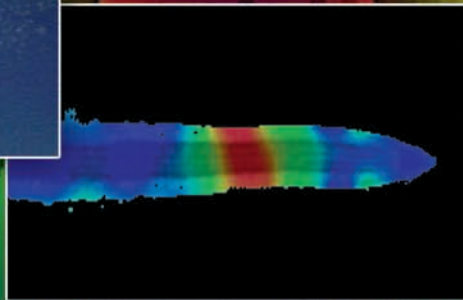
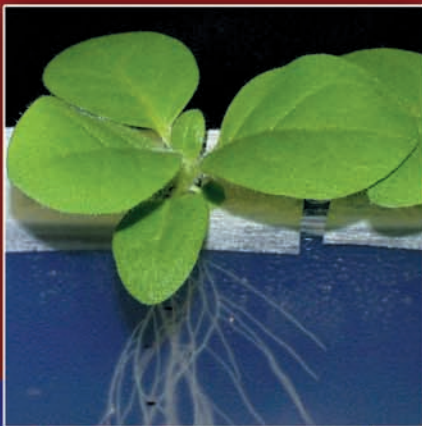


Abhängigkeit des Wurzelwachstums vom Lichtregime des Sprosses und deren Modifikation durch Nährstoffe sowie im Gravitropismus

Kerstin A. Nagel



Forschungszentrum Jülich GmbH
Institut für Chemie und Dynamik der Geosphäre III: Phytosphäre

Abhängigkeit des Wurzelwachstums vom Lichtregime des Sprosses und deren Modifikation durch Nährstoffe sowie im Gravitropismus

Kerstin A. Nagel

Schriften des Forschungszentrums Jülich
Reihe Umwelt/Environment

Band/Volume 63

ISSN 1433-5530

ISBN 3-89336-443-9

Bibliografische Information Der Deutschen Bibliothek
Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen
Nationalbibliografie; detaillierte Bibliografische Daten sind im Internet
über <<http://dnb.ddb.de>> abrufbar.

Herausgeber
und Vertrieb: Forschungszentrum Jülich GmbH
Zentralbibliothek, Verlag
D-52425 Jülich
Telefon: 02461 61-5368 · Telefax: 02461 61-6103
e-mail: zb-publikation@fz-juelich.de
Internet: <http://www.fz-juelich.de/zb>

Umschlaggestaltung: Grafische Medien, Forschungszentrum Jülich GmbH

Druck: Grafische Medien, Forschungszentrum Jülich GmbH

Copyright: Forschungszentrum Jülich 2006

Schriften des Forschungszentrums Jülich
Reihe Umwelt/Environment Band/Volume 63

D 61 (Diss., Düsseldorf, Univ., 2006)

ISSN 1433-5530
ISBN-10: 3-89336-443-9
ISBN-13: 978-3-89336-443-5

Alle Rechte vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf in irgendeiner Form (Druck, Fotokopie oder in einem anderen Verfahren) ohne schriftliche Genehmigung des Verlages reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
1.1	Pflanzliches Wachstum	8
1.1.1	Regulation des Wachstums	8
1.1.2	Morphologie und Wachstum der Wurzelspitze	9
1.2	Einfluss des Lichtes auf Wachstum und Photosynthese	12
1.3	Einfluss der Nährstoff-Verfügbarkeit auf das Wachstum	14
1.4	Einfluss der Schwerkraft auf das Wurzelwachstum	15
1.5	Zielsetzung dieser Arbeit	19
2	Material und Methoden	21
2.1	Pflanzenmaterial	21
2.2	Pflanzenanzucht	23
2.2.1	Anzucht in Agar	23
2.2.2	Klimabedingungen	25
2.2.3	Nährstoff-Konzentrationen	26
2.3	Messung des Blattwachstums mittels Screening	26
2.4	Messung des Wurzelwachstums mit konventionellen Methoden	29
2.5	Messung des Wachstums und der Krümmungsproduktion von Wurzeln mit digitaler Bildverarbeitung	29
2.5.1	Messprinzip der digitalen Bildsequenz-Analyse	29
2.5.2	Aufbau zur Bildsequenz-Aufnahme	30
2.5.3	Aufnahme der Bildsequenzen	31
2.5.4	Auswertung der Bildsequenzen	32
2.5.5	Darstellung der Ergebnisse	34
2.6	Inhaltsstoffanalysen	36
2.6.1	Ethanolische Extraktion	37
2.6.2	Chlorophyll	37
2.6.3	Lösliche Kohlenhydrate	38

2.7 Photosynthesemessungen	40
3 Ergebnisse	41
3.1 Langfristige Effekte der Lichtintensität und ihrer Änderung auf Wachstum und Inhaltsstoffe	41
3.1.1 Langfristige Effekte auf das Wachstum der Primärwurzel	41
3.1.2 Langfristige Effekte auf die Biomasse-Produktion	46
3.1.3 Langfristige Effekte auf Inhaltsstoffe	50
3.1.4 Hemmung der Saccharose-Synthese in transgenen Pflanzen	52
3.1.5 Hemmung des Saccharose-Transportes durch Entfernen des Sprosses	54
3.2 Kurzfristige Effekte der Änderung der Lichtintensität auf Wachstum und Photosynthese	56
3.3 Einfluss der Lichtintensität auf die Nährstoff-Aufnahme	61
3.3.1 Einfluss auf das Wachstum	61
3.3.2 Einfluss auf den Kohlenhydrat-Metabolismus	63
3.4 Einfluss der Lichtintensität auf den Gravitropismus	65
3.4.1 Hemmung des lateralen Auxin-Transportes: pin3-Mutante	65
3.4.2 Beeinflussung der Zellstreckung: DELLA-Mutante	71
3.4.3 Gravitropismus bei Tabak	74
4 Diskussion	79
4.1 Langfristige Effekte der Lichtintensität auf Wachstum und Inhaltsstoffe	79
4.1.1 Langfristige Effekte auf das Wachstum	80
4.1.2 Sprosswachstum innerhalb und außerhalb der Petrischale	81
4.1.3 Regulationsmechanismen des Wurzelwachstums nach Lichterhöhung	83
4.2 Kurzfristige Effekte der Lichtintensität auf Wachstum und Photosynthese	86
4.3 Regulation des Wachstums durch die Interaktion zwischen Kohlenhydrat- und Nährstoff-Metabolismus	88
4.4 Einfluss der Lichtintensität auf den Gravitropismus	91
4.4.1 Regulationsmechanismen des Gravitropismus	92
4.4.2 Einfluss des Lichtes auf die Krümmungsproduktion: Gravitropismus versus Circumnutationen	95
5 Zusammenfassung	99

6	Abstract	101
7	Ausblick.....	103
8	Literaturverzeichnis	105
9	Abkürzungsverzeichnis	115
10	Begriffsdefinitionen.....	117

1 Einleitung

Die Entwicklung des Wurzelsystems ist essentiell für die Entwicklung der gesamten Pflanze. In höheren Pflanzen wird die Bildung neuer Wurzeln sowie deren Wachstum sowohl durch interne als auch externe Faktoren beeinflusst. **Licht stellt einen der wichtigsten Umweltparameter dar**, dessen Effekt im Keimungsstadium am offensichtlichsten ist und der das Wurzelwachstum entweder direkt oder indirekt über den Import von Kohlenhydraten aus dem Spross regulieren kann (Webb 1976, Pilet & Ney 1978, Kurata & Yamamoto 1996). Aber auch andere abiotische Umwelteinflüsse, wie beispielsweise die Temperatur oder die Nährstoff- und/oder Wasser-Verfügbarkeit interagieren direkt oder indirekt mit dem Wachstum (Lambers et al. 2000, Walter et al. 2002 und 2003, Nagel 2003, Terjung 2004). Im Gegensatz zu den letztgenannten Parametern, die in natürlichen Böden über längere Zeiträume konstant sein können, fluktuiert die Lichtintensität an den Blättern aufgrund des Sonnenstandes, des Bewölkungsgrades oder der Blattstellung im Tagesverlauf ständig. Alle Reaktionen der Pflanzen auf variierende Umweltbedingungen müssen aus diesem Grund vor dem Hintergrund variabler ambienter Lichtbedingungen betrachtet werden.

Um das Wachstum der gesamten Pflanze aufrechterhalten zu können, ist eine **Koordination zwischen Wurzel und Spross** notwendig. Die Nitrat-Aufnahme in die Wurzeln ist beispielsweise auf einen kontinuierlichen Fluss von Kohlenhydraten aus dem Spross angewiesen (Rufty et al. 1981). Umgekehrt hängt die CO₂-Assimilation von einer stetigen Versorgung mit Stickstoff ab, der über das Wurzelsystem aufgenommen wird. Diese dynamische Interaktion zwischen Wurzel und Spross ist unter natürlichen Bedingungen aufgrund räumlich und zeitlich variierender Parameter von ganz besonderer Bedeutung. Ein wichtiges Merkmal von Pflanzen, das ihnen erlaubt, in heterogener Umwelt existieren zu können, stellt ihre **morphologische Flexibilität** dar (Bingham et al. 1998). Anzahl und Ort neuer Organe sind in der pflanzlichen Entwicklung nicht vorher bestimmt (Malamy & Ryan 2001). Dies ermöglicht den Pflanzen, die Informationen der Umwelt in die Bildung von Wurzeln und Blättern zu integrieren. Da Pflanzen vollständig von den Ressourcen abhängig sind, die in ihrer unmittelbaren Umgebung zur Verfügung stehen, bietet diese dynamische Entwicklungsstrategie für einen sessilen Organismus einen klaren Vorteil (Walter & Schurr 2005). Pflanzen müssen dabei in der Lage sein, Änderungen von Umweltfaktoren wie der **Lichtintensität am Spross** (Abschnitt 1.2) oder **räumliche und zeitliche Heterogenitäten** am Wurzelsystem - bedingt durch die **Nährstoff-Verfügbarkeit** (Abschnitt 1.3) oder durch **heterogenes Bodensubstrat**

(Abschnitt 1.4) - wahrzunehmen und ihre **Wachstumsreaktion** (Abschnitt 1.1) **entsprechend anzupassen**.

1.1 Pflanzliches Wachstum

Pflanzliches Wachstum ist definiert als **irreversible Volumenzunahme lebender Zellen** (Taiz & Zeiger 2000, Nultsch 2001) und ist ein sehr differenziert regulierter, dynamischer Prozess (Abschnitt 1.1.1). Während der Entwicklung von Organen und aufgrund variierender Umweltparameter treten charakteristische räumliche und zeitliche Variationen der Wachstumsaktivität auf, wie am Beispiel des Wurzelwachstums dargestellt wird (Abschnitt 1.1.2).

1.1.1 Regulation des Wachstums

Bei der Regulation des pflanzlichen Wachstums spielen **biochemische Signale** eine zentrale Rolle. Von großer Bedeutung sind dabei Phytohormone, wie beispielsweise Auxin, Gibberellin oder Cytokinin (Taiz & Zeiger 2000, Abschnitt 4.4). Auch metabolische Substanzen, wie Zucker oder Nitrat greifen regulierend ein (van't Hof 1986, Scheible et al 1997b, Abschnitt 4.1 und 4.3). Zusätzlich steht den Pflanzen über das Zusammenspiel von **Turgor** und **Dehnbarkeit** (Extensibilität) der **Zellwände** eine **biophysikalische Kontrollmöglichkeit** des Wachstums zur Verfügung (Tomos & Pritchard 1994, Cosgrove 1986). Der Turgordruck entsteht durch osmotischen Wassereinstrom in die Vakuole und stellt den auf die Zellwand ausgeübten internen Druck der pflanzlichen Zelle dar. Die Regulation des Wachstums über Zellwandeigenschaften wird bei uneingeschränkter Wasser-Verfügbarkeit mittels der **Lockhart-Gleichung** wie folgt beschrieben (Lockhart 1965, Cosgrove 1986):

$$\frac{1}{V} \frac{dV}{dt} = \Phi (P - Y)$$

Die Lockhart-Gleichung beschreibt die relative Wachsrate ($1/V \cdot dV/dt$) in Abhängigkeit von der Zellwand-Extensibilität Φ , dem Turgor P und dem „yield threshold“ Y , dem minimalen Turgor, bei dessen Überschreitung eine Expansion der Zelle eintritt.

Theoretisch kann die Zellexpansion also entweder durch den Turgor oder durch Eigenschaften der Zellwände reguliert werden. In wachsenden Pflanzengeweben scheint

der Turgor jedoch kaum zu variieren, so dass man heute von einer Kontrolle des Wachstums über die **Expansionsfähigkeit der Zellwand** ausgeht (Tomos & Pritchard 1994, McQueen-Mason 2005). Die Zellwand besteht aus Cellulosemikrofibrillen, die in eine stark hydratisierte Matrix aus Hemicellulosen, Pektinen und Strukturproteinen eingebettet sind (Taiz & Zeiger 2000). Die Dehnbarkeit der Zellwand hängt vom Quervernetzungsgrad der Gerüstfibrillen ab und kann durch eine Reihe von Regulationsmechanismen beeinflusst werden. Unter anderem spielt die **Calcium-Konzentration** im Apoplasten eine wichtige Rolle, da diese Kationen negativ geladene Uronsäuregruppen der Pektine komplexieren und somit zur Festigkeit der Zellwand beitragen (Trewavas & Malho 1997). Damit sich Zellen überhaupt ausdehnen können, muss die steife Zellwand gelockert werden. Nach der **Säure-Wachstumhypothese** könnte eine Ansäuerung der Zellwand aufgrund einer Protonenabgabe durch die Plasmamembran zur Wandlockerung führen (Edwards & Scott 1974, Virk & Cleland 1988). Diese Theorie wurde jedoch überwiegend an isolierten Geweben erarbeitet und es ist fraglich, ob sie für natürliche Systeme relevant ist, in denen der pH-Wert im Apoplasten aktiv gepuffert wird (Gerendas & Schurr 1999). Vielmehr scheinen **Zellwand-lockernde Enzyme**, wie Expansine, Endoglucanasen, Xyloglucan-Endotransglycosylasen und andere Enzyme bei der Expansion der Zellen eine Rolle zu spielen (Cosgrove 1999). Während Expansine die Quervernetzungen der Cellulosefibrillen lösen, scheinen die anderen Enzyme diese Wirkung sekundär zu modulieren. Indirekt können auch **Peroxidasen** zur Zellwand-Lockerung beitragen, indem sie über die Bildung von Hydroxyl-Radikalen störend in das Fibrillen-Netzwerk eingreifen (Schopfer et al. 2002). Das biochemische Aufbrechen gestattet den Zellwand-Polymeren auseinander zu weichen und dabei die Oberfläche der Zellen zu vergrößern. Hierbei führt die Lockerung zu einer Abnahme des physikalischen Drucks in der Wand. Aufgrund dessen sinkt das Wasserpotential in der Zelle, so dass Wasser absorbiert wird und die Zelle sich ausdehnen kann (Taiz & Zeiger 2000). Diese Volumenzunahme wird im Gewebeverband nicht nur durch den Wanddruck der Einzelzelle reguliert, sondern auch durch den Druck des umgebenden Gewebes.

1.1.2 Morphologie und Wachstum der Wurzelspitze

Wurzeln sind aufgrund ihrer stromlinienförmigen Apikalregion in der Lage, den Boden zu durchwachsen und dabei Wasser sowie mineralische Nährstoffe aufzunehmen (Abb. 1.1). Die **Wurzelhaube** (Kalyptra) dient dem Schutz des Meristems und sekretiert Mucopolysaccharide (Schleim), die den Wurzeln das Durchdringen des Bodens erleichtern (Taiz & Zeiger 2000). Nicht alle Zellen im **Meristem** teilen sich mit der gleichen Geschwindigkeit und Häufigkeit. Das Ruhende Zentrum enthält Zellen, die sich weniger

aktiv teilen als die umliegenden Zellen, welche häufig pluripotente Stammzellen, so genannte Initialzellen darstellen (Dörner 2000). Die Aufrechterhaltung der Funktionalität des Meristems erfordert eine über interzelluläre Signale vermittelte Koordination zwischen der Teilung der Initialzellen und der Differenzierung ihrer Tochterzellen (Waites & Simon 2000, Brand et al. 2002, Hobe et al. 2003). Die Wurzel-Wachstumszone ist linear organisiert, das heißt, eine im Meristem gebildete Zelle teilt sich mehrmals, bevor sie die **Streckungszone** (Elongationszone) erreicht, in der sie zu raschem, fast ausschließlich entlang der Wurzelachse gerichteten Streckungswachstum übergeht. In der sich an die Elongationszone anschließenden **Differenzierungszone** stellt die Zelle ihren Wachstumsprozess ein. Die Differenzierung kann zwar bereits früher einsetzen; die Zelle vollendet den Ausreifungsprozess allerdings erst, wenn sie diese Zone erreicht.

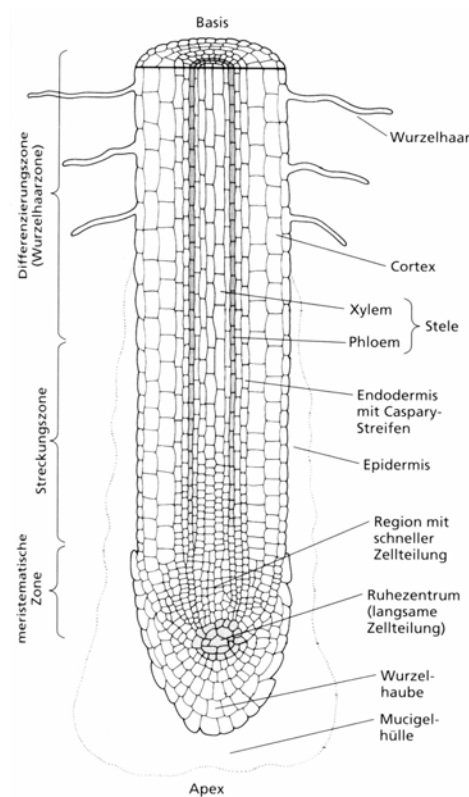


Abb. 1.1 Schematischer Längsschnitt durch die Apikalregion einer Wurzel (Taiz & Zeiger 2000).

Das räumliche Wachstumsmuster wird demzufolge charakterisiert, indem das Ruhende Zentrum der Wurzel als Ursprung des Koordinatensystems gewählt wird. Die **Geschwindigkeit der Gewebeelemente** erhöht sich mit dem Abstand zum Wurzelapex, bis am Ende der Wachstumszone eine konstante Geschwindigkeit erreicht wird (Abb. 1.2,

Pahlavanian & Silk 1988, Taiz & Zeiger 2000). Die Wachstumsgeschwindigkeit nimmt zu, da mit der Zeit neue Zellen im Meristem der Wurzelspitze gebildet werden und diese zwischen dem Apex und der betrachteten Zelle das Streckungswachstum aufnehmen. Die Rate, mit der sich die Zellen jenseits der Wachstumszone vom Apex entfernen, entspricht der Geschwindigkeit, mit der die Wurzelspitze in den Boden eindringt (v_{Tip}).

Die Ableitung des Geschwindigkeitsfeldes (Darstellung der Geschwindigkeit gegen den Abstand zur Wurzelspitze) ergibt die **relative Element-Wuchsrate** (REGR, *Relative Elemental Growth Rate*, Abb. 1.2). Sie beschreibt den relativen Zuwachs der Wurzel an einem bestimmten Punkt innerhalb der Wurzelspitze (Pahlavanian & Silk 1988; Taiz & Zeiger 2000). Die geringen REGR-Werte im Bereich der Zellteilungszone sind auf den geringen Zuwachs der meristematischen Zellen zurückzuführen. In der Elongationszone steigt die Streckungsrate der Zellen bis zum Maximum ($\text{REGR}_{\text{max.}}$) und fällt anschließend bis zum Übergang zur Differenzierungszone auf Null ab.

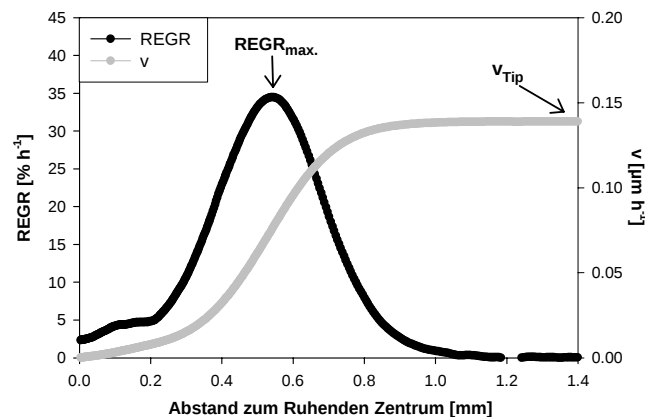


Abb. 1.2 Räumliche Verteilung der relativen Element-Wuchsrate (REGR) und Wachstumsgeschwindigkeit (v) entlang der Wurzelspitze von *Nicotiana tabacum*. $\text{REGR}_{\text{max.}}$ stellt die maximale relative Element-Wuchsrate und v_{Tip} die Geschwindigkeit dar, mit der die Wurzelspitze in den Boden eindringt.

Zur Untersuchung des Wurzelwachstums wurde in dieser Arbeit eine Vermessungstechnik eingesetzt, die auf **digitaler Bildsequenz-Analyse** (DISP, digital image sequence processing) basiert (siehe Abschnitt 2.5). Aufgrund der hohen räumlichen und zeitlichen Auflösung ist diese Methode sehr gut geeignet, die komplexen Prozesse, die dem pflanzlichen Wachstum zugrunde liegen, zu analysieren und geringe Wachstumschwankungen nach Änderung von Umweltparametern detektieren zu können.

1.2 Einfluss des Lichtes auf Wachstum und Photosynthese

Das Leben auf der Erde hängt letztendlich von der Sonnenenergie ab (Taiz & Zeiger 2000). Dabei stellt die **Photosynthese** den einzig biologisch relevanten Prozess dar, der diese Energie nutzen kann. In der Lichtreaktion der Photosynthese werden Photonen absorbiert, Wasser unter Freisetzung von Sauerstoff oxidiert und über eine Elektronentransportkette ATP und NADPH festgelegt. Diese energiereichen Verbindungen werden im Calvinzyklus benötigt, um CO₂ zu organischen Verbindungen - vor allem Kohlenhydraten - zu reduzieren. Nach der Absorption eines Photons geht durch Anhebung eines Elektrons ein Chlorophyll-Molekül in einen angeregten Zustand über. Dieser ist instabil, so dass das Elektron nach kurzer Zeit wieder in den Grundzustand zurückfällt, wobei drei Möglichkeiten der Energieabgabe bestehen: Die Anregungsenergie kann zum einen auf ein anderes Chlorophyll-Molekül übertragen werden, so dass sie das photochemisch aktive Reaktionszentrum erreicht und eine chemische Reaktion auslösen kann. Zum anderen kann die Energie auch in Form von Wärme oder in Form eines Photons (**Fluoreszenz**) abgegeben werden. Die Wellenlänge der Fluoreszenz ist etwas länger als die des absorbierten Photons, denn ein Teil der Anregungsenergie ist zuvor in Wärme emittiert worden. Dies ermöglicht die quantitative Messung der Fluoreszenz. Der größte Teil der Fluoreszenz wird von Chlorophyll-a-Molekülen des Photosystems II ausgestrahlt und stellt somit ein Maß für die Effizienz des photosynthetischen Elektronentransportes dar (Krause & Weis 1991, Lambers et al. 2000, Maxwell & Johnson 2000).

Die im Calvinzyklus gebildeten Kohlenhydrate können entweder in Form von Stärke gespeichert oder in eine **Transportform** umgewandelt werden. Am häufigsten werden **Kohlenhydrate** in Form von Saccharose transloziert, aber auch Raffinose, Stachyose, Verbascose und auch Zuckeralkohole wie Mannitol oder Sorbitol werden über das Phloem von den Source- zu den Sink-Organen der Pflanze transportiert (Taiz & Zeiger 2000). Die Kohlenhydrate sind für die Aufrechterhaltung **energieabhängiger Prozesse** sowie für die Bildung von **Strukturkomponenten der Zellen und der Zellwände** essentiell (Takahashi et al. 2003). Das Wurzelwachstum ist somit eng mit dem Zucker-Import aus dem Phloem und infolgedessen mit den Lichtbedingungen am Spross gekoppelt. Die größte Kohlenhydrat-Senke ist in der Respiration zu finden, die wiederum mit dem Wachstum und der Ionen-Aufnahme der Wurzeln verknüpft ist (Farrar & Jones 2000).

In einigen Studien wurde das **Wurzelwachstum unter Einfluss konstant niedriger bzw. hoher Lichtbedingungen am Spross** (z.B. Webb 1976, Vincent & Gregory 1989,

Aguirrezabal et al. 1994) oder unter variierendem externen Zucker-Angebot (Street & McGregor 1952, Freixes et al. 2002) untersucht. So wurde auch der Zusammenhang zwischen der Wurzellänge und der absorbierten Strahlung näher beleuchtet (Aresta & Fukai 1984, Vincent & Gregory 1989). Außerdem wurden das Wachstum von Primär- und Sekundär-Wurzeln (Bingham & Stevenson 1993) und das Wachstum von Wurzel und Spross (Thaler & Pages 1996) unter konstanten Lichtintensitäten verglichen. Ein Schlüsselfaktor, der die Lichtbehandlung unmittelbar mit dem Wachstum der Wurzelspitzen verknüpft, ist die lokale Hexose-Konzentration, die sehr gut mit der Wuchsrate einzelner Wurzeln korreliert (Freixes et al. 2002). Eine erhöhte Zucker-Konzentration an der Wurzelspitze begünstigt das Wachstum von Primär- und Sekundär-Wurzeln, ohne dabei den Verzweigungsgrad der Wurzeln oder die gesamte Wurzelarchitektur zu modifizieren (Bingham et al. 1997). Im Gegensatz dazu kann der Anstieg anderer für das Wachstum unentbehrlicher Substanzen, wie NO_3^- (Zhang et al. 1999) oder anderer mineralische Nährstoffe zu lokalen Wachstumseffekten und somit zu Änderungen der Wurzelarchitektur führen (Watt & Evans 1999, Forde & Lorenzo 2001).

Während viele Ergebnisse zur Reaktion des gesamten Wurzelsystems unter verschiedenen, jedoch konstanten Lichtbedingungen zur Verfügung stehen, ist bisher sehr wenig über die Reaktionen innerhalb der Wachstumszone unter variierenden Lichtintensitäten bekannt. Pflanzen sind in ihrer natürlichen Umgebung permanent Fluktuationen besonders in der Quantität und Qualität des einfallenden Lichtes ausgesetzt. Diese Lichtschwankungen, die von einer Pflanze wahrgenommen werden, können von Sekunden oder Minuten bis Tage oder Wochen dauern (z.B. aufgrund von Lichtflecken, meteorologische Änderungen, Beschattung durch das Wachstum einzelner Pflanzen oder eines ganzen Canopys) und stellen spezifische Probleme für die Photosynthese dar. Muller et al. (1998) zeigten, dass die Länge der Wachstumszone mit abnehmender Lichtstärke - in sehr ähnlicher Weise wie unter abnehmender Wasser-Verfügbarkeit (Sharp et al. 1988) - reduziert wurde. Der unmittelbare Einfluss auf die Amplitude und die Verteilung der REGR innerhalb der Wurzel-Wachstumszone nach schneller Änderung der Lichtbedingungen wurde allerdings bisher kaum untersucht. Kürzlich durchgeführte Studien, bei denen die räumlich-zeitlich hochauflösende Methode zum Einsatz kam, zeigten, dass das Wurzelwachstum innerhalb von weniger als einer Stunde auf Änderungen der Temperatur oder Nährstoff-Verfügbarkeit reagieren kann (Walter et al. 2002 und 2003, van der Weele et al. 2003). Die Frage drängt sich auf, ob Änderungen der Lichtbedingungen am Spross ebenfalls eine schnelle Antwort des Wurzelwachstums auslösen können.

Falls der Saccharose-Export aus dem Spross eines der Signale darstellt, welche zwischen dem vom Spross absorbierten Licht und dem Wurzelwachstum vermitteln, könnten transgene Pflanzen mit einer Hemmung der Saccharose-Synthese (Chen et al. 2005) einen wichtigen Hinweis liefern, in welchem Maß dieser Prozess durch Saccharose reguliert wird. Die kinetische Antwort der REGR-Verteilung auf die Lichtbedingungen am Spross könnte ebenfalls einige Informationen über die Mechanismen liefern, die an der Regulation dieses Prozesses beteiligt sind. Der Zucker-Eintransport in die Wurzel-Wachstumszone kann eine große Anzahl an Enzymen regulieren, die im Kohlenhydrat-Metabolismus (Koch 1996, Ho et al. 2001) oder im Zellzyklus (Riou-Khamlichi et al. 2003) entscheidende Rollen spielen. Gene, die regulativ in das Wurzelwachstum eingreifen, sind erst vor kurzem in *Arabidopsis* (Birnbaum et al. 2003) und Mais (Bassani et al. 2004) charakterisiert worden.

1.3 Einfluss der Nährstoff-Verfügbarkeit auf das Wachstum

Nicht nur Signale aus dem Spross - wie Saccharose - können das Wurzelwachstum modifizieren, sondern auch Wurzeln nehmen Informationen, wie der Bodenverfügbarkeit an Wasser und Nährstoffen wahr und leiten diese an den Spross weiter (Aiken & Smucker 1996). Die Nährstoff-Verfügbarkeit beeinflusst dabei die Wurzelarchitektur und spielt eine entscheidende Rolle bei der Aufteilung der Biomasse zwischen Wurzel und Spross (Scheible et al. 1997b). Wurzeln können ihr Wachstum aktiv in Richtung von Bodenarealen mit höherer Nährstoff-Verfügbarkeit lenken (Zhang & Forde 2000, Hodge 2004), sowie ihre Wachstumsaktivität dynamisch an zeitlich variierende Nährstoff-Bedingungen anpassen (Terjung 2004).

Stickstoff ist das Mineralelement, das Pflanzen in den größten Mengen benötigen, dessen Verfügbarkeit aber oft die Pflanzenproduktivität in natürlichen Ökosystemen limitiert (Bloom et al. 2003). Aus diesem Grund haben Pflanzen mehrere Mechanismen entwickelt, Stickstoff auch unter niedrigen Konzentrationen im Boden und in vielfältigen Stickstoff-Formen nutzen zu können (Crawford 1995). Wurzeln können Stickstoff beispielsweise als anorganische Ionen, wie Nitrat oder Ammonium über die gesamte Länge der Wachstums- und Differenzierungszone aufnehmen (Colmer & Bloom 1998). Die **Nitrat-Aufnahme** in die Zellen erfolgt dabei über den Symport mit zwei Protonen; bei der **Ammonium-Aufnahme** werden dagegen Protonen abgegeben (Newman 2001). Während

die Pflanzen-Versorgung mit Nitrat zu einer leichten Alkalisierung der Rhizosphäre führt, hat die Ammonium-Assimilation eine starke Ansäuerung der Wurzel-Peripherie zur Folge (Smart & Bloom 1998). Diese **pH-Änderungen** könnten einen Einfluss auf die Zellwand-Extensibilität und somit auf das Wurzelwachstum ausüben (Bloom et al. 2003).

Die aufgenommenen Ionen können entweder in der Vakuole gespeichert oder in den Wurzeln oder im Spross assimiliert werden (Crawford 1995). Die **Nährstoff-Assimilation** stellt den Einbau von mineralischen Nährstoffen in organische Substanzen, wie Pigmente, Cofaktoren von Enzymen, Lipide, Nukleinsäuren oder Aminosäuren dar (Taiz & Zeiger 2000). Bei der Nitrat-Assimilation wird Nitrat zunächst im Cytosol mithilfe der Nitratreduktase zu Nitrit reduziert. In den Chloroplasten der Blätter bzw. Plastiden der Wurzeln wird Nitrit anschließend in das energiereichere Ammonium umgewandelt, das mittels der Glutaminsynthetase in der Aminosäure Glutamin fixiert wird.

Die **Nährstoff-Versorgung** kann das **Wurzelwachstum** entweder **direkt beeinflussen**, als Resultat auf variierende externe Nährstoff-Verfügbarkeit oder **indirekt** aufgrund von Änderungen des internen Nährstoff-Statuses der Pflanze (Zhang & Forde 2000, Forde & Lorenzo 2001). Der direkte Weg hat den Vorteil, dass die Wurzeln räumliche und zeitliche Änderungen des externen Nährstoff-Angebotes wahrnehmen und ihr Wachstum sowie ihre Nährstoff-Assimilation entsprechend anpassen können (Coruzzi & Bush 2001, Forde & Lorenzo 2001). Die indirekte Regulation stellt eine systemische Antwort dar, das heißt, die Messung des internen Nährstoff-Statuses findet im Spross statt, wobei Signalmoleküle aus dem Spross Wachstum sowie physiologische Prozesse (einschließlich der Photosynthese) innerhalb der ganzen Pflanze regulieren. Diese enge Verknüpfung zwischen dem Kohlenhydrat- und Nährstoff-Metabolismus wurde im Rahmen dieser Arbeit näher untersucht.

1.4 Einfluss der Schwerkraft auf das Wurzelwachstum

Die Lichtbedingungen am Spross könnten nicht nur einen Einfluss auf das Wurzelwachstum und die Nährstoff-Aufnahme ausüben, sondern auch die Durchwurzelungsrate in heterogenem Bodensubstrat verändern. So soll im Rahmen dieser Arbeit diskutiert werden, ob Wurzeln nach Lichterhöhung auch einen Vorteil beim Wachstum um Substratpartikel im Boden und dabei veränderten gravitropen Reizen aufweisen können.

Der **Gravitropismus** stellt die **Antwort von Pflanzenorganen auf Änderungen des Schwerkraftvektors** dar (Perbal & Driss-Ecole 2002). Hierbei muss die physikalische Information in ein physiologisches und/oder biochemisches Signal umgewandelt und zum Ort transportiert werden, an dem durch differentielles Wachstum eine Krümmung ausgelöst wird. Obwohl der Wurzel-Gravitropismus schon seit dem 19. Jahrhundert Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen ist (Ciesielski 1872), konnte der zugrunde liegende Mechanismus bis heute nicht vollständig aufgeklärt werden. Nach der **Stärke-Statolithen-Hypothese** geht man davon aus, dass die Perzeption der Schwerkraft in den Statocyten lokalisiert ist, welche die Columella der Wurzelhaube bilden. Statocyten enthalten stärkehaltige Amyloplasten (Statolithen), die aufgrund einer im Vergleich zum Cytosol hohen Dichte zur physikalischen Unterseite der Zelle sedimentieren (Chen et al. 1999). Die Sedimentation der Amyloplasten könnte über eine Interaktion mit dem Cytoskelet Ionenkanäle in der Plasmamembran oder in intrazellulären Membranen aktivieren (Blancaflor & Masson 2003). Möglicherweise kommt es dabei zu einem Einstrom von Ca^{2+} ins Cytosol, das eine Signalkaskade auslösen kann (Chen et al. 1999). Ebenso wurden Änderungen des pH-Wertes nachgewiesen, die zu einer Aktivierung oder Umverteilung von Auxin-Transportern beitragen könnten (Scott & Allen 1999).

Das **Phytohormon Auxin** wird hauptsächlich im Spross synthetisiert und über das Phloem bis in die Wurzelspitzen transportiert (Friml & Palme 2002). Mittels Transmembran-Transportern (**In- und Efflux-Carriern**) wird das Auxin unidirektional von Zelle zu Zelle bis in die Columella weitergeleitet, dort lateral verteilt und in den Epidermis- und Cortex-Zellen basipetal zur Wachstumszone zurück transportiert. Für den lateralen Transport von Auxin sind der Influx-Carrier AUX1 (Import in die Zellen) und der Efflux-Carrier PIN3 (Export aus den Zellen) verantwortlich (Blancaflor & Masson 2003). Nach Änderung des gravitropen Reizes kommt es zu einer Umorientierung von PIN3-Proteinen, so dass Auxin vermehrt auf die physikalische Unterseite der Wurzel gelangt. Der daraus resultierende **Auxin-Gradient** könnte das differentielle Wachstum beider Wurzelflanken erklären und somit zur gravitropen Krümmung der Wurzeln führen (Abb. 1.3). Diese Hypothese wurde bereits Anfang des 20. Jahrhunderts von **Cholodny** (1926) und **Went** (1937) unabhängig voneinander aufgestellt.

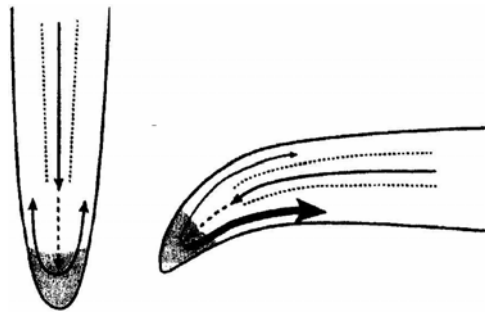


Abb. 1.3 Modell des Auxin-regulierten Wurzelgravitropismus. *Links*: In vertikalen Wurzeln wird Auxin durch die Leitbündel zur Wurzelspitze transportiert und in der Columella der Wurzelhaube (grau schattiert) symmetrisch lateral verteilt. Anschließend erfolgt der basipetale Rücktransport des Auxins zur Elongationszone. *Rechts*: Nach dem Drehen der Pflanze um 90° wird das Auxin asymmetrisch verteilt, so dass Auxin vermehrt auf der unteren Wurzelflanke zur Zellstreckungszone zurück transportiert wird (Wolverton et al. 2002).

Die **erhöhte Auxin-Konzentration** auf der unteren Wurzelflanke könnte die **Hemmung der Zellstreckung** und die daraus resultierende **Abwärts-Krümmung der Wurzel** über folgende Regulationsmechanismen auslösen: Auxin kann in die Genregulation, den Ionenhaushalt der Zellen und in die Organisation des Cytoskelets eingreifen (Blancaflor & Masson 2003) oder über eine asymmetrische Akkumulation von Stickoxiden die Krümmung auslösen (Hu et al. 2005). Es konnte gezeigt werden, dass Auxin auch die Zellwand-Extensibilität beeinflusst und zu Zellwand-Versteifungen führt (Büntemeyer 1998). Fu und Harberd (2003) postulieren einen weiteren Kontrollmechanismus: Auxin könnte das Wachstum regulieren, indem es die Antwort der Zellen auf das Phytohormon Gibberellin moduliert. Gibberelline fördern das Wachstum, indem sie im Zellkern lokalisierte DELLA-Proteine destabilisieren (Achard et al. 2006). Nach Änderung des gravitropen Reizes könnte die verstärkte Auxin-Akkumulation zu einer Stabilisierung der DELLA-Proteine und somit zur Hemmung des Wachstums führen (Fu et al. 2006).

Neben der beschriebenen Perzeption der Schwerkraft in der Wurzelhaube scheinen Wurzeln noch einen **zweiten Sensor** zu besitzen, welcher der so genannten *Distal Elongation Zone* (DEZ, Abb. 1.4) zugeordnet wird (Wolverton et al. 2002). Die DEZ wurde als Zone zwischen dem Meristem und dem Ort definiert, an dem die Wachsrates 30 % ihres Maximalwertes erreicht hat (Ishikawa & Evans 1993). Dieser Sensor könnte über einen **Auxin-unabhängigen** Weg, möglicherweise über ein elektrisches Signal die Krümmung der Wurzeln auslösen (Wolverton et al. 2002). Auch Ethylen könnte bei der Perzeption des gravitropen Reizes eine wichtige Rolle spielen (Edelmann 2002).

Wolverton et al. (2002) stellten ferner die Hypothese auf, dass nicht nur zwei Sensoren, sondern auch **zwei gravitrope Motoren** in Wurzeln existieren: einer wird der DEZ und ein zweiter wird der *Central Elongation Zone* (CEZ, Abb. 1.4) zugeordnet. Die CEZ schließt das Wachstumsmaximum ein und wird apikal und basal vom Maximum durch die Orte begrenzt, an denen die Wuchsrate 70 % des Maximalwertes erreicht (Ishikawa & Evans 1993). Die Existenz von zwei Krümmungsproduktions-Orten wurde mittels einer artifiziellen Methode belegt, bei der jede beliebige Wurzelregion auf einem konstanten Winkel gehalten werden konnte, während die Kinetik des Wachstums und der Krümmung aufgezeichnet wurden (Wolverton et al. 2002). Im Rahmen dieser Arbeit soll die Krümmungsproduktion entlang der Wurzel zum ersten Mal mit einer hochauflösenden digitalen Bildsequenz-Analyse unter „natürlichen“ Bedingungen räumlich und zeitlich verfolgt werden. Die quantitative Messung der Krümmung ist eine essentielle Voraussetzung, um die molekularen Mechanismen, die der gravitropen Wachstums-Antwort zugrunde liegen, vollständig aufklären zu können. Falls zwei gravitrope Sensoren bzw. Motoren existieren, von denen jeweils einer möglicherweise Auxin-unabhängig ist, könnte die Untersuchung von Mutanten mit veränderter Auxin-Signaltransduktion hierzu wichtige Hinweise liefern.

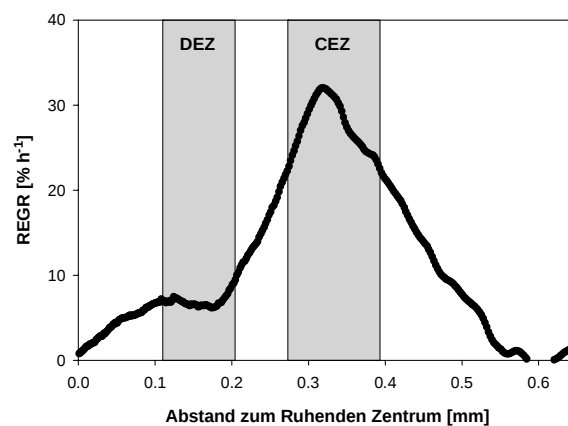


Abb. 1.4 Räumliche Verteilung der relativen Element-Wuchsrate (REGR) von *Arabidopsis thaliana* – Darstellung der *Distal Elongation Zone* (DEZ) und der *Central Elongation Zone* (CEZ).

1.5 Zielsetzung dieser Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss variierender Lichtintensitäten am Spross auf das Wurzelwachstum sowie auf die Biomasse der gesamten Pflanze von *Nicotiana tabacum* zu charakterisieren. Dabei wurde untersucht, wie schnell Wurzeln auf eine Änderung der Lichtbedingungen reagieren. Um die Mechanismen näher beleuchten zu können, die der Antwort des Wurzelwachstums zugrunde liegen, wurden zum einen transgene Pflanzen mit Hemmung der Saccharose-Synthese und zum anderen Wurzeln nach Hemmung des Saccharose-Transportes durch Abtrennen des Sprosses analysiert.

Die Reaktion der Wurzeln auf die Lichtbedingungen am Spross kann unter natürlichen Bedingungen durch Variationen der Nährstoff-Verfügbarkeit oder durch Heterogenitäten im Boden aufgrund von Bodenpartikeln modifiziert werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Einfluss der Lichtintensität auf das Pflanzenwachstum unter verschiedenen Nährstoff-Konzentrationen untersucht und die enge Verknüpfung zwischen dem Kohlenhydrat- und Nährstoff-Metabolismus näher beleuchtet. Zudem wurde die Lichtabhängigkeit des differentiellen Wachstums von Wurzeln analysiert, das nach Änderung des gravitropen Reizes, wie z.B. beim Wachsen um Bodenpartikel herum, auftritt. Hierzu war eine Charakterisierung der Krümmungsproduktions-Zonen und deren Abhängigkeit vom Phytohormon Auxin notwendig, die mittels zweier *Arabidopsis*-Mutanten erzielt werden konnte.

2 Material und Methoden

In der vorliegenden Arbeit wurden Wurzel- und Sprosswachstum bei verschiedenen Lichtbedingungen verglichen. In diesem Kapitel werden zunächst das verwendete Pflanzenmaterial (Abschnitt 2.1) sowie die Anzuchtbedingungen (Abschnitt 2.2) beschrieben. Zur Bestimmung des Blatt- und Wurzelwachstums wurden mehrere Messtechniken eingesetzt:

- Messung des Blattwachstums mittels Screening-Verfahren (Abschnitt 2.3)
- Messung des Wurzelwachstums mit konventionellen Methoden (Abschnitt 2.4)
- Messung des Wachstums und der Krümmungsproduktion von Wurzeln mit digitaler Bildverarbeitung (Abschnitt 2.5).

Zuletzt wurden die nach Änderungen der Lichtintensität gemessenen Wachstumsdynamiken mit Inhaltstoffanalysen (Abschnitt 2.6) und Photosynthesemessungen (Abschnitt 2.7) abgeglichen.

2.1 Pflanzenmaterial

Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit wurden an *Nicotiana tabacum* (Tabak) und *Arabidopsis thaliana* (Ackerschmalwand) durchgeführt:

Nicotiana tabacum (L.) ist eine einjährige Pflanze der Familie Solanaceae und wird von den Tropen bis in die gemäßigten Breiten angebaut. Die Bewurzelung erfolgt allorhiz. Das Nikotin wird in den Wurzeln gebildet und anschließend in die breiten lanzettförmigen Blätter, die wechselständig angeordnet sind, transportiert (Franke 1997). Räumliche und zeitliche Wachstumsdynamiken wurden im Laufe dieser Arbeit an folgenden Kulturformen untersucht:

- **Xanthi Wildtyp** (Abb. 2.1)
- **Samsun SPPi17 (SPP)**: Transgene Tabaklinie, bei der die Aktivität der Saccharose-6-Phosphat Phosphatase (SPP) durch RNAi Interferenz auf 10 % der SPP-Aktivität in Wildtyp-Pflanzen reduziert ist. Dies führt zur Hemmung der Photosynthese und des Wachstums sowie zu Chlorose. Die Pflanzen weisen reduzierte Saccharose- und Hexose-Gehalte auf, bilden jedoch drei- bis fünfmal mehr Stärke als Kontrollpflanzen (Chen et al. 2005). Diese Pflanzen wurden freundlicherweise von Uwe Sonnewald

(Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Gatersleben) zur Verfügung gestellt.

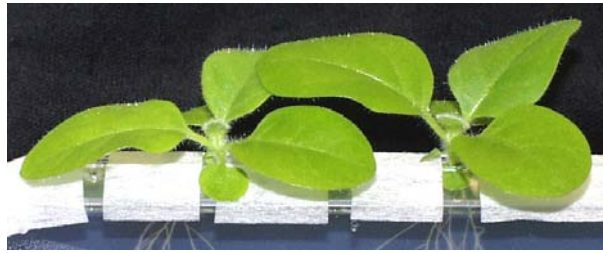


Abb. 2.1 *N. tabacum* Xanthi Wildtyp - sechs Wochen nach der Keimung.

Arabidopsis thaliana (L.) Heynh. ist ein einjähriges Ackerwildkraut und in den gemäßigten Breiten der ganzen Welt verbreitet. Die Bewurzelung erfolgt wie bei *N. tabacum* allorhiz. Bereits in den 40er Jahren wurde *Arabidopsis* in Reinkultur gezüchtet und hat sich seitdem als Modellorganismus in der Genetik etabliert. Die Pflanze bietet vielfältige Vorteile, wie beispielsweise eine kurze Generationszeit von nur sechs Wochen und ein relativ kleines Genom, das seit dem Jahr 2000 vollständig sequenziert vorliegt („The Arabidopsis Genome Initiative“ 2000). Vorteilhaft ist auch die große Anzahl an bekannten Mutanten. Zwei dieser Mutanten wurden im Rahmen dieser Studie zur Charakterisierung gravitroper Wachstumsreaktionen eingesetzt:

- **Ökotyp Columbia Wildtyp** (Abb. 2.2) und **pin3-Mutante** (*pin3-3*): Die stabile *footprint*-Mutante *pin3* weist - aufgrund von Deletion zweier DNA-Basen-Paare - Mutationen im *PIN3*-Gen auf. PIN3-Proteine stellen eine Komponente des lateralen Auxin-Transportes in der Wurzelspitze dar. Fehlen diese Proteine, wie in den *pin3*-Mutanten, weisen die Wurzeln deutlich schwächere Reaktionen auf Änderungen des gravitropen Reizes auf (Friml et al. 2002). Diese Pflanzen wurden freundlicherweise von Klaus Palme (Institut für Biologie II, Universität Freiburg) zur Verfügung gestellt.
- **Ökotyp Landsberg erecta Wildtyp** und **DELLA-Mutante** (*gai-t6 rga-t2 rgl1-1 rgl2-1*): Auch DELLA-Proteine scheinen beim Gravitropismus eine Rolle zu spielen. Diese vermitteln die durch Auxin-Akkumulation ausgelöste Hemmung der Zellstreckung und ermöglichen somit die Krümmungsreaktion der Wurzeln. Den DELLA-Mutanten fehlen vier DELLA-Proteine (GAI, RGA, RGL1 und RGL2). Aus diesem Grund weisen diese Mangel-Mutanten trotz einer asymmetrischen Auxin-Umverteilung eine Reduktion der gravitropen Reaktion auf (Fu et al. 2006). Diese Pflanzen wurden freundlicherweise von Nicholas Harberd (John Innes Centre, Norwich Research Park, Norwich, England) zur Verfügung gestellt.



Abb. 2.2 *A. thaliana* Ökotyp Columbia Wildtyp - sechs Wochen nach der Keimung.

2.2 Pflanzenanzucht

Im folgenden Kapitel werden die verwendeten Anzuchtbedingungen allgemein beschrieben. Details zu den speziellen Versuchsbedingungen sind im jeweiligen Ergebnisteil zu finden.

2.2.1 Anzucht in Agar

Die Anzucht von Tabak- bzw. *Arabidopsis*-Pflanzen erfolgte mit Agarose-Gelen in rechteckigen Petrischalen (120 x 120 x 17 mm, Fa. Greiner, Solingen), die mit Gewebefolien (Micropore, Fa. 3M Health Care, Neuss) verschlossen wurden. Zunächst wurden die Samen in einer Sterilbank sterilisiert, indem sie drei Minuten in 500 µl 70%igem Ethanol (v/v) und anschließend zehn Minuten in 500 µl 0,1%igem NaOCl (inklusive einem Tropfen Tween auf 10 ml) inkubiert wurden. Nach der Sterilisation wurden die Samen dreimal mit je 500 µl autoklavierem H₂O gewaschen und je fünf Samen in einer Reihe auf einem Agarose-Gel ausplattiert. Dazu wurde autoklavierter, 1%iger Agar (w/v) verwendet, der je nach Versuchsanforderung Nährlösung (siehe 2.2.3) oder Zucker enthielt.

Die transgenen Tabakpflanzen (SPP) wurden davon abweichend zunächst auf Agarose-Gelen angezogen, die zusätzlich 50 mg l⁻¹ Kanamycin enthielten. Zehn Tage nach der Keimung konnten die Transformanten aufgrund einer Kanamycin-Resistenz selektiert und auf Agarmedium ohne Kanamycin umgesetzt werden.

Bei Anzuchten von Keimlingen auf Agar ist es eine weit verbreitete Methode, die Pflanzen so anzuziehen, dass sich der Spross komplett innerhalb der Petrischale befindet (z.B. Freixes et al. 2002). Aufgrund der Tatsache, dass dies die zurzeit akzeptierte Kultivierungsform darstellt, wurden die meisten Anzuchten in der vorliegenden Arbeit in solch einem System durchgeführt:

Spross innerhalb der Petrischalen: Wurden die Petrischalen halb mit Agar gefüllt und die Samen in ungefähr 3 cm Abstand zum oberen Rand der Schale ausplattiert, so konnte sich der Spross im Luftraum innerhalb der geschlossenen Petrischale entfalten (Abb. 2.3). Nach dem Ausplattieren wurden die Samen leicht in das Gel gedrückt und die Petrischalen fast waagrecht gelegt. Dies begünstigte das Wurzelwachstum innerhalb des Agarose-Gels und nicht auf dessen Oberfläche. Dadurch verbesserte sich die optische Qualität der aufgenommenen Bildsequenzen erheblich. Zwei Tage nach der Keimung wurden die Petrischalen senkrecht gestellt.

Im beschriebenen Anzuchtsystem war es jedoch nicht durchführbar, a) das Wurzelsystem komplett abzudunkeln, b) das Sprosswachstum quantitativ zu bestimmen und c) die photosynthetische Aktivität des Sprosses zu messen. Aus diesen Gründen wurde ein System entwickelt, das ein Sprosswachstum außerhalb der Petrischale ermöglichte:

Spross außerhalb der Petrischale: Die Petrischalen wurden vollständig mit Agar gefüllt und mit Gewebeklebeband verschlossen. Anschließend wurden die Samen durch fünf Löcher (mit ungefähr 2 mm Durchmesser) auf einer schmalen Seite der Petrischalen leicht in das Agarose-Gel gedrückt. Die Löcher wurden anschließend mit Parafilm (Fa. Pechiney Plastic Packaging, Menasha, WI, USA) verschlossen, um während der Keimungsphase eine hohe Luftfeuchtigkeit zu gewährleisten und Kontaminationen des Agars zu verhindern. Ungefähr eine Woche nach der Aussaat wurde der Parafilm entfernt, so dass sich der Spross außerhalb der Petrischale entfalten konnte. Die Wurzeln wuchsen im Agarose-Gel, das während der gesamten Untersuchungszeit des Wachstums frei von sichtbaren Pilz- und Bakterien-Infektionen blieb (Abb. 2.3).



Abb. 2.3 Anzucht in Agar (*N. tabacum*) – Vergleich Spross innerhalb (links) und außerhalb (rechts) der Petrischale.

2.2.2 Klimabedingungen

Die ausplattierten *Arabidopsis*-Samen wurden 2,5 bis 4 Tage bei 4 °C aufbewahrt. Diese Kälteinduktion war bei Tabaksamen nicht notwendig. Tabakpflanzen können direkt unter Raumtemperatur zur Keimung gebracht werden. Zur Anzucht befanden sich die Pflanzen in einem klimatisierten Raum bei einer Temperatur von 23 °C (+/- 3 °C), einer relativen Luftfeuchte von ungefähr 45 % und einer Lichtperiode von 12 Stunden hell / 12 Stunden dunkel. Eine Ausnahme bildeten *A. thaliana* Ökotyp Landsberg *erecta*. Diese wuchsen im Langtag (16 Stunden Tag / 8 Stunden Nacht) bei einer durchschnittlichen Temperatur von 26 °C.

Die zur Belichtung dienenden Leuchtstoffröhren (L36W/21-840, Lumilux eco, cool white, Fa. Osram) ermöglichten auf Blattebene eine Lichtintensität von $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (PAR). Zur Erhöhung der Lichtintensität wurden Kaltlichtquellen (KL 200 und KL 2500, Fa. Schott, Wiesbaden) eingesetzt. Eine Kaltlichtquelle sendet Licht mit stark reduziertem Infrarotanteil aus und ermöglicht aus diesem Grund zwischen dem Einfluss der Lichtintensität und dem Temperatureintrag zu unterscheiden. Das Licht wurde dabei mithilfe eines ein- oder zweiarmigen Lichtleiters oder einer speziellen Faseroptik mit einem duschkopfförmigen Lichtauslass (Fa. Walz, Effeltrich) gezielt auf ein oder mehrere Sprosse gerichtet. Die in dieser Arbeit untersuchten Pflanzen wurden entweder bei konstant 60 bzw. $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogen oder erfuhren 14 Tage lang 60 und anschließend $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. 14 bis 21 Tage nach der Keimung wurde der Einfluss der Lichtintensität auf das Wurzel- und Sprosswachstum untersucht.

2.2.3 Nährstoff-Konzentrationen

Die Agarose-Gele, in denen die Wurzeln wuchsen, enthielten verschiedene Nährstoff-Konzentrationen. Hierbei wurde **Ingestad-Nährlösung** (Ingestad 1982) verwendet, deren Konzentration zwischen 1 und 10 mM Stickstoff eingestellt wurde. Falls keine anderen Angaben erfolgten, wurde eine Stickstoffkonzentration von 10 mM eingesetzt. Zur Einstellung der Nährstoff-Konzentration wurden folgende zwei Stammlösungen A und B (Tabelle 2.1) und Ethylendiamintetraacetat (EDTA) in 500 ml flüssigem Agar gelöst (Tabelle 2.2).

Tabelle 2.1: Ingestad-Nährlösung - Stammlösung A und B

Stammlösung A		Stammlösung B	
Substanz	Konzentration [mM]	Substanz	Konzentration [mM]
K ₂ SO ₂	141	Ca(NO ₃) ₂ x 4 H ₂ O	125
K ₂ HPO ₄	82,3	Mg(NO ₃) ₂ x 6 H ₂ O	185
KH ₂ PO ₄	131	Fe(NO ₃) ₃ x 9 H ₂ O	6,27
KNO ₃	197,5	Mn(NO ₃) ₂ x 2 H ₂ O	3,64
NH ₄ NO ₃	1360	Zn(NO ₃) ₂ x 4 H ₂ O	0,46
		CuCl ₂ x 2 H ₂ O	0,24
		Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O	0,04
		H ₃ BO ₃	9,25
		HNO ₃	48,35

Tabelle 2.2: Einstellung der Nährlösungskonzentration in 500 ml Agar

Konzentration [mM]	Stammlösung A [µl]	Stammlösung B [µl]	EDTA [mg]
1	138	138	0,3
2,5	345	345	0,8
5	690	690	1,5
10	1380	1380	3,2

2.3 Messung des Blattwachstums mittels Screening

Die Gesamtblattfläche von Tabakpflanzen unter verschiedenen Lichtbedingungen wurde mithilfe eines automatischen Screening-Verfahrens erfasst. Der Aufbau bestand aus zwei senkrecht zueinander montierten Verschiebetischen (Typ LPT80.5501210-SM, Fa. Laser 2000 GmbH, Wesslingen). An diesen war eine Kamera (Scorpion IEEE1394, Fa. Point Grey, Vancouver, Kanada) mit einem 25 mm Objektiv (Fa. Cosmocar/Pentax, Hamburg)

und einem 5 mm Zwischenring (Fa. Linos, Göttingen) befestigt. Die Beleuchtung der Pflanzen erfolgte mit sechs LED-Cluster-Lampen (Weißlicht, 24 V, Fa. Signal Construct GmbH, Niefern), die ringförmig angeordnet waren (Abb. 2.4). Im Tagesabstand wurden senkrecht von oben Aufnahmen der Sprosse, die außerhalb der Petrischale wuchsen, mit einer Auflösung von 1600 x 1200 Pixel durchgeführt. Mithilfe der Verschiebetische konnte die Kamera an zuvor festgelegte Positionen gefahren werden. An jeder Position wurden jeweils zehn Bilder einer Petrischale aufgenommen und gemittelt.

Anschließend wurde die Blattfläche aufgrund von **Farbton, Sättigung und Helligkeit** segmentiert. Im RGB-Farbraum wird eine Farbe durch drei Werte beschrieben: den Rot-, Grün- und Blauanteil. Das menschliche Auge sowie die eingesetzte Kamera zeigen eine verstärkte Sensitivität im grünen Wellenlängenbereich. Dies erschwert die Segmentierung der Blätter vom Hintergrund. Aus diesem Grund wurde der Farbraum in den HSV-Farbraum transformiert, der eine Segmentierung aufgrund von Farbton (**Hue**), Sättigung (**Saturation**) und Helligkeit (**Value**) erlaubte (Abb. 2.5). Dazu mussten die Schwellwerte so gewählt werden, dass möglichst die gesamte Blattfläche erkannt wurde. Anschließend wurden Löcher innerhalb zusammenhängender Blattflächen aufgefüllt und Objekte außerhalb zusammenhängender Flächen entfernt, sofern deren Größe 20 Pixel nicht überstieg. Zur Kontrolle wurde die segmentierte Blattfläche farbcodiert ausgegeben (Abb. 2.6). Aus der ermittelten Fläche in Pixel wurde zum einen die entsprechende reale Blattfläche in mm² berechnet sowie die relative Wuchsrates (RGR) der Blätter unter der üblichen Annahme einer exponentiellen Blattflächenentwicklung (z.B. Walter & Schurr 1999) nach folgender Gleichung bestimmt:

$$\text{RGR} [\%/d] = \frac{1}{t_2 - t_1} \cdot \ln \frac{A(t_2)}{A(t_1)}$$

Dabei bezeichnet $A(t_1)$ und $A(t_2)$ die Blattflächen zu den Zeitpunkten t_1 und t_2 .

Die Blattflächen-Bestimmung mithilfe des Screenings hat den Vorteil, dass diese Methode nicht-invasiv an einer großen Anzahl von Pflanzen durchgeführt werden kann. Allerdings können sich Überlappungen der Blätter (Abb. 2.6) und tagesperiodische Blattbewegungen nachteilig auf die Bestimmung der Blattfläche auswirken. Zur Minimierung des Fehlers, der aufgrund unterschiedlicher Blattstellungen auftritt, wurden die Aufnahmen stets zur gleichen Tageszeit durchgeführt.

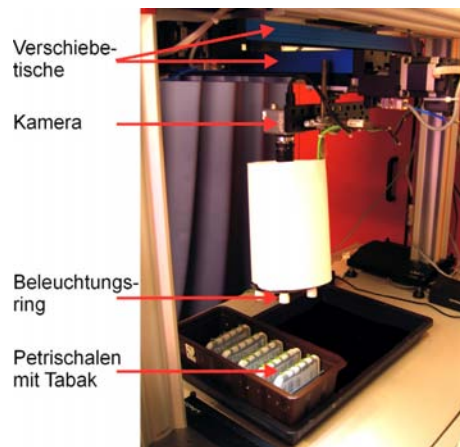


Abb. 2.4 Blattflächen-Screening-Aufbau mit *N. tabacum*.

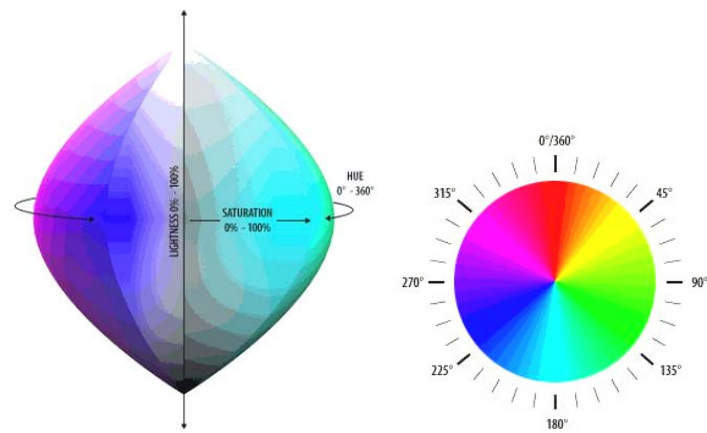


Abb. 2.5 HSV-Farbraum (Farbton (Hue) 0-360°, Sättigung (Saturation) 0-100 % und Helligkeit (Value) 0-100 %; links) sowie Farbskala (0-360°; rechts) (Abbildungen Frank Gilmer).

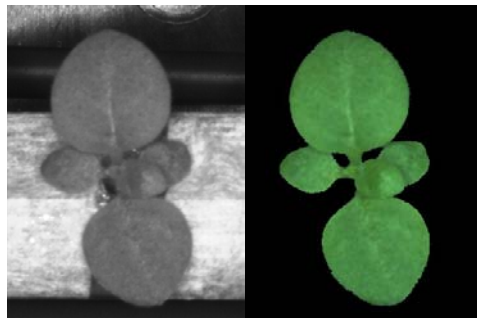


Abb. 2.6 Blattflächen-Screening: Originalbild eines *N. tabacum* Sprosses (links) und das entsprechende farbcodierte Bild nach der Segmentierung (rechts).

2.4 Messung des Wurzelwachstums mit konventionellen Methoden

Das Wurzelwachstum von *N. tabacum* und *A. thaliana* wurde alle drei bis vier Tage **mit einem Lineal** gemessen. Das Wachstum der Primärwurzel wurde bestimmt, indem die Positionen der Wurzelspitze auf der Petrischale markiert und aus den Markierungsabständen der Zuwachs ermittelt wurde. Zudem wurde zu jedem Messzeitpunkt die Anzahl der gebildeten Wurzeln gezählt, um ein Maß für den Verzweigungsgrad und die Biomasseproduktion der Wurzeln zu gewinnen. Diese Ergebnisse wurden mit Daten einer destruktiven Methode verglichen, bei der die Wurzeln eingescannt wurden. Aus den gespeicherten Farbbildern wurde mit einer Segmentierung die Wurzeloberfläche zweidimensional bestimmt. Diese Segmentierung funktionierte nach einem analogen Verfahren wie beim Blattscreening beschrieben (siehe Abschnitt 2.3).

2.5 Messung des Wachstums und der Krümmungsproduktion von Wurzeln mit digitaler Bildverarbeitung

Die Darstellung räumlicher und zeitlicher Geschwindigkeits- und Wuchsratenprofile entlang der Wurzelspitze unter konstanten und variierenden Lichtbedingungen erfolgte in der vorliegenden Arbeit mit **digitaler Bildsequenz-Analyse**. Diese in bereits vorangegangenen Arbeiten (v.a. Schmudt et al. 1998, Walter et al. 2002, Nagel 2003, Terjung 2004) etablierte Methode konnte mittlerweile für sehr vielfältige botanische Fragestellungen eingesetzt werden. Zudem kam eine weitere in der Arbeitsgruppe entwickelte Methode zum Einsatz, mit der die Krümmungsproduktion von Wurzeln nach Änderung des gravitropen Reizes beschrieben werden konnte (Chavarria-Krauser et al. 2006).

2.5.1 Messprinzip der digitalen Bildsequenz-Analyse

In regelmäßigen Zeitabständen wurden mit einer CCD-Kamera Bilder von Wurzelspitzen aufgenommen. Der CCD-Chip der Kamera war dabei parallel zur Bildebene ausgerichtet. Beleuchtet wurden die Wurzeln mit Licht des nahen Infrarot-Bereichs. Aus den zeitlichen **Änderungen der Grauwertstrukturen** einer Bildsequenz können durch das Strukturtensor-Verfahren (Bigün & Granlund 1987, Haußecker & Spies 1999) die Geschwindigkeiten bestimmt werden, mit der sich einzelne Bildpunkte in x- und y-

Richtung bewegen. Eine sich bewegende Grauwertstruktur führt, wenn die Bilder einer Sequenz zeitlich gestapelt werden, zu einem dreidimensionalen virtuellen Gebilde (Abb. 2.7). Innerhalb dieses Gebildes wird die Verschiebung einer Grauwertstruktur ermittelt, indem ihre Orientierung relativ zur Zeitachse abgeschätzt und als Vektor dargestellt wird. Unter der Voraussetzung, dass sich die Helligkeit der Struktur über den betrachteten Zeitraum nicht ändert, beschreibt der Vektor die Geschwindigkeit. Die Berechnung erfolgte pixelweise, das heißt, es wurde jeweils ein virtueller Quader aus sieben Pixeln in x- und y-Richtung und elf Pixel in der Zeitachse gebildet und die Geschwindigkeit für den Pixel in der Quadermitte gespeichert. Aus diesen berechneten Geschwindigkeitsverteilungen wurden anschließend durch Bildung der Divergenz die Wuchsraten bestimmt.

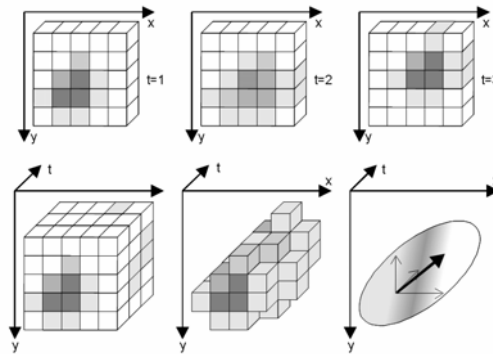


Abb. 2.7 Schematische Darstellung der Geschwindigkeitsbestimmung mit der Strukturtensor-Methode: Eine Grauwertstruktur führt in einem Bildstapel (mit x- und y-Koordinaten der Bilder und t = Zeitachse) zu einem dreidimensionalen Gebilde, aus dessen Orientierung sich die Geschwindigkeit zu jedem Zeitpunkt ergibt (Walter 2001).

2.5.2 Aufbau zur Bildsequenz-Aufnahme

Die Aufnahmen von Bildsequenzen zur Bestimmung der Wuchsraten- und Geschwindigkeitsprofile erfolgte mit Standard-CCD-Kameras (XC-ST50CE und XC-75, Fa. Sony, Köln) mit einer Auflösung von 640 x 480 bzw. 740 x 570 Pixeln. Verwendet wurde für Tabakwurzeln ein 25-mm-Objektiv (Fa. Cosmicar/Pentax, Hamburg) mit 50 mm dicken Zwischenringen. Für *Arabidopsis*-Wurzeln kam dagegen – aufgrund des geringeren Wurzeldurchmessers im Vergleich zum Tabak – ein Vierfach-Mikroskopobjektiv mit einem 80 mm langen Tubus (Fa. Linos, Göttingen) zum Einsatz. Beleuchtet wurden die Wurzeln im Durchlichtverfahren mit Dioden (Fa. Conrad Electronic, Hirschau), die im nahen Infrarot ($\lambda=940$ nm) emittierten. Je 15 dieser Dioden waren in einem kleinen, zylindrischen Gehäuse zusammengefasst. Infrarotes Licht hat den Vorteil, dass es das Pflanzenwachstum nicht beeinträchtigt (Schmundt et al. 1998) und die Aufnahmen auch

nachts durchgeführt werden können. Zur gleichmäßigen Ausleuchtung der Wurzelspitze wurden zwei asphärische Linsen (Fa. Linos, Göttingen) in den Strahlengang der Infrarotdioden eingebaut. Die Kamera war mit einem RG-9 Filter (Fa. Schott, Wiesbaden) versehen, der eine gute Transmission im nahen Infrarot bei gleichzeitiger Absorption des sichtbaren Lichtes aufwies (Abb. 2.8).

Die Petrischale mit den gekeimten Pflanzen wurde an drei computergesteuerten Verschiebetischen (Fa. Owis, Staufen) befestigt, die in x-, y- und z-Richtung angeordnet waren. Für die Bestimmung des Wurzelwachstums und der Krümmungsproduktion nach Änderung des gravitropen Reizes wurde der gesamte Aufbau (Abb. 2.8) um 90° gedreht.

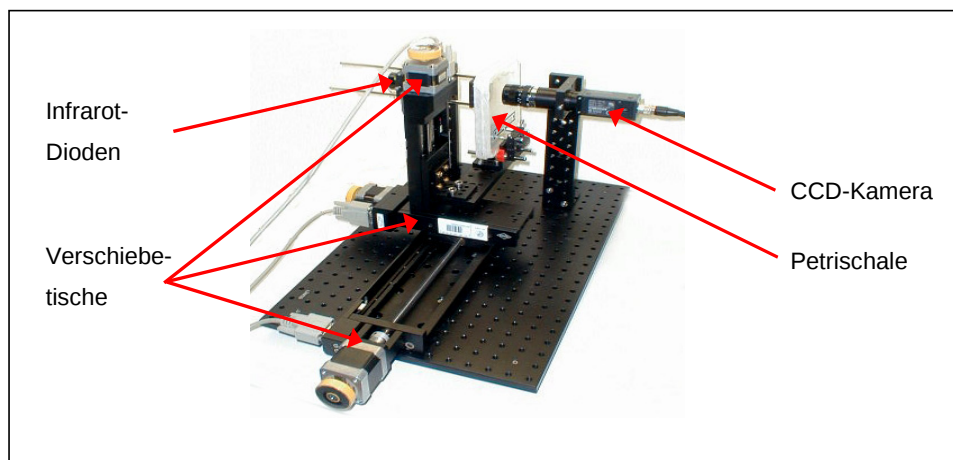


Abb. 2.8 Mikrorhizotron-Aufbau zur Aufnahme von Bildsequenzen.

2.5.3 Aufnahme der Bildsequenzen

Für die Aufnahme von Bildsequenzen wurde eine so genannte Framegrabberkarte (PC_EYE4, Fa. Eltec, Mainz) eingesetzt, die die Daten der Kamera digitalisiert. Mit dem Konfigurationsprogramm der PC_EYE4-Karte konnte ein Live-Bild der Wurzel dargestellt werden. Zunächst wurde das aufgenommene Live-Bild scharf gestellt, die Bildhelligkeit mittels der Blende optimiert und eine gleichmäßige Beleuchtung durch Verschieben der Infrarotdioden und der asphärischen Linsen individuell eingestellt.

Anschließend wurde die Aufnahme einer Bildsequenz mit dem Programm Heurisko 4.0.20 (Aeon-Verlag, Hanau) gestartet (Abb. 2.9). Dabei wurden alle 30 Sekunden 20 Grauwertbilder (256 Grauwerte) aufgenommen, gemittelt und als Einzel-Tiffs gespeichert.

Um zu verhindern, dass die Wurzeln relativ schnell aus dem Aufnahmebereich herauswachsen, wurde zu Beginn der Aufnahme ein Bereich der Wurzelspitze (AOI, area of interest) markiert. Diese AOI wurde mithilfe der x- und y-Verschiebetische über die gesamte Bildsequenz verfolgt. Die Verschiebetische wurden dabei über einen bildbasierten Algorithmus kontrolliert. Sobald die AOI einen definierten Abstand (in der Regel 10 Pixel) vom Bildrand erreichte, wurde die Petrischale automatisch an eine zuvor festgelegte Bildposition (meistens die Bildmitte) verschoben. Dies ermöglichte die Aufnahme von Bildsequenzen über mehrere Tage (Walter et al. 2002).

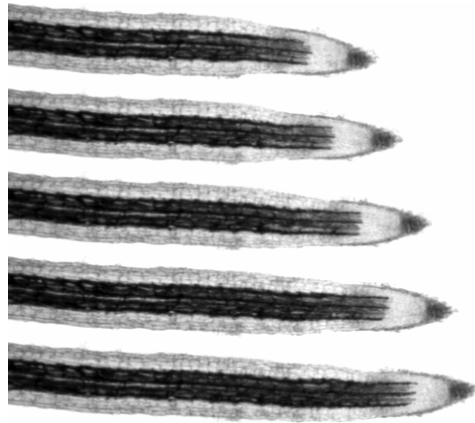


Abb. 2.9 Grauwertbilder einer Wurzelspitze von *N. tabacum*. Der Abstand zwischen den Bildern betrug jeweils zwei Stunden.

2.5.4 Auswertung der Bildsequenzen

Vor der Auswertung wurden die Sequenzen mit dem Programm ACDSee (Fa. ACDSee Systems, Victoria, Kanada) auf eventuelle Störstellen durchgesehen und die gespeicherten Einzel-Tiffs anschließend zu einem Multi-Tiff zusammengefügt.

Aus den aufgenommenen Grauwertbildern konnten anschließend mithilfe des Strukturtensor-Verfahrens räumliche und zeitliche Wachsraten- und Geschwindigkeits-Verteilungen des Wurzelwachstums errechnet werden. Dabei wurden zunächst die Geschwindigkeiten für alle sichtbaren Pixel berechnet und die fehlenden Informationen über eine Regularisierung aufgefüllt, das heißt, es wurde eine Glättung und Interpolation durchgeführt. Um optimale Ergebnisse zu erzielen, mussten folgende Parameter für jede Bildsequenz angepasst werden:

- **Strukturtensor-Parameter („noise“ und „tau“):** Der Parameter „noise“ legt fest, ob das Bildrauschen (z.B. durch Zellorganellbewegungen oder Verstärkungsrauschen der

CCD-Kamera) in die Berechnung der Geschwindigkeiten mit eingeht. Je größer das Rauschen, desto größer muss der Wert für „noise“ gewählt werden, um zu verhindern, dass das Rauschen die Wachstumsanalyse negativ beeinflusst. Typische Werte waren für tau 0.004 und für noise 0.0119.

- **Pyramidenstufe:** Um Berechnungszeit zu sparen, ist es möglich, auf geringerer Pyramidenstufe zu rechnen. Das Originalbild hat Pyramidenstufe 0. Wird die Pyramidenstufe auf 1 gesetzt, wird die Bildlänge und -breite halbiert, so dass sowohl die Bildgröße als auch die Rechenzeit auf ein Viertel reduziert wird. Dies hat allerdings zur Folge, dass das Ergebnis eine entsprechend geringere Auflösung aufweist.
- **Schwellwert:** Um die Auswertung auf die Wurzel zu beschränken und den Hintergrund von der Wurzel abzutrennen, wurde ein Schwellwert gesetzt. Ein typischer Schwellwert für Aufnahmen im Durchlicht lag bei -180, das heißt die Grauwerte zwischen 180 und 255, die dem Hintergrund zugeordnet sind, werden homogen schwarz dargestellt, so dass Rechenzeit gespart wird.
- **Regularisierungsparameter:** Diese Parameter bestimmen, wie „stark“ Daten geglättet und Datenlücken interpoliert werden:
- **b_rec_x und b_rec_y:** rekursive Filter für die Regularisierung in x- und y-Richtung (z.B. 0.45 0.55).
- **viter:** Anzahl der Iterationen des iterativen Filters (z.B. 10).
- **viter_rec:** Anzahl der Iterationen des rekursiven Filters (z.B. 20).
- **vsmooth:** Glättungsparameter der Regularisierung (z.B. 1000).

Während der Auswertung wurden folgende Dateien gespeichert:

- **Rang:** Der Rang der Bilder stellt ein Maß dar, wie „gut“ die Geschwindigkeiten der Grauwertstrukturen berechnet werden können. Mithilfe des ausgegebenen Rangs können die Parameter „tau“ und „noise“ optimiert werden.
- **Regularisierte Geschwindigkeiten:** Gespeichert wurden die regularisierten Geschwindigkeiten in x- und y-Richtung.

Nach der Berechnung der Pixel-Geschwindigkeiten konnten die Daten zeitlich und räumlich mit dem Programm **Growflow** (Abb. 2.10) gemittelt werden. Es wurde dazu eine Linie – beginnend am Ruhenden Zentrum der Wurzelspitze – entlang der Mittellinie der Wurzel gelegt und über die Bildsequenz verfolgt. Für jedes aufgenommene Bild wurden entlang dieser Kurve die Geschwindigkeiten und die relativen Element-Wuchsraten gespeichert.

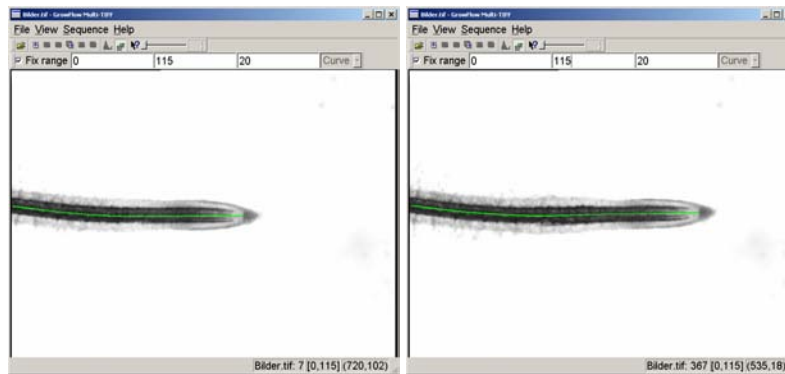


Abb. 2.10 Growflow: *N. tabacum* Wurzelspitze zum Zeitpunkt $t = 0$ Stunden (links) und $t = 3$ Stunden (rechts). Die Linie, die über die Bildsequenz verfolgt wird, ist grün dargestellt.

Aus der gelegten Kurve konnte ebenso die Verteilung der Krümmungswinkel entlang der Wurzel ermittelt werden. Die zeitliche Ableitung der Krümmungswinkel ergibt die Winkelgeschwindigkeit, die ein Maß für die Änderungsrate des Winkels darstellt. Ein rotierender starrer Körper hat eine konstante Winkelgeschwindigkeit. Dagegen variiert die Winkelgeschwindigkeit entlang eines sich krümmenden Körpers. Aus der Divergenz der Winkelgeschwindigkeit entlang der Wurzel ergibt sich die Krümmungsproduktionsrate (DGCR, *Differential Growth Curvature Rate*, in $^{\circ} \text{mm}^{-1} \text{h}^{-1}$) (Chavarria-Krauser et al. 2006).

2.5.5 Darstellung der Ergebnisse

Zur Darstellung der Ergebnisse konnten die ausgegebenen Verteilungen der **Geschwindigkeiten, Wuchsraten und Krümmungsproduktionsraten** (mit dem Algorithmus „mittelkurve“) zeitlich gemittelt werden. Variierte das Wurzelwachstum aufgrund natürlicher Schwankungen zwischen Individuen einer Pflanzenlinie stark, so mussten die REGR-Verteilungen vor der Mittelung **normalisiert** werden, um zu verhindern, dass durch das Mitteln Informationen verloren gehen. Dazu wurde die REGR-Verteilung zunächst transformiert, so dass das Maximum bei Position 0 lag, einen Wert von 1 und eine Halbwertsbreite (siehe unten) von 1 aufwies. Nach der Mittelung dieser normalisierten Verteilungen konnten diese wieder denormalisiert werden, indem die gemittelten Normalisierungs-Koeffizienten verwendet wurden (siehe Chavarria-Krauser et al. 2006).

Anschließend wurden die Daten mit einem Excel-VBA-Makro weiterverarbeitet, indem die Werte, wie folgt, umgerechnet und anschließend grafisch dargestellt wurden:

- | | |
|-----------------------------------|---|
| 1.) Relative Element-Wuchsrate: | $\text{REGR} [\% \text{ h}^{-1}] = \frac{\text{REGR}_{\text{Pixel}}}{t/3600}$ |
| 2.) Wachstumsgeschwindigkeit: | $v [\mu\text{m h}^{-1}] = \frac{v_{\text{Pixel}} \cdot L \cdot 1000}{n \cdot t/3600}$ |
| 3.) Abstand zum Ruhenden Zentrum: | $d [\text{mm}] = \frac{d_{\text{Pixel}} \cdot L}{n}$ |
| 4.) Winkelgeschwindigkeit: | $\omega [^\circ \text{ h}^{-1}] = \frac{\omega_{\text{Pixel}}}{t/3600}$ |
| 5.) Krümmungsproduktionsrate: | $\text{DGCR} [^\circ \text{ mm}^{-1} \text{ h}^{-1}] = \frac{\text{DGCR}_{\text{Pixel}} \cdot n}{L \cdot t/3600}$ |

Dabei stellt $\text{REGR}_{\text{Pixel}}$ die relative Element-Wuchsrate in $\% \text{ Bild}^{-1}$ dar und v_{Pixel} die Wachstumsgeschwindigkeit in Pixel Bild^{-1} ; d_{Pixel} den Abstand zum Ruhenden Zentrum in Pixel; ω_{Pixel} die Winkelgeschwindigkeit in $^\circ \text{ Bild}^{-1}$; $\text{DGCR}_{\text{Pixel}}$ die Krümmungsproduktionsrate in $^\circ \text{ Pixel}^{-1} \text{ Bild}^{-1}$; t die Zeit in Sekunden; L die Länge des Bildes in mm und n die Länge des Bildes in Pixel.

Aus dem Diagramm (Abb. 2.11) kann man die Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze (v_{Tip}), die maximale relative Element-Wuchsrate (REGR_{max}) und die Verteilung der Geschwindigkeit und der Wuchsrate entlang der Wurzelspitze entnehmen. Ebenso wurde die maximale Krümmungsproduktionsrate (DGCR_{max}) ermittelt.

Zur Charakterisierung der Wachstumszone ist in der Literatur kein einheitliches Maß zu finden. Es hat sich als sinnvoll herausgestellt, hierzu die Halbwertsbreite der relativen Element-Wuchsrate und die Länge der gesamten Wachstumszone (einschließlich Meristem und Elongationszone) zu verwenden. Die Halbwertsbreite ist die Breite der Verteilungskurve der REGR, die in halber Höhe des Maximalwertes der Kurve gemessen wird (Brockhaus 1986). Als Maß für die Länge der Wachstumszone wurde in dieser Arbeit der Abstand zwischen dem Ruhenden Zentrum und dem Ort gewählt, an dem die Wuchsrate - basal von ihrem Maximum - auf 10 % von REGR_{max} abgefallen war (Abb. 2.11).

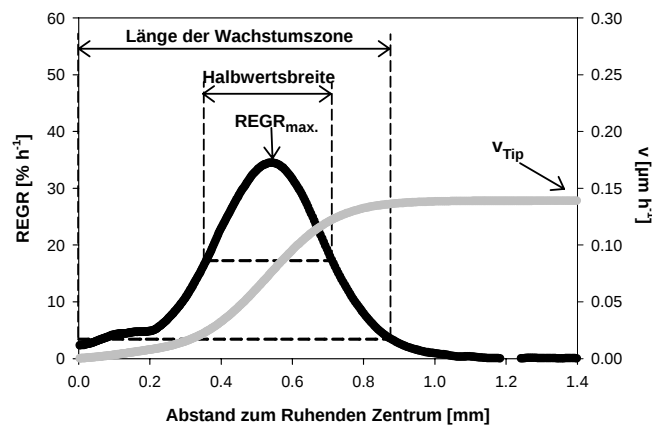


Abb. 2.11 Wurzelwachstum von *N. tabacum* – räumliche Verteilung der relativen Element-Wuchsrate (schwarz) und Wachstumsgeschwindigkeit (grau)

- V_{Tip} = Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze
- REGR_{max} = maximale relative Element-Wuchsrate
- Halbwertsbreite = Halbwertsbreite der relativen Element-Wuchsrate
- Länge der Wachstumszone = Länge des Meristems und der Elongationszone.

Die räumliche Verteilung der Geschwindigkeit, relativen Element-Wuchsrate und Krümmungsproduktionsrate ließen sich auch direkt **farbcodiert** auf die Originalbilder projizieren (Abb. 2.12). Hierfür konnte ein Visualisierungstool verwendet werden, das auf der Software VTK (Visualisierungstoolkit, Kitware, Inc., New York, USA) basiert.

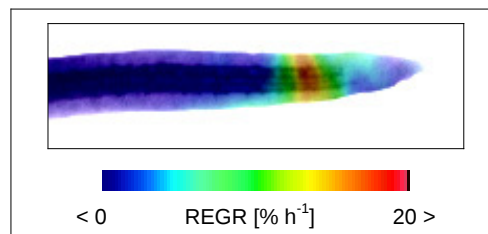


Abb. 2.12 Farbcodierte Darstellung der relativen Element-Wuchsrate durch Overlay auf ein Originalbild von *N. tabacum*.

2.6 Inhaltsstoffanalysen

Bei den Inhaltsstoffanalysen wurden **Chlorophyll- und Kohlenhydrat-Gehalte** von Tabakkeimlingen bestimmt, mit dem Ziel, eine mögliche Korrelation zwischen Wachstumsreaktionen und Inhaltsstoffen unter verschiedenen Lichtbedingungen aufzudecken. Dazu wurde aufgrund der Größe der Keimlinge das gesamte Spross- bzw.

Wurzelsystem geerntet, gewogen und in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Nach der ethanolischen Extraktion (siehe 2.6.1) wurde der Extrakt zur Bestimmung des Chlorophyll-Gehaltes (siehe 2.6.2) und der Konzentration an löslichen Kohlenhydraten (siehe 2.6.3) eingesetzt.

2.6.1 Ethanolische Extraktion

Das noch gefrorene Wurzel- und Blattmaterial wurde mit 80%igem Ethanol (v/v), das 2 mM HEPES-Puffer enthält, versetzt und anschließend 20 Minuten im Heizblock (Blockthermostat QBT4, Fa. Grant Instruments, Cambridge, England) bei 80 °C extrahiert. Nach Ablauf dieser Zeit wurden die Proben auf Eis gestellt und der Überstand abgenommen. Diese Prozedur wurde mehrmals wiederholt, bis das Blattmaterial weitgehend farblos erschien. Hierbei wurde folgendes Extraktionsschema verwendet:

- 400 µl 80%iges Ethanol (v/v)
- 400 µl 50%iges Ethanol (v/v)
- 200 µl 80%iges Ethanol (v/v).

Zum Abschluss wurden die Extrakte mit 80%igem Ethanol (v/v) auf 1 ml aufgefüllt. Zur Aufbewahrung konnten das extrahierte Pflanzenmaterial und der ethanolische Extrakt bei -20 °C eingefroren werden.

2.6.2 Chlorophyll

Zur Bestimmung des Chlorophyll-Gehaltes wurden die Extrakte kurz geschüttelt (Vortexer, Fa. Scientific Industries, N.Y., USA), 200 µl Extrakt mit 600 µl Ethanol (100 %, v/v) vereinigt und vier Minuten bei 13.000 rpm zentrifugiert. Die Chlorophyll-Messung erfolgte photometrisch (Ultrospec II, Fa. LKB Biochrom, Cambridge, England) bei einer Wellenlänge von 652 nm in Halbmikroküvetten. Als Referenz wurde 100 % Ethanol eingesetzt.

Mithilfe des Lambert-Beerschen Gesetzes kann aus den gemessenen optischen Dichten (OD) der Chlorophyll-Gehalt des geernteten Pflanzenmaterials bestimmt werden:

$$OD = \varepsilon \cdot d \cdot c \quad \Rightarrow \quad c = \frac{OD}{\varepsilon \cdot d}$$

Dabei ist ϵ der Extinktionskoeffizient [$\text{l cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$], c die Konzentration [mol l^{-1}] und d die Schichtdicke [cm] der Küvette. Unter der Annahme, dass 1 mg pro ml Chlorophyll einer OD von 34,4 entspricht, konnte der Chlorophyll-Gehalt folgendermaßen bestimmt werden:

$$\text{Chlorophyll [mg g}^{-1}\text{FG]} = \frac{\text{OD} \cdot V_{\text{Kuevette}} \cdot \frac{V_{\text{Extrakt}}}{V_{\text{Aliquot}}}}{34,4 [\text{ml mg}^{-1}] \cdot \text{FG}_{\text{Probe}}}$$

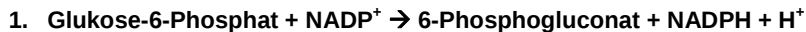
Hierbei stellt V_{Kuevette} das Küvettenvolumen dar; V_{Extrakt} das Gesamtvolumen des ethanolischen Extraktes; V_{Aliquot} das eingesetzte Probenvolumen (jeweils in μl) und FG das Frischgewicht des pflanzlichen Materials in mg.

2.6.3 Lösliche Kohlenhydrate

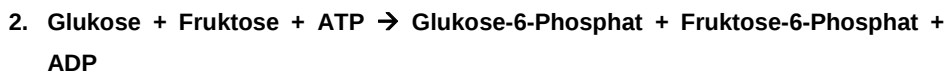
Prinzip des gekoppelten Enzymtests

Die Messung der löslichen Kohlenhydrate Glukose, Fruktose und Saccharose erfolgte photometrisch (anthos ht2, Fa. anthos Mikrosysteme GmbH, Krefeld) bei einer Wellenlänge von 334 nm anhand eines **gekoppelten Enzymtests**, wobei die Umsetzung von NADP^+ zu $\text{NADPH} + \text{H}^+$ quantitativ als Erhöhung der optischen Dichte verfolgt wurde (Jones et al. 1977).

Die Startreaktion wurde vom Enzym Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase katalysiert:



Sobald das gesamte Glukose-6-Phosphat in der Probe umgesetzt war, wurde das nächste Enzym - Hexokinase - zugegeben:



Das gebildete Glukose-6-Phosphat wurde mit dem Enzym Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase weiter umgesetzt (siehe 1.), wobei ebenfalls $\text{NADPH} + \text{H}^+$ gebildet wurde. Nach Erreichen eines konstanten Wertes der optischen Dichte konnte aus der Differenz der Plateauwerte die Konzentration an Glukose bestimmt werden. Anschließend wurde Phosphoglucoisomerase hinzu gegeben, die das zuvor entstandene Fruktose-6-Phosphat wie folgt umwandelte:



Glukose-6-Phosphat wurde, wie oben beschrieben, weiter umgesetzt (siehe 1.) und ermöglichte somit die Quantifizierung der Fruktose-Konzentration.

Mit dem letzten Enzym Invertase wurde Saccharose gespalten:

4. Saccharose → Glukose + Fruktose

Glukose und Fruktose wurden über die Reaktionsgleichungen 1, 2 und 3 weiter umgewandelt. Hierbei entstanden letztendlich pro Molekül Saccharose 2 Moleküle NADPH + H⁺.

Durchführung

Die für die Messung benötigten Enzyme Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (5,6 Units), Hexokinase (6 Units) und Phosphoglucosomerase (5 Units) (Fa. Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) wurden wie folgt angesetzt: Die Enzyme wurden vier Minuten bei 13.000 rpm abzentrifugiert, der Überstand verworfen und das Pellet in 200 µl Trispuffer (100 mM, 10 mM MgCl₂, pH 8,1) aufgenommen. Das kristalline Enzym Invertase (Fa. Sigma-Aldrich, Taufkirchen) wurde direkt in 200 µl Trispuffer aufgenommen (ca. 10 Units).

Zur photometrischen Messung wurden 96-Loch-Mikrotiterplatten eingesetzt, wobei pro Loch 20 µl abzentrifugierter Extrakt und 160 µl des folgenden Mastermix pipettiert wurden:

- 15,5 ml Imidazolpuffer (100 mM, 5 mM MgCl₂, pH 6,9)
- 480 µl ATP (60 mg/ml)
- 480 µl NADP⁺ (36 mg/ml)
- 200 µl Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase.

Jeweils nach Erreichen eines Plateaus wurden in der oben beschriebenen Reihenfolge je 2 µl der Enzyme zugegeben und anschließend die Differenzen zwischen den Plateauwerten am Ende jeder enzymatischen Reaktion berechnet.

Basierend auf der Angabe, dass 1 µmol NADPH + H⁺ pro ml einer optischen Dichte von 6,22 entspricht, konnte die **Konzentration der Hexosen** wie folgt bestimmt werden:

$$\text{Hexosen } [\mu\text{mol g}^{-1}\text{FG}] = \frac{\Delta\text{OD} / 1000 \cdot \frac{V_{\text{Extrakt}}}{V_{\text{Aliquot}}}}{6,22 [\text{ml } \mu\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}] \cdot 2,85 [\text{cm ml}^{-1}] \cdot \text{FG}_{\text{Probe}}}$$

Hierbei stellen V_{Extrakt} das Gesamtvolumen des ethanolischen Extraktes, V_{Aliquot} das eingesetzte Probenvolumen jeweils in µl und FG das Frischgewicht in mg dar. Der Faktor 2,85 ergibt sich aus der Weglänge des Lichtes durch die Probe. Zur Bestimmung der Konzentration an Saccharose musste der errechnete Wert - aus dem oben beschriebenen Grund - noch halbiert werden.

2.7 Photosynthesemessungen

Um zu überprüfen, ob zeitliche Korrelationen zwischen dem Wurzelwachstum und der Photosyntheserate nach kurzfristigen Lichtänderungen auftreten, wurde die **Chlorophyll-a-Fluoreszenz** einzelner Blätter gemessen. Dazu wurden die Pflanzen so angesetzt, dass der Spross außerhalb der Petrischale wuchs.

Die Chlorophyll-a-Fluoreszenz wurde mit einem Puls-Amplituden-modulierten Fluorometer (Imaging-PAM Chlorophyll Fluorometer, Fa. Walz, Effeltrich) gemessen. Ein LED-Ring-Array lieferte blaues Messlicht, aktinisches Licht und Sättigungspulse. Das Fluorometer war mit einer CCD-Kamera (AVT-D1, Fa. Walz, Effeltrich) und einem 12 mm Objektiv (Fa. Cosmicar/Pentax, Hamburg) ausgestattet.

Nachdem die Pflanzen ungefähr eine Stunde dunkel adaptiert worden waren, konnte die minimale (F_0) und die maximale (F_m) Fluoreszenz gemessen und daraus die **potentielle (maximale) Quanteneffizienz** des Photosystems II ($F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$) bestimmt werden. Anschließend wurde das aktinische Licht auf $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ bzw. $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ eingestellt und die maximale Fluoreszenz (F_m') und die Grundfluoreszenz (F) des Licht-adaptierten Blattes ermittelt. Aus diesen Messungen konnte die **effektive Quanteneffizienz** mit $\Delta F/F_m' = (F_m' - F)/F_m'$ und die **Elektronentransportrate** (ETR) des Photosystems II - unter der Annahme der Gleichverteilung der Elektronen zwischen Photosystem I und II (Faktor 0,5) - berechnet werden:

$$\text{ETR} = \frac{\Delta F}{F_m'} \cdot 0,5 \cdot \text{PPFD} \cdot 0,84$$

Der so genannte Reflektionsfaktor (0,84) hängt von den Oberflächeneigenschaften des Blattes ab und trägt der Tatsache Rechnung, dass nur ein Teil des einfallenden Lichtes (PPFD) durch die Photosysteme absorbiert wird (Ehleringer 1981, Genty et al. 1989). Die **nicht-photochemische Energielöschung (NPQ)** gibt die Summe aller nicht-photochemischen, Energie verbrauchenden Mechanismen, wie beispielsweise im Xanthophyll-Zyklus, wieder und wurde nach Maxwell und Johnson (2000), folgendermaßen bestimmt:

$$\text{NPQ} = \frac{F_m - F_m'}{F_m'}$$

3 Ergebnisse

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Einfluss einer Lichterhöhung am Spross auf das Blatt- und Wurzelwachstum untersucht. Zum einen wurden dabei lang- (Tage) und kurzfristige (Minuten) Effekte der Lichtmodifikation auf das Wachstum mit Inhaltsstoff- und Photosynthesemessungen korreliert (Abschnitt 3.1 und 3.2). Zum anderen wurde der Einfluss der Lichtintensität auf das Wurzelwachstum bei variierenden Nährstoffkonzentrationen (Abschnitt 3.3) und auf die Krümmungsproduktion von Wurzeln nach Änderung des gravitropen Reizes (Abschnitt 3.4) untersucht.

3.1 Langfristige Effekte der Lichtintensität und ihrer Änderung auf Wachstum und Inhaltsstoffe

Ziel der in diesem Kapitel dargestellten Untersuchungen war es zum einen, das Wachstum der Primärwurzel (Abschnitt 3.1.1) sowie die Biomasse-Synthese von Wurzel und Spross (Abschnitt 3.1.2) nach Erhöhung der Lichtintensität von 60 auf $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ zu charakterisieren. Zum anderen sollten die Mechanismen näher beleuchtet werden, mit denen das Wurzelwachstum nach Änderung der Lichtbedingungen am Spross modifiziert wird. Hierzu wurden Inhaltsstoff-Analysen durchgeführt (Abschnitt 3.1.3), sowie transgene Pflanzen mit einer Hemmung der Saccharose-Synthese untersucht (Abschnitt 3.1.4). Ebenso wurde das Wurzelwachstum mit und ohne externe Zugabe von Saccharose nach Hemmung des Saccharose-Transportes durch Entfernen des Sprosses analysiert. (Abschnitt 3.1.5)

3.1.1 Langfristige Effekte auf das Wachstum der Primärwurzel

Die Länge der Wachstumszone sowie die Wachstumsintensität der Primärwurzel variierte stark zwischen zwei konstanten Lichtbedingungen (60 und $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), wobei die Form der REGR-Verteilungen (Relative Element-Wuchsrates) entlang der Wurzelspitze bei beiden Lichtbehandlungen vergleichbar war (Abb. 3.1 A). **Bei Lichterhöhung von 60 auf $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ dauerte der Übergang zwischen den beiden Zuständen nur vier Tage** (Abb. 3.1 B). Detailliertere Analysen der Experimente unter konstanten und variierenden Lichtbedingungen zeigten, dass alle vier Parameter, mit denen die Wachstumszone von Wurzeln charakterisiert werden kann (Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze (v_{Tip}),

maximale relative Element-Wuchsrate ($\text{REGR}_{\text{max.}}$), Halbwertsbreite der Elongationszone und Länge der Wachstumszone) in ähnlicher Weise durch Lichterhöhung beeinflusst wurden (Abb. 3.2). Unter unveränderten Lichtbedingungen blieb das Wachstum über mehrere Tage konstant. Die Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze v_{Tip} , welche die gesamte Wachstumsaktivität des Organs charakterisiert, war unter Hoch-Licht-Behandlung viermal größer als unter Niedrig-Licht (Abb. 3.2 A; 56 bzw. 240 $\mu\text{m h}^{-1}$). Nach dem Transfer der Keimlinge von Niedrig- zu Hoch-Licht am Tag 14, stieg v_{Tip} sigmoidal an und erreichte bereits nach vier Tagen Werte, die dem Wachstum der Pflanzen entsprachen, die unter konstant hohen Lichtbedingungen angezogen wurden. In vergleichbarer Weise nahmen auch die anderen drei Parameter, die die Form der REGR-Verteilungen beschreiben (Abb. 3.2 B-D), nach Lichterhöhung zu. Dies zeigt sehr deutlich, dass die **gesamte Wurzel-Wachstumszone in gleicher Art und Weise auf Lichterhöhung reagierte**. Hieraus kann geschlossen werden, dass sowohl Zellteilung als auch Zellstreckung durch die Lichtbehandlung in sehr ähnlicher Weise beeinflusst wurde.

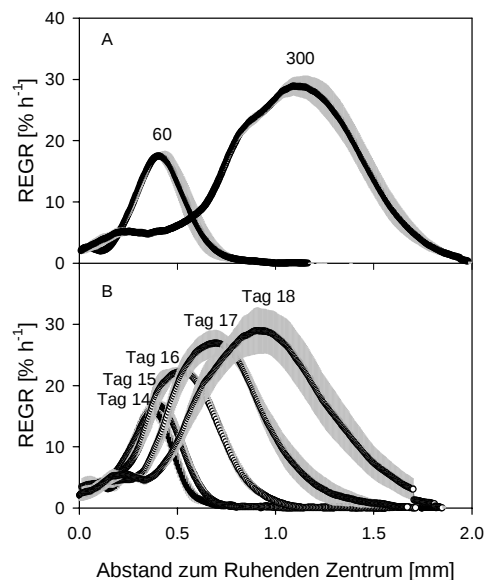


Abb. 3.1 Räumliche Verteilungen der REGR entlang der Wachstumszone gemittelt über 24 Stunden (*N. tabacum*, Spross innerhalb der Petrischale). A) Die Pflanzen wurden entweder 18 Tage bei konstanten Lichtbedingungen (60 bzw. 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) oder B) 14 Tage bei 60 und anschließend 4 Tage bei 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=4$).

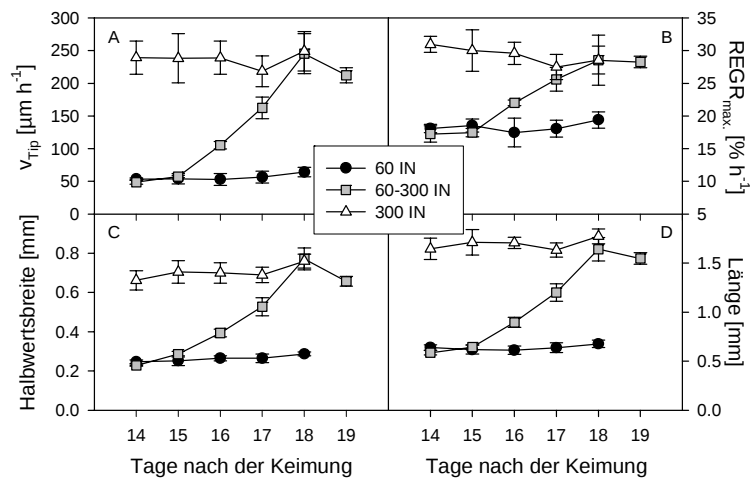


Abb. 3.2 Charakteristische Parameter der Wurzel-Wachstumszone (*N. tabacum*, Spross innerhalb der Petrischale (IN)): Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze v_{Tip} (A), maximale REGR (B), Halbwertsbreite der Elongationszone (C) und Länge der Wachstumszone (D). Die Pflanzen wurden entweder 18 Tage bei konstanten Lichtbedingungen (60 bzw. 300 $\mu mol m^{-2} s^{-1}$) oder 14 Tage bei 60 und anschließend 5 Tage bei 300 $\mu mol m^{-2} s^{-1}$ angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=4$).

In den oben dargestellten Versuchen befand sich der **Spross innerhalb der Petrischale** (im Folgenden auch „Spross innerhalb“ genannt). Bei diesem Anzuchtssystem war es experimentell nicht möglich, während der Aufnahmen für die digitale Bildsequenz-Analyse das Wurzelsystem abzudunkeln. Um zu testen, ob direkte oder indirekte Lichtänderungen am Wurzelsystem die Resultate beeinflussen, wurden die Pflanzen so angezogen, dass der **Spross außerhalb der Petrischale** (im Folgenden auch „Spross außerhalb“ genannt) wuchsen und die Wurzeln mit schwarzer Folie komplett abgedunkelt werden konnten. Befand sich der Spross außerhalb der Petrischale, wuchsen die Wurzeln unter konstanten Lichtbedingungen zum einen schneller im Vergleich zu Wurzeln im konventionellen Anzuchtssystem „Spross innerhalb“, zum anderen stieg v_{Tip} sogar über den Aufnahmezeitraum leicht an (Abb. 3.3). Dieser Anstieg wurde nicht beobachtet, wenn der Spross - im Anzuchtssystem „Sprosswachstum außerhalb“ - niedrigen Lichtintensitäten ausgesetzt war, die Wurzeln dagegen mit Hoch-Licht beleuchtet wurden. Unter diesen Bedingungen blieb das Wurzelwachstum über mehrere Tage konstant (Abb. 3.3). Wurden die Pflanzen einer Lichterhöhung ausgesetzt, nahm das Wurzelwachstum signifikant zu, sowohl wenn der Spross innerhalb als auch außerhalb der Petrischale wuchs. Allerdings schienen die Primärwurzeln - mit „Spross außerhalb“ - bereits nach drei Tagen eine konstante Wachstumsgeschwindigkeit zu erreichen (Abb. 3.4 A). Ebenso nahmen die Halbwertsbreite der Elongationszone sowie die Länge der gesamten Wachstumszone zu diesem Zeitpunkt nicht mehr signifikant zu und die maximale, relative Element-Wuchsrate

sogar leicht ab (Abb. 3.4 B-D). Wurzeln, deren Spross außerhalb der Petrischale wuchs, schienen also bereits nach drei Tagen ein konstantes Wachstum zu erreichen, während Wurzeln - mit „Spross innerhalb“ – dazu vier Tage benötigten (Abb. 3.2).

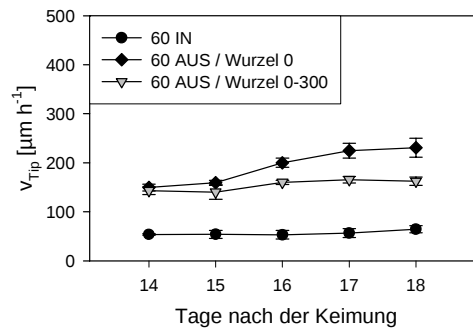


Abb. 3.3 Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze – Vergleich Spross innerhalb (IN) und außerhalb (AUS) der Petrischale (*N. tabacum*). Die Pflanzen wurden 14 Tage bei konstanten Lichtbedingungen ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) angezogen. Die Wurzeln wuchsen dabei entweder 18 Tage im Dunkeln (60 AUS / Wurzel 0) oder 14 Tage im Dunkeln und anschließend 4 Tage bei $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (60 AUS / Wurzel 0-300) (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=4$).

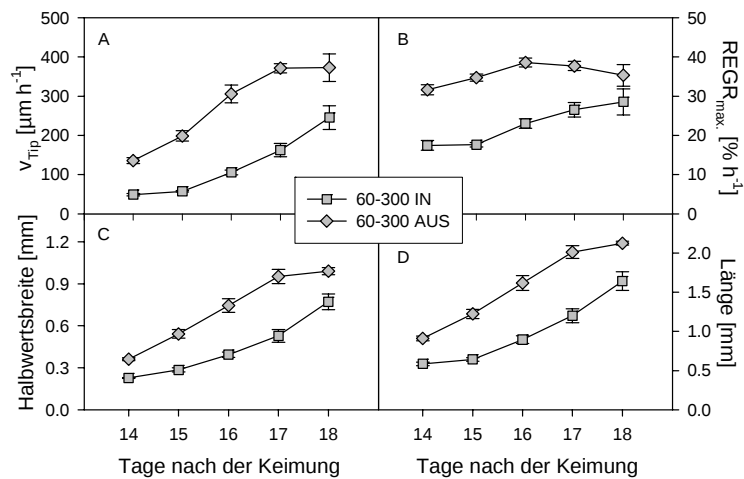


Abb. 3.4 Charakteristische Parameter der Wurzel-Wachstumszone – Vergleich Spross innerhalb (IN) und außerhalb (AUS) der Petrischale (*N. tabacum*): Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze v_{tip} (A), maximale REGR (B), Halbwertsbreite der Elongationszone (C) und Länge der Wachstumszone (D). Die Pflanzen wurden 14 Tage bei 60 und anschließend 4 Tage bei $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=4$).

Neben der Wachstumsgeschwindigkeit variierte auch der **Wurzeldurchmesser** der Primärwurzel unter verschiedenen Lichtbedingungen. Der Wurzeldurchmesser wurde in einem Abstand von 1,8 mm zum Ruhenden Zentrum der Wurzel und somit am Ende der

Elongations- bzw. in der Differenzierungszone mit dem Programm CorelDRAW (CorelDRAW 9, Fa. Corel) gemessen. Pflanzen, die unter konstantem Niedrig-Licht angezogen wurden, wiesen einen geringeren Wurzeldurchmesser auf im Vergleich zu Pflanzen unter konstant hohen Lichtbedingungen. **Nach Lichterhöhung** nahm der Wurzeldurchmesser **signifikant zu** (Abb. 3.5). Dies wurde sowohl bei Pflanzen beobachtet, deren Spross innerhalb der Petrischale wuchs als auch bei Pflanzen, deren Spross außerhalb der Petrischale wuchs (Abb. 3.6 B). Allerdings zeigte die Lichtänderung einen größeren Einfluss auf den Wurzeldurchmesser bei einem Sprosswachstum innerhalb der Schale. Die Zunahme innerhalb der ersten vier Tage nach Lichtmodifikation betrug bei den Wurzeln in diesem Anzuchtssystem 40 % versus 15 % bei Sprosswachstum außerhalb der Petrischale (Abb. 3.6 B).

Wuchs der Spross außerhalb der Petrischale und wurde gleichzeitig das Wurzelsystem komplett abgedunkelt, so stieg der Wurzeldurchmesser von Tag 14 bis 18 nach der Keimung um 9 % an. Wurde dagegen die Lichtintensität an den Wurzeln im gleichen Anzuchtssystem von 0 auf ca. $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ erhöht, nahm der Wurzeldurchmesser sogar um 35 % zu (Abb. 3.6 A).

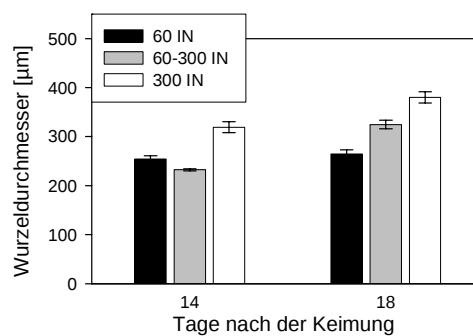


Abb. 3.5 Wurzeldurchmesser in einem Abstand von 1,8 mm zum Ruhenden Zentrum (*N. tabacum*, Spross innerhalb der Petrischale (IN)). Die Pflanzen wurden entweder bei konstanten Lichtbedingungen (60 bzw. $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) oder 14 Tage bei 60 und anschließend 4 Tage bei $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE, n=4).

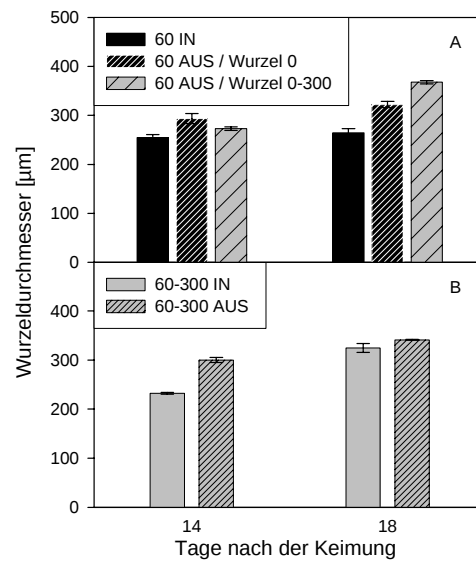


Abb. 3.6 Wurzeldurchmesser in einem Abstand von 1,8 mm zum Ruhenden Zentrum – Vergleich Spross innerhalb (IN) und außerhalb (AUS) der Petrischale (*N. tabacum*). A) Die Pflanzen wurden entweder bei konstanten Lichtbedingungen ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) oder B) 14 Tage bei 60 und anschließend 4 Tage bei $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogen. Die Wurzeln wuchsen dabei entweder 18 Tage im Dunkeln (60 AUS / Wurzel 0) oder 14 Tage im Dunkeln und anschließend 4 Tage bei $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (60 AUS / Wurzel 0-300) (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=4$).

3.1.2 Langfristige Effekte auf die Biomasse-Produktion

Eine Erhöhung der Lichtintensität am Spross führte nicht nur zu einer signifikanten Wachstumszunahme der Primärwurzel, sondern hatte auch Auswirkungen auf die Biomasse-Produktion der gesamten Pflanze. Das **Frischgewicht sowohl des Wurzelsystems als auch des Sprosses nahm nach Lichtänderung zu**, erreichte jedoch vier Tage nach Erhöhung noch nicht die Werte, die Pflanzen unter konstantem Hoch-Licht aufwiesen (Abb. 3.7). Bei unveränderten Lichtbedingungen unterschied sich das Frischgewicht der Pflanzen zwischen den Anzuchten bei 60 und $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ - sowohl bei einem Sprosswachstum innerhalb als auch außerhalb der Petrischale - um einen Faktor fünf bis sechs (Abb. 3.7 und Abb. 3.8 A). Während bei einem Sprosswachstum innerhalb der Schale am Tag 18 die Summe von Wurzel- und Spross-Frischgewicht 11 mg in Pflanzen unter Niedrig-Licht-Behandlung betrug, erreichten die Pflanzen unter Hoch-Licht-Behandlung 60 mg (Anzuchtsystem „Spross außerhalb“: 29 mg unter Niedrig-Licht versus 146 mg unter Hoch-Licht). Nach Lichterhöhung nahm die Summe von Wurzel- und Spross-Frischgewicht dagegen stärker zu, wenn der Spross innerhalb der Schale wuchs. Die Pflanzen bildeten vier Tage nach Lichtmodifikation im Vergleich zu Pflanzen unter

konstantem Niedrig-Licht 25 % mehr Biomasse bei einem „Sprosswachstum außerhalb“ und sogar 90 % mehr Biomasse bei einem Sprosswachstum innerhalb der Schale (Abb. 3.8 A).

Unter hohen Lichtbedingungen sowie vier Tage nach Lichterhöhung war das **Wurzel/Spross-Verhältnis** im Vergleich zu Pflanzen unter Niedrig-Licht-Behandlung erhöht. Interessanterweise differierte das Wurzel/Spross-Verhältnis unter Niedrig-Licht sowie nach Lichterhöhung nicht signifikant zwischen Pflanzen, deren Spross innerhalb bzw. außerhalb der Petrischale wuchs (Abb. 3.8 B). Dagegen zeigten die Pflanzen unter Hoch-Licht ein hohes Wurzel/Spross-Verhältnis von 0,9, wenn der Spross sich außerhalb der Petrischale entfalten konnte, im Vergleich zu 0,4 bei einem „Sprosswachstum innerhalb“. Dieses hohe Wurzel/Spross-Verhältnis im Anzuchtssystem „Spross außerhalb“ war auf verstärktes Wurzelwachstum zurückzuführen (Abb. 3.8 A). Im Vergleich zu Pflanzen, die unter konstant niedrigen Lichtbedingungen wuchsen, konnte unter Hoch-Licht dreimal mehr Spross- gegenüber 18-mal mehr Wurzel-Biomasse gebildet werden, wenn sich der Spross außerhalb der Schale entfaltete (dagegen viermal mehr Spross- und nur neunmal mehr Wurzel-Biomasse beim „Sprosswachstums innerhalb“; Abb. 3.8).

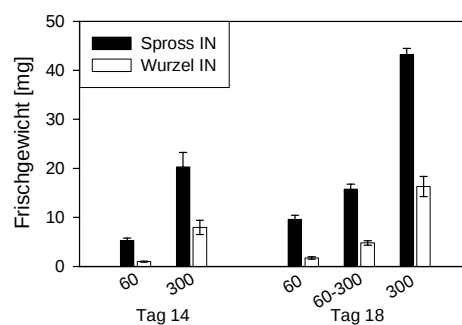


Abb. 3.7 Frischgewicht (*N. tabacum*, Spross innerhalb der Petrischale (IN)). Die Pflanzen wurden entweder 14 bzw. 18 Tage bei konstanten Lichtbedingungen (60 bzw. 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) oder 14 Tage bei 60 und anschließend 4 Tage bei 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (60-300) angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=5$).

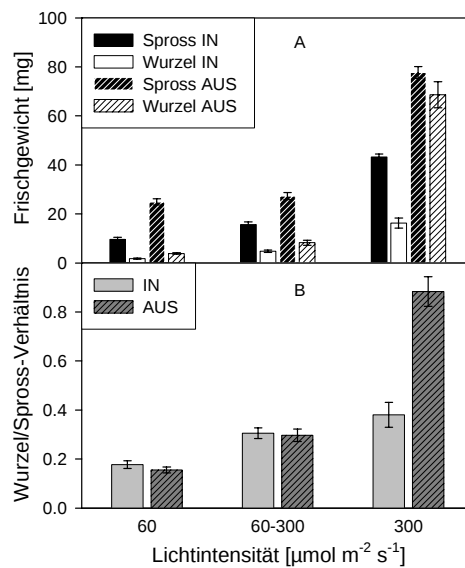


Abb. 3.8 Frischgewicht (A) und Wurzel/Spross-Verhältnis des Frischgewichtes (B) – Vergleich Spross innerhalb (IN) und außerhalb (AUS) der Petrischale (*N. tabacum*). Die Pflanzen wurden entweder 18 Tage bei konstanten Lichtbedingungen (60 bzw. 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) oder 14 Tage bei 60 und anschließend 4 Tage bei 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=5$).

Nach Licherhöhung stieg das Wurzel- und Spross-Frischgewicht, wie dargestellt, signifikant an, jedoch war der **Einfluss der Lichtänderung auf das Wurzelwachstum größer als auf das Blattwachstum**. Mit dem Screening-Verfahren konnte die projizierte Blattfläche bei einem Sprosswachstum außerhalb der Petrischale 14 bis 19 Tage nach der Keimung bestimmt werden. Dabei wiesen die Pflanzen unter konstant 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ eine mehr als doppelt so große Blattfläche auf als Pflanzen unter konstant 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Abb. 3.9 A). Nach Licherhöhung von 60 auf 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ stieg die Blattfläche stetig an, die Zunahme betrug allerdings auch fünf Tage nach Lichtmodifikation nur das 1,2fache der Pflanzen unter konstantem Niedrig-Licht und lag noch deutlich unter den Werten, die Pflanzen unter konstantem Hoch-Licht aufwiesen (Abb. 3.9 A). Ebenso konnte beim Übergang von 60 auf 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ die relative Wachstumsrate der Blätter, die Pflanzen unter konstant 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ aufwiesen, nicht erreicht werden. Nur an einem Tag nach Licherhöhung (Zuwachs von Tag 17 auf Tag 18 nach der Keimung) war das Blattwachstum signifikant größer als das Wachstum unter konstant niedrigen Lichtbedingungen (Abb. 3.9 B).

Die Wurzel-Biomasse nahm durch Licherhöhung im Verhältnis stärker zu als die Biomasse des Sprosses. So stieg sowohl die Wurzelanzahl nach Änderung der

Lichtbedingungen von 60 auf 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ als auch die Oberfläche des gesamten Wurzelsystems um ungefähr das Dreifache gegenüber Pflanzen unter konstant Niedrig-Licht an, wenn sich der Spross außerhalb der Petrischale befand. Auch das gesamte Wurzelsystem erreichte sieben Tage nach Lichterhöhung noch nicht die Größe, die Wurzelsysteme von Pflanzen unter konstant hohen Lichtbedingungen aufwiesen (Abb. 3.10).

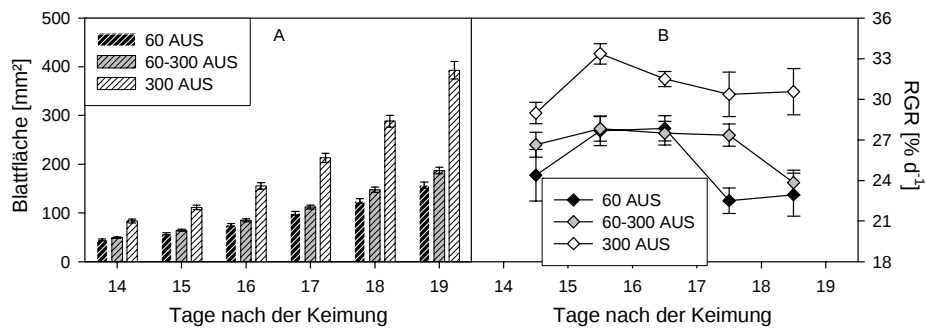


Abb. 3.9 Blattfläche (A) und relative Wuchsrates (RGR) der Blätter (B) (*N. tabacum*, Spross außerhalb der Petrischale (AUS)). Die Pflanzen wurden entweder bei konstanten Lichtbedingungen (60 bzw. 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) oder 14 Tage bei 60 und anschließend bei 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (60-300) angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=23$ bzw. 24).

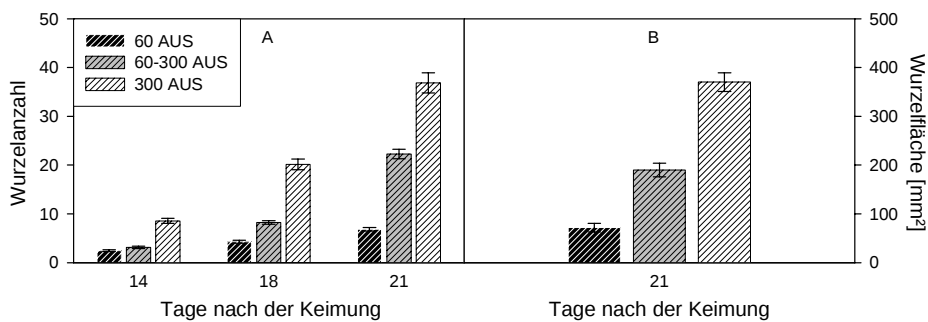


Abb. 3.10 Wurzelanzahl (A) und zweidimensionale Oberfläche der Wurzeln (B) (*N. tabacum*, Spross außerhalb der Petrischale (AUS)). Die Pflanzen wurden entweder bei konstanten Lichtbedingungen (60 bzw. 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) oder 14 Tage bei 60 und anschließend bei 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (60-300) angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE, A) $n=24$ bzw. 39; B) $n=5$ bzw. 7).

3.1.3 Langfristige Effekte auf Inhaltsstoffe

Eine Lichterhöhung von 60 auf 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ am Spross führte, wie dargestellt, zu einer signifikanten Zunahme des Wurzel- und Spross-Wachstums, wobei der Einfluss auf die Biomasse des Wurzelsystems größer war als auf die des Sprosses. Die Primärwurzeln erreichten sogar bereits vier Tage nach Änderung der Lichtintensität ein vergleichbares Wachstum wie Wurzeln von Pflanzen, deren Spross unter konstant 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogen wurde. Im Folgenden soll darauf eingegangen werden, welche Mechanismen diese schnellen Wachstumsanpassungen auf veränderte Lichtbedingungen ermöglichen. Hierzu wurden zunächst pflanzliche Inhaltsstoffe untersucht.

Die **Kohlenhydrat-Konzentrationen** von Wurzel und Spross unterschieden sich wesentlich zwischen Niedrig- und Hoch-Licht-Behandlung (Abb. 3.11). Die Saccharose-Konzentrationen in Blättern, deren Spross innerhalb der Petrischale wuchs, variierten zwischen diesen zwei stationären Bedingungen um den Faktor fünf. Dies zeigte deutlich, dass die **Lichtbehandlung** nicht nur mit dem Wachstum **korreliert** ist, sondern auch **mit der Saccharose-Konzentration**. Die Glukose- und Fruktose-Gehalte wiesen sogar noch stärker ausgeprägte Unterschiede zwischen Pflanzen unter den verschiedenen Lichtintensitäten auf: Die Hexose-Konzentrationen waren 14 und 18 Tage nach der Keimung unter 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ zehnmal höher als die Konzentrationen von Pflanzen unter 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Interessanterweise zeigten Pflanzen, die für vier Tage höheren Lichtintensitäten ausgesetzt waren, sowohl in Blättern als auch in Wurzeln höhere Kohlenhydrat-Konzentrationen als Pflanzen, die unter konstant 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ gewachsen waren. In Wurzeln überstiegen die Zucker-Konzentrationen nach Lichterhöhung die Konzentrationen der Hoch-Licht-Pflanzen um einen Faktor zwei (Saccharose) bis drei (Glukose und Fruktose).

Die Zucker-Gehalte waren durch Lichterhöhung signifikant erhöht, unabhängig davon, ob der **Spross** sich **innerhalb oder außerhalb** der Petrischale entfalten konnte (Abb. 3.12 A). Allerdings stieg die Kohlenhydrat-Konzentration bei einem „Sprosswachstum innerhalb“ stärker an. Zudem war die Konzentration in den Wurzeln wesentlich geringer als im Spross, wenn dieser innerhalb der Schale wuchs. Im Gegensatz dazu konnten beim „Sprosswachstum außerhalb“ in Wurzel und Spross vergleichbare Gehalte, bzw. in Wurzeln sogar teilweise höhere Werte gemessen werden.

Höhere Lichtintensitäten beeinflussten neben den Kohlenhydrat-Konzentrationen auch die **Chlorophyll-Bildung** der Blätter (Abb. 3.11 D). So konnten - bei einem Sprosswachstum innerhalb der Petrischale - sowohl 14 als auch 18 Tage nach der Keimung in Pflanzen

unter $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ dreimal höhere Chlorophyll-Gehalte wie in Pflanzen unter $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ gemessen werden. Vier Tage **nach Lichterhöhung** von 60 auf $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ kam es ebenfalls zu einer **Zunahme** der Chlorophyll-Gehalte, die Erhöhung war jedoch - im Vergleich zu Pflanzen unter konstant niedrigen Lichtbedingungen - statistisch nicht signifikant. Dagegen wurden - bei einem „Sprosswachstum außerhalb“ - in den Blättern nach Lichtänderung geringere Chlorophyll-Gehalte gefunden wie in Blättern unter Niedrig-Licht (Abb. 3.12 B). Dies spiegelte sich auch in einer hellgrünen Färbung der Blätter nach Modifikation der Lichtbedingungen wieder.

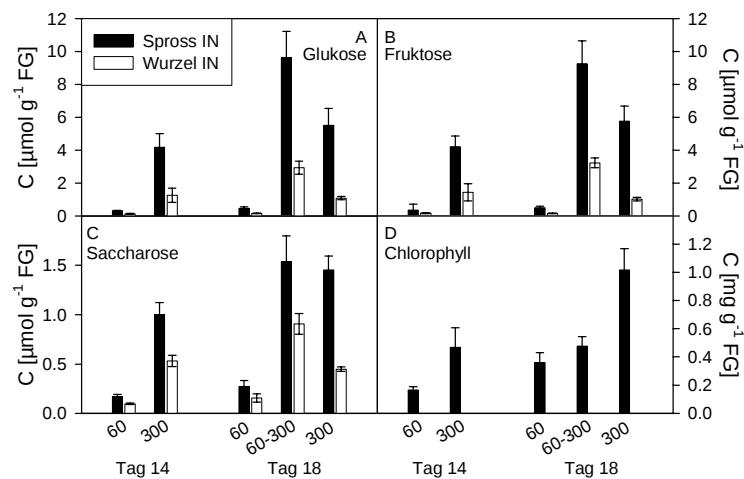


Abb. 3.11 Zucker-Konzentrationen (Glukose (A), Fruktose (B) und Saccharose (C) und Chlorophyll-Gehalt (D) (*N. tabacum*, Spross innerhalb der Petrischale (IN)). Die Pflanzen wurden entweder 14 bzw. 18 Tage bei konstanten Lichtbedingungen (60 bzw. $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) oder 14 Tage bei 60 und anschließend 4 Tage bei $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ($60-300$) angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=5$).

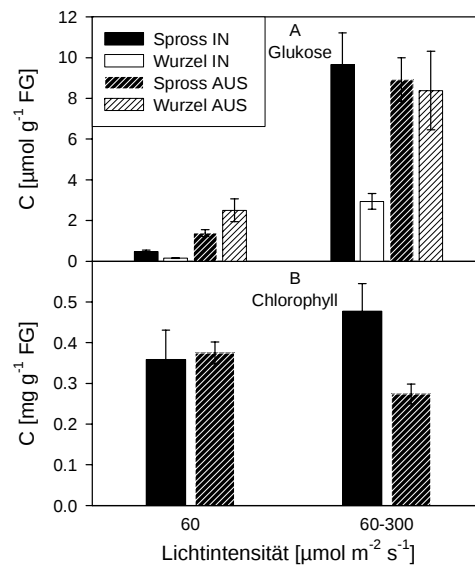


Abb. 3.12 Glukose-Konzentration und Chlorophyll-Gehalt – Vergleich Spross innerhalb (IN) und außerhalb (AUS) der Petrischale (*N. tabacum*). Die Pflanzen wurden entweder 18 Tage bei konstanten Lichtbedingungen ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) oder 14 Tage bei 60 und anschließend 4 Tage bei $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (60-300) angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=5$).

3.1.4 Hemmung der Saccharose-Synthese in transgenen Pflanzen

In zwei weiteren Experimenten wurde getestet, ob Saccharose der Schlüsselfaktor ist, der zwischen der erhöhten Lichtintensität und der beobachteten Antwort des Wurzelwachstums vermittelt. Im ersten Versuch wurden transgene Pflanzen unter Lichtänderung untersucht, die eine Hemmung der Saccharose-Synthese aufweisen. Das Enzym Saccharose-6-Phosphat Phosphatase (SPP), das den letzten Schritt des Saccharose-Syntheseweges katalysiert, ist in diesen Pflanzen über RNAi Interferenz stark reduziert. Dies führt dazu, dass die Aktivität dieses Enzyms auf 10 % der Wildtyp-SPP-Aktivität reduziert ist (Chen et al. 2005).

Unter niedrigen Lichtintensitäten lag die Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze der transgenen Pflanzen geringfügig unter der der Wildtyp-Pflanzen (Abb. 3.13, Tag 14). Während der folgenden vier Tage unter Hoch-Licht-Exposition unterschied sich das Wachstum der zwei Pflanzenlinien signifikant: Während die Wildtyp-Pflanzen v_{Tip} um 300 % steigerten, konnten die Saccharose-Mangel-Pflanzen ihr Wachstum nur um ca. 50 % erhöhen (Abb. 3.13). Beim Vergleich der REGR-Verteilung wurde deutlich, dass die maximalen REGR-Werte der transgenen Pflanzen bei ungefähr 30 h^{-1} lagen, während Wildtyp-Pflanzen fast 40 h^{-1} erreichten (Abb. 3.14). Nach Licherhöhung nahm zwar

auch die Länge der Wachstumszone bei den SPP-Pflanzen zu, diese Expansion fiel jedoch wesentlich geringer aus als beim Wildtyp.

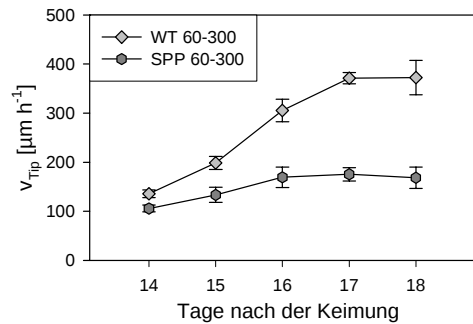


Abb. 3.13 Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze – Vergleich Wildtyp (WT) und transgene Pflanzen (SPP) (*N. tabacum*, Spross außerhalb der Petrischale). Die Pflanzen wurden 14 Tage bei 60 und anschließend 4 Tage bei $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=4$).

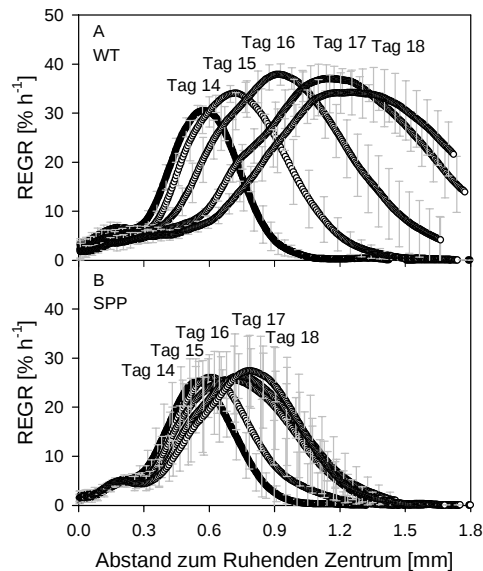


Abb. 3.14 Räumliche Verteilungen der REGR entlang der Wachstumszone gemittelt über 24 Stunden - Vergleich Wildtyp (WT, A) und transgene Pflanzen (SPP, B) (*N. tabacum*, Spross außerhalb der Petrischale). Die Pflanzen wurden 14 Tage bei 60 und anschließend 4 Tage bei $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE für jeden 10. Datenpunkt dargestellt, $n=4$).

3.1.5 Hemmung des Saccharose-Transportes durch Entfernen des Sprosses

Die Schlüsselrolle von Saccharose bei der Steigerung des Wurzelwachstums nach Licherhöhung wurde noch mittels eines zweiten Kontrollexperiments überprüft. Dabei wurde der komplette Spross entfernt und das Wachstum der isolierten Wurzeln mit und ohne Zugabe von Saccharose im Medium beobachtet. Ohne Saccharose nahm die Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze mit einer Halbwertszeit von zwei bis drei Stunden exponentiell ab (Abb. 3.15 A). Sowohl unter Hoch- als auch unter Niedrig-Licht-Bedingungen zeigten die Pflanzen ähnliche Kinetiken. Befand sich jedoch 2 % **Saccharose im externen Agarmedium**, war die **Abnahme des Wurzelwachstums** um einen Faktor zehn **langsamer** (mit einer Halbwertszeit von 24 Stunden). Dies zeigte, dass extern zugegebene Saccharose das Wurzelwachstum zumindest über mehrere Tage aufrechterhalten kann. Interessanterweise nahm in allen drei untersuchten Behandlungen die Länge der Wachstumszone sehr langsam ab (Abb. 3.15 B). Die maximale REGR war dagegen durch das Fehlen des Saccharose-Importes aus dem Spross wesentlich stärker beeinflusst. Bei externer Zugabe von Saccharose nahm die maximale Wuchsrate auch nach 2,5 Tagen nur auf ca. 60 % des Wertes vor dem Abtrennen des Sprosses ab; ohne Saccharose jedoch innerhalb von zehn Stunden fast auf 0 % (Abb. 3.15 C).

Der beobachtete Effekt, den Saccharose im Medium auf das Wurzelwachstum nach Abtrennen des Sprosses auslöste, wurde durch den Zucker selbst und nicht durch dessen osmotische Veränderung des Mediums bewirkt. Dies konnte gezeigt werden, indem Saccharose durch Mannitol ersetzt wurde. Der Zuckeralkohol weist die gleichen osmotischen Eigenschaften wie Saccharose auf, kann jedoch von Pflanzen nicht „verwertet“ werden. Befand sich Mannitol im Agarose-Gel, nahm das Wurzelwachstum in vergleichbarer Weise wie bei Behandlungen ohne Saccharose ab (Abb. 3.15 D-F).

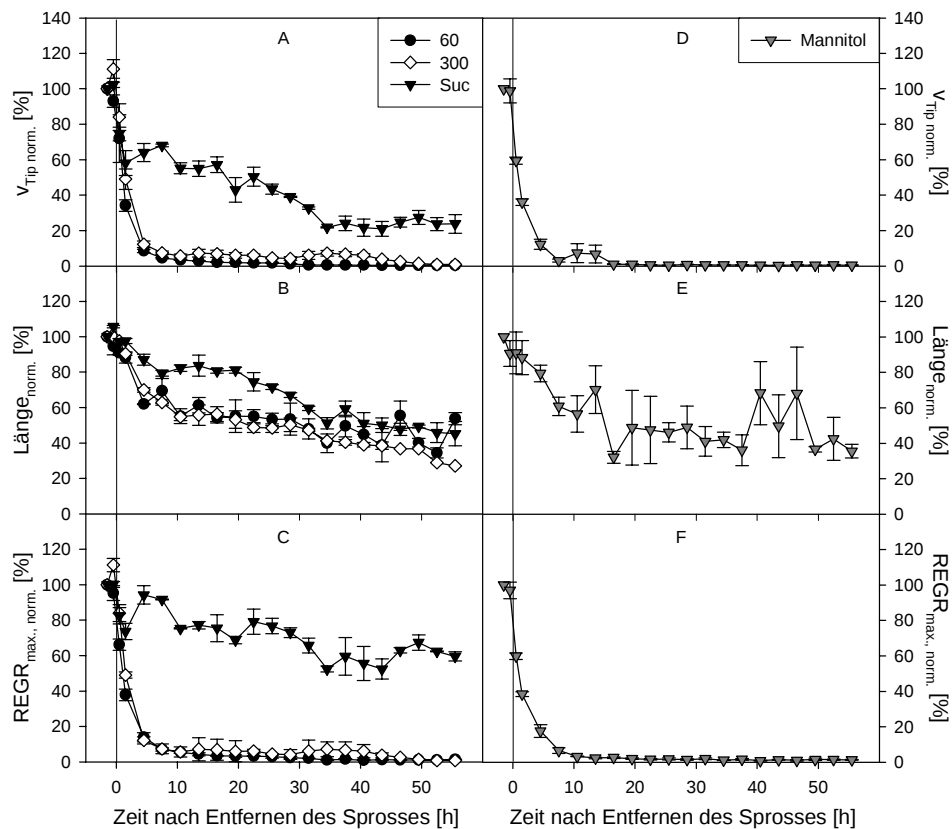


Abb. 3.15 Wurzelwachstum nach Entfernen des Sprosses (*N. tabacum*, Spross außerhalb der Petrischale). Die Pflanzen wurden bei konstanten Lichtbedingungen (60 bzw. $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) angezogen oder wuchsen bei $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ mit 2% Saccharose (Suc) bzw. Mannitol im Agarose-Medium. Die Abbildung zeigt die normalisierten Werte der Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze (A, D), Länge der Wachstumszone (B, E) und der maximalen REGR (C, F). Da die Pflanzen aufgrund der Behandlungen mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten wuchsen, wurden die jeweiligen Werte vor dem Entfernen des Sprosses für jedes Replikat und jede Behandlung auf 100% normiert (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=3$).

Zusammenfassung: Langfristige Effekte der Lichtintensität auf Wachstum und Inhaltsstoffe

Nach Licherhöhung von 60 auf $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ am Spross konnte gezeigt werden, dass die Primärwurzeln bereits nach vier Tagen Wachstumsgeschwindigkeiten und Wuchsraten-Verteilungen aufwiesen, die dem Wachstum der Pflanzen entsprachen, die bei konstant hohen Lichtbedingungen ($300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) angezogen wurden. Dabei wurde deutlich, dass jede Phase der Zellteilung und Zellstreckung durch die Lichtbehandlung in

sehr ähnlicher Weise beeinflusst wurde. Eine direkte Steigerung der Lichtintensität am Wurzelsystem führte hingegen zu einer Hemmung des Wurzelwachstums, bei gleichzeitiger Zunahme des Wurzeldurchmessers. Der Übergang der Lichtintensität von 60 auf $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ zeigte nicht nur einen Einfluss auf das Wachstum der Primärwurzeln, sondern führte auch zu einer Biomasse-Zunahme der gesamten Pflanze, wobei der Zuwachs des Wurzelsystems wesentlich größer ausfiel als der des Sprosses. Ebenso konnte nach Lichtmodifikation eine signifikante Steigerung der Kohlenhydrat-Konzentrationen gemessen werden. Zwei weitere Experimente untersuchten die Schlüsselrolle von Saccharose bei der Vermittlung zwischen der erhöhten Lichtintensität und der beobachteten Antwort des Wurzelwachstums. So konnten zum einen transgene Pflanzen mit einer Hemmung der Saccharose-Synthese vier Tage unter Hoch-Licht-Exposition ihr Wachstum im Vergleich zum Wildtyp nur geringfügig steigern. Zum anderen war nach Hemmung des Saccharose-Transportes vom Spross in die Wurzeln durch Abtrennen des Sprosses eine externe Zucker-Zugabe notwendig, um das Wurzelwachstum mehrere Tage aufrechterhalten zu können.

3.2 Kurzfristige Effekte der Änderung der Lichtintensität auf Wachstum und Photosynthese

Neben den langfristigen Effekten (Tage) waren auch kurzfristige Einflüsse (Minuten) einer Lichtänderung von besonderem Interesse. Eine nähere Analyse der ersten Stunden nach der Lichtmodifikation zeigte **zwei Phasen der schnellen Anpassung des Wurzelwachstums** an die Lichtbedingungen: die ersten 30 Minuten und die folgenden 2,5 Stunden nach Lichtänderung (Abb. 3.16).

Während der **ersten 30 Minuten** konnte in Niedrig-Licht angepassten Pflanzen, die unter Hoch-Licht gesetzt wurden, eine transiente Abnahme der Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze von 15 bis 20 % sowohl im Wildtyp als auch in transgenen Pflanzen (SPP) beobachtet werden (Abb. 3.16 A, B). Wurde dagegen die Lichtintensität bei Hoch-Licht akklimatisierten Pflanzen reduziert, so kam es zur umgekehrten Reaktion: Das Wurzelwachstum nahm transient um ca. 20 % gegenüber dem Wert unter konstanten Lichtbedingungen zu und danach wieder ab (Abb. 3.16 C).

Während der **folgenden 2,5 Stunden** zeigten die Wildtyp-Pflanzen ein **charakteristisches, sinusförmiges Wachstumsmuster** mit einer Periode von ungefähr zwei Stunden, wenn sie von Niedrig- auf Hoch-Licht-Behandlung transferiert wurden (Abb. 3.16 A). Im Gegensatz dazu wurde eine relativ konstante Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze gemessen, wenn die Pflanzen von Hoch- auf Niedrig-Licht-Bedingungen umgestellt wurden (Abb. 3.16 C). Drei Stunden nach Änderung der Lichtintensität war bei Wildtyp-Pflanzen das Wachstum im Lichterhöhungs-Versuch um ungefähr 15 % erhöht (v_{Tip} stieg von 140 auf 160 $\mu\text{m h}^{-1}$) und im Lichtreduktions-Versuch um ungefähr 20 % erniedrigt (v_{Tip} sank von 400 auf 320 $\mu\text{m h}^{-1}$). In den transgenen Pflanzen steigerte die Lichterhöhung das Wurzelwachstum innerhalb von drei Stunden um ca. 20 %; dieser Anstieg verlief jedoch wesentlich langsamer als beim Wildtyp und zeigte keine charakteristischen, sinusförmigen Wachstumsmuster (Abb. 3.16 B).

Um Hinweise zu finden, ob diese sinusförmigen Wachstums-Oszillationen durch einen Eintransport von Saccharose in die Wurzeln verursacht werden könnte, wurde die **photosynthetische Kapazität des Sprosses** nach Modifikation der Lichtbedingungen gemessen. Während der ersten Stunde nach Lichtänderung nahm die Elektronentransportrate des Photosystems II (ETR) im Lichterhöhungs-Versuch um mehr als den Faktor zwei zu (Abb. 3.16 A) und ging im Lichtreduktions-Versuch auf ein Drittel des Wertes unter konstanten Lichtbedingungen zurück (Abb. 3.16 C). In den folgenden zwei Stunden wurde unter Lichterhöhung die ETR sigmoidal auf ein Niveau reduziert, das höher als der anfängliche Niedrig-Licht-angepasste Wert lag. Nachdem das Licht wieder von 300 auf 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ reduziert wurde, nahm die ETR wieder ab und erreichte nach ungefähr einer Stunde einen vergleichbaren Wert wie vor der Lichtmodifikation (Abb. 3.16 A). Im Lichtreduktions-Versuch blieb die ETR konstant und kehrte nach erneuter Lichterhöhung innerhalb von Minuten wieder auf die anfänglichen Werte vor der Lichtmodifikation zurück. Die Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze benötigte dagegen zwei Stunden um wieder das anfängliche Niveau zu erreichen (Abb. 3.16 C).

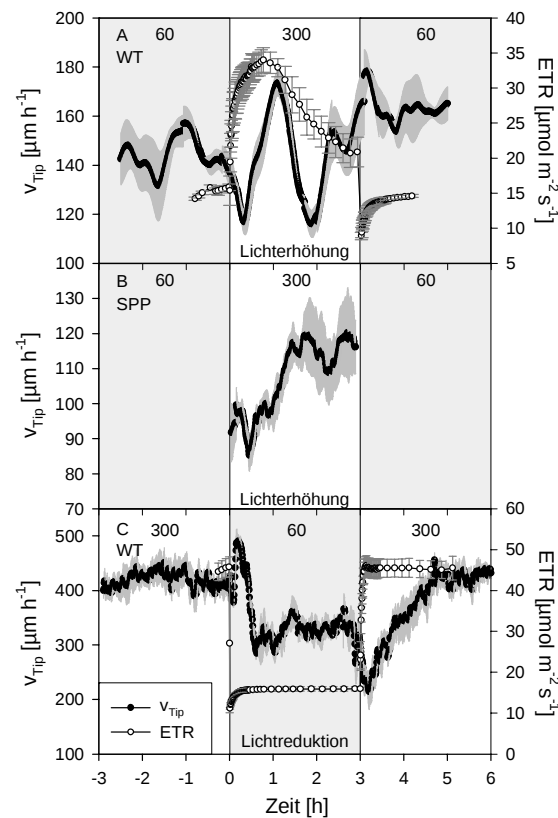


Abb. 3.16 Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze (v_{Tip}) und Elektronentransportrate des Photosystems II (ETR) (*N. tabacum*, Spross außerhalb der Petrischale). A) Wildtyp (WT, Lichterhöhung) und B) transgene Pflanzen (SPP), die bei $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogen worden waren, wurden 3 Stunden (0-3 h) $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ausgesetzt. C) Wildtyp (WT, Lichtreduktion) Pflanzen, die dagegen bei $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogen worden waren, wurden 3 Stunden (0-3 h) $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ausgesetzt (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=4$).

Die **effektive Quanteneffizienz** des Photosystems II ($\Delta F/F_m'$) fiel nach Lichterhöhung innerhalb von Sekunden auf ungefähr ein Sechstel des anfänglichen Wertes ab und zeigte in den folgenden drei Stunden jedoch einen vergleichbaren Verlauf wie die ETR mit einem Anstieg innerhalb der ersten Stunden nach Lichtmodifikation und einer anschließenden Reduktion (Abb. 3.17 A). Im Lichtreduktions-Versuch stieg $\Delta F/F_m'$ unmittelbar nach Änderung der Lichtintensität um 70 % und blieb die folgenden drei Stunden konstant (Abb. 3.17 B).

Die **nicht-photosynthetische Energielöschung** (NPQ) stieg nach Erhöhung der Lichtintensität bei Niedrig-Licht-akklimatisierten Pflanzen zunächst in der ersten Stunde rasch und in den folgenden zwei Stunden allmählich an und erreichte nach drei Stunden einen Wert von fast vier (Abb. 3.17 A). Im Lichtreduktions-Versuch dagegen nahm NPQ

bei Hoch-Licht-angepassten Pflanzen in den ersten Minuten schnell und anschließend langsamer bis auf 0,3 nach drei Stunden ab. Nach erneuter Licherhöhung stieg NPQ wieder und erreichte nach zwei Stunden einen Wert von ungefähr 1,5 (Abb. 3.17 B).

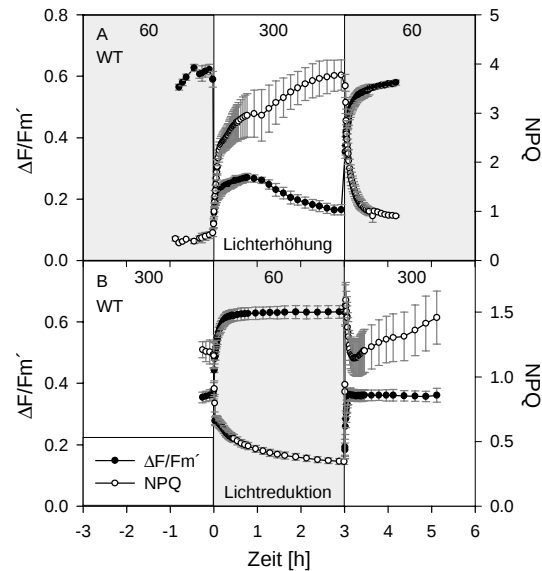


Abb. 3.17 Effektive Quanteneffizienz ($\Delta F/F_m'$) und nicht-photochemische Energielöschung (NPQ) des Photosystems II (*N. tabacum*, Spross außerhalb der Petrischale). A) Wildtyp (WT, Lichterhöhung) Pflanzen, die bei 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogen worden waren, wurden 3 Stunden (0-3 h) 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ausgesetzt. B) Wildtyp (WT, Lichtreduktion) Pflanzen, die dagegen bei 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogen worden waren, wurden 3 Stunden (0-3 h) 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ausgesetzt (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=4$).

Lichtmodifikationen von 60 auf 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ führten zu charakteristischen Reaktionen der Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze. Dabei schien jedoch in den ersten drei Stunden nach Lichterhöhung die Länge der Wachstumszone nicht signifikant beeinflusst zu werden. Dies konnte sowohl für den Wildtyp als auch für die transgenen Pflanzen gezeigt werden (Abb. 3.18).

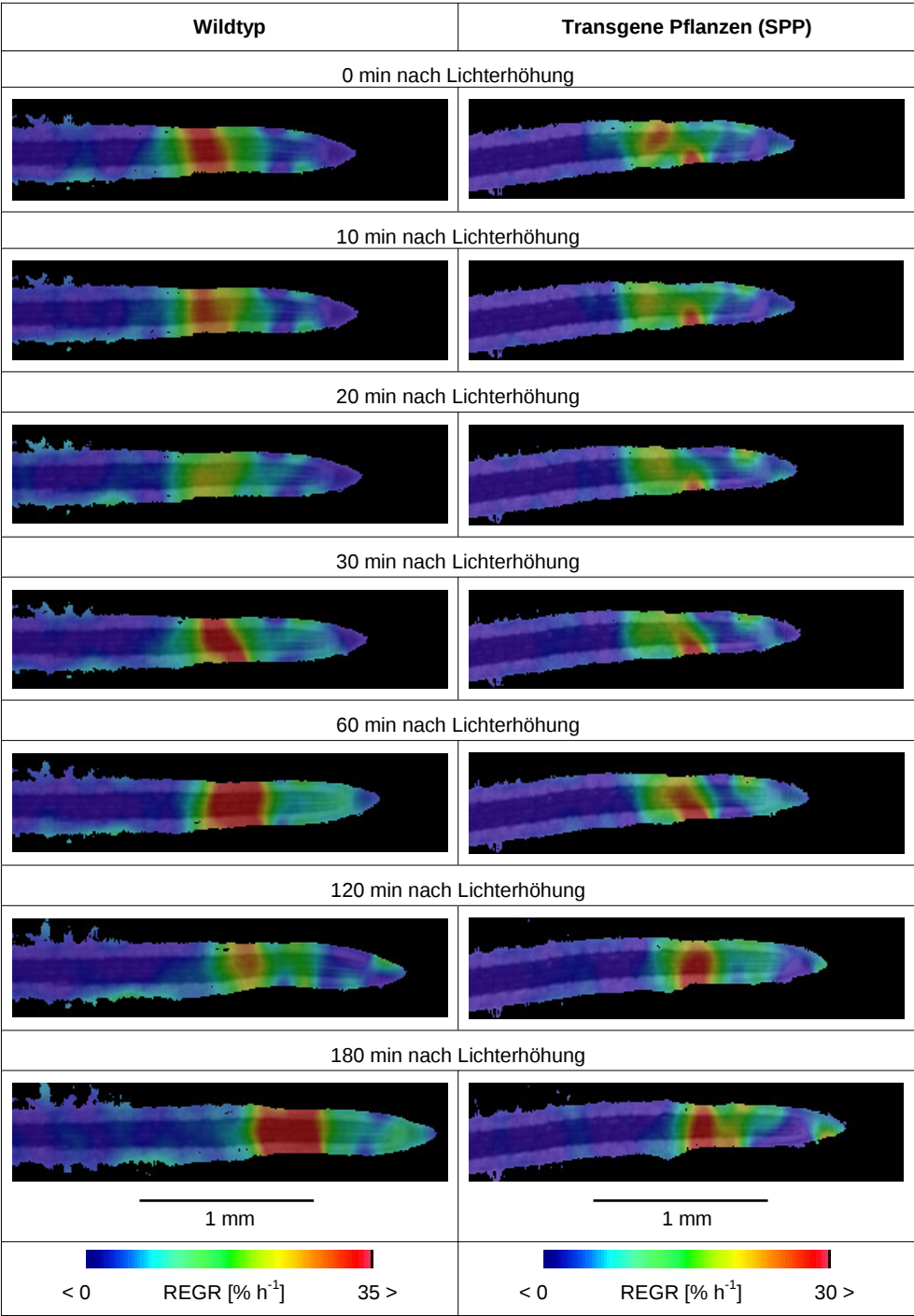


Abb. 3.18 Farbcodierte Darstellung der REGR-Verteilungen als Overlay auf den Originalwurzelbildern während der Erhöhung der Lichtintensität von 60 auf 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ bei einer typischen Wildtyp- und transgenen Pflanze von *N. tabacum*, die bei konstanten Lichtbedingungen (60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) angezogen wurden.

Zusammenfassung: Kurzfristige Effekte der Lichtintensität auf Wachstum und Photosynthese

Analysen der ersten Stunden nach Lichtmodifikation zeigten, dass zwei Phasen der schnellen Anpassung des Wurzelwachstums an die Lichtbedingungen existieren: die ersten 30 Minuten und die folgenden 2,5 Stunden. Während der ersten 30 Minuten kam es nach der Erhöhung der Lichtintensität von 60 auf 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ zu einer transienten Abnahme der Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze, nach Reduktion von 300 auf 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ dagegen zu einer transienten Zunahme. Während der folgenden 2,5 Stunden zeigten die Wildtyp-Pflanzen nach Lichterhöhung charakteristische sinusförmige Wachstumsschwankungen, die in transgenen Pflanzen jedoch fehlten. Nach Lichtreduktion wurde eine relativ konstante Wachstumsgeschwindigkeit gemessen. Die Wachstumsschwankungen im Licherhöhungsversuch (im Besonderen von 0,5 bis 2 Stunden nach der Lichtänderung), sowie das konstante Wachstum im Lichtreduktionsversuch schienen mit der gemessenen Elektronentransportrate des Photosystems II zu korrelieren.

3.3 Einfluss der Lichtintensität auf die Nährstoff-Aufnahme

Eine Erhöhung der Lichtintensität von 60 auf 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ führte zu einer signifikanten Zunahme insbesondere des Wurzelwachstums. Dies konnte sowohl für die Primärwurzel gezeigt werden als auch für den Biomasse-Zuwachs des gesamten Wurzelsystems. Dies ermöglicht Pflanzen, ein größeres Bodenareal zu durchwachsen. Es stellte sich die Frage, ob die Pflanzen unter höheren Lichtbedingungen aufgrund ihres gesteigerten Wachstums und somit einer eventuell verbesserten Möglichkeit an weiter entfernt gelegene Nährstoffquellen zu gelangen, auch einen Vorteil unter Nährstoff-Mangel-Bedingungen aufweisen könnten. Im Folgenden wird deshalb der Einfluss der Lichtintensität auf das Wurzelwachstum (Abschnitt 3.3.1) und den Kohlenhydrat-Metabolismus (Abschnitt 3.3.2) bei variierenden Nährstoff-Konzentrationen untersucht.

3.3.1 Einfluss auf das Wachstum

Unter **konstant niedrigen Lichtintensitäten** (60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) bildeten die Pflanzen umso **mehr Seitenwurzeln je niedriger die Nährstoff-Konzentration** war, wobei Stickstoff-

Konzentrationen von 1, 2,5, 5 und 10 mM eingestellt wurden (Abb. 3.19 A). Dieser Trend zeichnete sich bereits 25 Tage nach der Keimung ab und wurde bis zum Ende der Messung (Tag 39) noch größer. Der Effekt zeigte sich ebenfalls in der Wachstumsgeschwindigkeit der Primärwurzel (Abb. 3.19 B): In den ersten Tagen nach der Aussaat wuchsen die Wurzeln unter 2,5, 5 und 10 mM mit vergleichbarer Geschwindigkeit und unter 1 mM sogar etwas langsamer. Nach ungefähr 27 Tagen nahm das Wachstum unter niedrigen Nährstoff-Konzentrationen (1 und 2,5 mM) deutlich zu; unter höheren Bedingungen (5 und 10 mM) dagegen ab. 5,5 Wochen nach der Keimung wuchsen die Keimwurzeln unter 1 mM Nährstoff-Konzentration schließlich achtmal schneller als unter 10 mM.

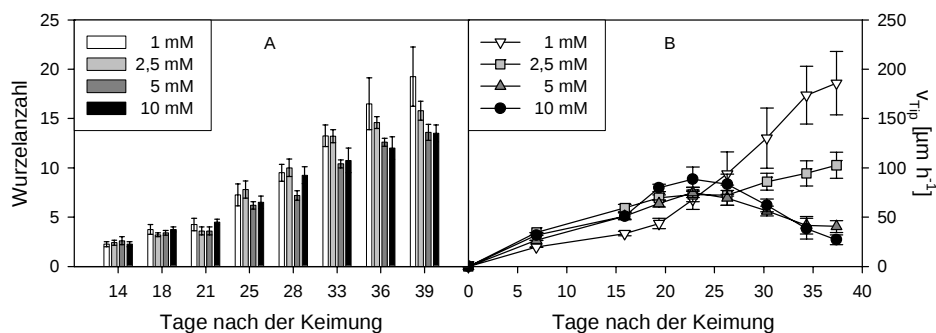


Abb. 3.19 Wurzelanzahl (A) und Wachstumsgeschwindigkeit der Primärwurzel (B) unter 1, 2,5, 5 und 10 mM Ingestad-Nährlösung (*N. tabacum*, Spross innerhalb der Petrischale). Die Pflanzen wurden bei konstanten Lichtbedingungen ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=5$).

Unter **konstanten Hoch-Licht-Bedingungen** ($300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) bildeten die Keimlinge bereits 21 Tage nach der Keimung unter 1 mM eine größere Anzahl an Lateralwurzeln als unter 10 mM Ingestad-Nährstoff-Konzentration (Abb. 3.20 A). Im Gegensatz dazu wurde zu diesem Zeitpunkt unter niedrigeren Lichtbedingungen noch eine vergleichbare Wurzelanzahl unter beiden Nährstoff-Konzentrationen erreicht. Ebenso konnten die Primärwurzeln unter höheren Lichtintensitäten schon ab Tag 16 bei Nährstoff-Mangel (1 mM) ein schnelleres Wachstum erreichen als bei hoher Nährstoff-Verfügbarkeit. Unter Niedrig-Licht wurde dies erst zehn Tage später möglich (Abb. 3.19 B und Abb. 3.20 B).

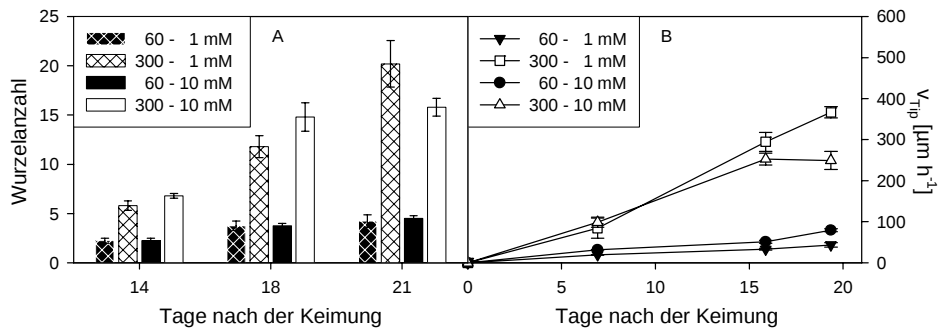


Abb. 3.20 Wurzelanzahl (A) und Wachstumsgeschwindigkeit der Primärwurzel (B) unter 1 und 10 mM Ingestad-Nährlösung (*N. tabacum*, Spross innerhalb der Petrischale). Die Pflanzen wurden bei konstanten Lichtbedingungen (60 bzw. 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=4-5$).

3.3.2 Einfluss auf den Kohlenhydrat-Metabolismus

Unter niedrigen Lichtintensität (60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) konnten sowohl im Spross als auch im Wurzelsystem in 1 bzw. 10 mM Ingestad-Nährstoff-Konzentration vergleichbare **Glukose-Konzentrationen** gemessen werden, die wesentlich niedriger lagen als unter Hoch-Licht (Abb. 3.21). Wurden die Pflanzen dagegen unter konstant Hoch-Licht (300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) angezogen, waren die Zucker-Konzentrationen unter 1 mM höher als unter 10 mM. Dies konnte sowohl für die Zucker-Konzentrationen im Spross als auch in den Wurzeln nachgewiesen werden.

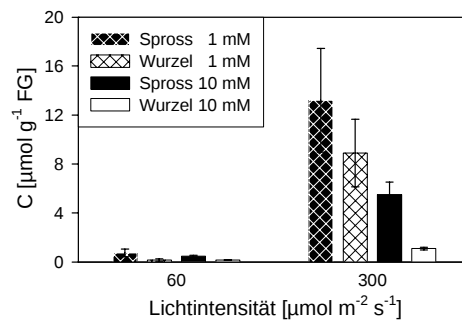


Abb. 3.21 Glukose-Konzentration in Wurzel und Spross in 1 bzw. 10 mM Ingestad-Nährlösung (*N. tabacum*, Spross innerhalb der Petrischale). Die Pflanzen wurden 18 Tage bei konstanten Lichtbedingungen (60 bzw. 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=5$).

Unter 1 mM Stickstoff-Konzentration nahmen die **Wurzel/Spross-Verhältnisse der Glukose- und Fruktose-Gehalte** zeitlich gesehen von Tag 14 auf Tag 18 nach der

Keimung unter Niedrig- und Hoch-Licht-Bedingungen zu, das Wurzel/Spross-Verhältnis der Saccharose-Konzentrationen dagegen ab (Abb. 3.22 A, B). Dabei waren sowohl die Hexose-Gehalte in Wurzeln als auch im Spross am Tag 18 erhöht, die Saccharose-Gehalte dagegen reduziert.

Unter **10 mM** Stickstoffbedingungen blieben die Zucker-Konzentrationen (Glukose, Fruktose und Saccharose) im Wurzelsystem unter beiden konstanten Lichtintensitäten (60 bzw. 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) über die Zeit relativ konstant, bzw. zeigten eine leicht abnehmende Tendenz. Die Kohlenhydrat-Gehalte im Spross dagegen nahmen zu. Folglich konnte unter beiden Lichtbedingungen eine Abnahme des Wurzel/Spross-Verhältnisses von Tag 14 auf 18 beobachtet werden (Abb. 3.22 C, D).

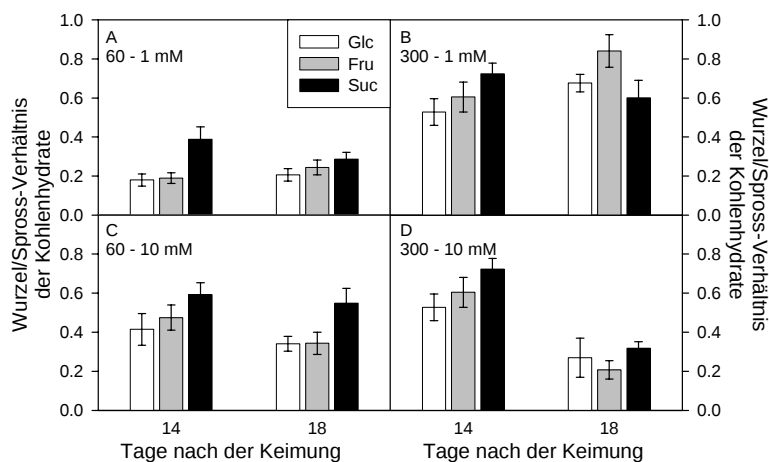


Abb. 3.22 Wurzel/Spross-Verhältnisse der Glukose- (Glc), Fruktose- (Fru) und Saccharose- (Suc) Konzentrationen in 1 bzw. 10 mM Ingestad-Nährlösung (*N. tabacum*, Spross innerhalb der Petrischale). Die Pflanzen wurden entweder 14 oder 18 Tage bei konstanten Lichtbedingungen (60 bzw. 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE, $n=5$).

Zusammenfassung: Einfluss der Lichtintensität auf die Nährstoff-Aufnahme

Tabakkeimlinge, die in 1, 2,5, 5 und 10 mM Stickstoff-Konzentration angezogen wurden, bildeten eine größere Anzahl an Seitenwurzeln und wiesen eine höhere Wachstumsgeschwindigkeit der Primärwurzel auf, je niedriger die Nährstoff-Konzentration war. Dies konnte bei Pflanzen unter konstant hohen Lichtbedingungen 16 Tage nach der Keimung beobachtet werden, unter konstant niedrigen Lichtintensitäten dagegen erst zehn

Tage später. Bei Hoch-Licht angepassten Pflanzen konnten ebenso unter 1 mM Nährstoff-Konzentration höhere Kohlenhydrat-Gehalte als unter 10 mM gemessen werden. Unabhängig von der Lichtintensität nahmen unter 1 mM die Wurzel/Spross-Verhältnisse der Hexose-Gehalte zeitlich gesehen zu, unter 10 mM dagegen ab.

3.4 Einfluss der Lichtintensität auf den Gravitropismus

Unter Nährstoff-Mangel-Bedingungen wiesen Tabakkeimlinge, die unter höheren Lichtbedingungen angezogen wurden, offensichtlich einen Wachstumsvorteil gegenüber Pflanzen unter niedrigen Lichtintensitäten auf (Abschnitt 3.3). Ein natürlicher Boden, durch den Wurzeln wachsen, ist nicht nur von nährstoffärmeren und -reicheren Regionen gekennzeichnet, sondern auch von einer Heterogenität des Substrates. Da das Wachstum in natürlichen Böden immer durch Substratpartikel erschwert wird, ist ständig die Notwendigkeit zur gravitropen Reaktion der Wurzeln gegeben. Im folgenden Kapitel soll die Frage beleuchtet werden, ob Wurzeln nach Lichterhöhung auch unter optimaler Nährstoff-Versorgung einen Vorteil aufweisen, wenn sie um Hindernisse im Boden herum wachsen. Die kurzzeitig veränderten gravitropen Reize, welchen die Pflanzen dabei ausgesetzt sind, wurden untersucht, indem die Pflanzen um 90° gedreht wurden. Um den der Krümmungsreaktion zugrunde liegenden Mechanismus aufklären zu können, ist es zwingend notwendig, das Krümmungsverhalten der Wurzeln räumlich und zeitlich hoch aufgelöst zu analysieren. Hierzu wurde im Rahmen dieser Arbeit eine neue Technik etabliert, mit der zunächst Wurzelwachstum und Krümmungsproduktion nach Rotation der Pflanzen um 90° anhand zweier *A. thaliana* Mutanten charakterisiert wurde. Zum einen wurde eine *pin3*-Mutante untersucht, die eine Hemmung des lateralen Auxin-Transportes aufweist (Abschnitt 3.4.1) und zum anderen eine *DELLA*-Mutante, bei der durch Fehlen von vier *DELLA*-Proteinen die durch Auxin vermittelte Hemmung der Zellstreckung unterbunden wird (Abschnitt 3.4.2). Anschließend wurde der Einfluss der Lichtintensität auf das differentielle Wachstum nach Änderung des gravitropen Reizes bei *N. tabacum* analysiert (Abschnitt 3.4.3).

3.4.1 Hemmung des lateralen Auxin-Transportes: *pin3*-Mutante

***pin3*-Mutanten**, die eine Hemmung des lateralen Auxin-Transportes aufweisen, wuchsen im Vergleich zum Wildtyp (*A. thaliana* Ökotyp Columbia) neun Tage nach der Keimung mit

reduzierter Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze. So erreichten die Wurzeln der Mutanten im Zeitraum von vier Stunden vor dem Setzen des gravitropen Impulses nur eine durchschnittliche Geschwindigkeit von ungefähr $60 \mu\text{m h}^{-1}$, Wildtyp-Wurzeln dagegen $100 \mu\text{m h}^{-1}$. Das Drehen der Pflanzen um 90° hatte anscheinend einen unmittelbaren starken Einbruch von v_{Tip} sowohl des Wildtyps als auch der Mutanten zur Folge. Diese Reaktion in den ersten fünf Minuten nach der Rotation konnte aus technischen Gründen nicht verfolgt werden. Die Wachstumsgeschwindigkeiten beider Pflanzenlinien nahmen in der ersten Stunde weiter ab, blieben in der zweiten etwa konstant und erreichten ungefähr 80 Minuten nach Beginn der Reaktion ein Minimum, indem die Pflanzen nur noch 40 % der jeweiligen Geschwindigkeit vor der Umorientierung um 90° aufwiesen (Abb. 3.23). Während der folgenden 2,5 Stunden nahm das Wurzelwachstum wieder zu; die Steigerung verlief allerdings in *pin3*-Mutanten langsamer als in Wildtyp-Wurzeln.

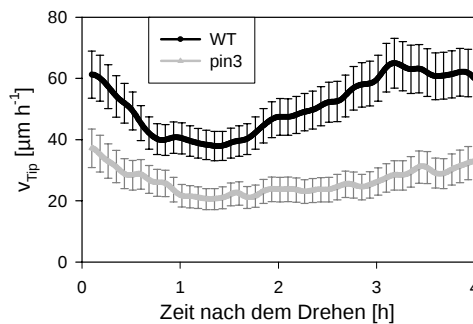


Abb. 3.23 Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze nach dem Drehen um 90° – Vergleich *A. thaliana* Ökotyp Columbia Wildtyp (WT) und *pin3*-Mutanten (Mittelwerte $\pm$ SE für jeden 10. Datenpunkt dargestellt, Wildtyp $n=6$, *pin3* $n=5$).

Analysen der Kinetik des Krümmungswinkels nach der Rotation der Pflanzen um 90° zeigten, dass sich ***pin3*-Wurzeln signifikant langsamer krümmen als Wildtyp-Wurzeln** (Abb. 3.24 A). Während sich Wildtyp-Wurzeln innerhalb der ersten 3,5 Stunden der Reaktion um 50° krümmten, erreichten *pin3*-Mutanten nur 27° . Die **Winkelgeschwindigkeit**, das heißt die zeitliche Ableitung des Krümmungswinkels (Abb. 3.24 B), gibt Informationen über die Krümmungsrate der Wurzeln. Analysen der Winkelgeschwindigkeit machten deutlich, dass sich die Reaktion der **Wildtyp-Wurzeln** aus **vier Phasen** zusammensetzte: **zwei ansteigende Phasen** in der ersten und zweiten Stunde mit einem Maximum ungefähr zwei Stunden nach Umorientierung, gefolgt von **zwei abnehmenden Phasen** ab der dritten und ab der vierten Stunde (Abb. 3.24 B). Der Übergang von der ersten in die zweite Phase stimmte mit dem Wechsel der Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze von schneller zu langsamer Abnahme eine Stunde nach Beginn der Reaktion (Abb. 3.23) überein. Dies suggeriert eine Koordination

zwischen der Krümmung und Wachstumsreduktion. **pin3-Mutanten fehlte dagegen die zweite ansteigende Phase**; stattdessen konnte eine Phase konstanter Winkelgeschwindigkeit gefunden werden (Abb. 3.24 B). Eine leichte Reduktion der Winkelgeschwindigkeit trat erst 3,5 Stunden nach der Rotation der pin3-Mutanten auf, bei Wildtyp-Wurzeln dagegen bereits nach zwei Stunden.

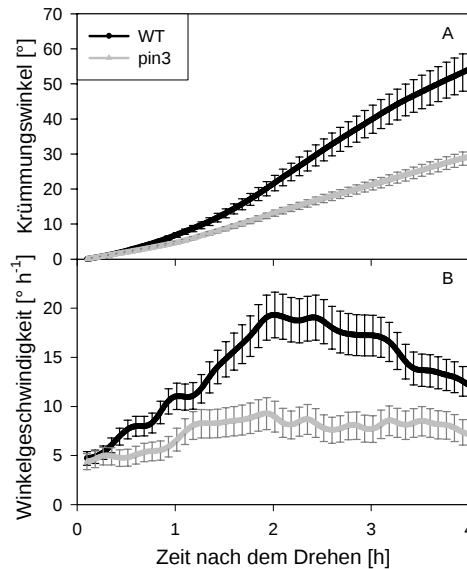


Abb. 3.24 Krümmungswinkel (A) und Winkelgeschwindigkeit (B) nach dem Drehen um 90° – Vergleich *A. thaliana* Ökotyp Columbia Wildtyp (WT) und pin3-Mutanten (Mittelwerte $\pm$ SE für jeden 10. Datenpunkt dargestellt, Wildtyp n=6, pin3 n=5).

Beim Vergleich der **REGR-Verteilungen** zwischen Wildtyp- und pin3-Wurzeln nach der Rotation der Pflanzen um 90° konnte festgestellt werden, dass das Wachstumsmaximum bei **pin3-Mutanten** apikal zum Ruhenden Zentrum verschoben war und die Wachstumszone dieser Pflanzen 25 % kürzer war als die der Wildtyp-Wurzeln (Abb. 3.25 und Abb. 3.26). Zudem wiesen die Mutanten eine **reduzierte Wachstumsintensität** auf. Ähnliche Unterschiede zwischen Wildtyp- und pin3-Wurzeln wurden auch vor der Rotation um 90° gefunden. Das Drehen um 90° hatte sowohl bei Wildtyp- als auch bei pin3-Wurzeln ähnliche Effekte auf die REGR-Verteilung. Zum einen kam es nach der Rotation zu einer signifikanten Reduktion der maximalen relativen Element-Wuchsrates, beim Wildtyp von 33 auf 25 % h⁻¹ und bei pin3 von 28 auf 17 % h⁻¹. Zum anderen war die Umorientierung mit einer apikalen Verschiebung des Wachstumsmaximums gekoppelt, das heißt, das Maximum wurde beim Wildtyp um 27 μ m und bei pin3 um 15 μ m zum Ruhenden Zentrum verschoben.

Sowohl beim Wildtyp als auch bei *pin3*-Mutanten nahm die **Krümmungsproduktionsrate** (DGCR, *Differential Growth Curvature Rate*) innerhalb der ersten 120 μm basal vom Ruhenden Zentrum zu (Abb. 3.25). Während die Wildtyp-Wurzeln zwischen 120 und 270 μm hinter dem Ruhenden Zentrum eine mehr oder weniger konstante Intensität der DGCR von $60^\circ \text{ mm}^{-1} \text{ h}^{-1}$ aufrecht erhalten konnten, nahm die Intensität bei *pin3*-Pflanzen bis zum Ende der Wachstumszone von 50 auf $0^\circ \text{ mm}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ab. Ab einer Entfernung von 200 bis 400 μm zum Ruhenden Zentrum konnten so signifikante Unterschiede zwischen Wildtyp- und *pin3*-Wurzeln gefunden werden. Der Vergleich der Krümmungsproduktionsrate und des Wachstums zeigte, dass in beiden Pflanzenlinien die primäre Krümmung apikal von Wachstumsmaximum stattfand.

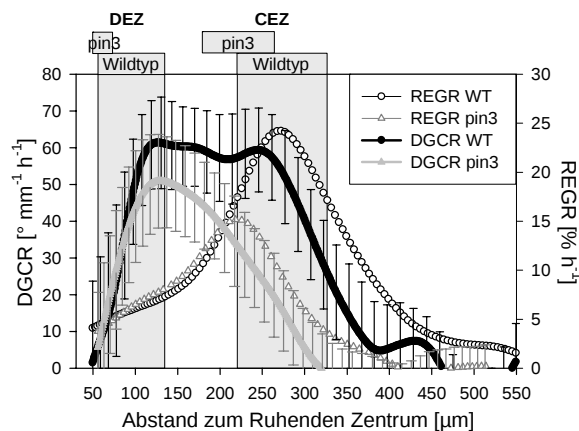


Abb. 3.25 Räumliche Verteilungen der Krümmungsproduktionsrate (DGCR) und der relativen Elementwuchsrates (REGR) entlang der Wachstumszone gemittelt über die ersten vier Stunden nach dem Drehen um 90° – Vergleich *A. thaliana* Ökotyp Columbia Wildtyp (WT) und *pin3*-Mutanten (Mittelwerte $\pm$ SE für jeden 10. Datenpunkt dargestellt, Wildtyp $n=6$, *pin3* $n=5$).

Eine räumliche und zeitliche Darstellung der DGCR (Abb. 3.26) zeigte, dass die Länge der Krümmungszone und die Position der maximalen DGCR mit der Zeit variierten. Während der ersten Stunde nach Rotation der Wildtyp-Pflanzen um 90° dehnte sich die Zone der Krümmungsproduktion basal aus und blieb bis drei Stunden nach dem Drehen relativ konstant (mit einer Zonenlänge von 100 bis 300 μm hinter dem Ruhenden Zentrum der Wurzelspitze). Nach drei Stunden nahm die Intensität der DGCR apikal wieder ab. Diese Ergebnisse könnten auf **zwei räumlich getrennte Krümmungszonen** hindeuten: die erste von 100 bis 200 μm und die zweite von 200 bis 300 μm hinter dem Ruhenden Zentrum. *pin3*-Wurzeln zeigten dagegen eine stark abweichende räumliche und zeitliche Verteilung der Krümmungsproduktion.

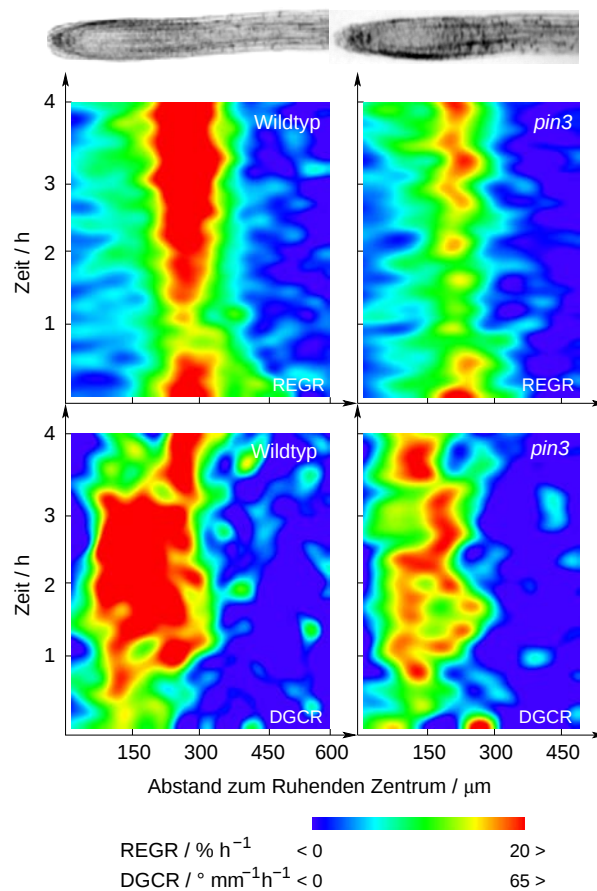


Abb. 3.26 Farbcodierte Darstellungen der räumlich-zeitlichen Verteilungen der relativen Element-Wachstumsrate (REGR) und Krümmungsproduktionsrate (DGCR) von *A. thaliana* Ökotyp Columbia Wildtyp (WT) und *pin3*-Mutante während der gravitropen Reaktion gemittelt über die ersten vier Stunden nach dem Drehen um 90° . Die Intensitäten von REGR und DGCR wurden als Änderungen der Farben dargestellt. Die Standardfehler für Wildtyp: REGR = $1,6 \text{ \% h}^{-1}$, DGCR = $12^{\circ} \text{ mm}^{-1} \text{ h}^{-1}$ und für *pin3*: REGR = $1,5 \text{ \% h}^{-1}$, DGCR = $10^{\circ} \text{ mm}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Mittelwerte, Wildtyp $n=6$, *pin3* $n=5$).

Die **Krümmung der Wurzeln** nach der Rotation der Pflanzen um 90° wurde durch **differentielles Wachstum zwischen beiden Seiten der Wurzeln** ermöglicht. Dies zeigt anschaulich die farbcodierte Darstellung der gemittelten REGR-Verteilungen entlang der Wachstumszone (Abb. 3.27). Während der ersten Stunde war die **Wachstumsasymmetrie** zwischen der oberen und unteren Wurzelflanke in Wildtyp- und *pin3*-Wurzeln vergleichbar. Diese Asymmetrie war besonders deutlich in der Region apikal vom Wachstumsmaximum ausgeprägt. Von der ersten bis zur dritten Stunde nahm die Wachstumsintensität der Wildtyp-Wurzeln ab, und es bildete sich eine starke Asymmetrie zwischen beiden Wurzelflanken aus, die zu einer vermehrten Krümmungsproduktion führte. Das differentielle Wachstum ermöglichte auch, dass sich *pin3*-Wurzeln krümmten,

aber die Abnahme der relativen Element-Wuchsrates und die Wachstumsasymmetrie waren wesentlich schwächer ausgeprägt als in Wildtyp-Wurzeln. Von der dritten bis zur fünften Stunde konnte in beiden Pflanzenlinien wieder eine Steigerung des Wachstums festgestellt werden, die mit einer Reduktion der Asymmetrie gekoppelt war.

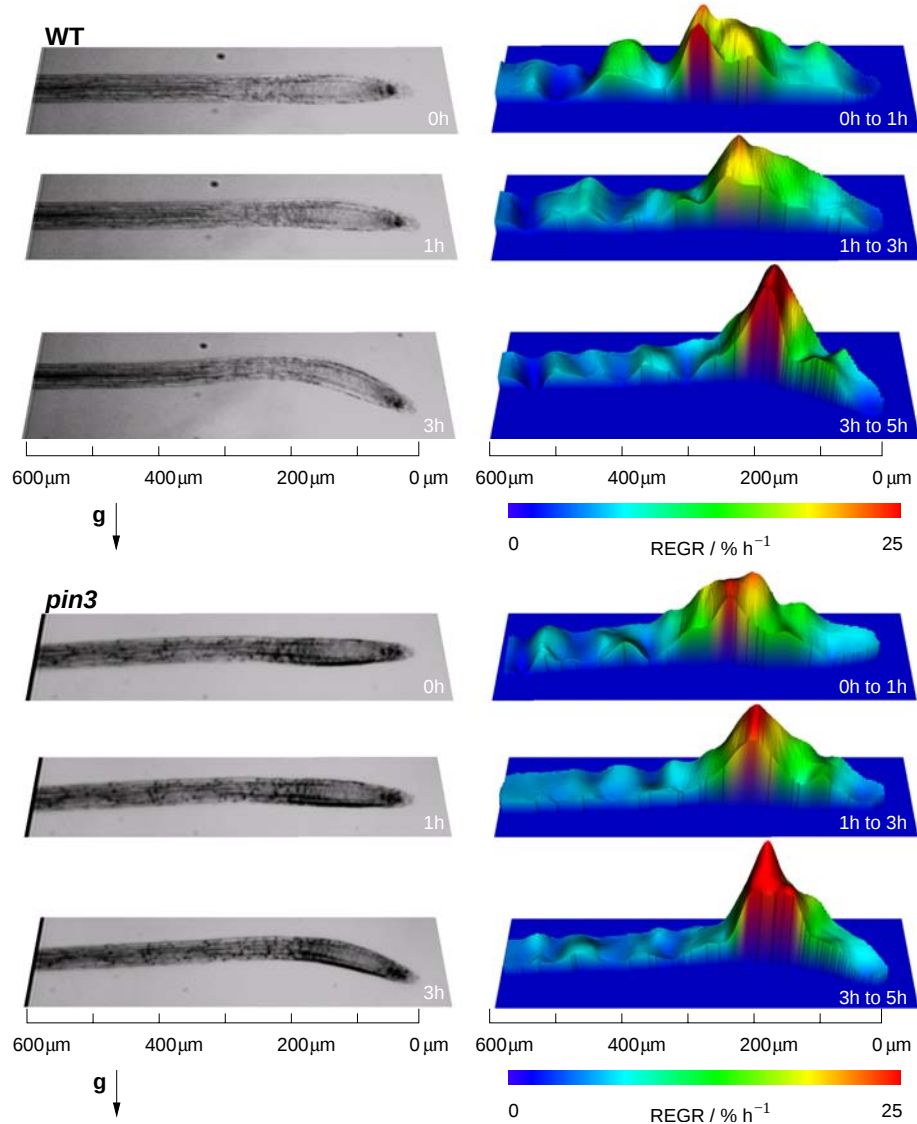


Abb. 3.27 Originalbilder (links) und farbcodierte Darstellungen der REGR-Verteilungen entlang der Wachstumszonen (rechts) von ausgewählten *A. thaliana* Ökotyp Columbia Wildtyp (WT) und *pin3*-Mutanten während der gravitropen Reaktion (nach Drehen um 90°); gemittelt wurde über die erste Stunde, von der ersten bis zur dritten Stunde und von der dritten bis zur fünften Stunde. Die Mittelwerte wurden auf die Originalbilder (zum Zeitpunkt $t = 0, 1$ bzw. 3 h), die auf der linken Seite zu sehen sind, projiziert. Das Wachstum wurde dabei durch Farbe und Höhe der Fläche dargestellt. Differentielles Wachstum zwischen beiden Seiten der Wurzel löst Krümmung aus; je größer die Asymmetrie, desto stärker ist die Krümmung.

Die dargestellte vom Wildtyp abweichende gravitropische Antwort der *pin3*-Wurzeln war keine Konsequenz der geringeren Wachstumsgeschwindigkeit. Dies konnte gezeigt werden, indem Wildtyp- und *pin3*-Wurzeln mit ähnlicher v_{Tip} selektiert und analysiert wurden. Bei diesen ausgesuchten Wurzeln konnten vergleichbare räumliche und zeitliche Reduktionen der Krümmung wie bei den oben dargestellten Ergebnissen (Abb. 3.24, 3.25 und 3.26) festgestellt werden.

3.4.2 Beeinflussung der Zellstreckung: DELLA-Mutante

Eine propagierte Hypothese der gravitropen Antwort von Wurzeln geht von einer durch den lateralen Auxin-Transport ausgelösten Akkumulation von Auxin auf der Unterseite der Wurzeln aus. Diese Auxin-Anhäufung könnte über die so genannten DELLA-Proteine zur verstärkten Hemmung der Zellstreckung auf der unteren Flanke und somit zur Krümmung der Wurzeln führen. Untersucht wurde in Rahmen dieser Arbeit aus diesem Grund eine Mutante, der vier DELLA-Proteine fehlen. Mit dem Ziel beim Vergleich von *A. thaliana* Ökotyp Landsberg *erecta* Wildtyp und Mutante einen möglichen Einfluss unterschiedlicher **Wachstumsgeschwindigkeiten** auszuschließen, wurden ungefähr sieben Tage nach der Keimung Wurzeln mit vergleichbarer Geschwindigkeit selektiert. Innerhalb der ersten Stunde nach dem Drehen um 90° konnte eine vergleichbare Abnahme des Wurzelwachstums wie beim Ökotyp Columbia festgestellt werden (Abb. 3.23 und Abb. 3.28). In den folgenden Stunden unterschied sich das Wachstum beider Ökotypen jedoch, so dass beim Ökotyp Landsberg *erecta* keine Steigerung von v_{Tip} beobachtet werden konnte. Stattdessen blieb die Wachstumsgeschwindigkeit der DELLA-Mutante relativ konstant, beim Wildtyp kam es sogar zu einer kontinuierlichen Reduktion (Abb. 3.28).

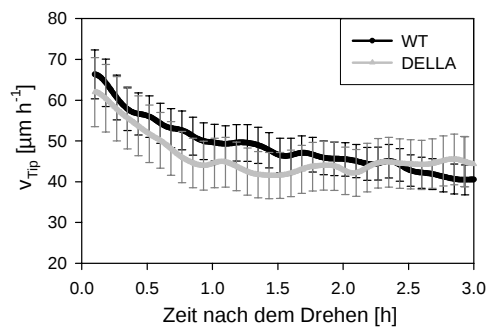


Abb. 3.28 Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze nach dem Drehen um 90° – Vergleich *A. thaliana* Ökotyp Landsberg *erecta* Wildtyp (WT) und DELLA-Mutanten (Mittelwerte $\pm$ SE für jeden 10. Datenpunkt dargestellt, Wildtyp $n=9$, DELLA $n=7$).

Trotz der vergleichbaren Wachstumsgeschwindigkeit von Wildtyp und DELLA-Mutante **krümmten sich** die Wurzeln der **Mutanten signifikant langsamer** und erreichten drei Stunden nach Rotation nur 60 % des Krümmungswinkels der Wildtyp-Wurzeln (Abb. 3.29 A). Die Analyse der zeitlichen Entwicklung der **Winkelgeschwindigkeit** zeigte, dass sich die Reaktion des **Wildtyps** beim Ökotyp Landsberg *erecta* wie beim Wildtyp des Ökotyps Columbia aus **vier Phasen** zusammensetzte (Abb. 3.24 B und Abb. 3.29 B). Nach dem Drehen kam es beim Ökotyp Landsberg *erecta* anfänglich zu zwei ansteigenden Phasen von ca. 30 bzw. 40 Minuten Dauer. Anschließend folgte eine Phase konstanter Winkelgeschwindigkeit, die wie beim Ökotyp Columbia Wildtyp zwei Stunden nach der Rotation in eine abnehmende Phase überging. Bei **DELLA-Mutanten** konnten dagegen **nur zwei Phasen** in der Kinetik der Winkelgeschwindigkeit festgestellt werden: Eine der Kinetik des Wildtyps entsprechende anfängliche Phase von 30 Minuten und eine zweite ansteigende Phase, die bis zum Ende der Messzeit, drei Stunden nach der Rotation, anhielt (Abb. 3.29 B).

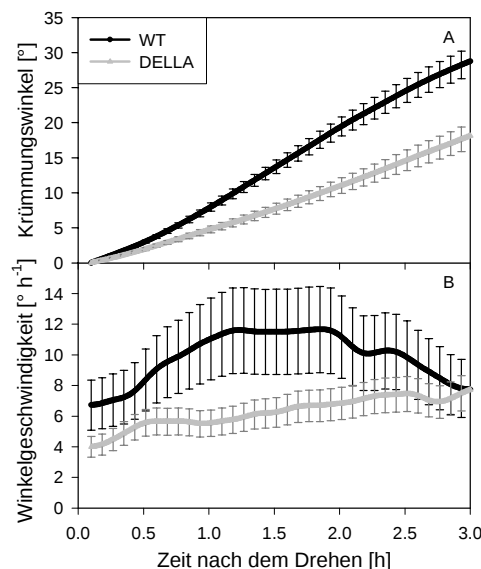


Abb. 3.29 Krümmungswinkel (A) und Winkelgeschwindigkeit (B) nach dem Drehen um 90° – Vergleich *A. thaliana* Ökotyp Landsberg *erecta* Wildtyp (WT) und DELLA-Mutanten (Mittelwerte $\pm$ SE für jeden 10. Datenpunkt dargestellt, Wildtyp $n=9$, DELLA $n=7$).

Aufgrund der Selektion der Pflanzen nach ähnlichem Wurzelwachstum konnten beim Vergleich der **REG-Verteilungen** entlang der Wurzelspitze keine signifikanten Unterschiede zwischen Wildtyp und DELLA-Mutanten gefunden werden (Abb. 3.30). Auch beim Vergleich der **Krümmungsproduktionsrate** beider Pflanzenlinien konnten keine statistisch signifikanten Abweichungen gemessen werden. Allerdings zeigte sich

tendenziell, dass das Maximum der DGCR bei der Mutanten in Richtung Ruhendem Zentrum verschoben war und im Mittel niedriger ausfiel. So erreichten die DELLA-Wurzeln nur eine Krümmungsproduktionsrate von ca. $40^{\circ} \text{ mm}^{-1} \text{ h}^{-1}$, gegenüber einer maximalen Intensität von ungefähr $55^{\circ} \text{ mm}^{-1} \text{ h}^{-1}$ beim Wildtyp. Wie auch beim Ökotyp Columbia erfolgt die primäre Krümmungsproduktion beim Ökotyp Landsberg *erecta* sowohl bei Wildtyp als auch DELLA-Mutanten apikal vom Wachstumsmaximum (Abb. 3.25 und Abb. 3.30).

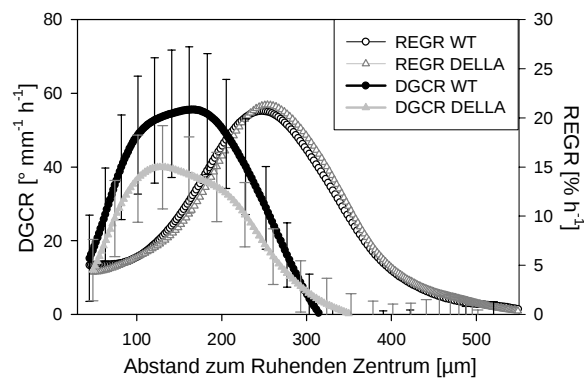


Abb. 3.30 Räumliche Verteilungen der Krümmungsproduktionsrate (DGCR) und der relativen Element-Wuchsrate (REGR) entlang der Wachstumszone gemittelt über die ersten drei Stunden nach dem Drehen um 90° – Vergleich *A. thaliana* Ökotyp Landsberg *erecta* Wildtyp (WT) und DELLA-Mutanten (Mittelwerte $\pm$ SE für jeden 10. Datenpunkt dargestellt, Wildtyp $n=9$, DELLA $n=7$).

3.4.3 Gravitropismus bei Tabak

Tabakkeimlinge, die einer Erhöhung der Lichtintensität von 60 auf 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ausgesetzt waren, wuchsen im Vergleich zu Pflanzen unter konstant niedrigen Lichtbedingungen signifikant schneller. Nach der Rotation der Pflanzen um 90° zeigten die Wurzeln ein charakteristisches, **sinusförmiges Wachstums- und Krümmungsmuster** (Abb. 3.31). Unter konstantem Niedrig-Licht erreichten die Wurzeln das erste Minimum - nach der anfänglichen Reduktion von v_{Tip} um 40 % - ungefähr 100 Minuten nach Beginn der Reaktion. Bei Pflanzen, die dagegen sieben Tage vor dem Drehen mit höheren Lichtintensitäten behandelt wurden, war die Abnahme des Wurzelwachstums auf 25 % und eine Dauer von 50 Minuten begrenzt. Die Pflanzen unter höheren Lichtbedingungen wiesen anfänglich einen größeren Krümmungswinkel auf als die Pflanzen unter konstant 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. 1,5 bis 2,5 Stunden nach dem Drehen krümmten sich die Wurzeln unter höheren Lichtintensitäten allerdings signifikant wieder nach oben, das heißt entgegengesetzt der gravitropen Richtung. Die Wurzeln aus geringeren Lichtintensitäten begannen erst 2,5 Stunden nach der Rotation, sich nach oben zu krümmen. Aufgrund dessen erreichten die Wurzeln unter beiden Behandlungen 2,5 Stunden nach dem Drehen vergleichbare Krümmungswinkel von ungefähr 30° (Abb. 3.31 B und Abb. 3.32). Die **Periode dieser sinusförmigen Krümmungsmuster** unterschied sich zwar zwischen den Wurzeln beider Lichtbedingungen, **entsprach** aber interessanterweise ungefähr der **Periodendauer der Circumnutationen** vor dem Drehen, die ca. 3,2 Stunden unter 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ und ca. 2,1 Stunden nach Licherhöhung von 60 auf 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ betrug.

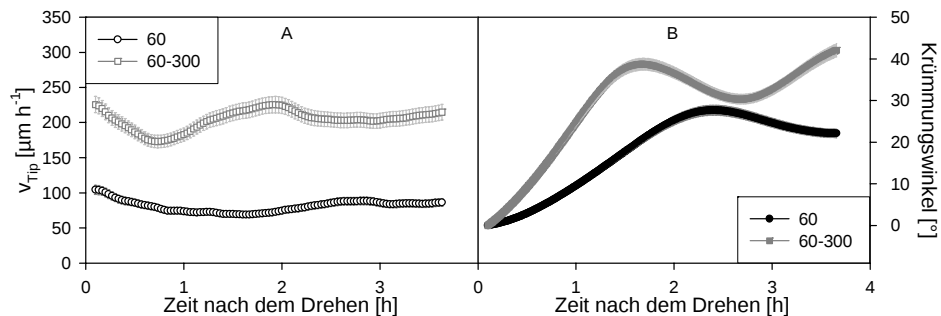


Abb. 3.31 Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze (A) und Krümmungswinkel (B) nach dem Drehen um 90° (*N. tabacum*, Spross innerhalb der Petrischale). Die Pflanzen wurden entweder 21 Tage bei konstanten Lichtbedingungen (60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) oder 14 Tage bei 60 und anschließend 7 Tage bei 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE n=7).

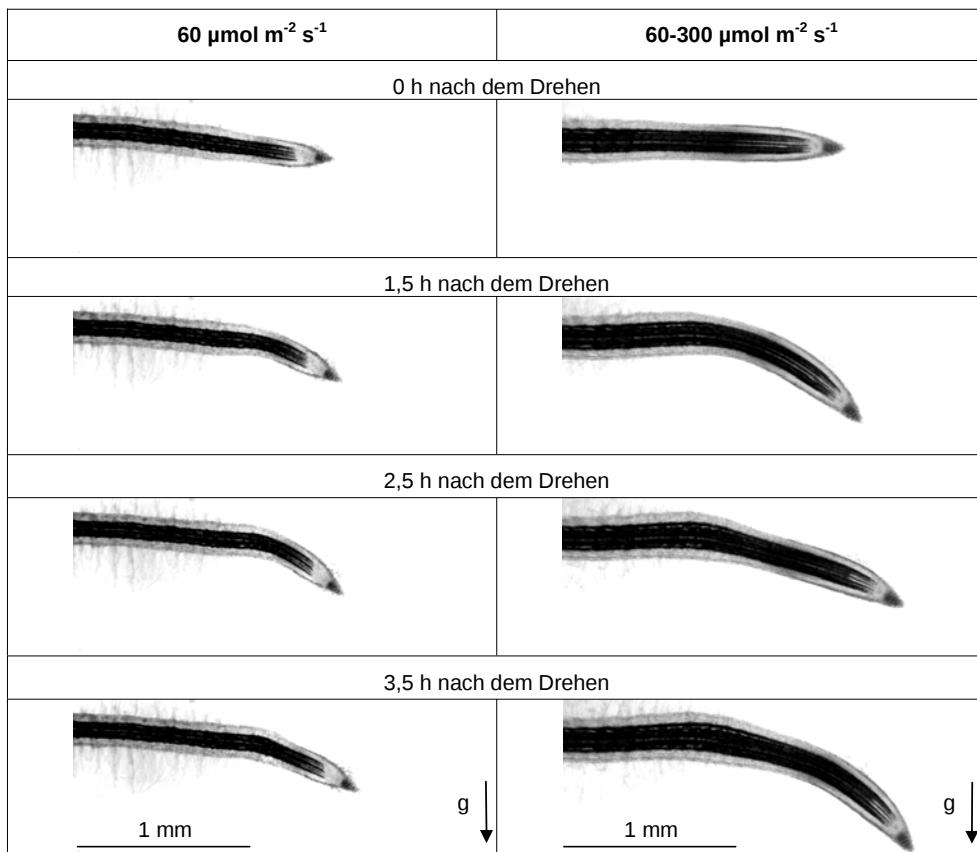


Abb. 3.32 Ausgewählte Originalbilder von Wurzelspitzen nach dem Drehen um 90° (*N. tabacum*, Spross innerhalb der Petrischale). Die Pflanzen wurden entweder 21 Tage bei konstanten Lichtbedingungen ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) oder 14 Tage bei 60 und anschließend 7 Tage bei $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogen.

Beim Vergleich der **Wachstumsgeschwindigkeit** der Wurzelspitze mit der **Winkelgeschwindigkeit** nach dem Drehen um 90° konnte sowohl unter niedrigen als auch unter höheren Lichtbedingungen beobachtet werden, dass Wachstum und Krümmungsrate **antiproportional** verliefen, das heißt, die stärkste Krümmung konnten Wurzeln dann erzielen, wenn das Wachstum ein Minimum aufwies und vice versa (Abb. 3.33).

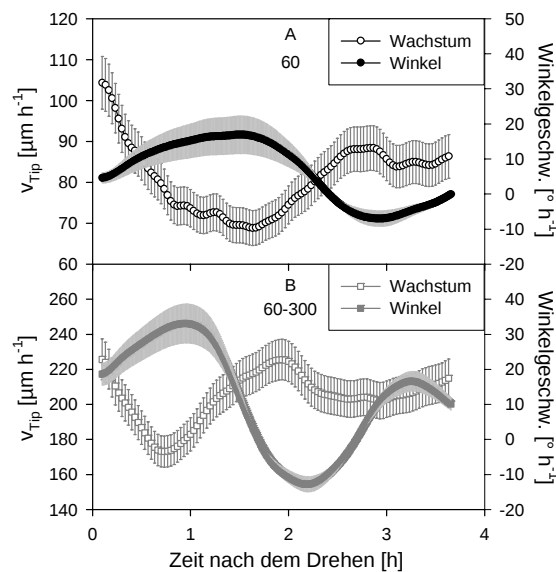


Abb. 3.33 Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze und Winkelgeschwindigkeit nach dem Drehen um 90° (*N. tabacum*, Spross innerhalb der Petrischale). Die Pflanzen wurden entweder 21 Tage bei konstanten Lichtbedingungen ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, A) oder 14 Tage bei 60 und anschließend 7 Tage bei $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (60-300, B) angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE $n=7$).

Nach der Rotation der Pflanzen um 90° kam es - wie dargestellt - zu einer Reduktion des Wurzelwachstums. Dies spiegelte sich auch in einer Abnahme der maximalen **REGR** wieder, wobei Wurzeln unter niedrigen Lichtbedingungen stärker gehemmt wurden als Wurzeln nach Lichterhöhung (Abb. 3.34). Ebenso kam es unter beiden Lichtintensitäten zu einer Verkürzung und apikalen Verschiebung der Wachstumszone, wie bereits bei *A. thaliana* gezeigt. Der Vergleich zwischen den räumlichen Verteilungen der **Krümmungsproduktionsrate** und der relativen Element-Wuchsrates veranschaulichte, dass der Großteil der Krümmungsproduktion - wie bei *A. thaliana* (Abb. 3.25 und Abb. 3.30) - apikal vom jeweiligen Wachstumsmaximum stattfand (Abb. 3.35). Dies konnte für Wurzeln beider Lichtbedingungen dokumentiert werden, wobei die DGCR-Verteilung zwei räumlich getrennte Maxima aufwies. Unter niedrigen Lichtintensitäten wurden in der apikalen und der basalen Krümmungszone vergleichbare Intensitäten der Krümmungsproduktion gemessen. Unter höheren Lichtbedingungen fiel die DGCR dagegen in der apikalen Region geringer aus als in der basalen Zone.

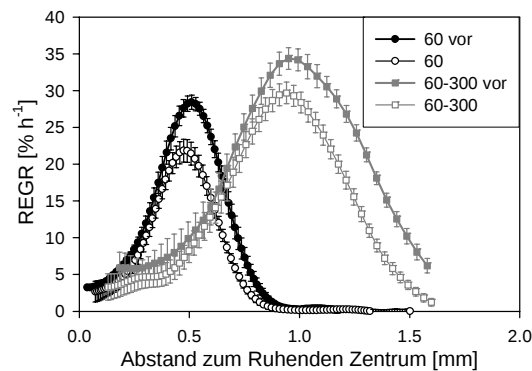


Abb. 3.34 Räumliche Verteilungen der relativen Element-Wuchsrates (REGR) entlang der Wachstumszone gemittelt über 3,6 Stunden vor bzw. nach dem Drehen um 90° (*N. tabacum*, Spross innerhalb der Petrischale). Die Pflanzen wurden entweder 21 Tage bei konstanten Lichtbedingungen ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) oder 14 Tage bei 60 und anschließend 7 Tage bei $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (60-300) angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE $n=7$).

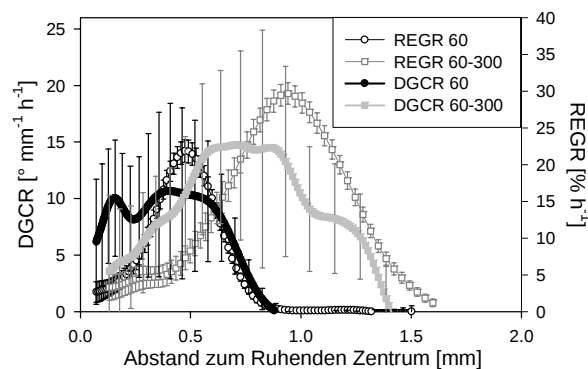


Abb. 3.35 Räumliche Verteilungen der Krümmungsproduktionsrate (DGCR) und der relativen Element-Wuchsrates (REGR) entlang der Wachstumszone gemittelt über die ersten 3,6 Stunden nach dem Drehen um 90° (*N. tabacum*, Spross innerhalb der Petrischale). Die Pflanzen wurden entweder 21 Tage bei konstanten Lichtbedingungen ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) oder 14 Tage bei 60 und anschließend 7 Tage bei $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (60-300) angezogen (Mittelwerte $\pm$ SE bei REGR für jeden Datenpunkt, bei DGCR für jeden 10. Datenpunkt dargestellt, $n=7$).

Zusammenfassung: Einfluss der Lichtintensität auf den Gravitropismus

Nach Rotation der Pflanzen um 90° krümmten sich sowohl *pin3-* als auch *DELLA-* Mutanten signifikant langsamer als die jeweiligen Wildtyp-Wurzeln. Die zeitliche Entwicklung der Winkelgeschwindigkeit wies beim Wildtyp (sowohl beim Ökotyp *Columbia* als auch *Landsberg erecta*) vier charakteristische Phasen auf. Die Mutanten zeigten

dagegen nur zwei Phasen: Eine der Kinetik der Wildtypen entsprechende anfängliche Phase, gefolgt von einer zweiten mit konstanter (pin3) bzw. leicht ansteigender (DELLA) Krümmungsrate. Die Ergebnisse deuteten darauf hin, dass die primäre Krümmungsproduktionsrate bei beiden Pflanzenlinien apikal vom Wachstumsmaximum stattfand und zwei räumlich getrennte Krümmungszonen existieren könnten, wobei die zweite - weiter entfernt vom Ruhenden Zentrum liegende – basale Zone bei beiden Mutanten fehlte. Außerdem konnte aufgezeigt werden, dass die Krümmung der Wurzeln durch eine Wachstumsasymmetrie zwischen der oberen und unteren Wurzelflanke ermöglicht wurde. Diese Asymmetrie war bei pin3-Mutanten wesentlich schwächer ausgeprägt als beim Wildtyp.

Tabakkeimlinge zeigten nach dem Drehen um 90° ein charakteristisches sinusförmiges Wachstums- und Krümmungsmuster, dessen Periode ungefähr der Periodendauer der Circumnutationen vor der Drehung entsprach. Aufgrund dessen erreichten die Wurzeln unter höheren Lichtbedingungen - trotz schnellerem Wurzelwachstum - 2,5 Stunden nach der Rotation vergleichbare Krümmungswinkel wie Wurzeln unter Niedrig-Licht. Unter höheren Lichtintensitäten fand die primäre Krümmungsproduktion in der basalen Krümmungszone statt, unter Niedrig-Licht konnten dagegen vergleichbare DGCR-Intensitäten in beiden Zonen gemessen werden. Zudem konnte unter beiden Lichtbedingungen beobachtet werden, dass Wachstum und Krümmungsrate der Wurzeln antiproportional verliefen, das heißt, die größte Winkelgeschwindigkeit wurde erreicht, wenn das Wachstum ein Minimum aufwies und vice versa.

4 Diskussion

Pflanzen sind in ihrer natürlichen Wachstums Umgebung ständig Fluktuationen biotischer und abiotischer Faktoren ausgesetzt. Eine besondere Rolle spielt dabei die Lichtintensität. Der Einfluss des Lichtes auf Wachstum sowie physiologische Prozesse kann durch andere Umweltparameter, wie der Nährstoff-Verfügbarkeit, modifiziert werden. In der vorliegenden Studie konnte erstmals die Dynamik des Wurzelwachstums nach einer Erhöhung der Lichtintensität am Spross charakterisiert werden. Das räumliche und zeitliche Wachstumsmuster wurde dabei mittels digitaler Bildsequenz-Analyse mit einer Auflösung untersucht, die eine Anknüpfung an biophysikalische, biochemische und molekulare Regulationsprozesse ermöglichte. In diesem Kapitel werden die Mechanismen diskutiert, mit denen das Wurzelwachstum auf lang- und kurzfristige Änderungen der Lichtbedingungen reagieren kann (Abschnitt 4.1 und 4.2). In der Diskussion wird außerdem die Frage erörtert, ob Pflanzen unter höheren Lichtbedingungen aufgrund ihres gesteigerten Wachstums einen Vorteil unter Nährstoff-Mangel-Bedingungen (Abschnitt 4.3) sowie unter veränderten gravitropen Verhältnissen (Abschnitt 4.4) aufweisen.

4.1 Langfristige Effekte der Lichtintensität auf Wachstum und Inhaltsstoffe

Im folgenden Abschnitt werden die langfristigen Effekte auf das Wachstum der gesamten Pflanze sowie der Wachstumsmuster entlang der Wurzelspitze diskutiert und mit Ergebnissen der Literatur verglichen (Abschnitt 4.1.1). Um den Einfluss direkter bzw. indirekter Lichtänderungen auf das Wurzelsystem untersuchen zu können, wurden die Pflanzen so ausgesät, dass der Spross sich außerhalb der Petrischale entfalten konnte, im Gegensatz zu „konventionellen“ Petrischalen-Anzuchten, in denen sich der Spross innerhalb der Schale befindet. Die beobachteten signifikanten Wachstumsunterschiede der Pflanzen in beiden Anzuchtssystemen werden in einem separaten Kapitel (4.1.2) erörtert. Anschließend werden die Regulationsmechanismen und insbesondere die Schlüsselrolle von Saccharose bei der Antwort des Wurzelwachstums auf erhöhte Lichtintensitäten am Spross diskutiert (Abschnitt 4.1.3).

4.1.1 Langfristige Effekte auf das Wachstum

Innerhalb von vier Tagen nach Erhöhung der Lichtintensität von 60 auf 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ erreichten die Pflanzen Wachstumsgeschwindigkeiten und Wuchsraten-Verteilungen, die dem Wachstum der Pflanzen entsprachen, die bei konstant hohen Lichtbedingungen (300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) angezogen wurden (Abb. 3.1 und Abb. 3.2). Dies entspricht den Kinetiken, die in einem Lichtreduktions-Experiment (von 400 auf 80 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) bei Maispflanzen gefunden wurden (Muller et al. 1998). In dieser Studie wurde die Verteilung der REGR während der Lichtänderung verfolgt, indem die Distanzen zwischen acht bis zehn Tusche-Markierungen auf der Wurzeloberfläche in regelmäßigen Zeitabständen vermessen wurden. Durch diese „klassische“ Methode zeigten Muller et al. (1998), dass die Elongationsrate der Primärwurzel vier Tage nach Lichtreduktion stetig abnahm und sich danach auf 60 % der Wuchsrate der Pflanzen bei konstant hohen Lichtbedingungen stabilisierte. Bereits zwei Tage nach Umstellung auf 80 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ war die Zellstreckungszone deutlich verkürzt und nach acht Tagen noch weiter reduziert. Die in der vorliegenden Arbeit mit einer höher auflösenden Methode bei *N. tabacum* gewonnenen Ergebnisse bestätigten die Resultate von Muller et al. (1998) und zeigten zudem, dass eine Licherhöhung von 60 auf 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ hauptsächlich zu einer gleichmäßigen Verstärkung der REGR-Verteilung entlang der Wurzelspitze führte. Der Übergang zwischen den Lichtbedingungen verursachte daher keine Veränderung des Verhältnisses zwischen der Expansionsrate der meristematischen Zone - gekennzeichnet durch niedrige Wuchsraten an der Wurzelspitze - und der Expansionsrate der Zellstreckungszone, die das Wachstumsmaximum einschließt. Dies legt nahe, dass **die gesamte Wachstumszone und somit jede Phase der Zellteilung und Zellstreckung durch die Lichtbehandlung in sehr ähnlicher Weise beeinflusst wurde.**

Um auszuschließen, dass ein Temperaturanstieg nach Lichtänderung die Wachstumssteigerung hervorrufen könnte, wurde die Licherhöhung mittels Kaltlichtquellen realisiert. Ein Anstieg der Lichtintensität von 60 auf 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ hatte eine Erwärmung der Blattoberfläche um weniger als 1 °C zur Folge. Dieser geringe Temperaturanstieg kann den enormen Wachstumseffekt der Wurzeln nicht erklären. Zudem konnte gezeigt werden, dass die **direkte Steigerung der Lichtintensitäten** (von 0 auf 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) **am Wurzelsystem** sogar zu einer **Hemmung des Wurzelwachstums** führte (Abb. 3.3) und nicht zu einer Zunahme, die aufgrund einer Erwärmung zu erwarten wäre (Nagel 2003). Diese Wachstumsreduktion - verbunden mit einer Vergrößerung des Wurzeldurchmessers - könnte darauf hindeuten, dass die Belichtung von Wurzeln störend in die Wachstumsaktivität eingreift. Licht hemmt die

Wuchsrate auch bei einigen anderen Spezies, wie beispielsweise Mais (Pilet & Ney 1978) oder Erbse (Eliasson & Bollmark 1988). In Maiswurzeln konnte gezeigt werden, dass Licht in der Kalyptra perzipiert wird und folglich die Wachstumshemmung nur bei direkter Lichtexposition der Wurzelhaube auftritt, nicht aber bei Lichtexposition der Elongationszone (Pilet & Ney 1978). Diese Lichtabsorption stimuliert beispielsweise die Ethylen-Produktion in Wurzeln und könnte somit zur Hemmung des Wurzelwachstums führen (Eliasson & Bollmark 1988). Ebenso könnte das Licht die Induktion einiger Gene der Biosynthesewege von Sekundärmetaboliten - wie der Flavonoid-Biosynthese - auslösen (Hartmann et al. 2005, Schmid et al. 2005).

4.1.2 Sprosswachstum innerhalb und außerhalb der Petrischale

Eine Erhöhung der Lichtintensität am Spross führte zu einem signifikanten Anstieg des Wurzelwachstums, unabhängig davon, ob der Spross sich innerhalb der Petrischale befand und das Wurzelsystem hierbei eine indirekte Erhöhung der Lichtbedingungen erfuhr oder ob der Spross sich außerhalb der Petrischale entfaltete und dabei das Wurzelsystem vollständig abgedunkelt werden konnte (Abb. 3.4). Somit kann ausgeschlossen werden, dass der indirekte Anstieg der Lichtstärke am Wurzelsystem im konventionellen Anzuchtsystem mit Spross innerhalb der Petrischale die beobachtete starke Reaktion des Wurzelwachstums auslösen könnte.

Jedoch zeichneten sich einige **Unterschiede im Wachstum der Pflanzen in beiden Anzuchtsystemen** ab: Wuchs der Spross außerhalb der Petrischale, entwickelte er sich dem natürlichen Phänotyp entsprechend rosettenförmig; innerhalb der Petrischale zeigte er dagegen ein stark etioliertes Wachstum (Tabelle 4.1). Zudem bildeten die Pflanzen mehr Biomasse (Abb. 3.8) und die Primärwurzeln wuchsen wesentlich schneller (Abb. 3.4), wenn sich der Spross außerhalb der Schale entfaltete. Nach Lichterhöhung erreichten die Wurzeln im Anzuchtsystem „Spross außerhalb“ bereits nach drei Tagen ein konstantes Wachstum, während die Wurzeln im Anzuchtsystem „Spross innerhalb“ dazu vier Tage benötigten (Abb. 3.2 und Abb. 3.4).

Im Folgenden sollen die möglichen Faktoren diskutiert werden, die den genannten Differenzen zwischen den Pflanzen in beiden Anzuchtsystemen zugrunde liegen könnten (Tabelle 4.1):

- **Lichtintensität:** Das reduzierte Wurzelwachstum der Pflanzen, deren Spross innerhalb der Petrischale wuchs, könnte eine **Folge der indirekten Beleuchtung der Wurzeln** darstellen. Während bei einem Sprosswachstum außerhalb der Petrischale

die Wurzeln vollständig abgedunkelt werden konnten, erfuhren sie in diesem konventionellen Anzuchtsystem eine Lichtintensität von ca. $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Dies könnte, wie im Abschnitt 4.1.1 diskutiert, zu einer Hemmung des Wurzelwachstums führen. Zudem wurde auch ein Teil des eingestrahnten Lichtes durch die Petrischale absorbiert, dies führte bei niedrigen Lichtbedingungen auf Blattebene zu einer Reduktion der Lichtintensität von ca. $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Aufgrund der Tatsache, dass auch unter hohen Lichtstärken ein etioliertes Sprosswachstum beobachtet werden konnte, kann die gemessene Abnahme der Lichtintensität durch die Petrischale diesen Phänotyp nicht erklären.

- **HR/DR-Verhältnis:** Eine Steigerung des Sprosswachstums könnte ebenso durch unterschiedliche **Absorptionen der Petrischale** bei ca. 660 nm (hellrot, HR) bzw. 730 nm (dunkelrot, DR) und einer damit verbundenen **Verschiebung des HR/DR-Verhältnisses in den Pflanzen** hervorgerufen werden. Dieses als so genannte Schattenfluchtreaktion in der Literatur beschriebene Phänomen beruht darauf, dass Blätter wegen ihres hohen Chlorophyll-Gehaltes hellrotes Licht absorbieren, stattdessen aber relativ durchlässig für dunkelrotes Licht sind. Folglich kann eine Beschattung durch andere Pflanzen zu einer Zunahme des Dunkelrot-Anteils des Lichtes und zu einer Abnahme des HR/DR-Quotienten führen und das verstärkte Internodien-Wachstum auslösen (Taiz & Zeiger 2000). Im Tageslicht beträgt das HR/DR-Verhältnis 1,19; innerhalb der Petrischale dagegen konnte 1,03-1,10 gemessen werden. Diese geringfügige Verschiebung kann zwar einen gewissen Einfluss auf die Internodien-Streckung des Sprosses ausüben, kann dieses Phänomen jedoch nicht vollständig erklären. Möglicherweise wurde das etiolierte Sprosswachstum zusätzlich durch Änderungen der Phytohormon-Konzentrationen - wie z.B. Ethylen - begünstigt.
- **CO₂-Konzentration:** Die CO₂-Konzentrationen, die mit einem differentiellen Infrarot-Gasanalysator (LICOR 7000, Fa. LICOR Corporate, Lincoln, Nebraska, USA) gemessen wurden, nahmen im Bereich der Blätter von ca. 400 ppm (bei einem „Sprosswachstum außerhalb“) auf ca. 310 ppm ab, wenn der Spross innerhalb der Schale wuchs. Campbell et al. (2005) konnten zeigen, dass eine Reduktion der CO₂-Konzentration um 80-100 ppm zu einer signifikanten Abnahme der Photosyntheserate sowie der Spross-Biomasse führt. Somit könnte die **reduzierte CO₂-Konzentration im Anzuchtsystem „Spross innerhalb“** auch das geringere Spross- und Wurzel-Frischgewicht erklären.
- **Luftfeuchte:** Einen großen Unterschied zwischen beiden Anzuchtsystemen stellte die relative Luftfeuchtigkeit dar: Diese lag bei ca. 45 % außerhalb der Petrischale und bei ca. 100 % innerhalb der Petrischale. Diese **hohe Luftfeuchte innerhalb der Schale**

verhinderte, dass sich ein Wasserdampfdruckgefälle zwischen den Interzellularen der Blätter und der Atmosphäre aufbauen konnte (Taiz & Zeiger 2000, Burgess & Dawson 2004). Zusätzlich war die Transpiration wahrscheinlich durch einen hohen Grenzschichtwiderstand stark eingeschränkt, der sich aufgrund **geringer Luftbewegungen** innerhalb der Petrischalen aufbauen konnte. Eine Hemmung der Transpiration könnte eine Reduktion der Nährstoff-Aufnahme und der Photosynthese zur Folge haben und zum langsameren Wachstum der Pflanzen innerhalb der Petrischale führen.

Tabelle 4.1 Vergleich Klimabedingungen bei Anzucht des Sprosses innerhalb bzw. außerhalb der Petrischale.

Anzuchtssystem	Innerhalb der Petrischale	Außerhalb der Petrischale
		
Lichtintensität am Spross	$55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Lichtintensität am Wurzelsystem	ca. $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	ca. $0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
HR/DR-Verhältnis	1.03-1.10	1.19
CO ₂ -Konzentration im Bereich des Sprosses	ca. 310 ppm	ca. 400 ppm
Luftfeuchte	ca. 100 %	ca. 45 %

4.1.3 Regulationsmechanismen des Wurzelwachstums nach Lichterhöhung

Die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse deuten darauf hin, dass die zeitliche Dynamik, mit der sich das **Wurzelwachstum** auf eine **Lichterhöhung** anpasst, **durch einen verstärkten Saccharose-Import in die Wurzeln angetrieben** wird. Den größten Beweis für diese Hypothese lieferten die Untersuchungen des Wurzelwachstums der SPP-reduzierten transgenen Pflanzen während des Übergangs von niedrigen auf hohe Lichtintensitäten (Abb. 3.13 und Abb. 3.14). In diesen Pflanzen, die eine Hemmung der Photosynthese und im Vergleich zum Wildtyp reduzierte Saccharose-Konzentration bei gleichzeitig erhöhtem Stärke-Gehalt aufweisen (Chen et al. 2005), konnte das

Wurzelwachstum als Antwort auf erhöhte Lichtbedingungen kaum gesteigert werden. Ebenso wiesen diese Pflanzen in den ersten drei Stunden nach Licherhöhung ein von Wildtyp-Pflanzen stark abweichendes Wachstumsmuster auf (Abb. 3.16). Geringe Saccharose-Mengen sowie andere Zucker-Transportformen, wie Raffinose oder Stachyose, können in den transgenen Pflanzen zwar in die Wurzeln transportiert werden; Chen et al. (2005) konnten jedoch zeigen, dass die in den Blättern vermehrt gespeicherte Stärke nicht exportiert werden konnte und es konsequenterweise zu einem Stärke-Überschuss kam. Dies verdeutlicht, dass kein alternativer Mechanismus für den Zucker-Export aus den Blättern existiert. Die Kohlenhydrat-Verfügbarkeit in der Wachstumszone der Wurzeln war somit nicht ausreichend, um das volle Wachstumspotential von *N. tabacum* in einer gegebenen Umwelt realisieren zu können.

Ein weiterer Hinweis für die Schlüsselrolle von Saccharose bei der Anpassung von Wurzeln auf variierende Lichtbedingungen konnte durch die Experimente mittels isolierter Wurzeln in Agarose-Medien mit und ohne Saccharose erzielt werden (Abb. 3.15). Ohne externe Zugabe von Saccharose nahm das Wurzelwachstum innerhalb weniger Stunden exponentiell ab, unabhängig von den Lichtbedingungen, an die der Spross vor dem Abtrennen angepasst war. Wurde Saccharose dem Medium zugegeben, verlief die Reduktion der Wachstumsgeschwindigkeit der isolierten Wurzeln wesentlich langsamer und die maximale relative Element-Wuchsrates blieb über mehrere Tage auf einem relativ hohen Niveau erhalten (Abb. 3.15 A, C). Die Länge der Wachstumszone nahm nach Abtrennen des Sprosses nur sehr langsam ab, unabhängig davon, ob Saccharose zur Verfügung stand oder nicht (Abb. 3.15 B). Dies impliziert, dass die Entwicklungsprozesse von Zellen in einer relativ geordneten Art und Weise weiter ablaufen, so lange die Wurzeln das ihnen zur Verfügung stehende Wachstumspotential zumindest noch begrenzt ausschöpfen können. Chin et al. (1981) konnten mittels radioaktiv markiertem Zucker nachweisen, dass angebotene Saccharose von isolierten Wurzeln aus dem Medium aufgenommen wird. Dieser kontinuierliche Import von Saccharose in die Wurzeln könnte das Wachstum über eine gewisse Zeit aufrecht erhalten, auch wenn andere Faktoren wie Phytohormone, die bei intakten Pflanzen aus dem Spross importiert werden, nach Abtrennen des Sprosses fehlen und somit zu der stetigen, wenn auch langsamen Wachstumsreduktion beitragen könnten. Saccharose jedoch scheint den kritischsten Faktor darzustellen: Ohne externe Zugabe von Saccharose fiel das Wurzelwachstum nach Entfernen des Sprosses innerhalb von zehn Stunden praktisch auf Null (Abb. 3.15 A, C). War dagegen Saccharose im Medium verfügbar, nahm die Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze innerhalb von zehn Stunden nur auf 50 % des Wertes vor dem Abtrennen des Sprosses ab. In Tomatenwurzeln wurde gezeigt, dass das Wachstum von abgetrennten Wurzeln sogar sieben Tage aufrechterhalten werden kann, wenn

Saccharose extern zugegeben wurde (Street & McGregor 1952). Wurzeln scheinen jedoch nur über begrenzte Möglichkeiten zu verfügen, Kohlenhydrate zu akkumulieren und diese nach Abtrennen des Sprosses nutzen zu können, wenn den Wurzeln kein externer Zucker angeboten wird (Eliasson 1986, Vucinic & Vuletic 1995). Nach Isolation von Maiswurzeln kam es innerhalb weniger Stunden zu einer starken Abnahme der Glukose-, Fruktose- sowie der Saccharose-Konzentrationen in der Wurzelspitze (Saglio & Pradet 1980, Vucinic & Vuletic 1995). Dies deutet darauf hin, dass **Wurzeln auf einen konstanten Eintransport der in den Blättern gebildeten Saccharose angewiesen sind, um ihre Wachstumsaktivität aufrechterhalten zu können.**

Nach dem Import in die Wurzel-Wachstumszone wird die Saccharose mittels des Enzyms Invertase, das eine maximale Aktivität in der Elongationszone aufweist, in Glukose und Fruktose gespalten (Toko et al. 1987), wobei ein ausgewogenes Verhältnis zwischen Glukose, Fruktose und Saccharose erzielt wird. Die in dieser Arbeit gemessenen Kohlenhydrat-Konzentrationen zeigten, dass es nach Lichterhöhung nicht nur zu einer Zunahme der Wachstumsaktivität kam, sondern auch zu einer signifikanten Steigerung der Zucker-Konzentrationen sowohl in Blättern als auch in Wurzeln (Abb. 3.11). Eine lineare Korrelation zwischen dem Zucker-Gehalt in den Wurzeln und der Wachstumsaktivität konnten bereits Freixes et al. (2002) demonstrieren. Diese sowie einige andere Studien untersuchten den Einfluss extern applizierter Saccharose auf das Wurzelsystem und hoben hervor, dass ein erhöhtes Angebot an Zucker zu einer Zunahme des Wachstums aber auch zur Bildung von Seitenwurzeln führt (Vincent & Gregory 1989, Bingham et al. 1997 und 1998, Freixes et al. 2002). Ebenso könnte der aufgrund der Lichterhöhung vermehrt importierte Zucker in die Wurzeln die Wachstumssteigerung ermöglichen und somit auf Ebene einzelner Wurzeln zur Zunahme des Wurzeldurchmessers (Abb. 3.5 und Abb. 3.6), sowie auf Ebene des gesamten Wurzelsystems zur verstärkten Verzweigung der Wurzeln (Abb. 3.7, 3.8 und 3.10) führen.

Der Übergang von $60 \text{ auf } 300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ hatte allerdings nicht nur den Zuwachs des Wurzelsystems sondern der gesamten Pflanze zur Folge, wobei die Biomasse der Wurzeln wesentlich stärker zunahm als die des Sprosses (Abb. 3.9 und Abb. 3.10). Unter Lichtreduktionsversuchen konnte ein umgekehrter Effekt gefunden werden, das heißt, unter limitierter Kohlenhydrat-Versorgung stellt der Spross ein stärkeres Sink als die Wurzeln dar und kann somit Kohlenhydrate effizienter aus den Siebelementen des Phloems aufnehmen und verwerten (Wardlaw 1983, Aresta & Fukai 1984). Nach Lichterhöhung scheint dagegen aufgrund der erhöhten Assimilation (Fukayama et al. 1998, Han et al. 1999) und der damit einhergehenden größeren Zucker-Verfügbarkeit, die Sink-Stärke des Wurzelsystems gesteigert zu sein. Dies ermöglicht ein stärkeres

Wurzelwachstum und somit eine verbesserte Durchwurzelung des Bodens mit der Option, die Nährstoff-Aufnahme unter Umständen steigern zu können.

Abgesehen von ihrer Rolle als „**Grundbaustein**“ der **Zellwände** beeinflussen **Kohlenhydrate** das Wachstum ebenso, indem sie eine wichtige Funktion als **Signalmoleküle** bei den Feedback Mechanismen der **Gen-Regulation** ausüben. In allen Stadien der pflanzlichen Entwicklung fungiert Saccharose als Signalmolekül in der Source-Sink-Wechselwirkung (Roitsch 1999, Smeekens 2000) und greift dabei modulierend auf die Expression einer großen Anzahl an Genen ein (Koch 1996, Smeekens 2000). Saccharose und auch Glukose können beispielsweise Wachstums-relevante Gene hoch- und Stress-relevante Gene herunter-regulieren (Ho et al. 2001). Dies zeigt deutlich die Schlüsselfunktion der Kohlenhydrate bei der Vermittlung zwischen den veränderten Lichtbedingungen und der Antwort des Wurzelwachstums. **Zellteilung und Zellzyklus** könnten ebenso am Übergang von der G1- in die S-Phase und von der G2- in die M-Phase durch Saccharose kontrolliert werden (van't Hof 1986, Smeekens 2000). In *Arabidopsis* beeinflusst die Zucker-Verfügbarkeit die Zellteilung, indem sie die Aktivität von Cyclinen reguliert (Riou-Khamlichi et al. 2000). Die Anpassungen des Wurzelwachstums an die Lichterhöhung führten zu keiner signifikanten Änderung der Form der REGR-Verteilung entlang der Wachstumszone, das heißt, sowohl die Länge der meristematischen Zone als auch der Elongationszone nahmen nach Umstellung der Lichtbedingungen zu (Abb. 3.1). Muller et al. (1998) stellten die Hypothese auf, dass die positive Korrelation zwischen der Lichtintensität und dem Fluss der Zellen durch die Wurzel-Wachstumszone hauptsächlich durch die Dauer, in der Zellen sich teilen können, beeinflusst sein könnte. Dies verdeutlicht die vielfältigen Regulationsmechanismen, über die Saccharose in Wachstum und Entwicklung von Pflanzen nach Änderung von Umweltbedingungen - wie der Lichtintensität - eingreifen können.

4.2 Kurzfristige Effekte der Lichtintensität auf Wachstum und Photosynthese

Die nicht-destruktive, hochauflösende Methode der Wachstumsanalyse, die in dieser Arbeit zum Einsatz kam, ermöglicht auch die Untersuchung dynamischer Antworten des Pflanzenwachstums auf kurzzeitige Lichtschwankungen, die in der Natur, beispielsweise an einem bewölkten Tag sehr häufig auftreten. So konnten während der ersten drei

Stunden nach Lichtänderung charakteristische Wachstumsmuster nachgewiesen werden, welche die Kapazität von Pflanzen verdeutlichen, auf dynamische Lichtübergänge reagieren zu können (Abb. 3.16). Während der **ersten 30 Minuten nach Lichtmodifikation** kam es nach der Lichterhöhung (von 60 auf 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) zu einer transienten Abnahme der Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze, nach Lichtreduktion (von 300 auf 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) dagegen zu einer transienten Zunahme. Dieser Effekt wurde bereits in zahlreichen Studien für das Blattwachstum beschrieben (Hsiao et al. 1970, Christ 1978, Walter & Schurr 2005). Es konnte gezeigt werden, dass eine sprunghafte Änderung der Lichtintensität den pH-Wert der Zellwand (Mühling et al. 1995) sowie die stomatäre Leitfähigkeit (Mott & Buckley 2000) beeinflussen. Dabei ändert sich die Transpirationsrate der Blätter schneller als die Wasseraufnahme durch die Wurzeln, wodurch es zu kurzzeitigen Änderungen des Wasserpotentials kommt, die zu den kurzfristigen Modifikationen des Wachstums führen können (Christ 1978). Im Rahmen dieser Arbeit konnte zum ersten Mal nachgewiesen werden, dass Wurzeln auf die gleiche Art und Weise auf schnelle Änderungen der Lichtbedingungen reagieren wie Blätter. Dies könnte implizieren, dass die **geänderten hydraulischen Eigenschaften** (wie das Öffnen der Stomata nach schnellem Anstieg der Lichtintensität) oder **geänderte Ionen-Verhältnisse im Apoplasten** (wie pH- oder Membranpotential-Änderungen) sich unverzüglich innerhalb der gesamten Pflanze ausbreiten und so die Wachstumsreaktionen in den Wurzeln auslösen könnten.

Innerhalb der **folgenden 2,5 Stunden** nach Modifikation der Lichtintensität schien die Elektronentransportrate des Photosystems II (ETR) mit den Wachstumsmustern zu korrelieren. Nach **Lichtreduktion** nahm sowohl die ETR als auch die Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze zunächst signifikant ab; beide blieben jedoch während der folgenden Stunden relativ konstant (Abb. 3.16 C). Dies deutet auf eine verminderte Photosynthese-Leistung und somit geringere Verfügbarkeit an Kohlenhydraten in der Wurzel-Wachstumszone nach Lichtreduktion hin und könnte somit das reduzierte Wachstum zur Folge haben.

Im **Lichterhöhungs-Versuch** nahm die ETR dagegen innerhalb der ersten Stunden nach Lichtänderung zu und in den folgenden zwei Stunden sigmoidal ab (Abb. 3.16 A). Parallel dazu konnte ein Anstieg gefolgt von einer starken Reduktion im Wurzelwachstum beobachtet werden. Dies führt zur Hypothese, dass die **sinusförmigen Wachstums-Oszillationen nach Lichtmodifikation** durch eine **Änderung des Saccharose-Eintransports in die Wurzeln ausgelöst** werden könnten. Eine Erhöhung der Photosyntheserate im Spross könnte den Saccharose-Export begünstigen, und ein Anstieg des Saccharose-Importes in die Wurzel-Wachstumszone könnte somit zu der

signifikanten überschwingenden Wachstumsreaktion führen. Die folgende Abnahme der ETR könnte dagegen einen Messartefakt darstellen, der aufgrund variierender Blattstellung und somit veränderter Distanzen zwischen Blatt und Kamera auftrat. Während der abnehmenden Phase der ETR zeichnete sich auch eine Zunahme der nicht-photosynthetischen Energielöschung (NPQ) ab (Abb. 3.17 B). Dies deutet auf einen verstärkten Stress und möglicherweise sogar Schädigungen der Photosysteme durch die schnelle Erhöhung der Lichtbedingungen hin und zeigt, dass zum Schutz vor weiteren Schäden die absorbierte Energie vermehrt in Form von Wärme abgegeben wurde (Maxwell & Johnson 2000). Da Blätter das meiste Licht absorbieren, wenn die Blattspreite senkrecht zum einfallenden Licht steht, kann die Änderung der Blattstellung nach Licherhöhung auch zur Stress-Minimierung beitragen.

Die Untersuchungen an den transgenen Pflanzen bekräftigen die Hypothese, dass die in die Wurzel eintransportierte Saccharose und nicht beispielsweise ein hormonelles Signal der Auslöser für die charakteristischen Wachstumsschwankungen sein könnte (Abb. 3.16 B). Während die Saccharose-Mangel-Pflanzen die transiente, „hydraulisch-induzierte“ Wachstumsabnahme innerhalb der ersten 30 Minuten nach Licherhöhung aufwiesen, konnten bei diesen Pflanzen die nachfolgenden sinusförmigen Wachstumsmuster nicht gefunden werden. Stattdessen nahm in diesen Pflanzen das Wachstum eher kontinuierlich zu. In zukünftigen Studien könnte diese dargestellte Hypothese überprüft werden, indem der Transport von radioaktiv markierter Saccharose aus dem Spross in die Wurzeln verfolgt würde.

4.3 Regulation des Wachstums durch die Interaktion zwischen Kohlenhydrat- und Nährstoff-Metabolismus

Pflanzen sind in natürlichen Umgebungen stets der Variation mehrerer Umweltparameter ausgesetzt. Somit kann der dargestellte Einfluss der Lichtintensität auf das Wachstum von Wurzel und Spross durch andere abiotische Faktoren modifiziert werden (Lambers et al. 2000). Eine besondere Rolle spielt dabei die Nährstoff-Verfügbarkeit. Photosynthese und Nährstoff-Aufnahme - die Hauptprozesse der Ressourcen-Akquisition - finden zum größten Teil an den entgegengesetzten Enden der Pflanze statt. Die Fähigkeit der Koordination zwischen dem Kohlenhydrat- und Nährstoff-Metabolismus ermöglicht den Pflanzen erst, Wachstum und Entwicklung auf variierende Umweltbedingungen anpassen zu können.

Werden Pflanzen unter **Nährstoff-Mangel**-Bedingungen angezogen, so wird das Sprosswachstum gehemmt, das **Wurzelwachstum** dagegen **gefördert** (Scheible et al. 1997b). Dies bestätigt die im Rahmen dieser Studie gewonnenen Ergebnisse, dass Tabakkeimlinge unter niedrigen Nährstoff-Konzentrationen eine größere Anzahl an Seitenwurzeln bildeten und eine höhere Wachstumsgeschwindigkeit der Primärwurzel im Vergleich zu Pflanzen unter höheren Nährstoff-Konzentrationen aufwiesen (Abb. 3.19). Eine für die Pflanze ausreichende Nitrat-Versorgung ermöglicht eine Steigerung der Blattproduktion und Photosynthese; ein limitierendes Nitrat-Angebot dagegen eine Zunahme des Wurzelwachstums mit dem Ziel, die Wurzelbiomasse und somit die Nährstoff-Aufnahme zu steigern (Bloom et al. 1985). Sowohl das Wachstum als auch die Ionen-Aufnahme in die Wurzeln benötigen sehr viel respiratorische Energie (Crawford 1995), die von den in die Wurzeln transportierten Photoassimilaten geliefert wird (Farrar & Jones 2000). In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass es unter Nährstoff-Mangel zu einer zeitlichen Zunahme der Wurzel/Spross-Verhältnisse der Hexose-Gehalte kam (Abb. 3.22 A, B). Dies könnte darauf hindeuten, dass die Umsatzraten der Zucker in Wurzel und Spross differenzieren; andererseits aber auch den verstärkten Kohlenhydrat-Eintransport in die Wurzeln bestätigen. Bingham et al. (1997) konnten zeigen, dass auch eine externe Zugabe von Glukose zu einer Steigerung der Seitenwurzelanzahl führt. Ebenso ermöglichten hohe Lichtintensitäten am Spross, dass die Keimlinge unter Nährstoff-Mangel einige Tage eher ihre Seitenwurzel-Produktion steigern konnten im Vergleich zu Pflanzen unter niedrigen Lichtbedingungen (Abb. 3.19 und Abb. 3.20).

Die **Anzahl der auswachsenden Lateralwurzeln** hängt dabei nicht allein von der Konzentration an Kohlenhydraten (C) und Nährstoffen - besonders Nitrat (N) ab - sondern wird vor allem **vom C/N-Verhältnis** innerhalb der Pflanzen **beeinflusst** (Scheible et al. 1997b, Zhang & Forde 2000). Wurden die Pflanzen unter ausreichender Nährstoff-Verfügbarkeit bei gleichzeitigem Lichtmangel angezogen, so wiesen die Keimlinge wesentlich geringere Kohlenhydrat-Konzentrationen auf als unter Hoch-Lichtbedingungen und waren demzufolge **Kohlenhydrat-limitiert** (Abb. 3.21). Die Nitrat-Aufnahme in Wurzeln scheint unter begrenzter Kohlenhydrat-Versorgung stärker als das Wurzelwachstum gehemmt zu werden (Radin et al 1978, Lambers et al. 2000). Im umgekehrten Fall - hohe Lichtbedingungen bei gleichzeitigem Nährstoff-Mangel - führt die **Nährstoff-Limitierung** zu einer Kohlenhydrat-Akkumulation (Abb. 3.21) und somit zu einer Hemmung der Photosynthese (Paul & Driscoll 1997).

An diesen Ergebnissen sieht man sehr gut, dass der **C- und N-Metabolismus miteinander verknüpft** sind und **koordiniert kontrolliert und reguliert** werden müssen (Coruzzi & Bush 2001, Walch-Liu et al. 2005). Erhöhte **Lichtintensitäten sowie Kohlenhydrat-**

Gehalte beeinflussen sowohl die Nitrat- als auch die Ammonium-Assimilation, indem sie beispielsweise die Genexpression der Nitratreduktase (Crawford 1995, Sivasankar & Oaks 1996) sowie die plastidäre Form der Glutaminsynthetase stimulieren (Taiz & Zeiger 2000). Die Zucker-Metabolite dienen dabei zum einen als Energiequelle und zum anderen als Kohlenhydrat-Gerüst für die Ammonium-Fixierung. Ebenso kann die Nitratreduktase in Abhängigkeit von der Lichtbedingung post-transkriptional reguliert werden, indem das Enzym über eine reversible Phosphorylierung aktiviert bzw. inaktiviert wird (Crawford 1995).

Die Aminosäuren Asparagin und Glutamin stellen eine direkte Verknüpfung zwischen dem Kohlenstoff- und Stickstoff-Stoffwechsel dar (Taiz & Zeiger 2000). Hohe Lichtintensitäten und Kohlenhydrat-Gehalte fördern, wie dargestellt, die Aktivität der Glutaminsynthetase, hemmen dagegen jedoch die der Asparaginsynthetase, die den Amidstickstoff von Glutamin auf Aspartat überträgt. Dabei wird Asparagin gebildet, das ein hohes N/C-Verhältnis aufweist (2 N zu 4 C). Bei reichlicher Energieversorgung wird somit Glutamin (2 N zu 5 C) und Glutamat (1 N zu 5 C) synthetisiert, also Verbindungen, die reich an Kohlenstoff und am Aufbau von neuem Pflanzenmaterial beteiligt sind. Unter energielimitierenden Bedingungen wird dagegen die Assimilation von Asparagin begünstigt, das aufgrund seiner Stabilität gut für Langstrecken-Transport und Langzeitspeicherung geeignet ist.

Nicht nur Kohlenhydrat-Metaboliten greifen regulierend in den Stickstoff-Metabolismus ein, sondern auch eine **erhöhte Nitrat-Verfügbarkeit** kann beispielsweise die Seitenwurzelbildung direkt oder indirekt über den **Kohlenhydrat-Metabolismus stimulieren** (Forde & Lorenzo 2001). Die Stickstoff-Versorgung ist essentiell für Wachstum und Entwicklung von Pflanzen, im Besonderen über die N-Fixierung in Aminosäuren. Nitrat hemmt unter anderem die Expression eines Schlüsselenzyms (ADP-Glukose-Pyrophosphorylase) des Stärke-Biosynthese-Weges, vermutlich um die Kohlenhydrat-Gerüste dem Stickstoff-Assimilationsweg zur Verfügung zu stellen, anstatt diese in Stärke festzulegen (Scheible et al. 1997a).

Um die Koordination der C- und N-Assimilation sowie die adäquate Ressourcen-Verteilung zwischen Wurzel und Spross sicher zu stellen, benötigen Pflanzen eine über das Phloem bzw. das Xylem vermittelte Signalweiterleitung. Somit können Pflanzen Informationen über die gegenwärtige Nährstoff-Verfügbarkeit von Wurzel zu Spross, sowie in umgekehrter Richtung über den C/N-Status im Spross vermitteln (Walch-Liu et al. 2005). Einige in Frage kommende **Signalmoleküle**, die zwischen dem Kohlenhydrat- und Stickstoff-Metabolismen vermitteln könnten, wurden bisher untersucht und in der Literatur teilweise

kontrovers diskutiert. Vermutlich üben Saccharose sowie Nitrat selbst regulatorische Funktionen aus (Coruzzi & Bush 2001, Walch-Liu et al. 2005). Die Signalwirkung von Nitrat wird von manchen Autoren sogar mit Hormonwirkung verglichen (Trewavas 1983). Als Signalmoleküle kommen ebenso Ammonium, Aminosäuren, wie Glutamat und Glutamin sowie Peptide in Frage. Möglicherweise spielen auch Phytohormone, wie Cytokinine oder Abscisinsäure eine entscheidende Rolle bei der Regulation beider Stoffwechselwege (Franco-Zorrilla et al. 2005, Walch-Liu et al. 2005). Es wird auch vermutet, dass die Nitrat-Akkumulation im Spross die Biosynthese oder die Phloem-Beladung von Auxin hemmt und somit zur Inhibierung des Seitenwurzelwachstums führen könnte (Forde 2000 in Walch-Liu et al. 2005). Ethylen scheint das Wurzelwachstum in Abhängigkeit von der Phosphor-Versorgung zu modifizieren (Borch et al. 1999, Ma et al. 2003). Die Rezeptoren, über welche die genannten Signalmoleküle die Nährstoff-Aufnahme und -Assimilation mit dem Kohlenhydrat-Metabolismus verknüpfen und regulieren, sind bisher noch weitgehend unbekannt. In *Arabidopsis* ist erst kürzlich ein möglicher Sensor beschrieben worden: der Glutamat-Rezeptor AtGLR1.1 (Kang & Turano 2003). Es ist offensichtlich, dass es noch sehr viele offene Fragen zu klären gilt, bis die Kommunikation innerhalb der Pflanze aufgeklärt sein wird, um verstehen zu können, wie Wurzel und Spross ihre Antwort auf Änderungen der Kohlenhydrat- und Nährstoff-Verfügbarkeit integrieren.

4.4 Einfluss der Lichtintensität auf den Gravitropismus

In etlichen Studien konnte gezeigt werden, dass Auxin bei der gravitropen Antwort des Wurzelwachstums eine Rolle spielt (z.B. Büntemeyer et al. 1998). Um die molekularen Mechanismen, die der gravitropen Wachstumsreaktion zugrunde liegen, vollständig aufklären zu können, stellt die quantitative Messung der Krümmung eine essentielle Voraussetzung dar. Dies war bisher aufgrund fehlender Techniken nicht möglich. Im Rahmen dieser Arbeit konnte erstmals die Krümmungsproduktion von Wurzeln räumlich und zeitlich hochaufgelöst analysiert und diese im Zusammenhang mit der Auxin-vermittelten Signalweiterleitung untersucht werden. Im folgenden Kapitel wird der Einfluss dieses Phytohormons auf die Krümmungsproduktion sowie die Existenz eines zweiten Auxin-unabhängigen Motors diskutiert (Abschnitt 4.4.1). Im Anschluss wird die Frage erörtert, ob Wurzeln, deren Sprosse höheren Lichtintensitäten ausgesetzt waren, einen

Wachstumsvorteil nach Änderung des gravitropen Reizes gegenüber Pflanzen unter niedrigen Lichtbedingungen aufweisen können (Abschnitt 4.4.2).

4.4.1 Regulationsmechanismen des Gravitropismus

Das Drehen der Pflanzen um 90° hat zur Folge, dass Auxin vermehrt auf die untere Wurzelflanke transportiert wird. Dies führt zu Wachstumshemmungen und somit zur Abwärtskrümmung der Wurzel. Bereits zwei Minuten nach Änderung des gravitropen Reizes konnten Friml et al. (2002) eine asymmetrische Umverteilung des Efflux-Carriers PIN3 nachweisen, der für die **laterale Umverteilung von Auxin in der Columella der Wurzelhaube** verantwortlich ist. Knockout-Mutanten, die keine PIN3-Proteine exprimieren, zeigten aufgrund dessen eine stark reduzierte gravitrope Antwort (Friml et al. 2002). Die Ergebnisse, die im Rahmen dieser Arbeit gewonnen wurden, bestätigten dies und zeigten, dass sich die Kinetik des Krümmungswinkels der *A. thaliana* pin3-Mutanten signifikant von der Kinetik der Wildtyp-Wurzeln unterscheidet (Abb. 3.24 A).

Die Kinetik des Krümmungswinkels reicht jedoch nicht aus, um den Einfluss der PIN3-Proteine auf das differentielle Wachstum zu erklären. Aus diesem Grund kam hier eine neue Analyse zum Einsatz, mit der die Krümmungsproduktionsrate (DGCR) räumlich und zeitlich hoch aufgelöst charakterisiert werden konnte (Chavarria-Krauser et al. 2006). Wildtyp-Wurzeln des Ökotyps Columbia wiesen zwei Phasen mit ansteigender Krümmungsproduktion (von 0 bis 1 Stunde und von 1 bis 2 Stunden nach dem Drehen) auf, gefolgt von zwei abnehmenden Phasen (Abb. 3.24 B). Eine Darstellung der räumlich-zeitlichen Verteilung der DGCR zeigte, dass eine apikale Krümmungszone, die sich von 100 bis 200 µm hinter dem Ruhenden Zentrum der Wurzeln ausdehnt, mit der ersten ansteigenden Phase assoziiert ist (Abb. 3.26). Dagegen ist die zweite zunehmende Phase mit einer basalen Krümmungszone verknüpft, die zwischen 200 und 300 µm zu finden ist. Mit der Aktivierung beider Krümmungszonen zwischen ein und drei Stunden nach dem Drehen ist eine hohe Winkelgeschwindigkeit und Krümmungsproduktionsrate verbunden (Abb. 3.24 B und Abb. 3.26). Die Inaktivierung der apikalen Krümmungszone drei Stunden nach Beginn der Reaktion resultiert in einer Reduktion der Krümmungsrate.

Die beschriebene **apikale und basale Krümmungszone** könnten die zwei von Wolverton et al. (2002) postulierten **Motoren** darstellen, die für die Krümmungsproduktion verantwortlich sind. Nach dieser Hypothese befindet sich der erste Motor in der *Distal Elongation Zone* (DEZ, Abb. 1.4), die zwischen dem Meristem und dem Ort liegt, an dem die Wuchsrate 30 % ihres Maximalwertes erreicht (Ishikawa & Evans 1993, Wolverton et

al. 2002). Obwohl bei Wildtyp-Wurzeln das Maximum der apikalen Krümmungszone in der DEZ zu liegen scheint, bleibt unklar, ob die apikale Krümmungszone und die DEZ konsistent sind (Abb. 3.25). Der zweite Motor wird in der *Central Elongation Zone* (CEZ, Abb. 1.4) vermutet (Evans & Ishikawa 1997, Wolverton et al. 2002). Die CEZ wurde als Zone definiert, die um das Wachstumsmaximum herum lokalisiert ist. Die apikale und basale Grenze stellt den Ort dar, an dem die Wachstumsrate 70 % des Maximums erreicht (Ishikawa & Evans 1993). Die basale Krümmungszone könnte in der CEZ liegen (Abb. 3.25). Dies führt zu der Schlussfolgerung, dass die zwei in dieser Arbeit gefundenen Krümmungszonen mit der DEZ und der CEZ übereinstimmen könnten. Jedoch konnte bisher weder der cytologische Ort der gravitropen Motoren exakt bestimmt, noch ihre molekulare Natur eindeutig aufgeklärt werden. Im Rahmen dieser Arbeit konnte zum ersten Mal die Intensität der Krümmungsproduktion räumlich und zeitlich verfolgt und ein deutlicher Hinweis für die Existenz der zwei Motoren geliefert werden. Dabei konnte der Ort der Krümmungsproduktion und der Zeitpunkt quantifiziert werden, an dem die Motoren nach der Rotation der Pflanzen um 90° aktiviert bzw. deaktiviert waren.

Zudem lieferte der Einsatz zweier Mutanten mit reduzierter Auxin-Signaltransduktion Hinweise, dass der erste Motor in der apikalen Krümmungszone Auxin-unabhängig sein könnte. Sowohl *pin3*- als auch *DELLA*-Mutanten zeigten eine starke Reduktion der Krümmungsproduktion in der basalen Region, während sich die DGCR im apikalen Bereich nicht signifikant von den jeweiligen Wildtyp-Wurzeln unterschied (Abb. 3.25 und Abb. 3.30). Aufgrund der Tatsache, dass der Efflux-Carrier **PIN3** bei der lateralen Auxin-Verteilung in den Columella-Zellen beteiligt ist (Friml et al. 2002, Blancaflor & Masson 2003), führt das Fehlen dieses Proteins zu einer Hemmung des Auxin-Transportes und der Signalweiterleitung zur Elongationszone. Dies könnte einerseits zu einem Auxin-Überschuss in der Wurzelspitze führen und andererseits die Ursache der signifikant **verringerten Krümmungsproduktion in der basalen Zone** darstellen. Eine externe Zugabe von Auxin führte zu einer Hemmung des Wurzelwachstums mit einer signifikanten Reduktion der Länge der Zellstreckungszone (Beemster & Baskin 2000). Infolgedessen könnte die erhöhte Auxin-Konzentration in *pin3*-Wurzelspitzen die reduzierte Wachstumsgeschwindigkeit und verkürzte Elongationszone im Vergleich zu Wildtyp-Pflanzen erklären (Abb. 3.23 und Abb. 3.25).

DELLA-Wurzeln krümmten sich ebenfalls signifikant langsamer als Wildtyp-Wurzeln (Abb. 3.29 A), obwohl der Auxin-Transport dieser Mutanten nicht signifikant beeinträchtigt war und nach dem Drehen der Pflanzen ein asymmetrischer Auxin-Gradient aufgebaut wurde (Fu et al. 2006). In Wildtyp-Wurzeln führt eine erhöhte Auxin-Konzentration auf der unteren Wurzelflanke zur Stabilisierung der DELLA-Proteine. Dies trägt zur Hemmung der

Zellstreckung und somit zur Krümmung von Wurzeln bei. Die Mutanten können jedoch das Auxin-Signal aufgrund des Fehlens von vier DELLA-Proteinen nicht weiterleiten und weisen infolgedessen möglicherweise eine **Reduktion der basalen Krümmungsproduktion** auf (Abb. 3.30).

Da sowohl in *pin3*- als auch in DELLA-Pflanzen die Auxin-vermittelte Signalkaskade gehemmt ist und beide Mutanten eine Reduktion in der basalen Krümmungszone aufwiesen, scheint der **zweite gravitrope Motor Auxin-abhängig** zu sein. Der erste Motor - in der apikalen Krümmungszone gelegen - war dagegen weder bei *pin3*- noch bei DELLA-Wurzeln signifikant gegenüber den jeweiligen Wildtyp-Pflanzen verändert. Demzufolge könnte der **erste Motor Auxin-unabhängig** sein. Dies entspricht den Messungen von Ishikawa und Evans (1993), die demonstrierten, dass extern appliziertes Auxin nur die Zellen der CEZ hemmt, die Zellen der DEZ dagegen insensitive gegenüber Auxin sind. Auch die zeitliche Entwicklung der Krümmungsproduktion verdeutlichte, dass bei beiden Mutanten nur der erste Auxin-unabhängige Motor nach dem Drehen der Pflanzen angeschaltet wird (Abb. 3.24 B und Abb. 3.29 B). Der zweite Auxin-abhängige Motor, der beim Wildtyp zeitlich verzögert aktiviert wird, ist in den Mutanten hingegen nicht nachzuweisen.

Auch wenn es Hinweise für elektrische Signale gibt, welche die Krümmung im apikalen Bereich auslösen können (Wolverton et al. 2002), so ist bisher weder der Sensor noch die Signalkaskade bekannt. Es könnte jedoch sein, dass das Phytohormon Cytokinin eine wichtige Rolle in der ersten Phase der Krümmungsreaktion spielt (Aloni et al. 2004). Ebenso wie Auxin wird auch Cytokinin nach einer gravitropen Stimulation asymmetrisch verteilt. Aufgrund der Tatsache, dass Cytokinin in Wurzeln die meristematische Aktivität reduziert (Werner et al. 2003), kommt es, wie bereits 1937 experimentell nachgewiesen werden konnte, nach dem Drehen der Pflanzen um 90° zu einer asymmetrischen Verteilung der Mitosen (Wagner 1937). Die in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse bestätigten diese Anpassungen der Zellteilungen zu Beginn der Krümmungsreaktion und zeigten, dass Wurzeln bis drei Stunden nach der Rotation eine deutliche Asymmetrie im Wurzelmeristem aufweisen (Abb. 3.27). Da der erste gravitrope Motor wahrscheinlich in räumlicher Nähe zum Meristem lokalisiert ist, könnte dessen Regulation eng mit den Adaptationen der Zellteilungs-Aktivität verknüpft sein. Möglicherweise reguliert Cytokinin den Übergang der Zellen vom Meristem in die Elongationszone (Beemster & Baskin 2000, Werner et al. 2003) und könnte somit auch einen Einfluss auf die Krümmungsproduktion in der apikalen Zone ausüben. Diese Hypothese müsste jedoch in weiteren Untersuchungen überprüft werden.

4.4.2 Einfluss des Lichtes auf die Krümmungsproduktion: Gravitropismus versus Circumnutationen

Unabhängig von der Lichtintensität, mit der die Pflanzen angezogen wurden, konnte gezeigt werden, dass **Wachstum und Krümmungsrate von Wurzeln antiproportional** verlaufen (Abb. 3.33). Dies deutet darauf hin, dass Wurzeln sich am stärksten krümmen, wenn das Wachstum ein Minimum erreicht. Nach dem Drehen der Pflanzen um 90° konnte beobachtet werden, dass die Wachstumsgeschwindigkeit der Wurzelspitze (Abb. 3.31 A) sowie die Länge der Wachstumszone (Abb. 3.34) abnahm. Es könnte also sein, dass diese Wachstumsreduktion der Wurzelspitze die Krümmung erst ermöglicht oder sie zumindest fördert. Ein langsames Wachstum bietet den Wurzeln den Vorteil, ihren Krümmungsradius und somit die Bogenlänge möglichst klein zu halten. Aufgrund dessen können die Wurzeln schneller um ein im Boden befindliches Substratpartikel herum wachsen.

Der Vergleich der räumlichen Verteilungen der Krümmungsproduktionsrate und der relativen Element-Wuchsrates veranschaulichte, dass *N. tabacum* Wurzeln – wie auch *A. thaliana* – zwei räumlich getrennte Krümmungszonen aufweisen, die apikal vom Wachstumsmaximum lokalisiert sind (Abb. 3.35). Unter niedrigen Lichtbedingungen konnten in der apikalen und der basalen Krümmungszone vergleichbare Intensitäten der DGCR gemessen werden. Sieben Tage **nach Lichterhöhung** war die **Krümmungsproduktion in der basalen Zone** dagegen - im Vergleich zu Pflanzen unter Niedrig-Licht - **erhöht**.

Der Anstieg der Produktion des zweiten Auxin-abhängigen Motors nach Lichtmodifikation könnte mehrere Gründe haben. Zum einen stellt der **polare Auxin-Transport** in der Wurzelspitze einen **energieabhängigen Prozess** dar (Lomax et al. 1985, Friml & Palme 2002). Nur ein kleiner Teil des Auxins, das im sauren Milieu der Zellwand in der protonierten Form (IAAH) vorliegt, diffundiert durch die Plasmamembran in die Zellen. Das meiste Auxin wird dagegen mittels des Influx-Carriers AUX1 aufgenommen, wobei ein Symport eines IAAH mit einem einzelnen Proton stattfindet. Dieser Co-Transport ist abhängig von einem Protonen-Gradienten, der von einer Protonen-pumpenden ATPase über der Plasmamembran aufrechterhalten wird (Estelle 1998, Friml & Palme 2002). Die für diese H⁺-ATPase nötige Energie kann in Wurzeln aus respiratorischen Prozessen geliefert werden. Eine Lichterhöhung am Spross führt – wie dargestellt – zu einem vermehrten Transport von Kohlenhydraten in die Wurzeln, die nicht nur eine Steigerung des Wurzelwachstums, sondern auch der Respiration zur Folge hat, wie Bingham und

Stevenson (1993) zeigen konnten. Dies könnte über eine Erhöhung der ATPase-Aktivität den Auxin-Transport fördern und somit die verstärkte Krümmungsproduktion in der basalen Krümmungszone unter höheren Lichtbedingungen auslösen.

Eine weitere mögliche Ursache für die erhöhte Krümmungsrate in der basalen Zone könnte eine **Steigerung der Frequenz von Circumnutationen** unter höheren Lichtintensitäten darstellen. Circumnutationen sind Wachstums- oder Windebewegungen von Wurzeln, die auf zeitlich ungleichem Wachstum der Wurzelflanken beruhen (Lexikon der Biologie 1999). Sie beeinflussen zwar die gravitrope Reaktion, kommen aber unabhängig davon zustande, wie in Experimenten unter Schwerelosigkeit gezeigt werden konnte (Antonsen et al. 1995). Im Gegensatz zum Gravitropismus geht man bei Circumnutationen von einer endogenen Kontrolle aus (Darwin & Darwin 1880, Shabala & Newman 1997b). Auch wenn es über die Regulation der Circumnutationen noch sehr viele offene Fragen gibt, so könnte es doch sein, dass beide Krümmungsreaktionen über ähnliche Mechanismen reguliert werden (Kitazawa et al. 2005). Es gibt Hinweise, dass sowohl Auxin als auch Ca^{2+} - und H^+ -Flüsse nicht nur bei der gravitropen Antwort eine Rolle spielen, sondern auch bei Circumnutationen (Minorsky 2003).

Die Frequenz dieser Oszillationen ist von Umweltbedingungen, wie der externen Nährstoff-Verfügbarkeit abhängig (Shabala & Newman 1997a, Walter et al. 2003). Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass der nach Licherhöhung verstärkte Saccharose-Import in die Wurzeln nicht nur zu einer Steigerung des Wurzelwachstums führt, sondern auch die Frequenz und Amplitude der Circumnutationen beeinflusst. Wurzeln, deren Sprosse höheren Lichtbedingungen ausgesetzt waren, wiesen eine kürzere Periodendauer und eine größere Amplitude auf als Pflanzen unter Niedrig-Licht. Circumnutationen entstehen – wie auch gravitrope Krümmungen - in der Elongationszone (Shabala & Newman 1997a). Aufgrund dessen könnte nach Licherhöhung die erhöhte Krümmungsproduktion in der basalen Zone, die der zentralen Elongationszone zugeordnet wird, auf die Steigerung der Circumnutations-Frequenzen zurückzuführen sein. Nach dem Drehen der Pflanzen um 90° werden die Circumnutationen der gravitropen Krümmung überlagert, so dass zeitweise eine Krümmung entgegengesetzt des Schwerkraftvektors beobachtet werden kann. Interessanterweise entsprach die Periodendauer der Circumnutationen während der gravitropen Reaktion in etwa der Periodendauer vor dem Drehen. Die erhöhte Frequenz der Circumnutationen unter Hoch-Licht führte somit dazu, dass Wurzeln unter beiden Lichtbedingungen 2,5 Stunden nach der Rotation der Pflanzen um 90° einen ähnlichen Krümmungswinkel aufwiesen (Abb. 3.31 B und Abb. 3.32).

Vermutlich ermöglichen die circumnutatorischen Krümmungsbewegungen, dass Wurzeln unter natürlichen Bedingungen mit hinreichender Flexibilität ein heterogenes Substrat durchwachsen können. Die Dynamik, Kinematik sowie die Regulation von Circumnutationen stellen jedoch ein noch weitgehend unbearbeitetes Feld der pflanzenbiologischen Untersuchungen dar. In zukünftigen Studien sollten diese daher in besonderem Maße mit den in dieser Arbeit vorgestellten Methoden analysiert werden.

5 Zusammenfassung

Ziel dieser Doktorarbeit war es, den Einfluss des Lichtes auf die Dynamik des Wachstums von *Nicotiana tabacum* in Kombination mit der Nährstoff-Verfügbarkeit und der gravitropen Krümmungsreaktion von Wurzeln zu charakterisieren. Die Biomasse der Keimlinge, das Wachstum der Primärwurzel sowie die Zucker-Konzentrationen in Wurzel und Spross nahmen nach Lichterhöhung am Spross (von 60 auf 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) signifikant zu. Die Dynamik des Wurzelwachstums wurde mit einer zeitlich und räumlich hochauflösenden Methode untersucht. Es konnte damit gezeigt werden, dass Wurzeln bereits vier Tage nach Lichterhöhung Wachstumsgeschwindigkeiten und Wuchsraten-Verteilungen auswiesen, die dem Wachstum der Pflanzen entsprachen, die bei konstant hohen Lichtbedingungen (300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) angezogen wurden. Dabei wurde deutlich, dass jede Phase der Zellteilung und Zellstreckung durch die Lichtbehandlung in sehr ähnlicher Weise beeinflusst wurde. In den ersten drei Stunden nach Lichtmodifikation wurde ein repetitives Muster von starken Wachstumsschwankungen beobachtet, wobei die erste Phase der Reaktion (0,5 h) auf hydraulische Anpassungen und die zweite Phase (2,5 h) auf photosynthetische Akklimatisierung zurückzuführen sein könnte. Versuche mit externer Zugabe von Saccharose und transgenen Pflanzen, die eine Hemmung der Saccharose-Synthese aufweisen, lieferten starke Hinweise, dass die vom Spross exportierte Saccharose die Zunahme des Wurzelwachstums nach Lichterhöhung auslösen kann.

Hohe Lichtintensitäten am Spross ermöglichten zudem, dass Keimlinge unter Nährstoff-Mangel einige Tage eher ihre Seitenwurzel-Produktion steigern konnten, als Pflanzen unter niedrigen Lichtbedingungen. Dies weist auf die enge Verknüpfung und koordinierte Kontrolle zwischen dem Kohlenhydrat- und Nährstoff-Metabolismus hin.

Anhand zweier *Arabidopsis*-Mutanten mit einer Hemmung der Auxin-vermittelten Signalkaskade konnte gezeigt werden, dass in Wurzelspitzen nach dem Drehen der Pflanzen um 90° zwei räumlich getrennte Krümmungsproduktions-Zonen bzw. -Motoren existieren, wobei nur der basal gelegene Motor Auxin-abhängig zu sein scheint. Nach Lichterhöhung konnte ein Anstieg der Produktion dieses Motors nachgewiesen werden, der auf eine Zunahme des energieabhängigen Auxin-Transportes und/oder auf eine Steigerung der Frequenz von Circumnutationen zurückzuführen sein könnte. Aufgrund der Circumnutationen, die zeitweise zu einer Krümmung entgegengesetzt des Schwerkraftvektors führten, wiesen Wurzeln unter niedrigen und hohen Lichtbedingungen 2,5 Stunden nach der Rotation vergleichbare Krümmungswinkel auf.

6 Abstract

The aim of this Ph.D. thesis was to characterise the effects of light, also in combination with nutrient availability or gravitropic response, on the growth dynamics of *Nicotiana tabacum*. Seedling biomass, primary root growth as well as sugar concentration in root and shoot increased significantly with increasing light intensity (60 to 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). To quantitatively analyse the dynamics of root growth a digital image sequence processing method with a high temporal and spatial resolution was applied. Upon transition from low to high light intensities, root growth increased continuously within four days, reaching the steady-state level measured in plants that had been cultivated in high-light conditions (300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). The entire root growth zone, and hence each phase of cellular development, was affected very similarly by the increasing light treatment. During the first three hours after light increase, strong growth fluctuations were observed repeatedly. While the first phase of the reaction (0.5 h) could be attributed to hydraulic acclimation, the second phase (2.5 h) could be ascribed to photosynthetic acclimation. Experiments with externally applied sucrose and with transgenic plants having reduced capacities for sucrose synthesis indicated clearly that increasing light intensity rapidly enhanced root growth by enhancing sucrose export from shoot to root.

High light intensity facilitated increasing lateral root production under nutrient deficiency some days earlier than low light conditions. This demonstrates the tight and coordinated interaction between carbohydrate and nutrient metabolism.

By using two *Arabidopsis* mutants, in which auxin-mediated signaling is impaired, two spatially separated zones and motors of curvature production in root tips were revealed after rotating the plants by 90°. Only the second motor, which is located more basal, seems to be auxin dependent. The increase of curvature production of this motor after light changing may be attributable to an increase of the energy-dependent auxin-transport or to an enhancement of circumnutation frequency. Due to the circumnutations, leading to a transient curvature in the opposite direction of gravitropic force, roots exhibited under low and high light intensity 2.5 h after rotation by 90° comparable curvature angles.

7 Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Reihe von Hypothesen formuliert, die in den kommenden Jahren durch die Kombination der digitalen Bildsequenz-Analyse mit anderen physiologischen und molekularbiologischen Untersuchungen überprüft werden sollten. Aufgrund der dargestellten Resultate erscheinen folgende Aspekte als besonders interessant:

In dieser Studie konnte zum ersten Mal ein charakteristisches Muster des Wurzelwachstums in den ersten Stunden nach der Lichtänderung gezeigt werden. Fluoreszenzmessungen lieferten starke Hinweise, dass die Wachstumsreaktion durch einen Saccharose-Import in die Wurzeln beeinflusst wird. Diese Hypothese könnte überprüft werden, indem zeitgleich mit den Wachstumsmessungen auch der Transport von radioaktiv markierter Saccharose aus dem Spross in die Wurzeln verfolgt würde. Dies kann entscheidend zum Verständnis der mechanistischen Prozesse beitragen, welche die Anpassung des Wurzelwachstums nach Lichtfluktuationen ermöglichen. Es ist dabei besonders wichtig, die Antworten des Wurzelwachstums in den ersten Stunden nach Änderungen der Umweltbedingungen genauer zu analysieren. Da Genexpression und Signalkaskaden oft innerhalb sehr kurzer Zeiträume reguliert werden, sollte es von besonderem Interesse sein, die Dynamiken der Pflanzenanpassung in Zeiträumen von Stunden bis Minuten genauer zu untersuchen.

Zudem wurde in der vorliegenden Arbeit deutlich, dass die Stoffwechselvorgänge sowie das Wachstum von Blättern und Wurzeln koordiniert reguliert und kontrolliert werden. Um die zugrunde liegenden Kontrollmechanismen aufklären zu können, wäre die zeitgleiche, nicht-invasive Analyse des Blatt- und Wurzelwachstums von großem Vorteil. Zum einen sollte das Wachstum auf Einzelblatt- bzw. Wurzel-Ebene mit der hochauflösenden DISP-Methode untersucht und zum anderen analog zum beschriebenen Blatt-Screening-Verfahren auch ein Wurzel-Screening entwickelt werden mit dem Ziel, das Wachstum des gesamten Wurzelsystems quantifizieren zu können. Zudem sollten die Wachstumsanalysen mit Messungen anderer physiologischer Prozesse, wie der Nährstoff-Aufnahme und -Assimilation, kombiniert werden, wobei der Einsatz radioaktiv markierter Nährelemente vorteilhaft wäre. Wichtige Informationen könnte auch die Verfolgung der transienten Expression GFP-gekoppelter Proteine mithilfe von bildverarbeitenden Methoden am lebenden Objekt liefern. Somit wäre es möglich, molekularbiologische Prozesse und Wachstumsmuster gleichzeitig zu studieren. Diese Untersuchungen würden

unter variierenden Umweltbedingungen einen immensen Erkenntnisgewinn über regulatorische Prozesse der Zellteilung und Zellstreckung sowie des pflanzlichen Metabolismus, einschließlich der Verknüpfung zwischen dem Kohlenhydrat- und Nährstoff-Metabolismus, bedeuten.

Die Krümmungsreaktion der Wurzeln nach dem Drehen der Pflanzen um 90° wird - wie dargestellt - durch die Lichtintensität am Spross beeinflusst. Mittels NMR-Technik (Nuclear Magnetic Resonance, Kernspinresonanz) könnte das Wurzelwachstum in natürlichem, heterogenem Bodensubstrat verfolgt und die Entwicklung des gesamten Wurzelsystems in Abhängigkeit von Lichtbedingungen bzw. Nährstoff-Verfügbarkeiten quantifiziert werden. Es ist denkbar, dass Mutanten, deren gravitrope Reaktion inhibiert ist, ein heterogenes Substrat im Endeffekt langsamer durchwurzeln und damit bei länger anhaltendem Trockenstress gegenüber dem Wildtyp benachteiligt wären. Der Einsatz der NMR-Technik kann auch zur Charakterisierung der gravitropen Krümmungsreaktion von Wurzeln beitragen. Verschiedene Mutanten, deren veränderte gravitrope Reaktion in Agar-Petrischalen-Anzuchten durch Rotation der Pflanzen nachgewiesen wurde, können somit auf ihr Krümmungsverhalten beim Umwachsen von Bodenpartikeln (mit transient variierenden gravitropen Reizen) analysiert werden. Dies könnte Rückschlüsse beispielsweise auf die Bedeutung und Rolle einiger Komponenten der Auxin-vermittelten Signalkaskade beim Gravitropismus erlauben.

Neben den gravitropen Reaktionen von Wurzeln wiesen auch die Frequenz und Amplitude der Circumnutationen eine Abhängigkeit von der Lichtbedingung am Spross auf. Mittels der in dieser Studie vorgestellten Analysemethoden wäre es sinnvoll, die Kinematik und Dynamik der Circumnutationen zu charakterisieren, mit dem Ziel, Hinweise auf die Regulation dieser Krümmungsbewegungen finden zu können. Dabei sollten zunächst die Anzahl und der exakte cytologische Ort der Motoren quantifiziert werden, bevor deren molekulare Natur aufgeklärt werden kann.

Aufgrund der hohen Komplexität sowie der zahlreichen Verflechtungen der physiologischen Prozesse stellt die Entschlüsselung der pflanzlichen Wachstumsregulation eine große Herausforderung, aber zugleich auch ein spannendes Forschungsgebiet dar.

8 Literaturverzeichnis

- Achard P., Cheng H., De Grauwe L., Decat J., Schoutteten H., Moritz T., Van Der Straeten D., Peng J. & Harberd N.P. (2006) Integration of Plant Responses to Environmentally Activated Phytohormonal Signals. *Science* 311, 91-94.
- Aguirrezabal L.A.N., Deleens E. & Tardieu F. (1994) Root elongation rate is accounted for by intercepted PPFD and source-sink relations in field and laboratory-grown sunflower. *Plant, Cell and Environment* 17, 443-450.
- Aiken R.M. & Smucker A.J.M. (1996) Root system regulation of whole plant growth. *Annual Review of Phytopathology* 34, 325-346.
- Aloni R., Langhans M., Aloni E. & Ullrich C.I. (2004) Role of cytokinin in the regulation of root gravitropism. *Planta* 220, 177-182.
- Antonsen F., Johnsson A., Perbal G. & Driss-Ecole D. (1995) Oscillatory growth movements of roots in weightlessness. *Physiologia Plantarum* 95, 596-603.
- Areata R.B. & Fukai S. (1984) Effects of solar radiation on growth of cassava (*Manihot esculenta* Crantz.). II. Fibrous root length. *Field Crop Research* 9, 361-371.
- Bassani M., Neumann P.M. & Gepstein S. (2004) Differential expression profiles of growth-related genes in the elongation zone of maize primary roots. *Plant Molecular Biology* 56, 367-380.
- Beemster G.T.S. & Baskin T.I. (2000) STUNTED PLANT 1 Mediates Effects of Cytokinin, But Not of Auxin, on Cell Division and Expansion in the Root of Arabidopsis. *Plant Physiology* 124, 1718-1727.
- Bigün J. & Granlund G.H. (1987) Optical orientation detection of linear symmetry. Proceedings of the First International Conference on Computer Vision, ICCV, London, England.
- Bingham I.J. & Stevenson E.A. (1993) Control of root growth: effects of carbohydrates on the extension, branching and rate of respiration of different fractions of wheat roots. *Physiologia Plantarum* 88, 149-158.
- Bingham I.J., Blackwood J.M. & Stevenson E.A. (1997) Site, Scale and Time-course for Adjustments in Lateral Root Initiation in Wheat Following Changes in C and N Supply. *Annals of Botany* 80, 97-106.
- Bingham I.J., Blackwood J.M. & Stevenson E.A. (1998) Relationship between tissue sugar content, phloem import and lateral root initiation in wheat. *Physiologia Plantarum* 103, 107-113.

- Birnbaum K., Shasha D.E., Wang J.Y., Jung J.W., Lambert G.M., Galbraith D.W. & Benfey P.N. (2003)** A gene expression map of the Arabidopsis root. *Science* 302, 1956-1960.
- Blancaflor E.B. & Masson P.H. (2003)** Plant Gravitropism. Unraveling the Ups and Downs of a Complex Process. *Plant Physiology* 133, 1677-1690.
- Bloom A.J., Chapin F.S. & Mooney H.A. (1985)** Resource limitation in plants - an economic analogy. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16, 363-392.
- Bloom A.J., Meyerhoff P.A., Tylor A.R. & Rost T.L. (2003)** Root Development and Absorption of Ammonium and Nitrate from the Rhizosphere. *Journal of Plant Growth Regulation* 21, 416-431.
- Borch K., Bouma T.J., Lynch J.P. & Brown K.M. (1999)** Ethylene: a regulator of root architectural responses to soil phosphorus availability. *Plant, Cell and Environment* 22, 425-431.
- Brand U., Grünwald M., Hobe M. & Simon R. (2002)** Regulation of *CLV3* Expression by Two Homeobox Genes in Arabidopsis. *Plant Physiology* 129, 565-575.
- Brockhaus (1986)** Brockhaus Enzyklopädie in vierundzwanzig Bänden, Neunzehnte, völlig neubearbeitete Auflage. F.A. Brockhaus Mannheim.
- Büntemeyer K., Lüthen H. & Böttger M. (1998)** Auxin-induced changes in cell wall extensibility of maize roots. *Planta* 204, 515-519.
- Burgess S.S.O. & Dawson T.E. (2004)** The contribution of fog to the water relations of *Sequoia sempervirens* (D. Don): foliar uptake and prevention of dehydration. *Plant, Cell and Environment* 27, 1023-1034.
- Campbell C.D., Sage R.F., Kocacinar F. & Way D.A. (2005)** Estimation of the whole-plant CO₂ compensation point of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Global Change Biology* 11, 1956-1967.
- Chavarria-Krauser A., Nagel K.A., Scharr H., Palme K., Schurr U. & Walter A. (2006)** Gravitropism in *Arabidopsis* is driven by two motors and the auxin efflux facilitator PIN3 regulates only one of them. *The Plant Journal*, submitted.
- Chen R., Rosen E. & Masson P.H. (1999)** Gravitropism in Higher Plants. *Plant Physiology* 120, 343-350.
- Chen S., Hajirezaei M., Peisker M., Tschiersch H., Sonnewald U. & Börnke F. (2005)** Decreased sucrose-6-phosphate phosphatase level in transgenic tobacco inhibits photosynthesis, alters carbohydrate partitioning, and reduces growth. *Planta* 221, 479-492.
- Chin C.-K., Haas J.C. & Still C.C. (1981)** Growth and sugar uptake of excised root and callus of tomato. *Plant Science Letters* 21, 229-234.

- Cholodny N. (1926)** Beiträge zur Analyse der geotropischen Reaktion. *Jahrbücher für Wissenschaftliche Botanik* 65, 447-459.
- Christ R.A. (1978)** The Elongation Rate of Wheat Leaves, II. Effect of Sudden Light Change on the Elongation Rate. *Journal of Experimental Botany* 29, 611-618.
- Ciesielski T. (1872)** Untersuchungen über die Abwärtskrümmung der Wurzel. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* 1, 1-30.
- Colmer T.D. & Bloom A.J. (1998)** A comparison of NH_4^+ and NO_3^- net fluxes along roots of rice and maize. *Plant, Cell and Environment* 21, 240-246.
- Cosgrove D. (1986)** Biophysical control of plant cell growth. *Annual Review of Plant Physiology* 37, 377-405.
- Cosgrove D. (1999)** Enzymes and other agents that enhance cell wall extensibility. *Annual Review of Plant Physiology. Plant Molecular Biology* 50, 391-417.
- Crawford N.M. (1995)** Nitrate: Nutrient and Signal for Plant Growth. *The Plant Cell* 7, 859-868.
- Coruzzi G. & Bush D.R. (2001)** Nitrogen and Carbon Nutrient and Metabolite Signaling in Plants. *Plant Physiology* 125, 61-64.
- Darwin C. & Darwin F. (1880)** The Power of Movement in Plants. John Murray, London.
- Dörner P. (1998)** Root development: Quiescent center not so mute after all. *Current Biology* 8, R42-44.
- Edelmann H.G. (2002)** Ethylene perception generates gravicompetence in gravi-incompetent leaves of rye seedlings. *Journal of Experimental Botany* 53, 1825-1828.
- Edwards K.L. & Scott T.K. (1974)** Rapid growth response of corn root segments: effects of pH on elongation. *Planta* 119, 27-37.
- Ehleringer J. (1981)** Leaf absorptances of Mohave and Sonoran desert plants. *Oecologia* 49, 366-370.
- Eliasson L. (1968)** Dependence of Root Growth on Photosynthesis in *Populus tremula*. *Physiologia Plantarum* 21, 806-810.
- Eliasson L. & Bollmark M. (1988)** Ethylene as a possible mediator of light-induced inhibition of root growth. *Physiologia Plantarum* 72, 605-609.
- Estelle M. (1998)** Polar Auxin Transport: New Support for an Old Model. *The Plant Cell* 10, 1775-1778.
- Evans M.L. & Ishikawa H. (1997)** Cellular specificity of the gravitropic motor response in roots. *Planta* 203, 115-122.
- Farrar J.F. & Jones D.L. (2000)** The control of carbon acquisition by roots. *New Phytologist* 147, 43-53.
- Forde B. & Lorenzo H. (2001)** The nutritional control of root development. *Plant and Soil* 232, 51-68.

- Forde B.G. (2002)** Local and long-range signalling pathways regulating plant responses to nitrate. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 53, 203-224.
- Franco-Zorrilla J.M., Martin A.C., Leyva A. & Paz-Ares J. (2005)** Interaction between Phosphate-Starvation, Sugar, and Cytokinin Signaling in Arabidopsis and the Roles of Cytokinin Receptors CRE1/AHK4 and AHK3. *Plant Physiology* 138, 847-857.
- Franke W. (1997)** Nutzpflanzenkunde. Nutzbare Gewächse der gemäßigten Breiten, Subtropen und Tropen. *Georg Thieme Verlag*, Stuttgart, New York.
- Freixes S., Thibaud M.-C., Tardieu F. & Muller B. (2002)** Root elongation and branching is related to local hexose concentration in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant, Cell and Environment* 25, 1357-1366.
- Friml J. & Palme K. (2002)** Polar auxin transport – old questions and new concepts? *Plant Molecular Biology* 49, 273-284.
- Friml J., Wisniewska J., Benkova E., Mendgens K. & Palme K. (2002)** Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in *Arabidopsis*. *Nature* 415, 806-809.
- Fu X., Cheng H., Chavarria-Krauser A., Dovzhenko A., Moritz T., Nagel K.A., Scharr H., Li X., Findlay K., Walter A., Palme K., Peng J. & Harberd N.P. (2006)** DELLAs decode auxin differential in root gravitropism. *The Plant Cell*, submitted.
- Fukayama H., Uchida N., Azuma T. & Yasuda T. (1998)** Light dependent activation of CO₂ assimilation and the ratio of Rubisco activase to Rubisco during leaf aging of rice (*Oryza sativa*). *Physiologia Plantarum* 104, 541-548.
- Genty B., Briantais J.M. & Baker N.R. (1989)** The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* 990, 87-92.
- Gerendas J. & Schurr U. (1999)** Physicochemical aspects of ion relations and pH regulation in plants: a quantitative approach. *Journal of Experimental Botany* 50, 1101-1114.
- Han Q., Yamaguchi E., Odaka N. & Kakubari Y. (1999)** Photosynthetic induction responses to variable light under field conditions in three species grown in the gap and understory of a *Fagus crenata* forest. *Tree Physiology* 19, 625-634.
- Hartmann U., Sagasser M., Mehrtens F., Stracke R. & Weisshaar B. (2005)** Differential combinatorial interactions of *cis*-acting elements recognized by R2R3-MYB, BZIP, and BHLH factors control light-responsive and tissue-specific activation of phenylpropanoid biosynthesis genes. *Plant Molecular Biology* 57, 155-171.
- Haußecker H. & Spies H. (1999)** Motion. In: *Handbook of Computer Vision and Applications*, edited by Jähne B., Haußecker H. & Geißler P., *Academic Press*, San Diego, CA, USA.

- Ho S.-L., Chao Y.-C., Tong W.-F. & Yu S.-M. (2001)** Sugar Coordinately and Differentially Regulates Growth- and Stress-Related Gene Expression via a Complex Signal Transduction Network and Multiple Control Mechanisms. *Plant Physiology* 125, 877-890.
- Hobe M., Müller R., Grünewald M., Brand U. & Simon R. (2003)** Loss of CLE40, a protein functionally equivalent to the stem cell restricting signal CLV3, enhances root waving in *Arabidopsis*. *Development Genes and Evolution* 213, 371-381.
- Hu X., Neill S.J., Tang Z. & Cai W. (2005)** Nitric Oxide Mediates Gravitropic Bending in Soybean Roots. *Plant Physiology* 137, 663-670.
- Hodge A. (2004)** The plastic plant: root responses to heterogeneous supplies of nutrients. *New Phytologist* 162, 9-24.
- Van't Hof J. (1968)** Control of cell progression through the mitotic cycle by carbohydrate provision. *The Journal of Cell Biology* 37, 773-780.
- Hsiao T.C., Acevedo E. & Henderson D.W. (1970)** Maize leaf elongation: Continuous measurements and close dependence on plant-water status. *Science* 168, 590-591.
- Ingestad T. (1982)** Relative addition rate and external concentration; Driving variables used in plant nutrition research. *Plant, Cell and Environment* 5, 443-453.
- Ishikawa H. & Evans M.L. (1993)** The Role of the Distal Elongation Zone in the Response of Maize Roots to Auxin and Gravity. *Plant Physiology* 102, 1203-1210.
- Jones M.G.K., Outlaw W.H. & Lowry O.H. (1977)** Enzymic assay of 10^{-7} to 10^{-14} moles of sucrose in plant tissues. *Plant Physiology* 60, 379-383.
- Kang J. & Turano F.J. (2003)** The putative glutamate receptor 1.1 (AtGLR1.1) functions as a regulator of carbon and nitrogen metabolism in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* 100, 6872-6877.
- Kitazawa D., Hatakedo Y., Kamada M., Fujii N., Miyazawa Y., Hoshino A., Iida S., Fukaki H., Morita M.T., Tasaka M., Suge H. & Takahashi H. (2005)** Shoot circumnutation and winding movements require gravisensing cells. *Proceedings of the National Academy of Science* 102, 18742-18747.
- Koch K.E. (1996)** Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annual Review of Plant Physiology. Plant Molecular Biology* 47, 509-540.
- Krause G.H. & Weis E. (1991)** Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42, 313-349.
- Kurata T. & Yamamoto K.T. (1997)** Light-stimulated root elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Physiology* 151, 346-351.
- Lambers H., Chapin F.S. & Pons T.L. (2000)** Plant Physiological Ecology. *Springer-Verlag*, New York, Berlin, Heidelberg.

- Lexikon der Biologie (1999)** *Lexikon der Biologie in fünfzehn Bänden. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.*
- Lockhart J.A. (1965)** An analysis of irreversible plant cell elongation. *Journal of Theoretical Biology* 8, 264-275.
- Lomax T.L., Mehlhorn R.J. & Briggs W.R. (1985)** Active auxin uptake by zucchini membrane vesicles: Quantitation using ESR volume and Δ pH determinations. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* 82, 6541-6545.
- Malamy J.E. & Ryan K.S. (2001)** Environmental Regulation of Lateral Root Initiation in Arabidopsis. *Plant Physiology* 127, 899-909.
- Ma Z., Baskin T.I., Brown K.M. & Lynch J.P. (2003)** Regulation of Root Elongation under Phosphorus Stress Involves Changes in Ethylene Responsiveness. *Plant Physiology* 131, 1381-1390.
- Maxwell K. & Johnson G.N. (2000)** Chlorophyll fluorescence – A practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51, 659-668.
- Minorsky P.V. (2003)** The Hot and the Classic. *Plant Physiology* 132, 1779-1780.
- Mott K.A. & Buckley T.N. (2000)** Patchy stomatal conductance: emergent collective behaviour of stomata. *Trends in Plant Science* 5, 258-262.
- Mühling K.H., Plieth C., Hansen U.-P. & Sattelmacher B. (1995)** Apoplastic pH of intact leaves of *Vicia faba* as influenced by light. *Journal of Experimental Botany* 46, 377-382.
- Muller B., Stosser M. & Tardieu F. (1998)** Spatial distributions of tissue expansion and cell division rates are related to irradiance and to sugar content in the growing zone of maize roots. *Plant, Cell and Environment* 21, 149-158.
- Nagel K. (2003)** Temperaturabhängigkeit der dynamischen Interaktion zwischen Blatt- und Wurzelwachstum bei *Zea mays*. Diplomarbeit, Heidelberg.
- Nagel K.A., Schurr U. & Walter A. (2006)** Dynamics of root growth stimulation in *Nicotiana tabacum* in increasing light intensity. *Plant, Cell and Environment*, accepted.
- Newman I.A. (2001)** Ion transport in roots: measurement of fluxes using ion-selective microelectrodes to characterize transporter function. *Plant, Cell and Environment* 24, 1-14.
- Nultsch W. (2001)** *Allgemeine Botanik. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.*
- Pahlavanian A.M. & Silk W.K. (1988)** Effect of Temperature on Spatial and Temporal Aspects of Growth in the Primary Maize Root. *Plant Physiology* 87, 529-532.
- Paul M.J. & Driscoll S.P. (1997)** Sugar repression of photosynthesis: the role of carbohydrates in signalling nitrogen deficiency through source:sink imbalance. *Plant, Cell and Environment* 20, 110-116.

- Perbal G. & Driss-Ecole D. (2002)** Contributions of Space Experiments to the Study of Gravitropism. *Journal of Plant Growth Regulation* 21, 156-165.
- Pilet P.E. & Ney D. (1978)** Rapid, Localized Light Effect on Root Growth in Maize. *Planta* 144, 109-110.
- McQueen-Mason S. (2005)** Cell walls: the boundaries of plant development. *New Phytologist* 166, 717-722.
- Radin J.W., Parker L.L. & Sell C.R. (1978)** Partitioning of sugar between growth and nitrate reduction in cotton roots. *Plant Physiology* 62, 550-553.
- Riou-Khamlichi C., Menges M., Healy J.M.S. & Murray J.A.H. (2000)** Sugar Control of the Plant Cell Cycle: Differential Regulation of *Arabidopsis* D-Type Cyclin Gene Expression. *Molecular and Cellular Biology*, 4513-4521.
- Roitsch T. (1999)** Source-sink regulation by sugar and stress. *Current Opinion in Plant Biology* 2, 198-206.
- Ruffy T.W., Raper C.D. & Jackson W.A. (1981)** Nitrogen assimilation, root growth and whole plant response of soybean to root temperature, and to carbon dioxide and light in the aerial environment. *New Phytologist* 88, 607-619.
- Saglio P.H. & Pradet A. (1980)** Soluble Sugars, Respiration, and Energy Charge during Aging of Excised Maize Root Tips. *Plant Physiology* 66, 516-519.
- Scheible W.-R., Gonzalez-Fontes A., Lauerer M., Müller-Röber B., Caboche M. & Stitt M. (1997a)** Nitrate acts as a signal to induce organic acid metabolism and repress starch metabolism in tobacco. *The Plant Cell* 9, 783-798.
- Scheible W.-R., Lauerer M., Schulze E.-D., Caboche M. & Stitt M. (1997b)** Accumulation of nitrate in the shoot acts as a signal to regulate shoot-root allocation in tobacco. *The Plant Journal* 11, 671-691.
- Schmid M., Davison T.S., Henz S.R., Page U.T., Demar M., Vingron M., Schölkopf B., Weigel D. & Lohmann J.U. (2005)** A gene expression map of *Arabidopsis thaliana* development. *Nature* 37, 501-506.
- Schmundt D., Stitt M., Jähne B. & Schurr U. (1998)** Quantitative analysis of the local rates of growth of dicot leaves at a high temporal and spatial resolution, using image sequence analysis. *The Plant Journal* 16, 505-514.
- Schopfer P., Liskay A., Bechthold M., Frahy G. & Wagner A. (2002)** Evidence that hydroxyl radicals mediate auxin-induced extension growth. *Planta* 214, 821-828.
- Scott A.C. & Allen N.S. (1999)** Changes in cytosolic pH within *Arabidopsis* root columella cells play a key role in the early signaling pathways for root gravitropism. *Plant Physiology* 121, 1291-1298.
- Shabala S.N. & Newman I.A. (1997a)** Proton and calcium flux oscillations in the elongation region correlate with root nutation. *Physiologia Plantarum* 100, 917-926.

- Shabala S.N. & Newman I.A. (1997b)** Root nutation modelled by two ion flux-linked growth waves around the root. *Physiologia Plantarum* 101, 770-776.
- Sharp R.E., Silk W.K. & Hsiao C. (1988)** Growth of the maize primary root at low water potentials. I. Spatial distribution of expansion growth. *Plant Physiology* 87, 50-57.
- Sivasankar S. & Oaks A. (1996)** Nitrate assimilation in higher plants: The effect of metabolites and light. *Plant Physiology and Biochemistry* 34, 609-620.
- Smart D.R. & Bloom A.J. (1998)** Investigations of ion absorption during NH_4^+ exposure I. Relationship between H^+ efflux and NO_3^- absorption. *Journal of Experimental Botany* 49, 95-100.
- Smeekens S. (2000)** Sugar-Induced Signal Transduction in Plants. *Annual Review of Plant Physiology. Plant Molecular Biology* 51, 49-81.
- Street H.E. & McGregor S.M. (1952)** The Carbohydrate Nutrition of Tomato Roots. III The Effects of External Sucrose Concentration on the Growth and Anatomy of Excised Roots. *Annals of Botany* 62, 185-205.
- Taiz L. & Zeiger E. (2000)** Physiologie der Pflanzen. *Spektrum Akademischer Verlag*, Heidelberg, Berlin.
- Takahashi F., Sato-Nara K., Kobayashi K., Suzuki M. & Suzuki H. (2003)** Sugar-induced adventitious roots in *Arabidopsis* seedlings. *Journal of Plant Research* 116, 83-91.
- Terjung S. (2004)** Artübergreifende Bestimmung von Parametern des Primärwurzelwachstums durch raum-zeitlich hochaufgelöste Bildsequenz-Analyse unter besonderer Berücksichtigung der Variation der externen Nährstoffverfügbarkeit. Inaugural-Dissertation, Heidelberg.
- Thaler P. & Pages L. (1996)** Root apical diameter and root elongation rate of rubber seedlings (*Hevea brasiliensis*) show parallel responses to photoassimilate availability. *Physiologia Plantarum* 97, 365-371.
- "The Arabidopsis Genome Initiative" (2000)** Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 408, 796-815.
- Toko K., Iiyama S., Tanaka C., Hayashi K., Yamafuji K. & Yamafuji K. (1987)** Relation of growth process to spatial patterns of electric potential and enzyme activity in bean roots. *Biophysical Chemistry* 27, 39-58.
- Tomos D. & Pritchard J. (1994)** Biophysical and biochemical control of cell expansion in roots and leaves. *Journal of Experimental Botany* 45, 1721-1731.
- Trewavas A.J. (1983)** Nitrate as a plant hormone. In: *Interactions between nitrogen and growth regulators in the control of plant development, (monograph 9)*, edited by Jackson M.B.; Oxford, British Plant Growth Regulator Group, 97-110.

- Trewavas A.J. & Malho R. (1997)** Signal perception and transduction: the origin of the phenotype. *The Plant Cell* 9, 1181-1195.
- Vincent C.D. & Gregory P.J. (1989)** Effects of temperature on the development and growth of winter wheat roots. I. Controlled glasshouse studies of temperature, nitrogen and irradiance. *Plant and Soil* 119, 87-97.
- Vucinic Z. & Vuletic M. (1995)** The Effect of Addition of Sucrose on the Energy Status and the Trans-Root Electrical Potential Difference of Excised Maize Roots. *Plant and Cell Physiology* 36, 45-52.
- Wagner N. (1937)** Über die Mitosenverteilung in Wurzelspitzen bei geotropischen Krümmungen. *Planta* 27, 751-773.
- Waites R. & Simon R. (2000)** Signaling Cell Fate in Plant Meristems: Three Clubs on One Trousle. *Cell* 103, 835-838.
- Walch-Liu P., Filleur S., Gan Y. & Forde B.G. (2005)** Signalling mechanisms integrating root and shoot responses to changes in the nitrogen supply. *Photosynthesis Research* 83, 239-250.
- Walter A. & Schurr U. (1999)** The modular character of growth in *Nicotiana tabacum* plants under steady state nutrition. *Journal of Experimental Botany* 50, 1169-1177.
- Walter A. (2001)** Räumliche und zeitliche Wachstumsmuster in Wurzeln und Blättern dikotyler Pflanzen. Inaugural-Dissertation, Heidelberg.
- Walter A., Spies H., Terjung S., Küsters R., Kirchgeßner N. & Schurr U. (2002)** Spatio-temporal dynamics of expansion growth in roots: automatic quantification of diurnal course and temperature response by digital image sequence processing. *Journal of Experimental Botany* 53, 689-698.
- Walter A., Feil R. & Schurr U. (2003)** Expansion dynamics, metabolite composition and substance transfer of the primary root growth zone of *Zea mays* L. grown in different external nutrient availabilities. *Plant, Cell and Environment* 26, 1451-1466.
- Walter A. & Schurr U. (2005)** Dynamics of Leaf and Root Growth: Endogenous Control versus Environmental Impact. *Annals of Botany* 95, 891-900.
- Wardlaw I.F. (1983)** Sink strength: Its expression in the plant. *Plant, Cell and Environment* 16, 1029-1030.
- Watt M. & Evans J.R. (1999)** Proteoid Roots. Physiology and Development. *Plant Physiology* 121, 317-323.
- Webb D.P. (1976)** Root growth in acer saccharum marsh. Seedlings: Effects of light intensity and photoperiod on root elongation rates. *Botanical Gazette* 137, 211-217.
- Went F.W. & Thimann K.V. (1937)** Phytohormones. *Macmillan*, New York.
- Werner T., Motyka V., Laucou V., Smets R., Onckelen H.V. & Schmülling T. (2003)** Cytokinin-Deficient Transgenic Arabidopsis Plants Show Multiple Developmental

Alterations Indicating Opposite Functions of Cytokinins in the Regulation of Shoot and Root Meristem Activity. *The Plant Cell* 15, 2532-2550.

Wolverton C., Ishikawa H. & Evans M.L. (2002) The Kinetics of Root Gravitropism: Dual Motors and Sensors. *Journal of Plant Growth Regulation* 21, 102-112.

Van der Weele C.M., Jiang H.S., Palaniappan K.K., Ivanov V.B., Palaniappan K. & Baskin T.I. (2003) A New Algorithm for Computational Image Analysis of Deformable Motion at High Spatial and Temporal Resolution Applied to Root Growth. Roughly Uniform Elongation in the Meristem and Also, after an Abrupt Acceleration, in the Elongation Zone. *Plant Physiology* 132, 1138-1148.

Virk S.S. & Cleland R.E. (1988) Calcium and the mechanical properties of soybean cell walls: possible role of calcium and protons in cell-wall loosening. *Planta* 176, 60-67.

Zhang H., Jennings A., Barlow P.W. & Forde B.G. (1999) Dual pathways for regulation of root branching by nitrate. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* 96, 6529-6534.

Zhang H. & Forde B.G. (2000) Regulation of *Arabidopsis* root development by nitrate availability. *Journal of Experimental Botany* 51, 51-59.

9 Abkürzungsverzeichnis

Abb.: Abbildung

ADP: Adenosindiphosphat

ATP: Adenosintriphosphat

bzw.: beziehungsweise

°C: Grad Celsius

ca.: circa

CCD: *Charge Coupled Device*, Chip zur Aufnahme in digitalen Kameras

CEZ: *Central Elongation Zone*

cm: Zentimeter

d: Tag

DEZ: *Distal Elongation Zone*

DGCR: *Differential Growth Curvature Rate*, Krümmungsproduktionsrate in ° mm⁻¹ h⁻¹

DISP: *Digital Image Sequence Processing*, digitale Bildsequenz-Verarbeitung

EDTA: Ethylendiamintetraacetat

et al.: et alii (und andere)

ETR: Elektronentransportrate des Photosystems II

ϵ : Extinktionskoeffizient [l cm⁻¹ mol⁻¹]

Fa.: Firma

FG: Frischgewicht

h: Stunde

HEPES: N-(2-Hydroxyethyl)-piperazin-N'-(2-ethansulfonsäure)

L.: Linné, C. Ritter von

m: Meter

mg: Milligramm

min: Minute

ml: Milliliter

mm: Millimeter

mM: Millimolar

μl: Mikroliter

μm: Mikrometer

NADP: Nicotinamidadenindinukleotidphosphat

nm: Nanometer

NMR: *Nuclear Magnetic Resonance*, Kernspinresonanz

NPQ: *Non-Photochemical Quenching*, nicht-photochemische Energielöschung des Photosystems II

OD: Optische Dichte

PAR: *Photosynthetically Active Radiation*, photosynthetisch aktive Strahlung

PPFD: *Photosynthetic Photon Flux Density*, photosynthetische Photonenflussdichte

ppm: *parts per million*

REGR: *Relative Elemental Growth Rate*, Relative Element-Wuchsrate in % h⁻¹

RGR: *Relative Growth Rate*, Relative Wuchsrate in % d⁻¹

s: Sekunde

SE: *Standard Error*, Standardfehler

SPP: Transgene Tabaklinie, bei der die Aktivität des Enzyms Saccharose-6-Phosphat Phosphatase (SPP) reduziert ist.

Tris: Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan

v: Wachstumsgeschwindigkeit

v_{Tip}: Absolute Wuchsgeschwindigkeit der Wurzel (Elongations-Geschwindigkeit der Wurzelspitze)

WT: Wildtyp

z.B.: zum Beispiel

10 Begriffsdefinitionen

Allorhize Bewurzelung: aus Primär- und Seitenwurzeln bestehendes Wurzelsystem.

Amyloplasten: stärkehaltige Plastiden.

Apikal: an der Wurzelspitze gelegen.

Apoplast: Kontinuum der Zellwände, extrazellulärer Raum.

Basal: an der Basis eines Organs gelegen.

Basipetal: von der Spitze zur Basis.

Circumnutationen: Wachstums- oder Windebewegungen von Pflanzen oder Pflanzenorganen, die auf zeitlich ungleichem Wachstum verschiedener Organflanken beruhen.

Columella: Zellen der Kalyptra, welche die zur Graviperzeption befähigten Zellen (Statocyten) einschließen.

Cortex: Rinde; der mit Grundgewebe gefüllte Teil der Sprossachse und der Wurzel der zwischen Zentralzylinder und Epidermis liegt.

Etiolierung: Vergeilung von Pflanzen bei fehlender oder unzureichender Belichtung.

Framegrabber: Zusatz-Karten für den Computer, die ein Einzelbild (Frame) aus einer Videoquelle (in dieser Arbeit eine Kamera) digitalisieren können.

Halbwertsbreite: Breite der Verteilungskurve der relativen Wachsrates, die in halber Höhe des Maximalwertes der Kurve gemessen wird.

Halbwertszeit: Zeit, nach der die Hälfte des Anfangswertes erreicht wird.

Interzellulare: Zwischen den Zellen liegender luftgefüllter Hohlraum.

Photonen: Lichtquanten.

Ruhendes Zentrum der Wurzelspitze: Im distalen Bereich des Wurzelapex gelegene Region mit vergleichsweise geringer Teilungsaktivität.

Sink: Alle nicht-photosynthetisch aktiven Organe der Pflanze und Organe, die nicht genügend Photosyntheseprodukte für ihr eigenes Wachstum oder ihren Speicherbedarf bilden, zum Beispiel Wurzeln oder noch nicht ausgewachsene Blätter.

Source: Jedes exportierende Organ der Pflanze, in der Regel ein ausgewachsenes Blatt, das mehr photosynthetische Assimilate produziert als verbraucht.

Statocyten: Zur Graviperzeption befähigte Pflanzenzellen.

Transient: Vorübergehende Abweichung vom Normalzustand.

Turgor: Flüssigkeits-Innendruck einer Zelle.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mir diese Arbeit ermöglicht haben:

Herrn Prof. Dr. Ulrich Schurr möchte ich ganz herzlich danken für die Überlassung des Themas, seine wissenschaftliche Betreuung und sein Interesse am Fortgang der Doktorarbeit.

Herrn Prof. Dr. Rüdiger Simon danke ich für die Übernahme des Korreferats.

Achim Walter gilt mein besonderer Dank für seine aufopfernde Betreuung und für die tatkräftige Unterstützung in allen Bereichen der Arbeit.

Für ihre stete Hilfs- und Diskussionsbereitschaft und die angenehme Zusammenarbeit möchte ich mich bei Andreas Averagesch, Bernd Biskup, Sabine Briem, Andres Chavarria-Krauser, Maja Christ, Kathrin Cloos, Georg Dreissen, Michaela Ernst, Andreas Fischbach, Frank Gilmer, Gunnar Henkes, Gregoire Hummel, Sigi Jahnke, Ingar Janzik, Norbert Kirchgessner, I-Ling Lai, Annelie Lorenz, Shizue Matsubara, Maria Naumann, Roland Pieruschka, Uwe Rascher, Roland Rist, Hanno Scharr, Vicky Temperton, Stefan Terjung, Beate Uhlig, Olivia Virnich, Uwe Weller und Anika Wiese sowie bei allen anderen Mitarbeitern des ICG III bedanken.

Mein ganz besonderer Dank gilt Patricia, Jan und Mareike Barendt für all ihre freundschaftliche Unterstützung und Hilfe.

Bedanken möchte ich mich auch bei meinem Vater, meiner Schwester und meinen Großeltern, dass sie immer hinter mir standen und mir vieles ermöglicht haben sowie bei meiner verstorbenen Mutter, die in mir die Grundlagen für das wissenschaftliche Arbeiten gelegt hat.

Diese Arbeit wurde finanziell von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG, Projektnummer: Schu 946 2-2) und dem Forschungszentrum Jülich unterstützt.

1. **Energiemodelle in der Bundesrepublik Deutschland. Stand der Entwicklung**
IKARUS-Workshop vom 24. bis 25. Januar 1996
herausgegeben von S. Molt, U. Fahl (1997), 292 Seiten
ISBN: 3-89336-205-3
2. **Ausbau erneuerbarer Energiequellen in der Stromwirtschaft**
Ein Beitrag zum Klimaschutz
Workshop am 19. Februar 1997, veranstaltet von der Forschungszentrum Jülich GmbH und der Deutschen Physikalischen Gesellschaft
herausgegeben von J.-Fr. Hake, K. Schultze (1997), 138 Seiten
ISBN: 3-89336-206-1
3. **Modellinstrumente für CO₂-Minderungsstrategien**
IKARUS-Workshop vom 14. bis 15. April 1997
herausgegeben von J.-Fr. Hake, P. Markewitz (1997), 284 Seiten
ISBN: 3-89336-207-X
4. **IKARUS-Datenbank - Ein Informationssystem zur technischen, wirtschaftlichen und umweltrelevanten Bewertung von Energietechniken**
IKARUS. Instrumente für Klimagas-Reduktionsstrategien
Abschlußbericht Teilprojekt 2 „Datenbank“
H.-J. Laue, K.-H. Weber, J. W. Tepel (1997), 90 Seiten
ISBN: 3-89336-214-2
5. **Politiksznarien für den Klimaschutz**
Untersuchungen im Auftrag des Umweltbundesamtes
Band 1. Szenarien und Maßnahmen zur Minderung von CO₂-Emissionen in Deutschland bis zum Jahre 2005
herausgegeben von G. Stein, B. Strobel (1997), 410 Seiten
ISBN: 3-89336-215-0
6. **Politiksznarien für den Klimaschutz**
Untersuchungen im Auftrag des Umweltbundesamtes
Band 2. Emissionsminderungsmaßnahmen für Treibhausgase, ausgenommen energiebedingtes CO₂
herausgegeben von G. Stein, B. Strobel (1997), 110 Seiten
ISBN: 3-89336-216-9
7. **Modelle für die Analyse energiebedingter Klimagasreduktionsstrategien**
IKARUS. Instrumente für Klimagas-Reduktionsstrategien
Abschlußbericht Teilprojekt 1 „Modelle“
P. Markewitz, R. Heckler, Ch. Holzapfel, W. Kuckshinrichs, D. Martinsen, M. Walbeck, J.-Fr. Hake (1998), VI, 276 Seiten
ISBN: 3-89336-220-7

8. **Politiksznarien für den Klimaschutz**
Untersuchungen im Auftrag des Umweltbundesamtes
Band 3. Methodik-Leitfaden für die Wirkungsabschätzung von Maßnahmen zur Emissionsminderung
herausgegeben von G. Stein, B. Strobel (1998), VIII, 95 Seiten
ISBN: 3-89336-222-3
9. **Horizonte 2000**
6. Wolfgang-Ostwald-Kolloquium der Kolloid-Gesellschaft
3. Nachwuchstage der Kolloid- und Grenzflächenforschung
Kurzfassungen der Vorträge und Poster
zusammengestellt von F.-H. Haegel, H. Lewandowski, B. Krahel-Urban (1998),
150 Seiten
ISBN: 3-89336-223-1
10. **Windenergieanlagen - Nutzung, Akzeptanz und Entsorgung**
von M. Kleemann, F. van Erp, R. Kehrbaum (1998), 59 Seiten
ISBN: 3-89336-224-X
11. **Policy Scenarios for Climate Protection**
Study on Behalf of the Federal Environmental Agency
Volume 4. Methodological Guideline for Assessing the Impact of Measures for Emission Mitigation
edited by G. Stein, B. Strobel (1998), 103 pages
ISBN: 3-89336-232-0
12. **Der Landschaftswasserhaushalt im Flußeinzugsgebiet der Elbe**
Verfahren, Datengrundlagen und Bilanzgrößen
Analyse von Wasserhaushalt, Verweilzeiten und Grundwassermilieu im
Flußeinzugsgebiet der Elbe (Deutscher Teil). Abschlußbericht Teil 1.
von R. Kunkel, F. Wendland (1998), 110 Seiten
ISBN: 3-89336-233-9
13. **Das Nitratabbauvermögen im Grundwasser des Elbeeinzugsgebietes**
Analyse von Wasserhaushalt, Verweilzeiten und Grundwassermilieu im
Flußeinzugsgebiet der Elbe (Deutscher Teil). Abschlußbericht Teil 2.
von F. Wendland, R. Kunkel (1999), 166 Seiten
ISBN: 3-89336-236-3
14. **Treibhausgasminderung in Deutschland zwischen nationalen Zielen und internationalen Verpflichtungen**
IKARUS-Workshop am 27.05.1998, Wissenschaftszentrum Bonn-Bad
Godesberg. Proceedings
herausgegeben von E. Läge, P. Schaumann, U. Fahl (1999), ii, VI, 146 Seiten
ISBN: 3-89336-237-1

15. **Satellitenbilddauswertung mit künstlichen Neuronalen Netzen zur Umweltüberwachung**
Vergleichende Bewertung konventioneller und Neuronaler Netzwerkalgorithmen und Entwicklung eines integrierten Verfahrens
von D. Klaus, M. J. Canty, A. Poth, M. Voß, I. Niemeyer und G. Stein (1999), VI, 160 Seiten
ISBN: 3-89336-242-8
16. **Volatile Organic Compounds in the Troposphere**
Proceedings of the Workshop on Volatile Organic Compounds in the Troposphere held in Jülich (Germany) from 27 – 31 October 1997
edited by R. Koppmann, D. H. Ehhalt (1999), 208 pages
ISBN: 3-89336-243-6
17. **CO₂-Reduktion und Beschäftigungseffekte im Wohnungssektor durch das CO₂-Minderungsprogramm der KfW**
Eine modellgestützte Wirkungsanalyse
von M. Kleemann, W. Kuckshinrichs, R. Heckler (1999), 29 Seiten
ISBN: 3-89336-244-4
18. **Symposium über die Nutzung der erneuerbaren Energiequellen Sonne und Wind auf Fischereischiffen und in Aquakulturbetrieben**
Symposium und Podiumsdiskussion, Izmir, Türkei, 28.-30.05.1998.
Konferenzbericht
herausgegeben von A. Özdamar, H.-G. Groehn, K. Ülgen (1999), IX, 245 Seiten
ISBN: 3-89336-247-9
19. **Das Weg-, Zeitverhalten des grundwasserbürtigen Abflusses im Elbeeinzugsgebiet**
Analyse von Wasserhaushalt, Verweilzeiten und Grundwassermilieu im Flußeinzugsgebiet der Elbe (Deutscher Teil). Abschlußbericht Teil 3.
von R. Kunkel, F. Wendland (1999), 122 Seiten
ISBN: 3-89336-249-5
20. **Politiksznarien für den Klimaschutz**
Untersuchungen im Auftrag des Umweltbundesamtes
Band 5. Szenarien und Maßnahmen zur Minderung von CO₂-Emissionen in Deutschland bis 2020
herausgegeben von G. Stein, B. Strobel (1999), XII, 201 Seiten
ISBN: 3-89336-251-7
21. **Klimaschutz durch energetische Sanierung von Gebäuden. Band 1**
von J.-F. Hake, M. Kleemann, G. Kolb (1999), 216 Seiten
ISBN: 3-89336-252-2

22. **Electroanalysis**
Abstracts of the 8th International Conference held from 11 to 15 June 2000 at the University of Bonn, Germany
edited by H. Emons, P. Ostapczuk (2000), ca. 300 pages
ISBN: 3-89336-261-4
23. **Die Entwicklung des Wärmemarktes für den Gebäudesektor bis 2050**
von M. Kleemann, R. Heckler, G. Kolb, M. Hille (2000), II, 94 Seiten
ISBN: 3-89336-262-2
24. **Grundlegende Entwicklungstendenzen im weltweiten Stoffstrom des Primäraluminiums**
von H.-G. Schwarz (2000), XIV, 127 Seiten
ISBN: 3-89336-264-9
25. **Klimawirkungsforschung auf dem Prüfstand**
Beiträge zur Formulierung eines Förderprogramms des BMBF
Tagungsband des Workshop „Klimaforschung“, Jülich, vom 02. bis 03.12.1999
von J.-Fr. Hake, W. Fischer (2000), 150 Seiten
ISBN: 3-89336-270-3
26. **Energiezukunft 2030**
Schlüsseltechnologien und Techniklinien
Beiträge zum IKARUS-Workshop 2000 am 2./3. Mai 2000
herausgegeben von U. Wagner, G. Stein (2000), 201 Seiten
ISBN: 3-89336-271-1
27. **Der globale Wasserkreislauf und seine Beeinflussung durch den Menschen**
Möglichkeiten zur Fernerkundungs-Detektion und -Verifikation
von D. Klaus und G. Stein (2000), 183 Seiten
ISBN: 3-89336-274-6
28. **Satelliten und nukleare Kontrolle**
Änderungsdetektion und objektorientierte, wissensbasierte Klassifikation von Multispektralaufnahmen zur Unterstützung der nuklearen Verifikation
von I. Niemeyer (2001), XIV, 206 Seiten
ISBN: 3-89336-281-9
29. **Das hydrologische Modellsystem J2000**
Beschreibung und Anwendung in großen Flußgebieten
von P. Krause (2001), XIV, 247 Seiten
ISBN: 3-89336-283-5
30. **Aufwands- und ergebnisrelevante Probleme der Sachbilanzierung**
von G. Fleischer, J.-Fr. Hake (2002), IV, 64 Blatt
ISBN: 3-89336-293-2

31. **Nachhaltiges Management metallischer Stoffströme**
Indikatoren und deren Anwendung
Workshop, 27.-28.06.2001 im Congresscentrum Rolduc, Kerkrade (NL)
herausgegeben von W. Kuckshinrichs, K.-L. Hüttner (2001), 216 Seiten
ISBN: 3-89336-296-7
32. **Ansätze zur Kopplung von Energie- und Wirtschaftsmodellen zur Bewertung zukünftiger Strategien**
IKARUS-Workshop am 28. Februar 2002, BMWi, Bonn. Proceedings
herausgegeben von S. Briem, U. Fahl (2003), IV, 184 Seiten
ISBN: 3-89336-321-1
33. **TRACE. Tree Rings in Archaeology, Climatology and Ecology**
Volume 1: Proceedings of the Dendrosymposium 2002,
April 11th – 13th 2002, Bonn/Jülich, Germany
edited by G. Schleser, M. Winiger, A. Bräuning et al., (2003), 135 pages, many
partly coloured illustrations
ISBN: 3-89336-323-8
34. **Klimaschutz und Beschäftigung durch das KfW-Programm zur CO₂-Minderung und das KfW-CO₂-Gebäudesanierungsprogramm**
von M. Kleemann, R. Heckler, A. Kraft u. a., (2003), 53 Seiten
ISBN: 3-89336-326-2
35. **Klimaschutz und Klimapolitik: Herausforderungen und Chancen**
Beiträge aus der Forschung
herausgegeben von J.-Fr. Hake, K. L. Hüttner (2003), III, 231 Seiten
ISBN: 3-89336-327-0
36. **Umweltschutz und Arbeitsplätze, angestoßen durch die Tätigkeiten des Schornsteinfegerhandwerks**
Auswertung von Schornsteinfeger-Daten
von M. Kleemann, R. Heckler, B. Krüger (2003), VII, 66 Seiten
ISBN: 3-89336-328-9
37. **Die Grundwasserneubildung in Nordrhein-Westfalen**
von H. Bogen, R. Kunkel, T. Schöbel, H. P. Schrey, F. Wendland (2003), 148
Seiten
ISBN: 3-89336-329-7
38. **Dendro-Isotope und Jahrringbreiten als Klimaproxy der letzten 1200 Jahre im Karakorumgebirge/Pakistan**
von K. S. Treydte (2003), XII, 167 Seiten
ISBN: 3-89336-330-0
39. **Das IKARUS-Projekt: Energietechnische Perspektiven für Deutschland**
herausgegeben von P. Markewitz, G. Stein (2003), IV, 274 Seiten
ISBN: 3-89336-333-5

40. **Umweltverhalten von MTBE nach Grundwasserkontamination**
von V. Linnemann (2003), XIV, 179 Seiten
ISBN: 3-89336-339-4
41. **Climate Change Mitigation and Adaptation: Identifying Options for Developing Countries**
Proceedings of the Summer School on Climate Change, 7-17 September 2003, Bad Münstereifel, Germany
edited by K. L. Hüttner, J.-Fr. Hake, W. Fischer (2003), XVI, 341 pages
ISBN: 3-89336-341-6
42. **Mobilfunk und Gesundheit: Risikobewertung im wissenschaftlichen Dialog**
von P. M. Wiedemann, H. Schütz, A. T. Thalmann (2003), 111 Seiten
ISBN: 3-89336-343-2
43. **Chemical Ozone Loss in the Arctic Polar Stratosphere: An Analysis of Twelve Years of Satellite Observations**
by S. Tilmes (2004), V, 162 pages
ISBN: 3-89336-347-5
44. **TRACE. Tree Rings in Archaeology, Climatology and Ecology**
Volume 2: Proceedings of the Dendrosymposium 2003,
May 1st – 3rd 2003, Utrecht, The Netherlands
edited by E. Jansma, A. Bräuning, H. Gärtner, G. Schleser (2004), 174 pages
ISBN: 3-89336-349-1
45. **Vergleichende Risikobewertung: Konzepte, Probleme und Anwendungsmöglichkeiten**
von H. Schütz, P. M. Wiedemann, W. Hennings et al. (2004), 231 Seiten
ISBN: 3-89336-350-5
46. **Grundlagen für eine nachhaltige Bewirtschaftung von Grundwasserressourcen in der Metropolregion Hamburg**
von B. Tetzlaff, R. Kunkel, R. Taug, F. Wendland (2004), 87 Seiten
ISBN: 3-89336-352-1
47. **Die natürliche, ubiquitär überprägte Grundwasserbeschaffenheit in Deutschland**
von R. Kunkel, H.-J. Voigt, F. Wendland, S. Hannappel (2004), 207 Seiten
ISBN: 3-89336-353-X
48. **Water and Sustainable Development**
edited by H. Bogen, J.-Fr. Hake, H. Vereecken (2004), 199 pages
ISBN: 3-89336-357-2
49. **Geo- and Biodynamic Evolution during Late Silurian / Early Devonian Time (Hazro Area, SE Turkey)**
by O. Kranendonck (2004), XV, 268 pages
ISBN: 3-89336-359-9

50. **Politiksznarien für den Umweltschutz**
Untersuchungen im Auftrag des Umweltbundesamtes
Langfristszenarien und Handlungsempfehlungen ab 2012 (Politiksznarien III)
herausgegeben von P. Markewitz u. H.-J. Ziesing (2004), XVIII, 502 Seiten
ISBN: 3-89336-370-X

51. **Die Sauerstoffisotopenverhältnisse des biogenen Opals lakustriner Sedimente als mögliches Paläothermometer**
von R. Moschen (2004), XV, 130 Seiten
ISBN: 3-89336-371-8

52. **MOSYRUR: Water balance analysis in the Rur basin**
von Heye Bogena, Michael Herbst, Jürgen-Friedrich Hake, Ralf Kunkel, Carsten Montzka, Thomas Pütz, Harry Vereecken, Frank Wendland (2005), 155 Seiten
ISBN: 3-89336-385-8

53. **TRACE. Tree Rings in Archaeology, Climatology and Ecology**
Volume 3: Proceedings of the Dendrosymposium 2004, April 22nd – 24th 2004, Birmensdorf, Switzerland
edited by Holger Gärtner, Jan Esper, Gerhard H. Schleser (2005), 176 pages
ISBN: 3-89336-386-6

54. **Risikobewertung Mobilfunk: Ergebnisse eines wissenschaftlichen Dialogs**
herausgegeben von P. M. Wiedemann, H. Schütz, A. Spangenberg (2005), ca. 380 Seiten
ISBN: 3-89336-399-8

55. **Comparison of Different Soil Water Extraction Systems for the Prognoses of Solute Transport at the Field Scale using Numerical Simulations, Field and Lysimeter Experiments**
by L. Weihermüller (2005), ca. 170 pages
ISBN: 3-89336-402-1

56. **Effect of internal leaf structures on gas exchange of leaves**
by R. Pieruschka (2005), 120 pages
ISBN: 3-89336-403-X

57. **Temporal and Spatial Patterns of Growth and Photosynthesis in Leaves of Dicotyledonous Plants Under Long-Term CO₂- and O₃-Exposure**
by M. M. Christ (2005), 125 pages
ISBN: 3-89336-406-4

58. **Öffentliche Kommunikation über Klimawandel und Sturmflutrisiken Bedeutungskonstruktion durch Experten, Journalisten und Bürger**
von H. P. Peters, H. Heinrichs (2005), 231 Seiten, CD
ISBN: 3-89336-415-3

59. **Umsatz verschiedener Ernterückstände in einem Bodensäulenversuchssystem – Einfluss auf die organische Bodensubstanz und den Transport zweier Xenobiotika**
von N. Drewes (2005), 221 Seiten
ISBN: 3-89336-417-X

60. **Evaluierung der CO₂-Minderungsmaßnahmen im Gebäudebereich**
von M. Kleemann, P. Hansen (2005), 84 Seiten
ISBN: 3-89336-419-6

61. **TRACE. Tree Rings in Archaeology, Climatology and Ecology**
Volume 4: Proceedings of the Dendrosymposium 2005,
April 21st – 23rd 2005, Fribourg, Switzerland
edited by Ingo Heinrich, Holger Gärtner, Michel Monbaron, Gerhard Schleser
(2006), 313 pages
ISBN: 3-89336-425-0

62. **Diffuse Nitrateinträge in die Grund- und Oberflächengewässer von Rhein und Ems**
Ist-Zustands- und Maßnahmenanalysen
von R. Kunkel, F. Wendland (2006), 130 Seiten
ISBN: 3-89336-437-4

63. **Abhängigkeit des Wurzelwachstums vom Lichtregime des Sprosses und deren Modifikation durch Nährstoffe sowie im Gravitropismus**
von K. A. Nagel (2006), 119 Seiten
ISBN: 3-89336-443-9

Forschungszentrum Jülich
in der Helmholtz-Gemeinschaft



Band/Volume 63
ISBN 3-89336-443-9

Umwelt
Environment