zum Einstellen des ausgewählten Analysenbereiches mit Hilfe zweier X-Y - Mikromanipulatoren dient einer der beiden Laser, ein kontinuierlicher Helium-Neon-Ziel-Laser (ca. 2mW Ausgangsleistung). Der auf dem Semi-Dünnschnitt beobachtbare Reflex wird auf die gewählte Stelle fokussiert. Dabei erfolgt die Probenbetrachtung im Durchlicht über ein Kondensorsystem, welches vakuumseitig unmittelbar hinter der Probe angebracht ist. Dieses wird, nachdem die Auswahl des zu analysierenden Probenbereiches erfolgte, für die Massenanalyse durch ein parallel verschiebbares ionenoptisches System ausgetauscht. Nun wird der im selben Fokus liegende zweite Laser, ein hochenergetischer Leistungs-Impuls-Laser eingesetzt. Dabei handelt es sich um einen Neodym-YAG-Laser mit einer Wellenlänge nach Frequenz-Vervierfachung von 265nm, bei einer Impuls-Halbwertsbreite von ca. 10ns (Laserenergie bei 1060nm ca. 80mJ). Die einstellbare Bestrahlungsstärke im Fokus auf der Probe liegt zwischen 10^8 und maximal 10^{11} W / cm^2. Diese Energiedichte reicht aus, das Probenmaterial zu verdampfen und ein Mikroplasma zu erzeugen, welches neben neutralen Atomen,

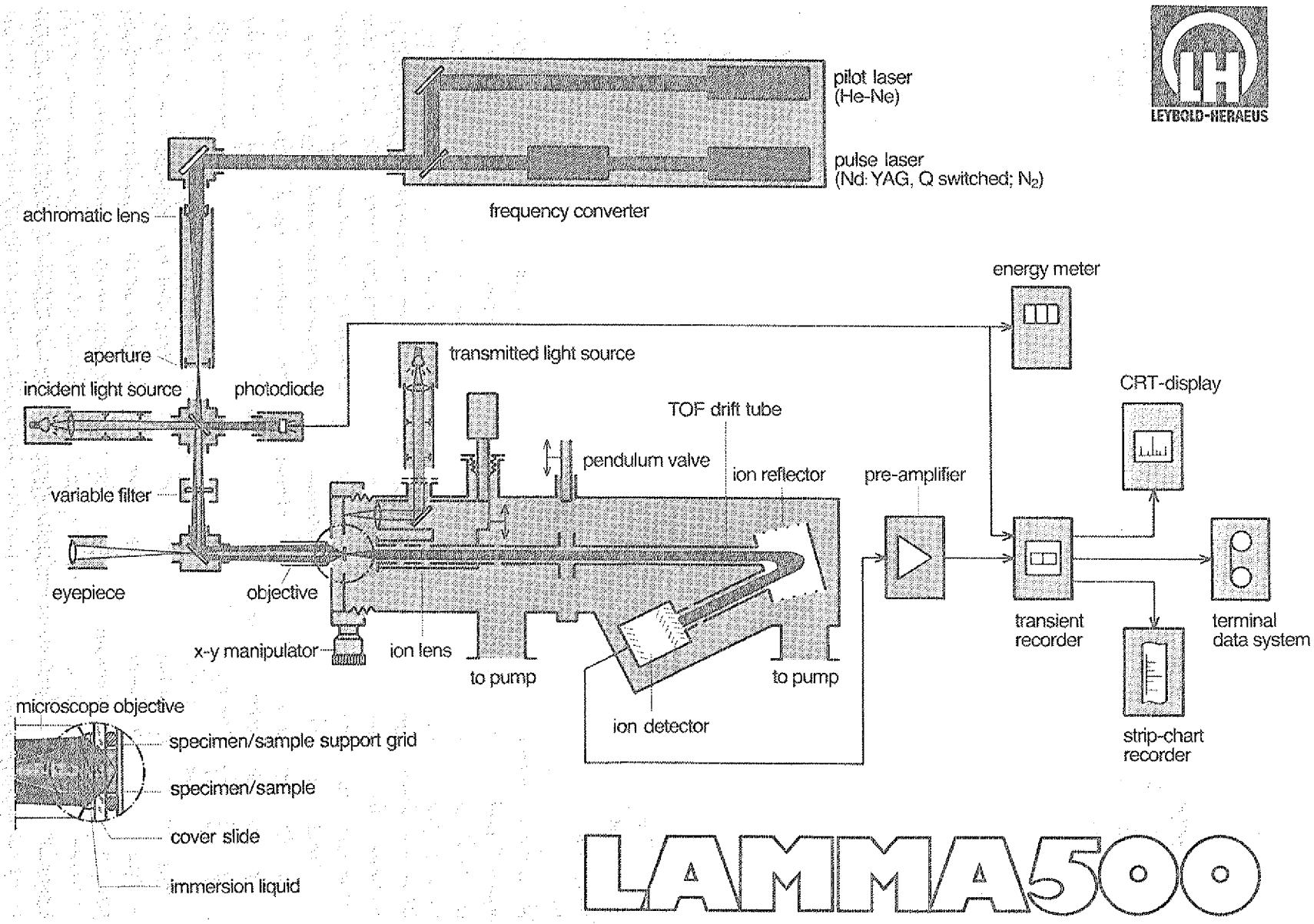


Abb. 5: Schemazeichnung des verwendeten Laser-Mikrosonden-Massen-Analysators LAMMA 500 von LEYBOLD-HERAEUS / Köln; zur Erläuterung siehe Text (Originalschema von LEYBOLD-HERAEUS)

kleinen molekularen Fragmenten und Elektronen, vor allem Ionen mit überwiegend einfacher negativer oder positiver Ladung beinhaltet. Der Plasma-Bildungsprozeß, auf den hier nicht näher eingegangen werden soll, ist theoretisch noch nicht in allen Details aufgeklärt. Für einen umfassenden Überblick über die Wechselwirkung zwischen Laser und Materie siehe *Allmen* (1987). Unter optimalen Bedingungen kann hier eine minimale Mikroperforation von ca. 0,5µm Durchmesser erzeugt werden. An in der vorliegenden Arbeit gemessenen leicht geweiten Trockenschnitten beträgt der Durchmesser der Analysenpunkte ca. 1-2µm.

Die durch den Laserpuls innerhalb weniger Nano-Sekunden in der Probenkammer erzeugten Ionen werden im nachfolgenden ionenoptischen System des Flugzeit-Massenspektrometers (TOF = time of flight) beschleunigt und fokussiert. Je nach Vorzeichen der dabei benutzten Potentialdifferenzen werden entweder Anionen oder wie bei den vorliegenden Untersuchungen Kationen nachgewiesen. Dazu werden die aus der Probe freigesetzten Ionen zunächst vom Grundpotential ausgehend durch ein über ein Gitter angelegtes elektrisches Feld (hier: -3KV) innerhalb weniger cm beschleunigt. Ionen gleicher Ladung erhalten dadurch eine gleiche kinetische Energie. Dem sehr kurzen Beschleunigungsbereich folgt eine feldfreie Driftstrecke von ca. 180cm Länge. Während die - bei gleicher Ladung - nahezu monoenergetischen, unterschiedlich schweren Ionen die Driftstrecke zurücklegen, werden sie aufgrund ihrer unterschiedlichen Driftgeschwindigkeit ihrer Masse und Ladung nach diskriminiert (*Schröder* 1991). Da im wesentlichen nur einwertige Ionen auftreten, soll im folgenden nur deren Verhalten genauer betrachtet werden. Die Flugzeit, die die Ionen bis zum Ende der Driftstrecke benötigen, ist proportional der Quadratwurzel aus ihrer Masse. Die elektromagnetische Ionen-Immersionslinse und ein in der Driftstrecke befindlicher doppeltfokussierender Ionenreflektor sorgen bei hoher Transmission (50-80%; *Wechsung et al.* 1978) für eine Abbildung des analysierten Probenortes auf dem am Ende der Driftstrecke liegenden Ionendetektor. Hierbei handelt es sich um einen offenen Sekundär-Elektronen-Vervielfacher (SEV), auf dessen erste Dynode (Potential: -5KV) die Ionen zeitlich unterschiedlich ihrer Masse entsprechend auftreffen und dort Elektronen auslösen, die in den nachfolgenden Dynoden vervielfacht werden. So wird ein komplettes Kationen- bzw. Anionen-Spektrum des analysierten Probenvolumens erhalten. Wegen der z.T. sehr stark differierenden Meßsignalgrößen bei unterschiedlichem Probenmaterial wurde eine hochspannungsfeste Umschalteinheit konstruiert, die den kurzfristigen Wechsel des Abgreifens des Spannungssignales entweder an der 12. oder an der 17. Dynode des SEV ermöglicht.

Im hier benutzten modifizierten LAMMA 500 wird das SEV-Ausgangssignal in zwei Signale getrennt, um einen variierbaren Faktor - hier in der Regel 10 - unterschiedlich nachverstärkt (um einen höheren dynamischen Bereich für die Daten zu erhalten) und über zwei schnelle A/D-Wandler in zwei 100 MHz-Transientenrecorder digital mit 8 Bit Auflösung zwischengespeichert. Bei einer der Kanalbreite entsprechenden zeitlichen Auflösung von minimal 10ns wird der Massenbereich von 0 bis ca. 365 abgedeckt (jeweils 8192 Kanäle; LE CROY; Typ: TR 8818). Die Daten beider Transientenrecorder werden anschließend von einem Minirechner (HEWLETT PACKARD, Serie 1000 / A900; Betriebssystem: RTE / A) übernommen, beide Spektren wieder zusammengesetzt und nach verschiedenen Gesichtspunkten ausgewertet. Einer Bearbeitung mit einem Peak-Erkennungs-Programm folgt ein Kalibrierungs-Verfahren, mit dessen Hilfe den zeitlich einlaufenden Signal-Peaks die entsprechenden Atom-Massen-Einheiten - dividiert durch die Ladung - zugeordnet werden können. Bei den hier wesentlich auftretenden Ionen mit einfacher Ladung entspricht dies der Isotopen-Massenzahl (m / e). Die Fläche der Peaks ist ein direktes relatives Maß für die Anzahl der Ionen, die den Detektor erreichen. Das Auftreten mehrfach geladener Ionen, der hier besonders interessierenden Elemente Mg,

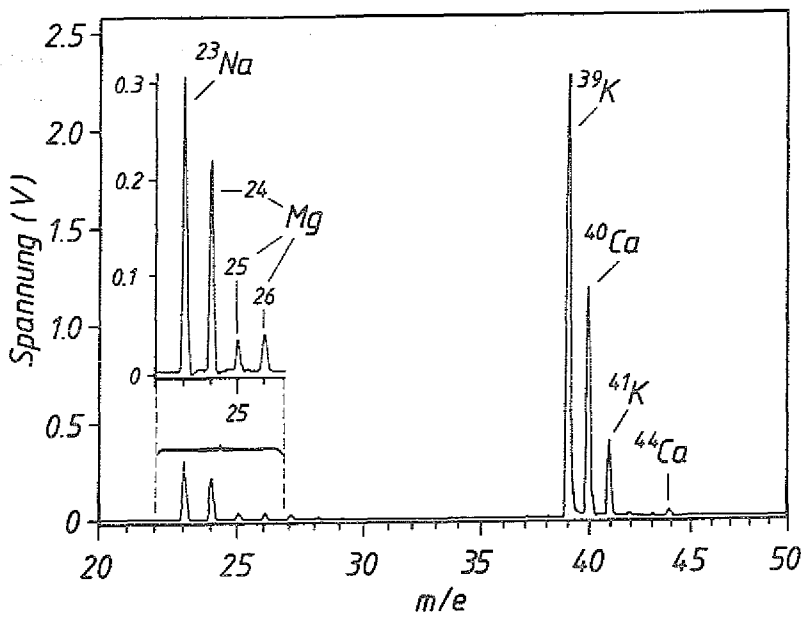
K und Ca konnte im Rahmen der Meßgenauigkeit nicht beobachtet werden. Besonders bei optisch nicht exakt fokussiertem Analysenpunkt treten jedoch Ionen durch den Impulslaser nicht aufgeschlossener organischer Molekülbruchstücke auf, die dem Elemente-Ionen-Spektrum überlagert sind und deren Auswertung z.T. unmöglich machen. Solche Spektren werden bei der bestehenden Fragestellung daher verworfen. Für weitere Details der Auswertung siehe *Eschweiler* (1987).

Untersuchungen von *Wechsung et al.* (1978) zur Bestimmung der Element-Nachweisgrenzen beim LAMMA 500 zeigten für verschiedene Elemente unterschiedliche Ionenausbeuten. Sie benutzten dazu 0,1µm dicke Epoxidharz-Folien, die mit verschiedenen Elementen dotiert waren. Bei einem analysierten Probenvolumen von ca. $3 \times 10^{-13} cm^3$ liegt die Nachweisgrenze des Verfahrens je nach Element bei 10^{-18} bis 10^{-20}g und damit im Mittel mindestens 1 bis 2 Größenordnungen niedriger als bei der Röntgen-Mikrosonde mit Kristallspektrometer. Auf Konzentrationen bezogen ermittelten sie Nachweisgrenzen [in ppm] z.B. für Li: 0,2; Na: 0,2; K: 0,1; Ca: 1 und Pb: 10 . Dies entspricht z.B. für Ca einer Nachweisgrenze von ca. 10000 Ca-Atomen im analysierten Probenvolumen. Die elemente-unterschiedliche Ionenausbeute sollte dabei nicht nur von der Ionenaktivierungs-Energie, sondern vor allem auch von den unterschiedlichen Bindungsenergien zur umgebenden Probenmatrix abhängen, welche in verschiedenen Proben bzw. Probenbereichen differieren kann (*Allmen* 1987). Dies ist der Hauptgrund dafür, daß z.Zt. eine absolute Quantifizierung der analysierten Elementmengen nicht oder nur mit sehr großem Aufwand über jeweils speziell hergestellte Standardproben mit Einschränkungen möglich ist (*Schröder* 1981; *Fain & Schröder* 1985).

Die Massenauflösung bei gleicher Driftstrecken-Anordnung und Zeitauflösung wurde von *Heinen* (1981) im hier interessierenden Massenbereich mit $M / \Delta M = 700$ angegeben. Sie ist u.a. durch die im wesentlichen thermisch hervorgerufene Anfangsenergie-Verteilung (hier < 10eV) der erzeugten Ionen limitiert. Der hier in der Driftstrecke eingesetzte doppeltfokussierende Ionenreflektor (hier: +130V; Abb. 5) kompensiert zum großen Teil die unterschiedlichen Driftzeiten für Ionen gleicher Masse, aber unterschiedlicher Anfangsenergie. Die Massenauflösung im hier untersuchten Massenbereich gestattet mit LAMMA eine eindeutige Trennung um Eins benachbarter Massenzahlen und damit die getrennte relative Bestimmung der hauptanteiligen Isotope der verschiedenen Elemente (hier für Mg, K, und Ca). Dadurch ermöglicht die Laser-Mikrosonde LAMMA 500 die Verwendung von angereicherten stabilen Isotopen zur Markierung von Elementbewegungen und Aussagen, auch unter Fließgleichgewichts-Bedingungen. So kann durch Verwendung angereicherter Isotope bei der Herstellung von Versuchslösungen, anders als z.B. bei EDXA, und ICP-OES Analysen, für jedes so markierte Element, zwischen vor Experimentbeginn vorhandenen und dann neu hinzugekommenen bzw. in die Versuchslösung abgegebenen relativen Elementanteil quantitativ, sowohl im zellulären Bereich wie auch in Bulkproben, unterschieden werden.

Ein Beispiel hierfür zeigt Abb. 6, in der zwei Kationenspektren von Cortex-Zellwänden von Fichten-Feinstwurzeln dargestellt sind. Die natürliche Zusammensetzung der stabilen Isotope der Probe im hier interessierenden Massenbereich zeigt Abb. 6a. Der Ausschnitt des Spektrums in Abb. 6b stammt ebenfalls von einer LAMMA-Messung einer Cortex-Zellwand, jedoch nach Markierung durch eine mit ^{25}Mg, ^{41}K und ^{44}Ca angereicherte Elementzusammensetzung in der angebotenen Versuchslösung. Die gemessenen deutlich erhöhten Anteile dieser Isotope am entsprechenden Elementgehalt des analysierten Probenvolumens zeigen die entsprechende Elementaufnahme aus der Markierungslösung

a)



b)

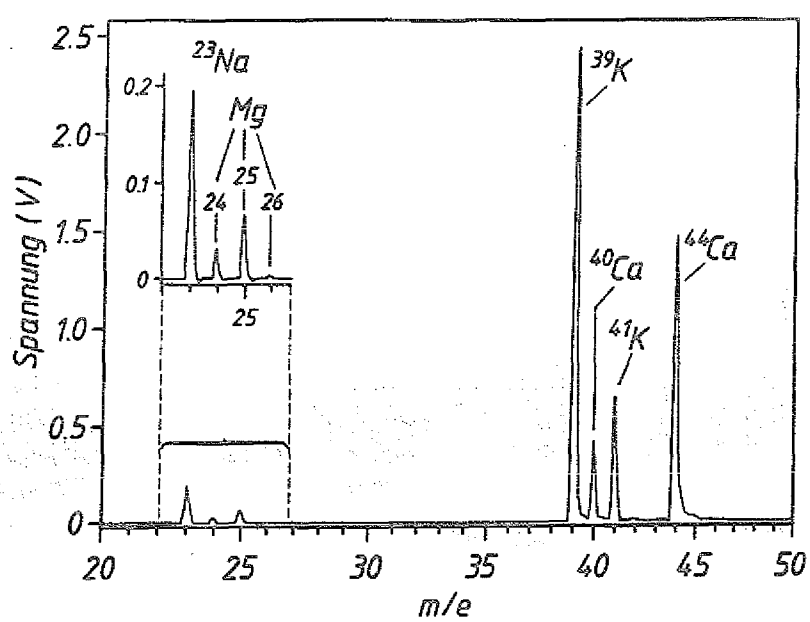


Abb. 6: Positive LAMMA-Spektren der Isotopenzusammensetzung von Cortex-Zellwänden; 3. Zellreihe in Mykorrhizen von dreijährigen Fichten aus Normalerde-Kultur; a) Kontrollpflanze: Natürliches Isotopenverhältnis ; b) nach 24-stündiger Markierung mit ^{25}Mg, ^{41}K und ^{44}Ca (je 1mmol/l); Analysepunkt: ca. 1-2µm im Durchmesser; gefriersubstituierte Proben

in die Cortex-Zellwand. Die genaue Meßausbeute der Apparatur für verschiedene Elemente ist auch bei dieser inhomogenen Probenmatrix nicht bekannt und da geeignete Meßstandards derzeit nicht herstellbar sind, sind absolute Mengen- bzw. Konzentrationsangaben über die Elementzusammensetzung im analysierten Probenvolumen nicht möglich. Daher können die erhaltenen Daten im folgenden lediglich in relativen Einheiten angegeben werden. Die relativen Messungen der anteilmäßigen Isotopenzusammensetzung eines jeweiligen Elementes sind jedoch - wie hier für Mg, K und Ca - von hoher Genauigkeit (im %-Bereich). So zeigen Kontrollmessungen u.a. an Lösungen eine gute Wiedergabe der relativen Isotopen-Zusammensetzungen der Elemente bei geringer Streuung (Abb. 7). Die Messung der Isotopenverhältnisse bekannter Zusammensetzung, wie bei Kontroll-Proben mit natürlicher Isotopenverteilung, stellt daher eine interne Kontrolle der erhaltenen LAMMA-Spektren und der quantitativen Aussagen über die jeweiligen Isotopenanteile dar.

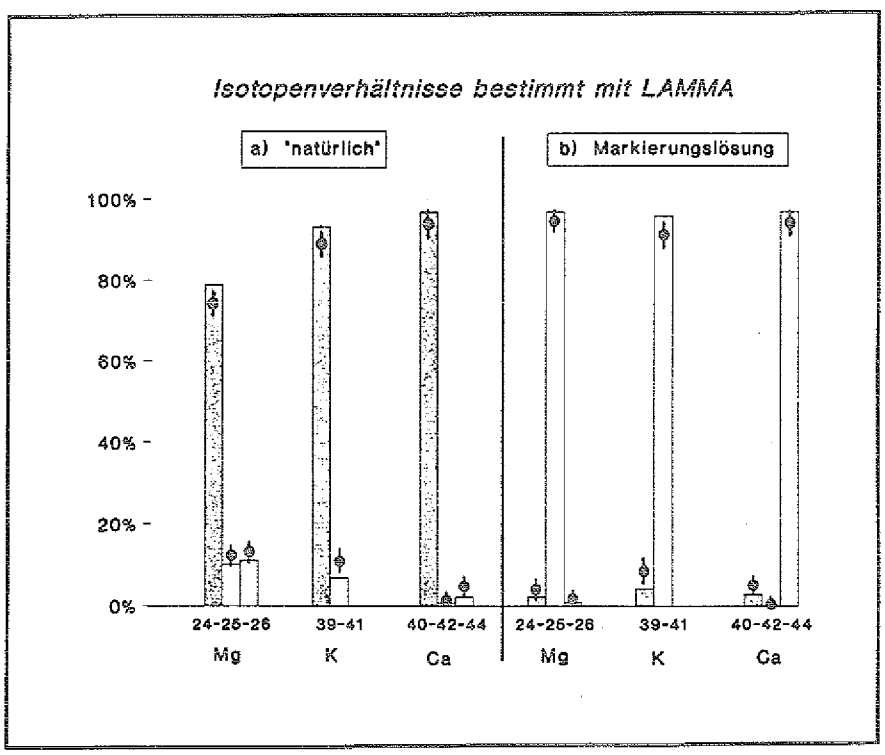


Abb. 7: a) Natürliche Isotopenzusammensetzung der häufigsten stabilen Isotope für Mg, K und Ca (Säulen stellen Werte nach *Weast* dar, 1989); b) Zusammensetzung der verwendeten stabilen Isotope für Markierungsversuche (Balken: Herstellerangaben = ^{25}Mg: 96,9% ± 0,4%; ^{41}K: 95,8% ± 0,4%; ^{44}Ca: 97,0% ± 0,3%); Punktdarstellung a) und b): Mittelwerte aus jeweils 40 LAMMA-Messungen mit Standardabweichung des Einzelwertes (aus: *Kuhn et al.* 1988)

Bei der Auswertung der Markierungsexperimente muß beachtet werden, daß die angebotenen angereicherten Isotope - genau wie die natürliche Isotopenhäufigkeit - nicht zu 100% aus nur einem Isotop des entsprechenden markierten Elementes, sondern anteilmäßig auch andere Isotope des Elementes in der Markierungslösung enthalten sind (siehe auch Tab. 2, Kap. 5.1). Die mit LAMMA

bestimmten relativen Isotopenverteilungen mußten daher mit den entsprechenden Isotopenzusammensetzungen korrigiert werden, um den jeweiligen Ursprung (Versuchspflanze vor Markierungsbeginn oder Markierungslösung) des betreffenden Elementes anteilmäßig zu bestimmen. Diese Korrektur wurde für jedes einzelne Spektrum und für jedes markierte Element durch die Lösung eines einfachen Gleichungssystemes mit zwei bzw. drei Unbekannten mit Hilfe einer Matrizenoperation durchgeführt. Ein Beispiel eines Gleichungssystemes aus drei Gleichungen mit drei Unbekannten für eine Zwei-Seiten-Markierung mit ^{42}Ca und ^{44}Ca ist im folgenden aufgeführt (analog bei Mg). Dabei ist mit "M" die jeweilige gemessene bzw. berechnete Fläche (in Relativ-Einheiten) der digitalisierten Signalpeaks bezeichnet, die den entsprechenden Atom-Massen-Einheiten (pro Ladung) zugeordnet werden können (*Eschweiler* 1987; s.o.).

$$M(^{40}Ca) = 0{,}9694\ Y_1 + 0{,}1121\ Y_2 + 0{,}0290\ Y_3$$

$$M(^{42}Ca) = 0{,}0065\ Y_1 + 0{,}8770\ Y_2 + 0{,}0006\ Y_3$$

$$M(^{44}Ca) = 0{,}0209\ Y_1 + 0{,}0090\ Y_2 + 0{,}9700\ Y_3$$

Die Lösung dieses Gleichungssystemes ermöglicht die Berechnung folgender Relationen:

$Y_1 / (Y_1+Y_2+Y_3)$ = Prozentualer Anteil am Ca-Gesamtgehalt des Spektrums mit natürlicher Isotopenzusammensetzung

$Y_2 / (Y_1+Y_2+Y_3)$ = Prozentualer Anteil am Ca-Gesamtgehalt des Spektrums der aus der ^{42}Ca - Markierungslösung stammt

$Y_3 / (Y_1+Y_2+Y_3)$ = Prozentualer Anteil am Ca-Gesamtgehalt des Spektrums der aus der ^{44}Ca - Markierungslösung stammt

Die mathematisch eindeutige Lösung solcher Gleichungssysteme kann wegen Meßungenauigkeiten bei der Bestimmung der relativen Isotopenzusammensetzung mit LAMMA zu Prozentanteilen der Element-Ursprungsherkunft führen, die geringfügig größer als 100% (oder < 0%) sind, was auf den experimentellen Hintergrund bezogen unsinnig ist und daher lediglich eine nahezu 100% Übereinstimmung der verglichenen Isotopenzusammensetzungen anzeigt.

In den Diagrammen (Kap. 6) sind die Mittelwerte (X_M) aus einer Anzahl (N) LAMMA-Einzelmessungen (X_i) aufgetragen. Da es sich zum größten Teil um Mittelwerte von Verteilungen handelt, wurde hierbei die "Standardabweichung des Mittelwertes" benutzt:

$$SD(M) = 1{,}25 \times ({}^{N}\Sigma_i \, | X_i - X_M |) / [N \times (N - 1)^{1/2}]$$

("Peter's Formel", aus: *Squires* 1971). Dabei gibt die meist in den Abbildungen eingezeichnete doppelte Standardabweichung den Bereich an, in dem mit 95,4%-iger Wahrscheinlichkeit der wahre Mittelwert liegt (= "Vertrauensbereich"). Bei der Bestimmung von Einzelwerten (wie z.B. bei der Messung der Lösungszusammensetzung) wurde die einfache "Standardabweichung des Einzelwertes" - als Maß für Breite der Verteilung der Meßwerte - berechnet und eingezeichnet:

$$SD(E) = \{ {}^{N}\Sigma_i [(X_i - X_M)^2 / (N - 1)] \}^{1/2}$$

So weit nicht anders angegeben wurde in den Diagrammen die doppelte Standardabweichung des Mittelwertes eingezeichnet. Bei hier vorgestellten LAMMA-Messungen an Dünnschnitten von Fichten-Mykorrhizen kann im Lumen der Cortexzellen wegen des geringen Kontrastes der Probe und der Größe des Analysenpunktes (1-2µm) nicht zwischen verschiedenen Zellkompartimenten unterschieden werden. Daher handelt es sich bei den angegebenen Werten jeweils um über das Zellumen gemittelte Werte. Die Ergebnisse der LAMMA-Messungen in Zellwänden sind ebenfalls gemittelte Werte über einen größeren Bereich, bei denen im Cortex nicht zwischen Primär- und Sekundärwänden differenziert werden kann. Bei Cortex-Zellwand-Messungen in Mykorrhizen werden auch die Pilzhyphen des Hartig'schen Netzes und zum geringen Teil auch Zellumen der Cortexzellen analysiert, da zum einen die Zellwände mit Plasmodesmen durchzogen sind und zum anderen Ungenauigkeiten bei der Fokussierung des Lasers auf die Cortex-Zellwände auftreten können. LAMMA-Messungen im "Cortex-außen" sind Analysen der äußeren Begrenzung der Mykorrhizen, die direkt mit der Bodenlösung in Kontakt steht. Dabei kann wegen des teilweise dünnen Hyphenmantels und der Größe des Analysenpunktes nicht immer genau zwischen Zellwänden bzw. Zellumen des Hyphenmantels und äußerer Zellwand der ersten Cortex-Zellschicht differenziert werden.

4.2 Energie-Dispersive-Röntgen-Analyse (EDXA)

Als zweite Methode für eine Elementbestimmung im subzellulären Bereich diente die energiedispersive Röntgen-Analyse. Bei dieser Methode wird die Röntgenstrahlung analysiert, die u.a. entsteht, wenn schnelle Elektronen mit einer Energie größer als 100eV auf Materie aufprallen oder sie durchdringen (*Gerthsen et al.* 1977). Zu deren Erzeugung und Nachweis diente in diesem Fall ein Transmissions-Elektronenmikroskop (TEM; PHILIPS, Typ: EM 400T mit Twin Linse) in Verbindung mit einem angeflanschten energiedispersiven Röntgendetektor (PHILIPS, Typ: EM 400T-154-10) mit entsprechender Auswerteeinheit (PHILIPS, Typ: EDAX 9100). Im Vergleich mit LAMMA können hier wegen der besseren elektronenoptischen Eigenschaften kleinere Probenvolumina auf ihren Elementgehalt hin untersucht werden, jedoch ohne dabei verschiedene Isotope eines Elementes unterscheiden zu können. Bei den eigenen Untersuchungen wurden Meßpunkte von 0,3µm Durchmesser gewählt. Das Prinzip der Mikrobereichs-Analyse mit EDXA ist in Abb. 8 skizziert.

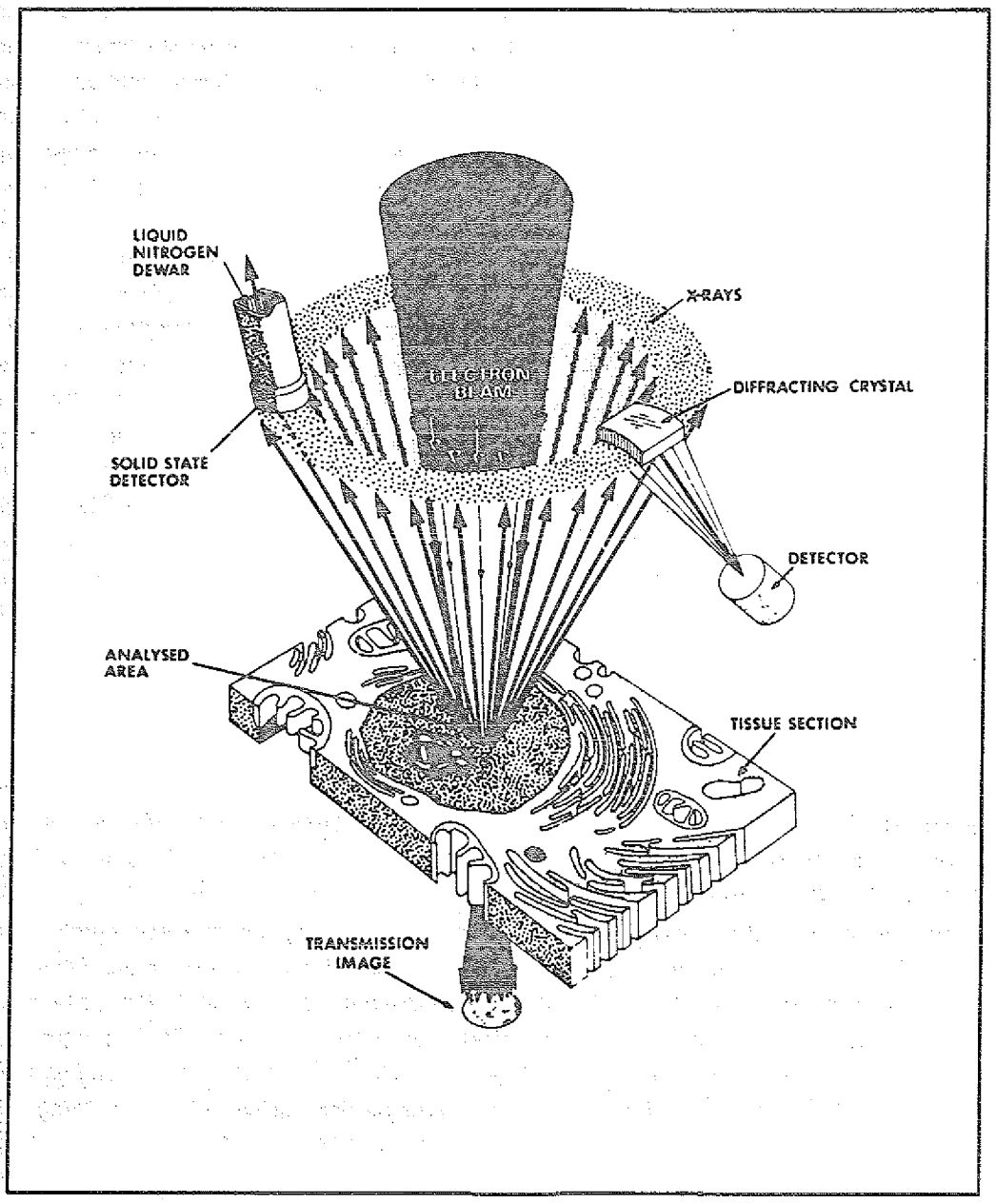


Abb. 8: Darstellung des Prinzips der Mikrosonden-Röntgenanalyse (EDXA) am Dünnschnitt. Die Analysenregion wird durch den Durchmesser des Elektonenstrahls bestimmt. (aus: *Chandler* 1977)

Bei der Fokussierung des TEM-Elektronenstrahls auf den ausgewählten Analysenbereich treten zahlreiche verschiedene Wechselwirkungen der Elektronen mit der Materie auf (umfassende Übersicht bei *Chandler* 1977). Im folgenden soll nur auf die Erzeugung von Röntgenquanten näher eingegangen werden. Dabei muß zwischen kontinuierlicher Röntgenstrahlung - meist als Bremsstrahlung bezeichnet - und element-charakteristischen "Röntgenlinien" unterschieden werden. Die Bremsstrahlung entsteht durch inelastische Streuung der Primärstrahl-Elektronen am elektrischen Feld von Atomkernen. Dadurch werden die Elektronen innerhalb der durchstrahlten Materie unterschiedlich stark abgebremst.

Der jeweilige Verlust an kinetischer Energie wird dabei unmittelbar in Form von elektromagnetischer Strahlung abgegeben. Diese bildet ein kontinuierliches Bremsspektrum, dessen Maximum die mittlere Ordnungszahl des durchstrahlten Materials wiedergibt. Die maximal auftretende elektromagnetische Quantenenergie entspricht der kinetischen Energie eines Primärstrahlelektrons (hier: 100KeV). Die für die Elementanalytik ausschlaggebende charakteristische Röntgenstrahlung der eingestrahlten Elektronen entsteht durch Wechselwirkung mit Orbitalelektronen. Im Bohr'schen Atommodell betrachtet, werden durch Stoßanregung auch in den inneren Elektronenhüllen dortige Elektronen aus ihrem Energieniveau entfernt, eventuell auch ganz aus dem Atom entfernt, welches dadurch ionisiert wird. Der angeregte Zustand wird durch Auffüllen der entstandenen Lücken durch Elektronen aus höheren Energieniveaus im Mittel nach 10^{-8} s in einen niederenergetischen Zustand überführt. Die Energiedifferenz wird dabei in Form eines emittierten elektromagnetischen Quants abgegeben. Da z.B. ein freigewordenes K-Energieniveau nicht nur von einem Elektron des L-Niveaus, sondern - wenn vorhanden - auch von Elektronen höherer Energieniveaus wieder besetzt werden kann, treten unterschiedliche diskrete Energiedifferenzen und damit Röntgenlinien auf. So bezeichnet man den Übergang von L- zum K-Niveau mit Kα-Strahlung, den Übergang vom M- zum K-Niveau mit Kβ-Strahlung, wobei wegen der Feinstrukur der oberen Energieniveaus z.B. im L-Niveau weitere Unterscheidungen nach energetisch eng benachbarter $K\alpha_1$- und $K\alpha_2$-Strahlung getroffen werden. Der innere Atomaufbau und damit die Lage der inneren Energieniveaus, ist vom chemischen und vom Aggregatzustand weitgehend unabhängig und daher für jedes Element spezifisch, so daß die dem Bremsspektrum überlagerten, entsprechenden charakteristischen Röntgenlinien-Spektren eindeutig bestimmten Elementen zugeordnet werden können.

Der Nachweis der Röntgenstrahlung erfolgt in der verwendeten Meßanordnung mit einem energiedispersiven Silizium-Halbleiterdetektor (SSD = Solid State Detektor; mit Lithium dotiert). Die Röntgenstrahlung tritt dabei durch ein 8µm dickes Beryllium-Fenster in den mit flüssigem N_2 gekühlten Detektorkristall ein (Eintrittsfläche: 30mm^2). Im Si-(Li)-Kristall, der eine in Sperrichtung geschaltete Diode darstellt, werden die einzelnen Röntgenquanten absorbiert, indem diese durch Ionisation Elektron-Loch-Paare erzeugen, wozu je Paar 3,8eV benötigt werden. Die gesamte Energie eines Röntgenquants wird so in ein Vielfaches dieses Energiebetrages überführt. Die gesamte dabei freigesetzte Ladung wird integriert und über einen Feld-Effekt-Transistor (FET) zunächst einem Vorverstärker zugeführt. Der so entstandene Spannungspuls ist der Anzahl der erzeugten Elektron-Loch-Paare pro Absorption und damit der jeweiligen Energie des nachzuweisenden Röntgenquants proportional. Die Energieauflösung des benutzten Halbleiter-Detektors beträgt bei der Mn-Kα-Linie von 5898eV etwa 157eV. Methodisch- und Detektorkonstruktions-bedingt ist die Nachweis-Wahrscheinlichkeit für leichte Elemente gering, sie nimmt für Elemente leichter als Silicium bei diesem Detektor älterer Bauart drastisch ab.

Die energiedispersive Messung der Röntgenquanten mit einem Halbleiter-Detektor hat gegenüber den aufwendigeren wellenlängendispersiven Kristallspektrometern mit höherer Energieauflösung den entscheidenden Vorteil, daß das gesamte Röntgenquanten-Energiespektrum simultan gemessen werden kann. Wellenlängendispersive Spektrometer würden daher längere Meßzeiten und größere Elektronenstrahlströme erfordern, was besonders bei biologischen Proben u.a. zu einer zu starken Belastung der Präparate führen würde. Es werden daher Kristallspektrometer in der Regel in diesem Analysebereich nicht eingesetzt.

Die gleichzeitige Mehrfachmessung sich überlagernder Röntgenquanten-Nachweise wird durch eine elektronische Schaltung verhindert. Es können maximal ca. 3000 Röntgenquanten pro Sekunde analysiert werden. Jedes Signal wird mit einem Analog-Digital-Converter digitalisiert und anschließend einem Vielkanal-Analysator (MCA; hier mit 10eV Kanalbreite) zugeführt, der das gesamte Spektrum aufaddiert und zwischenspeichert, bis die Daten von einem Minirechner übernommen werden. Als Beispiel zeigt Abb. 9 EDXA-Spektren einer Rindenzellwand und einer unmittelbar benachbarten Hyphe im Bereich des Hartig'schen Netzes.

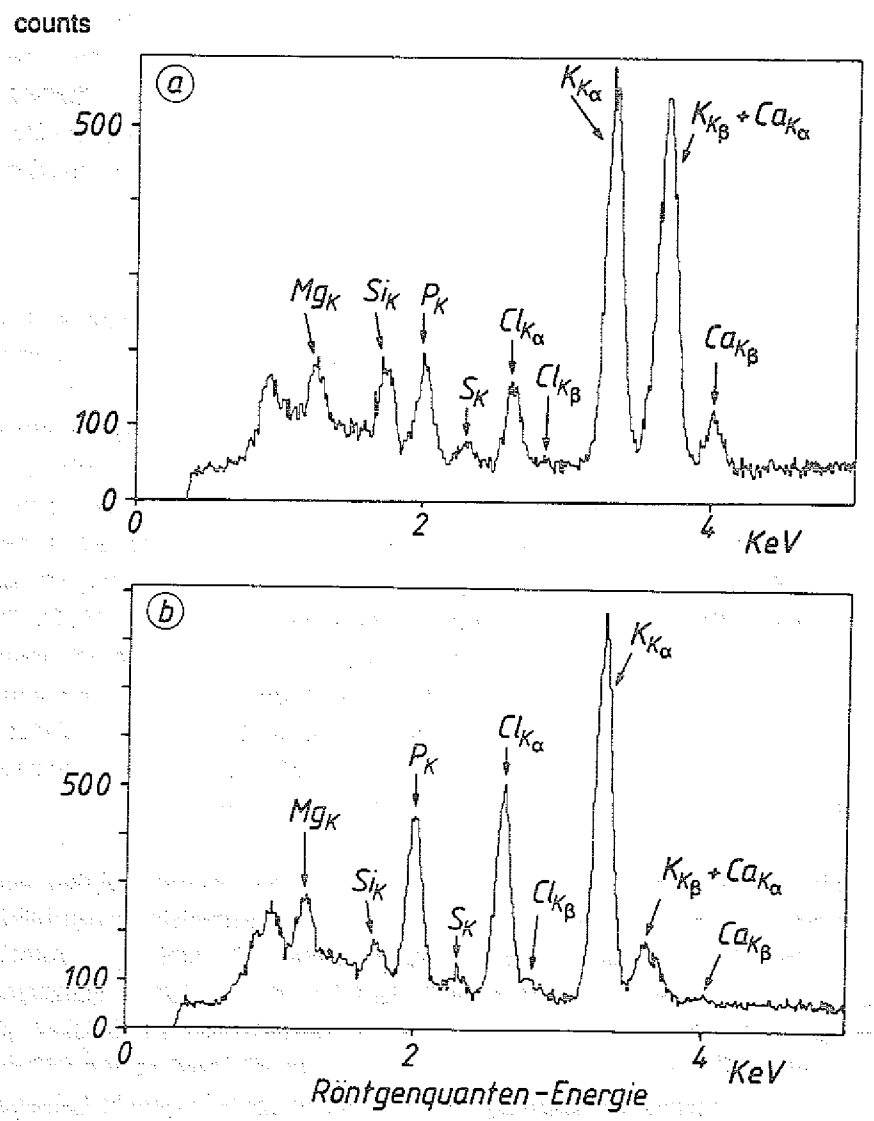


Abb. 9: EDXA-Spektren mit Elementzuordnung im Cortex einer *Pisolithus tinctorius-Picea abies* - Mykorrhiza (3. Zellreihe; siehe Abb. 2)
a) Cortex-Zellwand im Bereich des Hartig'schen Netzes; b) unmittelbar benachbarte Pilzhyphe (Pilzzellwand u. -lumen); Analysenpunkt: ca. 0,3µm im Durchmesser; Analysenzeit: 300s; gefriergetrocknete Proben (aus: *Kuhn et al.* 1988)

Die Rechner-Auswertung der charakteristischen Röntgenlinien der so erhaltenen Gesamtspektren führt zur Bestimmung in der Probe enthaltener Elemente, wobei die Element-Nachweisgrenzen von verschiedenen Faktoren beeinflußt werden. Das Peak / Background-Verhältnis ist dabei die entscheidende Größe. Zum Background der erhaltenen Spektren trägt nicht nur die bereits oben beschriebene Bremsstrahlung bei, sondern u.a. kosmische Strahlung und gestreute Elektronen, die in den Detektor eindringen, wie auch elektronisches Rauschen der Anordnung, das durch die Detektor-Kühlung mit flüssigem N_2 möglichst niedrig gehalten werden soll.

Jedoch werden charakteristische Röntgen-Linien nicht nur vom Elementgehalt des eingestellten Analysenbereiches des Präparates erzeugt, sondern auch durch Wechselwirkung gestreuter Elektronen mit dem umliegenden Material des TEM, des TEM-Probenhalters, des den Dünnschnitt tragenden Kupfer-Trägernetzes. Ebenso entstehen Wechselwirkungen dieser Elektronen mit weiterem Probenmaterial außerhalb des eingestellten Analysenbereiches. Sie sind darüberhinaus die Quelle eines großen Teils der kontinuierlichen Bremsstrahlung (s.o.). Um die durch gestreute Elektronen erzeugten Röntgenquanten mindestens z.T. zu verhindern, wurden ein Low-Background-Halter (Beryllium; PHILIPS) und weitmaschige Kupfer-Sandwich-Grids benutzt sowie die Analysenmeßstellen möglichst weit entfernt von den Grid-Stegen gewählt.

Die mit der Röntgen-Mikrobereichs-Analyse erhaltenen Daten sind aus verschiedenen Gründen - vor allem wegen der größeren Grundlagenkenntnis über die Entstehung von Röntgenquanten und deren Verhalten u.a. innerhalb des Präparates - leichter zu quantifizieren als bei der Laser-Mikrosonde (*Hall et al.* 1974). Es fehlt aber noch an einer genauen Anpassung der Berechnungsmodelle an das hier analysierte Pflanzenmaterial und auch - wie für LAMMA - an geeigneten Meßstandards. Jedoch läßt sich bei EDXA mit Hilfe von Näherungsverfahren, bei denen vor allem die element-unterschiedliche Röntgenquanten-Ausbeute bei Bestrahlung mit schnellen Elektronen und die unterschiedliche Empfindlichkeit des Röntgendetektors für Röntgenquanten verschiedener Energien als Korrektur eingeht, der Gehalt der Elemente relativ zueinander bestimmen (*Chandler* 1977). Die absolute Nachweisempfindlichkeit der Methode liegt bei solchen Präparaten je nach Element zwischen 10 und 500ppm und ist damit deutlich schlechter als bei LAMMA, besonders bei leichten Elementen. Dies ist auch der Grund, warum zwar elektronenoptisch bedingt eine weitere deutliche Verkleinerung der Analysenfläche leicht möglich ist, was jedoch aus Intensitäts-Gründen der nachzuweisenden Röntgenstrahlung mit dem verwendeten Detektor nicht durchführbar war.

Für eine Vergleichbarkeit und Reproduzierbarkeit der Einzelanalysen wurden bei den Messungen die nachfolgenden Einstellparameter, die eine Gesamtzählrate des Röntgendetektors von 400-500 counts/s ergaben, beibehalten. (Analysenpunkt: 0,3µm Durchmesser; Gesamt-Strahlstrom: ca. 15µA; Elektronenstrahl-Beschleunigungsspannung: 100KV). Die 0,5µm dicken Trocken-Dünnschnitte wurden zur mechanischen Stabilisierung und zur Erhöhung der elektrischen Leitfähigkeit mit ca. 5nm Kohlenstoff beschichtet. Der Low-Background-Halter wurde für die Analyse um 20° zum Detektor gekippt, während sich in unmittelbarer Nähe des Präparates eine mit flüssigem N_2 betriebene Kühlfalle befand. Um gut auswertbare Spektren mit genügend großem Peak/Background-Verhältnis zu erhalten, betrug die Meßzeit pro Einzelspektrum jeweils 300 Detektor-Live-Sekunden. Diese lange Analysenzeit wurde benötigt, da die Gesamtzählrate sehr gering gewählt wurde, um mit dem damit verbundenen geringen Probenstrom die Belastung des Präparates möglichst gering zu halten. Eine hohe Belastung kann u.a. zu einer Materialabtragung führen.

Bei der Bestimmung der relativen Elementgehalte mit EDXA wurden die gemessenen Spektren je Probe und analysiertem Gewebe addiert, der Untergrund mit Hilfe manuell gesetzter "Stützpunkte" bestimmt und anschließend subtrahiert. Die Flächen unter den darüberliegenden charakteristischen Röntgen-Peaks wurden bestimmt und durch die Anzahl der Spektren dividiert. Mit Hilfe der Auswerte-Einheit (PHILIPS, EDAX9100) konnten auch sich teilweise überlagernde Röntgen-Peaks verschiedener Elemente (z.B. bei Kalium-K_β-Linie und Calcium-K_α-Linie) aus den bekannten Intensitäts-Verhältnissen der unterschiedlichen Röntgen-Linien eines Elementes untereinander rechnerisch getrennt werden. Zur Bestimmung der "Standardabweichung des Mittelwertes" wurden die Werte aus den Einzelspektren herangezogen. Es wurde hier, wie bei LAMMA-Analysen von Verteilungen, die doppelte Standardabweichung (= 95,4%-iger 'Vertrauensbereich') in den Diagrammen eingezeichnet. Des weiteren wurden mit Hilfe eines entsprechenden Auswerteprogramms die Gehalte der Elemente relativ zueinander bestimmt.

4.3 Markierung mit radioaktivem ^{45}Ca

Als Kontrolle und Ergänzung der Markierung der Elementaufnahme in Fichten mit stabilen Isotopen (s.o.) wurden unter ansonsten gleichen Versuchsbedingungen Markierungen mit radioaktivem ^{45}Ca durchgeführt. Jedoch kann man keine Mikrobereichs-Analysen wie oben mit LAMMA in Verbindung mit stabilen Isotopen durchführen. Mit der Mikroautoradiographie (*Führ & Wieneke* 1983) lassen sich grobe qualitative Aussagen über eine relative Ca-Verteilung treffen. Eigene hier nicht näher vorgestellte Untersuchungen mit dieser Methode an Querschnitten von Mykorrhizen wiesen nur eine geringe räumliche Auflösung der ^{45}Ca-Verteilung auf, wobei lediglich zu erkennen war, daß die stärkste Schwärzung des verwendeten Röntgenfilms und damit die höchste ^{45}Ca-Konzentration im äußeren Cortexbereich vorlag. Eine Markierung mit radioaktiven Isotopen hat jedoch, gegenüber weiteren Nachteilen im Vergleich zur Markierung mit stabilen Isotopen (s.o.), den Vorteil einer deutlich höheren Nachweisempfindlichkeit und leichteren Quantifizierung in Bulkproben. Daher lassen sich die Versuchspflanzen hier weiter fraktionieren, wobei die anschließende Probenaufbereitung und -auswertung einfacher und im Vergleich zu LAMMA-Messungen verhältnismäßig schnell durchgeführt werden kann.

Gegenüber der Einfach-Markierung von K und der möglichen Doppel-Markierung von Mg und Ca mit stabilen Isotopen stand zur Markierung dieser Elemente mit radioaktiven Isotopen nur ^{45}Ca zur Verfügung. Eine Radioaktiv-Markierung von Mg und K war nicht möglich, da deren radioaktive Isotope mit der längsten Lebensdauer von ^{28}Mg, mit einer Halbwertzeit von 21,4h und ^{42}K, mit einer Halbwertzeit von 12,4h, im KFA-Forschungszentrum Jülich nicht zur Verfügung standen bzw. dort nicht hergestellt werden. ^{45}Ca ist dagegen auf Grund seiner im Vergleich dazu relativ langen Halbwertzeit von 165 Tagen ohne Probleme käuflich zu erwerben (hier bei AMERSHAM, als $CaCl_2$ in wässriger Lösung, ca. 930 MBq/mg Ca) und leicht zu handhaben.

^{45}Ca emittiert ausschließlich Elektronen, die eine maximale kinetische Energie von ca. 0,25 MeV besitzen können (β^- - Strahler mittlerer Energie). Die emittierten Elektronen werden in einer Flüssig-Szintillations-Meßanordnung nachgewiesen (hier: "Tri-Carb 2000CA" der Firma PACKARD). Zur

automatischen Messung werden die flüssigen Proben in einen Probenwechsler gegeben. Als Meßlösungen dienten die angebotene Markierungslösung bzw. Restlösung zu Versuchsende und durch Veraschung aufgeschlossene Fraktionen der Versuchspflanzen (in 2-molarer HCl aufgenommen). Diese Lösungen wurden mit einer Szintillations-Flüssigkeit gemischt (auch Szintillations-Cocktail genannt; Dreifachbestimmung, mit 3mal je 1ml Probe auf 8ml "Instant Scint. Gel" von PACKARD, Nr. 6013009). Die kinetische Energie der emittierten Elektronen wird zum überwiegenden Teil in Form von Wärme, Ionisation und Anregung der Moleküle der Lösung übertragen. Die Anregungsenergie der Moleküle kann auf die in der Lösung enthaltenen Szintillatoren (hier Fluor-Moleküle) übertragen werden. Bei deren Übergang in den Grundzustand werden charakteristische Lichtquanten emittiert, welche z.T. bei der verwendeten Apparatur mit zwei Photomultipliern registriert werden. Dabei ist in erster Näherung die Gesamtenergie der so erzeugten Photonen proportional der Energie der β^- - Strahlung, also der kinetischen Energie der emittierten Elektronen. So entsteht aus einem β-Zerfalls-Spektrum der ^{45}Ca-Atome ein analoges Photonen-Impulshöhen-Spektrum (*Simon* 1982). Die quantitativen Daten der vorgestellten Untersuchungen werden aus diesen Spektren umgerechnet, indem auf Lösungen bekannter Radioaktivität kalibriert und automatisch eine Nullpunktkorrektur durchgeführt wird. Weiterhin wird der Isotopenverlust durch Zerfall aus der Halbwertzeit des Isotopes auf den Zeitpunkt zu Experimentbeginn zurückgerechnet (Software: PACKARD).

4.4 Multi-Element-Gesamtanalyse mit ICP-OES und TRFA

ICP-OES

Als Nachweismethode für eine quantitative Elementbestimmung in Bulkproben von Fraktionen des eingesetzten Pflanzenmaterials bzw. in Proben der Versuchslösungen wurde hauptsächlich die optische Emissions-Spektrometrie (OES), oft auch als Atom-Emissions-Spektrometrie (AES) bezeichnet, verwendet. Der Probe wird in einer Argonplasmafackel Energie aus einem hochfrequenten, elektromagnetischen Feld (hier: 27,12 MHz bei max. 1,5kW; Hersteller: ARL), das zur Erzeugung und Aufrechterhaltung der Plasmaentladung notwendig ist, zugeführt. Die gelöste Probe (ca. 2ml) wird dazu mittels eines Meinhard-Zerstäubers fein zerstäubt und gelangt von einem Argon-Inertgas-Aerosolstrom getragen in das rotationssymmetrische Plasma eines argongekühlten Quarzglas-Brenners (Brenngas Argon). Der schematische Aufbau von Zerstäuber, Kammer und Brenner ist in Abb. 10 dargestellt.

Die durch das Wechselfeld in das Plasma induktiv eingekoppelte Energie ("inductively coupled plasma" = ICP) wird im wesentlichen auf die Elektronen übertragen und über diese durch elastische und inelastische Stöße an die Atome, Moleküle und Ionen weitergegeben. Dabei entsteht im bei Normaldruck betriebenen ICP-Plasma mit der verwendeten Konfiguration im Beobachtungskanal eine Temperatur von ca. 6300°K. Diese hohe Anregungstemperatur im Plasma bewirkt neben einer effektiven Verdampfung eine weitgehende Dissoziation und Ionisation der flüssigen Proben, wodurch sog. chemische Matrixeffekte (chemisch gebundene Atome werden spektroskopisch nicht erfaßt) als systematische Fehlerquelle weitgehend ausgeschaltet werden. Die in das Plasma über die Elektronen übertragene Energie führt darüber hinaus zu einer Anregung der äußeren gebundenen Elektronen in Atomen und Ionen auf höhere Energieniveaus. Diese Anregungszustände werden nach einer mittleren Lebensdauer im Bereich von 10^{-8} sec durch Elektronenübergänge auf die Grundzustände bzw. auf angeregte Zwischen-Energieniveaus wieder verlassen. Die dabei freiwerdende Energie wird in Form

ausgesandter Lichtquanten z.T. als Kontinuumsstrahlung und z.T. als Linienemission mit element-charakteristischer Energie abgegeben. Die Intensität dieser Emission ist proportional der Anzahl der angeregten Atome, was eine quantitative Elementanalyse ermöglicht (vgl. *Bauer* 1982; *Berneike* 1987).

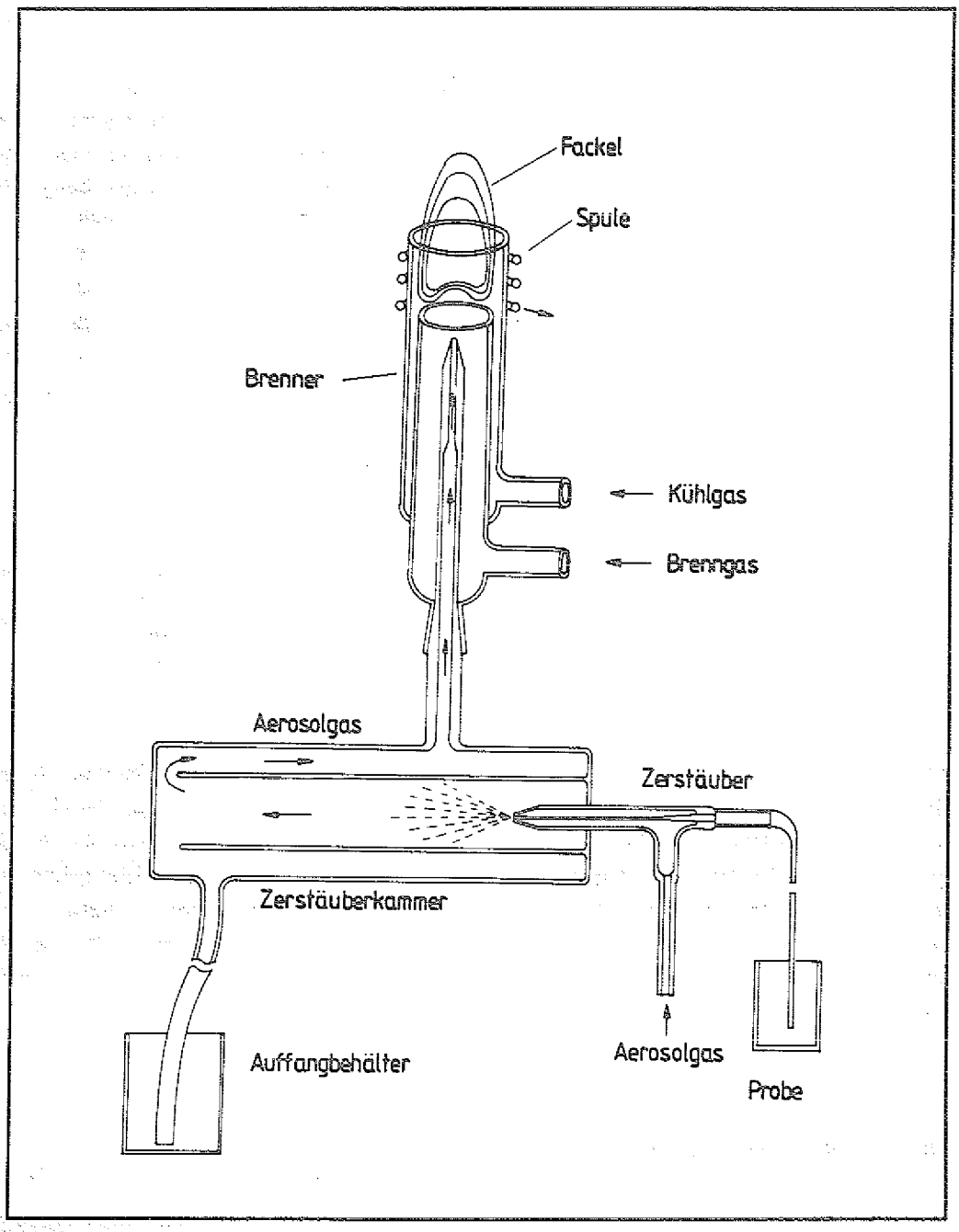


Abb. 10: Schematischer Aufbau des ICP-OES - Probenzuführungssystems; dargestellt sind Meinhard-Zerstäuber (pneumatisch-konzentrisch), Zerstäuberkammer und Plasmabrenner; Schema nicht maßstabsgetreu (aus: *Schönburg* 1987)

Da die Anregung nicht energie- bzw. wellenlängenspezifisch erfolgt, ist es mit der ICP-OES als einer Multielement-Meßmethode möglich, Elemente simultan zu messen. Die verwendete simultanmessende ICP-OES Anlage ist mit einem Polychromator ("Paschen-Runge" - Bauweise; 100cm Brennweite; sphärisches Gitter mit 1080 Strichen pro mm; Hersteller: SPEX) ausgerüstet und ermöglicht, da jeweils eine einzelne Emissionslinie zur Elementbestimmung benutzt wird, gleichzeitig soviele Elemente zu messen wie Detektoren im Spektrometer installiert sind (vgl. *Berneike* 1987).

Verschiedene Faktoren, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll, bewirken für die hier gemessenen Elemente z.T. im Vergleich sehr deutliche Unterschiede in der Nachweis- bzw. quantitativen Bestimmungsgrenze, u.a. spielt dabei auch die Probenzusammensetzung eine wesentliche Rolle. So gibt *Berneike* (1987) für rein wäßrige Einelementlösungen bei K eine Bestimmungsgrenze von ca. 0,4ppm (Ca= 0,012ppm) an, während er für druckaufgeschlossene Holzproben eine Bestimmungsgrenze für die gleiche Apparatur von 1,2ppm (Ca= 0,01ppm) angibt.

Die Detektor-Meßsignale werden auf die zugehörigen Elementkonzentrationen durch Vergleich mit Standardproben mit bekannten Elementkonzentrationen und Zusammensetzungen kalibriert. Dazu wurden Multielementstandards eingesetzt, die in Elementkonzentrationen und Säureanpassung weitgehend den Probenlösungen entsprachen. Störende Interferenzen und Leistungsschwankungen werden dadurch kompensiert bzw. vermieden und damit wird die Voraussetzung für Untergrundkorrekturen geschaffen (*Rademacher* 1986).

Berneike (1987) bestimmte die Reproduzierbarkeit der Meßwerte der optischen Emissionsspektrometrie, ausgehend von einer bereits aufbereiteten Probenlösung, bei Elementkonzentrationen von ca. dem Zehnfachen der Bestimmungsgrenze mit etwa 1 bis 3% (Meßwert: Mittelwert aus dreimal je 10sec Integrations-Meßzeit). Unter Einbeziehung der Probenaufbereitung ergab sich eine Variationsbreite von 5 bis 10% für den Gesamtfehler der Analysenwerte.

Zur Überprüfung der Richtigkeit der ermittelten Werte wurden von *Michaelis et al.* (1985) und *Berneike* (1987) Ringanalysen durchgeführt. Dabei zeigte der Ergebnisvergleich von Verfahren der Neutronenaktivierung mit thermischen (INAA) und schnellen (14-MeV-NAA) Neutronen, mit der Röntgenfluoreszenz (TRFA) und mit sequentieller ICP-OES im wesentlichen eine gute Übereinstimmung. Weitere Vergleichsmessungen von TRFA und ICP-OES von *Rademacher* (1986) mit dem Referenzstandard Nr. 1575 (Pine Needles) des National Bureau of Standards (NBS, Boulder, USA; jetzt: NIST) wiesen ebenfalls eine gute Übereinstimmung mit durch unterschiedliche Meßmethoden erhaltenen Elementkonzentrationswerten und mit NBS-Standards auf.

Totalreflexions-Röntgen-Fluoreszenz-Analyse (TRFA)

Die im folgenden kurz skizzierte Meßmethode zur quantitativen Elementbestimmung in Bulkproben wurde zur Überprüfung der Richtigkeit der hauptsächlich benutzten ICP-OES - Methode (*Rademacher* 1986; *Schönburg* 1987) und wegen der niedrigeren Nachweisgrenzen für einige Elemente, besonders bei geringen Probenmengen (siehe Kap. 6.4), verwendet. Dabei wird mit dieser Methode zum Elementnachweis die emittierte charakteristische Röntgenstrahlung gemessen. Anders als bei EDXA, wo der Elektronenstrahl des Elektronenmikroskopes für die Anregung der Probenatome genutzt wird,

werden dazu bei der von *Knoth & Schwenke* (1978, 1980; siehe auch: *Michaelis et al.* 1985) entwickelten Apparatur energiereiche Röntgenquanten verwendet. Abb. 11 zeigt in einer schematischen Darstellung die Hauptkomponenten und den Strahlengang der Apparatur.

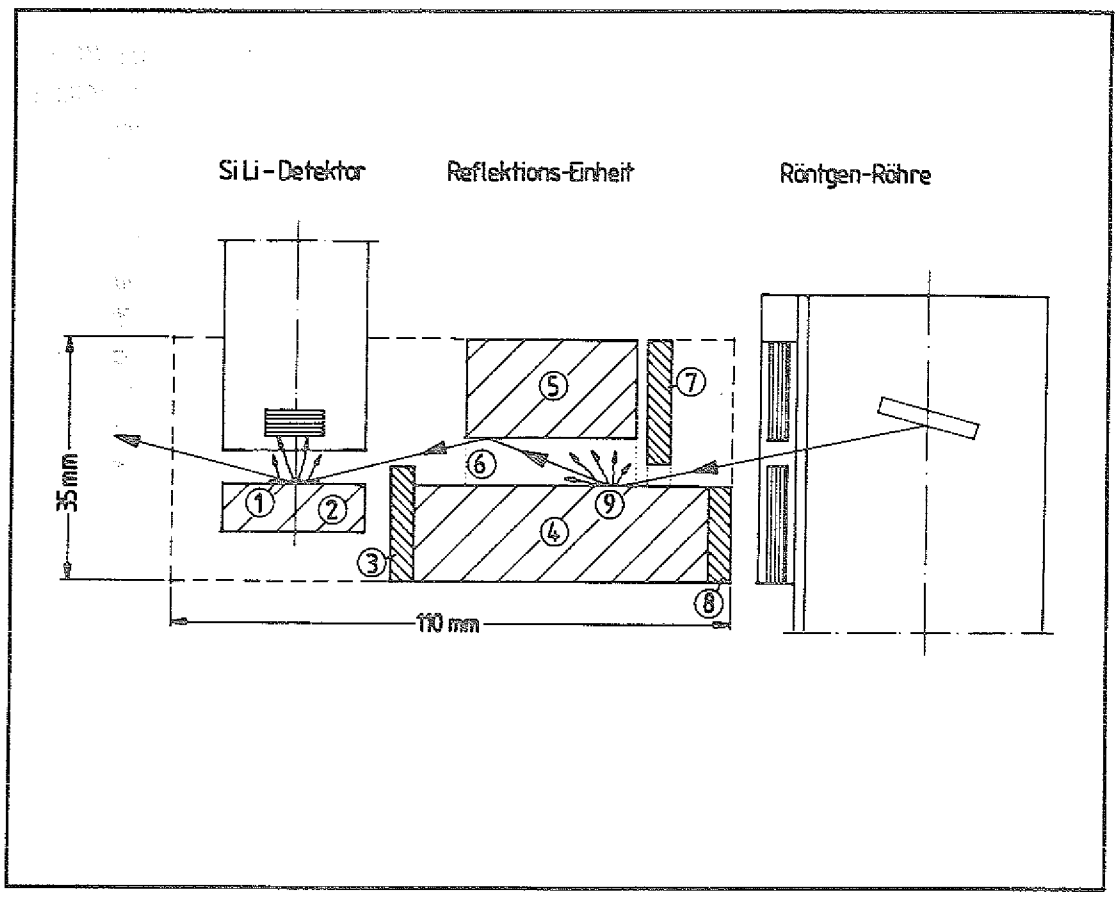


Abb. 11: Schematische Darstellung des am Institut für Physik im GKSS-Forschungszentrum Geesthacht entwickelten Totalreflexions-Röntgenfluoreszenz-Spektrometers (nach: *Schwenke & Knoth* 1982)
1: Probe; 2: Probenträger; 3, 7 u. 8: Blende; 4 u. 5: Reflektor; 6: Abstandshalter; 9: 1. Reflexionszone

Proben, die für eine TRFA-Messung vorgesehen sind, müssen entweder vollständig gelöst oder zumindest als sehr feine Suspension vorliegen. Die flüssige Probe (ca. 10µl bzw. 25µl) wird auf einen Quarzprobenträger in der Art aufgetropft, daß sich nach der Trocknung ein weitgehend homogener, dünner Probenfilm bildet.

Es wurden abhängig von den nachzuweisenden Elementen Röntgenröhren mit einer Molybdän- oder Wolfram-Anode als Energiequelle verwendet. Geeignet angebrachte Blenden und die Einrichtungen im Totalreflexions-Modul zur Mehrfachreflexion der anregenden Röntgenstrahlung ermöglichen, neben der Unterdrückung der hochenergetischen Bremsstrahlung, ein Herausfiltern eines, zur Anregung der Probe günstigen Energiebereiches aus dem Emissionsspektrum der Röntgenröhre. Die Totalreflexions-Bedingungen an Quarzglas-Reflektoren und am Quarzglas-Probenträger führen zu einer Verringerung

der Untergrund-Streustrahlung an der Probe. Dieser Umstand und die Verdopplung der Röntgenfluoreszenzstrahlung - die anregende Röntgenstrahlung durchdringt als einfallendes und als reflektiertes Strahlenbündel die Probe - führen zu einer deutlichen Senkung der Element-Nachweisgrenze gegenüber herkömmlichen Röntgenfluoreszenz-Meßmethoden.

Anders als bei der oben beschriebenen ICP-OES werden hier die kernnahen Elektronen (K- und L-Niveau) der Probenatome angeregt. Die dabei freiwerdenden Energieniveaus werden im Mittel nach ca. 10^{-8} sec durch Elektronen eines höheren Energieniveaus wieder besetzt. Die freiwerdende Energie wird in Form elementspezifischer Fluoreszenzstrahlung abgegeben, welche dann mit einem Si-(Li)-Halbleiterkristall-Detektor analysiert wird (80mm^2; Auflösung: 160eV für die Mn -' K_α - Linie). Mit der energiedispersiven Messung dieses Detektors können jedoch lediglich Elemente mit Ordnungszahlen oberhalb von 13 simultan nachgewiesen werden.

Die definierte Zudotierung eines Elementes (hier Co) zur Probe, das selbst in nur vernachlässigbarer Konzentration in der Probe vorliegt, dient als interner Standard für die TRFA-Messung. Bei der qualitativen und quantitativen Auswertung (Meßzeit: je nach Probe 2000-6000sec; Auswertungsprogramme der Firmen LINK bzw. TRACOR) der erhaltenen Spektren besteht durch diesen internen Co-Standard wie auch mit abgespeicherten Einzelelement-Referenzspektren die Möglichkeit, die Konzentration der anderen Elemente zu bestimmen. Deren Werte ergeben sich aus einer Kalibrierungskurve, deren Lage sich aus dem Meßsignal des Standardelementes ableiten läßt.

5. Versuchsdurchführung und Probenaufbereitung

5.1 Vorbereitung der Pflanzen und Versuchsbedingungen

Pflanzen- bzw. Probenvorbereitung

Die an Altfichten am Standort genommenen Proben (Wurzeln mit umgebender Erde) wurden zunächst für 16-20h bei ca. 4°C aufbewahrt und anschließend im Labor weiterverarbeitet. Feinstwurzeln mit vitalen Wurzelspitzen (0,2-0,5mm Dicke; 2-5mm Länge) wurden vom übrigen Wurzelsystem abgetrennt und mit Hilfe eines Pinsels sorgfältig von anhaftenden Bodenpartikeln befreit. Auf die sonst übliche Verwendung von Wasser oder wäßrigen Lösungen zur Reinigung wurde bewußt verzichtet. Die so gereinigten Proben wurden entweder für die Bulkanalyse (Kap.5.3) oder für die Mikroanalyse (Kap. 5.2) weiterbehandelt.

Zwei- und dreijährige Fichten aus Erdkulturen wurden durch vorsichtiges Abschütteln so weit wie möglich von anhaftender Erde befreit. Beim größten Teil der Versuchsreihen wurden die Wurzeln ca. 10s lang mit destilliertem Wasser abgespült und unmittelbar danach mit Tissue-Tüchern abgetupft. Bei den in Kap.6.4 beschriebenen Versuchen erfolgte das vollständige Entfernen des an den Wurzeln anhaftenden Bodens ohne Abspülen, nur durch mechanische Reinigung mit Hilfe eines Pinsels. Die Pflanzen wurden dann entweder für die Markierungsexperimente eingesetzt oder als Kontrollpflanzen verwendet. Nach Versuchsende wurden für Bulkanalysen die Pflanzen bei -20°C zunächst eingefroren oder bestimmte Teile der Pflanzen (Abb. 12) für Mikrobereichs-Analysen schockgefroren und entsprechend weiterbehandelt (Kap. 5.2 u. 5.3).

Die Sterilkulturen 4 Monate alter Fichtensämlinge wurden aus den Petrischalen entnommen und vorsichtig von anhaftendem Kohlefilterpapier befreit. Anschließend wurden sie kurz mit destilliertem Wasser abgespült, abgetupft und entweder als Kontrollpflanzen sofort weiterverarbeitet oder für Markierungsexperimente eingesetzt.

Versuchsbedingungen der Markierungsexperimente

Zur Anpassung an die äußeren Versuchsbedingungen der Markierungsexperimente wurden die Versuchspflanzen (Erdkulturen und Sterilkulturen in Petrischalen; inklusive der Kontrollen) für mindestens eine Woche in der gleichen, für Pflanzenexperimente ausgelegten Klimakammer gehalten, in der anschließend die Experimente mit stabilen wie auch mit radioaktiven Isotopen durchgeführt wurden (Lichtphase: 16h, 23°C, 60% relative Luftfeuchte, Lichtintensität: 280µE; Dunkelphase: 8h, 15°C, 90% rel. Luftf.).

Bei einem Teil der Versuchsreihen wurden den Pflanzen vor den Markierungsversuchen zur Schaffung gleicher Ausgangsbedingungen und zur Anpassung an die Markierungslösungen für ca. 16h Lösungen mit gleichen Elementgehalten, jedoch mit natürlicher Isotopenzusammensetzung, angeboten (Kap. 6.2.2 und 6.3).

Isotopenmarkierung

Zur Markierung der Pflanzen wurden Lösungen mit hochangereicherten Isotopen von ^{25}Mg bzw. ^{26}Mg, ^{41}K und ^{42}Ca bzw. ^{44}Ca als Chloride in je 1mmol / l Konzentration verwendet. Tabelle 2 zeigt die Isotopenzusammensetzung der angereicherten Markierungslösungen im Vergleich mit den natürlichen Isotopenverhältnissen.

Tab.2: Natürliche Isotopenzusammensetzung der Elemente Ca, Mg und K (nach *Weast* 1989) und die Zusammensetzung der verwendeten angereicherten stabilen Isotope für Markierungsexperimente (Herstellerangaben; bezogen über MEDGENIX, Düsseldorf)

Zusammensetzung in %

Atom-Massenzahl	40	42	43	44	46	48
Ca - natürlich	96,941	0,647	0,135	2,086	0,004	0,187
42-Ca - Markierung	11,21	87,70	0,16	0,90	0,01	0,03
44-Ca - Markierung	2,90	0,06	0,02	97,00	< 0,001	0,02

Atom-Massenzahl	24	25	26
Mg - natürlich	78,99	10,00	11,01
25-Mg - Markierung	2,29	96,90	0,81
26-Mg - Markierung	1,82	1,08	97,10

Atom-Massenzahl	39	41
K - natürlich	93,258	6,730
41-K - Markierung	4,2	95,8

Diese Lösungen wurden, wie im Kap. 6.2 beschrieben, für unterschiedliche Zeiten von 2min bis 48h (nach 24h Wechsel der Lösung) den dreijährigen Erdkulturen-Fichten aus Gärtnerei-Normalerde angeboten (ca. 20ml). Da diese Pflanzen ein für die zur Verfügung stehende Markierungslösung zu großes Wurzelsystem aufwiesen, konnte nur einem Teil der Wurzeln die Markierungslösung angeboten werden (ca. 20-40%; Abb. 12). Der unmarkierte Teil wurde in feuchtem Zellstoff vor Austrocknung während der Versuchsdauer geschützt. Aus Kostengründen konnte bei diesen Versuchsreihen nicht dem gesamten Wurzelsystem die Markierungslösung angeboten werden.

Für eine Zwei-Seiten-Markierung (Abb. 13; siehe auch Kap. 6.4) wurden Pflanzen über 7 Tage mit einer Isotopenlösung markiert, dabei wurde die Lösung jeden Tag (je Seite ca. 20ml) durch die Ausgangs-Markierungslösung ersetzt. Die O_2-Sättigung der Lösungen betrug nach 24h noch mindestens 50%. Die Wurzeln der unmykorrhizierten und mykorrhizierten Fichtensämlinge aus Sterilkulturen wurden 5 Tage lang in 60ml einer belüfteten Markierungslösung getaucht (analog zur Markierung mit stabilen wie auch mit radioaktiven Isotopen).

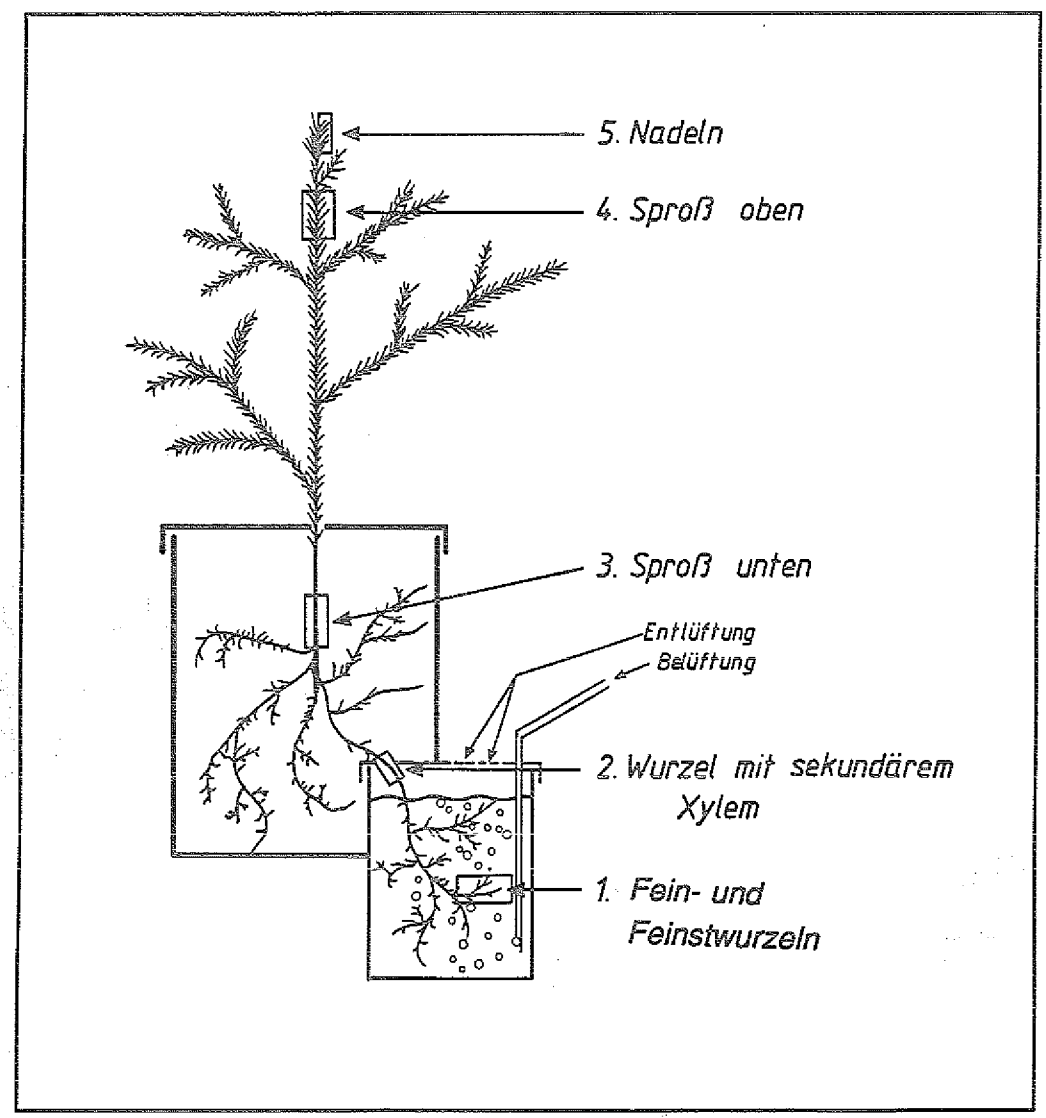


Abb. 12: Schematische Darstellung der Markierung einer Fichte aus Erdkultur mit stabilen Isotopen eines Teils der Wurzeln und Kennzeichnung der beprobten Pflanzenfraktionen

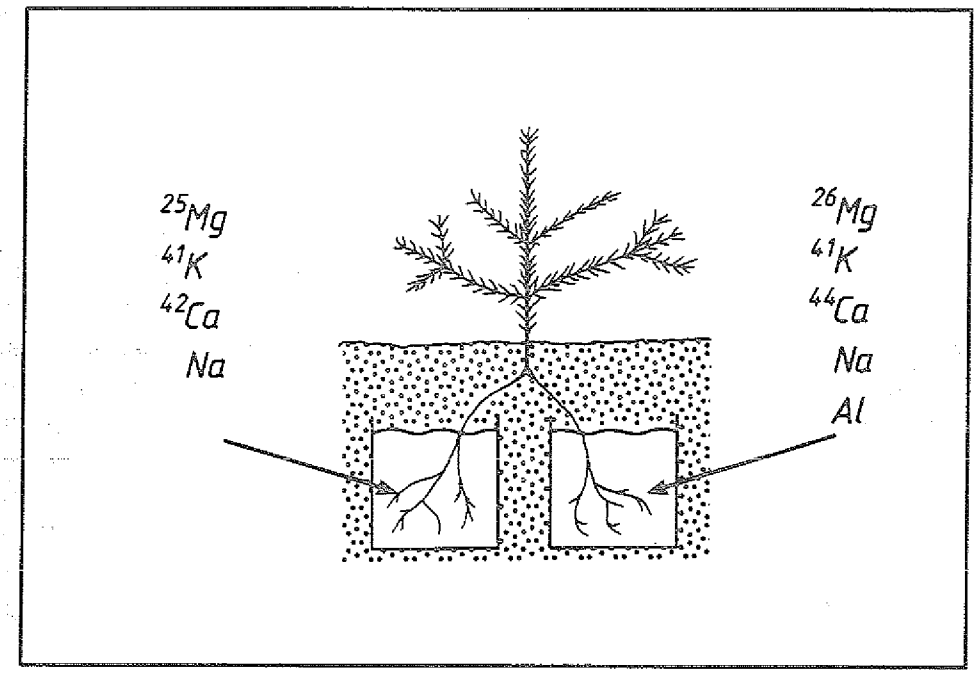


Abb. 13: Simultane Zwei-Seiten-Markierung einer Fichte aus Erdkultur mit je zwei stabilen Isotopen mehrerer Elemente; Nachweis des Einflusses von Al auf die Ionenaufnahme in Pflanzen (vgl. *Bauch* 1989)

5.2 Probenpräparation für Mikroanalysen

Gefrierfixation

Um eine sofortige Fixierung der Elementverteilung im Größenbereich unter 1µm zu erreichen ist nur eine Gefrierfixation des zu untersuchenden Gewebes möglich. Dabei liegt das Hauptproblem darin, daß die Eiskristallbildung des in den Proben vorhandenen Wassers (hier: im Mittel in der Pflanze ca. 50-60% und in ihren Wurzeln bis zu 80% des Gesamtgewichtes) zur Separation darin gelöster Substanzen führt. Um diese Segregation der nachzuweisenden Elemente und die Größe der gebildeten Eiskristalle mit ihrer strukturzerstörenden Wirkung so weit wie möglich zu limitieren, sind hohe Einfriergeschwindigkeiten notwendig (vgl. *Plattner & Bachmann* 1982; *Steinbrecht & Zierold* 1987). Bei der nachfolgend beschriebenen Gefrierfixations-Immersionstechnik läßt sich zwar aus grundlegenden physikalischen Gründen die Eiskristallbildung nicht vollständig unterbinden, jedoch bewegen sich die dabei hervorgerufenen Strukturveränderungen und die damit verbundenen Elementverschiebungen (im überwiegenden Teil) der Probe in kleineren Bereichen als die Meßpunktgrößen der verwendeten Mikrobereichs-Analysemethoden.

Die im Mittel etwa 0,5cm langen verschiedenen Probenfraktionen (siehe Abb. 12) wurden einzeln unmittelbar nach dem Abtrennen durch schnelles Eintauchen in gefrierendes Propan bei ca. -190°C innerhalb weniger Millisekunden schockgefroren. Dazu wurde normales Camping-Propangas zunächst

in einem mit flüssigem N_2 gekühlten Messingblock, der sich in einer PU-Isolierbox befand, verflüssigt, wo es sich nach einer Zeit bei ca. -190°C verfestigte. Das gefrorene Propan wurde dann durch Wärmezufuhr mit einem auf Raumtemperatur erwärmten Gegenstand erneut verflüssigt und im wieder einfrierenden Zustand zur Gefrierfixation benutzt. An Wurzelproben anhaftende Flüssigkeit wurde zuvor weitestgehend durch kurzes Abtupfen mit Tissue-Papier entfernt.

Propan und andere organische Kryogene ermöglichen als sehr effektive Kühlmittel hohe Einfriergeschwindigkeiten. Dabei ist jedoch nicht nur die niedrige Temperatur des Kryogens von Bedeutung. So entsteht z.B., anders als bei unter Atmosphärendruck siedenden flüssigem N_2 (-196°C), beim Kontakt mit der wärmeren Probe keine thermisch stark isolierende Gasschicht (*Leidenfrost*-Phänomen). Im Gegensatz zum flüssigen N_2 ist z.B. bei Propan die Temperaturdifferenz zwischen Siedepunkt, bei -42°C, und der beim Schockgefrieren niedrigen Temperatur, knapp oberhalb des Gefrierpunktes, von ca. -190°C sehr groß, was einer Bildung einer Propan-Gasschicht entgegensteht. Diese hätte im Gegensatz zur die Probe benetzenden Kühlmittelflüssigkeit eine deutlich schlechtere Ableitung der Wärmeenergie der Probe zur Folge und würde damit die Bildung von Eiskristallen fördern. Verschiedene Untersuchungen zum Schockgefrieren von Mikroproben (<1mm^3) zeigten bis zu mehr als 10fach höhere Abkühlraten (bis zu 100000°C / s) bei Gebrauch von Propan verglichen mit siedendem N_2 bei -196°C (*Plattner & Bachmann* 1982; *Sitte* 1982; *Steinbrecht & Zierold* 1987). Die Gefrierfixation der aus dem Wald stammenden Wurzelproben (Kap. 6.1.1) wurde mit gefrierendem Freon 22 ($CHClF_2$, DU PONT) bei ca. -154°C durchgeführt. Dessen maximale Einfrierrate kann zwar je nach Probenanordnung bis zu 50% niedriger als bei Verwendung von Propan sein, jedoch wurden auch bei diesen Proben zum größten Teil keine deutlich sichtbaren Einfrierschäden im hier interessierenden Größenbereich verursacht. Die Handhabung von Propan und anderen Kryogenen ist zwar nicht schwierig, es müssen dabei jedoch einige Sicherheitsregeln beachtet werden (*Sitte et al.* 1987b).

Gefriertrocknung und Gefriersubstitution

Die hier benutzten Mikroanalyse-Methoden erfordern ein Entfernen des freien Wassers aus der zu untersuchenden Probe, dabei muß allerdings eine Elementdelokalisierung verhindert werden. Im weiteren Präparationsverlauf wurde nach dem Schockgefrieren das gefrorene Wasser in zwei verschiedenen Präparationswegen, vor allem für eine gegenseitige Absicherung, entfernt (Abb. 14). Dabei handelt es sich zum einen um den "klassischen" Weg der Gefriertrocknung (*Sjöstrand & Baker* 1958), zum anderen um eine Gefriersubstitution, welche im Vergleich zur Gefriertrocknung deutlich bessere Strukturerhaltung auf zellulärer Ebene aufweist (*Läuchli et al.* 1970).

Bei der Gefriertrocknung wurden die in Propan schockgefrorenen Proben nach dem Abstreifen des größten Teils des anhaftenden Propans mit einer Pinzette in die numerierten Bohrungen eines Messingbehälters (ca. 1kg) überführt, der im gleichen Isoliergefäß wie der Propan-Behälter ebenfalls auf N_2-fl.-Temperatur gekühlt wurde. Die Probe wurde dabei innerhalb der über dem flüssigen N_2 befindlichen kalten N_2 - Gasphase (< -170°C) überführt, wobei sich ihre Temperatur nur unwesentlich erhöht. Innerhalb eines Rezipienten wurden die Proben im Messingblock im Vakuum bei 10^{-5} mbar in ca. 20h langsam auf Raumtemperatur erwärmt und anschließend über weitere 5 Tage im Vakuum belassen. Die gefriergetrockneten Proben wurden bei 20mbar mit ultradünnflüssigem Epoxidharz (Viskosität: ca. 20 Centipoise), modifiziert nach *Spurr* (1969) und *Mascorro et al.* (1976), bei Raumtemperatur für ca. 2h infiltriert. Nach ca. 20h unter Atmosphärendruck und bei Raumtemperatur

wurden die Proben 3 Tage bei +70°C im Trockenschrank zur Polymerisation des Einbettungsmediums aufbewahrt (TAAB; Epoxidharzmischung: 5g ERL 4206 (Vinylcyclohexene Dioxide); 10g HXSA (Hexenyl Succinic Anhydride); 0,4g Araldite RD2 (DY026); 0,15g DMAE (Dimethyl Aminoethanol)). Die Polymerisation mußte unter Luftabschluß erfolgen, daher wurden geschlossene Einbettungsformen verwendet (LKB; "Easy Molds"; No. 2208-156 / 180 mit 5,6 bzw. 8,0mm Durchmesser).

Beim zweiten Präparationsweg, der Gefriersubstitution, wurden die schockgefrorenen Proben nach dem Abstreifen des größten Teils des anhaftenden Propans bei N_2-fl.-Temperatur in 20ml Propylen-Behälter (PACKARD, Nr. 6008117) überführt. Dort befanden sich ca. 10ml gefrorenen, trockenen Acetons, in dem 0,5% OsO_4 gelöst waren (pro Behälter z.B. 10-15 Feinstwurzeln). In einem 10kg schweren Messingblock, der sich in einer Polyurethan-Isolierbox (20mm Wandstärke) befand, wurden max. 17 Stück dieser Probenbehälter in einer Tiefkühltruhe bei -80°C für 3 Tage gelagert (Aufwärmrate von -190°C bis -85°C ca. 20°C / h). Das gefrorene Aceton / Osmium-Gemisch verflüssigte sich währenddessen bei ca. -94°C; die Proben tauchten dort ein und das noch gefrorene Wasser wurde in der Zwischenzeit durch das Aceton / Osmium-Gemisch ausgetauscht. Für eine weitere langsame Temperaturerhöhung auf Raumtemperatur wurde der Messingblock samt PU-Box zunächst für einen Tag in eine -20°C - Tiefkühltruhe und anschließend für ca. 16h unter einem Luftabzug bei Raumtemperatur aufbewahrt. Dabei wurden die Proben durch das sich anlagernde Schwermetall Osmium fixiert und kontrastiert. Die gefriersubstituierten Proben wurden nun fünfmal für je 1 Stunde in reinem trockenem Aceton gewaschen. Dem letzten Waschgang folgte in einer aufsteigenden Epoxidharz / Aceton-Reihe (1/3; 1/1; 3/1; 1/0; 1/0 : jeweils 5-8h) die Infiltration der Probe mit ultradünnflüssigem Epoxidharz (Zusammensetzung wie oben). Die Proben wurden dann ebenfalls 3 Tage bei +70°C im Trockenschrank zur Polymerisation des Einbettungsmediums in geschlossenen Einbettungsformen aufbewahrt. Soweit nicht extra erwähnt, wurden für die Mikroanalysen (Kap.6) gefriersubstituierte Proben benutzt.

An parallelen Proben wurden Untersuchungen zur Bestimmung eines Elementverlustes während des Präparationsverlaufes mit radioaktiver ^{45}Ca-Markierung bei gleichen Versuchsbedingungen durchgeführt (Daten hier nicht gezeigt). An die verschiedenen Außenmedien wurde während des gesamten Proben-Präparationweges insgesamt jeweils zwischen 8 bis 12% des gesamten, von den einzelnen Probenfraktionen aufgenommenen ^{45}Ca abgegeben.

Herstellung von Dünnschnitt-Präparaten

Bevor von den auspolymerisierten Proben Dünnschnitte für die Mikroanalyse angefertigt werden konnten mußten sie aus den geschlossenen Einbettungsformen in offene Einbettungsformen, in denen sie für das nachfolgende Schneiden justiert werden können, umgebettet werden. Dazu wurde ein Epoxidharz mit folgender Zusammensetzung verwendet: Viskosität ca. 200 Centipoise; SERVA; 54,5% (w/w) DDSA (Dodecenylbernsteinsäure-Anhydrid); 25% Epon 812; 20% Araldit CY212; 0,5% 2,4,6-Tri-(dimethylaminomethyl)-Phenol.

Wie *Harvey et al.* (1976) nachwiesen, ist es unbedingt notwendig, die Probenblöckchen beim anschließenden Schneiden mit dem Mikrotom ohne Aufschwimmflüssigkeit trocken zu schneiden. Beim Naßschneiden traten unter ihren Bedingungen Ionenverluste bei Na und Cl von 40-90% auf. Für die nachfolgenden Mikrosonden-Analysen wurden daher 0,5µm dicke Trockenschnitte mit Glasmessern mit einem Ultramikrotom ("Ultracut" von REICHERT-JUNG) hergestellt. Jeweils 4 bis 5 solcher Trockenschnitte wurden auf ein Kupfer-Sandwich-Trägernetz überführt (75 Maschen/Zoll; dünne Stege; Außendurchmesser: 3,05mm; VECO, DH 75), das in die Präparate-Halterungen der Laser- und

Röntgen-Mikrosonde paßt. Weiterhin wurde von jeder Probe ein Glasobjektträger-Dauerpräparat (1 bzw. 1,5µm Schnittdicke) hergestellt, um für die Lichtmikroskopie optische Vergleichspräparate der gleichen Proben zu erhalten. Beispiele solcher gefriersubstituierter Präparate zeigen die Abb. 2-4. Dabei handelte es sich um Querschnitte von sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln im Bereich des sich entwickelnden primären Xylem. Präparate für Untersuchungen mit der Röntgen-Mikrosonde (EDXA) wurden vor der Analyse mit ca. 5nm Kohlenstoff zur Erhöhung der elektrischen Leitfähigkeit und zur mechanischen Stabilisierung der Trockenschnitte beschichtet. Die Aufbewahrung der Dünnschnitt-Präparate für Mikrosonden-Untersuchungen erfolgte im Exsikkator über einem Trockenmittel (Kieselgel, MERCK).

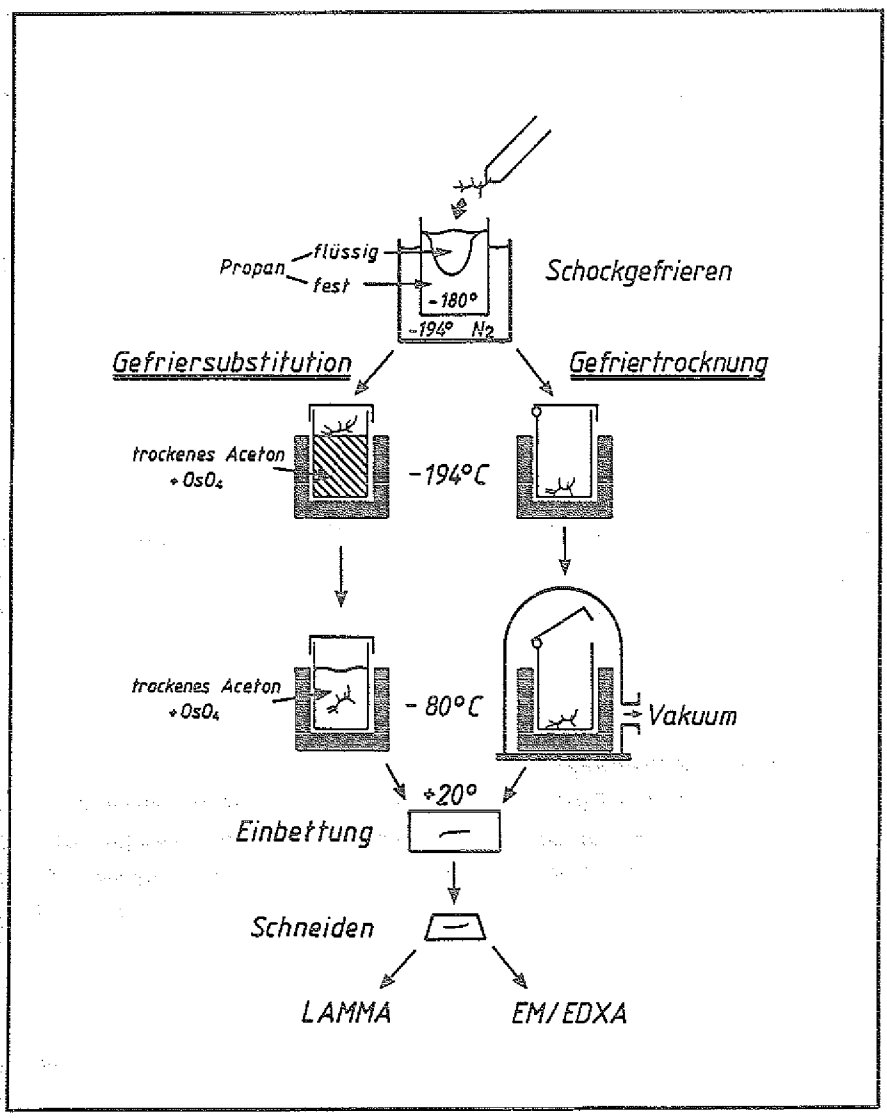


Abb. 14: Probenaufbereitung für mikroanalytische Untersuchungen
[aus: *Kuhn et al.* 1988; modifiziert nach *Fain & Schröder* 1985]

Herstellung von Sprühproben

Für LAMMA-Messungen der Isotopenzusammensetzung der für die Markierungsversuche verwendeten Lösungen und der im Muffelofen veraschten Bulkproben wurden geringe Lösungsmengen (ca. 80µl auf 5 besprühten Grids) mit einer Grafiker-Spritzpistole (LETRASET; Modell SA4 mit 0,4mm Düsenöffnungs-Durchmesser; Treibmittel: N_2 -Gas) auf ein mit dünnem Nitrozellulose-Film bespannten Präparate-Trägernetz aufgesprüht (Abb. 15). Im Lichtmikroskop sind die eingetrockneten Lösungs-Mikrotropfen sichtbar, so daß diese mit der Laser-Mikrosonde auf ihre relativen Isotopenzusammensetzungen hin analysiert werden können.

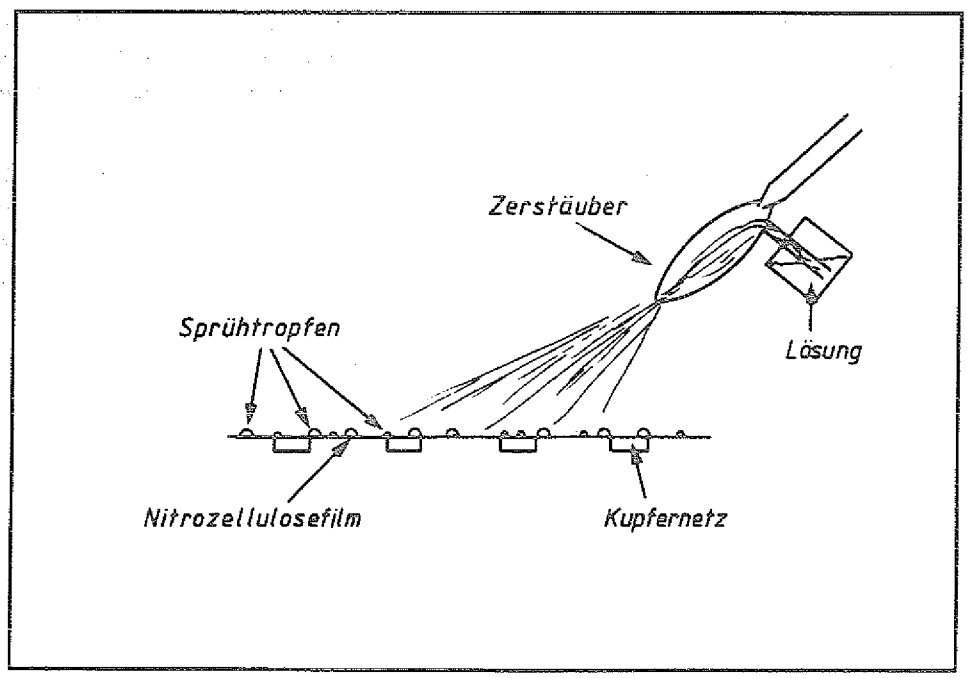


Abb. 15: Schematische Darstellung der Herstellung von Sprühproben mit kleinsten Lösungsmengen für die Mikrosonden-Analyse mit LAMMA (nach *Schröder*)

5.3 Probenaufbereitung für Bulkanalysen

Für die Elementbestimmung mit ICP-OES und TRFA sowie für die ^{45}Ca-Radioaktiv-Messungen und für die Bestimmung von Isotopenverhältnissen in Bulkproben mit LAMMA mußten die zu untersuchenden Probenfraktionen zunächst in flüssige Form überführt werden. Dabei hängt die Wahl eines Probenaufschluß-Verfahrens für eine bestimmte Aufgabenstellung von verschiedenen Faktoren ab. Neben der Art des aufzuschließenden Probenmaterials und der zur Verfügung stehenden Probenmenge ist dabei vor allem das jeweilige nachfolgende Nachweisverfahren mit seinen Anforderungen (wie Probenkonzentrationbereich und Probenmenge) von entscheidender Bedeutung. Für die in dieser Arbeit benötigten Bulkanalysen wurden zwei Naßaufschluß-Verfahren (für ICP-OES und TRFA) unter Verwendung von Salpetersäure und ein Trockenaufschluß-Verfahren (für ^{45}Ca-Bestimmung und LAMMA) im Muffelofen angewandt. Diese Verfahren werden im folgenden kurz dargestellt.

Naßaufschluß-Verfahren: In Anlehnung an die von *Rademacher* (1986) gemachten Untersuchungen mit gleichem Probenmaterial und gleichen Meßapparaturen wurde für die Multi-Elementbestimmung mit ICP-OES das gleiche Druckaufschluß-Verfahren und für TRFA-Analysen von Feinstwurzeln ein "offenes" Aufschluß-Verfahren angewandt. Die zunächst bei +90°C über 24h getrockneten Proben (Fraktionen: Holz, Rinde, Nadeln und Wurzeln) wurden auf ca. 5% Feuchtegehalt klimatisiert. Die mit einer Genauigkeit von ± 50µg abgewogenen Probenmengen (z.B. hier: 200mg) wurden beim Druckaufschluß-Verfahren in HNO_3-gereinigte 50ml PTFE-Einsätze (Teflon) zusammen mit 65% - HNO_3 Suprapur (hier 2,5g; MERCK) als Reagenz gegeben. Maximal 12 dieser Teflonbehälter wurden, jeweils mit einem Stahlmantel umschlossen, in einer Druckaufschluß-Apparatur (BERGHOF) auf maximal ca. +140°C über 6h erwärmt. Dabei kann max. ein Druck von 200 bar in den Teflon-Einsätzen entstehen (*Rademacher* 1986). Die abgekühlten in HNO_3 gelösten Proben wurden in gereinigte Polyethylen-Gefäße überführt und mit H_2O-Bidest verdünnt (Holz und Gesamtwurzeln auf einen Verdünnungsfaktor von ca. 50; Nadeln auf ca. 100). Nach *Rademacher* (1986) ist dieser für Stammproben, Nadeln und Hauptwurzeln geeignete Aufschluß in geschlossenen Druckgefäßen vom Aufwand her für die überwiegend unverholzten Feinstwurzeln nicht erforderlich, so daß hierfür ein "offenes" Aufschluß-verfahren in Quarzröhrchen benutzt wurde. Dazu wurden zwischen 5 bis 8 Feinstwurzeln (zusammen ca. 600µg bei einer Wiegegenauigkeit von ± 1µg) zusammen mit 150µg Salpetersäure (65 %; Suprapur; für TRFA-Analysen mit Cobalt-dotiert) in ein 250µl fassendes offenes Quarzröhrchen gefüllt. Der Aufschluß erfolgte über 90min in einem auf ca. 100°C geheizten Aluminiumblock. Die Probenlösung wurde anschließend wie oben in ein mit HNO_3 gereinigtes Polyethylen-Gefäß quantitativ überführt. Die geringe Probenmenge führt dazu, daß für ICP-OES - Messungen (Mindestbedarf ca. 2ml) ein Verdünnungsfaktor nach entsprechender Zugabe von H_2O-Bidest von mindestens 4000 auftritt, was für einzelne Elemente an deren methodisch bedingte quantitative Bestimmungsgrenze führt. Bei geringen Probenmengen, wie einzelnen Feinstwurzeln, wurden daher TRFA-Messungen durchgeführt.

Trockenaufschluß-Verfahren: Als Aufschluß-Verfahren für die ^{45}Ca-Radioaktiv-Messungen und für die Bestimmung von Isotopenverhältnissen mit LAMMA in Bulkproben wurde ein Trocken-Veraschungs-Aufschluß bei +500°C im Muffelofen unter Atmosphärendruck gewählt wie es für die Aufbereitung radioaktiven Probenmaterials üblicherweise angewendet wird. Die vorher gefriergetrockneten Probenfraktionen (in der Regel 10-500mg) wurden dazu in Quarzglas-Szintillationsgefäßen (20ml, PACKARD - Superglas-Probenflaschen, Nr. 600128) für mindestens 6h (inklusive ca. einer Stunde Aufwärmzeit auf +500°C) im Muffelofen verascht. Nach einer Abkühlzeit von 3-4h wurde die verbliebene Asche mit 1ml 2-molarer HCl versetzt und für ca. 3h ebenfalls bei 500°C nachverascht. Nach der erneuten Abkühlung wurden 3ml H_2O-Bidest in die Quarz-Probengefäße zur Aufnahme der Proben gegeben und für mindestens 2h geschüttelt. Diese Lösung wurde dann entweder mit Szintillations-Flüssigkeit (je 1ml Probe pro Gefäß mit 8ml "Instant Scint. Gel", PACKARD, Nr. 6013009) zur ^{45}Ca-Bestimmung gemischt oder für die Isotopenbestimmung mit LAMMA auf befilmte Trägernetze aufgesprüht (ca. 80µl, siehe Abb. 15).

6. Experimente und Ergebnisse

6.1. Elementgehalt und -verteilung in Mykorrhizen von Altfichten eines Waldschadensstandortes und von Fichten aus Erdkulturen

Bei der Untersuchung des Einflusses verschiedener Faktoren auf die Aufnahme mineralischer Nährstoffe über die Wurzeln erfolgte zunächst eine Beschreibung der Ausgangslage von Fichten aus einem 90 bis 120 Jahre alten Bestand eines Waldschadensgebietes. Dabei sind die hier dargestellten Analysen in umfangreiche Untersuchungen weiterer Arbeitsgruppen über die Elementversorgung und den Elementgehalt der Bäume dieses Tiefland-Standortes mit ausgeprägtem urbanen Einfluß eingegliedert (*Bauch & Michaelis* 1988).

Um den Gegebenheiten am Naturstandort unter kontrollierten Versuchsbedingungen möglichst nahezukommen, wurden Fichten aus Erdkulturen mit unterschiedlichen Böden als Modellsystem eingesetzt. Die unter Laborbedingungen handhabbaren zwei- und dreijährigen Fichten gleicher Provenienz wurden im überwiegenden Teil der nachfolgenden Experimente eingesetzt. Der Ausgangszustand der Elementversorgung dieser Fichtensämlinge, der einen großen Einfluß auf die später zu beschreibenden Nährelement-Aufnahme-Experimente haben dürfte, wird daher im weiteren beschrieben.

6.1.1 Einfluß von Bodenhorizont und Schadklasse auf Elementgehalt und -verteilung in mykorrhizierten Altfichten-Feinstwurzeln vom Standort "POSTTURM"

In einer Fallstudie wurden Untersuchungen an zwei Altfichten mit unterschiedlicher Schadklassen-Einteilung durchgeführt. Bei den Versuchsbäumen aus einem Waldschadensgebiet handelt es sich um zwei Fichten (*Picea abies* [L.] Karst.) aus einem 90 bis 120 Jahre alten Bestand des Standortes "POSTTURM" im Forstamt Farchau / Ratzeburg (Schleswig-Holstein). Die Bäume wurden nach ihrem Benadelungszustand zu verschiedenen Jahreszeiten in die Schadklassen 0 bis 1 (SK-0- ; Baum I) bzw. 2 bis 3 (SK-3- ; Baum II) eingestuft. Um den Einfluß verschiedener Böden auf Elementgehalt bzw. -verteilung aufzeigen zu können, wurden von jedem Baum mykorrhizierte Feinstwurzeln aus der Auflage (0-10cm Tiefe) und dem Mineralboden aus zwei unterschiedlichen Tiefen (10-30cm, 30-50cm) entnommen. Die Probennahme erfolgte zum Ende der Vegetationsperiode (Oktober 1989). Der die Wurzeln unmittelbar umgebende Boden wurde ebenfalls geborgen. Die entsprechenden Boden-pH-Werte (H_2O / KCl; *Scheffer & Schachtschabel* 1976) sind im folgenden aufgeführt.

		- Tiefe -		
Baum	Schadklasse	0 - 10 cm	10 - 30 cm	30 - 50 cm
I	- 0 -	3,85 / 3,41	4,38 / 3,88	4,88 / 4,50
II	- 3 -	3,92 / 3,58	4,38 / 4,17	4,91 / 4,61

Die Böden wurden zum Probentermin im feuchten Zustand zentrifugiert und die so erhaltenen Bodenlösungen der Elementbestimmung mit ICP-OES zugeführt (s.u.). Leider konnten von diesen Lösungen zur weiteren quantitativen Bestimmung einiger Kationen und Anionen keine Untersuchungen mit der Ionenchromatographie durchgeführt werden. Im Rahmen weiterer Untersuchungen wurden diese Bestimmungen bei Böden aus gleicher Tiefe desselben Standortes - jedoch ohne Differenzierung von Schadklassen der entsprechenden Altfichten - durchgeführt (Tab. 3). Im Zusammenhang mit den hier vorgestellten Untersuchungen sollen und können diese ergänzenden Daten nur eine Orientierung sein. Im Vergleich zu anderen Standorten sind hohe Konzentrationen von Nitrat und Ammonium in der Bodenlösung, besonders in den oberen Bodenschichten, zu verzeichnen. Zu vermuten sind hier hohe Einträge aus angrenzenden landwirtschaftlich genutzten Flächen.

Tab. 3: Konzentrationen einiger Ionen in µmol/l in der zentrifugierten Bodenlösung von Böden aus drei Tiefen des Waldschadensstandortes "POSTTURM" im Forstamt Farchau/Ratzeburg (bestimmt mit der Ionenchromatographie; *Wilken, pers. Mitt.*).

Tiefe	Cl^-	$(PO_4)^{3-}$ - P	SO_4^{2-}	$(NO_3)^-$ - N	$(NH_4)^+$ - N
0 - 10 cm	900	47	812	2017	1514
10 - 30 cm	1522	< 2	988	978	635
30 - 50 cm	1021	< 2	676	807	68

In den nachfolgenden Abbildungen sind die jeweiligen Elementverteilungen innerhalb der Mykorrhizen, die Gesamtelementgehalte unmittelbar benachbarter Mykorrhizen und die Gesamtelementgehalte der entsprechenden Bodenlösungen dargestellt (ICP-OES - Daten: *Rademacher, pers. Mitt.*; Angaben in ppm = "parts per million"). Dabei ist zu berücksichtigen, daß Bulkanalysen - anders als Mikroanalysen im Bereich des sich entwickelnden Xylem - nicht in einer Entwicklungszone der Mykorrhizen den Gesamtelementgehalt widerspiegeln, sondern eine integrale Messung über die gesamten Mykorrhizen mit Hyphenmantel, Wurzelhaube und -meristem, Differenzierungs- und Streckungszone und vollentwickelten, cutinisierten Wurzelbereichen darstellen.

Für die Mikroanalysen wurden die gleichen Meßpunkte in den mykorrhizierten Feinstwurzeln gewählt wie in Abb. 4 . Dabei wurde für jeden Baum pro untersuchter Bodenschicht je 3 Mykorrhizen analysiert, wobei von jedem Präparat für die 6 gewählten Meßpunkte jeweils 30 - 50 Einzelspektren aufgenommen wurden. In den Abb. 16-20 sind die Mittelwerte der Messungen von Zellwänden als Liniendiagramm und die Lumenmessungen als Balkendiagramm für drei Bodentiefen dargestellt (0-10cm; 10-30cm; 30-50cm). Die ICP-Daten ergeben sich aus Doppelbestimmungen der Elementgehalte in Mischproben von 10 bis 20 mykorrhizierten Feinstwurzeln. Die üblichen Standardabweichungen liegen für ICP-OES - Messungen mehrerer Proben bei ca. 5 bis 10% (inklusive des Aufschlusses) bzw. bei ca. 1 bis 3% für reine ICP-Messungen (*Rademacher et al.* 1988).

Die LAMMA-Mikroanalyse-Daten in Abb. 16a zeigen, daß der Na-Gehalt in Mykorrhizen der Tiefen 1 und 2 in den Zellwänden nach innen kontinuierlich abnimmt. Die Werte für beide Tiefen bzw. Bäume unterscheiden sich hier nur gering voneinander. Im Cortex-Lumen ist der Na-Gehalt bei SK-3- in Tiefe 1 ca. 30 bzw. 40% niedriger als in Tiefe 2, in Mykorrhizen bei SK-0- ist dies umgekehrt der Fall. Mykorrhizen aus dem tieferen Mineralboden bei SK-0- zeigen sowohl in den Zellwänden als auch im Cortex-Lumen deutlich höhere Na-Gehalte als bei SK-3- aus gleicher Tiefe und als Mykorrhizen aus höheren Bodenschichten. Die Na-Werte aus 30-50cm Bodentiefe steigen bei SK-0- nach innen hin an. Sie sind innerhalb der Mykorrhizen in den Zellwänden bis zu 5mal so hoch wie in den beiden oberen Bodenschichten. Die Na-Gehalte bei SK-3- aus der Tiefe 3 sind hingegen geringer als in den Tiefen 1 und 2 des gleichen Baumes.

Abb. 16b zeigt den mit ICP-OES bestimmten Na-Gesamtgehalt [ppm] der mykorrhizierten Feinstwurzeln und der entsprechenden Bodenlösungen. Der Na-Gesamtgehalt der Mykorrhizen liegt mit Ausnahme der Tiefe 3 (≈ 550ppm) bei SK-0- zwischen 200 und 280ppm. Die Bodenlösungswerte haben in den beiden oberen Bodenschichten für SK-0- höhere Werte als für SK-3-, während der Na-Gehalt in 30-50cm Tiefe in etwa gleich bei 40-50ppm liegt.

Der relative K-Gehalt steigt in den Zellwänden in allen drei Tiefen zum primären Xylem hin an (Abb. 17a). Hier ist der K-Gehalt bis zum 4fachen höher als in den Cortex-Zellwänden. Während die unterschiedlichen Bodentiefen bei SK-3- keinen eindeutigen Einfluß auf die relative Verteilung innerhalb der Mykorrhizen haben, nimmt der K-Gehalt bei SK-0- deutlich mit zunehmender Tiefe ab. Der K-Gehalt im Cortex-Lumen ist in Tiefe 3, besonders deutlich bei SK-0-, geringer als bei Mykorrhizen aus den oberen Bodenschichten.

Der K-Gesamtgehalt (Abb. 17b) weist in den Mykorrhizen bei SK-0- mit ca. 10000ppm (Tiefe 3) mit Abstand den höchsten Wert auf. Der K-Gehalt bei SK-3- beträgt in dieser Tiefe etwa ein Zehntel des Gehaltes bei SK-0-, wohingegen die Gehalte der entsprechenden Bodenlösung für SK-3- mit ca. 20ppm doppelt so hoch sind wie für SK-0-. In den Tiefen 1 und 2 ist der K-Gehalt in den Mykorrhizen bei SK-0- ca. doppelt so hoch wie bei SK-3-. Die K-Gehalte der Bodenlösung nehmen zu den obersten Bodenschichten hin bis zu ca. 25ppm zu, während die K-Gehalte in den Mykorrhizen abnehmen.

Der relative Mg-Gehalt (Abb. 18a) ist in den Zellwänden des äußeren Cortexbereiches der Tiefen 2 und 3 ca. 30% niedriger als in Tiefe 1. Im inneren Cortex und im primären Xylem verwischen sich diese Unterschiede. Die Mg-Verteilung weist in den Zellwänden zwischen innerem Cortexbereich und primärem Xylem keinen Gradienten auf. Die relativen Mg-Gehalte sind im Cortex-Lumen i.d.R. höher (bis zu 4fach) als in den benachbarten Zellwänden. Am höchsten ist der Mg-Gehalt im Cortex-Lumen aus Tiefe 2 (SK-3-). Der Mg-Gehalt ist im Cortex-Lumen bei SK-3- zwei- bis viermal so hoch wie bei SK-0-.

Die Mg-Gesamtgehalte (Abb. 18b) in der Bodenlösung sind in 30-50cm Tiefe mit ca. 8ppm am geringsten. Zu den oberen Bodenschichten hin steigt dieser Wert für SK-3- bis 17ppm und für SK-0- bis ca. 25ppm an. Der Mg-Gehalt der Mykorrhizen liegt im Mittel bei etwa 250-350ppm. Eine Ausnahme bilden die Mykorrhizen aus 30-50cm Tiefe, deren Mg-Gehalt mit ca. 1400ppm 5mal höher ist als in den entsprechenden Proben bei SK-3-.

Die Ca-Verteilung (Abb. 19a) zeigt in den Cortex-Zellwänden der Mykorrhizen aus 0-10cm Tiefe deutlich höhere Werte als in Mykorrhizen aus größeren Tiefen, jedoch steigt deren Ca-Gehalt zum primären Xylem hin deutlich stärker an. Der Ca-Gehalt beträgt im primären Xylem bei SK-0- (Tiefe 3) nur etwa 1/3 des Gehaltes bei SK-3-, dessen relative Ca-Gehalte im primären Xylem keine Variation mit der Bodentiefe aufweisen. Die Gehalte im Cortex-Lumen sind gegenüber den Zellwand-Gehalten gering und in allen drei Tiefen und beiden Bäumen annähernd gleich.

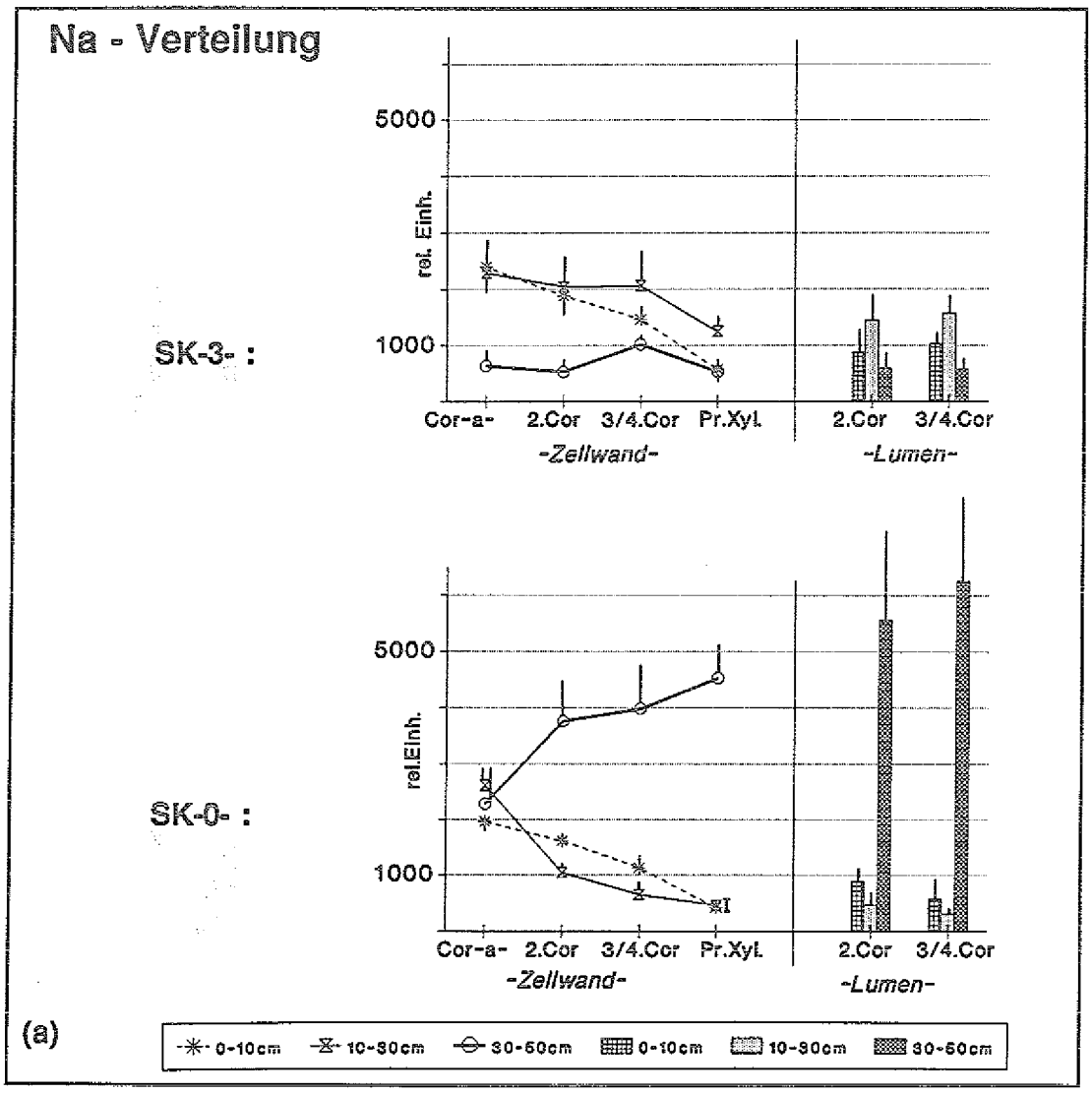
Die Ca-Gesamtgehalte (Abb. 19b) in der Bodenlösung weisen in 30-50cm Tiefe mit ca. 16ppm bei beiden Bäumen den geringsten Wert auf. Zu den oberen Bodenschichten hin steigt dieser Wert für SK-3- bis 48ppm und für SK-0- bis ca. 66ppm an. Der Ca-Gehalt der Mykorrhizen liegt im Mittel bei etwa 1100ppm. Mykorrhizen bei SK-0- weisen in 10-30cm und in 30-50cm Tiefe mit ca. 1500ppm höhere Werte auf.

Der Al-Gehalt (Abb. 20a) hat in den Zellwänden des Cortexbereiches der Mykorrhizen aus Tiefe 2 die höchsten Werte, gefolgt von Tiefe 3 und Tiefe 1. Dabei ist der Al-Gehalt in den Zellwänden des primären Xylems in allen drei Tiefen deutlich geringer als im umgebenden Cortexbereich. Die Al-Verteilung zeigt im weiteren Vergleich der beiden Bäume in den Cortex-Zellwänden für die Tiefen 1 und 2 etwa doppelt so hohe Werte bei SK-0- und im Cortex-Lumen aus 10-30cm Tiefe bis zu 6mal höhere Gehalte.

Die Al-Gesamtgehalte (Abb. 20b) in der Bodenlösung sind in 0-10cm Tiefe mit ca. 5-8ppm am geringsten. In 10-30cm Tiefe steigt dieser Wert für SK-3- bis auf ca. 18ppm und für SK-0- bis auf ca. 33ppm an. In 30-50cm Tiefe fällt der Al-Gesamtgehalt wieder auf 14 bzw. 17ppm ab. Der Al-Gehalt der Mykorrhizen ist dagegen in Tiefe 3 bei SK-3- mit ca. 13500ppm und bei SK-0- mit ca. 11000ppm deutlich höher als in oberen Bodenschichten. In Tiefe 2 liegt er bei beiden Bäumen bei etwa 5000ppm und in Tiefe 1 nur noch bei 1100ppm (SK-3-) bzw. 420ppm (SK-0-).

Ein zusammenfassender Vergleich beider Altfichten mit unterschiedlichen Schadklassen weist bei den Elementverteilungen in Mykorrhizen der beiden oberen Bodenschichten nur geringe Unterschiede auf. Dagegen finden sich bei Mykorrhizen im Mineralboden aus 30-50cm Bodentiefe z.T. deutliche Unterschiede, besonders im höheren Na- und niedrigeren K-Gehalt im gesamten Querschnitt im Bereich des sich entwickelnden Xylem und im niedrigeren Mg-Gehalt im Cortex-Lumen der Fichte mit Schadklasse 0. Die Gesamtelementgehalte in Bulkproben der Mykorrhizen aus dieser Tiefe weisen bei Schadklasse 0 für Na, K, Mg und Ca die höheren Werte auf. Dabei zeigt die Elementverteilung und der Gesamtelementgehalt in den Mykorrhizen keine eindeutige Korrelation mit dem Elementgehalt in den jeweiligen zentrifugierten Bodenlösungen.

Parallel zu den hier vorgestellten Mikroanalysen mit LAMMA für die im Oktober 1989 geernteten Proben wurden an den gleichen Proben Mikrosondenanalysen für K, Mg, Ca und Al mit EDXA durchgeführt (*Wendt, pers. Mitt.*). Diese vergleichenden Analysen wurden für die im März und Juni 1989 geernteten Proben ausgedehnt. Dabei waren deutliche jahreszeitliche Unterschiede nur für den K-Gehalt in Mykorrhizen erkennbar. Die an den gleichen Proben erzielten Ergebnisse unterstützen die hier vorgestellten LAMMA-Untersuchungen.



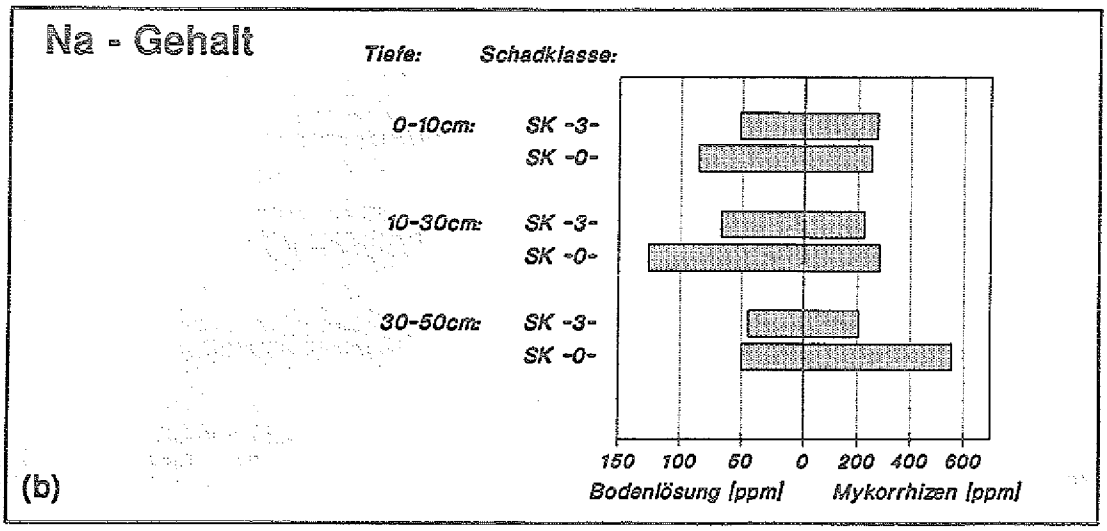
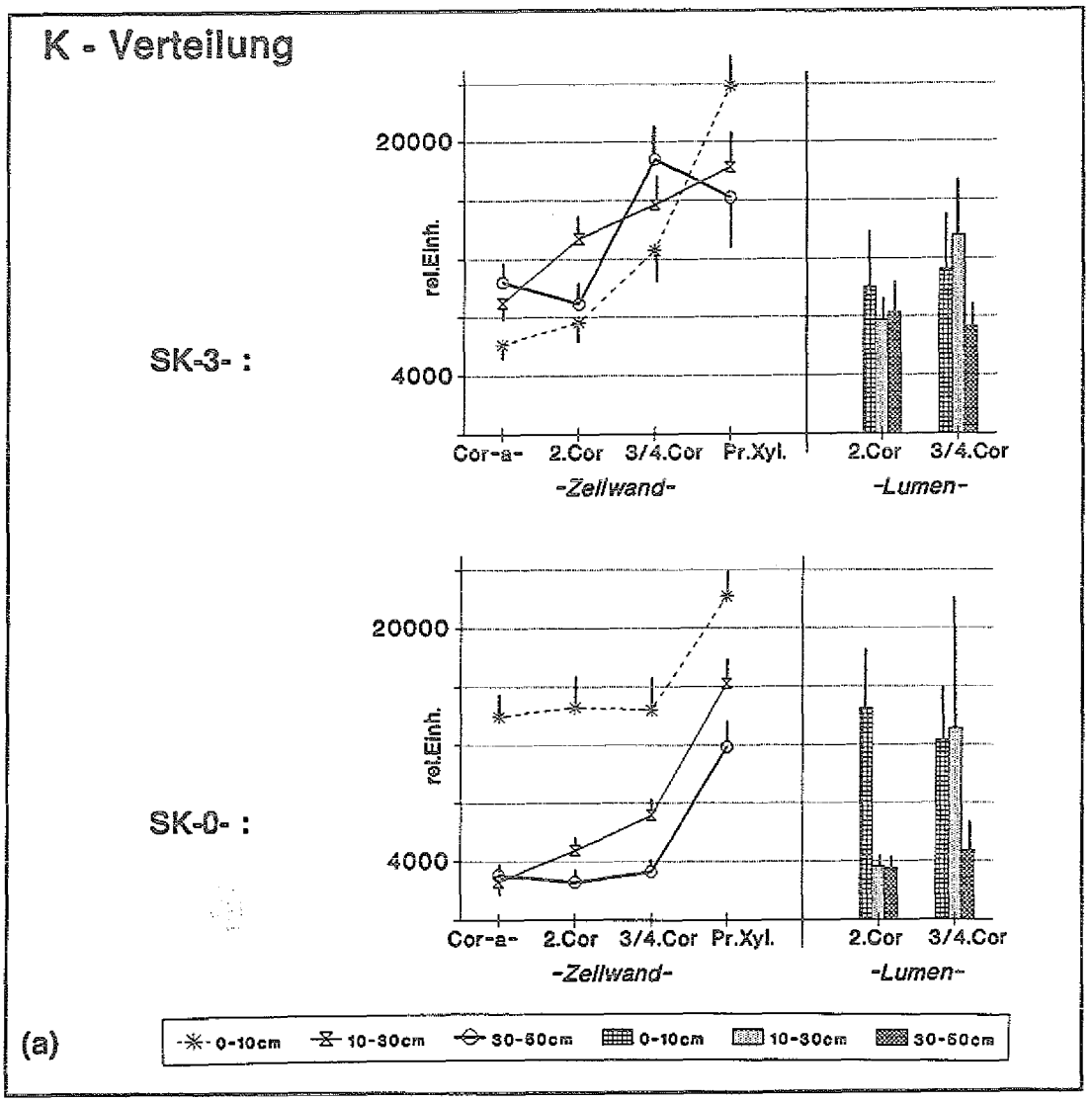


Abb. 16 a: LAMMA-Analyse der Na-Verteilung in Mykorrhizen von Altfichten der SK-3- und der SK-0- in Abhängigkeit von der Bodentiefe

Meßpunkte: Zellwand -von außen nach innen-: Cortex-außen, 2.Cortex-Zellreihe, 3.+4.Cortex-Zellreihe, primäres Xylem; Lumen: 2.Cortex-Zellreihe, 3.+4.Cortex-Zellreihe; siehe Abb.4

(eingezeichnet: doppelte Standardabweichung des Mittelwertes)

Abb. 16 b: Na-Gesamtgehalte von Mykorrhizen und zentrifugierter Bodenlösung entsprechend den Proben in Abb. 16 a (ICP-OES-Analysen, in ppm)



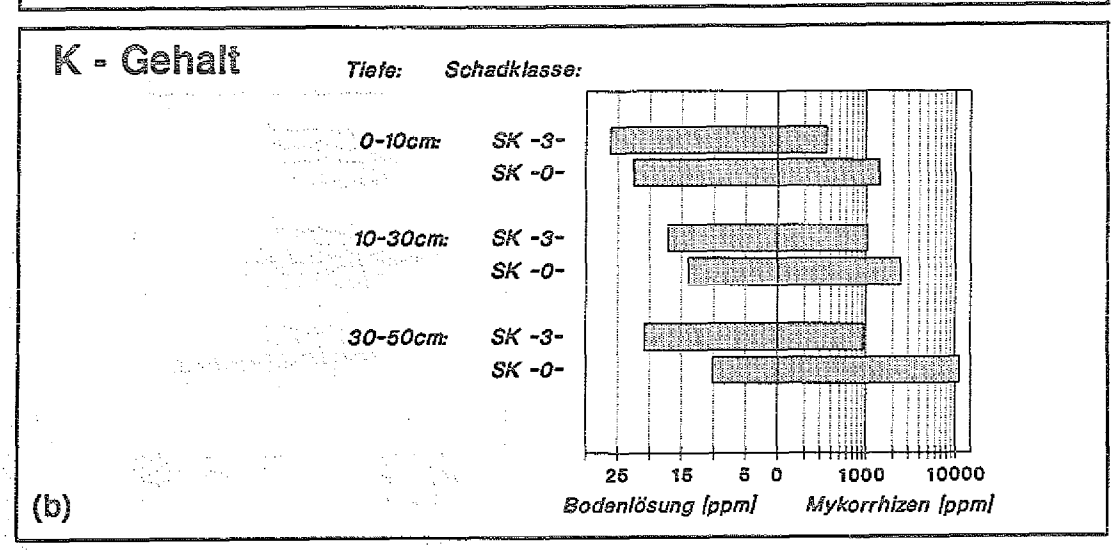
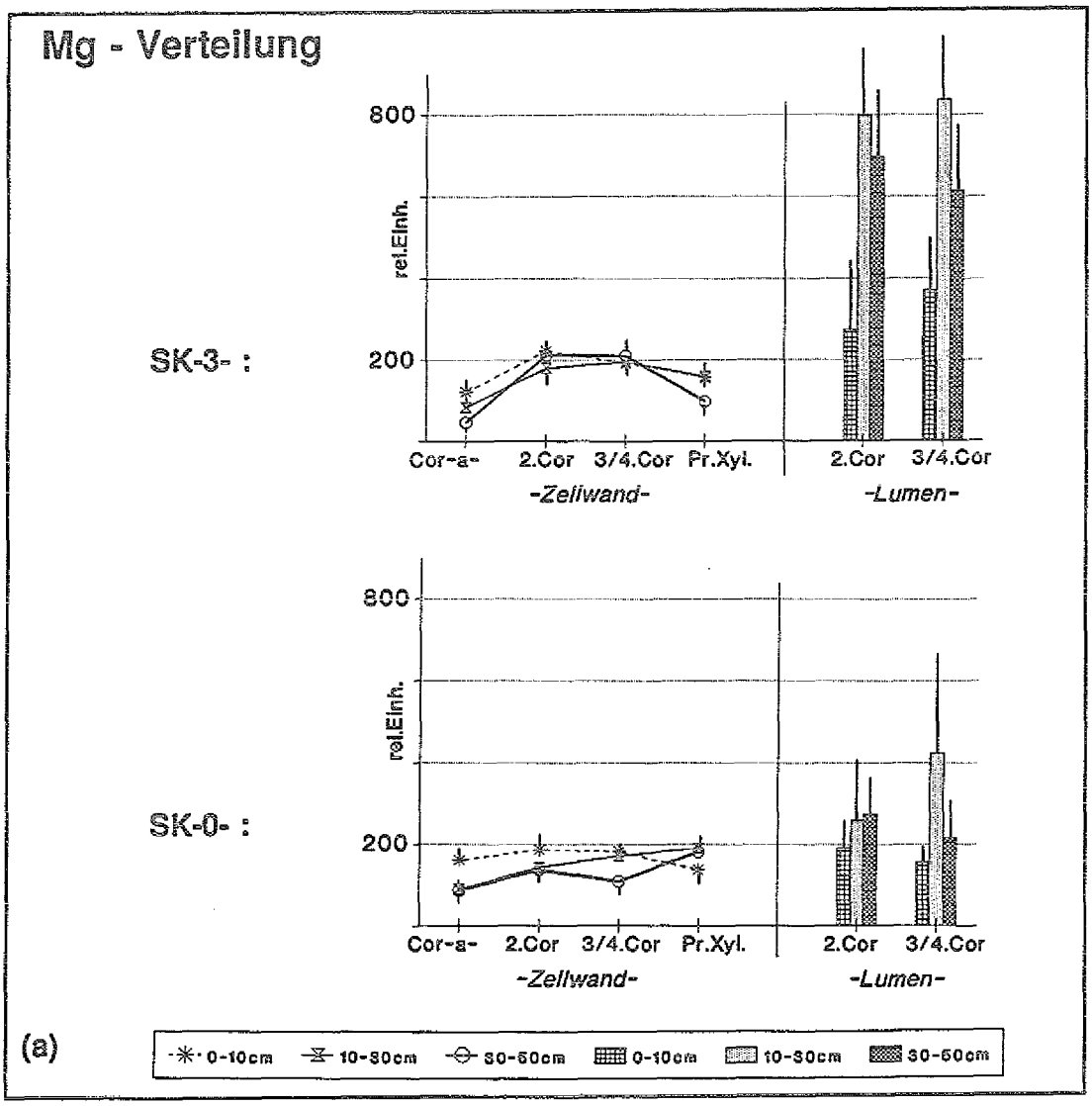


Abb. 17 a: LAMMA-Analyse der K-Verteilung in Mykorrhizen von Altfichten in Abhängigkeit von der Schadklasse und der Bodentiefe (Meßpunkte: identisch zu Abb. 16 a)

Abb. 17 b: K-Gesamtgehalte von Mykorrhizen und zentrifugierter Bodenlösung entsprechend den Proben in Abb. 17 a (ICP-OES-Analysen, in ppm)



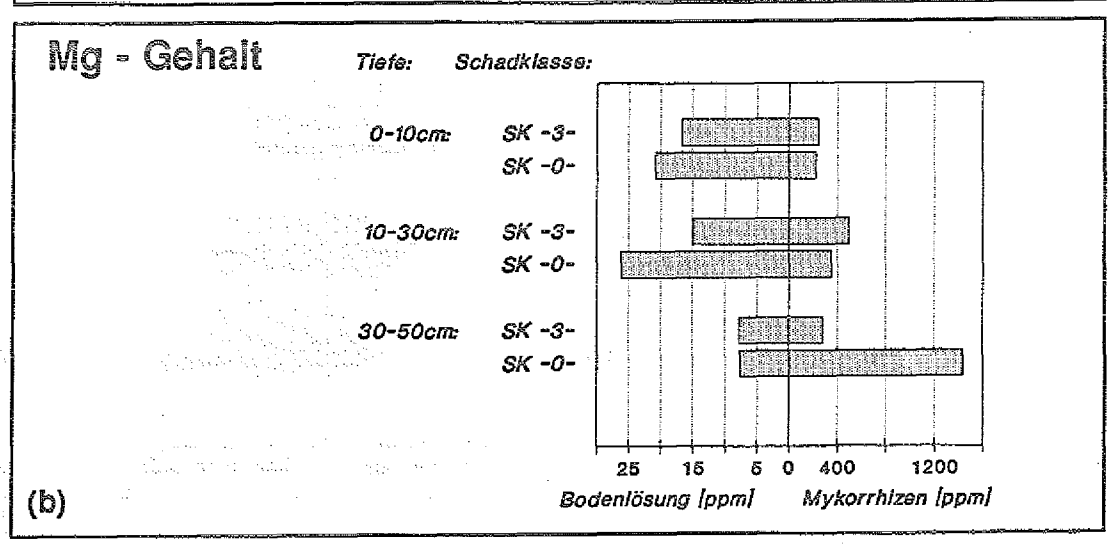
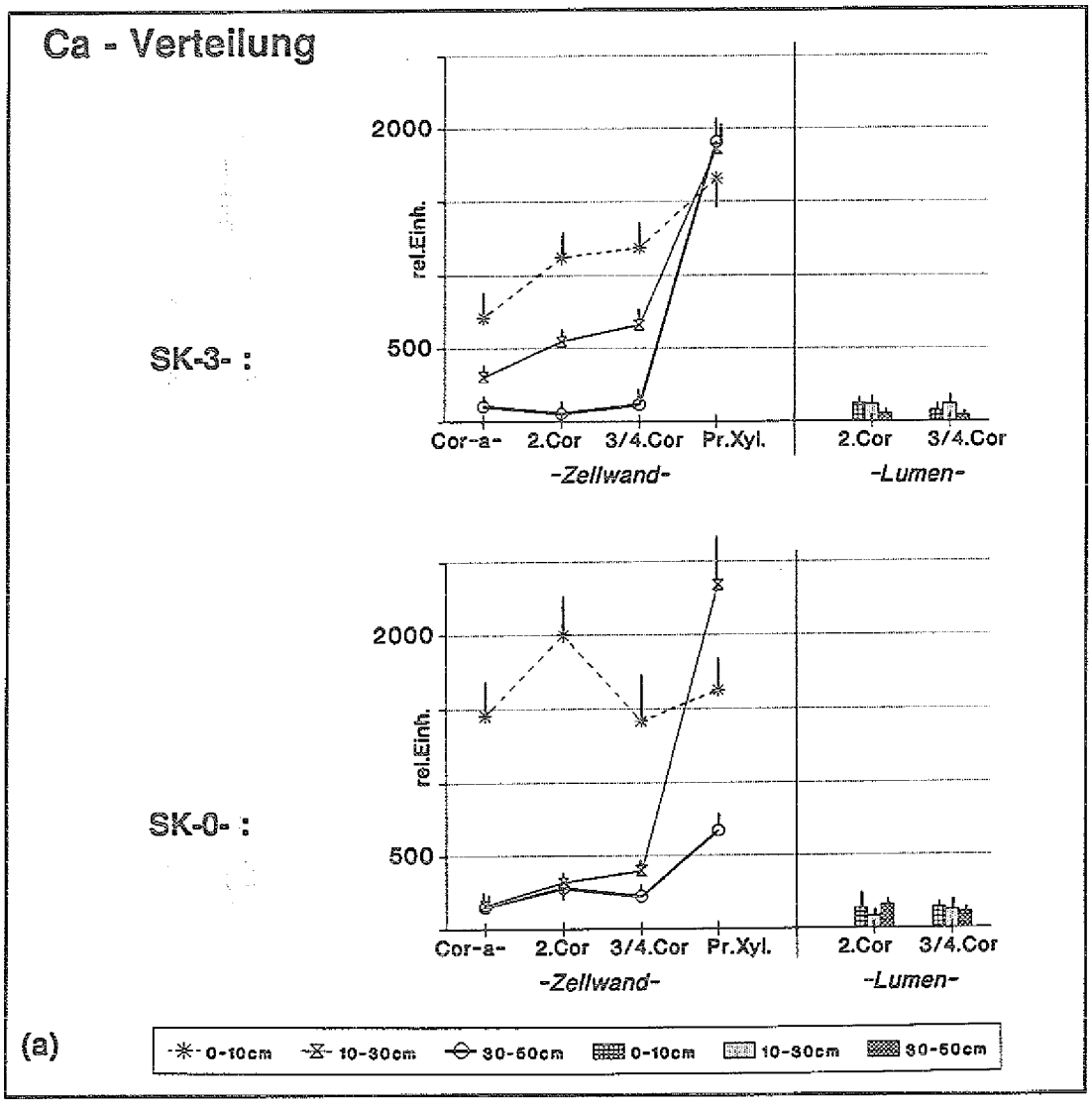


Abb. 18 a: LAMMA-Analyse der Mg-Verteilung in Mykorrhizen von Altfichten in Abhängigkeit von der Schadklasse und der Bodentiefe (Meßpunkte: identisch zu Abb. 16 a)

Abb. 18 b: Mg-Gesamtgehalte von Mykorrhizen und zentrifugierter Bodenlösung entsprechend den Proben in Abb. 18 a (ICP-OES-Analysen, in ppm)



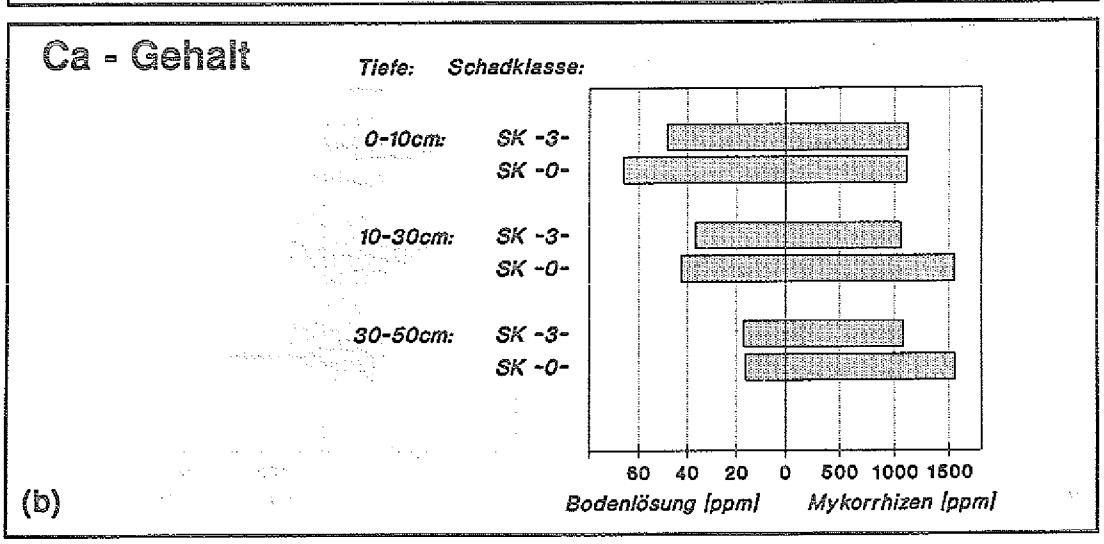
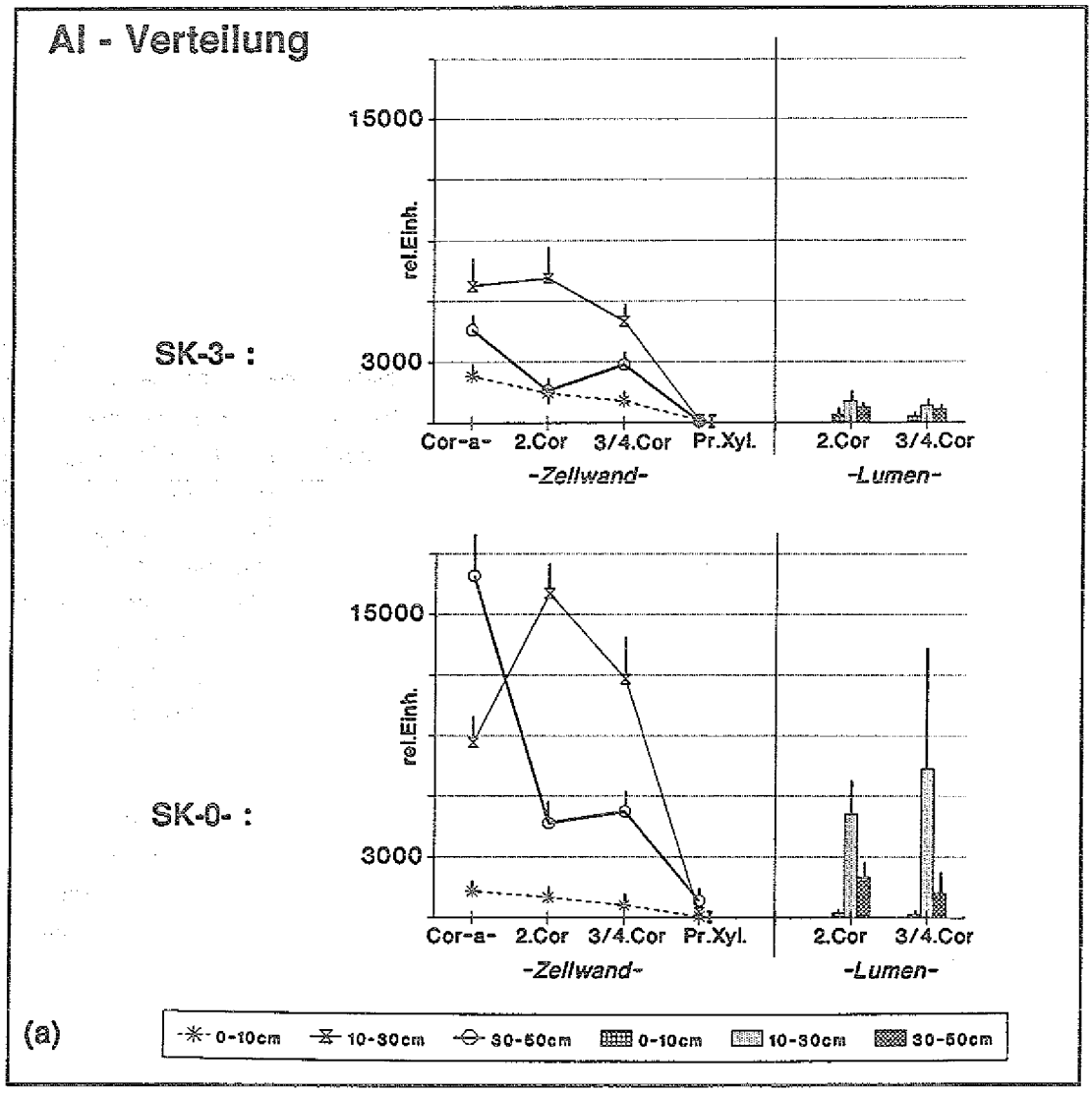


Abb. 19 a: LAMMA-Analyse der Ca-Verteilung in Mykorrhizen von Altfichten in Abhängigkeit von der Schadklasse und der Bodentiefe (Meßpunkte: identisch zu Abb. 16 a)

Abb. 19 b: Ca-Gesamtgehalte von Mykorrhizen und zentrifugierter Bodenlösung entsprechend den Proben in Abb. 19 a (ICP-OES-Analysen, in ppm)



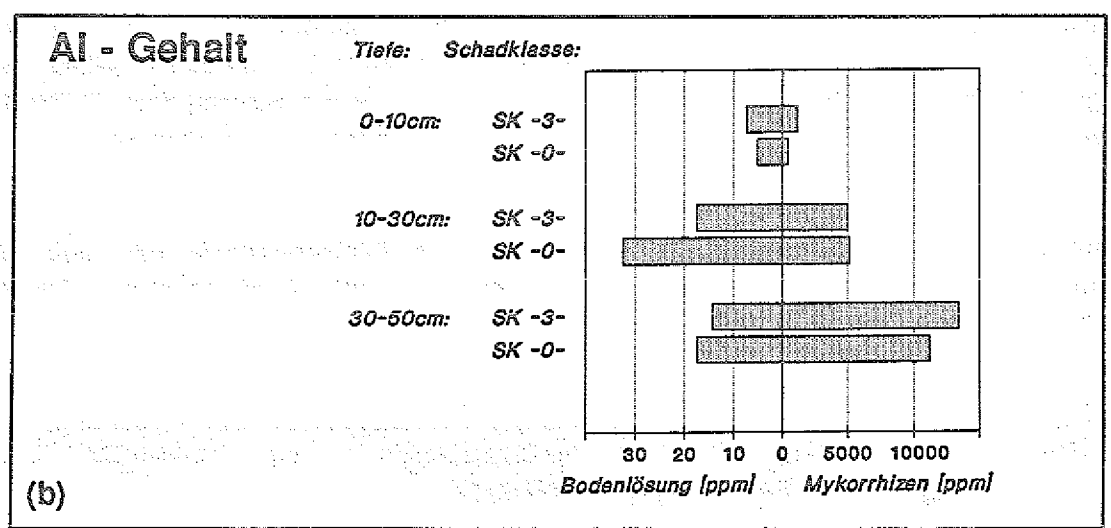


Abb. 20 a: LAMMA-Analyse der Al-Verteilung in Mykorrhizen von Altfichten in Abhängigkeit von der Schadklasse und der Bodentiefe (Meßpunkte: identisch zu Abb. 16 a)

Abb. 20 b: Al-Gesamtgehalte von Mykorrhizen und zentrifugierter Bodenlösung entsprechend den Proben in Abb. 20 a (ICP-OES-Analysen, in ppm)

6.1.2 Einfluß unterschiedlicher Böden auf die Elementverteilung in Mykorrhizen zwei- und dreijähriger Fichten aus Erdkulturen

In diesem und im folgenden Kapitel werden Untersuchungen zur Elementverteilung in zwei- und dreijährigen Fichten aus Erdkulturen dargestellt. Dabei sollte insbesondere die Abhängigkeit von unterschiedlichen Elementversorgungsbedingungen, d.h. hier unterschiedliche Böden bei ansonsten identischen äußeren Wachstumsbedingungen, berücksichtigt werden.

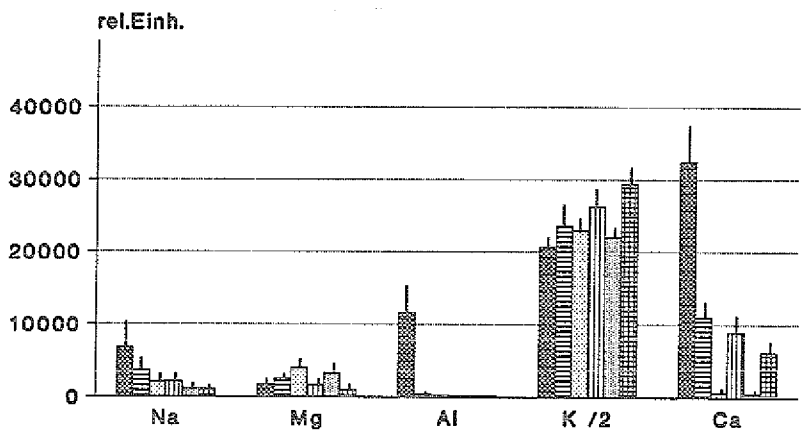
Die hier vorgestellten Mikroanalysen waren in weitergehende umfangreiche Untersuchungen an Erdkulturen mit Fichtensämlingen gleicher Herkunft eingebettet. Dabei sollte geprüft werden inwieweit Böden aus unterschiedlichen Waldschadensgebieten unter Ausschluß anderer variabler Umweltfaktoren einen Einfluß auf Biomassen-Zuwachs, Element- und Kohlenhydratgehalt in Fichtensämlingen haben (*Dünisch* 1989; *Riedel* 1989). Während dieser Untersuchungen stellte sich heraus, daß bei den gewählten Kulturbedingungen (über 1 bis 2 Jahre) die deutlichen Unterschiede im Elementgehalt der Bodenlösungen der verschiedenen Ausgangsböden durch die Bewässerung und den damit verbundenen Elementeintrag z.T. verringert wurden. Damit entsprechen die Wachstumsbedingungen zu Ende der Erdkultur-Anzuchtzeit nicht mehr den Bedingungen am Naturstandort bzw. zu Anzuchtbeginn (siehe auch: Diskussion - Kap. 7.1). So wurden z.B. die Ca- und Mg-Gehalte der Bodenlösungen in ca. 1½ Jahren teilweise verachtfacht, d.h. die Standortunterschiede im Elementgehalt der Bodenlösungen wurden nivelliert (*Riedel* 1989). *Riedel* stellte weiter fest, daß die Nährelementversorgung für Ca, Mg, K, Na, P und S in allen Fraktionen der verschiedenen Pflanzen ausreichend sein sollte. Der Al-Gehalt in den Wurzeln von Fichten aus der Mineralboden-Kultur war deutlich höher als bei Pflanzen aus dem Auflage-Boden. Weitere Unterschiede fand er im Kohlenhydratgehalt und in der Kohlenhydratzusammensetzung vor allem in der Nadelfraktion. Dabei wiesen Mineralboden-Pflanzen geringere Gehalte auf. Biomassenbestimmungen und holzanatomische Untersuchungen von *Dünisch* (1989) belegen u.a. eine deutliche Reduktion von Längenwachstum und Trockensubstanz-Produktion für Mineralbodenkulturen gegenüber Auflagekulturen, deren Knospenaustrieb etwa 2 bis 4 Wochen vorher stattfand.

Für die in diesem Kapitel vorgestellten Mikrosonden-Untersuchungen an Mykorrhizen wurden zwei- und dreijährige Fichten aus Erdkulturen mit drei deutlich verschiedenen Böden ausgewählt. Neben einer Gärtnerei-Normalerde mit hohem Nährstoffgehalt wurden zwei Böden vom Standort "POSTTURM" im Forstamt Farchau / Ratzeburg gewählt (Auflage: 0-10cm; Mineralboden: 10-30cm Tiefe; vgl. Analysen der Bodenlösungen, Tab. 1 - Kap. 3.2).

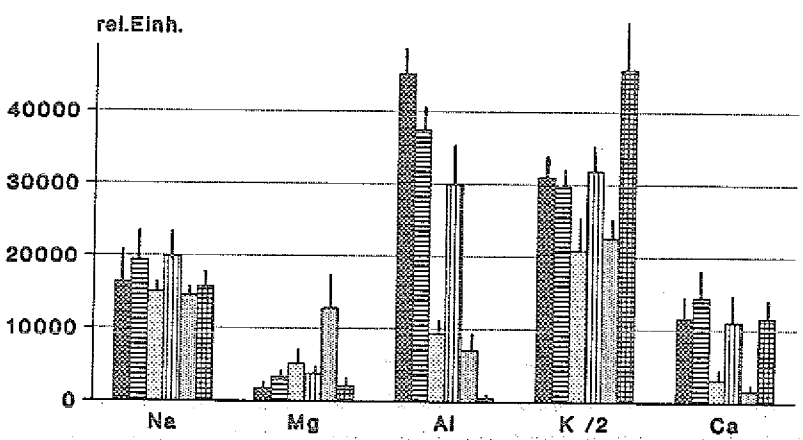
In Abb. 21 sind die Ergebnisse von LAMMA-Untersuchungen an Dünnschnitten der Mykorrhizen aus den drei hier benutzten Erdkulturen dargestellt. Dabei zeigen sich nachfolgende wesentliche Befunde (Meßpunkte wie Kap. 6.1.1):

Abb. 21: LAMMA-Analysen der Elementverteilung in mykorrhizierten Feinstwurzeln von Fichten aus Erdkulturen;
Meßpunkte: Zellwand: Cortex-außen, 2.Cortex-Zellreihe, 3.+4.Cortex-Zellreihe, primäres Xylem; Lumen: 2.Cortex-Zellreihe, 3.+4.Cortex-Zellreihe; siehe Abb. 4;
i) Normalerde (dreijährige Fichten), Mittelwerte aus 150-170 Spektren je Meßzone (8 Wurzeln von 4 Pflanzen); ii) Mineralboden / Standort "Posttturm" (zweijährige Fichten), 130-170 Spektren je Meßzone (6 Wurzeln / 3 Pflanzen); iii) Auflage / Standort "Posttturm" (zweijährige Fichten), 130-170 Spektren je Meßzone (6 Wurzeln / 3 Pflanzen); K-Darstellung um den Faktor 2 komprimiert; Standardabweichung: 2 x SDM; (z.T. aus *Kuhn et al.* 1988)

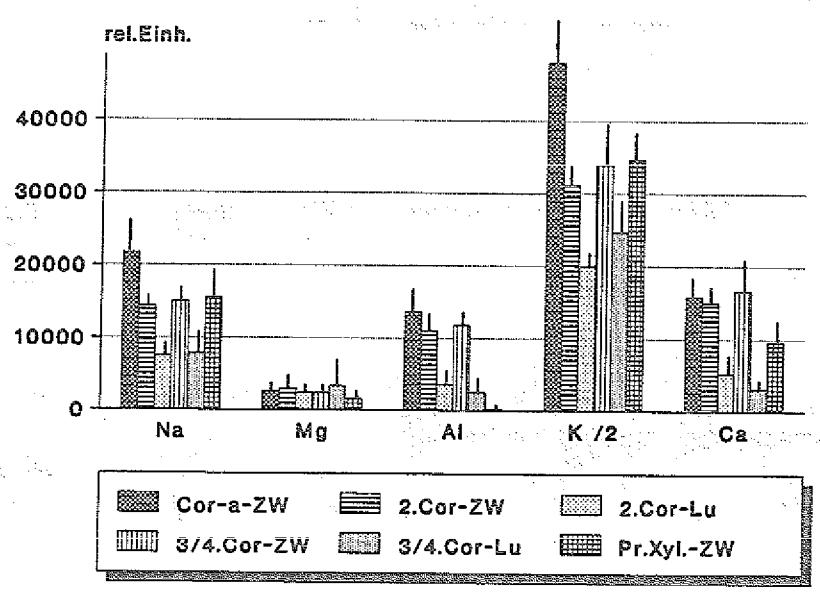
Normalerde:



Mineralboden:



Auflage:



Dreijährige Fichten in Gärtnerei-Normalerde

Die Elementverteilung in den Zellwänden der Mykorrhizen aus Normalerde weist von außen zum Wurzelinneren hin einen abnehmenden Na-Gehalt auf. Der Na-Gehalt im Cortex-Lumen ist etwa so groß wie in der Zellwand des primären Xylem.

Der Mg-Gehalt ist im Lumen der Cortexzellen etwa doppelt so hoch wie in den umgebenden Zellwänden.

Der Ca-Gehalt ist im Lumen der Cortexzellen deutlich geringer als in den Zellwänden, deren Ca-Gehalt zum Wurzelinneren abnimmt. Dabei ist der Ca-Gehalt im Cortex-außen etwa dreimal so hoch wie in den inneren Cortex-Zellwänden.

Al ist fast ausschließlich nur im "Cortex-außen" in größeren Mengen nachweisbar.

Der K-Gehalt steigt in den Zellwänden von außen zum Wurzelinneren hin leicht an bei etwa gleich hohen Werten im Cortex-Lumen.

Deutlich unterscheiden sich die Ergebnisse der Elementanalysen in Mykorrhizen aus Normalerde von denen aus Mineralboden (10-30cm; zweijährig) des Standortes "POSTTURM".

Der Na-Gehalt ist je nach Meßzone 3 bis 10mal so hoch wie in Mykorrhizen aus Normalerde-Kultur bei deutlich größeren Standardabweichungen.

Beim Vergleich der Mg-Gehalte ist besonders der ca. 2,5mal so hohe Mg-Gehalt im Lumen der inneren Cortexzellen bei Mykorrhizen aus Mineralboden gegenüber Normalerde auffällig. Die Standardabweichungen der Mg-Gehalte sind deutlich größer als bei Mykorrhizen aus Normalerde.

Der Ca-Gehalt im "Cortex-außen" der Mineralboden-Pflanzen beträgt nur ca. 1/3 der Normalerde-Pflanzen. In den inneren Zellwänden ist der Ca-Gehalt jedoch gleich bei einem höheren Ca-Gehalt im Cortex-Lumen der Mineralboden-Pflanzen.

Der Al-Gehalt im "Cortex-außen" der Mykorrhizen aus Mineralboden ist ca. 4mal so hoch wie bei Mykorrhizen aus Normalerde. Al ist anders als bei der Normalerde-Kultur auch in inneren Cortex-Zellwänden und im Cortex-Lumen in größeren Mengen vorhanden. Der auch hier gegenüber den Cortex-Geweben in der Zellwand des primären Xylem deutlich geringere Al-Gehalt ist ca. 3mal so hoch wie in Normalerde-Kultur.

Im äußeren Bereich der Mineralboden-Mykorrhizen ist der K-Gehalt im Mittel ca. 30% und im primären Xylem ca. 50% höher als bei Normalerde-Pflanzen.

Die mit der Laser-Mikrosonde gemessenen relativen Elementgehalte der Mykorrhizen aus der Auflage-Erdkultur (0-10cm Tiefe, Standort "POSTTURM", zweijährig) liegen 'zwischen' diesen beiden Erden. Im direkten Vergleich des Mineralbodens mit seiner "natürlichen Deckschicht" der Auflage zeigen sich folgende Befunde:

Der Na-Gehalt ist in den inneren Zellwänden in etwa gleich, im Cortex-Lumen der Mykorrhizen aus der Auflage jedoch nur etwa halb so groß.

Beim Vergleich der Mg-Gehalte ist besonders der deutlich höhere, bis zu ca. 3,5mal so hohe Mg-Gehalt im Lumen der inneren Cortexzellen bei Mykorrhizen aus Mineralboden gegenüber der Auflage auffällig. Die Mg-Gehalte in den Zellwänden unterscheiden sich nicht entsprechend stark.

Der Ca-Gehalt ist im Mittel in der Auflage je nach Meßzone etwa 20-30% höher als bei Mineralboden-Pflanzen.

Gegenüber der Auflage weisen die Mykorrhizen aus Mineralboden im gesamten Cortexbereich höhere Al-Konzentrationen auf. Al ist auch hier anders als in der Normalerde, im gesamten Apoplasten und Lumen des Cortex nachweisbar, während dazu im Vergleich der Gehalt in der Zellwand des primären Xylem sehr gering ist.

Im äußeren Bereich ist im Mittel der K-Gehalt in den Mineralboden-Pflanzen ca. 30% niedriger und im primären Xylem dagegen umgekehrt höher als bei den Auflage-Pflanzen.

Die auffälligsten Unterschiede in der Gegenüberstellung der Mykorrhizen aus den drei Bodenvarianten zeigen sich im 4mal höheren Ca-Gehalt in der Gärtnerei-Normalerde. Mykorrhizen aus Erdkulturen beider Standortböden weisen in allen Zellwänden über den gesamten Querschnitt und im Cortex-Lumen deutlich höhere Al-Gehalte auf (vor allem im Mineralboden).

6.1.3 Einfluß unterschiedlicher Böden auf die Elementverteilung im Sproß zweijähriger Fichten aus Erdkulturen

Neben den oben dargestellten Ergebnissen zum Elementgehalt und zur Elementverteilung in Mykorrhizen aus Erdkulturen und vom Standort wurden Untersuchungen im Fichtensproß an Erdkultur-Pflanzen durchgeführt. Hierbei ist von besonderem Interesse, welchen Einfluß verschiedene Böden auf den Elementtransport und damit auf Elementgehalt und -verteilung im Fichtensproß haben.

Zweijährige Fichten aus Erdkulturen mit vier verschiedenen Böden von zwei Waldschadensgebieten (Ratzeburg u. Fichtelberg; jeweils Auflage: 0-10cm Tiefe und Mineralboden: 10-30cm Tiefe) dienten dabei als Untersuchungsobjekte. Neben Einflüssen der Böden von unterschiedlichen Standorten stand der Vergleich der Auflage mit dem entsprechenden Mineralboden im Vordergrund. Dadurch sollte der mögliche unterschiedliche Beitrag zweier Bodenhorizonte zur Elementversorgung einer Pflanze teilweise bestimmbar werden. Diese Fragestellungen sind wie sich während der Experimente herausstellte, wegen bereits oben beschriebener Probleme bei den Kulturbedingungen (teilweise Angleichung der Elementgehalte durch Bewässerung) nur sehr beschränkt mit diesem Pflanzenmaterial bearbeitbar. Bulkanalysen verschiedener Fichtenorgane zeigten bei den Nährelementkonzentrationen (Ca, K, Mg, Na, P, S) keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Bodenvarianten (*Riedel* 1989).

Für diese Untersuchungen zur Elementverteilung wurde die Röntgen-Mikrosonde (EDXA) benutzt, da diese Dank ihrer besseren Auflösung gegenüber LAMMA die Möglichkeit gibt, bei den Zellwandmessungen im Xylem zwischen Mittellamelle mit Primärwand und Sekundärwand zu differenzieren. Des weiteren konnten mit EDXA für weitere Elemente (hier: Mn, P, S) Mikroanalysedaten erhalten werden. Da hier gefriergetrocknetes Probenmaterial benutzt wurde, ist der Kontrast und die Strukturerhaltung im ebenfalls gemessenen Kambium im Vergleich zu gefriersubstituierten Proben schlechter. Daher wurde z.T. bei Messungen in den gegenüber den Zellwänden im Xylem sehr dünnen Zellwänden im Kambium auch an Zellwänden anhaftendes Zellumen mit analysiert. Außerdem sind diese Zellwände besonders häufig mit Plasmodesmen durchsetzt.

In den Abb. 22-27 sind die mit EDXA erzielten Mikroanalysedaten für einige Elemente von Fichten aus vier verschiedenen Böden einander gegenübergestellt. Die Pflanzen wurden im August 1989 geerntet. Von der Kambium-Zellwand nach innen gehend wurde in der 1. vollentwickelten Xylem-Reihe getrennt nach Mittellamelle mit Primärwand und nach Sekundärwand differenziert. Dieses Schema wurde auch für die nachfolgenden Messungen in der 4. u. 14. Xylem-Reihe beibehalten. Die Zellen der 14. Xylem-Reihe gehören dabei zu den ersten im Jahre 1989 gebildeten Frühholz-Zellen.

Folgende Merkmale der nachfolgenden relativen Elementverteilungen innerhalb der Sproßbasis treten dabei besonders hervor:

Der Gehalt an Ca und Mg ist in der Regel im Kambium höher als im Xylem, wobei kein deutlicher Gradient innerhalb des Xylem erkennbar ist. Bis auf im Mittel höhere Mg-Gehalte in den Auflage- gegenüber den Mineralboden-Pflanzen ist bei diesen Elementen kein genereller Unterschied in der Verteilung zwischen den Pflanzen aus den beiden Böden und kein deutlicher Bodenherkunftsunterschied erkennbar.

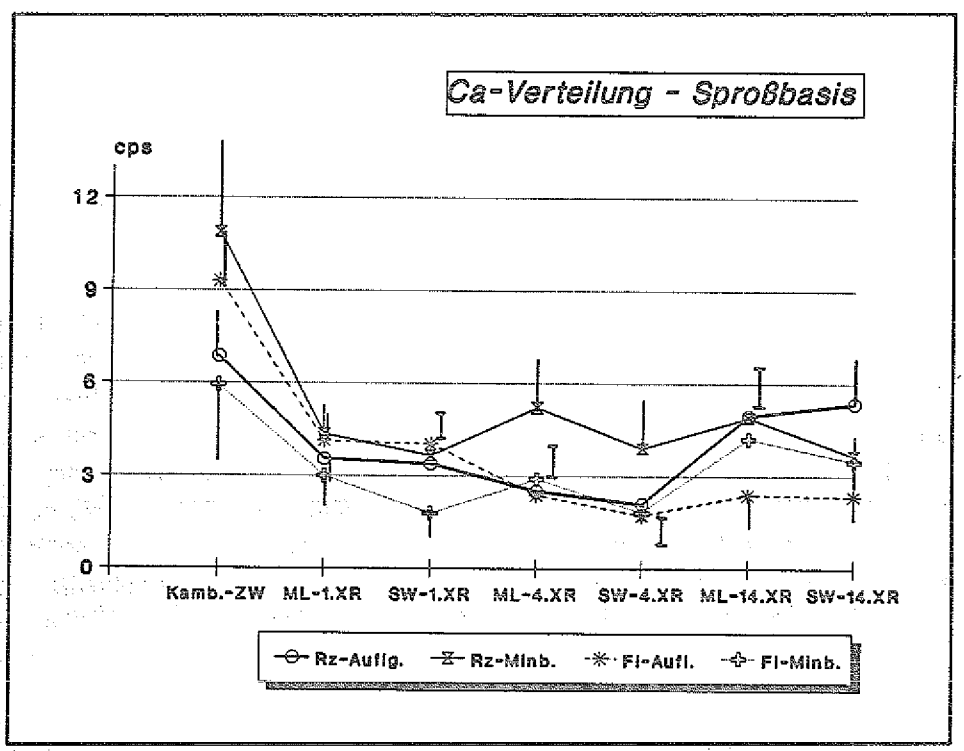


Abb. 22: EDXA-Analyse der Ca-Verteilung im letztjährigen Jahrring der unteren Sproßachse (= Sproßbasis); zweijährige Fichten aus Erdkulturen mit vier verschiedenen Böden aus zwei Waldschadensgebieten (Ratzeburg u. Fichtelberg; Auflage u. Mineralboden); Meßpunkte: Zellwand des Kambiums, Mittellamelle / Primärwand und Sekundärwand von verschiedenen Xylem-Zellreihen (siehe Text); je Pflanze und Meßpunkt: 10 Spektren bei einer Meßzeit von jeweils 300 Detektor-Live-Sekunden (cps : mittlere Zählrate pro Sekunde); Standardabweichungen (=2 x SDM) z.T. zusammengefaßt; gefriergetrocknete Proben

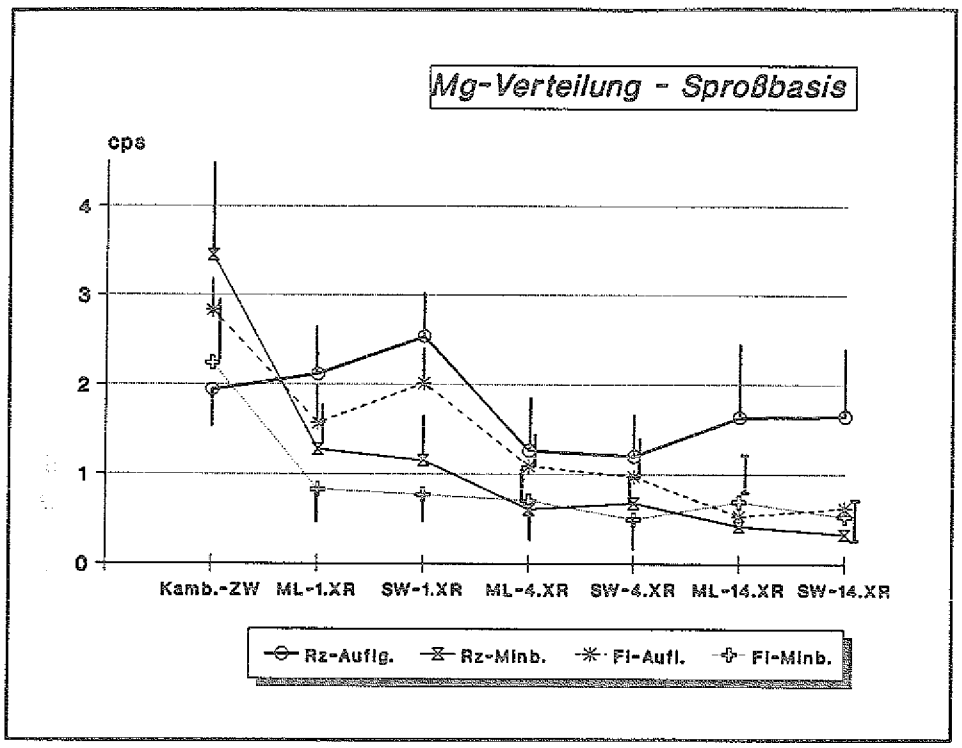


Abb. 23: EDXA-Analyse der Mg-Verteilung im letztjährigen Jahrring der Sproßbasis verschiedener Erdkultur-Fichten; identische Meßpunkte wie in Abb. 22

Der K-Gehalt ist im Kambium und in den ersten Xylem-Reihen höher als im inneren Xylembereich. Während die K-Gehalte im Xylem von Mineralboden und Auflage des Standortes Ratzeburg nur geringe Unterschiede aufweisen, sind die relativen Elementgehalte in der Sproßbasis der Pflanzen aus der Auflage / Fichtelberg deutlich höher als im letzten Jahrring der entsprechenden Mineralboden-Pflanzen.

Die P-Verteilung im Xylem ist in allen Pflanzen in etwa gleich und konstant und zeigt gegenüber dem Gehalt im Kambium deutlich niedrigere Werte. Dieser differiert im Vergleich der verschiedenen Böden z.T. erheblich, wobei die Pflanzen aus der Auflage-Erdkultur höhere Werte als die der entsprechenden Mineralboden-Variante aufweisen, deren relativer P-Gehalt in den Kambium-Zellwänden etwa gleich groß ist.

Die relativen S-Gehalte weisen tendenziell im Kambium und in den ersten Frühholzzellen aus 1989 die höchsten Werte auf. Im restlichen Xylem sind die S-Gehalte in der Sproßbasis der Fichtelberg-Pflanzen höher als in den Ratzeburg-Pflanzen.

Die Mn-Verteilungen zeigen im Xylem der Sproßbasis in allen Pflanzen in etwa gleich hohe relative Gehalte, während die Mn-Gehalte im Kambium ansteigen - besonders deutlich in den Pflanzen aus der Auflage / Fichtelberg.

Zusammenfassend läßt sich für die vier Varianten folgendes feststellen: Während sich über dem gesamten Sproßquerschnitt in den Xylem-Zellwänden in etwa eine Gleichverteilung für Mg, K, Ca, Mn, S und P zeigt, steigen deren Gehalte in der Regel im Kambium deutlich an, wobei Auflage-Pflanzen höhere Gehalte aufweisen.

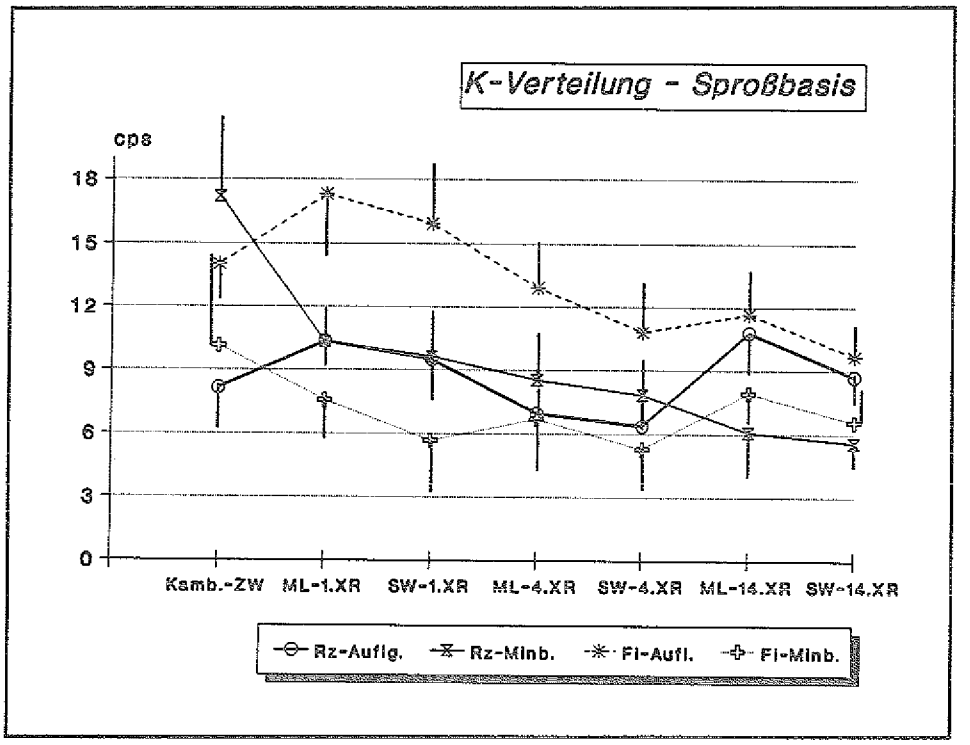


Abb. 24: EDXA-Analyse der K-Verteilung im letztjährigen Jahrring der Sproßbasis verschiedener Erdkultur-Fichten; identische Meßpunkte wie in Abb. 22

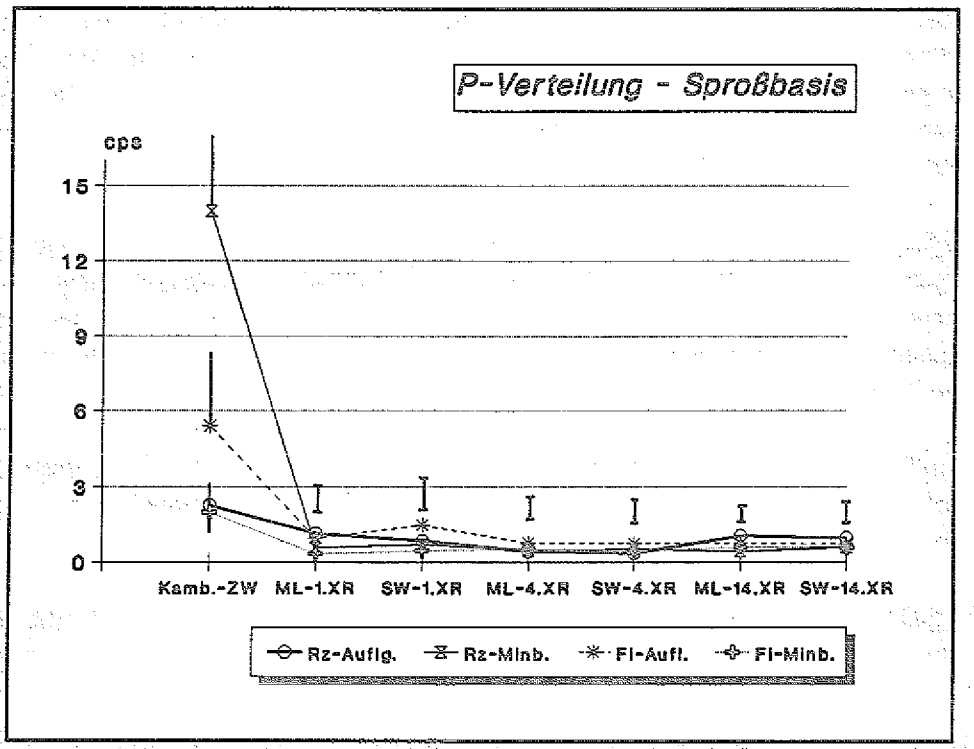


Abb. 25: EDXA-Analyse der P-Verteilung im letztjährigen Jahrring der Sproßbasis verschiedener Erdkultur-Fichten; identische Meßpunkte wie in Abb. 22

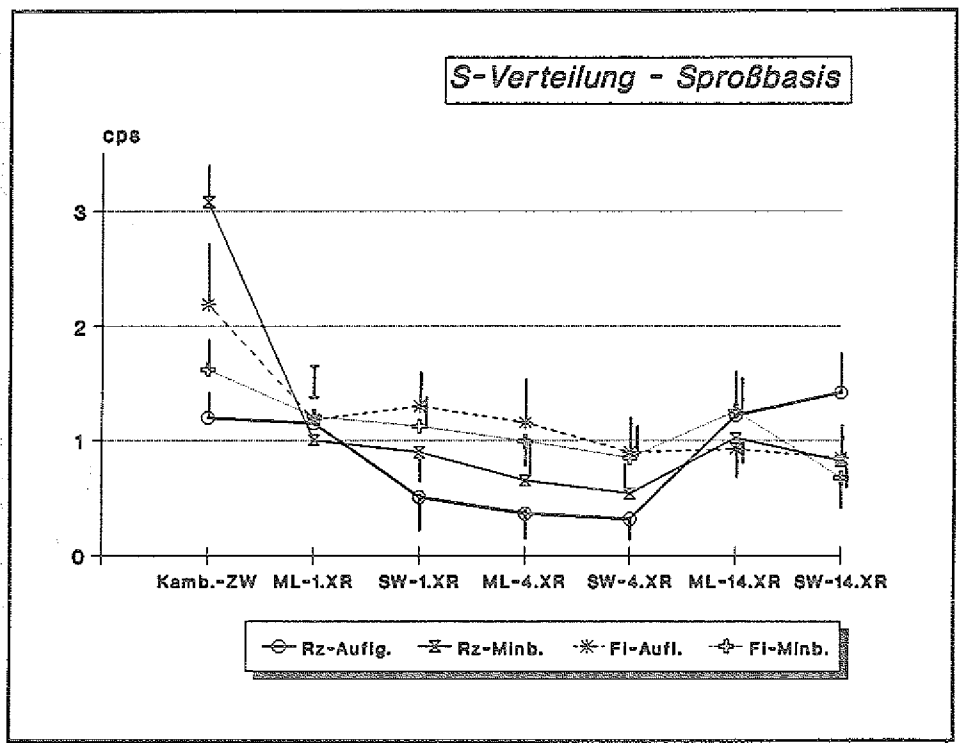


Abb. 26: EDXA-Analyse der S-Verteilung im letztjährigen Jahrring der Sproßbasis verschiedener Erdkultur-Fichten; identische Meßpunkte wie in Abb. 22

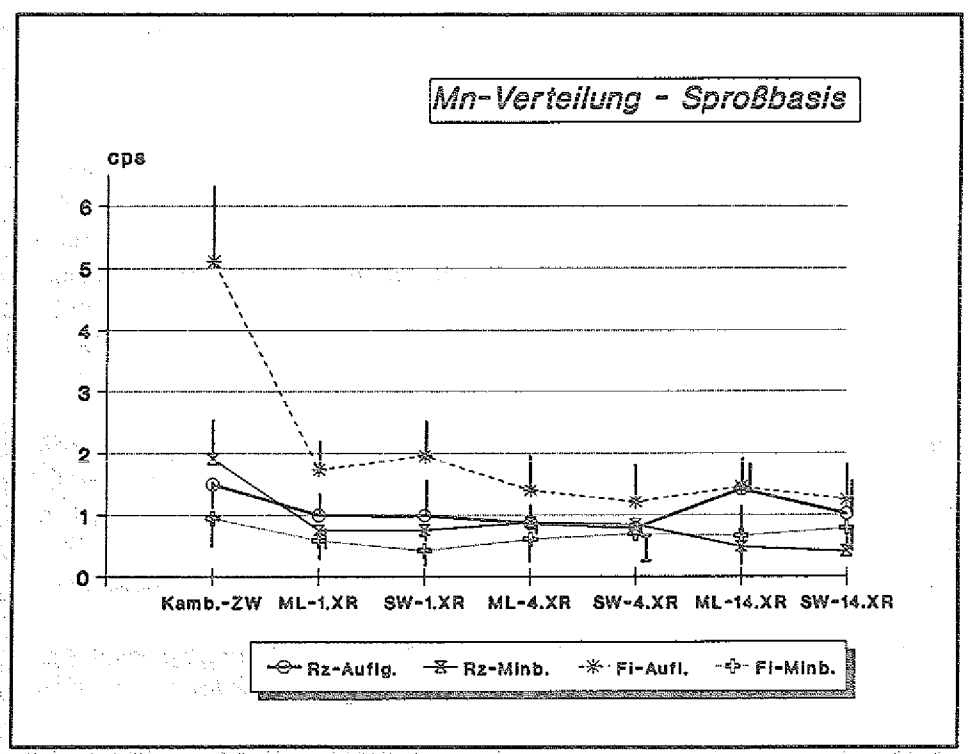


Abb. 27: EDXA-Analyse der Mn-Verteilung im letztjährigen Jahrring der Sproßbasis verschiedener Erdkultur-Fichten; identische Meßpunkte wie in Abb. 22

6.2. Nährstoffaufnahme von mykorrhizierten Fichten-Feinstwurzeln aus Erdkulturen

Mit den folgenden Experimenten wurden unter kontrollierten Versuchsparametern das Elementaufnahme-Verhalten bzw. die Ionenaustauscher-Eigenschaften mykorrhizierter Feinstwurzeln untersucht. Diese Eigenschaften sollten für Elementverteilung und Nährstoffaufnahme in Feinstwurzeln und für den Weitertransport in den Sproß von größter Bedeutung sein. Bei der Untersuchung der bei der Nährstoffaufnahme zugrundeliegenden physiologischen Mechanismen wurden folgende Parameter der über die Wurzeln angebotenen Versuchslösungen variiert: Elementkonzentrationen, pH-Wert, Wurzeltemperatur und Applikationszeit.

Die Möglichkeit, mit der Laser-Mikrosonde Isotope unterscheiden zu können, erlaubt in Ergänzung zu den bisher vorgestellten Analysen die Verwendung von angereicherten stabilen Isotopen zur Markierung von Elementen. Durch Verwendung angereicherter Isotope bei der Herstellung von Versuchslösungen kann, anders als bei EDXA- und ICP-OES-Analysen, für jedes so markierte Element zwischen vor Experimentbeginn vorhandenen und dann neu hinzugekommenen bzw. in die Versuchslösung abgegebenen Elementanteilen quantitativ unterschieden werden. Die neu eingestellten Isotopenverhältnisse können mit LAMMA sowohl in subzellulären Bereichen der Feinstwurzeln, wie auch in der Versuchslösung und in aufgelösten Veraschungsproben (Bulkproben) bestimmt werden.

6.2.1. Aufnahme mineralischer Nährstoffe in mykorrhizierte Feinstwurzeln nach 24- bzw. 48-stündiger Markierung mit stabilen Isotopen

6.2.1.1 Einfluß der angebotenen Elementkonzentrationen auf Ionenaustausch und Elementgehalt von Na, Mg, K und Ca in Mykorrhizen

Die folgenden Experimente sollen Aufschluß darüber geben, inwieweit die Variation der Konzentration eines Elementes in der angebotenen Versuchslösung den Elementgehalt und den Ionenaustausch dieses Elementes und den weiterer Elemente in Mykorrhizen beeinflußt.

Dazu wurden dreijährigen Fichten aus Gärtnerei-Normalerde-Kultur parallel für 48h unter kontrollierten Laborbedingungen mit ^{25}Mg, ^{41}K und ^{44}Ca markierte Versuchslösungen, bei pH 4,5 , einem Teil der Wurzeln bei intakten Pflanzen angeboten (Abb. 12; Das Wurzelsystem dieser Fichten war zu umfangreich, um der gesamten Wurzelmasse die mit stabilen Isotopen markierte Versuchslösung anbieten zu können.). In diesen Experimenten wurden die Elementkonzentrationen der Markierungslösung für Na, Mg, K und Ca jeweils einzeln von 0,1mmol / l, über 1mmol / l bis 10mmol / l variiert, während die drei anderen Elemente jeweils mit 1mmol / l den Pflanzen angeboten wurden.

Die Elementkonzentrationen der Markierungslösungen veränderten sich bei einem Teil der Experimente bis zum Ende der 48h Versuchsdauer gegenüber den Ausgangskonzentrationen. Der Einfluß der in Erdkultur mit hohem Nährelementgehalt aufgewachsenen Pflanzen auf die Elementkonzentrationen der verschiedenen angebotenen Lösungen wurde vor allem durch die - methodisch bedingte - unterschiedliche Wurzelmasse in der Markierungslösung und damit unterschiedliche Lösungs- und

Elementaufnahme bzw. Elementabgabe in die verbleibende Versuchslösung bestimmt. Besonders das hohe Ca-Angebot in der Gärtnerei-Normalerde verursachte eine hohe Ca-Abgabe der Pflanzen an die Markierungslösung, was z.T. zu einer deutlichen Ca-Konzentrations-Anhebung führte. Damit konnten die ursprünglich ausgewählten Elementkonzentrationen der Markierungslösung und deren Einfluß auf das Elementaufnahme-Verhalten der Fichten nicht in der beabsichtigten Form untersucht werden. Die Elementkonzentrationen der Markierungslösungen zu Versuchsende wurden mit ICP-OES bestimmt.

Abb. 28 zeigt in einer Gegenüberstellung die Daten für den Ionenaustausch und den Elementgehalt bei der "Standardzusammensetzung" von jeweils 1mmol / l der 4 angebotenen Kationen. Der

Elementgehalt innerhalb der mykorrhizierten Feinstwurzeln ist in relativen Einheiten angegeben. Für den Ionenaustausch ist der Prozentsatz, mit dem die einzelnen Isotopenverhältnisse innerhalb der Feinstwurzel verglichen mit dem der Versuchslösung am Ende des Experimentes übereinstimmen, aufgetragen. Der dargestellte Prozentsatz gibt am betreffenden Meßpunkt innerhalb der Probe den Elementanteil wieder, der unmittelbar aus der angebotenen Markierungslösung stammt (bei Versuchsende; = "Label [%]"). Die Differenz zu 100% gibt den Elementanteil wieder, der von der Pflanze vor Versuchsbeginn stammt. Für Na können solche Isotopenverhältnisse nicht angegeben werden, da ^{23}Na das einzige stabile Isotop ist [gemittelte Endkonzentrationen (mmol/l) : Ca-1,33 / Mg-1,19 / K-1,01 / Na-1,15].

Der Na-Gehalt fällt in Zellwänden von Cortex-außen bis zum primären Xylem auf ca. 50% ab. Dessen Gehalt ist so hoch wie im Cortex-Lumen.

Mg ist in den Zellwänden ungefähr gleichverteilt und im Cortex-Lumen doppelt so hoch. Der Mg-Austausch der Zellwände mit der Außenlösung liegt im Cortex-außen und im primären Xylem bei ca. 90%. Im inneren Cortexbereich liegen diese Werte hier bei ca. 57-68%, da bei den LAMMA-Messungen der Cortex-Zellwände u.a. zum Teil Zellumen mitanalysiert wird (s. Kap. 3). Dort liegt der ermittelte Mg-Ionenaustausch bei unter 10%.

Der K-Gehalt steigt in den Zellwänden nach innen an und erreicht im primären Xylem etwa den doppelten Wert wie in den Zellwänden der 2. Cortex-Zellreihe, die den gleichen K-Gehalt wie die gemittelten Zellumen aufweisen. Der K-Anteil, der aus der Versuchslösung stammt, liegt in der gesamten Feinstwurzel bei ca. 25%.

Der Ca-Gehalt im primären Xylem beträgt ca. 2/3 des Gehaltes in den Zellwänden des äußeren Cortexbereiches. Das Isotopenverhältnis stimmt in allen Zellwänden mit dem der Versuchslösung überein, zeigt also einen 100%-igen Austausch. Der Ca-Gehalt im Cortex-Lumen ist dagegen sehr gering und beträgt nur ca. 1/40 von dem der unmittelbar benachbarten Zellwände. Das ermittelte Ca-Austauschverhältnis von 60% ist bei diesem geringen Gehalt im Rahmen der Meßgenauigkeit mit größerer Unsicherheit behaftet.

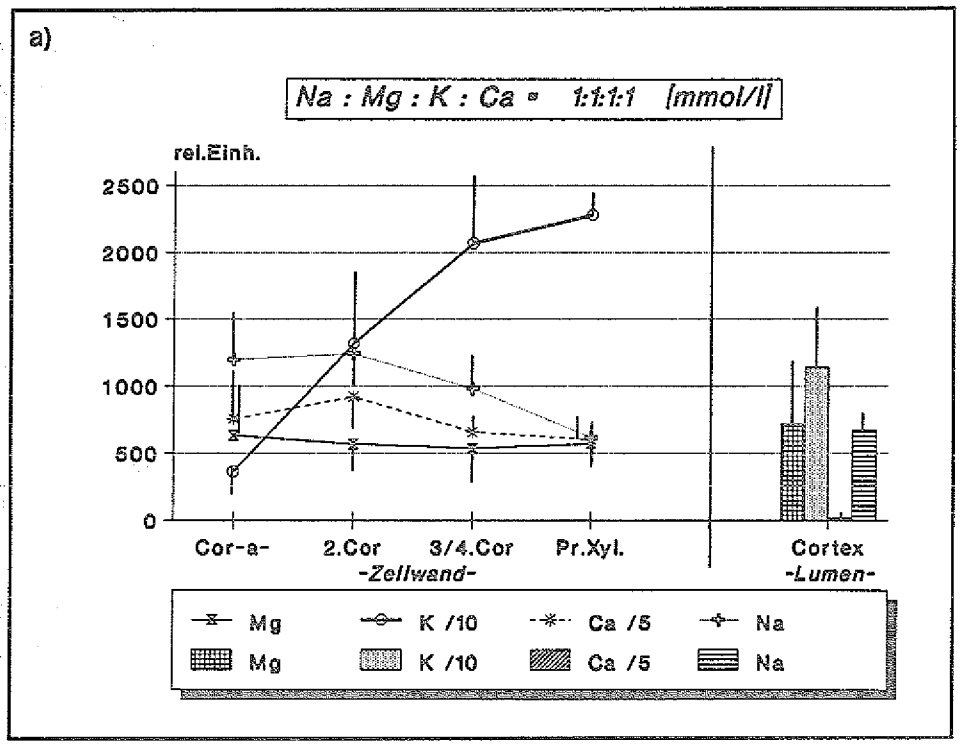
Variation der Na-Konzentration: In den Experimenten zu Abb. 29 wurde bei ansonsten gleichen Versuchsparametern gegenüber der "Standardzusammensetzung" die Na-Konzentration für jeweils 2 Pflanzen auf 10mmol/l erhöht bzw. auf 0,1mmol/l erniedrigt. Im Vergleich mit Abb. 28 treten folgende wesentliche Unterschiede auf [gemittelte Endkonzentrationen (mmol/l) bei 10 {0,1} mmol/l Na-Angebot: Ca-4,05 {1,20} / Mg-1,09 {0,90} / K-0,98 {0,86} / Na-7,96 {0,27}]:

Der relative Na-Gehalt steigt in den Zellwänden innerhalb der Mykorrhizen bei der Na-Konzentrations-Erhöhung auf etwa das Doppelte an, bei Erniedrigung fällt er auf etwa die Hälfte ab. Im Lumen fällt der Gehalt um etwa 30%, während er sich bei der Na-Konzentrations-Erhöhung auf etwa das 3fache erhöht.

Bei Erhöhung der Na-Konzentration ist der Mg-Gehalt in den Zellwänden auf etwa die Hälfte erniedrigt (Cortex-außen auf 1/3), während er bei [Na^+]-Verringerung im Cortex-außen und im primären Xylem ca. 30% geringer und innerhalb des Cortex gleich hoch ist. Das Mg-Austauschverhalten zeigte hier im inneren Cortexbereich etwa 1/3 niedrigere und für Cortex-außen und primäres Xylem unveränderte Werte.

Der K-Gehalt wird in den Zellwänden des inneren Cortexbereiches und des primären Xylem bei [Na^+]-Erhöhung auf ca. 40% gesenkt. Der K-Gehalt im Lumen erniedrigt sich auf ca. 60%. Der aus der Versuchslösung stammende K-Anteil erhöht sich hier wie auch bei [Na^+]-Erniedrigung von 25 auf ca. 40%. Der K-Gehalt ist in den Zellwänden der 3.+4. Cortexreihe und im primären Xylem bei [Na^+]-Erniedrigung ca. 25% niedriger.

Bei [Na^+]-Erhöhung wird der Ca-Gehalt im Wurzelinneren auf etwa 50%, der Ca-Lösungsanteil bis auf ca. 70% erniedrigt. Der Ca-Gehalt ist in den Wurzeln auch bei [Na^+]-Erniedrigung geringer (ca. 35%), jedoch ist der Ca-Austausch nicht behindert. Die geringen Ca-Gehalte im Cortex-Lumen erlauben keine Aussagen über eventuelle Unterschiede.



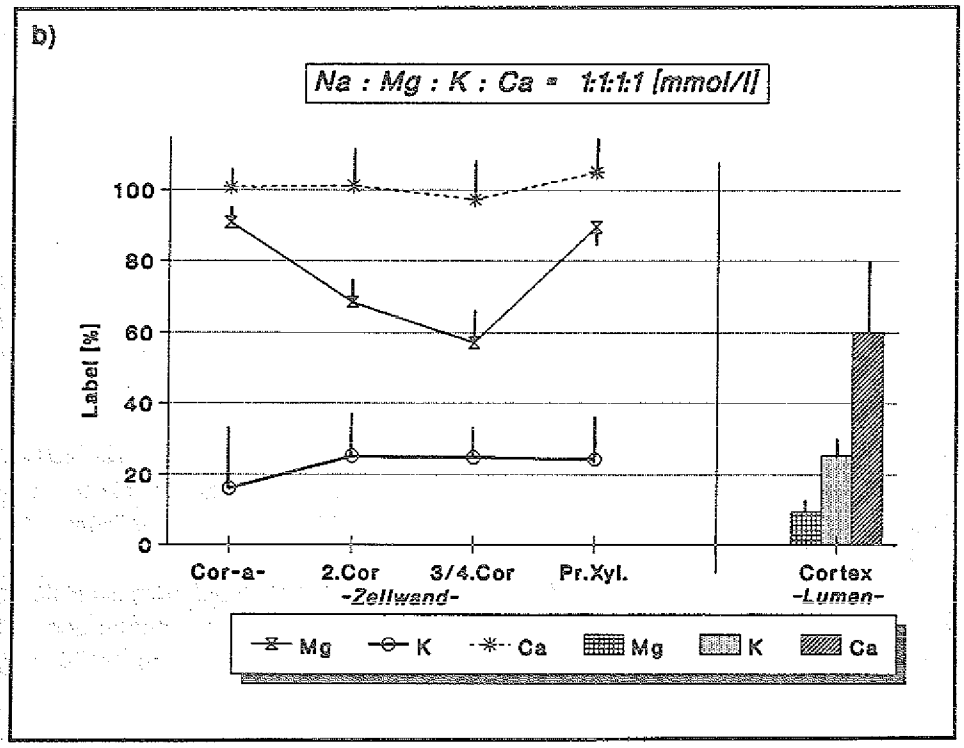


Abb. 28 a+b: LAMMA-Analysen der relativen Elementverteilung (a) und Bestimmung des aus der Markierungslösung stammenden Elementanteils (b) in Mykorrhizen von dreijährigen Erdkulturfichten aus Normalerde nach 48h Markierung mit stabilen Isotopen für Mg, K und Ca und "Standardzusammensetzung"
(jeweils 1mmol / l, siehe Text; 3 Wurzeln von 2 Pflanzen; 60-90 Spektren je Meßpunkt);
Meßpunkte: Zellwand: Cortex-außen, 2.Cortex-Zellreihe, 3.+4.Cortex-Zellreihe, primäres Xylem; Lumen: 2.Cortex-Zellreihe, 3.+4.Cortex-Zellreihe [Ca- und K-Darstellung ist komprimiert; 2x SDM]

Variation der Mg-Konzentration: Bei ansonsten gleichen Versuchsparametern treten bei Veränderung der Mg-Konzentration auf 10mmol/l bzw. auf 0,1mmol/l folgende wesentliche Unterschiede zu Abb. 28 auf [gemittelte Endkonzentrationen (mmol/l) bei 10 {0,1} mmol/l Mg-Angebot: Ca-1,76 {2,65} / Mg-7,99 {0,29} / K-0,83 {1,16} / Na-1,17 {1,02}]:

Der Na-Gehalt steigt in den Zellwänden der Mykorrhizen bei [Mg^{2+}]-Erhöhung auf etwa das Doppelte an, bei Erniedrigung fällt er auf einen konstanten Wert in der Größe des Mg-Gehaltes des primären Xylem ab.

Bei Erhöhung der [Mg^{2+}] wird der Mg-Gehalt in den Zellwänden bis auf das 3fache erhöht. Im Lumen tritt keine Erhöhung auf. Der Mg-Austausch mit der Außenlösung steigt im Cortex-außen und primären Xylem auf 100% und in den Zellwänden innerhalb des Cortex auf ca. 90%. Bei Erniedrigung der [Mg^{2+}] fällt der Mg-Gehalt in den Zellwänden auf 1/2 bis 1/3 ab, das Mg-Austauschverhältnis um 10-20%.

Der K-Gehalt ist ca. 6mal (Cortex-außen) bzw. ca. 2mal (primäres Xylem) so hoch wie bei der "Standardzusammensetzung" der Außenlösung. Der aus der Versuchslösung stammende K-Anteil erhöht sich hier wie auch bei [Mg^{2+}]-Erniedrigung um 5 bis 10%. Der K-Gehalt verringert sich bei [Mg^{2+}]-Erniedrigung in den Zellwänden im Inneren um ca. 25%.

Bei [Mg^{2+}]-Erhöhung wird der Ca-Gehalt im Cortex-außen auf etwa das 3fache erhöht. Das Ca-Austauschverhalten mit der Versuchslösung zeigt, wie auch bei [Mg^{2+}]-Erniedrigung, keine Änderung.

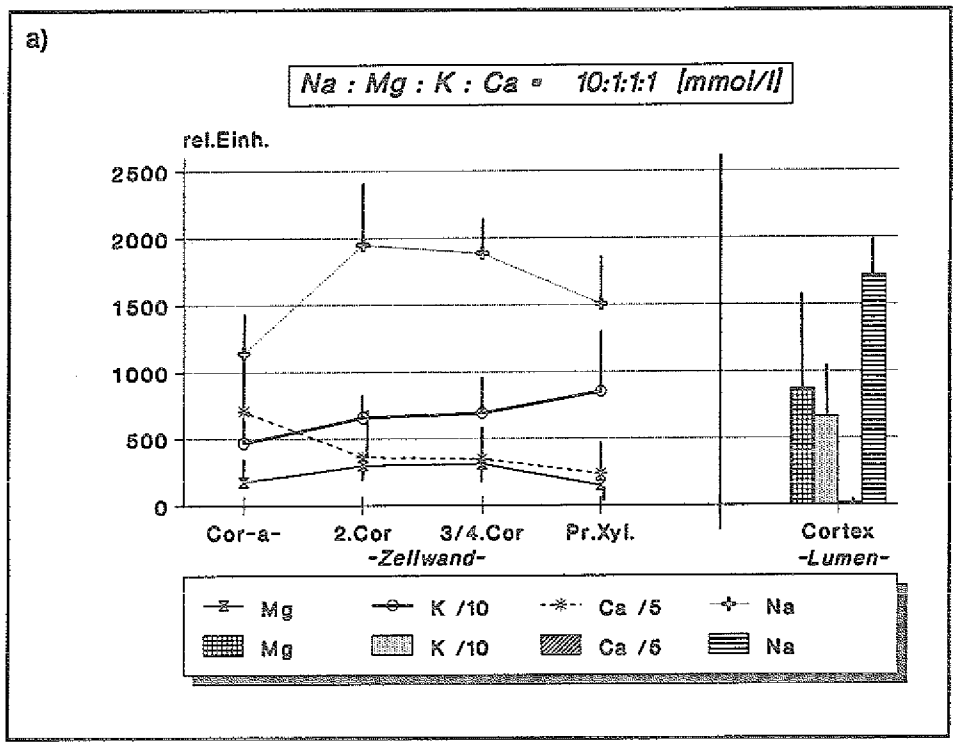
Variation der K-Konzentration: In den Experimenten zu Abb. 31 wurde, bei ansonsten gleichen Versuchsparametern, gegenüber der "Standardzusammensetzung" die [K^+] auf 10mmol/l erhöht bzw. auf 0,1mmol/l erniedrigt. Im Vergleich dazu treten folgende wesentliche Unterschiede auf (gemittelte Endkonzentrationen in mmol/l bei 10 {0,1} mmol/l K: Ca-2,21 {3,71} / Mg-1,08 {1,22} / K-4,52 {0,58}/ Na-1,43 {1,32}):

Der Na-Gehalt erniedrigt sich in den äußeren Zellwänden der Mykorrhizen bei der [K^+]-Erhöhung um ca. 20%. Bei [K^+]-Erniedrigung fällt er auf etwa die Hälfte ab.

Bei Erhöhung und Erniedrigung der [K^+] wird der Mg-Gehalt in den Zellwänden zwischen 20-50% erniedrigt. Das Mg-Austauschverhalten zeigt keine Veränderungen.

Der K-Gehalt wird nur in den Zellwänden im Cortex-außen bei [K^+]-Erhöhung deutlich um ca. 100% erhöht. Der aus der Lösung stammende K-Anteil erhöht sich auf ca. 40%. Bei Erniedrigung der [K^+] erniedrigt sich der K-Gehalt auf ca. 50%. Das K-Austauschverhältnis konnte bei der niedrigen K-Markierung nicht bestimmt werden.

[K^+]-Erhöhung führt zu einer ca. 80% Erhöhung des Ca-Gehaltes im Cortex-außen bei sonst kaum veränderten Werten, wie auch beim Ca-Austauschverhältnis. Eine Erniedrigung der [K^+] führt zu keinen Veränderungen im Ca-Gehalt und in der Ca-Isotopenverteilung.



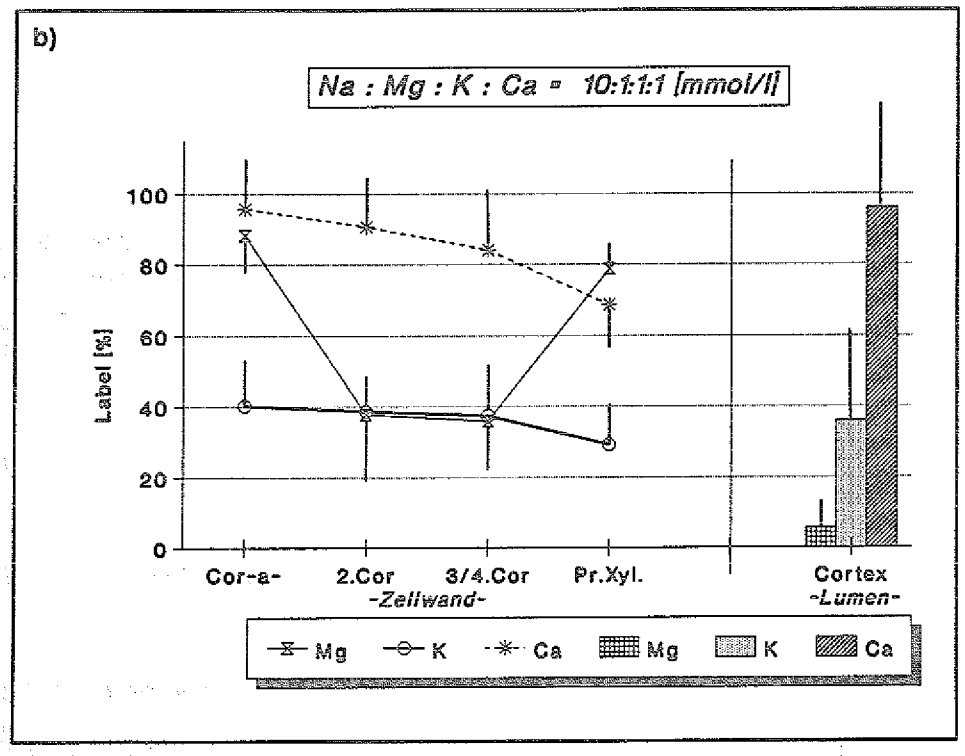
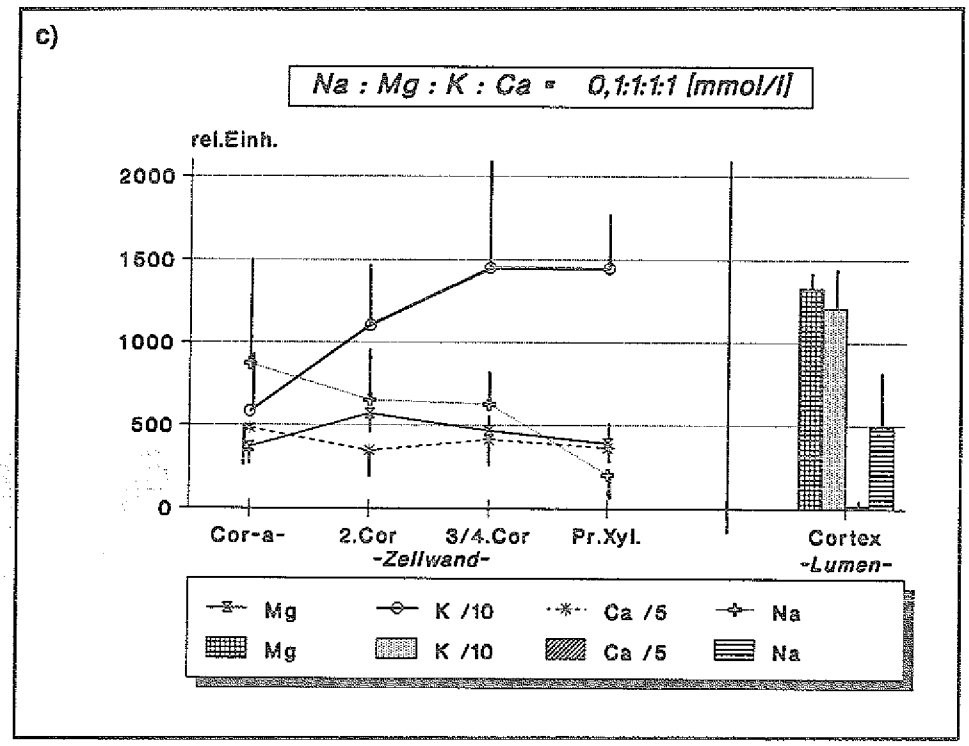


Abb. 29 a+b: LAMMA-Analysen der relativen Elementverteilung (a) und des markierten Elementanteils (b) in Mykorrhizen analog zu Abb. 28 a+b; 48h Markierung mit stabilen Isotopen für Mg, K und Ca und Erhöhung der Na-Konzentration auf 10mmol/l



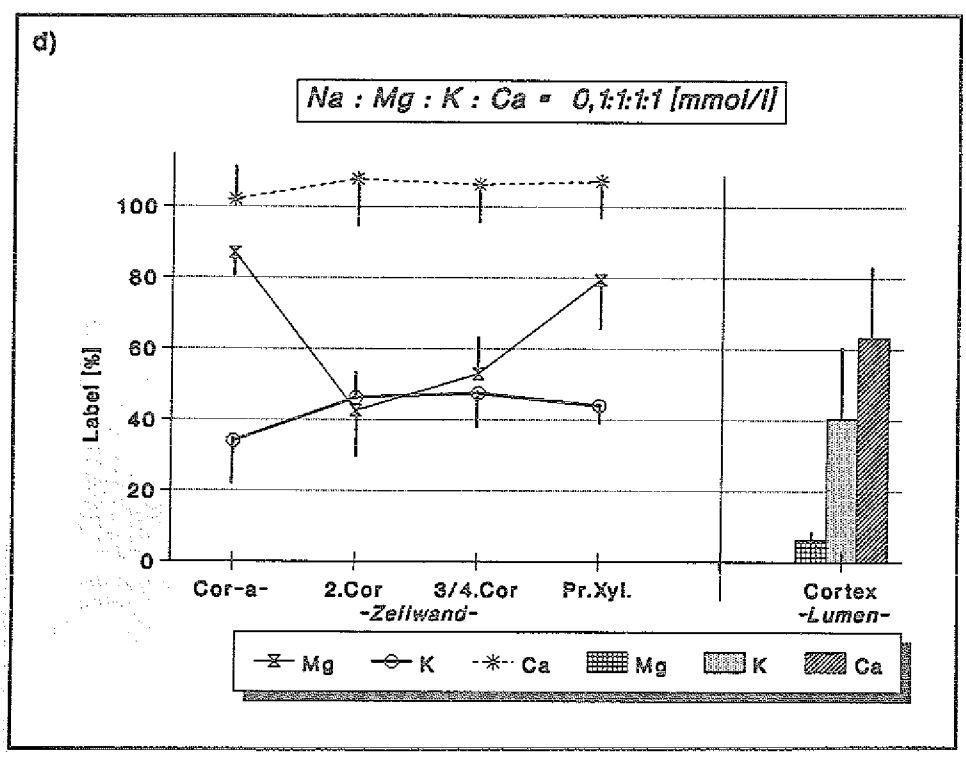
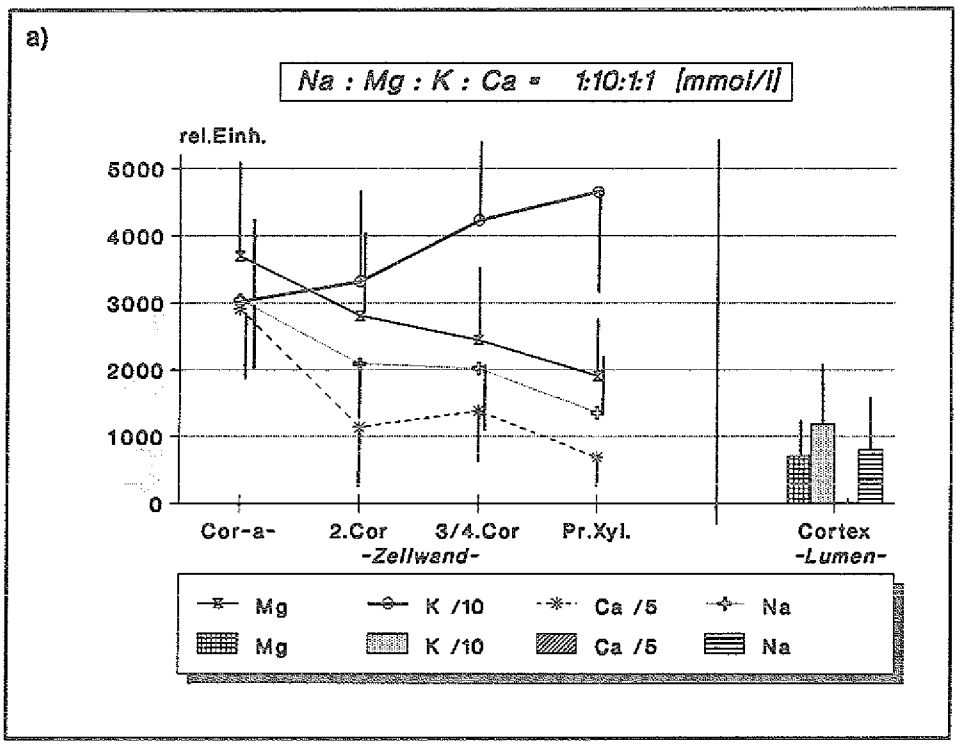


Abb. 29 c+d: LAMMA-Analysen der relativen Elementverteilung (c) und des markierten Elementanteils (d) in Mykorrhizen analog zu Abb. 29 a+b; 48h Markierung mit stabilen Isotopen für Mg, K und Ca und Erniedrigung der Na-Konzentration auf 0,1mmol/l



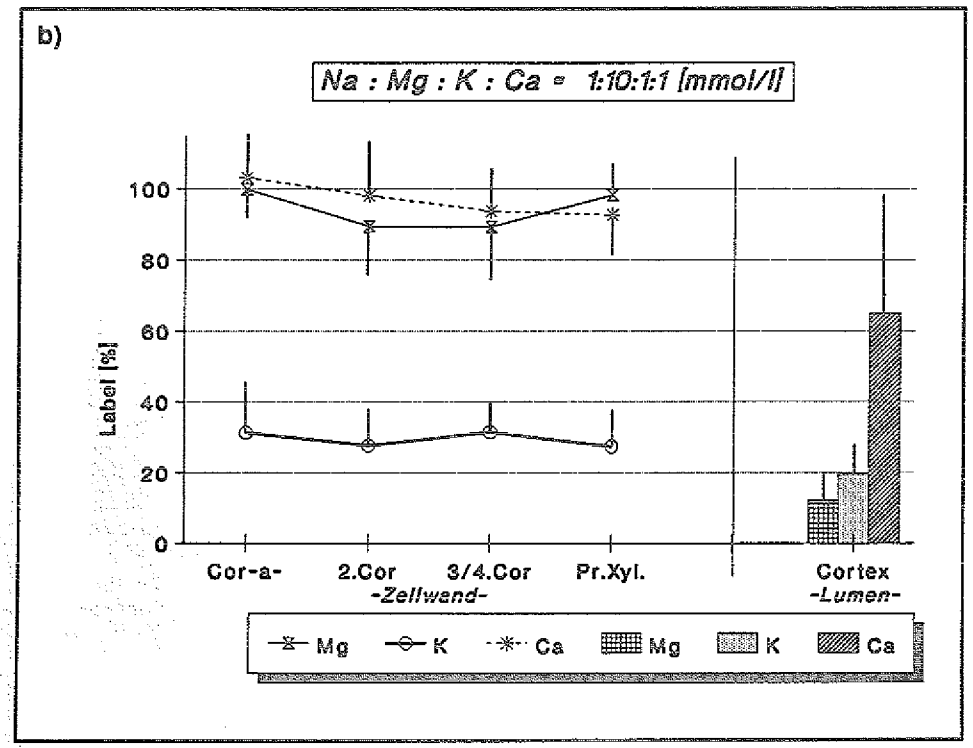
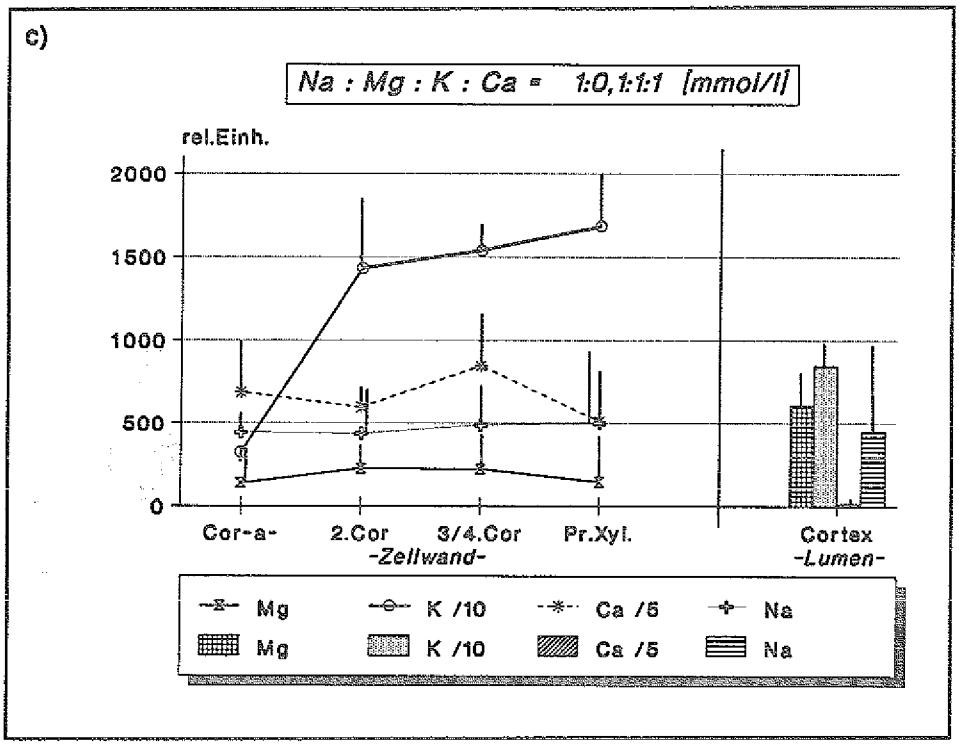


Abb. 30 a+b: LAMMA-Analysen der relativen Elementverteilung (a) und des markierten Elementanteils (b) in Mykorrhizen analog zu Abb. 28 a+b; 48h Markierung mit stabilen Isotopen für Mg, K und Ca und Erhöhung der Mg-Konzentration auf 10mmol/l



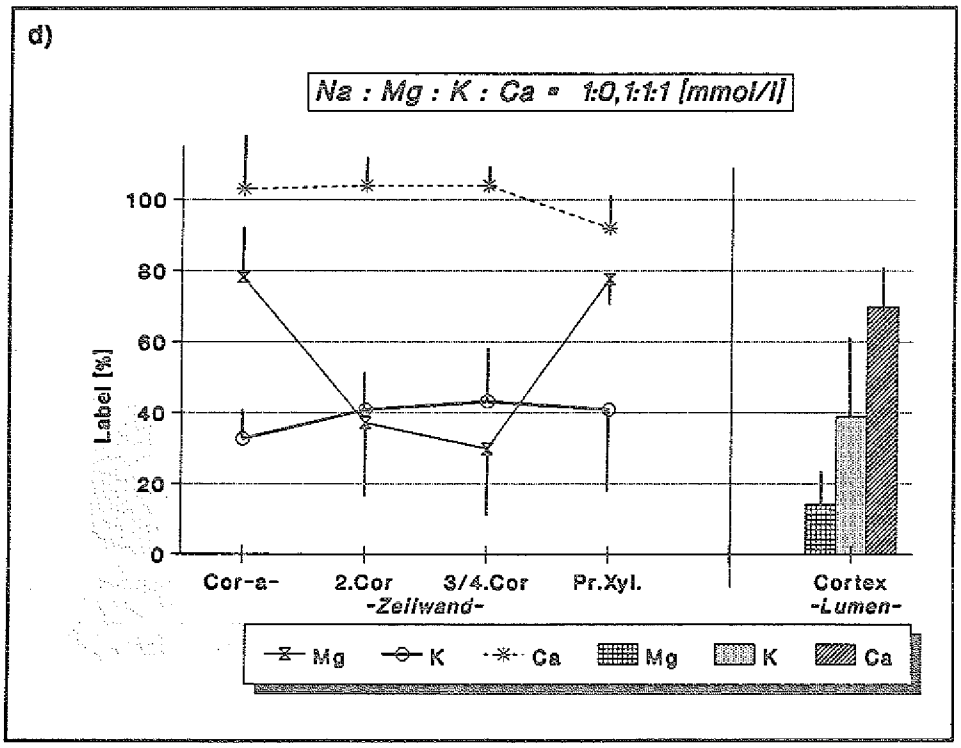
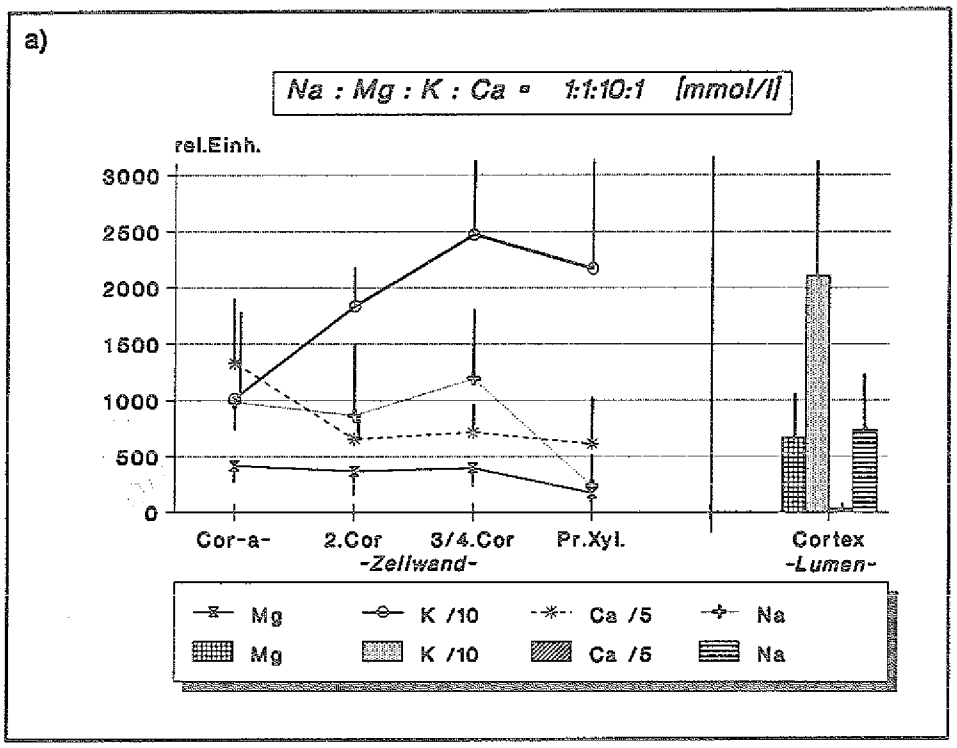


Abb. 30 c+d: LAMMA-Analysen der relativen Elementverteilung (c) und des markierten Elementanteils (d) in Mykorrhizen analog zu Abb. 30 a+b; 48h Markierung mit stabilen Isotopen für Mg, K und Ca und Erniedrigung der Mg-Konzentration auf 0,1mmol/l



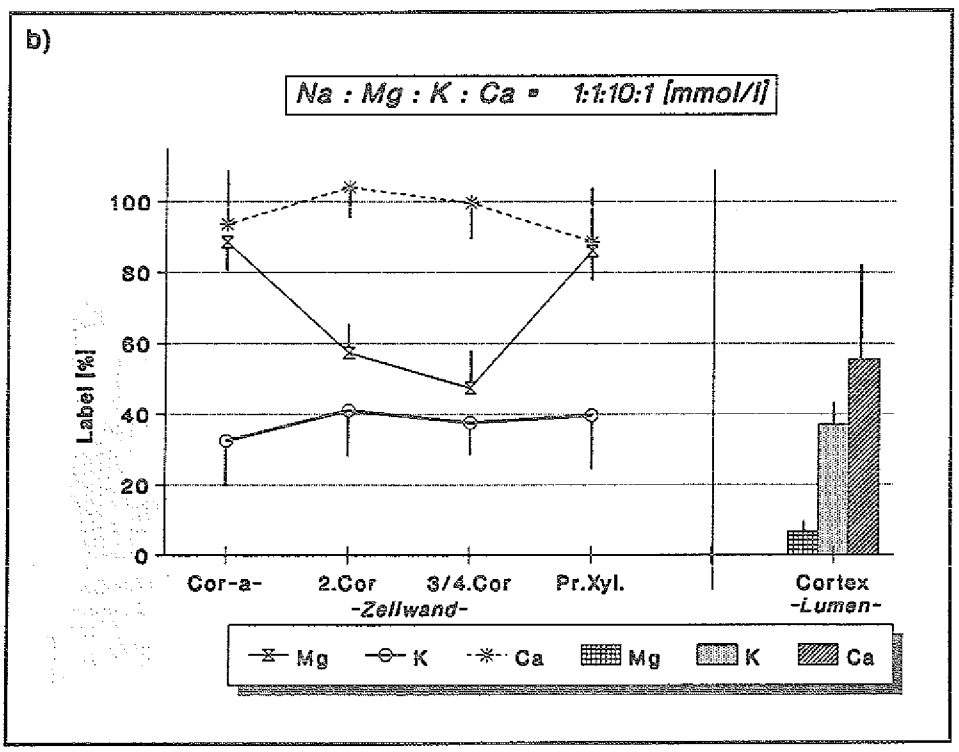
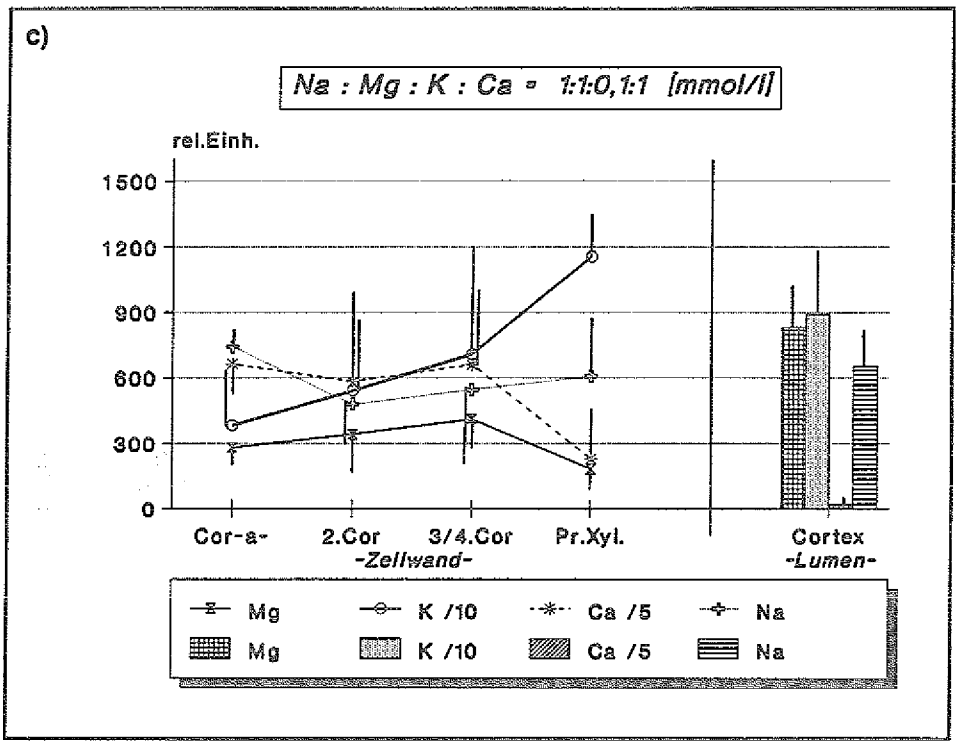


Abb. 31 a+b: LAMMA-Analysen der relativen Elementverteilung (a) und des markierten Elementanteils (b) in Mykorrhizen analog zu Abb. 28 a+b; 48h Markierung mit stabilen Isotopen für Mg, K und Ca und Erhöhung der K-Konzentration auf 10mmol/l



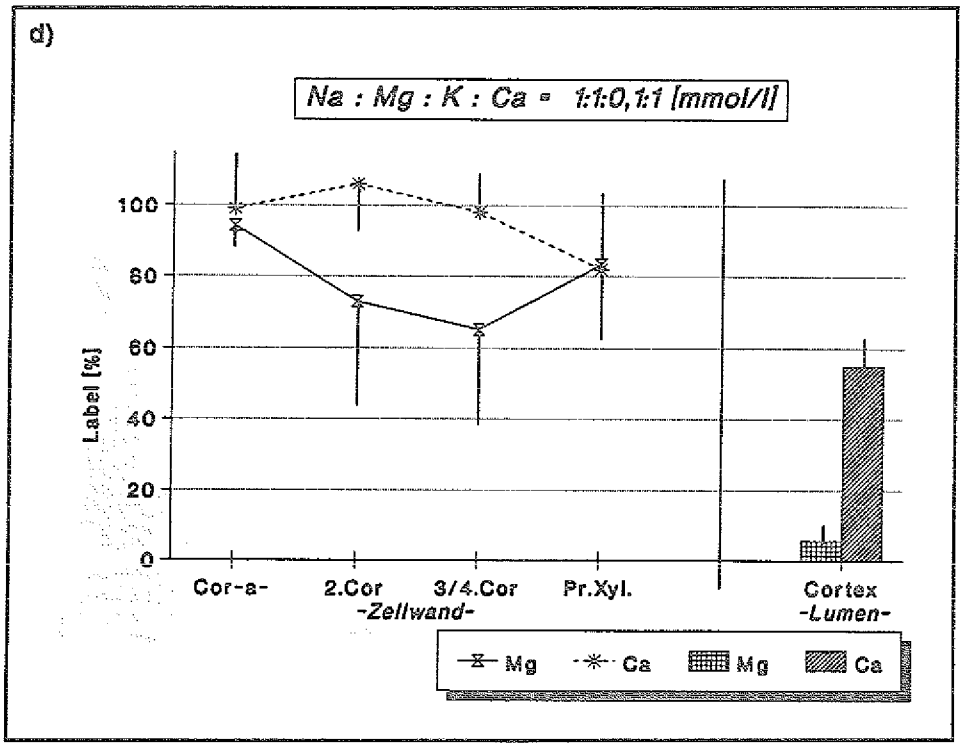
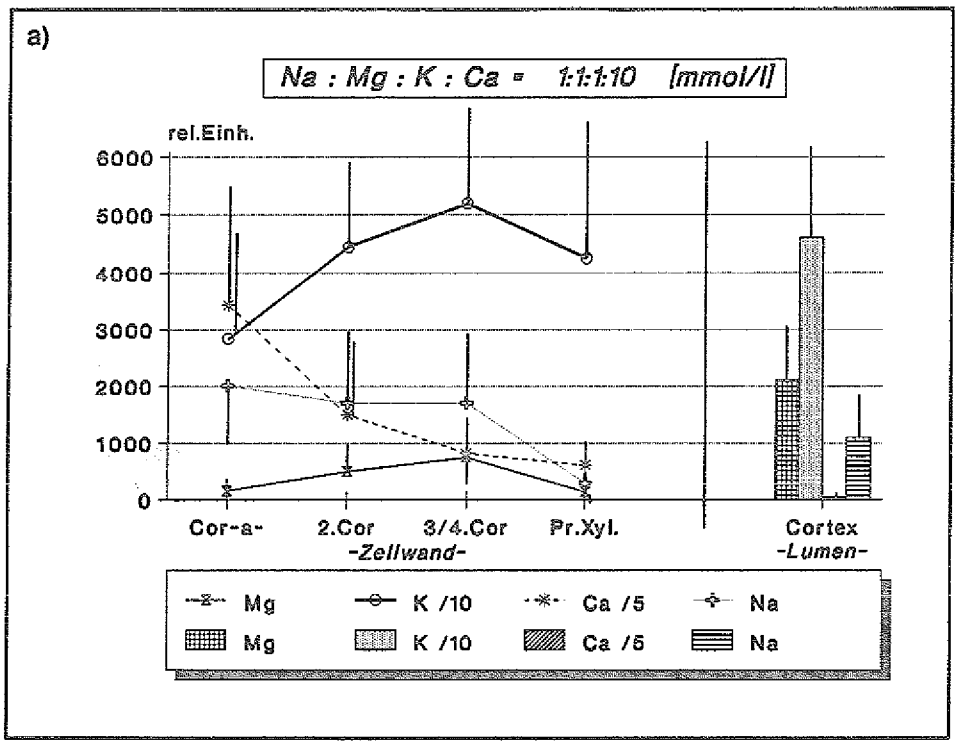


Abb. 31 c+d: LAMMA-Analysen der relativen Elementverteilung (c) und des markierten Elementanteils (d) in Mykorrhizen analog zu Abb. 31 a+b; 48h Markierung mit stabilen Isotopen für Mg, K und Ca und Erniedrigung der K-Konzentration auf 0,1mmol/l



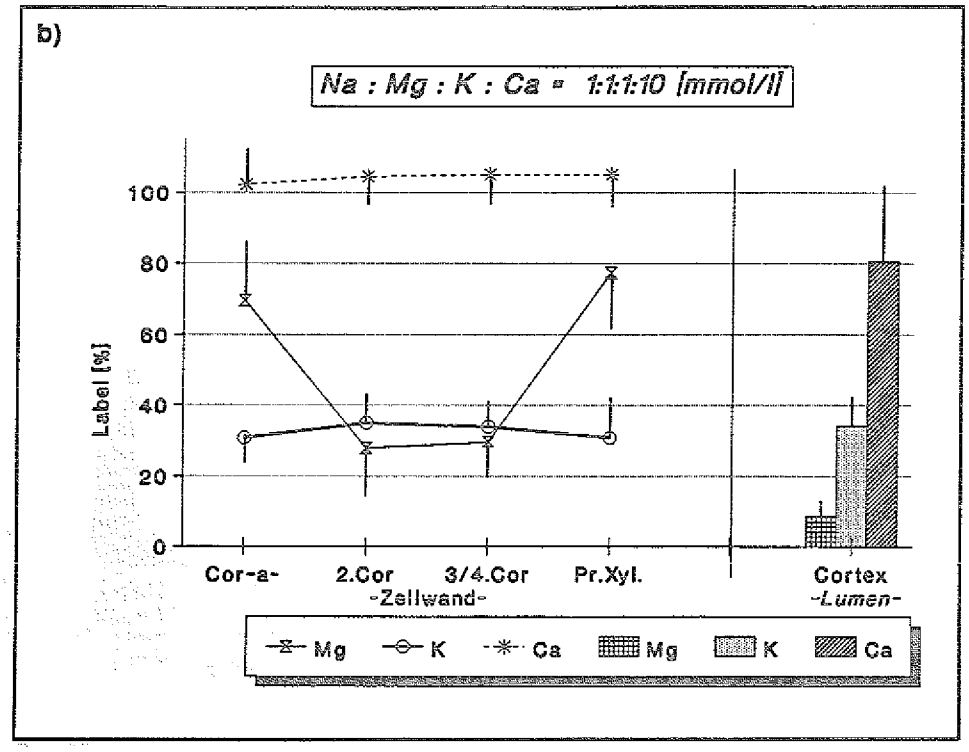
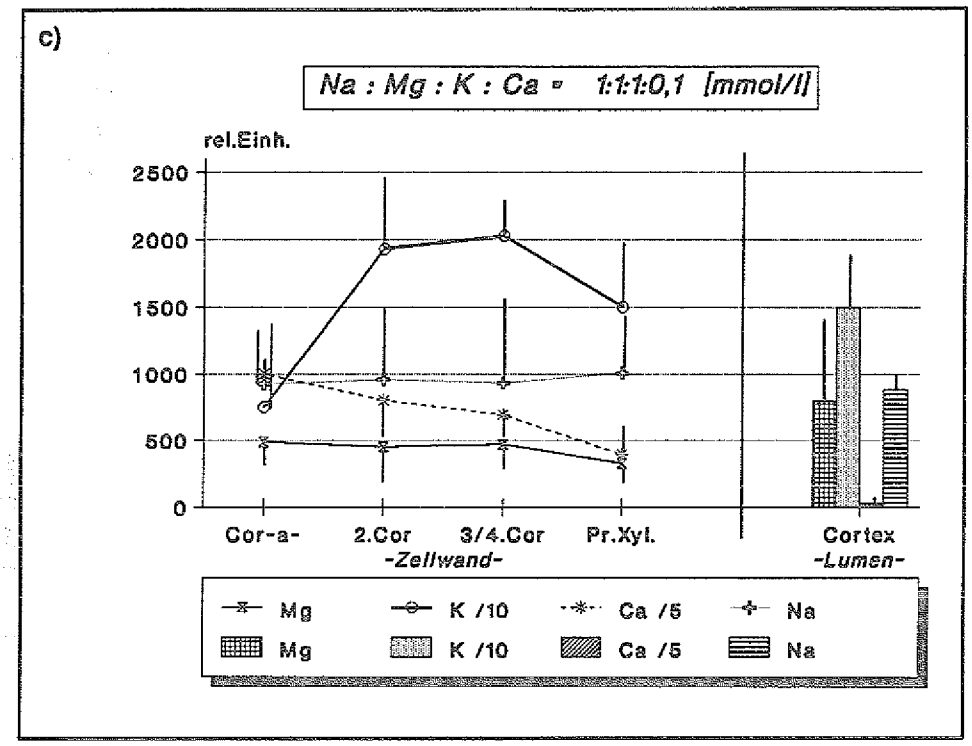


Abb. 32 a+b: LAMMA-Analysen der relativen Elementverteilung (a) und des markierten Elementanteils (b) in Mykorrhizen analog zu Abb. 28 a+b; 48h Markierung mit stabilen Isotopen für Mg, K und Ca und Erhöhung der Ca-Konzentration auf 10mmol/l



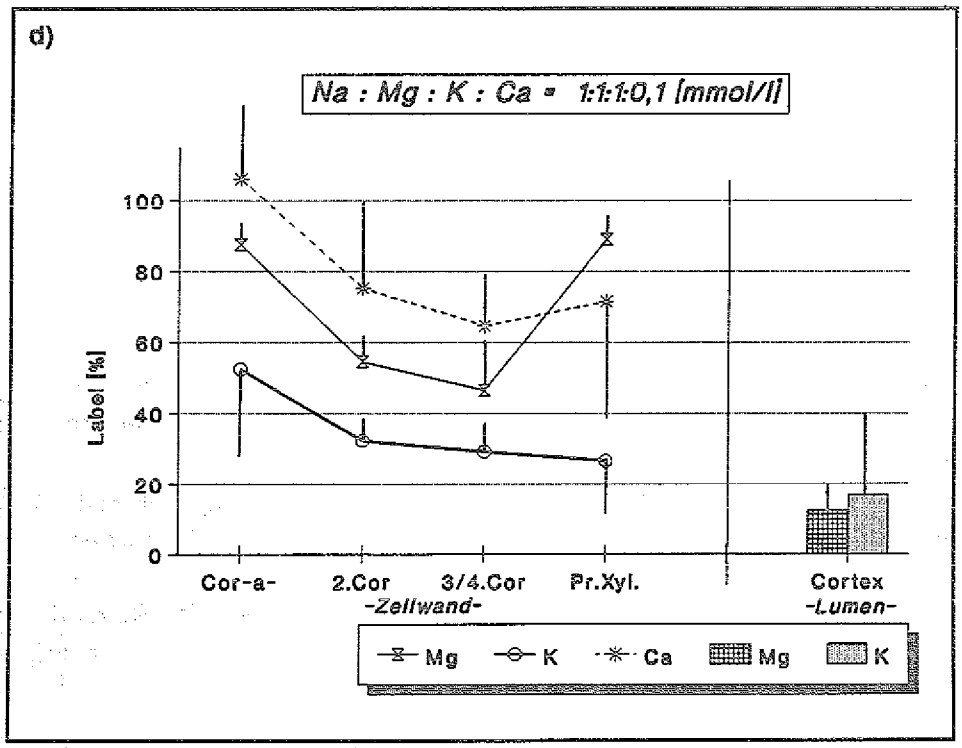


Abb. 32 c+d: LAMMA-Analysen der relativen Elementverteilung (c) und des markierten Elementanteils (d) in Mykorrhizen analog zu Abb. 32 a+b, 48h Markierung mit stabilen Isotopen für Mg, K und Ca und Erniedrigung der Ca-Konzentration auf 0,1mmol/l

Variation der Ca-Konzentration: Bei ansonsten gleichen Versuchsparametern treten bei Variation der Ca-Konzentration (Abb. 32) in der Markierungslösung auf 10mmol/l bzw. auf 0,1mmol/l die im folgenden aufgeführten wesentlichen Unterschiede zur "Standardkonzentration" auf. Hierbei ist besonders zu beachten, daß die angebotene Ca-Konzentration - aus oben erwähnten Gründen - bis zum Versuchsende deutlich verändert wurde. Die gemittelten Endkonzentrationen (mmol/l) bei 10 {0,1} mmol/l Ca-Angebot sind: Ca-10,68 {3,18} / Mg-0,75 {1,23} / K-0,95 {1,16} / Na-1,26 {1,46}.

Der Na-Gehalt steigt im Cortex der Mykorrhizen bei [Ca^{2+}]-Erhöhung um 50-80% an. Bei Erniedrigung ist der Na-Gehalt über den Wurzel-Querschnitt hin konstant, in Größe des Gehaltes der inneren Cortex-Zellwände.

Bei Erhöhung der [Ca^{2+}] wird der Mg-Gehalt im Cortex-außen und im primären Xylem auf etwa 1/3 und der aus der Lösung stammende Mg-Anteil um 20-30% erniedrigt. Bei [Ca^{2+}]-Erniedrigung treten keine signifikanten Änderungen im Mg-Verhalten auf.

Der K-Gehalt ist ca. 6mal (Cortex-außen) bzw. ca. 2mal (primäres Xylem) so hoch wie bei der "Standardzusammensetzung" der Außenlösung. Der K-Lösungsanteil erhöht sich um ca. 5%. Bei [Ca^{2+}]-Erniedrigung zeigt der K-Gehalt keine deutlichen Unterschiede, während der aus der Lösung stammende K-Anteil im Cortex-außen sich auf ca. 52% erhöht.

Bei [Ca^{2+}]-Erhöhung wird der Ca-Gehalt im Cortex-außen auf etwa das 4fache, in den inneren Cortex-Zellwänden auf das 1,5fache erhöht. Das Ca-Austauschverhalten ändert sich nicht. Bei [Ca^{2+}]-Erniedrigung verringert sich der Ca-Gehalt im primären Xylem um ca. 30%. Der Anteil des aus der Lösung stammenden Ca verringert sich von 100% (Cortex-außen) zum Inneren hin auf ca. 70% (primäres Xylem).

Aus der Summe der Experimente mit Variation der Versuchslösungs-Konzentrationen für Na, Mg, K und Ca können folgende wesentliche Befunde herausgestellt werden:

- Der Ca- und Mg-Austausch der Zellwände mit der Außenlösung wird nach 48h bis ins primäre Xylem der Mykorrhizen nicht oder nur gering behindert, während nur zwischen 20 und 45% des K-Gehaltes der Zellwände aus der Markierungslösung stammt.
- Die Markierung von Ca und Mg ist im Cortex-Lumen deutlich geringer als in den Zellwänden bzw. kaum erkennbar. Bei K entspricht der markierte Elementanteil im Lumen dem in den Zellwänden.
- Verglichen mit der "Standardzusammensetzung" (jeweils 1mmol/l Na, Mg, K , Ca) führt eine Erhöhung der Kationenkonzentration auf 10mmol/l im Durchschnitt zu einer Verdoppelung des jeweiligen Elementgehaltes in den Cortex-Zellwänden. Dabei werden bei Na-Erhöhung die Gehalte für Mg, K und Ca in etwa halbiert. Mg-Erhöhung führt zu 2-3mal so hohen Gehalten an aufgenommenem Na, K und Ca. Eine Erhöhung der K-Konzentration bedingt eine Verdopplung des Ca-Gehaltes und eine Erniedrigung um 20-50% der Gehalte von Na und Mg. Die Erhöhung des Ca-Gehaltes auf 10mmol/l verursacht eine deutliche Erhöhung des K-Gehaltes und Na-Gehaltes (2-6fach) und eine Reduzierung des Mg-Gehaltes in den Cortex-Zellwänden auf etwa 1/3.

6.2.1.2 Einfluß des pH-Wertes auf Ionenaustausch und Elementgehalt in Mykorrhizen

Der Einfluß des pH-Wertes der Versuchslösung auf Elementgehalt und Ionenaufnahme in mykorrhizierten Feinstwurzeln war Untersuchungsobjekt des folgenden Experimentes.

Dreijährigen Fichten aus Normalerde-Kultur wurde für 48h eine mit ^{25}Mg, ^{41}K und ^{44}Ca markierte Versuchslösung (jeweils 1mmol/l; in Gegenwart von 1mmol/l Na; Variation des pH-Wertes: 2,5 / 3,5/ 4,5 / 5,6 / 6,7) angeboten. Unter kontrollierten Laborbedingungen wurden jeweils 2 Pflanzen die mit stabilen Isotopen markierte Versuchslösung mit gleichem pH-Wert unmittelbar nach dem Austopfen und der Entfernung anhaftenden Bodens, bei sonst identischen Versuchsparametern, über einen Teil der Wurzeln angeboten. Dadurch konnte die Wirkung einer kurzfristig einsetzenden pH-Wert-Änderung des die Wurzeln umgebenden Mediums auf die Mykorrhizen getestet werden. Da die Lösungen nicht gepuffert wurden (siehe Diskussion Kap. 7.3), veränderten sich die pH-Werte der Lösungen während des Experimentes. Dabei erhöhte sich in den Lösungen mit den Ausgangswerten von 3,5 bis 6,7 der pH-Wert auf etwa 6,7 bis 7,2. Bei dem angesetzten pH-Wert von 2,5 erhöhten sich die pH-Werte der Markierungslösungen beider Pflanzen bis zum Versuchsende lediglich auf 2,9 bzw. auf 3,0. Nicht nur die pH-Werte zu Versuchsende - bei angebotenem pH 3,5 bis 6,7 - unterschieden sich nur gering, sondern auch in den nachfolgenden Mikroanalyse-Messungen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Daher wurden die Daten für diese pH-Werte für die folgenden Auswertungen zusammengefaßt und denen bei pH 2,5 gegenübergestellt. Bei diesem gewählten niedrigen pH-Wert konnten keine Elementgehalte im Lumen des Cortexbereiches gemessen werden. Der Inhalt der Cortexzellen wurde offensichtlich bei diesem niedrigen pH-Wert aufgelöst, was eine Schädigung der Membranen zwingend nahelegt.

In einer Gegenüberstellung beider pH-Varianten sind für verschiedene charakteristische Meßpunkte die relativen Elementgehalte (Na, K, Mg, Ca, Al; Abb. 33 - 37) und für Mg, K und Ca der aus der Lösung stammende markierte Elementanteil dargestellt (Abb. 38). Dabei zeigen sich folgende Befunde:

Der Na-Gehalt fällt in den Zellwänden bei hohem pH-Wert von außen bis zum primären Xylem hin auf ca. die Hälfte ab. Bei niedrigem pH ist der Na-Gehalt im Cortex-außen 4mal, im inneren Cortex 2mal und im primären Xylem 4mal so hoch wie bei einem hohem pH-Wert.

Der Mg-Gehalt zeigt im Mittel in etwa eine Gleichverteilung in den Zellwänden des Cortex. Im primären Xylem ist er um ca. 35% geringer. Der Mg-Gehalt innerhalb der Wurzel beträgt bei pH 2,5 ca. 80% des Gehaltes bei höherem pH.
Bei pH 2,5 stimmt das Mg-Isotopenverhältnis in allen Zellwänden mit der Außenlösung überein. Bei den höheren pH-Werten liegt der aus der Lösung stammende gemessene Mg-Anteil in den inneren Cortex-Zellwänden lediglich bei ca. 60%, da hier - im Gegensatz zum pH 2,5; s.o. - auch Zellumen mitanalysiert wurde. Die Messungen im Zellumen des Cortexbereiches weisen gegenüber den Cortex-Zellwänden bei diesem pH-Bereich einen deutlich geringeren, aus der Lösung stammenden Mg-Anteil auf.

Die Al-Verteilung zeigt für die hohe pH-Wert-Variante einen hohen Al-Gehalt ausschließlich im Cortex-außen, der bis zur 2.Cortex-Zellreihe um den Faktor 18 abfällt und im primären Xylem nur noch ca. 1/50 der äußeren Al-Konzentration ausmacht. Dagegen ist die Al-Konzentration im Cortex-außen bei pH 2,5 ca. 10% niedriger als bei hohem pH-Wert. Die Al-Konzentration erniedrigt sich zum Wurzelinneren jedoch deutlich langsamer. So ist sie in den Zellwänden der inneren Cortexschicht ca. 20mal und im primären Xylem ca. 11mal größer als bei hohem pH-Wert zu Versuchsende (in der Versuchslösung wurde kein Al angeboten).

Vom Cortex-außen steigt der K-Gehalt in der Variante mit hohem pH-Wert um ca. 35% an. Bei etwa gleichem K-Gehalt im Cortex-außen fällt er bei pH 2,5 zum inneren Cortex hin bis auf die Hälfte ab, während er im primären Xylem sich verdreifacht und fast den Wert der Variante mit hohem pH-Wert erreicht.
Die Zellwand-Werte für den K-Austausch mit der Außenlösung liegen einheitlich bei ca. 35-45%. Die gleichen K-Werte liegen bei den Zellumen-Messungen vor. Lediglich in der Zellwand des primären Xylem bei niedrigem pH-Wert liegt der aus der Lösung stammende K-Anteil mit ca. 55% etwas höher.

Der relative Ca-Gehalt der Zellwände fällt in beiden Varianten von außen nach innen ab. Dabei ist der Ca-Gehalt bei pH: 2,5 im Cortex-außen ca. 45% und im primären Xylem ca. 33% geringer.
Das Ca-Isotopenverhältnis in den Zellwänden des Cortexbereiches zeigt in beiden Varianten eine Übereinstimmung der Isotopenzusammensetzung mit der Außenlösung. Der hohe Ca-Austausch im Zellumen ist wegen des geringen Ca-Gehaltes mit größerer Unsicherheit behaftet.

Der niedrige pH-Wert der Versuchslösung führt zu einer Schädigung im Cortex der Mykorrhizen (sichtbar im aufgelösten Inhalt der Cortexzellen) und weiterhin zu niedrigen Mg- und Ca-Gehalten (ohne Beeinflussung des Austausches mit der Lösung) und hohen Na-Gehalt in den Cortex-Zellwänden. Des weiteren legt die deutliche Erhöhung des Al-Gehaltes im inneren Cortex-Bereich und im Xylem bei gleichzeitiger Al-Gehalts-Erniedrigung in den äußeren Cortex-Zellwänden bei pH 2,5 nahe, daß ein Teil des Al aus dem äußeren Cortex-Bereich bzw. adsorbiertes Al der gesamten Wurzeln mobilisiert und translokiert wurde.

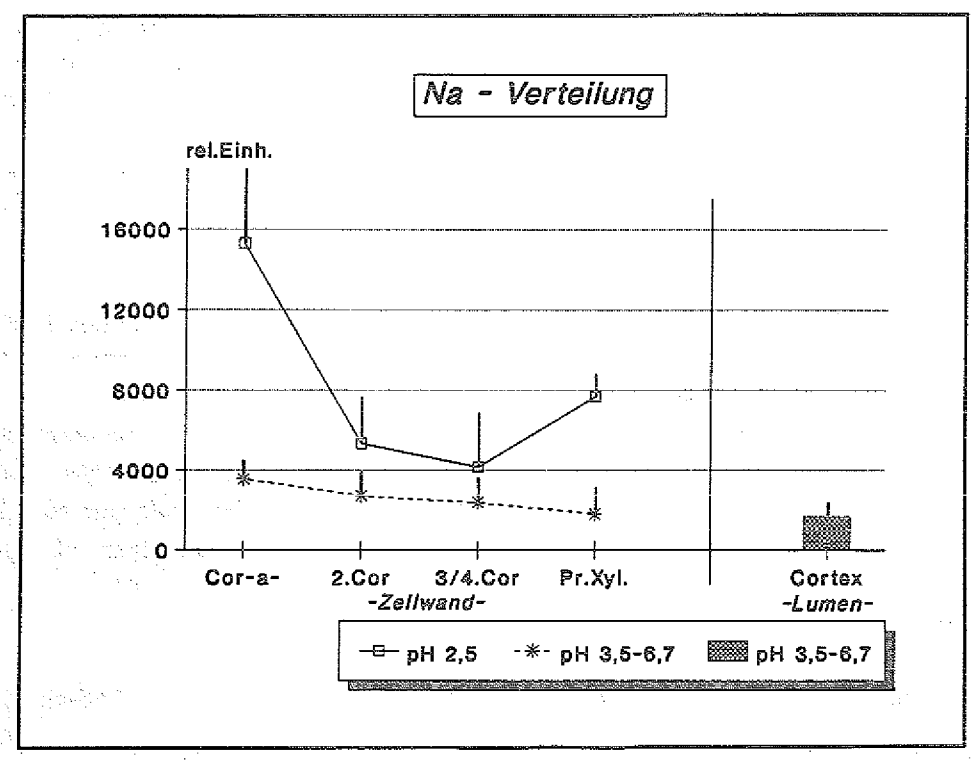


Abb. 33: LAMMA-Analysen der relativen Na-Verteilung in Mykorrhizen von dreijährigen Erdkulturfichten aus Normalerde nach 48h Markierung mit stabilen Isotopen für Mg, K und Ca und Variation des pH-Wertes der angebotenen Versuchslösung (siehe Text); Meßpunkte: siehe Abb. 4; je pH-Wert 2 Mykorrhizen von 2 Pflanzen, 70-80 Spektren je Meßpunkt

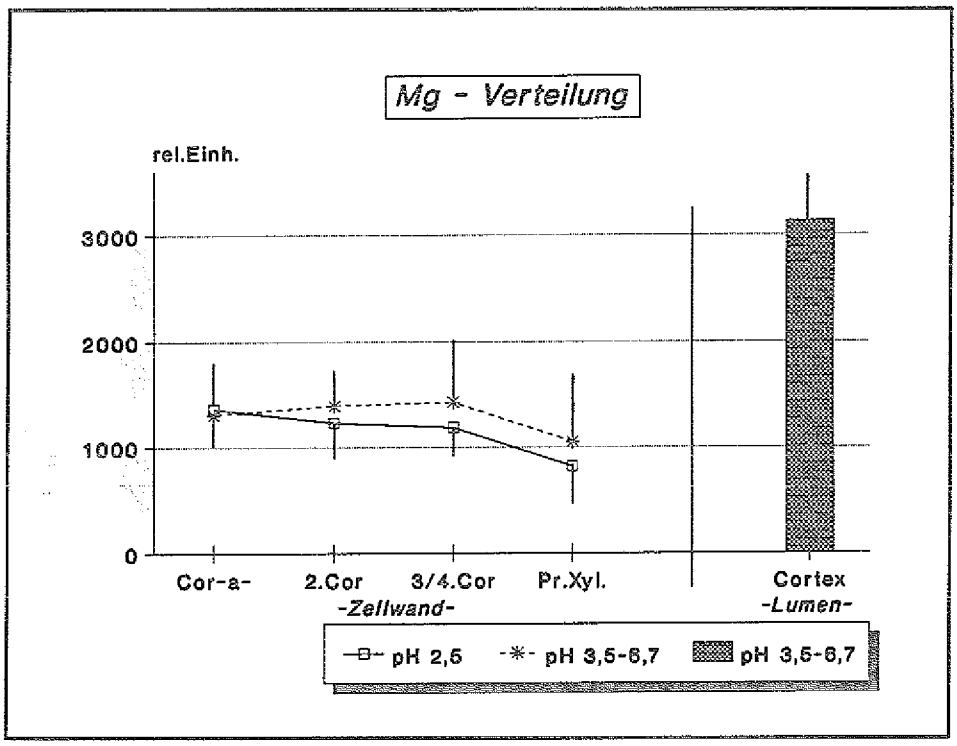


Abb. 34: LAMMA-Analysen der relativen Mg-Verteilung in Mykorrhizen bei Variation des pH-Wertes analog zu Abb. 33

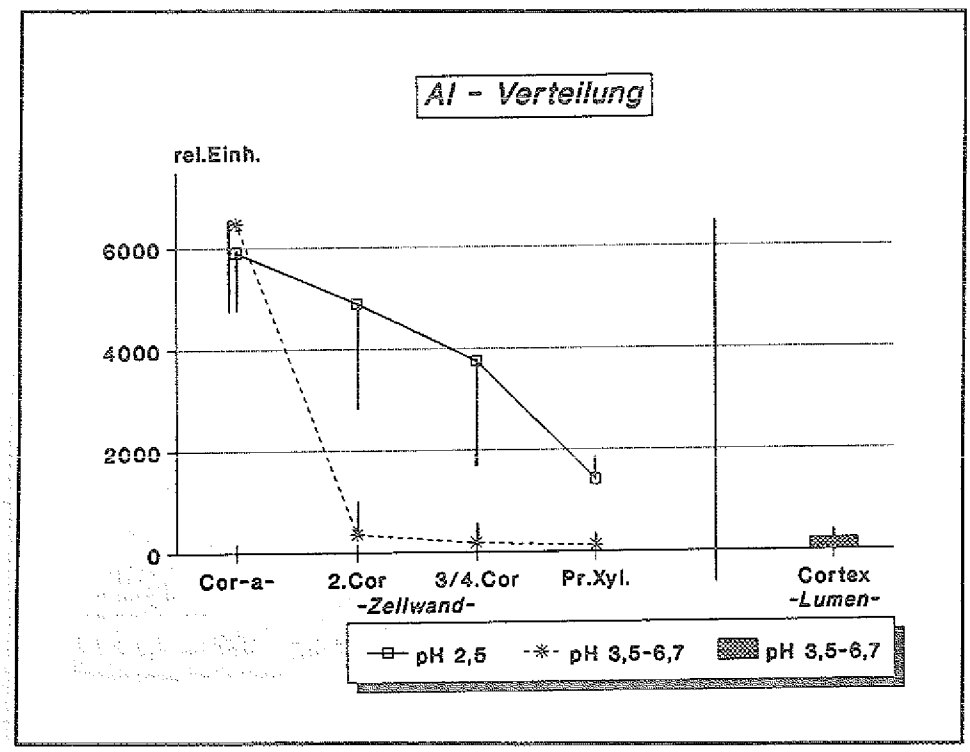


Abb. 35: LAMMA-Analysen der relativen Al-Verteilung in Mykorrhizen bei Variation des pH-Wertes analog zu Abb. 33

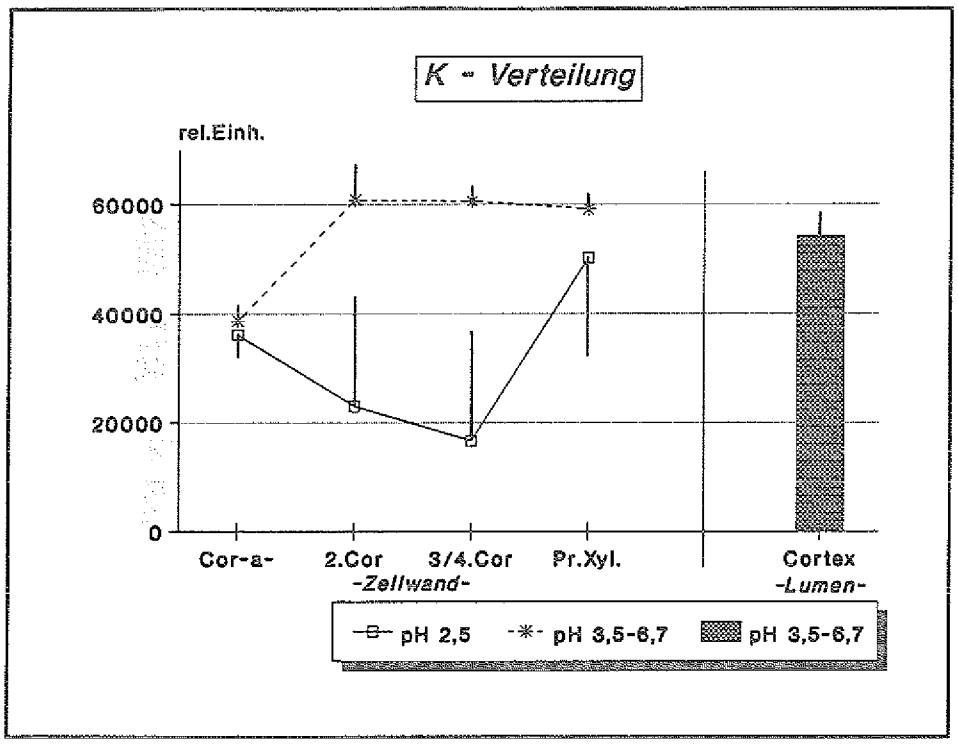


Abb. 36: LAMMA-Analysen der relativen K-Verteilung in Mykorrhizen bei Variation des pH-Wertes analog zu Abb. 33

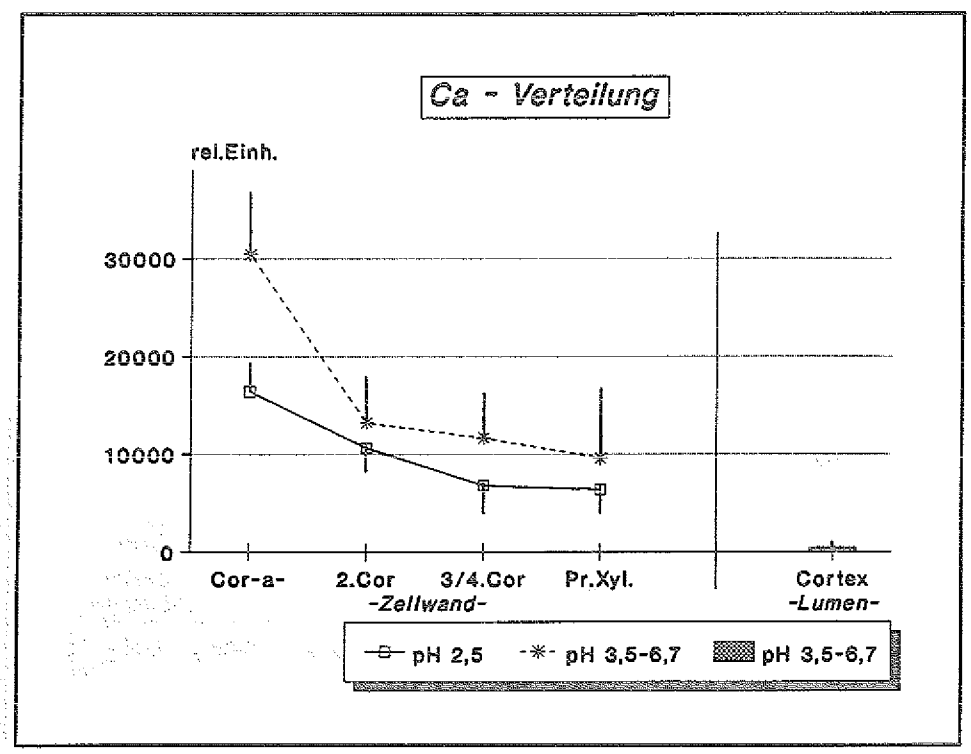
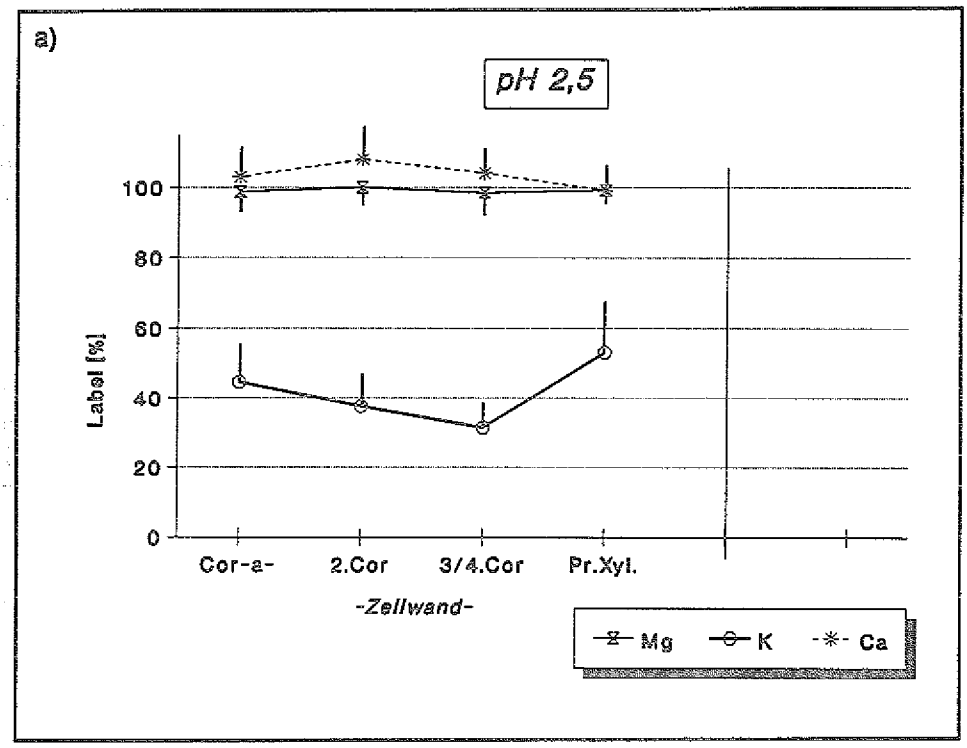


Abb. 37: LAMMA-Analysen der relativen Ca-Verteilung in Mykorrhizen bei Variation des pH-Wertes analog zu Abb. 33



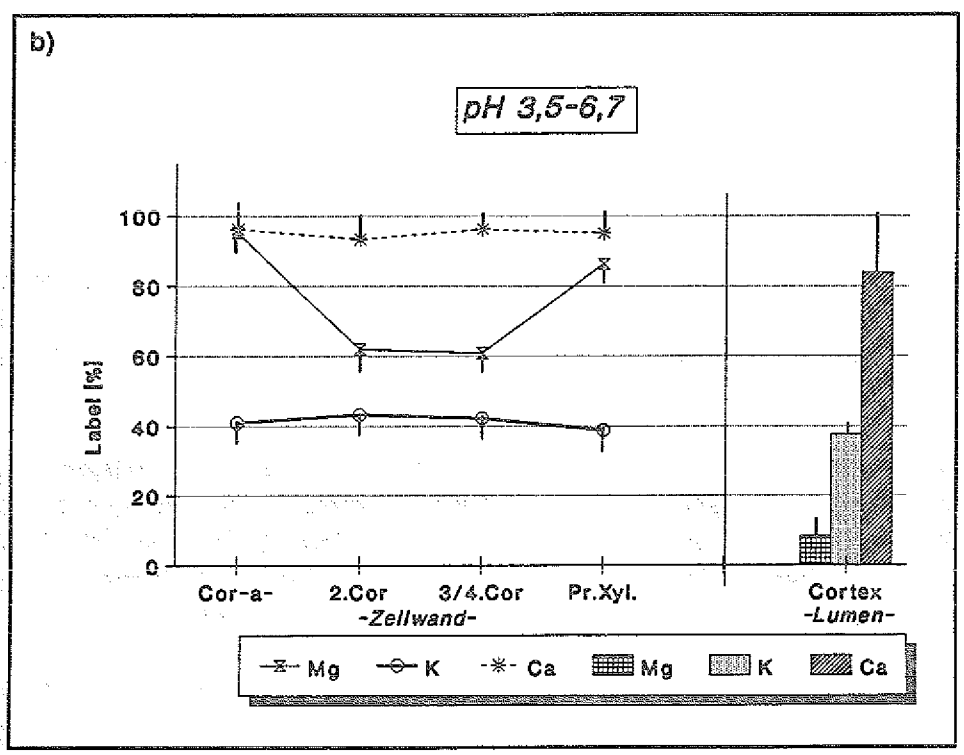


Abb. 38 a+b: Bestimmung des aus der Markierungslösung stammenden Elementanteils aus den Analysedaten die den Abb. 33-37 zugrundeliegen, bei Variation des pH-Wertes der angebotenen Versuchslösung; (a) pH 2,5 ; (b) pH 3,5 bis 6,7

6.2.1.3 Einfluß von Aluminium auf die Ionenaufnahme in Mykorrhizen

Die Al-Konzentration in der Bodenlösung kann je nach Standort in Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren (z.B. Tiefe, Bodenfeuchte, pH-Wert) stark variieren. Zur Untersuchung des Al-Antagonismus, der einen großen Einfluß auf die Bindung von Nährelementen am 'Ionenaustauscher', d.h. hier an den Feinstwurzeln hat, wurden die folgenden Experimente durchgeführt. Mit der gleichen Untersuchungsmethode wie oben wurde die Isotopenverteilung nach Markierung der Versuchslösung in mykorrhizierten Feinstwurzeln gemessen.

Nach einer 24-stündigen Dreifachmarkierung von dreijährigen Fichten aus Normalerde-Kultur mit einer mit ^{25}Mg, ^{41}K und ^{44}Ca markierten Versuchslösung (jeweils 1mmol/l; in Gegenwart von 1mmol/l Na; pH 4,5) wurden LAMMA-Messungen zur Feststellung der relativen Isotopenverteilung in Mykorrhizen durchgeführt. Im Vergleich wurde bei sonst gleichen Versuchsparametern der pH-Wert in parallelen Experimenten auf 3,4 erniedrigt und 2mmol/l Al zugegeben.

Da die Markierungslösungen nicht gepuffert wurden, erhöhte sich der pH-Wert während des Experimentes ohne Al-Zugabe auf ca. 6, während er beim Ansatz mit pH 3,4 und 2mmol/l Al-Zugabe sich nur gering auf 3,5 erhöhte.

In den folgenden Abbildungen werden zunächst die relativen Elementgehalte für Na, Mg, Al, K und Ca der beiden Lösungsvarianten einander gegenübergestellt. Dargestellt sind LAMMA-Messungen in Zellwänden im Cortex und im primären Xylem, des weiteren Zellumenmessungen im Cortex.

Der Na-Gehalt nimmt in Zellwänden, ähnlich wie bei unmittelbar aus der Erde entnommenen mykorrhizierten Feinstwurzeln (Kap.6.1.2.), zum primären Xylem hin ab. Dabei ist der Na-Gehalt mit Al-Zugabe je nach Meßzone (wie auch im Zellumen) 2 bis 4mal höher als bei pH 4,5 ohne Al-Zugabe (Abb. 39).

Die Mg-Gehalte in Zellwänden der "+Al" - Variante betragen zwischen 25% (Cortex-außen-) und ca. 60% (primäres Xylem) der Gehalte der "-Al" - Variante. Die Mg-Gehalte sind im Mittel im Cortex-Lumen deutlich höher als in den umgebenden Zellwänden, wobei der Mg-Gehalt der "+Al' - Variante im Vergleich etwa 30% höher ist (Abb. 40).

Al ist in der "-Al" - Variante wie bei unmittelbar aus der Normalerde entnommenen Mykorrhizen (siehe Abb. 21) fast ausschließlich im Cortex-außen nachweisbar. Bei der "+Al" - Variante ist der Al-Gehalt außen im Cortex 10mal und in den inneren Cortex-Zellwänden 100mal höher. Der deutlich geringere Al-Gehalt im Cortex-Lumen ist etwa doppelt und in den Zellwänden des primären Xylem etwa 10mal so hoch wie ohne Al-Zugabe (Abb. 41).

Der relative K-Gehalt steigt in beiden Varianten zum Wurzelinneren an. Dabei sind die K-Gehalte in der "+Al" - Variante in den Zellwänden des Wurzelinneren und im Cortex-Lumen etwa 10% niedriger als in der Variante ohne Al-Zugabe (Abb. 42).

Der relative Ca-Gehalt in der "+Al" - Variante beträgt in den Zellwänden des äußeren Cortex etwa 1/5, im inneren Cortex etwa 1/8 und im primären Xylem und im Cortex-Lumen etwa 1/2 der "-Al" - Variante (Abb. 43).

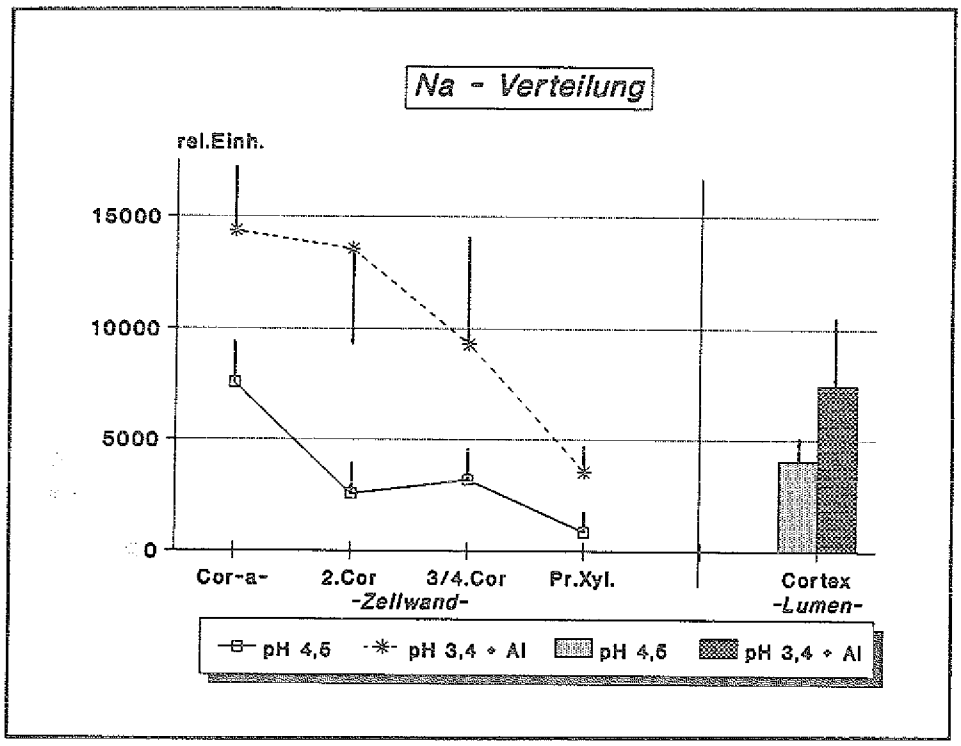


Abb. 39: LAMMA-Analysen der relativen Na-Verteilung in Mykorrhizen von dreijährigen Erdkulturfichten aus Normalerde nach 24h Markierung mit stabilen Isotopen für Mg, K und Ca; unter "Standardbedingungen" bei pH 4,5 und bei Erniedrigung des pH-Wertes auf 3,4 und gleichzeitiger 2mmol/l Al-Zugabe;
Meßpunkte: siehe Abb. 4; Mittelwerte aus 80-130 Spektren (je 6 Mykorrhizen von 3 Pflanzen)

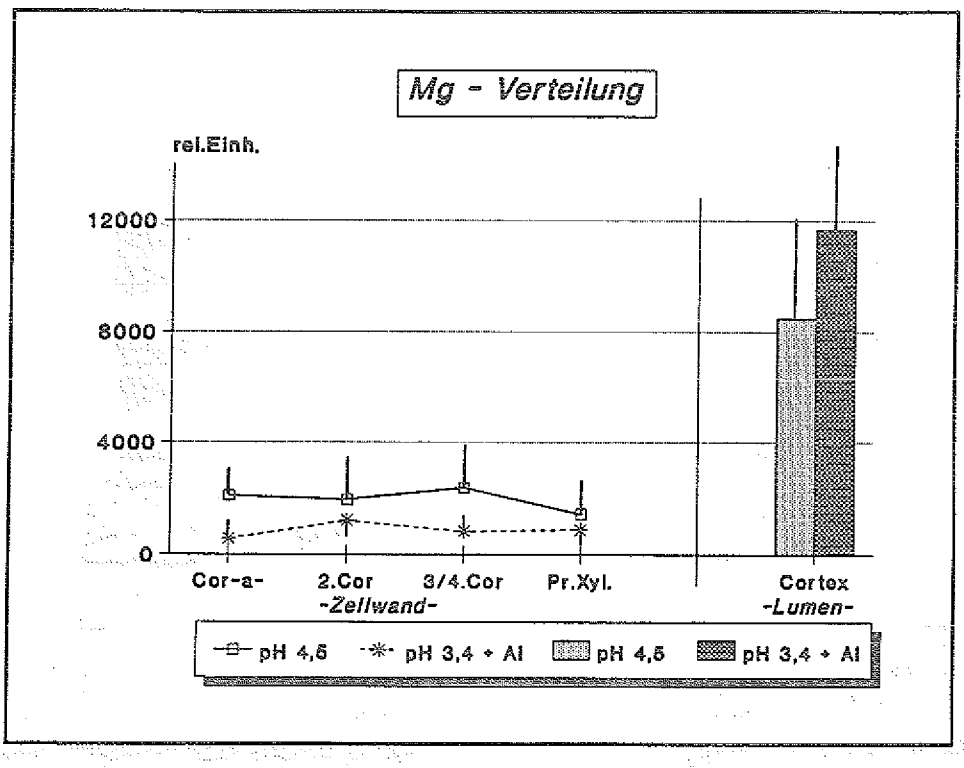


Abb. 40: LAMMA-Analysen der relativen Mg-Verteilung in Mykorrhizen analog zu Abb. 39

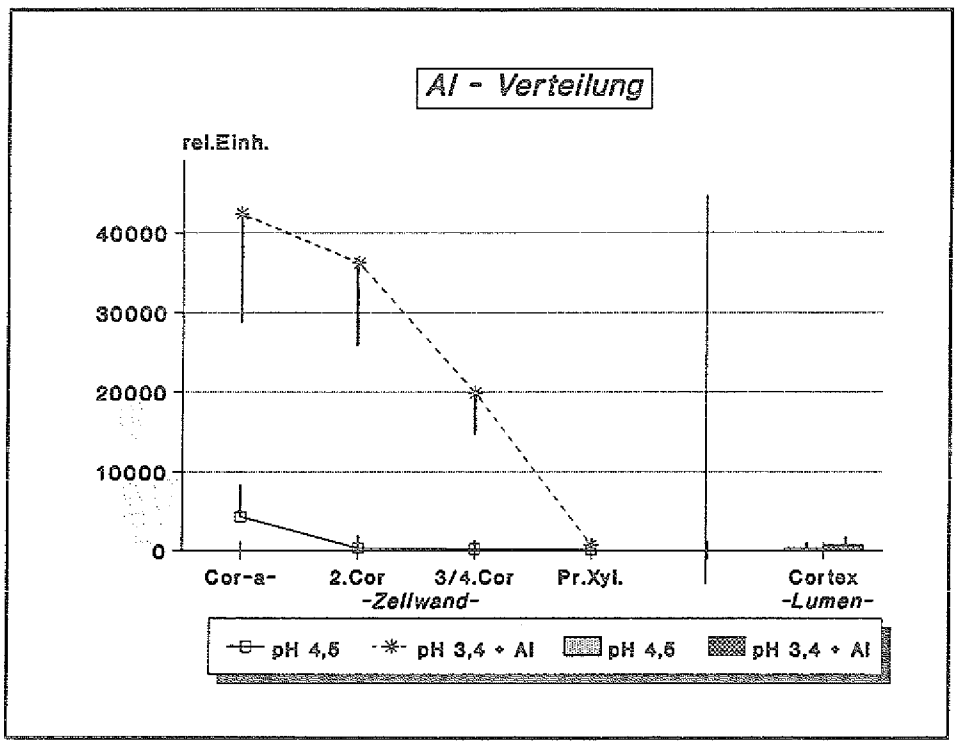


Abb. 41: LAMMA-Analysen der relativen Al-Verteilung in Mykorrhizen analog zu Abb. 39

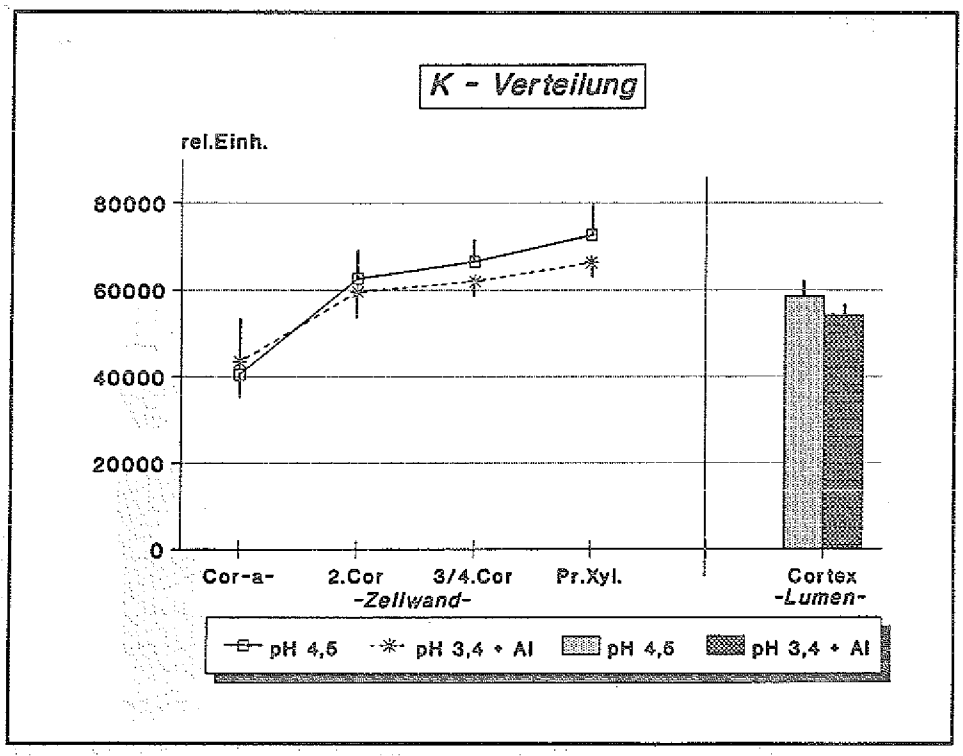


Abb. 42: LAMMA-Analysen der relativen K-Verteilung in Mykorrhizen analog zu Abb. 39

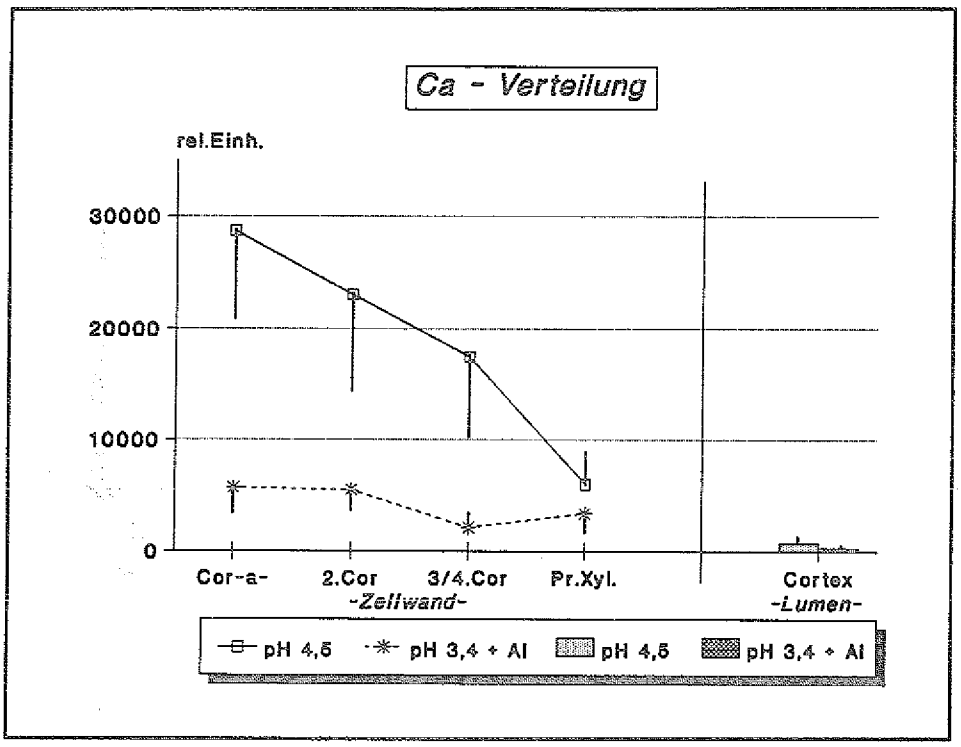


Abb. 43: LAMMA-Analysen der relativen Ca-Verteilung in Mykorrhizen analog zu Abb. 39

Abb. 44 zeigt zusammengefaßt den Elementaustausch für Mg, K und Ca innerhalb der mykorrhizierten Feinstwurzeln mit den beiden angebotenen Außenlösungsvarianten. Dargestellt ist der Elementanteil in Prozenten, der aus der Markierungslösung stammt. Als Vergleich dient die Isotopenzusammensetzung der Markierungslösung zu Versuchsende (Abb. 45).

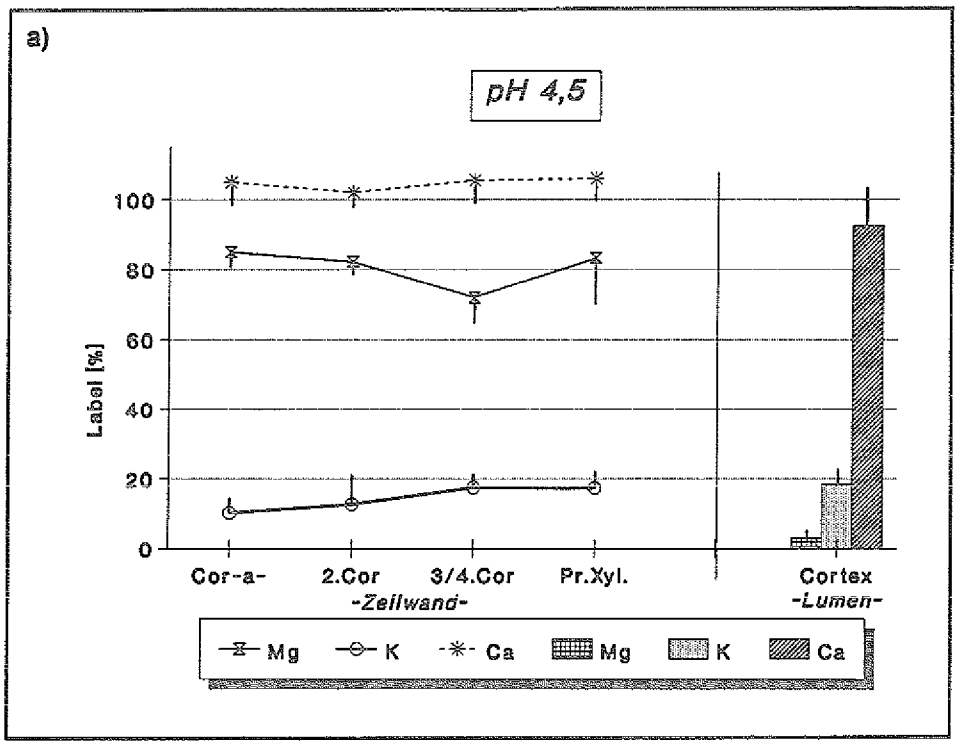
Am deutlichsten unterscheiden sich beide Varianten im Mg-Austausch mit der Außenlösung. So stimmt z.B. in der "-Al" - Variante das Mg-Isotopenverhältnis im primären Xylem zu ca. 83% und in der "+Al" - Variante nur zu ca. 27% mit der Außenlösung überein. Lediglich im Cortex-Lumen ist der, wenn überhaupt nur kaum erkennbare Mg-Austausch in der "+Al" - Variante größer.

Beiden Varianten gemeinsam ist der gegenüber dem Ca bzw. Mg geringe ausgetauschte K-Anteil. Der aus der Außenlösung stammende K-Anteil liegt in der Variante mit Al-Zugabe zwischen 7 und 12% und ohne Al-Zugabe zwischen 10 und 18%.

Die Ca-Isotopenverhältnisse zeigen in der "-Al" - Variante eine Übereinstimmung in den Zellwänden mit dem der Außenlösung, während die Lösungsanteile in der "+Al" - Variante zwischen ca. 10 und 30% (primäres Xylem) geringer sind.

Der Haupteffekt der Erniedrigung des pH-Wertes von 4,5 auf 3,4 kombiniert mit einer 2mmol/l Al-Zugabe zeigt sich damit in einer deutlichen Verringerung der Mg- und Ca-Gehalte und des Austausches von Mg sowie in einer starken Erhöhung des Al- und Na-Gehaltes im gesamten Apoplasten.

Die Gesamtanalysen (mit der ICP-OES) der Versuchslösungen nach Versuchsende zeigt Abb. 46, wobei die Ca-Konzentrationserhöhung (auf ca. 1,2mmol/l) in der Versuchslösung nach Al-Zugabe besonders augenfällig ist.



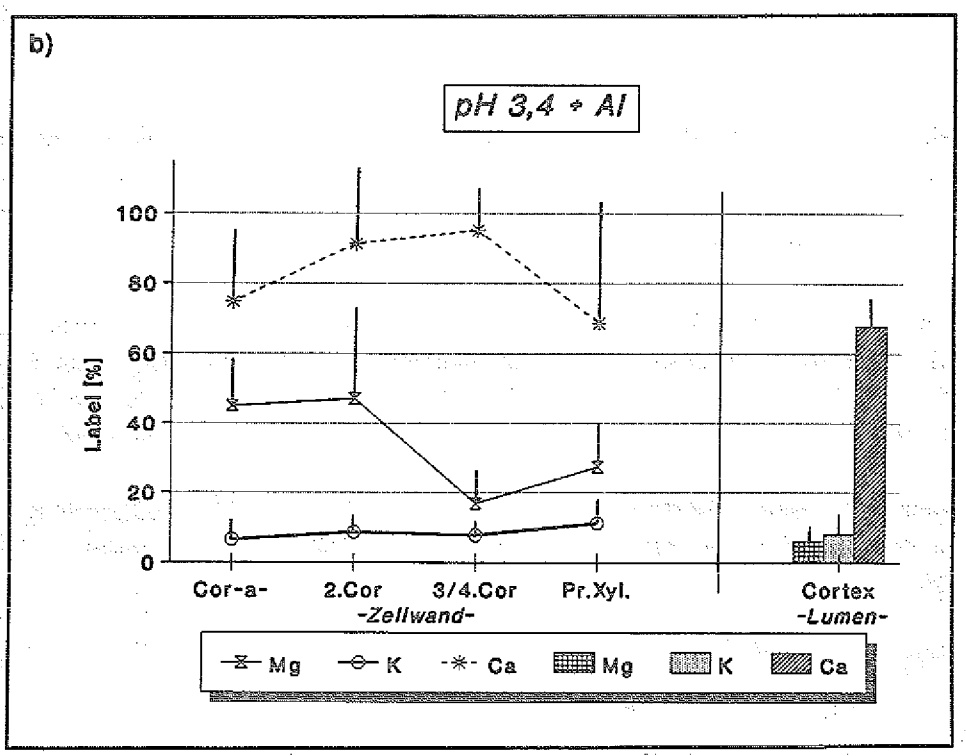


Abb. 44 a+b: Bestimmung des aus der Markierungslösung stammenden Elementanteils aus den Analysedaten die den Abb. 39-43 zugrundeliegen, bei Variation des pH-Wertes und Al-Zugabe

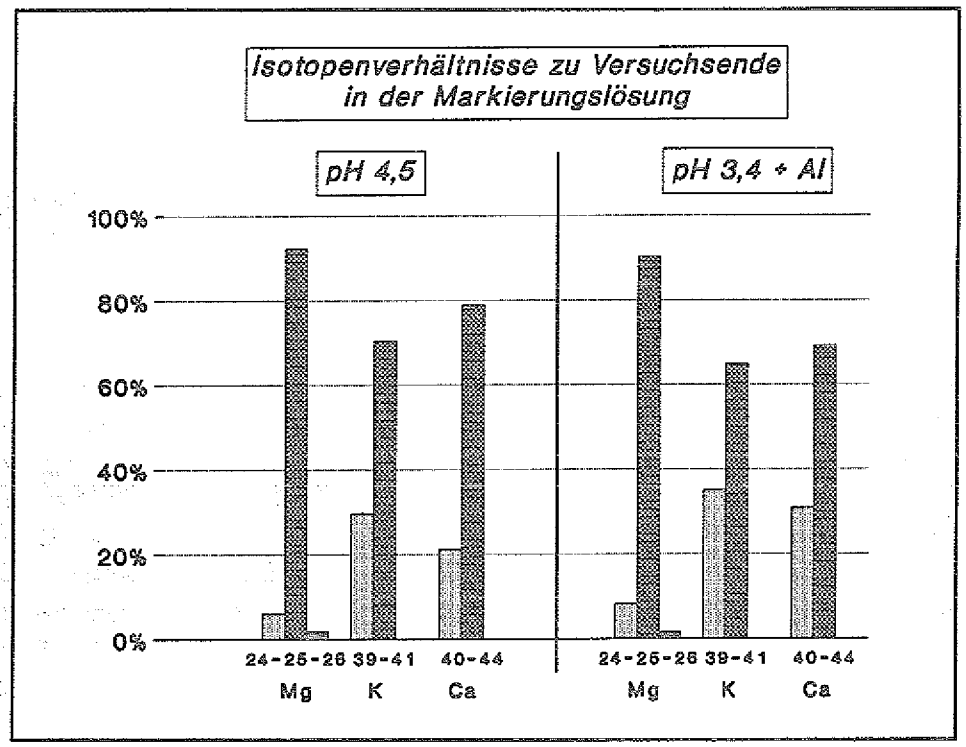


Abb. 45: Isotopenzusammensetzung für Mg, K und Ca in den Markierungslösungen nach Beendigung des Experimentes zu Abb. 39 - 44

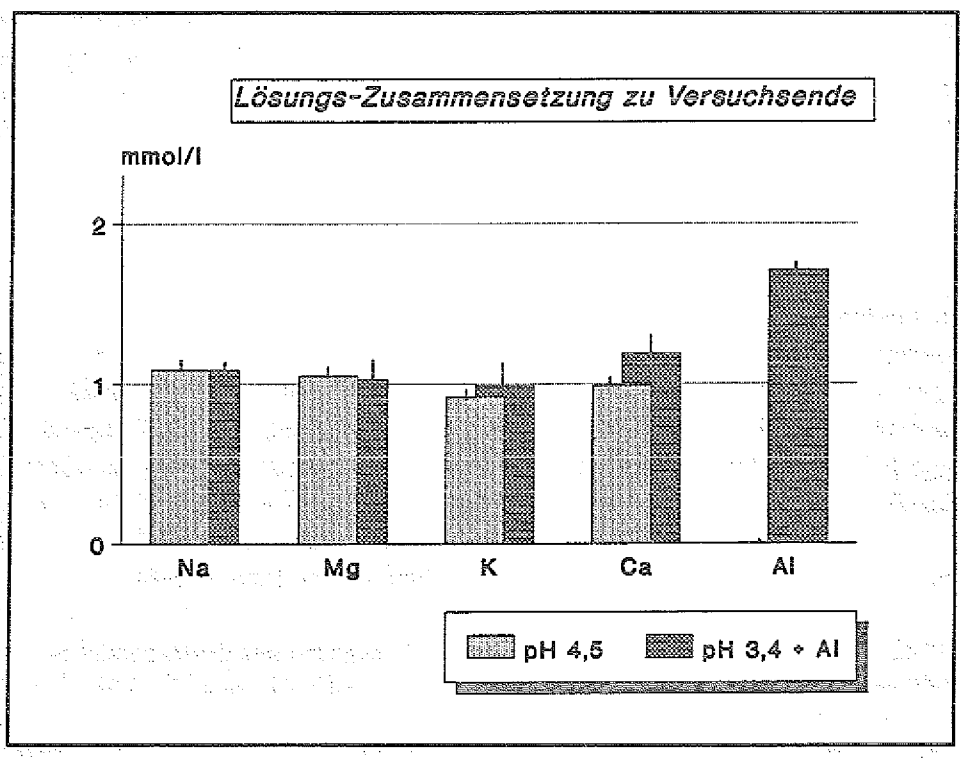


Abb. 46: Gesamtelementgehalt der Markierungslösungen nach Beendigung des Experimentes zu Abb. 39 - 45

6.2.2 Austauschkinetiken für Ca, Mg und K in Mykorrhizen bei zwei unterschiedlichen Wurzel-Temperaturen

In den folgenden Experimenten standen das zeitliche Verhalten des Ionenaustausches von Ca, Mg und K mit der Außenlösung und die Temperaturabhängigkeit dieser Austauschprozesse im Vordergrund. Hiermit sollte die Zugänglichkeit bis ins primäre Xylem untersucht werden und weiterhin sollten Hinweise auf eine aktive oder mehr passive Aufnahme dieser Elemente gegeben werden.

Dazu wurden für 10 verschiedene Zeiten von 2min bis 48h je 3 Fichten (30 Pflanzen pro Versuchsreihe) aus Normalerde-Kultur eine mit ^{25}Mg, ^{41}K und ^{44}Ca markierte Versuchslösung über einen Teil des Wurzelsystems der intakten Pflanzen angeboten (jeweils 1mmol/l; in Gegenwart von 1mmol/l Na; pH 4,5; Applikationszeiten: 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256 u. 512min, 48h). Den dreijährigen Pflanzen wurden zur Adaptation an die Versuchsbedingungen über Nacht vor Versuchsbeginn über die gesamten Wurzeln eine nicht markierte Versuchslösung gleicher Elementzusammensetzung angeboten. Unmittelbar nach Ablauf der jeweiligen Applikation von Markierungslösung wurden fraktionierte Pflanzenteile für die Mikroanalyse sofort in Propan schockgefroren. Diese Zeitreihen-Experimente wurden bei zwei unterschiedlichen Wurzeltemperaturen (+6°C und +22°C; insgesamt 60 Pflanzen) bei ansonsten identischen äußeren Bedingungen (siehe auch Kap. 5.1) durchgeführt. Zur Feststellung der Isotopenverteilung innerhalb der Mykorrhizen wurden LAMMA-Punktmessungen an 5 verschiedenen Stellen an Querschnitten der Mykorrhizen durchgeführt. Den Abb. 47-49 liegen die Mittelwerte von jeweils 80 - 120 Spektren pro Meßpunkt von 3 Proben der drei Pflanzen zugrunde. Es wurden die gleichen Meßpunkte gewählt wie in 6.1.2. mit der Ausnahme, daß im Cortex-Lumen nicht zwischen 2. und 3.+4. Zellreihe unterschieden wurde (Abb. 4). Da zwischen den einzelnen Meßpunkten z.T. keine signifikanten Unterschiede auftraten, wurden diese Daten teilweise zusammengefaßt. Dargestellt ist der Prozentsatz, mit dem die Isotopenverhältnisse innerhalb der Mykorrhizen verglichen mit dem der Versuchslösung am Ende der jeweiligen Applikationszeit übereinstimmen, d.h. welcher Anteil des betreffenden Elementes aus der Markierungslösung stammt (bei konstantem Elementgehalt ändert sich lediglich die Isotopenzusammensetzung der jeweiligen Elemente, je nach Ursprung des Elementes).

Ca-Austauschkinetiken

Für die Charakterisierung des Austausches von Ca in den Zellwänden ist in den folgenden Darstellungen eine halblogarithmische Achsendarstellung gewählt worden. Dabei werden die Ionenaustauschkurven bei 6°C und 22°C Wurzel- bzw. Markierungslösungs-Temperatur einander gegenübergestellt. Da die Werte der Zellwandmessungen im Cortex (Cortex-außen, 2. Cortex-Zellreihe, 3.+4. Cortex-Zellreihe) sich nur beim ersten Meßzeitpunkt nach 2min signifikant unterscheiden (bei höherem markierten Ca-Anteil in den äußeren Cortex-Bereichen) wurden die Cortex-Daten zusammengefaßt. Es treten im wesentlichen folgende Befunde auf (Abb. 47a+b):

Nach ca. 30-60min ist das Ca-Isotopenverhältnis in den Zellwänden des Cortexbereiches mit dem der Außenlösung identisch. Bis zu diesem Zeitpunkt steigt der aus der Lösung stammende Elementanteil exponentiell an. Bereits nach 8min stammen im Mittel ca. 80% des gemessenen relativen Ca-Gehaltes aus der Markierungslösung. Es treten nur nach 2min geringe Verzögerungen im zeitlichen Verhalten zwischen äußerem und innerem Cortex auf.

Im primären Xylem steigt der aus der Lösung stammende Elementanteil mit einer zeitlichen Verzögerung ab etwa 100min Applikationszeit bis etwa 4h auf 70-80% exponentiell an und erreicht nach der maximalen Versuchszeit von 48h ca. 95% ($T_{½}$ -Zeit: ca. 200min).

Zwischen 6°C und 22°C Wurzeltemperatur sind keine deutlichen Unterschiede im Zeitverhalten des Ionenaustausches erkennbar.

Die Absolutwerte des Ca-Gehaltes im Lumen der Cortexzellen sind sehr gering (siehe auch Abb. 21), was zu größeren Standardabweichungen und zu unsichereren Aussagen führt. Die Ca-Austauschwerte im Cortex-Lumen schwanken daher im Mittel zwischen 35 und 80% ohne eine klare Tendenz zu zeigen. Sie wurden daher aus Darstellungsgründen nicht in Abb. 47 mit aufgeführt.

Mg-Austauschkinetik

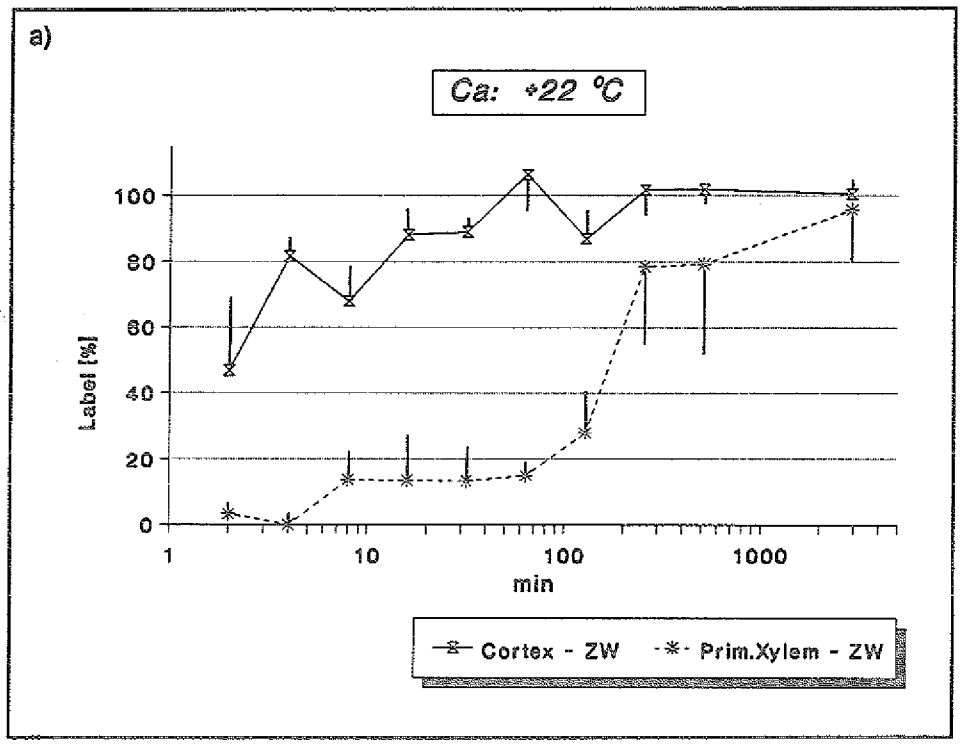
In zur Ca-Darstellung analoger Weise wird in Abb. 48a+b der markierte Mg-Anteil für beide Wurzel-Temperaturen dargestellt. Hierbei wurden die Zellwandmessungen der 2. und der 3.+4. Cortex-Zellreihe zusammengefaßt.

Nach schnellem Anstieg stimmt nach ca. 20-60min das Mg-Isotopenverhältnis in Cortex-außen zu 80-90% mit der Außenlösung überein. Der markierte Mg-Anteil in den Zellwänden der 2. und 3.+4. Cortex-Reihe ist dazu im Mittel ca. 20% niedriger und unterliegt größeren Schwankungen. Dies liegt, wie auch in Kap. 5 u. 7 diskutiert, vor allem daran, daß zwangsläufig bei der LAMMA-Messung der Zellwände in diesem Bereich auch Zellumen mitanalysiert wird. Deren relativ hoher Mg-Gehalt weist nur einen geringen, aus der Markierungslösung stammenden Anteil auf.

Im primären Xylem steigt der aus der Lösung stammende Mg-Anteil mit einer zeitlichen Verzögerung von ca. 120min Applikationzeit bis auf ca. 60% exponentiell an ($T_{½}$ -Zeit: ca. 200min).

Die gemessenen und berechneten Mg-Austauschwerte im Cortex-Lumen liegen konstant bei ca. 5-8% und zeigen im Rahmen der Meßgenauigkeit keinen, im Verhältnis zum Mg-Gesamtgehalt, deutlichen Mg-Austausch in den gewählten Versuchszeiten.

Zwischen 6°C und 22°C Wurzeltemperatur sind keine deutlichen Unterschiede im Zeitverhalten des Mg-Austausches erkennbar.



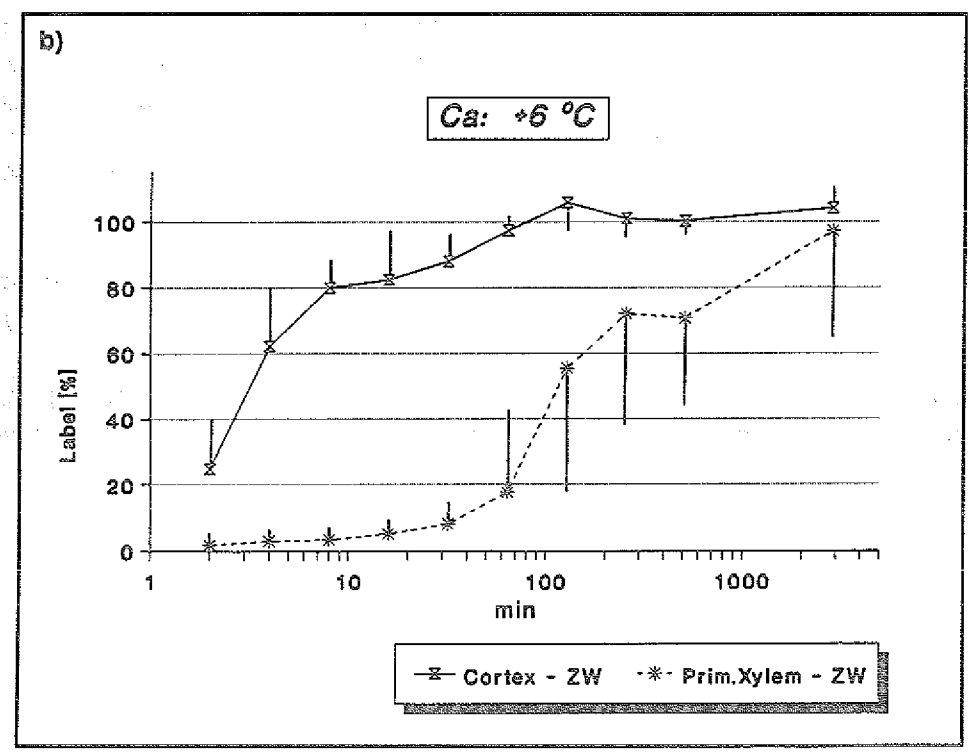
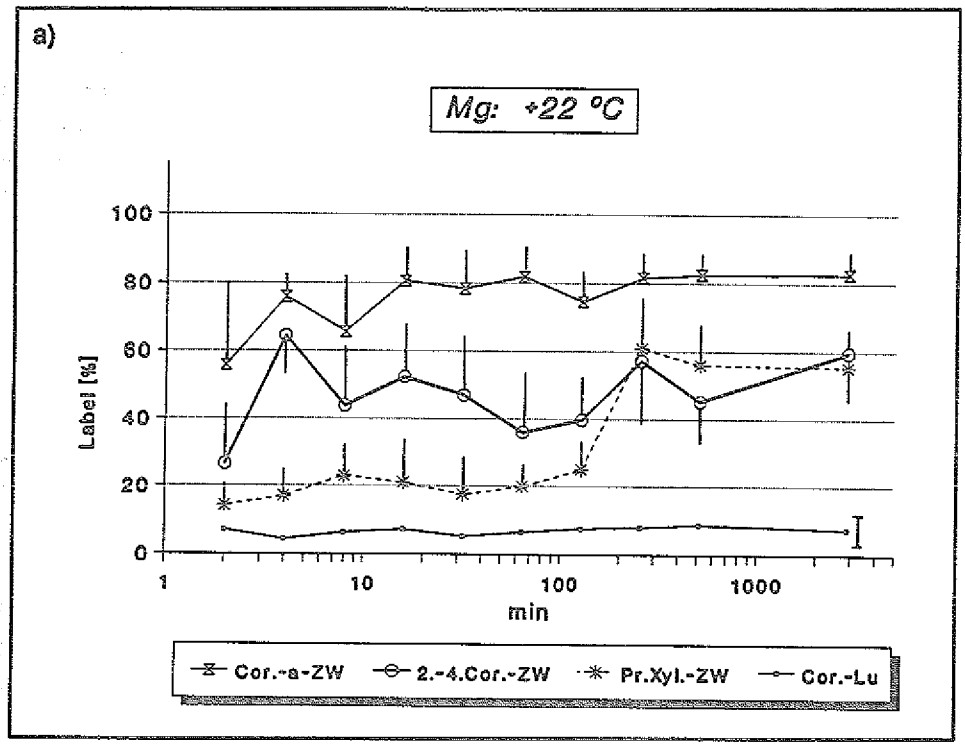


Abb. 47 a+b: Ca-Austauschkinetik von 2min bis 48h in Mykorrhizen von Erdkultur-Fichten aus Normalerde bei 22°C (a) und 6°C (b) Wurzeltemperatur; LAMMA-Messungen von Zellwänden im Cortex und im primären Xylem (siehe Text)



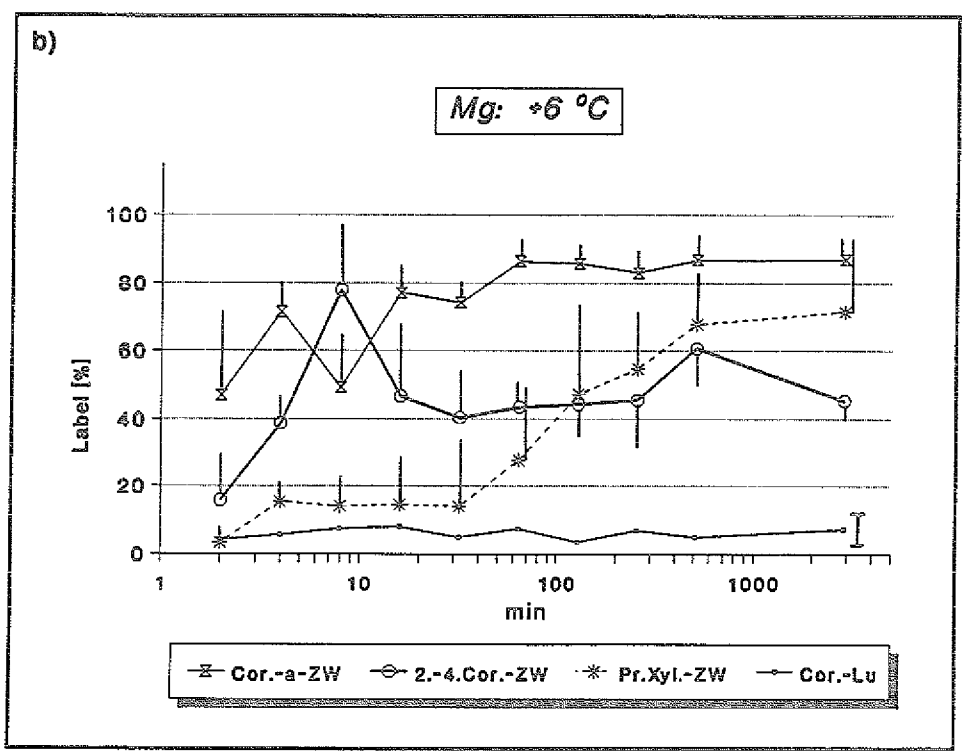


Abb. 48 a+b: Mg-Austauschkinetik von 2min bis 48h in Mykorrhizen von Erdkultur-Fichten aus Normalerde bei 22°C (a) und 6°C (b) Wurzeltemperatur; LAMMA-Messungen in Cortex-Zellwänden und -Lumen und in Zellwänden des primären Xylem (siehe Text)

K-Austauschkinetik

Die Aufnahme von K in mykorrhizierte Feinstwurzeln bei dem gleichen Experiment wie in Abb 47 u. 48 ist in Abb. 49 dargestellt. Dabei weist das Austauschverhalten für K ein gegenüber den Ca- und Mg-Austauschkinetiken deutlich anderes Verhalten auf. Da sich hier der markierte K-Anteil sowohl in den Zellwandmessungen wie auch in Lumenmessungen nicht signifikant unterscheidet, wurden die Daten der 5 verschiedenen Meßpunkte, (i) Zellwand: Cortex-außen, 2.Cortex-Zellreihe, 3.+ 4.Cortex-Zellreihe, primäres Xylem; (ii) Lumen: 2.-4.Cortex-Zellreihe, zusammengefaßt.

Bei 22°C liegt der aus der Lösung stammende K-Anteil bis ca. 250min im Mittel bei 5%. Danach steigt der Austausch exponentiell bis zur maximalen Versuchsdauer von 48h Stunden auf ca. 17-20% an.

Bei 6°C liegt der ausgetauschte K-Anteil bis ca. 500min im Mittel bei 5-8%. Bis zur maximalen Versuchsdauer von 48h Stunden steigt der Austausch anschließend auf ca. 10-12% an.

Die Ionenaustausch-Kinetiken zeigen somit für Mg und Ca in den Cortex-Zellwänden gegenüber dem primären Xylem ein deutlich früheres Austauschgleichgewicht mit der Außenlösung, wobei der Ionenaustausch im primären Xylem mit zeitlicher Verzögerung sichtbar wird. Für den wurzelinternen Transport dieser Elemente wird damit zumindest eine diffussions-hemmende Wirkung der Endodermis gezeigt (siehe Diskussion). Während im Mg- und Ca-Austausch keine signifikanten Temperatureinflüsse auftreten, zeigt sich ein deutlicher temperaturabhängiger Unterschied beim K-Austausch, der bei niedrigen Wurzeltemperaturen gehemmt wird und eine deutlich niedrigere Markierung als Mg und Ca aufweist.

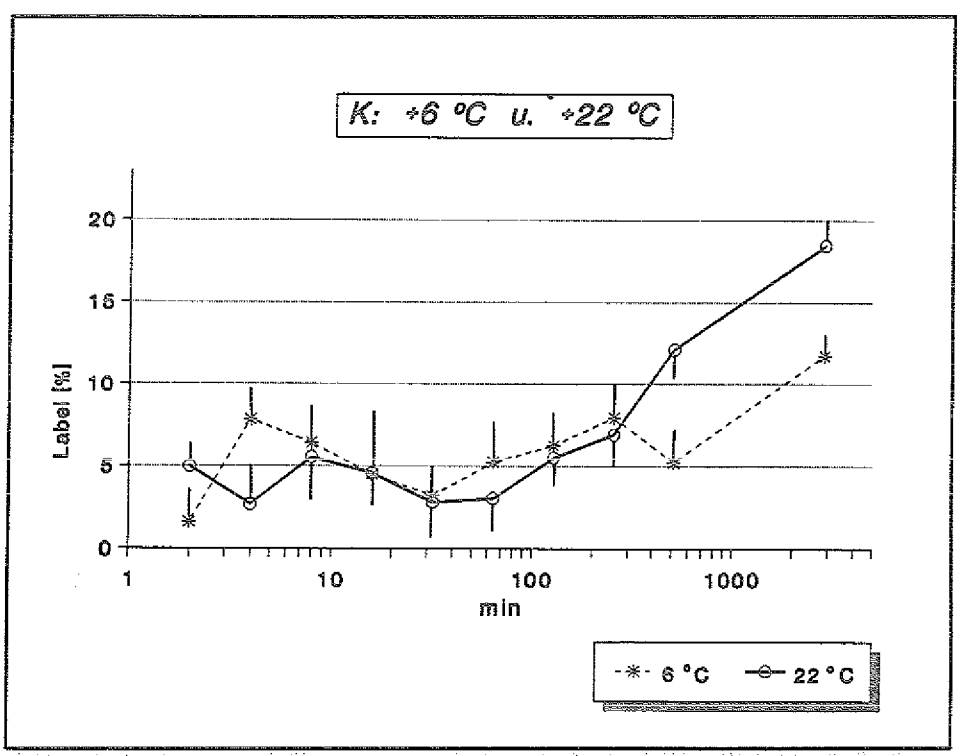


Abb. 49: K-Austauschkinetik von 2min bis 48h in Mykorrhizen bei 6°C und 22°C Wurzeltemperatur; Zusammenfassung aller Meßpunkte (siehe Text)

6.3. Bedeutung der Mykorrhiza bei der Ionenaufnahme in Fichten

Für Untersuchungen zur Funktion der Ektomykorrhiza beim Ionenaustausch mit der Außenlösung und bei der Ionenaufnahme in Feinstwurzeln und im Sproß wurden 4 Monate alte Fichtensämlinge aus Sterilkulturen verwendet. Dazu wurden Kulturen mit definiertem Pilzpartner (hier: *Pisolithus tinctorius* u. *Hebeloma crustuliniforme*) und sterile Fichtensämlinge bei sonst identischen Kulturbedingungen herangezogen (Kap. 3.3). Überwiegend wurde *P.t.* benutzt, der sich besonders gut für die Kulturbedingungen eignet, da dieser Pilz mit *Picea abies* reproduzierbar Mykorrhizen bildet. Jedoch sind die hier erzielten Befunde nur eingeschränkt übertragbar. Wie die Untersuchungen zeigten, trat durch eine sehr starke Entwicklung des Pilzes in der Regel ein mehrschichtiges Hartig'sches Netz auf, wodurch diese Kulturen nur bedingt als Modellsystem für die gegebene Fragestellung geeignet waren.

Für die folgenden, vergleichenden Untersuchungen zur Bedeutung der Mykorrhiza im Elementhaushalt von Fichtensämlingen wurden beide im Kap. 4 beschriebenen Mikrosonden-Analyse-Methoden (LAMMA u. EDXA) und eine Radioaktiv-Markierung mit ^{45}Ca verwendet. Der Ausgangszustand des Elementgehaltes der sterilen und mykorrhizierten Fichten wurde unter anderem durch Gesamtanalysen mit ICP-OES verglichen.

6.3.1. Ausgangszustand von sterilen und mykorrhizierten Pflanzen aus Kulturbedingungen

6.3.1.1 Gesamtgehalte in Bulkproben verschiedener Fraktionen steriler und mykorrhizierter Fichtensämlinge (*P.t.*)

Vergleich von Wurzel, Sproß und Nadelgehalten: Um den Ausgangszustand, der die nachfolgenden Experimente beeinflussen dürfte, von sterilen und mykorrhizierten Fichtensämlingen aus identischen Kulturbedingungen beurteilen zu können, wurde neben den nachfolgenden Mikroanalysen an Kontrollproben (Kap. 6.3.1.2.) eine Gesamtelementbestimmung mit ICP-OES von verschiedenen Fraktionen von jeweils 3 Pflanzen durchgeführt. Dazu wurden die unmittelbar aus den Kulturen entnommenen Pflanzen in Gesamt-Wurzeln, Sproß und Nadeln aufgeteilt. Wegen der geringen Probenmenge mußten jeweils Wurzeln bzw. Sprosse der einzelnen Varianten zu Mischproben zusammengefaßt werden. Die Elementgehalte der Nadeln konnten für jede einzelne Pflanze bestimmt werden. Die Abbildungen 50-52 beinhalten eine Übersicht der mit ICP-OES erhaltenen Daten.

Die Elementgehalte der Nadeln weisen im Vergleich steriler und mykorrhizierter Fichtensämlinge z.T. deutliche Unterschiede im ca. 30% höheren Ca-Gehalt, 10% höheren K-Gehalt und im etwa 3fachen Na-Gehalt in Nadeln mykorrhizierter Pflanzen auf.

Im Vergleich der Elementgehalte im Sproß zeigen sich Unterschiede im ca. 10% höheren K-Gehalt und im 45% höheren Ca-Gehalt der mykorrhizierten Pflanzen. Der P-Gehalt ist ca. 30% und der S-Gehalt ca. 50% niedriger als im Sproß steriler Fichtensämlinge.

In Wurzeln ist der Unterschied im ca. 45% niedrigeren S-Gehalt der mykorrhizierten Pflanzen am deutlichsten, während die Unterschiede in Gehalten anderer Elemente nur um etwa 10% differieren.

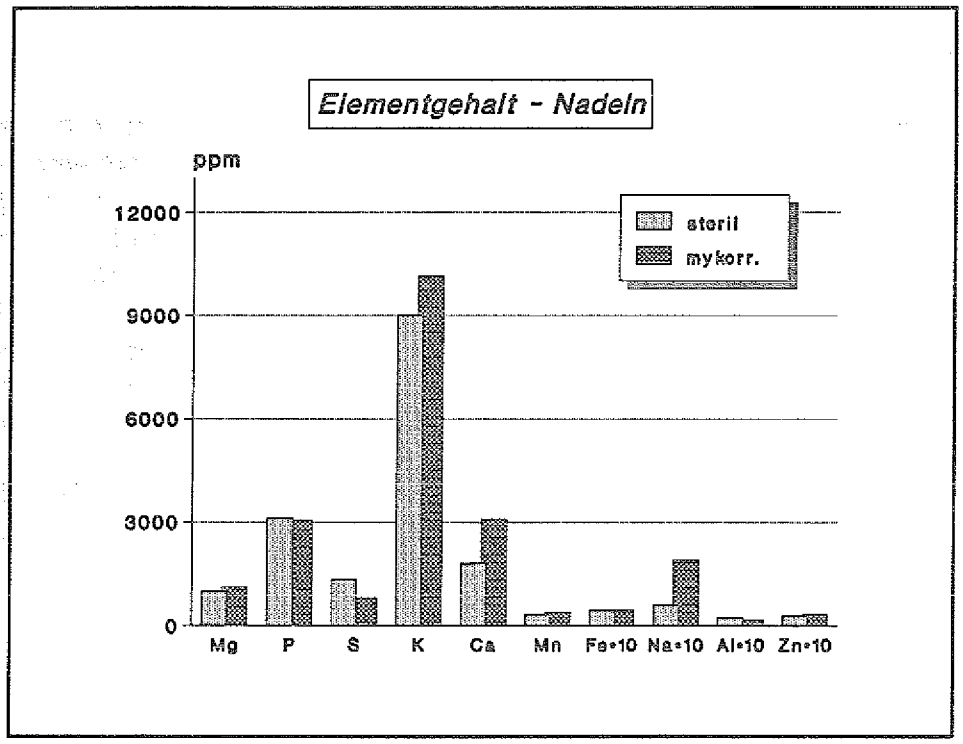


Abb. 50: Gesamtelementgehalt der Nadeln von sterilen und mit *Pisolithus tinctorius* mykorrhizierten 4-Monate alten Fichtensämlingen aus Petrischalen-Kulturen (Kontrollen, je 3 Pflanzen; ICP-OES-Analysen; in ppm; Darstellung einiger Elemente um den Faktor 10 gespreitet)

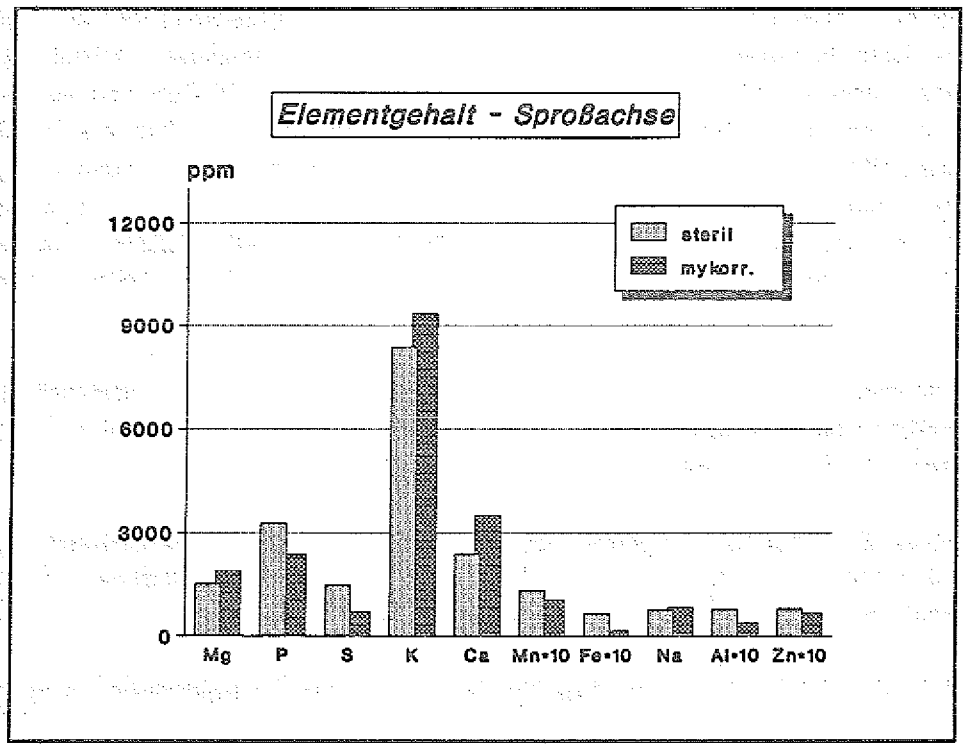


Abb. 51: Gesamtelementgehalt der Sproßachsen von sterilen und mykorrhizierten Fichtensämlingen; gleiche Pflanzen wie in Abb. 50 (Darstellung einiger Elemente gespreitet)

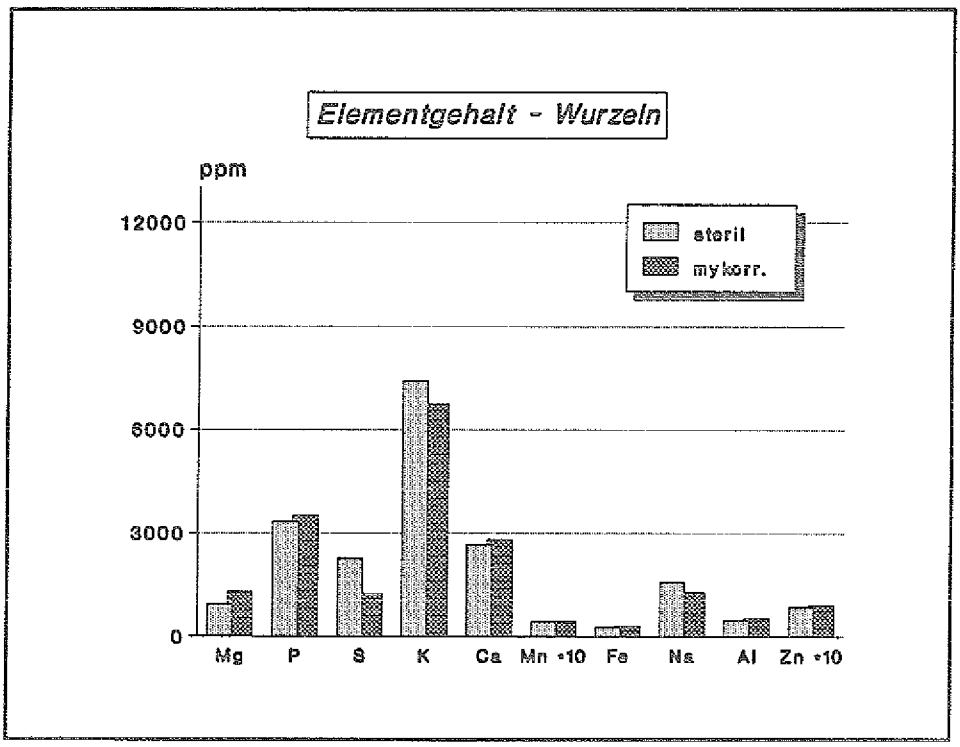


Abb. 52: Gesamtelementgehalt der gesamten Wurzeln von sterilen und mykorrhizierten Fichtensämlingen; gleiche Pflanzen wie in Abb. 50 u. 51 (Darstellung einiger Elemente um den Faktor 10 gespreitet)

6.3.1.2 Zelluläre Untersuchungen des Elementgehaltes in sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln mit der Energie-Dispersiven-Röntgen-Analyse (EDXA)

Die oben verwendeten Bulkanalyse-Methoden lassen nur beschränkt Aussagen über die Elementaufnahme und Transportmechanismen zu. Um eine Differenzierbarkeit nach verschiedenen Geweben und eine Charakterisierung von deren Bedeutung bei der Elementaufnahme zu erhalten, wurden Mikroanalyse-Methoden verwendet. Sterile und mit *Pisolithus tinctorius* mykorrhizierte Feinstwurzeln wurden unmittelbar aus der Kultur entnommen und für die Elementanalyse mit der Röntgen-Mikrosonde (EDXA, Meßpunkte: etwa 0,3µm Durchmesser) vorbereitet.

Relative Elementgehalte in Zellwänden des primären Xylem: In Abb. 53 werden zunächst relative Elementgehalte des primären Xylem von sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln verglichen. Es sollten hier Unterschiede in der Elementaufnahme in das für die Versorgung der Pflanze mit Wasser und Nährsalzen entscheidende Fernleitungssystem deutlich werden.

Die relativen Elementgehalte für Mg, S, K, Ca und Fe sind im primären Xylem mykorrhizierter Feinstwurzeln zwischen 20 und 35% niedriger als in sterilen Feinstwurzeln.

Der P-Gehalt ist in Zellwänden des primären Xylem in sterilen Feinstwurzeln ca. 3mal so hoch wie in Mykorrhizen und weist damit die größte relative Differenz aller hier untersuchten Elemente auf.

Im primären Xylem ist nur der relative Mn-Gehalt höher in mykorrhizierten als in sterilen Feinstwurzeln (ca. 2,2mal so hoch).

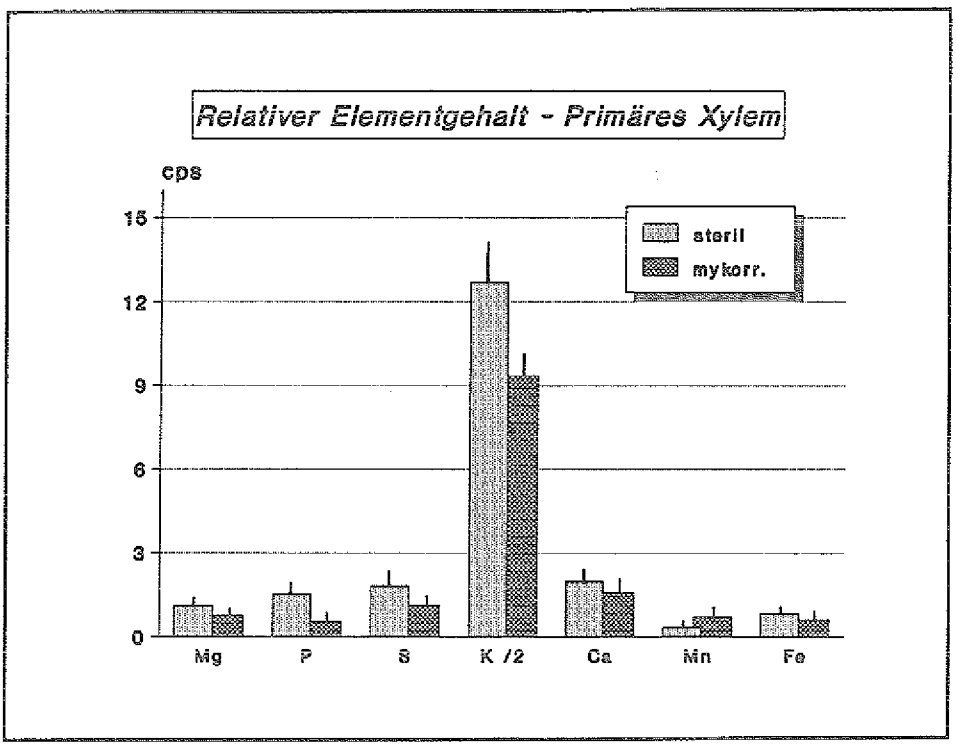


Abb. 53: EDXA - Analysen des relativen Elementgehaltes in Zellwänden des primären Xylem von sterilen Feinstwurzeln und *Pisolithus tinctorius* - Mykorrhizen aus Petrischalen-Kulturen; Mittlere Zählrate pro Sekunde (cps) aus je 60 Spektren zu je 300s Analysendauer (je 6 Wurzeln von 3 Pflanzen); relativer Gehalt der Elemente (bezogen auf Anzahl der Atome): Mg:P:S:K:Ca; steril: 1 : 0,78 : 0,84 : 10,16 : 0,75 ; mykorrhiziert: 1 : 0,35 : 0,74 : 10,20 : 0,84; gefriergetrocknete Proben; K-Darstellung komprimiert; (nach *Kuhn et al.* 1988)

Relative Elementgehalte in verschiedenen Cortex-Geweben: Zur genaueren Untersuchung der Wechselbeziehungen zwischen Ektomykorrhiza-Pilz und Wurzelzellen wurde versucht, in der Kontaktzone von Pilz und Pflanzenzelle Elementgehalte zu bestimmen. So wurden EDXA-Messungen von Hyphen und benachbarten Fichten-Cortex-Zellwänden im Bereich des Hartig'schen Netzes vorgenommen. Diesen Messungen werden in Abb. 54 EDXA-Analysen der Pilzhyphen-Zellwand im Hyphenmantel der gleichen Mykorrhizen gegenübergestellt. Zum Vergleich werden Daten von

Zellwandmessungen im Cortex steriler Feinstwurzeln ebenfalls dargestellt. Bei der Gegenüberstellung der Befunde der vier verschiedenen Meßpunkte treten folgende wesentliche Merkmale auf:

Die relativen Mg-Gehalte sind in der Cortex-Zellwand (myk.) und in Hyphen des Hartig'schen Netzes etwa 50% höher als in den anderen gemessenen Geweben.

In beiden Hyphen-Messungen ist der P-Gehalt etwa doppelt so hoch wie in den Cortex-Zellwänden.

Der K-Gehalt ist in den Zellwänden des Hyphenmantels ca. 40% höher als in den anderen gemessenen Geweben.

Die relativen Ca-Gehalte sind in beiden Cortex-Zellwänden 5 bis 10mal so hoch wie in den Hyphen-Messungen, wobei der Ca-Gehalt in Cortex-Zellwänden der Mykorrhizen ca. 40% höher als in Cortex-Zellwänden steriler Feinstwurzeln liegt.

Die Mn-Gehalte sind im Cortexbereich mykorrhizierter Feinstwurzeln (Cortex-Zellwand u. Hyphen) etwa 5mal so hoch wie in Zellwänden steriler Feinstwurzeln.

Die S- und Fe-Gehalte im Cortex differieren kaum zwischen sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln.

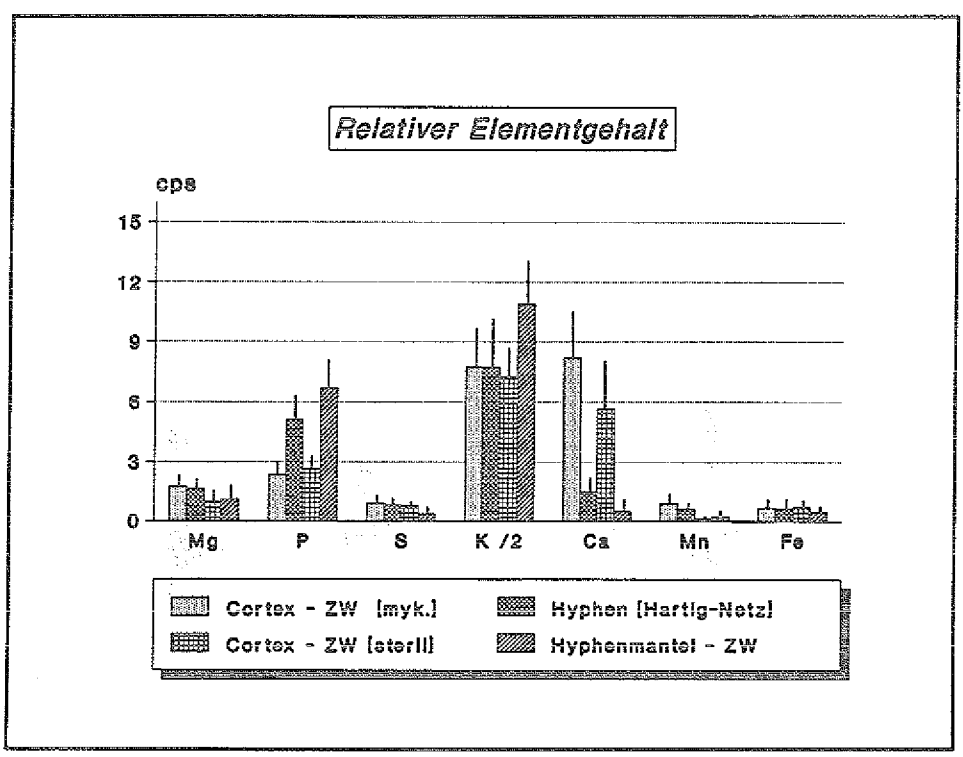


Abb. 54: EDXA - Analysen der Elementverteilung in Cortex-Zellwänden (nur Pflanze) im Bereich des Hartig'schen Netzes und in unmittelbar benachbarten Pilzhyphen (Pilzzellwand u. -lumen) von *Pisolithus tinctorius* - Mykorrhizen aus Petrischalen-Kulturen, (je 60 Spektren von 6 Wurzeln von 3 Pflanzen); K-Darstellung komprimiert; und Zellwand-Analysen im Hyphenmantel der gleichen Pflanzen und in Cortex-Zellwänden steriler Fichtensämlinge (je 20 Spektren von je 2 Proben von 2 Pflanzen)

6.3.2 Elementverteilung und -aufnahme in sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln von Fichtensämlingen nach 5-tägigem Angebot von stabilen Isotopen

Zur näheren Charakterisierung der Bedeutung der Ektomykorrhiza bei der Ionenaufnahme in Fichten wurden sterilen und mit Mykorrhizen (*Pisolithus tinctorius - Picea abies*) besetzten Fichtensämlingen unter entsprechenden Bedingungen über 5 Tage eine mit ^{25}Mg, ^{41}K und ^{44}Ca markierte belüftete Lösung angeboten (jeweils 1mmol/l; in Gegenwart von 1mmol/l Na; pH 4,5; RT; 60ml; Lösungsaufnahme je Pflanze ca. 5-8ml). Mit den nachfolgenden Laser-Mikrosonden-Messungen sollten auftretende Unterschiede in der Ionenverteilung und -aufnahme gezeigt werden.

Da die Lösungen nicht gepuffert waren, veränderte sich zum Teil der pH-Wert während der Experimente. Bei den 5 mykorrhizierten Sämlingen erniedrigte sich der pH-Wert von 4,5 auf im Mittel 4,45, bei den 5 sterilen Pflanzen erhöhte er sich im Mittel auf 5,16 nach 5 Tagen. Kontrollösungen ohne Pflanzenbesatz zeigten nach 5 Tagen eine durch die Belüftung bedingte pH-Erhöhung im Mittel auf 4,66 .

In Abb. 55 sind zunächst Kontrollmessungen mit LAMMA zur Ausgangssituation vor Versuchsbeginn an nicht markierten Versuchspflanzen dargestellt. Die Abbildung weist für Na, Mg, K und Ca nur geringe Unterschiede des relativen Gehaltes im primären Xylem von sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln auf.

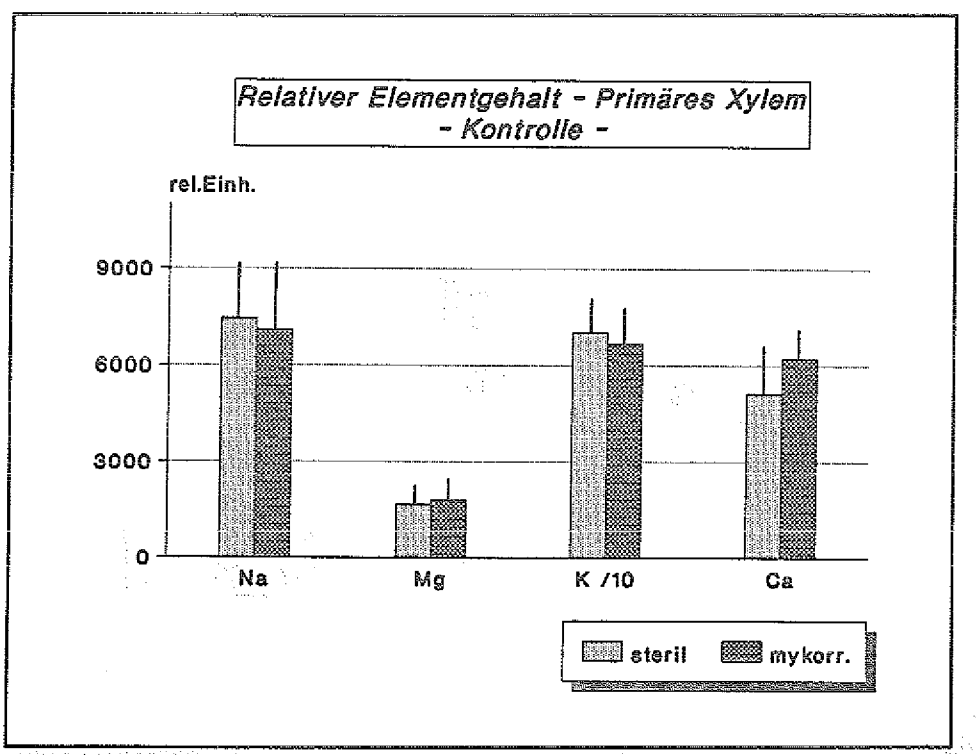


Abb. 55: LAMMA-Analysen des relativen Elementgehaltes in Zellwänden des primären Xylem von sterilen Feinstwurzeln und *Pisolithus tinctorius* - Mykorrhizen (Kontrollpflanzen; je 30 Spektren von je 2 Wurzeln von je 2 Pflanzen); K-Darstellung komprimiert

6.3.2.1 Isotopenzusammensetzung und Elementaustausch steriler Feinstwurzeln und Mykorrhizen nach Dreifach-Isotopenmarkierung

Beim Vergleich von sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln wird hier zunächst auf die Gegenüberstellung der LAMMA-Messungen in Zellwänden des primären Xylem eingegangen. Diese Meßzone weist in beiden Systemen eine optisch gleiche Struktur auf und scheint daher direkt, also auch in den absoluten Meßwerten, miteinander vergleichbar zu sein. Da die zu untersuchenden Ionen die strukturell unterschiedliche Cortex-Schicht auf ihrem Weg in den Zentralzylinder passiert haben (siehe auch Abb. 2 u. 3), sollten innerhalb der Feinstwurzeln mögliche Unterschiede in der Nährelementaufnahme der beiden Systeme erkennbar sein.

Der Gehalt an Mg und Ca im primären Xylem steriler Feinstwurzeln ist ca. 30% höher als im primären Xylem mykorrhizierter Feinstwurzeln (Abb. 56). Die Isotopenverhältnisse für Mg und Ca sind dagegen identisch und entsprechen annähernd denen der Außenlösungen zu Versuchsende (Abb. 57).

Die ^{41}K-Aufnahme ist in sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln etwa gleich groß. In mykorrhizierten Feinstwurzeln ist jedoch der ^{39}K-Gehalt ca. 20% höher und macht, wie im primären Xylem der sterilen Feinstwurzeln, den Hauptanteil am K-Gehalt aus. Die K-Isotopenzusammensetzung der Außenlösung zu Versuchsende (Abb. 57) verhält sich umgekehrt.

Der Na-Gehalt nach Versuchsende ist in sterilen Feinstwurzeln ca. 4mal so hoch wie in Mykorrhizen (ca. 16000 : 4000 relative Einheiten; nicht in Abb. 56 dargestellt).

Abb. 58a+b zeigen zum Vergleich den Elementaustausch für Mg, K und Ca von verschiedenen gemessenen Punkten innerhalb der sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln mit der angebotenen Außenlösung. Dargestellt ist hier der Prozentsatz, mit dem die einzelnen Isotopenverhältnisse innerhalb der sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln verglichen mit denen der Versuchslösung am Ende des Experimentes übereinstimmen. Diesen Daten liegt das gleiche Experiment wie in Abb. 56 u. 57 zugrunde.

Bei Zellwandmessungen mit LAMMA werden im Cortex der Mykorrhizen die Pilzhyphen-Zellwände und -Lumen des Hartig'schen Netzes wie auch im Cortex der sterilen Feinstwurzeln zum geringen Teil auch Zellumen der Cortexzellen analysiert. Dieser Umstand spiegelt sich in den Ergebnissen, besonders bei Mg, wegen des hohen kaum ausgetauschten Mg-Gehaltes in den Lumina wieder. Dies gilt auch für die Zellwandmessungen im Hyphenmantel.

Während sich sterile und mykorrhizierte Feinstwurzeln im Mg-Austausch in Zellwänden des primären Xylem bei nahezu 100%-igem Austausch mit der Markierungslösung nicht unterscheiden, sind die Mg-Werte in den Zellwänden im Hyphenmantel und im Cortex der Mykorrhizen offensichtlich wegen der oben genannten Gründe ca. 20-30% geringer (es wird hier Pilzlumen mit geringer markiertem Mg-Anteil mit analysiert). Im Cortex-Lumen ist der aus der Lösung stammende Anteil im Mittel nur etwa halb so groß wie in den sterilen Feinstwurzeln. Jedoch ist wegen der großen Standardabweichung der Mittelwerte und wegen der Größe des 'Vertrauensbereiches' eine genaue Quantifizierung des Unterschiedes nicht möglich.

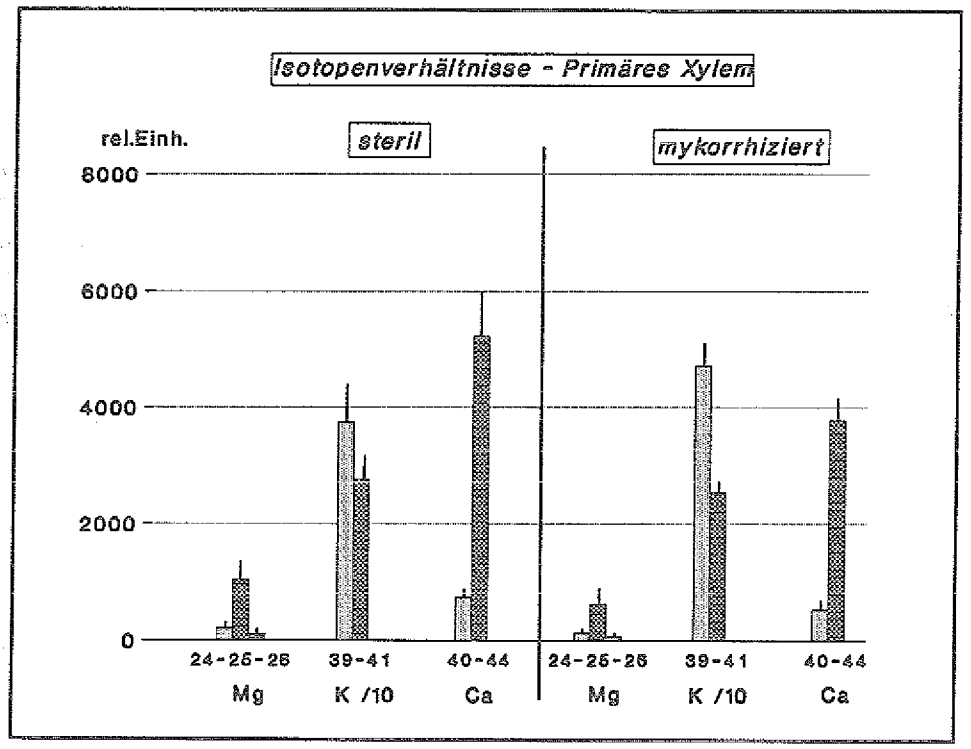


Abb. 56: LAMMA-Analysen der Isotopenverteilung in Zellwänden des primären Xylem von sterilen Feinstwurzeln und *Pisolithus tinctorius*-Mykorrhizen aus Petrischalen-Kulturen (Agarmethode) nach Markierung mit stabilen Isotopen; Versuchslösung: je 1mM Na, ^{25}Mg, ^{41}K, ^{44}Ca ; pH 4,5 ; Versuchsdauer: 5 Tage ; je 330 Spektren (je 10 Wurzeln von 5 Pflanzen); (nach *Kuhn et al.* 1988)

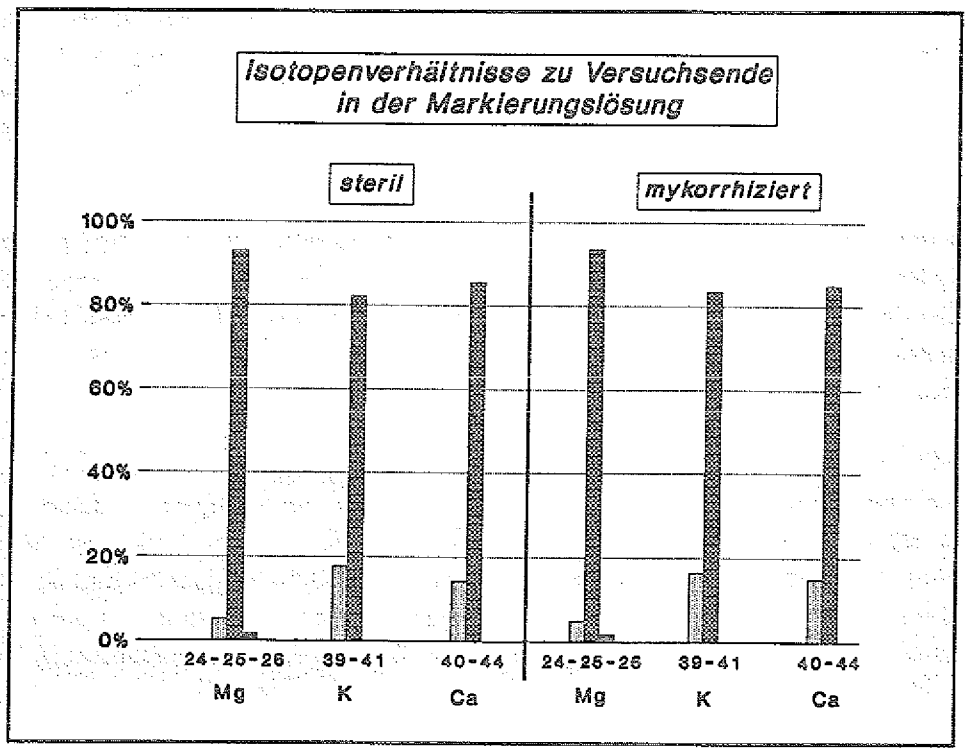
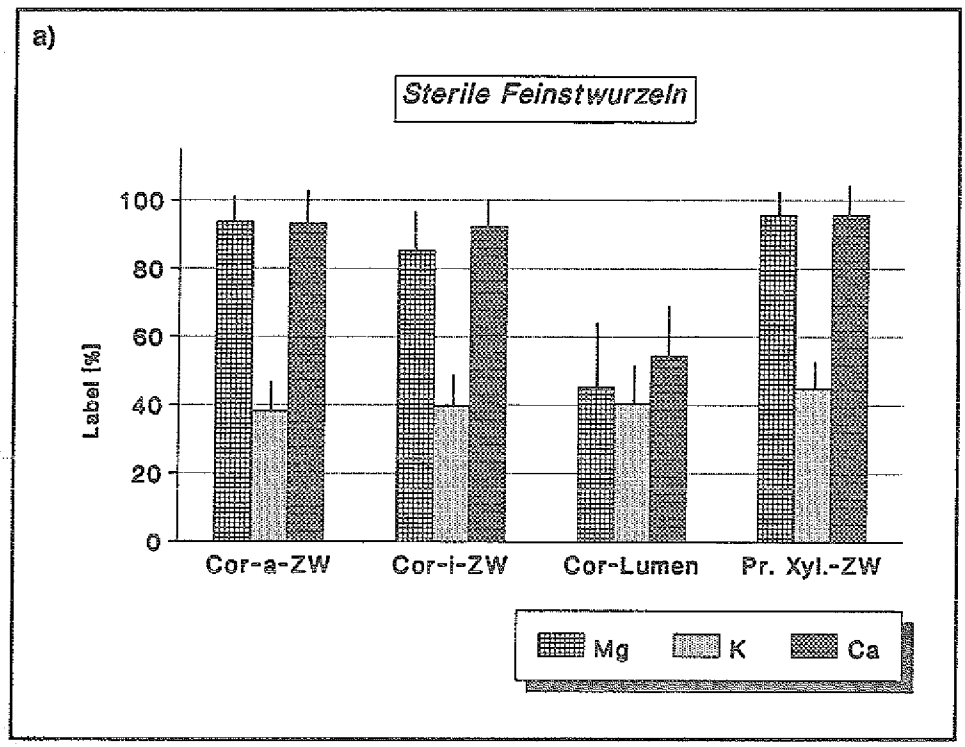


Abb. 57: Isotopenzusammensetzung der Versuchslösung nach Beendigung der Experimente aus Abb. 56 (nach *Kuhn et al.* 1988)



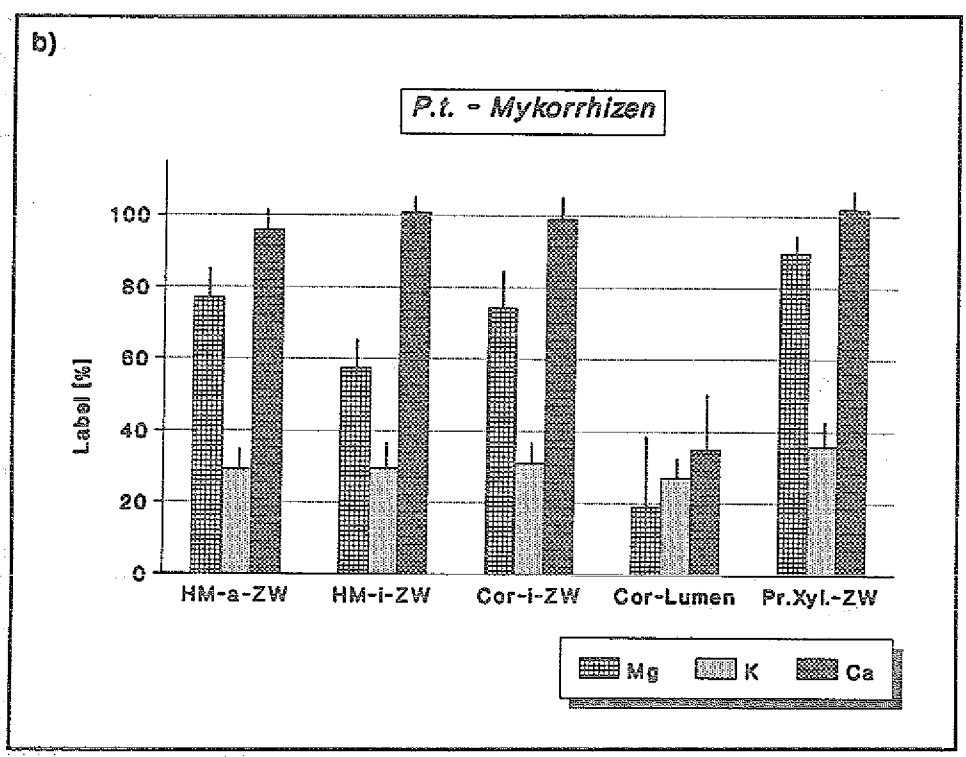


Abb. 58 a+b: Bestimmung des aus der Markierungslösung stammenden Elementanteils für Mg, K und Ca in sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln aus den LAMMA-Analysedaten des Experimentes aus Abb.56; Meßpunkte: Zellwände: im äußeren (HM-a-) und inneren (HM-i-) Hyphenmantelbereich, Cortex-außen (Cor-a-), 3. Cortex-Zellreihe (Cor-i-), primäres Xylem und im Cortex-Lumen

Die Ca-Werte zeigen nicht die Unterschiede wie bei Mg. Alle Zellwand-Meßpunkte weisen eine Übereinstimmung in den Isotopenverhältnissen mit der Außenlösung auf. Die Werte im Cortex-Lumen liegen bei ca. 38 bzw. 54% . Die Standardabweichungen sind jedoch, wohl u.a. wegen des geringen absoluten Ca-Gehaltes, im Verhältnis zu den Zellwandmessungen groß, so daß sich auch hier keine genauen Aussagen treffen lassen.

Den sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln gemeinsam ist der gegenüber dem Ca bzw. Mg geringere ausgetauschte K-Anteil. Dabei ist der ausgetauschte K-Anteil aus der Außenlösung in sterilen Feinstwurzeln im Durchschnitt ca. 1/3 höher als in Mykorrhizen.

Gegenüber dem etwas niedrigeren ausgetauschen K-Anteil in mykorrhizierten Feinstwurzeln sind somit beim Mg- und Ca-Austausch mit der Außenlösung im primären Xylem keine deutlichen Unterschiede zu sterilen Feinstwurzeln zu erkennnen. Sterile Feinstwurzeln weisen im Vergleich zu Mykorrhizen einen deutlich höheren Na-Gehalt auf.

6.3.2.2 Vergleich der Gesamt-Isotopenzusammensetzung in veraschten Proben von Feinstwurzeln steriler und mykorrhizierter Fichtensämlinge nach Dreifach-Isotopenmarkierung

Um den Anteil der aufgenommenen Elemente im gesamten Gewebe von jeweils mehreren sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln je Versuchspflanze zu bestimmen, wurden wie im Kap. 5.3 beschrieben einige Proben aus obigen Experimenten verascht, auf befilmte Trägernetzchen aufgesprüht (Abb. 15) und die eingetrockneten Tröpfchen mit LAMMA analysiert. Diese Proben stellen eine Mittelung der Isotopenverteilung über das jeweils gesamte veraschte Gewebe dar und lassen damit nur bedingt einen Vergleich mit den Mikrosonden-Analysen an Dünnschnitten in einer bestimmten Entwicklungszone der Feinstwurzeln zu (vgl. Kap. 6.1.1).

Der Mittelwert des Anteiles am Mg-Gesamtgehalt, der aus der Markierungslösung stammt, liegt in sterilen Feinstwurzeln bei 60% und in Mykorrhizen bei ca. 48% (Abb. 59).

Der Mittelwert des K-Lösungsanteiles bei diesen Sprühproben liegt zwischen 16% in sterilen und 22% in mykorrhizierten Feinstwurzeln.

Der aus der Markierungslösung stammende Ca-Anteil beträgt zwischen 35% in sterilen und 45% in mykorrhizierten Feinstwurzeln.

Die geringe Probenanzahl führt beim Elementaustausch zu Standardabweichungen der Mittelwerte bis zu 38% (relativ zur absoluten Prozentzahl). Daher ist hier eine genaue quantitative Aussage über den Unterschied in der Elementaufnahme im Verhältnis zum Gesamtelementgehalt zwischen sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln nicht zu treffen. Es zeigt sich auch hier in sterilen wie in mykorrizierten Feinstwurzeln für Mg und Ca ein - im Vergleich zu den mikroanalytischen Zellwand-Werten in einer Entwicklungszone (Kap. 6.3.2.2) - deutlich geringerer, aus der Markierungslösung stammender Elementanteil.

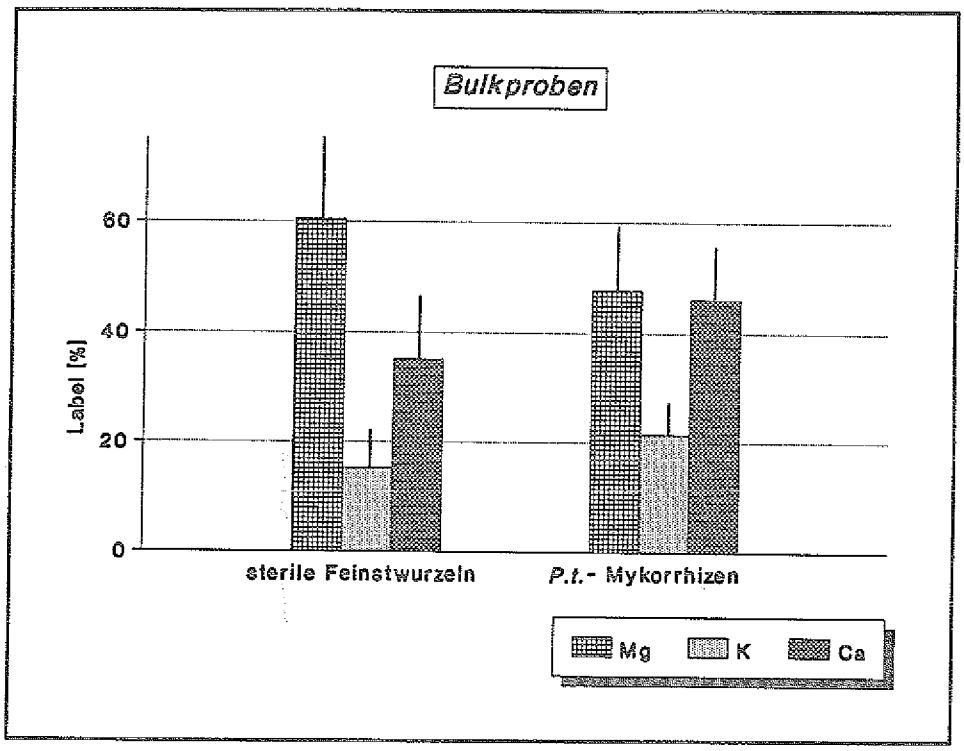
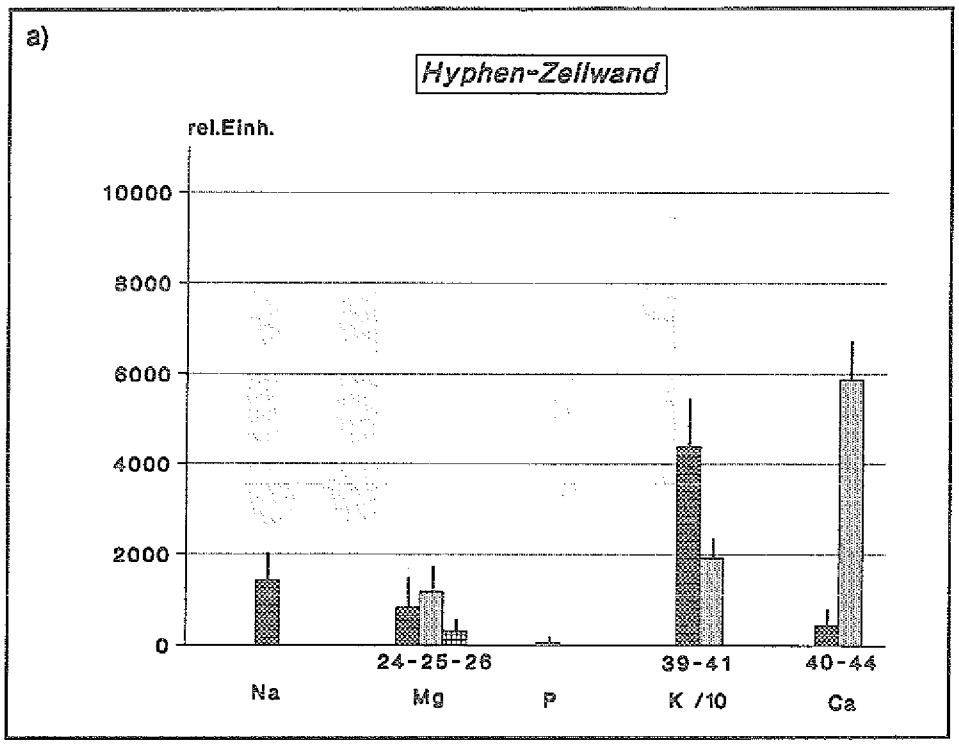


Abb. 59: Aus der Markierungslösung stammender Elementanteil (Mg, K, Ca) in Bulkproben von sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln des Experimentes aus Abb. 56; (LAMMA-Analysen von Sprühproben, jeweils 3 Proben)

6.3.2.3 Messungen mit LAMMA im Hyphenmantel einer *P.t.*-Mykorrhiza - Versuch der getrennten Messung von Zellwand und Zellumen

Um den elementabhängigen Beitrag von symplasmatischer und apoplasmatischer Elementaufnahme des Ektomykorrhiza-Pilzes einschätzen zu können, wurden die folgenden Untersuchungen im Hyphenmantel durchgeführt.

Bei den Messungen, die Abb. 60 zugrunde liegen, wurde versucht, in einem stark entwickelten Hyphenmantel (Abb. 2; Probe aus dem gleichen Experiment wie oben: *Pisolithus tinctorius* - *Picea abies* - Mykorrhiza; Isotopen-Markierung mit ^{25}Mg, ^{41}K und ^{44}Ca [jeweils 1mmol/l; in Gegenwart von 1mmol/l Na; pH 4,5; RT]) mit der Laser-Mikrosonde zwischen Zellwand und Zellumen innerhalb des Hyphenmantels zu differenzieren. Dies ist je nach entwickeltem Hyphenmantel trotz der geringen Auflösung mit LAMMA (minimal 1-2µm Durchmesser der Analysenfläche) bei entsprechend großen Strukturen z.T. möglich. Dabei bereitet vor allem auch der geringe Kontrast der gefriersubstituierten Proben im Lichtmikroskop der Laser-Mikrosonde Schwierigkeiten bei der exakten Fokussierung auf den zu wählenden Meßpunkt. In der geringen Ausdehnung von Zellwand und -lumen liegt der Grund dafür, daß diese sich im Hyphenmantel für die Analyse nicht immer exakt trennen lassen. Die unten



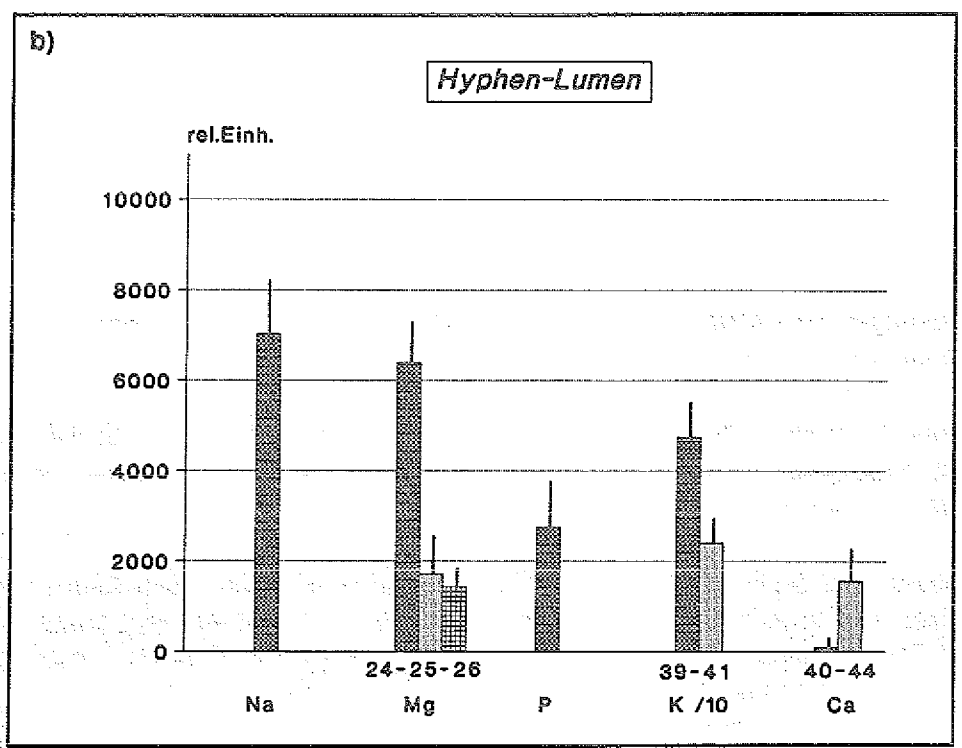


Abb. 60: LAMMA-Analysen der Isotopenverteilung in Pilzhyphen-Zellwänden (a) des Hyphenmantels und im benachbarten Hyphenlumen (b) in *Pisolithus tinctorius* - Mykorrhizen des Experimentes aus Abb. 56 (jeweils 30 Spektren von 2 Mykorrhizen)

dargestellten Mittelwerte lassen dennoch deutliche Unterschiede in der Element- bzw. Isotopenverteilung nach Markierung mit stabilen Isotopen erkennen. Unter bisher nicht näher untersuchten Bedingungen läßt sich gelegentlich - wie bei diesen Messungen - auch Phosphor im Kationenspektrum mit LAMMA nachweisen.

Der Na-Gehalt beträgt in den Zellwänden ca. 1/5 des Gehaltes der Lumina.

Der P-Gehalt ist im Lumen mindestens 40mal so hoch wie in der Zellwand.

Der Mg-Gehalt ist im Lumen ca. 4,5mal so hoch wie in der Zellwand. Davon beträgt der ^{25}Mg-Anteil jedoch nur ca. 18%, während der ^{25}Mg-Anteil bei Zellwandmessungen 51% beträgt.

Der relative Ca-Gehalt ist in Zellwänden ca. 4mal so hoch wie im Lumen. Der ^{44}Ca-Anteil beträgt dabei in den Wänden ca. 91%, während dieser Anteil bei Lumenmessungen 87% beträgt.

Der K-Gehalt ist im Lumen ca. 13% höher als in Zellwänden. Davon beträgt der ^{41}K-Anteil ca. 66%, während der ^{41}K-Anteil in der Zellwand ca. 69% beträgt.

Wenn man die oben genannten methodischen Probleme bei der Fokussierung des Lasers berücksichtigt, zeigt der Hyphenmantel ein qualitativ gleiches Austauschverhalten für Mg, K und Ca wie die Cortex-Schicht der Feinstwurzeln (Lumen u. Zellwände), bei einer starken P-Anreicherung im Lumen gegenüber den Hyphenmantel-Zellwänden.

6.3.3. Ionentransport in den Sproß steriler und mykorrhizierter Fichtensämlinge

Inwieweit die Mykorrhizierung von Fichtensämlingen nicht nur, wie oben untersucht, einen Einfluß auf Ionenaustausch und -aufnahme der Feinstwurzeln hat, sondern auch mittelbar einen Einfluß auf den Ionentransport in den Fichtensproß ausübt, ist im folgenden Kapitel Gegenstand der Untersuchung.

6.3.3.1 Isotopenzusammensetzung in Xylem- und Phloem-Zellwänden von Sproßbasis und oberer Sproßachse steriler und mykorrhizierter Fichtensämlinge nach Dreifach-Isotopenmarkierung

Abb. 61 zeigt im Vergleich steriler und mykorrhizierter Fichtensämlinge den Elementaustausch für Mg, K und Ca bis in den oberen Sproß der gleichen Pflanzen, die den obigen Feinstwurzel-Daten zugrunde liegen. Gegenübergestellt sind Zellwand-Daten für die 5. bis 8. Xylem-Reihe (vom Kambium aus gezählt) und des Phloems, zum einen für die Sproßbasis und zum anderen für den oberen verholzten Sproßabschnitt. Dabei läßt sich für die jeweiligen Pflanzen die tatsächliche Entfernung der Meßpunkte

im Sproß vom ersten Wurzelansatz miteinander nicht genau vergleichen. Von diesen Bereichen wurden auch Proben für die Veraschung genommen (s.u.), so daß die einzelnen gemessenen Dünnschnitte der verschiedenen Pflanzen zwischen ca. 0,5 und 1cm in ihrer Entfernung vom letzten Wurzelansatz differieren können. Dies kann, wie auch die nachfolgenden Experimente mit ^{45}Ca-Radioaktiv-Markierung aufzeigen, zu entfernungsbedingten Unterschieden in den Werten des markierten Ionen-Gehaltes führen. Hierin dürfte einer der Gründe für die großen Standardabweichungen (bis zu 50%) der Mittelwerte sein. Auch ist die im Mittel größere Trocken-Biomasse der Sprosse von sterilen gegenüber mykorrhizierten Pflanzen zu beachten (Kap. 6.3.4). Die in Abb. 61 dargestellten Mittelwerte sind daher nur als Anhaltspunkte zu werten.

Sterile und mykorrhizierte Fichtensämlinge zeigen qualitativ gleiches Verhalten. Die Mittelwerte des aus den Markierungslösungen stammenden Elementanteils am jeweiligen Gesamtelementgehalt in den Zellwänden sind für mykorrhizierte Pflanzen bis etwa 10% höher.

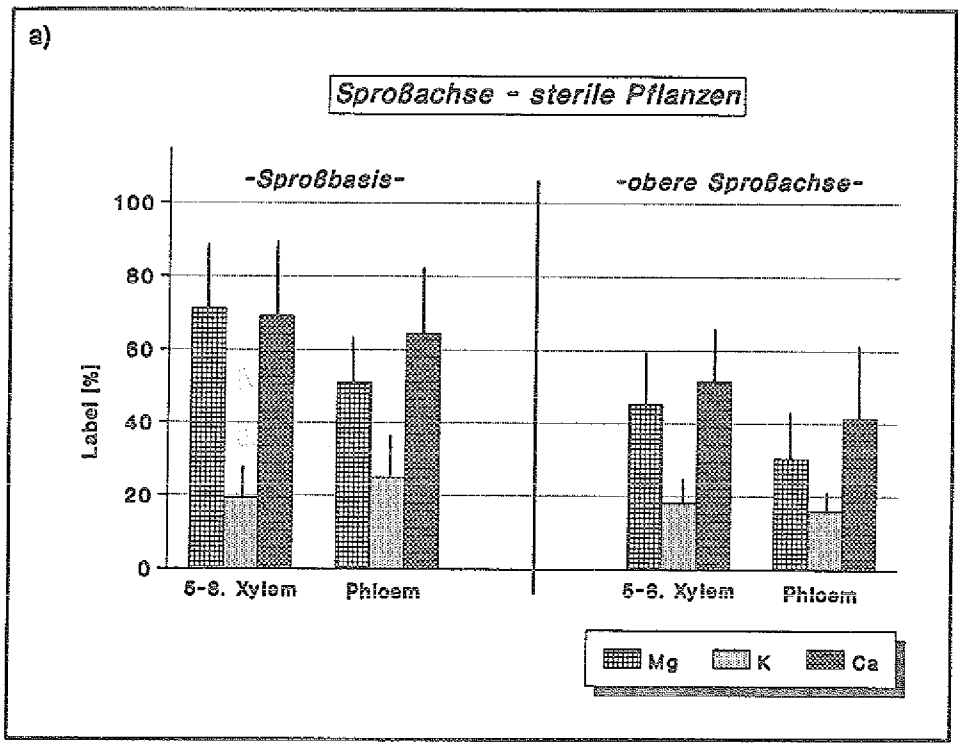
Die Mg-Lösungsanteile im Xylem der Sproßbasis gehen von ca. 70% auf ca. 45 bzw. 55% im oberen Sproß zurück. Die Mg-Werte im Phloem zeigen das gleiche Verhalten, sind jedoch bis etwa 20% geringer.

Der aus der Lösung stammende Ca-Anteil im Xylem der Sproßbasis geht von ca. 70 bzw. 80% auf ca. 50 bzw. 60% Lösungsanteil im oberen Sproß zurück. Die Ca-Werte im Phloem zeigen das gleiche Verhalten, sind jedoch etwa 10% geringer.

Der relative K-Austausch mit der Markierungslösung ist deutlich geringer als für Mg und Ca. Dabei sind die K-Werte im Phloem der Sproßbasis um etwa 1/5 höher als im Xylem derselben Höhe. Im oberen Sproß sind dagegen die Werte im Xylem relativ 10-15% höher als im Phloem.

6.3.3.2 Vergleich der Gesamt-Isotopenzusammensetzung in veraschten Bulkproben der Basis der Sproßachsen steriler und mykorrhizierter Fichtensämlinge nach Dreifach-Isotopenmarkierung

Um den Anteil der aufgenommenen Elemente im gesamten Gewebe von jeweils einem ca. 0,5cm langen Stück der gesamten Sproßbasis inklusive der Rinde zu erhalten, wurden diese Proben verascht (wie oben bei Feinstwurzeln), auf befilmte Grids aufgesprüht und die eingetrockneten Tröpfchen mit der Laser-Mikrosonde analysiert. Diese Proben stellen eine Mittelung der Isotopenverteilung über die gesamte veraschte Basis der Sproßachse dar. Beim Vergleich mit den oben dargestellten Mikrosonden-Messungen in Xylem- und Phloem-Zellwänden ist zu beachten, daß die veraschten Proben neben dem gesamten heterogen aufgebauten Rindengewebe, dem Kambium und Xylem auch den nicht unerheblichen Anteil großlumiger, dünnwandiger Markzellen umfassen.



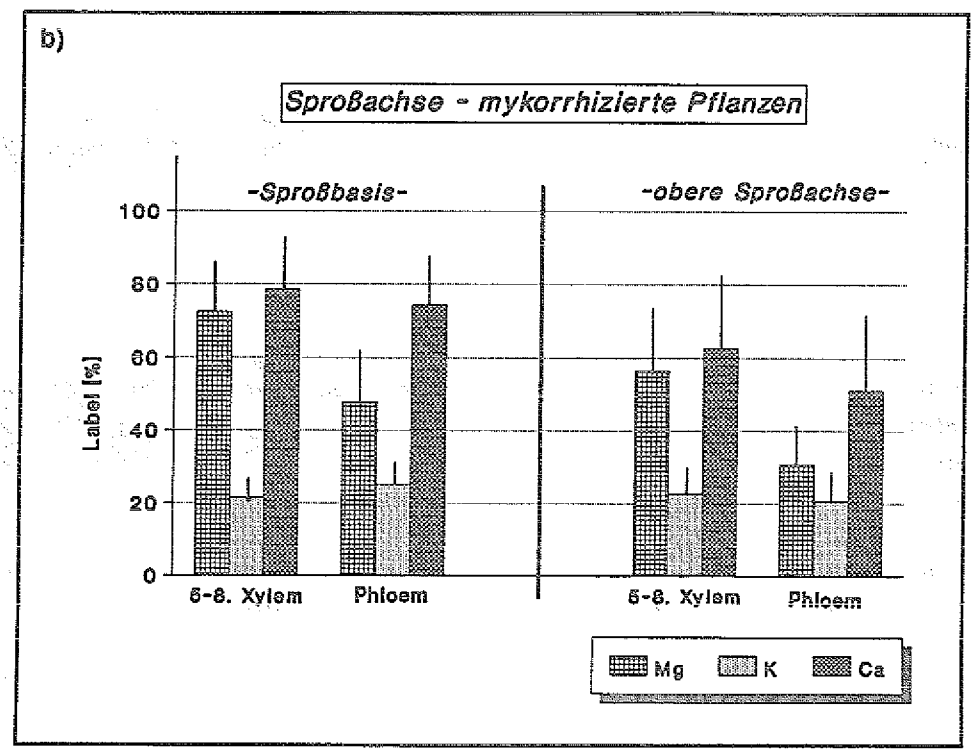


Abb. 61 a+b: Bestimmung des aus der Markierungslösung stammenden Elementanteils für Mg, K und Ca in der Sproßbasis und oberen Sproßachse von sterilen (a) und mykorrhizierten (b) Fichtensämlingen aus den LAMMA-Mikroanalysedaten des Experimentes aus Abb. 56; Meßpunkte in den Zellwänden der 5. bis 8. Xylem-Reihe (vom Kambium aus gezählt) und des Phloems; jeweils 120-150 Spektren von je 3 Proben von je 3 Pflanzen

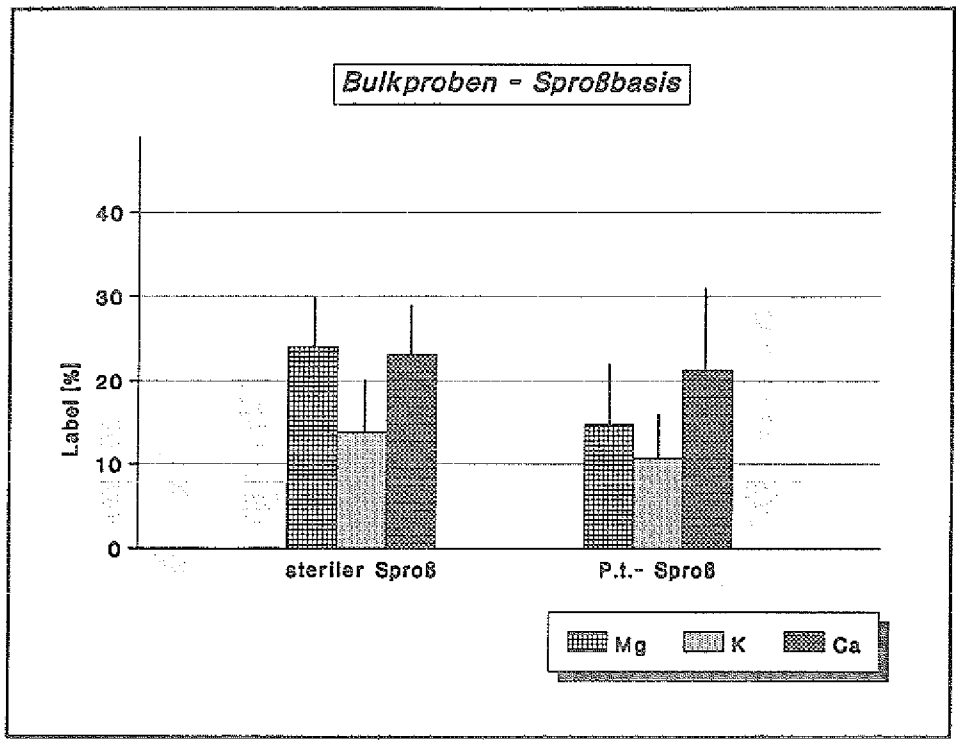


Abb. 62: Aus der Markierungslösung stammender Elementanteil (Mg, K, Ca) in Bulkproben der Sproßbasis von sterilen und mykorrhizierten Fichtensämlingen des Experimentes aus Abb. 56; (LAMMA-Analysen von Sprühproben, jeweils 3 Proben)

Wegen der bereits oben genannten Problematik der nicht genauen Vergleichbarkeit der einzelnen Proben treten große Standardabweichungen bis zu 55% des Mittelwertes auf. Unterschiede in der gesamten Sproßbasis zwischen sterilen und mykorrhizierten Fichtensämlingen lassen sich daher nicht näher quantifizieren.

Der Mittelwert des Mg-Anteiles, der aus der Markierungslösung stammt, liegt in der Sproßbasis steriler Pflanzen bei ca. 24%, bei mykorrhizierten Pflanzen bei ca. 15%.

Der Ca-Lösungsanteil liegt in beiden Sproßbasis-Proben zwischen 22 und 24%.

Der Mittelwert des K-Lösungsanteiles liegt in der Sproßbasis-Gesamtprobe zwischen 11 und 13%.

6.3.4 Markierung mit radioaktivem ^{45}Ca zur Untersuchung der Ca-Aufnahme in sterilen und mykorrhizierten Fichtensämlingen

Als eine Kontrolle und Ergänzung der Untersuchungen mit stabilen Isotopen (Kap. 6.3.3), wurden ebenfalls Experimente mit einer Markierung mit radioaktivem ^{45}Ca durchgeführt. Hierbei wurden die Fichtensämlinge nach Versuchsende in verschiedene Fraktionen unterteilt und nach entsprechender Probenaufbereitung (Kap. 5.3) als eine Mittelung dieser einzelnen Fraktionen im GAMMA-Counter analysiert.

Die Abb. 63 u. 64 zeigen Ergebnisse zweier Experimente zur Ca-Aufnahme in sterilen und mykorrhizierten Fichtensämlingen. Hierbei wurde unter ansonsten identischen Versuchsbedingungen, wie in der oben beschriebenen Dreifach-Markierung mit stabilen Isotopen, lediglich eine Einfach-Markierung mit dem radioaktiven Isotop ^{45}Ca durchgeführt. Nach der gleichen Applikationszeit von 5 Tagen folgte eine Aufteilung der Pflanzen in verschiedene Fraktionen. Dazu wurde die Pflanze in Gesamt-Wurzeln, davon ausgehend in ca. 1cm lange Sproßabschnitte und in Nadeln aufgeteilt. Dabei gab es, wie oben bei den Veraschungsproben des Sämlingsproßes bei Markierung mit stabilen Isotopen, Schwierigkeiten beim genauen Vergleich der Lage der einzelnen Sproßabschnitte.

Die Trockengewichte der verschiedenen Sämlingsvarianten unterscheiden sich zum Teil. Für eine Gegenüberstellung der Daten wurde die in den Diagrammen dargestellte Aktivität der einzelnen Fraktionen auf ihr jeweiliges Trockengewicht bezogen. In Tabelle 4 sind die Mittelwerte der Biomassen-Trockengewichte und entsprechenden Zählraten der ^{45}Ca-Messungen der einzelnen Fraktionen aufgeführt.

Tab. 4: Daten zur Abb. 63

	sterile Fichten		*P. tinctorius* - mykorrhiziert	
Probenfraktion	Trock.gew.[mg]	*1000 cpm	Trock.gew.[mg]	*1000 cpm
Wurzeln	84 ± 22	1150 ± 114	104 ± 15	1144 ± 125
Sproß	284 ± 52	1277 ± 172	310 ± 39	1292 ± 213
Nadeln	140 ± 22	2 ± 1	150 ± 32	4 ± 3

In Abb. 63 werden die gemittelten spezifischen Aktivitäten von 4 sterilen und 4 mykorrhizierten (*Pisolithus tinctorius-Picea abies* - Mykorrhizen) ca. 6 Monaten alten Fichtensämlingen verglichen. Diese Mykorrhizen besaßen wohl aufgrund etwas veränderter Anzuchtbedingungen nicht einen so stark ausgeprägten Hyphenmantel und davon ausgehendes Pilzmycel wie die bei der Markierung mit stabilen Isotopen verwandten Mykorrhizen (vgl. Abb. 2).

Die aufgenommene ^{45}Ca-Aktivität, bezogen auf das Trockengewicht, nimmt für beide Varianten von der Wurzel ausgehend bis in die obersten Sproßbereiche exponentiell ab.

Die Mittelwerte der beiden Varianten unterscheiden sich bis auf die Gesamt-Wurzelmasse und die spezifische Aktivität in den Wurzeln nicht signifikant auf dem 5%-Niveau (t-Test).

In Abb. 64 werden die gemittelten spezifischen Aktivitäten von 3 sterilen, 3 mit *Pisolithus tinctorius* mykorrihzierten und 6 mit *Hebeloma crustuliniforme* mykorrhizierten ca. 4 Monate alten Fichtensämlingen verglichen. Diese Pflanzen kamen aus den gleichen Chargen wie die bei der Markierung mit stabilen Isotopen verwandten Sämlinge und besaßen einen stark entwickelten Hyphenmantel (vgl. Abb.2).

Tab. 5: Daten zur Abb. 64

Probenfraktion	sterile Fichten		*P. tinctorius*		*H. crustuliniforme*	
	T.G.[mg]	*1000 cpm	T.G.[mg]	*1000 cpm	T.G.[mg]	*1000 cpm
Wurzeln	38,9 ± 4,1	243,9 ± 39,5	44,6 ± 16,4	765,9 ± 197,8	32,2 ± 13,3	481,4 ± 278,2
Sproß	19,4 ± 3,8	25,2 ± 15,2	17,0 ± 1,7	27,4 ± 2,2	11,3 ± 1,9	29,7 ± 27,9
Nadeln	68,7 ± 3,8	1,96 ± 2,9	43,5 ± 12,5	7,8 ± 2,5	36,0 ± 9,7	4,9 ± 6,5

Die aufgenommene ^{45}Ca-Aktivität, bezogen auf das Trockengewicht, nimmt für die sterile Variante von der Wurzel ausgehend bis in die obersten Sproßbereiche exponentiell ab, während sich die Aktivität in mykorrhizierten Pflanzen nach anfänglich exponentiellem Abfall ab 3cm Sproßhöhe angleicht.

Die Mittelwerte der spezifischen Aktivität beider mykorrhizierter Varianten unterscheiden sich in den Wurzeln und ab 3cm Sproßhöhe signifikant von denen steriler Sämlinge (5%-Niveau; t-Test). Untereinander unterscheiden sie sich signifikant nur in der Wurzelaktivität (die *P.t.*-Mykorrhizen besaßen einen deutlich höheren Pilzmycel-Anteil).

In der Zusammenfassung beider Versuchsreihen mit ^{45}Ca weisen mykorrhizierte gegenüber sterilen Fichtensämlingen einen geringfügig höheren Ca-Transport in den Sproß auf.

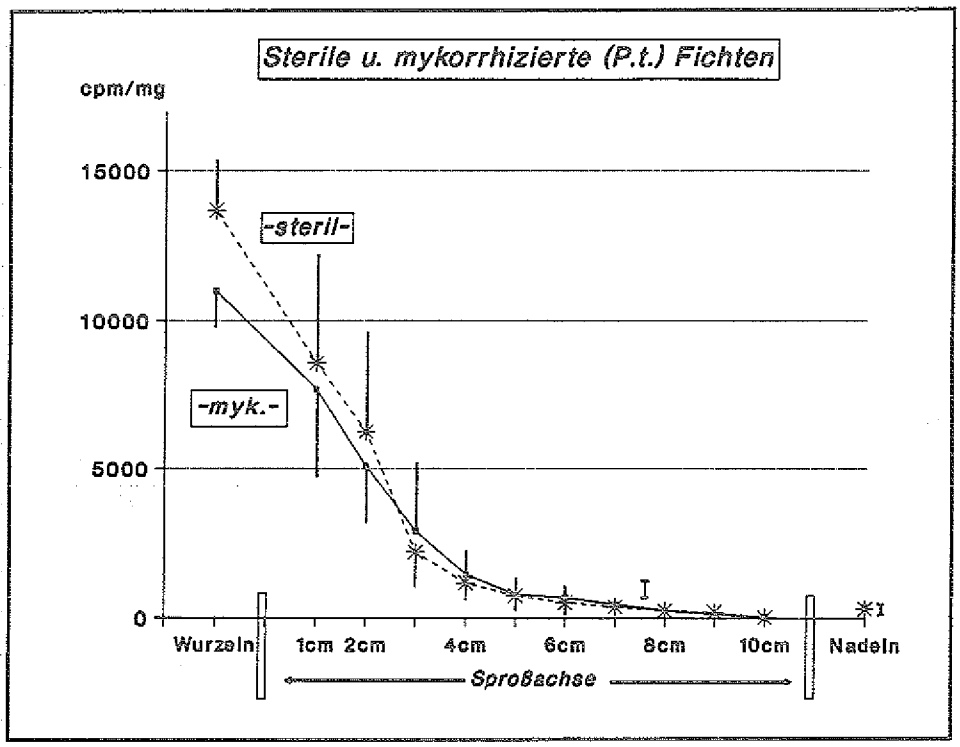


Abb. 63: Gemittelte spezifische Aktivitäten in Wurzeln, verschiedenen Sproßachsen-Abschnitten und Nadeln von 4 sterilen und 4 mykorrihzierten (*Pisolithus tinctorius-Picea abies*-Mykorrhizen) ca. 6 Monate alte Fichtensämlinge nach Radioaktiv-Markierung mit ^{45}Ca über 5 Tage (Markierung: ca. $3 \cdot 10^5$ cpm / ml; weiteres siehe Text)

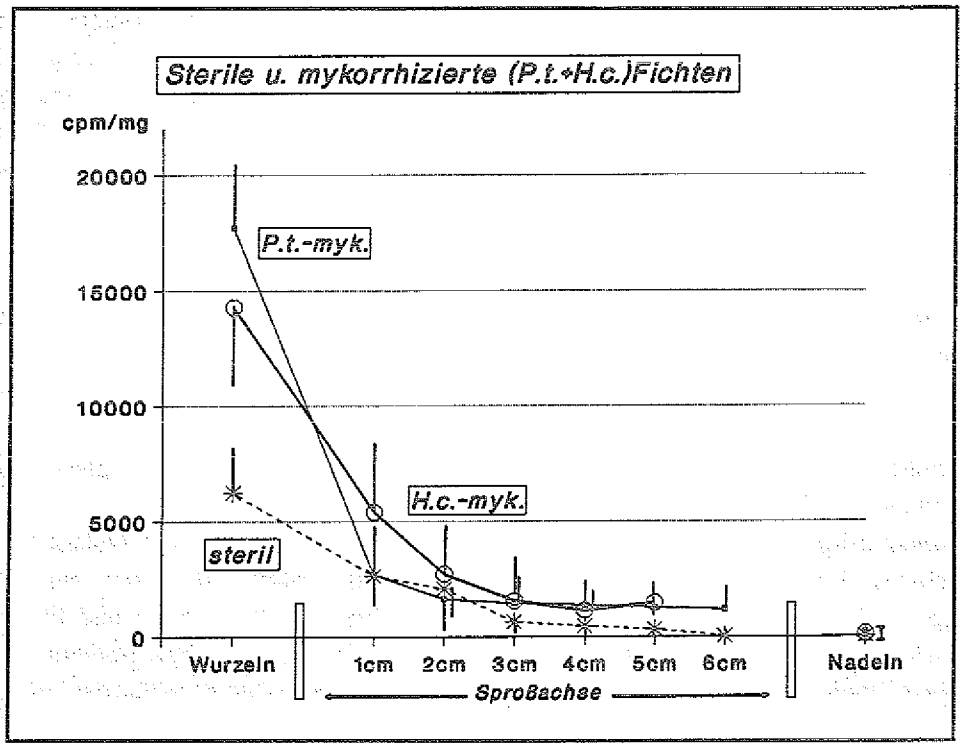


Abb. 64: Gemittelte spezifische Aktivitäten in Wurzeln, verschiedenen Sproßachsen-Abschnitten und Nadeln von 3 sterilen, 3 mit *Pisolithus tinctorius* und 6 mit *Hebeloma crustuliniforme* mykorrihzierten 4 Monate alten Fichtensämlingen; Radioaktiv-Markierung mit ^{45}Ca über 5 Tage (Markierung: ca. $2{,}2 \cdot 10^5$ cpm / ml; weiteres siehe Text)

6.4. Einfluß von Aluminium auf Ionenaufnahme, -verteilung und -transport in Fichten bei einer simultanen Zwei-Seiten-Markierung über die Wurzeln mit stabilen Isotopen

Für weiterführende Untersuchungen über die Bedeutung des Al-Antagonismus für die Ionenaufnahme in die gesamte Pflanze wurde im hier vorgestellten Experiment, anders als im Kap. 6.2.1.3, eine Zwei-Seiten-Markierung ("split root" - Anordnung) unter Standardbedingungen an einer Fichte durchgeführt. Um der Komplexität der Frage nach den Mechanismen der Nährelementaufnahme näher zu kommen, wurde in Erweiterung der bisherigen Experimente versucht, eine Bilanzierung der Elementaufnahme und des Elementaustausches in Fichten unter kontrollierten Bedingungen vorzunehmen.

Im hier dargestellten Experiment wurde den halbierten Wurzelmassen (Abb. 13) simultan eine Doppelmarkierung mit je zwei stabilen Isotopen für Mg (^{25}Mg u. ^{26}Mg) und für Ca (^{42}Ca u. ^{44}Ca) angeboten. Des weiteren befand sich in den Versuchslösungen ebenfalls je 1mmol/l ^{41}K (es ist leider kein drittes K-Isotop erhältlich) und 1mmol/l ^{23}Na bei pH 3,3 . Einer der Versuchsseiten wurden 2mmol/l Al^{3+} zugegeben (zusammen mit ^{26}Mg u. ^{44}Ca) und so Versuchsbedingungen mit und ohne Al-Zugabe an ein und derselben Pflanze geschaffen. Diese Markierung ermöglicht, den Einfluß der Versuchslösungen mit und ohne Al-Zugabe für jedes Element getrennt auf Ca- und Mg-Aufnahme und -Transport zu untersuchen. Durch diese Doppelmarkierung mit unterschiedlichen Versuchsbedingungen an einer Pflanze werden u.a. genetische Unterschiede bei einem Ergebnisvergleich ausgeschaltet, jedoch treten Probleme bei der möglichst gleichen Aufteilung (Menge, Funktionsfähigkeit) des Wurzelsystems auf. Dies ist bei diesem Pflanzenmaterial nur bedingt möglich und muß vor allem bei Transportvorgängen in den Sproß berücksichtigt werden. Der zweijährigen Fichte aus Mineralboden-Erdkultur wurden die Lösungen über 7 Tage unter kontrollierten Laborbedingungen angeboten, wobei jeden Tag die Lösungen komplett ausgewechselt wurden.

Dieses Experiment ist im Rahmen eines Verbundprojektes in weiteren Untersuchungen zur Nährelementaufnahme und -versorgung von Fichten aus Erdkulturen eingegliedert. Bei diesen hier nicht näher vorgestellten Untersuchungen wurden Experimente durchgeführt, bei denen versucht wurde, die am Naturstandort vorliegenden Bodenlösungs-Bedingungen in angebotenen Versuchslösungen in Teilen nachzustellen. Die dabei erzielten Ergebnisse - bei gleichem Versuchsaufbau - bestätigen die Aussagen des hier als Fallstudie ausführlich vorgestellten Experimentes.

Folgende Untersuchungen wurden zum Einfluß von Al auf Ionenaustausch und auf Elementaufnahme, -verteilung und -transport in der gesamten Pflanze durchgeführt:

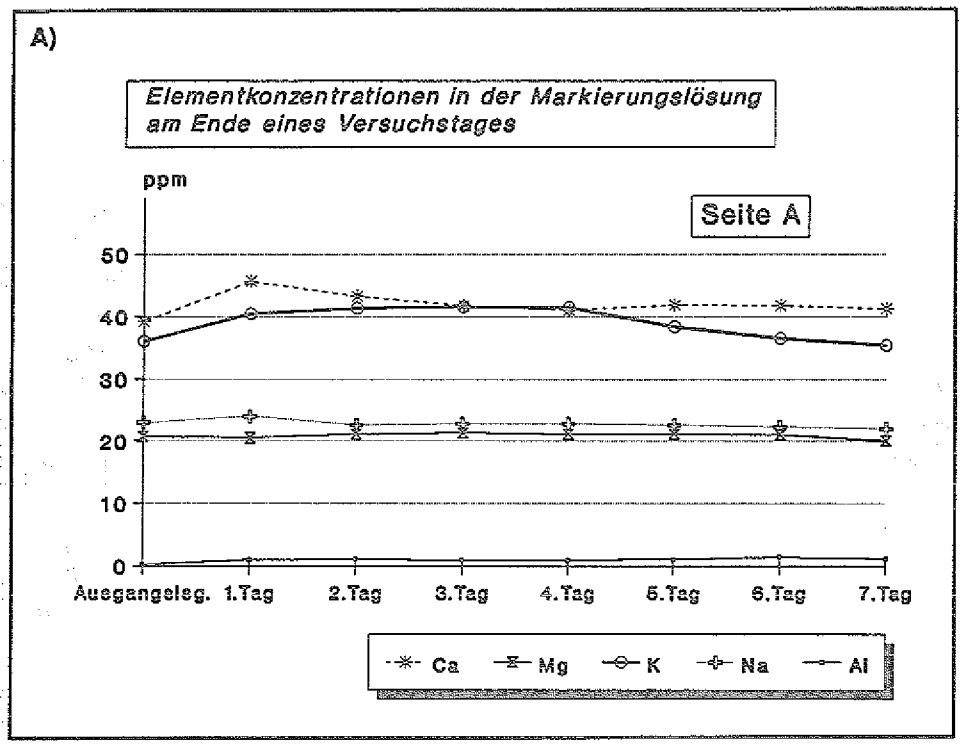
- Analyse der Isotopenzusammensetzungen der täglich gewechselten Lösungen (Sprühproben) und deren Element-Bilanzierung
- Bestimmung der Elementkonzentrationen (ICP-OES; TRFA) und der Isotopenzusammensetzung (LAMMA) in verschiedenen Fraktionen der Pflanze; dazu u.a. Herstellung von Sprühproben aus Druck-und Veraschungsaufschlüssen (Feinstwurzeln und Gesamtwurzelsystem beider Markierungsseiten; Sproßachse und obere Sproßachse; Nadeln)
- Mikrosonden-Messungen (LAMMA) zur Isotopenverteilung in Querschnitten der mykorrhizierten Feinstwurzeln, an Feinwurzeln und an Querschnitten von Sproßbasis und oberer Sproßachse

6.4.1 Element- und Isotopenzusammensetzung der täglich gewechselten Versuchslösungen über 7 Tage Versuchsdauer

Für dieses Experiment wurde ein zweijähriger Fichtensämling aus einer Mineralboden-Erdkultur verwendet (Ratzeburg: 10-30cm Tiefe; siehe auch Kap. 6.1.2. und 6.1.3), der unter den gleichen Bedingungen wie die bereits vorher beschriebenen Erdkulturen aufwuchs. Der Pflanze wurde unmittelbar, nachdem sie mechanisch von am Wurzelwerk anhaftenden Bodenpartikeln befreit wurde, die oben beschriebene Versuchslösung unter den Standardlaborbedingungen zweiseitig - mit (Seite B) und ohne (Seite A) Al-Zugabe - simultan angeboten. Das zum Versuchsende bestimmte aufgeteilte Wurzelfrischgewicht betrug für Seite A ca. 470mg und für Seite B ca. 650mg. Gleichgroße Wurzelmengen konnten wegen des asymetrischen Wurzelwachstums nicht erreicht werden. Das Frischgewicht des restlichen Sproßes betrug ca. 784mg. Die Versuchslösungen wurden nach jeweils 24h gewechselt, so daß beiden Wurzelanteilen täglich ca. 17ml Markierungslösung mit ein und derselben Isotopenzusammensetzung (s.o.) angeboten wurde. Für die gewechselten Lösungen wurde die Differenz zur eingesetzten Lösungsmenge bestimmt. Dabei ist zu berücksichtigen, daß je Seite ca. 0,3-0,5ml an den Wurzeln anhaftende Lösung mit in die nachfolgende Lösung bzw. am letzten Tag zur Proben-Fraktionierung übertragen wurde. Die Differenzen (in ml) sind im folgenden für die 7 Tage aufgeführt: Seite A: 5,15 / 1,83 / 1,03 / 1,00 / 0,58 / 0,11 / 0,59 [Summe: 10,29ml] ; Seite B: 5,52 / 0,81 / 1,07 / 0,47 / 0,46 / 0,60 / 0,89 [Summe: 9,82ml]. Aus diesen Lösungsmengendifferenzen und aus den Elementkonzentrationen (ICP-OES) der eingesetzten und der jeweiligen restlichen Versuchslösung konnten die Netto-Elementaufnahme in die Pflanze bzw. die Netto-Elementabgabe an die Lösung für jede Seite und Element bestimmt werden. Für die markierten Elemente Ca, Mg und K war es darüber hinaus möglich, mit deren Isotopenzusammensetzung (LAMMA) zu Anfang und zu Ende je eines Versuchstages, den Elementaustausch, d.h. für das markierte Element die Aufnahme aus der Markierungslösung und die Abgabe des vor Versuchsbeginn in der Pflanze vorhandenen Elementgehaltes an die Versuchslösung getrennt zu ermitteln.

Berechnung der Netto-Element-Aufnahme/Abgabe aus/in den täglich gewechselten Versuchslösungen: In den folgenden Abbildungen sind die jeweiligen Elementkonzentrationen für Na, K, Ca, Mg, Al, Mn, Fe, Zn und S zum Ende der jeweiligen Applikationstage sowie zum Vergleich die angebotenen Markierungslösungen als Ausgangslösung dargestellt (Abb. 65 u. 67). Den mit ICP-OES gemessenen Konzentrationen sind die berechneten Netto-Elementmengen-Verschiebungen (in µg) zwischen Lösung und Pflanze einander gegenübergestellt (Abb. 66 u. 68). Negative Werte bedeuten dabei eine Abgabe der Pflanze an die jeweilige Lösung, während positive Werte eine Elementaufnahme der Pflanze anzeigen. Die einzelnen Elemente weisen in Abhängigkeit von einer Al-Zugabe zur Markierungslösung, bei ansonsten identischen Bedingungen, z.T. sehr deutliche Unterschiede im Verhalten auf. Im folgenden wird nur auf die wesentlichen Unterschiede zwischen den beiden Applikationsseiten eingegangen. Weitere detaillierte Aussagen sind den Abbildungen entnehmbar.

Die Al-Angebotsseite (B) weist für den 1. Tag eine Al-Aufnahme der Pflanze von fast 500µg auf, die für den 2. und 3. Tag auf ca. 150µg deutlich abfällt (Abb. 66). Bis zum 7.Tag liegt die Al-Aufnahme mit leicht fallender Tendenz bei ca. 100µg pro Tag. Auf der Seite A ohne Al-Zugabe in der Markierungslösung gibt die Pflanze in etwa konstant zwischen 10 und 20µg Al an die Lösung ab.



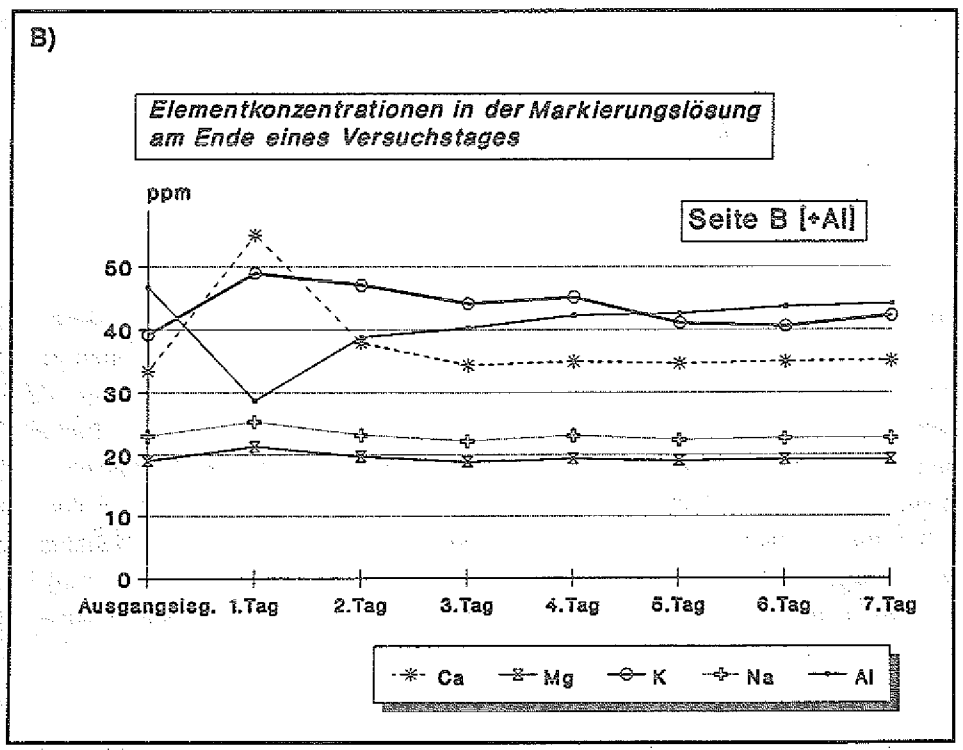
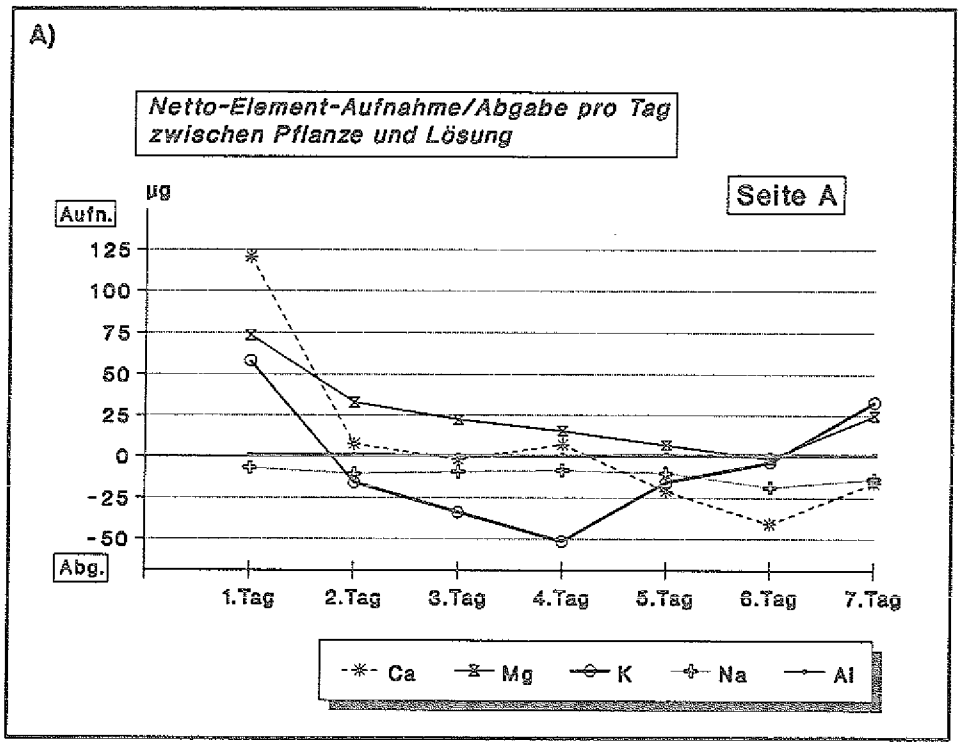


Abb. 65 a+b: Elementkonzentrationen [ppm] für Na, Mg, Al, K und Ca in der Ausgangslösung und am Ende eines Versuchstages in den täglich gewechselten Markierungslösungen; simultane Zwei-Seiten-Markierung: A) "Standardmarkierung" B) + 2mmol / l Al-Zugabe; ICP-OES-Analysen; genaue Versuchsbeschreibung: siehe Text (vgl. Abb. 13)



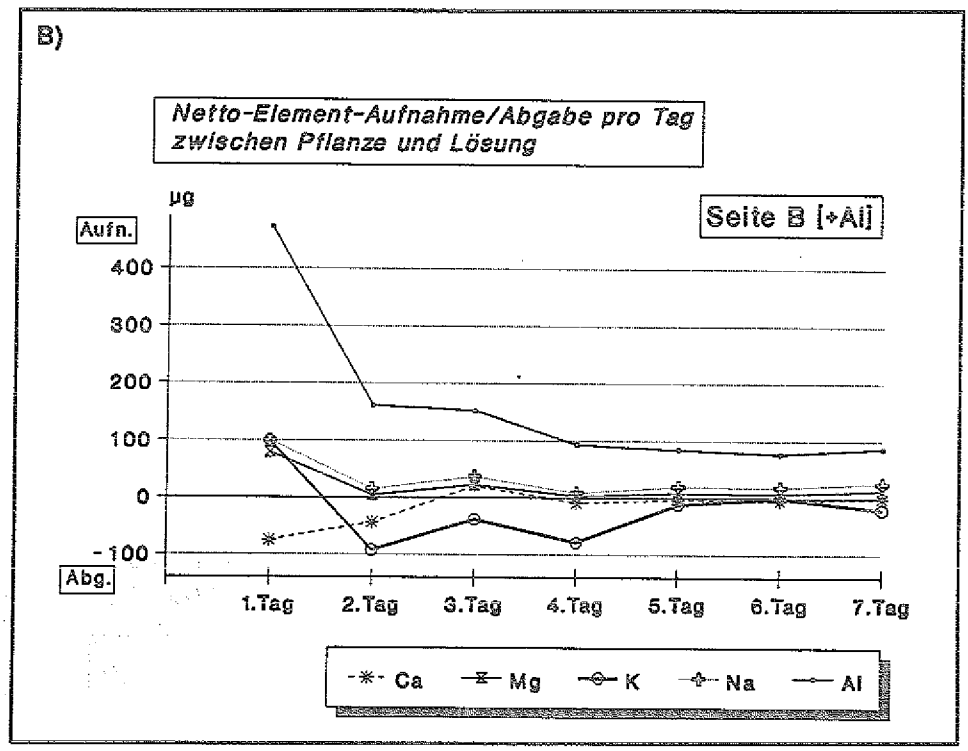
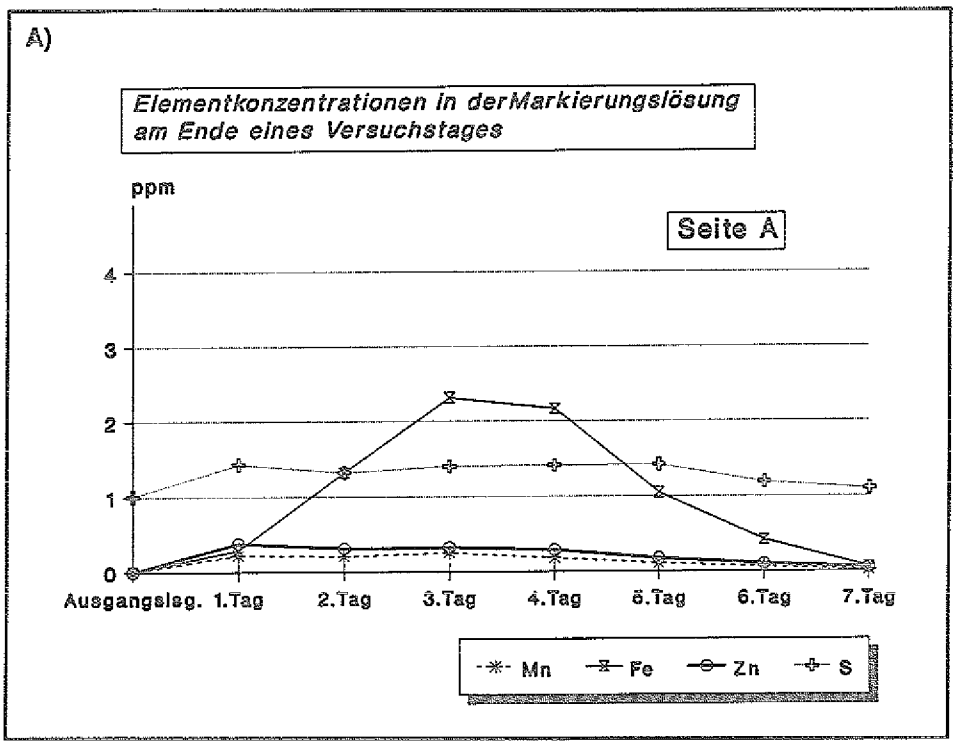


Abb. 66 a+b: Netto-Verschiebungen [µg] von Na, Mg, Al, K und Ca auf beiden Seiten zwischen Pflanze und Markierungslösungen für jeden der 7 Versuchstage; A) "Standardmarkierung" B) + 2mmol/l Al-Zugabe



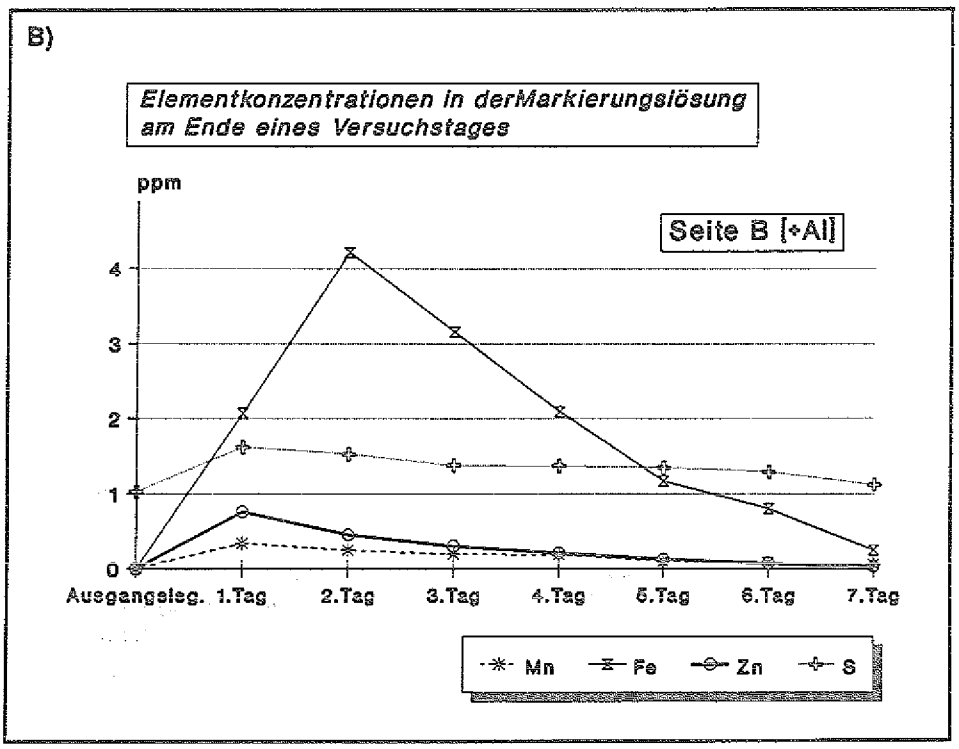
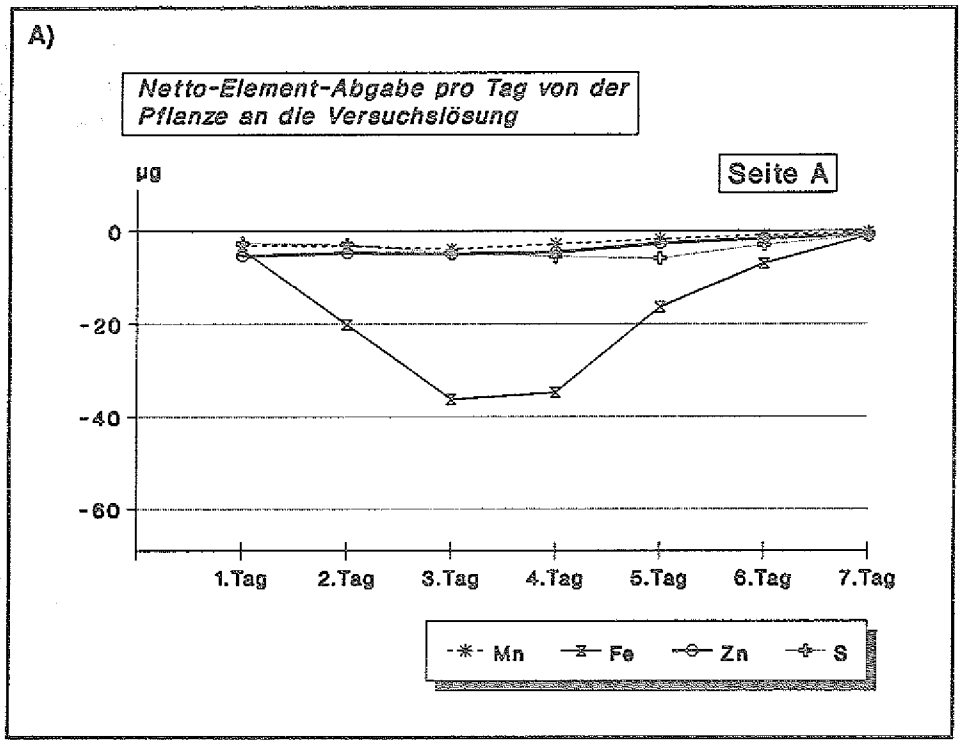


Abb. 67 a+b: Elementkonzentrationen [ppm] für Mn, Fe, Zn und S in der Ausgangslösung und am Ende eines Versuchstages in den täglich gewechselten Markierungslösungen (gleiches Experiment wie Abb. 65 u. 66)



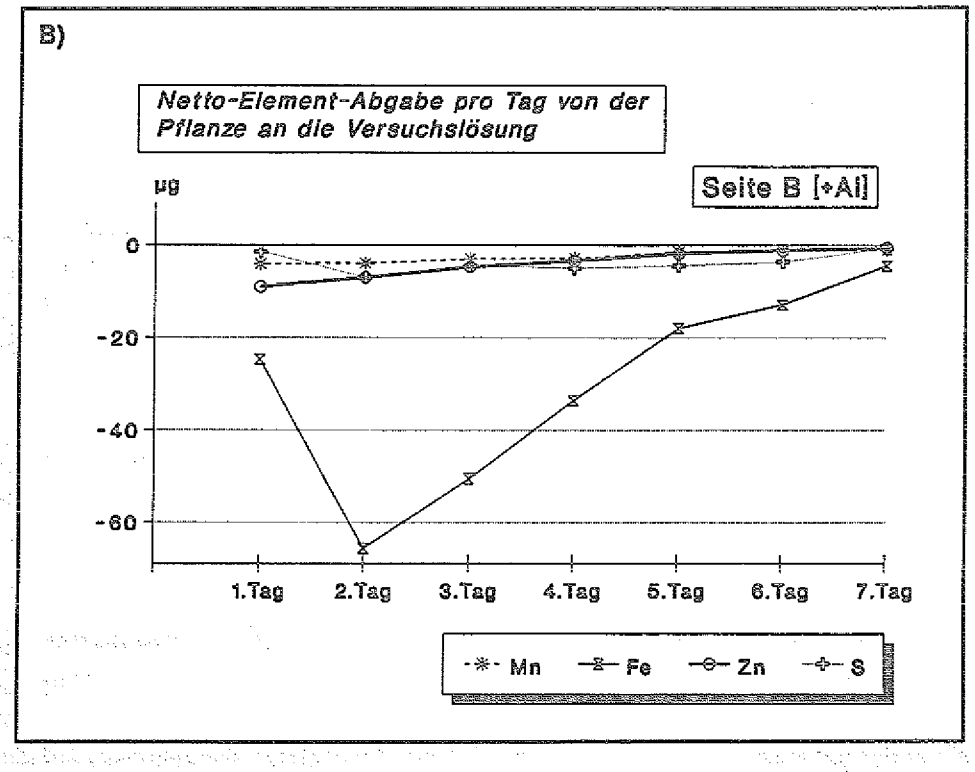


Abb. 68 a+b: Netto-Elementabgabe [µg] von Mn, Fe, Zn und S von der Pflanze an die Markierungslösungen für jeden der 7 Versuchstage

Die Ca-Konzentration steigt auf Seite B zu Ende des 1. Tages um ca. 60% an, um dann wieder auf den Ausgangswert abzufallen. Das bedeutet eine Ca-Abgabe der Pflanze am 1. Tag von ca. 80µg und am 2. Tag von etwa 50µg. An den späteren Versuchstagen ist keine Netto-Ca-Verschiebung mehr erkennbar. Seite A weist am ersten Tag eine Ca-Aufnahme der Pflanze von 120µg auf, während zwischen dem 2. und 4. Tag nur geringe Ca-Verschiebungen erkennbar sind. Vom 5. bis 7. Tag gibt die Pflanze jedoch wieder zwischen 20 und 40µg Ca je Tag an die Lösung ab.

Die Mg-Aufnahme der Pflanze liegt auf Seite A und Seite B am 1. Tag bei ca. 75µg. In den folgenden Tagen geht auf Seite B, schneller als auf Seite A, die Mg-Aufnahme wieder auf Werte zwischen 0 und 20µg zurück bei kaum veränderten Mg-Konzentrationen in den Lösungen.

Die K-Konzentration steigt auf beiden Seiten zunächst um 20-25%, bezogen auf die Ausgangslösung, an, um dann wieder allmählich auf den Ausgangswert abzufallen. Verrechnet mit dem Lösungsverbrauch ergibt dies für den 1. Versuchstag eine K-Aufnahme zwischen 60µg (A) bzw. 100µg (B). An den folgenden Tagen ist im wesentlichen eine K-Abgabe bei höheren Werten auf der Al-Angebotsseite (B) zu verzeichnen.

Die Na-Konzentration verändert sich nur gering während der 7 Versuchstage. Die Na-Aufnahme liegt am 1. Tag auf der Seite A bei ca. 60µg und auf der Seite B bei ca. 100µg. Auf beiden Seiten fällt die Na-Aufnahme in den verbleibenden Applikationstagen auf im Mittel ca. 20µg zurück. Na zeigt dabei ein ähnliches Verhalten wie Mg.

Die Fe-Abgabe der Fichte an die Versuchslösungen - ohne Fe-Zugabe in den angebotenen Lösungen - weist erst am 2.(B) bzw. 3. Tag (A) ihr Maximum auf. Dabei ist der Wert auf der Al-Angebotsseite mit ca. 65µg knapp doppelt so hoch wie auf Seite A. Die Fe-Abgabe geht auf beiden Seiten bis zum Ende des letzten Versuchstages auf unter 5µg pro Tag zurück.

Die Abgabe von Mn, Zn und S liegt auf beiden Seiten im Mittel bei ca. 5µg pro Tag, bei etwas höheren Werten in den ersten Applikationstagen und höheren Werten auf Seite B gegenüber Seite A.

Die folgende Abbildung 69 stellt die gesamte Elementaufnahme bzw.-abgabe über die 7 Versuchstage für Seite A und B sowie als Summe für die gesamte Pflanze einander gegenüber. Der Abbildung liegen die summierten Daten der obigen Abbildungen 65 - 68 zugrunde. Um dem Umstand Rechnung zu tragen, daß in der gegenüber Seite B ca. 27% geringeren eingesetzten Wurzelmasse auf der Seite A die beschriebenen Effekte ihre Hauptursache haben könnten, wurde eine "Normierung" angestrebt. Da das reine Wurzel-Frischgewicht, zumindest bei der hier vorliegenden inhomogenen Wurzelmorphologie, nur sehr beschränkt als alleiniger Normierungs-Parameter geeignet ist (in Abb. 70 sind die Elementverschiebungen auf das jeweilige Wurzel-Frischgewicht bezogen), wurde hier ebenfalls die

aufgenommene Lösungsmenge als Normierungs-Parameter gewählt. Abbildung 71 bezieht daher die in Abb. 69 dargestellte gesamte Netto-Elementverschiebung zwischen Pflanze und Versuchslösung auf die jeweils aufgenommene Lösungsmenge. Neben den bereits oben getroffenen Aussagen erlaubt diese Art der Darstellung ebenfalls Beziehungen zwischen der Aufnahme eines Elementes und dem Angebot dieses Elementes in der Lösung aufzuzeigen. So entspricht z.B. die von der Pflanze aufgenommene Na-Menge pro ml aufgenommener Versuchslösung, auf beiden Seiten gleich, der pro ml Versuchslösung enthaltenen Na-Menge. Daher liegt in diesem Fall die Vermutung nahe, daß die Na-Aufnahme direkt von der aufgenommenen Versuchslösungsmenge bestimmt wird. Die Mg-Aufnahme zeigt in etwa eine ähnliche Tendenz bei jedoch größeren Unterschieden zur angebotenen Mg-Menge pro ml Versuchslösung und niedrigerem Wert auf der Al-Angebotsseite. Die Al-Aufnahme pro ml aufgenommener Versuchslösung auf Seite B ist ca. 2,5mal so hoch wie die in der betreffenden Lösungsmenge angebotenen Al-Menge, während die Ca-Aufnahme pro ml auf Seite A nur etwa ein Achtel der in der aufgenommenen Lösung angebotenen Ca-Menge ausmacht. Zum Teil relativieren sich andere für weitere Elemente in Abb. 65 - 68 gezeigte große Unterschiede zwischen beiden Seiten. Bezieht man die Fe-Abgabe an die Versuchslösung auf die verschiedenen Wurzel-Frischgewichte, wird der vorher große Unterschied deutlich geringer. Diese Aussagen bestätigen sich jedoch auch unabhängig von der in diesem speziellen Experiment benutzten Wurzelaufteilung auf beiden Seiten, was sich auch in den bereits oben erwähnten weiteren analogen Untersuchungen des Verbundprojektes zeigte.

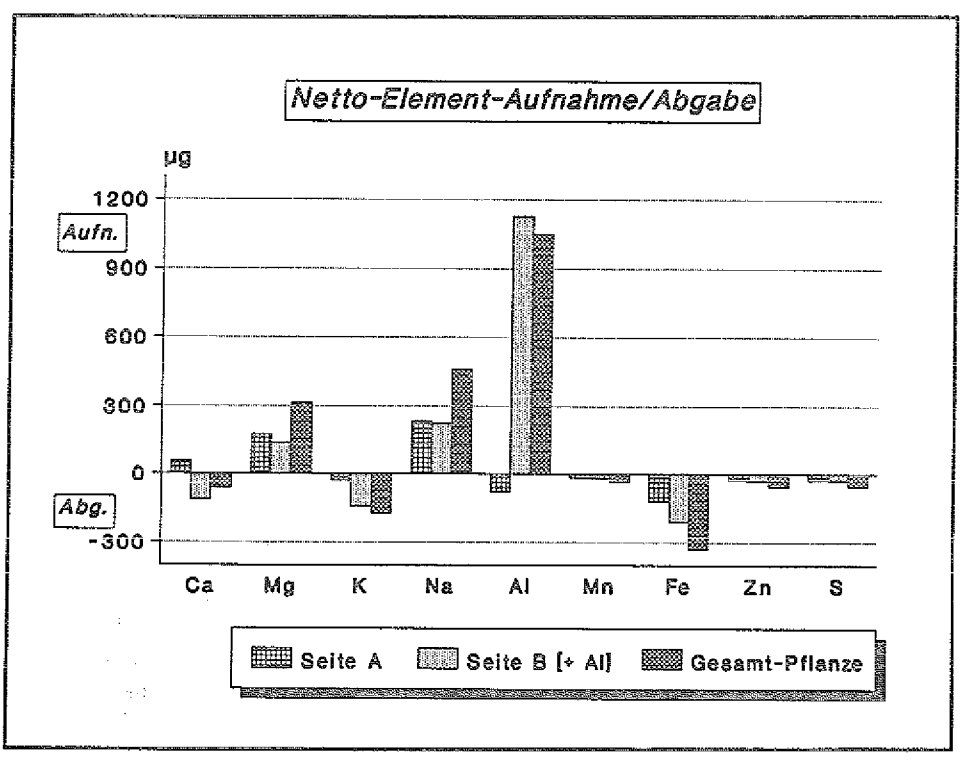


Abb. 69: Summe über 7 Tage der Netto-Element-Aufnahme / Abgabe aus / in die Markierungslösungen (Summation der Daten aus Abb. 66 u. 68); Gegenüberstellung für beide Seiten getrennt und in Addition für die Gesamtpflanze

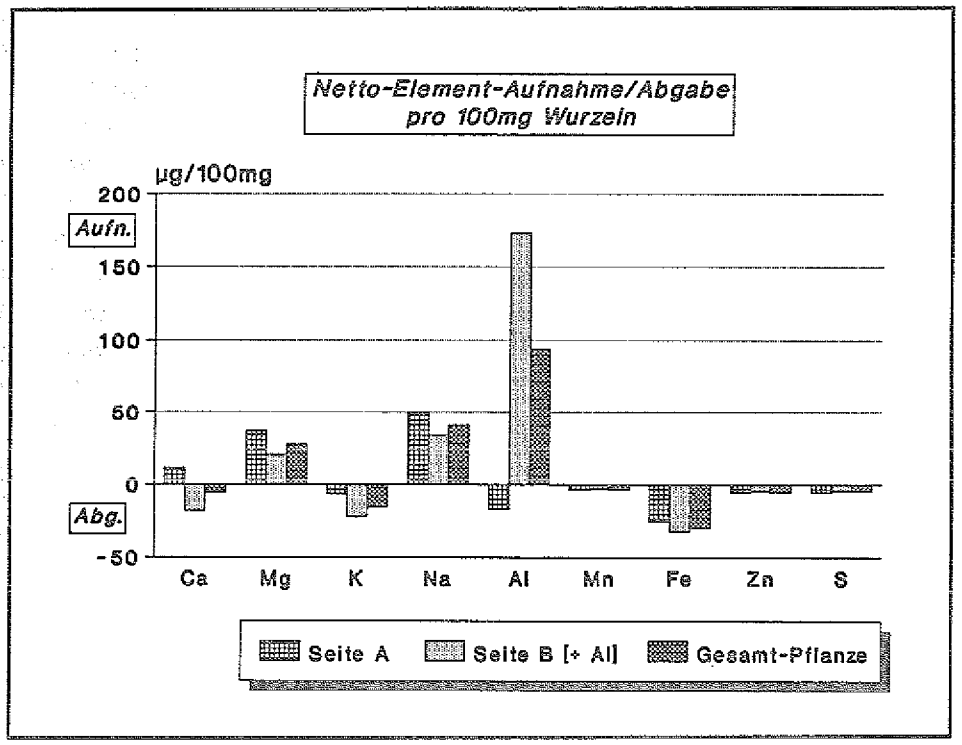


Abb. 70: Daten aus Abb. 69 jeweils bezogen auf 100mg Wurzel-Frischgewicht

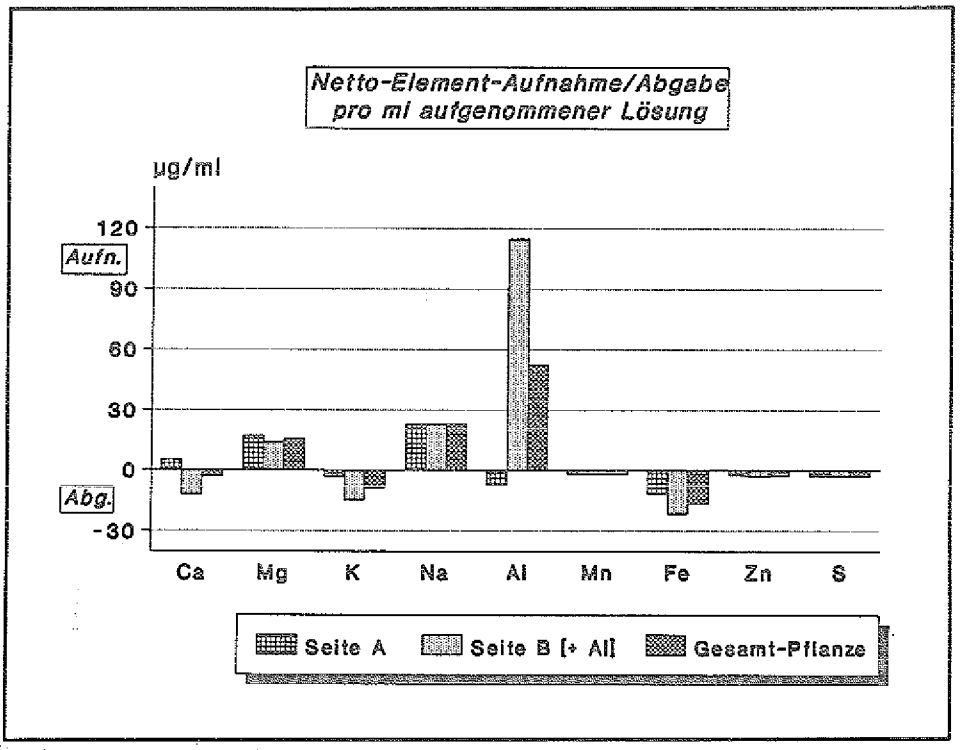


Abb. 71: Daten aus Abb. 69 jeweils bezogen auf die über die gesamte Versuchszeit von der Pflanze je Seite aufgenommene Lösungsmenge

Isotopenzusammensetzungen für Mg, Ca und K und deren Ursprung in den täglich gewechselten Lösungen: Ausgangsdaten für Abb. 72 - 74 sind die mit LAMMA bestimmten Isotopenverhältnisse für Mg, Ca und K aus Sprühproben der beiden Versuchslösungen jeweils zum Ende eines Applikationstages. Aus den Isotopenverhältnissen der Ausgangslösungen, den natürlichen Isotopenverhältnissen für den Anfangselementgehalt der Pflanze und aus den nach 24h Applikation veränderten Isotopenverhältnissen der täglich gewechselten Markierungslösungen wurde mit Hilfe einer einfachen Matrizenoperation (siehe Kap. 4.1) der Ursprung des in den gewechselten Lösungen nach 24h verbleibenden Elementgehaltes für Mg, Ca und K bestimmt. Die Gegenüberstellung der "-Al"- und "+Al"-Lösungsvariante gibt darüber Aufschluß, welcher Anteil der markierten Elemente aus dem angebotenen Elementgehalt der jeweiligen Markierungslösungen und welcher Anteil aus dem ursprünglichen Elementgehalt der Pflanze vor Beginn der Markierungsexperimente stammt.

Der Mg-Anteil am gesamten Mg-Gehalt in der Lösung, der aus dem ursprünglichen Mg-Gehalt der Pflanze stammt, liegt bei beiden Seiten am Ende des ersten Tages bei ca. 10%. Am zweiten Tag fällt dieser Anteil deutlich auf ca. 3,3% ab. Ab dem 3.Tag liegt dieser Anteil auf der Al-Angebotsseite (B) im Mittel bei ca. 2% und auf der Seite A bei ca. 1%.

Der von der Pflanze abgegebene Ca-Anteil auf der "+Al"-Seite liegt nach den ersten 24h bei ca. 40% am Gesamtgehalt der Lösung. Ab dem 2. Tag wird im deutlich geringeren Maße von der Pflanze Ca, das von der Pflanze vor der ersten Markierungslösungs-Applikation stammt, an die Lösung abgegeben. Auf Seite A ist dieser Anteil am Gesamt-Ca-Gehalt in der Lösung im Mittel ca. 3% höher, während dieser Anteil nach dem ersten Versuchstag ca. 8% niedriger ist als zum gleichen Zeitpunkt auf Seite B.

Der K-Austausch weist nach dem 2. Tag einen höheren, von der Pflanze stammenden K-Anteil in den Lösungen auf gegenüber dem entsprechenden Austausch für Mg und Ca. Dieser K-Anteil ist dabei in den letzten Versuchstagen auf der "+Al" - Seite mit ca. 20% absolut im Mittel etwa 2,5mal so hoch wie auf der auf der "- Al" - Seite.

Bilanzierung des Austausches von Mg, Ca und K zwischen Pflanze und Versuchslösung: Aus den eingesetzten markierten Elementmengen, aus den Elementgehalten und den relativen Daten der Herkunft der Elementanteile für Mg, Ca und K (Abb. 72 - 74) am Ende der täglichen Markierung konnten die Elementmengen bestimmt werden, die aus der Versuchslösung in die Pflanze täglich aufgenommen wurden und die gleichzeitig von der Pflanze aus ihrem ursprünglichen Elementgehalt an die Lösung abgegeben wurden. Die Abbildungen 75 - 77 zeigen in einer Gegenüberstellung für beide Markierungsseiten die täglich ausgetauschten Elementmengen und die daraus resultierende Netto-Element-Aufnahme bzw. -Abgabe (siehe auch Abb. 65 - 68).

Die Mg-Abgabe aus der Pflanze in die Lösung macht am ersten Tag auf beiden Seiten mit etwa 25µg ein Viertel der aus der Lösung aufgenommenen Menge aus. In den folgenden Tagen fällt die Mg-Abgabe auf unter 10µg, wobei jeweils höhere Werte auf der Al-Angebotsseite festzustellen sind. Die Mg-Aufnahme liegt im Mittel noch bei ca. 20µg (Abb. 75).

Die Ca-Abgabe am 1.Tag auf Seite B war mit ca. 260µg deutlich höher als die gleichzeitige Ca-Aufnahme vo ca. 180µg. Dagegen ist die Ca-Aufnahme in die Pflanze auf Seite A am 1.Tag mit ca. 300µg ca. 40% höher als die Ca-Abgabe. Am 2.Tag ist die Ca-Abgabe auf Seite B mit ca. 70µg etwa 50µg höher als die Ca-Aufnahme. In den folgenden Tagen fällt der Austausch auf unter 20µg zurück, bei ausgeglichenen Verhältnissen zwischen Aufnahme und Abgabe. Auf der Seite ohne Al-Zugabe zur Markierungslösung fällt der Austausch ab dem 2. Tag ebenfalls deutlich und ist bei Werten von 100 bzw. 40µg am 2. bis 5. Versuchstag für Aufnahme und Abgabe in etwa ausgeglichen. In den letzten Versuchstagen ergibt sich im Mittel eine etwa 30µg größere Ca-Abgabe (Abb. 76).

Die K-Aufnahme aus der Markierungslösung am 1. Tag auf Seite B liegt mit 300µg um 100µg über der K-Abgabe. Die Abgabe am 2. Tag liegt ebenfalls bei ca. 200µg, wohingegen die K-Aufnahme auf 100µg abfällt, was zu einer entsprechenden K-Netto-Abgabe führt. Die K-Abgabe fällt ab dem 3. Tag auf konstant ca. 130µg. Die K-Aufnahme bleibt im Mittel ab dem 2. Tag bei 100-120µg. Die K-Austauschmengen sind auf Seite A niedriger. Am 1.Tag ist die K-Aufnahme hier mit 230µg etwa 60µg höher als die K-Abgabe. K-Aufnahme und -Abgabe liegen im Mittel in den letzten Versuchstagen bei ca. 50µg (Abb. 77).

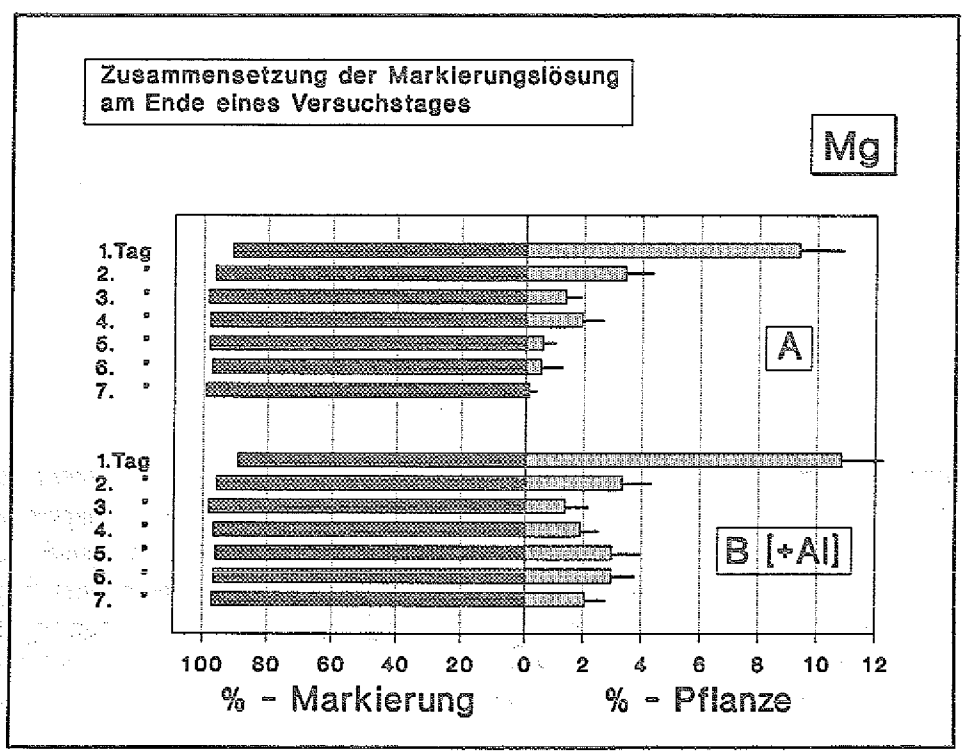


Abb. 72: Relative Isotopenanteile für Mg der Lösungen zum Ende jedes Applikationstages für Seite A (ohne Al) und Seite B mit 2mmol/l Al-Zugabe; (LAMMA-Analysen; Sprühproben; 2 x SDM, bezogen auf relative Einheiten)

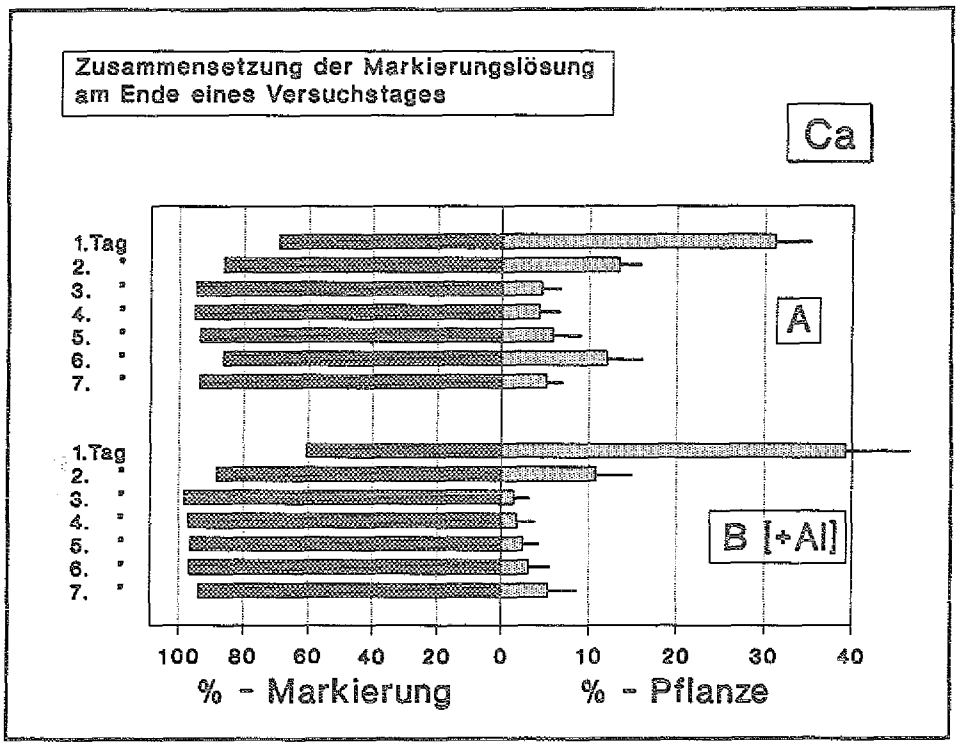


Abb. 73: Relative Isotopenanteile für Ca der Lösungen zum Ende jedes Applikationstages für Seite A (ohne Al) und Seite B mit 2mmol/l Al-Zugabe; (analog zu Abb. 72)

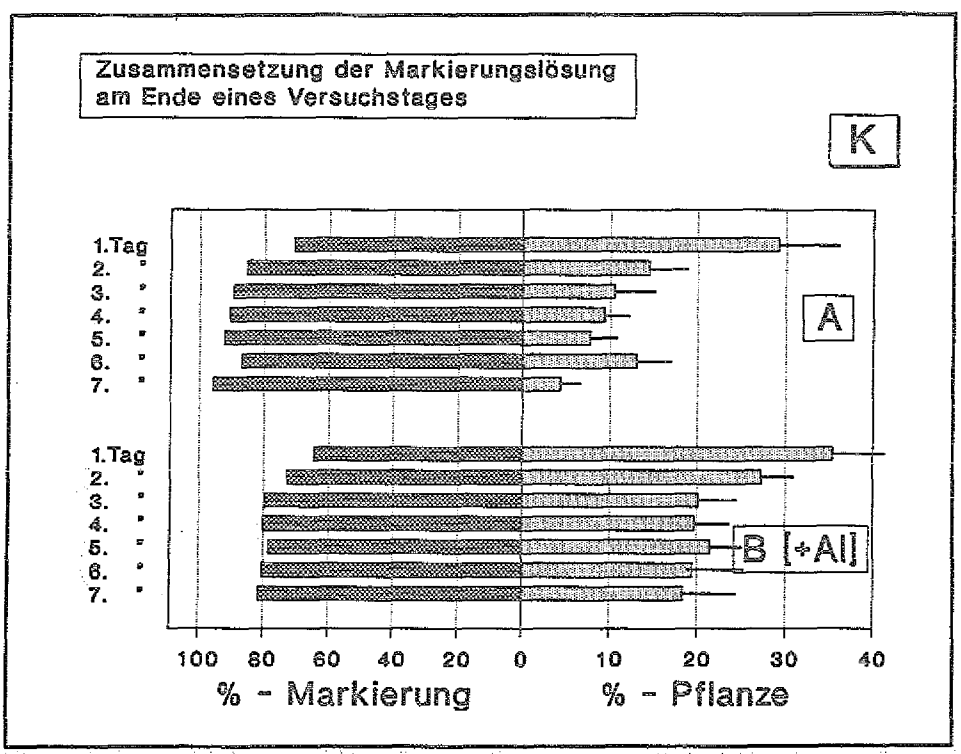
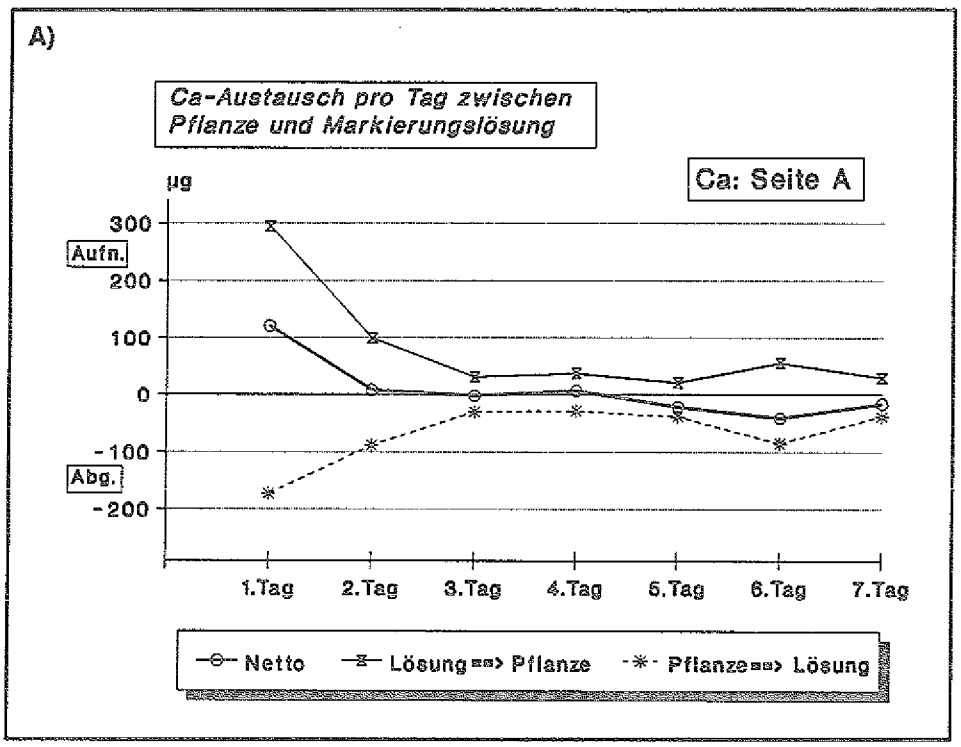


Abb. 74: Relative Isotopenanteile für K der Lösungen zum Ende jedes Applikationstages für Seite A (ohne Al) und Seite B mit 2mmol/l Al-Zugabe; (analog zu Abb. 72)



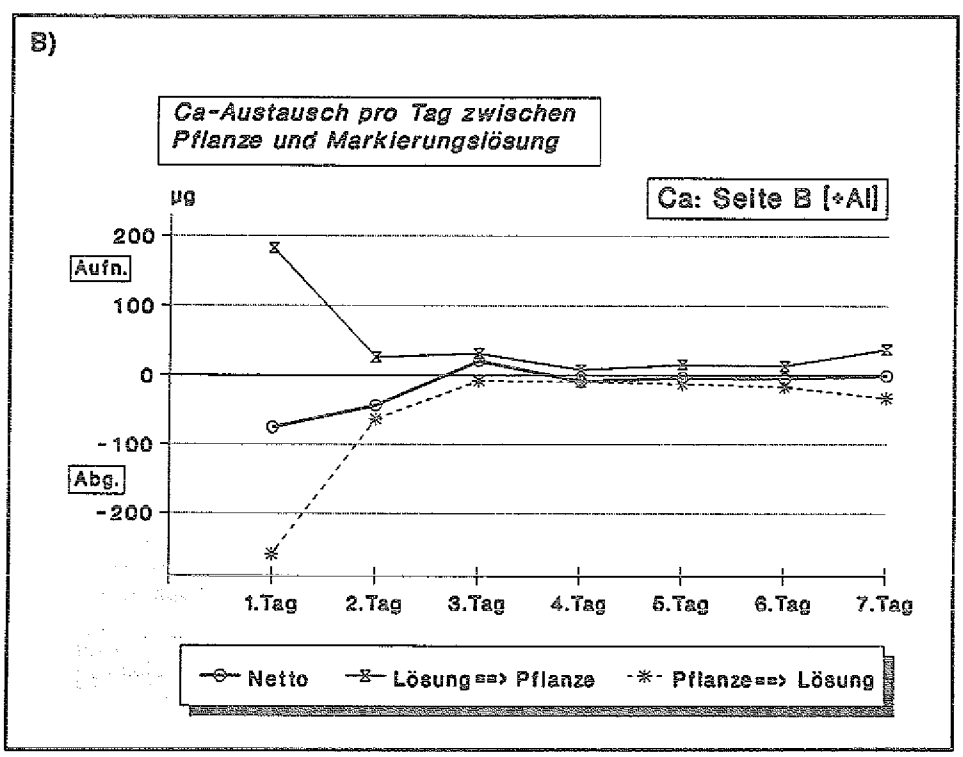
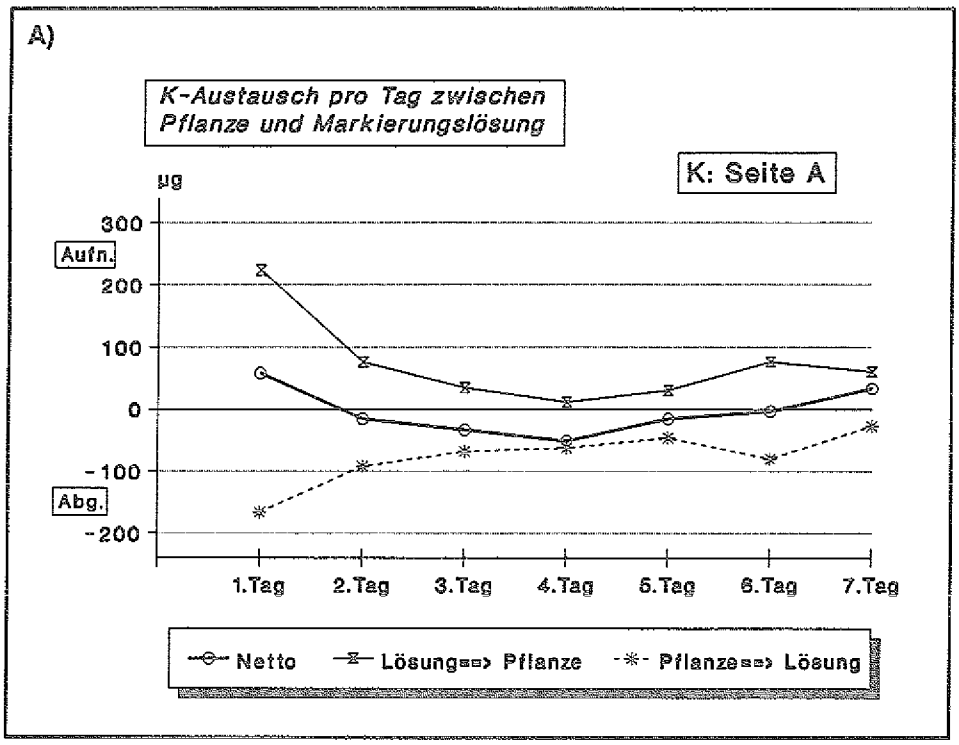


Abb. 76 a+b: Ca-Austausch je Versuchstag auf beiden Seiten zwischen Pflanze und Markierungslösung (analog zu Abb. 75)



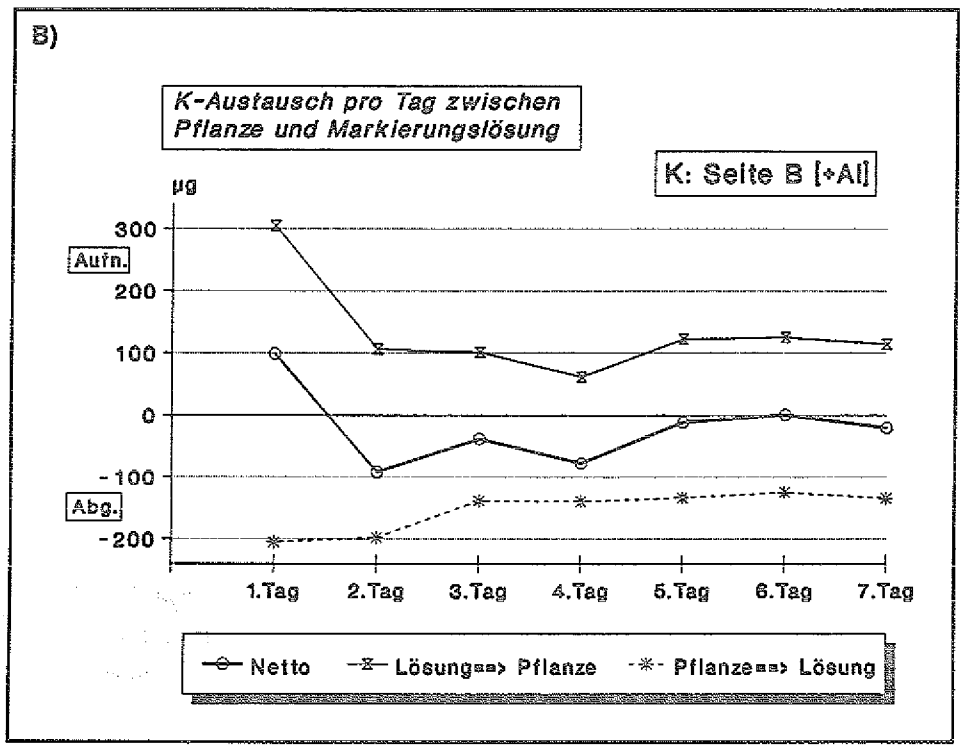


Abb. 77 a+b: K-Austausch je Versuchstag auf beiden Seiten zwischen Pflanze und Markierungslösung (analog zu Abb. 75)

Der folgenden Abbildung 78, die den gesamten Elementaustausch für Mg, Ca und K über die 7 Versuchstage für Seite A und B und als Summe für die gesamte Pflanze einander gegenüberstellt, liegen die summierten Daten der obigen Abbildungen 75 - 77 zugrunde. Wegen der auf beiden Seiten eingesetzten ungleichen Wurzelmasse wurde auch hier der Elementaustausch zum einen auf das Wurzel-Frischgewicht (Abb. 79) und zum anderen auf die aufgenommene Lösungsmenge (Abb. 80) bezogen. Die Summierung über alle 7 Applikationstage läßt nochmals den großen Unterschied zwischen den ausgetauschten Ca- und K-Mengen und der tatsächlichen Netto-Aufnahme bzw. -Abgabe deutlich hervortreten, während die Mg-Netto-Aufnahme im wesentlichen der aus den Lösungen aufgenommenen Menge entspricht. Unter den gewählten Versuchsbedingungen zeigt sich für die gesamte Pflanze bei den drei markierten Elementen nur für Mg eine Netto-Aufnahme. Während eine Al-Zugabe auf den Mg- und Ca-Austausch zwischen Pflanze und Versuchslösung einen negativen Einfluß hat, ist der K-Austausch auf der Al-Angebotsseite erhöht. Im Einzelnen zeigen die Darstellungen folgende wesentliche Befunde:

Die Ca-Aufnahme aus der Lösung auf Seite A (ohne Al-Zugabe) ist mit ca. 550µg ca. 10mal so hoch wie die Ca-Netto-Aufnahme. Auf Seite B beträgt die Ca-Aufnahme trotz größerer Wurzelmasse dagegen nur ca. 280µg bei einer Abgabe an die Lösungen von ca. 400µg, was zu einer entsprechenden Ca-Netto-Abgabe führt (Abb. 78). Auf die Wurzelmasse bezogen beträgt die Ca-Abgabe der Seite B nur ca. 60% der Abgabe der Seite A an die Versuchslösungen.

Die Mg-Aufnahme aus der Lösung, bezogen auf die Wurzelmasse, beträgt auf Seite A ca. das 1,5fache der Mg-Aufnahme der Seite B, während die Mg-Abgaben an die Lösung auf beiden Seiten jeweils mit der Wurzelmasse korrelieren (Abb. 79). Dabei entspricht die Mg-Abgabe ca. 25 bzw. 30% der Mg-Aufnahme (Abb. 78). Bezogen auf die jeweilige aufgenommene Lösungsmenge zeigt die Mg-Aufnahme auf beiden Seiten mit 21,5 bzw. 22,1 µg / ml in etwa die pro ml Versuchslösung enthaltene Mg-Menge (Abb. 80).

Die K-Aufnahme ist auf Seite A ca. 5% und auf Seite B ca. 13% niedriger als die entsprechende K-Abgabe an die Lösungen (Abb. 78). Der deutlichste Unterschied zeigt sich in der etwa doppelt so hohen K-Aufnahme pro ml aufgenommener Markierungslösung auf der Al-Angebotsseite auf der Seite B gegenüber Seite A.

Zusammenfassend zeigen die Daten der Versuchslösungen der Ionenaustausch-Experimente für Mg, K und Ca folgende wesentliche Befunde: Die mit den Markierungslösungen über die gesamten 7 Tage ausgetauschte Ca-Menge ist auf der Seite ohne Al-Zugabe ca. 10mal so hoch wie die hier netto aufgenommene Ca-Menge. Dabei ist die aus der Lösung aufgenommene Ca-Menge auf der Seite ohne Al-Zugabe ca. 3mal so hoch wie der Ca-Gesamtgehalt der entsprechenden Wurzelmasse (s.u.) und zeigt damit besonders deutlich den Transport von Elementen aus oberen Pflanzenteilen in die Wurzeln und von dort in die Außenlösung. Die Elementaufnahme in die gesamte Pflanze ist keine "Einbahnstraße", sondern steht mit den Verhältnissen in der "Bodenlösung" im engen Kontakt (zumindest bei diesen im Vergleich zu Altfichten sehr kleinen Pflanzen). Al-Zugabe führt zu geringeren ausgetauschten Ca-Mengen bei einer insgesamten Ca-Netto-Abgabe an die Markierungslösungen, die ca. 25% der hier gesamt abgegebenen Ca-Menge ausmacht. Die von der Pflanze an die Lösungen abgegebene Mg-Menge beträgt 25 bzw. 30% der aus den Lösungen aufgenommenen Menge. Der K-Austausch ist auf der Al-Angebotsseite ca. doppelt so hoch wie ohne Al-Zugabe, wobei die K-Netto-Abgabe ca. 1/8 der insgesamt an die Lösung abgegebenen Menge ausmacht.

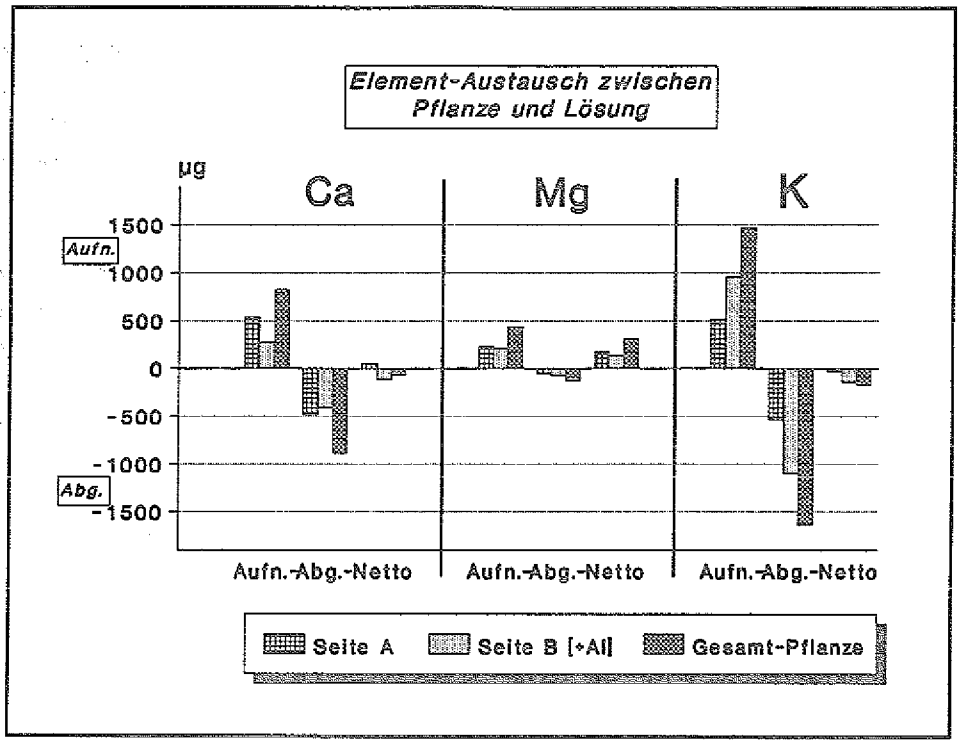


Abb. 78: Ca-, Mg- und K-Austausch [µg] zwischen den Markierungslösungen und der Versuchspflanze; jeweils für beide Seiten (Summation: Gesamtpflanze); Summation der Daten über 7 Versuchstage aus den Abb. 75, 76, 77

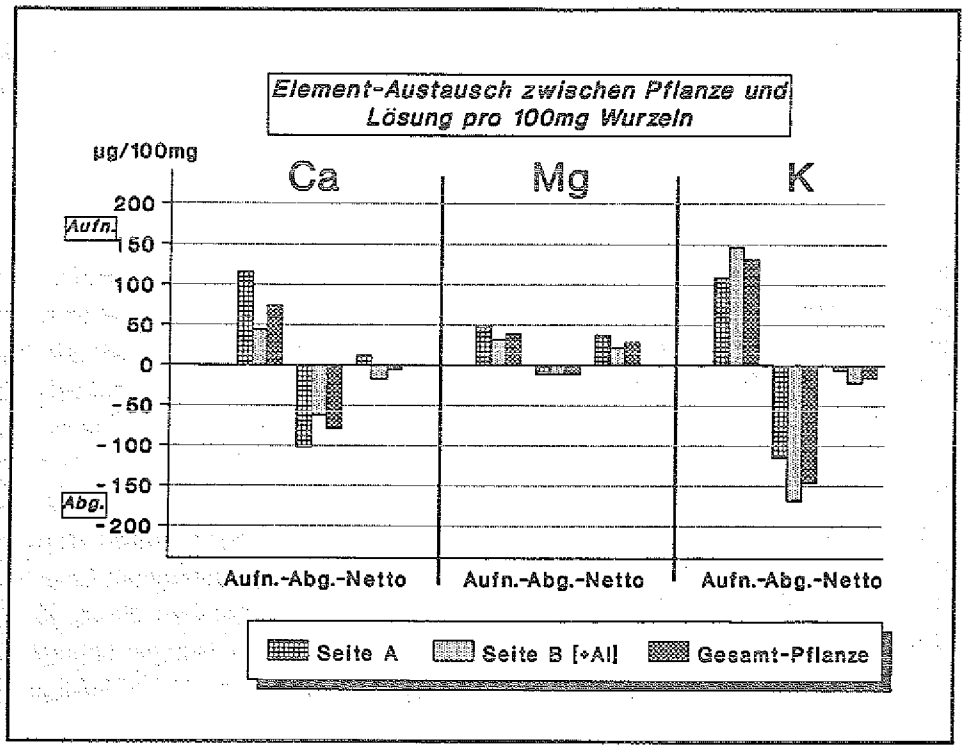


Abb. 79: Daten aus Abb. 78 jeweils bezogen auf 100mg Wurzel-Frischgewicht

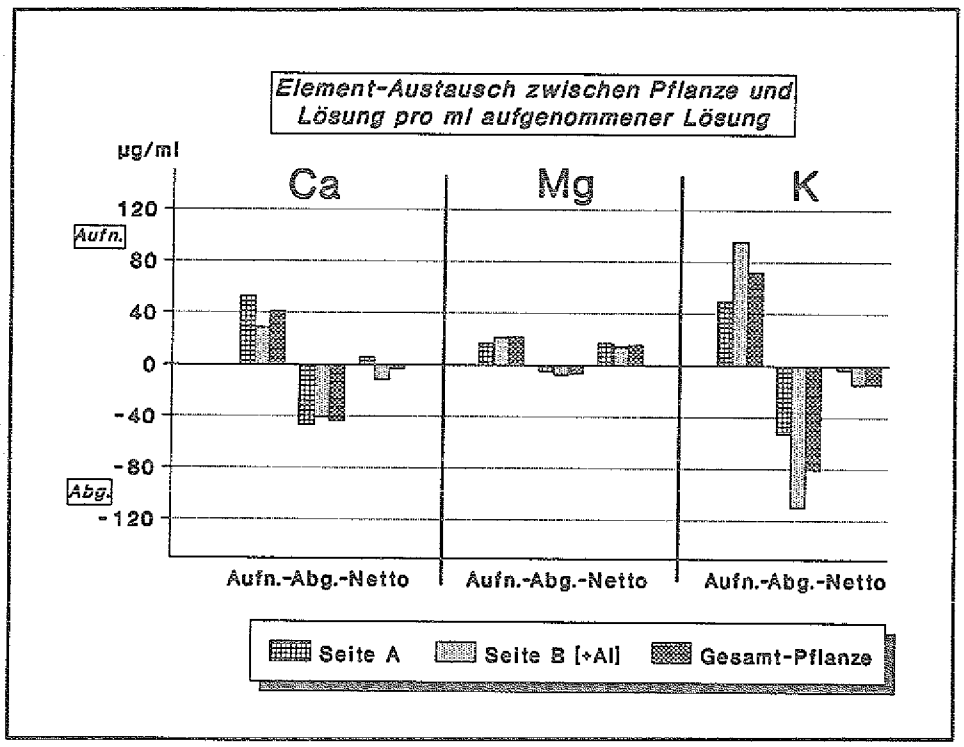


Abb. 80: Daten aus Abb. 78 jeweils bezogen auf die über die gesamte Versuchszeit von der Pflanze je Seite aufgenommene Lösungsmenge

6.4.2 Element- und Isotopenzusammensetzung in Bulkproben verschiedener Fraktionen der markierten Versuchspflanze

Neben der Probennahme der Versuchslösungen wurden für Gesamtanalysen verschiedene Proben und Probenaufbereitungen der markierten Versuchspflanze gewählt. Es wurden parallel von den gleichen Geweben Proben für Veraschung (zur Bestimmung der Isotopenzusammensetzung mit LAMMA), für Druckaufschluß (Gesamtelementbestimmung mit ICP-OES und TRFA; LAMMA) und für Gefriersubstitution bzw. -trocknung genommen. Ein direkter Vergleich der damit erzielten Ergebnisse ist methodisch bedingt mit einer Unsicherheit behaftet, da die verschiedenen Probennahmen zwangsläufig an unterschiedlichen, wenn auch direkt benachbarten Stellen der Pflanze genommen wurden. Weiterhin befinden sich wegen der geringen Probenmenge für die Bulkanalysen die Messungen mit ICP-OES bei einigen Elementen z.T. an der Nachweisgrenze. Die Trockenmassen (gefriergetrocknet) der einzelnen Fraktionen wurden aus den Frischgewichten und den Feuchtegehalten der Druckaufschluß-Proben berechnet (Proben: Gesamtwurzeln in Lösung A 100mg, in B 140mg, Sproßachse 136mg - wegen der geringen Mengen wurde nicht zwischen Holz und Rinde getrennt -, Nadeln 205mg). Zur Problematik des Vergleichs der so erzielten Daten mit nachfolgenden Mikrosonden-Analyse-Ergebnissen siehe auch Kap. 6.1.2 und 6.1.3.

Elementkonzentrationen und -gehalte in Bulkproben von Wurzeln, Sproßachse und Nadeln: Die Abbildungen 81 - 84 stellen die mit ICP-OES erhaltenen Konzentrationen für Ca, Mg, K, Na, Al, Fe, Mn, P und S und die daraus berechneten Elementgehalte für die gesamten Wurzeln in Lösung A, Sproßachse und Nadeln in Lösung B, einander gegenüber. Dabei treten folgende wesentliche Befunde auf:

Die Ca-Konzentration ist in den Nadeln mit 6800ppm am höchsten und ca. doppelt so hoch wie in der Sproßachse. Die Wurzeln auf der Al-Angebotsseite (B) weisen mit 930ppm im Vergleich zur Seite A nur eine etwa halb so hohe Ca-Konzentration auf.

Die Mg-Konzentrationen sind in der Sproßachse und in den Nadeln mit ca. 2000ppm etwa gleich hoch, während die Mg-Konzentration in den Wurzeln auf Seite A ca. 1,5mal so hoch wie auf Seite B ist.

Die etwa gleichhohen K-Konzentrationen in der Sproßachse und in den Nadeln sind ca. 4mal so hoch wie in den Wurzeln, bei denen die K-Konzentration auf Seite A mit 2100ppm ca. 18% höher als auf Seite B ist.

Die Na-Konzentrationen sind im Vergleich zu den Ca-, Mg- und K-Werten insgesamt niedrig und betragen in der Sproßachse nur max. 900ppm und in den Wurzeln ca. 200ppm.

Die Al-Konzentration in den Wurzeln auf Seite B ist mit ca. 10000ppm 2,5mal so hoch wie auf Seite A. Die Al-Konzentration liegt in der Sproßachse und in den Nadeln bei ca. 350ppm. Die von der Pflanze auf der Al-Angebotsseite gegenüber Seite A aus der Lösung aufgenommene Al-Menge von ca. 1000µg (Abb. 70) entspricht dem Unterschied im Al-Gehalt der beiden Wurzelfraktionen.

Der Fe-Gehalt ist in der Sproßachse und in den Nadeln gegenüber dem Fe-Gehalt in den Wurzeln verschwindend gering, wobei die Fe-Konzentration auf Seite B ca. 10% geringer ist.

Der Mn-Gehalt macht in den Nadeln ca. 90% des gesamten Mn-Gehaltes der Pflanze aus.

Die P-und S-Konzentrationen sind in den Nadeln ca. doppelt so hoch wie in den Wurzeln auf Seite A. Die Konzentrationen auf Seite B sind 30 bzw. 10% höher. Die P- und S-Konzentrationen in der Sproßachse liegen zwischen denen der Wurzeln und der Nadeln.

Neben dem oben beschriebenen Bulkproben-Vergleich der Wurzeln von Seite A und Seite B wurden im "offenen Aufschlußverfahren" jeweils ca. 5 einzelne Feinstwurzeln beider Seiten für TRFA-Messungen vorbereitet. Hierbei ist zu beachten, daß wegen der besonders geringen Probenmengen größere Unsicherheiten u.a. bei der statistischen Absicherung bestehen. Es zeigen sich auch hier - wie in den obigen Bulkproben der gesamten verbleibenden Wurzelmassen - die gleichen wesentlichen Unterschiede wie z.B. in der deutlich höheren Al-Konzentration auf Seite B und deren niedrigeren Mg- und Ca-Konzentration.

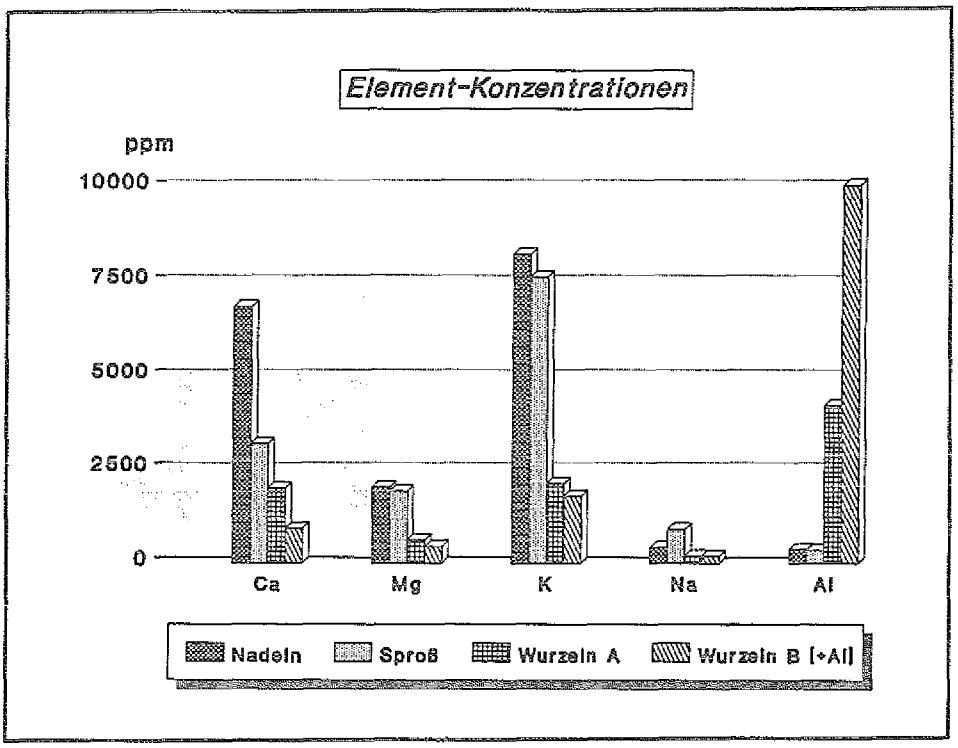


Abb. 81: Elementkonzentrationen für Ca, Mg, K, Na und Al in Bulkproben verschiedener Fraktionen (Gesamtwurzeln (A u. B), Sproßachse, Nadeln) der markierten Fichte zu Versuchsende (ICP-OES-Messungen)

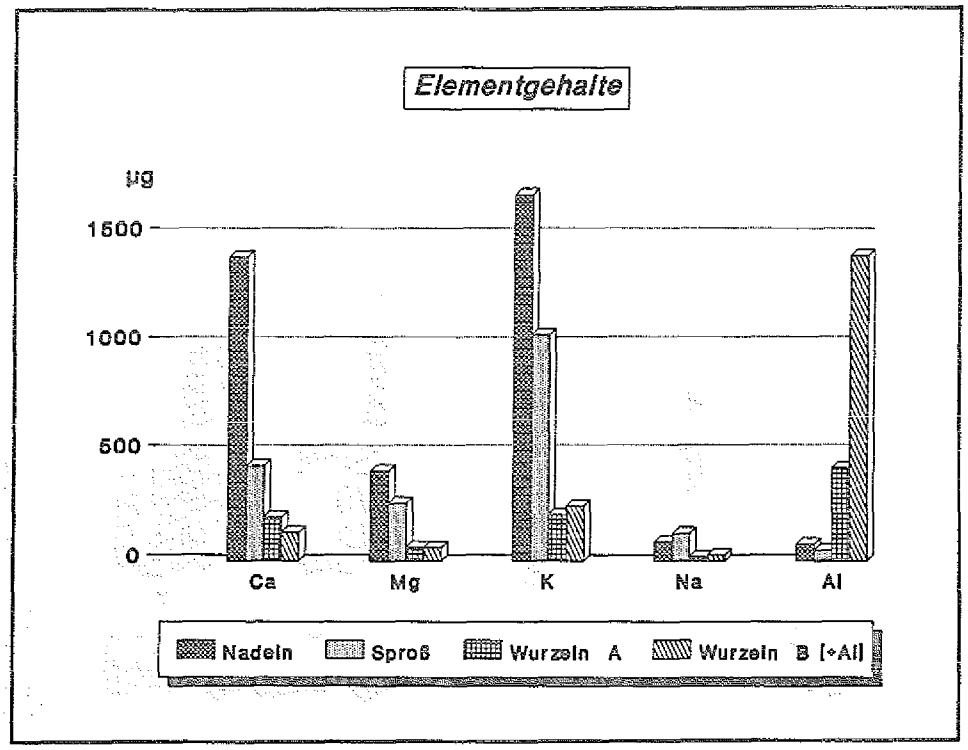


Abb. 82: Elementgehalte [µg] für Ca, Mg, K, Na und Al in den Fraktionen aus Abb. 81

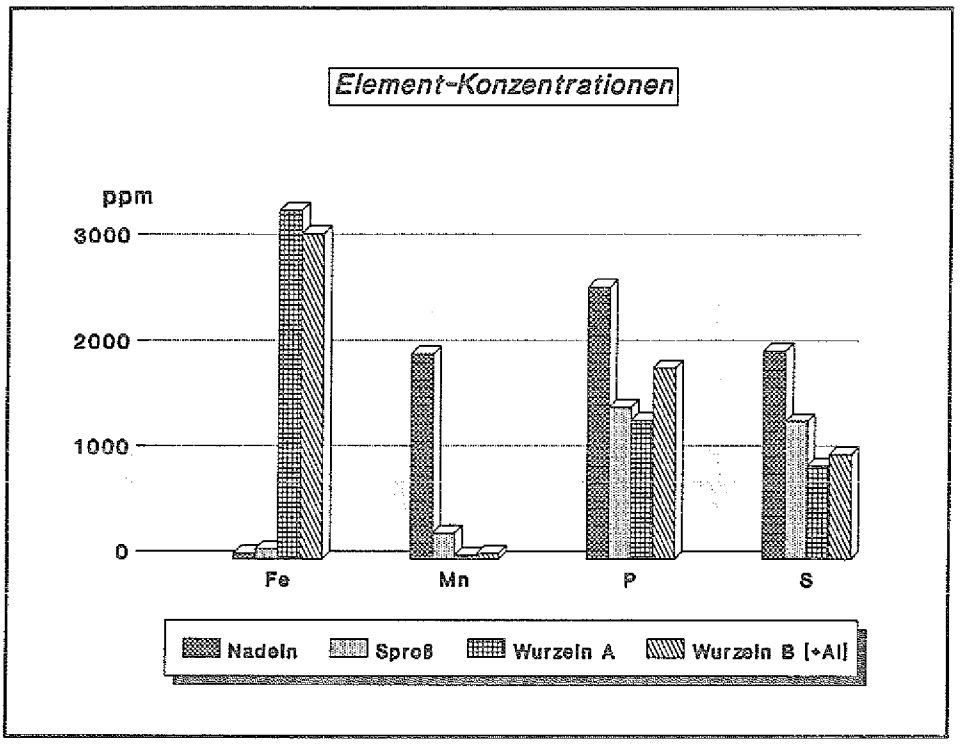


Abb. 83: Elementkonzentrationen für Fe, Mn, P und S in Bulkproben verschiedener Fraktionen der markierten Fichte zu Versuchsende (ICP-OES-Messungen; gleiche Proben wie in Abb.81)

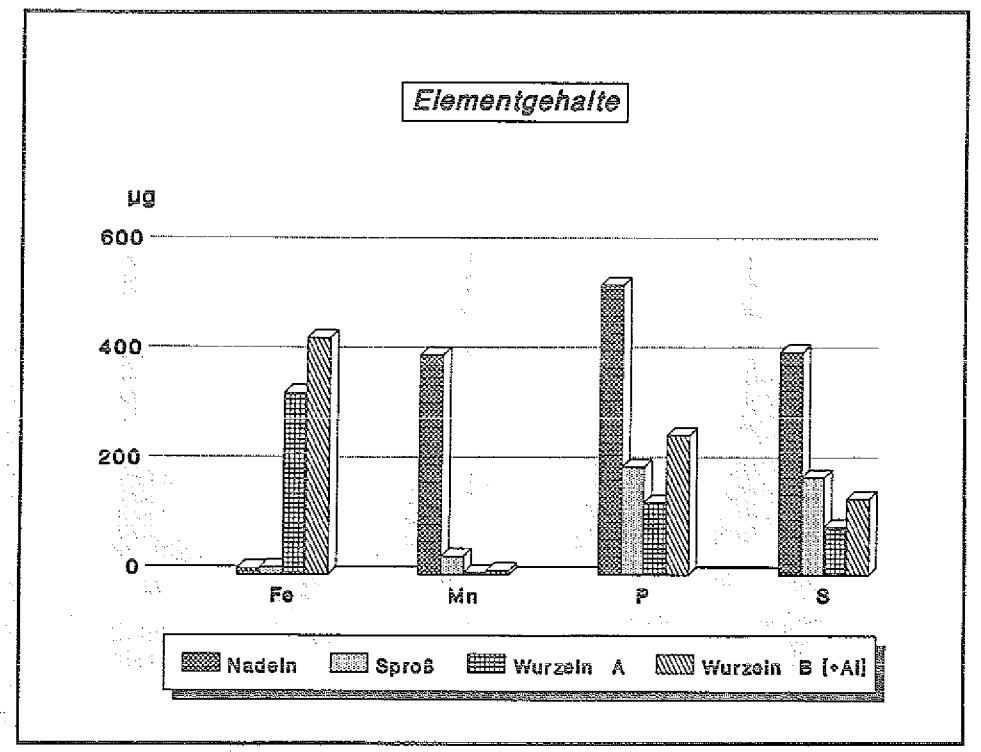


Abb. 84: Elementgehalte [µg] für Fe, Mn, P und S in den Fraktionen aus Abb. 83

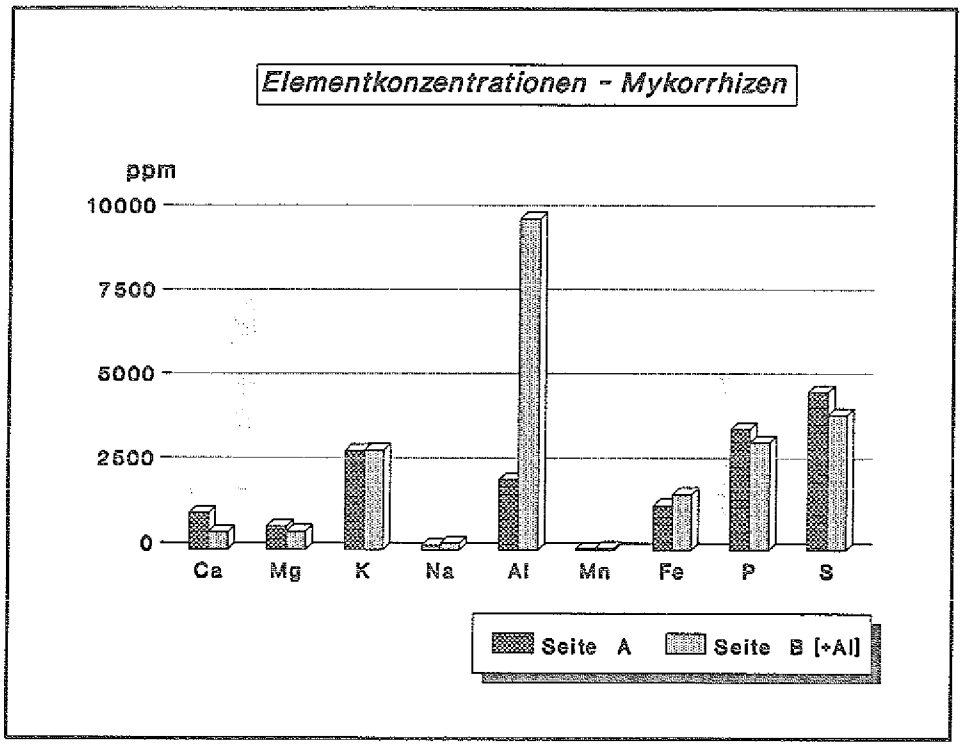


Abb. 85: Elementkonzentrationen in einzelnen Feinstwurzeln beider Markierungsseiten (TRFA-Analysen, jeweils 5 Feinstwurzeln)

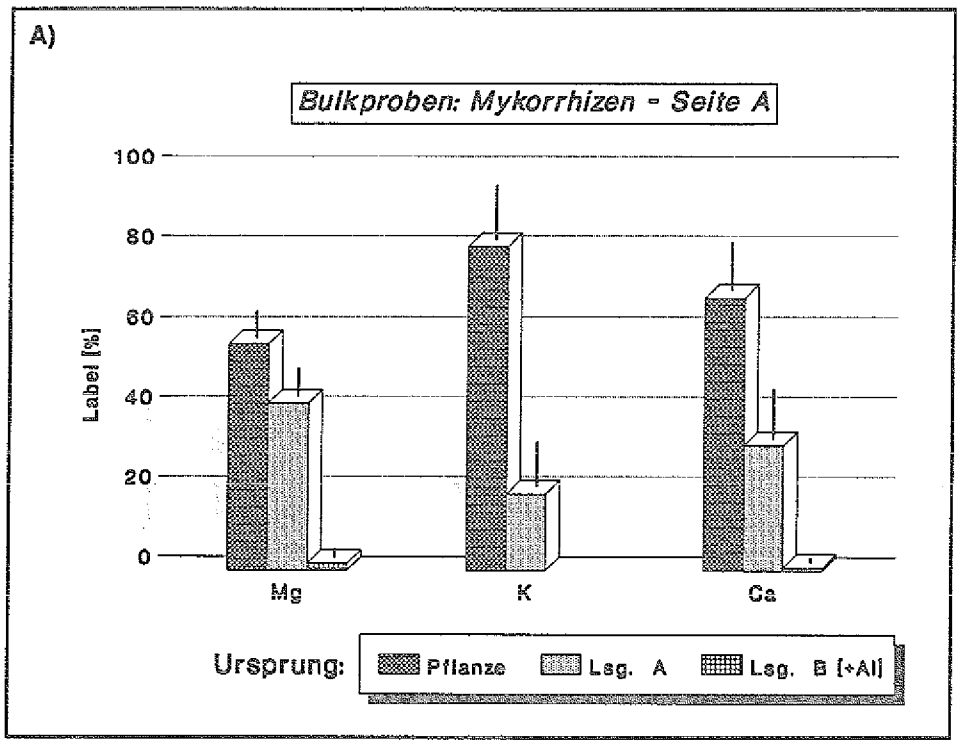
Isotopenzusammensetzung in Bulkproben (Sprühproben) von verschiedenen Fraktionen der Pflanze: In den folgenden LAMMA-Untersuchungen wurde der Anteil der zur Markierung verwandten Isotope am jeweiligen Gesamtgehalt des betreffenden Elementes in Feinstwurzeln und in der gesamten Restwurzelmenge beider Seiten, in der Sproßbasis und der oberen Sproßachse und in Nadeln bestimmt. Die Isotopenzusammensetzungen der veraschten, auf befilmte Grids aufgesprühten, mykorrhizierten Feinstwurzeln (jeweils 8 Stück; ca. 4 - 5 mm lang) aus beiden Lösungsvarianten sind in Abb. 86 einander gegenübergestellt. Dabei wurde der Prozentsatz aufgetragen, zu dem der Gesamtelementgehalt entweder von der Pflanze vor Experimentbeginn oder von einer der beiden Lösungen stammt (bezogen auf die Isotopenzusammensetzung der Lösungen am Ende des 7. Markierungstages; Berechnung: siehe Kap. 4.1).

Die Mg-Markierung auf Seite A ohne Al-Zugabe ist mit ca. 42% gegenüber ca. 24% der Markierung in den Feinstwurzeln auf der Al-Angebotsseite deutlich höher.

Das gleiche Verhalten zeigt sich auch für Ca. Hier ist der Ca-Lösungsanteil am Gesamtgehalt in den Mykorrhizen auf Seite A mit ca. 31% um 13% höher als auf Seite B.

Der K-Markierungsanteil ist auf der Al-Angebotsseite mit 28% um ca. 9% höher als auf Seite A.

Die Wurzeln der Seite A weisen, anders als die auf der Al-Angebotsseite, mit ca. 1% bei Ca und ca. 2% bei Mg einen geringen, jedoch meßbaren Anteil am jeweiligen Gesamtelementgehalt auf, der von der anderen Markierungsseite (B) stammt.



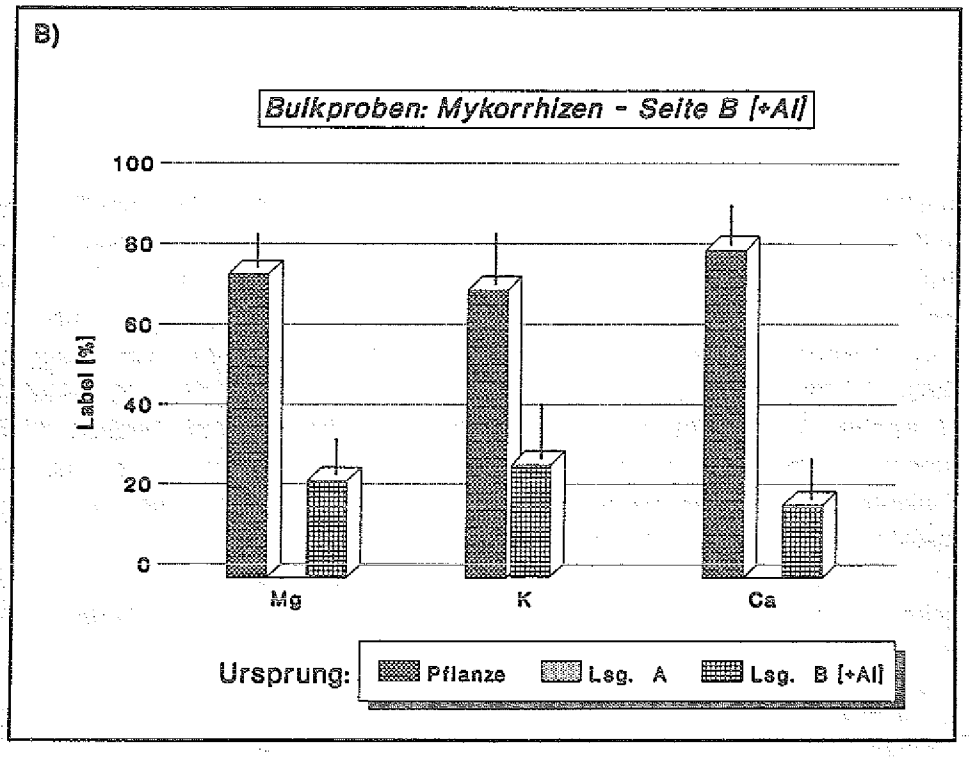
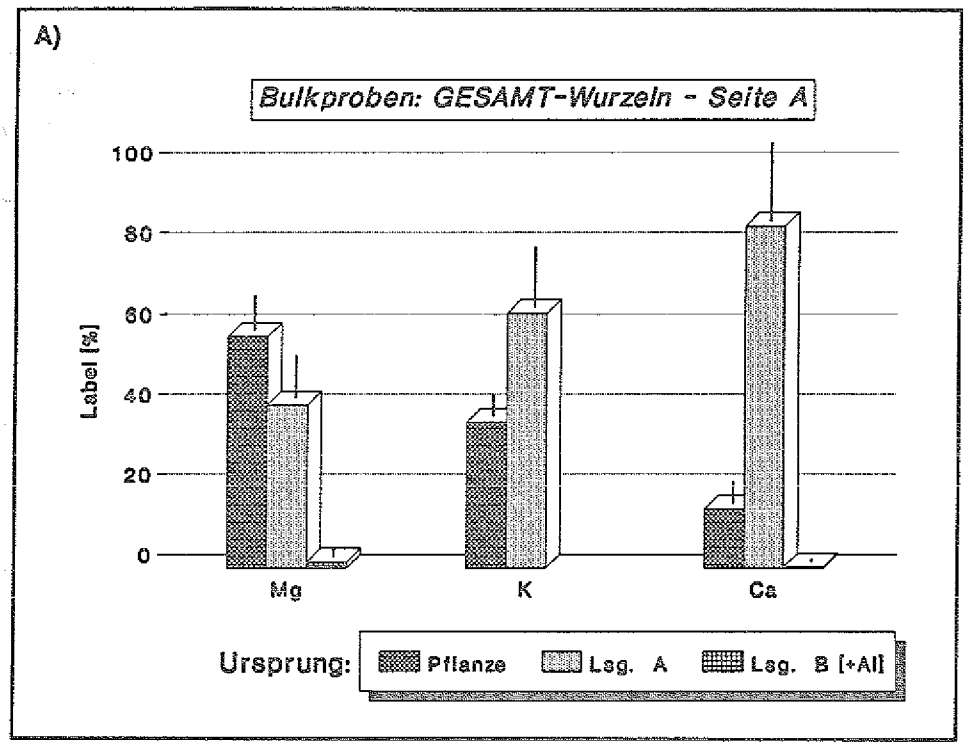


Abb. 86 a+b: Ursprung (Pflanze vor Versuchsbeginn oder aus beiden Markierunslösungen) der Elementanteile für Mg, K und Ca in Bulkproben (Sprühproben, nach Veraschung) einzelner Mykorrhizen von beiden Seiten zum Ende des Versuches



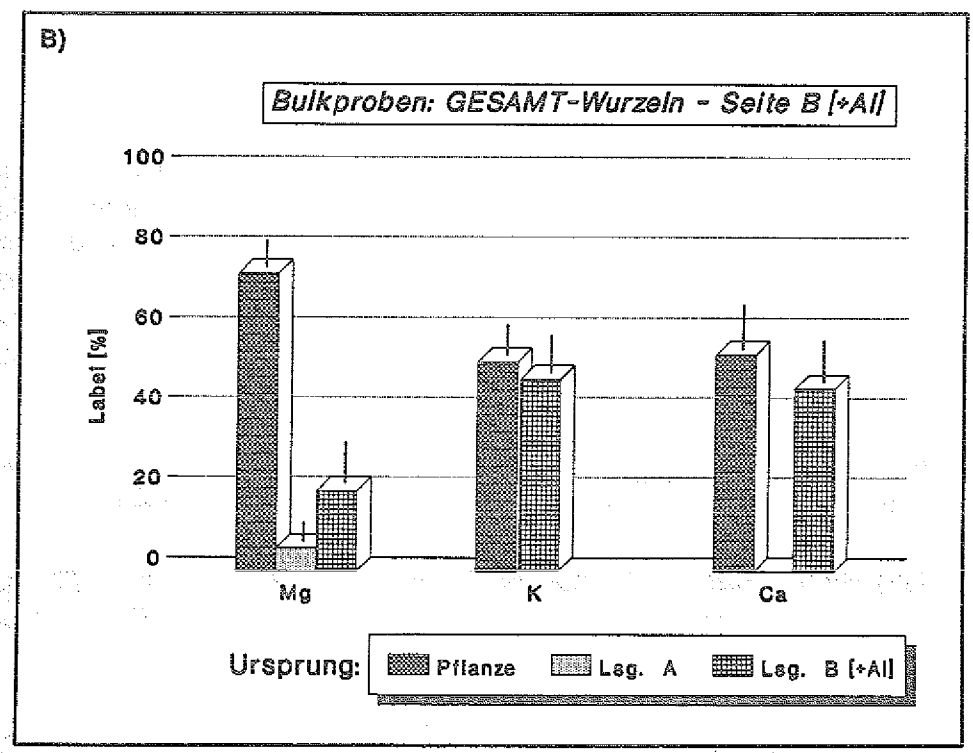


Abb. 87 a+b: Ursprung der Elementanteile für Mg, K und Ca in Bulkproben von Mischproben der gesamten Wurzeln (je Markierungsseite; zum Ende des Versuches)

Die druckaufgeschlossenen Proben der gesamten restlichen Wurzelmengen - nach der Probennahme für die Trockenveraschung von einigen Feinstwurzeln (Abb. 86) und für die Mikroanalyse - wurden neben der Bestimmung der Elementkonzentrationen mit ICP-OES (Abb. 81-84) auch zur Bestimmung der Isotopenverhältnisse mit LAMMA herangezogen. Abb. 87 zeigt im Vergleich zur Abb. 86 den Ursprung der Elementzusammensetzung für Mg, Ca und K. Dabei ist auch hier zu beachten, daß wegen eines fehlenden zweiten K-Isotopes zur Markierung bei diesem Element nicht zwischen der Herkunft von einer der beiden Markierungsseiten unterschieden werden kann. Die wesentlichen Befunde dieser Proben im direkten Vergleich zu einzelnen Mykorrhizen sind:

Die Mg-Markierung aus der entsprechenden Markierungslösung auf Seite A ohne Al-Zugabe entspricht mit ca. 40% und auf der Seite B mit ca. 20% in etwa der Markierung in den jeweiligen mykorrhizierten Feinstwurzeln (Abb. 86). Jedoch ist auf Seite B mit ca. 6% ein deutlicher Mg-Anteil zu erkennen, der von den Markierungslösungen der Seite A stammt.

Deutlich höhere Werte treten bei der Ca-Markierung auf. Hier steht der Ca-Lösungsanteil am Gesamtgehalt in den gesamten Wurzeln auf Seite A mit ca. 85% einem Anteil von ca. 46% auf der Seite B mit Al-Zugabe gegenüber.

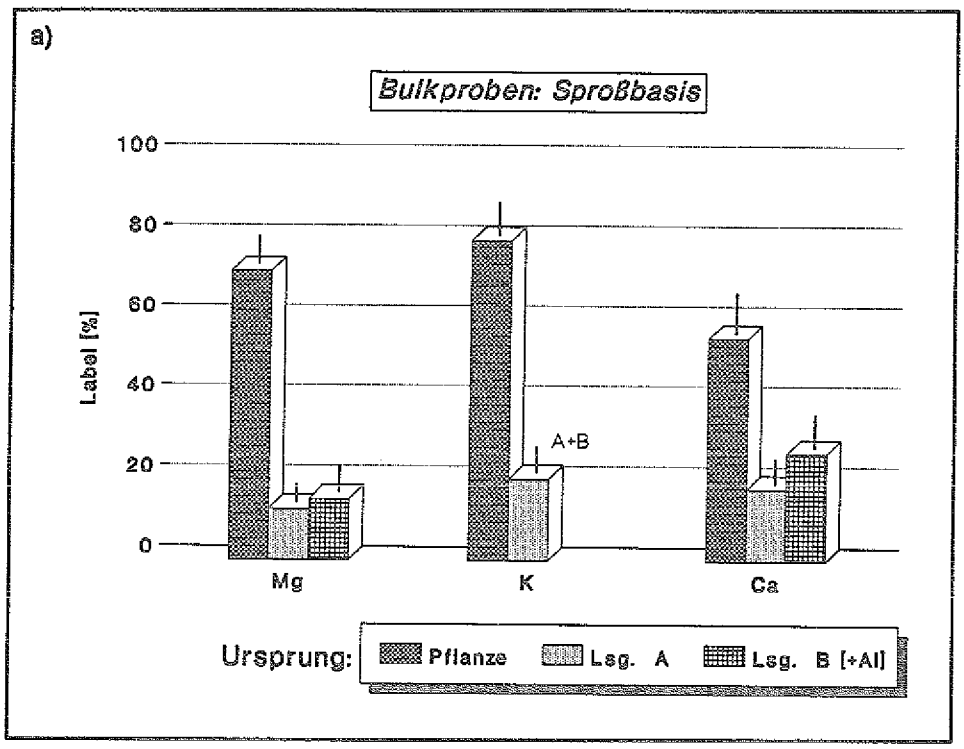
Ein deutlicher Unterschied gegenüber den einzelnen Mykorrhizen weisen die K-Markierungsanteile auf. Auf der Al-Angebotsseite ist der aus den Lösungen stammende Anteil mit ca. 48% um ca. 15% geringer als auf Seite A.

Abb. 88 zeigt in der gleichen Darstellungsweise wie oben das Element-Aufnahmeverhalten der Basis der Sproßachse und der oberen Sproßachse (Holzkörper u. Rinde; eine Auftrennung war wegen der geringen Probenabmessung nicht möglich) und damit den Elementtransport in den Sproß in Abhängigkeit von der Al-Zugabe. Der Ursprung des K läßt sich aus oben genannten Gründen nicht seitengetrennt ermitteln. Daher wurde die Isotopenberechnung auf die K-Zusammensetzung der Markierungslösung zu Versuchsende der Seite B bezogen (auf Seite A bezogen sind die Werte ca. 3-4% geringer).

In der Sproßbasis ist die Mg-Aufnahme aus Seite B mit 16% am Gesamtgehalt ca. 3% höher als von der Seite A. In der oberen Sproßachse treten annähernd gleiche Werte auf.

Die K-Aufnahme aus den Versuchslösungen beträgt in der Sproßbasis ca. 20%. Für die obere Sproßachse konnten wegen hier zu geringer K-Meßsignale (LAMMA) in den eingetrockneten Lösungstropfen keine Werte ermittelt werden.

Der aus den Lösungen stammende Ca-Anteil liegt in der Sproßbasis mit ca. 18% (Seite A) und ca. 26% (Seite B) deutlich höher als in der oberen Sproßachse, mit jeweils höherem Ca-Anteil, der von den Markierungslösungen der Al-Angebotsseite stammt.



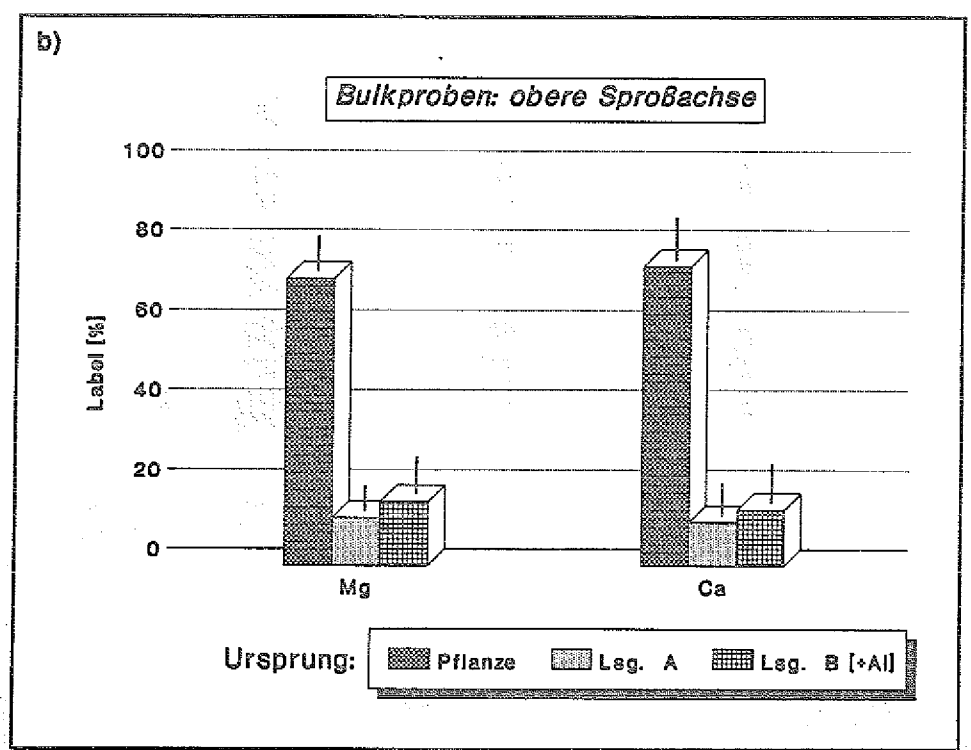


Abb. 88 a+b: Ursprung der Elementanteile für Mg, K und Ca in Bulkproben der Sproßbasis (a) und der oberen Sproßachse (b); Sprühproben, nach Veraschung; für Mg und Ca differenzierbar nach der Versuchsseite; (K-Markierung stammt von beiden Seiten)

Abb. 89 zeigt den Elementtransport in die jüngsten Nadeln, die sich im obersten Sproßabschnitt befanden.

Der Mg-Anteil, der von Seite B stammt, ist mit 14% am Gesamtgehalt ca. doppelt so hoch wie der von Seite A stammende Mg-Anteil.

Der aus den Versuchslösungen stammende K-Anteil am K-Gesamtgehalt in den jüngsten Nadeln liegt bei etwa 8%.

Der Ca-Anteil von der Markierung der Seite B ist in den Nadeln mit ca. 8% mehr als doppelt so hoch wie der von Seite A stammende Anteil.

Für hier nicht näher vorgestellte ältere Nadeln ist die K-Markierung etwa gleich hoch, für Mg und Ca zwischen 1,5 und 3,5% niedriger.

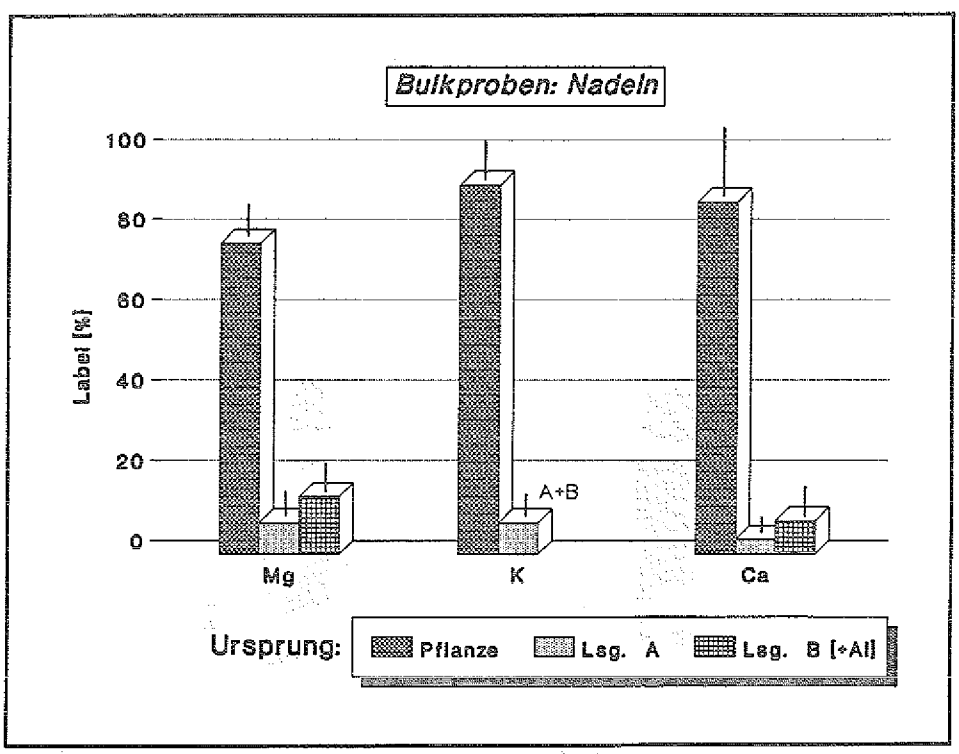


Abb. 89: Ursprung der Elementanteile für Mg, K und Ca in Bulkproben der jüngsten Nadeln (Sprühproben, nach Veraschung); für Mg und Ca differenzierbar nach der Versuchsseite; (K-Markierung stammt von beiden Seiten)

6.4.3 Mikrosonden-Messungen zur relativen Element- und Isotopenverteilung in Wurzel-Querschnitten und in Querschnitten der Sproßbasis und der oberen Sproßachse

Die folgenden Mikrosonden-Untersuchungen an Dünnschnitten wurden durchgeführt, um eine Aufschlüsselung der Isotopenverteilung nach verschiedenen Zellarten für dasselbe Markierungsexperiment wie oben zu erhalten. Mit LAMMA wurden die relativen Elementgehalte und die Isotopenzusammensetzung an verschiedenen Meßpunkten bestimmt. Als Kontrolle wurden die relativen Elementgehalte von Dünnschnitten einer nichtmarkierten Pflanze, ebenfalls aus Mineralboden-Erdkultur, zum Vergleich dargestellt.

Die Abb. 90 u. 91 zeigen für Mykorrhizen aus der "+Al"- bzw. "-Al"-Seite die Elementgehalte für Na, Mg, Al, K und Ca aus den Zellwänden der 2. und 3.+4. Cortex-Zellreihe und des primären Xylem. Diesen relativen Elementgehalten sind die Daten des Isotopenaustausches gegenübergestellt. Diese sagen für Mg und Ca aus, wie hoch der jeweilige Anteil am betreffenden Elementgesamtgehalt ist, der von einer der beiden Applikationsseiten bzw. für K von beiden Seiten stammt.

Im Vergleich beider Seiten treten in Mykorrhizen der zweiseitig markierten Fichte folgende Befunde auf:

Der relative Al-Gehalt ist in den Zellwänden von Cortex und primären Xylem auf der "+Al"-Seite ca. 6 bis 8mal höher als auf Seite A ohne Al-Zugabe.

Der Na-Gehalt ist auf Seite A gegenüber B zwischen 1,5 und 2mal höher.

Der K-Gehalt ist auf der "+Al"-Seite ca. doppelt so hoch. Der Anteil am K-Gesamtgehalt, der aus der Markierungslösung stammt, liegt hier zwischen 29 und 34%, während er auf der Seite A ohne Al-Zugabe nur zwischen 13 bis 17% liegt.

Der relative Mg-Gehalt ist in Zellwänden im Cortex der Seite A etwa doppelt so hoch wie auf Seite B und im primären Xylem etwa gleich groß. Der Isotopenanteil aus der jeweiligen Markierungslösung ist auf Seite A mit 55 - 67% zwischen 5 und 10% höher als auf Seite B. Es zeigt sich auch ein merklicher Anteil, der von der jeweils anderen Lösungs-Seite stammt. Dieser wechselseitige Anteil liegt im Cortex der Seite A bei ca. 16% und im primären Xylem bei 26%. Dieser Anteil beträgt auf Seite B mit Al-Zugabe 11 bzw. 13% des Mg-Gesamtgehaltes.

Der Ca-Gehalt ist in den Zellwänden im Cortex der Seite A etwa 2 bis 3mal so hoch und im primären Xylem und etwa 1,5mal so hoch wie auf Seite B. Der Isotopenanteil aus der jeweiligen Markierungslösung ist im Cortex der Seite A etwa 10% höher und im primären Xylem gleich hoch. Er beträgt zwischen 85 und 98%. Es zeigt sich auch hier ein Anteil, der von der jeweils anderen Seite stammt. Dieser wechselseitige Anteil liegt im Cortex der Seite A bei ca. 3 bis 4% und im primären Xylem bei 4%. Dieser Anteil beträgt im Cortex auf Seite B 11 bzw. 8% und im primären Xylem ca. 4%.

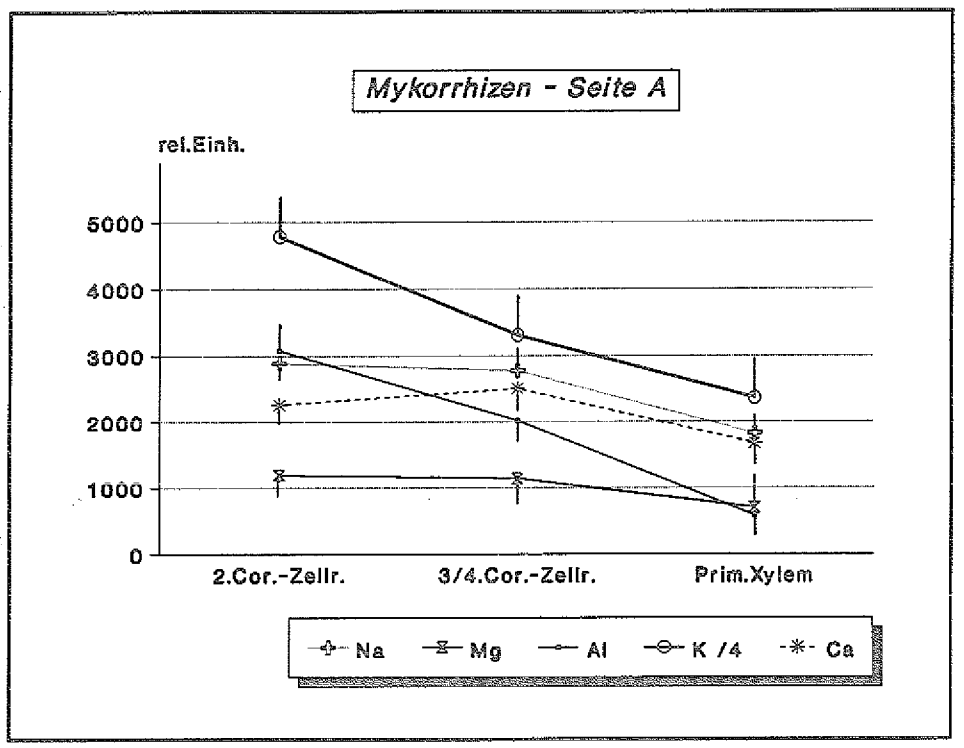


Abb. 90 a: LAMMA-Analysen der relativen Element-Verteilung von Na, Mg, Al, K und Ca in Mykorrhizen der Seite A; Zellwand-Messungen: 2. Cortex-Zellreihe, 3.+4. Cortex-Zellreihe, primäres Xylem; (LAMMA-Analysen; jeweils 60-80 Spektren, 3 Mykorrhizen)

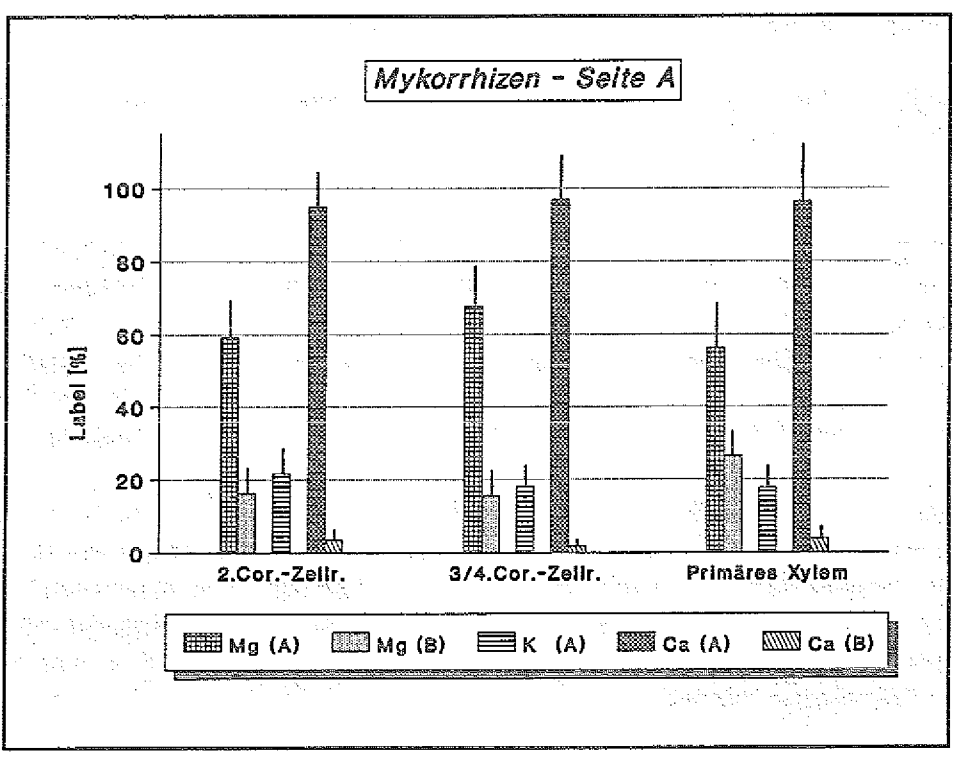


Abb. 90 b: Bestimmung des aus den Markierungslösungen stammenden Elementanteils für Mg, K und Ca in den Messungen aus Abb. 90a; (Mg- und Ca-Herkunft differenzierbar nach der Versuchsseite)

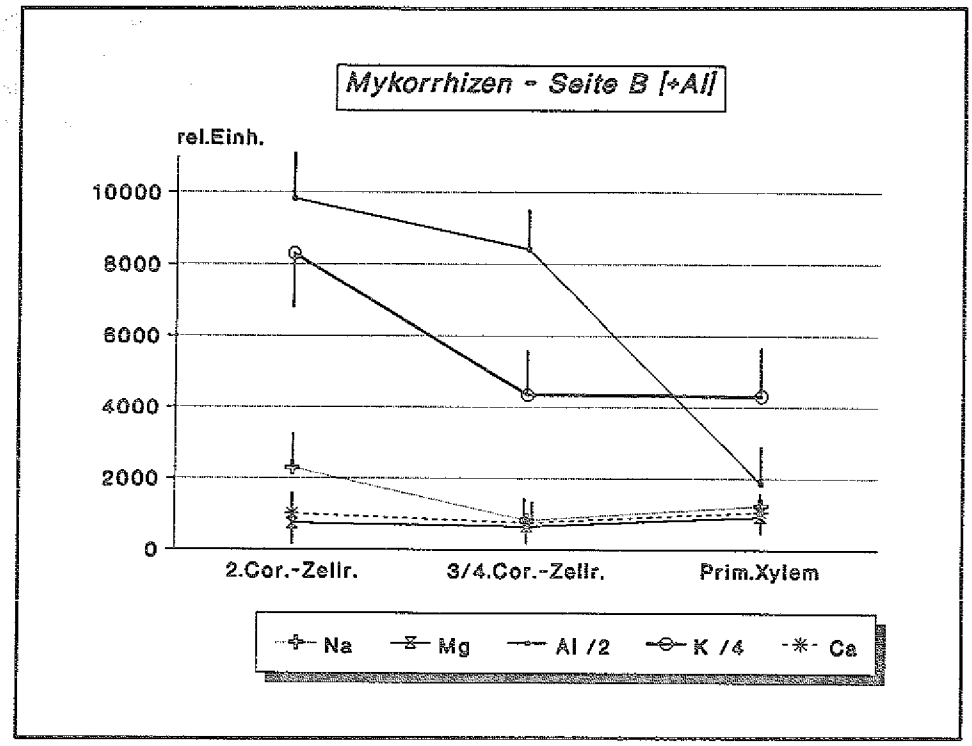


Abb. 91 a: LAMMA-Analysen der relativen Element-Verteilung von Na, Mg, Al, K und Ca in Mykorrhizen der Seite B (+Al); Zellwand-Messungen: 2. Cortex-Zellreihe, 3.+4. Cortex-Zellreihe, primäres Xylem; (LAMMA-Analysen; jeweils 60-80 Spektren, 3 Mykorrhizen)

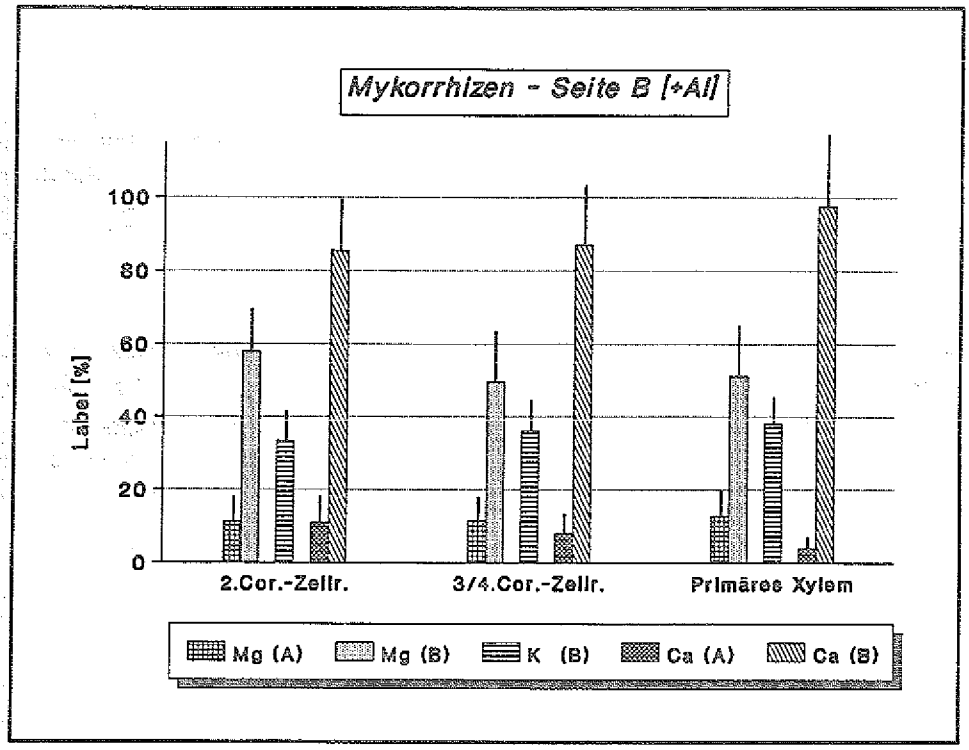


Abb. 91 b: Bestimmung des aus den Markierungslösungen stammenden Elementanteils für Mg, K und Ca in den Messungen aus Abb. 91a; (Mg- und Ca-Herkunft differenzierbar nach der Versuchsseite)

Der Vergleich mit der unmarkierten Kontrollprobe (Abb. 92) weist eine ähnliche Ca- und Al-Verteilung auf wie Mykorrhizen auf Seite A ohne Al-Zugabe, jedoch mit geringeren Al-Gehalten im inneren Wurzelbereich. Deutlich geringer sind auch die relativen Na-Gehalte mit einem Drittel der Gehalte in Feinstwurzeln der Seite A. Während auch Mg geringere relative Gehalte im Vergleich zu den markierten Feinstwurzeln aufweist, ist der relative K-Gehalt deutlich höher und weist ein Maximum in den Zellwänden des inneren Cortexbereiches auf.

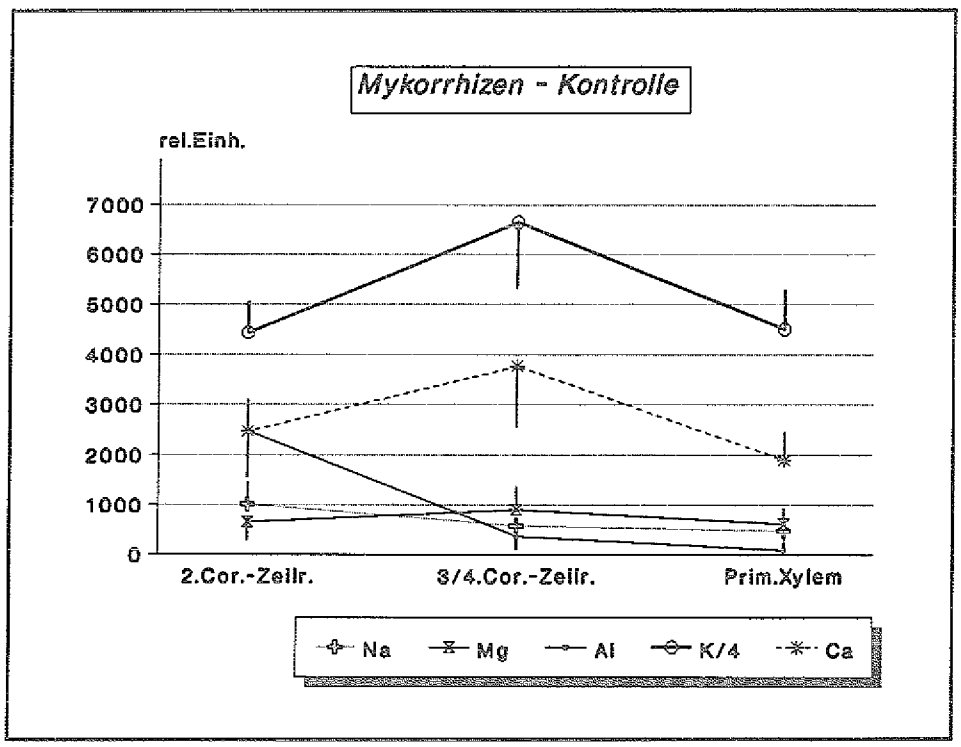


Abb. 92: LAMMA-Analysen der relativen Element-Verteilung von Na, Mg, Al, K und Ca in Mykorrhizen einer Kontrollpflanze (direkt aus der Erdkultur entnommen); Zellwand-Messungen: 2. Cortex-Zellreihe, 3.+4. Cortex-Zellreihe, primäres Xylem; (LAMMA-Analysen wie in Abb.90a)

Im Vergleich zu den obigen Mikrosonden-Analysen an Querschnitten von mykorrhizierten Feinstwurzeln im Bereich des sich entwickelnden primären Xylem zeigt Abb. 93 als ein Beispiel LAMMA-Messungen an einer ontogenetisch weiterentwickelten ca. 2mm dicken Feinwurzel mit entwickeltem sekundären Xylem. Die Meßpunkte der aus der Al-Angebotsseite (Seite B) stammenden Wurzel liegen in den Zellwänden der 2. und 3.+4. Cortex-Zellreihe und des sekundären Xylem. Auch hier sind den relativen Elementgehalten die Daten des Isotopenaustausches gegenübergestellt.

Folgende Befunde bei Feinwurzeln treten dabei im Vergleich mit Mykorrhizen (Seite B mit Al-Zugabe) auf:

Der relative Al-Gehalt beträgt in den Zellwänden der 2. Cortex-Zellreihe ca. 40%, in der 3.+4. Cortex-Zellreihe ca. 75% und im sekundären Xylem etwa 125% der entsprechenden Gehalte in Mykorrhizen.

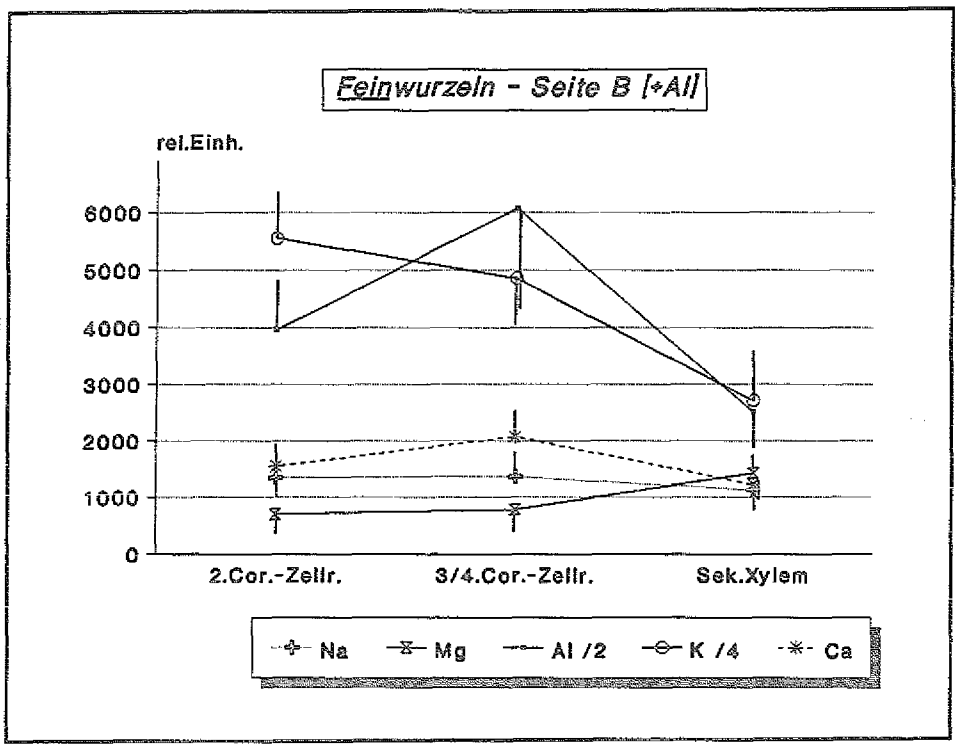


Abb. 93 a: LAMMA-Analysen der relativen Element-Verteilung von Na, Mg, Al, K und Ca in Feinwurzeln (ca. 2mm Durchmesser) der Seite B (+Al); Zellwand-Messungen: 2. Cortex-Zellreihe, 3.+4. Cortex-Zellreihe, sekundäres Xylem; (LAMMA-Analysen; je 30-50 Spektren, 2 Wurzeln)

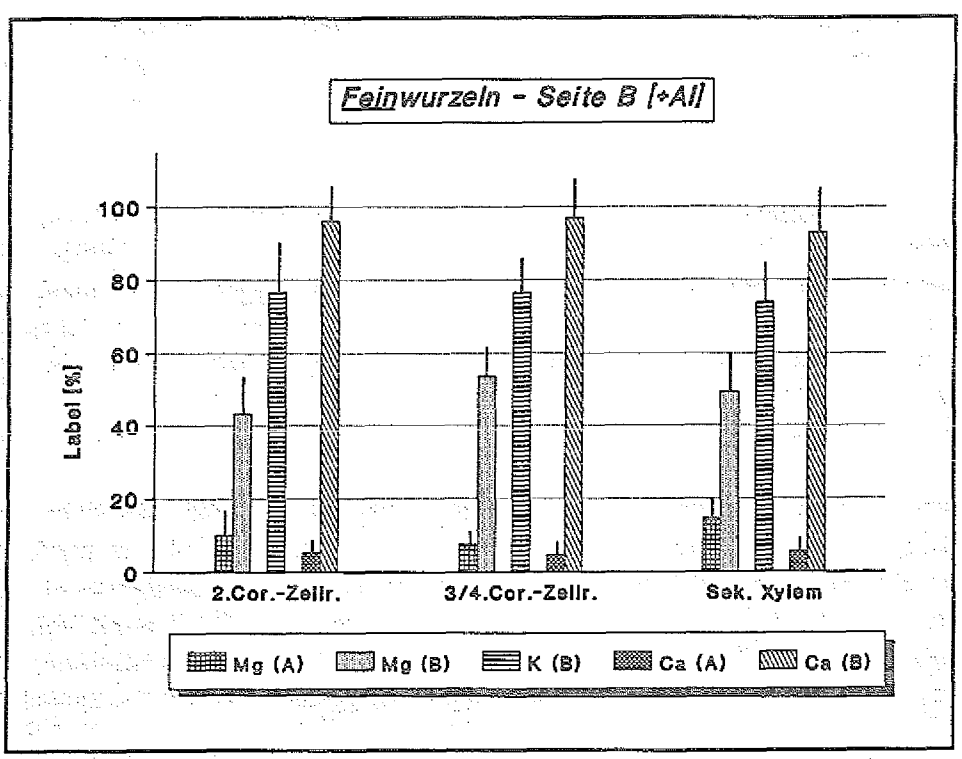


Abb. 93 b: Bestimmung des aus den Markierungslösungen stammenden Elementanteils für Mg, K und Ca in den Messungen aus Abb. 93 a; (Mg- und Ca-Herkunft differenzierbar nach der Versuchsseite)

Die relativen Na-, Mg- und Ca-Gehalte zeigen bis auf etwa doppelt so hohe Ca-Gehalte im inneren Cortex der Feinwurzeln keine hervorstechenden Unterschiede.

Der K-Gehalt nimmt zum Wurzelinneren hin ab und beträgt im Mittel ca. 70% vom relativen Gehalt der mykorrhizierten Feinstwurzeln.

Abb. 93b zeigt analog zu Abb. 91b für Mykorrhizen den jeweiligen Anteil am Elementgesamtgehalt für Mg, Ca und K in Feinwurzeln (Seite B), die aus den Markierungslösungen stammen.

Für Mg und Ca sind die aus den Lösungen stammenden Anteile in den entsprechenden Zellwänden von Mykorrhizen und Feinwurzeln gleich groß, mit Ausnahme des in den Zellwänden der 2. Cortexreihe in Feinwurzeln um etwa 1/5 niedrigeren Mg-Lösungsanteils.

Während der K-Markierungsanteil am Gesamtgehalt in den Zellwänden der mykorrhizierten Feinstwurzeln im Mittel bei ca. 30% liegt, ist dieser Wert in Feinwurzeln mit ca. 75% wesentlich höher.

In Abb. 94 sind die mit LAMMA erhaltenen Mikroanalysedaten über einen Querschnitt der Sproßbasis dargestellt. Es wurde in Zellwänden des Früh- und Spätholzes beider Xylem-Jahrringe, im Kambium und im Phloem gemessen. Neben den Unterschieden zwischen Xylem und Kambium bzw. Phloem steht dabei die Frage nach eventuellen Unterschieden im Isotopengehalt der verschiedenen Xylemreihen im Vordergrund. Dabei ist zu beachten, daß die Zellwanddimensionen (≈ 1µm) im Kambium deutlich kleiner sind als in den übrigen Geweben und daher bei der gegebenen LAMMA-Auflösung von 1-2µm zum geringen Teil auch Zellumen analysiert wurde.

Der relative K- und Al-Gehalt steigt vom Frühholz des Jahres 1988 ausgehend für Al bis zum Frühholz 1989 und für K bis zum Spätholz 1989 nahezu linear an. Im Kambium und Phloem sind deren Gehalte geringer als im letzten Jahrring. Der relative Mg-Gehalt zeigt im Kambium höhere Werte als im Xylem und im Phloem, deren Gehalte in etwa gleich groß sind. Der Na-Gehalt ist in den Zellwänden in etwa gleichverteilt bei einem etwa 30% höheren Gehalt im Spätholz 1989. Der relative Ca-Gehalt ist im Jahrring 1989 ca. doppelt so hoch wie Jahrring 1988. Im Kambium und im Phloem ist er etwa genauso hoch wie im Xylem 1989.

Unterschiede im Vergleich mit der unmarkierten Kontrollprobe (Abb. 95) treten u.a. im hier wesentlich geringeren Al-Gehalt, vor allem im Xylem, auf. Bei der Kontrollpflanze wurde hier nicht zwischen Früh- und Spätholz der einzelnen Jahrringe differenziert, sondern es wurde über die einzelnen Jahrringe gemittelt. Ein weiterer deutlicher Unterschied findet sich in der K-Verteilung. Der K-Gehalt fällt nicht wie bei der Markierungspflanze am Kambium ab, sondern steigt bis zum Phloem hin an. Die relativen Ca-Gehalte sind im Xylem der Kontrollpflanze im Mittel ca. doppelt so hoch wie in der Sproßbasis der Markierungspflanze. Die Mg-Verteilung ist in beiden Pflanzen ähnlich, während die markierte Versuchspflanze im Mittel etwa 2,5mal so hohe relative Na-Gehalte aufweist.

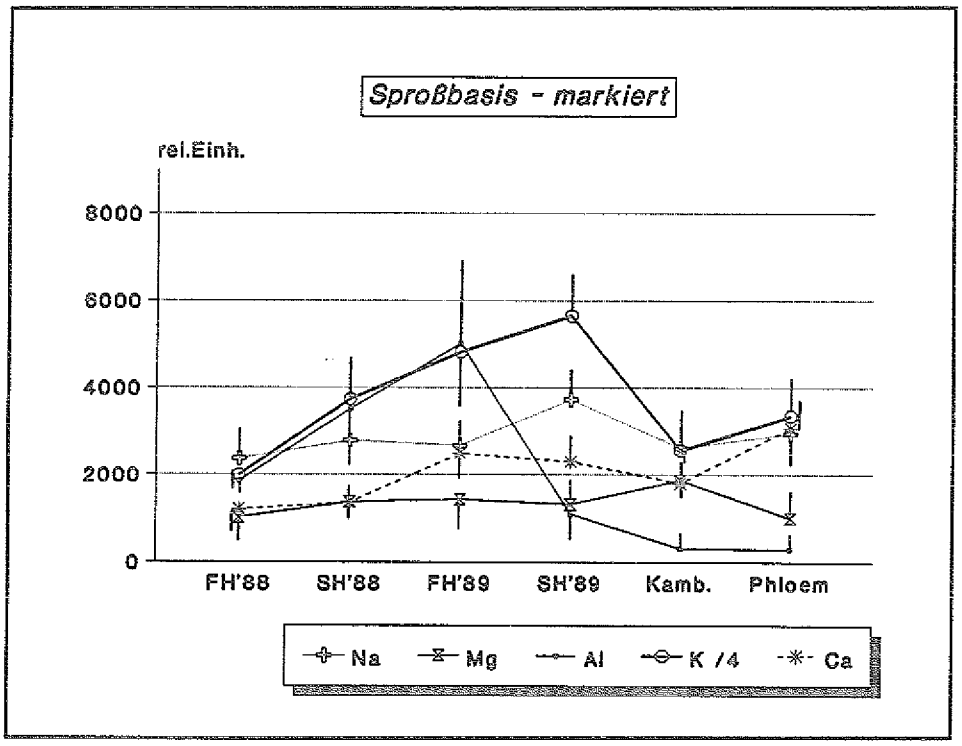


Abb. 94 a: LAMMA-Analysen der relativen Element-Verteilung von Na, Mg, Al, K und Ca in der Sproßbasis; Zellwand-Messungen: im Früh- und Spätholz 1988 und 1989; Kambium; Phloem (LAMMA-Analysen; je 30-50 Spektren, 2 Proben)

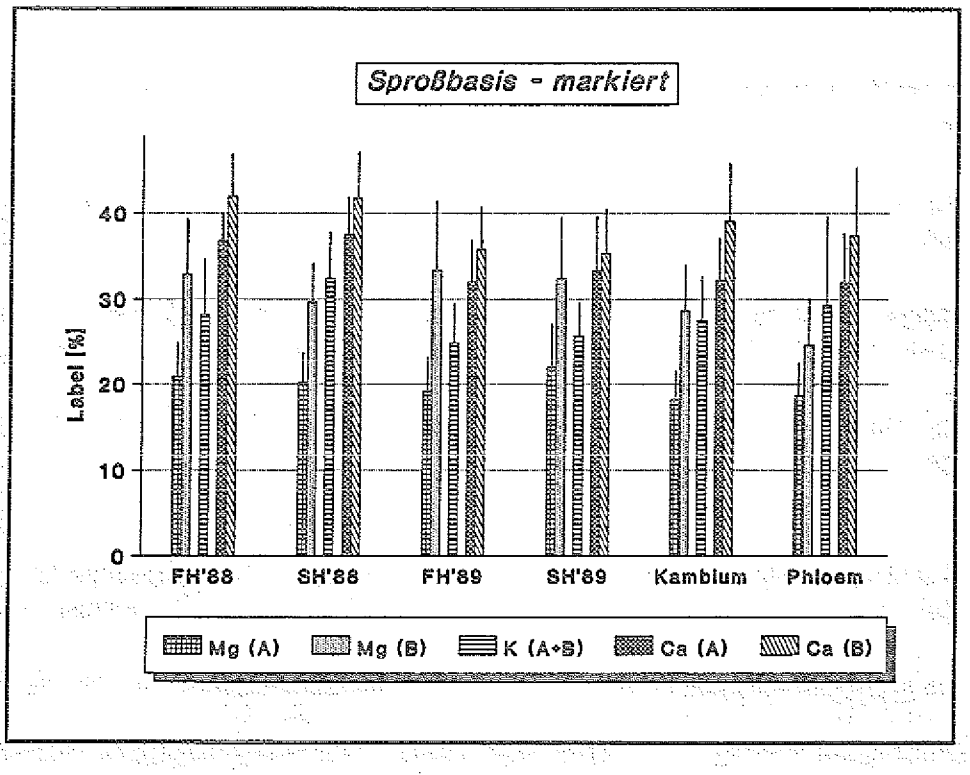


Abb. 94 b: Bestimmung des aus den Markierungslösungen stammenden Elementanteils für Mg, K und Ca in den Messungen aus Abb. 94a; (Mg- und Ca-Herkunft differenzierbar nach der Versuchsseite)

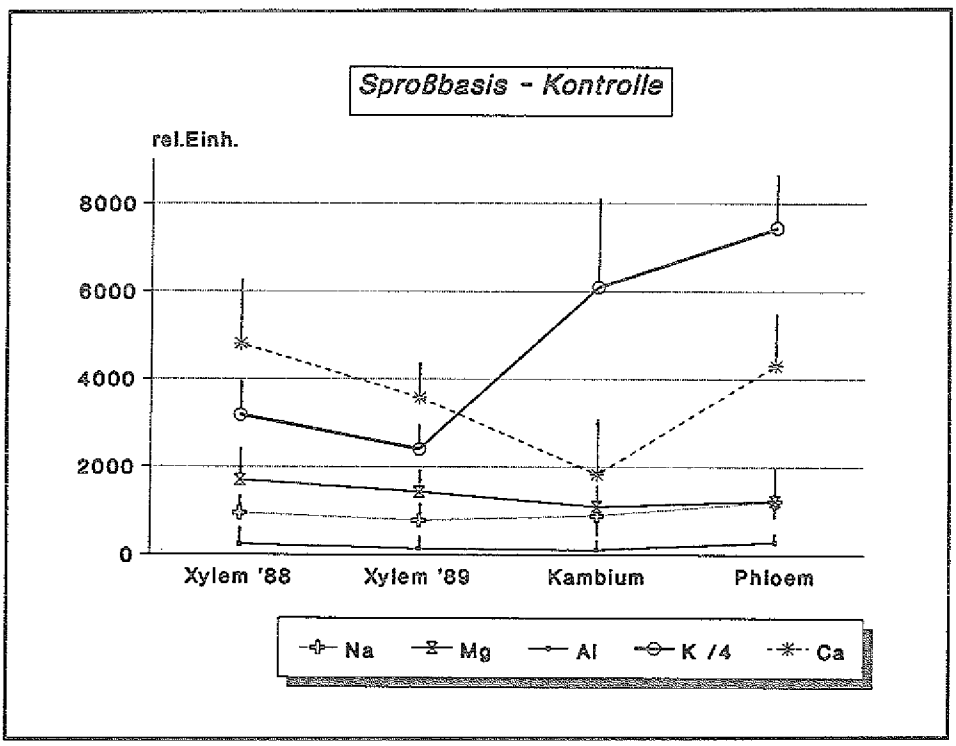


Abb. 95: LAMMA-Analysen der relativen Element-Verteilung von Na, Mg, Al, K und Ca in der Sproßbasis einer Kontroll-Pflanze; Zellwand-Messungen: Früh-/ Spätholz (nicht differenziert) 1988 und 1989; Kambium; Phloem (LAMMA-Analysen; je 30-50 Spektren, 2 Proben)

Abb. 94b zeigt den jeweiligen Anteil von Mg und Ca, der von einer der beiden Applikationsseiten aus der Markierungslösung bzw. für K von beiden Seiten stammt.

Für Mg liegt der aus der Lösung stammende Anteil, der von Seite B bei Al-Zugabe resultiert, je nach Zellart zwischen 25 und 33%. Damit liegt er zwischen 6 und 15% über dem von Seite A.

Der Ca-Anteil am Gesamtgehalt, der von Seite B stammt, liegt zwischen 35 und 42%. Er liegt damit im Mittel um etwa 5% über dem der Seite A ohne Al-Zugabe zur Markierungslösung.

Der K-Markierungsanteil am Gesamtgehalt in den Zellwänden der Sproßbasis variiert zwischen 20 und 28%.

In Abb. 96 sind Mikroanalysedaten eines Querschnittes der oberen Sproßachse dargestellt. Es wurde in den Zellwänden des Früh- und Spätholzes 1989 im Xylem, im Kambium und im Phloem gemessen.

Der relative K-Gehalt steigt vom Frühholz '89 ausgehend bis zum Phloem bis auf den 3fachen Wert linear an. Der Al-Gehalt ist auf geringem Level gegenüber dem Xylem der Sproßbasis und über den Querschnitt konstant. Der Mg-Gehalt ist im Kambium und im Phloem ca. doppelt so hoch wie im Xylem. Der Na-Gehalt steigt vom Frühholz '89 ausgehend bis zu den Phloem-Zellwänden hin nahezu linear bis auf den doppelten Wert an. Der Ca-Gehalt ist im Jahrring '89 ca. 1/2mal so hoch wie im Kambium und im Phloem.

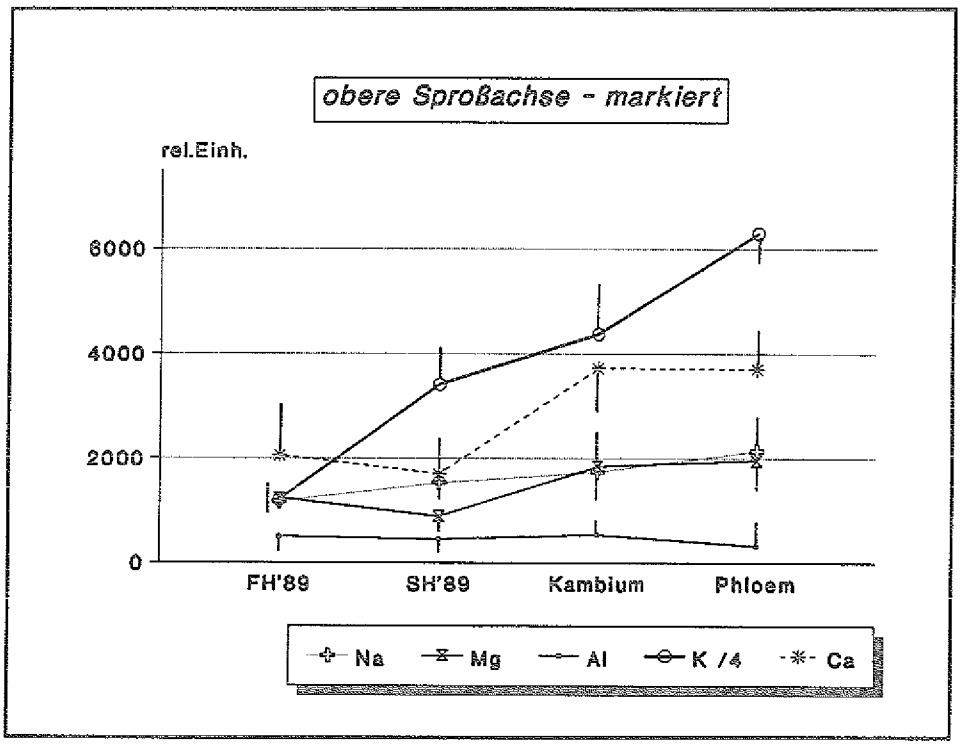


Abb. 96 a: LAMMA-Analysen der relativen Element-Verteilung von Na, Mg, Al, K und Ca in der oberen Sproßachse (Trieb 1989); Zellwand-Messungen: Früh- und Spätholz 1989; Kambium; Phloem (LAMMA-Analysen: je 30-50 Spektren, 2 Proben)

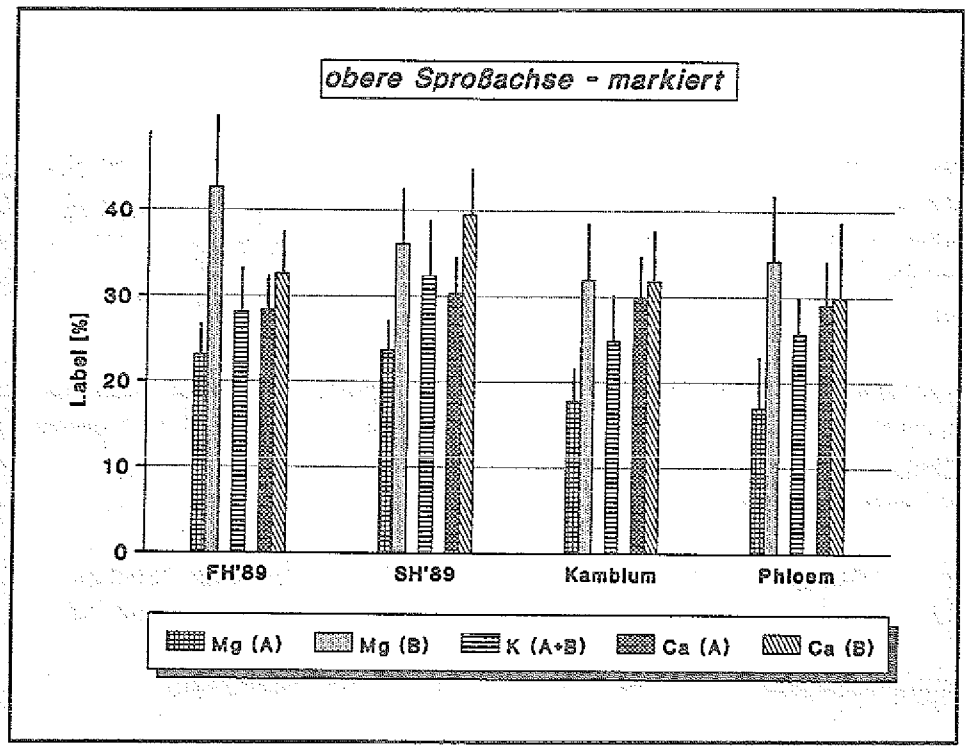


Abb. 96 b: Bestimmung des aus den Markierungslösungen stammenden Elementanteils für Mg, K und Ca in den Messungen aus Abb. 96a; (Mg- und Ca-Herkunft differenzierbar nach der Versuchsseite)

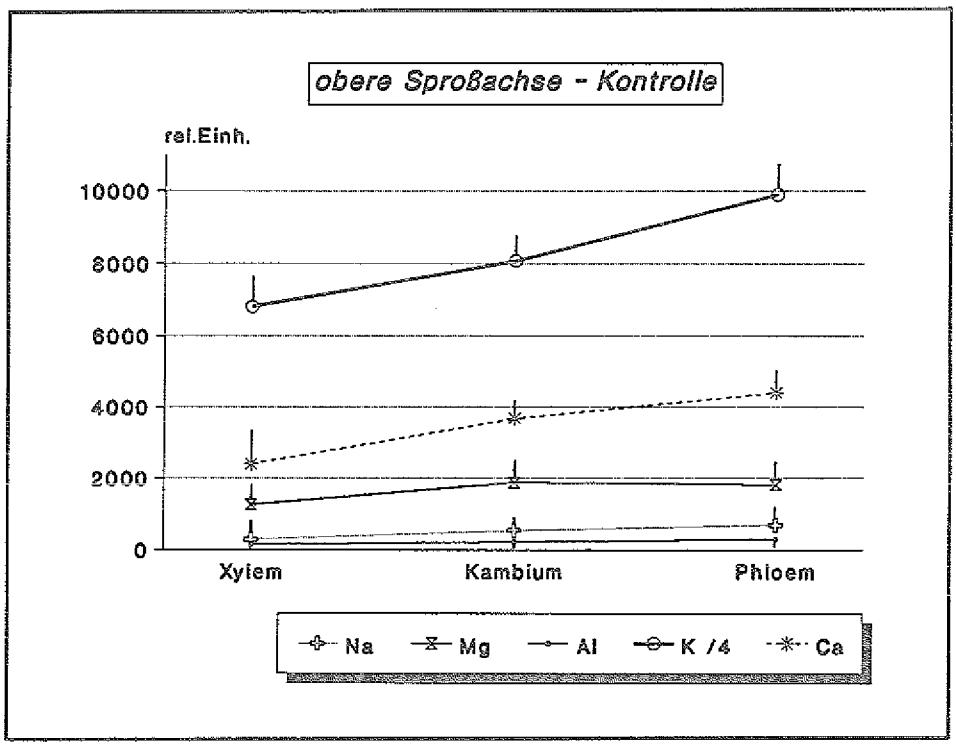


Abb. 97: LAMMA-Analysen der relativen Element-Verteilung von Na, Mg, Al, K und Ca in der oberen Sproßachse einer Kontroll-Pflanze (Trieb 1989); Zellwand-Messungen: Früh-/ Spätholz (nicht differenziert) 1989; Kambium; Phloem (LAMMA-Analysen; je 30-50 Spektren, 2 Proben)

Auch hier wurde wie bei Vergleichsmessungen in der Sproßbasis im oberen Sproß der Kontrollpflanze (Abb. 97) nicht zwischen Früh- und Spätholz differenziert. Während für Ca, Mg und Al nur geringe Unterschiede gefunden wurden, ist der relative K-Gehalt im oberen Sproß der Kontrollpflanze bei gleichem Verteilungsmuster etwa dreimal höher. Der relative Na-Gehalt ist in der markierten Versuchspflanze ca. 3mal so hoch wie in der Kontrollpflanze.

Abb. 96b verdeutlicht die Elementaufnahme in diesen Meßpunkten des oberen Sproßes nach Markierung mit stabilen Isotopen. Für Mg und Ca ist der jeweilige Anteil angegeben, der von einer der beiden unterschiedlich markierten Applikationsseiten stammt. Für K ist diese Unterscheidung der Herkunft von einer der beiden Markierungsseiten nicht möglich.

Für Mg liegt der Lösungsanteil, der von der Al-Angebotsseite stammt, je nach Zellart zwischen 32 und 43%. Damit liegt er zwischen 12 und 20% über den von Seite A ohne Al-Zugabe.

Der Ca-Anteil am Ca-Gesamtgehalt, der von Seite B stammt, liegt zwischen 30 und 39%. Er liegt damit zwischen 1% im Phloem und 9% im Spätholz '89 über dem der Seite A.

Der K-Markierungsanteil am Gesamtgehalt in den Zellwänden des oberen Sprosses variiert zwischen 25 und 32%.

Insgesamt führen die Elementverschiebungen zwischen Pflanze und Versuchslösungen nach 7 Tagen Markierung dazu, daß z.B. in den Zellwänden im oberen Sproß der Fichte ca. 60 bis 70% des Mg- und Ca-Gehaltes und 25 bis 30% des K-Gehaltes aus den Markierungslösungen stammt. Die Werte im Kambium und im Phloem liegen dabei im unteren Bereich dieser Spannen. Die unterschiedlichen Markierungs-Isotope für Mg und Ca lassen darüberhinaus einen 15 bis 20% höheren Mg-Anteil und einen ca. 5 bis 10% höheren Ca-Anteil im Xylem des oberen Sproßes erkennen, der von der Al-Angebotsseite stammt.

7. Diskussion

7.1 Eignung des Pflanzenmaterials für die jeweilige Zielsetzung

In der vorliegenden Arbeit wurden die physiologischen Mechanismen der Nährstoffaufnahme in Fichten unter Berücksichtigung umweltrelevanter Parameter untersucht. Für die Untersuchung des Einflusses verschiedener Bodenparameter auf die Elementaufnahme in Fichten erfolgte eine Probennahme bei Altfichten (90 bis 120 Jahre alter Bestand) aus dem Waldschadensgebiet "POSTTURM", Forstamt Farchau / Ratzeburg. Von diesem Tiefland-Standort mit ausgeprägtem urbanen Einfluß liegen u.a. umfangreiche langjährige Untersuchungen zur Elementversorgung und zum Elementgehalt der Bäume vor, die den Zustand dieses Standortes umfassend wiedergeben (vgl. *Bauch & Michaelis* 1988). In einer Fallstudie wurden exemplarisch für die vorliegenden Mikrosonden-Analysen Mykorrhizen aus drei verschiedenen Bodentiefen (0-10cm; 10-30cm; 30-50cm) von zwei im Rahmen weiterer Untersuchungen beprobter Altfichten mit unterschiedlichem Schädigungsgrad ausgewählt. Diesen Mykorrhizen wurden Mykorrhizen zweijähriger Fichten aus Erdkulturen, die unter identischen kontrollierten Bedingungen in verschiedenen Böden aufwuchsen, gegenübergestellt. Für diese Experimente wurden u.a. im Vergleich zwei Böden (Auflage: 0-10cm; Mineralboden: 10-30cm Tiefe), die dem oben erwähnten Standort entnommen wurden, ausgewählt. Wie auch weitere Untersuchungen zeigten (*Riedel* 1989), wurden durch die gewählten Kulturbedingungen (über 1½ Jahre) die deutlichen Unterschiede im Elementgehalt der Bodenlösungen der verschiedenen Ausgangsböden durch die Bewässerung und den damit verbundenen Elementeintrag z.T. verringert. Somit war mit diesen Erdkulturen eine Nachbildung der Bodenverhältnisse am Standort nur eingeschränkt möglich.

Trotz der Nivellierung der ursprünglichen Unterschiede im Gehalt wichtiger Nährelemente (z.B. Ca, Mg, K) in den Bodenlösungen der Erdkulturen (*Riedel* 1989), wurde eine deutliche Reduktion von Längenwachstum und Trockensubstanzproduktion der Fichten für den Mineralboden gegenüber der Auflage festgestellt (*Dünisch* 1989). Dieser Umstand bedarf noch weiterer Klärung. So könnte ein Zusammenhang mit dem deutlich höheren Stickstoffangebot in der Bodenlösung der Auflage gegenüber dem Mineralboden bestehen (Ammonium und Nitrat; vgl. Tab. 3). Bei den oben erwähnten Untersuchungen konnten jedoch Experimente zum Stickstoffhaushalt nicht durchgeführt werden. Auch die unterschiedliche Bodenmechanik könnte bei den Wachstumsunterschieden eine wesentliche Rolle gespielt haben (*Barley & Greacen* 1967; *Hamblin* 1985; *Wilson & Robards* 1978, 1979; *Lindberg & Petterson* 1985). Um in Erdkulturen eine vollständige Nachbildung der Bedingungen für die Elementaufnahme von Mykorrhizen in unterschiedlichen Bodenhorizonten am Naturstandort zu erhalten,

bedarf es einer deutlich verbesserten Erdkultur-Anzuchtmethode, die auch über lange Kulturzeiten, von einem Jahr und länger, die Bedingungen am entsprechenden Standort wiedergeben. Die Übertragung der mit Jungpflanzen aus Erdkulturen erzielten Befunde auf die Situation von Altfichten bedarf stets einer Überprüfung und ist z.T. nur bedingt möglich (*BMFT* 1990).

Grundlegende Experimente zur Nährstoffaufnahme über das Wurzelsystem von verschiedenen Pflanzengattungen (hauptsächlich: Monokotyledonen) wurden häufig an isolierten Wurzeln durchgeführt (*Harley et al.* 1954; *Jacoby* 1965, 1966; *Maas* 1969; *Pitman* 1971; *Huett & Menary* 1979; *Macklon & Sim* 1981; u.a.). Aufgrund der komplexen Wechselwirkungen zwischen Sproß- und Wurzelsystem lassen solche Untersuchungen nur begrenzt exakte Aussagen über die Nährelementaufnahme zu (*Marschner* 1978). Daher wurden alle Laborexperimente, auch die Kurzzeit-Experimente, an intakten Pflanzen durchgeführt.

Wie bereits erwähnt wurden die vorliegenden Mikrosonden-Analysen vor allem an den in der Regel mykorrhizierten Feinstwurzeln durchgeführt, die den Hauptteil der intakten Wurzelspitzen eines Fichtenwurzelsystems unter natürlichen Bedingungen bilden. Weniger als 5% aller Wurzelspitzen gehören zu unmykorrhizierten Langwurzeln, die sich besonders im lockeren feuchten Boden befinden und an ihren hellen, schnellwachsenden Spitzen erkennbar sind (*Stienen* 1985). Fichten-Langwurzeln zeigen auch gegenüber unmykorrhizierten Kurzwurzeln eine deutlich verschiedene Anatomie. Bei Hydrokulturen beschrieb *Jorns* (1988) bei Langwurzeln eine fließende Grenze zwischen Cortex und Calyptra, wobei die Gewebe nicht eindeutig differenziert werden können, während dies bei Kurzwurzeln möglich ist, wobei deren Calyptra wesentlich kleiner ist. *Kottke* (1986) findet eine wesentliche Übereinstimmung des Aufbaues und der Ausdehnung der Meristeme bei nur graduellen Unterschieden beider Wurzeltypen bei Fichte (Perlit- und Sandkulturen, Naturstandort) und führen die anatomischen Unterschiede zwischen Kurz- und Langwurzeln, wie auch *Wilcox* (1968), auf unterschiedliche Wachstumsgeschwindigkeiten der Wurzeln zurück. Experimente von *Häussling et al.* (1988) zeigten deutliche Unterschiede in verschiedenen Zonen von Langwurzeln in der Ionen- und Wasseraufnahme aus der angebotenen Außenlösung in Abhängigkeit vom Entwicklungszustand und Vorhandensein von Lateralwurzeln. Auch wenn es sich bei diesen Langwurzeln von der Häufigkeit der Wurzelspitzen hergesehen um eher untypische Wurzeln handelt, lassen sich wegen möglicherweise stark unterschiedlicher Aufnahme- und Transportraten nicht ohne weiteres Aussagen über deren anteiligen Beitrag an der Versorgung des gesamten Baumes herleiten. Nach Abschätzungen von *Marschner et al.* (1991) haben unmykorrhizierte Fichten-Langwurzeln das "Nährstoffaufnahme-Potential" um bis zu 80% des gesamten Ca-Bedarfs eines Baumes zu decken (für andere mineralische Nährstoffe ist dieser Wert geringer).

Generell wird angenommen, daß die Aufnahme von Wasser und Ionen im wesentlichen selektiv über junge Wurzeln erfolgt, die dadurch gekennzeichnet sind, daß sie physiologisch sehr aktiv und noch nicht suberinisiert sind. Diese Annahme bestimmt daher auch im wesentlichen die Diskussion und Beschreibung der physiologischen Mechanismen der Nährstoffaufnahme in Pflanzen (z.B. *Mohr & Schopfer* 1978; *Lüttge & Higinbotham* 1979; *Marschner* 1986). So bilden im Rahmen der Waldschaden-Ursachenforschung Untersuchungen an jungen Wurzeln, wie auch zum wesentlichen Teil bei der vorliegenden Arbeit, nahezu ausschließlich den Schwerpunkt bei Fragen zu Mechanismen der Nährstoffversorgung des gesamten Baumes. Ältere Wurzelteile mit sekundärem Dickenwachstum und hydrophoben Einlagerungen sollten nach allgemeiner Auffassung keine Funktion als absorbierende Oberfläche haben, da diese Gewebe durch die Einlagerungen in der äußeren Wurzelrinde "abgeschottet" sein sollen (vgl. *Kramer* 1969). Damit würden die älteren Wurzelteile keinen Beitrag zur

Nährstoffaufnahme erbringen, sondern lediglich dem Nährstofftransport und der Nährstoffspeicherung dienen. Bei der Diskussion der Nährstoffaufnahme über die Wurzeln lassen damit die meisten Autoren ältere Arbeiten unberücksichtigt, in denen dargelegt wird, daß sehr wohl ein größerer Anteil an der Gesamtversorgung mit Wasser und Nährstoffen über suberinisierte Wurzeln bzw. Wurzelteile aufgenommen werden kann (*Crider* 1933; *Addoms* 1946; *Kramer* 1946; *Kramer & Bullock* 1966). Untersuchungen von *Kramer & Bullock* (1966) in einem 34 Jahre alten Tulpenbaum-Bestand (*Liriodendron tulipifera* L.) zeigten, daß die gesamte unsuberinisierte Wurzeloberfläche auch während der Hauptvegetationszeit unter 1% der Gesamt-Wurzeloberfläche betrug. Unter Hinzuziehung von Wasserleitfähigkeitsmessungen schätzten sie daraufhin ab, daß ca. 75% der Wasseraufnahme über die Absorption an der suberinisierten Wurzeloberfläche erfolgt. Diese Absorption soll danach - vor allem bei mehrjährigen Pflanzen - an Lentizellen, Rissen entlang von Wurzelverzweigungen und Brüchen und Wunden in der Wurzelrinde erfolgen. *Atkinson & Wilson* (1979) wiesen an Kirschbäumen (*Prunus avium*) für unsuberinisierte und für verholzte Wurzeln für radioaktives ^{32}P wie auch für Wasser eine ähnliche Aufnahmerate pro cm^2 Wurzeloberfläche nach. *MacFall et al.* (1990) führten Untersuchungen mit der Kernspin-Tomographie durch. Sie konnten eine Wasserverarmungszone zuerst um suberinisierte, unverletzte Pfahlwurzeln sechs Monate alter Kiefernsämlinge (*Pinus taeda*) in Sandkontainern messen. Mit dieser Untersuchungsmethode konnte, ohne Störung des Bodengefüges bei der Messung, die Wasseraufnahme über suberinisierte Wurzeln an intakten Pflanzen unter Bodenbedingungen erstmals direkt nachgewiesen werden. Die Autoren gehen davon aus, daß auch im Wasser gelöste Nährstoffe mit aufgenommen werden.

Es läßt sich somit nicht abschließend beurteilen, welcher Anteil an der gesamten Wasser- und mineralischen Nährstoffaufnahme einer Fichte unter Standortbedingungen über Mykorrhizen bzw. unmykorrhizierte Langwurzeln oder aber über die älteren suberinisierten Wurzeln bzw. Wurzelteile aufgenommen wird. Dies sollte nicht nur von der Struktur und Funktion des Wurzelsystems, sondern u.a. stark von den Standortbedingungen wie auch vom jeweiligen Element und dessen Mobilität im Boden abhängen. Die bei der vorliegenden Arbeit zur Verfügung stehenden Methoden der gleichzeitigen Markierung eines Elementes mit verschiedenen Isotopen (vgl. Kap. 6.4), z.B. in unterschiedlichen Bereichen des Wurzelsystems, sollte bei zukünftigen Untersuchungen zumindest die Bearbeitung von Teilfragen dieser Problematik ermöglichen.

Wie in Kap. 2 bereits näher erläutert, spielt unter natürlichen Bedingungen die obligatorische Mykorrhizierung des Fichten-Wurzelsystems eine wesentliche Rolle bei der Nährstoffaufnahme. Daher wurden keine unmykorrhizierten Pflanzen unter Hydrokultur-Bedingungen benutzt, obwohl diese bei den meisten Nährstoffaufnahme-Experimenten angewendet werden (*Ingestad* 1982; *Evers* 1983; *Tischner et al.* 1983; *Rost-Siebert* 1985; *Jorns* 1988). Bei Hydrokulturen handelt es sich um Fichtenkeimlinge oder um Fichtensteckling mit einer zum Naturstandort deutlich unterschiedlichen Wurzelmorphologie und mit einem hohen Anteil an Langwurzeln. Aufgrund eines starken Wurzelwachstums weisen diese Pflanzen meist ein höheres Wurzel / Sproß - Verhältnis auf.

Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten zwei- und dreijährigen Fichten aus verschiedenen Erdkulturen sind unter naturnahen und vergleichbaren äußeren Bedingungen in einem Kalthaus aufgewachsen. Die Mykorrhizen dieser Pflanzen - es waren mehr als 90% der untersuchten Feinstwurzeln mykorrhiziert - wiesen wie Mykorrhizen von Altfichten am Standort ein bis an die Endodermis reichendes einschichtiges Hartig'sches Netz auf. Der Hyphenmantel war jedoch nur schwach entwickelt, was mit den Kulturbedingungen oder aber mit der / den nicht bestimmten

Pilzspezies zusammenhängen könnte. Dieser Mykorrhizierungstyp war in den verwendeten Erdkulturen monotypisch, wogegen man in einem natürlichen Fichtenstandort eine Vielzahl von verschiedenen Mykorrhizaformen finden kann (4 bis > 20 Arten; vgl. Kap. 2). An Fichtenkeimlingen aus Erdkulturen mit natürlicher vom Standort stammender Bodenschichtung fand *Feil* (1989) ebenfalls nur eine Mykorrhizaform mit den gleichen oben beschriebenen Merkmalen (die Pilzspezies wurde als *Ascomycet* bestimmt) und dies unabhängig davon, ob der Boden vor dem Einsetzen der Fichtenkeimlinge dampfsterilisiert war oder nicht. *Kottke* (pers. Mitt. 1991) macht für diese Artenarmut die gegenüber dem Naturstandort veränderten Wachstumsbedingungen verantwortlich, so daß es zwischen Fichten und unterschiedlich angepaßten Pilzspezies nicht zur Bildung von Mykorrhizen kommt.

Bei den hier verwendeten Erdkulturbedingungen ist es somit nicht möglich, die Mykorrhizierung zu beeinflussen. Es war insbesondere nicht möglich, nur eine bestimmte Pilzspezies bei der Bildung von Mykorrhizen einzusetzen. Für weitergehende Untersuchungen zur Bedeutung der Mykorrhiza bei der Elementaufnahme sind jedoch Analysen und Experimente an sterilen unmykorrhizierten Pflanzen und an Mykorrhizen mit definierten Pilzspezien notwendig. Die hier benutzten beimpften Sterilkulturen in Petrischalen bieten den Vorteil eines definierten Modellsystems (*Kottke et al.* 1987). Dabei zeigten die entwickelten Mykorrhizen (besonders: *Pisolithus tinctorius - Picea abies*) anders als die Erdkultur-Pflanzen einen starken Hyphenmantel und auch anders als Fichten am Naturstandort ein zum großen Teil mehrschichtiges Hartig'sches Netz. Die Cortexzellen waren dadurch weit voneinander isoliert und es erscheint sehr unwahrscheinlich, daß sie noch über Plasmodesmen miteinander verbunden waren, wie dies normalerweise bei intakten Pflanzen-Feinstwurzeln der Fall ist. Die wahrscheinlich kulturbedingte starke Entwicklung des Pilzes läßt diese Sterilkulturen daher nur bedingt als Modellsystem für die gegebenen Fragestellungen als geeignet erscheinen. Weiterhin ist zu berücksichtigen, daß der hier überwiegend benutzte Pilz *Pisolithus tinctorius* in Deutschland mit Ausnahme des Saarlandes nur selten anzutrefffen ist. Er kommt besonders auf sandigen Böden, Wegböschungen, Bahndämmen, Halden und ähnlichen Standorten vor (anscheinend wärmeliebend und im Mittelmeergebiet ziemlich verbreitet; *Gerhardt* 1984 u. 1985). Wegen des in Sterilkulturen guten Wachstums und hohen Mykorrhizierungsgrades eignet sich jedoch *P.t.* im besonderen Maße für Kulturversuche. Ein Vergleich verschiedener Mykorrhizen bei anderen Kulturbedingungen, mit anderen Pilzpartnern oder etwa mit definierten Mykorrhizen-Erdkulturen kann hier in Zukunft zusätzliche Informationen zur Beurteilung des Systems bringen. Eine weitere erfolgversprechende Kulturbedingung für Nährstoffaufnahme-Experimente scheint die von *Jentschke* (1989) entwickelte Methode mit definiert mykorrhizierten Fichtenkeimlingen in monoxenischer Kultur in Quarzsand zu sein. Er erreichte mit periodischer Applikation konstant kleiner Nährlösungsvolumina und einen kontinuierlichem Abfluß des Lösungsüberschusses unter Standardbedingungen einen Mykorrhizierungsgrad des Wurzelsystems von nahezu 100%. Dabei wiesen diese Mykorrhizen anatomisch ähnliche Strukturen wie Mykorrhizen, die aus Erde stammen, auf.

Geklonte Fichten wurden in der vorliegenden Arbeit bewußt nicht benutzt, da es sich dabei i.d.R. um Stecklinge handelt, deren Wurzelsystem im wesentlichen aus Adventivwurzeln besteht. Der im Vergleich mit Keimpflanzen veränderte Übergang der Wurzeln zur Sproßachse könnte den Ionentransport in den Sproß beeinflussen. Weiterhin sind solche Stecklinge durch die starke Verwundung und den darauf folgenden Kompartimentierungsreaktionen (*Shigo* 1984, 1985) gestreßt und zeigen daher über längere Zeit in ihrer Physiologie Unterschiede zu aus Keimlingen herangezogenen Pflanzen.

Die im Kap. 6.2 beschriebenen Experimente zur Charakterisierung der Ionenaustauscher-Eigenschaften bzw. des Element-Aufnahmeverhaltens von mykorrhizierten Feinstwurzeln, bei Variation von

Elementkonzentrationen, pH-Wert, Wurzeltemperatur und Applikationszeit, wurden unter kontrollierten Versuchsparametern durchgeführt. Als Pflanzenmaterial standen hierfür dreijährige Fichten aus Gärtnerei-Normalerde-Kultur zur Verfügung. Bei einem Teil der Experimente zeigte sich eine nur eingeschränkte Eignung dieser Pflanzen für bestimmte Fragestellungen. Die gewählten Versuchsbedingungen bei Variation der angebotenen Elementkonzentrationen (Na, Mg, K, Ca) ohne vorherige Anpassung an die Markierungslösung führten, z.B. aufgrund des hohen Ca-Angebotes in der Gärtnerei-Normalerde, zu einer hohen Ca-Abgabe der Pflanzen an die Markierungslösung, was z.T. zu einer deutlichen Ca-Konzentrationsanhebung führte. Damit konnte z.T. der Einfluß auf die Elementaufnahme der ursprünglich ausgewählten angebotenen Elementkonzentrationen in den Markierungslösungen nicht in der beabsichtigten Form untersucht werden.

7.2 Eignung der Meßmethoden für die Problemstellung

Die Problemstellung erforderte den Einsatz verschiedener sich ergänzender Analysemethoden zur Bestimmung des Element-(Isotopen)-gehaltes auf Zell- und Gewebeebene. Bei diesen Untersuchungen sind vor allem die morphologischen, anatomischen und funktionellen Zusammenhänge für eine aktive und / oder passive Ionenaufnahme in Wurzeln und nachfolgenden Geweben von entscheidender Bedeutung.

Fragen dieser Art lassen sich nur eingeschränkt mit den überwiegend angewandten Bulkanalyse-Methoden - wie AAS, ICP-OES, TRFA - zum Elementnachweis beantworten. Mit diesen Methoden lassen sich enge räumliche Beziehungen verschiedener Gewebe, wie z.B. von Hyphen und Cortexzellen in Mykorrhizen, entwicklungsabhängige Unterschiede und Zugänglichkeitsbetrachtungen von Ionenaufnahme und -speicherung oder ihre Verteilung in Mykorrhizen nicht auflösen. Mit Bulkanalyse-Methoden ist eine Differenzierung zwischen Elementgehalt und von außen adsorbiertem Elementanteil nicht möglich. Hier muß mit lokalisierenden Methoden gemessen werden (z.B. EELS, SIMS, EDXA, LAMMA), die Aussagen über relative Element-(Isotopen)-Verteilungen mit hoher Auflösung an Semidünnschnitten erlauben. Ergänzende Elementanalysen an Bulkproben geben darüber hinaus Aufschluß über Zusammenhänge zwischen Element-Angebotsseite und Element-Bedarfsseite und ermöglichen eine quantitative Bilanzierung der Elementgehalte als Integralmessung in verschiedenen Geweben.

Die in der vorliegenden Arbeit benutzte optische Emissionsspektrometrie mit induktiv geheizter Argonplasmafackel (ICP-OES) hat sich bereits in der Vergangenheit bei gleichem Probenmaterial und gleicher Aufschlußmethode für eine quantitative Elementbestimmung in flüssigen Bulkproben bewährt (z.B. *Michaelis et al.* 1985; *Bauch et al.* 1985; *Rademacher* 1986; *Berneike* 1987; *Riedel* 1989). Ein wesentlicher Vorteil dieser Methode liegt darin, daß sich mit ihr in verhältnismäßig kurzer Zeit (ca. 1-2min), bei geringem Probenvolumen (ca. 2ml), simultan ein breites Elementspektrum quantitativ messen läßt. Eine durch geringe Menge an Probenmaterial bedingte Verdünnung der Meßlösung und eine gelegentliche Überlagerung der Meßsignale verschiedener Elemente begrenzt z.T. die Bestimmungsgrenze und -genauigkeit für einzelne Elemente (vor allem für K; siehe Kap. 4.4). Meßapparaturen neuerer Bauart können hier bessere Ergebnisse erbringen. Mit ihnen können in schneller Reihenfolge Elementkonzentrationen sequentiell bestimmt werden, wobei für jedes Element einzeln die optimalen Meßparameter gewählt werden und ebenfalls geringe Lösungsmengen für eine Multi-Elementanalyse ausreichen. Die Messung von sehr geringen Probenvolumen (10-25µl) ermöglicht die Totalreflexions-Röntgen-Fluoreszenz-Analyse (TRFA). Jedoch lassen sich zur Zeit die Gehalte leichter Elemente wie

Na und Mg mit ihr nicht bestimmen. Des weiteren verhinderte die lange Meßdauer in der vorgegebenen begrenzten Meßzeit einen höheren Probendurchsatz.

Den Fragestellungen entsprechend bildeten Messungen auf zellulärer Ebene den experimentellen Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit. Hierfür wurden die sich ergänzenden Mikrobereichsmethoden, die Energie-Dispersive-Röntgen-Analyse (EDXA) und die Laser-Mikrosonden-Massen-Analyse (LAMMA) in Kombination zur Bestimmung von Element- und Isotopenverteilung bei Punktmessungen an 0,5µm dicken Semidünnschnitten von verschiedenen Pflanzengeweben eingesetzt.

Die Energie-Dispersive-Röntgen-Analyse ermöglicht die Messung von Elementzusammensetzungen an Präparate-Dünnschnitten mit örtlicher Auflösung von deutlich unter 1µm (hier: 0,3µm). Die Methode wurde von *Läuchli* (1967) zum erstenmal für Messungen von Ionenverteilungen im Pflanzengewebe benutzt. Erste Untersuchungen zum zellulären Nachweis von Elementen in Feinstwurzeln gesunder und geschädigter Fichten wurden mit dieser Methode von *Bauch & Schröder* (1982) und von *Stienen et al.* (1984) durchgeführt. Damit konnten deutliche Unterschiede im Gehalt verschiedener Elemente lokalisiert werden. Wie die vorliegenden und weitere Untersuchungen zeigen (z.B. *Godbold et al.* 1987; *Jentschke* 1989), ermöglicht die Auflösung von EDXA in Verbindung mit einem Transmissions-Elektronenmikroskop (TEM) die getrennte Analyse der relativen Elementgehalte z.B. von Hyphen und benachbarten Cortexzellen im Hartig'schen Netz von Fichten-Mykorrhizen. Die relativ langen Meßzeiten erlauben dabei, bei vertretbarem Aufwand, nur eine sehr begrenzte Anzahl von Einzelmessungen (vgl. Kap. 4.2). Die Quantifizierung der Elementgehalte ist bei der EDXA-Analyse möglich und wurde bei tierischen Zellen erfolgreich versucht (z.B. *Hall & Gupta* 1983). Eine bessere Anpassung der Auswertung an pflanzliche Zellen, besonders an Zellwandmaterial, steht jedoch noch aus. Die eigenen Messungen beschränken sich daher auf die Angabe einer relativen Elementzusammensetzung (*Chandler* 1977). Von Nachteil bei den bisher verwendeten Detektoren ist die nur geringe Nachweisempfindlichkeit für Elemente, die leichter als Silicium sind. Röntgendetektoren neuerer Bauart - v.a. auf Germanium Basis - schaffen hier Abhilfe und sollten zudem mit Hilfe angepaßter Berechnungsverfahren auch eine quantitative Elementbestimmung im Mikrobereich ermöglichen.

Erste Untersuchungen mit Holz als Probenmaterial mit der Laser-Mikrosonden-Massen-Analyse (LAMMA) wurden von *Klein & Bauch* (1979) zum Nachweis der Verteilung von Holzschutzmitteln an Dünnschnitten von *Picea abies* und *Pinus sylvestris* durchgeführt, bei einem minimalen Analysepunkt-Durchmesser von ca. 1µm. Erste Untersuchungen mit LAMMA zum Elementgehalt in Feinstwurzeln erfolgten von *Bauch & Schröder* (1982) an gesunden und geschädigten Tannen und Fichten. Dabei war zunächst besonders die hohe Nachweisempfindlichkeit von LAMMA für Elemente niedriger Ordnungszahl (hier: Na, Mg, Al) und die deutlich kürzere Analysenzeit gegenüber der Röntgenmikrosonde von großem Vorteil (weitere Anwendungen von LAMMA im biologischen / medizinischen Bereich vgl. *Verbueken et al.* 1985). Der entscheidende Vorteil von LAMMA liegt im Meßprinzip begründet, das die verschiedenen Isotope quantitativ voneinander unterscheidet. In Verbindung mit der Markierung der hier besonders interessierenden Makronährelemente Mg, K und Ca in den Versuchslösungen mit stabilen Isotopen (^{25}Mg, ^{26}Mg, ^{41}K, ^{42}Ca, ^{44}Ca) kann so zwischen bereits in der Pflanze vorhandenen, aus der Lösung aufgenommenen und von der Pflanze abgegebenen Elementen anteilmäßig an Dünnschnitt-Präparaten und an Sprüh-Präparaten unterschieden werden. Vor allem nach Markierung mit stabilen Isotopen ermöglicht daher LAMMA neue Experimentansätze, die zur Aufklärung von Wirkungsmechanismen und Transportprozessen im zellulären Bereich beitragen können (*Schröder* 1981; *Schröder et al.* 1988). Im Gegensatz dazu lassen reine Elementgehalt-Bestimmungen mit EDXA (wie auch Bulkanalyse-Methoden) nur sehr begrenzt oder keine Aussagen über derartige

Prozesse zu. So sagt z.B. ein niedriger Elementgehalt in einem Gewebe nichts über den Elementtransport bzw. -austausch in der Pflanze (z.B. Wurzeln / Sproß / Nadeln) aus. Der Gehalt kann gering sein, weil nur eine geringe Elementmenge dorthin gelangt (bei geringem Umsatz) oder weil eine große Elementmenge schnell "weitertransportiert" wird (bei hohem Umsatz). Analog kann dies für hohe Elementgehalte gelten. Aussagen über das kinetische Verhalten solcher Prozesse sind daher mit bloßen Bestimmungen der Elementgehalte nicht möglich. Auch lassen sich hiermit keine Aussagen über Systeme treffen, die sich im bzw. nahe am Fließgleichgewicht befinden. Durch Isotopenaustauschstudien können dagegen auch bei diesen Systemen wesentliche kinetische und mechanistische Erkenntnisse gewonnen werden (*Simon* 1982). Das bedeutet, LAMMA ermöglicht neben relativen Elementverteilungen auch ohne Änderung der Netto-Konzentrationen den Efflux und Influx in vitalen Systemen zu messen, um deren Ionenaufnahme und Ionenaustauscher-Eigenschaften zu untersuchen.

Da es sich bei LAMMA um ein lichtoptisches System handelt beträgt der minimale Analysepunkt-Durchmesser methodenbedingt hier ca. 1µm. Damit lassen sich einige spezielle Fragestellungen nur eingeschränkt untersuchen. So ist es z.B. bei LAMMA-Messungen im Cortex nicht möglich, Pilz und Rindenzellwand absolut getrennt zu analysieren. Bei Messungen wurden daher Pilzhyphen, Rindenzellwand und zum sehr geringen Teil auch Zellumen der Cortexzellen gleichzeitig analysiert. Die Meßwerte aus dem Zellumen der Cortexzellen sind Mittelwerte über den Inhalt einer Zelle, da wegen des fehlenden Kontrastes nicht zwischen verschiedenen Zellkompartimenten unterschieden werden kann. Die Ergebnisse zeigen, daß die Unterschiede zwischen Symplasten und Apoplasten jedoch gut erfaßt werden können.

Eine absolute Quantifizierung der analysierten Elementmengen ist zur Zeit mit LAMMA nicht oder nur mit sehr großem Aufwand über jeweils speziell hergestellte Standardproben mit Einschränkungen möglich (vgl. Kap. 4.1; *Schröder* 1981; *Fain & Schröder* 1985). Daher können, so lange geeignete Meßstandards fehlen, die erhaltenen Daten lediglich in relativen Einheiten angegeben werden. Die relativen Messungen der anteilmäßigen Isotopenzusammensetzung eines jeweiligen Elementes sind, wie hier für Mg, K und Ca, für die vorliegenden Fragestellungen von ausreichender Genauigkeit (im %-Bereich). Die Messungen der Isotopenverhältnisse bekannter Zusammensetzung wie bei Kontroll-Proben mit natürlicher Isotopenverteilung stellen somit eine interne Kontrolle der erhaltenen LAMMA-Spektren und der quantitativen Aussagen über die jeweiligen Isotopenanteile dar.

Bei der Anwendung der Isotope (Mg, K, Ca) kann im Rahmen der vorliegenden Meßgenauigkeit davon ausgegangen werden, daß sich verschieden schwere Isotope eines Elementes im biologischen System gleich verhalten, d.h. daß beim Ablauf der hier stattfindenden verschiedenen Reaktionen keine Diskriminierung markierter und nicht markierter Ionen stattfindet. Dies kann auch aus der oben erwähnten "internen Kontrolle" der Gleichverteilung der natürlichen Isotopenzusammensetzung in Kontrollproben geschlossen werden. Bei anderen quantitativen Untersuchungen beobachtet man mehr oder weniger deutlich solche als "Isotopeneffekte" bekannte Phänomene (i.d.R. im Promille-Bereich) und zieht diese zu mechanistischen Erklärungen heran (*Simon* 1982).

Für methodische Untersuchungen und bei einigen Versuchsreihen zum Verhalten von Ca bei der Aufnahme und Verteilung in Fichten erfolgte in Ergänzung zu Experimenten mit stabilen Isotopen der Einsatz einer nachweisstarken Markierung mit radioaktivem ^{45}Ca, einem β^--Strahler, welcher in Bulkproben quantitativ bestimmt werden kann (Kap. 4.3). Ein wesentlicher Vorteil dieser Methode liegt in der schnellen Auswertbarkeit und der hohen Nachweisempfindlichkeit, die eine differenzierte Fraktionierung des Probenmaterials zuläßt. Weitergehende Aussagen zur relativen ^{45}Ca-Verteilung im

Mikrobereich sind mit Hilfe der Mikroautoradiographie möglich (*Führ & Wieneke* 1983). Eigene, hier nicht näher vorgestellte Untersuchungen an Querschnitten von Mykorrhizen mit dieser Methode wiesen jedoch nur eine geringe räumliche Auflösung der ^{45}Ca-Verteilung auf, wobei lediglich zu erkennen war, daß die stärkste Schwärzung des verwendeten Röntgenfilms und damit die höchsten ^{45}Ca-Konzentrationen im äußeren Cortexbereich vorlagen. In Ergänzung und Absicherung zu LAMMA-Untersuchungen können über die ^{45}Ca-Verteilung weitere qualitative Aussagen erzielt werden.

Ein wesentliches Problem beim Einsatz der hier verwendeten Mikrobereichs-Analysemethoden liegt im hohen präparativen Aufwand. Hierbei müssen Elementverschiebungen weitestgehend vermieden werden, damit die Aussagefähigkeit der Mikrobereichs-Analysen erhalten bleibt. Welche Punkte bei der Probenpräparation besonders berücksichtigt werden müssen, wird u.a. im folgenden Kapitel diskutiert.

7.3 Versuchsdurchführung und Probenaufbereitung für die Analysen

Pflanzenvorbereitung: Die Verwendung von Wurzeln für Elementanalysen wirft ein oft unterschätztes Problem beim möglichst vollständigen Entfernen der an den Wurzeln anhaftenden Erdpartikel auf. Anhaftende Erdpartikel beeinflussen dabei vor allem Bulkanalysen und können das Herstellen von Dünnschnitten der i.d.R. in Epoxidharz eingebetteten Wurzeln beeinträchtigen bzw. verhindern. Üblicherweise werden die "verschmutzten" Wurzeln dazu in dest. Wasser und / oder Alkohol in möglichst kurzer Zeit gereinigt (z.B. *Stienen et al.* 1984; *Murach* 1985; *Rademacher* 1986; u.a.). Dies ist oft, je nach anhaftender Bodenart, z.B. bei lehmigem Boden, nicht anders möglich. Dabei muß u.a. jedoch beachtet werden, daß der Elementaustausch mit der Waschlösung unmittelbar einsetzt, wie dies auch die vorliegenden Zeitreihen-Experimente mit markierten Versuchslösungen zeigen (Kap. 6.2.2). Die Waschlösung selbst variiert in unbekannter Weise (nicht reproduzierbar) je nach Art und Menge der in ihr übertragenen Erde und Wurzelmasse. Zur Bestimmung des Ausgangs-Elementgehaltes solcher Proben sollte daher einer rein mechanischen Reinigung der Vorrang gegeben werden. Bei der Kryosubstitution, der hier überwiegend angewendeten Präparationsmethode für die Mikroanalyse, werden anhaftende Partikel durch das Spülen im Substitutionsmedium entfernt (s.u.).

Bei der Probennahme von sterilen bzw. mykorrhizierten Feinstwurzeln kann die Probenauswahl lediglich nach rein optischen Gesichtspunkten erfolgen. "Offensichtlich" vitale Wurzelspitzen werden vor allem nach der Beschaffenheit der Wurzelspitze (hell, turgeszent wirkend) angesprochen. Dies läßt nur bedingt einen Schluß auf deren Entwicklungszustand und vor allem auf deren Funktionsfähigkeit zu. Vitalitätstest wie z.B. mit FDA-Vitalfluorchromierung (*Ritter et al.* 1986), lassen sich jedoch nicht parallel zu Elementanalysen durchführen.

Zur Schaffung gleicher Ausgangsbedingungen und zur Adaptierung an die Markierungslösungen wurden einem Teil der Pflanzen vor den Markierungsversuchen Lösungen mit gleichen Elementgehalten, jedoch mit natürlicher Isotopenzusammensetzung, angeboten. Dies wurde je nach Art des folgenden Experimentes für nötig erachtet, da sich die Versuchslösungen von den Bodenlösungsbedingungen der Gärtnerei-Normalerde-Pflanzen deutlich unterschieden (vgl. Kap. 7.1).

Versuchsbedingungen für Markierungsexperimente: Die angebotenen Lösungsmengen bei simultaner Dreifach-Markierung (Mg, K, Ca) mit stabilen Isotopen konnten ein aus Kostengründen vertretbares Maß nicht überschreiten (i.d.R. 15-20ml), wodurch auch die Größe der verwendbaren Pflanzen limitiert war.

Für die Markierung mit stabilen Isotopen war die Inkubation über längere Zeit in belüfteter Lösung bzw. der tägliche Wechsel der Versuchslösung notwendig. Die O_2-Sättigung in der Markierungslösung betrug unter den letztgenannten Bedingungen am Ende eines Versuchstages noch etwa 50%. Hier gibt es, anders als bei den natürlichen Bedingungen im Boden, keine Unterschiede bei der Mikroheterogenität der Nährstoffverteilung und der, vor allem wurzelinduzierten, pH-Wert-Verteilung im unmittelbaren Rhizosphärenbereich (*Nye* 1981; *Marschner et al.* 1982; *Marschner & Römheld* 1983; *Hildebrand* 1986).

Für die Zusammensetzung der bei den meisten Versuchsreihen benutzten "Standardlösung" wurden Ionenkonzentrationen von Na, Mg, K und Ca verwendet (jeweils 1mmol/l), die zwar i.d.R. höher als die durchschnittlichen Werte von Naturstandorten sind, aber die innerhalb der Variationsbreiten im oberen Bereich für natürliche Waldstandorte liegen (*Scheffer & Schachtschabel* 1976; *Rademacher et al.* 1988, z.B. für den Standort "Postturm"/Ratzeburg). So weisen umfangreiche Waldbodenproben im A_h-Horizont (*Ulrich* in: *Scheffer & Schachtschabel* 1976) im Sättigungsextrakt im Mittel folgende Elementkonzentrationen auf (in Klammern: Variationsbreite): Na ≈ 0,96mmol/l (0,17-2,9); Mg ≈ 0,25mmol/l (0,08-1,17); K ≈ 0,36mmol/l (0,10-1,56); Ca ≈ 0,6mmol/l (0,07-2,0); pH ≈ 4,3 (3,5-5,9).

Obwohl nur für Mg, K und Ca angereicherte stabile Isotope zur Verfügung standen, wurde in der "Standardlösung" ebenfalls Na (nur ^{23}Na ist stabil) mit 1mmol/l angeboten. Grund dafür sind funktionelle Überlegungen. So spielen bei der K-Aufnahme in verschiedenen Systemen im wesentlichen aktive membrangesteuerte Mechanismen eine Rolle, die zum großen Teil mit den Na-Konzentrations-Verhältnissen in Verbindung stehen (*Alberts et al.* 1983). Weitere Elemente wurden in der "Standardlösung" zunächst nicht angeboten (nur Cl als Anion). Diese liegen meist in weit niedrigeren Konzentrationen vor und können während der vergleichsweise kurzen Versuchszeit aus pflanzenverfügbaren internen Elementgehalten zum essentiellen Bedarf herangezogen werden (*Mohr & Schopfer* 1978). Experimente zeigten, daß selbst das Makronährelement P bei Bedarf ohne weiteres Angebot von außen aus internen P-Beständen über mindestens zwei Wochen herangezogen werden kann (*Harley & Smith* 1983). Mit den hier verwendeten Elementkonzentrationen konnte größtenteils eine deutliche Markierung vor allem der Ionenaufnahme in Feinstwurzeln, mit Hilfe stabiler Isotope für Mg, K und Ca erreicht werden. Wie die hier vorgestellten Ergebnisse zeigen, kann auch mit geringeren Konzentrationen bei der Markierung gearbeitet werden und somit in weiterführenden Experimenten die Elementkonzentrationen in Bodenlösungen von natürlichen Standorten "nachgestellt" werden.

Präparationsmethoden für die Mikroanalyse: Die für histologische Untersuchungen häufig benutzten chemischen Fixierungsmethoden (*Reimer* 1967) sind bei der Vorbereitung von Proben für die zelluläre Elementanalyse nicht anwendbar. Diese Fixierungsmethoden führen, vor allem aus osmotischen Gründen, zu Strukturveränderungen und zu Elementverschiebungen bei den nachzuweisenden, meist mobilen Ionen (vgl. *Steinbrecht* 1984). Der hier einzig gangbare Präparationsweg führt daher über eine Gefrierfixation als ersten Schritt der Präparation (Übersicht zur Problematik: *Plattner & Bachmann* 1982; *Steinbrecht & Zierold* 1987). Um eine Delokalisierung der Elemente in der Probe und strukturzerstörende Eiskristallbildung weitgehend zu vermeiden, sind hohe Einfriergeschwindigkeiten

notwendig. Möglichst kleine und wasserfreie (z.B. hier keine anhaftende Versuchslösung) Proben sind dazu eine Grundvoraussetzung. Unter den gegebenen experimentellen Bedingungen hat sich die Immersionsfixation, d.h. das schnelle Eintauchen der Probe in ein flüssiges Kryogen, bewährt. Das hierfür verwandte, mit flüssigem N_2 gekühlte, gefrierende Propan erzeugt hohe Abkühlraten in der Probe (*Sitte* 1982; *Sitte et al.* 1987a). Trotzdem läßt sich aus physikalischen Gründen die Eiskristallbildung in der Probe nicht vollständig unterbinden. Die dadurch und durch Umkristallisation bei Wiedererwärmung in den Proben hervorgerufenen Strukturveränderungen und damit verbundenen Elementverschiebungen bewegen sich jedoch in kleineren Bereichen als die Meßpunkte der verwendeten Mikroanalyse-Methoden. Deutliche Verbesserungen bei der Vermeidung der Eiskristallbildung verspricht die Anwendung der Hochdruck-Kryofixation (*Müller & Moor* 1984; *Moor* 1987). Diese Methode ist jedoch apparativ sehr aufwendig und erlaubt lediglich das Einfrieren einzelner Proben bei einer Kantenlänge von ca. 1mm. Für Feinstruktur-Untersuchungen und zur Kontrolle von Standardmethoden erscheint diese Methode jedoch beim momentanen Stand der Technik die erfolgversprechendste zu sein.

Die der Gefrierfixation folgende paralleie Anwendung von Gefriertrocknung und Gefriersubstitution dient zur gegenseitigen Ergänzung und Absicherung der Präparationsmethoden. Beide Behandlungsvarianten haben ihre Vor- und Nachteile.

Bei der für die Elementanalyse überwiegend verwendeten Gefriertrocknung (*Sjöstrand & Baker* 1958) wird die gefriergetrocknete Probe direkt mit dem Einbettungsmedium infiltriert. In den verwendeten Epoxidharzen sind vor allem die mehrwertigen Ionen wie Mg und Ca nur schwer löslich, so daß bei diesen Elementen kaum Verschiebungen erwartet werden. Jedoch dringt das Harz je nach Gewebe z.T. schlecht ein, was das Schneiden der Probenblöckchen erschwert und sogar oft verhindert. Die Strukturerhaltung ist im Zellumen zum größten Teil schlecht. Bei der hier hauptsächlich verwendeten Gefriersubstitution ist die Strukturerhaltung deutlich besser und in erster Linie bedingt durch die Strukturveränderungen beim Einfriervorgang. Für die Elementanalyse im Elektronenmikroskop zu Ionentransportstudien in Pflanzenwurzeln wurde die Gefriersubstitution von *Läuchli et al.* (1970) an Mais zum erstenmal benutzt. Sie untersuchten den lateralen K-Transport durch Wurzeln. Dabei schätzten sie den Verlust an K-Ionen während der Präparation mit Hilfe einer ^{86}Rb-Markierung für vernachlässigbar gering ein. Im Substitutionsmedium (Äther, ohne OsO_4-Zugabe) konnten sie geringe Mengen an Markierung nachweisen, während in den nachfolgenden Schritten kaum Verluste auftraten. Zur Elementanalyse an Blattgeweben benutzten *Harvey et al.* (1976) ebenfalls die Gefriersubstitution. Sie konnten zeigen, daß bei ihrem Präparationsweg (Aceton oder Äther, ohne OsO_4-Zugabe) maximal 4% des Na und K und maximal 5% der Chloridionen verloren gingen. *Van Zyl et al.* (1976) wiesen dagegen bei der Gefriersubstitution (Aceton) mit ^{22}Na-markierten Gerstenwurzeln einen Verlust von 25% des ^{22}Na während der Präparation nach.

Eigene, hier nicht gezeigte, Untersuchungen an mykorrhizierten Feinstwurzeln der Fichte wiesen mit einer radioaktiven ^{45}Ca-Markierung, unter den identischen hier verwandten Präparations- und Versuchsbedingungen, einen ^{45}Ca-Verlust von ca. 8 bis 12% auf. Zur Abschätzung des Elementverlustes weiterer z.B. einwertiger Elemente wie Na und K sollten weitere Untersuchungen dieser Art z.B. mit einer Markierung mit radioaktivem ^{22}Na folgen.

Da bei den hier vorgestellten Untersuchungen relative Aussagen und Vergleiche über Elementverteilungen und Isotopenverhältnisse im Vordergrund stehen, ist die genauere Kenntnis der Absolutwerte der Elementverluste während der Präparation von untergeordneter Bedeutung. Auch

zeigen Vergleiche von gefriersubstituierten Proben mit gefriergetrockneten Proben (bei ansonsten gleicher Vorbehandlung; nach Markierung mit stabilen Isotopen) nur geringe Unterschiede in der Isotopenzusammensetzung in Zellwänden.

Untersuchungen dieser Art zum Elementverlust bei der Präparation, besonders für nachfolgende Mikroanalyse-Methoden, bedürfen jedoch einer weiteren genaueren Betrachtung. Der gesamte Elementverlust während des Präparationsweges, d.h. die Summe der an die verschiedenen Medien abgegebenen Elementmenge, sagt nichts unmittelbar über Elementverschiebungen innerhalb der Probe während der Präparation aus. Es ist daher möglich, daß sich zu Ende der Präparation, also im schneidfähigen, auspolymerisierten Probenblöckchen, die Ionen in der Probe rein nach den adsorptiven Eigenschaften der verschiedenen Probenstrukturen verteilt haben. Eine mit der Mikrobereichs-Analyse erhaltene Elementverteilung, z.B. in einem Wurzelquerschnitt, würde damit lediglich die Elementadsorption der verschiedenen Gewebestrukturen und nicht unbedingt den tatsächlichen Zustand der Ionenverteilung zu Versuchsende wiedergeben (vgl. *Orlovich et al.* 1989). Mit der Bestimmung der Verteilung des Elementgehaltes - z.B. mit EDXA - läßt sich diese Frage nicht klären. Dagegen zeigt die Markierung mit stabilen Isotopen und die Mikrosonden-Analyse mit LAMMA unterschiedliche Isotopenverhältnisse für Ca und Mg an verschiedenen Gewebestrukturen. Besonders deutlich wird dies bei den Zeitreihen-Experimenten (Kap.6.2.2; Markierungsdauer 2min bis 48h), bei denen mit fortschreitender Versuchsdauer die Erhöhung der Markierung mit stabilen Isotopen ins Innere der Mykorrhizen bei gleichem Gewebe (Zellwand) nachzuweisen ist. Eine Messung von rein adsorptiven Gewebeeigenschaften sollte hier eine Isotopen-Gleichverteilung zwischen äußeren und inneren Zellwänden zeigen, so daß beim verwendeten Präparationsweg die ursprüngliche Elementverteilung vor der Präparation im wesentlichen erhalten bleiben müßte. Dieser Schluß läßt sich so nicht für das gleichfalls markierte K ziehen und bedarf daher noch weiterer Klärung.

Eine weitere Verbesserung und Absicherung für die Elementanalyse wären Gefrierschnitte der Proben (*Sitte* 1982; *Zierold & Schäfer* 1983), wobei die Proben ohne vorheriges Einbetten, z.B. in Epoxidharze, analysiert werden können. Für Routineuntersuchungen an pflanzlichem Material bestehen jedoch noch erhebliche methodische Schwierigkeiten.

7.4 Einfluß des Bodens auf den Elementgehalt in Fichten-Mykorrhizen

Die zunächst an Altfichten eines Waldschadensgebietes erzielten Ergebnisse (Kap. 6.1.1) dienten als Ausgangsbasis für die Untersuchung verschiedener Einflußfaktoren auf die Versorgung von Bäumen mit mineralischen Nährelementen. Zur Beschreibung der Standortbedingungen war es von großem Vorteil, daß die vorliegenden, methodenbedingt stichprobenartigen Untersuchungen an 90 bis 120 Jahre alten Fichten in weiteren umfassenden Untersuchungen eingebettet waren (*Bauch & Michaelis* 1988). Das vom BMFT geförderte Forschungsprogramm "Waldschäden am Standort "POSTTURM", Forstamt Farchau / Ratzeburg" sollte zur Ursachenklärung der Fichtenerkrankung an einem Tiefland-Standort mit ausgeprägtem urbanem Einfluß beitragen. Den hier dargestellten Ergebnissen sind langjährige Untersuchungen zur Elementversorgung der Bäume vorausgegangen (*Bauch & Michaelis* 1988). Es wurde dabei u.a. versucht, die bodenchemischen Untersuchungsergebnisse auf der Elementangebotsseite mit den Elementgehalten von Bulkanalysen der Wurzeln, des Xylem und der Nadeln in Relation zu setzen. Hierbei wurden unterschiedliche Schadklassen-Einteilungen, die

verschiedenen Bodenhorizonte und Änderungen in den Elementgehalten über mehrere Jahresgänge besonders berücksichtigt.

Die bodenchemischen Untersuchungen kennzeichnen nach *Murach et al.* (1988) die Versuchsfläche als einen stark versauerten Standort mit niedrigen pH-Werten im Oberboden (bzw. Auflage), mit geringer Austauschkapazität und geringen Feinwurzelgehalten im Unterboden. Die Auflage des Waldschadensstandortes "POSTTURM" befindet sich danach im Fe-Pufferbereich, während sich der Mineralboden im Al-Pufferbereich bei einer Basensättigung von ca. 5% befindet. In der Bodenlösung liegen sehr hohe Ionenkonzentrationen vor, die überwiegend durch Deposition bedingt sein sollen. Nach *Murach et al.* (1988) lassen die absoluten Konzentrationen einzelner Elemente in der Bodenlösung keine direkten Schlüsse auf eine Nährstoffmangel-Situation zu, eine Unterversorgung der Bestände mit Nährstoffen sei daher nur durch Ionenantagonismen denkbar. Nach *Rademacher et al.* (1988) weisen die über mehrere Jahre hindurch verfolgten Bodenlösungen jedoch einen erheblichen Mangel an verfügbarem K auf, der sich auch in den Pflanzen wiederspiegeln soll. Weiterhin stellten sie bei Bulkanalysen von Mykorrhizen aus Mineralboden (10-30cm Tiefe: B_s / B_{sv} und 30-60cm Tiefe: B_v/C_v) einen gegenüber dem obersten Bodenhorizont (0-10cm: O_h / A_{eh} / A_eB_s) erhöhten Al-Gehalt fest. Ebenfalls wiesen sie in diesen Mykorrhizen einen geringen Ca-Gehalt nach (im obersten Bodenhorizont bis etwa 6mal so hohe Ca-Gesamtgehalte wie im Mineralboden), der im allgemeinen dadurch hervorgerufen wird, daß Al-und H-Ionen in Konkurrenz um die Austauscher-Adsorptionsstellen im Apoplasten der Mykorrhizen die Ca-Ionen verdrängen (ausführliche Diskussion: siehe Kap. 7.5 u. 7.7). Im Vergleich zu anderen Standorten ist der K- und Ca-Gehalt in Feinwurzeln jedoch relativ hoch (*Bauch et al.* 1985; *Rademacher* 1986). Weiterhin liegen die Konzentrationen von Nitrat und Ammonium in der Bodenlösung besonders in den oberen Bodenschichten im Vergleich zu anderen Standorten auf sehr hohem Niveau (Tab.3, Kap. 6.1.1). Dies dürfte vor allem an Einträgen aus landwirtschaftlich genutzten Flächen liegen.

In den oben genannten Arbeiten von 1988 wird die mögliche ernährungsphysiologische Bedeutung der am Standort "POSTTURM" vorliegenden Nährstoff-Versorgungsbedingungen weiterhin umfassend diskutiert. In den vorliegenden Untersuchungen am Standort war von besonderem Interesse, ob eine Beziehung zwischen dem Elementgehalt in der pflanzenverfügbaren Bodenlösung, dem Gesamtgehalt in Bulkproben der mykorrhizierten Feinstwurzeln und der zellulären Elementverteilung innerhalb der Mykorrhizen besteht. Weiterhin sollte u.a. deutlich werden, welchen Einfluß unterschiedliche Bodenhorizonte haben und ob es Unterschiede zwischen geschädigten und nicht geschädigten Altfichten am gleichen Standort in unmittelbarer Nachbarschaft gibt. Eine Beschränkung der Analysen auf einen Probennahmetermin (Oktober 1989) sollte zunächst ausreichen, um hier eine qualitative Vorstellung über Zusammenhänge zwischen Bodenlösungs-Daten, Bulkanalysen und Mikrosonden-Analysen in mykorrhizierten Feinstwurzeln erkennen zu können. Dabei liegen die hier vorgestellten Werte der Gesamtelementbestimmungen von zentrifugierter Bodenlösung und Feinstwurzeln in der Variationsbreite der Werte, die über mehrere Jahre zum größten Teil in monatlichen Probennahmeabständen am gleichen Standort und z.T. auch an den gleichen Bäumen gemessen wurden (*Rademacher et al.* 1988; *Rademacher* in Vorbereitung).

Für die Beurteilung der im Kap. 6.1.1 gegenübergestellten Daten ist folgendes zu beachten. Die zentrifugierte Bodenlösung gibt nicht genau die Bodenlösungsbedingungen wieder, die unmittelbar an der absorbierenden Wurzel- bzw. Hyphenoberfläche, der sogenannten Rhizoplanen, vorliegen. Bei der Zentrifugations-Bodenlösung werden jeweils ca. 200gr. des die Wurzeln umgebenden waldfrischen

Bodens bei 2600 U/Min. für 30min zentrifugiert und die Lösung über einer mit Quarzwatte abgedeckten Austrittsöffnung aufgefangen. Nach *Rademacher et al.* (1988) entspricht die dabei wirksame Kraft in etwa den im Boden zum Wasserentzug erforderlichen Saugdrücken von ca. 50KPa. Da hierbei eine relativ große Bodenprobenmenge benötigt wird, können die Bedingungen im Bereich von wenigen mm Abstand zur Rhizoplanen, der sogenannten Rhizosphäre (Erläuterung siehe Kap. 2), nicht genau wiedergegeben werden. So kann z.B. der Rhizosphären-pH-Wert bis zu zwei Einheiten höher oder tiefer liegen als im wurzelfernen Boden (*Marschner et al.* 1986), was z.B. sehr stark von der NH_4^+- oder NO_3^-- Aufnahme abhängt (*Marschner et al.* 1991). Je nach Nährstoffaufnahme-Bedingungen kann es in der Rhizosphäre zu einer Verarmung z.B. von P und K (*Farr et al.* 1969; *Claasen et al.* 1981; *Marschner* 1985; *Jungk & Claasen* 1986, 1989) oder einer Anreicherung z.B. von Ca (*Malzer & Barber* 1975) oder Na (*Schleiff* 1980) kommen (vgl. *Barber* 1984; *Marschner* 1985; *Marschner et al.* 1986; *Curl & Truelove* 1986). Auch der wurzelferne Boden besitzt Mikroheterogenitäten im potentiellen Nährstoffangebot. So sind die Austauscherplätze der die Bodenporen umgebenden Bodenpartikel im Vergleich zum Gesamtboden verstärkt für das Bodenwasser erreichbar. Daher kann es im Umfeld des Porenraumes bei saurer Deposition zu einer deutlich stärkeren Auswaschung von Nährelementen kommen. Die chemischen Verhältnisse an den entsprechenden Bodenaggregatoberflächen sind wiederum für das potentielle Feinwurzelwachstum von großer Bedeutung (*Hildebrand* 1986; *Hantschel et al.* 1986, 1987; *Gradel et al.* 1987; *Horn* 1987). Der Ausgleich innerhalb des Bodens hängt von der Konzentration und Mobilität der Nährstoffe (durch Diffussion und Massenfluß) ab, wobei u.a. der Wassergehalt des Bodens eine entscheidende Rolle spielt (*Sands & Mulligan* 1990). *Rademacher et al.* (1988) sehen daher die zentrifugierte Bodenlösung als einen Parameter zur bestandesweiten Charakterisierung der potentiell verfügbaren Elementvorräte an, die deutlich von der Versorgungssituation im unmittelbaren Umfeld der Wurzeln in der Rhizosphäre abweichen kann.

Die Bestimmung des Gesamtelementgehaltes in der Bodenlösung mit ICP-OES gibt nur bedingt den pflanzenphysiologisch relevanten Elementgehalt wieder. Hinsichtlich der pflanzenphysiologischen Wirkungen wird jedoch zunehmend die Bedeutung einzelner Ionenspezies herausgestellt (*Schierl et al.* 1986; *Schierl* 1989). Die oberen Bodenhorizonte weisen aufgrund ihrer organischen Bestandteile gegenüber dem Mineralboden einen wesentlich höheren Huminstoffgehalt auf. Diese Huminstoffe sind Komplexbildner, die pH-abhängig größere Aggregate mit Ionen bilden (*Scheffer & Schachtschabel* 1976). Ein Teil der Huminstoffe gelangt in die Zentrifugations-Bodenlösungen. So ermittelte *Schierl* (1989) in wässrigen Bodenextrakten aus dem Auflagehumus, daß ca. 80% des Al in komplexierter Form vorlagen, während dieser Anteil im darunter liegenden Mineralboden in den ersten 5cm auf ca. 50% und in weiteren 25-35cm Tiefe auf ca. 10% absank. Daher wäre für eine pflanzenphysiologische Beurteilung der Bodenlösung bei weiteren Untersuchungen die Bestimmung der einzelnen Ionenspezies wünschenswert.

Auf ein weiteres Problem beim Vergleich der Daten unterschiedlich geschädigter Bäume machen *Murach et al.* (1988) aufmerksam. Hinsichtlich der Einzelbaum-Untersuchungen im Rahmen des Vergleiches geschädigter und nicht geschädigter Fichten sind sie der Auffassung, daß wegen großer Inhomogenitäten bei den Bodenverhältnissen am Standort "die mittleren bodenchemischen und -physikalischen Verhältnisse des Wurzelraumes von Einzelbäumen" bei nicht destruktiver Probennahme nicht genau genug erfaßbar sind. Bei der Gegenüberstellung von Bäumen verschiedener Schadklassen beziehen sie sich daher auf größere Baumgruppen bzw. Teilflächen mit unterschiedlichem mittleren Schädigungsgrad.

Im folgenden behandelt die Diskussion einige wesentliche Merkmale der Gegenüberstellung der drei unterschiedlichen Meßdaten: Elementgehalte in (1) der zentrifugierten Bodenlösung und (2) in Bulkproben der Mykorrhizen und (3) der Elementverteilung in Mykorrhizen. Die entsprechenden Proben zweier Altfichten unterschiedlicher Schadklasse wurden aus 3 Bodentiefen geborgen (s.o.; SK -0- bzw. SK -3-; Kap.6.1.1). Auf Mechanismen der Nährstoffaufnahme und morphologische, anatomische und funktionelle Zusammenhänge wird umfassender in den nachfolgenden Kapiteln eingegangen.

Bei der Betrachtung der Daten fällt zunächst auf, daß zwischen der Elementverteilung und dem Gesamtelementgehalt in mykorrhizierten Feinstwurzeln keine eindeutige Korrelation mit dem Elementgehalt in der jeweiligen zentrifugierten Bodenlösung vorliegt. Dies kann auf Seiten der Bodenlösung mit den oben beschriebenen Problemen bei der relevanten Bodenprobennahme zusammenhängen. Auch wenn die Elementgehalte in den so gewonnenen Lösungen im wesentlichen die Bedingungen in der Rhizosphäre wiedergeben sollten, ließe sich zum einen bei einer einfachen kausalen Beziehung zwischen Elementangebot auf der Bodenlösungsseite und Elementgehalt in Mykorrhizen schließen, daß ein hoher Elementgehalt in der Bodenlösung dementsprechend einen hohen Gehalt in den Mykorrhizen hervorruft. Andererseits kann auch der Elementgehalt in der Bodenlösung gering sein, weil von der Pflanze ein großer Anteil aufgenommen wurde, der in den Mykorrhizen wiederzufinden ist und/oder auch in nachfolgende Pflanzenteile transportiert wurde. Dies kann u.a. von antagonistischen Effekten (Kap. 7.5) und von der Mobilität im Boden abhängen. Nach *Sands & Mulligan* (1990) ist die Aufnahme von Ca und Mg im Gegensatz zu N, K und besonders zu P relativ unbeeinflußt von einem Wasserdefizit im Boden. Reine Bulkanalyse-Untersuchungen lassen daher nur beschränkt mechanistische Aussagen zu (siehe auch Kap. 7.2). Die dazu ergänzenden, hier vorgestellten Mikrosonden-Analysen beschränken sich auf einzelne ausgewählte Meßpunkte in einer bestimmten Entwicklungsphase der mykorrhizierten Feinstwurzeln, in der die Aufnahme mineralischer Nährstoffe in Feinstwurzeln zum großen Teil erfolgt (im Bereich des sich entwickelnden primären Xylem; siehe Abb. 4 und Diskussion Kap. 7.1). Die dazu gegenübergestellten Elementgehalte von Bulkproben der mykorrhizierten Feinstwurzeln stellen dagegen eine integrale Messung über die gesamten Mykorrhizen mit Hyphenmantel, Wurzelhaube und Meristem, Differenzierungs- und Streckungszone und vollentwickelten, cutinisierten Wurzelbereichen, einschließlich adsorbierter Elemente, dar.

Im Vergleich von Altfichten mit unterschiedlicher Schadklasse tritt eine deutliche Variation der Elementgehalte und Elementverteilungen in Mykorrhizen, vor allem im unteren Mineralboden, aus 30-50cm Tiefe auf. So sind hier die Gesamtelementgehalte der Bulkproben für Na, Mg, K und Ca in Mykorrhizen der Fichte mit Schadklasse 0 (SK -0-) deutlich höher als die von Schadklasse 3 (SK -3-), bei annähernd gleichen Konzentrationen von Na, Mg, Ca und Al in der zentrifugierten Bodenlösung. Die K-Konzentrationen in den Bodenlösungen bei SK -0- sind in allen 3 Tiefen geringer, die Gesamtgehalte in den Mykorrhizen dagegen höher als bei SK -3-, was auf eine verstärkte K-Aufnahme in Mykorrhizen bei SK -0- hinweisen würde. Dagegen sind die relativen Gehalte der K-Verteilung in Querschnitten der mykorrhizierten Feinstwurzeln aus Mineralboden bei SK -0- geringer. Diese Daten deuten auf einen besser entwickelten meristematischen Wurzelspitzenbereich bei SK -0- im Vergleich zu SK -3- und / oder auf einen besseren "Abtransport" einiger Elemente in nachfolgende Pflanzengewebe hin. Höhere Na-Gesamtgehalte (30-50cm) bei SK -0- gehen einher mit höheren relativen Na-Gehalten in Zellwänden und im Cortex-Lumen. Der mit zunehmender Bodentiefe ansteigende Al-Gesamtgehalt ist bei SK -3- geringfügig höher, die relative Al-Verteilung weist jedoch bei SK -0- im Mineralboden in Cortex-Zellwänden und -Lumen höhere Werte auf. Diese könnte im ursächlichen Zusammenhang zu geringeren relativen Ca-Gehalten in den Zellwänden des primären Xylem stehen.

Diese kurze Gegenüberstellung der verschiedenen Daten zeigen unterschiedliche, sich z.T. widersprechende Beziehungen zwischen der Elementangebotsseite und dem elementabsorbierenden Gewebe auf. Inwieweit die Unterschiede der beiden betrachteten Bäume einen direkten Schluß auf den Schädigungsgrad zulassen, läßt sich hier nicht abschließend beurteilen. Dazu müssen umfassende weitere Untersuchungen folgen. Die Schwierigkeit ist bei dieser Art der Untersuchung aber vor allem auch von grundsätzlicher Natur, da vom Elementgehalt und von der Elementverteilung in Geweben nicht auf Aufnahmeraten und Bedarf in diesem Gewebe (hier Mykorrhizen), auf Transportraten über diese Gewebe hinaus und damit auf dessen Beitrag zur Nährstoffversorgung des gesamten Baumes geschlossen werden kann (siehe auch Diskussion Kap. 7.2 u. 7.7).

Den mykorrhizierten Feinstwurzeln vom Naturstandort wurden Mykorrhizen zwei- und dreijähriger Fichten aus drei deutlich verschiedenen Böden gegenübergestellt (Kap. 6.1.2). Die Fichten gleicher Provenienz stammten aus Erdkulturen, die unter identischen kontrollierten Bedingungen in verschiedenen Böden aufwuchsen, womit Unterschiede bei den "sonstigen" Einflußfaktoren auf die Nährstoffaufnahme vermieden werden sollten. Einer Gärtnerei-Normalerde mit hohem Nährstoffgehalt wurden im Vergleich zwei Böden (Auflage: 0-10cm; Mineralboden: 10-30cm Tiefe), die der Versuchsfläche wie oben entnommen wurden, gegenübergestellt (siehe auch *Kuhn et al.* 1988). Hiermit sollte nicht nur eine Charakterisierung dieser Erdkultur-Pflanzen, die als Versuchspflanzen für Markierungs-Experimente eingesetzt wurden, erfolgen, sondern vor allem die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Altfichten am Standort überprüft werden. Wie bereits im Kap. 7.3 ausführlich diskutiert, war letzteres nur in sehr begrenztem Umfang möglich, da bei den Kulturbedingungen durch die Bewässerung ein hoher Elementeintrag und damit eine Angleichung der meisten, ursprünglich unterschiedlichen Elementgehalte in der Bodenlösung erfolgte (*Riedel* 1989).

Unterschiede in der relativen Elementverteilung in Auflage- und oberen Mineralboden zwischen Erdkulturpflanzen und Altfichten am Standort "POSTTURM" dürften vor allem hierin begründet sein. Während Altfichten einen deutlichen Anstieg von Ca und K in den Zellwänden zum Wurzelinneren hin aufweisen, zeigen die entsprechenden Erdkulturfichten annähernd eine Gleichverteilung. Übereinstimmend steigt der relative Al-Gehalt mit der Bodentiefe an, wobei dieser in den Zellwänden von außen zum primären Xylem hin abnimmt. Eine qualitativ gleiche Al-Verteilung in Feinstwurzeln beschrieben *Schröder & Bauch* (1982) für Tannen und Fichten eines Waldschadensstandortes im Schwarzwald und *Godbold et al.* (1988) für geschädigte Fichten im Solling. Nach *Stienen & Bauch* (1988) weisen auch Fichten in Hydrokultur einen negativen Al-Gradienten zum Wurzelinneren hin auf. Umgekehrt verhalten sich die Ca-Gehalte, besonders deutlich bei den hier vorgestellten Standortuntersuchungen, wofür nach allgemeiner Vorstellung die um Austauscherplätze konkurrierenden Al-Ionen verantwortlich sein sollen (z.B. *Clarkson & Sanderson* 1971; *Ulrich* 1981a+b; *Bauch & Schröder* 1982; *Jorns & Hecht-Buchholz* 1985; vgl. Kap. 7.5). Dies stimmt mit Gesamtanalysen von Feinstwurzeln aus dem Mineralboden am Standort "Postturm" überein (*Rademacher et al.* 1988). Die Autoren fanden bei einem erhöhten Al-Gehalt in den Feinstwurzeln eine gleichzeitige Erniedrigung des Ca-Gehaltes.

Anders als bei Mykorrhizen aus Normalerde läßt sich Al auch im Zellumen der Cortexzellen von Mykorrhizen des Auflage- und Mineralbodens in größeren Mengen nachweisen. Der hohe Al-Gehalt innerhalb der Cortexzellen muß wegen seiner potentiell toxischen Wirkung inaktiviert werden (*Foy et al.* 1978; *Mengel* 1984). Nach *Ernst* (1983) besteht ein möglicher Mechanismus in der Komplexierung oder Salzbildung der toxischen Substanzen mit Hilfe von Stoffwechselprodukten der Zelle. Eine weitere Möglichkeit wäre eine möglichst schnelle Weiterleitung des "störenden" mineralischen Elementes aus

dem Protoplasten in die Vakuole. Das erfordert spezifische oder zumindest effektive "Transporteinrichtungen" (*Ernst* 1983). Es ist denkbar, daß der gegenüber der Normalerde erhöhte Mg- und Ca-Gehalt im Cortex-Zellumen der Mykorrhizen aus Mineralboden damit zusammenhängt, daß solche "Transporteinrichtungen" oder Komplex- und Salzbildner nicht 100%-ig selektiv sind und auch andere Elemente beeinflussen.

Inwieweit morphologische Unterschiede bei Pflanzen aus verschiedenen Böden bei ansonsten identischen Kulturbedingungen vorliegen, z.B. wegen unterschiedlicher mechanischer Eigenschaften der Böden (*Barley & Greacen* 1967; *Wilson & Robards* 1979; *Hartge & Bohne* 1985; u.a.) und inwieweit diese Unterschiede einen Einfluß auf die Elementaufnahme in Mykorrhizen ausüben, muß bei weiteren Untersuchungen berücksichtigt werden.

An Fichten aus Erdkulturen wurden ebenfalls Untersuchungen zur Elementverteilung im Fichtensproß durchgeführt (Kap. 6.1.3). Dabei sollte u.a. untersucht werden, ob ein Zusammenhang zwischen Elementangebot in der Bodenlösung, bzw. dem Elementgehalt und der -verteilung in den Mykorrhizen und dem Elementgehalt und der -verteilung im Sproß der Pflanzen besteht. Neben Einflüssen der Böden unterschiedlicher Standorte (Ratzeburg, Fichtelberg) stand der Vergleich der Auflage mit dem entsprechenden Mineralboden im Vordergrund. Die hier vorgestellte noch geringe Anzahl an Mikroanalyse-Meßdaten im Sproß zweijähriger Fichten aus Erdkultur kann jedoch lediglich als eine Orientierung gewertet werden, zumal auch die oben beschriebenen unerwünschten Effekte der Bewässerung während der Anzucht anfängliche Unterschiede in den Elementkonzentrationen der Bodenlösungen zum großen Teil ausglichen (außer für Al; *Dünisch* 1989; *Riedel* 1989). An dieser Stelle sei lediglich erwähnt, daß über den gesamten Sproß-Querschnitt in den Xylem-Zellwänden in etwa eine Gleichverteilung der Gehalte für Mg, K, Ca, Mn, S und P vorliegt. Deren Gehalte steigen in der Regel im Kambium deutlich an, wobei Pflanzen aus der Auflage höhere Werte aufweisen. Untersuchungen an Fichten von verschiedenen Waldschadensstandorten von *Berneike et al.* (1985) und *Rademacher* (1986) zeigten in Bulkproben vom Stammxylem keine Makronährelementverarmung, abweichend von deutlichen Unterschieden in den Gehalten der Feinwurzeln und Nadeln.

In der bisherigen Diskussion zum Einfluß des Bodens auf Elementgehalt und -verteilung konnte nur z.T. und nur grob die am Naturstandort vorliegende enorme Komplexität unterschiedlicher Einflußparameter auf die Aufnahme mineralischer Nährstoffe in Bäumen aufgezeigt werden. Trotz dieser begrenzten Darstellung liegt es nahe, daß für eine umfassende Charakterisierung der grundlegenden physiologischen Mechanismen bei der Ionenaufnahme über das Wurzelsystem Experimente unter möglichst definierten Versuchsbedingungen in Verbindung mit Markierungsmethoden der Nährstoffaufnahme notwendig sind und einen wesentlichen Beitrag liefern können.

7.5 Ionenaufnahme, Austauschereigenschaften und Zugänglichkeit mykorrhizierter Feinstwurzeln

Aus der bisherigen Diskussion wurde deutlich, daß mit Elementgehalten in Bulkproben und mit Messungen der relativen Elementverteilung in Feinstwurzeln nur sehr begrenzte Aussagen über die Mechanismen der Elementaufnahme in Fichtenwurzeln getroffen werden können (vgl. Kap. 7.2). Dabei sind insbesondere die Mechanismen des Ionentransfers aus der Außenlösung (bzw. Boden) durch die Wurzel in die Xylem-Fernleitungsbahnen für die Versorgung der gesamten Pflanze mit mineralischen Nährstoffen von zentraler Bedeutung. Bei der Behandlung solcher Fragen wird grundsätzlich zwischen symplasmatischen und apoplasmatischen Transportwegen unterschieden. Diese Unterteilung geht auf *Münch* (1930) zurück, der in jeder Pflanze zwischen symplasmatischen und apoplasmatischen Räumen unterschied. Der symplasmatische Bereich ist danach der vom Plasmalemma als äußere Oberfläche eingeschlossene Protoplast. Dabei sind verschiedene Zellen in der Regel durch Plasmodesmen verbunden und bilden so ein symplasmatisches System, auch Symplast genannt. Außerhalb des Plasmalemmas liegen demnach die apoplasmatischen Bereiche (= Apoplast), die das gesamte System der Zellwände mit seinen, für Wasser und darin gelöster Stoffe, zugänglichen intermicellaren und interfibrillaren Zwischenräumen (1-10nm Durchmesser; *Frey-Wyssling* 1959; *Côté* 1977), sowie die meist mit Luft erfüllten Interzellularräume umfassen. Treibende Kräfte für die Teilchenbewegungen im Apoplasten sind Wasserpotential-Gradienten und / oder chemische bzw. elektrochemische Potentialunterschiede (*Läuchli* 1976; *Lüttge & Higinbotham* 1979). Dabei diffundieren Ionen nicht nur durch die Lösung in den Zellwand-Zwischenräumen, sondern lagern sich an den Festionen der Zellwand (überwiegend sind dies negativ geladene freie Carboxylgruppen [R-COO$^-$]) an, beziehungsweise tauschen dort adsorbierte Ionen aus. Besonders gilt dies für zweiwertige Kationen, so daß Pflanzen-Zellwände als Kationenaustauscher fungieren. Der für einen apoplasmatischen Transport zur Verfügung stehende Raum wird auch als AFS ("apparent free space") bezeichnet und aufgrund der Austauschvorgänge in den WFS ("water free space") und in den DFS ("donnan free space"; hängt von der Art und Konzentration der Festionen ab) unterteilt. Das für den apoplasmatischen Transport zur Verfügung stehende AFS - Volumen kann zwischen 8 und 25% des gesamten Gewebevolumens ausmachen (*Lüttge* 1973).

Innerhalb des Symplasten führen Membrantransportprozesse, Synthese- und / oder Abbaureaktionen zu Ungleichgewichten. Diese bilden die treibende Kraft für den symplasmatischen Transport, der die entstandenen Gefälle wieder ausgleicht (*Lüttge* 1973; *Spanswick* 1976; *Lüttge & Higinbotham* 1979). Zwischen diesen beiden grundverschiedenen Transportwegen für gelöste Stoffe finden vor allem in höheren Pflanzen verschiedene Koppelungen und Übergänge statt. Insbesondere wird aus morphologischen Untersuchungen und aus allgemeinen Überlegungen angenommen, daß der Transport aus der Außenlösung in die gesamte Pflanze hinein nicht nur im Apoplasten abläuft. Danach wird dieser Weg an bestimmten Stellen durch Barrieren blockiert, wie z.B. in der Wurzel, insbesondere durch hydrophobe Einlagerungen in der den Zentralzylinder umgebenden Endodermis (*van Fleet* 1961; *Bonnet* 1968; *Clarkson & Robards* 1975; *Permualla & Peterson* 1986). Damit wäre ein Weitertransport nur nach Durchgang durch ein Plasmalemma und im dahinterliegenden Plasma, zumindest für eine kurze Strecke, möglich (*Clarkson* 1984). So würde eine metabolische Kontrolle des Transportes ermöglicht, was aus plausiblen theoretischen Gründen gefordert wird (*Lüttge* 1973; *Lüttge & Higinbothan* 1979; u.a.).

In der Vergangenheit wurde in einer großen Anzahl von Untersuchungen, auf die hier im Einzelnen nur stichpunktartig eingegangen werden soll, der Transport verschiedener Nährelemente in unterschiedlichen Pflanzen betrachtet (zusammenfassender Überblick in: *Läuchli* 1976; *Spanswick* 1976; *Pitman & Cram* 1976; *Lüttge & Higinbothan* 1979; *Marschner* 1986; *Clarkson & Lüttge* 1989). Für die in der vorliegenden Arbeit hauptsächlich betrachteten Nährelemente sollen die dabei gewonnenen Erkenntnisse über deren Transportwege kurz zusammengefaßt werden. Das zweiwertige Kation Ca^{2+} wird demnach vor allem über den Apoplasten transportiert (*Clarkson* 1984). Nach Untersuchungen von *Arisz & Wiersema* (1966) werden Ca-Ionen nicht durch Plasmodesmen transportiert. Ein deutlicher symplasmatischer Transportanteil wird vor allem auch für unwahrscheinlich angesehen, weil die freie Ca-Konzentration im Cytosol mit $< 10^{-7}$ mol/l sehr gering ist (*Williamson* 1981). Eine geringe Ca^{2+}-Konzentration soll die Funktion von Ca als Regulator (= "second messenger"; z.B. *Reddy et al.* 1987) erst ermöglichen. Weiterhin kann eine zu hohe Ca^{2+}-Konzentration im Cytosol zur Precipitation des vorhandenen PO_4^{2-} führen (*Hepler & Wayne* 1985). Jedoch läßt sich grundsätzlich, wie im Kap. 7.2 bereits ausführlich diskutiert wurde, aus einer niedrigen Konzentration nicht automatisch auch auf niedrige Transportraten schließen. Dies gilt auch für die niedrigen Ca^{2+}-Konzentrationen im Phloem, in dem Ca als immobil angesehen wird (*Ziegler* 1975; *Raven* 1977), so daß der Ferntransport von Ca nahezu ausschließlich im Xylem erfolgen soll (vgl. *Zimmermann* 1964). Auch der Transport von Mg erfolgt zum großen Teil über den Apoplasten, jedoch gilt Mg^{2+} auch als phloemmobil (*Schimansky* 1973; *Ferguson & Clarkson* 1976). K wird im Symplasten transportiert (*Pitman & Saddler* 1967). Der Ferntransport erfolgt über Xylem und Phloem (*Jeschke et al.* 1985). Gleiches gilt auch für Na (*Wolf & Jeschke* 1987). Die Untersuchungen zum K-Transport erfolgen dabei häufig mit einer Markierung durch ^{86}Rb, wobei davon ausgegangen wird, daß sich Kalium und Rubidium bei den zu beobachtenden Prozessen gleich oder zumindest sehr ähnlich verhalten. *Marschner & Schimansky* (1968) wiesen bei gleichzeitiger Markierung der Nährstoffaufnahme in Gerstenkeimpflanzen mit ^{42}K und ^{86}Rb bei niedrigen Außenkonzentrationen eine höhere ^{42}K-Aufnahme und bei hohen Außenkonzentrationen eine höhere ^{86}Rb-Aufnahme nach, so daß eine Markierung von Kalium mit ^{86}Rb zu Fehlinterpretationen bezüglich der K-Aufnahme führen kann.

Trotz der zahlreichen Untersuchungen in der Vergangenheit ist die Frage nach dem Transportweg in Abhängigkeit vom jeweiligen gelösten Stoff, bzw. nach der Kombination der Wege, auch weiterhin Gegenstand der Diskussion. Dies ist vor allem auch durch die methodischen Probleme bedingt (siehe auch Kap.7.2). Bei entsprechenden Untersuchungen spielen die strukturellen/funktionellen Zusammenhänge im jeweiligen zu untersuchenden Pflanzenmaterial eine entscheidende Rolle. Bisherige Versuche zum Ionentransfer aus der Außenlösung in die Xylem-Fernleitungsbahnen an Bäumen reichen zur Klärung der offenen Fragen nicht aus. Insbesondere fehlen Untersuchungen an mykorrhizierten Feinstwurzeln, wobei diese unter natürlichen Bedingungen obligatorisch auftretende Vergesellschaftung der Baumwurzeln mit Pilzen eine Klärung darüberhinaus erschwert (siehe auch Kap. 2 u. 7.6).

In Experimenten mit mykorrhizierten Feinstwurzeln von Fichten aus Erdkulturen wurden wesentliche Befunde bei der Untersuchung der Zugänglichkeit bis ins primäre Xylem erzielt. Weiter standen Fragen nach passiver oder aktiver Ionenaufnahme und nach dem Einfluß von pH, Aluminium-Angebot und weiterer Elemente auf die Ionenaufnahme in mykorrhizierten Feinstwurzeln im Vordergrund. Von besonderem Interesse ist hierbei das Verhalten der mineralischen Makronährelemente Mg, K und Ca. Dabei erlaubt deren Markierung mit stabilen Isotopen in Verbindung mit der Laser-Mikrosonden-Massen-Analyse (LAMMA) das Verhalten im Gewebe auf zellulärer Ebene zu untersuchen. Darüber hinaus wurde die Verteilung von Na und Al im Gewebe bestimmt.

Einen Schwerpunkt der Untersuchungen zu diesen Fragestellungen bilden die kinetischen Versuchsreihen (Variation der Applikationszeit von 2min bis 48h) bei 6°C bzw. 22°C Wurzeltemperatur. Hiermit sollte insbesondere die Zugänglichkeit für Mg, K und Ca untersucht werden sowie ein Hinweis erhalten werden, ob dabei eher aktive oder passive Mechanismen vorliegen. Dabei zeigen die Isotopenzusammensetzungen in den Zellwänden des Cortexbereichs für Ca (im wesentlichen auch für Mg) einen schnellen kompletten Austausch innerhalb weniger Minuten zwischen der Markierungslösung und den Zellwänden bis zur Endodermis, mit nur geringer Zeitverzögerung zwischen innerem und äußerem Cortexbereich. Erst mit deutlicher Zeitverzögerung steigt auch der markierte Anteil in den Zellwänden des primären Xylem an (diese entspricht auch der hier nicht gezeigten Isotopenzusammensetzung in den anderen Zellwänden im Zentralzylinder z.B. der Parenchymzellen). Dabei zeigt sich, anders als beim später zu diskutierenden K, keine Hemmung des Ionenaustausches mit abnehmender Wurzeltemperatur. Diese Befunde weisen deutlich auf den Diffussionsbarrieren-Charakter der Endodermis für Ca und Mg hin. Die Unabhängigkeit von der Wurzeltemperatur gibt für diese Elemente jedoch keinen Hinweis auf einen postulierten metabolisch kontrollierten Zugang in den Zentralzylinder. Denkbar ist, wenn auch über einen so großen Temperaturbereich eher unwahrscheinlich, daß ein solcher Prozess keine Sensitivität auf die vorgegebene Temperatur-Veränderung zeigt. Weiterhin wäre es auch theoretisch möglich, daß ein zweiter gegenläufiger Mechanismus diese Sensitivität "maskiert". Dies läßt sich hier nicht mit Gewißheit ausschließen. So können Pflanzen unter Stressreaktionen, wie z.B. auch bei einer Temperaturerniedrigung, Chelate bilden, die als Komplexbildner einen wesentlichen Einfluß auf den Transport geladener Teilchen ausüben (*Isermann* 1971, 1978; *Clarkson et al.* 1974; *Clarkson* 1984; u.a.).

Aber auch ein rein apoplasmatischer Transportweg für Ca und Mg bis in den Zentralzylinder ohne "zwischengeschaltete" metabolische Kontrolle ist in den vorliegenden Experimenten vorstellbar. Dazu muß die Struktur der Endodermis vor allem in ihrer Funktion als "Barriere" des apoplasmatischen Transportes genauer betrachtet werden, was in der vorliegenden Arbeit bei der großen Zahl der zu analysierenden Mykorrhizen nicht durchführbar war. Die Ausbildung der Endodermis ist stark von der betrachteten Spezies und deren Wachstumsbedingungen abhängig (*Clarkson & Robards* 1975). *Kottke & Oberwinkler* (1990) untersuchten an Sterilkulturen mykorrhizierter Fichten-Feinstwurzeln die Struktur und Bildung der Endodermis. Sie beschrieben die Bildung einer primären Endodermis mit Casparischem Streifen (Einlagerungen in den Radialwänden) bereits in der vom Meristem aus betrachteten zweiten Endodermis-Zellreihe, während *Jorns* (1987) an Fichten-Langwurzeln diese erst ca. 2,5mm hinter dem Meristem fand. *Kottke & Oberwinkler* (1990) machen für diesen Unterschied die deutlich schnellere Entwicklung der Langwurzeln verantwortlich (vgl. Kap. 7.1). Weiter beschreiben sie in Fichten-Mykorrhizen die Bildung einer sekundären Endodermis im Bereich des Hartig'schen Netzes durch Auflagerungen von Suberin-Lamellen auf der Innenseite der langen Endodermiszellen, die kurz darauf kollabieren. Die Auflagerungen waren nicht in den jeweils in die Endodermis einzeln eingestreuten, kurzen, voll turgeszenten Endodermiszellen anzutreffen. Diese wiesen als weiteren Gegensatz zu Ersteren eine große Zahl von Plasmodesmen zum Zentralzylinder hin auf. Sie werden daher auch als Durchlaßzellen ("passage cells") bezeichnet. Welchen Beitrag sie beim symplasmatischen Stofftransport in Fichtenwurzeln liefern, läßt sich hier nicht näher analysieren. Durchlaßzellen bei Fichten lassen sich eindeutig an Längsschnitten ansprechen (*Kottke & Oberwinkler* 1990). Dies war in der vorliegenden Arbeit wegen der Präparationstechnik für Mikrosonden-Analysen in Serie nicht durchführbar, da solche Längstrockenschnitte meist an den Zellwänden entlang aufreißen. So konnten für Serien-Untersuchungen nur Querschnitte verwendet werden, mit denen sich Durchlaßzellen nicht systematisch untersuchen lassen.

Ein rein apoplasmatischer Transport ist von den Cortex-Zellwänden in den Zentralzylinder über die ersten noch nicht mit einem Casparischen Streifen versehenen Endodermis-Zellwände und über die Zellwände des meristematischen Bereiches möglich. Hier nicht näher vorgestellte Messungen an einem Längsschnitt wiesen nach 48h Markierung mit stabilen Isotopen in den Zellwänden über den gesamten Längsschnitt annähernd gleiche Isotopenverhältnisse auf. Weiterhin wäre es denkbar, daß die markierten Isotope aus oberen Wurzelbereichen z.B. über "Störstellen" (z.B. Seitenwurzelbildung; *Sanderson* 1983; *Häussling et al.* 1988; siehe auch Kap. 7.1 u. 7.7) in den Zentralzylinder gelangten. Als ein weiterer rein apolasmatischer Transferweg ist auch eine Diffusion durch den Casparischen Streifen denkbar, wobei hier die Diffusionsgeschwindigkeiten gegenüber in den Cortex-Zellwänden deutlich geringer wäre. Für detaillierte biochemische Untersuchungen ist die Endodermis kaum zugänglich. Weiterhin muß die Einlagerung von hydrophoben Komponenten in eine hydrophile Zellwandmatrix nicht zwangsläufig deren Undurchlässigkeit für Wasser und Ionen bedeuten (*Klute* 1959a+b; *Yamada et al.* 1964; *Sitte* 1975; *Wattendorf* 1980; *Schönherr* 1976a+b, 1982; *Clarkson et al.* 1987). *Steudle & Jeschke* (1983) schließen aus Wasserleitfähigkeits-Messungen in Gerstenwurzeln auf einen rein apoplasmatischen Pfad in den Zentralzylinder im Gegensatz zu *Peterson* (1987). *Peterson* schloß bei einer Markierung des apoplasmatischen Transportes mit einem Fluoreszenzfarbstoff auf die Undurchlässigkeit der Endodermis. Jedoch liegt das Molekulargewicht des verwendeten Farbstoffes (Cellufluor) bei 897 Dalton und liegt damit erheblich über der Größe der hydratisierten Ionen (*Israelachvili* 1985) und somit sind Aussagen über einen Transport von Farbstoffen nur bedingt auf Ionen übertragbar.

Auch wenn beim Ca- bzw. Mg-Transfer in den Zentralzylinder eine metabolische Kontrolle aus oben genannten Gründen nicht 100%-ig auszuschließen ist, deutet doch vieles auf einen apoplasmatischen Transport in den Zentralzylinder und in die Xylem-Fernleitungsbahnen. Auf solch einen Transportweg bis zum primären Xylem, nur über den Apoplasten, deutet auch die Präsenz von Al im Zentralzylinder der Mykorrhizen. Der Al-Gehalt ist hier jedoch wesentlich geringer als im Cortex. Dieser steigt bei Al-Zugabe in den Versuchslösungen sowohl im Cortex wie auch in der Zellwand des primären Xylem an. Dabei wäre eine fehlende metabolische Kontrolle der Translokation in den Zentralzylinder des potentiell toxisch wirkende Aluminiums von Nachteil (Übersicht zur Al-Problematik: *Foy et al.* 1978; *Foy* 1984).

Änderungen der Temperatur zur Charakterisierung solcher und anderer metabolischer Prozesse ist dabei eine häufig angewandte Methode. Bei einer vorliegenden Temperaturabhängigkeit läßt sich jedoch nicht ohne weiteres eindeutig auf einen aktiven Prozess schließen. *Kedem* (1961) setzt voraus, daß ein aktiver Transport auf stoffwechselabhängigen, chemischen Reaktionen beruht. Diese laufen innerhalb von Membranen ab, wobei alle Materieflüsse durch eine Membran sich gegenseitig beeinflussen. Danach liegt ein aktiver Teilchen-Transport dann vor, wenn diese an den chemischen Reaktionen, mit denen ihr Transport energetisch gekoppelt ist, nicht selbst beteiligt sind. Dieses Kriterium ist jedoch i.d.R. nicht eindeutig über eine Temperturabhängigkeit zu überprüfen. Wenn diese vorliegt, ist dies kein ganz einwandfreies Kriterium für die Beteiligung von Stoffwechselreaktionen, da auch ein passiver (im Sinne der Nernst'schen Gleichung und des Fick'schen Gesetzes) Ionentransport über eine Membran temperaturabhängig sein kann (vgl. *Schlögel* 1964; *Lüttge* 1973). Eine Temperaturabhängigkeit wie im vorliegenden Fall bei K kann daher lediglich ein Indiz für einen aktiven oder einen membranabhängigen und damit unter metabolischer Kontrolle stehenden Prozeß sein. Experimentell können weiterhin die Verwendung von spezifischen Stoffwechselinhibitoren oder Sauerstoffentzug Evidenzen für stoffwechselabhängige Transportprozesse erbringen. Ähnliche Befunde wie im vorliegenden Fall fand *Schimansky* (1981) bei der gleichzeitigen Radioaktivmarkierung für Mg (^{28}Mg), K (^{86}Rb) und Ca (^{45}Ca) der Nährstoffaufnahme in Gerstenpflanzen über 2h bzw. 12h bei 5°C,

15°C und 25°C Wurzeltemperatur. Aus unterschiedlichen Temperaturabhängigkeiten (dem sogenannten Q_{10}-Wert) der Gesamtgehalte in Wurzeln und Sproß schloß er bei der K-Aufnahme, insbesondere beim K-Transport in den Sproß, auf einen aktiven Prozeß, im Gegensatz zum mehr passiven Verhalten bei der Mg- und Ca-Aufnahme in Wurzeln. Dies deckt sich im wesentlichen auch mit Beobachtungen von *Drew & Biddulph* (1971) an intakten Bohnenpflanzen, die bei Temperaturvariation und Verwendung verschiedener Stoffwechsel-Inhibitoren nur einen geringen Einfluß auf die ^{45}Ca-Aufnahme, jedoch einen großen Einfluß auf die ^{42}K-Aufnahme in Wurzeln fanden. Für beide Elemente fanden sie einen deutlichen Einfluß auf die Translokation in den Sproß. *Johnson & Jackson* (1964) fanden bei Weizen einen deutlichen Temperatureffekt dagegen auch bei der Ca-Aufnahme in Wurzeln. Für Gesamtgehalte in Wurzeln und bei der Translokation in den Sproß spielen verschiedene Faktoren eine Rolle, die in unterschiedlicher Art und Weise durch die Temperatur beeinflußt werden können (vgl. *Levitt* 1980; *Drew* 1990). In der vorliegenden Arbeit werden dagegen nur die Prozesse bei der Translokation von der Außenlösung bis in den Zentralzylinder in einer bestimmten Entwicklungszone der Mykorrhizen (im Bereich des sich entwickelnden Xylem) unmittelbar direkt im Gewebe, vor allem in den Zellwänden, betrachtet. Daher sind die zitierten Befunde nur bedingt mit den hier erzielten Ergebnissen vergleichbar (vgl. Kap. 7.1).

Für eine detaillierte Diskussion der hier vorgestellten Aufnahme- bzw. Austauschkinetiken liegt es zunächst nahe, einen Vergleich mit der in der Transportphysiologie häufig angewandten Methode, der Kompartimentanalyse, zu ziehen. Dazu wird die Kinetik des Isotopenaustausches zwischen einem radioaktiv beladenen Pflanzengewebe und einer nicht-markierten Außenlösung bestimmt. Unterschiedliche Phasen in der Auswaschkinetik, in Form von unterschiedlichen Steigungen im zeitlichen Ablauf, werden "in Serie geschalteten" Kompartimenten (wie z.B. bei 3 Phasen: dem AFS, Cytoplasma und Vakuole) oder auch parallelen Kompartimenten zugeordnet. Nach *Lüttge* (1973) erhält man zunächst einen "... Formalismus, der kinetische Versuchsergebnisse mit verschiedenen Bildern, die wir uns von der Zelle machen können, korreliert. Wir erhalten durch diesen kinetischen Formalismus Hinweise über die Anzahl der Kompartimente, die beim Transport und bei der Verteilung einer betrachteten Teilchensorte eine Rolle spielen, über das Fassungsvermögen (die Kapazität) der Kompartimente und über die Größe und die gegenseitige Abhängigkeit der einzelnen Fluxe an den Kompartimentsgrenzen. Eine Aussage über die Identität der formal erfaßten Kompartimente mit wirklichen Kompartimenten der Zelle ist zunächst nicht unmittelbar möglich." Eine Zuordnung von kinetischen Kompartimenten zu cytologischen Strukturen läßt sich nur durchführen, wenn weitere Informationen über das zu untersuchende System vorliegen. Bei einigen gegenüber Mykorrhizen deutlich einfacheren Strukturen konnte eine indirekte Zuordnung zu cytologischen Strukturen erfolgen, wobei jedoch noch Fragen offen blieben (*Cram* 1968; *Jeschke* 1977; *Rygiewicz et al.* 1984c; *Hajibagheri et al.* 1988; u.a.). Insbesondere bei sehr komplexen Strukturen, wie in der vorliegenden Arbeit bei Mykorrhizen an intakten Pflanzen, läßt sich eine sichere Zuordnung der Identität von eventuell vorliegenden Phasen bei Auswaschkinetiken kaum durchführen. So zeigen z.B. der Elementaustausch zwischen Pflanze und Markierungslösung und die Mikrosonden-Analysen in Mykorrhizen, daß eine Element-Translokation aus dem Sproß über die Wurzeln in die Lösung schneller erfolgen kann als ein Austausch mit dem Zellumen von Cortexzellen der mit der Lösung im unmittelbaren Kontakt stehenden Mykorrhizen. Die Problematik der zuzuordnenden cytologischen Strukturen wird in der vorliegenden Arbeit durch die direkten Messungen im Gewebe umgangen, wobei eine Grenze in der Auflösung von LAMMA liegt.

Neben der deutlichen Temperaturabhängkeit der K-Translokation in Mykorrhizen zeigt K im Gegensatz zu Ca und Mg beim Austausch mit der Außenlösung in allen Markierungsexperimenten einen

wesentlich geringeren, markierten, aus der Außenlösung stammenden Elementanteil. Dagegen steht bereits nach wenigen Minuten (s.o.) der gesamte Ca-Gehalt in den Cortex-Zellwänden mit der Außenlösung im Gleichgewicht und weist das gleiche Isotopenverhältnis auf. Für Mg sollte dies auch so gelten, auch wenn der mit LAMMA bestimmte Markierungsanteil in den inneren Cortex-Zellwänden geringer ausfällt. Dies dürfte, wie bereits diskutiert, daran liegen, daß durch die zu geringe Auflösung der Laser-Mikrosonde Zellumen der Cortex- und Hyphenzellen mit hohem nicht ausgetauschten Mg-Gehalt z.T. mitgemessen wurde. Dies wird u.a. dadurch bestätigt, daß bei einer kurzzeitig einsetzenden Erniedrigung des pH-Wertes auf 2,5 , bei dem intrazelluläre Zellstrukturen durch offensichtliche Zerstörung in den Cortexzellen nicht mehr nachzuweisen waren, der Mg-Gehalt in den verbliebenen reinen Zellwandmessungen im Gleichgewicht mit der Außenlösung steht. Weiterhin spricht für diese Interpretation, daß bei hoher Mg-Konzentration von 10mmol/l in der Markierungslösung und deutlich erhöhten Mg-Gehalten in den Zellwänden der nichtmarkierte Mg-Anteil in den Cortex-Zellwandmessungen auf unter 10% sinkt. Für Ca fällt der z.T. mitanalysierte Ca-Gehalt der Zellumen nicht signifikant ins Gewicht, da deren Ca-Konzentrationen deutlich geringer als in den Zellwänden sind. Wegen der geringen relativen Ca-Gehalte im Zellumen lassen sich nur Aussagen mit sehr hohen Standardabweichungen über den hier markierten Elementanteil treffen. Dies läßt die Meßgenauigkeit von LAMMA mit z.T. überlagernden organischen Bruchstücken im Massenspektrum nicht genauer zu. Weiterhin konnte bei Lumen-Messungen wegen präparativer und meßbedingter Schwierigkeiten nicht zwischen verschiedenen Zellorganellen bzw. Zellkompartimenten unterschieden werden (vgl. Kap. 7.3). Auch für Mg läßt sich bei hohen relativen Lumen-Gehalten im Vergleich zu den Zellwand-Gehalten nur mit größeren Standardabweichungen ein meist sehr geringer, markierter Mg-Anteil angeben. Eine Temperaturabhängigkeit wurde hier nicht gefunden und der apoplasmatische Transportweg im wesentlichen diskutiert. Dagegen weist K in Lumen und Zellwand nach Markierung gleiche Isotopenverhältnisse auf. Dabei tritt weiterhin keine zeitliche Verzögerung beim Übergang in den Zentralzylinder auf. Ob dies durch K-Verschiebung während der Präparation hervorgerufen wird, läßt sich nicht mit Sicherheit ausschließen, anders als für Mg und Ca (vgl. Kap. 7.3). Wenn man signifikante Präparationsartefakte für die K-Verteilung ausschließt, kommen als mögliche Begründung für den geringeren markierten K-Anteil ein hoher Transport von nicht-markiertem K aus oberen Pflanzenteilen und ein gegenüber Mg und Ca deutlich langsamerer K-Austausch der Außenlösung mit den Zellwänden in Betracht.

Auf einen langsameren bzw. begrenzten K-Austausch in den Feinstwurzel-Zellwänden deuten u.a. die bei 7-tägiger Markierung deutlich höheren markierten K-Anteile in älteren Wurzelteilen, so daß ein Verdünnungseffekt durch von dort stammendes, nicht-markiertes K nicht vorliegen sollte. Weiterhin deutet in diese Richtung, daß auch bei pH 2,5 , bei aufgelösten Zellinhalten, der markierte K-Anteil in den "reinen" Zellwandmessungen, nach 48h Markierung nur ca. 40% des dort gemessenen Kaliums, aus der Markierungslösung stammt. Der ausgetauschte K-Anteil ist auch bei 10mmol/l K-Angebot in der Markierungslösung nicht höher. Ausschlaggebend für einen behinderten K-Austausch sollten die strukturbedingten physikalisch-chemischen Eigenschaften der Zellwände und deren Interaktionen mit den gelösten Stoffen, insbesondere mit den hier betrachteten Ionen, sein. Neben der Ladungszahl sollte u.a. deren unterschiedlicher Ionenradius bzw. Radius der jeweiligen hydratisierten Ionen für unterschiedliches Verhalten der Elemente mitverantwortlich sein. Für die hier im wesentlichen betrachteten Elemente betragen diese (in nm; in Klammern der Radius der hydratisierten Ionen und deren "exchange rate" in s; nach *Israelachvili* 1985): Na^+: 0,095nm (0,36nm / 10^{-9}s); K^+: 0,133 (0,33 / 10^{-9}); Mg^{2+}: 0,065 (0,43 / 10^{-6}-10^{-5}); Ca^{2+}: 0,099 (0,41 / 10^{-8}); Al^{3+}: 0,050 (0,48 / 10^{-1}-1). Wegen der unterschiedlichen Größe der hydratisierten Ionen wäre es somit möglich, daß für K im Vergleich zu Mg und Ca weitere Zellwand-Zwischenräume zugänglich sind. Allgemein liegen die Durchmesser

der intermicellaren und interfibrillaren Zwischenräume bei 1 - 10 nm (*Frey-Wyssling* 1959, *Côté* 1977). Feinstruktur-Untersuchungen in den Zellwänden von Feinstwurzeln sind nicht bekannt, insbesondere nicht der Einfluß des Hartig'schen Netzes bzw. der Matrix zwischen Pilz- und Pflanzenzellwand (vgl. Kap. 7.6). Hierdurch veränderte Zugänglichkeiten scheinen möglich. So ist der markierte K-Anteil in den Zellwänden steriler Feinstwurzeln mit 40% ca. 10% höher als in mykorrhizierten Feinstwurzeln unter gleichen Versuchsbedingungen nach 5-tägigem Angebot. Auch ist eine Temperaturabhängigkeit auf die Konsistenz der hier z.T. gelartigen Wandgrundsubstanzen und damit ein Einfluß auf die K-Diffusion möglich, womit die Hemmung der K-Aufnahme bei 6°C Wurzeltemperatur auch als rein passiver Prozeß erklärbar wäre.

Bei der Adsorption eines Ions z.B. an negativ geladenen Festionen in Zellwänden sind nicht nur deren Ladungsdichte bzw. Konzentrationen und die Art des betrachteten Ions von Bedeutung, sondern ganz entscheidend ist auch die Präsenz anderer, insbesondere höherwertiger Ionen. Dabei spielt nicht nur eine Rolle, inwieweit mögliche Bindungsstellen durch diese konkurrierenden Ionen besetzt sind, sondern diese verändern auch im weiteren das Oberflächenpotential und darüber die Verteilung des zu betrachtenden Ions (eine umfassende Betrachtung von intermolekularen und von Oberflächenkräften bietet *Israelachvili* (1985); für einen vergleichenden Überblick der Koordinations-Chemie von Alkali- und Erdalkali-Kationen, siehe *Poonia & Bajaj* (1979)). Für die Zugänglichkeit in Wurzeln der hier untersuchten Kationen ist aus Elektroneutralitäts-Gründen weiterhin die Zugänglichkeit von Gegen-Anionen mitentscheidend. Die Betrachtung dieser war in der vorliegenden Arbeit nicht möglich. Jedoch sollte die Verwendung des LAMMA-Anionenspektrums bei zukünftigen Untersuchungen einen Beitrag dazu erbringen können.

Zur Fragestellung der gegenseitigen Einflußnahme von Na, Mg, K und Ca auf den Elementgehalt und den Ionenaustausch der jeweils anderen angebotenen Kationen wurden in Markierungsexperimenten die Elementkonzentrationen für Na, ^{25}Mg, ^{41}K und ^{44}Ca jeweils einzeln von 0,1mmol/l, über 1mmol/l bis 10mmol/l variiert, während die drei anderen Elemente jeweils mit 1mmol/l den Pflanzen angeboten wurden. Dabei stellten sich unterschiedliche Wechselbeziehungen in der jeweiligen Aufnahme der Elemente untereinander ein. Während die relativen Elementgehalte z.T. eine deutliche gegenseitige Beeinflussung aufweisen, wurde der Elementaustausch im wesentlichen nicht verändert, d.h. die markierten Elementanteile blieben gleich. Verglichen mit der "Standardzusammensetzung" (jeweils 1mmol/l Na, Mg, K, Ca; pH 4,5) führt eine Verzehnfachung der Kationenkonzentration eines Elementes in etwa zu einer Verdoppelung des jeweiligen Elementgehaltes in den Cortex-Zellwänden der Mykorrhizen. Eine antagonistische Wirkung einer Na-Konzentrationserhöhung zeigt sich in einer Halbierung der Mg-, K- und Ca-Gehalte. Eine Konzentrationserhöhung von Mg, K bzw. Ca hat dagegen sowohl einen hemmenden wie auch fördernden Einfluß auf den Gehalt der übrigen Elemente. Antagonistisch wirkt eine Erhöhung von K auf Na und Mg und von Ca auf Mg. Die anderen Wechselbeziehungen zeigen dagegen eine gegenseitige Förderung der Elementgehalte bei Erhöhung der Ausgangskonzentrationen, was einen reinen stöchiometrischen apoplasmatischen Austausch im bzw. am Ionenaustauscher Zellwand ausschließt, welcher bei den antagonistischen Wirkungen vor allem vorliegen sollte. Wie bereits erwähnt, spielen auch die Gegen-Anionen bei der Elementverteilung eine große Rolle, so daß zur weiteren Klärung hier noch eingehende Untersuchungen durchgeführt werden müssen. Weiterhin ist nicht auszuschließen, daß die Variation der Elementkonzentrationen zu Veränderungen in der Struktur der Zellwände führt, welche dadurch wiederum einen Einfluß auf die Zugänglichkeit für die anderen betrachteten Ionen hat. Die Anlagerung bivalenter Kationen, vor allem von Ca^{2+}, führt z.B. zu einer Verknüpfung einzelner Pektinsäureketten in Zellwänden (vgl. *Lüttge 1973*).

Auf einen detaillierten Vergleich mit den umfangreichen Untersuchungen zahlreicher Autoren zur gegenseitigen Beeinflussung der Aufnahme von Nährelementen bei verschiedenen Pflanzengattungen soll an dieser Stelle verzichtet werden (vgl. *Viets* 1944; *Epstein* 1962; *Marschner* 1964; *Mengel & Helal* 1967; *Pitman et al.* 1968; *Schimansky* 1975; *Läuchli* 1976; *Haynes* 1980; u.a.). Auch in diesen Untersuchungen zeigten sich antagonistische wie auch fördernde Effekte in der Aufnahme der Elemente untereinander. Jedoch sind diese Ergebnisse aus den bereits oben genannten Gründen nur bedingt mit den hier vorliegenden Untersuchungen innerhalb des Gewebes vergleichbar.

Insbesondere bei der Beurteilung von Waldschäden sind zwei weitere Parameter der pflanzenverfügbaren Aufnahmelösung von zentraler Bedeutung, die Protonen-Konzentration und die Aluminium-Konzentration bzw. der Al-Antagonismus (vgl. Kap. 2 u. 7.4). Zur Beschreibung des Einflusses einer kurzfristig einsetzenden pH-Wert-Änderung des die Pflanze umgebenden Mediums auf den Elementgehalt und auf die Ionenaufnahme bzw. auf die Ionenaustauscher-Eigenschaften von Mykorrhizen wurden Versuchslösungen mit unterschiedlichem pH-Wert über 48h angeboten. Die Variation der H^+-Konzentration in der Versuchslösung zeigte deutlich die Pufferkapazität der in Normalerde, bei einem pH-Wert der Bodenlösung von 6 - 7 , gewachsenen Wurzeln. Dabei veränderten die Pflanzen den pH-Wert der ungepufferten Versuchslösungen z.T. erheblich (bei angebotenem pH 3,5 bis 6,7 auf pH 6,7 - 7,2). Für eine genauere Untersuchung der Elementaufnahme in Abhängigkeit vom pH-Wert der angebotenen Lösung müßte aus diesem Grund eine Pufferung der Lösung erfolgen, wobei möglichst die Ionenkonzentrationen der anderen Ionen unbeeinflußt bleiben sollten. In der vorliegenden Arbeit wurden Puffer nicht eingesetzt, da diese in den benötigten, relativ hohen Konzentrationen oftmals phytotoxische Wirkungen zeigen (vgl. *Giltrap & Lewis* 1981) und die Ionenaufnahme in unbekannterweise beeinflussen können (vgl. *Jentschke* 1989). Nur beim niedrigsten angebotenen pH-Wert von 2,5 blieb der eingestellte pH-Wert mit ca. 2,9 annähernd erhalten. Geringe pH-Werte mit unter 3 werden auch an Standorten wie z.B. in der Auflage vom Standort "POSTTURM" gefunden, auch Versauerungsschübe im Boden, vor allem im Porenbereich, wurden beschrieben (Literatur, siehe Kap. 2 und 7.4). Jedoch ist eine plötzliche Änderung über 4 pH-Stufen eher unwahrscheinlich und dürfte der Pflanze kaum eine Adaptation erlauben. Im vorliegenden Experiment führte dieser pH-Sprung zur erheblichen Schädigung bzw. Auflösung der Lumeninhalte in den Cortexzellen von Mykorrhizen der hier verwendeten Fichten aus Normalerde. Daher liegen für die höchste Protonenkonzentration (pH 2,5) "reine" Zellwand-Messungen mit LAMMA ohne Lumenanteil vor (s.o.). Dabei zeigte sich, daß die hohe H^+-Konzentration in der Lage war, in erheblichem Umfang sowohl Mg und Ca wie auch Al aus der Zellwand zu verdrängen (vgl. *Rost-Siebert* 1985; *Stienen & Bauch* 1988; u.a.). So wurde der Mg-Gehalt in den Cortex-Zellwänden um ca. 35%, der Ca-Gehalt um ca. 45% und auch der K-Gehalt deutlich gegenüber höheren pH-Werten erniedrigt. Dagegen wurde der Austausch dieser Elemente mit der Außenlösung nicht beeinflußt. Der Al-Gehalt wurde sowohl im inneren Cortex wie auch im primären Xylem deutlich erhöht, bei einer Verringerung des Al-Gehaltes im Cortex-außen. Da kein Al in den Versuchslösungen angeboten wurde, kann die Erhöhung der Al-Gehalte im Wurzelinneren nur durch eine Verlagerung des bei diesen Pflanzen nur außen an den Wurzeln vorhandenen Al herrühren (auch von morphologisch älteren Wurzelteilen). Der etwa 10-fach erhöhte Al-Gehalt im primären Xylem könnte auch auf eine eventuelle Schädigung der Barriere-Funktion der Endodermis und damit auf eine Erhöhung der Zugänglichkeit für Al bis in den Zentralzylinder der Mykorrhizen hinweisen. Weiterhin wurden auch die Na-Gehalte der Zellwände bei pH 2,5 deutlich erhöht (2- bis 4-fach). Inwieweit auch hier Veränderungen der Zugänglichkeit für Na Verschiebungen aus höheren Pflanzenteilen oder Ionenwechselwirkungen vorliegen, ist dabei noch unklar.

Auch bei einer weiteren Versuchsreihe mit Normalerde-Pflanzen bei einer Al-Zugabe zur Markierungslösung wurde eine deutliche Erhöhung des Na-Gehaltes im gesamten Querschnitt der Mykorrhizen festgestellt. Dabei bestätigen die hier vorgestellten Markierungsexperimente zur Rolle des Al-Antagonismus im wesentlichen die bereits mehrfach beschriebene antagonistische Wirkung von Al auf den Ca- und Mg-Gehalt in den Zellwänden von Fichtenwurzeln (*Bauch & Schröder* 1982; *Rost-Siebert* 1985; *Schröder et al.* 1988; *Jentschke* 1989; u.a.). Dies zeigte sich sowohl bei der "Standardzusammensetzung" (je 1mmol/l Na, ^{25}Mg, ^{41}K, ^{44}Ca) bei einer pH-Wert - Erniedrigung auf 3,4 und einer gleichzeitigen 2mmol/l $AlCl_3$ Zugabe und Normalerde-Pflanzen bei 24h Markierung wie auch bei Fichten aus Mineralboden-Erdkultur über 7 Tage Markierungsdauer. Während nach 24h Versuchsdauer die Al-Erhöhung im gesamten Apoplasten neben der Verringerung der Mg- und Ca-Gehalte auch zu einer Verringerung des jeweiligen ausgetauschten Elementanteils führt, ist letzteres nach 7 Tagen Versuchsdauer nicht ausgeprägt bei einer Erhöhung des markierten K-Anteils. Für eine weitere Klärung des Zeitverhaltens des Al-Antagonismus könnten Zeitreihen wie oben zur Zugänglichkeit von Mg, K und Ca dienen. Wie in umfangreichen Untersuchungen zum Einfluß und zur Wirkung von Al auf Pflanzen nachgewiesen wurde, verdrängt Al zweiwertige Kationen nicht nur von den Zellwand-Austauscherstellen, sondern auch von Bindungsstellen an Plasmamembranen. Dies kann zu schwerwiegenden Beeinträchtigungen ihrer Funktionsfähigkeit führen (umfassende Übersicht zur Wirkung von Al und Protonen siehe *Foy* 1984).

Da Aluminium auch in inneren Bereichen der Mykorrhizen gefunden wird, widerspricht dies der häufig geäußerten Vorstellung, daß der Pilz durch Hyphenmantel und Hartig'sches Netz als eine Art "Schutzschild" den Zugang von Ionen stark behindert bzw. im Fall von potentiell toxischen Elementen gänzlich verhindert (*Harley & Smith* 1983; u.a.). Auch für Schwermetalle, wie Zn und Pb, wurden signifikante Gehalte in den inneren Cortexbereichen und im Zentralzylinder von mykorrhizierten Fichten-, Kiefern- und Buchen-Feinstwurzeln von verschiedenen Autoren mit der Röntgen-Mikrosonde nachgewiesen (*Godbold et al.* 1988; *Donner & Heyser* 1989; *Jentschke* 1989; *Kumpfer* 1991; *Winn-Börner* 1991). Bei der Beurteilung der Funktion der Mykorrhizierung bei der Translokation von Ionen in Feinstwurzeln spielen daher die Ionenaustauscher-Eigenschaften der Pilzzellwand eine wesentliche Rolle (siehe auch Diskussion im nachfolgenden Kapitel).

Im Kap. 7.7 wird im weiteren diskutiert, welchen Einfluß die antagonistische Wirkung von Al insbesondere für Mg und Ca auf die Translokation dieser Elemente in die gesamte Pflanze hat.

7.6 Bedeutung der Mykorrhiza bei der Ionenaufnahme in Fichten

Wie bereits im Kapitel 2 ausführlich dargestellt wurde, sind Fichten-Feinstwurzeln unter natürlichen Bedingungen nahezu vollständig mit verschiedenen Pilzen vergesellschaftet und bilden sogenannte Ektomykorrhizen aus. Allein schon aus anatomischen Gründen sollte diese Feinstwurzel-Pilz-Struktur einen entscheidenden Einfluß auf die Nährstoffaufnahme in Fichtenwurzeln ausüben. So können bei vollständig ausgebildeten Ektomykorrhizen Wasser und Mineralstoffe entweder nur apoplasmatisch über einen extrazellulären Weg (durch die Pilz-Zellwände des Hyphenmantels und/oder des Hartig'schen Netzes) zu den Cortexzellen gelangen oder auf dem Weg über den Pilz aufgenommen werden, der bei vollständig entwickeltem Hartig'schen Netz bis an die Endodermis reicht. Bei Elementen bzw. Nährstoffen, die über das Cytoplasma der Hyphenzellen zu den Cortexzellen gelangen, muß bei einem

Transfer zur Pflanze, wegen fehlender symplasmatischer Verbindung, ein apoplasmatischer Übergang erfolgen. Dies geschieht über die Kontaktzone zwischen Pilz und Cortexzellen, auch interface oder interfaziale Matrix genannt. Hiermit ist im Vergleich zur Aufnahme von Wasser und Nährstoffen in unmykorrhizierten Feinstwurzeln ein komplexes System mit apoplasmatischen und symplasmatischen Transportmöglichkeiten und damit unterschiedlichen Einflußmöglichkeiten bei gegenseitiger Beeinflussung von Pflanze und Pilz "vorgeschaltet" (siehe auch *Ashford et al.* 1989).

Für einige Elemente ist der Einfluß der Mykorrhizierung auf die Nährstoffaufnahme in Wurzeln nachgewiesen worden (vgl. Kap. 2). Jedoch sind noch viele Fragen nach den funktionellen Eigenschaften, die mit den strukturellen Gegebenheiten bei mykorrhizierten Feinstwurzeln gegenüber denen bei sterilen Feinstwurzeln verknüpft sind, offen. Die Bildung von Ektomykorrhizen ist bei Gymnospermen zwar unter natürlichen Bedingungen obligatorisch, jedoch scheint sie für das Gedeihen der Fichten nicht essentiell zu sein, wie dies Sterilkulturen für Fichtensämlinge unter gleichen Wachstumsbedingungen für mykorrhizierte und unmykorrhizierte Pflanzen (Kap. 6.3) und Fichten-Hydrokulturen mit grundsätzlich unmykorrhizierten Wurzeln zeigen. Für ein besseres Verständnis der bei der Aufnahme mineralischer Nährstoffe in Mykorrhizen zugrundeliegenden Funktionsmechanismen sind weitere Untersuchungen u.a. zu den folgenden Fragen notwendig: Stellen die Pilzstrukturen als Hyphenmantel und / oder im Hartig'schen Netz eine Diffusions-Barriere, eventuell abhängig vom jeweiligen Element, dar ? Liegt hier abhängig vom Element apoplasmatischer oder symplasmatischer Transport, aktive oder passive Ionenaufnahme vor ? Welche diesbezüglichen Eigenschaften hat die Kontaktzone Pilzhyphe - Wurzelzelle ? Inwieweit ist die Nährstoff- bzw. Elementaufnahme vom Entwicklungszustand der Mykorrhiza abhängig ? Haben verschiedene Pilzspezies einen unterschiedlichen Einfluß auf die Elementaufnahme ? Welchen Einfluß hat die Mykorrhizierung auf den Elementtransport in den Sproß ? Diese Fragen sind dabei z.T. miteinander verknüpft.

Die Bearbeitung dieser Fragen konnte im Rahmen der vorliegenden Arbeit lediglich in ersten Ansätzen durchgeführt werden, wobei die hier verwendete Mikrosonden-Analyse in Verbindung mit der Verwendung von stabilen Isotopen neuartige Untersuchungsansätze ermöglichen. Im weiteren beschränkt sich die Diskussion hauptsächlich auf einige wesentliche Punkte der hier vorgestellten Untersuchungen (Kap.6.3) an sterilen und mykorrhizierten Fichtensämlingen aus Petrischalen-Kulturen, die hier nur bedingt als Modellsystem geeignet erscheinen (siehe auch Abb. 1-3; Bewertung des Pflanzen-Materials: siehe Kap.7.1).

Zunächst wurden die Gesamtelementgehalte in den Fraktionen aus Wurzeln, Sproßachse und Nadeln sowie die Elementverteilung in Wurzelquerschnitten von unmittelbar aus der Kultur entnommenen 4 Monate alten Fichtensämlingen bestimmt. Damit wurde der Ausgangszustand der Elementversorgung von sterilen und mit *Pisolithus tinctorius* mykorrhizierten Pflanzen bei ansonsten gleichen Kulturbedingungen ermittelt und miteinander verglichen. Dieser sollte auch einen Einfluß auf die mit diesen Pflanzen durchgeführten Nährstoffaufnahme-Experimente haben. Beim Vergleich der Elementgehalte in Bulkproben liegen die größten Unterschiede im 30-50% niedrigeren S-Gehalt in der gesamten mykorrhizierten Pflanze, im 30% höheren Ca- und 3mal so hohen Na-Gehalt in den Nadeln und im 45% höheren Ca-Gehalt in der Sproßachse der mykorrhizierten Pflanzen. Dagegen ist der P-Gehalt in der Sproßachse unmykorrhizierter Pflanzen um ca. 30% höher, während die anderen untersuchten Nährelementgehalte lediglich maximal ca. 10%-ige Unterschiede zwischen steril und mykorrhiziert aufzeigen. Die Absolutwerte der bestimmten Elementgehalte deuten nicht auf eine akute Mangel-

situation hin (vgl. *Mengel* 1984; *Rademacher* 1986). Dabei ist zu beachten, daß unter diesen Kulturbedingungen ein Unterschied in der den Wurzeln vorliegenden Nährlösung vorliegen kann. Die angegebene für beide Varianten (steril / myk.) gleiche Nährlösung wurde je nach Bedarf in die geschlossenen Petrischalen gegeben, wobei die noch verbliebene Lösung nicht ausgetauscht wurde. Es ist daher denkbar, daß bei unterschiedlicher Transpiration oder selektiver Elementaufnahme für einzelne Elemente im Laufe der Anzuchtzeit z.B. eine Anreicherung in der zur Verfügung stehenden Lösung und damit ungleiche Bedingungen für sterile unmykorrhizierte und definiert mykorrhizierte Pflanzen vorlag. Dieser Punkt muß bei zukünftigen Kulturen berücksichtigt werden (vgl. *Jentschke* 1989).

In Feinstwurzel-Querschnitten wurde mit der Röntgen-Mikrosonde (EDXA) die Elementverteilung nach verschiedenen Geweben im Cortexbereich differenziert bestimmt. Im Vergleich von Cortex-Zellwand und direkt benachbarter Pilzhyphe im Hartig'schen Netz, Hyphenmantel und Cortex-Zellwand bei unmykorrhizierten Feinstwurzeln weisen die Cortex-Zellwände 5 bis 10mal höhere relative Ca-Gehalte gegenüber dem Pilzgewebe auf. Dies kann zum einen an einer höheren Austauschkapazität der Pflanzenzellwand für Ca liegen (vgl. Kap. 7.5), zum anderen ließ sich beim Pilzgewebe die Analyse nicht nur auf die Pilzzellwand beschränken. Es wurde daher zwangsläufig ein deutlicher Anteil Zellumen mitgemessen, so daß sich das analysierte Pilzgewebe im Vergleich zum Pflanzengewebe strukturell unterschied. Wegen der Größe des Analysenpunktes konnte weiterhin nicht die für den Elementtransfer wichtige Kontaktzone zwischen Pilz und Cortexzellen, die interfaziale Matrix, für sich allein gemessen werden. Deren Aufbau und Eigenschaften sowie die gegenseitige Beeinflussung von Pilz und Pflanze beim Eindringen der Pilzhyphen in den Cortexbereich ist noch weitgehend unbekannt (*Harley & Smith* 1983; *Harley* 1985; *Massicotte et al.* 1987; *Nylund* 1987; *Stone* 1989).

In der Gegenüberstellung der gleichen Meßpunkte im Cortexbereich fällt als zweiter großer Unterschied der ca. doppelt so hohe P-Gehalt im Pilzgewebe auf. Im Gegensatz dazu ist in den Zellwänden des primären Xylem der relative P-Gehalt bei unmykorrhizierten Feinstwurzeln ca. 3mal so hoch wie an gleicher Stelle in *P.t.* - Mykorrhizen bei etwas höherem P-Gehalt im gesamten Wurzelsystem mykorrhizierter Pflanzen. Die Zellwände im primären Xylem steriler und mykorrhizierter Pflanzen zeigen keine optisch erkennbaren Unterschiede in ihrem Aufbau. Daher sollten Analysen im primären Xylem Hinweise auf Unterschiede zwischen sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln in der Ionenaufnahme bis in das für die Versorgung der gesamten Pflanze mit Wasser und Nährsalzen entscheidende Fernleitungssystem geben können. Wie verschiedene Autoren beschreiben (*Harley* 1978; *Clarkson* 1985; *Orlovich et al.* 1989; u.a.), baut der Pilz ins Pilzlumen gelangtes P in Polyphosphate ein, so daß ständig ein hoher P- (bzw. Phosphat-) Gradient über der Pilzmembran anliegt. Die starke P-Aufnahme in die Pilzhyphen läßt im Vergleich zu unmykorrhizierten Pflanzen offensichtlich auch weniger P in den Zentralzylinder zum primären Xylem und auch weniger in die Sproßachse gelangen. Untersuchungen von *Giltrap & Lewis* (1981) zur Entwicklung von Pilzkulturen zeigten eine starke Abhängigkeit von der P-Versorgung.

An dem Verhalten der relativen P-Verteilung und P-Absolutgehalte lassen sich hier exemplarisch einige Probleme derartiger Untersuchungen darstellen. Die meisten Untersuchungen zur Elementaufnahme in mykorrhizierten im Vergleich zu unmykorrhizierten Wurzeln bzw. Pflanzen werden an Bulkproben der Wurzeln durchgeführt. Dabei handelt es sich meist um Markierung der Nährelement-Aufnahme mit radioaktiven Isotopen, z.B. für Ca (*Melin & Nilsson* 1955), für P (*Melin & Nilsson* 1950; *Harley & Lougham* 1963), für N (*Melin & Nilsson* 1952; *Bledsoe & Zasoski* 1983; *Rygiewicz et al.* 1984b) und für K mit ^{86}Rb (*Harley & Wilson* 1959; *Rygiewicz & Bledsoe* 1984; Problematik der K-Markierung siehe

auch Kap. 7.5). Dabei wird bei größeren aufgenommenen Elementmengen in mykorrhizierten Wurzeln im Vergleich zu sterilen Wurzeln oft auf einen fördernden Effekt durch den Pilz für die Aufnahme in die gesamte Pflanze geschlossen. Wie das Beispiel von Posphor zeigt, läßt sich jedoch nicht unmittelbar von einem Elementgehalt in Bulkproben von Mykorrhizen auf den für die Pflanze verfügbaren Elementanteil schließen. Aber auch vom relativen Elementanteil in der Zellwand des primären Xylem läßt sich nicht direkt auf den Gehalt in höheren Sproßteilen schließen, wie dies bei den vorgestellten Messungen am unterschiedlichen Verhalten von P und Ca mit höheren Ca-Gehalten im primären Xylem und niedrigeren Ca-Gehalten im Sproß steriler Fichtensämlinge zu erkennen ist. Es läßt sich aber auch nicht umgekehrt vom nur 1/3 so hohen relativen P-Gehalt in den Zellwänden des primären Xylem auf eine "Unterversorgung" mit P schließen. Dieser P-Gehalt kann durchaus für eine optimale P-Versorgung der Pflanze ausreichen. Es darf nämlich nicht außer acht gelassen werden, daß die vorliegenden Kulturbedingungen nicht die Gegebenheiten unter natürlichen Bedingungen bei anderen Wasser- und Nährelementbedingungen im Boden wiedergeben. Dort ist das weitverzweigte Hyphen- bzw. Rhizomorphensystem auch dank seiner hohen Affinität zu P in der Lage, entsprechende "P-Quellen zu erschließen" und der Pflanze zur "Verfügung" zu stellen, wobei für dessen Transfer der P-Gradient zwischen Pilz und Pflanze von großer Bedeutung sein sollte (*Harley et al.* 1954; *Clarkson* 1985; u.a.). *Rhodes & Gerdemann* (1978) konnten mit einer gleichzeitigen Radioaktiv-Markierung für P und Ca über den Boden im Vergleich eine gegenüber Ca 30- bis 40-fach höhere P-Transferrate in Hyphen nachweisen. Der Beitrag, den der Pilz zur Nährstoffversorgung des gesamten Baumes "erbringt" bzw. auf den er einen aktiven oder passiven Einfluß ausübt, hängt, wie am P-Beispiel zu erkennen ist, sehr stark von dessen Verfügbarkeit im Boden ab. Die Mykorrhizierung unter "normalen" natürlichen Bedingungen sollte nach allgemeiner Meinung vor allem bei der P-, N- und Wasser-Versorgung von Pflanzen eine große Rolle spielen (*Sanders & Tinker* 1973; *Sands & Theodoru* 1978; *Duddrige et al.* 1980; *Boyd et al.* 1986; *Clipson et al.* 1987; *Finlay et al.* 1988, 1989; *Jungk & Claasen* 1986, 1989).

Zur näheren Charakterisierung der Funktion der Ektomykorrhiza bei der Ionenaufnahme wurde daher die bereits mehrfach erwähnte Laser-Mikrosonden-Massen-Analyse in Verbindung mit der Markierung mit stabilen Isotopen für Mg, K und Ca an Petrischalen-Fichtensämlingen angewendet. Nach 5 Tagen Markierungsdauer zeigen - unter den gewählten Bedingungen - LAMMA-Messungen von Zellwänden im primären Xylem ein annähernd gleiches Isotopenverhältnis für Mg und Ca in sterilen bzw. mykorrhizierten Feinstwurzeln. Dabei sind diese Isotopenverhältnisse annähernd gleich dem der Markierungslösung, und somit stehen die Feinstwurzeln mit der Außenlösung im Gleichgewicht. Dieser Zustand läßt jedoch nicht unmittelbar den Schluß zu, daß die entsprechenden Elementaufnahme- bzw. Ionenaustausch-Raten bis in den Zentralzylinder hinein in etwa gleich groß sind. Aussagen darüber, ob hier z.B. durch den stark entwickelten Hyphenmantel fördernde oder hemmende Effekte vorliegen, lassen nur Zeitreihen-Untersuchungen im Vergleich von mykorrhizierten und unmykorrhizierten Feinstwurzeln zu (vgl. Kap. 6.2.2 an Fichten aus Erkulturen bei zwei unterschiedlichen Wurzeltemperaturen). Ein deutlicher Unterschied zeigt sich im höheren markierten K-Anteil in den sterilen Feinstwurzeln. Dies könnte an einer höheren Beweglichkeit der K-Ionen bis in den Zentralzylinder in sterilen Feinstwurzeln liegen, jedoch beträgt auch hier der markierte K-Anteil nur ca. 40% (Vergleich von Mg-, Ca- und K-Aufnahme siehe Kap.6.2.2. bzw. 7.5). Bei symplasmatischem K-Transport sollte ein Fluß zwischen Cortexzellen in sterilen Wurzeln eher möglich sein, da die Cortexzellen nicht durch Pilzhyphen voneinander getrennt sind. Dies ist besonders deutlich beim stark entwickelten Pilz unter den hier vorliegenden Kulturbedingungen. Hier erscheint es nicht möglich, daß vor allem die äußeren Cortex-Zellreihen noch über Plasmodesmen miteinander verbunden sind. Dieser Unterschied zwischen sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln kann auch mit einer anteilmäßig hohen K-Aufnahme der

Pilzgewebe in Mykorrhizen in Verbindung stehen, wie sich dies z.B. für Na aus den relativen Na-Gehalten deuten ließe. So ist der relative Na-Gehalt im primären Xylem steriler Feinstwurzeln nach Versuchsende ca. 4,5mal so hoch wie in Mykorrhizen, wobei der Ausgangszustand keine Unterschiede zeigte. Jedoch zeigen Messungen in einem stark entwickelten Hyphenmantel, bei denen es mit LAMMA annähernd möglich war, zwischen Pilz-Zellwänden und Pilz-Lumen zu differenzieren, einen hohen relativen Na-Gehalt im Pilzlumen (siehe auch *Melin et al.* 1958). Auch Ladungsausgleichsreaktionen bei der Elementaufnahme sind nicht auszuschließen, da hier nicht alle "verschobenen" Ionen bestimmt werden können (vgl. Kap. 7.5). Die LAMMA-Messungen im Hyphenmantel weisen weiterhin auf ein qualitativ gleiches Austauschverhalten für Mg, K und Ca wie die Cortex-Schicht der Feinstwurzeln. Dies gilt für Lumen- wie auch Zellwand-Analysen, wobei sich eine starke P-Anreicherung im Pilz-Lumen gegenüber den Hyphenmantel-Zellwänden zeigte. Zumindest für die hier markierten Elemente (Mg, K, Ca) drängt sich das Bild eines dem sterilen Feinstwurzeln "vorgeschalteten" zweiten "Miniatur-Wurzelsystems", bestehend aus abgehenden Hyphen und Rhizomorphen, Hyphenmantel und Interface (im Hartig'sches Netz) auf. Zu einer weitergehenden Modellentwicklung müssen jedoch noch weitere Untersuchungen in Ergänzung zu den hier exemplarisch vorgestellten Messungen im Hyphenmantel erfolgen.

Um den Einfluß der Mykorrhizierung auf den Transport von Mg, K und Ca in den Sproß zu untersuchen, wurden neben Untersuchungen an sterilen/mykorrhizierten Feinstwurzeln auch LAMMA-Messungen an Querschnitten von Sproßbasis und oberer Sproßachse und an veraschten Bulkproben von Proben aus den gleichen Sproß-Bereichen vorgenommen. Sterile und mykorrhizierte Fichtensämlinge zeigen im Vergleich ein qualitativ gleiches Verhalten beim Mg-, K- und Ca-Ferntransport, bei im Mittel etwa 10% höheren Werten für mykorrhizierte Pflanzen. Jedoch liegen u.a. aus Probennahmegründen relativ hohe Standardabweichungen vor, so daß die Unterschiede nicht statistisch signifikant sind (auf dem 5% - Niveau). Der aus der Markierungslösung stammende Ca- und Mg-Anteil liegt im Xylem der Sproßbasis bei 70-80%, in der oberen Sproßachse bei 45-60%. In den Zellwänden des Phloems auf gleicher Höhe sind diese Werte ca. 10-20% niedriger. Der aus der Lösung stammende K-Anteil im Xylem und im Phloem liegt hingegen nur bei 15-25%. In Ergänzung und zur Kontrolle der Ca-Aufnahme wurden ebenfalls Experimente mit einer ^{45}Ca-Radioaktiv-Markierung unter ansonsten gleichen Versuchsbedingungen und in Ergänzung an mykorrhizierten Fichtensämlingen mit einer weiteren Pilzspezies (*Hebeloma crustuliniforme*) durchgeführt. Die Verwendung der radioaktiven Meßmethode erlaubt wegen der hohen Nachweisempfindlichkeit und der einfachen Probenpräparation eine Aufteilung der Pflanzen in weiteren Fraktionen. Auch hier zeigt sich z.T. im Mittel eine geringfügig höhere Ca-Aufnahme bei mykorrhizierten Fichtensämlingen. An dieser Stelle sollen nicht die Mechanismen des Element-Ferntransportes in Fichten Gegenstand der Diskussion sein (vgl. Kap. 7.7), sondern Möglichkeiten aufgezeigt werden, unter welchen Bedingungen in mykorrhizierten Pflanzen größere Elementgehalte im Sproßbereich auftreten können. Eine Denkmöglichkeit wäre eine aktiv durch den Pilz beeinflußte Ionenaufnahme. Dagegen weisen die Messungen im Hyphenmantel und einige im vorigen Kapitel diskutierte Ergebnisse an Mykorrhizen aus Erdkulturen beim Mg- und Ca-Transport durch den Cortexbereich eher auf einen passiven, rein über den Apoplasten stattfindenden Transport hin. Jedoch läßt sich nicht abschätzen, inwieweit die durch den Pilz beeinflußten Zellwände und die interfaziale Matrix andere Ionenaustauscher-Eigenschaften als die Cortex-Zellwände in sterilen Feinstwurzeln besitzen und damit zu anderen Elementtransportraten führen. Morphologisch sind deutliche Unterschiede im Cortex zu erkennen, wie z.B. die durch Pilzhyphen weit voneinander getrennten Cortexzellen bei stark entwickeltem Pilz. Ebenso scheint ein Einfluß des Pilzes auf die Ausbildung der primären und sekundären Endodermis und damit auf die Zugänglichkeit zum Zentralzylinder vorzuliegen (*Kottke & Oberwinkler* 1990; siehe auch Kap.7.5). Wie bereits im Kap. 7.1

herausgestellt, hat die Anlage von Seitenwurzeln, die die Endodermis durchdringen und damit den Zugang von Wasser und darin gelöster Stoffe erleichtern, einen großen Einfluß auf die Wasser- und Element- bzw. Nährstoffaufnahme (*Sanderson* 1983; *Häussling et al.* 1988). Ferner übt die Ausbildung von Mykorrhizen u.a. einen Einfluß auf die Verzweigungsintensität des Wurzelsystems aus. Auch von daher wären Unterschiede in der Zugänglichkeit für Mg, K und Ca über ältere Wurzelabschnitte möglich ohne die Mykorrhizen unmittelbar zu involvieren. Zur Klärung dieser Fragen sind weitere Untersuchungen notwendig. Dabei wären u.a. Experimente nützlich, die eine Markierung der Nährstoffaufnahme ausschließlich über das Hyphen- bzw. Rhizomorphen-System erlauben (*Rygiewicz et al.* 1988).

7.7 Bilanzierung von Elementaufnahme und Elementaustausch und deren Beeinflussung durch Aluminium

In den bisher diskutierten Experimenten zur Nährelementaufnahme standen vor allem die Vorgänge innerhalb der Feinstwurzeln im Vordergrund. Die Vorgänge bei der Versorgung der gesamten Pflanze mit Nährelementen sind weitaus komplexer und mit Untersuchungen, die sich auf Feinstwurzeln beschränken, allein nicht erklärbar. Daher wurde in Erweiterung dazu in einem abschließenden Experiment versucht, den Elementtransfer zwischen Versuchslösung und der gesamten Pflanze zu quantifizieren (Kap.6.4). Dabei wurde insbesondere der Einfluß von Aluminium in der Versuchslösung auf den Elementtransfer untersucht. Der Al-Antagonismus spielt, wie bereits mehrfach erwähnt, bei der Suche nach der Ursachen-Wirkungskette für die Entstehung von Waldschäden eine wesentliche Rolle (Kap. 2; 7.4). In Kap. 7.5 wurden Ergebnisse diskutiert, die deutlich zeigen, daß Al in den Zellwänden der Mykorrhizen Ca und Mg verdrängen und unter bestimmten Bedingungen, bei 24-stündiger Versuchsdauer, auch deren Austausch mit der Außenlösung verringert. Inwieweit damit auch der Transfer von Ca und Mg in nachfolgende Pflanzenteile beeinflußt wird, läßt sich allein daraus nicht klären (vgl. Kap. 7.2). Dies ist einer der wesentlichen Punkte im hier zu diskutierenden Experiment.

Es wurde eine Versuchsanordnung gewählt, bei der unterschiedliche Versuchslösungen den beiden Seiten der halbierten Wurzelmasse einer intakten Pflanze parallel angeboten wurden. Diese als "split-root" - System bezeichnete Versuchsanordnung wurde in vielfältigen Untersuchungen zur Wasser- und Nährelementversorgung von Pflanzen angewendet (*Lambers et al.* 1982; *Kirkham* 1984; *van Bavel & Baker* 1985; *Jeschke & Wolf* 1988; *Cooper & Clarkson* 1989; *Scott & Robson* 1991; u.a.). Damit wurde insbesondere der Transfer von Wasser und Nährelementen zwischen den Wurzeln, wie auch zum Sproß, untersucht.

Im hier vorliegenden Experiment wurde den aufgeteilten Wurzeln simultan eine Doppelmarkierung mit für beide Seiten unterschiedlichen Isotopen für Mg (^{25}Mg u. ^{26}Mg) und Ca (^{42}Ca u. ^{44}Ca) angeboten. Leider konnte für eine K-Markierung auf beiden Seiten nur ^{41}K eingesetzt werden, da kein drittes K-Isotop erhältlich ist. Um einen Anschluß an die in den vorherigen Kapiteln diskutierten Experimente zu erhalten, wurden auch hier die gleichen "Standardbedingungen" gewählt, wobei neben dem 1mmol/l Angebot von Mg, K und Ca auch 1mmol/l Na angeboten wurde. Einer Wurzelseite wurden 2mmol/l $AlCl_3$ zugegeben, so daß bei einem gewählten pH-Wert von 3,3 nahezu das gesamte Aluminium als Al^{3+} vorliegt (vgl. Kap.7.1.). Diese simultane Zwei-Seiten-Markierung an Erdkulturfichten aus Mineralboden ermöglicht es, den Einfluß der Versuchslösung mit und ohne Al-Zugabe an ein und derselben Pflanze auf Ca- und Mg-Aufnahme und -Transport zu untersuchen. Durch diese Doppelmarkierung können u.a. genetische Unterschiede bei einem Ergebnisvergleich von unterschiedlichen Pflanzen mit und ohne Al-Zugabe als Versuchsparameter ausgeschaltet werden.

Hierbei treten oft, insbesondere bei Bäumen aus Erdkulturen, hohe Abweichungen auf, die eine exakte Aussage erschweren können. Jedoch treten bei der "split-root" - Versuchsanordnung mit diesen Pflanzen Probleme bei einer möglichst gleichen Aufteilung des Wurzelsystems auf. Das in der Regel inhomogene Wurzelsystem erschwert die gleiche Aufteilung nach der Wurzelmasse. Aber auch bei annähernd gleicher Wurzelmasse auf beiden Seiten läßt sich die Funktionsfähigkeit beider Wurzelhälften nicht unbedingt miteinander vergleichen. Daher wurden hier die Ergebnisse z.T. auf die Wurzelmasse bzw. auf die aufgenommene Versuchslösungsmenge bezogen. Während sich die Wurzelmassen hier mit 470 bzw. 650mg Frischgewicht deutlich unterschieden, war die Versuchslösungsaufnahme mit 10,3 bzw. 9,8ml über die 7 Versuchstage, bei täglichem Lösungswechsel, annähernd gleich.

Zur Bestimmung des Elementtransfers zwischen angebotenen Versuchslösungen und Pflanze wurden in Kombination Bulkanalysemethoden (ICP-OES u. TRFA) und die Laser-Mikrosonde (LAMMA) eingesetzt. Dadurch konnte sowohl der Elementtransfer in den Lösungen wie auch in verschiedenen Fraktionen der Pflanze bestimmt werden. Weiterhin wurde LAMMA vor allem zur Bestimmung der Isotopenverteilung an Dünnschnitt-Präparaten von Mykorrhizen und des Fichtensprosses eingesetzt, um Ergebnisse über die Verteilung der aufgenommenen Elemente im Gewebe zu erhalten (vgl. Kap.7.2). Dieses Experiment ist im Rahmen eines Verbundprojektes in weitere Untersuchungen zur Nährelementaufnahme und -versorgung von Fichten eingebettet. Bei diesen hier nicht näher vorgestellten Untersuchungen wurden Experimente durchgeführt, bei denen versucht wurde, die am Standort vorliegenden Bodenlösungsbedingungen in angebotenen Versuchslösungen in Teilen nachzustellen. Die dabei erzielten Ergebnisse, bei gleichem Versuchsaufbau, bestätigen die Aussagen des hier exemplarisch ausführlich vorgestellten Experimentes.

In den vorangegangenen Kapiteln wurden vor allem die Ionentransportmechanismen aus der Außenlösung bzw. dem Boden durch die Wurzeln zu den Xylem-Fernleitungsbahnen diskutiert. Dabei deutet die Isotopenzusammensetzung in den Zellwänden des gesamten Zentralzylinders auf einen apoplasmatischen Transport von Mg und Ca bis zu den zentral gelegenen Zellwänden des primären Xylem hin. "Transfer-Zellen" mit einer deutlichen Oberflächenvergrößerung wurden bei verschiedenen Pflanzen beschrieben. Diese sollen den Elementransfer z.B. unmittelbar in Fernleitungsbahnen ermöglichen (*Gunning & Pate* 1969). Solche Strukturen wurden bisher bei Fichten nicht nachgewiesen (*Haug,* pers. Mitt.), so daß hier zumindest im Zentralzylinder ein passiver Transfer entlang eines elektrochemischen Gradienten ins Wurzelxylem hinein angenommen werden kann (vgl. *Lüttge* 1973; *Pitmann* 1977). Nach der "klassischen" Vorstellung erfolgt der Weitertransport von Nährsalzen in nachfolgende Pflanzenteile durch deren "Mitreißen" mit der Massenströmung von Wasser in den Leitgefäßen (vgl. *Bollard* 1960; *Bell & Biddulph* 1963; *Lüttge* 1973). Deren treibende Kraft ist die Transpiration und die Konzentration im Wasser gelöster Substanzen. Nach dieser Vorstellung fließen Ionen nicht nur von den Wurzeln in Richtung der Blätter, sondern auch über das Phloem in umgekehrter Richtung. Die Mobilität im Phloem hängt dabei von der Art des Ions ab (*Ziegler* 1975; *Raven* 1977; vgl. Kap.7.5). Dies soll zu einer Rückmeldung an die Wurzeln über den Ionengehalt im Sproßsystem führen, wodurch die Ionenaufnahme in das Wurzelsystem beeinflußt werden könnte (*Lüttge* 1973; *Pitman & Cram* 1976).

In Erweiterung zu dieser Massenströmungs-Vorstellung zeigten weitere Experimente, insbesondere Markierungsexperimente mit radioaktivem ^{45}Ca, daß beim Ferntransport durch das Xylem insbesondere für Kationen die Ionenaustauscher-Eigenschaften der Xylem-Zellwände eine wesentliche Rolle spielen

(*Bell & Biddulph* 1963; *Thomas* 1967, 1969; *Isermann* 1970; *Läuchli* 1976; *Clarkson* 1984; u.a.). Daher kann der Ionentransfer im Xylem unterschiedlich zum Wasserfluß sein. Der hier im wesentlichen betrachtete Kationentransfer in Leitgefäßen stellt somit ein Bewegung entlang einer Austauschersäule dar, deren totale Kapazität vom Zellwandaufbau und der Länge abhängt und die ständig zunimmt solange die Pflanze wächst und damit "neue" Austauscherplätze bildet (*Clarkson* 1984). Freie Ca^{2+} im Xylemwasser z.B. stehen somit im ständigen Austausch mit an den Zellwänden adsorbierten Kationen, so daß der Transfer eines individuellen Ca^{2+} aus einer Serie von Sprüngen zwischen den Austauscherplätzen (im wesentlichen: COO^{-} - Gruppen) besteht. Die Länge dieser Sprünge hängt u.a. von der Kationenkonzentration im Xylemwasser, welche die Bindungs-Wahrscheinlichkeit bestimmt, wie auch von der Transpirationsstrom-Geschwindigkeit ab (*Clarkson* 1984). Der quantitative Einfluß der Transpiration auf den Langstrecken-Transport hängt von unterschiedlichen Faktoren ab. Verschiedene Untersuchungen zeigten, daß bei niedrigen Nährelement-Konzentrationsangeboten die Transpiration auf die aktuelle Aufnahme von Ionen über die Wurzeln auch ohne Einfluß sein kann (zusammenfassende Diskussion: *Tanner & Beevers* 1990).

Van de Geijn et al. (1979) bestimmten die Kationen-Austauschkapazität (CEC) von intakten Xylem-Gefäßen bei Papyrus mit 0,6 bis 1×10^{-7} Äquivalent pro cm^2 Gefäßoberfläche. Aus dieser Dichte schlossen sie, daß der Kationenaustausch nicht nur an der Zellwandoberfläche stattfinden kann, sondern über das gesamte poröse Volumen der Zellwände bestimmt wird. Eigene Untersuchungen zeigen im Rahmen einer maximalen Auflösung von 1µm ebenfalls eine Isotopengleichverteilung quer über die Xylem-Zellwände hinweg. *Wolterbek* (1987) bestimmte an isoliertem Xylem von Tomatenpflanzen eine CEC von ca. 1000mol negativer Ladungen pro m^3 Xylem. Die Bindung von kationischen Nährelementen an den Austauscherplätzen der Zellwände wird dabei im besonderen Maße durch den pH-Wert bestimmt, da Protonen z.B. Ca^{2+} verdrängen können. Dieser Vorgang soll u.a. bei der Zellwandstreckung eine entscheidende Rolle spielen (*Baydoun & Brett* 1984).

Es kann aber auch zu einem Nährelement-Transfer über die Leitgewebe kommen, wobei der Austausch mit den Zellwänden entweder unterbunden oder zumindest eingeschränkt wird. Verantwortlich dafür scheint eine Komplexierung insbesondere von Kationen mit neutralen oder negativen Chelaten, wie z.B. Malat und Zitrat zu sein. Dies wurde in verschiedenen Untersuchungen bestätigt (*Isermann* 1971, 1978; *Hanger* 1979; *White et al.* 1981 a,b,c; *Senden et al.* 1992). So konnte *Bradfield* (1976) in Apfelbäumen nachweisen, daß der Ca-Transport innerhalb des Xylem bis zu ca. 50% in Chelatform erfolgt, wobei diese Chelate in den Wurzeln synthetisiert werden sollen. Dieser Beitrag hängt dabei deutlich vom physiologischen Zustand der Pflanzen bzw. von der Jahreszeit ab. Inwieweit solche Vorgänge den Einfluß des Ca-Ferntransportes z.B. bei den Untersuchungen von *Wieneke & Führ* (1973), *Wieneke* (1974) und *Türk* (1990) beeinflußt haben, muß noch geklärt werden. Bei diesen Untersuchungen zur ^{45}Ca-Translokation in Apfelbäumen bzw. in Fichten zeigten die Pflanzen nicht reine Eigenschaften einer Austauschersäule. Es zeigte sich in Abhängigkeit vom physiologischen Zustand der Pflanzen z.T. eine deutlich stärkere Markierung in zum ^{45}Ca-Applikationsort entfernten, sich neubildenden Zellwänden, wie z.B in sich gerade entwickelnden Fichtentrieben (*Türk* 1990).

Bei der Translokation von Nährelementen spielt die Konkurrenz der verschiedenen "Bedarfsstellen" bzw. Senken eine Rolle. Solange "ausreichend" Nährelemente im Fernleitungssystem für verschiedene Gewebe, insbesondere sich neubildende Gewebe, zur Verfügung stehen, spielt dies für das gesamte Wachstum der Pflanzen keine entscheidende Rolle. Erst wenn ein Mangel herrscht, kommt es zur Konkurrenz der verschiedenen Senken und zu Elementtranslokationen, die u.a. durch deren Affinitäten für das jeweilige Nährelement bestimmt werden (*Clarkson* 1984). Die Bestimmung der Elementkonzen-

trationen im Xylemwasser ist nur mit methodischen Schwierigkeiten und mit größeren Unsicherheiten möglich (vgl. *Glavac* 1987). In einjährigen Fichtentrieben bestimmten *Osonubi et al.* (1988) die Gesamtelementgehalte im Xylemwasser. Dabei zeigten sich beim Vergleich von gesunden und erkrankten 25- bis 35-jährigen Fichten signifikante Unterschiede beim Mg-, K- und Ca-, aber nicht beim N-Gehalt. Die Gehalte lagen im Mittel bei (gesund/erkrankt; mmol/l): N: 5,44/5,10 ; Mg: 0,44/0,35; K: 2,26/1,92 ; Ca: 1,20/0,89 . Dabei zeigten sich im Gehalt z.T. jahreszeitliche Variationen von bis zu 50%. Die in den vorliegenden Untersuchungen durchgeführten Mikrosonden-Messungen im Xylem geben nur die Gehalte in den Zellwänden wieder, die mit dem Xylemwasser im Austausch stehen. Eine Erhaltung des Xylem-Lumen-Inhaltes ist bei dieser Präparation nicht möglich.

Für die Bilanzierung von Elementaufnahme und -austausch im vorliegenden Experiment mit der "split-root" - Versuchsanordnung wurden die Gesamt-Elementgehalte in den täglich gewechselten Markierungslösungen sowie in mehreren Fraktionen der markierten Erdkulturfichte aus Mineralboden vom Standort "POSTTURM" bestimmt. Diese wurden für Mg, K und Ca mit den Isotopenverhältnissen in Beziehung gesetzt, so daß für diese Elemente der Transfer von der Lösung in die Pflanze und in umgekehrter Richtung bestimmt werden konnte. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Isotopenzusammensetzung am Ende eines jeden der sieben Markierungstage, außer am ersten Tag, nicht den gesamten Austausch dieser Elemente je Tag wiederspiegelt. Diese zeigen nur den Austausch mit dem vor Experimentbeginn in der Pflanze vorhandenen Elementgehalten an. Ab dem zweiten Versuchstag werden die markierten Elemente vom Vortag z.T. wieder in die Lösungen zurückgetauscht. Dieser Anteil läßt sich mit dieser Art der Markierung nicht bestimmen.

Die Zugabe von 2mmol/l Al führte in Bulkproben im Vergleich zur Lösungsseite ohne Al-Zugabe zu einer Vervierfachung der Al-Konzentration in Mykorrhizen auf ca. 10000ppm und zu einer Verringerung der Ca-Konzentration um 50% auf ca. 500ppm und der Mg-Konzentration um ca. 20% auf ca. 530ppm. Auch die Bestimmung der Elementverteilung in Mykorrhizen mit der Laser-Mikrosonde zeigt im Vergleich eine deutliche Erhöhung des Al-Gehaltes und Verringerung des Mg- und Ca-Gehaltes in den Zellwänden. Somit zeigt sich auch hier der bereits im Kap. 7.5 bei einem weiteren Experiment diskutierte Al-Antagonismus, wobei Al^{3+} andere Kationen von den Austauscherplätzen an den Zellwänden verdrängen (vgl. *Wagatsuma* 1983; *Foy* 1984; *Schimansky* 1991; u.a.).

Die Isotopenzusammensetzung in den Zellwänden der Mykorrhizen weist nach 7 Tagen Versuchsdauer auf beiden Seiten für Mg und Ca einen ähnlich großen markierten Anteil auf. Dabei zeigt sich vor allem bei Mg ein Elementanteil, der von der gegenüberliegenden, mit anderen Isotopen markierten Seite stammt. Am größten ist dieser Elementanteil auf der Seite ohne Al-Zugabe, der von der Al-Seite stammt (15-25%). Einen Transfer von Wasser bzw. Nährelementen von einer Seite zur anderen Seite bei ähnlicher Versuchsanordnung konnten z.B. *Van Bavel & Baker* (1985) und *Cooper & Clarkson* (1989) nachweisen. Der markierte K-Anteil ist auf der Al-Seite absolut zwischen 10 und 15% höher.

Die gesamte ausgetauschte K-Menge auf der Al-Angebotsseite ist ca. doppelt so hoch wie ohne Al-Zugabe. Dies könnte daran liegen, daß Al an verschiedenen Bindungsstellen am Plasmalemma gebunden wird, was zu einer Schädigung bzw. Leckage und damit zum erhöhten Transfer von K führen könnte (vgl. *Wagatsuma et al.* 1987). Insgesamt führt der K-Austausch zu einer K-Nettoabgabe, die auf der Al-Seite ca. 1/8 der insgesamt an die Lösung abgegebenen Menge ausmacht.

Auch für Ca weisen die ausgetauschten Elementmengen im Vergleich zum Nettoelementransfer deutlich höhere Werte auf. So beträgt die aus den Markierungslösungen auf der Seite ohne Al-Zugabe netto aufgenommene Ca-Menge nur ca. 10% der hier insgesamt ausgetauschten Ca-Menge. Dabei ist die aus der Lösung aufgenommene Ca-Menge ca. 3mal so hoch wie der Ca-Gesamtgehalt der entsprechenden Wurzelmasse. Damit wird u.a. gezeigt, daß ein deutlicher Elementtransfer vom Sproß in Richtung Wurzeln und darüber hinaus in die Versuchslösung stattfindet. Diese Richtung des Elementtransfers wird in den meisten Untersuchungen nicht betrachtet. *Van Bavel & Baker* (1985) konnten einen Transfer von Wasser aus den Pflanzenwurzeln in einen trockenen Boden nachweisen. *Woods & Brock* (1964) konnten durch eine Markierung mit radioaktivem ^{32}P und ^{45}Ca über die Stammscheibe von frisch gesägten, noch im Boden befindlichen Ahornwurzeln (*Acer rubrum*) einen Transfer dieser Elemente von der Schnittfläche über die Wurzeln ins Erdreich nachweisen. Dadurch wurde gezeigt, daß der Transfer von Wasser und Nährelementen keine "Einbahnstraße" nur in Richtung der oberen Pflanzenteile darstellt. Inwieweit die Elementabgabe an die Lösung über die Feinstwurzelspitzen oder aber auch über andere Wurzelteile erfolgt, läßt sich wie bei der Wasser- und Elementaufnahme nicht abschließend beurteilen (vgl. Kap. 7.1). Die Al-Zugabe führt zu einer ca. 50% -igen Verringerung der ausgetauschten Ca-Menge bei einer insgesamten Ca-Nettoabgabe an die Markierungslösungen.

Dagegen weist Mg auf beiden Seiten eine Netto-Aufnahme auf. So beträgt die von der Pflanze an die Lösungen abgegebene Mg-Menge 25 bzw. 30% der aus den Lösungen aufgenommenen Menge, wobei Al nicht den Einfluß wie auf den Ca- und K-Austausch hat. Bezogen auf die aufgenommene Lösungsmenge entspricht auf beiden Seiten die aufgenommene Mg-Menge annähernd den in dieser Lösungsmenge enthaltenen Mg-Gehalten. Dies gilt auch für die Na-Aufnahme in die Pflanze, so daß eine Abhängigkeit der Aufnahme dieser Elemente von der aufgenommenen Lösungsmenge angenommen werden kann.

Die aufgenommene Al-Menge entspricht dagegen ca. dem doppelten Al-Gehalt der aufgenommenen Lösungsmenge. Al wird über alle 7 Versuchstage auf der Al-Seite aufgenommen und auch offensichtlich in nachfolgende Pflanzenteile transportiert. So weisen die Zellwände in älteren Wurzelteilen und in der Sproßbasis der markierten Pflanzen deutlich höhere Al-Gehalte als die der Kontrollpflanzen auf. Auch hier ist eine Quantifizierung des Aufnahmeweges über verschiedene Wurzelteile nicht zu treffen (vgl. Kap.7.1.). Bei Altfichten wurde z.B. von *Puhe et al.* (1986) Aluminium in Grobwurzeln nachgewiesen, wobei die Autoren von einer Korrelation mit dem Schädigungsgrad der Bäume berichteten. Auch in der Sproßbasis von Altfichten wurden geringe Mengen von Al nachgewiesen (vgl. *Rademacher* 1986). Inwieweit an diesen Stellen Al zu Schädigungen führen könnte, ist noch unklar. Denkbar wäre eine Schädigung der hier vorhandenen Speicher-Parenchymzellen, was zu Problemen bei der Speicherung von Reservestoffen während der Vegetationsruhe führen könnte. Über eine Verringerung der Kohlenhydrat-Speicherung bei erkrankten Bäumen wurde mehrfach berichtet (vgl. *Rademacher* 1986; *Göttsche-Kühn* 1988).

Der Elementtransfer zwischen Pflanze und Versuchslösungen führt nach 7 Tagen Versuchsdauer dazu, daß in den Zellwänden im oberen Sproß der Erdkulturfichte ca. 60 bis 70 % des Mg- und Ca-Gehaltes und 20 bis 25% des K-Gehaltes aus den Markierungslösungen stammt. Diese Werte sind in der Sproßbasis ca. 10% höher. Die unterschiedlichen Markierungs-Isotope für Mg und Ca lassen darüber hinaus einen 15 bis 20% höheren Mg-Anteil und einen ca. 5 bis 10% höheren Ca-Anteil im Xylem des Sprosses erkennen, der von der Al-Angebotsseite stammt. Auch in den Nadeln ist dieser Anteil deutlich höher. Dieser zunächst überraschende Befund läßt sich damit erklären, daß über die Wurzeln

aufgenommenes Al dort bereits an den Zellwänden adsorbiertes, markiertes Mg bzw. Ca verdrängen kann. So wird dort im Xylemwasser deren freie Konzentration erhöht, was zu einer verstärkten Translokation dieser markierten Elemente führen sollte. In diese Richtung deuten auch Experimente von *Schimansky* (pers. Mitt.), der an 6-jährigen Fichten bei einer Markierung mit radioaktivem ^{45}Ca zunächst bei Al-Zugabe einen gegenüber der Kontrolle (ohne Al) erhöhten Ca-Transfer in den Sproß feststellte, wobei sich der Unterschied mit fortlaufender Versuchsdauer wieder ausglich. Weiterhin wäre vorstellbar, daß durch die Blockierung der Kationen-Austauscherstellen in den Zellwänden durch Al die zweiwertigen Kationen von Mg und Ca im geringeren Maße adsorbiert werden können und daher schneller in höher gelegene Sproßteile transportiert werden. Auf diesen Mechanismus deuten Experimente, die bei geringem Al-Angebot einen erhöhten Transfer von Nährelementen in die Pflanze aufwiesen (*Foy* 1984). Zu einer genaueren Klärung dieser Frage sind weitere Experimente nötig. Diese Befunde stehen bei erster Betrachtung im Widerspruch zu verschiedenen Nährlösungs-Experimenten, in denen bei Hydrokulturen mit Al-Zugabe meist geringere Nährelementgehalte im Sproß nachgewiesen wurden (z.B. *Jorns & Hecht-Buchholz* 1985; Kap.2). Neben der Problematik bei der Wahl der Versuchspflanzen (vgl. Kap. 7.1) ist es denkbar, daß die Erdkulturfichten in der Versuchszeit von max. 7 Tagen noch nicht geschädigt waren bzw. auf das Al-Angebot reagieren konnten (vgl. *Evers* 1983). So wurde von *Jorns* (1988) berichtet, daß Fichten auf Al in der Nährlösung durch ein Abschotten des Wurzelmeristems reagieren, wodurch die Zugänglichkeit für Ionen beeinflußt werden könnte.

Die annähernd gleichen Isotopenverhältnisse in den verschiedenen Zellwänden über den gesamten Sproßachsen-Querschnitt deuten auf ein Austauschgleichgewicht im gesamten Apoplasten hin. Da dieser Effekt nicht nur für das Xylem, sondern auch für die Kambium- und die Phloem-Zellwände gilt, spricht dies zumindest bei Mg und Ca für einen apoplasmatischen Transport dieser Elemente über das Kambium hinweg bis in die Rinde. Die niedrigeren markierten Elementanteile in der oberen Sproßachse weisen bei den vorliegenden Versuchsbedingungen darauf hin, daß die Zellwände der gesamten Sproßachse die Eigenschaften einer Ionenaustauschersäule besitzen. Inwieweit eine Gleichverteilung über den gesamten Querschnitt bei älteren Bäumen vorliegt, sollte u.a. von der Orientierung der Xylem-Stränge im Stammholz abhängen. Diese kann sich im Stammverlauf stark verändern, wie dies mit Markierung der Wasserleitung durch Farbstoffe nachgewiesen wurde (*Vité & Rudinsky* 1959; *Kozlowski & Winget* 1963). Es ist jedoch fraglich, ob die Befunde auch für Ionen zutreffen, die über die Zellwände quer ausgetauscht werden können.

8. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß verschiedener Faktoren auf die Nährstoffversorgung von Bäumen im Waldökosystem untersucht. Dabei wurden zur quantitativen Elementbestimmung in Bulkproben die optische Emissionsspektrometrie (ICP-OES) und die Totalreflexions-Röntgen-Fluoreszenz-Analyse (TRFA) eingesetzt. Den Schwerpunkt bilden Untersuchungen auf zellulärer Ebene an Dünnschnitt-Präparaten mit der Laser-Mikrosonden-Massen-Analyse (LAMMA) und der Energie-Dispersiven-Röntgenfluoreszenz-Mikroanalyse (EDXA).

Eine Beschreibung der Nährstoffsituation erfolgte an Fichten (*Picea abies* [L.] Karst.) aus einem 90 bis 120 Jahre alten Bestand in einem Waldschadensgebiet und an zwei- und dreijährigen Fichten aus verschiedenen Erdkulturen, die als Modellsystem dienten. Die Untersuchungen konzentrierten sich auf

- den Elementgehalt und die Elementverteilung in mykorrhizierten Altfichten-Feinstwurzeln in Abhängigkeit von Bodentiefe und Schadklasse sowie auf
- den Vergleich der relativen Elementverteilung in mykorrhizierten Feinstwurzeln und im Sproß von Fichten aus unterschiedlichen Erdkulturen.

Unter kontrollierten Versuchsbedingungen wurden Nährstoff-Markierungsexperimente mit Fichten aus Erdkulturen und Fichtensämlingen aus Sterilkulturen durchgeführt. Bei den Untersuchungen der bei der Nährstoffaufnahme zugrundeliegenden physiologischen Mechanismen standen folgende Punkte im Vordergrund:

- Ionenaustauscher-Eigenschaften für Mg, K und Ca von mykorrhizierten Feinstwurzeln in Abhängigkeit von Elementkonzentrationen, pH-Wert und Al-Zugabe
- Zugänglichkeit für Mg, K und Ca in mykorrhizierte Feinstwurzeln
- Temperaturabhängigkeit der Aufnahmekinetiken für Mg, K und Ca
- Vergleich der Ionenaufnahme in sterilen und mykorrhizierten Fichtensämlingen
- Bilanzierung der Ionenaufnahme in Fichten aus Erdkulturen und deren Beeinflussung durch eine Al-Zugabe.

Nährstoffsituation von Altfichten und Fichten aus Erdkulturen: In einer Fallstudie wurden Untersuchungen an zwei unterschiedlich vitalen Altfichten durchgeführt (Standort "Postturm"; Forstamt Farchau / Ratzeburg; Schadklasse 0 bzw. 3). Dazu wurden mykorrhizierte Feinstwurzeln aus drei Bodentiefen (0-10cm, 10-30cm, 30-50cm) und der sie umgebende Boden entnommen. Mit LAMMA wurden die Elementverteilungen innerhalb der Mykorrhizen, mit ICP-OES die Gesamtelementgehalte der Mykorrhizen und der zentrifugierten Bodenlösungen bestimmt. Dabei zeigen sich keine eindeutigen Korrelationen zwischen Elementverteilung, Gesamtelementgehalt in Mykorrhizen und Elementgehalt der Bodenlösungen. Mit zunehmender Bodentiefe steigt der Al-Gesamtgehalt in Mykorrhizen an. Dabei weist die Elementverteilung im Cortex deutlich höhere Al-Gehalte auf als in den Zellwänden des primären Xylem. In allen Proben sind die Mg-Gehalte im Cortex-Lumen deutlich höher als in den Zellwänden, für die Ca-Verteilung gilt dies umgekehrt. Im Vergleich beider unterschiedlich vitaler Bäume weisen Mykorrhizen aus 30-50cm Bodentiefe in Bulkproben bei Schadklasse 3 niedrigere Gesamtelementgehalte für Na, K, Mg und Ca auf. Die größten Unterschiede in der Elementverteilung innerhalb der Mykorrhizen aus dieser Bodentiefe sind in höheren Na- und niedrigeren K-Gehalten im gesamten Querschnitt und in niedrigeren Mg-Gehalten im Cortex-Lumen bei Schadklasse 0 zu finden.

Zwei- und dreijährige Fichten aus Erdkulturen dienten als standortnahes und im Labor handhabbares Modellsystem. Als Böden wurden eine Gärtnerei-Normalerde mit hohem Nährstoffgehalt und zwei Böden des oben erwähnten Standortes ausgewählt (Auflage: 0-10cm; Mineralboden: 10-30cm). Durch die Kulturbedingungen veränderte sich die Nährstoffsituation in den Standortböden deutlich gegenüber den Bedingungen am Naturstandort. Mit LAMMA wurden die Elementverteilungen in Querschnitten von Mykorrhizen und vom Sproß bestimmt.

Nährstoff-Markierungsexperimente unter kontrollierten Versuchsbedingungen: Für die Untersuchung der Ionenaustauscher-Eigenschaften bzw. des Elementaufnahme-Verhaltens von Mykorrhizen wurde dreijährigen Fichten aus Normalerde-Kultur für 24 bzw. 48h eine Nährlösung angeboten, die für Mg, K und Ca mit angereicherten stabilen Isotopen markiert wurde. Als Versuchsparameter wurden die Elementkonzentrationen für Na, Mg, K, Ca und in weiteren Versuchsreihen der pH-Wert sowie eine Al-Zugabe in der Markierungslösung variiert. Dabei zeigen alle Versuchsserien deutliche Unterschiede in den Ionenaustauscher-Eigenschaften der Feinstwurzeln für K im Vergleich zu Mg und Ca. Während in Mykorrhizen unter den gewählten Versuchsbedingungen nahezu der gesamte Ca und Mg-Gehalt in den Zellwänden mit der Markierungslösung austauschbar war, konnte nur ca. max. 40% des K-Gehaltes ausgetauscht werden. Mit der Variation der Elementkonzentration (Na, Mg, K, Ca; pH 4,5) jeweils eines Elementes sollte untersucht werden, inwieweit dadurch die Elementverteilung und der Ionenaustausch dieses Elementes und der anderen Elemente beeinflußt wird. Dabei stellten sich in den Wechselbeziehungen der Elemente untereinander sowohl aufnahmefördernde wie auch -hemmende Wirkungen ein. Die Variation des pH-Wertes (2,5 bis 6,7) in der Markierungslösung bewirkt in den äußeren Cortex-Zellwänden bei der höchsten Protonenkonzentration eine Reduktion des Ca-Gehaltes um ca. 45% und des Mg-Gehaltes um ca. 35%, wohingegen deren Austausch mit der Markierungslösung nicht beeinflußt wird. Der niedrige pH-Wert von 2,5 führt weiterhin zu einer Umverteilung des bei diesen Pflanzen vor allem in den äußeren Cortex-Zellwandbereichen lokalisierten Aluminiums. So erhöhte sich der Al-Gehalt z.B. im primären Xylem auf etwa das Zehnfache des ursprünglichen Gehaltes. Eine Erniedrigung des pH-Wertes von 4,5 auf 3,4 kombiniert mit einer 2mmol/l Al-Zugabe führt zu einer deutlichen Verringerung der Mg- und Ca-Gehalte und des ausgetauschten Mg-Elementanteils sowie zu einer starken Erhöhung des Al- und Na-Gehaltes im gesamten Apoplasten der Mykorrhizen.

Zur Frage nach der Zugänglichkeit für Mg, K und Ca in mykorrhizierten Feinstwurzeln wurden in einer Zeitreihe (2min bis 48h) intakten Erdkulturfichten eine für Mg, K und Ca markierte Versuchslösung angeboten. Mit einer $T_{½}$ -Zeit im Minuten-Bereich wird der gesamte Ca-Gehalt der Cortex-Zellwände ausgetauscht, bei nur geringer zeitlicher Verzögerung zwischen äußerem und innerem Cortex. In den Zellwänden des primären Xylem steigt die Markierung mit einer deutlichen zeitlichen Verzögerung an ($T_{½}$ -Zeit: ca. 200min.). Mit der gleichen zeitlichen Verzögerung steigt der aus der Außenlösung stammende Mg-Anteil im primären Xylem an. Der K-Ionenaustausch zeigt gegenüber den Ca- und Mg-Austauschkinetiken ein anderes Verhalten. So liegt der aus der Lösung stammende K-Anteil bis ca. 250min im Mittel nur bei 5%, nach 48h Stunden bei ca. 17-20%, ohne daß eine zeitliche Verzögerung zwischen Cortex und Zentralzylinder erkennbar ist.

Um ein Indiz für eine passive oder aktive Ionenaufnahme zu erhalten, wurde die Temperaturabhängigkeit untersucht. Dazu wurde parallel zum oben beschriebenen kinetischen Zugänglichkeits-Experiment bei +22°C Wurzeltemperatur eine zweite Versuchsreihe bei +6°C Wurzeltemperatur unter ansonsten identischen äußeren Bedingungen durchgeführt. Ein Vergleich der beiden Zeitreihen-Experimente zeigt keine signifikanten Unterschiede in der Mg- und Ca-Aufnahmekinetik. Dagegen ist der K-Austausch bei +6°C deutlich gehemmt.

Untersuchungen über die Bedeutung der Mykorrhiza bei der Elementaufnahme wurden überwiegend durch Vergleich von sterilen und mit *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch. mykorrhizierten, 4 Monate alten Fichtensämlingen aus Sterilkulturen durchgeführt. Im Ausgangszustand zeigen mykorrhizierte Pflanzen ca. 30-40% höhere Ca-Konzentrationen in Sproßachse und Nadeln, ca. 30% niedrigere P-Konzentrationen in der Sproßachse und 30-50% niedrigere S-Konzentrationen in der gesamten Pflanze. Querschnitte von sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln weisen im primären Xylem die deutlichsten Unterschiede im ca. 3mal höheren P-Gehalt und ca. halbierten Mn-Gehalt in sterilen Feinstwurzeln auf. Messungen im Cortex zeigen einen ca. zweifachen P-Gehalt in den Hyphen des Hartig'schen Netzes und des Hyphenmantels gegenüber den Cortex-Zellwänden mykorrhizierter und steriler Feinstwurzeln. Die Cortex-Zellwände weisen im Vergleich zu den Hyphen einen 5 bis 10mal höheren Ca-Gehalt auf. Eine Markierung der Nährstoffaufnahme über 5 Tage weist nur geringe Unterschiede zwischen mykorrhizierten und sterilen Feinstwurzeln bei den Isotopenverhältnissen von Mg, K und Ca im primären Xylem auf. Im Gegensatz dazu weisen hier sterile Feinstwurzeln einen 4mal höheren relativen Na-Gehalt auf. Im Hyphenmantel wurden ähnliche Isotopenverhältnisse für Mg, K und Ca wie im Cortex der Feinstwurzeln gefunden. Der aus der Markierungslösung stammende Ca- und Mg-Anteil liegt im Xylem des unteren Sproßabschnittes mykorrhizierter Pflanzen bei 70-80%, im oberen Sproßabschnitt bei 45-60% (im Phloem ca. 10-20% niedriger). Der aus der Lösung stammende K-Anteil liegt bei 15-25%. In sterilen Fichtensämlingen ist der markierte Elementanteil (Mg, K, Ca) ca. 10% niedriger.

In weiteren Experimenten zur Bedeutung des "Al-Antagonismuses" bei der Elementaufnahme wurde eine "split-root" - Versuchsanordnung gewählt. Dabei wurden die Wurzelmassen der intakten Fichten aus Mineralboden-Erdkultur halbiert und beide Seiten mit verschiedenen stabilen Isotopen für Mg und für Ca inkubiert (Seite A: ^{25}Mg u. ^{42}Ca; Seite B: ^{26}Mg u. ^{44}Ca). Nur einer der Markierungslösungen wurde Al zugegeben. Bulkproben von Mykorrhizen wiesen bei Zugabe von 2mmol/l Al eine Vervierfachung der Al-Gehalte und eine Verringerung der Ca-Gehalte um 50% und der Mg-Gehalte um ca. 20% auf.

Die Verwendung von stabilen Isotopen in der Inkubationslösung, ihr quantitativer Nachweis in Bulkproben von Versuchslösungen und von Fraktionen der Pflanzen ermöglicht eine differenzierte Betrachtung der Elementflüsse zwischen Versuchspflanzen und Markierungslösungen in beiden Richtungen. Diese Bilanzierung von Elementaufnahme und -austausch zeigt im obigen Experiment, daß die aus der Markierungslösung über die gesamten 7 Tage auf der Seite ohne Al-Zugabe netto aufgenommene Ca-Menge nur ca. 10% der hier insgesamt ausgetauschten Ca-Menge beträgt. Dabei ist die aus der Lösung aufgenommene Ca-Menge ca. 3mal so hoch wie der Ca-Gesamtgehalt der entsprechenden Wurzelmasse. Al-Zugabe führt zu einer ca. 50%-igen Verringerung des Ca-Austausches bei einer insgesamten Ca-Netto-Abgabe an die Markierungslösung. Die von der Pflanze an die Lösungen abgegebene Mg-Menge beträgt 25 bzw. 30% der aus den Lösungen aufgenommenen Menge. Die ausgetauschte K-Menge ist auf der Al-Angebotsseite ca. doppelt so hoch wie ohne Al-Zugabe, wobei die K-Netto-Abgabe ca. 1/8 der insgesamt an die Lösung abgegebenen Menge ausmacht. Nach 7 Tagen Markierung stammen ca. 60 bis 70% des Mg- und Ca-Gehaltes und 25 bis 30% des K-Gehaltes der Zellwände im oberen Sproß der Fichte aus den Markierungslösungen. Die unterschiedlichen Markierungs-Isotope für Mg und Ca lassen darüber hinaus einen 15 bis 20% höheren Mg-Anteil und einen ca. 5 bis 10% höheren Ca-Anteil im Xylem des oberen Sprosses erkennen, der von der Wurzelseite mit Al-Zugabe stammt, gegenüber dem von der Seite ohne Al-Zugabe.

Weiterhin geben die Isotopenverhältnisse nach Markierung in Querschnitten der Sproßachse Hinweise auf einen bidirektionalen radialen Element-Transfer zwischen Xylem, Kambium und Phloem.

9. Literaturverzeichnis

Abuzinadah, R.A.; Read, D.J. (1986): The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants. *New Phytol.* 103, 481-514.

Addoms, R.M. (1946): Entrance of water into suberized roots of trees. *Plant Physiology* 21, 109-111.

Agerer, R.; Brand, F.; Gronbach, E. (1986): Die exakte Kenntnis der Ectomykorrhizen als Voraussetzung für Feinwurzeluntersuchungen im Zusammenhang mit dem Waldsterben. *Allg. Forstz.* 20, 497-503, 509.

Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Watson, J.D. (1983): *Molecular biology of the cell.* Garland Publishing, Inc., New York & London, 1146 S.

Aldinger, E. (1987): Elementgehalt im Boden und in Nadeln verschieden stark geschädigter Fichten - Tannen-Bestände auf Praxiskalkungsflächen im Buntsandstein - Schwarzwald. *Freiburger Bodenkundliche Abhandlungen* Heft 19, 266 S.

Allen, M.F. (1991): The ecology of mycorrhizae. *Cambridge Studies in Ecology*, Cambridge University Press, 184S.

Allmen von, M. (1987): *Laser-beam interactions with materials.* Springer Series in Material Science 2, Springer-Verlag, 232 S.

Alten von, H. (1986): Struktur und Inhaltsstoffe von Feinwurzeln geschädigter Fichtenbestände. *Deutsche Botanikertagung*, Hamburg, Poster Nr. 76.

Anderson, W.P. (1975): Ion transport through roots. In: Torrey, J.G., Clarkson, D.T. (eds.) *The development and function of roots.* Academic Press, London-New York-San Francisco, 437-463.

Arisz, W.H.; Wiersema, E.P. (1966): Symplasmatic long distance transport in *Vallisneria* plants investigated by means of autoradiograms IA. {Substances translocated}. *Kon. Ned. Akad. Wetenschappen (Amsterdam), Proceedings*, 223-241.

Athari, S.; Kramer, H. (1983): Erfassen des Holzzuwachses als Bioindikator beim Fichtensterben. *Allg. Forstz.* 30, 767-769.

Atkinson, D.; Wilson, S.A. (1979): The root-soil interface and its significance for fruit tree roots of different ages. In: *The soil-root interface*; Harley, J.L., Russel, R.S. (eds.); Academic Press, London, N.Y., San Francisco, 259-271.

Ashford, A.E.; Allaway, W.G.; Peterson, C.A., Cairney, J.W.G. (1989): Nutrient transfer and the fungus-root interface. *Austr. J. of Plant Physiology* 16 (1), 85-97.

Barber, S.A. (1984): *Soil nutrient bioavailability.* A Wiley-Interscience publikation.

Barley, K.P.; Greacen, E.L. (1967): Mechanical resistance as a soil factor influencing the growth of roots and underground shoots. *Adv. Agron.* 19, 1-43.

Bauch, J. (1989): Über das Forschungsprogramm Waldschäden am Standort "POSTTURM", Forstamt Farchau / Ratzeburg. In: *Internationaler Kongreß Waldschadensforschung: Wissensstand und Perspektiven*, Fiedrichshafen am Bodensee, Bundesrepublik Deutschland, 2.-6. Oktober 1989; [B. Ulrich (Hrsg.)]; Vorträge Band II, 567-582.

Bauch, J.; Klein, P.; Frühwald, A.; Brill, H. (1978): Veränderungen der Holzeigenschaften von Weißtannen (*Abies alba*) durch das "Tannensterben". *Allg. Forstz.* 33, 1148-1149.

Bauch, J.; Schröder, W. (1982): Zellulärer Nachweis einiger Elemente in den Feinwurzeln gesunder und erkrankter Tannen (*Abies alba* Mill.) und Fichten (*Picea abies* [L.] Karst.). *Forstw. Cbl.* 101, 285-294.

Bauch, J.; Rademacher, P.; Berneike, W.; Knoth, J.; Michaelis, W. (1985): Breite und Elementgehalt der Jahrringe in Fichten aus Waldschadensgebieten. *VDI-Berichte* 560, VDI-Verlag Düsseldorf, 943-959.

Bauch, J.; Göttsche-Kühn, H.; Rademacher, P. (1986): Anatomische Untersuchungen am Holz von gesunden und kranken Bäumen aus Waldschadensgebieten. *Holzforschung* 40 (5), 281-288.

Bauch, J.; Michaelis, W. (1988): *Das Forschungsprogramm Waldschäden am Standort "Posttturm", Forstamt Farchau / Ratzeburg.* J. Bauch & W. Michaelis (Hrsg.), GKSS-Forschungszentrum Geesthacht, GKSS 88/E/55, 399 S.

Bauer, M. (1982): Untersuchungen zur optischen Emissionsspektroskopie mit induktiv angeregter Plasmafackel. *GKSS-Forschungszentrum Geesthacht*, GKSS 82/E/9.

Baumeister, W.; Ernst, W. (1978): *Mineralstoffe und Pflanzenwachstum.* Gustav Fischer Verlag, Stuttgart - New York, 416 S.

Baydoun, E.A.H.; Brett, C.T. (1984): The effect of pH on the binding of calcium to pea epicotyl cell walls and its implications for the control of cell extension. *J. of Experimental Botany* 35 (161), 1820-1831.

Beever, R.E.; Burns, D.W. (1980): Phosphorus uptake, storage and utilization by fungi. *Advance Bot. Res.* 8, 127-219.

Bell, C.W.; Biddulph, O. (1963): Translocation of calcium. Exchange versus mass flow. *Plant Physiology* 38, 610-614.

Berneike, W.; Schönburg, M.; Weitkamp, C.; Michaelis, W.; Rademacher, P.; Bauch, J. (1985): Optische Emissionsspektroskopie mit induktiv geheizter Argonplasmafackel: ein wichtiges Verfahren zur Bestimmung von Nähr- und Schadelementen in Fichten. In: *Fortschritte in der atomspektrometrischen Spurenanalytik*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 505-515.

Berneike, W. (1987): Untersuchungen zu Einsatzmöglichkeiten der optischen Emissionsspektroskopie mit induktiv geheizter Argonplasmafackel bei der Analyse von Umweltproben. *GKSS-Forschungszentrum Geesthacht*, GKSS 87/E/36, 173 S.

Blaschke, H. (1980): Feinwurzeluntersuchungen und biotische Aktivitäten in der Rhizosphäre vom Tannensterben befallenen *Abies alba* - Bestände. *Eur. J. For. Path.* 10, 181-185.

Blaschke, H. (1981): Veränderungen bei der Feinwurzelentwicklung in Weißtannenbeständen. *Forstw. Cbl.* 100, 190-195.

Blasius, D.; Feil, W.; Kottke, I.; Oberwinkler, F. (1986): Hartig net structure and formation in fully ensheated ectomycorrhizas. *Nord. J. Bot.* 6, 837-842.

Bledsoe, C.S.; Zasoski, R.J. (1983): Effects of ammonium and nitrate on growth and nitrogen uptake by mycorrhizal Douglas-fir seedlings. *Plant and Soil* 71, 445-454.

Blume, H.P. (1990): *Handbuch des Bodenschutzes.* Bodenökologie und -belastung, vorbeugende und abwehrende Schutzmaßnahmen. Ecomed - Verlagsgesellschaft mbh, 8910 Landsbergh/Lech, 686 S.

BMFT (1990): *Programmreport: Waldschadensforschung.* BMFT, Referat Öffentlichkeitsarbeit/Bonn; ISBN: 3-88135-219-8, 39 S.

Bollard, E.G. (1960): Transport in the xylem. *Ann. Rev. Plant Physiology* 11, 141-166.

Bonnet, H.T. (1968): The root endodermis: Fine structure and function. *J. Cell. Biol.* 37, 199-205.

Boyd, R.; Furbank, R.T.; Read, D.J. (1986): Ectomycorrhiza and water relations of trees. In: *1st European symposium on Mycorrhizae, Dijon, 1.-5.7.1985: Physiological and genetical aspects of Mycorrhizae*, Gianinazzi-Perarson, V. (Ed) et al.; INRA, Paris, 689-693.

Bradfield, E.G. (1976): Calcium complexes in the xylem sap of apple shoots {Short Communication}. *Plant and Soil* 44, 495-499.

Brouwer, R. (1963): Some aspects of the equilibrium between overground and underground plant parts. *Mededeling 213 van het I.B.S.* 213, 31-39.

Brownlee, C.; Duddrige, J.A.; Malibari, A.; Read, D.J. (1983): The structure and function of mycelial systems of ectomycorrhizal roots with special reference to their role in forming inter-plant connections and providing pathways for assimilate and water transport. *Plant and Soil* 71, 433-443.

Chandler, J.A. (1977): *X-ray microanalysis in the electron microscope.* Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, 231 S.

Claasen, N.; Hendriks, L.; Jungk, A. (1981): Erfassung der Mineralstoffverteilung im wurzelnahen Boden durch Autoradiographie. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 144, 306-316.

Clarkson, D.T. (1967): Interactions between aluminium and phoshorus on root surface and cell wall material. *Plant and Soil* 27 (3), 347-356.

Clarkson, D.T. (1976): The influence of temperature on the exudation of xylem sap from detached root systems of rye (*Secale cereale*) and barley (*Hordeum vulgare*). *Planta* 132, 297-304.

Clarkson, D.T. (1984): Calcium transport between tissues and its distribution in the plant {Commissioned Review}. *Plant, Cell and Environment* 7, 449-456.

Clarkson, D.T. (1985): Factors affecting mineral nutrient acquisition by plants. *Ann. Rev. Plant Physiology* 36, 77-115.

Clarkson, D.T.; Sanderson, J. (1971): Inhibition of the uptake and long-distance transport of calcium by aluminium and other polyvalent cations. *J. Experimental Botany* 22, 837-851.

Clarkson, D.T.; Shone, M.G.T.; Wood, A.V. (1974): The effect of pretreatment temperature on the exudation of xylem sap by detached barley root systems. *Planta* 121, 81-92.

Clarkson, D.T.; Robards, A.W. (1975): The endodermis, its structural development and physiological role. In: *The development and function of roots.* Torrey, J.G., Clarkson, D.T. (eds.) Academic Press, London, N.Y., San Francisco (Cabot Symposium 3), 415-436.

Clarkson, D.T.; Robards, A.W.; Stephens, J.E.; Stark, M. (1987): Suberin lamellae in the hypodermis of maize (*Zea mays*) roots; development and factors affecting the permeability of hypodermal layers. *Plant, Cell and Environment* 10, 83-93.

Clarkson, D.T.; Lüttge, U. (1989): Mineral nutrition: Divalent cations, transport and compartmentation. *Progress in Botany* 51, 93-112.

Clement, A.J.; Garbaye, A.J.; Le Tacon, F. (1977): Importance des ectomycorhizes dans la resistenance au calcaire du Pin noir (*Pinus nigra* Arn. ssp. *nigricans* Host). *Oecol. Plant* 12, 111-132.

Clipson, N.J.W.; Cairney, J.W.G.; Jennings, D.H. (1987): The physiology of basidiomycete linear organs {I. Phospate uptake by cords and mycelium in the laboratory and the field}. *New Phytol.* 105, 449-457.

Cooper, H.D.; Clarkson, D.T. (1989): Cycling of amino-nitrogen and other nutrients between shoots and roots in cereals - a possible mechanism integrating shoot and root in the regulation of nutrient uptake. *J. of Experimental Botany* 40 (216), 753-762.

Côtè, W.A. (1977): Wood ultrastructure in relation to chemical composition. *Recent Advances in Phytochemistry* 11, 1-44.

Cram, W.J. (1968): Compartmentation and exchange in carrot root tissue. *Biochimica et Biophysica Acta* 163, 339-353.

Crider, F.J. (1933): Selective absorption of ions not confined to young rootlets. *Science* 78, 169.

Curl, E.A.; Truelove, B. (1986): *The rhizosphere.* Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-N.Y. 288 S.

Donner, B.; Heyser, W. (1989): Buchenmykorrhizen: Möglichkeiten der Elementselektion unter besonderer Berücksichtigung einiger Schwermetalle. *Forstw. Cbl.* 108, 150-163.

Drew, M.C. (1990): Root function, development, growth and mineral nutrition. In: *The rhizosphere.* J.M. Lynch (ed.), John Wiley & Sons, Chichester, N.Y., Brisbane, Toronto, Singapore; 35-57.

Drew, M.C.; Biddulph, O. (1971): Effect of metabolic inhibitors and temperature on uptake and translocation of ^{45}Ca and ^{42}K by intact bean plants. *Plant Physiology* 48, 426-432.

Duddrige, J.A.; Malibari, A.; Read, D.J. (1980): Structure and function of mycorrhizal rhizomorphes with special reference to their role in water transport. *Nature* 287, 834-836.

Dünisch, O. (1989): *Über das Wachstum von in unterschiedlichen Erdkulturen angezogenen Fichten (Picea abies [L.] Karst.).* Diplomarbeit, Universität Hamburg, 105 S.

Eckstein, D. (1988): Dendroökologische Voruntersuchungen an Fichten in einem norddeutschen Waldschadensgebiet. In: *Das Forschungsprogramm Waldschäden am Standort "Postturm", Forstamt Farchau / Ratzeburg.* J. Bauch & W. Michaelis (Hrsg.), GKSS-Forschungszentrum Geesthacht, GKSS 88/E/55, 305-310.

Eckstein, D.; Aniol, R.W.; Bauch, J. (1983): Dendroklimatologische Untersuchungen zum Tannensterben. *European Journal of Forest Pathology* 13, 279-288.

Eichhorn, J. (1987): *Vergleichende Untersuchungen von Feinwurzelsystemen bei unterschiedlich geschädigten Altfichten (Picea abies Karst.).* Dissertation, Universität Göttingen, 154 S.

Epstein, E. (1962): Mutual effects of ions in their absorption by plants. *Agrochemica* VI, n. 4, 293-322.

Ernst, W.H.O. (1983): Ökologische Anpassungsstrategien an Bodenfaktoren. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 96, 49-71.

Eschweiler, H. (1987): *Methoden zur automatischen Masseneichung bei Flugzeitmassenspektrometern und ihre Realisierung.* Diplomarbeit, RWTH Aachen, 66 S.

Evers, F.H. (1983): Ein Versuch zur Aluminium-Toxizität bei Fichte. {Ergebnisse eines Gefäßkulturversuchs mit bewurzelten Fichtenstecklingen}. *Forst- und Holzwirt* 38 (12), 305-307.

Fain, G. L.; Schröder, W.H. (1985): Calcium content and calcium exchange in dark-adapted toad rods. *J. Physiol.* 368, 641-665.

Farr, E.; Vaidyanathan, L.V.; Nye, P.H. (1969): Measurement of ionic concentration gradients in soil near roots. *Soil Science* 107 (5), 385-391.

Fedderrau-Himme, B.; Feig, R.; Herms, A.; Rosenplänter, K.; Grothey, V.; Hüttermann, A. (1984): Untersuchungen von physiologischen Parametern von Altfichten der Standorte Abt. 109 (Kammlage) und 79 (Muldenlage) im Hils - Ein Beitrag zur Quantifizierung von Hypothesen zur Ursache des Waldsterbens. In: *Berichte des Forschungszentrums Waldökosysteme / Waldsterben* (Hrsg. B. Ulrich), Göttingen Bd. 4, 1-126.

Feil, W. (1989): *Morphologische und anatomische Untersuchungen zur Reaktion der Mykorrhizen von Picea abies [L.] Karst. auf natürlichen und experimentellen Trockenstreß.* Dissertation, Universität Tübingen, 107 S.

Ferguson, I.B.; Clarkson, D.T. (1976): Simultaneous uptake and translocation of magnesium and calcium in barley (*Hordeum vulgare* L.) roots. *Planta* 128, 267-269.

Fink, S. (1988): Histologische und histochemische Untersuchungen zur Nährstoffdynamik in Waldbäumen im Hinblick auf die "Neuartigen Waldschäden". *KFK (Karlsruhe) - PEF - Berichte* 35 (1+2), 209-218.

Fink, S. (1989a): Histologische und histochemische Untersuchungen zur Nährstoffdynamik in Waldbäumen im Hinblick auf die "Neuartigen Waldschäden". *KFK (Karlsruhe) - PEF - Berichte* 50 (1), 1-10.

Fink, S. (1989b): Anatomische Untersuchungen an Koniferennadeln als Diagnosemittel zur Unterscheidung von Immissionsschäden und Mineralstoffmangel-Symptomen. *Kali-Briefe (Büntehof)* 19 (6), 461-466.

Finlay, R.D.; Read, D.J. (1986): The structure and function of the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. II. The uptake and distribution of phosphorus by mycelial strands interconnecting host plants. *New. Phytol.* 103, 157-165.

Finlay, R.D.; Ek, H.; Odham, G.; Söderström, B. (1988): Mycelial uptake, translocation and assimilation of nitrogen from ^{15}N-labelled ammonium by *Pinus sylvestris* plants infected with four different ectomycorrhizal fungi. *New Phytol.* 110, 59-66.

Finlay, R.D.; Ek, H.; Odham, G.; Söderström, B. (1989): Uptake, translocation and assimilation of nitrogen from ^{15}N-labelled ammonium and nitrate sources by intact ectomycorrhizal systems of *Fagus sylvatica* infected with *Paxillus involutus. New Phytol.* 113, 47-55.

Fortin, J.A. (1981): *Introduction of the 5th North American conference on mykorrhizae.* Laval University, Ouebec.

Foy, C.D. (1984): Physiological effects of hydrogen, aluminum, and manganese toxicities in acid soil. In: *Soil acidity and liming* (Ed. Fred Adams); Number 12 in the series: Agronomy; American Society of Agronomy...; Madison, Wisconsin USA; 57-97.

Foy, C.D.; Chaney, R.L.; White, M.C. (1978): The physiology of metal toxicity in plants. *Ann. Rev. Plant Physiology* 29, 511-566.

Frey-Wyssling, A. (1959): Die pflanzliche Zellwand. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg.

Führ, F.; Wieneke, J. (1973): Die mikroautoradiographische Technik in pflanzenphysiologischen Untersuchungen. *Angew. Botanik* 47, 97-106.

Gerhardt, E. (1984): *Lamellenpilze, Täublinge, Milchlinge und andere Gruppen mit Lamellen.* Reihe: Spektrum der Natur (Intensivführer, Bd. 1). BLV - Verlagsgesellschaft München-Wien-Zürich, 319 S.

Gerhardt, E. (1985): *Röhrlinge, Porlinge, Bauchpilze, Schlauchpilze und andere.* Reihe: Spektrum der Natur (Intensivführer, Bd. 2). BLV - Verlagsgesellschaft München-Wien-Zürich, 320 S.

Gerthsen, C.; Kneser, H.O.; Vogel, H. (1977): *Physik.* 13. Aufl., Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-N.Y., 768 S.

Giltrap, N.J.; Lewis, D.H. (1981): Inhibition of growth of ectomycorrhizal fungi in culture by phosphate. *New. Phytol.* 87, 669-675.

Glavac, V. (1987): Die Gewinnung des Xylemwassers von lebenden Bäumen und Analyse seiner Mineralstoffgehalte. *Angew. Botanik* 61, 453-466.

Guderian, R.; Klumpp, A.; Küppers, K. (1987): Gehalte und Leaching von Magnesium, Calcium und Kalium bei Fichte (*Picea abies* Karst.) nach Einwirkung von Ozon und Schwefeldioxid. In: *Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie* (Gießen 1986), Band XVI, 311-322.

Gunning, B.E.S.; Pate, J.S. (1969): "Transfer Cells". *Protoplasma* 68, 107-133.

Godbold, D.L.; Fritz, E.; Hüttermann, A. (1987): Lead contents and distribution in spruce roots. In: *Air pollution and ecosystems* (P. Mathy ed.), Reidel, Dordrecht, 864-869.

Godbold, D.L.; Fritz, E.; Hüttermann, A. (1988): Aluminium toxicity and forest decline. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85 (Ecology), 3888-3892.

Göttsche-Kühn, H. (1988): Bildung und Eigenschaften des Holzes von Fichten (*Picea abies* [L.] Karst.) aus Waldschadensgebieten. *Mitteilungen der Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft Hamburg* Nr. 157, 171 S.

Gradel, J.; Hantschel, R.; Kaupenjohann, M.; Horn, R.; Zech, W. (1987): Vergleich von Perkolations- und Gleichgewichtsbodenlösungen an ausgewählten Standorten. *Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch.* 53, 387-393.

Hajibagheri, M.A.; Flowers, T.J.; Collins, J.C.; Yeo, A.R. (1988): A comparsion of the methods of X-ray microanalysis, compartmental analysis and longitudinal ion profiles to estimate cytoplasmic ion concentrations in two maize varieties. *Journal of Experimental Botany* 39 (200), 279-290.

Hall, T.A.; Echlin, P.; Kaufmann, R. (1974): Microprobe analysis as applied to cells and tissues. *Proceedings of a conference at Battelle Seattle Research Center; Seattle, Washington, USA, April 30 - May 2 (1973).* Academic Press, Lonon New York, 435 S.

Hall, T.A.; Gupta, B.L. (1983): The localization and assay of chemical elements by microprobe methods. *Quart. Rev. Biophys.* 16, 279-339.

Hamblin, A.P. (1985): The influence of soil structure on water movement, crop root growth, and water uptake. *Advances in Agronomy* 38, 95-158.

Hanger, B.C. (1979): The movement of calcium in plants. *Commun. in Soil Science and Plant Analysis* 10 (1&2), 171-193.

Hantschel, R.; Kaupenjohann, M.; Horn, R.; Zech, W. (1986): Kationenkonzentrationen in der Gleichgewichts- und Perkolationsbodenlösung (GBL und PBL)- ein Methodenvergleich. [Kurzmitteilung] . *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 149, 136-139.

Hantschel, R.; Durner, W.; Horn, R. (1987): Die Bedeutung von Porenheterogenitäten für die Erstellung der pF/WG- und k/psi-Kurven. *Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch.* 53, 403-409.

Harley, J.L. (1978): Ectomycorrhizas as nutrient absorbing organs (Review Lecture). *Proc. R. Soc. Lon. B.* 203, 1-21.

Harley, J.L. (1985): Specificity and penetration of tissues by mycorrhizal fungi. *Proc. India Acad. Sci. (Plant Sci.)* 94 (2&3), 99-109.

Harley, J.L; Brierley, J.K.; McCready, C.C. (1954): The uptake of phosphate by excised mycorrhizal roots of the beech. V. The examination of possible sources of misinterpretation of the quantities of phosphorus passing into the host. *New Phytologist* 53, 92-98.

Harley, J.L.; Wilson, J.M. (1959): The absorption of Potassium by beech mycorrhiza. *New Phytologist* 58, 281-298.

Harley, J.L.; Loughman, B.C. (1963): The uptake of phosphate by excised mycorrhizal roots of the beech. *New Phytologist* 62, 350-359.

Harley, J.L.; Russel, R.S. (1979): *The soil-root interface.* Academic Press, London, N.Y., San Francisco.

Harley, J.L.; Smith, S.E. (1983): *Mycorrhizal symbiosis.* Academic Press, London-New York, 483 S.

Hartge, K.H.; Bohne, H. (1985): Zur gegenseitigen Beeinflussung von Baum und Bodengefüge. *Allg. Forstz.* 40 (11), 235-237.

Harvey, D.M.R.; Hall, J.L.; Flowers, T.J. (1976): The use of freeze-substitution in the preparation of plant tissue for ion localization studies. *J. Microsc.* 107, 189-198.

Haug, I. (1987): *Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Mykorrhizen von Fichtenbeständen im Schwarzwald.* Dissertation, Universität Tübingen, 176 S.

Häussling, M.; Jorns, C.A.; Lehmbecker, G.; Hecht-Buchholz, C.; Marschner, H. (1988): Ion and water uptake in relation to root development in Norway Spruce (*Picea abies* [L.] Karst.). *J. Plant Physiology* 133, 486-491.

Haynes, R.J. (1980): Ion exchange properties of roots and ionic interactions within the root apoplasm: Their role in ion accumulation by plants. *The Botanical Review* 46 (1), 75-99.

Heinen, H.J (1981): On ion formation in laser desorption mass spectrometry with LAMMA. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.* 38, 309-322.

Hepler, P.K.; Wayne, R.O. (1985): Calcium and Plant Development. *Ann. Rev. Plant Physiology* 36, 397-439.

Hildebrand, E.E. (1986): Ein Verfahren zur Gewinnung der Gleichgewichts-Bodenporenlösung. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 149, 340-346.

Hillenkamp, F.; Unsöld, E.; Kaufmann, R.; Nitsche, R. (1975): A high-sensitivity Laser Microprobe Mass Analyzer. *Appl. Phys.* 8, 341-348.

Hock, B.; Bartunek, A. (1984): Ektomykorrhiza. *Naturwissenschaftliche Rundschau* 37 (11), 437-444.

Horn, R. (1987): Die Bedeutung der Aggregierung für die Nährstoffsorption in Böden. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 150, 13-16.

Horn, R.; Zech, W. (1987): Zusammenhänge zwischen Bodeneigenschaften und Waldschäden. *Allg. Forstz.* 42, 300-302.

Huett, D.O.; Menary, R.C. (1979): Aluminium uptake by excised roots of cabbage, lettuce and Kikuyu grass. *Aust. J. Plant Physiology* 6, 643-653.

Hüttl, R.F. (1989): Neuartige Waldschäden aus dem Blickwinkel der Waldernährungslehre. *Kali Briefe (Büntehof)* 19 (6), 367-389.

Hüttl, R.F.; Zöttl, H.W. (1985): Ernährungszustand von Tannenbeständen in Süddeutschland - ein historischer Vergleich. *Allg. Forstz.* 38.

Ingestad, T. (1959): Studies on the nutrition of forest tree seedlings. II. Mineral nutrition of spruce. *Physiologia Plantarum* 12, 568-593.

Ingestad, T. (1979): Mineral nutrient requirements of *Pinus silvestris* and *Picea abies* seedlings. *Physiologia Plantarum* 45, 373-380.

Ingestad, T. (1982): Relative addition rate and external concentration; Driving variables used in plant nutrition research (Commissioned Review Article). *Plant, Cell and Environment* 5, 443-453.

Isermann, K. (1969): *Aufnahme und Verlagerung von Calcium bei der höheren Pflanze.* Dissertation; Institut für Pflanzenernährung der Universität Hohenheim (Landwirtschaftliche Hochschule Hohenheim), 132S.

Isermann, K. (1971): Der Einfluß von Chelatoren auf die Ca-Aufnahme und Ca-Verlagerung bei der höheren Pflanze. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 128 (3), 195-207.

Isermann, K. (1978): Einfluß von Chelatoren auf die Calcium-Verlagerung im Sproß höherer Pflanzen. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 141, 285-298.

Isermann, K. (1987): Revitalisierung geschädigter Fichten-Altbestände durch Mineraldüngung. *Allg. Forstz.* 42, 997-1000.

Israelachvili, J.N. (1985): *Intermolecular and surface forces.* Academic Press, London ..., 296 S.

Jacoby, B. (1965): Sodium retention in excised bean stems. *Physiologia Plantarum* 18, 730-739.

Jacoby, B. (1966): Acent of calcium in intact and de-rooted bean plants. *Nature* 211, 212.

Jentschke, G. (1989): *Die Wirkung von Aluminium, Blei und Stickstoff auf mykorrhizierte Fichtenkeimlinge in monoxenischer Sandkultur.* Dissertation, Universität Göttingen, 118 S.

Jeschke, W.D. (1977): K^+-Na^+ Exchange and selectivity in barley root cells effects of K^+, Rb^+, Cs^+, and Li^+ on the Na^+ fluxes. *Z. Pflanzenphysiol.* 84, 247-264.

Jeschke, W.D.; Atkins, C.A.; Pate, J.S. (1985): Ion circulation via phloem and xylem between root and shoot of nodulated White Lupin. *J. Plant. Physiol.* 117, 319-330.

Jeschke, R.E.; Wolf, O. (1988): External potassium supply is not required for root growth in saline conditions: Experiments with *Ricinus communis* L. grown in a reciprocal split-root system. *J. of Experimental Botany* 39 (206), 1149-1167.

Johnson, R.E.; Jackson, W.A. (1964): Calcium uptake and transport by wheat seedlings as affected by aluminum. *Soil Science Society of Amerika, Proceedings* 28, 381-386.

Jorns, A. (1987): Presence and function of the Casparian Band in the roots of Norway Spruce [*Picea abies* (L.) Karst.]. *J. Plant. Physiol.* 129, 493-496.

Jorns, A. (1988): Aluminiumtoxizität bei Sämlingen der Fichte [*Picea abies* (L.) Karst.] in Nährlösungskultur. *Berichte des Forschungszentrums Waldökosysteme / Waldsterben* (Göttingen), Reihe A, Bd. 42, 86 S.

Jorns, A.; Hecht-Buchholz, C. (1985): Aluminiuminduzierter Magnesium- und Calciummangel im Laborversuch bei Fichtensämlingen. *Allg. Forstz.* 46, 1248-1252.

Junga, U. (1984): *Sterilkulturen als Modellsystem zur Untersuchung des Mechanismus der Aluminium-Toxizität bei Fichtenkeimlingen (Picea abies Karst.).* Dissertation, Universität Göttingen.

Jungk, A.; Claasen, N. (1986): Availability of phosphate and potassium as the result of interactions between root and soil in the rhizosphere. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 149, 411-427.

Jungk, A.; Claasen, N. (1989): Availability in soil and acquisition by plants as the basis for phosphorus and potassium supply to plants. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 152, 151-157.

Jurat, R.; Schaub, H. (1988): Effects of sulphur dioxide and ozone on ion uptake of spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) seedlings. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 151, 379-384.

Kedem, O. (1961): Criteria of active transport. In: *Membrane transport and metabolism.* A. Kleinzeller & A. Kotyk (eds.), Academic Press, London-New York.

Kenk, G.; Unfried, P.; Evers, F.H.; Hildebrand, E.E. (1984): Zur längerfristigen Wirkung von Düngungen auf Zuwachs, Ernährung und Gesundheitszustand in einem Fichten-Bestand des Buntsandstein-Odenwaldes. *Mitteilungen der Forstlichen Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg, Freiburg i. Breisgau* Heft 114, 1-42.

Kirkham, M.B. (1983): Physical model of water in a split-root system. *Plant and Soil* 75, 153-168.

Klein, P.; Bauch, J. (1979): On the localization of ions in the cell wall layers of treated wood based on the Laser-Microprobe-Mass-Analyzer (LAMMA). *Holzforschung* 33 (1), 1-6.

Klute, C.H. (1959): Diffusion of small molecules in semicrystalline polymers. {II. The permeability of unoriented polymer films}. *Journal of Polymer Science* 41, 307-317.

Klute, C.H. (1959): Diffusion of small molecules in semicrystalline polymers: Water in polyethylene. *Journal of Applied Polymer Science* Vol. I (3), 340-350.

Knabe, W.; Cousen, G.; Heberle, U.; Pfeiffer, C. (1986): Standardisierte Auswertung der immissionsökologischen Waldzustandserfassung. *Holz-Zentralblatt* 112, 681-683.

Knoth, J.; Schwenke, H. (1978): An X-ray fluorescence spektrometer with totally reflecting sample support for trace analysis at the ppb level. *Fresenius Z. Anal. Chem.* 291, 200-204.

Knoth, J.; Schwenke, H. (1980): A new totally reflecting x-ray fluorescence spectrometer with detection limits below 10^{-11}g. *Fresenius Z. Anal. Chem.* 301, 7-9.

Korte, H. (1985): *Ionenaustauschereigenschaften des Holzgewebes von Tanne (Abies alba Mill).* Diplomarbeit, Universität Hamburg, 59 S.

Köstler, J.N.; Brückner, E.; Bibelriether, H. (1968): *Die Wurzeln der Waldbäume.* Verlag Paul Parey, Hamburg u. Berlin, 284 S.

Kottke, I. (1986): Wurzelentwicklung und Wachstum der Fichte (*Picea abies* [L.] Karst.) auf unterschiedlichen Böden und künstlichen Substraten. In: *Das landschaftsökologische Forschungsprojekt Naturpark Schönbuch.* DFG-Forschungsbericht (Hrsg. G. Einsele), VCH-Verlag, 443-462.

Kottke, I.; Oberwinkler, F. (1986): Mycorrhiza of forest trees - structure and function. *Trees* 1, 1-24.

Kottke, I.; Rapp, Ch.; Oberwinkler, F. (1986): Zur Anatomie gesunder und "kranker" Feinstwurzeln von Fichten: Meristem und Differenzierung in Wurzelspitzen und Mykorrhizen. *European Journal of Forest Pathology* 16 (3), 159-171.

Kottke, I.; Guttenberger, M.; Hampp, R.; Oberwinkler, F. (1987): An in vitro method for establishing mycorrhizae on coniferous tree seedlings. *Trees* 1, 191-194.

Kottke, I.; Oberwinkler, F. (1990): Comparative investigations on the differentiation of the endodermis and the development of the Hartig net in mycorrhizae of *Picea abies* and *Larix decidua*. *Trees* 4, 41-48.

Kozlowski, T.T.; Winget, C.H. (1963): Patterns of water movement in forest trees. *Botanical Gazette* (June), 301-311.

Kramer, P.J. (1946): Absorption of water through suberized roots of trees. *Plant Physiology* 21, 37-41.

Kramer, P.J. (1969): *Plant and soil water relationships: A modern synthesis.* McGraw - Hill Series in Organismic Biology. 482 S.

Kramer, P.J.; Bullock, H.C. (1966): Seasonal variations in the proportions of suberized and unsuberized roots of trees in the relation to the absorption of water. *American Journal of Botany* 53, 200-204.

Krause, C. (1991): *Ganzbaumanalyse von Eiche, Buche, Kiefer und Fichte mit dendroökologischen Methoden unter besonderer Berücksichtigung von Klima-Wachstums-Beziehungen und Weiserjahren.* Dissertation, Universität Hamburg, 163 S.

Kreutzer, K.; Bittersohl, J. (1986): Stoffauswaschungen aus Fichtenkronen (*Picea abies* [L.] Karst.) durch saure Beregnung. *Forstw. Cbl.* 105, 357-363.

Kuhn, A.J.; Schröder, W.H.; Bauch, J.; Haug, I.; Kottke, I.; Oberwinkler, F. (1988): Mikrosonden-Untersuchungen zum Ionenaustausch und zur Ionenaufnahme in sterilen und mykorrhizierten Feinstwurzeln. In: *Das Forschungsprogramm Waldschäden am Standort "Postturm", Forstamt Farchau / Ratzeburg*, J. Bauch & W. Michaelis (Hrsg.), GKSS-Forschungszentrum Geesthacht, GKSS 88 / E / 55, 255-286.

Kumpfer, W. (1991): *Untersuchungen zur Bedeutung der Ektomykorrhiza für Zinkernährung und Zinktoleranz von Fagus sylvatica L. und Pinus sylvestris L.* Dissertation, Universität Bremen, 130 S.

Lambers, H.; Simpson, R.J.; Beilharz, V.C.; Dalling, M.J. (1982): Growth and translocation of C and N in wheat (*Triticum aestivum*) grown with a split root system. *Physiologia Plantarum* 56, 421-429.

Läuchli, A. (1967): Untersuchungen über Verteilung und Transport von Ionen in Pflanzengeweben mit der Röntgen-Mikrosonde. *Planta* 75, 185-206.

Läuchli, A. (1976): Apoplasmic transport in tissues. *Enc. Plant. Physiol.* 2B, 3-34.

Läuchli, A.; Spurr, A.R.; Wittkopp, R.W. (1970): Electron probe analysis of freeze-substituted, epoxy resin embedded tissue for ion transport studies in plants. *Planta* 95, 341-350.

Le Tacon, F.; Jung, G.; Michelot, P.; Mugnier, M. (1983): Efficiency in a forest nursery of an inoculum of an ectomycorrhizal fungus produced in a fermentor and entrapped in polymetric gels. *Ann. Sci. For.* 40, 165-176.

Levitt, J. (1980): *Responses of plants to environmental stresses.* Vol. 1, 2nd edn., Academic Press, Orlando, 497S.

Lindberg, S.; Petterson, S. (1985): Effects of mechanical stress on uptake and distribution of nutrients in barley. *Plant and Soil* 83, 295-309.

Liss, B.; Blaschke, H.; Schütt, P. (1984): Vergleichende Feinwurzeluntersuchungen an gesunden und erkrankten Altfichten auf zwei Standorten in Bayern - ein Beitrag zur Waldsterbensforschung. *Eur. J. For. Path.* 14, 90-102.

Lüttge, U. (1973): *Stofftransport der Pflanzen.* Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-N.W., 280 S.

Lüttge, U.; Higinbotham, N. (1979): *Transport in plants.* Springer-Verlag, New York-Berlin-Heidelberg, 468 S.

Maas, E.V. (1969): Calcium uptake by excised maize roots and interactions with alkali cations. *Plant Physiology* 44, 985-989.

MacFall, J.S.; Johnson, G.A.; Kramer, P.J. (1990): Observation of a water-depletion region surrounding loblolly pine roots by magnetic resonance imaging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 1203-1207.

Macklon, A.E.S.; Sim, A. (1981): Cortical cell fluxes and transport to the stele in excised root segments of *Allium cepa* L. {IV. Calcium as affected by its external concentration}. *Planta* 152, 381-387.

Malzer, G.L.; Barber, S.A. (1975): Precipitation of calcium and strontium sulfates around plant roots and its evaluation. *Proc. Soil. Sci. Soc. Am.* 39, 492-495.

Marschner, H. (1964): Aktive und passive Ionenverlagerung durch die Pflanzenwurzel in den Sproß unter dem Einfluß der Transpiration. *Landwirtschaftliche Forschung, Sonderheft* 18, 91-99.

Marschner, H. (1978): Ernährungs- und Ertragsphysiologische Aspekte der Pflanzenernährung. *Angew. Botanik* 52, 71-87.

Marschner, H. (1985): Nährstoffdynamik in der Rhizosphäre {Eine Übersicht}. *Ber. Dtsch. Botanischen Gesellschaft* 98, 291-309.

Marschner, H. (1986): *Mineral nutrition of higher plants.* Academic Press, London ..., 674 S.

Marschner, H. (1991): Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. *Plant and Soil* 134, 1-20.

Marschner, H.; Schimansky, Chr. (1968): Unterschiedliche Aufnahme von Kalium und Rubidium durch Gerste {Kurze Originalmitteilung}. *Naturwissenschaften* 55 (10), 499.

Marschner, H.; Römheld, V.; Ossenberg-Neuhaus, H. (1982): Rapid method for measuring changes in pH and reducing processes along roots of intact plants. *Z. Pflanzenphysiol.* 105, 407-416.

Marschner, H.; Römheld, V. (1983): In vivo measurement of root-induced pH changes at the soil-root interface: Effect of plant species and nitrogen source. *Z. Pflanzenphysiol.* 111, 241-251.

Marschner,H.; Römheld, V.; Horst, W.J.; Martin, P. (1986): Root-induced changes in the rhizosphere: Importance for the mineral nutrition of plants. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 149, 441-456.

Marschner, H.; Häussling, M.; George, E. (1991): Ammonium and nitrate uptake rates and rhizosphere pH in non-mycorrhizal roots of Norway spruce [*Picea abies* [L.] Karst.]. *Trees* 5, 14-21.

Marx, D.H. (1969): The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology* 59, 153-163.

Mascorro, J.A.; Ladd, M.W.; Yates, R.D. (1976): Rapid infiltration of biological tissues utilising n-hexenyl succinic anhydride (HXSA) / vinyl cyclohexene dioxide (VCD), an ultra-low viscosity embedding medium. *34 th. Ann. Proc. E.M.S.A.*, 346-347.

Massicotte, H.B.; Ackerley, C.A.; Peterson, R.L. (1987): The root-fungus interface as an indicator of symbiont interaction in ectomycorrhizae. *Can. J. of Forest Research* 17, 846-854.

McCormick, L.H.; Borden, F.Y. (1974): The occurrence of aluminum-phosphate precipitate in plant roots. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 38, 931-934.

Melin, E.; Nilsson, H. (1950): Transfer of radioactive phosphorus to pine seedlings by means of mycorrhizal hyphae. *Physiology Plantarum* 3, 88-92.

Melin, E.; Nilsson, H. (1952): Transport of labelled nitrogen from an ammonium source to pine seedlings through mycorrhizal mycelium. *Svensk Botanisk Tidskrift* 46 (3-4), 281-285.

Melin, E.; Nilsson, H. (1955): Ca^{45} used as indicator of transport of cations to pine seedlings by means of mycorrhizal mycelium. *Svensk Botanisk Tidskrift* 49 (1-2), 119-122.

Melin, E.; Nilsson, H.; Hacskaylo, E. (1958): Translocation of cations to seedlings of *Pinus virginiana* through mycorrhizal mycelium. *Botanical Gazette* 119, 243-246.

Mengel, K. (1984): *Ernährung und Stoffwechsel der Pflanze.* Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 431 S.

Mengel, K.; Helal, M. (1967): Der Einfluß des austauschbaren Ca^{++} junger Gerstenwurzeln auf den Flux von K^{+} und Phosphat - eine Interpretation des Viets-Effektes. *Z. Pflanzenphysiol.* 57, 223-234.

Mengel, K.; Lutz, H.-J.; Breininger, M.Th. (1987): Auswaschung von Nährstoffen durch sauren Nebel aus jungen intakten Fichten (*Picea abies*). *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 150, 61-68.

Meyberg, M.; Lockhausen, J.; Schult, B.; Kristen, U. (1988): Ultrastrukturelle Veränderungen in Nadeln geschädigter Fichten des Standortes "Postturm". In: *Das Forschungsprogramm Waldschäden am Standort "Postturm", Forstamt Farchau / Ratzeburg*, J. Bauch & W. Michaelis (Hrsg.), GKSS-Forschungszentrum Geesthacht, GKSS 88/E/55, 121-130.

Meyer, F.H. (1962): Die Buchen- und Fichtenmykorrhiza in verschiedenen Bodentypen, ihre Beeinflussung durch Mineraldünger sowie für die Mykorrhizabildung wichtige Faktoren. *Mittl. Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft*, Reinbek Nr. 54.

Meyer, F.H. (1967): Feinwurzelverteilung bei Waldbäumen in Abhängigkeit vom Substrat. *Forstarchiv* 38, 286-290.

Meyer, F.H. (1985a): Die Rolle des Wurzelsystems beim Baumsterben. *Der Forst- u. Holzwirt* 40, 351-358.

Meyer, F.H. (1985b): Einfluß des Stickstoff-Faktors auf den Mykorrhizabesatz von Fichtensämlingen im Humus einer Waldschadensfläche. *Allg. Forstz.* 40 (9/10), 208-219.

Michaelis, W.; Fanger, H.-U.; Niedergesäß, R.; Schwenke, H. (1985): Symp. Instrumental Multielement Analysis, April 2 - 5, Jülich; in : B. Sansoni (Hrsg.) *Instrumentelle Multielement-Analyse*, VCH Verlagsgesellschaft/ Weinheim, 693 S.

Minorsky, P.V. (1989): Temperature sensing by plants: a review and hypothesis. *Plant, Cell and Environment* 12, 119-135.

Mohr, H. (1986): Die Erforschung der neuartigen Waldschäden. *Biologie in unserer Zeit* 16, 83-89.

Mohr, H.; Schopfer, P. (1978): *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie.* Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 608 S.

Moor, H. (1987): Theory and practice of high pressure freezing. In: *Cryotechniques in Biological Electron Microscopy.* R.A. Steinbrecht & K. Zierold (Hrsg.), Springer-Verlag, 175-191.

Müller, M; Moor, H. (1984): Cryofixation of thick specimens by pressure freezing. In: *The science of biological specimen preparation.* J.P. Revel, T. Barnard & G.H. Haggins (eds.). SEM, AMF O'Hare, 131-138.

Münch, E. (1930): *Die Stoffbewegungen in der Pflanze.* Gustav Fischer Verlag, Jena.

Murach, D. (1984): Die Reaktion der Feinwurzeln von Fichten (*Picea abies* Karst.) auf zunehmende Bodenversauerung. *Göttinger Bodenkundliche Berichte 77*, 1-126.

Murach, D.; Rapp, C.; Ulrich, B. (1988): Boden- und Feinwurzelinventur auf der Versuchsfläche am Standort "Postturm", Forstamt Farchau / Ratzeburg. In: *Das Forschungsprogramm Waldschäden am Standort "Postturm", Forstamt Farchau / Ratzeburg*, J. Bauch & W. Michaelis (Hrsg.), GKSS-Forschungszentrum Geesthacht, GKSS 88/E/55, 189-214.

Naumann, R.; Ludewig, M.; Fenner, R.; Laik, I.; Bidgon, M.; Dörffling, K. (1988): Untersuchungen physiologischer Kenngrößen zur Beurteilung des Schadenszustandes von Fichten. In: *Das Forschungsprogramm Waldschäden am Standort "Postturm", Forstamt Farchau / Ratzeburg*, J. Bauch & W. Michaelis (Hrsg.), GKSS-Forschungszentrum Geesthacht, GKSS 88/E/55, 151-171.

Nye, P.H. (1981): Changes of pH across the rhizosphere induced by roots. *Plant and Soil* 61, 7-26.

Nylund, J.E. (1987): The ectomycorrhizal infection zone and its relation to acid polysaccharides of cortical cell walls. *New Phytol.* 106, 505-516.

Orlovich, D.A.; Ashford, A.E.; Cox, G.C. (1989): A reassessment of polyphosphate granule composition in the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius. Austr. J. of Plant Physiology* 16 (1), 107-115.

Osonubi, O.; Oren, R.; Werk, K.S.; Schulze, E.D.; Heilmeier, H. (1988): Performance of two *Picea abies* (L.) Karst. stands at different stages of decline. IV. Xylem sap concentrations of magnesium, calcium, potassium and nitrogen. *Oecologia* 77, 1-6.

Perumalla, C.J.; Peterson, C.A. (1986): Deposition of Casparian bands and suberin lammellae in the exodermis and endodermis of young corn and onion roots. *Can. J. Bot.* 64, 1873-1878.

Persson, H. (1980): Spatial distribution of fine-root growth, mortality and decomposition in a young Scots pine stand in Central Sweden. *OIKOS* 34, 77-87.

Peterson, C.A. (1987): The exodermal Casparian band of onion roots blocks the apoplastic movement of sulphate ions. *Journal of Experimental Botany* 38 (197), 2068-2081.

Pitman, M.G. (1971): Uptake and transport of ions in barley seedlings {I. Estimation of chloride fluxes in cells of excised roots}. *Aust. J. Biol. Sci.* 24, 407-421.

Pitman, M.G. (1977): Ion transport into the xylem. *Ann. Rev. Plant Physiology* 28, 71-88.

Pitman, M.G.; Saddler, H.D.W. (1967): Active sodium and potassium transport in cells of barley roots. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 57, 44-49.

Pitman, M.G.; Courtice, A.C.; Lee, B. (1968): Comparsion of potassium and sodium uptake by barley roots at high and low salt status. *Aust. J. Biol. Sci.* 21, 871-881.

Pitman, M.G.; Cram, W.J. (1976): Regulation of ion content in whole plants. In: *Interaction of Activity in the Higher Plant; Symposia of the Society for Experimental Biology* 31 (Cambridge University Press), 391-424.

Plattner, H.; Bachmann, L. (1982): Cryofixation: A tool in biological ultrastructural research. *Int. Rev. Cytol.* 79, 237-304.

Poonia, N.S.; Bajaj, A.V. (1979): Coordination chemistry of alkali and alkaline earth cations. *Chemical Reviews* 79 (5), 389-445.

Puhe, J.; Persson, H.; Börjesson, I. (1986): Wurzelwachstum und Wurzelschäden in skandinavischen Nadelwäldern. *Allg. Forstz.* 20, 488-492.

Puls, J.; Rademacher, P. (1988): Jahreszeitliche Schwankungen im Gehalt von löslichen Zuckern, Stärke und Extraktstoffen im Holz gesunder und geschädigter Fichten (*Picea abies* [L.] Karst.). In: *Das Forschungsprogramm Waldschäden am Standort "Postturm", Forstamt Farchau / Ratzeburg*, J. Bauch & W. Michaelis (Hrsg.), GKSS-Forschungszentrum Geesthacht, GKSS 88 / E / 55, 327-336.

Rademacher, P. (1986): Morphologische und physiologische Eigenschaften von Fichten (*Picea abies* [L.] Karst.), Tannen (*Abies alba* Mill.), Kiefern (*Pinus sylvestris* L.) und Buchen (*Fagus sylvatica* L.) gesunder und erkrankter Waldstandorte. *GKSS-Forschungszentrum Geesthacht*, GKSS 86 / E / 10, 274S.

Rademacher, P.; Bauch, J.; Michaelis, W. (1988): Einfluß der Elementkonzentration der Bodenlösung auf den Elementgehalt in gesunden und geschädigten Fichten des Standortes "Postturm". In: *Das Forschungsprogramm Waldschäden am Standort "Postturm", Forstamt Farchau / Ratzeburg*, J. Bauch & W. Michaelis (Hrsg.), GKSS-Forschungszentrum Geesthacht, GKSS 88 / E / 55, 215-254.

Raven, J.A. (1977): H^+ and Ca^{2+} in phloem and symplast: Relation of relative immobility of the ions to the cytoplasmic nature of the transport paths. *New Phytol.* 79, 465-480.

Reddy, A.S.N.; McFadden, J.J.; Friedmann, M.; Poovaiah, B.W. (1987): Signal transduction in plants: Evidence for the involvement of calcium and turnover of inositol phospolipids. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 149 (2), 334-339.

Rehfuess, K.E. (1981a): *Waldböden - Entwicklung, Eigenschaften und Nutzung.* Verlag Paul Parey, Hamburg-Berlin, 192 S.

Rehfuess, K.E. (1981b): Über die Wirkungen der sauren Niederschläge in Waldökosystemen. *Forstw. Cbl.* 100, 363-381.

Rehfuess, K.E. (1988): Übersicht über die bodenkundliche Forschung im Zusammenhang mit den neuartigen Waldschäden. *Schriftenreihe der Wilhelm-Münker-Stiftung*, Heft 20, 20-45.

Rehfuess, K.E. (1989): Zu: Bodenkundliche Forschung im Zusammenhang mit den Neuartigen Waldschäden; (Entgegnung auf eine Stellungnahme von B. Ulrich in Allg. Forstz. 43/1988, 1171-1173). *Allg. Forstz.* 15, 390-396.

Reimer, L. (1967): *Elektronenmikroskopische Untersuchungs- und Präparationsmethoden.* Springer Verlag, New York-Berlin-Heidelberg, 598 S.

Rhodes, L.H.; Gerdermann, J.W. (1978): Translocation of calcium and phosphate by external hyphae of vesicular-arbuscular mykorrhizae. *Soil Science* 126 (2), 125-126.

Riedel, T. (1989): *Bestimmung des Element- und Kohlenhydratgehaltes von in unterschiedlichen Erdkulturen angezogenen Fichten.* Diplomarbeit, Universität Hamburg, 88 S.

Ritter, T.; Kottke, I.; Oberwinkler, F. (1986): Nachweis der Vitalität von Ektomykorrhizen. *Biologie in unserer Zeit* 16, 179-185.

Röhle, H. (1985): Ertragskundliche Aspekte der Walderkrankungen. *Forstw. Cbl.* 104, 225-242.

Rost-Siebert, K. (1983): Aluminium - Toxizität und Toleranz an Keimpflanzen von Fichte (*Picea abies* Karst.) und Buche (*Fagus silvatica* L.). *Allg. Forstz.* 38 (26/27), 686-689.

Rost-Siebert, K. (1985): Untersuchungen zur H- und Al-Ionen-Toxizität an Keimpflanzen von Fichte (*Picea abies* Karst.) und Buche (*Fagus sylvatica* L.) in Lösungskultur. *Berichte des Forschungszentrums Waldökosysteme / Waldsterben* (Göttingen), 12, 1-219.

Rovira, A.D.; Bowen, G.D.; Foster, R.C. (1983): The significance of rhizosphere microflora and mycorrhizas in plant nutrition. In: *Encyclopedia of Plant Physiology* 15 A {Interactions between nutrients in higher plants, Robson, A.D., Pitman, M.G. (eds.)}; 61-86.

Roy, A.K.; Sharma, A.; Talukder, G. (1988): Some aspects of aluminium toxicity in plants. *Bot. Rev.* 54, 145-178.

Ruetze, M.; Schmitt, U.; Liese, W.; Küppers, K. (1988): Histologische Untersuchungen an Fichtennadeln (*Picea abies* [L.] Karst.) nach Begasung mit SO_2, O_3 und NO_2. *Allg. Forst- u. Jagd-Ztg.* 159 (9/10), 195-203.

Rygiewicz, P.T.; Bledsoe, C.S. (1984): Mycorrhizal effects on potassium fluxes by Northwest coniferous seedlings. *Plant Physiology* 76, 918-923.

Rygiewicz, P.T.; Bledsoe, C.S.; Glass, A.D.M. (1984a): A comparison of methods for determining compartmental analysis parameters. *Plant Physiology* 76, 913-917.

Rygiewicz, P.T.; Bledsoe, C.S.; Zasoski, R.J. (1984b): Effects of ectomycorrhizae and solution pH on [^{15}N] uptake by coniferous seedlings. *Canadian Journal of Forest Research* 14, 893-899.

Rygiewicz, P.T.; Miller, S.T.; Durall, D.M. (1988): A root-mycocosm for growing ectomycorrhizal hyphae apart from host roots while maintaining symbiotic integrity. *Plant and Soil* 109, 281-284.

Sanderson, J. (1983): Water uptake by different regions of the barley root. Pathways of radial flow in relation to development of endodermis. *J. of Experimental Botany* 34 (140), 240-253.

Sanders, F.E.; Tinker, P.B. (1973): Phosphate flow into mycorrhizal roots. *Prestic. Sci.* 4, 385-395.

Sands, R.; Theodorou, C. (1978): Water uptake by mycorrhizal roots of Radiata Pine seedlings. *Aust. J. Plant Physiology* 5, 301-309.

Sands, R.; Mulligan, D.R. (1990): Water and nutrient dynamics and tree growth. *Forest Ecology and Management* 30, 91-111.

Scheffer, F.; Schachtschabel, P. (1976): *Lehrbuch der Bodenkunde.* Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 394 S.

Schierl, R. (1989): Bestimmung des Komplexierungsgrades von Al, Fe und Mn in Bodenlösungen durch Kationenaustausch. *Vom Wasser* 73, 161-165.

Schierl, R.; Göttlein, A.; Hohmann, E.; Trübenbach, D.; Kreutzer, K. (1986): Einfluß von saurer Beregnung und Kalkung auf Humusstoffe sowie die Aluminium- und Schwermetalldynamik in wäßrigen Bodenextrakten. *Forstw. Cbl.* 105, 309-313.

Schimansky, Chr. (1973): Untersuchungen zur Translokation von Magnesium (^{28}Mg) in Sonnenblumenpflanzen. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 136, 68-81.

Schimansky, Chr. (1975): Der Einfluß von Na^+, K^+ und Ca^{2+} auf den In- und Efflux von Mg^{2+} (^{28}Mg) bei intakten Pflanzen und isolierten Wurzeln. *Landwirtschaftliche Forschung, Sonderheft* 28/1, 53-60.

Schimansky, Chr. (1981): Die Aufnahme von ^{28}Mg, ^{86}Rb und ^{45}Ca durch Gerstenpflanzen bei unterschiedlichen Wurzeltemperaturen. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 144, 356-365.

Schimansky, Chr. (1991): Einfluß von Aluminium und Protonen auf die Aufnahme und den Transport von Magnesium (^{28}Mg) bei Gerste (*Hordeum vulgare* L.). *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 154, 1-4.

Schleiff, U. (1980): Chloride content of onion roots and their adhering soil under irrigation with saline drainage water. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 147, 85-97.

Schlögel, R. (1964): Stofftransport durch Membranen. *Fortschritte der Physikalischen Chemie* Bd.9, Dr.Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt, 123 S.

Schmitt, U.; Ruetze, M. (1990): Structural changes in spruce and fir needles. The Hohenheim long-term experiment: Effects of ozone, sulphur dioxide, and simulated acidic precipitation on tree species in a microcosm. *Environmental Pollution* 68, 345-354.

Schönburg, M. (1987): Radiometrische Datierung und quantitative Elementbestimmung in Sediment-Tiefenprofilen mit Hilfe kernphysikalischer sowie röntgenfluoreszenz- und atomemissionsspektrometrische Verfahren. *GKSS-Forschungszentrum Geesthacht*, GKSS 87/E/54, 134 S.

Schönherr, J. (1976): Water permeability of isolated cuticular membranes: The effect of pH and cations on diffusion, hydrodynamic permeability and size of polar pores in the Cutin matrix. *Planta* 128, 113-126.

Schönherr, J. (1976): Water permeability of isolated cuticular membranes: The effect of cuticular waxes on diffusion of water. *Planta* 131, 159-164.

Schönherr, J. (1982): Resistance of plant surfaces to water loss: Transport properties of cutin, suberin and associated lipids. In: Physiological Plant Ecology II.; Water relations and carbon assimilation; *Encyclopedia of Plant Physiology* N.S. 12B (Springer), 153-179.

Schröder, E. (1991): *Massenspektrometrie* {Begriffe und Definitionen}. Springer-Verlag, Berlin ..., 95 S.

Schröder, W.H. (1981): Quantitative LAMMA analysis of biological specimens. I. Standards. II. Isotope Labeling. *Fresenius Z. Anal. Chem.* 308, 212-217.

Schröder, W.H.; Bauch, J.; Endeward, R. (1988): Microbeam analysis of Ca exchange and uptake in the fine roots of spruce: influence of pH and aluminum. *Trees* 2, 96-103.

Schulze, E.D. (1989): Air pollution and forest decline in a spruce (*Picea abies*) forest. *Science* 244, 776-783.

Schulze, E.D.; De Vries, W.; Hauhs, M.; Rosén, K.; Rasmussen, L.; Tamm, C.O.; Nilsson, J. (1989): Ecosystems. *Water, Air, and Soil Pollution* 48, 451-456.

Schulze, E.D.; Lange, O.L. (1990): Die Wirkungen von Luftverunreinigungen auf Waldökosysteme. *Chemie in unserer Zeit* 24 (3), 117-130.

Schütt, P. (1977): Das Tannensterben. Der Stand unseres Wissens über eine aktuelle und gefährliche Komplex-Krankheit der Weißtanne (*Abies alba* Mill.). *Forstw. Cbl.* 96, 177-186.

Schütt, P. (1981): Folgt dem Tannensterben ein Fichtensterben ? Erste Hinweise auf Symptome, Verbreitung und Verlauf einer Erkrankung von Altfichten. *Holz-Zentralblatt* 107, 231-248.

Schütt, P.; Summerer, H. (1983): Waldsterben - Symptome an Buchen. *Forstw. Cbl.* 102, 201-206.

Schwenke, H.; Knoth, J. (1982): A highly sensitive energy X-ray spektrometer with multiple total reflection of the exciting beam. *Nuclear Instruments and Methods* 193, 239-243.

Schweingruber, F.H.; Eckstein, D.; Serre-Bachet, F.; Bräker, O.U. (1990): Identification, presentation and interpretation of event years and pointer years in dendrochronology. *Dendrochronologia* 8, 9-38.

Scott, B.J.; Robson, A.D. (1991): The distribution of Mg, P and K in the split roots of subterranean clover. *Annals of Botany* 67, 251-256.

Senden, M.H.M.N.; van Paasen, F.J.M.; van der Meer, A.J.G.M.; Wolterbeek, H.T. (1992): Cadmium - citric acid - xylem cell wall interactions in tomato plants. *Plant, Cell and Environment* 15, 71-79.

Shigo, A.L. (1984): Compartmentalization: A conceptual framework for understanding how trees grow and defend themselves. *Ann. Rev. Phytopathol.* 22, 189-214.

Shigo, A.L. (1985): Kompartimentierung als Abwehrreaktion bei Bäumen. *Spektrum der Wissenschaft* 7, 86-94.

Simon, H. (1982): Isotopen-Methoden in der Biologie. In: *Biophysik*, 2. Aufl., W. Hoppe, W. Lohmann, H. Markl u. H. Ziegler (Hrsg.), Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-N.Y., 313-327.

Sitte, P. (1975): Die Bedeutung der molekularen Lamellenbauweise von Korkzellwänden. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 168, 287-297.

Sitte, H. (1982): Kryopräparation in der Mikroskopie. *Labor-Praxis* 6, 812-824 und 960-973.

Sitte, H.; Edelmann, L.; Neumann, K. (1987a): Cryofixation without pretreatment at ambient pressure. In: *Cryotechniques in Biological Electron Microscopy*. R.A. Steinbrecht & K. Zierold (Hrsg.), Springer-Verlag, 87-113.

Sitte, H.; Neumann, K.; Edelmann, L. (1987b): Safety rules for cryopreparation without pretreatment at ambient pressure. In: *Cryotechniques in Biological Electron Microscopy*. R.A. Steinbrecht & K. Zierold (Hrsg.), Springer-Verlag, 285-289.

Sjöstrand, F.S.; Baker, R.F. (1958): Fixation by freezing-drying for electron microscopy of tissue cells. *J. Ultrastructure Research* 1, 239-246.

Spanswick, R.M. (1976): Symplasmic transport in tissues. *Enc. Plant. Physiol.* 2B, 35-53.

Spurr, A.R. (1969): A low viscosity embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastructure Research* 1, 239-246.

Squires, G.L. (1971): *Meßergebnisse und ihre Auswertung*. Walter de Gruyter, Berlin-New York, 240 S.

Steinbrecht, R.A. (1984): Cryofixation and follow-up techniques in biological electron microscopy - outline and demonstration. *Zeiss Inf. MEM Mag. Electron Microsc.* 3, 9-17.

Steinbrecht, R.A.; Zierold, K. (1987): *Cryotechniques in Biological Electron Microscopy.* Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-N.Y.-London-Paris-Tokyo, 297 S.

Steudle, E.; Jeschke, W.D. (1983): Water transport in barley roots. *Planta* 158, 237-248.

Stienen, H. (1985): *Struktur und Funktion von Feinwurzeln gesunder und erkrankter Fichten (Picea abies [L.] Karst.) unter Wald- und Kulturbedingungen.* Dissertation, Universität Hamburg, 165 S.

Stienen, H.; Barckhausen, R.; Schaub, H.; Bauch, J. (1984): Mikroskopische und röntgenenergiedispersive Untersuchungen an Feinwurzeln gesunder und erkrankter Fichten (*Picea abies* [L.] Karst.) verschiedener Standorte. *Forstw. Cbl.* 103, 262-274.

Stienen, H.; Bauch, J. (1988): Element content in tissues of spruce seedlings from hydroponic cultures simulating acidification and deacidification. *Plant and Soil* 106, 262-238.

Stone, B.A. (1989): Cell walls in plant-microorganism associations. *Austr. J. of Plant Physiology* 16 (1), 5-17.

Tanner, W.; Beevers, H. (1990): Does transpiration have an essential function in long-distance ion transport in plants ? *Plant, Cell and Environment* 13, 745-750.

Thomas, W.A. (1967): Dye and calcium ascent in Dogwood trees [Short Communication]. *Plant Physiology* 42, 1800-1802.

Thomas, W.A. (1969): Accumulation and cycling of calcium by Dogwood Trees. *Ecological Monographs* 39 (1), 101-120.

Tischner, R.; Kaiser, U.; Hüttermann, A. (1983): Untersuchungen zum Einfluß von Aluminium-Ionen auf das Wachstum von Fichtenkeimlingen in Abhängigkeit vom pH-Wert. *Forstw. Cbl.* 102, 329-336.

Topp, W. (1981): *Biologie der Bodenorganismen.* Verlag Quelle & Meyer, Heidelberg, 224 S.

Türk, S. (1990): *Transport und Einlagerung von ^{45}Ca in sechsjährigen Fichten (Picea abies [L.] Karst.).* Diplomarbeit, Universität Freiburg i.Br., 45 S.

Ulrich, B. (1981a): Eine ökosystemare Hypothese über die Ursachen des Tannensterbens (*Abies alba* Mill.). *Forstw. Cbl.* 100, 228-236.

Ulrich, B. (1981b): Destabilisierung von Waldökosystemen durch Akkumulation von Luftverunreinigungen. Der *Forst- und Holzwirt* 36 (21), 525-532.

Ulrich, B. (1982): Gefahren für das Waldökosystem durch Saure Niederschläge. In: *Sonderheft Mitteilungen der LÖLF, Recklinghausen* 7, 9-25.

Ulrich, B.; Pirouzpanah, D.; Murach, D. (1984): Beziehungen zwischen Bodenversauerung und Wurzelentwicklung von Fichten mit unterschiedlich starken Schadsymptomen. *Forstarchiv* 55, 127-134.

Ulrich, B. (1987): Stabilität, Elastizität und Resilienz von Waldökosystemen unter Einfluß saurer Deposition. *Forstarchiv* 58, 232-239.

Van Bavel, C.H.M.; Baker, J.M. (1985): Water transfer by plant roots from wet to dry soil. *Naturwissenschaften* 72, 606-607.

Van Fleet, D.S. (1961): Histochemistry and function of the endodermis. *The Botanical Review* 27 (2), 166-220.

Van de Gejn, S.C.; Petit, C.M. (1979): Transport of divalent cations. Cation exchange capacity of intact xylem vessels. *Plant Physiology* 64, 954-958.

Van Zyl, J.; Forrest, Q.G.; Hocking, C.; Pallaghy, C.K. (1976): Freeze-substitution of plant and animal tissue for the localization of water-soluble compounds by electron probe microanalysis. *Micron* 7, 213-224.

Verbueken, A.H.; Bruynseels, F.J.; Van Grieken, R.E. (1985): Laser Microprobe Mass Analysis: A review of applications in the life science. *Biomedical Mass Spectrometry* 12 (9), 438-463.

Viets, F.G. Jr. (1944): Calcium and other polyvalent cations as accelerators of ion accumulation by excised barley roots. *Plant Physiology* 19, 466-480.

Vité, J.P.; Rudinsky, J.A. (1959): The water-conducting systems in conifers and their importance to the distribution of trunk injected chemicals. *Contribution from Boyce Thompson Institute (New York)* 20, 27-38.

Wagatsuma, T. (1983): Characterization of absorption sites for aluminum in the roots. *Soil Sci. Plant Nutr.* 29 (4), 499-515.

Wagatsuma, T.; Kaneko, M.; Hayasaka, Y. (1987): Destruction process of plant root cells by aluminum in the roots. *Soil Sci. Plant Nutr.* 33 (2), 161-175.

Wattendorff, J. (1980): Cutinisierte und suberinisierte Zellwände: Schutzhüllen der höheren Pflanzen. *Biologie in unserer Zeit* 10. Jahrg. Nr. 3, 81-90.

Weast, R.C. (1989): *Handbook of chemistry and physics.* 70 st edn., Chemical Rubber Co., Cleveland.

Wechsung, R.; Hillenkamp, F.; Kaufmann, R.; Nitzsche, R.; Vogt, H. (1978): Laser-Mikrosonden-Massen-Analysator "LAMMA": Ein neues Analysenverfahren für Forschung und Technologie. *Mikroskopie* (Wien) 34, 47-54.

Werner, D. (1987): *Pflanzliche und mikrobielle Symbiosen.* Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York, 241 S.

White, M.C.; Baker, F.D.; Chaney, R.L.; Decker, A.M. (1981a): Metal complexation in xylem fluid. II. Theoretical equilibrium model and computational computer program. *Plant Physiology* 67, 301-310.

White, M.C.; Chaney, R.L.; Decker, A.M. (1981b): Metal complexation in xylem fluid. III. Electrophoretic evidence. *Plant Physiology* 67, 311-315.

White, M.C.; Decker, A.M.; Chaney, R.L. (1981c): Metal complexation in xylem fluid. I. Chemical composition of tomato. *Plant Physiology* 67, 292-300.

Wieneke, J. (1969): Calciumtranslokation und Ätiologie der Stippigkeit beim Apfel. *Der Erwerbsobstbau* 11. Jahrg. Heft 12, 225-231.

Wieneke, J. (1974): Untersuchungen zur Translokation von ^{45}Ca im Apfelbaum. {II. Transport zur Frucht und Verteilung}. *Gartenbauwissenschaft* 39, 57-67.

Wieneke, J.; Führ, F. (1973): Untersuchungen zur Translokation von ^{45}Ca im Apfelbaum. {I. Transport und Verteilung in Abhängigkeit vom Aufnahmezeitpunkt}. *Gartenbauwissenschaft* 38 (20), 91-108.

Wilcox, H.E. (1968): Morphological studies of the roots of Red Pine, *Pinus resinosa.* {II. Fungal colonization of roots and the development of mycorrhizae. *Amer. J. Botany* 55 (6), 686-700.

Williamson, R.E. (1981): Free Ca^{2+} concentration in the cytoplasm: A regulator of plant cell function. *What's New in Plant Physiology* 12 (12), 45-48.

Wilson, A.J.; Robards, A.W. (1978): The ultrastructural development of mechanical impeded barley roots. Effects on the endodermis and pericycle. *Protoplasma* 95, 255-265.

Wilson, A.J.; Robards, A.W. (1979): Some observations of the effects of mechanical impedance upon the ultrastructure of the root caps of barley. *Protoplasma* 101, 61-72.

Winn-Börner, U. (1991): *Untersuchungen zur Elementaufnahme mykorrhizierter Wurzeln der Buche und der Kiefer unter Berücksichtigung des Beitrags unterschiedlicher Pilzpartner und des jahreszeitlichen Verlaufs.* Dissertation, Universität Bremen, 240 S.

Wolf, O.; Jeschke, W.D. (1987): Modeling of sodium and potassium flows via phloem and xylem in the shoot of salt-stressed barley. *J. Plant. Physiol.* 128, 371-386.

Wolterbeek, H.T. (1987): Cation exchange in isolated xylem cell walls of tomato. I. Cd^{2+} and Rb^{+} exchange in adsorption experiments. *Plant, Cell and Environment* 10, 39-44.

Woods, F.W.; Brock, K. (1964): Interspecific transfer of Ca-45 and P-32 by root systems. *Ecology* 45 (4), 886-889.

Yamada, Y.; Wittwer, S.H.; Bukovac, M.J. (1964): Penetration of ions through isolated cuticles. *Plant Physiology* 39, 28-32.

Zech, W.; Popp, E. (1983): Magnesiummangel, einer der Gründe für das Fichten- und Tannensterben in NO-Bayern. *Forstw. Cbl.* 102, 50-55.

Ziegler, H. (1975): Nature of transported substances. In: Transport in plants I, phloem transport. M.H. Zimmermann & J.A. Milburn (eds.); *Encyclopedia of Plant Physiology* New Ser. Vol. I., Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.

Zierold, K.; Schäfer, D. (1983): Röntgenmikroanalyse diffundibler Substanzen im Ultradünngefrierschnitt. *Acta Histochemica*, Supplement XXVIII, 63-72.

Zimmermann, M.H. (1964): Sap movements in trees. *Biorheology* 2, 15-27.

Zöttl, H.W. (1983): Zur Frage der toxischen Wirkung von Aluminium auf Pflanzen. *Allg. Forstz.* 38, 206-208.

Zöttl, H.W.; Hüttl, R.F. (1985): Schadsymptome und Ernährungszustand von Fichtenbeständen im südwestdeutschen Alpenvorland. *Allg. Forstz.* 9/10, 197-199.

Die vorliegende Arbeit entstand am Ordinariat für Holzbiologie der Universität Hamburg in Verbindung mit dem Institut für Holzbiologie und Holzschutz der Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft, Hamburg, und am Institut für Biologische Informationsverarbeitung des KFA-Forschungszentrums Jülich. Sie wurde dankenswerterweise durch diese Institutionen und im Rahmen des Forschungsprogrammes "Waldschäden / Luftverunreinigungen" des Bundesministeriums für Forschung und Technologie finanziell unterstützt.

Mein Dank gilt:

Herrn Prof. Dr. J. Bauch, Ordinariat für Holzbiologie, und Herrn Dr. W.H. Schröder, Institut für Biologische Informationsverarbeitung, für die Möglichkeit im Rahmen ihrer langjährigen Zusammenarbeit, diese Arbeit anzufertigen und für ihre wissenschaftliche Betreuung;

Herrn Prof. Dr. U.B. Kaupp, Institut für Biologische Informationsverarbeitung, und Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. W. Liese, Ordinariat für Holzbiologie, für die freundliche Aufnahme in ihren Instituten;

Herrn Prof. Dr. W. Michaelis und Herrn Dr. C. Weitkamp, Institut für Physik des GKSS-Forschungszentrums Geesthacht, für die Möglichkeit der Durchführung von Elementanalysen mit ICP-OES und TRFA;

Herrn Dr. P. Rademacher, Institut für Bodenkunde und Waldernährung der Universität Göttingen, für die Bereitstellung einiger ICP-OES - Daten und für nützliche Anregungen und Diskussionen;

Herrn Dr. H. Wilken, Institut für Chemie des GKSS-Forschungszentrums Geesthacht, für die Durchführung der ionenchromatographischen Analysen;

Herrn Prof. Dr. F. Oberwinkler, Institut für Botanik (Spezielle Botanik / Mykologie) an der Universität Tübingen, seinen Mitarbeiterinnen Frau Dr. I. Kottke und insbesondere Frau Dr. I. Haug für ihre intensive Zusammenarbeit bei den mykologischen Fragestellungen;

Herrn Prof. Dr. F. Führ, Institut für Radioagronomie des KFA-Forschungszentrums Jülich, und seinen Mitarbeitern - vor allem Herrn Dr. Chr. Schimansky - für vielfältige Anregungen und für die Möglichkeit der Benutzung der Wachstumskammern für Markierungsexperimente;

Frau Dr. B. Buchen und Frau Dr. M. Wendt für das Vermitteln botanischer Arbeitsweisen am Botanischen Institut der Universität Bonn;

Herrn Dipl. Inform. H. Eschweiler, ehemals Institut für Biologische Informationsverarbeitung, für die Verbesserung und Erweiterung der LAMMA-Auswerteprogramme;

Herrn Dipl. Ing. J. Lauer, ehemals Institut für Biologische Informationsverarbeitung, für seine Unterstützung und intensive Einweisung in die Elektronenmikroskopie und die Röntgen-Mikrosonden-Methode;

Frau R. Endeward, Institut für Holzbiologie und Holzschutz, und vor allem Frau A. Einerhand, ehemals Institut für Biologische Informationsverarbeitung, für vielfältige Anregungen und die Unterstützung bei der Durchführung der Experimente und der nachfolgenden Probenaufbereitung;

Frau M. Müller für die Durchführung einiger Probenaufschlüsse und den Herren T. Schwarz und Dipl. Holzwirt O. Dünisch (alle Ordinariat für Holzbiologie) für ihre umfangreiche Unterstützung und Hilfe bei Standort-Probennahmen sowie Frau Dipl. Biol. M. Liebeskind (RWTH Aachen) für einen Teil der Probenaufbereitung;

allen Mitarbeitern des Institutes für Biologische Informationsverarbeitung für ihre Hilfsbereitschaft, insbesondere den Herren H. Erkens, D. Grammig und vor allem Dipl. Ing. R. Backbier für ihre Unterstützung bei apparativen Entwicklungen und Fehlerbeseitigungen.

FORSCHUNGSZENTRUM JÜLICH GmbH

KFA

Jül-2744
März 1993
ISSN 0366-0885