

**Einflüsse von abiotischen Faktoren auf die Ultrastruktur
von Chloroplasten und die Leitbündelanatomie von
Fichtennadeln.**

Eine Freilandstudie am Standort Freudenstadt-Schöllkopf

Zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
An der Fakultät für Bio- und Geowissenschaften
der
Universität Karlsruhe

Genehmigte

Dissertation

von

Carmen Boxler geb. Baldomà Santos

aus Barcelona, Spanien

1998

Tag der mündlichen Prüfung: 27. Januar 1999

Referent: Prof. Dr. H.-G. Heumann

Korreferent: Prof. Dr. Dr. h. c. mult. H. K. Lichtenthaler

**Für
Reinhold
Marc und
Matías**

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	i
Abkürzungen	iv
1. Einleitung	1
1.1. Pflanzenstress und Stressoren	2
1.2. Waldschäden im Schwarzwald:	4
1.2.1. Freudenstadt-Schöllkopf: 1. Interdisziplinäre Freilandstudie	5
1.2.2. Freudenstadt-Schöllkopf: 2. Interdisziplinäre Freilandstudie	6
1.3. Fragestellungen	7
2. Material und Methoden	9
2.1. Schöllkopf	9
2.1.1. Standort und Klima	9
2.1.2. Immissionen: Stoffdeposition und Schadgase	10
2.1.3. Nährelement- und Wasserversorgung	12
2.2. Charakterisierung visuell gesunder und geschädigter Fichten am Schöllkopf	13
2.3. Beschattung	16
2.4. Diagnostische Düngung	16
2.5. Probenahme	17
2.6. Auswahl der Nadeln	17
2.7. Elektronenmikroskopische Methoden	18
2.7.1. Fixierung und Einbettung	18
2.7.2. Befilmung der Grids	19
2.7.3. Ultramikrotomie	19
2.7.4. Kontrastierung	20
2.7.5. Mikroskopie (TEM), Fotografieren, Entwicklung, Videoaufnahme	20
2.8. Licht- und Fluoreszenzmikroskopie	21
2.8.1. Entharzung	21
2.8.2. Färbungen	22
2.8.2.1. Toluidinblau O	22
2.8.2.2. Rhodamin B-Astrablau	22
2.8.2.3. Primulin-Calcofluor	23
2.8.3. Mikroskopie und Mikrofotografie	23
2.8.4. Einscannen von Dias	24
2.9. Die Struktur verschiedener Nadelabschnitte	24
2.10. Morphometrische Messungen	25
2.10.1. Visuelle Meßverfahren	25
2.10.1.1. Chloroplastenzahlen in Mesophyllzellen	25
2.10.1.2. Test-Raster-Verfahren: Veränderung der Thylakoidorganisation	25

2.10.2. Computerunterstützte Morphometrie	26
2.10.2.1. Computer und Software	26
2.10.2.2. Digitalisierung	27
2.10.2.3. Bildverarbeitung und –analyse	27
2.10.3. Gemessene Parameter mit der computerunterstützten Morphometrie	29
2.10.3.1. Schnittfläche der Chloroplasten	29
2.10.3.2. Stärkekornfläche	29
2.10.3.3. Thylakoidfläche eines Chloroplastenschnitts	30
2.10.3.4. Plastoglobulifläche	30
2.10.3.5. Chloroplastenschnittfläche ohne Stärkekornfläche	30
2.10.3.6. Stromafäche	31
2.10.3.7. Anteil der Thylakoidfläche an der Chloroplastenfläche ohne Stärkekornfläche	31
2.10.3.8. Fläche des Kambiums und des Phloems eines Nadelleitbündels	31
2.10.3.9. Anzahl von Zellen mit offenen Lumen in Kambium und Phloem eines Nadelleitbündels. Klassenverteilung der Größe der Lumina	31
2.10.4. Datenauswertung und Statistik	32
3. Ergebnisse	33
3.1. Anatomie der Nadel von <i>Picea abies</i> .	33
3.2. Morphologische Änderungen der Chloroplasten von ergrünenden und vergilbenden Nadeln	41
3.2.1. Einführung	41
3.2.2. Zahl der Chloroplasten pro Zellquerschnitt	41
3.2.3. Morphometrie zu Veränderungen der Chloroplastengröße	43
3.2.3.1. Schnittfläche eines Chloroplasten	43
3.2.3.2. Chloroplastenschnittfläche ohne Stärkekornfläche	47
3.2.3.3. Stromafäche	50
3.2.4. Morphometrie der Thylakoidfläche im Chloroplastenschnitt	53
3.2.4.1. Thylakoidfläche eines Chloroplastenschnitts	54
3.2.4.2. Anteil der Thylakoidfläche an der Chloroplastenfläche o. S.	57
3.2.5. Veränderungen der Thylakoidorganisation	59
3.2.6. Morphometrie der Stärkekornfläche im Chloroplastenschnitt	64
3.2.7. Morphometrie der Plastoglobulifläche im Chloroplastenschnitt	68
3.3. Morphologische Veränderungen im Leitbündel von ergrünenden und vergilbenden Nadeln	71
3.3.1. Einführung	71
3.3.2. Vorgänge im Kambium	71
3.3.3. Vorgänge im Phloem	78
3.3.4. Zusammenschau der Veränderungen im Leitbündel	83
3.3.5. Auswirkung der Magnesiumdüngung auf das Leitbündel von Fichte F33	84
3.3.6. Auswirkung der künstlichen Beschattung auf das Leitbündel von Fichte K3 und Fichte F33	84

4. Diskussion	87
4.1. Auswirkung abiotischer Faktoren auf die Nadeloberfläche	89
4.2. Auswirkung abiotischer Faktoren im Mesophyll: Die Chloroplasten	90
4.2.1. Die Kohlenhydrate bei Chloroplasten grüner Nadeln	91
4.2.2. Die Kohlenhydrate bei Chloroplasten vergilbender Nadeln	92
4.2.2.1. Zusätzliche Stärke-Akkumulation im Sommer	92
4.2.2.2. Magnesiummangel und die Vergilbung	94
4.2.2.3. Beschattung und Stärkeakkumulation	95
4.2.3. Das Thylakoidsystem bei Chloroplasten grüner Nadeln	96
4.2.4. Das Thylakoidsystem bei Chloroplasten vergilbender Nadeln	100
4.2.4.1. Änderungen während des Vergilbungsvorgangs	100
4.2.4.2. Wirkung der Beschattung auf das Thylakoidsystem	104
4.2.4.3. Wirkung einer diagnostischen Düngung auf das Thylakoidsystem	105
4.2.4.4. Ozon und die Vergilbung der Fichtennadeln	106
4.3. Auswirkung abiotischer Faktoren auf den Zentralzylinder	107
4.3.1. Das Leitbündel grüner Nadeln	107
4.3.2. Das Leitbündel vergilbender Nadeln	108
4.3.2.1. Änderungen während des Vergilbungsvorgangs	108
4.3.2.2. Magnesium und Phloemkollaps	110
4.3.2.3. Auswirkung der Beschattung auf den Phloemkollaps	113
5. Zusammenfassung	115
6. Literatur	119
Anhang 1 Daten der Wetterstation Freudenstadt	I
Anhang 2 Stoffdeposition	II
Anhang 3 Luftschadstoffe am Standort Schöllkopf (1984-1991)	III
Anhang 4 Ozonbelastung am Schöllkopf (1993-1996)	IV
Anhang 5 Analyse der Boden unter Fichte F33 und Fichte K3	V
Anhang 6 Chlorophyll- und Magnesiumgehalt der Fichtennadeln von K3 und F33	VI
Danksagungen	

Abkürzungen

BP	Bandpaßfilter
C. I.	colour index
CCD	charge coupled device
DMAE	Dimethylaminoethanol
dpi	dots per inch
Em	Emission
ERL	Vinylcyclohexane dioxide
Ex	Excitation
F33	Visuell kranke Fichte, die Nadeln des 2. Jahrgangs vergilbten abrupt innerhalb weniger Wochen
FT	Farbteiler
K3	Visuell gesunde Fichte. Kontrollfichte, ihre Nadeln waren immer grün
LHC	light harvesting complex
LP	Langpaßfilter
NSA	Nonenylsuccinic Anhydride
o.S.	ohne Stärkekornfläche
PEF	Projekt "Europäisches Forschungszentrum für Maßnahmen zur Luftreinhaltung" Forschungszentrum Karlsruhe
PS	Photosystem
RGB	Farbsystem: Rot-Grün-Blau
ROI	Region Of Interest
ROS	Reactive oxygen species
RT	Raumtemperatur
TEM	Transmissionselektronenmikroskop
TIFF	Tag Image File Format
TS	Trockensubstanz

Kapitel 1

Einleitung

Das Jahr 1983 ging als das "Jahr des Waldsterbens" in die Geschichte dieses Landes ein. Das Waldsterben war Tagesgespräch und die Medien waren voll davon. Heute interessieren sich die Informationsmedien kaum noch dafür, "Waldsterben ist kein Thema", welches "Leserquoten" ansteigen läßt! Auch wenn die in den 80er Jahren befürchtete Waldschadensentwicklung so nicht eingetroffen ist, ist trotzdem die aktuelle Situation problematisch, und muß ernstgenommen werden.

Das "Neuartige Waldsterben" und seine Ursachen sind nicht neu, sondern sehr alt. Schon die Römer nannten die Ursache der Waldschäden, die bei der Metallgewinnung aus Sulfid-Erzen angerichtet wurden "Immission von Imponderabilen" (WENTZEL, 1997). Dieser klassische Stressor, SO_2 , spielt aufgrund der politisch ergriffenen Maßnahmen in Deutschland (zumindest in den "alten" Bundesländern, WENTZEL, 1997), keine Hauptrolle mehr (im Schwarzwald Jahresmittelwert: 1985 $>20 \mu\text{g SO}_2 / \text{m}^3$; 1996 ca. $4 \mu\text{g SO}_2 / \text{m}^3$; WALDSCHADENSBERICHT 1997 BADEN-WÜRTTEMBERG). Die Ursachen des "Neuartigen Waldsterbens" in Deutschland und in anderen industrialisierten Ländern sind heute in den Stickstoffverbindungen, im Ozon und zuletzt auch in den SO_2 -Resten der bodennahen Luft zu suchen, also in altbekannten Immissionen. Was neu ist, ist ihre erhöhte und vermehrte Präsenz. Erhöhte Säure- und Stickstoffeinträge führen zu Veränderungen im Boden, die sich als Ungleichgewicht im Nährstoffhaushalt ausdrücken. Natürlich vorkommende sowie indirekt von Menschen verursachte Nährstoffmängel schwächen die Bäume und machen sie empfindlich für die Luftschadstoffe wie z. B. bodennahes Ozon.

Der WALDSCHADENSBERICHT 1997 für Baden-Württemberg bestätigt, daß sich der Zustand des Waldes in den letzten Jahren verbessert hat, und dies ist vor allem an dem Zustand der Krone zu sehen. Trotzdem weist der Bericht daraufhin, daß weitere Risiken für die Stabilität des Waldökosystems bestehen:

- "Trotz deutlichem Rückgang der Schwefeldioxydimmissionen, die hohen Säure- und Stickstoffeinträge. Diese führen zu Veränderungen im Boden und zur Auswaschung von Nährstoffen (...) bzw. Makronährelementen wie Magnesium". (WALDSCHADENSBERICHT 1997 BADEN-WÜRTTEMBERG).
- "Perioden mit hohen Ozonkonzentrationen im Sommer, vor allem in den Hochlagen der Mittelgebirge". (WALDSCHADENSBERICHT 1997 BADEN-WÜRTTEMBERG).

1.1. Pflanzenstress und Stressoren

Die neuartigen Waldschäden, die vor allem in der Bundesrepublik Deutschland, aber auch in anderen Ländern Europas und in Nordamerika untersucht worden sind, lassen sich nach Ansicht der meisten Fachleute nicht einem einzelnen Streßfaktor zuschreiben (WALDSCHADENSBERICHT 1997 BADEN- WÜRTTEMBERG), sondern sie spiegeln die synergistische Wirkung verschiedener Stressoren wider. D. h.: die Vitalität unserer Waldökosysteme ist von einer Vielzahl natürlicher und anthropogener Streßfaktoren tiefgehend beeinflußt. Der Streßbegriff wurde erstmals vom kanadischen Mediziner HANS SEYLEY (1907-1982) biologisch-medizinisch formuliert (SEYLEY, 1936). Er wurde auch auf Pflanzen übertragen und wird als "ungewöhnliche Belastung des Organismus, die bei zeitlicher Begrenzung noch nicht lebensgefährlich ist" bezeichnet (SCHUBERT und WAGNER, 1993). Während LEVITT (1980) jeden Umweltparameter, der sich potenziell unvorteilhaft auf die Pflanze auswirkt, als Stressfaktor für Pflanzen definiert, versteht LARCHER (1987) unter

Tab. 1 Auf Pflanzen sich auswirkende natürlich vorkommende und anthropogen verursachte Stressoren. Nach Lichtenthaler (1998), geändert.

Natürlich vorkommende Stressoren	Anthropogen verursachte Stressoren
<ul style="list-style-type: none">• Hohe Lichtintensität• Lichtmangel• Hohe Temperatur, Hitze• Niedere Temperatur, Frost• Wassermangel und Trockenheit• Überflutung, Wasserstau• Natürlich vorkommender Mineral- und Nährstoffmangel• Natürlich vorkommende hohe Salzkonzentrationen• Biotische Stressoren (Viren, Bakterien, Pilze, Insekten...)	<ul style="list-style-type: none">• Xenobiotica• Gasförmige Luftschadstoffe (z. B.: SO₂, NO_x)• Ozon• Bildung von Sauerstoffradikalen• Peroxyacylnitrate (PAN)• Saurer Regen, saurer Nebel...• Saurer Boden und Wasser• Mineralmangel wegen Auslaugung des Bodens• N-Überdüngung des Bodens• Schwermetalle (Blei, Cadmium)• Erhöhte UV-Strahlung• Erhöhter CO₂-Gehalt (Treibhauseffekt)

Pflanzenstreß einen Zustand bzw. einen Beanspruchungszustand, der zuerst eine Destabilisierung des Organismus bewirkt, aber dann zur Normalisierung und Resistenz desselben führt, falls die Anpassungsfähigkeit der Pflanze nicht überschritten wird, und dadurch die Pflanze oder Teile von ihr absterben. Für LICHTENTHALER (1996) ist der Prozeß der Regeneration, wenn sich der Stressor oder die Stressoren nicht mehr auf die Pflanze auswirken bzw. beseitigt sind, auch in der Definition des Stressbegriffs beinhaltet. Die Umweltparameter, die zu Streß führen, können nach ihrer Herkunft, als natürlich vorkommend oder anthropogen verursacht, klassifiziert werden (Tab. 1). Wie diese Tabelle zeigt, sind es eine Vielzahl natürlicher und anthropogener Einflüsse, die einzeln, aber häufig auch miteinander in verstärkender oder abschwächender Form auf den Baum einwirken. Die Dynamik des Stressgeschehens ist in der Abbildung 1 dargestellt. In der Alarmphase (a) ist die Resistenz der Pflanzen erniedrigt nun werden die Erholungsmechanismen aktiviert. Diese bewirken in der Erholungsphase (b) eine Wiederherstellung des normalen Resistenzniveaus. Ist die Pflanze durch die ausgeprägte Einwirkung eines Stressors geschädigt aber nicht getötet, können die Reparaturmechanismen der Reparaturphase (c) den normalen Zustand wiederherstellen.

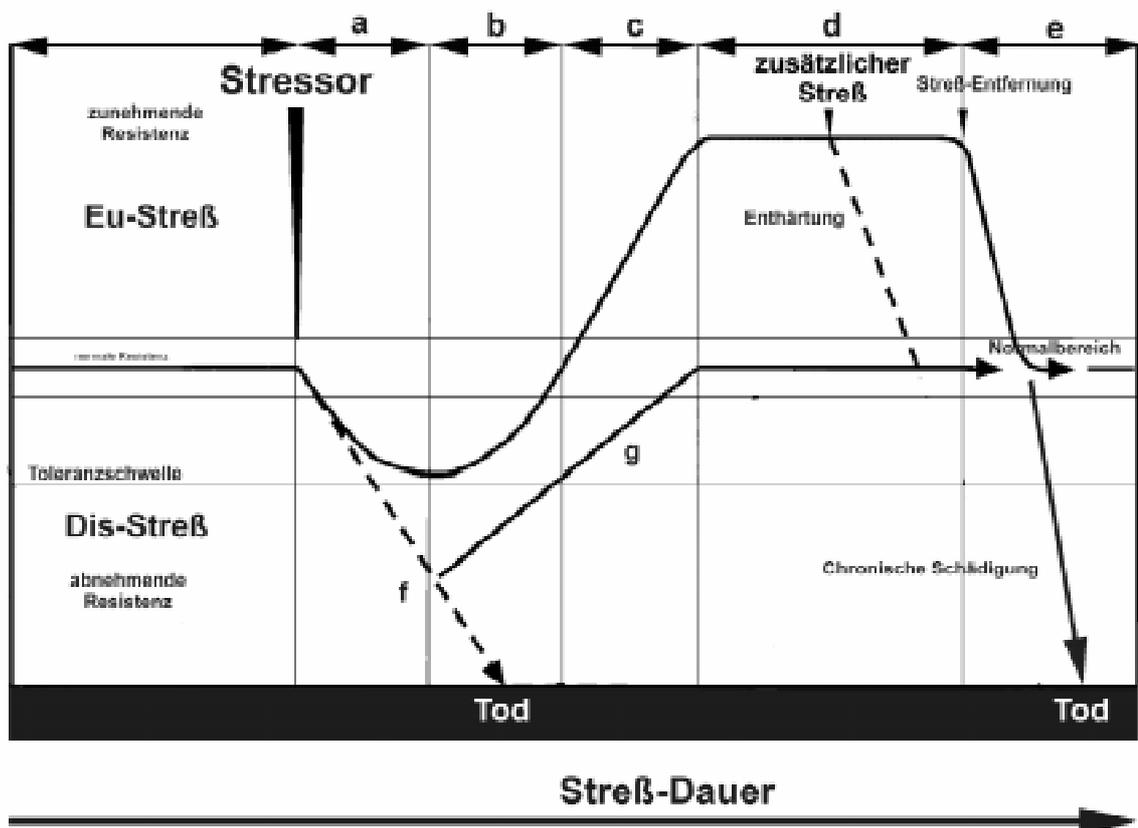


Abb. 1 Veränderung des Resistenzniveaus während den Phasen des Stress (nach Brunol, 1996, verändert). a, Alarmphase; b, Restitutionsphase; c, Härtingsphase; d, Phase erhöhter Resistenz; e, Erschöpfungsphase; f, hohe Intensität des Stressors führt zur Überschreitung der Toleranz Schwelle und damit zu chronischen Schädigungen oder Tod; g, Reparaturmechanismen können bei reduzierter Intensität des Stressors zur Wiedererreichung des normalen Resistenzniveaus führen. Weitere Erklärungen siehe Text.

Waldschäden im Schwarzwald

Die andauernde Einwirkung eines Stressors kann zu einer Abhärtungsphase führen, wodurch die Pflanze eine Phase (d) erreicht, in welcher das Resistenzniveau erhöht ist. In diesem Zustand bleibt die Pflanze, so lange keine Veränderungen auftreten: Ist der Stressor nicht mehr wirksam, kehrt die Pflanze über eine Enthärtungsphase (e) zurück zu ihrem ursprünglichen Resistenzniveau. Wenn zu der ständigen Einwirkung eines Stressors noch ein zusätzlicher zweiter Stressor einwirkt, kann dies zu einer Erschöpfungsphase (f) führen und dadurch zu chronischen Schädigungen und sogar zum Tod der Pflanze. Stressoren, die eine Belastungssituation hervorrufen, bei der die Toleranzgrenze der Pflanze nicht überschritten wird, werden Eustressoren genannt, sie verursachen "Eustress", im Gegensatz heißen die schädigenden Belastungssituationen "Disstress".

1.2. Waldschäden im Schwarzwald

Der Schwarzwald ist das Hauptschadensgebiet in Baden-Württemberg. 1987 betrug die deutlich geschädigte Waldfläche ca. 40%, seitdem ist eine Verbesserung des Waldes zu verzeichnen und die deutlich geschädigte Waldfläche betrug 1997 etwa 22%. Hierbei liegt die Fichte mit 21% deutlich geschädigter Fläche über dem Landesschnitt dieser Baumart. 1997 war der Anteil der deutlichen Schäden bei der Fichte gegenüber 1994 um 15% gesunken, jedoch weitgehend auf dem gleichen Niveau wie 1983 (WALDSCHADENSBERICHT 1997 BADEN- WÜRTTEMBERG). Der im Allgemeinen beobachtete Rückgang der Waldschäden in Deutschland ist wie z. T. schon erwähnt, auf die Erniedrigung der anthropogenen SO₂-Emission zurückzuführen.

Es gibt grundsätzlich zwei verschiedene Methoden zur Erforschung der "Neuartigen Waldschäden", nämlich die Freilandstudien und die Kammer- oder Gewächshausversuche. Bei den Freilandstudien werden Daten an geschädigten Waldbeständen erhoben, die auf die dort wirkenden Stressoren mit bestimmten Schadenserscheinungen reagieren. In Gewächshaus- und in Kammerversuchen wird das Schadbild untersucht, das sich bei Pflanzen unter künstlich gesetztem Streß entwickelt. Die Freilandversuche geben, trotz der komplexen Streßsituationen Informationen, die es erlauben, die Rahmenbedingungen für die Simulation realistischer Belastungen bei Kammerversuchen zu wählen. Sie liefern auch die Kriterien für freilandrelevante Schadbildner. Mit den Kammerversuchen ist es möglich, die Wirkung eines einzigen Stressors abzuklären. Dies wiederum ist von großer Wichtigkeit, weil es gestattet, die Freilandversuche besser bewerten und verstehen zu können. Für manche Fragen ist es vorteilhaft mit Klonen zu arbeiten, was in den Kammerversuchen möglich ist. Im Gegensatz dazu bieten die Freilandversuche die Möglichkeit, ausgewachsene Bäume in einer natürlich vorkommenden Waldgesellschaft zu untersuchen. Beide Forschungsansätze komplementieren sich und sie ermöglichen zusammen, die für die Ursachenforschung wichtige Kausalkette, die einen Stressor in eindeutigen Zusammenhang mit einem beobachteten Syndrom bringt, zu belegen. Allerdings können Kammerversuche ohne die Daten der Freilandversuche keine reale Belastung nachahmen,

und die aus ihren Ergebnissen gezogenen Schlüsse sind anschließend bei Freilandversuchen zu bestätigen. Damit stellen die Freilandversuche den Anfang und das Ende jeder Wald(ursachen)forschung dar.

1.2.1.Freudenstadt-Schöllkopf: 1. Interdisziplinäre Freilandstudie

Im Rahmen einer am Schöllkopf (Freudenstadt, Nordschwarzwald, 840 m NN) durchgeführten interdisziplinären Langzeitstudie (BITTLINGMAIER *et al.*, 1995) wurden in der Zeitperiode 1989-1991 der Standort und die Schadsymptome der dort wachsenden Fichten im Detail charakterisiert. Die Untersuchungen wurden an zwei Fichtenkollektiven, die 40 bis 60 Jahren alt waren und der Schadklasse 0 ("gesund", 1. Kollektiv) bzw. 1-3 ("krank", 2. Kollektiv) angehörten, durchgeführt. 40 Mitarbeiter aus 17 verschiedenen Institutionen untersuchten die Streßsituationen (Schadgasbelastung, Stoffeintrag, Nährelement- und Wasserversorgung), die am Schöllkopf herrschen. Auch wurde der Beitrag biotischer Faktoren, wie Nadelpilze, auf die Schädigung der Fichten erforscht. Die Unterschiede von visuell gesunden und geschädigten Fichtennadeln wurden anhand diverser biochemischer und physiologischer Parameter dargestellt. Zuletzt wurde auch der Zusammenhang zwischen den beobachteten Schäden und dem Alter der Fichtennadeln untersucht.

Die Studien ergaben unter anderem folgende Ergebnisse. Nadelpilze oder andere biotische Faktoren können nicht für die Montane Vergilbung bzw. Neuartigen Waldschäden am Schöllkopf verantwortlich gemacht werden. Der Mykorrhizierungsgrad ist hoch und unterscheidet sich nicht von anderen Schwarzwaldstandorten (KOTTKE und WÖLLMER, 1995). Am Schöllkopf stocken visuell gesunde und unterschiedlich geschädigte Fichten nebeneinander, Grund dafür dürfte das Zusammenwirken verschiedener Stressoren, ebenso wie genetisch bedingte Reaktionen der Fichten auf diese Stressoren sein (KONNERT, 1995). Es wurden drei abiotische Faktoren identifiziert, die sich auf die Fichten besonders negativ auswirken können. Diese sind eine starke Sonneneinstrahlung, ein ausgeprägter Magnesiummangel (SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1995 a) und eine permanent hohe Ozonkonzentration mit episodisch erhöhten SO₂- und NO₂-Belastungen (WILD *et al.*, 1995).

Die Ergebnisse dieser ersten Studie, in der jeweils eine größere Anzahl von Bäumen im Abstand von 2-3 Monaten beprobt wurde, erlaubte nicht die Beantwortung der Frage nach einer zeitlichen Aufeinanderfolge der Änderungen der verschiedenen untersuchten Parameter und ihre zeitlichen Beziehungen und Zusammenhänge miteinander, die letztlich zum Schadbild "vergilbte Nadeln" führen. Bei den in den letzten Jahren publizierten Veröffentlichungen zur Auswirkung abiotischer Faktoren auf die Struktur von Coniferennadeln wurden vorwiegend nur Auswertungen vor und nach ausgeprägter Schädigung der Nadeln beschrieben (ENDLER *et al.*, 1990; FINK, 1992; FLAMMERSFELD und WILD, 1992; HANNICK *et al.*, 1993; SUTINEN, 1987 a, b und SUTINEN *et al.*, 1998). In

Freudenstadt-Schöllkopf: 2. Interdisziplinäre Freilandstudie

Kammerversuchen wurden die Wirkungen von Ozon oder von Magnesiummangel an Fichtenkeimlingen, jungen Bäumen, und kleinen Klonfichten untersucht (MEHNE-JAKOBS, 1995; PUECH und MEHNE-JAKOBS, 1997; STEEBORG, 1991; WELLBURN *et al.*, 1997). Untersuchungen mit beiden Stressoren gleichzeitig und mehreren Probenahmen innerhalb einer Vegetationsperiode bzw. über mehrere Vegetationsperioden findet man jedoch weder bei Freiland- noch bei Kammerversuchen.

1.2.2. Freudenstadt-Schöllkopf: 2. Interdisziplinäre Freilandstudie

Am Ort der 1989-1991 durchgeführten 1. Interdisziplinären Freilandstudie erfolgte 1993-1996 eine zweite interdisziplinäre Freilandstudie. In dieser Studie wurde bei einer Fichte ohne Vergilbungs- und einer anderen mit typischen Vergilbungssymptomen die *zeitliche Aufeinanderfolge von Vorgängen*, die im Laufe der Vergilbungsprozesse auftreten, charakterisiert. Weiterhin wurden die Auswirkung einer diagnostischen Magnesiumdüngung und einer definierten Beschattung auf die Vergilbungsvorgänge und die Reaktion der Fichte auf Episoden erhöhter Ozonbelastung untersucht.

Die Ergebnisse der 1. Interdisziplinären Freilandstudie lieferten die Grundlage für diese 2. Studie und ermöglichten die Wahl von zwei repräsentativen Fichten, von denen eine zum visuell kranken und eine zum gesunden Kollektiv gehörte. Dies erlaubte eine häufigere Beprobung in zwei- bis dreiwöchigem Abstand. Dadurch konnte die zeitliche Aufeinanderfolge von Änderungen in den Nadeln einer geschädigten Fichte des Misenrandstandortes Freudenstadt-Schöllkopf detailliert untersucht werden. Dies geschah anhand verschiedener biochemischer und physiologischer Parameter, unter anderen der Photosynthese und des Kohlenhydratstoffwechsels (SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 c). Zum ersten Mal wurden in diese Studien zwischen 1994 und 1996 Untersuchungen zur Struktur und Ultrastruktur der Chloroplasten und des Zentralzylinders einbezogen (SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 d; SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 f; BOXLER-BALDOMÀ *et al.*, 1997; BOXLER-BALDOMÀ und HEUMANN, 1997). Für diese Zwecke wurden neue morphometrische Meßmethoden entwickelt, mit denen graduelle Veränderungen von strukturellen Parametern in statistisch absicherbaren Daten erfaßbar waren.

Am Schöllkopf traten die ersten visuellen Vergilbungssymptome der Fichten zumeist als Vergilbungsschübe, verbunden mit einer starken Abnahme des Chlorophyllgehalts auf (SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 d; Anhang 6). Daneben lief eine Vielzahl von Änderungen in den Nadeln ab, die langsam einsetzten und sich in den vergilbten Nadeln mehr und mehr ausprägten (SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997c). Den im Vorjahr ausgetriebenen Nadeln, die bei der geschädigten Fichte im Lauf der zweiten Vegetationsperiode in der schon genannten für den Standort Schöllkopf typischen Weise vergilbten, galt hier das besondere Interesse. Der Vergleich der Chloroplasten- und Leitbündelstruktur von lichtexponierten/beschatteten und grünen/vergilbenden Nadeln (SIEFERMANN-HARMS *et al.*,

1997 d, SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 e; BOXLER-BALDOMÀ *et al.*, 1997; BOXLER-BALDOMÀ und HEUMANN, 1997) zeigt charakteristische Unterschiede im Jahresverlauf, die sich in den vergleichbaren Vegetationsperioden ähneln und gut mit den erhobenen biochemischen und physiologischen Daten korrelieren (EINIG und MEHNE-JAKOBS, 1997; GODDE, 1997; SIEFERMANN-HARMS, 1997 a; Siefertmann-Harms *et al.*, 1997 d; Siefertmann-Harms *et al.*, 1997 f).

1.3. Fragestellungen

Der Schöllkopf im Schwarzwald ist ein sogenanntes Reinluftgebiet, hier sind für die Vergilbung andere Stressoren als SO₂ verantwortlich. Der Magnesiumgehalt der Nadeln liegt unter dem für eine ausreichende Magnesiumversorgung als erforderlich betrachteten Schwellenwert (EINIG *et al.*, 1995). Gezielte Kalkungen und Magnesiumdüngung in anderen Waldgebieten haben eine Verbesserung der natürlich niedrigen vorkommenden Basenkonzentration im Boden verursacht, welche sich in einer Gesundung des Waldes ausdrückt (WALDSCHADENSBERICHT 1997 BADEN- WÜRTTEMBERG). Hohe Lichtintensitäten gehören auch zu den natürlich vorkommenden Stressoren (Tab. 1). Dies wird durch die Beobachtung bestätigt, daß beschattete Nadeln weniger stark vergilben als lichtexponierte Nadeln (LICHTENTHALER und BUSCHMANN, 1984). Ein weiterer Streßfaktor, der am Schöllkopf vorkommt, ist anthropogenes Ozon. In den mittleren Breiten der Nordhemisphäre wird die Zunahme der Ozonkonzentration der Troposphäre auf 1% pro Jahr geschätzt (RENNENBERG, 1996). Ozon wirkt auf der Erde bzw. in der Troposphäre als starkes Oxydationsmittel und Pflanzengift. Es entsteht über Radikalreaktionen aus Umwandlungsprodukten von Stickoxiden (NO_x) und flüchtigen organischen Verbindungen unter Einwirkung von UV-Strahlung, d. h., aus anthropogenen Emissionen, die bei der Verbrennung fossiler Energieträger freigesetzt werden und mit energiereicher Strahlung reagieren.

Die oben genannten Stressoren können sich auf verschiedenen Ebenen der Nadeln auswirken. Es sind vor allem Veränderungen der Chloroplastenultrastruktur bei Luftschadstoffen (FINK, 1992; SENSER und BECK, 1982; SCHIFFGENS-GRUBER und LÜTZ, 1992) bzw. des Zentralzylinders in Form von Phloemkollaps (FINK, 1992; FORSCHNER *et al.*, 1989; HANNICK *et al.*, 1993) bei Mineralstoffmangel beschrieben worden. In den bisherigen Arbeiten wurde nur ein Vergleich zwischen gesundem und kranken Zustand vorgenommen, jedoch der Übergang von einem in den anderen Zustand nicht dargestellt. Ziel und zentrale Frage dieser Arbeit war es, die *zeitliche Aufeinanderfolge* von morphologischen Veränderungen zu untersuchen, die zum Vergilben bzw. zur Ergrünung der Nadeln einer Fichte führen und sie mit einer visuell gesunden Fichte zu vergleichen. Lichtmikroskopische (hellfeld- und fluoreszenz-mikroskopisch) und elektronenmikroskopische Methoden wurden zusammen mit der computerunterstützten Morphometrie eingesetzt, um aufzuklären, welche Auswirkung eine diagnostische Magnesiumdüngung und eine definierte

Fragestellungen

Beschattung auf die Morphologie von Chloroplasten und Leitbündel während der Vergilbungsvorgänge haben, und welcher Zusammenhang zwischen diesen morphologischen Veränderungen und der Reaktion der Fichtennadeln auf erhöhte Ozonbelastung besteht. Weitere Fragen, die aufgeklärt werden sollten, sind folgende:

- Wie ändert sich die Zahl und die Form der Chloroplasten innerhalb einer Vegetationsperiode in der visuell kranken bzw. gesunden Fichte und im Vergleich zwischen den beiden Fichten?
- Wie sind die zeitlichen Veränderungen der Ultrastruktur der Chloroplasten innerhalb einer Vegetationsperiode?
- Wie sind die Thylakoide organisiert und wie wird die Organisation aufgrund der Vergilbung verändert?
- Verursacht die Magnesiumdüngung des Bodens unter der kranken Fichte ihre Revitalisierung wie für andere Fichten anderer Standorte schon beschrieben? Und sind dann die Chloroplasten mit denen der gesunden Fichte vergleichbar?
- Welche Wirkung hat die Beschattung auf die Chloroplastenultrastruktur und auf die Struktur des Zentralzylinders?
- Wann und wie findet eine Anhäufung der Assimilationstärke statt, und können diagnostische Magnesiumdüngung oder Beschattung sie unterbinden?
- Wann findet der Phloemkollaps statt; Welche Veränderungen treten bei dem Phloemkollaps auf und wann, und welche Gewebe sind betroffen?
- Besteht ein Zusammenhang zwischen dem Assimilatstau und dem Phloemkollaps?
- Ist dieser Phloemkollaps nur auf Magnesiummangel zurückzuführen oder können andere abiotische Stressoren ihn verursachen? Kann der Phloemkollaps durch das Ausschalten einer der Stressoren verhindert werden?

Eine weitere wichtige Frage der 2. Schöllkopfstudie war, ob die durch Mg-Düngung erzielte Ergrünung der geschädigten Fichte eine echte – als Regeneration der Ultrastruktur erkennbare Revitalisierung der Nadel darstelle, oder Magnesium nur in einzelne biochemische bzw. physiologische Prozesse regenerierend eingreift. Ferner wird nach dem Zusammenhang zwischen den beobachteten Strukturveränderungen und den von anderen Arbeitsgruppen festgestellten physiologischen und biochemischen Befunden gefragt. Am Ende wird aufgrund der Ergebnisse dieser Arbeit zusammen mit den Befunden der anderen Arbeitsgruppen nach einer möglichen Erklärung des Wirkungsmechanismus der Stressoren gesucht, die bei den untersuchten Fichtennadeln zur Vergilbung führen.

Kapitel 2

Material und Methoden

2.1. Schöllkopf

Die beiden untersuchten Fichten F33 und K3 stocken in einem für den Mittleren Schwarzwald typischen Fichtenbestand am Standort Schöllkopf, Forstbezirk Freudenstadt (Staatswald Abt. III,12), zwischen Kinzig und Schwarzwaldhochstraße, in Baden-Württemberg.

2.1.1. Standort und Klima

Der Schöllkopf befindet sich auf einer Höhe von rund 840 m über NN in der montanen Höhenstufe des Mittleren Schwarzwaldes. Er liegt auf einem ebenen bis schwach nach Südwesten geneigten Plateau des Oberen Buntsandsteins. Die forstliche Feinkartierung des Standorts (Abb. 2) weist mehr oder weniger lehmige Sandböden mit unterschiedlich intensiven Staunässemerkmalen, häufig mit tonigem Unterboden auf. Verschiedene Humusformen, wie Mullmoder oder Rohhumus, kommen vor. Als ursprünglich natürliche Waldgesellschaft wird ein Buchen-Tannen-Wald angenommen, in dem die Fichte weitgehend fehlt (ALDINGER und HIRT, 1995), d. h. daß die (untersuchten) Fichten außerhalb ihres natürlichen Verbreitungsgebietes stocken. Die Fichte beschränkte sich ursprünglich auf die hochmontane Höhenstufe im Nordschwarzwald. Erst im 14. bis 15. Jahrhundert wurde die Fichte durch den Menschen auf die montane Höhenstufe eingebracht und stark gefördert (JAHN *et al.*, 1990).

Tab. 2 Temperatur: Langjähriges Mittel (1961-1990), Jahresmittel- und Monatsmittelwerte von Januar, Mai, Juli und Oktober in den Jahren 1994-1996 in °C. In Klammern: Differenzen zwischen Monatsmittel und langjährigem Monatsmittel in °C. (+:über, -: unter dem langjährigen Mittel).

	Jahresmittel	Januar	Mai	Juli	Oktober
Langjähriges Mittel (1961-1990)	6,63	-1,5	9,8	15,2	7,9
1994 (zu langj. Monatsmittel)	8,20	0,4 (+1,9)	10,6 (+0,8)	19,1 (+3,9)	7,4 (-0,5)
1995 (zu langj. Monatsmittel)	7,29	-1,4 (+0,1)	10,5 (+0,7)	18,2 (+3)	11,5 (+3,6)
1996 (zu langj. Monatsmittel)	5,86	-1,4 (+0,1)	9,2 (-0,6)	14,3 (-0,9)	7,7 (-0,2)

Immissionen: Stoffdeposition und Schadgase

Die Jahresmitteltemperatur war 1994 (8,20 °C) und 1995 (7,29 °C) deutlich höher und 1996 (5,9 °C) deutlich niedriger als das langjährige Mittel 1961-1990 (6,63 °C). (Der Wetterverlauf in den Jahren 1994-1996 und ein Vergleich der Monatsmittelwerte sind in Anhang 1 dargestellt). Insbesondere das Jahr 1994 war milder und 1996 strenger als das langjährige Mittel. Das Jahr 1995 war ebenfalls wärmer als das langjährige Mittel aber kälter als 1994. Im Juli liegt der langjährige Monatsmittelwert bei 15,2 °C und im Januar bei -1,5 °C. Die Vegetationsperiode beginnt in Freudenstadt im Mai, im Jahr 1994 und 1995 war der Mai 0,8 °C bzw. 0,7 °C wärmer und 1996 0,7 °C kälter als das langjährige Mittel (s. Tab 2).

Tab. 3. Niederschlag: Langjähriges Mittel (1961-1990), Jahresmittelwerte in den Jahren 1994-1996 in l/m³. Monatsmittelprozente im Vergleich zum langjährigen Monatsmittel von Januar, Mai, Juli und Oktober.

	Jahresmittel	Januar	Mai	Juli	Oktober
Langjähriges Mittel (1961-1990)	1681 l/m ³	173,7 l	128,0 l	115,0 l	121,0 l
1994	1669 l/m ³	152 %	107 %	78 %	100 %
1995	2049 l/m ³	231 %	110 %	68 %	34 %
1996	1413 l/m ³	4 %	194 %	136 %	105 %

Der jährliche Niederschlag (Tab. 3) lag im Vergleich zum langjährigen Mittel 1961-1990 (1681 l/m²) im Jahr 1995 (2049 l/m²) um etwa 20 % höher, und 1996 (1413 l/m²) um ca. 13 % niedriger. Das Jahr 1994 entsprach mit 1669 l/m² fast dem langjährigen Mittel. Die Monate Februar bis April von 1996 sind wegen ihrer extremen Trockenheit hervorzuheben, genau so wie die Monate Januar und März 1995 wegen der hohen Niederschläge (s. Anhang 1).

2.1.2.Immissionen: Stoffdeposition und Schadgase

Immissionen ist der Sammelbegriff für alle atmosphärischen Komponenten, die auf die Umwelt einwirken. Im Rahmen des Niederschlagsmeßnetzes der Forstlichen Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg (FVA: Projekt UFO III 55-89.2) wurden von HOCHSTEIN (1995) (HOCHSTEIN und HILDEBRAND, 1992) im Versuchszeitraum 1989-1991 die mit dem Niederschlag in die Fichtenbestände eingetragenen Stoffe (H⁺, SO₄²⁻, NO₃⁻, NH₄⁺) auf dem Schöllkopf untersucht. Am Schöllkopf sind die Sulfat- und Stickstoffeinträge geringer als am Westrand des Schwarzwaldes, sie liegen jedoch höher als am Hirschkopf

nördlich von Freudenstadt. Bei dem Stickstoffeintrag ist der Nitratanteil höher als der Ammoniumanteil. Im Vergleich zu anderen Schwarzwaldstandorten sind die Werte des Protonenflusses auf dem Schöllkopf bis zu ca. 3,5 mal geringer nur im Vergleich mit Hirschkopf fallen sie gleich aus (Anhang 2). Der landesweit rückläufige Trend bei der SO_4^{2-} -Deposition und in Verbindung damit der H^+ -Fluß, ist auch am Schöllkopf zu erkennen, während die landesweit beobachtete Zunahme der NH_4^+ -Deposition im Versuchszeitraum 1989-1991 am Schöllkopf nicht nachgewiesen werden konnte (HOCHSTEIN, 1995).

Im Zeitraum von 1984 bis 1991 wurde die Schadstoffbelastung der Luft direkt in einer am Schöllkopf gelegenen Meßstation analysiert (BAUMBACH und BAUMANN, 1995) (Anhang 3). Der Schöllkopf ist aufgrund seiner Verkehrs- und Industrieferne ein sogenanntes "Reinluftgebiet" mit niedriger SO_2 - und NO_x -Belastung. Messungen ergaben Mittelwerte von rund $12 \mu\text{g SO}_2$, $13 \mu\text{g NO}_2$ und $2 \mu\text{g NO}$ pro m^3 Luft. Die SO_2 -Belastung war im allgemeinen niedrig und wurde vor allem durch episodenhaft auftretende Ferntransporte aus östlichen Nachbarstaaten hervorgerufen (HEINZE und BAUMBACH, 1989). Sie trat auch bei bestimmten winterlichen Wetterlagen wegen erhöhter Heizaktivität und intensivem Energieverbrauch auf und führte zu kurzzeitigen Spitzenbelastungen. Die nordöstlichen Winde am Schöllkopf (Richtung Freudenstadt) trugen zu einem Drittel zur NO_x -Belastung bei. Die NO_x -Monats- und monatlich höchsten Halbstundenmittelwerte am Schöllkopf fielen niedriger als in einem südlich von Stuttgart untersuchten Standort aus (BAUMBACH *et al.*, 1990).

Der Schöllkopf zeichnet sich durch erhöhte Ozon-Konzentration aus. Der Ozon-Mittelwert für die Jahre von 1984 bis 1991 betrug $85 \mu\text{g} / \text{m}^3$ Luft, und damit überschritt er um 42 % den Luftgüteleitwert ($60 \mu\text{g} / \text{m}^3$ Luft, WHO) zum Schutz der Vegetation vor Langzeitwirkungen. In den Sommermonaten dieses Zeitraumes lagen die Monatsmittelwerte von Ozon überwiegend über $100 \mu\text{g} / \text{m}^3$ Luft, wobei die maximalen Halbstundenwerte an heißen, sonnenscheinreichen Tagen $200 \mu\text{g} / \text{m}^3$ Luft übertrafen (Anhang 3). Von Oktober bis März hatte der Ozon-Mittelwert ebenfalls den erhöhten Wert von $68 \mu\text{g} / \text{m}^3$ Luft (BAUMBACH und BAUMANN, 1995).

Das höhere Ozonaufkommen am Schöllkopf wird u. a. dadurch verursacht, daß die nächtliche Ozonabsenkung in den Schwarzwaldhochlagen bei schönem Wetter kaum auftritt (BAUMBACH u. BAUMANN, 1995). Unabhängig von der Jahreszeit betrug die nächtliche Ozonkonzentration für die Jahre 1984 bis 1991 ca. 92 % der am Tag gemessenen Werte.

Im Rahmen des zweiten Schöllkopf-Projektes wurden die Tagesmittelwerte der Ozon-Konzentration in den Jahren 1993-1996 von der Gesellschaft für Umweltmessungen und Umwelterhebungen mbH (UMEG, Landesweites Meßnetz) (Anhang 4) zur Verfügung gestellt. Die UMEG-Meßstelle befand sich am Nordrand von Freudenstadt. Wie in den vorangegangenen Jahren erreichten die Sommermonate Werte von über $100 \mu\text{g} / \text{m}^3$ Luft,

Nährelement- und Wasserversorgung

oft sogar für mehrere Wochen. Episoden mit Ozon-Tagesmittelwerten über $180 \mu\text{g} / \text{m}^3$ Luft wurden 1994 und 1995 festgestellt. Im Jahr 1996 blieben sie etwas niedriger.

2.1.3. Nährelement- und Wasserversorgung

Auf den PEF Untersuchungsflächen wurden eine forstliche Standortmarkierung (ALDINGER und HIRT, 1995) und an zwei Stellen Profile angelegt. Außerdem wurden bodenchemische Untersuchungen (v. WILPERT und HILDEBRAND, 1995) durchgeführt (s. Abb. 2). Diese Studien ergaben, daß die Standorte der Fichten sich neben der Tongründigkeit vor allem hinsichtlich Wasserhaushalt und organischer Auflage unterscheiden. Die Böden sind basenarm und schlecht mit Nährelementen ausgestattet. Die Vorräte an kurz- und mittelfristig verfügbaren Ionen (wasserlösliche und austauschbare Ionen) sind extrem gering, dabei ist es die organische Auflage, die am meisten zu diesem mittelfristig verfügbaren Nährelementpool beiträgt. Eine Bedeutung als mittelfristiger Nährelementspeicher wurde auch dem stationären Bodenwasser des Intraaggregatporensystems zugeschrieben.

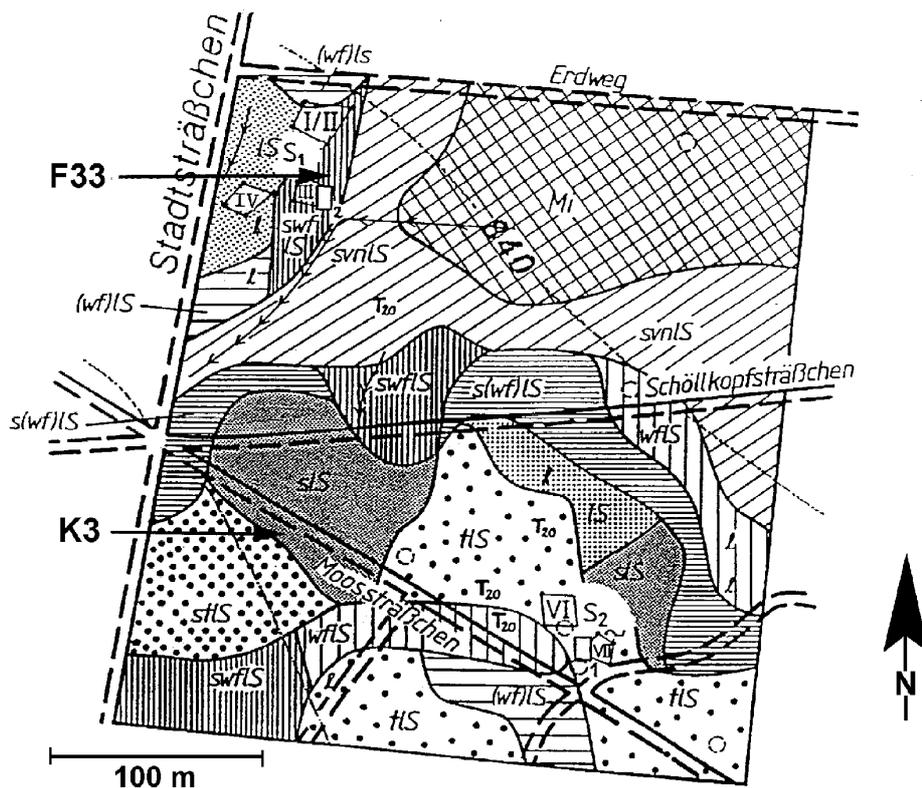


Abb. 2 Der Schöllkopf: Standortliche Verhältnisse im Bereich der PEF-Untersuchungsflächen und Standorte der in dieser Arbeit untersuchten Fichten F33 (geschädigt) und K3 (ohne Schadenssymptome). Die Karte der standortkundlichen Feinkartierung ist aus ALDINGER und HIRT (1995) entnommen. F33 stockt auf stark saurem wechselfeuchtem lehmig-sandigem Boden (swfIS) am Rand einer nassen Misce (Mi), und K3 stockt auf stark saurem lehmigem Sand (sIS). Weitere Abkürzungen vergl. ALDINGER und HIRT (1995).

Von den als austauschbar qualifizierten Kationen ist ein sehr großer Teil bereits wasserlöslich. Dies trifft vor allem für Magnesium zu: bis zu 60 % des austauschbaren Magnesiums ist im Bodenwasser gelöst. D. h.: Der tatsächlich verfügbare Magnesium-Pool wird daher weniger durch Lösungsgleichgewichte zwischen Festphase und Bodenlösung, sondern vielmehr durch Menge und Transport der Bodenlösung bestimmt. Dies erklärt möglicherweise die labile Mg-Ernährung der dort wachsenden Fichten, welche in engem Zusammenhang mit dem Wasserhaushalt stehen soll.

Der Wasserhaushalt beider untersuchten Profile unterscheidet sich deutlich. In dem Bodenprofil am Moossträßchen (K3, Abb. 2) trat nur in geringem Maß Stauwasser auf (eine Beobachtung während der Vegetationszeit bei 60 cm unter Flur). In dem Bodenprofil am Stadtsträßchen (F33, Abb. 2) war über die Hälfte der Vegetationsperiode Stauwasser, wobei der höchste Stauwasserstand bei 25 cm unter Flur lag. Außerhalb der Vegetationsperiode betrug die Differenz der Stauwasserstände zwischen beiden Standorten 10 – 20 cm (v. WILPERT und HILDEBRAND, 1995). Die durch den kleinräumigen Stauwasserzustand bestimmte physiologische Begrenzung des Wurzelraumes ist die entscheidende Variable der Nährstoffversorgung: die Nährelemente können durch die Baumwurzeln nicht abgeschöpft werden (SIEFERMANN-HARMS, 1995).

2.2. Charakterisierung visuell gesunder und geschädigter Fichten am Schöllkopf

Die Fichten der PEF-Untersuchungsflächen wurden mehrmals von D. Seemann (Forstliche Versuchsanstalt Baden-Württemberg) während der beiden interdisziplinären Langzeitstudien am Schöllkopf (1. Studie: 1989-1991 –BITTLINGMEIER *et al.* 1995- und 2. Studie: 1993-1996 -SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 c-) bonitiert.

Fichte F33 ist ein Baum mit deutlichen Vergilbungssymptomen bei den vorjährigen Nadeln (2. Nadeljahrgang) und mit einem Nadelverlust von 25%. Er wurde bei der Bonitierung der Schadstufe 2 zugeordnet (Abb. 3, rechts). Bis 1995 ändert sich dieser Zustand nicht, erst ab 1996 blieben auch die 1-jährigen Nadel grün. Die Fichte K3 ist ein visuell gesunder Baum (Abb. 3, links). Diese Fichte wurde im Sommer 1993 als Kontrollbaum ausgewählt. Während der ganzen Zeit der 2. PEF Langzeitstudie von 1993 bis 1996 waren an dieser Fichte keinerlei Vergilbungssyptome zu verzeichnen. K3 war immer mit 4 – 5 Nadeljahrgängen dicht benadelt (Schadstufe 0).

Fruktifikationen wurden zwischen 1992 und 1996 an beiden Bäumen nicht beobachtet (SIEFERMANN-HARMS, 1997 b). Das Alter beider Fichten wurde 1993 zwischen 30 – 35 Jahren geschätzt und sie dürften wie die anderen Bäume der PEF-Untersuchungsflächen aus Naturverjüngung stammen (UNTHEIM, 1995).

Charakterisierung visuell gesunder und geschädigter Fichten am Schöllkopf



Abb. 3 Fichte K3 (links) und Fichte F33 (rechts) am 14.06.1994. Die vorjährigen Nadeln der Fichte F33 zeigen eine plötzliche Vergilbung.

Am Schöllkopf befanden sich beide untersuchten Fichten 170 m voneinander entfernt, stockten jedoch auf unterschiedlichen Böden: Die Fichte K3 auf einer schwach konvexen Fläche aus stark saurem lehmigem Sand und die Fichte F33 auf stark saurem wechselfeuchtem lehmig-sandigem Boden im Bereich einer Flachmulde mit verstärkter Wasserführung (Abb. 2). Für beide Fichten ist Rohhumus die Humusform.

F33 stockt am Rand einer Misse und der durchschnittliche Grundwasserstand war während der 2. Schöllkopfstudie um 10-20 cm höher als bei K3. Damit sollte die physiologische Untergrenze des Wurzelraums von F33 bei ca. 30 cm, und von K3 bei 40-50 cm Tiefe liegen.

Die Studie zur Nährelemente-Situation in den Böden von beiden Fichten wurde von HOCH *et al.*, (1997) realisiert. Der Vergleich der bodenchemischen Verhältnisse an den Standorten (Anhang 5; ungedüngte Böden im Winter: Spalten 2 und 5) zeigt, daß in einer Bodentiefe von 0-5 cm unter F33 eine wesentlich geringere Basensättigung als unter K3 vorliegt. Insbesondere die Mg^{2+} -Sättigung beträgt unter F33 vor der diagnostischen Düngung (s. 2.4) nur die Hälfte von der Mg^{2+} -Sättigung unter K3. Dagegen sind die Mn^{2+} - und Al^{3+} -Sättigungen und der pH-Wert unter F33 gegenüber den Werten unter K3 erhöht. In einer

Bodentiefe von 5-10 cm gleichen sich die Basensättigung unter beiden Fichten an. Die Mn^{2+} -Sättigung und die pH-Werte blieben unter F33 unverändert hoch.

Tab. 4 Entwicklung des Neuaustriebs bei den Fichten F33 und K3 am Anfang der Vegetationsperioden von 1994 – 1996. Verändert nach SIEFERMANN-HARMS, 1997 b.

	Anfang Mai	Mitte Mai	Ende Mai	Anfang Juni	Mitte Juni
1994	3.05		24.05		14.06
	Knospen im winterlichen Zustand, klein		Austrieb 1-2 cm lang		Austrieb hat volle Länge erreicht (6-8 cm)
K3	Knospen in winterlichem Zustand, klein		Knospenhülle abgeworfen		Austrieb 1-3 cm Lang
1995		16.05	30.05		13.06
	F33	Knospenhülle abgeworfen	Austrieb 1-2 cm lang		Austrieb hat 80 % der vollen Länge erreicht
K3		Knospen verdickt	Knospenhülle abgeworfen		Austrieb 1-1,5 cm lang
1996	7.05		21.05	3.06	18.06
	Knospen verdickt		Knospenhülle abgeworfen	Austrieb 1-2 cm Lang	Austrieb hat volle Länge erreicht
K3	Knospen im winterlichen Zustand, klein		Knospen verdickt	Knospenhülle z. T. abgeworfen	Austrieb hat 70 % der vollen Länge erreicht

Wie alle am Schöllkopf stockenden Fichten sind die beiden hier untersuchten Bäume in ihrer genetischen Konstitution mit Fichten an anderen süddeutschen Standorten vergleichbar (KONNERT, 1990). Es besteht aber eine beachtliche genetische Variabilität zwischen den einzelnen Individuen (KONNERT, 1995). F33 und K3 unterscheiden sich im Neuaustriebszeitpunkt: die Fichte F33 treibt etwa 10 bis 20 Tage früher als die Fichte K3 aus (Tab. 4).

Diagnostische Düngung

In der Studie von HOCH et al., (1997) wurden auch die Elementgehalte der Nadeln untersucht. Bevor die diagnostische Düngung (s. 2.4) stattfand, lagen für Phosphor mittlere (F33) bzw. geringere bis mittlere (K3) Gehalte, für Stickstoff und Kalium mittlere Gehalte, für Calcium gering bis mittlere und gering bis sehr geringe Magnesium-Gehalte vor. Aluminium- und Mangangehalte waren bei den Nadeln der Fichte F33 hoch aber nicht toxisch, und bei den Nadeln von K3 mittelhoch.

2.3. Beschattung

Im Jahr 1994, vom 24.05 1994 bis 25.10.1994, wurde ein Drittel des 12. Wirtels der Fichte F33 und des 9. Wirtels der Fichte K3 mit drei Lagen eines grauen regendurchlässigen Nylonnetzes überdacht, das die Lichtintensität auf 15 % des Umgebungslichtes reduzierte.

2.4. Diagnostische Düngung

Der Boden unter der Fichte F33 wurde mit Bittersalz (NOVOSAN®: Fa. Merholz, Bedburg; 49 % Mg-Sulfat, 51 % Wasser) gedüngt. Die Düngungen fanden am 24.05. und 6.07.1994 sowie 30.05., und 27.06.1995 statt. Jedesmal wurden auf 16 m² Bodenfläche jeweils 3,2 kg Bittersalz gleichmäßig verteilt, was einer MgSO₄-Gabe von 400 g/m² entspricht.

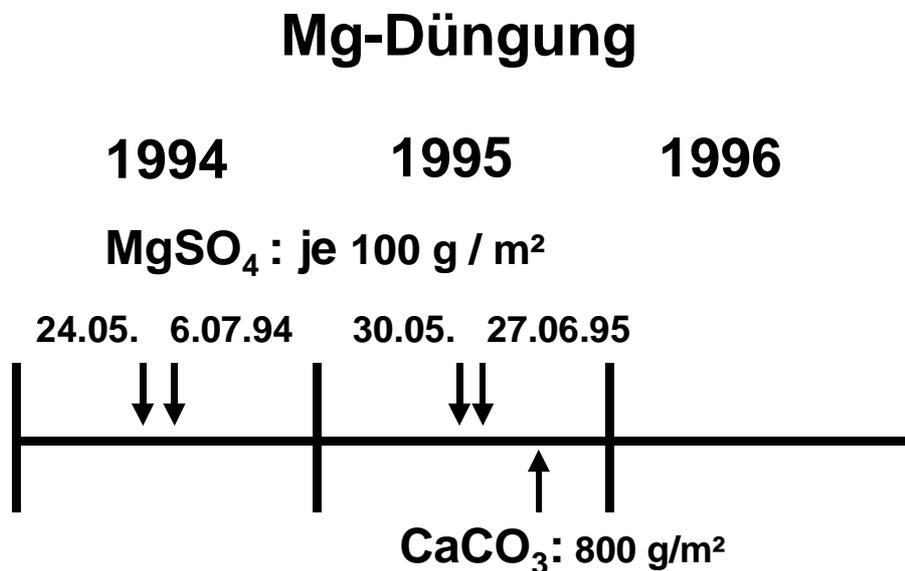


Abb. 4 Schema der durchgeführten Mg-Düngungen in den Jahren 1994 und 1995 und Kalkung im Jahr 1995. Es wurden insgesamt 400 g/m² MgSO₄ bzw. 800 g/m² naturreiner Kalk pro Düngung auf dem Boden unter der Fichte F33 ausgebracht.

Im Herbst 1995 wurde außerdem mit naturreinem Kalk (NORDWEISS-PERLE®: Vereinigte Kreidewerke Dammann KG, Söhlde; Geperltes staubfreies Granulat mit 80 % Ca-Carbonat, 5 % Mg-Carbonat) gedüngt. Auf 50 m² Bodenfläche wurde 1 kg / m² Granulat ausgebracht, d.h. eine Gabe von 800 g CaCO₃ / m².

2.5. Probenahme

Der Zeitpunkt der Probenahmen am Schöllkopf wurde um die Mittagszeit (11 – 13 Uhr) gewählt, um mögliche Einflüsse des Tagesganges zu vermeiden. Zweige mit 2-3 Nadeljahrgängen wurden entnommen und die Anschnitte sofort in Wasser gestellt. Anschließend wurden die feuchtgehaltenen Proben-Zweige zum Botanischen Institut I der Universität Karlsruhe gebracht, wo die Nadeln gegen 16 Uhr sofort präpariert und fixiert wurden.

Für die Probenahme wurden die Kronen beider Fichten mittels U-förmiger Gerüste zugänglich gemacht (Ausführung: Fa. Feig Gerüstbau GmbH, 72297 Seewald, Freudenstadt). Die Gerüste waren bei der Fichte K3 10 m und bei der Fichte F33 12 m hoch.

Es wurde am 9. Wirtel der Fichte K3 und am 12. Wirtel bei der Fichte F33 beprobt, dabei wurden Äste der 2. Ordnung gewählt. Die Probetermine sind in Tabelle 5 gezeigt.

Tab. 5 Termine der Probenahme in den Jahren 1994-1996.

1994:	12.04	3.05	24.05	14.06	-	6.07	26.07	16.08	20.09	25.10
1995:	25.04	16.05	30.05	13.06	27.06	11.07	25.07	16.08	19.09	17.10
1996:	23.04	7.05	21.05	3.06	18.06	2.07	11.07	12.08	10.09	22.10

2.6. Auswahl der Nadeln

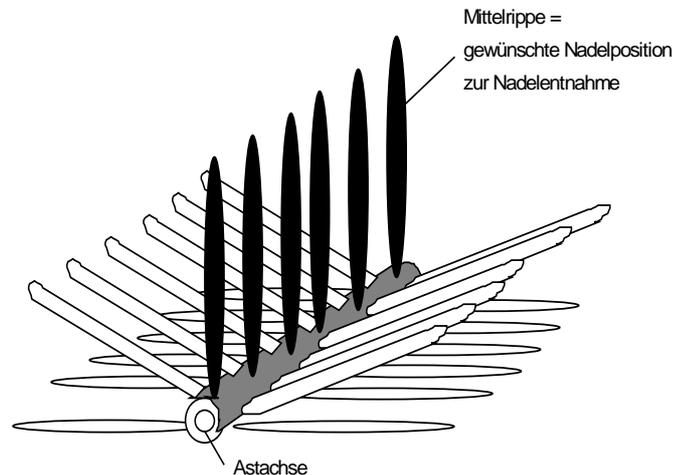
Die Nadeln wurden unter Beachtung des angegebenen Jahrgangs nach festgelegten Kriterien gepflückt:

- Von einem Zweig wurden nur Nadeln aus der mittleren Linie entnommen (Abb. 5), d.h. nur Nadeln, die von ihren Nachbarnadeln nicht beschattet wurden.

Elektronenmikroskopische Methoden

- Ein Nadeltyp wurde über den Nadeljahrgang (2. Jahrgang) und die Lichtverhältnisse (Licht- oder Schattennadel) definiert. Die lichtexponierten Nadeln waren zur Sonne gerichtet.
- Von einem Nadeltyp wurden vier einzelne Nadeln entnommen.
- Die entnommenen Nadeln mußten für den jeweiligen Nadeltyp repräsentativ sein.

Abb. 5 Schema zur Auswahl der Nadeln: Aus Ästen der 2. Ordnung wurden vier Nadeln des 2. Jahrgangs aus der mittleren Linie (schwarz) entnommen. Die entnommenen lichtexponierten Nadeln waren zur Sonne gerichtet.



2.7. Elektronenmikroskopische Methoden

2.7.1. Fixierung und Einbettung

Die Methodik für die Fixierung baute sich auf der Arbeit von SUTINEN *et al.* (1990) auf. Als Einbettungsmittel wurde die Kunstharzmischung (Epoxydharz) nach SPURR (1969) in der Variante hart und langsam polymerisierend verwendet. Dieses Einbettungsgemisch eignet sich für schwer infiltrierbare Gewebe.

Die ausgewählte Nadel wurde in einer auf Eis gehaltenen Wachspetrischale, die mit einigen Tropfen Fixierlösung versehen ist, gebracht. Die Nadelenden wurden abgetrennt und weggeworfen. Das Zentralstück der Nadel wurde in dünne Scheiben von ca. 0,5 mm Dicke geschnitten und in das mit der Primärfixierlösung (Cacodylat: 0,1 M; Glutaraldehyd: 1,5 %; Formaldehyd: 1,5 %; Coffein: 0,4 %; Saccharose: 0,15 M) gefüllte Eppendorf-Röhrchen überführt. Nach Entlüften der Präparate wurden sie über Nacht bei 0 °C fixiert. Am folgenden Morgen wurden die fixierten Nadelstückchen mit Waschpuffer-1 zwei mal, je 15 min. (Cacodylat Puffer 0,1 M; 2 mM CaCl₂; 0,4% Coffein; 0,15 M Saccharose) gewaschen und anschließend folgte eine zweite Fixierung mit Osmium (sekundäre

Fixierung: Cacodylatpuffer: 0,1 M; OsO₄: 2 %) für 2 h bei 0 °C. Nach dem Waschen mit dem Waschpuffer-2 (Cacodylatpuffer 0,1 M; 2 mM CaCl₂) wurden die Präparate über eine Ethanolreihe entwässert (50 %, 70 %, 90 % jeweils 10 min bei 0 °C, und 95 %, 100% je 10 min bei Raumtemperatur (RT)).

Anschließend erfolgte die Vorbereitung zur Einbettung: Die Stücke wurden 20 min bei RT in 1,2-Epoxypropan inkubiert, dann in einer Mischung von 1,2-Epoxypropan und steigender Menge an Harz (ERL (Vinylcyclohexane dioxide) 80 g; DER 736: 32 g; NSA (Nonenylsuccinic Anhydride): 208 g; DMAE (Dimethylaminoethanol) 1,6 g) mehrmals inkubiert (Verhältnis Epoxypropan : Harz: 3 : 1, 30 min bei RT; 1 : 1, 60 min bei RT; und 1 : 3 über Nacht bei RT). Anschließend wurden die Nadelstückchen mit reinem Harz bei RT 24 h infiltriert. Am vierten Tag wurden die fixierten Nadelstücke in je eine Silikonform, die mit Harz gefüllt war, überführt. Die eine Schnittfläche der Nadelstückchen wurde nach vorne ausgerichtet und die Silikonform mit Harz nachträglich noch mal aufgefüllt. Die beschrifteten und mit den Präparaten bestückten Silikonformen wurden in einem nicht vorgewärmten Ofen gebracht. Die Polymerisation fand bei 70 °C während 72 h statt. Nach Abkühlen wurden die Kunstharzblöckchen weiter verarbeitet.

2.7.2. Befilmung der Grids

Die Kupfergrids (Netzmasche: 100ter und Slots: 2 x 0,6 mm) wurden mit Chloroform 5 min im Ultraschallbad gewaschen. Anschließend wurden die Grids auf fusselfreiem Papier und staubgeschützt getrocknet. Ein einfacher Objektträger wurde gereinigt und mit fusselfreiem Papier poliert, bis das Glas frei von Fett und Staub war. Ein Ablauftrichter mit 2-Wegehahn wurde mit Chloroform gewaschen und nachher mit 1,4 % Pioloformlösung gefüllt; Der Objektträger wurde hineingelegt und wenn der Flüssigkeitsspiegel völlig ruhig war, ließ man –erschütterungsfrei- die Pioloformlösung ablaufen. Auf dem Objektträger bildete sich ein Film. Der Objektträger wurde aus dem Trichter entnommen und in eine mit Austauschwasser gefüllte Petrischale langsam eingetaucht, so daß ein Pioloformfilm aufschwamm. Dieser Film wurde rasch mit Grids belegt und mittels eines Stücks Parafilm in Objektträgergröße wurden die befilmten Grids aus dem Wasser geholt und staubfrei aufbewahrt.

2.7.3. Ultramikrotomie

Das Präparat in dem Kunstharzblock wurde getrimmt. Dies geschah mit einer entfetteten Rasierklinge oder durch eine Diamantfräse (Fa. LKB, Schweden). Die verwendeten Ultramikrotomgeräte waren Om U2 (Fa. Reichert, Österreich) und Ultracut R (Fa. Leica, Deutschland). Die ersten groben Schnitte, bis die Schnittfläche des Blöckchens spiegelglatt

Mikroskopie (TEM), Fotografieren, Entwicklung, Videoaufnahme

angeschnitten war, wurden mit einem selbst geschnittenen Glasmesser (Knife maker 7801 B, LKB, Schweden) oder mit einem Histo-Diamantmesser (Fa. Diatome, Schweiz) angefertigt. Die Ultradünnschnitte wurden mit einem Diamantmesser oder mit einem Semi-Diamantmesser geschnitten. Das Letztere wurde auch benutzt, um 1 µm dicke Schnitte für die Lichtmikroskopie herzustellen (s. Kap. 2.8.). Ein Strecken der Schnitten erfolgte mit Chloroform-Xylol-Dämpfen (Mischung 1 : 1). Nur die Schnitte, die durch das reflektierte Licht grau (<60 nm), oder silbrig (von 60 bis 90 nm) glänzten, wurden auf ein befilmtes Grid gebracht und nach dem Trocknen weiter behandelt bzw. staubfrei aufbewahrt.

2.7.4. Kontrastierung

Um die Elektronenstreuung bzw. den Kontrast der Proben zu erhöhen, wurden diese mit Kontrastierungslösungen aus Schwermetallen behandelt. Erst wurden die mit Schnitten versehenen Grids in eine 10 %ige methanolische Uranylacetat-Lösung eingetaucht und nach fünf Minuten mehrmals mit destilliertem Wasser gewaschen.

Gleich danach wurden die Schnitten mit Bleicitrat (REYNOLS, 1963) nachkontrastiert. Diese fand in einer Kammer, in der das CO₂ mit Natriumhydroxidplätzchen entfernt wird, statt. Nach fünf Minuten Kontrastierung, wurden die Grids in einer sehr schwachen Laugenlösung (0,02 M NaOH) gewaschen und noch mehrmals mit gekochtem destilliertem Wasser gespült. Nach dem Trocknen wurden die nun fertigen Präparate am TEM (Transmissionselektronenmikroskop) mikroskopiert.

2.7.5. Mikroskopie (TEM), Fotografieren, Entwicklung, Videoaufnahme

Die fertig vorbereiteten Proben wurden an einem ZEIS EM 900 (ZEISS, Oberkochen, Deutschland) Transmissionselektronenmikroskop am Botanischen Institut I der Universität Karlsruhe untersucht. Die verwendete Beschleunigungsspannung betrug 80 kV.

Zur Dokumentation wurden photographische Planfilme Agfa Scientia (8,3 x 10,2 cm, Filmfläche ca. 8 x 8 cm) verwendet Die Negative für die Messungen an den Chloroplastenschnitten wurden nur bei 12.000-facher Vergrößerung exponiert. Für die morphologischen Untersuchungen am Zentralzylinder wurden dagegen mehrere Vergrößerungen verwendet. Die exponierten Negative wurden mit Gp5-Arbeitslösung (Agfa for B & W Film) entwickelt und mit Acidofix-Arbeitslösung (Agfa Acidofix rapid fixing salt for B & W films and papers) fixiert.

Die entwickelten Negative der Chloroplasten wurden von einer Videokamera (CCD B/W TV Camera, Tokyo Electronic Industry Co., Ltd.) digitalisiert (s. Kap. 2.10.2.2.). Die digitalisierten Bilder hatten eine räumliche Auflösung von 768 x 576 Pixel, eine Bildtiefe von 8 Bit und 256 Graustufen. Damit war die im digitalisierten Bild gespeicherte Information kleiner als die Information, die das elektronenmikroskopische Negativ mit ca. 6×10^6 Bildpunkten (ROBENEK, 1995) enthielt. Dies machte die Negative unentbehrlich, um die elektronischen Messungen zu sichern. Die elektronenmikroskopisch digitalisierten Aufnahmen wurden in TIF-Format (Tag Image File Format, TIFF) in Streamer-Bänder (DC-2120) für die Aufbewahrung gespeichert.

2.8. Licht- und Fluoreszenzmikroskopie

Für die Licht- und Fluoreszenzmikroskopie wurden 1 µm dicken Schnitte, die mit einem Histo-Messer oder mit einem Semi-Messer gewonnen werden, verwendet (Kap. 2.7.3.). Mit einer Nylonöse wurden die im Trog schwimmenden Schnitte auf den Objektträger transferiert. Danach wurden die auf einem Tropfen Wasser schwimmenden Schnitte mit Wärme behandelt, um die Kompressionsartefakte zu beheben. Beim Abdampfen des Wassers hafteten die gestreckten Schnitte auf dem mit Hauptkleber (1 g Gelatine, 100 ml destilliertem Wasser, 15 ml Glycerin und 2 g Phenol) behandelten Objektträger fest. Vor weiteren Behandlungen ruhten die Präparate mindestens 24 h. Alle Präparate wurden im Dunkeln und bei 4 °C aufbewahrt.

2.8.1. Entharzung

Die sauren Farblösungen dringen nur schwer durch das Harz. Deshalb war es nötig, das Kunstharz aus den Schnitten zu lösen. Dies geschah mit der 1-2 stündigen Inkubation der Schnitte in einer gesättigten ethanolischen Natronlauge. Bevor diese gesättigte ethanolische Natronlauge verwendet werden konnte, mußte sie einige Tage ruhen und reifen, dabei wechselte sie ihre Farbe von transparent zu karamelbraun. Nach dem Lösen des Epoxidharzes mit Natronlauge-Alkohol wurden die Schnitte in einer absteigenden Alkohol-Reihe (100%, 95 %, 70 %, 50 %, 30 %) und destilliertem Wasser gewässert. Nachdem die Präparate trocken waren, wurden sie entweder bei 4 °C und im Dunkeln aufbewahrt oder weiter bearbeitet.

2.8.2.Färbungen

Für die lichtmikroskopischen Untersuchungen der Nadeln und speziell die anatomischen Untersuchungen des Zentralzylinders wurde die Toluidinblaufärbung gewählt, welche einen Blick in die Details der Zellen erleichtert. Für die Fluoreszenzmikroskopie wurden die beiden Doppelfärbungen Primulin-Calcofluor und Rhodamin-Astrablau eingesetzt, um die Veränderungen im Zentralzylinder zu untersuchen.

2.8.2.1. Toluidinblau O

Dieser basische Thiazinfarbstoff (C. I. 52040) eignete sich aufgrund seiner metachromatischen Eigenschaften zur Differenzierung von lignifizierten und nicht-lignifizierten Elementen. Zum Beispiel färben sich mit Toluidinblau die lignifizierten sekundären Zellwände der Transfusionstracheiden „grünlich-blau“, während die unlignifizierten Zellwände „rotviolett“ gefärbt werden. Stärke wird nicht gefärbt, Zellkerne erscheinen „lila-purpur“ und die Nucleoli „dunkel-lila“ (Abb. 9 und ff).

Es wurde nach der veränderten Methode von TRUMP *et al.*, (1961) mit einer fast gesättigten Toluidinlösung (0,1 %, w/v) in einer 2,5 % wässrigen Natriumcarbonatlösung gefärbt. Die Inkubationszeit betrug fünf Minuten. Nach dem Abspülen und Trocknen wurden die Präparate mit Entellan[®] (Merck Darmstadt, Deutschland.) eingedeckt.

2.8.2.2. Rhodamin B-Astrablau

Diese Doppelfärbung eignet sich für die Licht- und Fluoreszenzmikroskopie. Das basische Rhodamin B (C. I. 45170) fluoresziert rot mit blauer oder grüner Anregung (max. Absorption ca. 555 nm) (ROST, 1995) und färbt lipophile Substanzen (ROMEIS, 1989) und Verholzungen an den sekundären Wänden (AUFSEß, 1973). Die Präparate wurden mit einer 0,01 %igen Rhodamin B-Lösung in Leitungswasser (w/v) für zehn Minuten gefärbt (GERLACH, 1984).

Astrablau zeigt eine große Affinität für Cellulose. Die großen Moleküle dieses Farbstoffs füllen die intermicellaren Hohlräume der Cellulosewände und färben sie blau. Als Farblösung wurde eine 0,5 %ige wässrige Astrablaulösung (w/v) in 5 %iger Essigsäure verwendet, die Inkubationszeit betrug fünf Minuten.

2.8.2.3. Primulin-Calcofluor

Primulin (C. I. 49000) sowie Calcofluor (C. I: 40622) sind Fluoreszenzfarbstoffe. Während bei der Färbung mit Toluidinblau O nicht nur die Zellwände sondern auch der Zellinhalt zu beobachten sind, werden mit dieser Doppelfärbung nur die Zellwände gefärbt.

Das saure Fluorochrom Primulin ist ein Thiazolderivat, welches „leuchtend gelb“ fluoresziert (Ex 340 nm, Em 425 nm) (ROST, 1995). Primulin hat verschiedene Verwendungen bei der Untersuchung pflanzlicher Gewebe, z. B. der Farbstoff verstärkt die Färbung vom Lignin der Zellwände (O'BRIEN U. MCCULLY, 1981). Für die Färbung der Präparate wurde eine wässrige 0,5 %ige Primulinlösung in Leitungswasser (w/v) (GERLACH, 1984) verwendet und für zehn Minuten inkubiert.

Calcofluor ist ein optischer Aufheller. Als Fluorochrom (Ex 437 nm, Em 490 nm) fluoresziert er „leuchtend-hellblau“ (ROST, 1995). Dieser basische Farbstoff hat eine breite Anwendung für die Färbung pflanzlicher Zellwände: Er färbt Cellulose, Chitin und insbesondere β ,1-3 glykosidische Verbindungen (HUGES und MCCULLY, 1975). Als Arbeitslösung wurde eine 0,01 % ige Calcofluorlösung (w/v) in 1/15 M H_2PO_4 pH 8,0 verwendet (verändert nach FISCHER et al., 1985), die Inkubationszeit betrug drei Minuten.

2.8.3. Mikroskopie und Mikrofotografie

Für die Hellfeld- und Fluoreszenzmikroskopie wurde ein ZEISS-Mikroskop Standard 18 (ZEISS, Oberkochen, Deutschland) mit Plan Objektiven (2,5x bis 100x) und Einbauleuchte (Osram, 15W) eingesetzt. Die angewendeten Filter für die Auflichtfluoreszenz waren: für die Primulin-Calcofluor-Färbung (s. Kap. 2.8.2.3.) der Hochleistungs-Breitbandfilter (Interferenzfilter) "UV-Violett" 395-425 (Bandpaßfilter (BP) 395-420 nm, Farbteiler (FT) 425 nm, Sperr- oder Langpassfilter (LP) 450 nm); und für Rhodamin B (s. Kap. 2.8.2.2.) der Interferenzfilter "Grün" 510-560 (BP 510-560, FT 580, LP 590). Als Lichtquelle für die Fluoreszenzmikroskopie diente eine Quecksilber-Höchstdrucklampe (Osram: HBO 50 W/AC).

Der Diafilm Agfa RSX-200 wurde für das Mikrofotografieren verwendet. Für jede Färbung wurde die optimale Belichtungszeit empirisch nach einer Belichtungsreihe geprüft und die eingestellte Zeit durch die semi-automatische Belichtungssteuerung (ZEISS, Oberkochen, Deutschland) kontrolliert. Für die Hellfeldaufnahmen wurden zusätzlich einfache Farbglas-Blaufilter und Graufilter verwendet. Die Kamera ist eine Mikroskop-Aufsatzkamera M35 von ZEISS (ZEISS, Oberkochen, Deutschland).

2.8.4. Einscannen von Dias

Die Aufnahmen der mit Primulin-Calcofluor (s. Kap. 2.8.2.3) gefärbten Präparate für die morphometrischen Messungen und andere Aufnahmen von hier dargestellten Bilder wurden mittels des Dia-Scanners Polaroid 35 LE (Polaroid, Cambridge, Mass. USA) digitalisiert (s. Kap. 2.10.2.2.).

Für die Farbaufnahmen wurden die für das jeweilige Bild optimalen Einlese-Parameter im RGB-Modus verwendet. Die für die Morphometrie vorgesehenen Dias wurden bei einer räumlichen Auflösung von 1500 dpi und im 256-Grauwerte-Modus (8 Bit Bildtiefe) als Negative eingelesen, so daß die Aufnahmen direkt in schwarz-weiß erschienen. Die eingescannten Bilder wurden vorerst in TIF-Format in ZIP-Medien (100 MB) aufbewahrt.

2.9. Die Struktur verschiedener Nadelabschnitte

Die Nadeln der Fichten und anderer Coniferen (Pinidae) weisen anatomische Unterschiede zwischen Blattspitze, -basis und mittlerem Nadelbereich auf. Um die Vergleichbarkeit der verschiedenen Nadelschnitte des mittleren Bereichs zu sichern, wurde je eine Nadel der Fichte F33 und der Kontrollfichte K3 nach den oben genannten Kriterien (s. Kap. 2.6.) ausgewählt. Die distalen Nadelspitzen und die proximalen Nadelbasen wurden entfernt und der mittlere Bereich in zehn kleine Stückchen von etwa 0,5 mm Breite, mit einer entfetteten, scharfen Rasierklinge, sauber geschnitten (Abb. 6). Jedes Fragment wurde einzeln fixiert (s. Kap. 2.7.1.) und für die Lichtmikroskopie (s. Kap. 2.8.) weiter verarbeitet. Nach dem Entharzen wurden die Semidünnschnitte mit Toluidinblau O gefärbt und anschließend mikroskopiert und fotografiert.

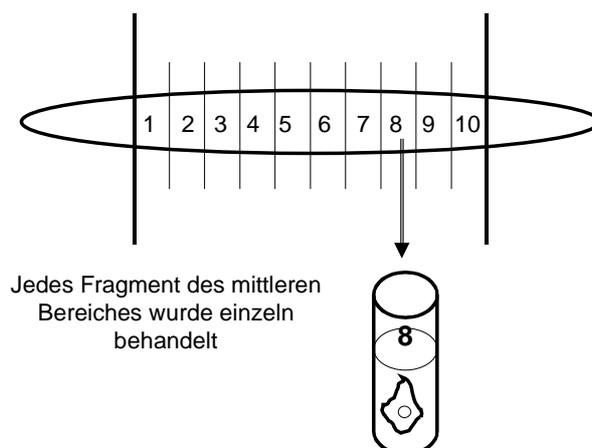


Abb. 6 Der mittlere Bereich einer Nadel wurde in zehn Fragmente (ca. 0,5 mm) geschnitten. Jedes Fragment wurde einzeln fixiert und für die Lichtmikroskopie weiter verarbeitet. Die aus dem eingebetteten Fragment geschnittenen Semidünnschnitte wurden mit Toluidinblau O gefärbt und anschließend mikroskopiert.

2.10. Morphometrische Messungen

Die Morphometrie ist eine Methode zur quantitativen Analyse makroskopischer und mikroskopischer Objekte, welche Körper-, Organ-, und Zellkompartimente umfassen kann. In dieser Arbeit sind visuelle und automatische Meßverfahren angewendet worden, deren Einsatz die Veränderungen der Ultrastruktur der Chloroplasten und der Struktur des Nadelleitbündels innerhalb einer Vegetationsperiode unter Einwirkung einer diagnostischen Mg-Düngung und Beschattung aufklären helfen soll.

2.10.1. Visuelle Meßverfahren

Bei diesen Meßmethoden werden keine elektronischen Medien verwendet, um die Primärdaten zu gewinnen. Eine anschließende elektronische Bearbeitung dieser Primärdaten ist nicht ausgeschlossen.

2.10.1.1. Chloroplastenzahlen in Mesophyllzellen

Aus den 1.700-fach vergrößerten Aufnahmen der abaxialen Seite (morphologische Unterseite) der Nadeln beider Fichten wurden die Chloroplasten aus drei Mesophyllzellen pro Nadel gezählt. Pro Probenahme und Fichte wurde die Chloroplastenzahl von insgesamt zwölf Zellquerschnitten bestimmt.

2.10.1.2. Test-Raster-Verfahren: Veränderung der Thylakoidorganisation

Die Verteilung der Thylakoidstapel und Stromathylakoide in den Schnittflächen der Chloroplasten wurde in 36.000-fach vergrößerten Chloroplastenaufnahmen untersucht. Dafür wurde ein Test-Raster als Meßverfahren eingesetzt (Abb. 7). Das Linienraster bestand aus drei Linien, die jeweils 4 cm voneinander getrennt waren. Diese drei Schnittgeraden wurden senkrecht zur Längsachse der Chloroplastenschnittfläche gelegt. Es wurde die Schnittlänge im Chloroplasten (ohne Stärkekornlänge) (S1-S3) gemessen, die von den Schnittgeraden S1-S3 getroffenen Thylakoidstapel und Stromathylakoide

ausgezählt und die Zahl der Thylakoide pro Stapel bestimmt. Pro Fichte und Probenahme wurden für die Messungen die fünf Chloroplasten ausgewählt, die dem Mittelwert des jeweiligen Probenahmeterrmins am nächsten kamen.

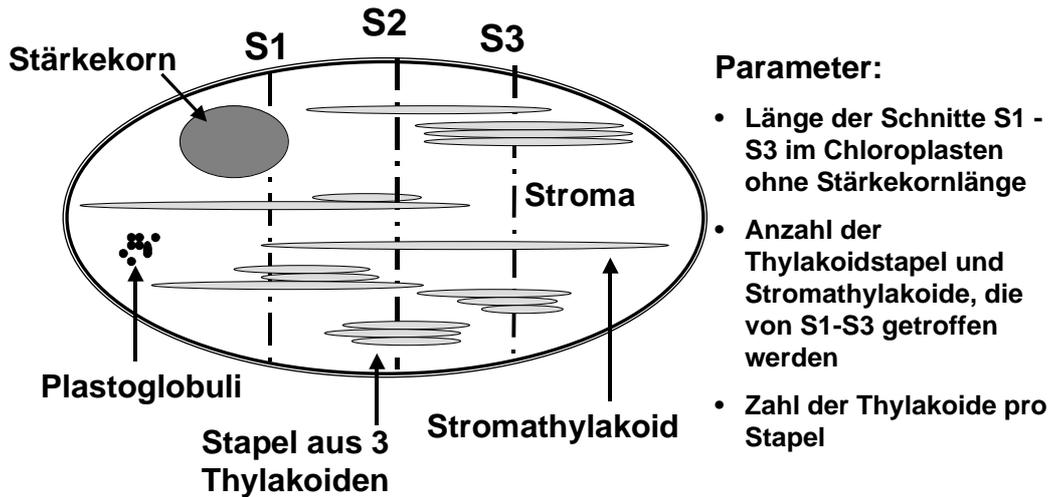


Abb. 7 Schnitt durch einen Chloroplasten mit Stärkekorn, Thylakoidstapeln und Stromathylakoiden (ungestapelte Thylakoide bzw. ungestapelte Thylakoidbereiche): Schema und Liste der untersuchten Parameter. S1-S3: senkrecht zur Längsachse des Chloroplastenschnittes aufgelegtes Linienraster. Im Schema trifft S1 auf ein Stärkekorn und S3 auf zwei Stromathylakoide und zwei Thylakoidstapel jeweils aus drei Thylakoiden.

2.10.2. Computerunterstützte Morphometrie

Dank der computerunterstützten Bildanalyse konnten mit relativ geringem Zeitaufwand große Datenmengen gesammelt werden. Dadurch wurde es ermöglicht, statistisch abgesicherte morphometrische Daten auch aus stark streuenden Einzeldaten zu gewinnen.

2.10.2.1. Computer und Software

Zu Beginn dieser Arbeit diente ein 486-Rechner (80486 Prozessor) mit 33 MHz, 8 RAM und Local-ISA-Bus unter dem Betriebssystem Windows 3.1, mit einer Video-Grafikkarte IP-8/AT

(schwarz/weiß; 512 x 480 Pixel; Matrox) mit einer Bildwechselfrequenz von nur 50 Hz und zwei Bildmonitoren, einer mit 15 Zoll für die Darstellung der Programmoberflächen und der Werte, der andere mit 17 Zoll für die Bilddarstellung. Dieses System war relativ langsam und anfällig für die Bildanalyse größerer Dateien und wurde durch einen Pentium-Rechner mit 90 MHz und 32 RAM, PCI-Bussystem, GrabBit PCI (Video-Grafikkarte, 640 x 480 Pixel, Diamond) ersetzt. Der zweite Monitor für die Darstellung der Bilder wurde durch einen besseren 17 Zoll Monitor ersetzt.

Für die Bildanalyse wurde das Bildverarbeitungsprogramm *analySIS*[®], Version 2.0 u. 2.1 (SIS, Münster, Deutschland) eingesetzt. Für die Chloroplasten-Parameter wurde die von WEINMANN UND HEUMANN (1993) angepaßte Meßmethode angewendet. Für die Auswertungen am Zentralzylinder wurde das gleiche Bildverarbeitungsprogramm neu angepaßt und mit neuen Arbeitsmakros geschrieben. Verschiedene Parameter wurden im *analySIS*[®] erfaßt. Die Werte wurden automatisch, halbautomatisch und manuell gewonnen (s. u.).

2.10.2.2. Digitalisierung

Die heute übliche Abstufung liegt bei 255, d.h. der Meßbereich der CCD-Sensorelemente von 0 bis 1 Volt wird in 255 Abstufungen geteilt, damit beträgt das Auflösungsvermögen $1/255$ des maximalen Wertes und es können 256 (0-255 \Rightarrow 256) Grauwerten dargestellt werden (SCHLICHT, 1995). In dieser Arbeit wurden alle für die morphometrische Auswertung vorgesehenen Bilder so (0: schwarz, 255: weiß) digitalisiert.

Das Verfahren der Digitalisierung wurde für die Bildverarbeitung und Scanner standardisiert. Während der Digitalisierung wurden für jedes Bild die optimalen Helligkeits- und Kontrasteinstellungen manuell gewählt. Am Anfang und am Ende einer Digitalisierungsreihe wurde ein Maßstab digitalisiert, um die richtige Größenkonversion von Pixel in μm zu sichern.

2.10.2.3. Bildverarbeitung und -analyse

Nach der Digitalisierung des Bildes wurde es weiter verarbeitet, um ein binäres Bild zu bekommen, an welchem die Bild- bzw. Meßanalyse durchgeführt werden konnte (Abb. 8). Als erstes wurde der zu messende Bereich (ROI, Region Of Interest) durch Mausektionen definiert (manuelle Auswertung). Die weitere Vorbereitung des Bildes erfolgte durch selbst erstellte Makros (automatische Auswertung).

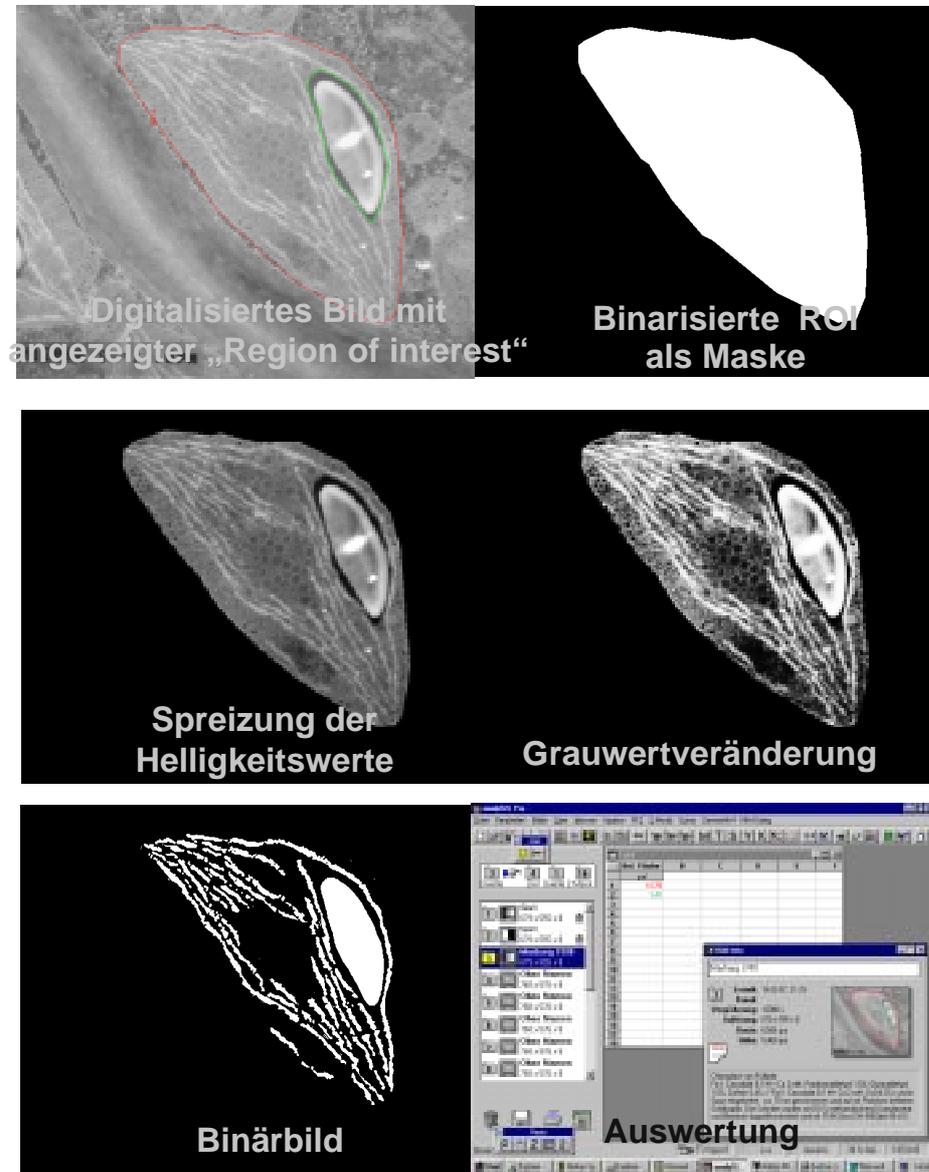


Abb. 8 Computerunterstützte Morphometrie. Die Vorbereitung eines Bildes, die zu der Erzeugung eines Binärbildes führt, beinhaltet verschiedene Schritte wie z. B: die Auswahl eines ROI, die Spreizung der Helligkeitswerte, Grauwertveränderungen, usw. An dem Binärbild (nur aus schwarz (= 0) und weiß (= 1)) können die Messungen durchgeführt werden. Die Meßwerte erscheinen tabellarisch am Arbeitsbildschirm. (Weitere Erklärungen siehe Text).

Diese automatische Auswertung beinhaltet Funktionen wie Overlayeinbrennen oder Anpassung eines ausgewählten Fensters an die Bildschirmgröße, Beleuchtungs- (Shading Korrektur) und Kontrastausgleich, Kontrastmaximierung, Binarisierung des Bildes, Einsetzen gewünschter Filter (morphologischer Filter wie Erosion und Dilatation), Detektion und Klassifikation der gewünschten Objekte (Fläche, Umfang, Anzahl...) und Ausgabe der Meßergebnisse. Die Operationen wie Grauwertänderung bzw. Spreizung der Helligkeitsbereiche oder die Festlegung der Schwellenwerte für die Erstellung des Binärbildes wurden bei jedem Bild individuell festgelegt (halbautomatische Auswertung). Nach der Binarisierung und Flächendetektion waren wegen unterschiedlicher Bildqualitäten Korrekturen notwendig. Die Erfassung mancher Strukturen, z. B. die Plastoglobuli als Kügelchen zu erkennen, war wegen unterschiedlicher Helligkeitsverteilung nicht immer vollautomatisierbar. Die nicht automatisch erfaßten Plastoglobuli wurden manuell einzeln gemessen (s. Kap. 2.10.3.4).

2.10.3. Gemessene Parameter mit der computerunterstützten Morphometrie

Für die Chloroplastenparameter wurden aus den vier Nadeln (s. Kap. 2.6.) jeweils fünf Chloroplasten aus den oberen zwei Zellschichten der abaxial zur Sonne gerichteten Seite gemessen, d. h. pro Probenahme und Baum wurden an zwanzig verschiedenen Chloroplastenschnitten die Parameter bestimmt. Die gemessenen Aufnahmen stellten 12.000-fach vergrößerte Chloroplastenschnitte dar. Für die Auswertungen am Zentralzylinder wurden aus den gleichen Nadeln, die für die Chloroplastenmessungen verwendet wurden, Querschnitte hergestellt, d. h. pro Probenahme und Baum wurden vier verschiedene Leitbündel 250-fach vergrößert gemessen.

2.10.3.1. Schnittfläche der Chloroplasten

Durch Mausektionen wurde der Umriß eines Chloroplasten markiert. Die markierte ROI entsprach der Fläche des Chloroplasten.

2.10.3.2. Stärkekorntfläche

Die Fläche eines Stärkekornt wurde wie die Fläche des Chloroplasten per Mausektionen markiert und bestimmt. Wenn mehr als ein Stärkekornt pro Chloroplast vorhanden war, wurden alle Stärkekornter einzeln gemessen.

2.10.3.3. Thylakoidfläche eines Chloroplastenschnitts

Für die Bestimmung der Thylakoidfläche eines Chloroplastenschnittes wurden mehrere Schritte (s. 2.10.2.3.) durch Makros automatisiert, deren Endergebnis ein Binärbild (s. Abb 8) war. Das Bild wurde durch Kontrastausgleich, Grauwertänderung, Shading Korrektur und zwei morphologische Filter (Erosion und Dilatation) für die Binarisierung und Detektion vorbereitet. Die Schwellenwerte für die Erstellung des Binärbildes wurden für jedes Bild individuell festgesetzt. An dem Binärbild wurde die Messung der Thylakoidfläche durchgeführt.

2.10.3.4. Plastoglobulifläche

Für die Berechnung der Plastoglobulifläche wurden zwei Vorgehensweisen angesetzt. Solitäre, kleine Gruppen und die nicht automatisch zu erfassenden Plastoglobuli wurden nach Vorbereitung des Bildes mit einem Kontrastfilter und der Vergrößerung des interessierenden Ausschnittes einzeln bestimmt. Bei der automatisierten Arbeitsweise wurde erst der gesamte Plastoglobulibereich als ROI bestimmt und durch Shading-Korrektur, Kontrastausgleich und morphologische Filter das Bild für die Binarisierung vorbereitet. Entsprechend der Qualität des Bildes wurden die Schwellenwerte so gewählt, daß im Binärbild entweder die Plastoglobuli identifiziert wurden (Plastoglobuli: weiß; Plastoglobuli-Zwischenfläche: schwarz), oder die Plastoglobuli-Zwischenräume erkannt wurden (Plastoglobuli-Zwischenräume: weiß; Plastoglobuli: schwarz). Wenn die Plastoglobuli-Zwischenräume bestimmt wurden, wurde ihre Fläche vom Plastoglobulibereich (ROI) abgezogen, und damit die Plastoglobulifläche berechnet.

2.10.3.5. Chloroplastenschnittfläche ohne Stärkekornfläche

Durch selbst geschriebene Makros wurden die an den Chloroplasten gemessenen Werte von analySIS[®] nach Excel (Tabellenkalkulationsprogramm, Microsoft) transferiert und hier an der Fläche des Chloroplastenschnittes die jeweilige Fläche des Stärkekorns bzw. der Stärkekörner abgezogen.

2.10.3.6. Stromafläche

Die Stromafläche wurde auch in Excel durch Abzug der gemessenen Stärkekorner-, Thylakoid- und Plastoglobulifläche aus der entsprechenden Chloroplastenschnittfläche errechnet.

2.10.3.7. Anteil der Thylakoidfläche an der Chloroplastenfläche ohne Stärkekornerfläche

Der prozentuale Anteil der Thylakoidfläche an der Chloroplastenfläche ohne Stärkekorner (s. 2.10.3.5) wurde durch Makros automatisiert im Excel errechnet.

2.10.3.8. Fläche des Kambiums und des Phloems eines Nadelleitbündels

Das einzige offen kollaterale Leitbündel der Fichtennadeln wird durch einen medianen Strahl in zwei Hälften zerteilt. In der vorliegenden Arbeit wurde die Hälfte des Kambiums bzw. des Phloems als Maßeinheit definiert. D. h. in jedem Leitbündelquerschnitt wurden zwei verschiedene Messungen durchgeführt: die der linken Hälfte und die der rechten Hälfte des Kambiums bzw. des Phloems. Damit ergaben sich aus den Leitbündeln der vier Nadeln jeder Fichte acht verschiedene Meßwerte pro Kambium bzw. pro Phloem. Die einzelnen als ROIs definierte Flächen wurden durch Mausaktionen markiert und ihre Fläche von analySIS[®] berechnet.

2.10.3.9. Anzahl von Zellen mit offenen Lumen in Kambium und Phloem eines Nadelleitbündels. Klassenverteilung der Größe der Lumina.

Die Anzahl von Zellen mit offenen Lumen wurde an den beiden Hälften des Kambiums bzw. des Phloems bestimmt. Aufgrund der unterschiedlichen Zellgröße wurden Kambium und Phloem nach der gleichen Arbeitsweise immer getrennt verarbeitet. Nach Anpassung des Bildes an die Bildschirmgröße, Grauwertänderung und Schwellenwertsetzen wurde ein Binärbild erzeugt, an dem morphologische Filter angewendet wurden. analySIS[®] erkannte das Lumen einer Zelle als einzelnen Partikel. Das Programm erkannte alle einzelnen Partikel der angegebenen ROI, numerierte sie und klassifizierte sie nach den

Datenauswertung und Statistik

vorprogrammierten Größen in verschiedene Klassen. Die Partikel (offene Lumina der Zellen) des Kambiums wurden in 15 Klassen geteilt, jede Klasse entsprach einer Größe von $6 \mu\text{m}^2$. Für das Phloem wurden die Partikel in 16 Klassen à $3 \mu\text{m}^2$ eingeteilt. Die detektierten Partikel waren größer als fünf Pixel ($0,01 \mu\text{m}^2$).

2.10.4. Datenauswertung und Statistik

Die mit den verschiedenen Verfahren gewonnenen Meßergebnisse wurden mit Excel 5.0 und Excel-Office 97 (Microsoft) tabellarisch und statistisch (Mittelwert, Standardabweichung) weiter verarbeitet. Die Normalverteilung der Daten der Chloroplasten wurde mittels Lilliefors-Diagramm (IMAN, 1982) geprüft. Die Signifikanz aller Messungen wurde mit dem Mann-Whitney-Test getestet (LIENERT, 1973). Dieser Test wird auch U-Test genannt. Es handelt sich um einen Rang-Test, d. h. die Daten liegen in Form von Rangreihen vor. Es ist ein verteilungsunabhängiges Verfahren und geeignet für Proben kleineren Umfangs. Die Nullhypothese in dieser Arbeit lautete H_0 : die gemessenen und zu vergleichenden Parameter beider Fichten unterscheiden sich nicht. Die Alternativhypothese H_1 lautet: die gemessenen und zu vergleichenden Parameter beider Fichten unterscheiden sich. Die Summe der Rangwerte einer Meßreihe war U_1 bzw. der zu vergleichenden Meßreihe U_2 . Eine starke Diskrepanz zwischen U_1 und U_2 ist nach diesem Test ein deutlicher Hinweis für die Gültigkeit der Alternativhypothese. Liegen U_1 und U_2 eng beieinander, spricht dies für die Nullhypothese. U wird definiert als der kleinste berechnete U_n -Wert: $U (U = \min (U_1, U_2))$. Er ist die Prüfgröße des Mann-Whitney-Tests. Je kleiner U ist, desto mehr spricht das Ergebnis gegen die Nullhypothese. U wird gegen die kritischen Werte (U^*) verglichen, welche in den entsprechenden Tabellen zu finden sind (LORENZ, 1988).

Kapitel 3

Ergebnisse

3.1. Anatomie der Nadel von *Picea abies*.

Die Nadeln der Coniferen (Pinidae) im allgemeinen und insbesondere die der Fichten weisen anatomische Unterschiede zwischen Blattspitze und –basis auf, auch wenn sie äußerlich uniform erscheinen (NAPP-ZINN, 1966). Anatomische Unterschiede gibt es vor allem an der Spitze der Nadel und an der Basis nahe der Abscissionszone. Um die Variabilität verschiedener Blattabschnitte in dieser Arbeit auszuschließen und nur vergleichbare Schnitte bzw. Proben zu untersuchen, wurden die distalen Nadelspitzen und die proximalen Nadelbasen entfernt und nur der mittlere Bereich fixiert und weiter verarbeitet. Zudem wurde er auf die Vergleichbarkeit seiner Querschnittsebenen untersucht. Die in den verschiedenen Ebenen aufgenommenen Mikrofotografien zeigten keine sichtbaren Unterschiede (vergleiche Abb. 10).

Die Epidermis und Hypodermis von Fichte K3 und Fichte F33 zeigen in allen drei untersuchten Jahren einen vergleichbaren Aufbau (Abb. 9-11). Die Epidermis und Hypodermis bilden bei *Picea abies* zwei kontinuierliche Zellschichten, die nur von an den oberen und unteren Flanken vorkommenden Stomata unterbrochen sind. Die Epidermiszellen der untersuchten Fichten K3 und F33 sind meist mehr oder weniger rechteckig und in Längsreihen angeordnet. Die Längsachse der Epidermiszellen fällt gewöhnlich mit der des Blattes zusammen. Ihre (antikline) Lateral-, (perikline) Quer-, und die Innenwand sind gleichmäßig verdickt. Die Außenwand ist gewölbt: in der Mitte dicker und an den Rändern genau so dünn wie die Seitenwände (Abb. 10). Die antiklinen Wände der Epidermiszellen sind gewellt (Abb. 12). Durch solche Ausbuchtungen verzahnen sie sich miteinander. Die Lateral-, Quer-, und Innenwände besitzen einfache Tüpfel (unbehoftete Tüpfel, Abb. 12), die die Epidermiszellen unter sich und mit den Hypodermiszellen in Verbindung bringen. Die Zellen enthalten große Nuclei und einen schmalen Cytoplasmaschlauch. Die Vakuole nimmt den größten Raum ein und kann mit Tanninen (Gerbstoffen) gefüllt sein (Abb. 10). Die Cuticulae beider Fichten zeigen keine Besonderheiten. Unterschiede an den Wachsschichten konnten mit den angewendeten Methoden nicht gefunden werden.

Unterhalb der Epidermis befindet sich die Hypodermis (Abb. 9 und 10). Es handelt sich um eine fast geschlossene Schicht von dickwandigen verholzten Fasern (sklerotisches Festigungsgewebe). An den abaxialen und adaxialen Kanten der Nadeln von K3 und F33 ist sehr oft eine zweischichtige Hypodermis zu sehen. Die Hypodermis ist bei den untersuchten Fichten nur an den Stomata und Harzkanälen unterbrochen (Abb. 9, 14, 15). Die Hypodermiszellen besitzen zahlreiche einfache Tüpfel und sehr kleine Lumina. Diese Tüpfel verbinden die Hypodermiszellen mit dem Mesophyll und mit der Epidermis. Die von

Anatomie des Blattes von *Picea abies*

anderen Autoren (FINK, 1991 b, 1992) beschriebenen Einlagerungen von Calciumoxalat wurden nicht beobachtet.

Bei den amphistomatischen Fichtennadeln sind die Spaltöffnungen in parallelen Reihen angeordnet und der Spalt der Stomata liegt parallel zur Längsachse des Blattes bzw. der Nadeln (Abb. 12). Die Stomata sind bei beiden untersuchten Fichten bis zum Assimilationsgewebe versenkt, was typisch xerophytisch ist, und sie öffnen sich in K3 und F33 an ähnlich aufgebauten Luftkammern. Zusammen mit den Schließzellen sind die Nebenzellen eingesenkt. Im Querschnitt befinden sich die Schließzellen der untersuchten Fichten unterhalb der Nebenzellen. Sie sind im tangentialen Schnitt bohnenförmig (Abb. 11) und im Querschnitt etwa dreieckig bis zu trapezoid (Abb. 11). Die Wände der Schließzellen sind unregelmäßig verdickt, zum Zentralspalt hin besitzen sie Cuticularleisten bzw. Cutikularhörnchen. Die Schließzellen sind von vier Nebenzellen begleitet (Abb.11): im tangentialen Schnitt sieht man zwei nierenförmige laterale Nebenzellen, die in der Längsrichtung gerichtet sind und an ihren Enden durch jeweils eine polare Nebenzelle voneinander getrennt sind. Die Außenwand der Nebenzellen ist dicker als die anderen Wände. Die Atemhöhlen sind bei beiden Fichten unregelmäßig und von verschiedener Größe. Sie können größere Areale des Mesophylls einnehmen.

TAFEL 1

Abb. 9 Nadelquerschnitte von zwei Arten der Gattung *Picea*. Links: *Picea excelsa*: Nadel eines Seitentriebes (nach Kirchner, Loew und Scrötter, 1908. In NAPP-ZINN, 1966). Rechts: Vorjährige (2. Nadeljahrgang) lichtexponierte Nadel der Fichte K3.. E, Endodermis; Ep, Epidermis; HK, Harzkanal; Hy, Hypodermis; iAH, innere Atemhöhle; M, Mesophyll; MS, Markstrahl; ScK, Sklerenchymkappe des Phloems; Ö, Spaltöffnung, Stoma; TT, Transfusionstracheiden. Färbung: Toluidinblau. Verholzt: blau bis grünlich blau. Unverholzt: rotviolett, purpur. Stärke: ungefärbt, Tannine: grün-schwarz. Nadelmaterial: vorjährige Nadeln, Probenahme am 19.09.1995, (Jahrgang, 1994).Pfeil verweist auf das in Abb. 10 dargestellte Detail.

Abb. 10 Nadelquerschnitt: Abaxialer Bereich des Nadelsquerschnitts von grünen (links, K3) und vergilbten (rechts, F33) Nadeln. Bei den Epidermiszellen (Ep) ist die Außenwand gewölbt. Große Nuclei und Vakuolen mit Taninen gehören zur Ausstattung dieser Zellen. Darunter befindet sich die Hypodermis (Hy). Dieses aus dickwandigen Zellen bestehende und verholzte Gewebe ist an den adaxialen und abaxialen Enden zweischichtig. M, Mesophyll. (Färbung und Nadelmaterial wie Abb. 9).

Abb.11 Tangentialer Längsschnitt (links) und Querschnitt durch eine Spaltöffnung. Weder im Längs- noch im Querschnitt wurden Unterschiede zwischen den Nadeln beider Fichten beobachtet. Links: Fichte K3: Die Wände der Schließzellen (SchZ) sind unregelmäßig verdickt. Die Wände zur Spaltöffnung (Ö) sind zu ihrem Zentrum hin am wenigstens verholzt. Schließzellen wie Nebenzellen (NZ) besitzen große Nuclei und Chloroplasten mit Stärke. Rechts: Fichte F33. Der Spaltöffnungsapparat mit ihrer Spaltöffnung (Ö) ist in Mesophyll eingesenkt. Die Schließzellen befinden sich unterhalb der Nebenzellen (NZ). (Färbung und Nadelmaterial wie Abb. 9)

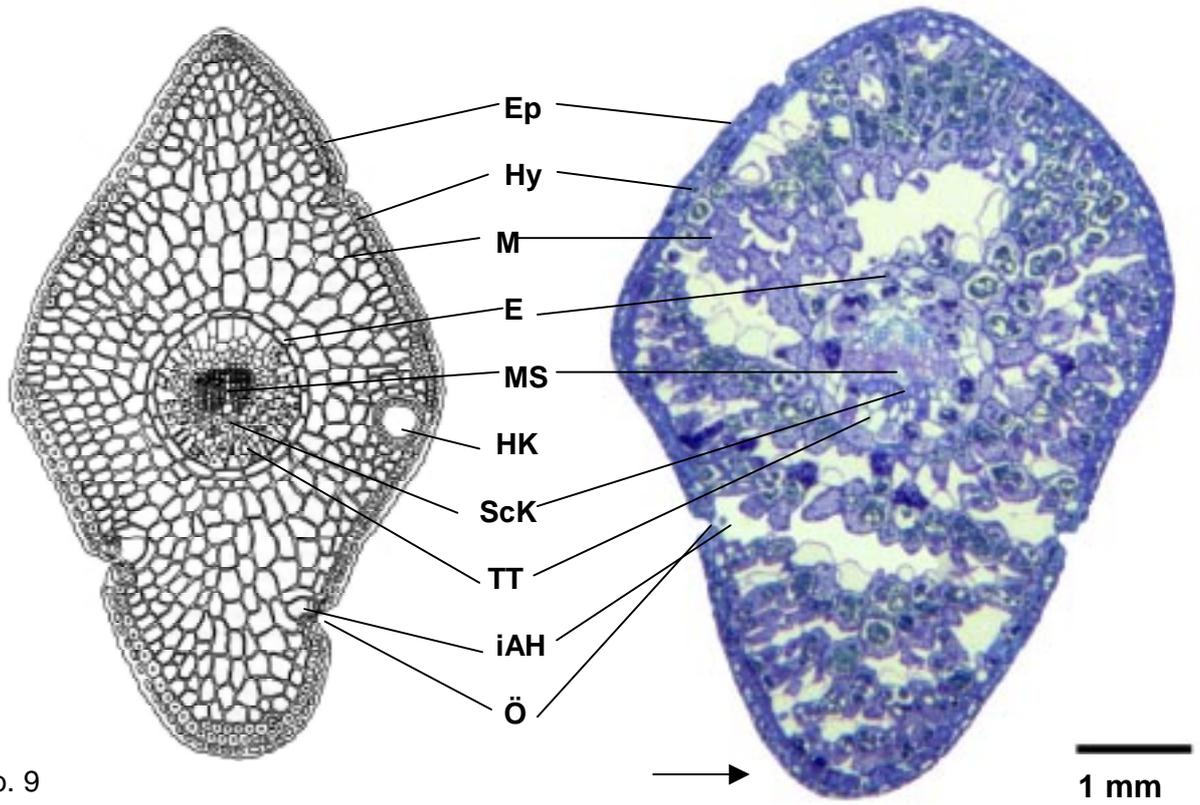


Abb. 9

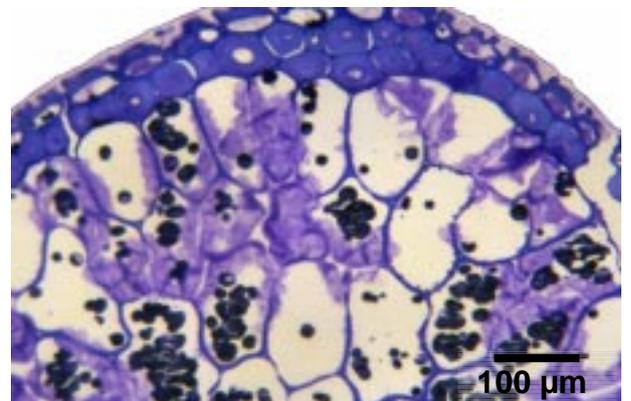
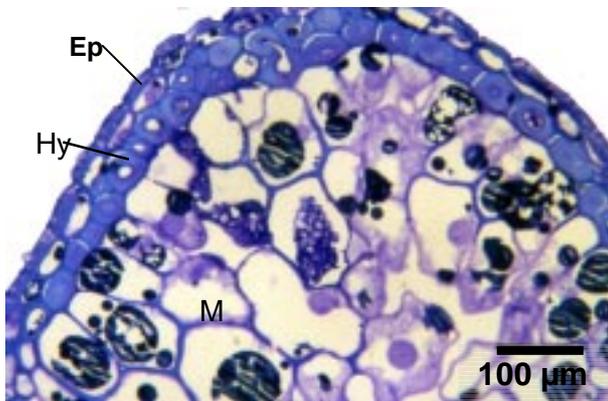


Abb. 10

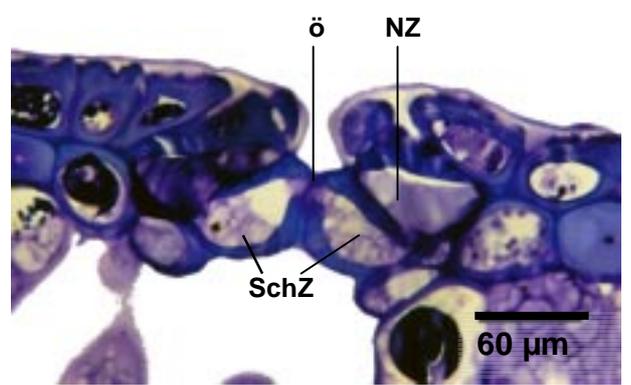
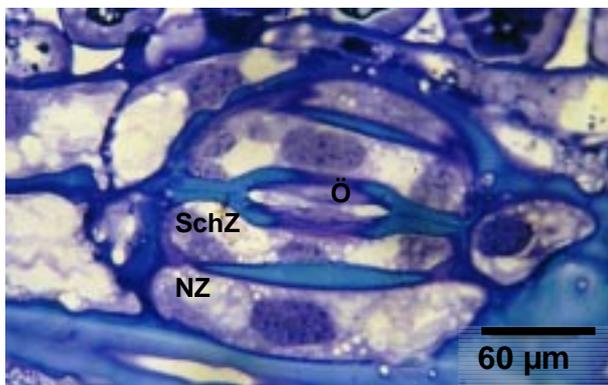


Abb. 11

An den seitlichen Winkeln der Fichtennadeln und in Längsrichtung können Harzkanäle vorhanden sein (Abb. 9, 14 und 15). Durchschnittlich sind sie 2 mm lang (MARCO, 1939). Ein einzelner Kanal erstreckt sich nicht durch die ganze Nadellänge sondern ist mehrfach unterbrochen. Es gibt einen Harzkanal pro Seite, so daß maximal zwei Harzkanäle pro Querschnitt zu sehen sind. Der Harzkanal ist peripher angelegt: Er befindet sich im Mesophyll unterhalb der Epidermis. Dabei unterbricht er die Hypodermis. Zwischen zwei Kanalabschnitten ist Mesophyllgewebe vorhanden. Der Durchmesser des Harzkanals variiert mit der Schnittebene. Er ist von Drüsenepithel umgeben, welches von einer Gewebescheide gegen das Mesophyll abgegrenzt ist (Abb. 15). Die Harzkanäle der Fichte F33 zeigen einen mit K3 vergleichbaren Aufbau. Allerdings wurden bei F33 mehr Nadelquerschnitte mit einem oder zwei Harzkanälen als bei K3 gefunden.

Die dünnwandigen Mesophyllzellen zeigen im Querschnitt einen polygonalen Umriß und den typischen zellulären Aufbau einer Assimilationsparenchymzelle. Im Querschnitt scheinen die Mesophyllzellen unregelmäßig verteilt und sie schließen lückenlos ohne Interzellularen aneinander (Abb. 9). In Längsschnitten zeigen die Mesophyllzellen (Abb. 12-14) einen ovalen bis rundlichen Umriß und sie bilden Zellketten, die sich von der Hypodermis bis zur Endodermis erstrecken. Hier kann man sehen, daß der im Querschnitt beobachtete Mangel an Interzellularen nur scheinbar ist: Jede Zellkette ist durch Interzellularräume verschiedener Größe von den benachbarten Zellketten getrennt. Große Interzellularräume entsprechen den verschiedenen Atemhöhlen der Stomata. Eine Ausdifferenzierung zwischen Palisaden- und Schwammparenchym ist nicht vorhanden. Die Nadeln sind äquifazial (Abb. 9): Es gibt im Assimilationsparenchym keinen Unterschied zwischen der morphologischen Oberseite und der morphologischen Unterseite. Die morphologische Unterseite ist die Seite der Nadel, die zur Sonne gerichtet ist, wenn die Nadel sich am Baum befindet. Die Zellen des Mesophylls kommunizieren durch einfache Tüpfel miteinander, diese befinden sich überwiegend an den Querwänden der Zellen (Abb. 13). Sie besitzen einen gut ausgebildeten Kern mit Nucleoli und eine große Zentralvakuole, die mit Gerbstoffen gefüllt sein kann.

Die Chloroplasten sind an der Zellmembran angeordnet. Mit Beginn der Vergilbung treten signifikante Unterschiede zwischen den Chloroplasten der grünen Nadeln von K3 und den der vergilbten Nadeln von F33 auf. Im Herbst sind die Chloroplasten von F33 kleiner und runder als die von K3. Es findet u. a. ein Abbau ihres Membransystems und Aufhellung des Stromas statt. Die in den Chloroplasten auftretenden Veränderungen werden im Kapitel 3.2 genauer dargestellt. Anders als im Fall der Chloroplasten zeigen weder Mitochondrien noch andere Organellen von F33 Veränderungen während oder nach der Vergilbung. Sie sind mit den Organellen von K3 vergleichbar. Bei F33 zeichnet sich, am Ende der Vegetationsperioden 1994 und 1995, eine stärkere Lignifizierung der Zellwände gegenüber K3 ab. Nur gelegentlich wurden degenerierte Mesophyllzellen in den Nadeln beider Fichten beobachtet.

Anatomie des Blattes von *Picea abies*

Der Zentralzylinder (Abb. 9 und 17) ist von der einschichtigen ringförmigen Endodermis umgeben. Sie ist ein inneres Abschlußgewebe, welches zwei Gewebekomplexe mit unterschiedlicher Funktion voneinander abgrenzt und als physiologische Trennscheide wirkt. Sie stellt aufgrund ihrer Lage eine Trennung zwischen dem photosynthetischen Gewebe und dem Leitbündel dar (CARDE, 1978). Im Querschnitt sind die Endodermiszellen bohnenförmig während sie im Längsschnitt länglich und rechteckig erscheinen, und in einer Reihe angeordnet sind: Sie bilden eine fest geschlossene Mauer bei K3 wie bei F33. Die Endodermiszellen sind miteinander durch einfache Tüpfelung bzw. Tüpfelfelder verbunden (Abb. 18). Diese sind in den radiären Wänden und an den tangentialen Wänden, d. h., nach außen zu den Mesophyllzellen und nach innen zu den lebendigen Parenchymzellen des Transfusionsgewebes hin zu beobachten.

Tafel 2

Abb. 12 Tangentialer Längsschnitt durch eine vorjährige lichtexponierte Nadel von K3. Die antiklinen Wände der Epidermiszellen (Ep) sind miteinander verzahnt. Sie besitzen einfache Tüpfel (Tü), um mit anderen Zellen zu kommunizieren. Die runden bis ovale Zellen des Mesophylls (M) bilden Zellketten. Unterschiede zu Fichte F33 wurden nicht beobachtet (Färbung und Nadelmaterial wie Abb. 9).

Abb. 13 Tangentialer Längsschnitt durch eine vorjährige lichtexponierte Nadel von K3, Detail des Mesophylls (M). Die Mesophyllzellen besitzen gut ausgebildete Nuclei (N) mit Nucleoli (n) eine große Zentralvakuole (V), die mehr oder weniger mit Tanninen gefüllt ist. An den Querwänden der Zellen befinden sich einfache Tüpfel (Tü). (Färbung und Nadelmaterial wie Abb. 9).

Abb. 14 Tangentialer Längsschnitt durch eine vorjährige lichtexponierte Nadel von F33. Die Zellketten des Mesophylls (M) sind durch Interzellularen verschiedener Größe getrennt. Sie erstrecken sich im tangentialen Schnitt von der Epidermis (Ep) zu Epidermis im radialen Schnitt von Epidermis zu Endodermis (nicht gezeigt). Der Harzkanal (HK) ist peripher zwischen Epidermis und Assimilationsgewebe angelegt. Die Harzkanäle können eine Länge von ca. 2 mm erreichen. (Färbung und Nadelmaterial wie Abb. 9).

Abb. 15 Harzkanal einer Nadel von F33 im Querschnitt. Der Harzkanal (HK) ist innen von Drüsenepithel (Dü) umgeben und vom Mesophyll durch eine Gewebescheide (Sch) getrennt. Ep, Epidermis; Hy, Hypodermis. (Färbung und Nadelmaterial wie Abb. 9).

Abb. 16 Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Chloroplasten der vorjährigen grünen Nadeln von K3 (links) und vergilbten Nadeln von F33 (rechts) am 19.09.1995. Links: Die Chloroplasten von K3 sind im Herbst mit einem gut ausgebildeten, aus Grana- und Stromathylakoiden bestehendem Membransystem ausgestattet. Rechts: Das Membransystem der Chloroplasten von F33 ist sehr reduziert. Es besteht überwiegend aus Stromathylakoiden. Die Grana bestehen aus zwei Stapeln. Photoassimilate in Form von Stärke sind noch im Stroma gespeichert. G, Granathylakoide; Pg, Plastoglobuli; T, Stromathylakoide. Kontrastierung: Uranylacetat, Bleicitrat.

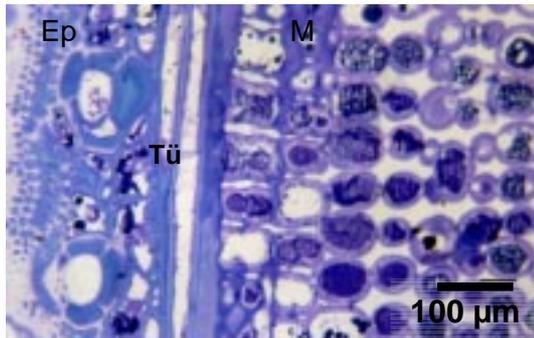


Abb. 12

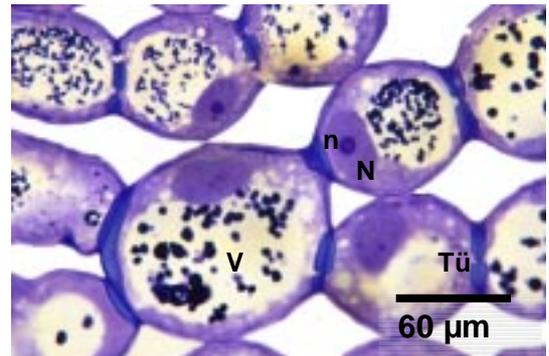


Abb. 13

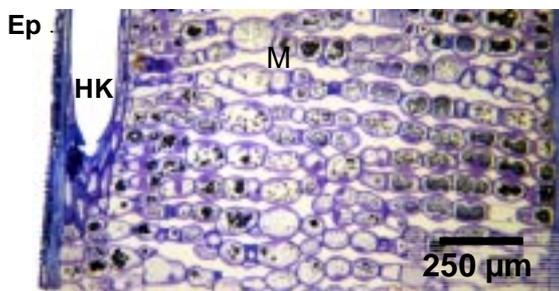


Abb. 14

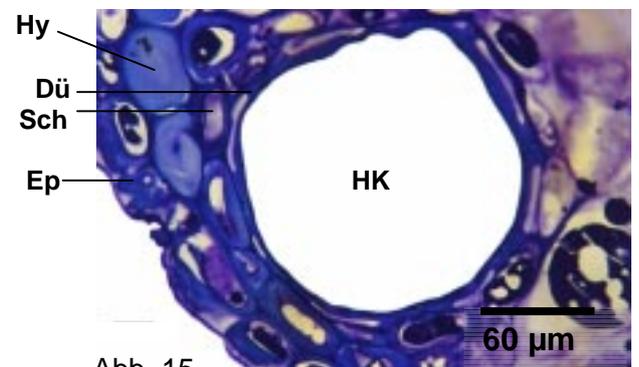


Abb. 15

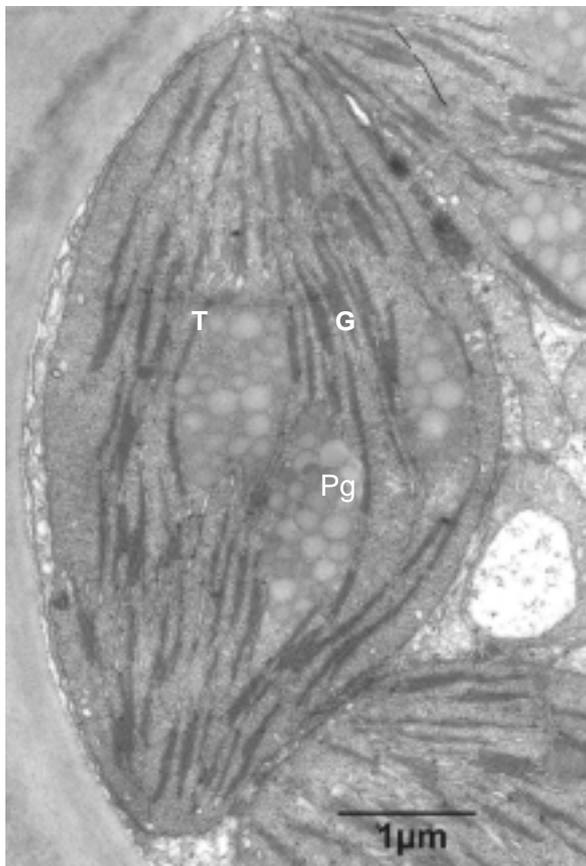
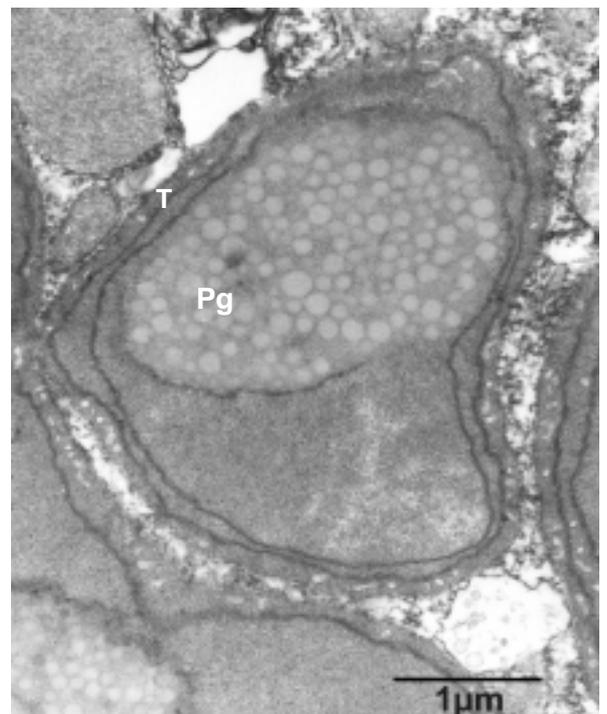


Abb. 16



Es ist keine Tüpfelung an den Endwänden und zu den Tracheiden hin zu erkennen. Die Endodermiszellen beider Fichten (Abb. 19) besitzen eine große Zentralvakuole, Mitochondrien und längliche Chloroplasten mit relativ gut entwickeltem Thylakoidsystem mit einigen Granastapeln. Stärkekörner konnten im Frühjahr beobachtet werden (Abb. 19). Der Golgi-Apparat ist wenig entwickelt. Diese Befunde gelten sowohl für die Fichte K3 als auch für die Fichte F33.

Im Zentralzylinder befindet sich das Leitbündel und das Transfusionsgewebe. Das einzige, offen kollaterale Leitbündel der Fichtennadeln ist durch einen medianen Markstrahl zweigeteilt (Abb. 17). Die eine Hälfte ist nicht Spiegelbild der anderen. Das Xylem befindet sich an der morphologischen Oberseite des Leitbündels, adaxial, während sich das Phloem an der morphologischen Unterseite, abaxial befindet. Die Anordnung der Gefäße in Reihen geht aus der Tätigkeit des Leitbündel-Kambiums (sek. Kambium) hervor, d. h. in den Aufnahmen ist nur sekundäres Xylem bzw. sekundäres Phloem zu sehen (ESAU, 1977).

Das sekundäre Xylem besteht aus Hoftüpfeltracheiden, die eine dicke Wand mit verschiedenen Wandverstärkungen aufweisen. Bei den mehrjährigen Nadeln von *Picea abies* entsteht das Xylem in der ersten Vegetationsperiode. Nach Abschluß des ersten Jahres wird normalerweise keine Neubildung von Xylem beobachtet. Zu keinem Zeitpunkt während der untersuchten Vegetationsperioden sind bei der Kontrollfichte neue Xylemgefäße aus dem Kambium abgegliedert worden. Im Gegensatz dazu werden in den Herbstproben der vergilbten Nadel von Fichte F33 in den Jahren 1994 und 1995 im Kambium neue Gefäße identifiziert, welche aufgrund der Färbung mit Rhodamin B – Astrablau als Xylemgefäße gelten können (Abb. 22 b, c, e, f).

Das Kambium ist das Gewebe, aus welchem durch Teilung und Differenzierung die sekundären Leitbündelelemente entstehen. Nach dem ersten Jahr bildet das Kambium nur Phloem (JURZITZA, 1987) und Strasburgerzellen. Es befindet sich zwischen Xylem und Phloem. Bei *Picea abies* besteht das Kambium im Querschnitt aus zwei bis drei Reihen von rechteckigen dünnwandigen Zellen, die immer ihr meristematisches Aussehen behalten (Abb. 23 links und 24 rechts). Sie besitzen in der Interphase einen sehr großen Kern, welcher die gesamte Zellbreite füllt und gut ausgebildete Nucleoli aufweist. Die Kambiumzellen der grünen Nadeln sind mit zahlreichen Mitochondrien und Ribosomen ausgestattet und sie zeigen Plastiden mit Stärkekörnern und kaum entwickelte Thylakoide. Sie besitzen mehrere Vakuolen. Plasmodesmata sind an den radialen und tangentialen Wänden angeordnet (NEUBERGER und EVERT, 1974).

Dieses Bild änderte sich, als die Nadeln von F33 in den Jahren 1994 und 1995 vergilbten (Abb. 23 rechts und 24 rechts): Das Kambium wurde hyperplastisch und die Kambiumzellen wurden hypertroph. Ihre Form im Querschnitt ist rundlich (Abb. 23 rechts) und im Längsschnitt von unregelmäßig rund bis länglich oval (Abb. 24 rechts, und 25). Diese Zellen teilen sich inäqual (Abb. 25 a) und bilden unvollständige Zellwände (Abb. 25 b). Sie besitzen große Kerne mit Euchromatin, Plastiden mit wenig entwickeltem Membransystem

Anatomie des Blattes von *Picea abies*

und oft mit Stärkekörnern, dazu zahlreiche Mitochondrien, Golgi-Apparate und viele Ribosomen am endoplasmatischen Retikulum. Manche von ihnen zeigen in ihrem Cytoplasma gegen Ende der Vegetationsperiode Vesikel mit einem elektronendichten, klumpigen Inhalt (Abb. 25 c). Die Gestaltänderung wird im Kapitel 3.3. näher untersucht.

TAFEL 3

Abb. 17 Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Querschnitten durch den Zentralzylinder von vorjährigen Fichtennadeln. Links: Grüne Nadel der Kontrollfichte K3 im Herbst 1996. Rechts: Vergilbte Nadel der Fichte F33 mit kollabiertem Phloem in Sommer 1995. E, Endodermis; K, Kambium; Ph, Phloem; St, Strasburger Zellen; TP Transfusionsparenchym; TT, Transfusionstracheiden; X, Xylem. Kontrastierung: Uranylacetat, Bleicitrat.

Abb. 18 Sagitaler Längsschnitt durch eine vorjährige Nadel der Fichte K3 im Bereich der Endodermis. Auf dem Bild sind zwei Reihen Endodermiszellen zu sehen. Bei der oberen Endodermiszellreihe verläuft der Schnitt durch eine der tangentialen Wände. Die Ausparungen stellen Tüpfelfelder (Tü) dar, welche den transversalen Transport der Photoassimilate sichern. (Färbung und Nadelmaterial wie Abb. 9).

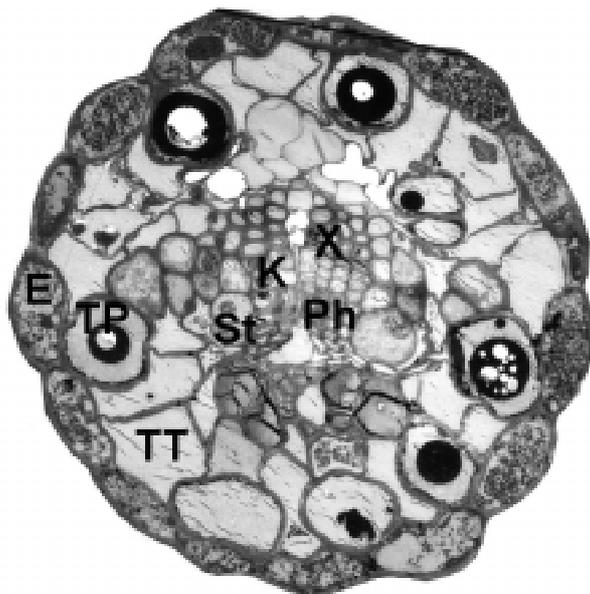
Abb. 19 Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Endodermiszellen-Ausschnitts. Sie besitzt eine zentrale Vakuole und weitere kleinere, die mit osmiophilen Granula (oG) gefüllt sind, zahlreiche Mitochondrien (M) und Chloroplasten mit Stroma- und Granathylakoiden. Vergleichbar zu den Chloroplasten (Ch) des Mesophylls sehen die Chloroplasten der Endodermiszellen auch am Anfang der Vegetationsperiode (April - Mai) wie Amylochloroplasten aus. Tüpfelfelder (Tü) sind an den tangentialen und radialen Wänden der Zelle vorhanden jedoch nie an den Endwänden. Zw, Zellwand. Kontrastierung: Uranylacetat, Bleicitrat. (Nadelmaterial wie Abb. 9).

Abb. 20 Transfusionsgewebe einer vorjährigen Nadel der Fichte K3. Es besteht aus plasmaarmen Transfusionsparenchymzellen (TP) und toten Transfusionstracheiden (TT). Transfusionsparenchymzellen sind rund und besitzen eine große zentrale Vakuole mit elektronendichtem Material. Die Wände der Transfusionstracheiden weisen Hofrüpfel auf. (Färbung und Nadelmaterial wie Abb. 9).

Abb. 21 Elektronenmikroskopische Aufnahme der Xylemgefäße einer vorjährigen Nadel der Kontrollfichte K3. Die Tracheiden sind durch Hofrüpfel mit den benachbarten Zellen verbunden. Pfeil: Hofrüpfel mit Torus. Kontrastierung: Uranylacetat, Bleicitrat. (Nadelmaterial wie Abb. 9)

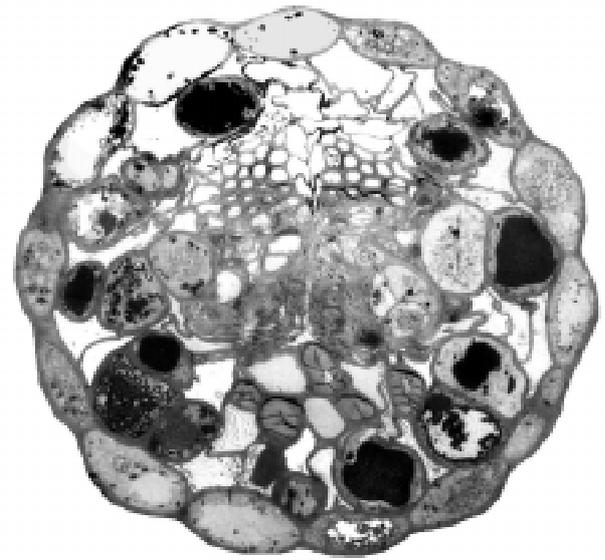
TAFEL 4

Abb. 22 Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen des Zentralzylinders. Im Herbst sind im Kambium der vergilbten Nadeln von Fichte F33 (b, c, e, f) Gefäße mit verholzten Wänden nachweisbar. Bei der Kontrollfichte K3 (a,d) trat zu keinem Zeitpunkt eine derartige Verholzung auf. Färbung: Rhodamin B, Astrablau. Nadelmaterial: vorjährige Nadeln.



K3: 10.09.1996
Jg 1995

50 μ m



F33: 25.07.1996
Jg 1994

Abb. 17

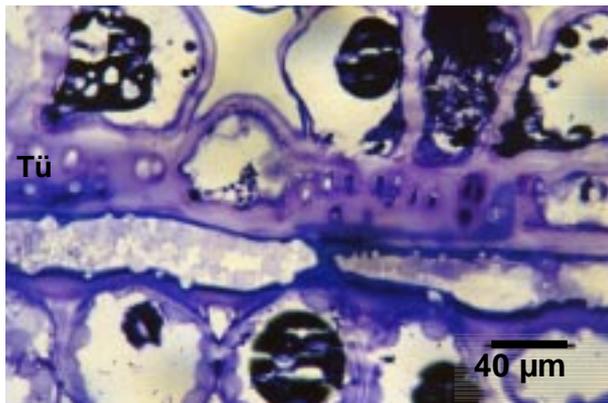


Abb. 18

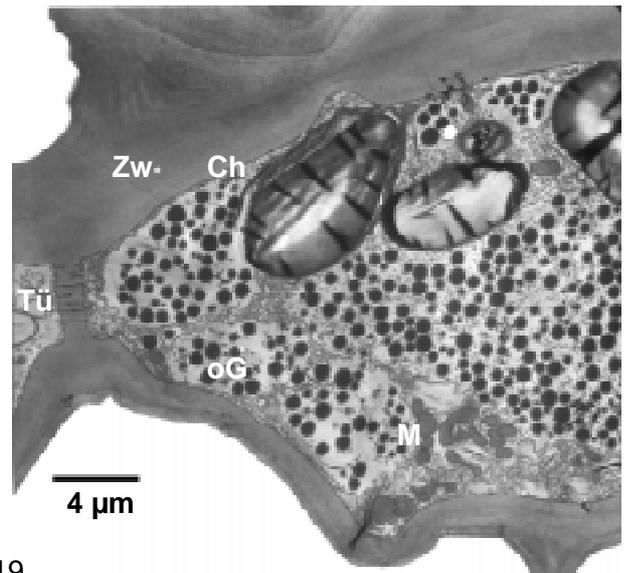


Abb. 19

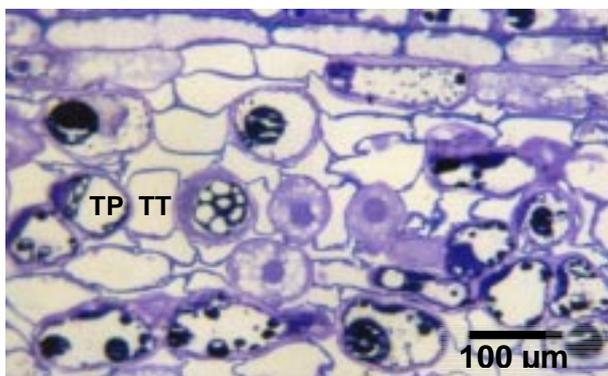


Abb. 20

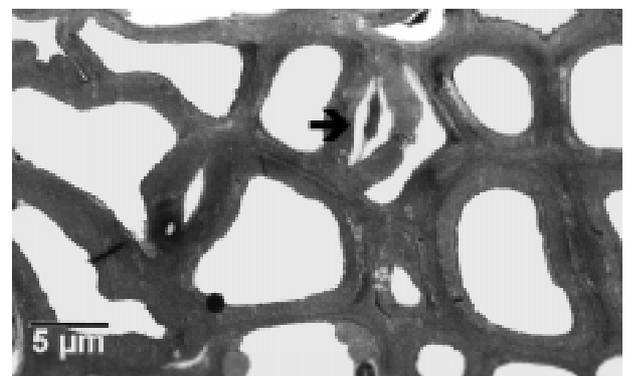


Abb. 21

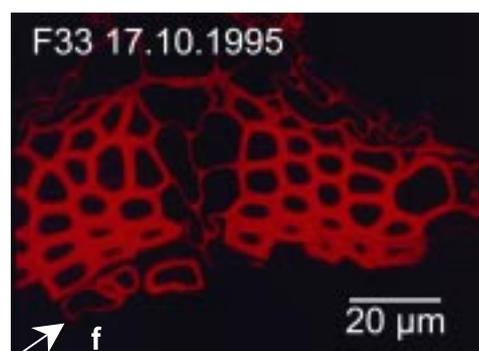
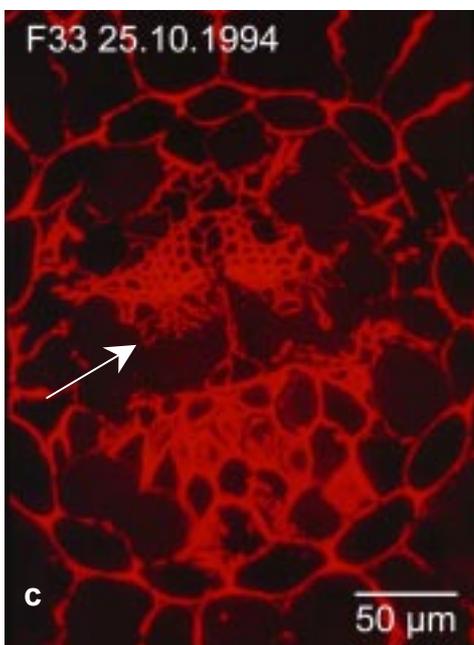
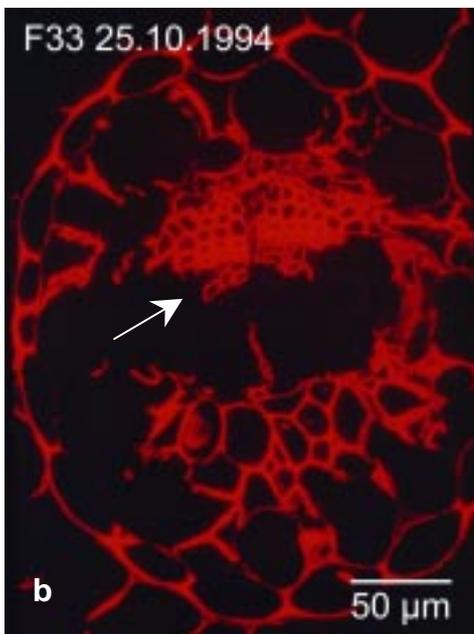
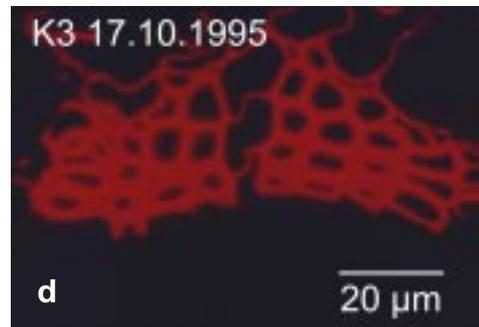
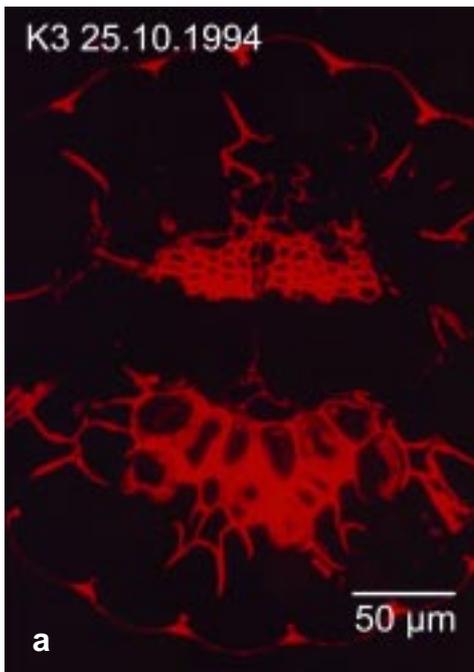


Abb. 22

Das Phloem der Nadeln von *Picea abies* besteht in der ersten Vegetationsperiode aus zwei bis drei Reihen von sekundären Siebzellen (PARAMESWARAN *et al.*, 1985). Bei den vorjährigen Nadeln (2. Vegetationsperiode) bestehen die sagittal angeordneten Siebzellen des Phloems aus sechs bis zehn Zellreihen (Abb. 26). Schon die jüngsten funktionsfähigen Siebzellen weisen eine lamellierte Wand, die sogenannte "nacr -Wand, auf. Es handelt sich um eine fortlaufende Wandmaterialauflagerung (Cellulosefibrillen) auf die Zellwand, so daß die Siebzellen in den folgenden Zellreihen dicker werden. Ab der zweiten Zellreihe ist bei den grünen Nadeln die Ausdifferenzierung von meristematischen Zellen zu Siebzellen erkennbar. Mit fortschreitender Entwicklung sind weniger Organellen zu sehen. In den älteren Siebzellen werden die Zellwände wieder dünner und das Zelllumen wirkt dementsprechend größer. In den unteren Zellreihen sind die Siebzellen leer und kollabiert (Abb. 26). Bei den Nadeln der Fichte F33 treten nach Einsetzen der Vergilbung die ersten Änderungen im Phloem ein. Diese setzen sich im Verlauf der Vegetationsperiode fort, bis das Phloem vollkommen kollabiert erscheint (Abb. 27 und 28). Weitere Darstellungen siehe Kapitel 3.3.

Die Strasburger Zellen (Abb. 29) ordnen sich direkt an den Flanken des Kambiums und der Siebzellen an. Sie bilden eine  bergangsbrucke zwischen den Transfusionsparenchymzellen und den Siebzellen (Abb. 17 links). Es sind sehr plasmareiche Zellen mit einem großen, runden Kern. Sie besitzen kleine, längliche Chloroplasten mit einem gut entwickelten Membransystem. Die sehr selten auftretenden Stärkekörner sind vor allem am Anfang der Vegetationsperiode bei beiden Fichten vorhanden. Die Strasburger Zellen sind mit ihresgleichen sowie mit den Transfusionsparenchym- und Siebzellen bei beiden Fichten durch Plasmodesmenfelder verbunden. Diese erscheinen an verdickten Stellen der Zellwand und werden als "globe pits" bezeichnet (BLECHSCHMIDT-SCHNEIDER, 1989) (Abb. 30). Bei höheren Vergrößerungen weisen diese Plasmodesmen einen Callosering, Verzweigungen bei ihrem Verlauf durch die Zellwand, und Verknotungen in der Höhe der Mittellamelle auf. Bei den vergilbten Nadeln der Fichte F33 werden die Strasburger Zellen durch die hypertrophen Kambiumzellen zu den Flanken hin verschoben und zum Teil auch wie beim Phloem zerdrückt (Abb. 17) (Vergleich Kap. 3.3.).

Der Raum des Zentralzylinders zwischen Endodermis und Strasburger Zellen wird durch die Transfusionsparenchymzellen und die Transfusionstracheiden gefüllt (Abb. 17 und 20). Die Zellen des Transfusionsparenchyms sind plasmaarme Zellen mit elektronendichtem Material in der großen zentralen Vakuole, die mit großen Mengen Gerbstoffen gefüllt ist. Sie besitzen eine rundliche Form. Sie sind nur gegen ihresgleichen und mit der Endodermis getüpfelt (HUBER, 1947). Ihre Wände sind dicker als die der Transfusionstracheiden. Es handelt sich hierbei um Zellulosewnde, wie die positive Färbung mit Calcofluor bei beiden Fichten zeigt. Die Transfusionstracheiden sind tote Zellen mit dünnen Wänden. Alle Wände weisen Hoftüpfel auf. Diese verbinden die Tranfusionstracheiden untereinander (HEIMERDINGEN, 1951) und mit dem Xylem. Die Wände sind lignifiziert,

Anatomie des Blattes von *Picea abies*

sie zeigen bei K3 wie bei F33 in lichtmikroskopischen Präparaten eine positive Färbung mit Primulin.

TAFEL 5

Abb. 23 Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Querschnitts des Kambiums von Nadeln der Kontrollfichte K3 (links) im Frühsommer 1996 und von einer vergilbten Nadel von F33 (rechts) im Herbst 1995. Die Kambiumzellen sind bei K3 in den drei untersuchten Vegetationsperioden rechteckig und in drei Lagen angeordnet. Die Plastiden enthalten Stärkekörner und kaum entwickelte Thylakoide. Die Kambiumzellen von F33 zeigten sich mit einsetzender Vergilbung in den Vegetationsperioden 1994 und 1995 hypertrophiert und drangen ins Phloem ein. Kontrastierung: Uranylacetat, Bleicitrat. (Nadelmaterial wie Abb. 9).

Abb. 24 Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Längsschnitten des Kambiums von vorjährigen Nadeln der Fichte K3 (links) und F33 (rechts) im Herbst 1995. Kontrastierung: Uranylacetat, Bleicitrat. (Nadelmaterial wie Abb. 9).

Abb. 25 Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Längsschnitten des Kambiums von vorjährigen Nadeln der Fichte F33 im Herbst 1995. Während der Vergilbung wird das Kambium hyperplastisch und seine Zellen hypertroph. Dies geht mit Veränderungen der Form von länglich bis rund (B) (s. auch Abb. 24, rechts), inäqualen Teilungen (A), und Bildung unvollständigen Zellwänden (B). Diese Zellen besitzen nur einfachen Tüpfelfelder (A) und Vesikel mit elektronendichtem Inhalt (C). Kontrastierung: Uranylacetat, Bleicitrat. (Nadelmaterial wie Abb. 9).

TAFEL 6

Abb. 26 Elektronenmikroskopische Aufnahme des Phloems der Kontrollfichte K3 im Herbst (24.09.1996). Die aktiven Siebzellen besitzen eine dicke lamellierte Zellwand und ein Zelllumen mit Zellorganellen. Ältere nicht aktive Zellen haben nur dünne Zellwände und kollabieren. Unten links (Pfeil) ist eine Strasburger Zelle zu sehen.

Abb. 27 Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Querschnitts von kollabierten Siebzellen der Fichte 33 am 25.07.1995. Die Zellen besitzen noch eine dicke lamellierte Zellwand aber kaum oder kein Zelllumen.

Abb. 28 Fichte 33 im Herbst 1995. Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Querschnitts von hypertrophierten Kambiumzellen, welche zwischen die kollabierten Siebzellen dringen. (Nadelmaterial wie Abb. 9).

Abb. 29 Ausschnitt aus dem Phloem mit Strasburger Zellen von K3. Charakteristisch für diese Zellen sind die verdickten Plasmodesmen. Der Pfeil zeigt ein verdicktes Plasmodesmen-Feld ("globe pit"). (Nadelmaterial wie Abb. 9).

Abb. 30 Ultrastruktur der Plasmodesmen "globe pits" zwischen Strasburger Zellen. Links: Im Querschnitt (a) zeigen sie Verzweigungen in ihrem Verlauf durch die Zellwand und Verknotungen auf der Höhe der Mittellamelle (m). Rechts: Im Längsschnitt (b) sind größere freie Räume vorhanden. Callose (weiß) liegt um die Plasmodesmen, die von einer dunkel kontrastierten Membran umgeben sind. (Nadelmaterial wie Abb. 9).

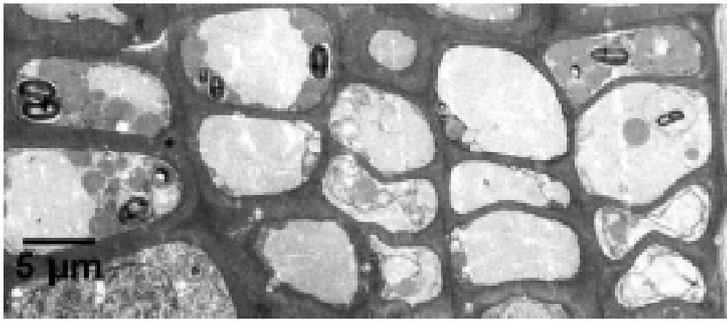


Abb. 23 (K3)

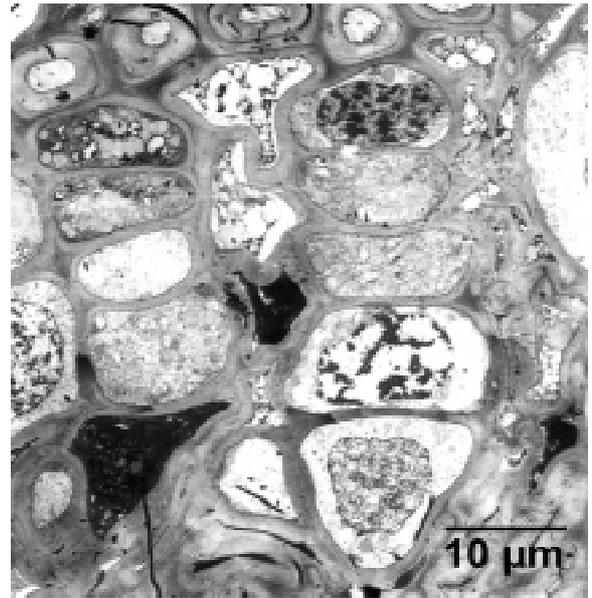


Abb. 23 (F33)



Abb. 24 (K3)

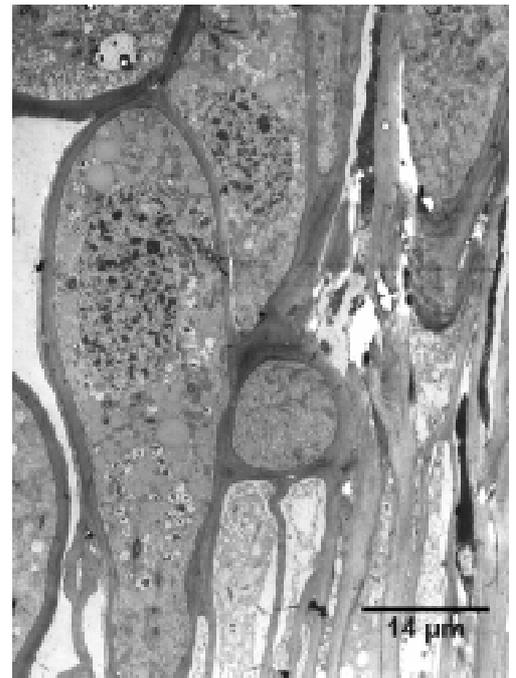


Abb. 24 (F33)

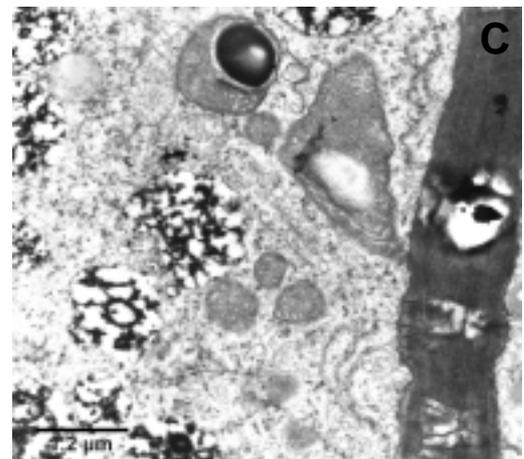
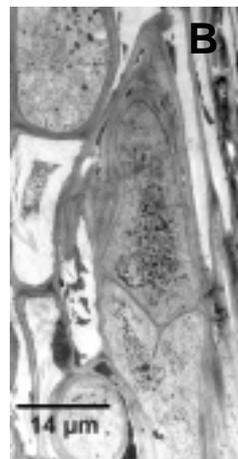
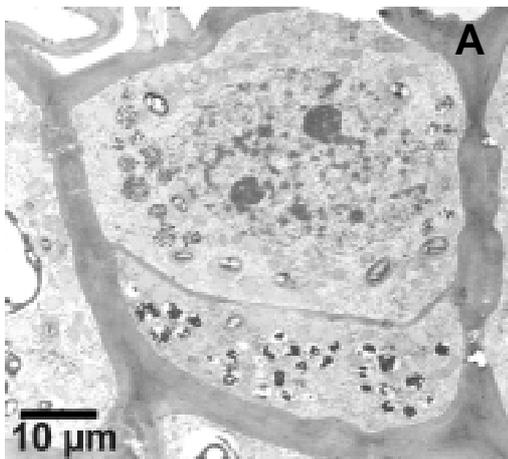


Abb. 25



Abb. 26

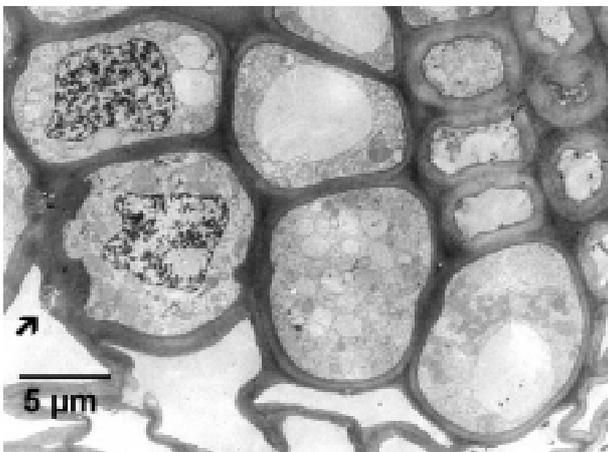


Abb. 29

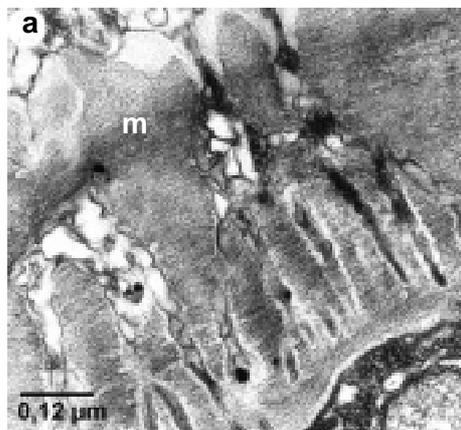


Abb. 30

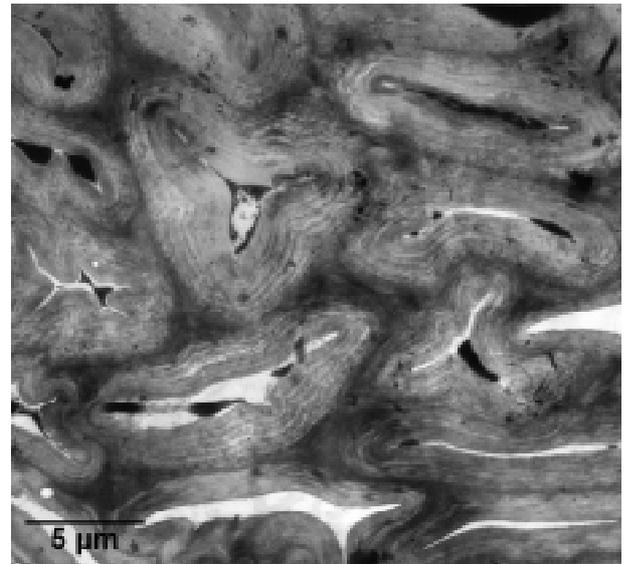


Abb. 27

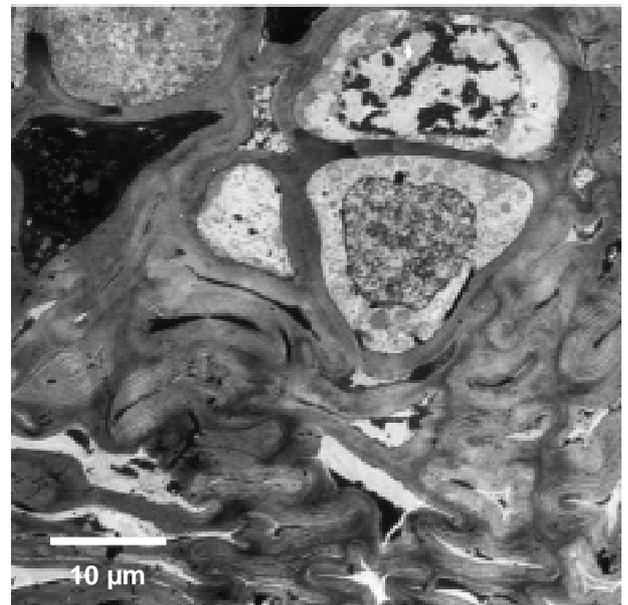
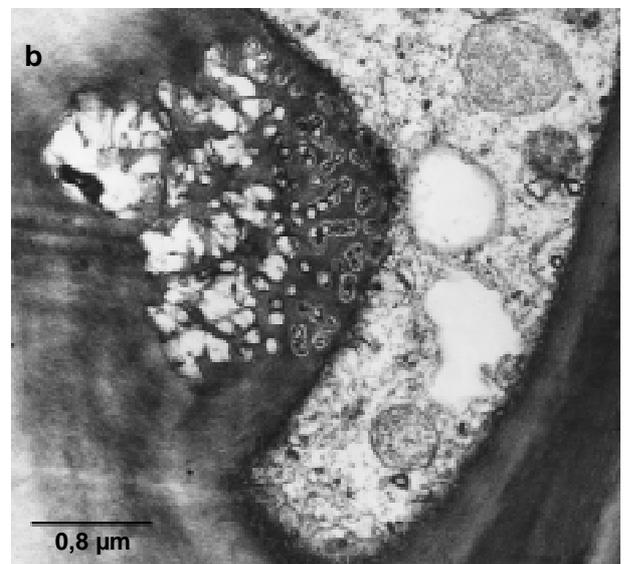


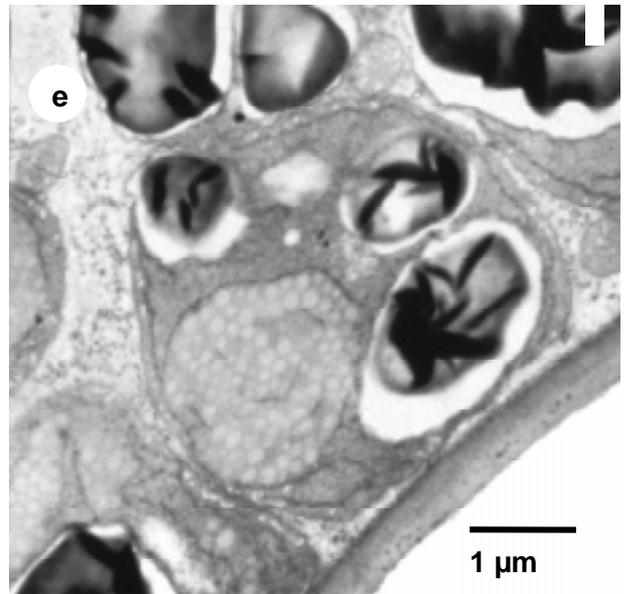
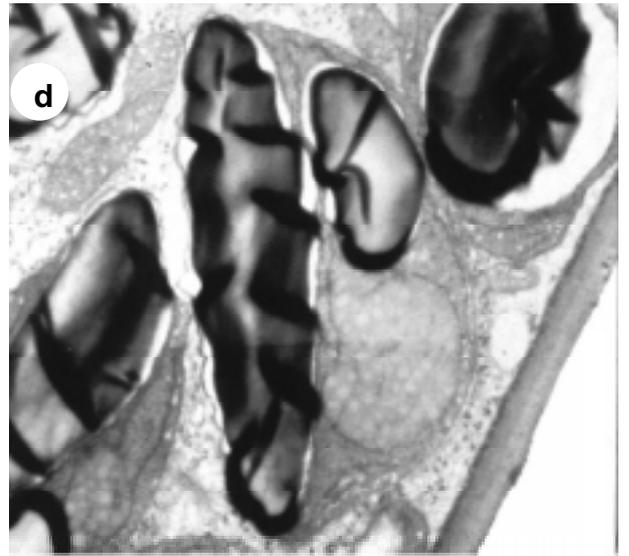
Abb.28



K3

F33

1994



1996

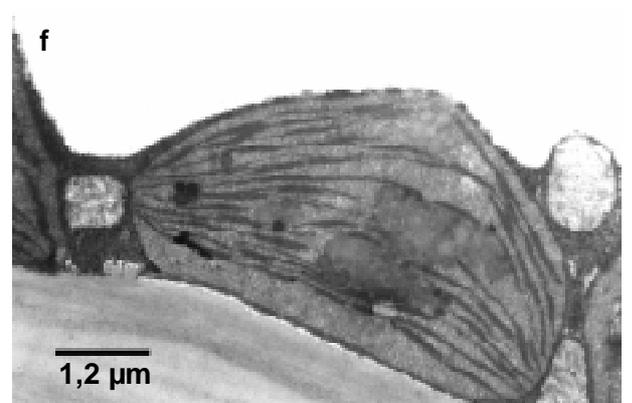
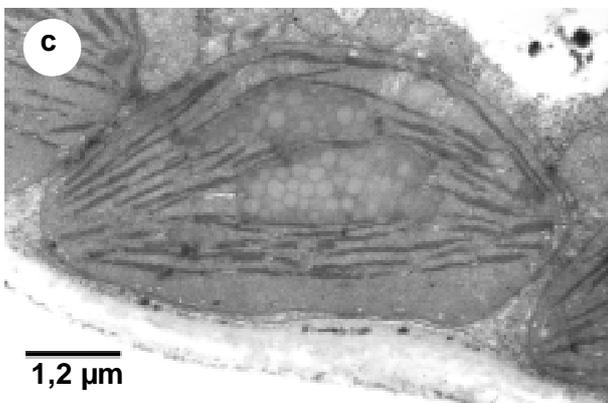


Abb. 31

3.2. Morphologische Änderungen der Chloroplasten von ergrünenden und vergilbenden Nadeln

3.2.1. Einführung

Die Chloroplasten sind die Organellen, an welchen sich, wie in keiner anderen Zellstruktur, die Zusammenhänge zwischen dem physiologischen Zustand und den morphologischen Veränderungen innerhalb einer Vegetationsperiode äußern. Sie reagieren am empfindlichsten auf schädigende Einflüsse, die zu unterschiedlichen Schadensmustern bzw. Änderungen in ihrer Morphologie im Vergleich zum Normalzustand führen. Sie sind auch die einzigen Organellen, an denen Schäden beobachtet wurden.

Im Folgenden werden die ultrastrukturellen Veränderungen dargestellt, die während einer Vegetationsperiode in den Chloroplasten der Nadeln des 2. Jahrgangs der Fichte F33 mit deutlichen Vergilbungssymptomen und der Fichte K3 ohne Schadsymptome auftreten. Es wird gezeigt, daß diese Veränderungen in engem Zusammenhang mit den visuellen Befunden des Ergrünens bzw. Vergilbens stehen. Ferner wird die Wirkung von Beschattung und von Düngung auf diese Veränderungen verglichen (Abb. 31). Die an beiden Fichten zwischen 1994-1996 gemessenen Werte wurden je Baum und Probenahme an vier vorjährigen Nadeln erhoben. Pro Nadel wurden fünf Chloroplasten ausgewählt, die auf der zum Licht orientierten Seite der Nadel in einer der ersten drei Zellschichten unterhalb der Epidermis lagen. In der Vegetationsperiode von 1994 wurden zusätzlich Meßergebnisse aus mit grauen regendurchlässigen Nylonnetzen beschatteten Nadeln gewonnen.

3.2.2. Zahl der Chloroplasten pro Zellquerschnitt

Um mögliche Variationen der Chloroplastenzahlen, die eine Mesophyllzelle enthält, zu erkennen, wurde die Anzahl der Chloroplasten an 70 nm dicken Schnitten bestimmt. Die Zahl der in einer Mesophyllzelle des 70 nm Schnitts vorhandenen Chloroplasten variiert kaum innerhalb einer Vegetationsperiode (Abb. 32) und zeigt in den drei untersuchten Jahren keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen dem Kontrollbaum K3 und der Fichte F33.

Tafel 7

Abb. 31 Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Chloroplasten von vorjährigen Nadeln. Die spindelförmigen Chloroplasten der grünen Nadel von K3 (links, a - c) verfügen in den drei untersuchten Vegetationsperioden über ein aus Grana- und Stromathylakoiden aufgebautes Membransystem. Stärkekörner sind klein und selten zu finden. Die Chloroplasten der vergilbten Nadeln F33 (rechts, d und e) besitzen ein reduziertes Membransystem, überwiegend aus Stromathylakoiden. Stärkekörner bestimmen die Form der Chloroplasten. Nach der Mg-Düngung von F33 bleiben die Nadeln 1996 grün (wie bei K3) und die Chloroplasten (f) beider Fichten zeigen keinen signifikanten Unterschied. (s. Legende Abb. 16, Tafel 2) (a, b, d, e: Sommer 1994; c und f: Herbst 1996).

Zahl der Chloroplasten pro Zellquerschnitt

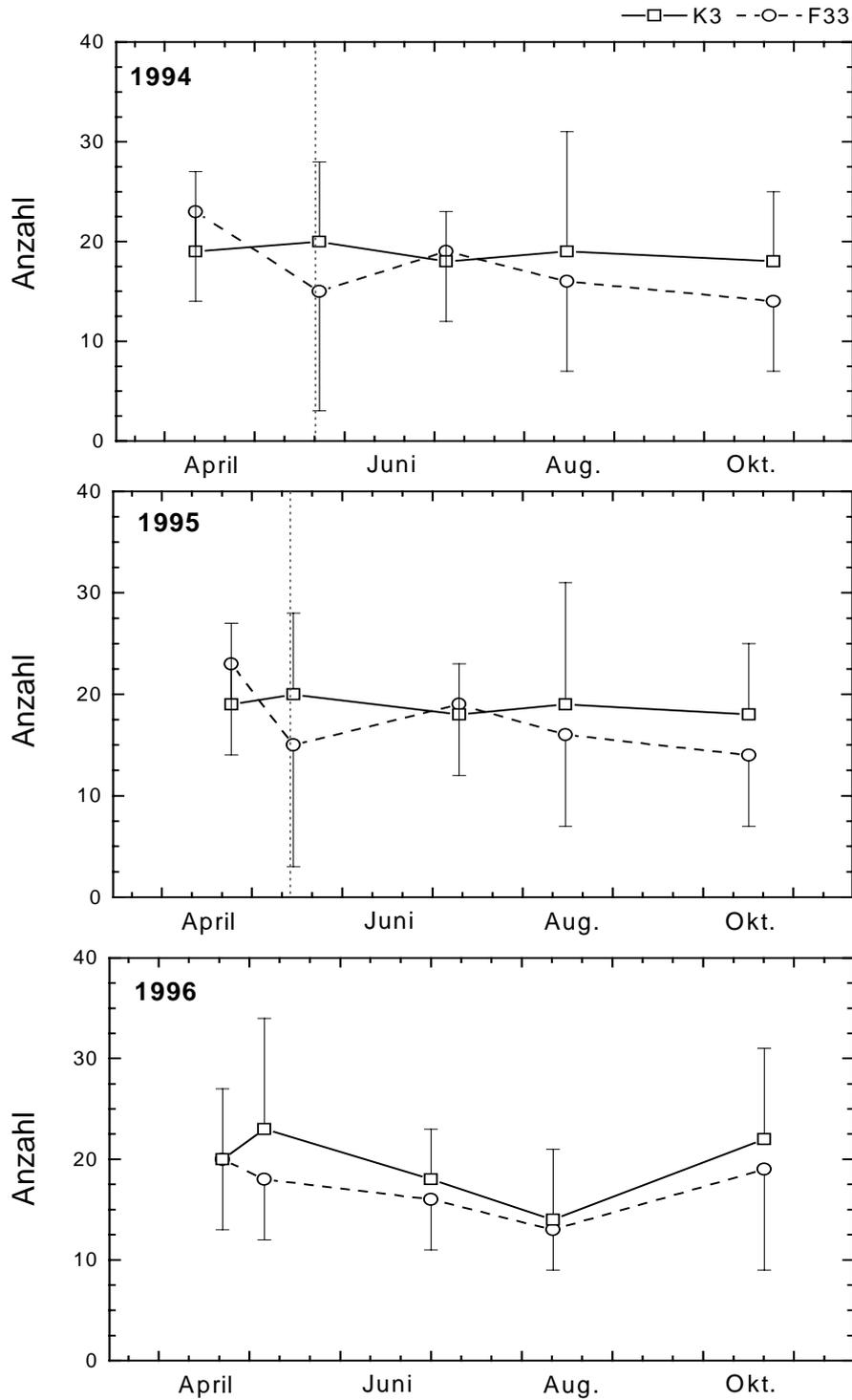


Abb. 32 Anzahl an Chloroplasten pro Mesophyllzelle in einem 70 nm dicken Schnitt von vorjährigen, lichtexponierten Nadeln der Fichten F33 (Kreis) und K3 (Quadrat) in den Vegetationsperioden 1994 (oben), 1995 (Mitte) und 1996 (unten). Pro Probenahme und Fichte wurden die Chloroplasten aus 4 Nadeln von jeweils 3 Zellen der obersten Zellschichten ausgezählt. Die gestrichelte Linie markiert den letzten Probenahmetermin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch keine visuell erkennbaren Vergilbungssymptome zeigten. (n = 12).

3.2.3. Morphometrie zu Veränderungen der Chloroplastengröße

Die Veränderungen der Chloroplastengröße innerhalb einer Vegetationsperiode wurden anhand folgender Meßparameter untersucht:

- **Schnittfläche eines Chloroplasten:** Die Änderung der Schnittfläche der Chloroplasten von vorjährigen Nadeln der Fichte F33 (vergilbende Fichte) und der Fichte K3 (Kontrollfichte) wurde anhand elektronenmikroskopischer Aufnahmen an jeweils zwanzig Chloroplastenschnitten jeder Fichte gemessen
- **Chloroplastenschnittfläche ohne Stärkekornerfläche:** Um die Änderungen der Größe des Chloroplastenschnitts unabhängig von der saisonalen bzw. momentanen Stärke-Akkumulation in Form von Stärkekörnern zu untersuchen, wurde die Fläche des gemessenen Stärkekorner von der entsprechenden Chloroplastenschnittfläche abgezogen.
- **Stromafläche:** Als Stromafläche wird die Fläche des Chloroplastenschnitts nach Abziehen der in den Chloroplastenschnitten gemessenen Flächen der Thylakoide, der Plastoglobuli und der Stärkekorner definiert. Die Stromafläche soll im Vergleich mit den oben genannten Messungen Aufklärung über mögliche Zusammenhänge zwischen einer Vergrößerung bzw. Verringerung der Fläche des Chloroplastenschnitts und der Fläche von Thylakoiden, Plastoglobuli bzw. Stärkekörnern innerhalb einer Vegetationsperiode bieten.

3.2.3.1. Schnittfläche eines Chloroplasten

Die Änderungen der durchschnittlichen Schnittfläche der Chloroplasten von vorjährigen, lichtexponierten Nadeln der Fichte F33 (vergilbende Fichte) und der Fichte K3 (Kontrollfichte) sind in der Abbildung 33 dargestellt.

Nachdem die durchschnittliche Schnittfläche der Chloroplasten im Frühjahr in beiden Bäumen zunimmt, beginnt sie bis Ende der Vegetationsperiode in beiden abzunehmen. Diese signifikanten ($p \leq 0,01$) Variationen der durchschnittlichen Schnittfläche der Chloroplasten von beiden Bäumen im Frühjahr stehen in Zusammenhang mit der Größe der Stärkekorner (Kap. 3.2.6.): Im Frühjahr sind die Stärkekorner groß und reichlich in beiden Fichten vorhanden. Im Frühjahr erreicht auch die durchschnittliche Schnittfläche der Chloroplasten in den drei untersuchten Vegetationsperioden ihr Maximum. Diese Werte variieren in beiden Fichten zwischen $13 \mu\text{m}^2$ und $21 \mu\text{m}^2$, Werte, die schon eine Verschiedenheit der Größe der Stärkekorner ahnen lassen. Ein direkter Zusammenhang

Schnittfläche eines Chloroplasten

zwischen diesen Variationen der Schnittfläche der Chloroplasten im Frühjahr und dem Beginn der Vergilbung bei der Fichte F33 ist nicht zu beobachten.

In der zweiten Hälfte der Vegetationsperiode -ab Juli- nimmt die durchschnittliche Schnittfläche der Chloroplasten der Fichte K3 bis zum Ende der Vegetationsperiode nur leicht ab, und erreicht Werte von $11 \mu\text{m}^2$ bis $12 \mu\text{m}^2$ am Ende der Vegetationsperiode. Bei der Fichte F33 ist diese Abnahme in den Vegetationsperioden 1994 (Abb. 33 oben) und 1995 (Abb. 33 Mitte) deutlicher. Im Herbst variiert die durchschnittliche Schnittfläche der Chloroplasten zwischen $6 \mu\text{m}^2$ und $8 \mu\text{m}^2$. In der zweiten Hälfte dieser beiden Vegetationsperioden bestehen signifikante ($p \leq 0,01$) Unterschiede zwischen der durchschnittlichen Schnittfläche der Chloroplasten der vergilbende Fichte F33 und der Kontrollfichte K3.

In der Vegetationsperiode 1996 (Abb. 33 unten), nachdem die Magnesiumdüngung gewirkt hatte, ist die Abnahme der durchschnittlichen Schnittfläche der Chloroplasten der Fichte F33 vergleichbar mit der der Fichte K3. Trotzdem sind die Chloroplasten der Fichte F33 wie in den Jahren zuvor stets kleiner als die der Fichte K3. Allerdings sind im Jahr 1996 die Unterschiede in der zweiten Hälfte der Vegetationsperiode nicht signifikant. Die Schnittfläche der Chloroplasten beider Fichten am Ende der Vegetationsperiode 1996 variiert zwischen $10 \mu\text{m}^2$ und $13 \mu\text{m}^2$.

Ende Mai in der Vegetationsperiode 1994 wurden beide Fichten teilweise mit regendurchlässigen Nylonnetzen überdacht und damit die Lichtintensität, die die Bäume erreichte, auf 15 % des Umgebungslichtes herabgesetzt, ohne dabei die spektrale Zusammensetzung des sichtbaren Lichtes zu ändern. Die Beschattung bei K3 (Abb. 34, oben) bewirkt im Hochsommer (27.07.1994) eine signifikante ($p \leq 0,01$) Verringerung der durchschnittlichen Schnittfläche der Chloroplasten. Aber am Ende der Vegetationsperiode zeigt sie in beschatteten und lichtexponierten Nadeln der Fichte K3 ähnliche Werte (Durchschnittswerte: $11,13 \pm 2,1 \mu\text{m}^2$ bei K3-Licht und $10,58 \pm 2,23 \mu\text{m}^2$ bei K3-Schatten).

Bei den beschatteten Nadeln der Fichte F33 (Abb. 34, unten) ist am 27.07.1994 auch eine signifikante ($p \leq 0,01$) Verringerung der durchschnittlichen Schnittfläche der Chloroplasten zu beobachten. Anschließend beginnen die Werte anzusteigen. Ab Herbst (20.09.1994) ist die durchschnittliche Schnittfläche der Chloroplasten der beschatteten Nadeln der Fichte F33 signifikant ($p \leq 0,01$ am 20.09.1994 und $p \leq 0,05$ am 25.10.1994) größer als die der lichtexponierten Nadeln (Durchschnittswerte: $6,81 \pm 2,13 \mu\text{m}^2$ bei F33-Licht und $8,66 \pm 1,93 \mu\text{m}^2$ bei F33-Schatten).

Durch die Beschattung nähern sich die Parameter beider Fichten an. Allerdings zeigen nur die Werte der Proben vom Hochsommer (16.08.1994) und Anfang Herbst (20.09.1994) keine signifikanten Unterschiede. Die Chloroplasten der beschatteten Nadeln der Fichte F33 sind immer kleiner als die Chloroplasten der beschatteten Nadeln der Fichte K3. Die Unterschiede sind aber nicht signifikant.

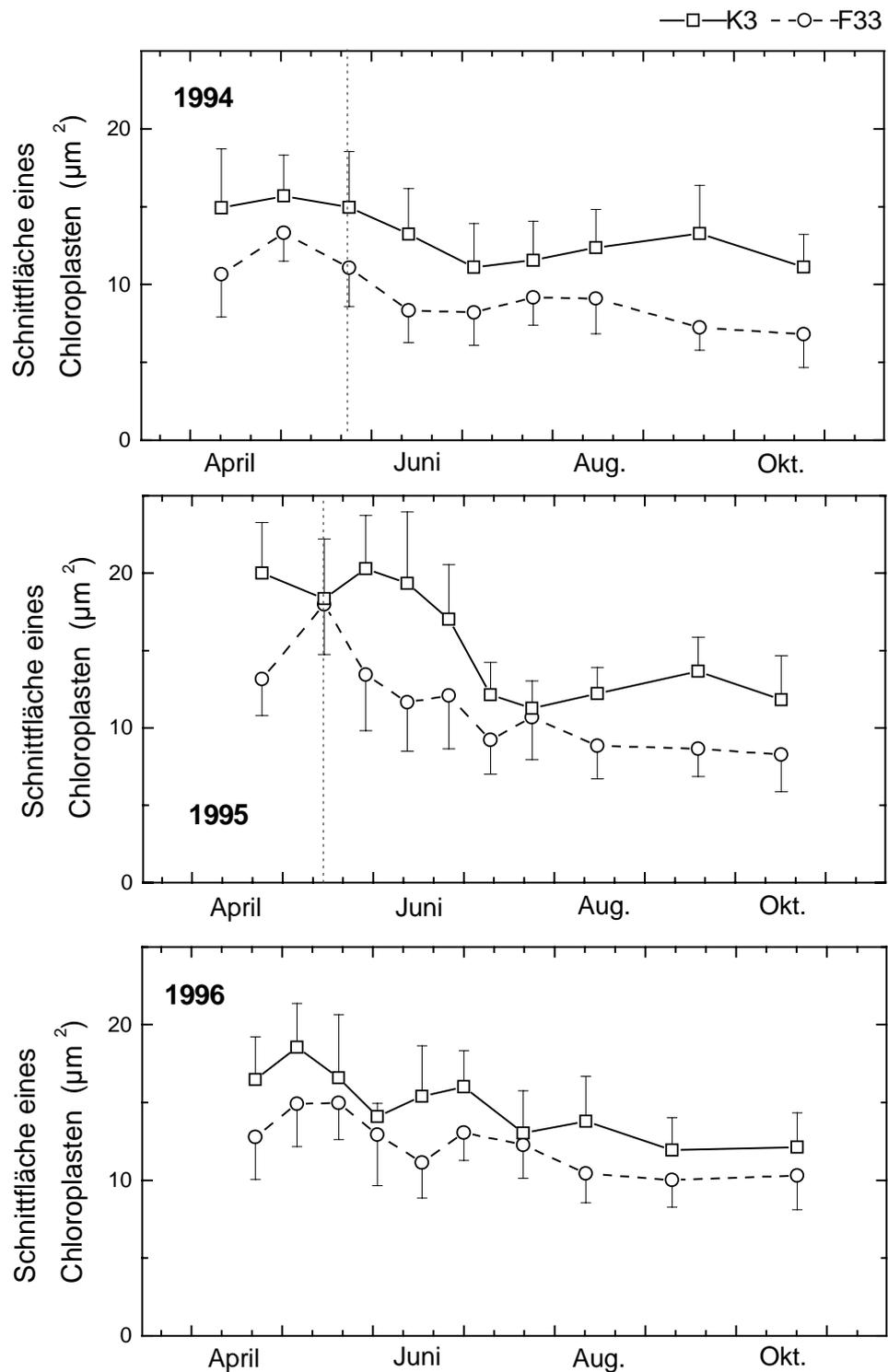


Abb. 33 Änderungen der Schnittfläche der Chloroplasten (μm^2) von vorjährigen, lichtexponierten Nadeln der Fichten F33 (vergilbende Fichte, ○) und K3 (Kontrollfichte, □) in den Vegetationsperioden 1994 (Nadeljahrgang 1993, oben), 1995 (Nadeljahrgang 1994, Mitte) und 1996 (Nadeljahrgang 1995, unten). Die gestrichelte Linie markiert den letzten Probenahmetermin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch keine visuell erkennbaren Vergilbungssymptome zeigten. ($n = 20$).

Schnittfläche eines Chloroplasten

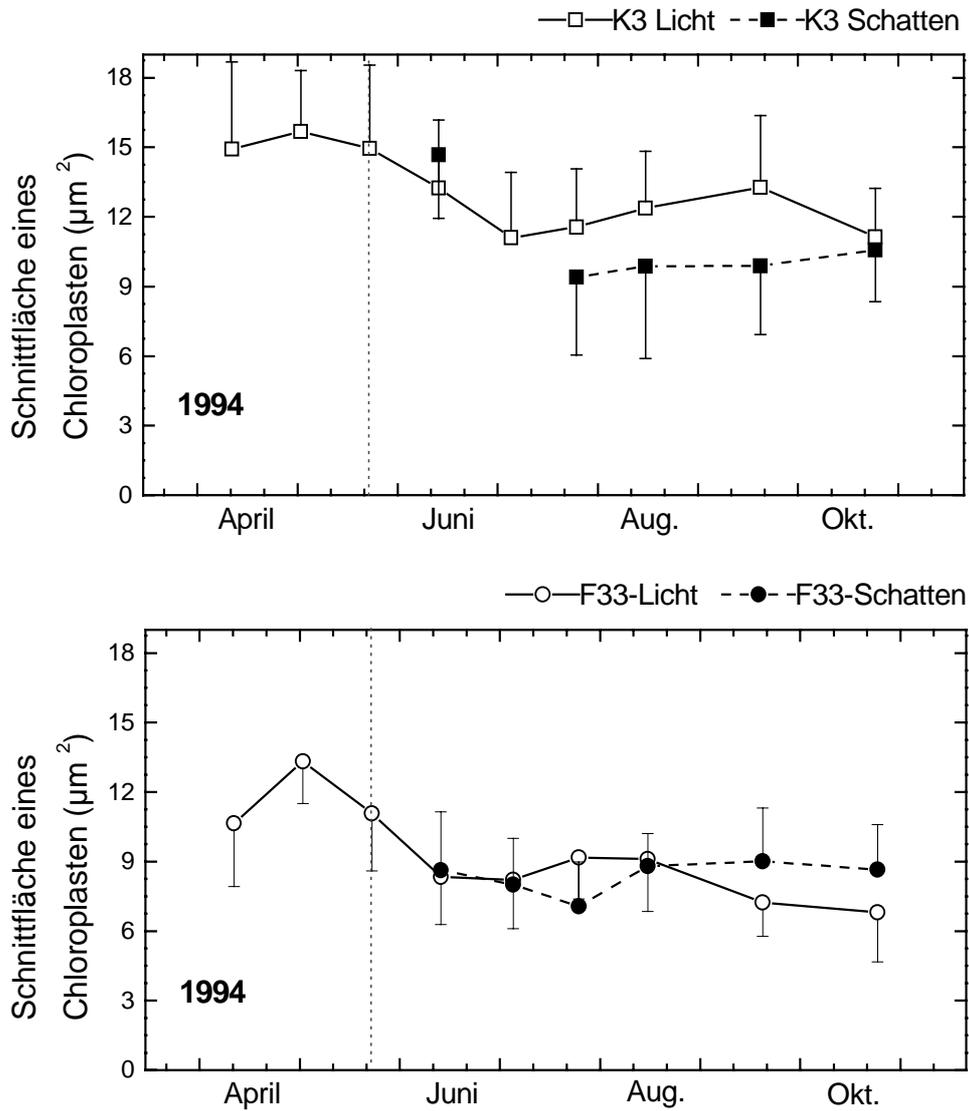


Abb. 34 Änderungen der Schnittfläche der Chloroplasten (μm^2) von beschatteten Nadeln der Fichten F33 (●) und K3 (■) in Vergleich mit den lichtexponierten Nadeln von F33 (○) und K3 (□) während der Vegetationsperiode 1994 (Nadeljahrgang 1993). Die gestrichelte Linie markiert den letzten Probenahmeterrmin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch grün waren. (n = 20).

3.2.3.2. Chloroplastenschnittfläche ohne Stärkekornfläche

Um die Änderungen der Größe des Chloroplastenschnitts unabhängig von der saisonalen Stärke-Akkumulation im Chloroplasten zu untersuchen, wurde die Fläche des Stärkekorns von der entsprechenden Chloroplastenschnittfläche abgezogen. Diese Änderungen der Größe des Chloroplastenschnitts sind in den Abbildungen 35 und 36 dargestellt.

Am Anfang aller drei untersuchten Vegetationsperioden ist eine leichte Abnahme der Chloroplastenschnittfläche ohne Stärkekorn (o. S.) zu erkennen. Kurz bevor der neue Nadeljahrgang zu treiben beginnt (s. Tabelle 4), fängt die Chloroplastenschnittfläche o. S. der vorjährigen Nadeln an, sich zu vergrößern. Dies geschieht bei der Fichte K3 in allen drei untersuchten Vegetationsperioden, wobei in den Jahren 1995 (Abb. 35, Mitte) und 1996 (Abb. 35, unten) die Größenzunahme der Chloroplastenschnittfläche o. S. im Frühjahr signifikant ($p \leq 0,01$) ist. Am Ende der Vegetationsperiode 1994 (Abb. 35, oben) und 1995 (Abb. 35 Mitte) nimmt die Chloroplastenschnittfläche o. S. bei der Fichte K3 leicht ab (Signifikanz: $p \leq 0,05$). In der Vegetationsperiode 1996 (Abb. 35, unten) findet eine Verzögerung der Neutriebe statt (s. Tabelle 4), damit ist der jahreszeitliche Verlauf der Entwicklung verschoben. Dies wird auch der Grund sein, weshalb bei der Fichte K3 im Gegensatz zu den vorausgegangenen Vegetationsperioden keine Abnahme der Chloroplastenschnittfläche o. S. am Ende der Vegetationsperiode 1996 beobachtet werden konnte. Die Werte der Chloroplastenschnittfläche o. S. der vorjährigen Nadeln der Fichte K3 in den drei untersuchten Vegetationsperioden liegen zwischen $8 \mu\text{m}^2$ am Anfang der Vegetationsperiode und $13,7 \mu\text{m}^2$ bei der vorletzten Probenahme im Herbst.

Am Anfang aller drei Vegetationsperioden zeigt die Entwicklung der Chloroplastenschnittfläche o. S. der Fichte F33 einen ähnlichen Verlauf wie die der Fichte K3. Sie nimmt allerdings, sobald die Vergilbung in den Jahren 1994 (Abb. 35, oben) und 1995 (Abb. 35, Mitte) einsetzt, abrupt ab. Diese Abnahme ist in beiden Vegetationsperioden signifikant (1994: $p \leq 0,01$; 1995: $p \leq 0,05$). Vor der Vergilbung besitzt die Fichte F33 den größten durchschnittlichen Wert der Chloroplastenschnittfläche o. S. (1994: $10,15 \pm 2,19 \mu\text{m}^2$; 1995: $9,65 \pm 2,82 \mu\text{m}^2$). Im Herbst erreicht sie dagegen ihre minimalen durchschnittlichen Werte (1994: $6,8 \pm 2,11 \mu\text{m}^2$ und 1995: $6,57 \pm 2,77 \mu\text{m}^2$). Nach der Vergilbung in den Vegetationsperioden 1994 und 1995 ist der Unterschied zwischen den Chloroplastenschnittflächen o. S. der Fichten F33 und K3 signifikant ($p \leq 0,01$). Die Chloroplastenschnittfläche o. S. der Fichte F33 ist etwa ein Drittel kleiner als die der Fichte K3.

In der Vegetationsperiode 1996 (Abb. 35 unten), nachdem die Magnesiumdüngung gewirkt hatte, verhält sich die Chloroplastenschnittfläche o. S. der Fichte F33 bis zum Hochsommer ähnlich wie die der Fichte K3. Ab August 1996 nimmt sie in der Fichte F33 ab, und auch wenn sie im Vergleich mit den vorigen Vegetationsperioden eine Größenzunahme von 35% aufweist, bleibt sie stets signifikant kleiner als die von Fichte K3 ($p \leq 0,01$ am 12.08.1996

Chloroplastenschnittfläche ohne Stärkekornfläche

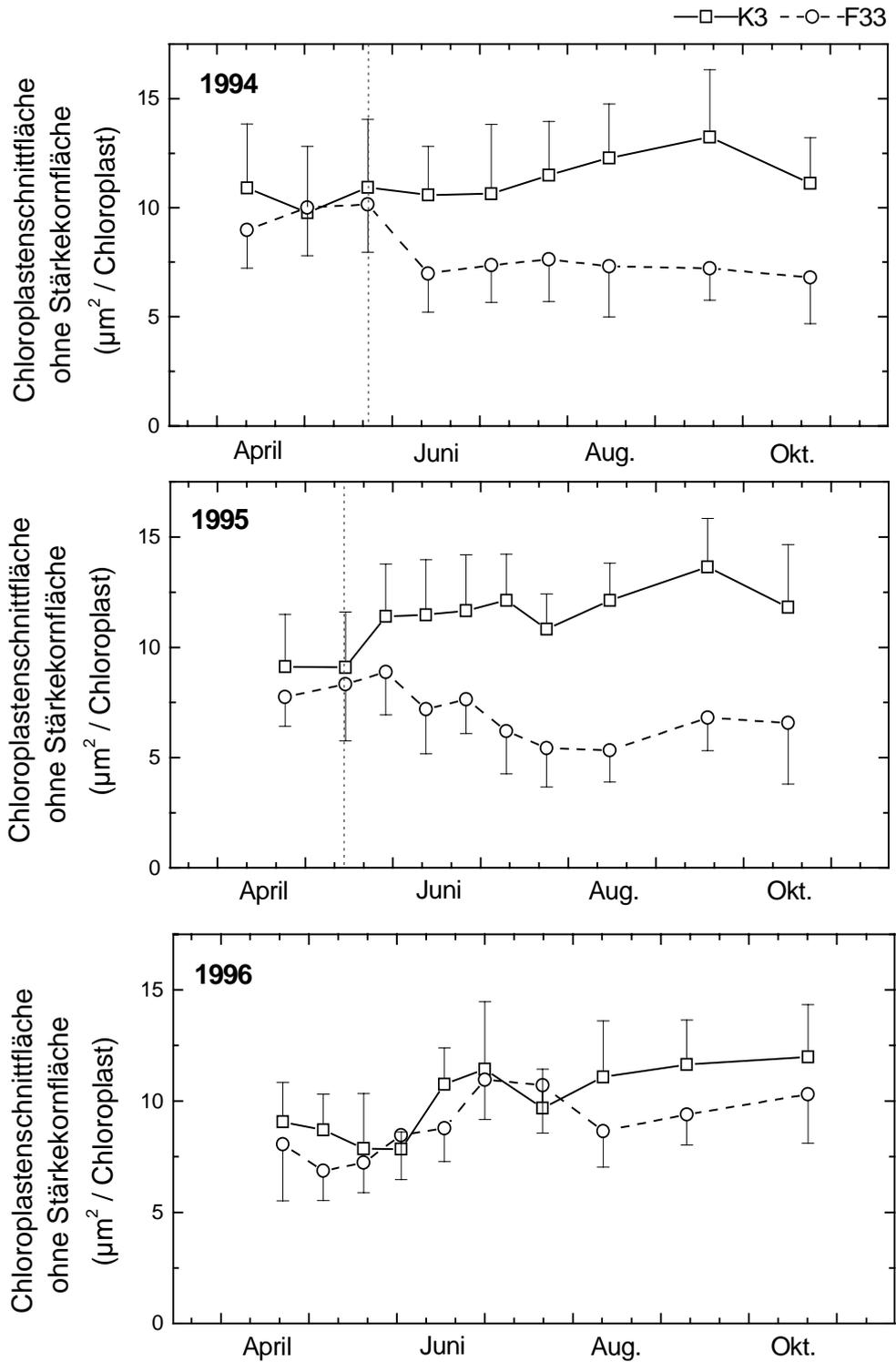


Abb. 35 Änderungen der Chloroplastenschnittfläche ohne Stärkekornschnittfläche (μm^2) von vorjährigen, lichtexponierten Nadeln der Fichten F33 (vergilbende Fichte, \circ) und K3 (Kontrollfichte, \square) in den Vegetationsperioden 1994 (Nadeljahrgang 1993, oben), 1995 (Nadeljahrgang 1994, Mitte) und 1996 (Nadeljahrgang 1995, unten). Die gestrichelte Linie markiert den letzten Probenahmetermin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch keine visuell erkennbaren Vergilbungssymptome zeigten. ($n = 20$).

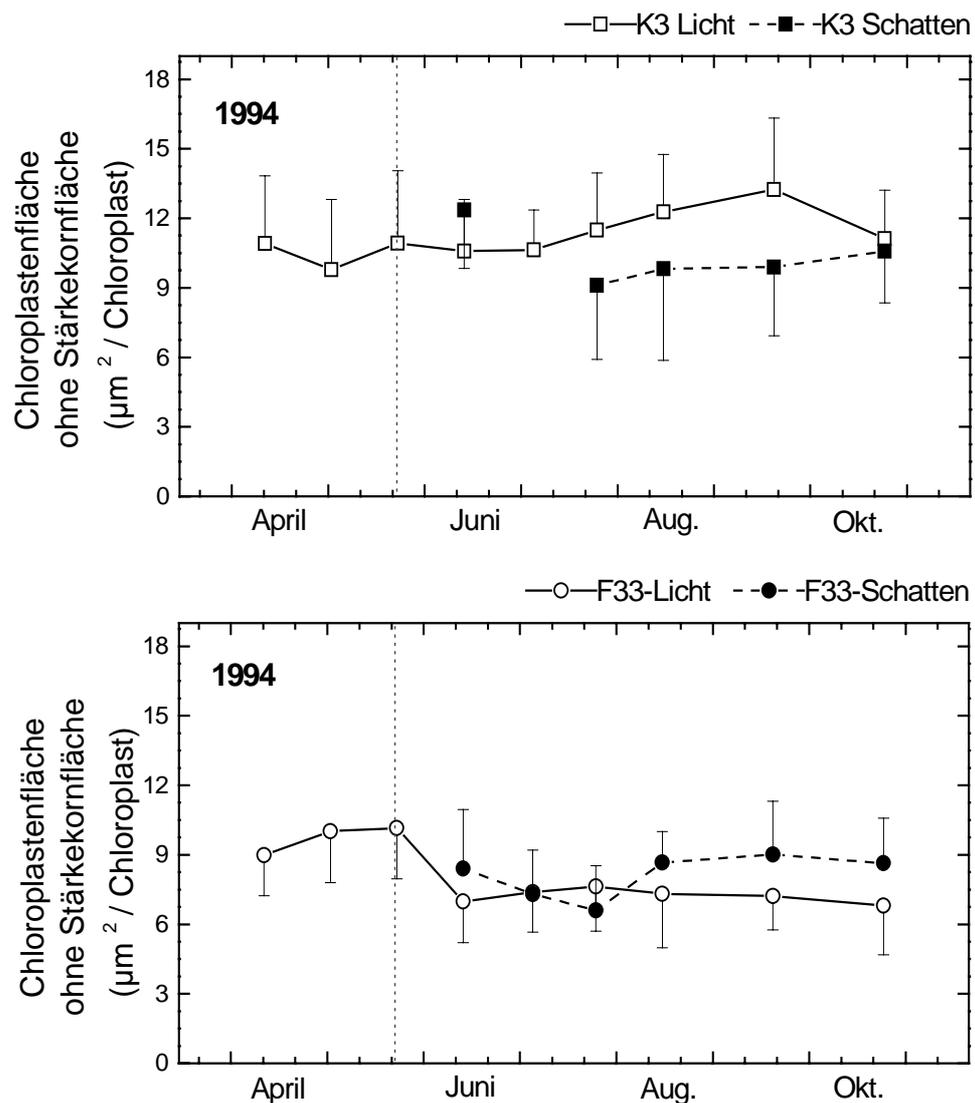


Abb. 36 Änderungen der Chloroplastenfläche ohne Stärkekornfläche (μm^2) von beschatteten Nadeln der Fichten F33 (●) und K3 (■) in Vergleich mit den lichtexponierten Nadeln von F33 (○) und K3 (□) während der Vegetationsperiode 1994 (Nadeljahrgang 1993). Die gestrichelte Linie markiert den letzten Probenahmetermin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch grün waren. ($n = 20$).

und 10.09.1996; $p \leq 0,05$ am 22.10.1996). Am Ende der Vegetationsperiode 1996 zeigen die Chloroplasten der nicht-vergilbten Nadeln von F33 bei der durchschnittlichen Chloroplastenschnittfläche o. S. einen Wert von $10,31 \pm 2,2 \mu\text{m}^2$, während bei den Chloroplasten der Kontrollfichte K3 dieser Wert $12,76 \pm 1,92 \mu\text{m}^2$ beträgt.

Die Beschattung der vorjährigen Nadeln im Jahr 1994 zeigt im Fall von Fichte F33 (Abb. 36 unten) zuerst eine Abnahme der Chloroplastenschnittfläche o. S. im Vergleich mit den Werten der lichtexponierten Nadeln derselben Fichte. Dieser Abnahme folgt eine Größenzunahme, die ab Spätsommer signifikant ist ($p \leq 0,01$ am 20.09.1994; $p \leq 0,05$ am 16.08.1994 und am 25.10.1994). Bei der Kontrollfichte K3 (Abb. 36 oben) ist die

Stromafläche

Chloroplastenschnittfläche ohne Stärkekorn spätestens* zwei Monate nach Anbringen der beschattenden Nylonfolie stets signifikant kleiner ($p \leq 0,01$ am 26.07.1994 und 20.09.1994; $p \leq 0,05$ am 16.08.1994) als die der lichtexponierten Nadeln desselben Baumes. Im Herbst gleichen sich die beiden Werte von lichtexponierten und beschatteten Nadeln der Fichte K3 an. Die Beschattung der Nadeln beider Bäume verursacht keine Verringerung der Chloroplastenschnittfläche o. S. bei den vorjährigen Nadeln der Fichte F33, wohl aber bei denen der Fichte K3. Damit erreichen die Chloroplastenschnittflächen ohne Stärkekorn bei beiden Bäumen vergleichbare Werte, die keine signifikanten Unterschiede von August bis Ende September 1994 aufweisen. Im Herbst gehen die Werte wieder signifikant ($p \leq 0,01$) auseinander.

3.2.3.3. Stromafläche

Messungen der Stromafläche (Abb. 37) sollen Auskunft über mögliche Zusammenhänge zwischen einer Vergrößerung bzw. Verringerung der Chloroplastenschnittfläche und der Fläche von Thylakoiden, Plastoglobuli und Stärkekörnern innerhalb einer Vegetationsperiode geben. Als Stromafläche wird die Fläche eines Chloroplastenschnitts nach Abziehen der im demselben Chloroplastenschnitt gemessenen Flächen der Thylakoide, Plastoglobuli und Stärkekörner definiert.

Die Stromafläche zeigt in den drei untersuchten Vegetationsperioden einen vergleichbaren Kurvenverlauf wie die Chloroplastenschnittfläche o. S. der lichtexponierten Nadeln beider Fichten. Während der Vegetationsperiode 1994 (Abb. 37, oben) steigt die Stromafläche der Fichte K3 bis zum Herbst stetig, nimmt aber am Ende der Vegetationsperiode deutlich ab (Signifikanz $p \leq 0,01$). Bei der Fichte F33 findet gleich nach der Vergilbung ein signifikanter Verlust ($p \leq 0,01$) an Stromafläche statt. Der aus den durchschnittlichen Stromaflächenwerten berechnete Stromaverlust ist mit 36,26 % größer als der berechnete Verlust der Chloroplastenschnittfläche ohne Stärkekornfläche (31,13 %) (Abb. 35), oder der Verlust an Thylakoidfläche (33,08 %) (Abb. 39). Dieser Verlust an Stromafläche ändert sich bis zum Ende der Vegetationsperiode kaum.

In der Vegetationsperiode 1995 (Abb. 37, Mitte) tritt im Mai eine Zunahme (Signifikanz $p \leq 0,05$) der Stromafläche beider Fichten auf. Diese Zunahme setzt sich bei der Fichte K3 bis Mitte Juli fort, worauf eine transiente Abnahme folgt. Die Abnahme der Stromafläche (zwischen 11.07.95 und 25.07.95) beträgt 18,28 %, während die Abnahme der Chloroplastenschnittfläche o. S. im gleichen Zeitraum (Abb. 35) 10,8 % und die der Thylakoidfläche (Abb. 39) nur 9,1 % ausmacht. Am Ende der Vegetationsperiode (17.10.1995) nimmt die Stromafläche bei der Fichte K3 wie im Jahr zuvor ab.

* Die Werte der beschatteten Fichte K3 konnten am 6.07.1994 nicht erhoben werden.

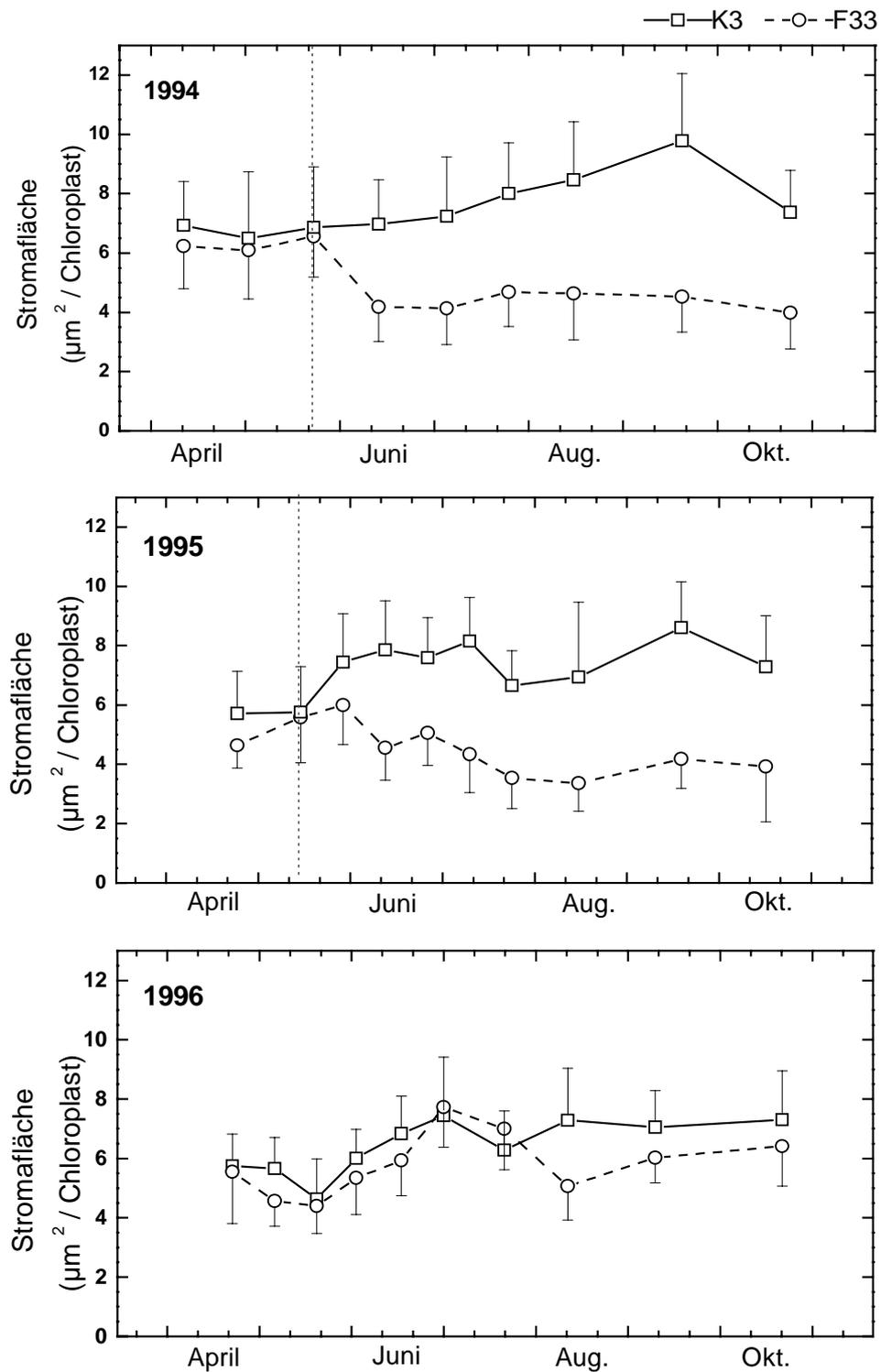


Abb. 37 Änderungen der Stromafäche der Chloroplasten (μm^2) von vorjährigen, lichtexponierten Nadeln der Fichten F33 (vergilbende Fichte, \circ) und K3 (Kontrollfichte, \square) in den Vegetationsperioden 1994 (Nadeljahrgang 1993, oben), 1995 (Nadeljahrgang 1994, Mitte) und 1996 (Nadeljahrgang 1995, unten). Die gestrichelte Linie markiert den letzten Probenahmeterrn, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch keine visuell erkennbaren Vergilbungssymptome zeigten. ($n = 20$).

Stromafläche

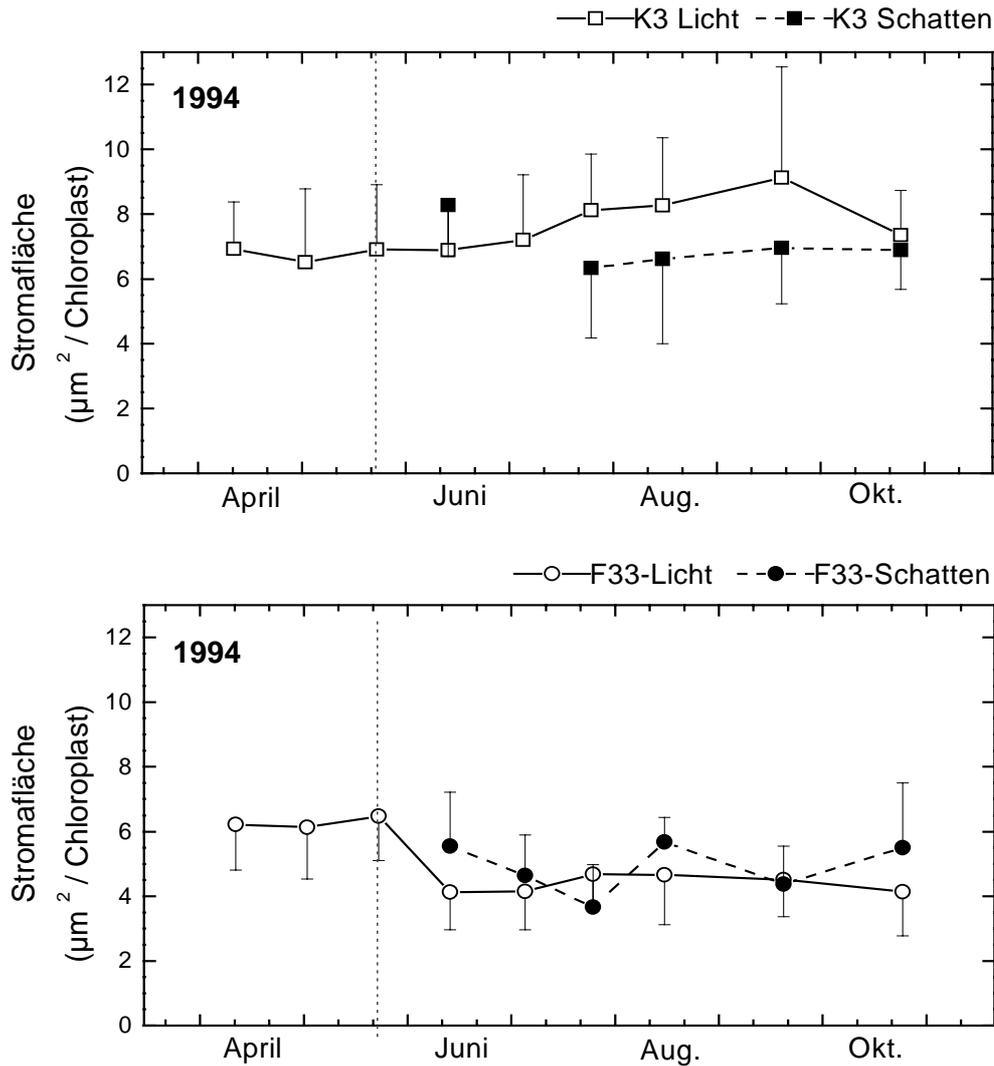


Abb. 38 Änderungen der Stromafläche eines Chloroplastenschnitts (μm^2) von beschatteten Nadeln der Fichten F33 (●) und K3 (■) in Vergleich mit den lichtexponierten Nadeln von F33 (○) und K3 (□) während der Vegetationsperiode 1994 (Nadeljahrgang 1993). Die gestrichelte Linie markiert den letzten Probenahmetermin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch grün waren. (n = 20).

Auch bei der vergilbenden Fichte F33 findet eine Zunahme der Stromafläche am Anfang der Vegetationsperiode statt. Im Gegensatz zu 1994 erfolgt die Abnahme der Stromafläche nicht gleichzeitig mit dem Einsetzen der Vergilbung, sondern erst zwei Wochen danach. Bei der Fichte F33 setzt auch die Abnahme der Stromafläche früher ein als die Abnahme der Chloroplastenschnittfläche o. S. (Abb. 35), nicht aber die Abnahme der Thylakoidfläche (Abb. 39). Sobald die Vergilbung der Nadel der Fichte F33 beginnt, sind die Unterschiede der Stromaflächen beider Bäume stets signifikant ($p \leq 0,01$) unterschiedlich.

In der Vegetationsperiode 1996 (Abb. 37 unten), nachdem die Magnesiumdüngung bei der Fichte F33 gewirkt hatte, zeigen beide Fichten vergleichbare Stromaflächen bis Mitte Juli. Während bei K3 eine Vergrößerung der Stromafläche bis Mitte August stattfindet, nimmt im gleichen Zeitraum die Stromafläche der Chloroplasten der grün gebliebenen Nadeln der Fichte F33 signifikant ($p \leq 0,01$) ab. Hier geht wiederum die Abnahme der Stromafläche der Abnahme der Chloroplastenschnittfläche ohne Stärkekornfläche (Abb. 35), und der Abnahme der Thylakoidfläche (Abb. 39) voraus. Bis September nimmt bei F33 die Stromafläche der Chloroplasten wieder zu und zeigt dann bis Ende der Vegetationsperiode keinen signifikanten Unterschied zu der Stromafläche der Chloroplasten von K3. Hier bestätigt sich, daß die Chloroplasten der Fichte F33 stets kleiner sind als die der Fichte K3, wenn auch der Unterschied zwischen den grün gebliebenen Nadeln von F33 und den Nadeln von K3 nicht signifikant ist.

Die im Jahr 1994 durchgeführte künstliche Beschattung der Fichten (Abb. 38) beeinflusst die Größe der Stromafläche beider Fichten auf unterschiedliche Weise. Bei der Kontrollfichte K3 (Abb. 38, oben) sind die Unterschiede zwischen den Stromaflächen in beschatteten und lichtexponierten Nadeln deutlicher als bei den Chloroplastenschnittflächen o. S. derselben Nadeln (Abb. 36). Die Beschattung verursacht zunächst eine signifikante Vergrößerung ($p \leq 0,01$) der Stromafläche der Chloroplasten, gefolgt von einer signifikanten Verringerung ($p \leq 0,01$) derselben. Nur am Ende der Vegetationsperiode gleichen sich beide Werte an. Bei den beschatteten Nadeln der Fichte F33 (Abb. 38, unten) schwankt die Stromafläche während der ganzen Vegetationsperiode. Der Stromaflächenzunahme im August geht eine Zunahme der Thylakoidfläche der Chloroplasten voraus (vgl. Abb. 40). Der Vergleich der beschatteten Nadeln beider Fichten zeigt, daß keine starke Annäherung der Stromafläche sowie der Chloroplastenschnittfläche o. S stattfindet.

3.2.4. Morphometrie der Thylakoidfläche im Chloroplastenschnitt

Veränderungen von Zellorganellen können als Ausdruck des natürlichen Wandels einer Zelle oder als Ausdruck von Schädigungen auftreten. Schädliche Veränderungen betreffen innerhalb der Pflanzenzelle insbesondere die Membransysteme wie das Photosynthesemembransystem, welches aus den Stromathylakoiden und den Granathylakoiden besteht. Im folgenden werden die Veränderungen des Thylakoidmembransystems, die innerhalb einer Vegetationsperiode auftreten, in ergrünenden und vergilbenden Fichtennadeln dargestellt.

Thylakoidfläche eines Chloroplastenschnitts

- Die **Thylakoidfläche eines Chloroplasten** soll Auskunft geben über die jährliche Entwicklung des gesamten photosynthetischen Membransystems in ergrünenden und vergilbenden Nadeln der untersuchten Fichten.
- Mit dem **Anteil der Thylakoidfläche an der Chloroplastenfläche ohne Stärkekornfläche** wird dargestellt, in welcher Beziehung die Fläche der gesamten Thylakoidmembranen zu der des jeweiligen Chloroplasten steht.

3.2.4.1. Thylakoidfläche eines Chloroplastenschnitts

Die Thylakoidfläche eines Chloroplastenschnitts (Abb. 39) verändert sich bei den lichtexponierten Nadeln von Fichte K3 in den drei untersuchten Jahrgängen nur geringfügig. Eine deutliche Zunahme am Anfang der Vegetationsperiode ist nicht zu verzeichnen. Sie nimmt gleich vor dem Beginn des Neutriebes, im Hochsommer und im Herbst ab, um anschließend wieder zuzunehmen. Die niedrigsten Werte an Thylakoidfläche eines Chloroplastenschnitts sind im Monat Juli zu beobachten, wenn sie zwischen 75 % (1994) bis 80 % (1996) der zu Beginn der Vegetationsperiode vorhandenen Thylakoidfläche ausmachen. Die höchsten Werte werden vor und nach der Juli-Abnahme gemessen. Diese Zunahme bewegt sich zwischen 3,4 % (25.05.1994) und 8,8 % (10.09.96). Am Ende der Vegetationsperiode beträgt die Thylakoidfläche eines Chloroplastenschnitts 89 % (1994), 98,6 % (1995) und 97,4 % (1996) der am Anfang gemessenen Thylakoidfläche.

Während die Thylakoidfläche eines Chloroplastenschnitts sich bei der Fichte K3 in den drei untersuchten Jahrgängen nur geringfügig verändert, nimmt sie bei der Fichte F33 ab (Signifikanz: $p \leq 0,01$), sobald die Vergilbung einsetzt (Abb. 39, oben und Mitte). Die Abnahme setzt sich während der ganzen Vegetationsperiode weiter fort und die durchschnittliche Thylakoidfläche eines Chloroplastenschnitts von F33 erreicht im Herbst ihr Minimum mit 51,2 % (25.10.1994) und 35,5 % (1995) der Ausgangswerte.

Im Jahr 1996 verhält sich die Thylakoidfläche eines Chloroplastenschnitts (Abb. 39, unten) der nicht-vergilbten Nadel von Fichte F33 wie bei der Kontrollfichte K3. Sie ist bei F33 am Ende der Vegetationsperiode 4 % größer als am Anfang und erreicht damit Werte wie bei der Kontrollfichte. Wie bei K3 findet die maximale Abnahme der Thylakoidfläche der grün gebliebenen Nadeln im Hochsommer statt. Dieser Verlust beträgt 22,3 % , welcher dem von K3 in den drei untersuchten Jahren gleicht.

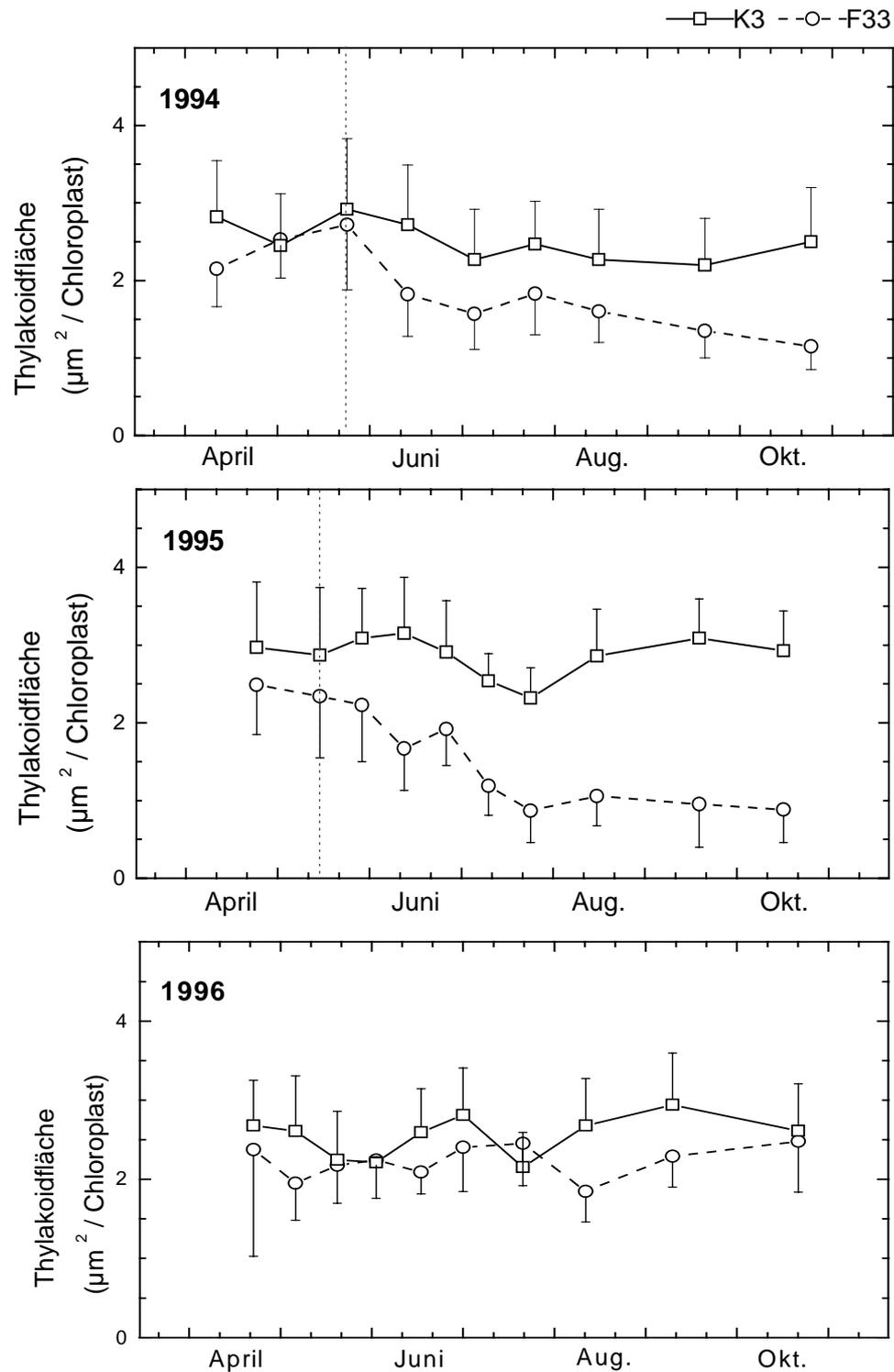


Abb. 39 Änderungen der Thylakoidfläche eines Chloroplastenschnitts (μm^2) von vorjährigen, lichtexponierten Nadeln der Fichten F33 (vergilbende Fichte, \circ) und K3 (Kontrollfichte, \square) in den Vegetationsperioden 1994 (Nadeljahrgang 1993, oben), 1995 (Nadeljahrgang 1994, Mitte) und in der Vegetationsperiode 1996 (Nadeljahrgang 1995, unten). Die gestrichelte Linie markiert den letzten Probenahmetermin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch keine visuell erkennbaren Vergilbungssymptome zeigen. ($n = 20$).

Thylakoidfläche eines Chloroplastenschnitts

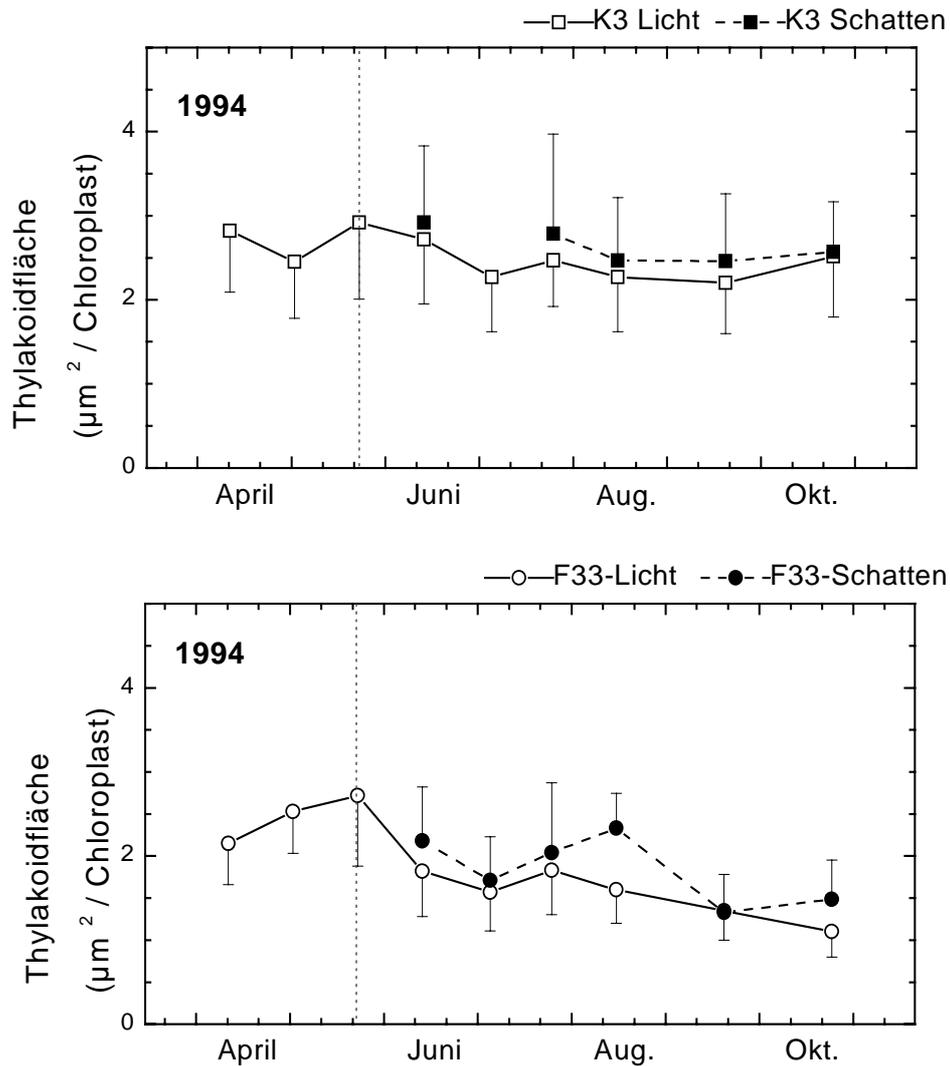


Abb. 40 Änderungen der Thylakoidfläche (Stromathylakoid und Granathylakoid) eines Chloroplastenschnitts (μm^2) von beschatteten Nadeln der Fichten F33 (●) und K3 (■) in Vergleich mit den lichtexponierten Nadeln von F33 (○) und K3 (□) während der Vegetationsperiode 1994 (Nadeljahrgang 1993). Die gestrichelte Linie markiert den letzten Probenahmetermin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch grün waren. ($n = 20$).

Die Thylakoidfläche eines Chloroplastenschnitts von Fichte K3 (Abb. 40, oben) wird durch die künstliche Beschattung nicht beeinflusst. Die Thylakoidflächen von belichteten wie beschatteten Nadeln zeigen einen parallelen Verlauf und weisen keinen signifikanten Unterschied auf. Bei den beschatteten Nadeln der Fichte F33 ist gegenüber den belichteten Nadeln eine signifikante ($p \leq 0,01$) Vergrößerung der Thylakoidfläche (Abb. 40, unten) nur in der Probe von August, zwei Monate nach Anbringen der regendurchlässigen Nylonfolie zu sehen. Der Vergleich von beschatteten Nadeln beider Fichten zeigt auch, daß nur in dieser Probe vom August die durchschnittliche Thylakoidfläche der Chloroplasten von F33

gleiche Werte aufweisen wie die von K3. Sonst zeigt die Thylakoidfläche eines Chloroplastenschnitts der beschatteten Nadeln beider Bäumen immer signifikante Unterschiede.

3.2.4.2. Anteil der Thylakoidfläche an der Chloroplastenfläche o. S.

Der Anteil der Thylakoidfläche an der Chloroplastenfläche o. S. (ohne Stärkekornfläche) verhält sich 1996 bei den beiden untersuchten Fichten sehr ähnlich (Abb. 41, unten). Am Ende der Vegetationsperiode 1996 ist der Anteil der Thylakoidfläche an der Chloroplastenfläche o. S. um 3 % bei F33 bzw. 6 % bei K3 geringer als zu Beginn des selben Zeitraumes. In den zwei Jahren zuvor, wenn die Nadeln von Fichte F33 vergilben, werden ab dem Sommer die Unterschiede zwischen beiden Fichten deutlicher ($p \leq 0,01$; am: 26.07.1994, 16.08.1994, 25.10.1994, 13.06.1995, 25.07.1995, 16.08.1995, 17.10.1995). Im Jahr 1995 beträgt die Abnahme des Anteils der Thylakoidfläche an der Chloroplastenfläche o. S. (Abb. 41, Mitte) 19 % bei F33 und 7% bei der Kontrollfichte K3. Im Jahr 1994 (Abb. 41, oben) sank er zwischen Mai und Oktober von ca. 26 % auf ca. 16 % bei der vergilbenden Fichte F33 und von 27 % auf ca. 22 % bei K3.

Diese Befunde belegen, daß sich die Stromafläche -und damit die Chloroplastenfläche o. S.- innerhalb einer Vegetationsperiode vergrößert. Diese Vergrößerung der eigentlichen thylakoidfreien Stromafläche der Chloroplasten bei ergrünenden Fichten zum Herbst hin ist nicht von einer Vergrößerung der Thylakoidfläche begleitet. Bei vergilbenden Nadeln ist dagegen eine gleichzeitige Abnahme von thylakoidfreier Stromafläche und Thylakoidfläche zu verzeichnen. Verlaufen beide Abnahmen proportional, dann ist eine Kurvendynamik wie 1994 von Mai bis Juli zu erwarten. Verläuft die Stroma-Abnahme schneller als die der Thylakoide, dann entspricht dies den Monaten Juli, August und September 1994. Wird im Chloroplast der Thylakoidabbau rascher als der des Stromas, entspricht dies dem Kurvenverlauf von 1995.

Anteil der Thylakoidfläche an der Chloroplastenfläche o. S.

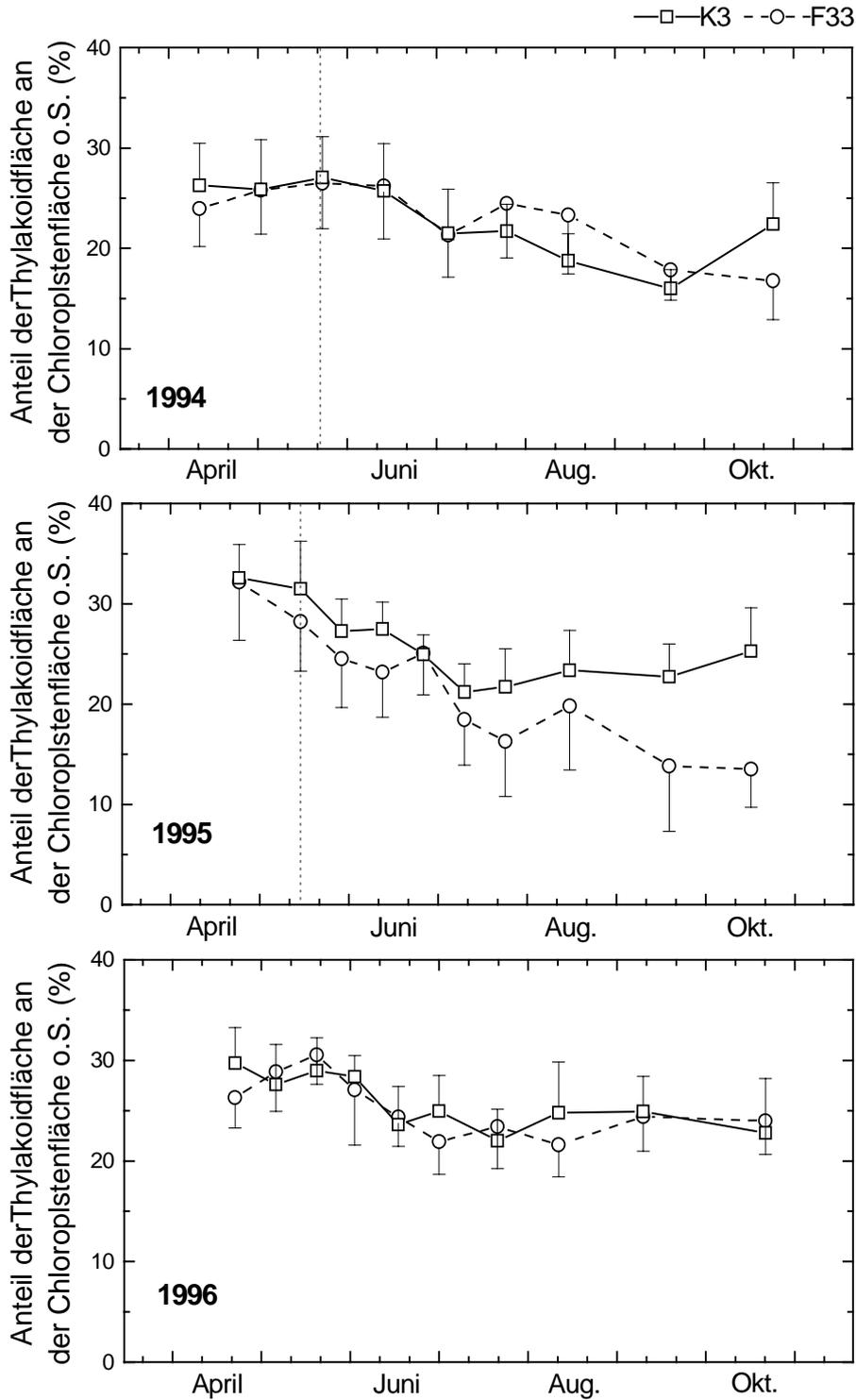


Abb. 41 Anteil der Thylakoidfläche an der Chloroplastenfläche o. S. eines Chloroplastenschnitts (%) von vorjährigen, lichtexponierten Nadeln der Fichten F33 (vergilbende Fichte, ○) und K3 (Kontrollfichte, □) in den Vegetationsperioden 1994 (Nadeljahrgang 1993, oben), 1995 (Nadeljahrgang 1994, Mitte) und 1996 (Nadeljahrgang 1995, unten). Die gestrichelte Linie markiert den letzten Probenahmetermin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch keine visuell erkennbaren Vergilbungssymptome zeigten. (n = 20).

3.2.5. Veränderungen der Thylakoidorganisation

Die Veränderung der Thylakoidorganisation in den Chloroplasten der Fichten F33 und K3 ist anhand folgenden von Parametern untersucht worden:

- Variationen in der **Länge der Schnitte S1-S3** sollen die Änderungen der Chloroplastengröße o. S. (ohne Stärke Korn) widerspiegeln genauso wie Änderungen der Form der Chloroplasten.
- Veränderungen an der **Gesamtzahl der Thylakoidstapel** i. w. S. (im weiteren Sinne) wurden mittels der Anzahl der von den Schnitten S1-S3 getroffenen Thylakoidstapeln i. w. S. eines Chloroplastenschnitts bestimmt.
- Der prozentuale **Anteil von Stroma- und Granathylakoiden** mit zunehmender Stapelzahl an der Gesamtzahl von Thylakoiden (Stroma- *plus* Granathylakoid) charakterisiert die Änderungen der Thylakoidorganisation sowohl im Jahrgang als auch zwischen den beiden Fichten.

Die zwei letztgenannten Parameter spiegeln den morphologischen Aufbau des photosynthetischen Membransystems wider, indem sie die Information über Stroma- und Granathylakoide und ihr Verhältnis darstellen, und welche Photosysteme vorkommen könnten.

Das Charakterisieren der Chloroplastengröße durch die Schnittlänge ist von der Form des zu messenden Chloroplasten abhängig. Die Schnittlänge S1-S3 durch einen Chloroplastenschnitt (Abb. 42) ändert sich in den drei untersuchten Vegetationsperioden gleichsinnig mit den Änderungen der Chloroplastenfläche o. S. Bei der Kontrollfichte K3 steigt sie bis zum Herbst an. Bei F33 findet im Jahr 1994 eine plötzliche Abnahme der Schnittlänge mit Einsetzen der Vergilbung statt (Abb. 42 oben). Im Jahr 1995 trat diese plötzliche Abnahme etwa vier Wochen nach Eintreten der Vergilbung auf (Abb. 42 Mitte). Anschließend ist in den beiden Vegetationsperioden eine Erholung zu beobachten. Diese ist bei den Änderungen der Chloroplastenfläche o. S. nicht zu sehen, weil bei diesem Parameter die Fläche *per se* betrachtet wird. Die Wiederzunahme der Schnittlänge geht mit einer Veränderung der Chloroplastenform einher. Die Chloroplasten der vergilbten Nadel ändern mit länger dauernder Schädigung ihre Spindelform in eine abgerundete Form (Abb. 16 und 31). Nachdem 1996 die Magnesiumdüngung auf F33 gewirkt hatte, verhält sich die Schnittlänge S1-S3 (Abb. 42, unten) von der Fichte F33 ähnlich wie die von K3, und nur im September zeigen beide Schnittlängen einen signifikanten Unterschied ($p \leq 0,01$).

Thylakoidorganisation: Länge der Schnitte S1-S3

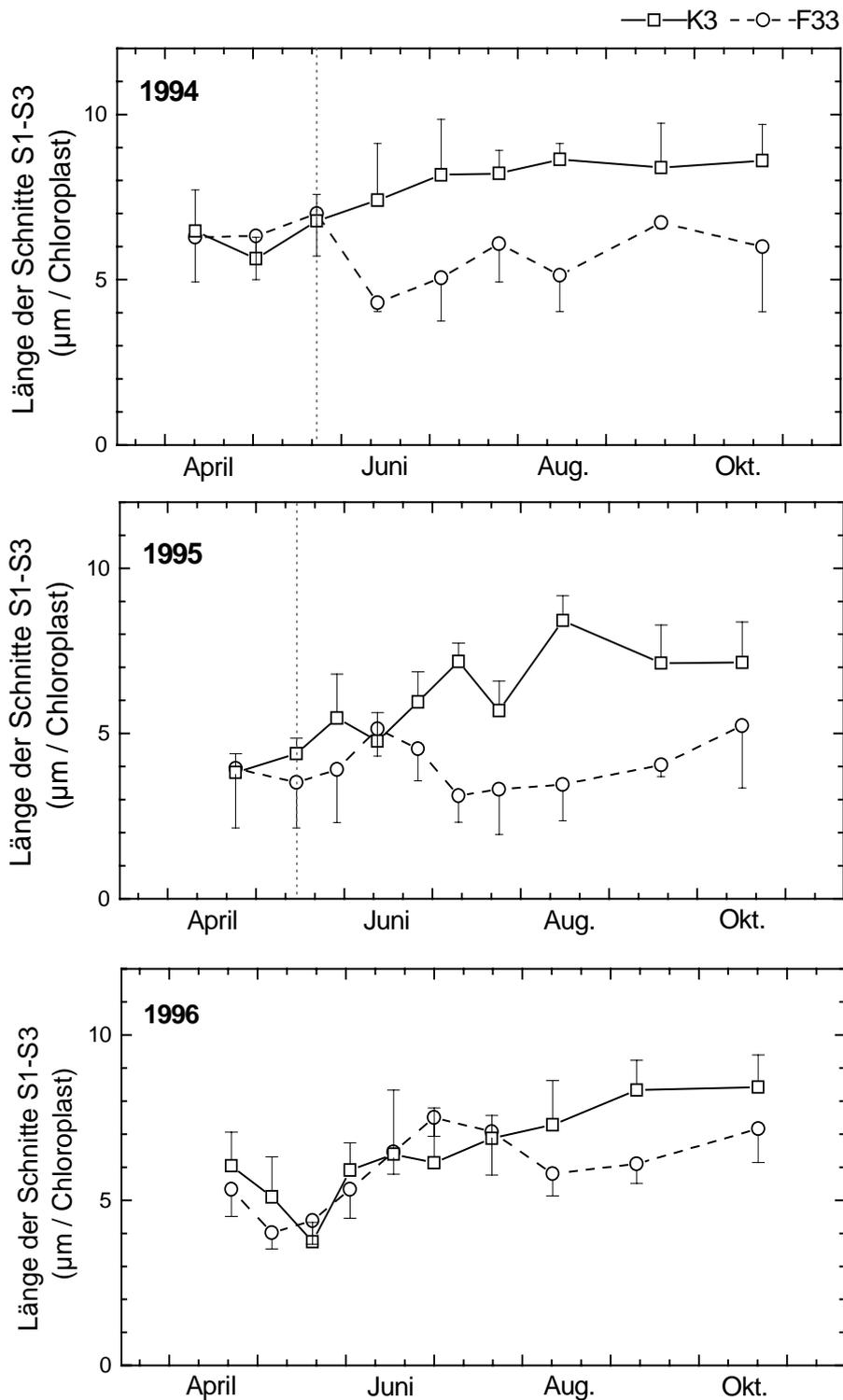


Abb. 42 Länge der Schnitte S1-S3 durch einen Chloroplastenschnitt (μm) von vorjährigen, lichtexponierten Nadeln der Fichten F33 (vergilbende Fichte, \circ) und K3 (Kontrollfichte, \square) in den Vegetationsperioden 1994 (Nadeljahrgang 1993, oben), 1995 (Nadeljahrgang 1994, Mitte) und 1996 (Nadeljahrgang 1995, unten). Die gestrichelte Linie markiert den letzten Probenahmeterrin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch keine visuell erkennbaren Vergilbungssymptome zeigten. ($n = 20$).

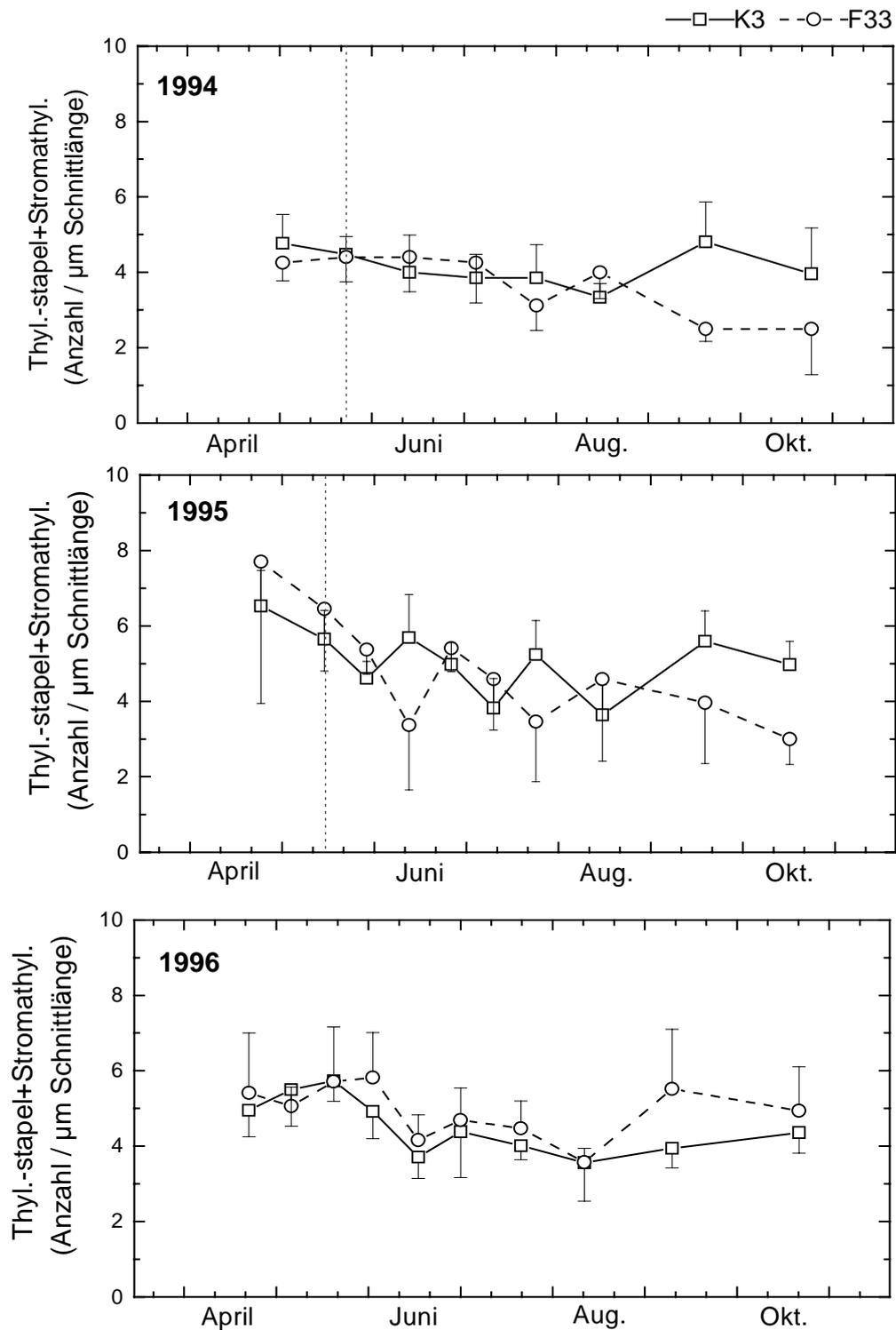
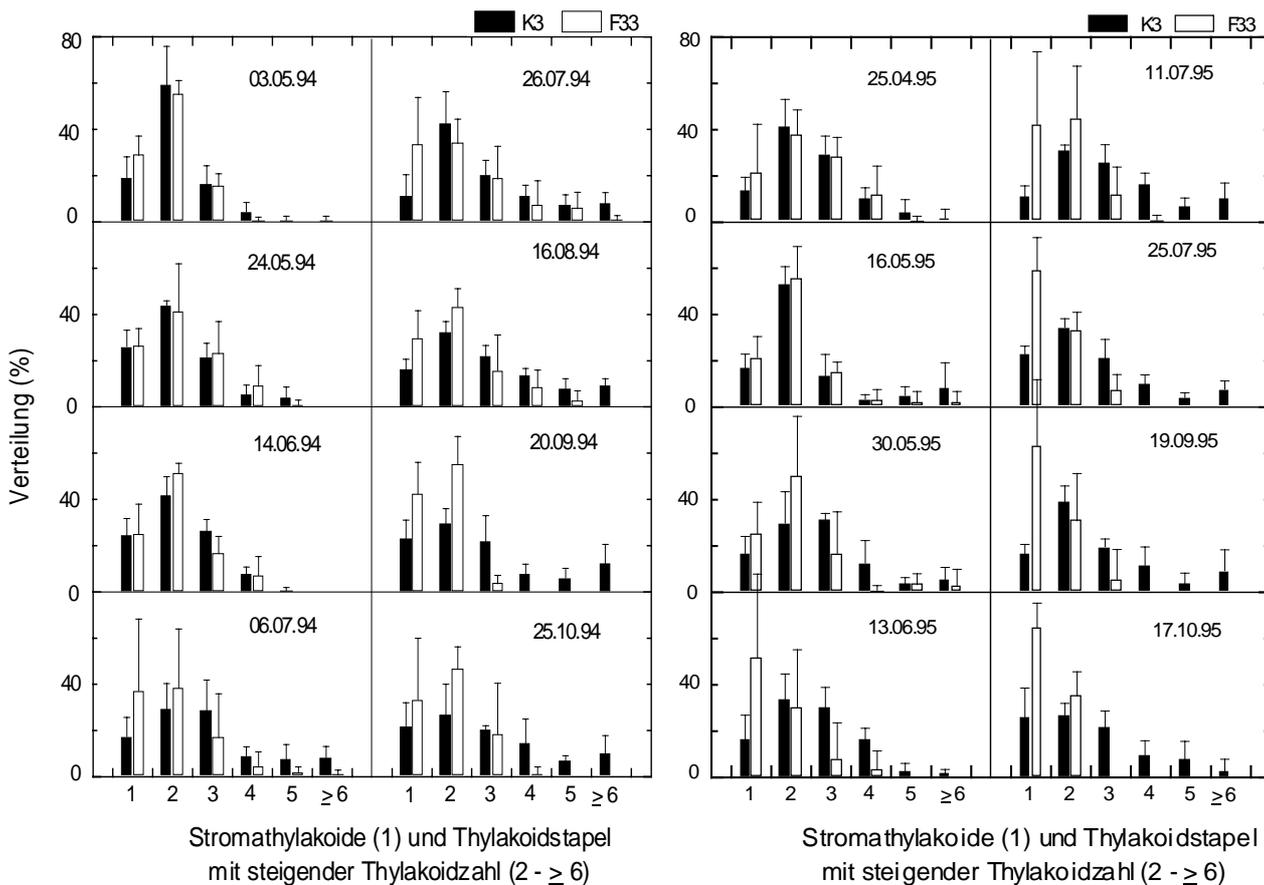


Abb. 43 Anzahl der von den Schnitten S1-S3 getroffenen Thylakoide i. w. S. einem Chloroplastenschnitt von vorjährigen, lichtexponierten Nadeln der Fichten F33 (vergilbende Fichte, ○) und K3 (Kontrollfichte, □) in den Vegetationsperioden 1994 (Nadeljahrgang 1993, oben), 1995 (Nadeljahrgang 1994, Mitte) und 1996 (Nadeljahrgang 1995, unten). Die gestrichelte Linie markiert den letzten Probenahmeterrin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch keine visuell erkennbaren Vergilbungssymptome zeigten. (n = 20).

Thylakoidorganisation: Gesamtzahl der Thylakoidstapel

Die Gesamtzahl der Thylakoidstapel i.w.S. (im weiteren Sinne, d. h. Stapel- plus Stromathylakoide) (Abb. 43), die pro μm von den Linien S1-S3 getroffen wird, verhält sich bei beiden Fichten sehr ähnlich trotz beträchtlicher Streuung innerhalb der Probenkollektive. In den zwei ersten Untersuchungsjahren (Abb. 43, oben und Mitte) werden signifikante Unterschiede ($p \leq 0,01$) im Herbst (am 20.09.1994, 25.10.1994 und 17.10.1995) gemessen. 1996 zeigt nur die Septembermessung einen signifikanten Unterschied (Abb. 43, unten) ($p \leq 0,05$). Die Gesamtzahl der Thylakoidstapel i.w.S. beider Fichten nimmt in der ersten Hälfte der drei Vegetationsperioden leicht ab: während sie im Mai zwischen etwa 4,5 - 6,5 liegt, geht sie bis August auf Werte von ca. 4 zurück. In diesem Zeitraum nimmt bei den grünen Nadeln der Fichte K3 die Linienlänge von S1-S3 von 4,5 - 5,5 μm auf 7 - 9 μm (Abb. 42) bzw. bei den 1996 grün gebliebenen Nadel von F33 (Abb. 42, unten) von 4 μm auf 6 μm zu. In den Chloroplasten der grünen Nadeln ändert sich kaum die Zahl der Thylakoidstapel i.w.S. Bei den vergilbten Nadeln der Fichte F33 dagegen belegt die gleichzeitig abnehmende Zahl der Thylakoidstapel pro μm bei abnehmender Schnittlänge S1-S3 zwischen Mai und August, daß die Chloroplasten weniger Thylakoidstapel i.w.S. enthalten.



(Abb. 44 Prozentualer Anteil von Stromathylakoiden (1) und Thylakoidstapeln (2 bis ≥ 6) zunehmender Thylakoidzahl an der Gesamtzahl des Membranthylakoidsystems. Siehe folgende Seite).

Die beschriebenen Änderungen werden von Modifikationen in der Organisation der Thylakoidstapel begleitet. Wie in Abbildung 44 dargestellt, variiert diese sowohl im Jahrgang als auch zwischen den grünen und vergilbten Nadeln beider Fichten.

Bei den ab Ende Mai ergrünenden Nadeln von beiden Fichten (F33: 1996; K3: 1994-1996) nimmt die Zahl der Thylakoide, die in größeren Granastapeln organisiert sind (Abb. 44), zwischen Mai und Juli deutlich zu. Anfang Mai bestehen etwa 50 - 60 % der von S1-S3 getroffenen Thylakoidstapel i.w.S. aus nur zwei Thylakoiden, und Stapel mit fünf oder mehr Thylakoiden werden kaum beobachtet. In den folgenden Monaten sinkt der Anteil der aus zwei Thylakoiden bestehenden Stapel auf 30 – 40 %, während ab Anfang Juli ca. 20 % der Stapel aus fünf und mehr Thylakoiden bestehen. Auch der Anteil der aus drei bis vier Thylakoiden bestehenden Grana, der Anfang Mai bei etwa 30 % liegt, nimmt im Lauf des Jahres deutlich zu. Weit geringeren Schwankungen sind die Stromathylakoide unterworfen, deren Anteil während der gesamten drei untersuchten Vegetationsperioden bei ca. 20 % liegt. Bei den ab Mai der Vegetationsperioden 1994 und 1995 vergilbenden Nadeln der Fichte F33 stimmt die Verteilung der Stapelklassen bis Juni weitgehend mit den grünen Nadeln von K3 und F33 (im Jahr 1996) überein. Ab Anfang Juli ist der Anteil der Stroma-

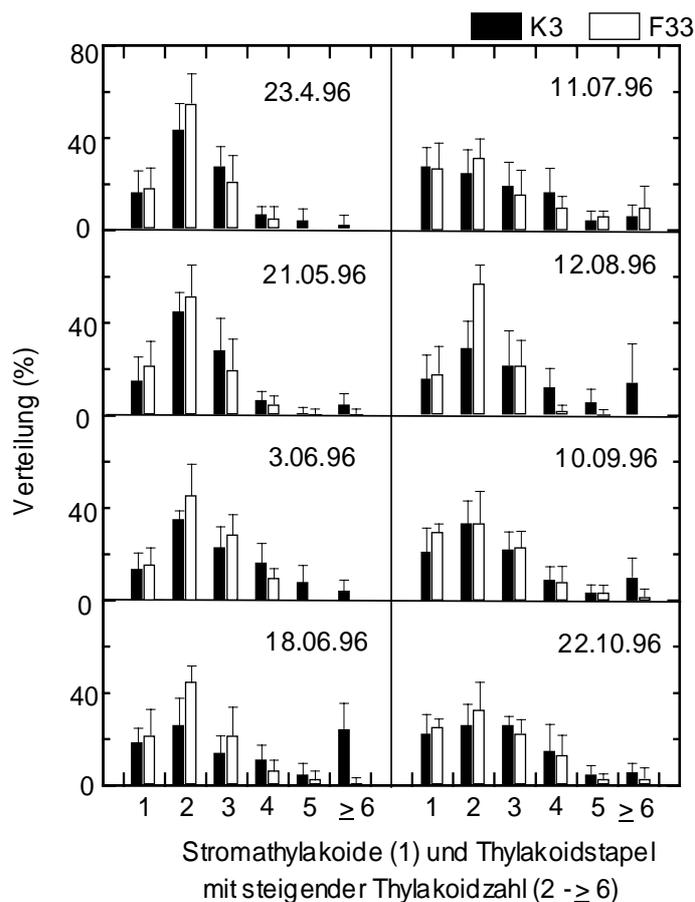


Abb. 44 Prozentualer Anteil von Stromathylakoiden (1) und Thylakoidstapeln (2 bis ≥ 6) zunehmender Thylakoidzahl an der Gesamtzahl des Membranthylakoidsystems. Ausgewertet wurden jeweils fünf Chloroplasten lichtexponierter Nadeln der Fichte K3 (schwarz) und F33 (weiß) in den Vegetationsperioden 1994 (Nadeljahrgang 1993, vorige Seite links), 1995 (Nadeljahrgang 1994, vorige Seite rechts) und 1996 (Nadeljahrgang 1995, diese Seite). (n = 5)

Morphometrie der Stärkekornfläche im Chloroplastenschnitt

thylakoide bei den vergilbten Nadeln mit Werten um 30 – 40 % durchweg höher als bei den grün gebliebenen Nadeln beider Fichten. Ab August im Jahr 1994 und im Juli und Oktober des Jahres 1995 ist der Anteil der aus zwei Thylakoiden bestehenden Stapel gegenüber den grünen Nadeln der Fichte K3 und der Fichte F33 erhöht. Die Entwicklung von Granastapeln mit vier und fünf Thylakoiden ist bis Juni bei beiden Fichten ähnlich, läßt aber bei den vergilbten Nadeln von F33 anschließend nach. Ausgedehnte Stapelsysteme mit sechs oder mehr Granathylakoiden sind in den Vegetationsperioden 1994 und 1995 bei der Fichte F33 sehr selten zu beobachten, und ab September sind auch die Stapel aus vier und fünf Granathylakoiden kaum mehr nachweisbar.

Diese Ergebnisse belegen, daß während der Ergrünung der Nadeln der Fichte K3 in allen drei Jahren und der Fichte F33 im Jahr 1996 eine Umorganisation des photosynthetischen Membransystems stattfindet, indem sich die Zahl der Granathylakoide in den Granastapeln erhöht. Dabei entwickelt sich ein zwar ausgedehnteres, aber dichter gepacktes Membransystem. Die Änderungen der Thylakoidfläche eines Chloroplastenschnitts bei den vergilbten Nadeln von F33 (Vegetationsperiode 1994 und 1995) sind auch von einer Umorganisation der Thylakoiden begleitet, welche aber der Abbau der Granathylakoide mit sich bringt.

3.2.6. Morphometrie der Stärkekornfläche im Chloroplastenschnitt

Die Anreicherung von Kohlenhydraten in Blättern, insbesondere von Stärke in Form von Stärkekörnern, ist häufig mit einer Vergilbung verbunden. Die Stärkekornfläche im Chloroplasten der sonnenexponierten Nadeln beider Fichten ändert sich mit dem Jahresverlauf (Abb. 46). Sie nimmt im Frühjahr zu, und bei manchen Chloroplastenschnitten wird über 50% ihrer Fläche vom Stärkekorn eingenommen (s. Tab. 6). Trotzdem enthalten diese fast wie Amyloplasten aussehenden Chloroplasten ein gut ausgebautes Thylakoidmembransystem aus Stromathylakoiden und aus zwei bis drei Granathylakoiden bestehenden Stapeln. Größere Stapel sind nur selten zu beobachten (Abb. 44).

Tab. 6 Anteil der Stärkekornfläche an der Fläche eines Chloroplastenschnitts von vorjährigen, lichtexponierten Nadeln der Fichten F33 und K3 im Frühjahr der Vegetationsperioden 1994 (Nadeljahrgang 1993), 1995 (Nadeljahrgang 1994) und 1996 (Nadeljahrgang 1995).

	3.05.1994	25.04.1995	23.04.1996
F33	25,01 ± 12,7	39,4 ± 15,6	36,5 ± 15,9
K3	36,6 ± 20,3	52,67 ± 17,3	44,2 ± 10,2

Nach den hohen Frühjahrswerten vermindert sich die Stärkekornfläche in den folgenden Wochen. Während die Stärkekörner bei Fichte K3 in den Jahren 1994 (Abb. 46, oben) und 1995 (Abb. 46, Mitte) bis Anfang Juli vollständig verschwinden, gehen sie bei der Fichte F33 in dieser Zeit zwar zurück, steigen Mitte Juli aber noch einmal an. Nach diesem 2. Maximum im Juli/August nehmen sie erst zum Herbst hin wieder ab. In der Vegetationsperiode 1995 findet man bei F33 zwischen dem Eintreten der Vergilbung und dem 2. Maximum und nach diesem keinen vollständigen Abbau des Stärkekornes, so daß die Stärkekornfläche von Fichte F33 gegenüber K3 signifikant ($p \leq 0,05$ am 11.07.1995 sonst $p \leq 0,01$) erhöht bleibt.

In der Vegetationsperiode 1996 (Abb. 46, unten), nach dem die Magnesiumdüngung bei F33 ihrer Wirkung entfaltet hatte, verhält sich die Stärkekornfläche beider Fichten sehr ähnlich, und sie nimmt bei beiden Fichten später als in den Jahren zuvor ab: Erst ab Anfang September sind in den Chloroplasten elektronenmikroskopisch keine Stärkekörner mehr nachweisbar. Diese Verzögerung in der Abnahme der Stärkekornfläche steht mit dem verspäteten Beginn der Vegetationsperiode in Einklang. Wie in den vorigen Jahren verläuft der Stärkeabbau (Abb. 46) in der Fichte F33 schneller als bei K3.

Am Beginn der künstlichen Beschattung (24.05.1994) enthalten die Chloroplasten der beschatteten und der lichtexponierten Nadeln von K3 (Abb. 47, oben) eine noch beträchtliche Menge an Stärkekörnern. In den drei folgenden Wochen nimmt die Stärkekornfläche beider Nadeln in gleichem Maß ab. Diese Beobachtung überrascht, da in den Schattennadeln von einer Reduktion der Photosyntheseleistung ausgegangen werden kann, und damit von einem schnelleren Verbrauch der Nahrungsreserven.

Bei den Chloroplasten der Nadeln von F33 wird drei Wochen nach Beginn der Beschattung (Abb. 47, unten) ein fast vollständiges Verschwinden der Stärkekörner beobachtet. Allerdings ist ein leichter Wiederanstieg am 6.07.1994 zu verzeichnen. Der Vergleich der Stärkekornflächen der beschatteten Nadeln von F33 und K3 zeigt, daß ab Mitte Juli kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Proben besteht. Diese Befunde können auf den Zustand des Transportmechanismus der Assimilate hindeuten: Der Abtransport der Assimilate ist bei den lichtexponierten, vergilbten Nadeln gestört, die Beschattung der Nadeln kann die Störung entweder nicht vollkommen oder nur verzögert aufheben.

Tafel 8

Abb. 45 Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Chloroplasten von vorjährigen Nadeln von K3 (oben) und von F33 (unten) am 6.07.1994. Die Chloroplasten von K3 verfügen in den drei untersuchten Vegetationsperioden über ein aus Grana- und Stromathylakoiden aufgebautes Membransystem. Die Chloroplasten der vergilbten Nadeln F33 akkumulieren Stärkekörner in ihrem Stroma.

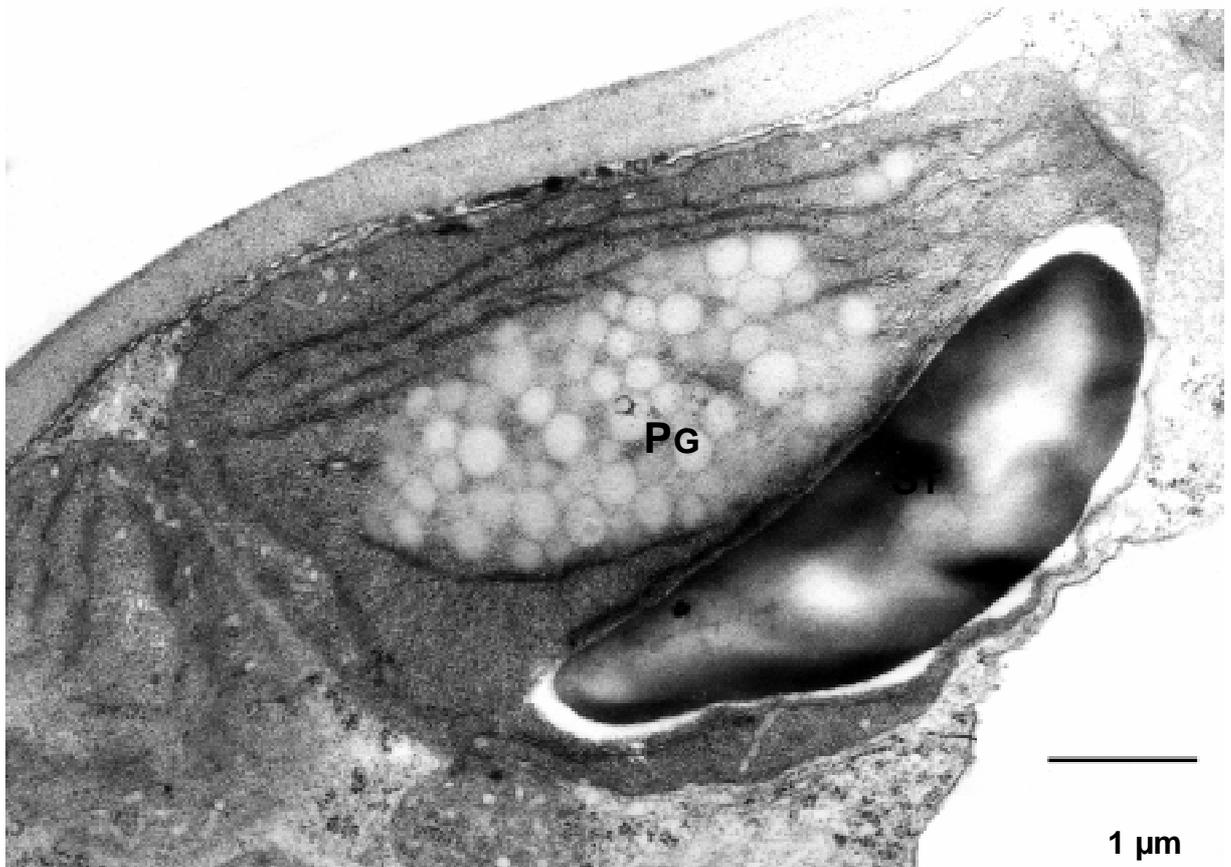
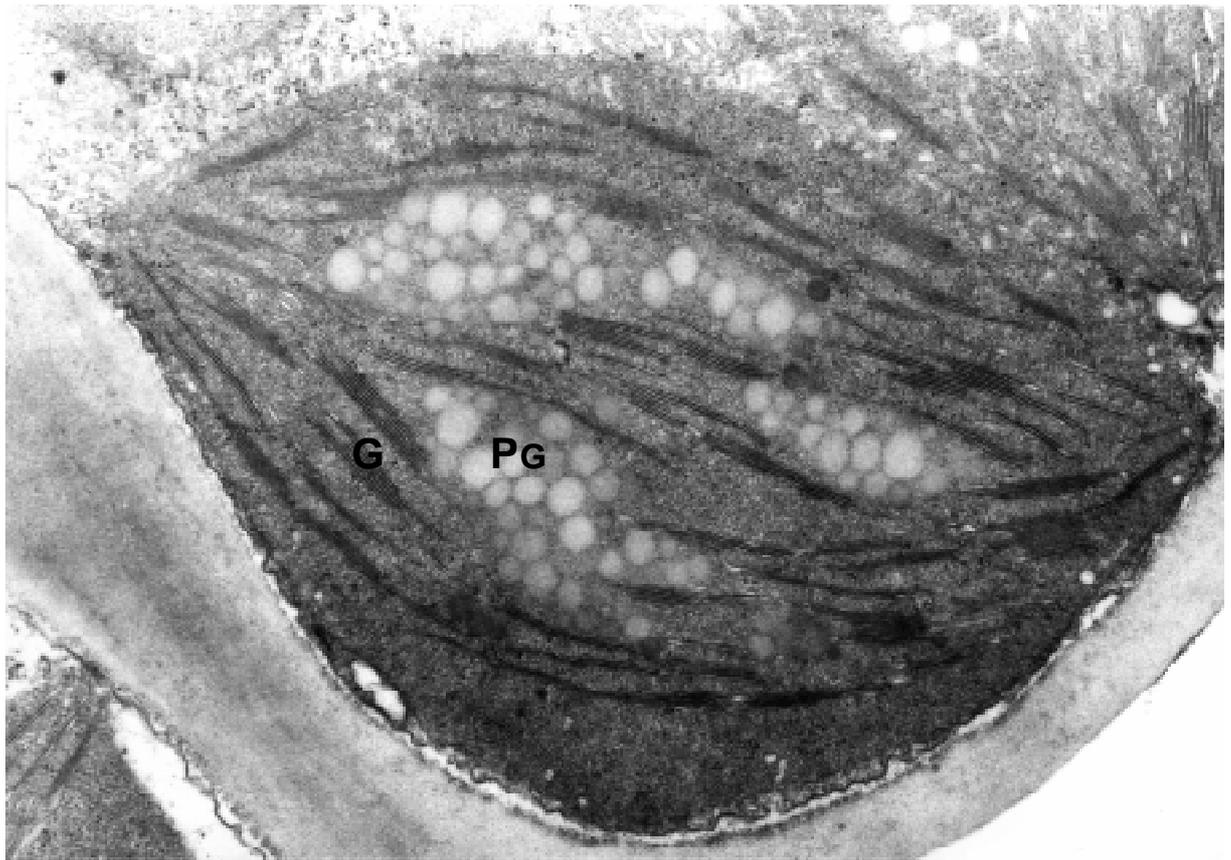


Abb. 49

Morphometrie der Stärkekorngfläche im Chloroplastenschnitt

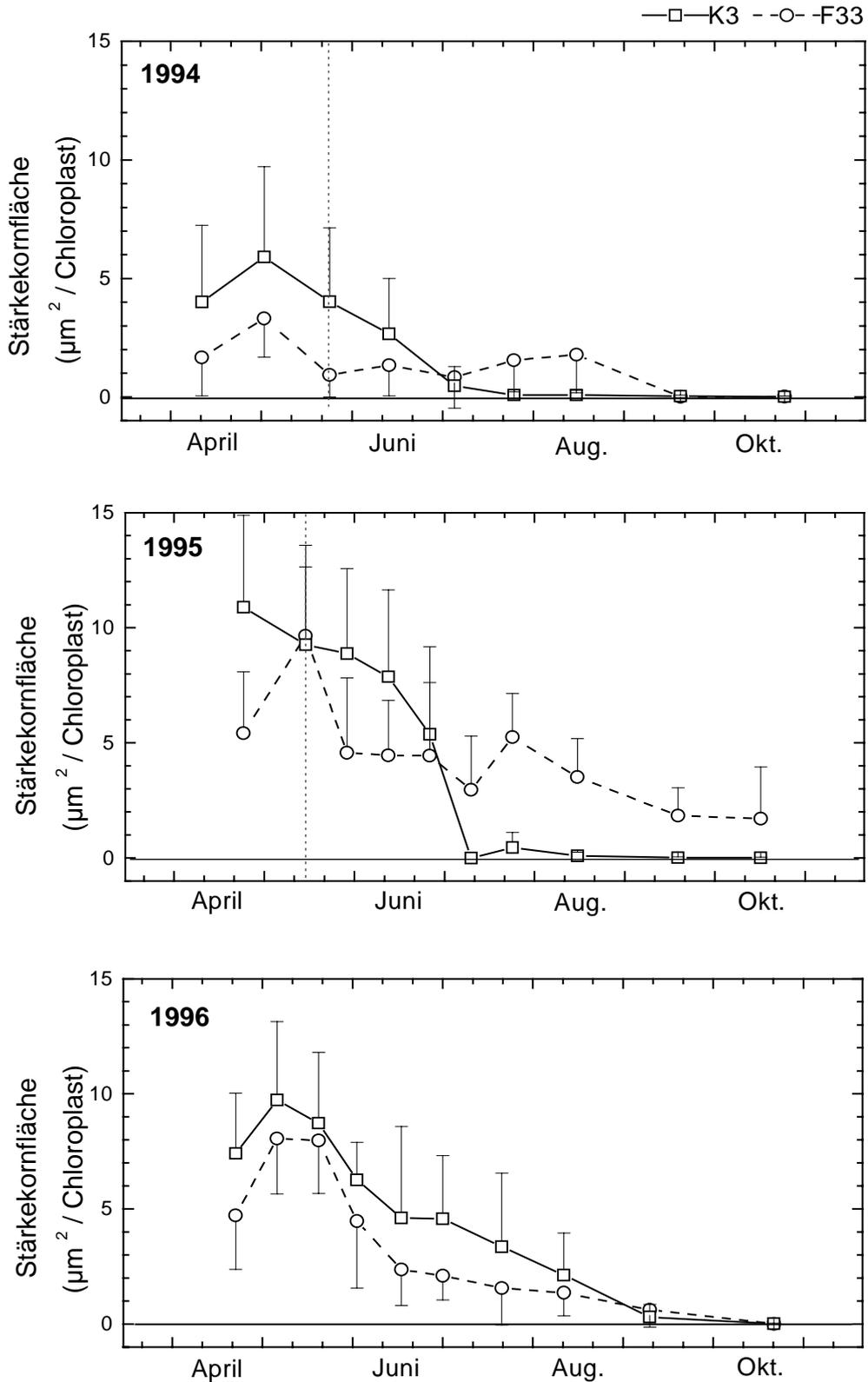


Abb. 46 Änderungen der Stärkekorngfläche eines Chloroplastenschnitts (μm^2) von vorjährigen, lichtexponierten Nadeln der Fichten F33 (vergilbende Fichte, \circ) und K3 (Kontrollfichte, \square) in den Vegetationsperioden 1994 (Nadeljahrgang 1993, oben), 1995 (Nadeljahrgang 1994, Mitte) und 1996 (Nadeljahrgang 1995, unten). Die gestrichelte Linie markiert den letzten Probenahmetermin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch keine visuell erkennbaren Vergilbungssymptome zeigten. (n = 20).

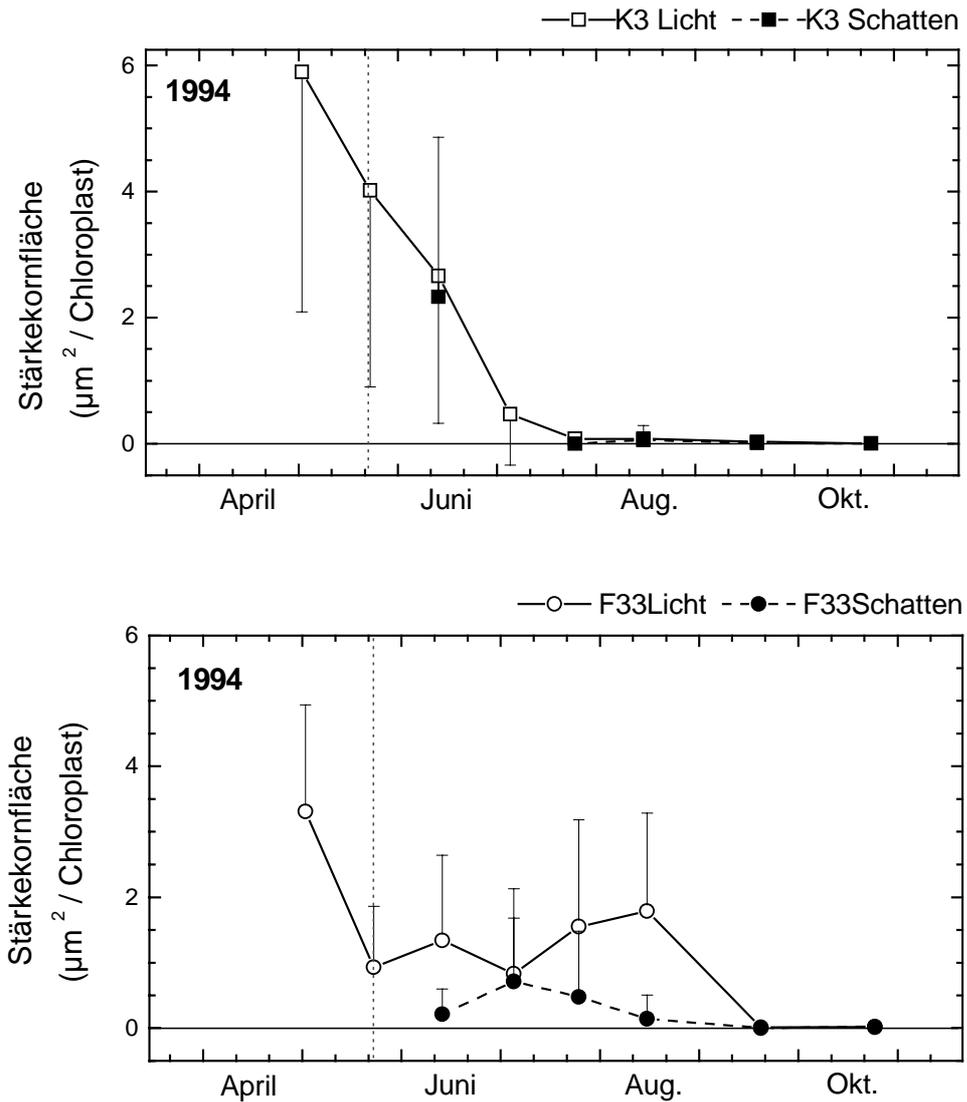


Abb. 47 Änderungen der Stärke Kornfläche eines Chloroplastenschnitts (μm^2) von beschatteten Nadeln der Fichten F33 (●) und K3 (■) in Vergleich mit den lichtexponierten Nadeln von F33 (○) und K3 (□) während der Vegetationsperiode 1994 (Nadeljahrgang 1993). Die gestrichelte Linie markiert den letzten Probenahmetermin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch grün waren. (n = 20).

3.2.7. Morphometrie der Plastoglobulifläche im Chloroplastenschnitt

Eine größere Anhäufung der transluzenten Plastoglobuli in Chloroplasten ist ein Zeichen allgemeiner Seneszenz. Manche schädigenden Einflüsse können eine frühzeitige Alterung hervorrufen.

Die Chloroplasten der beiden Fichten in den drei untersuchten Jahren zeigen die gleiche Tendenz: mit fortschreitender Vegetationsperiode und zunehmendem Alter nimmt die absolute Fläche (Abb. 48) der Plastoglobuli zu, ohne daß sich Unterschiede zwischen den Bäumen abzeichnen. Im Jahresverlauf nimmt die Stromafäche eines Chloroplastenschnitts bei den vergilbenden Nadeln der Fichte F33 ab (Abb. 37), während sie bei den ergrünenden Nadeln zunimmt. Damit erhöht sich innerhalb einer Vegetationsperiode der Anteil der Plastoglobulifläche an der Stromafäche bzw. Chloroplastengröße der vergilbenden Nadeln von F33. Da die Größe der Plastoglobuli mit 10 – 20 nm² in allen drei Jahren gleich bleibt, kann man auf eine Erhöhung der Plastoglobulizahl schließen. Änderungen im Kontrast und damit Änderungen in ihrer chemischen Zusammensetzung werden nicht beobachtet.

Die Beschattung der Nadeln verursacht im Sommer eine signifikante Abnahme der Plastoglobulifläche der Chloroplasten der Fichte K3 (Abb. 49, oben) gegenüber der Plastoglobulifläche bei ihren lichtexponierten Nadeln ($p \leq 0,05$ am 26.07.1994 und 16.08.1994; $p \leq 0,01$ am 20.09.1994), im Oktober erreicht sie wieder die vorherigen Werten. Auch bei den beschatteten Nadeln der Fichte F33 (Abb. 49, unten) ist im Sommer eine Abnahme zu beobachten ($p \leq 0,05$ am 14.06.1994 und 16.08.1994; $p \leq 0,01$ am 6.07.1994), um im September die höchsten Werten zu erreichen. Am Ende der Vegetationsperioden haben die beschatteten wie die lichtexponierten Nadeln von F33 die gleiche Plastoglobulifläche. Der Vergleich der Werte beider beschatteten Nadeln zeigt, mit Ausnahme der Septemberprobe, eine Annäherung beider Kollektive.

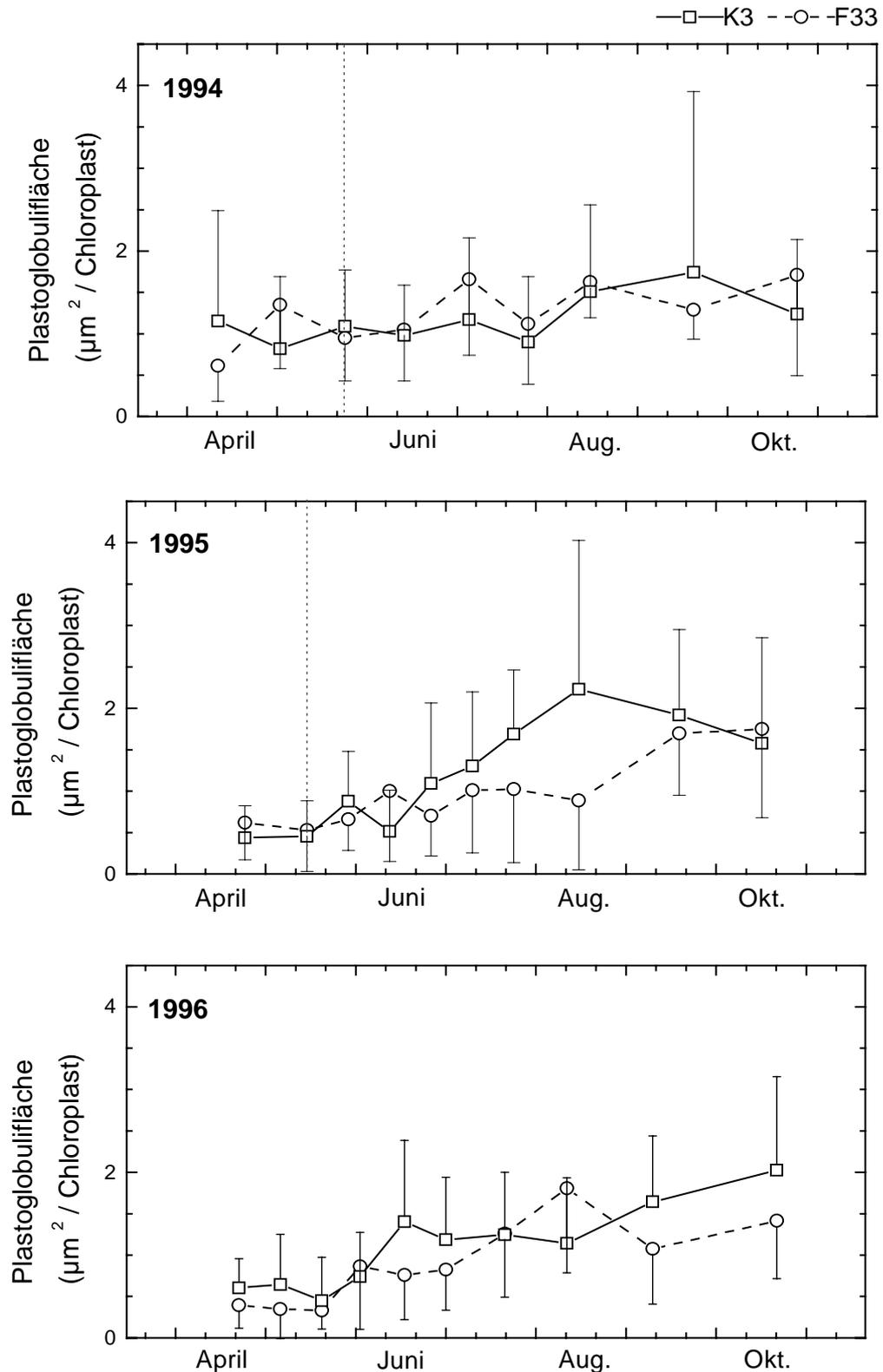


Abb. 48 Änderungen der Plastoglobuli eines Chloroplastenschnitts (μm^2) von vorjährigen, lichtexponierten Nadeln der Fichten F33 (vergilbende Fichte, \circ) und K3 (Kontrollfichte, \square) in den Vegetationsperioden 1994 (Nadeljahrgang 1993, oben), 1995 (Nadeljahrgang 1994, Mitte) und 1996 (Nadeljahrgang 1995, unten). Die gestrichelte Linie markiert den letzten Probenahmetermin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch keine visuell erkennbaren Vergilbungssymptome zeigten. ($n = 20$).

Morphometrie der Plastoglobulifläche im Chloroplastenschnitt

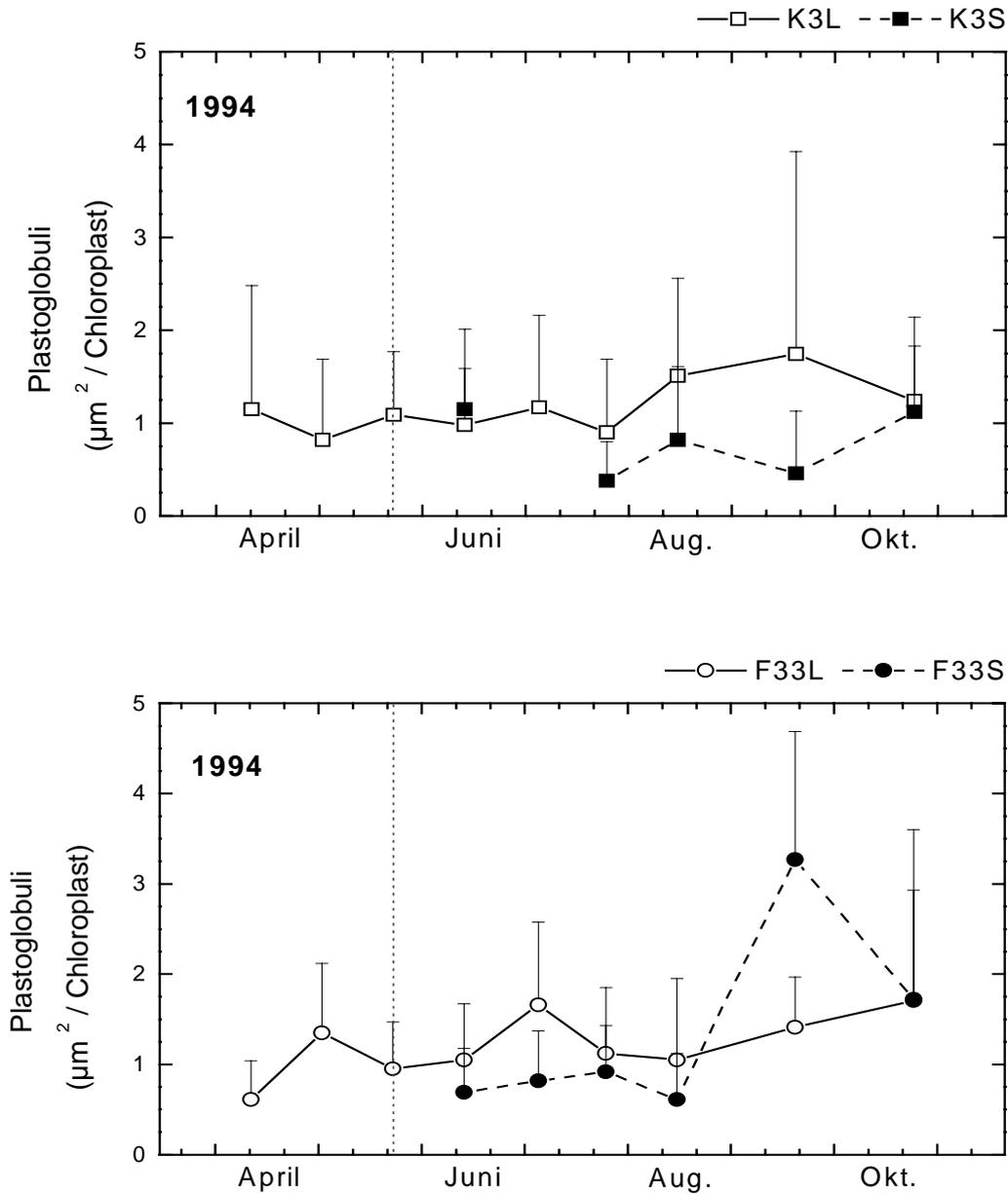


Abb. 49 Änderungen der Plastoglobulifläche eines Chloroplastenschnitts (μm^2) von beschatteten Nadeln der Fichten F33 (●) und K3 (■) im Vergleich mit den lichtexponierten Nadeln von F33 (○) und K3 (□) während der Vegetationsperiode 1994 (Nadeljahrgang 1993). Die gestrichelte Linie markiert den letzten Probenahmetermin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch grün waren. (n = 20)

3.3 Morphologische Veränderungen im Leitbündel von ergrünenden und vergilbenden Nadeln

3.3.1. Einführung

Die Entwicklung eines Baumes hängt nicht nur mit der Produktion von Photoassimilaten und damit mit dem morphologischen und physiologischen Zustand der Chloroplasten zusammen sondern auch mit der Translokation dieser Assimilate aus den photosynthetisch aktiven Produzenten, den "Sourcen" (Nadeln), zu den nicht-grünen Verbrauchern, auch "Sink"-Organe (Wurzeln, Blüten) genannt. Der Ferntransport der Assimilate findet durch das Phloem des Leitbündels statt, daher die Notwendigkeit eines funktionstüchtigen Phloems bzw. intakten Leitbündels. Bei Fichten, die unter Magnesiummangel leiden, ist ein frühzeitiger nicht-reversibler Kollaps des Phloems beschrieben worden (FINK, 1986, HANNICK, 1993).

Im Rahmen dieser Studie wurden die strukturellen Änderungen der Leitbündel untersucht. Veränderungen traten insbesondere beim Kambium und Phloem auf. Ziel dieser Untersuchungen war es, den zeitlichen Verlauf der strukturellen Veränderungen während der Ergrünung und Vergilbung des Leitbündels der Nadeln des 2. Jahrgangs, sowie die Auswirkungen einer künstlichen Beschattung und einer diagnostischen Düngung mit Magnesium auf die Leitbündel der untersuchten Fichten abzuklären. Die Daten dieser Langzeitstudie wurden zwischen 1994-1996 erhoben.

3.3.2. Vorgänge im Kambium

Die Nadel der Fichte F33 zeigte 1995 -bevor die Vergilbung auftrat- eine normale Struktur des Zentralzylinders (25.04.1995, Abb. 50 I). Das Kambium weist keine gesteigerte Teilungsaktivität auf. Die Strasburger Zellen sind zwischen den Flanken der Siebzellen und den Transfusionsparenchymzellen regelmäßig verteilt. Die Siebzellen besitzen gut ausgebildete lamellierte dicke Wände und ein großes Zelllumen. Stärkekörner sind in großer Anzahl in der Endodermis und im Transfusionsparenchym vorhanden und nur gelegentlich in Strasburger Zellen und Siebzellen zu finden. Dieses Bild des Kambiums bleibt bis zum Eintreten der Vergilbung (1994 und 1995 ab Ende Mai) bestehen. Diese Befunde wurden in der Vegetationsperiode 1994 morphometrisch bestätigt. Am Anfang der Vegetationsperiode von 1994 (Abb. 51, oben) sind die Flächen des Kambiums beider Fichten mit etwa 300 μm^2 gleich groß und vergleichbar: Die Anzahl von Zellen im Kambium mit offenen Lumina (Abb. 52, oben), so wie die Größenklassenverteilung ihrer Zelllumina (Abb. 53, links, 1. und 2. Histogramme von oben) weisen keine signifikanten Unterschiede auf.

Vorgänge im Kambium

Am 30.05.1995 waren visuell und anhand des Chlorophyll-Gehalts (SIEFERMANN-HARMS, *et al.*, 1997 e, s. Anhang 7) in Nadeln der Fichte 33 die ersten Vergilbungssymptome nachweisbar. Ihre Siebzellen und Strasburger Zellen scheinen noch intakt zu sein. Die Kambiumzellen nehmen teilweise eine abgerundete Form an (Abb. 50 I).

Am 13.06.1995 traten im Leitbündel der Nadeln der Fichte F33 erste Veränderungen gegenüber der Nadeln der Fichte K3 auf (Abb. 50 II). Die Kambiumzellen von F33 sind nicht mehr rechteckig sondern erscheinen in verschiedenen Formen. Es sind bei F33 vermehrte Zellteilungen mit anomalen Differenzierungen zu beobachten. Am 27.06.1995 sind die zuvor im Kambiumbereich festgestellten Anomalien bei den vergilbenden Nadeln der Fichte F33 verstärkt (Abb. 50 II): Die Ausdehnung des Kambiums hat stark zugenommen. Am 25.07.1995 (Abb. 50 III) sind bei den Kambiumzellen von F33 sehr ausgeprägte anormale Wachstums-, Proliferations- und Differenzierungsvorgänge zu beobachten. Im Gegensatz zur Kontrollfichte K3 sind die Kambiumzellen desorganisiert und nehmen den größten Bereich des Leitbündels ein. Diese hypertrophen Zellen sehen hinsichtlich ihrer Cytoplasma- und Organellenaustattung den Strasburger Zellen ähnlich. Aber ihre Zellwände sind dünner und gut ausgebildete Plasmodesmenfelder ("Globe-Pits") werden nicht beobachtet. Dieser Zustand bleibt in den folgenden Monaten bis Ende der Vegetationsperiode erhalten (Abb. 50 III). Am Ende der Vegetationsperiode sind zahlreiche Mitochondrien und Vesikel mit elektronendichtem Inhalt (Abb. 25) in den anomalen, undifferenzierten und aus dem Kambium stammenden Zellen zu sehen (Abb. 50 III). Im Herbst 1994 und 1995 findet man in den vergilbten Nadeln der Fichte F33 neue, ungeordnete Gefäße im Kambiumbereich, die sich wie Xylemgefäße mit Rhodamin anfärben. Ihre Lage läßt annehmen, daß sie aus dem anomalen Kambium stammen (Abb. 22, Tafel 4).

TAFEL 9

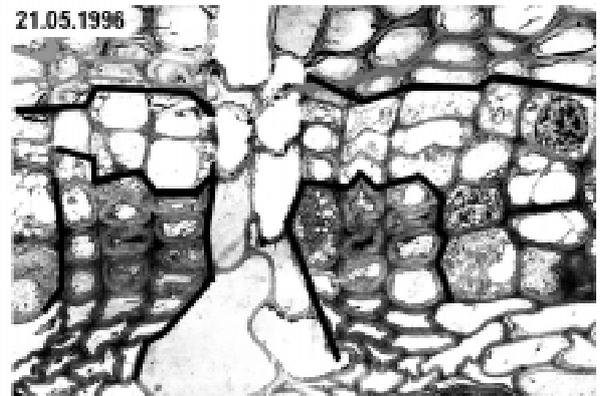
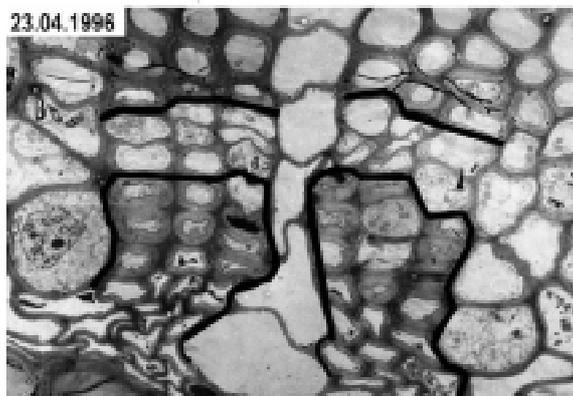
Abb. 50 Leitbündelstrukturen von Kontrollfichte K3 (oben) und geschädigter Fichte F33 während der Vergilbung (Mitte) und nach der Mg-Düngung (unten) im Verlauf einer Vegetationsperiode. Die obere schwarze Linie grenzt das Kambium vom Xylem ab, die untere schwarze Linie trennt das Phloem vom Kambium.

I: Im April sind die Leitbündelstrukturen in den drei Nadeln sehr ähnlich. Am 30.05.1995 zeigen die Kambiumzellen von Fichte F33 (Mitte) erste Veränderungen und beginnen sich abzurunden.

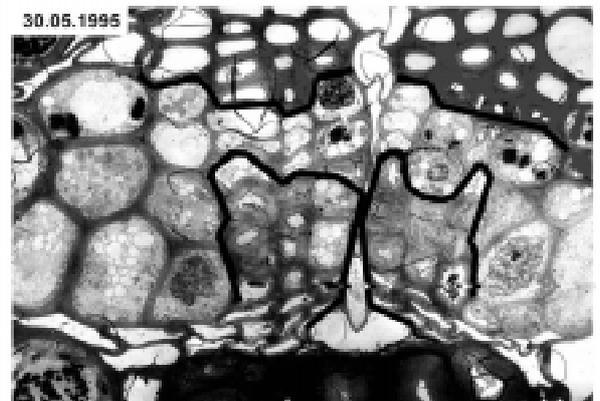
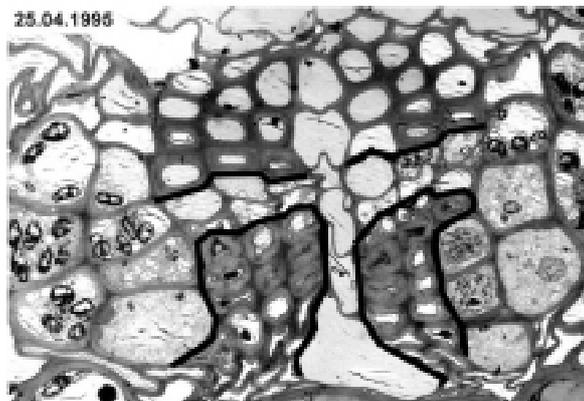
II: Am 13.06.1995 beginnen die Siebzellen von Fichte F33 (Mitte) zu kollabieren. Die Kambiumzellen sind vermehrt und weisen Differenzierungsanomalien auf.

III: Am 25.07.1995 ist der Phloemkollaps bei Fichte F33 (Mitte) sehr ausgeprägt. Der Anteil an Siebzellen im Leitbündel wird durch die Vermehrung und Vergrößerung von Kambiumzellen stark zurückgedrängt. Die Strukturen der Leitbündel von F33 (unten) bleiben nach erfolgreicher Einwirkung der Mg-Düngung bis zum Herbst mit denen der Kontrollfichte K3 (oben) identisch.

Leitbündel der Kontrollfichte K3, 1996



Leitbündel der Fichte F33 während der Vergilbung, 1995



Leitbündel der Fichte F33 nach Einwirkung der Mg-Düngung, 1996

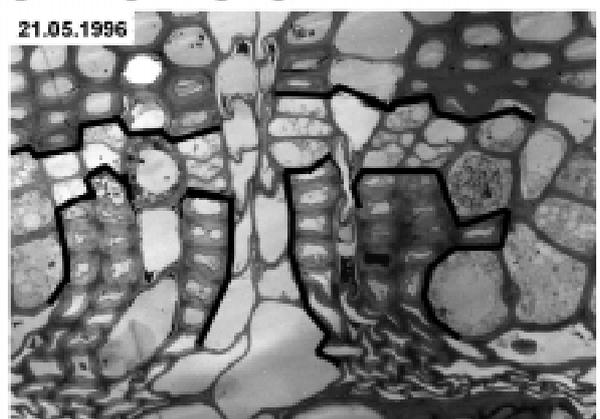
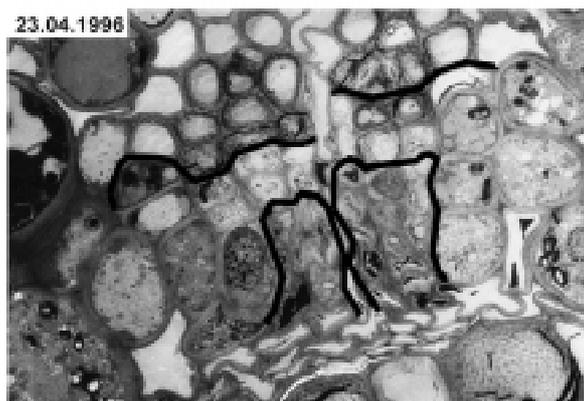
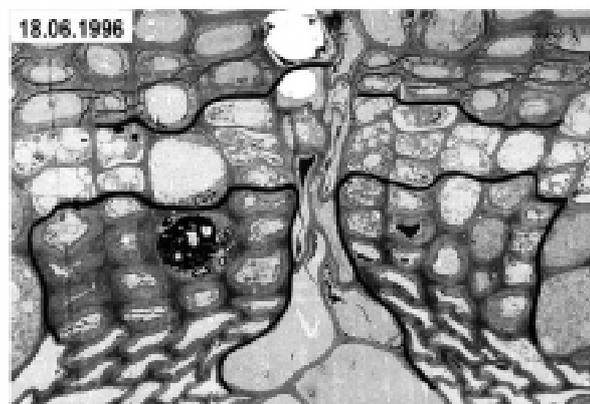
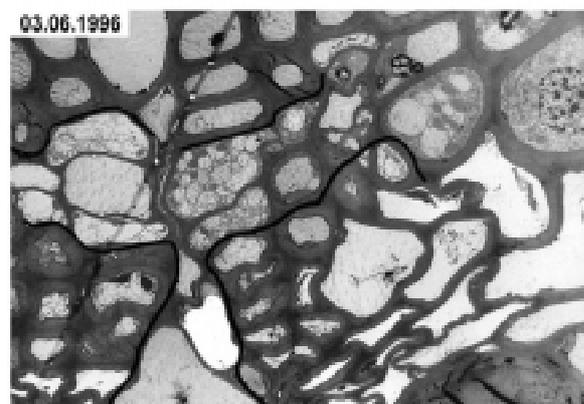
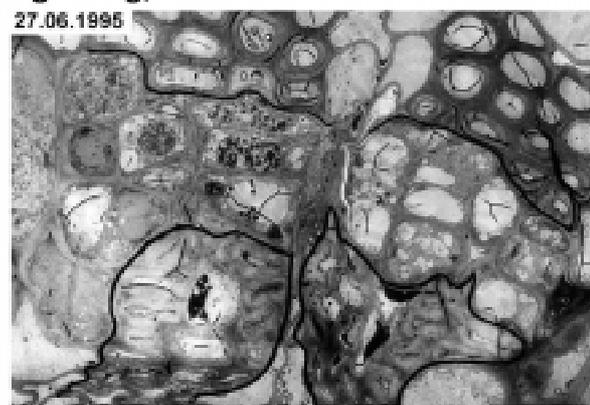
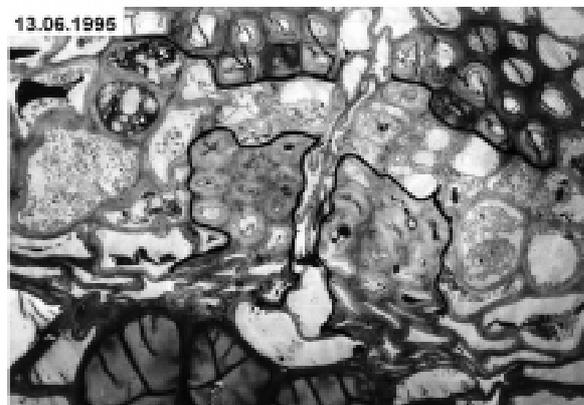


Abb. 50 (I)

Leitbündel der Kontrollfichte K3, 1996



Leitbündel der Fichte F33 während der Vergilbung, 1995



Leitbündel der Fichte F33 nach Einwirkung der Mg-Düngung, 1996

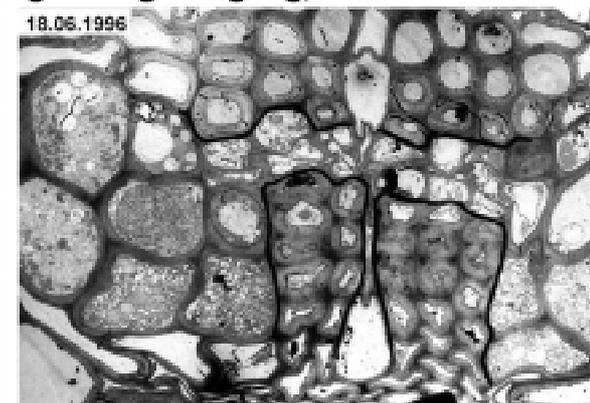
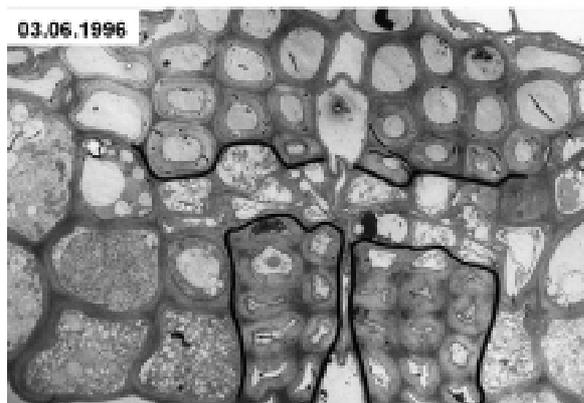
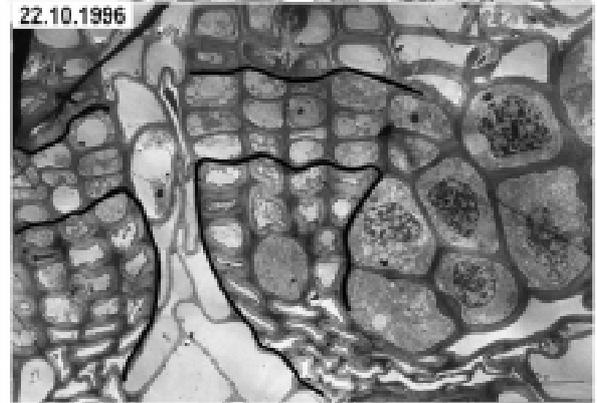
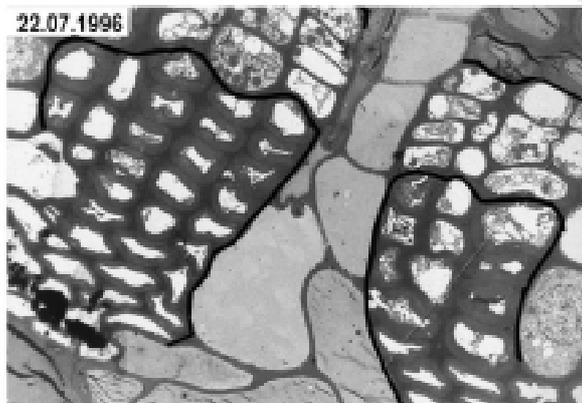
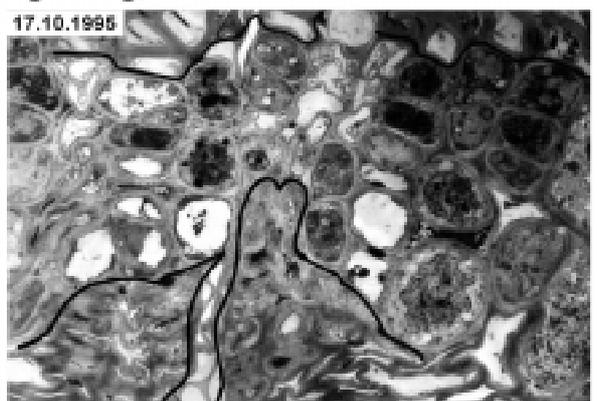
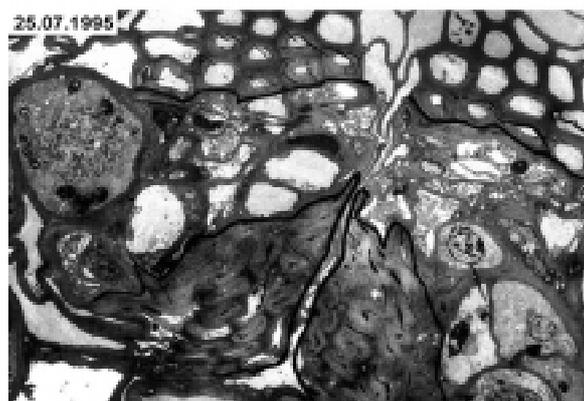


Abb. 50 (II)

Leitbündel der Kontrollfichte K3, 1996



Leitbündel der Fichte F33 während der Vergilbung, 1995



Leitbündel der Fichte F33 nach Einwirkung der Mg-Düngung, 1996

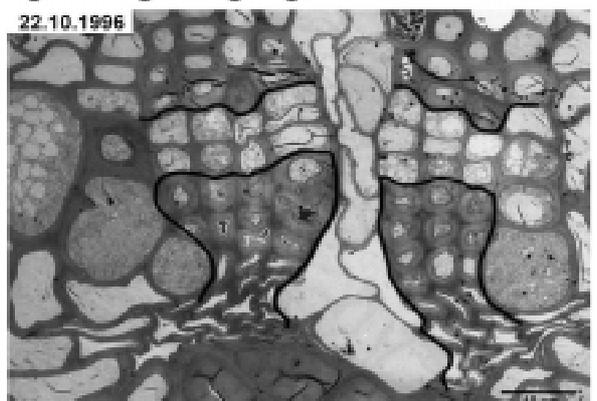
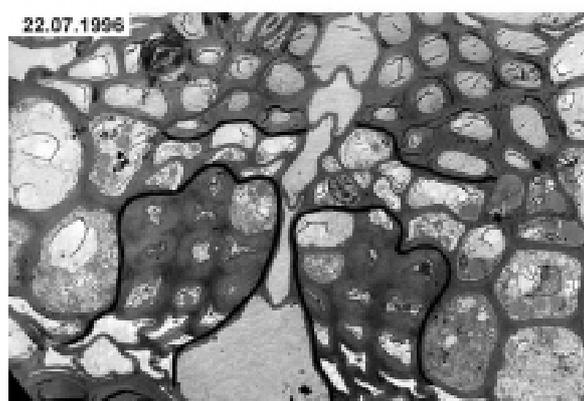


Abb. 50 (III)

Diese nach der Vergilbung auftretenden Veränderungen wurden in der Vegetationsperiode 1994 mit den morphometrischen Messungen bestätigt: Am 6.07.1994 zeigt die Größenklassenverteilung der Zellen im Kambium (Abb. 53, links) eine erste deutliche Verschiebung zu den größeren Klassen, die bis zum Ende der Vegetationsperiode anhält und sich sogar verstärkt. Während sich am Anfang der untersuchten Vegetationsperioden zwischen 75 % und 90 % der Zellumina der Kambiumzellen von F33 und K3 in der 2. bis 7. Klasse befinden, sind am Ende der Vegetationsperiode 1994 nur noch um 50 % der Zellumina der Kambiumzellen von F33 in diesen Klassen vorhanden. Bei der Fichte K3 gibt es diese Veränderung nicht. Da gleichzeitig die kleinste Klassengröße in keiner der beiden Fichten große Schwankungen aufweist, bedeutet dies, daß sich die Querschnittfläche der Kambiumzellen von F33 zu den größeren Klassen bewegt, d. h. die Zellen werden hypertroph (Abb. 50 II und III, Mitte).

Parallel zu der beschriebenen Flächenzunahme bzw. Hypertrophie wurde in der Vegetationsperiode 1994 eine Abweichung der Zellzahl im Kambium gemessen (Abb. 52). Das Kambium der Fichtennadel besteht in jeder seiner Hälften aus etwa drei Reihen mit jeweils ca. drei Zellen pro Reihe. Damit kann eine Zellzahl von sechs bis zwölf Zellen pro Hälfte des Kambiums als normal angesehen werden. Trotz der Abnahme der Anzahl der Kambiumzellen bei der Fichte F33 im Vergleich mit der Fichte K3 am Anfang der Vegetationsperiode bleibt die Zellzahl von F33 innerhalb des normalen Bereichs. Ab dem 6.07.1994 findet eine signifikante Erhöhung ($p \leq 0,01$) der Anzahl der undifferenzierten, aus dem Kambium stammenden Zellen statt, was für eine erhöhte Zellteilung spricht: Während bei der Fichte K3 die Anzahl an Kambiumzellen über die ganze Vegetationsperiode konstant bleibt, steigt die Anzahl der Zellen in F33 in einer Kambiumhälfte auf 21 Zellen, d. h. auf etwa das Doppelte des normalen Wertes an. Auch die gesamte Fläche des Kambiums im Zentralzylinder vervierfacht sich bis Ende der Vegetationsperiode 1994 gegenüber K3 (Abb 51, oben). Dabei vergrößert sich das Kambium von ca. 300 μm^2 auf über 1.200 μm^2 .

Vorgänge im Kambium

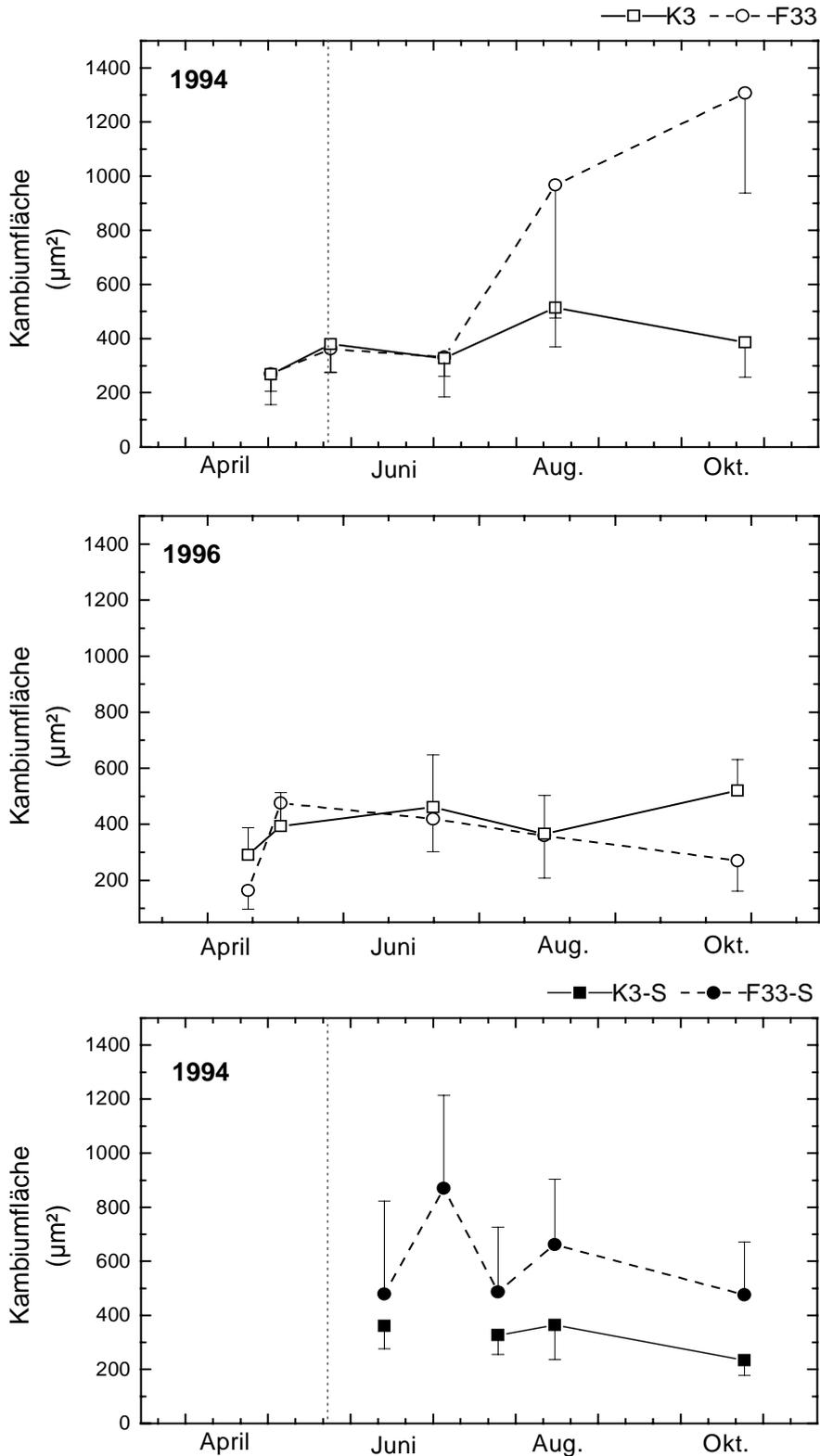


Abb. 51 Fläche (μm^2) von einer Hälfte des Kambiums des Leitbündels von Fichtennadeln. Es wurden acht Kambiumhälften aus vier Leitbündeln pro Fichte und Probenahme gemessen. Untersucht wurden die Nadeln der Vegetationsperioden 1994 (Jahrgang 1993) und 1996 (Jahrgang 1995). Die Nadeln waren lichtexponiert (1994 und 1996) bzw. beschattet (1994). Die gestrichelte Linie markiert oben den letzten Probenahmetermin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch grün waren und unten den Beginn der Beschattung. ($n = 8$).

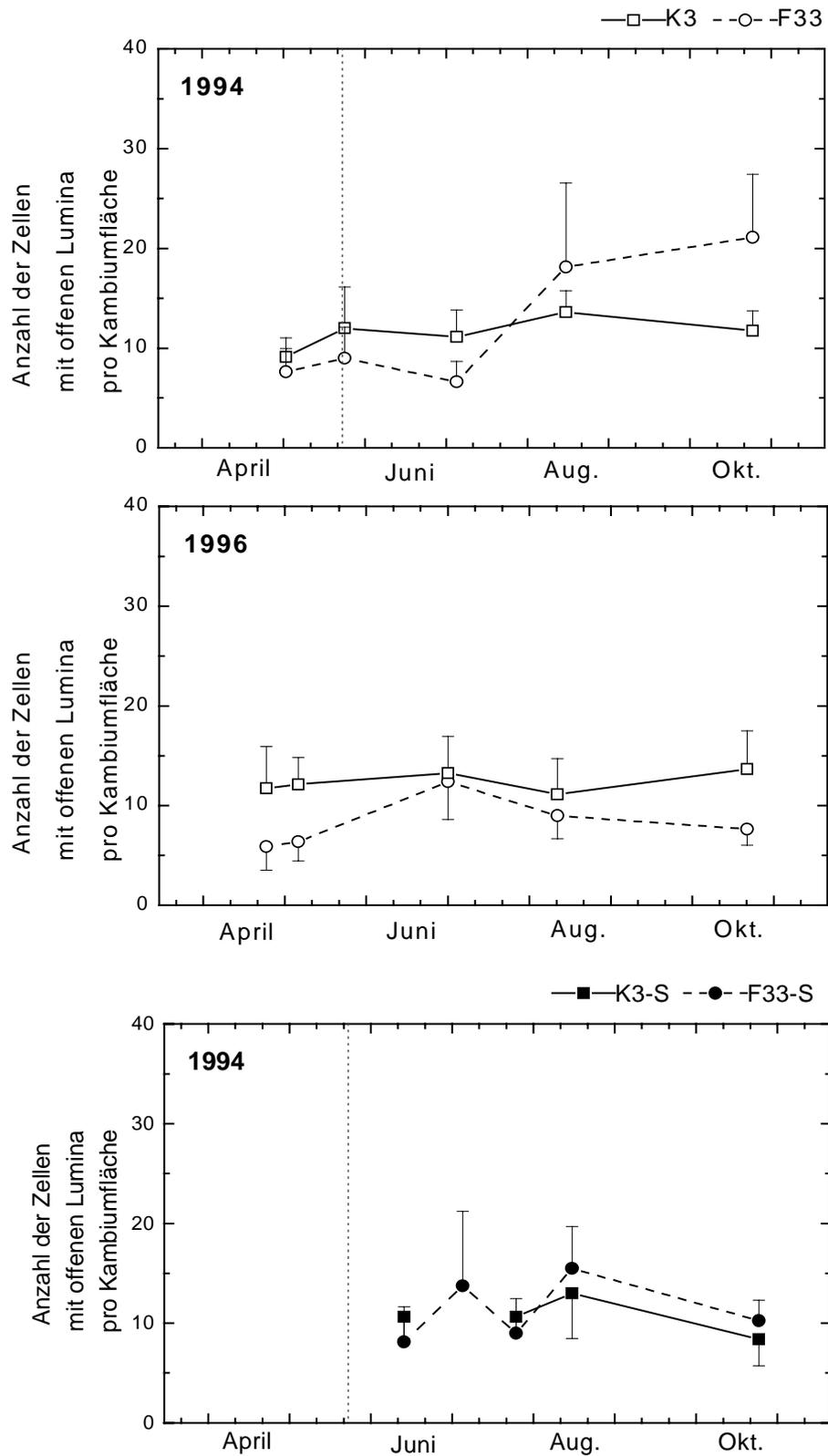
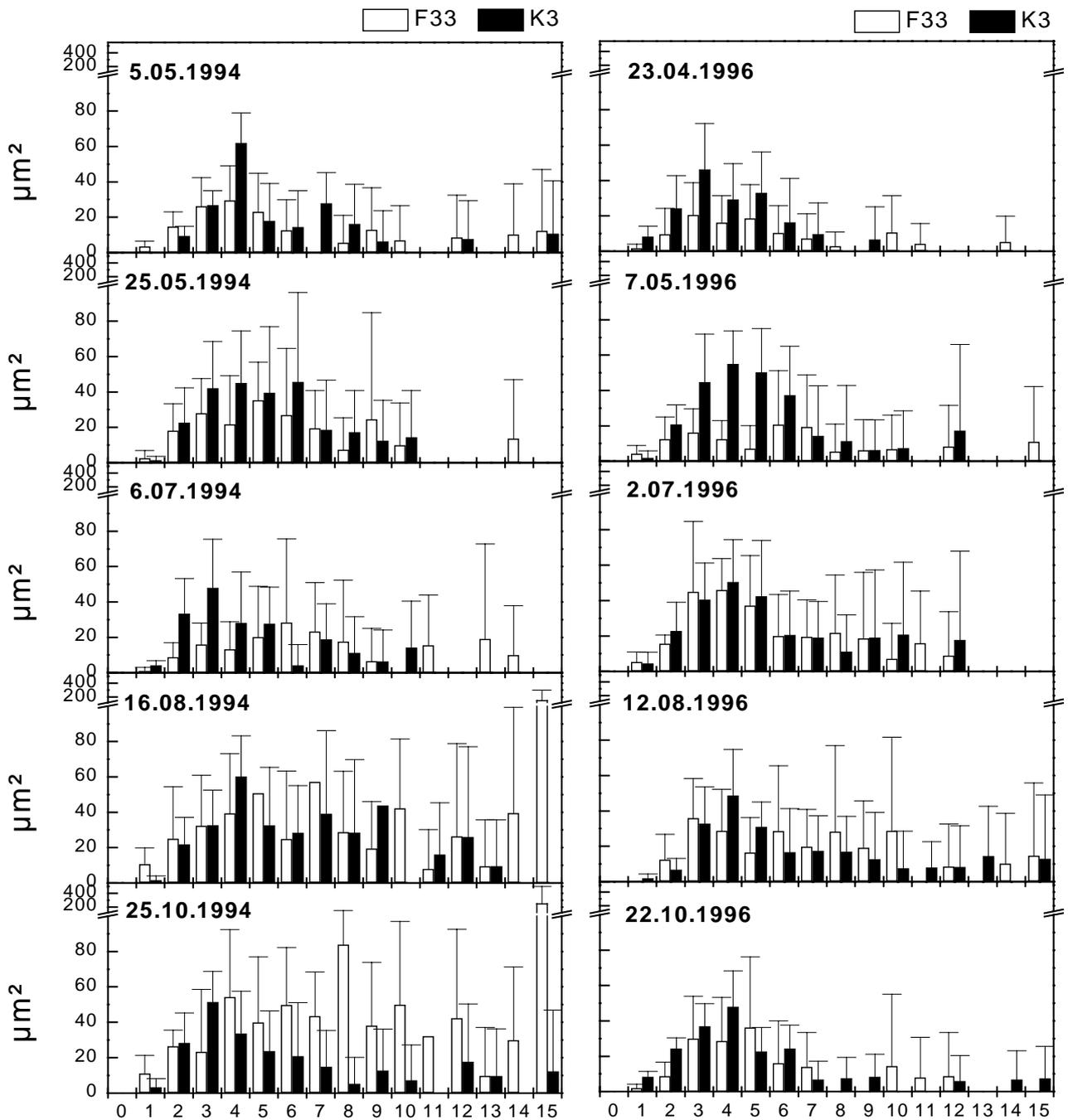
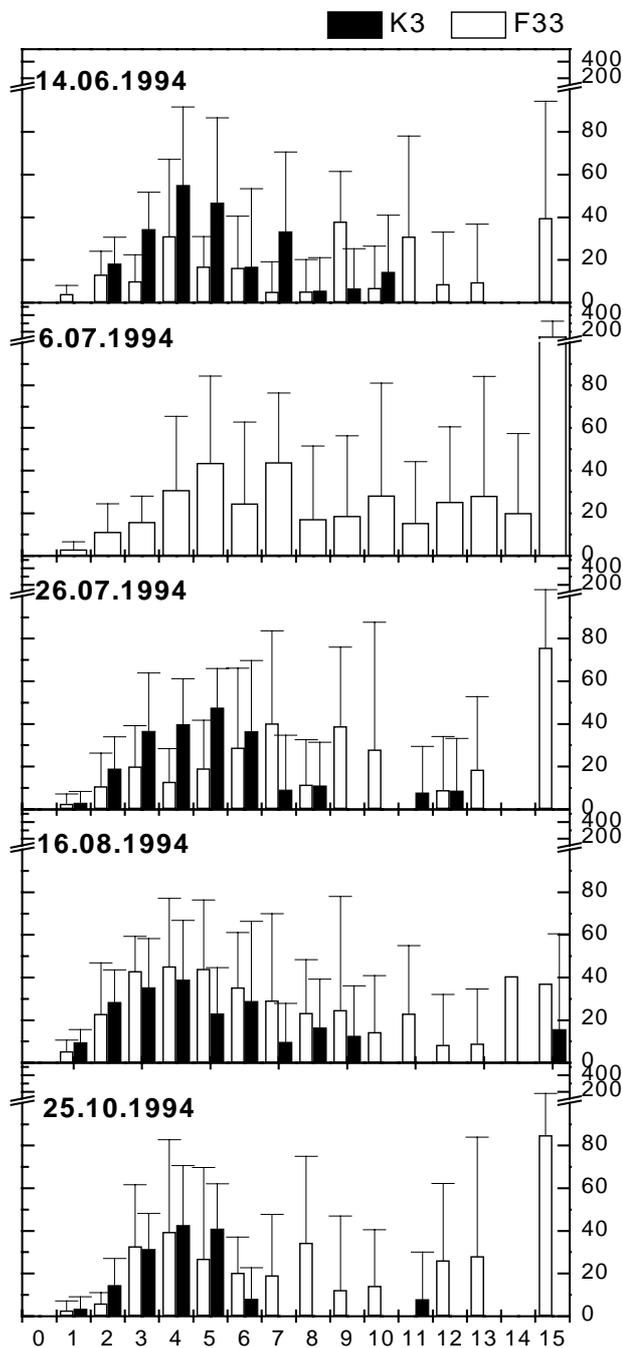


Abb. 52 Anzahl von Kambiumzellen mit offenen Lumina pro Kambiumhälfte des Leitbündels von Fichtennadeln. Untersucht wurden die Nadeln der Vegetationsperioden 1994 (Jahrgang 1993) und 1996 (Jahrgang 1995). Die Nadeln waren lichtexponiert (1994 und 1996) bzw. beschattet (1994). Die gestrichelte Linie markiert oben den letzten Probenahmetermin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch grün waren und unten den Beginn der Beschattung. (n = 8).

Vorgänge im Kambium



Größenklassenverteilung der Zelllumina im Kambium



(pro Klasse $6 \mu\text{m}^2$)

Abb. 53 Klassenverteilung ($6 \mu\text{m}^2$) der Größe der Lumina von einer Hälfte des Kambiums des Leitbündels von Fichtennadeln. Es wurden acht Kambiumhälften aus vier Leitbündeln pro Fichte und Probenahme gemessen. Untersucht wurden die Nadeln der Vegetationsperioden 1994 (Jahrgang 1993) und 1996 (Jahrgang 1995). Die Nadeln waren lichtexponiert (1994 und 1996) (vorige Seite) bzw. beschattet (1994) (diese Seite). (n = 8).

3.3.3. Vorgänge im Phloem

In der Vegetationsperiode 1995 wurde das Leitbündel der Nadeln elektronenmikroskopisch untersucht. Die Nadeln der Fichte F33 zeigen 1995 -bevor die Vergilbung auftritt- eine normale Struktur des Zentralzylinders (25.04.1995, Abb. 50 I). Das Phloem, abaxial an das Kambium angeschlossen, besteht aus zwei bis drei Reihen gut geordneter Zelllagen. Die ausdifferenzierten Siebzellen besitzen Zelllumina und eine dick lamellierte Nacré-Wand.

Am 13.06.1995 (Abb. 50 II) treten im Phloem erste Veränderungen auf. Einige der Siebzellen beginnen zu kollabieren. Während die jüngsten Zellen teilweise noch intakt aussehen, erscheinen die Zellen im Phloembereich ab der dritten Reihe zusammengedrückt. Manche von ihnen weisen anstelle des hellen Zelllumens dunkel kontrastierte Bereiche mit einer amorphen Substanz auf. Weiterhin treten einzelne Siebzellen auf, die nicht ausdifferenziert sind. Sie sind größer und abgerundet und nur von dünnen Zellwänden umgeben. Nekrotische Zellen sind schon zu sehen. Am 27.06.1995 erscheinen die Zellwände der Siebzellen sehr elektronendicht. Die meisten Siebzellen sind kollabiert, und damit ist entweder nur ein sehr kleines Lumen oder keines mehr vorhanden. Dieser Zustand ändert sich kaum bis zum Ende der Vegetationsperiode (Abb. 27 und 28).

Vergleichbare Befunde wurden in der Vegetationsperiode 1994 gemessen. Am Anfang der Vegetationsperiode 1994 (Abb. 54, oben) betragen die Flächen des Phloems beider Fichten um $500 \mu\text{m}^2$ und sind gleich groß. Veränderungen zwischen den Phloemflächen von F33 und K3 treten erst nach der Vergilbung der Nadeln von F33 (ab Ende Mai) auf. In den Sommermonaten ist die Fläche des Phloems der Nadeln von Fichte F33 signifikant kleiner ($p \leq 0,01$) als die der Fichte K3. Am Ende der Vegetationsperiode 1994 nähern sich die Werte wieder an. Auch ist die Zahl der Siebzellen mit offenen Lumina bei den vergilbten Nadeln von F33 signifikant ($p \leq 0,01$) reduziert (Abb. 56, oben). In der Größenklassenverteilung des Lumens der Siebzellen (Abb. 55) zeigt sich bei F33 auch eine Verschiebung zu den kleineren Klassen. Die Lumenfläche der Siebzellen wird schon am Anfang der Vegetationsperiode bei den vergilbenden Nadeln von Fichte F33 überwiegend von den kleineren Klassen (1. bis 3. Klasse: $0 - 9 \mu\text{m}^2$) repräsentiert, während sich bei K3 der größte Teil der Lumina in den Klassen 2 bis 6 ($3 - 18 \mu\text{m}^2$) befindet. Trotzdem besitzt das Phloem beider Fichten bis Anfang Juli Siebzellen, die den Klassen 7 und höher ($> 21 \mu\text{m}^2$) angehören. Ab 6.07.1994 wurde bei der Fichte F33 keine Siebzelle mehr gemessen, deren Lumen zu den größeren Klassen gehörte, d. h. eine Reduktion der Lumina findet nach der Vergilbung der Nadeln und vor der im Sommer auftretenden 2. Stärkeakkumulation in den Chloroplasten (Abb. 47 oben und Mitte) statt.

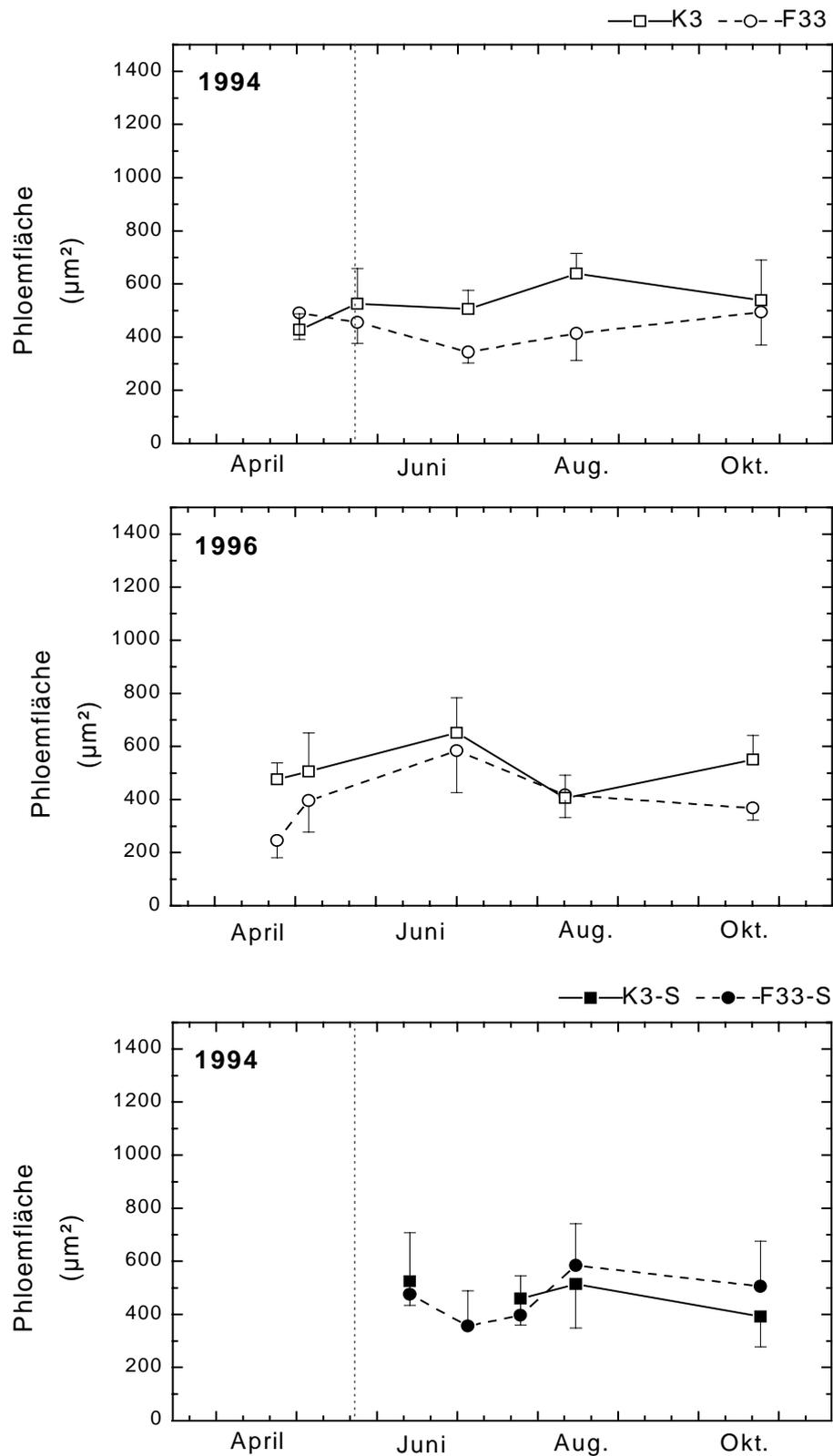
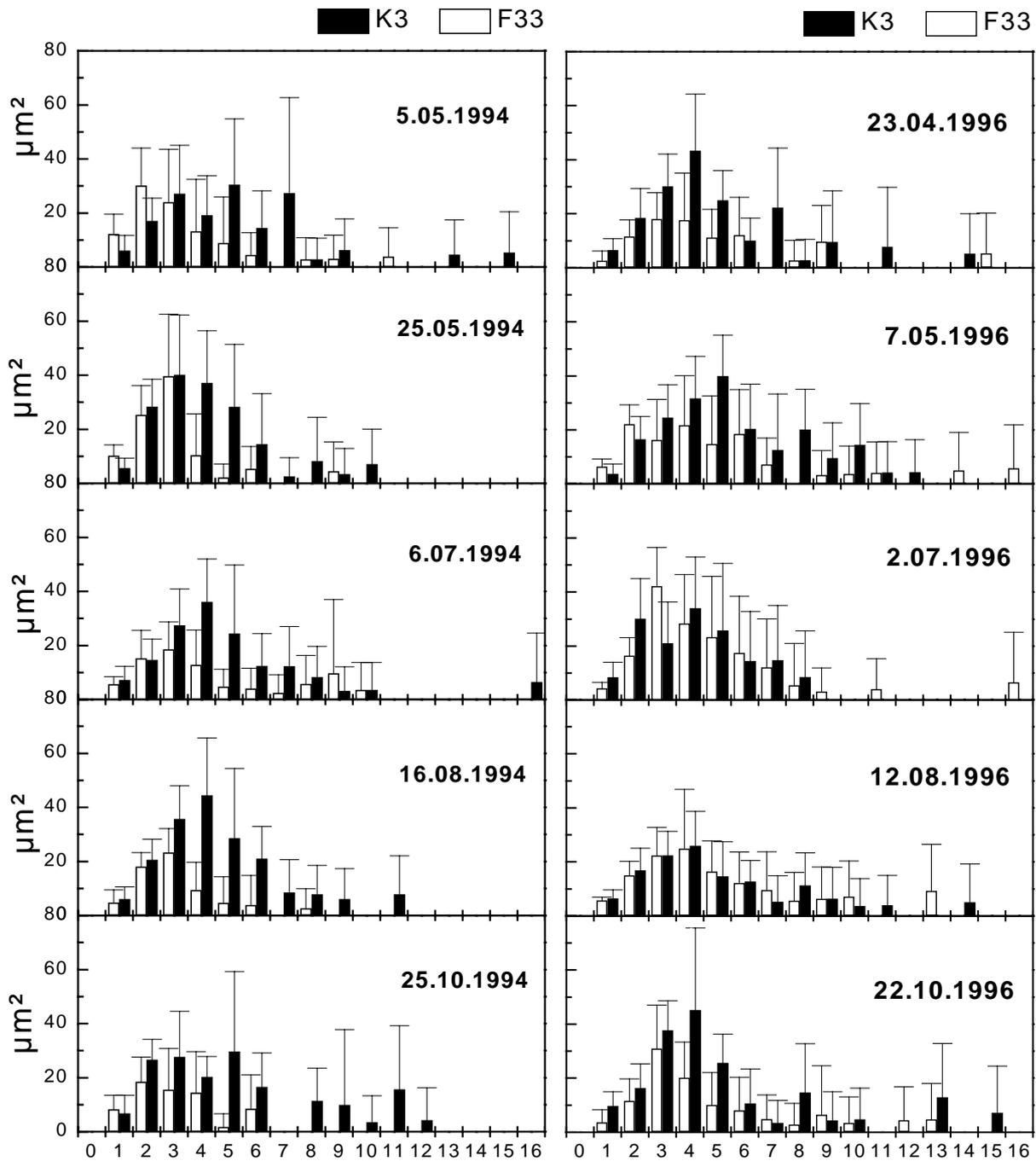
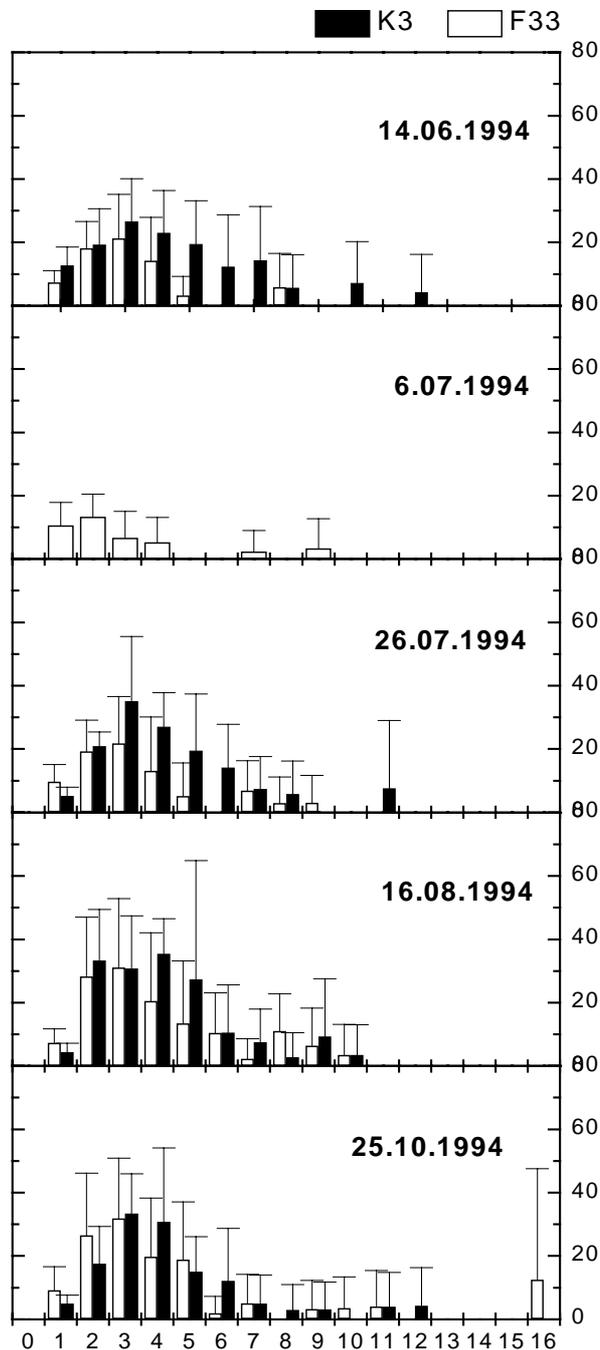


Abb. 54 Fläche (μm^2) von einer Hälfte des Phloems des Leitbündels von Fichtennadeln. Untersucht wurden die Nadeln der Vegetationsperioden 1994 (Jahrgang 1993) und 1996 (Jahrgang 1995). Die Nadeln waren lichtexponiert (1994 und 1996) bzw. beschattet (1994). Die gestrichelte Linie markiert oben den letzten Probenahmetermin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 keine visuell erkennbaren Vergilbungssymptome zeigten und unten den Beginn der Beschattung. ($n = 8$).

Vorgänge im Phloem



Größenklassenverteilung der Zelllumina im Phloem



(pro Klasse 3 µm²)

Abb. 55 Klassenverteilung (3 µm²) der Größe der Lumina von einer Hälfte des Phloems des Leitbündels von Fichtennadeln. Untersucht wurden die Nadeln der Vegetationsperioden 1994 (Jahrgang 1993) und 1996 (Jahrgang 1995). Die Nadeln waren lichtexponiert (1994 und 1996) (vorige Seite) bzw. beschattet (1994) (diese Seite). (n = 8).

Vorgänge im Phloem

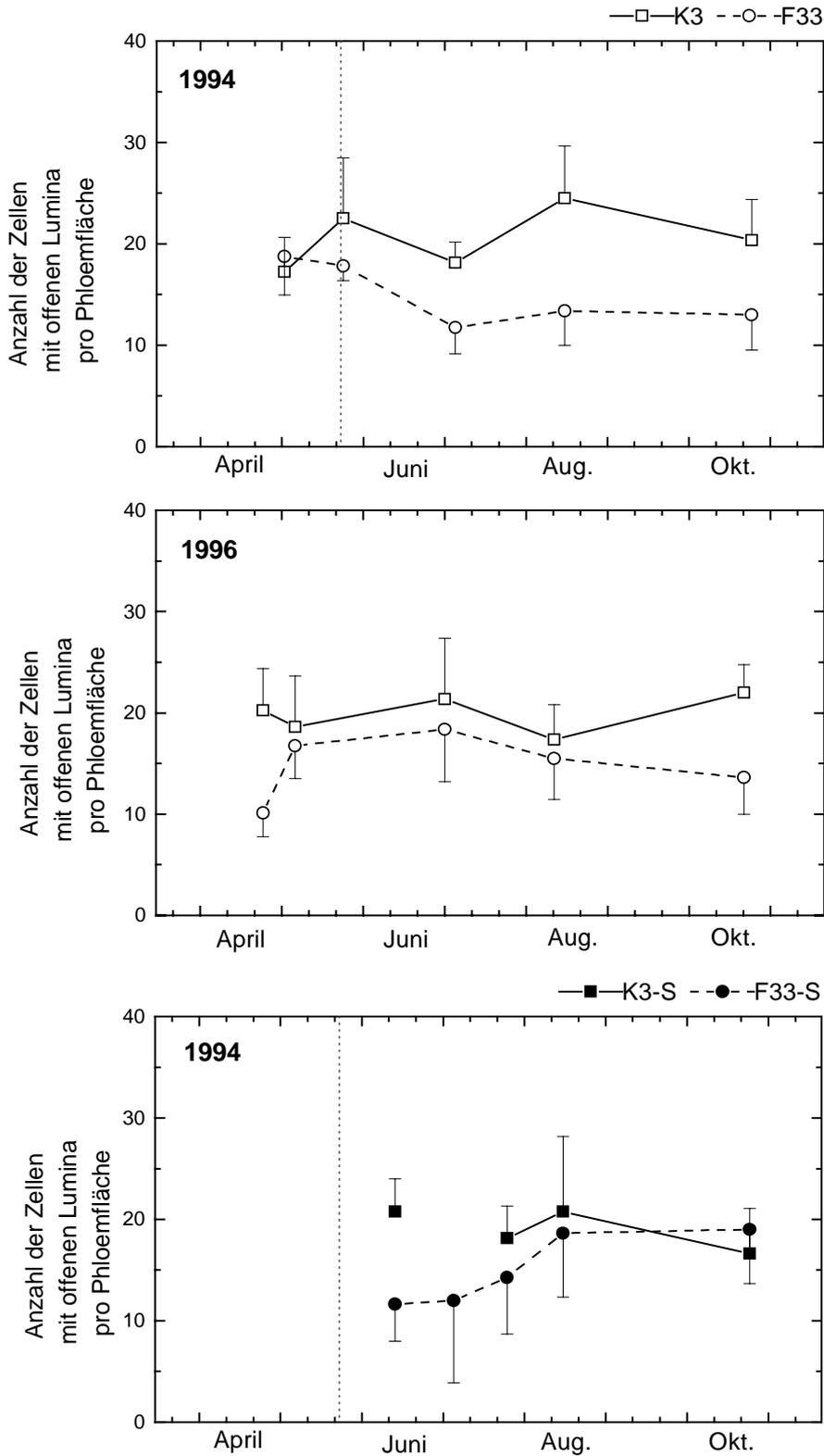


Abb. 56 Anzahl von Zellen mit offenen Lumina von einer Hälfte des Phloems des Leitbündels von Fichtennadeln. Untersucht wurden die Nadeln der Vegetationsperioden 1994 (Jahrgang 1993) und 1996 (Jahrgang 1995). Die Nadeln waren lichtexponiert (1994 und 1996) bzw. beschattet (1994). Die gestrichelte Linie markiert oben den letzten Probenahmetermin, an dem die vorjährigen Nadeln von Fichte F33 noch grün waren und unten den Beginn der Beschattung. (n = 8).

3.3.4. Zusammenschau der Veränderungen im Leitbündel

Während der drei untersuchten Vegetationsperioden verfügten die Nadeln der Fichte K3 über einen gut ausgebildeten Zentralzylinder mit einem Phloem, dessen Siebzellen ein viereckiges bis rundliches, weit offenes Lumen besaßen. Im Gegensatz dazu wurden in den Leitbündeln der vergilbenden Nadeln der Fichte F33 schwerwiegende Veränderungen beobachtet. Die im Kapitel 3.3.2 und 3.3.3 beschriebenen Veränderungen sind in der Abbildung 57 dargestellt und können wie folgt zusammengefaßt werden:

- Die vom Kambium stammenden Zellen sind hypertrophiert; sie teilen sich sehr unregelmäßig und differenzieren sich nicht. Dabei nehmen sie den größten Teil des Platzes ein, der normalerweise den Siebzellen zur Verfügung stehen würde.
- Die Strasburger Zellen werden seitlich verschoben.
- Die Siebzellen kollabieren, sie sind nicht mehr in geordneten Reihen und Lagen strukturiert und sie besitzen entweder nur sehr kleine Lumina, die sich nicht über die volle Länge des Gefäßes erstrecken, oder gar keine.
- Das Xylem verändert sich nicht. Allerdings liegen zwischen den hypertrophen Kambiumzellen undifferenzierte Zellen, die sich wie Xylemgefäße mit Rhodamin B färben.

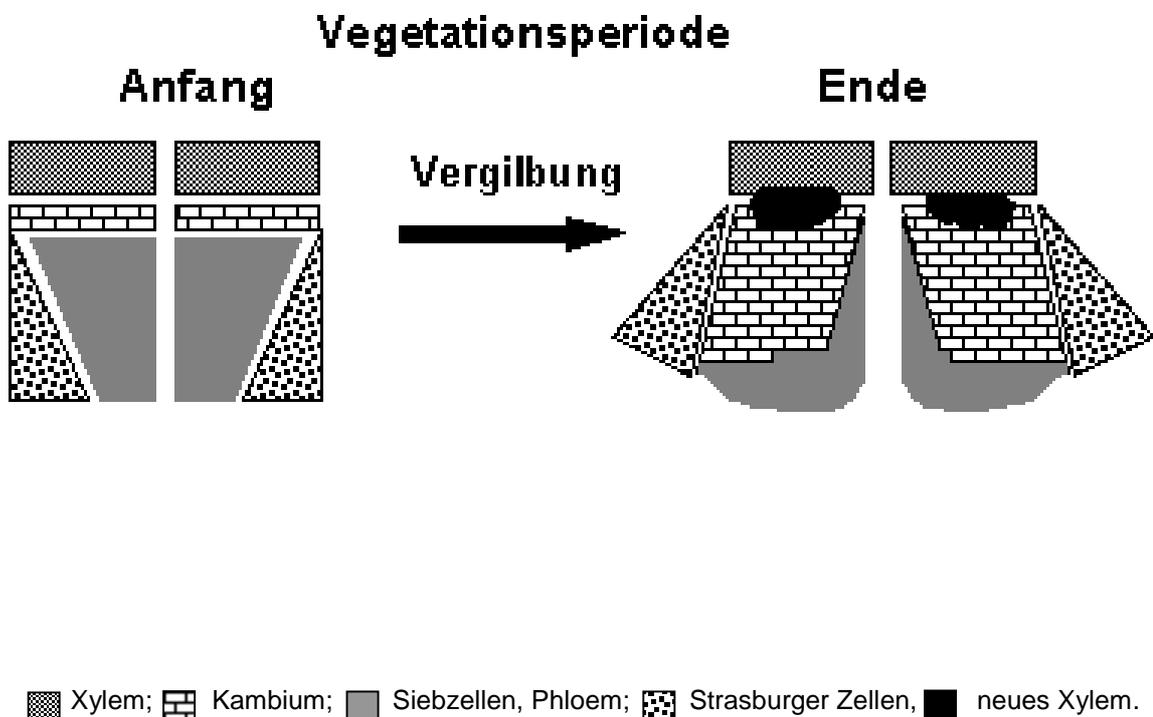


Abb. 57 Veränderungen am Leitbündel während der Vergilbung. Weitere Erklärungen im Text.

3.3.5. Auswirkung der Magnesiumdüngung auf das Leitbündel von Fichte F33

In den Jahren 1994 und 1995 wurde die Fichte F33 mit Bittersalz (NOVOSAN®) gedüngt. Erst im Jahr 1996 jedoch erhöhte sich der Magnesiumgehalt der vorjährigen Nadeln (2. Jahrgang) (HOCH *et al.*, 1997). Im Jahr 1996 blieb der 2. Nadeljahrgang bei Fichte F33 während der gesamten Vegetationsperiode grün. Es zeigten sich keine Vergilbungserscheinungen in den Chloroplasten (Abb. 31, vgl. c und f, Tafel 7) oder Veränderungen im Zentralzylinder (Abb. 50 I - III, unten).

Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen (Abb. 50 I – III, unten) der Leitbündel und die morphometrischen Untersuchungen aus der Vegetationsperiode 1996 zeigen (Abb. 51-55 Mitte), daß die Leitbündel von Fichte 33 und Fichte K3 in ihrer Struktur weitgehend übereinstimmen. Unkontrollierte Teilungsaktivitäten des Kambiums und der Kollaps der Siebzellen, wie sie während der Vergilbung in der Vegetationsperiode 1994 und 1995 beobachtet wurden, treten 1996 nicht mehr auf.

Die Kambiumzellen bilden 1996 drei Lagen und behalten ihre rechteckige (Abb. 50 I – III, unten). Zu keinem Zeitpunkt war in dieser Vegetationsperiode ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Fläche oder der Anzahl an Zellen im Kambium der Leitbündel beider Fichten (Abb. 51 und 52, Mitte) zu sehen. Die Klassenverteilung der Größe des Lumens der Kambiumzellen (Abb. 53, Mitte) von beiden Fichten sind am Ende der Vegetationsperiode weitgehend vergleichbar. Das Phloem schließt abaxial an das Kambium an und zeigt gut ausgebildete Zellreihen aus differenzierten Siebzellen mit lamellierter Nacré-Wand und offenem Zelllumen (Abb. 50 I – III, unten). Die morphometrische Auswertung der Phloemfläche demonstriert, daß trotz großer Streuung am Anfang und Ende der Vegetationsperiode der Kurvenverlauf von F33 dem von K3 entspricht (Abb. 54, Mitte). Wie bei K3 weisen die Siebzellen während der ganzen Vegetationsperiode weit offene Lumina auf (Abb. 56, Mitte), die sich in verschiedene Größenklassen einteilen lassen (Abb. 55, Mitte).

3.3.6 Auswirkung der künstlichen Beschattung auf das Leitbündel von Fichte K3 und Fichte F33

In der Vegetationsperiode 1994 von 24.05 bis 25.10 wurde ein Drittel des 12. Wirtels der Fichte F33 und des 9. Wirtels der Fichte K3 mit drei Lagen eines grauen regendurchlässigen Nylonnetzes überdacht, das die Lichtintensität auf 15 % des Umgebungslichtes herabgesetzt, ohne dabei die spektrale Zusammensetzung des sichtbaren Lichtes zu verändern.

Die Beschattung bewirkt bei K3 keine morphometrisch meßbare signifikante Veränderung im Kambium (Abb. 51 und 52 unten, 53 rechts) oder im Phloem (Abb. 54 und 56 unten, 55 rechts). Auch ist bei den Fluoreszenzaufnahmen (Abb. 58 I, II) wie bei den elektronenmikroskopischen Aufnahmen kein Unterschied im Kambium beider Fichten zu beobachten.

Bei den beschatteten Nadeln der Fichte F33 ist in der ersten Probenahme nach der Beschattung am 14.06.1994 eine allgemeine Verschlechterung des Zustands des Leitbündels festzustellen (Abb. 58 I C), die sich bis Anfang Juli (06.07.1994, Abb. 58 I E) fortsetzt. Die Fläche des Kambiums vergrößert sich (Abb. 51 unten) signifikant ($p \leq 0,01$ am 06.07.1994) gegenüber den lichtexponierten Nadeln von F33 und von Kontrollfichte K3. Die Größenklassenverteilung des Lumens der Kambiumzellen zeigt zu diesem Zeitpunkt ein Verteilungsmuster, welches dem des Kambiums von lichtexponierten Nadeln von F33 zum Ende der Vegetationsperiode entspricht (Abb. 52 unten). Obwohl manche Siebzellen noch ein offenes Lumen besitzen, ist das Phloem zum Teil kollabiert. Die Anzahl der Zellen mit offenen Lumina verringert sich und ist gegenüber dem der lichtexponierten Nadeln von F33 signifikant ($p \leq 0,05$ am 14.06.1994, Abb. 58 I B und C). Das Aussehen des Leitbündels der beschatteten Nadeln von F33 Anfang Juli entspricht auch dem Aussehen des kollabierten Leitbündels der lichtexponierten Nadeln von F33 im Herbst von September bis Oktober (Vergleich 58 I E mit 58 II G und K). Trotzdem waren die beschatteten Nadeln von F33 grün, ohne Anzeichen von Chlorose.

Nach dieser ersten Verschlechterung des Zustandes des Leitbündels der beschatteten Nadeln von F33 wurde ab Ende Juli (26.07.1994, Abb. 58 I F) bis Ende der Vegetationsperiode eine Verbesserung beobachtet. Phloemfläche (Abb. 54 unten) wie Anzahl an Siebzellen mit offenem Lumen (Abb. 56 unten) gleichen sich denen der Kontrollfichte K3 an. Die Größenklassenverteilung des Lumens der Siebzellen zeigt (Abb. 55 rechts), daß diese Zellen normal offene Lumina aufweisen, und damit ihre Funktion ausüben können. Von Juli bis Ende der Vegetationsperiode werden die Schäden im Phloem der beschatteten Nadeln von F33 aufgehoben.

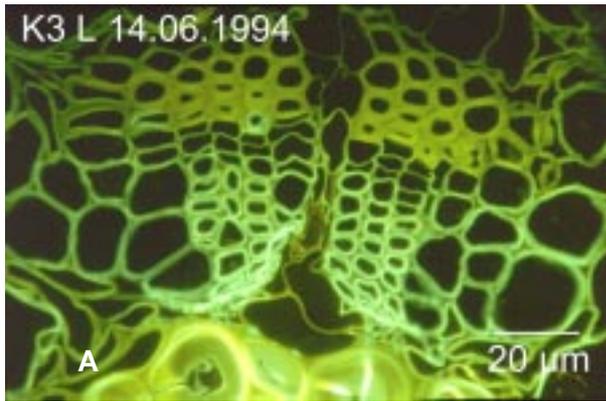
TAFEL 10

Abb. 58 Fluoreszenzaufnahmen des Leitbündels von lichtexponierten (oben) und beschatteten Nadeln (obere und untere Mitte) der Fichte F33 und lichtexponierten Nadeln von K3 (unten).

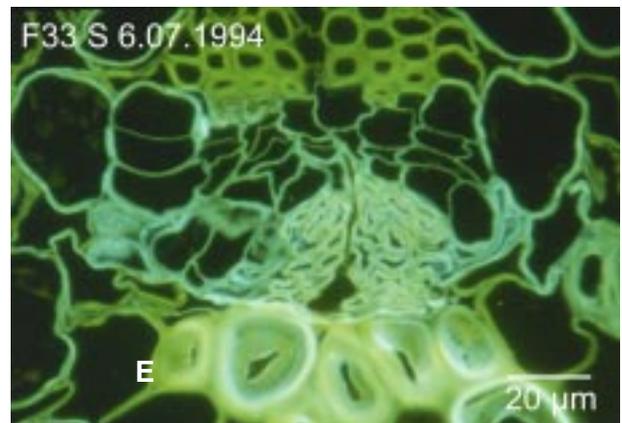
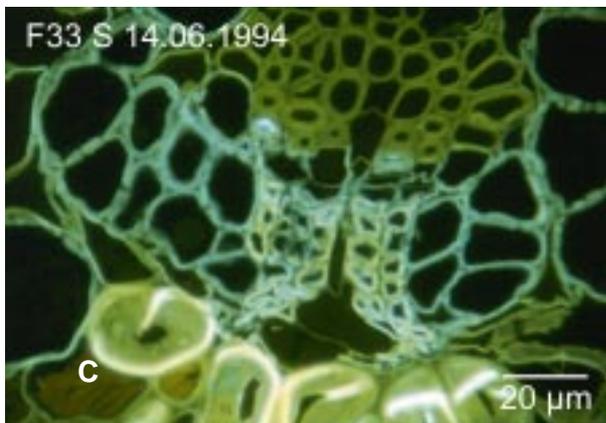
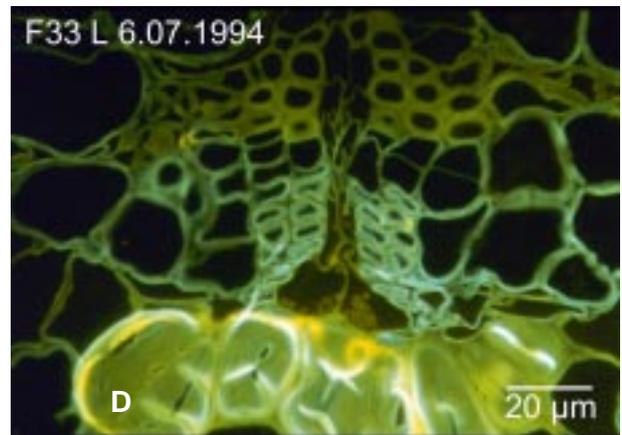
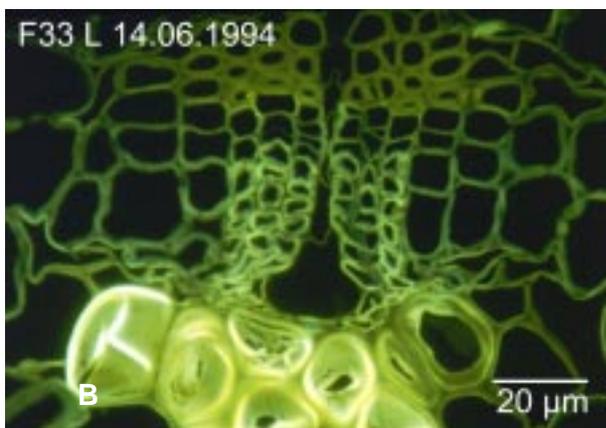
I. Drei Wochen nach Beginn der Beschattung, (14.06.1994) sind die ersten Unterschiede zwischen lichtexponierten und beschatteten Nadeln von F33 zu sehen. Am 6.07.1994 ist ihr Phloemkollaps am ausgeprägtesten. Trotzdem sind die beschatteten Nadeln von F33 grün.

II. Bis Ende der Vegetationsperiode verbessert sich der Zustand der Siebzellen im Leitbündel. Phloemkollaps wie bei den lichtexponierten Nadeln von F33 ist nicht zu beobachten. Lediglich das Kambium zeigt weitgehende Veränderungen.

14.06.1994



6.07.1994



26.07.1994

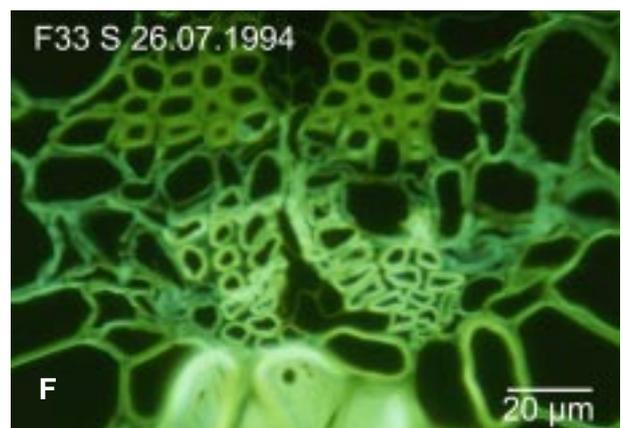
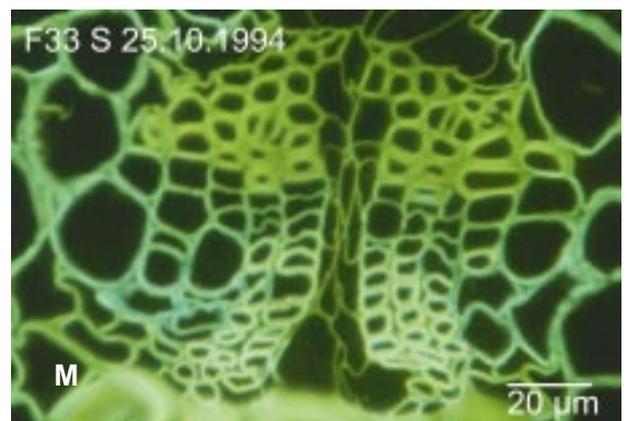
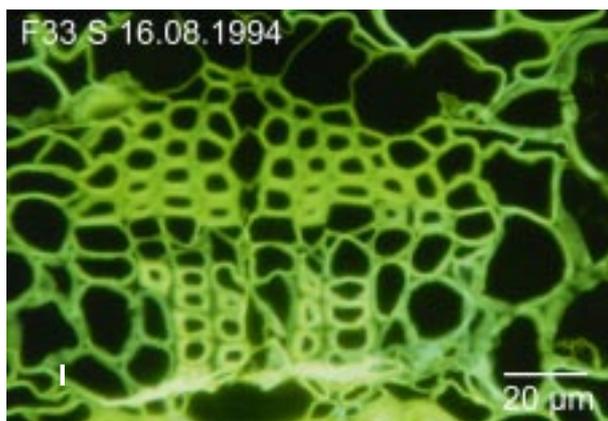
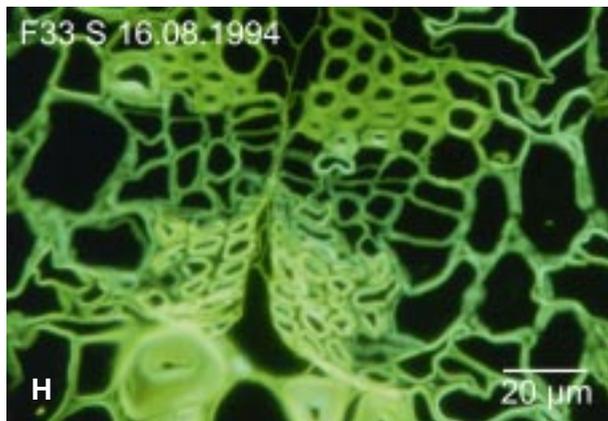
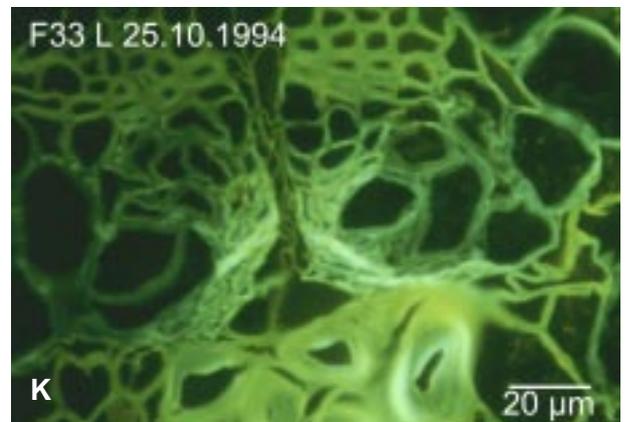
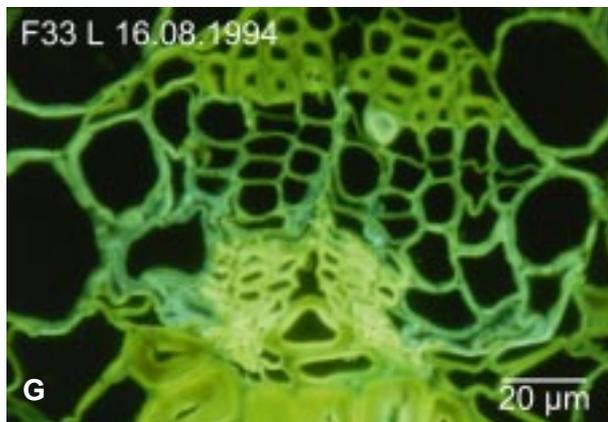
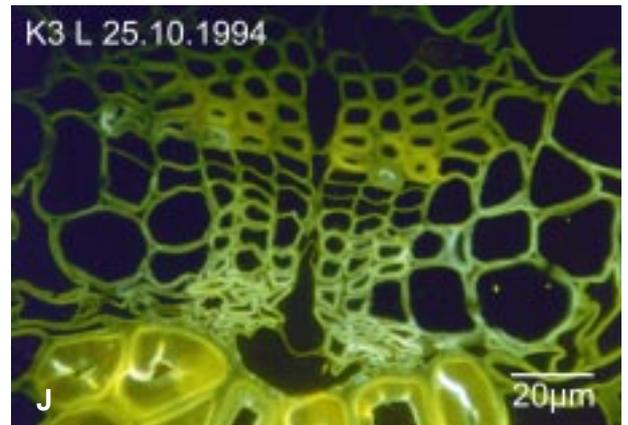


Abb. 58 (I)

16.08.1994

25.10.1994



Auswirkung der künstlichen Beschattung auf das Leitbündel von Fichte K3 und Fichte F33

Die Verbesserungen im Kambium sind nicht so deutlich. Die Kambiumfläche zeigt in der erste Phase (bis 6.07.1994) der Beschattung die gleichen Veränderungen wie in den lichtexponierten Nadeln ab Juli bis August (Abb. 51 unten und oben) (Vergleich Abb. 58 I C und E mit 58 II G und K): Am Anfang Juli beträgt bei den beschatteten Nadeln wie Mitte August bei den lichtexponierten die Fläche des Kambiums das Dreifache der Fläche des Kambiums der Kontrollfichte (Abb. 51 oben und unten). Anschließend, während sich die Kambiumfläche der lichtexponierten Nadeln vergrößert (im Herbst vervierfacht), nimmt die Kambiumfläche der beschatteten Nadeln ab. Sie bleibt allerdings ab dem 16.08.1994 bis zum Ende der Vegetationsperiode doppelt so groß wie die Fläche des Kambiums der beschatteten Nadeln der Kontrollfichte K3 ($p \leq 0,05$ am 16.08.1994, $p \leq 0,01$ am 25.10.1994; Abb. 51 unten). Die Anzahl an Zellen in der gemessenen Kambiumfläche der beschatteten Nadeln von F33 (Abb. 52 oben und unten) zeigt zu der der Kontrollfichte keinen Unterschied, aber zu der Anzahl in den lichtexponierten Nadeln von F33 einen signifikanten Unterschied ($p \leq 0,01$ am 25.10.1994). Diese beiden Befunde bedeuten, daß die Zellen der beschatteten Nadeln, die von Kambium abstammen, sich nicht teilen, aber doch vergrößern bzw. sie werden hypertroph, so wie die der lichtexponierten Nadeln von F33 im Jahr 1994 und 1995. Dies ist auch der Größenklassenverteilung zu entnehmen (Abb. 53 rechts), wo trotz anfänglicher Verschiebung zu größeren Klassen nach der Beschattung sich die Verteilung bis Ende der Vegetationsperiode gleicht, wobei die großen Klassen gegenüber K3 überproportional repräsentiert sind.

Kapitel 4

DISKUSSION

Die Nadeln der Fichte (*Picea abies* (L.) Karst.) haben eine Lebensdauer von bis zu 10 Jahren. Sie erreichen ihre volle Entwicklung in der 2. Vegetationsperiode (HANSEN, et al. 1997), und ab ihrem 4. Lebensjahr sind die ersten Alterungserscheinungen zu beobachten (SUTINEN, 1987 a). Deutliche Alterungsprozesse setzen ab dem 7. Lebensjahr ein (senescente Nadeln), (RUETZE und SCHMITT, 1988). Dieser Lebensspanne ist, im Vergleich mit der von Kiefernnadeln (2-4 Jahren) oder den im Herbst abfallenden Blättern der Laubbäume (eine Vegetationsperiode) sehr lang. Es ist deshalb für die Fichte wichtig, daß ihre Nadeln funktionsfähig bleiben und keine frühzeitige Seneszenz auftritt.

Die Fichten am Schöllkopf leiden unter anhaltender Ozon- und episodisch auftretender Schwefeldioxid-Belastung sowie an chronischem Magnesiummangel. Der Ozon-Wert ist um 42 % über den Luftgüteleitwert erhöht (Luftgüteleitwert $60 \mu\text{g} / \text{m}^3$, WHO. Ozon-Mittelwert von 1984-1991: $85 \mu\text{g} / \text{m}^3$ Luft), die SO_2 -Belastung tritt vorwiegend im Winter auf. Der Gehalt an Nährelementen des Bodens und insbesondere an Magnesium ist niedrig. Dies spiegelt sich im Magnesiumgehalt der Fichtennadeln wider. So lag die Magnesiumkonzentration des 2. Nadeljahrgangs bei der Kontrollfichte K3 unter $0,5 \text{ mg} / \text{g}$ TS und bei den vergilbenden Nadeln der Fichte F33 unter $0,3 \text{ mg} / \text{g}$ TS (SIEFERMANN-HARMS et al., 1997 f), während die optimale Mg-Konzentration mit $0,9 - 1,7 \text{ mg} / \text{g}$ TS angegeben wird (INGESTAD, 1979; BERGMANN, 1988).

Immissionen und Nährelementmangel sind abiotische Faktoren, die die Lebenserwartung der Fichten verringern. Sie wirken auf die Nadeln in unterschiedlicher Weise. SUTINEN (1987 a, b) und ENDLER et al. (1990) fanden, daß bei der Einwirkung von Luftschadstoffen wie Ozon oder Schwefeldioxid strukturelle Veränderungen zuerst im Mesophyll und dann in der Endodermis auftreten, bevor die Strukturen des Zentralzylinder betroffen werden. Bei Mangel an Mineralstoffen fand FINK (1992), daß die Leitbündel der erste Ort sind, wo der Mangel in Erscheinung tritt (Abb. 59). Feinere Unterscheidungen, die aufgrund cytologischer Veränderungen eine genauere Diagnostik der Schadensursache erlauben, sind nicht immer möglich (SCHIFFGENS-GRUBER, LÜTZ, 1992).

Bildung, Wachstum und Form der neu austreibenden Nadeln werden von diesen abiotischen Faktoren nicht beeinflusst. Entsprechende Ergebnisse sind auch für die Blätter der Birke (*Betula pendula*) beschrieben worden (MAURER, et al., 1997). Im Gegensatz dazu werden die Blätter vom Lorbeer (*Laurus nobilis*) unter der Einwirkung vom Luftschadstoffen xeromorpher (CHRISTODOULAKIS und FASSEAS, 1990). Die Nadeln von Fichte F33 waren zwar in den drei untersuchten Vegetationsperioden immer dünner und länger als die der Fichte K3. Dies ist aber nicht auf die Einwirkung von Luftschadstoffen (MASUCH et al., 1992), sondern auf die genetische Variabilität zwischen den einzelnen Individuen am

Einwirkungsort von Schadstoffen

Standort Schöllkopf (KONNERT, 1995) zurückzuführen. Tatsächlich waren Länge und Dicke der Nadeln beider Fichten unabhängig von Ergrünung oder Vergilbung immer gleich.

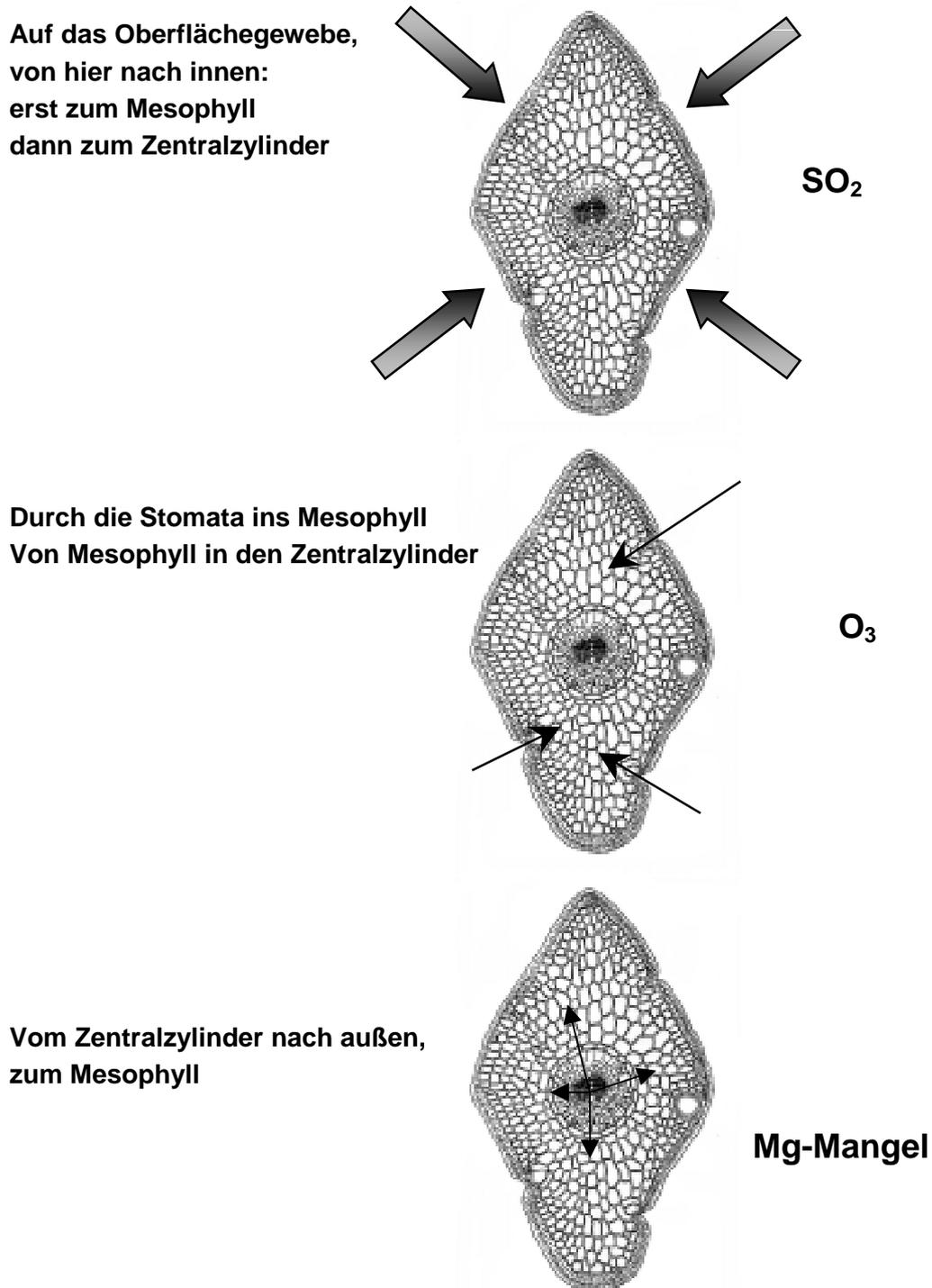


Abb. 59 Schematische Darstellung der Schädigungsfolge an Nadeln nach Einwirkung unterschiedlicher abiotischer Faktoren. Verändert nach FINK (1992).

Mit der Lichtmikroskopie können nur Zuordnungen von (z. B. pathologische) Veränderungen einzelner Zellen in einem Gewebe nachgewiesen werden, d. h. die Veränderungen, die beobachtet werden können, betreffen die ganze Zelle (Änderung der Zellgröße und Zellform) oder den gesamten Gewebeverband (ungeordnetes oder kollabiertes Gewebe). Die lichtmikroskopischen Untersuchungen zeigten im Bereich der Epidermis und Hypodermis keine Unterschiede im Zellaufbau der Nadeln beider Fichten (Abb. 10). Im Mesophyll wiesen die Chloroplasten Unterschiede im Stärkegehalt auf (Abb. 31 und 47, vergl. auch JUNG und WILD, 1988; MEYBERG *et al.* 1988, SCHIFFGENS-GRUBER und LÜTZ, 1992). Vergleichbare Befunde sind bei Kiefernadeln (*Pinus sylvestris* L.) beobachtet worden (SUTINEN *et al.* 1998). Im Zentralzylinder der Nadeln konnten lichtmikroskopisch Veränderungen an den Gewebeverbänden des Leitbündels festgestellt werden: während die Zellen des Kambiums hypertroph wurden, zeigte sich das Phloem kollabiert. Endodermis, Transfusionsparenchym und Transfusionsstracheiden blieben während der Vegetationsperiode unverändert (Kap. 3.2).

Ein anderes Bild bietet die Elektronenmikroskopie. Mit ihr ist ein Blick in die Ultrastruktur der Zellen und ihrer Organellen möglich. Änderungen ihrer Ultrastruktur können auf Veränderungen im physiologischen Zustand hinweisen und damit auch die Wirkung abiotischer Stressoren dokumentieren. Im Mesophyll der untersuchten Fichten waren die Chloroplasten das einzige Organell, in dem während der Ergrünung und der Vergilbung Änderungen in der Ultrastruktur zu sehen waren (Kap. 3.2, vergl. auch SENSER *et al.*, 1975, SUTINEN, 1987 b, MEYBERG *et al.* 1988, SCHIFFGENS-GRUBER und LÜTZ, 1992). Die Ultrastruktur von anderen Organellen, wie des Kerns oder der Mitochondrien, blieben intakt. Im Zentralzylinder waren es die Zellen des Kambiums, die die größten ultrastrukturellen Veränderungen aufwiesen (Abb. 22 - 25 und 50).

4.1. Auswirkung abiotischer Stressoren auf die Nadeloberfläche

Von den Nadelgeweben treten Epidermis, Cuticula und ihre Wachse mit Schadgasen zuerst in Kontakt. Schädigungen an diesen kommen in den Coniferennadeln unter anderem bei sauren Depositionen wie SO₂ und NO_x vor (BÄCK *et al.*, 1994), aber möglicherweise auch bei Ozon. Die Cuticula und die Epicuticularwachsschichten der Gymnospermenblätter sind selbst bei nah verwandten Species und oft auch auf Ober- und Unterseite ein und desselben Blattes von unterschiedlicher Stärke (NAPP-ZINN, 1966). Eine dicke Cuticula gilt als eine ausgesprochen xeromorphe Einrichtung, die "der Pflanze einen besonders wirksamen Schutz gegen klimatische Unbilden verleiht" (NOACK, 1887). Ein weiterer Schutz wird durch die Adhäsions- und Absorptionsvorgänge von Schadstoffen (saure Depositionen, Salzkristalle, gasförmige Schadstoffe, Staubpartikel, Sporen von Pilzen, Pollen...) an das Epicuticularwachs erzielt (FINK, 1992). Immissionsbelastete Fichtennadeln wie die von Velmerstot (Eggegebirge, NRW: MASUCH *et al.*, 1992) oder vom Erzgebirge zeigen in ihrem Epicuticularwachs eine stärkere Verkrustung des Wachsschutzgeflechtes und tragen

Auswirkung abiotischer Stressoren im Mesophyll: Die Chloroplasten

vereinzelt Gipskristalle (NEBE *et al.*, 1988) bzw. eine modifizierte (BUSSOTTI *et al.*, 1997) oder kaum entwickelte Cuticula (TURUNEN und HUTTUNEN, 1991) im Vergleich zu Nadeln unbelasteter Gebiete. BOSCH *et al.* (1983) und NEBE *et al.* (1988) sahen in Ozon und saurem Regen die Ursachen für die cuticuläre Auslaugung von Mineralelementen, die zu Mangelercheinungen bzw. Mineralmangel und letztlich zu Vergilbung und Nadelverlust führen. WELLBURN *et al.* (1997) zeigten jedoch, daß Ozon die Ultrastruktur der Wachsschicht nicht beeinflußt und seine schädigende Wirkung nicht an den Oberflächengewebe entfaltet. BLANK und LÜTZ (1990) veröffentlichten Ergebnisse einer zweijährigen Behandlung von jungen Klonfichten mit Ozon ($50 \mu\text{g m}^{-3}$ mit Episoden von $65\text{--}180 \mu\text{g m}^{-3}$; Kontrolle: $25 \mu\text{g m}^{-3}$) und saurem Regen (pH 3.0; Kontrolle: 5,6) in zwei verschiedenen Böden (saurer und kalkartig). Auch sie fanden keine signifikante Wirkung von Ozon auf die epicuticulären Wachse oder cuticuläre Auslaugung von Mineralelementen. Schließlich scheinen auch Calcium- und Magnesiummangel keinen Einfluß auf die Mikromorphologie der epicuticulären Wachse von *Picea abies* zu haben (SCHWAB *et al.*, 1994).

Der Wachszustand wird zwischen 0 (Ausgangszustand) und 5 (degradiert) klassifiziert. Die REM-Untersuchungen zum Wachszustand der Nadeln der hier untersuchten Fichten K3 und F33 ergaben mittlere Werte von 1,5 bis 2,5 (BÄUCKERT, 1997 unveröffentlichtes Manuskript). Einlagerungen von auskristallisiertem Gips in den Nadeln der beiden Fichten waren nicht feststellbar. Veränderungen an den Stomata wurden weder bei der Fichte F33 noch bei K3 beobachtet. Trotz erhöhten Ozonkonzentrationen und winterlicher Episoden von SO_2 am Schöllkopf waren weder Nekrosen in der Epidermis noch Veränderungen der Wachse festzustellen. Damit spielt die Einwirkung von Luftschadstoffen oder Magnesiummangel auf die Oberflächengewebe bei dem Vergilben der Fichtennadeln von F33 keine Rolle.

4.2. Auswirkung abiotischer Stressoren im Mesophyll: Die Chloroplasten

Bei den Coniferen findet man Chloroplasten nicht nur im Mesophyll der Blätter sondern auch in der Endodermis und im Leitbündel (SCHULZ, 1990; BUNS *et al.* 1993), bei der Eibe (*Taxus baccata*) sogar im Stamm (BUNS *et al.* 1993). Die Chloroplasten der Coniferen sind sehr bemerkenswert, sie können nicht nur als Photosyntheseorgan sondern auch gleichzeitig als Speicherorgane dienen. Der Wechsel von einer zu beiden Funktionen kann im Fall der Fichte bis zehn mal stattfinden, da die Nadeln eine Lebensdauer von zehn Jahren haben können. Die Untersuchung der Morphologie dieser Organellen im engen zeitlichen Abstand sollte deshalb zum Verständnis des physiologischen Zustandes des Chloroplasten beitragen.

4.2.1. Die Kohlenhydrate bei Chloroplasten grüner Nadeln

Bei Fichten wie bei anderen immergrünen Coniferen sind die Chloroplasten einem im Jahresablauf wiederkehrenden Zyklus von Änderungen unterworfen. Man kann zwischen Winter- und Sommerchloroplasten unterscheiden. Bei den Winterchloroplasten sind der Chlorophyllgehalt und das Thylakoidsystem reduziert (SENER *et al.*, 1975) und der Reservestoff Fruktose und seine Galaktoside wie Raffinose oder Stachyose treten an Stelle der im Sommer vorhandenen Stärke (HANSEN *et al.*, 1997).

Im Frühjahr ersetzt der Chloroplast seinen Winter- durch den Frühjahrsstoffwechsel. Mit beginnender Vegetationsperiode findet in den vorjährigen und älteren Nadeln eine Akkumulation von Kohlenhydraten in Form von Stärke statt, die etwa drei Wochen anhält (Abb. 45). Die Akkumulation von neu synthetisierter Stärke führt am Anfang der Vegetationsperiode zu einer Vergrößerung der Plastiden: Zur dieser Zeit zeigen die Chloroplasten der vorjährigen Nadeln beider untersuchter Fichten die größten Stärkekörner und auch ihre maximale Größe. Ein bis mehrere große Stärkekörner lassen die Chloroplasten fast wie Amyloplasten mit Thylakoiden aussehen, so daß man von "Amylochloroplasten" (HANSEN *et al.*, 1997) sprechen könnte.

Im Frühjahr fungiert der Neuaustrieb als "Haupt-Sink" Organ. LITTLE (1970) fand bei *Picea balsamea*, daß es zunächst einen starken Export von Stoffen aus den vorjährigen Nadeln zum Neuaustrieb gibt. Die Stärke-Akkumulation in älteren, insbesondere in vorjährigen Nadeln, sowie die Mobilisation und der akropetale Transport von photosynthetischen Assimilaten zum neuen Austrieb im Frühjahr ist ein typisches Merkmal der Coniferen (KOZLOSKI und WIGNET, 1964; LITTLE, 1970; SENER *et al.*, 1975; FORSCHNER *et al.*, 1989; FISCHER und HÖLL, 1991; HANSEN und BECK, 1994, BLECHSCHMIDT-SCHNEIDER *et al.*, 1997). Die beim neuen Austrieb ankommenden Assimilate werden für die Produktion neuer Gewebe bzw. für das Wachstum verwendet (HANSEN und BECK, 1994). So lange die neu ausgetriebenen Nadeln nicht vollkommen entwickelt sind und ihre volle photosynthetische Kapazität ausüben können, werden sie vor allem von den vorjährigen Nadeln versorgt. Dabei verringert sich die Menge an akkumulierter Stärke in den Chloroplasten der vorjährigen Nadeln beider Fichten und die Größe der Chloroplasten geht zurück (Abb. 33 und 45). Die Dauer dieser Phase hängt vom Individuum, von den klimatischen Bedingungen und der Photoperiode ab (SENER und BECK, 1979).

Die klimatischen Bedingungen sind für den Beginn des Neuaustriebes und die weitere Entwicklung des Baumes ausschlaggebend (DE MARTONE, 1926). Aber auch die genetischen Individualitäten sind maßgebend für den Beginn des Neuaustriebes eines Baumes. Fichte K3 trieb immer einige Wochen später aus als Fichte F33: Während die neuen Triebe von F33 ihre volle Länge (6-8 cm) gegen Mitte Juni erreicht (1994 und 1996) oder fast erreicht (80 % in 1995) hatten, waren die Triebe von K3 etwa 30 % (1996) bis 60 % (1995) kleiner. Der Winter von 1995 war kälter als der von 1994; und 1996 war es von Februar bis April extrem trocken und anschließend nasser als die zwei Jahre zuvor. Die

Die Kohlenhydrate bei Chloroplasten vergilbender Nadeln

durchschnittliche Monatstemperatur lag unter dem Wert des entsprechenden langjährigen Monatmittels. Dies erklärt, daß 1995 die Stärke-Akkumulation verzögert stattfand und daß die Vegetationsperiode 1996 etwa zwei Wochen hinter den Vegetationsperioden von 1994 und 1995 zurück war.

Im Sommer erhöht sich die photosynthetische Kapazität der jüngsten Nadeln und sie beginnen selbst photosynthetische Assimilate zu exportieren (GORDON und LARSON, 1970). Die jungen Nadeln stellen nun nicht mehr ein Sink-Organ, sondern ein Source-Organ dar. Die Assimilate aller Nadeln werden nun basipetal transportiert (HANSEN und BECK, 1994). Bis zum Herbst war in den grünen Nadeln der untersuchten Fichten keine Stärke mehr zu sehen (Abb. 31 c und f, vergl. auch LITTLE, 1970; SOIKKELI, 1977 und 1980; SENSER und BECK, 1979; ENDLER *et al.*, 1990).

Untersuchungen mit radioaktiven Pulsmarkierungen haben gezeigt, daß die Verringerung des Stärkegehalts damit zusammenhängt, daß der Stärkeabbau schneller als die Stärkesynthese abläuft (HANSEN, 1992). Beim Stärkeabbau werden Hexosen produziert. Der Gehalt an Hexosen (Glucose und Fructose) in den hier untersuchten Fichten wurde von EINIG und MEHNE-JAKOBS (1997) untersucht: Er war im Frühjahr gering und stieg zum Herbst hin an. Glucose- und Stärkegehalt sind also eng miteinander verknüpft: der eine verhält sich invers zum anderen.

Mit Beginn der Kältezeit (Oktober) stellen sich Morphologie und Stoffwechsel der Chloroplasten auf den Winter um, d. h. von Stärke als Reservestoff auf Saccharose und Galaktoside. Auf den elektronenmikroskopischen Aufnahmen waren Stärkekörner nicht mehr oder nur noch sehr selten zu sehen.

4.2.2 Die Kohlenhydrate bei Chloroplasten vergilbender Nadeln

4.2.2.1. Zusätzliche Stärke-Akkumulation im Sommer

Während die vorjährigen Nadeln der Kontrollfichte K3 grün blieben, vergilbten sie 1994 und 1995 bei der Fichte F33 schubartig innerhalb weniger Wochen. Diese Vergilbung erstreckte sich relativ homogen über die gesamte Länge der Nadel. Bei Fichte F33 folgte dem Frühjahrsmaximum der Stärke bis im Sommer ein Abbau und danach ein Wiederanstieg. Er setzte während des Vergilbungsvorgangs ein und erreichte im August sein Maximum. Diese zweite Stärke-Akkumulation war transient und erreichte nie das Ausmaß der Frühjahrsakkumulation (Abb. 31 d, e und 47). In Übereinstimmung mit diesem Befund beobachteten EINIG *et al.* (1995) und EINIG und MEHNE-JAKOBS (1997), daß im Spätsommer der Stärkegehalt der geschädigten Fichte im Vergleich zur Kontrollfichte erhöht war. Ein Stärkeminimum im Frühsommer mit anschließendem Wiederanstieg wurde bei der

Kontrollfichte nicht beobachtet. Da bei Fichten eine Translokation der tagsüber assimilierten Stärke während der Nacht nicht stattfindet (EINIG *et al.* 1990, 1995), wie bei anderen Pflanzen bekannt ist (PREIS und LEVI, 1979), ist die zweite Akkumulation nicht mit einer (partiell) inhibierten nächtlichen Stärketranslokation zu erklären, wie von LUETHY-KRAUSE und LANDOLT (1990) vorgeschlagen wurde.

In Kammerversuchen bewirkten die Behandlungen von Fichten mit Ozon und mit Luftgasmischungen aus O₃, NO₂ und SO₂ in hohen Konzentrationen signifikante Änderungen in der Ultrastruktur der Chloroplasten. Insbesondere wurde auch eine Akkumulation von Stärke im Sommer beobachtet (LUETHY-KRAUSE und LANDOLT, 1990; SCHIFFGENS-GRUBER und LÜTZ, 1992; HOLOPAINEN *et al.*, 1996). In Feldversuchen reagieren die Fichten auf die Ozonbehandlung ebenfalls mit einer sommerlichen Stärke-Akkumulation (FORSCHNER *et al.*, 1989). Auch bei der Birke ist von Stärke-Akkumulation nach Ozonbehandlung berichtet worden (Günthardt-Goreg *et al.*, 1993)

Mit Beginn der Vegetationsperiode werden die Enzyme des Kohlenhydratstoffwechsels aktiviert. Das Ozon als Elicitor (PELL *et al.*, 1997; SANDERMANN *et al.*, 1998) kann verschiedene Mechanismen in Gang setzen, welche sich letztlich auf den Zuckerstoffwechsel auswirken könnten. Dabei ist es denkbar, daß eine Stärke-Akkumulation durch Reduzierung der Stärkehydrolyse bzw. Erhöhung der Zuckerpolymerisation gesteuert wird. Gleich nach Beginn der Vergilbung der Nadeln von F33 wurde von EINIG und MEHNE-JAKOBS (1997) eine Erhöhung der Werte von Fructose-2,6-bisphosphat gemessen. Dieses Zuckerphosphat ist ein Inhibitor der Fructose-1,6-bisphosphatase und damit der Saccharosesynthese (KRAPP und STITT, 1995). Dadurch wird der Stärkeaufbau gefördert. Auch der Aktivierungszustand der Saccharose-P-Synthase war bei F33 gegenüber K3 vermindert. Dieses Enzym spielt eine wichtige Rolle bei der Synthese von Saccharose. Vergleichbare Befunde wurden für die Fichte (*Picea abies*) am Standort Kälbelescheuer (Schwarzwald) (EINIG und HAMPP, 1990), für Kiefern und Fichten in Großbritannien (PEACE, *et al.*, 1995; WELLBURN *et al.*, 1997) und auch für Birken (*Betula pendula*) (EINIG *et al.*, 1997) erhoben.

EINIG und MEHNE-JAKOBS (1997) fanden heraus, daß mit Einsetzen der Vergilbung die Aktivität der PEP-Carboxylase der Nadeln von F33 kontinuierlich steigt. Eine Erhöhung der PEP-Carboxylase ist auch bei der Birke (LANDOLT *et al.* (1997)) und der Kiefer (LUETHY-KRAUSE *et al.*, 1990b), die mit Ozon behandelt wurden, beobachtet worden. Aber auch bei kontrollierten Magnesium-Mangel-Versuchen (EINIG und MEHNE-JAKOBS, 1997) oder Stickstoff-Düngung (WINGLER *et al.*, 1996) wird von einer Erhöhung der Aktivität dieses Enzyms berichtet, was als Indikator für den Schädigungsgrad verwendet worden ist (WILD und SCHMITT, 1995). Die Stimulation der PEP-Carboxylase wird als Teil eines anaplerotischen Weges angesehen, der aus Phosphoenolpyruvat durch Fixierung von CO₂ zur Bildung von Oxalacetat im Cytoplasma führt. Oxalacetat ist eine Schlüsselverbindung des Krebs-Zyklus, und die Fixierung des CO₂ durch die PEP-Carboxylase bei C₃-Pflanzen kann sich negativ auf die Fixierung von CO₂ durch die Rubisco auswirken. Immerhin wirkt

Magnesiummangel als Vergilbungsursache

sich ein teilweise gehemmter Assimilattransport aus den Blättern heraus negativ auf die CO₂-Fixierung im Licht aus (OSSWALD und ELTSNER, 1985). Oxalacetat kann in Oxoglutarat überführt werden, welches als Vorstufe für die Synthese mancher Aminosäuren dient. Eine Erhöhung des Gehaltes an löslichen Aminosäuren in vergilbten Nadeln ist von WILD *et al.* (1995) an anderen Fichten am Schöllkopf gemessen worden.

Parallel zur Vergilbung der Nadeln von F33 und in Gegensatz zu K3 bildete sich ein Saccharosegradient mit erhöhtem Saccharosegehalt im Zentralzylinder (EINIG und MEHNE-JAKOBS, 1997), was auf einen verminderten Export von Saccharose aus den Nadeln bzw. verminderte Phloembeladung hindeutet. Bei Birken wird nach Ozonbehandlung der Assimilattransport durch Kollaps der Mesophyllzellen und Störungen in der Beladung des Phloems verhindert, was zu einer Erhöhung von löslichen Kohlenhydraten und Stärke-Akkumulation führt (MATYSSEK *et al.*, 1992). Bei Fichten, die unter Magnesiummangel leiden, ist auch ein frühzeitiger Phloemkollaps beobachtet worden (FINK, 1991; FORSCHNER *et al.*, 1989, HANNICK *et al.*, 1993; PUECH und MEHNE-JAKOBS, 1997).

4.2.2.2. Magnesiummangel und die Vergilbung

Bei Fichten, die unter Magnesiummangel wuchsen, erhöhte sich der Kohlenhydratgehalt der vergilbten Nadeln (MEHNE-JAKOBS, 1995). Der Mindestgehalt von Magnesium, dessen Unterschreiten zur Vergilbung führt, wird in der Literatur mit 0,35 mg / g TS angegeben (ZECH, 1968). Während die Kontrollfichte K3 diesen Wert überschritt, und während der drei untersuchten Vegetationsperioden grün und ohne sichtbare Schäden blieb, erreichten die Nadeln der Fichte F33 in den Vegetationsperioden 1994 und 1995 diesen Wert nicht; Die Nadeln vergilbten, akkumulierten Stärke und zeigten einen Phloemkollaps. MEHNE-JAKOBS (1997) unterscheidet in ihren Magnesiummangelversuchen zwischen moderatem und schwerem Magnesiummangel. Der Magnesiumgehalt der Nadeln von K3 (> 0,44 mg / g TS) entspricht dem Gehalt der Nadeln mit moderatem Magnesiummangel, während der Magnesiumgehalt der Nadeln von F33 (< 0,3 mg / g TS) dem Gehalt der Nadeln mit schwerem Magnesiummangel entspricht. Im Gegensatz zu den Versuchen über Magnesiummangel-Erscheinungen von MEHNE-JAKOBS (1995 und 1997) zeigten die Nadeln der Fichte K3 mit ihrem moderatem Magnesiummangel keinerlei Vergilbungen. Der Abbau von Chlorophyll in den Nadeln von F33 verlief abrupt und nicht langsam wie in Nadeln aus reinen Magnesium-Mangelversuchen. Hier vergilben die Nadeln fleckenartig und nicht homogen wie die Nadeln von F33. Diese Unterschiede lassen das Magnesium nicht als einzige Ursache der Vergilbung der Fichte F33 erscheinen, und die Akkumulation von Stärke in den Chloroplasten ist nicht allein auf einen Nährstoffmangel zurückzuführen, wie ihn FINK (1989 und 1992) oder MEHNE-JAKOBS (1995) beschrieben haben. Die Fichten am Schöllkopf haben sich an extreme Lebensbedingungen angepasst. Sie sind in der Lage, wie Fichte K3 zeigt, hohe Ozonkonzentrationen und schlechte Mineralversorgung zu ertragen. Verschlechtern sich diese ungünstigen Lebensbedingungen zusätzlich wie bei weiterer

Abnahme der Magnesium-Versorgung, dann vergilben die Nadeln der Fichten, wie die Fichte F33 zeigt.

Der sehr niedrige Magnesiumgehalt der Nadeln von Fichte F33 ist auf eine schlechte Magnesiumversorgung im Boden zurückzuführen. Die Nährelementvorräte des Bodens am Schöllkopf sind als labil anzusehen (v. WILPERT und HILDEBRAND, 1995). Da aber die Fichte F33 auf einem Boden mit starker Hydromorphie stockt (v. WILPERT und HILDEBRAND, 1995), wäre durchaus vorstellbar, daß die Nährstoffaufnahme über das Wurzelsystem gestört ist. Im Jahr 1994 und 1995 wurde der Boden unter der Fichte F33 mit Bittersalz (MgSO_4 , 400 g / m^2) gedüngt. 1995 konnten in den Nadeln der Fichte F33 erste Reaktionen auf die Magnesiumdüngung gemessen werden. Der Magnesiumgehalt der Nadeln des 1. Jahrgangs stieg gegenüber den Magnesiumgehalt der gleichaltrigen Nadeln in den Jahren zuvor an (HOCH *et al.*, 1997). Bei den vorjährigen Nadeln (2. Nadeljahrgang) verringerte sich 1995 dieser Wert sogar. Die Abnahme des Magnesiumgehalts in den vorjährigen Nadeln läßt sich damit erklären, daß die Translokation von Magnesium zu den Nadeln des Neuaustriebes auf die vorjährigen Nadeln beschränkt ist (WEIKERT *et al.*, 1989). 1996 war nicht nur der Magnesiumspiegel des 1. Nadeljahrgangs erhöht, sondern auch der der vorjährigen Nadeln (2. Jahrgang), und diese Nadeln blieben grün wie die des Neuaustriebes (SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 a). Damit ist klar, daß trotz erhöhtem Grundwasserstand, längeren Stauwasserphasen und verringertem Wurzelraum die Wurzel der Fichte F33 nicht so beschädigt waren, daß ihre Aufnahmefunktion schwer beeinträchtigt gewesen wäre. Damit ist der niedrige Magnesiumgehalt der Nadeln auf eine schlechte Magnesiumversorgung im Boden zurückzuführen und nicht auf den Zustand der Wurzel. 1996 blieben die Nadeln des 2. Jahrgangs von F33 grün, wie die von K3. Auch die Werte des Kohlenhydratstoffwechsels der vorjährigen Nadeln von F33 erreichten vergleichbare Werte mit denen von K3. Dies bestätigt, daß sich die Fichte an harte Bedingungen anpassen kann, daß aber eine zusätzliche Belastung, wie der Magnesiummangel bei F33 ihre Empfindlichkeit erhöht.

4.2.2.3. Beschattung und Stärke-Akkumulation

Ein weiterer abiotischer Stressor, welcher zur Vergilbung der Nadeln führen kann, ist eine hohe Lichtintensität. OSSWALD und ELSTNER (1985) schrieben, daß lichtexponierte Nadeln stärkere homogene Vergilbungserscheinungen zeigen als beschattete. Die Vergilbung stellt damit eine der makroskopischen Erscheinungen dar, auf welche physiologische Veränderungen, wie die Stärke-Akkumulation im Sommer, zurückzuführen sein könnten. In der vorliegende Studie wurde 1994 ein Teil der Nadeln beider Fichten mit einem regendurchlässigen Nylonnetz beschattet (Standortslicht: auf 15 % reduziert). Die Anpassung der Nadeln an eine Verringerung der Lichtintensität wird von Veränderungen der Photosynthesekapazität der Chloroplasten begleitet (LICHTENTHALER *et al.* 1981), welche zu einer Reduktion der Kohlenhydrate in den Pflanzen führt. Bei Fichte F33 blieb die

Das Thylakoidsystem bei Chloroplasten grüner Nadeln

Stärke-Akkumulation im Sommer aus. Nach drei Wochen Beschattung waren fast alle Stärkekörner verschwunden. Der leichte Wiederanstieg der Stärkekornfläche im Juli belegt möglicherweise, daß der Abtransport von Assimilaten nicht nur in den Licht- sondern auch in den Schattennadeln teilweise gestört war.

MANDRE *et al.* (1998) stellten durch die Variation der Lichtintensität ebenfalls Veränderungen in den morphometrischen Parametern und in dem Kohlenhydratgehalten von Zitterpappelblättern (*Populus tremola* L.) fest. Bei den Blättern von Soja (*Glycine max* cv. Young) ist eine Umstellung von den Kohlenhydratreserven zu den Lipidreserven beobachtet worden (BURKEY *et al.*, 1997). Eine Lipidanreicherung in Form von Plastoglobuli konnte in den Chloroplasten vergilbter Nadeln von F33 in Vergleich zu denen von K3 nicht festgestellt werden.

Der Kohlenhydratstoffwechsel wird durch einen zeitlichen und räumlichen Ablauf charakterisiert, der vom physiologischen Zustand und den strukturellen Eigenschaften der Pflanze abhängt. Auf diese wirken sich die abiotischen Stressoren aus.

4.2.3. Das Thylakoidsystem bei Chloroplasten grüner Nadeln

Anders als bei Kammerversuchen sind die hier untersuchten Bäume den natürlichen klimatischen Schwankungen des Freilandes unterworfen, was zu einer beträchtlichen Streuung der Daten führt. Trotzdem ist ein "typisches" Verhalten der Fichte K3 während der gesamten Versuchszeit, ein in "typischer" Weise abweichendes Verhalten von Fichte 33 in den Jahren 1994 und 1995 und eine Annäherung an die Fichte K3 im Jahr 1996 festzustellen. Morphologisch und morphometrisch ist dies besonders am Membransystem der Chloroplastenthylakoide zu erkennen.

So wie die Kohlenhydrate einen periodischen Ablauf aufweisen, sind auch die Thylakoide jahreszeitlichen Änderungen unterworfen. Diese Arbeit behandelt den Jahresablauf von vorjährigen Nadeln. Dieser ist auf ältere Nadeln übertragbar, nicht aber auf neu austreibende Nadeln, deren Chloroplasten im Frühjahr Prolamellarkörper besitzen können (SENER *et al.*, 1975), oder auf seneszenten Nadeln, bei denen die Alterungsprozesse in einem fortgeschrittenen Stadium sind.

Die ersten Probenahmen fanden Ende April statt. Um diese Zeit waren die Chloroplasten der Nadeln der Kontrollfichte K3, wie auch von SENER *et al.*, (1975) beschrieben, schon an der Peripherie der Mesophyllzellen angeordnet, und sie besaßen große Stärkekörner, welche sie wie "Amylochloroplasten" aussehen ließen (HANSEN *et al.*, 1997). Das Membransystem bestand aus Stroma- und Granathylakoiden und ein Verschwinden oder eine Desintegration der Membranen wurde im Gegensatz zu Beobachtungen anderer Autoren (KUFNER *et al.*, 1978; BUNS *et al.*, 1993) nicht festgestellt. In dieser Frühjahrsphase

erreichten die Amylochloroplasten ihre maximale Größe, wobei das Stärkekorn mit bis etwa 53 % den größten Anteil ausmachte, ohne Stärkekorn waren die Chloroplasten in dieser Phase am kleinsten. Die Chloroplastenschnittfläche ohne Stärkekorn (o. S.) spiegelt die wahre Größe, d. h. die Größe des photosynthetisch aktiven Chloroplasten während der ganzen Vegetationsperiode wider. Dagegen stellt die Schnittfläche des Chloroplasten im Frühjahr die doppelte Funktion des Plastids als Chloroplast und Amyloplast dar. Die Größe der Stärkekörner bestimmte am Anfang der Vegetationsperiode die anderen morphometrischen Parameter, z. B. die Abnahme der Chloroplastenschnittfläche o.S., welche hervorgerufen wurde, weil das Stärkekorn die verschiedenen Chloroplastenelemente zusammendrückte (SENER und BECK, 1979; SOIKKELI, 1977). Auch die Chloroplastenform war von der Form des Stärkekornes geprägt (ZELLNIG und GAILHOFER, 1989), obwohl im Bereich der Thylakoide immer die ursprüngliche Spindelform zu erkennen war. Mit Beginn des Abbaus der Stärkekörner nahmen die Größe der Chloroplastenschnittfläche o. S., und die Stromafläche bis zum Herbst zu. Die Zunahme der Stromafläche war nicht von einer vergleichbaren Zunahme der Thylakoidschnittfläche begleitet. Die Zunahme der Stromafläche im Frühjahr könnte mit der Adaptation des Chloroplasten vom langsamen Winter- zum aktiveren Sommerstoffwechsel zusammenhängen. Für den Rest der Vegetationsperiode verliefen die Veränderungen der Chloroplastenschnittfläche o. S. und der Stromafläche mehr oder weniger parallel.

Die Thylakoidschnittfläche schwankte bei den Nadeln der Kontrollfichte K3 im Jahresgang nur geringfügig. Sie betrug in den untersuchten Jahren etwa $3 \mu\text{m}^2$. Dieses Ergebnis ist sehr überraschend: Die Thylakoidquerschnittsfläche verändert sich kaum, obwohl der Chlorophyllgehalt der Nadeln während der Ergrünungsphase im Frühjahr auf das Doppelte ansteigt: Der Chlorophyllgehalt beider Fichten lag Ende April bei 2 – 2,5 mg Chl / g TS, und erhöhte sich bis August auf 4 – 5 mg Chl / g TS, worauf ein leichter Abfall folgen konnte (SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 d).

Auf struktureller Ebene könnten diesen Beobachtungen verschiedene Vorgänge zugrunde liegen (s. Abb. 60):

- Neu synthetisierte Chlorophyll-Protein-Komplexe werden in vorhandene Membranen eingebaut,
- Es entwickelt sich ein zwar ausgedehnteres, aber dichter gepacktes Membransystem (die Thylakoidmembranen werden umorganisiert).
- Pro Mesophyllzelle werden mehr Chloroplasten gebildet.

Das Thylakoidsystem bei Chloroplasten grüner Nadeln

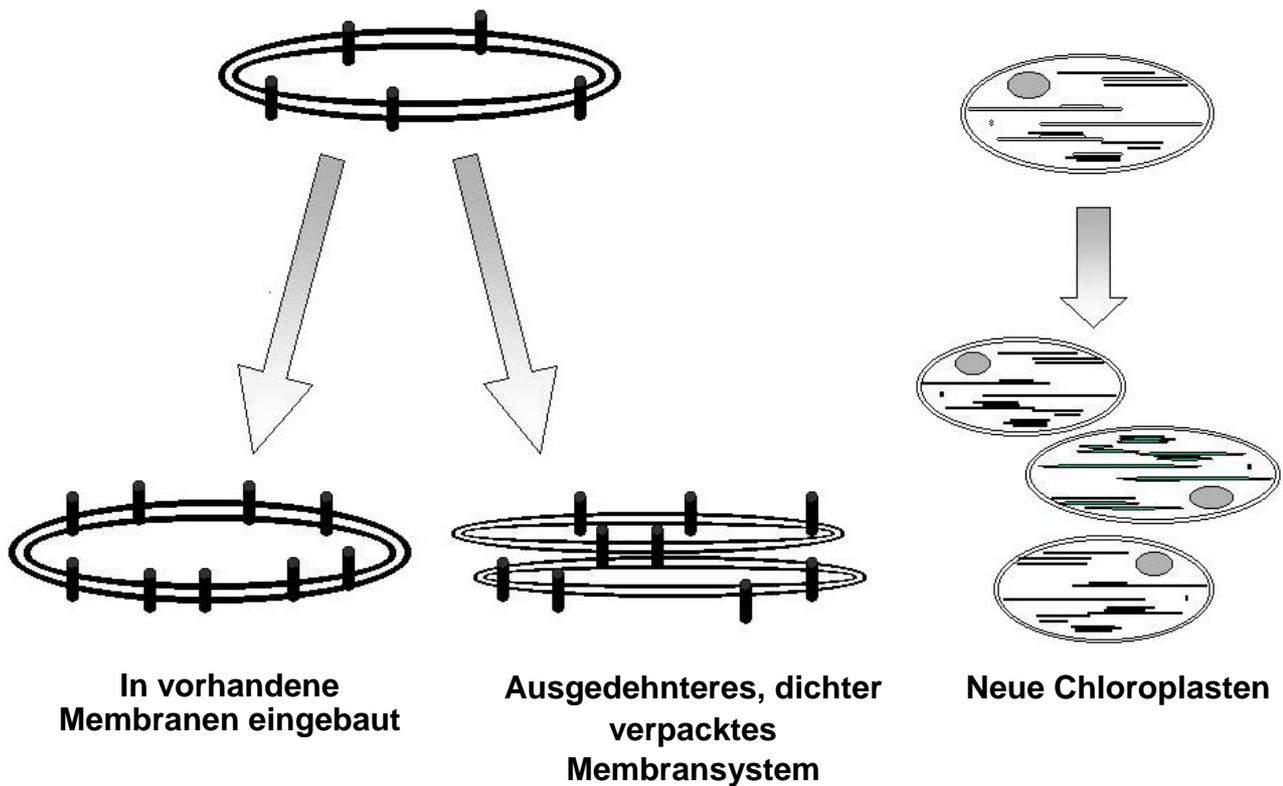


Abb. 60 Mögliche Änderungen der Chloroplasten während der Ergrünung. Im Frühjahr erhöhte sich der Chlorophyllgehalt der Nadeln von K3 auf das Doppelte, ein Befund, der verschiedenartige strukturelle Änderungen anzeigen könnte: Die neu synthetisierten Chlorophyll-Protein-Komplexe (schematisch als schwarze Stäbchen dargestellt) werden: a) in vorhandene Membranen (links); b) in ein sich ausdehnendes, dichter gepacktes Membransystem (Mitte); oder c) in neue Chloroplasten (rechts) integriert.

Die Zahl der Chloroplasten änderte sich innerhalb einer Vegetationsperiode, wie die Abbildung 32 zeigt, nicht. Damit kann die dritte Möglichkeit (Abb. 60, rechts) ausgeschlossen werden. Änderungen in der Chloroplastenzahl werden jedoch bei seneszenten Blättern beschrieben. Während sich bei Fichtennadeln die Zahl erhöht (SUTINEN, 1987 a), nimmt sie bei Reis ab (KURA-HOTTA *et al.*, 1990).

Die Gesamtzahl der Thylakoidstapel i. w. S. (d. h. Stapel plus Stromathylakoide) änderte sich bei Fichte K3 innerhalb der Vegetationsperiode kaum (Abb. 43). Jedoch fand während der Ergrünung eine Umorganisation der Grana statt: es erhöhte sich die Anzahl der Thylakoide in den Stapeln. Enthalten Anfang Mai etwa 30 % der Stapel drei oder mehr Thylakoide, so verdoppelte sich dieser Wert ab dem Hochsommer bis zum Ende der Vegetationsperiode (Abb. 44). Im Sommer sind Chloroplasten mit gut entwickeltem Membransystem aus Stromathylakoiden und Grana mit 7 bis 8 gestapelten Thylakoiden beschrieben (SOIKKELI, 1977, 1980), wie bei den Chloroplasten von K3 ebenfalls gefunden wurde (Abb. 47). Diese Befunde belegen, daß während der Ergrünung eine Neusynthese von Thylakoidmembranen erfolgt, welche in vorhandene Stapel integriert werden. Diese

Integration geschieht als dichtere Packung der Thylakoide in den größeren Stapeln. Die neu synthetisierten Chlorophyll-Protein-Komplexe werden in das z. T. neu synthetisierte und umorganisierte Membransystem eingebaut, wie in Abb. 60 (Mitte) schematisch dargestellt.

Die an Fichtennadeln von K3 durchgeführten Fluoreszenzmessungen von SIEFERMANN-HARMS *et al.* (1997 d) zeigen, daß die Fluoreszenzeigenschaften der Nadeln durch die Änderungen ihrer Thylakoidorganisation nicht beeinflußt werden. Im Gegensatz hierzu wurden Erbsenpflanzen, deren Chloroplasten durch Anzucht der Pflanzen in schwachem bis mäßig starkem Licht mehr oder weniger große Thylakoidstapel entwickelten, im Starklicht um so mehr photoinhibiert, je größer ihre Thylakoidstapel waren (ANDERSON und ARO, 1994). Dieses unterschiedliche Verhalten ist wahrscheinlich auf die unterschiedlichen Versuchsbedingungen zurückzuführen. Bei Fichte K3 wurde die Vergrößerung der Thylakoidstapel in den Chloroplasten nicht durch Schwachlicht hervorgerufen, sondern entwickelte sich in sonnenexponierten Nadeln im Verlauf des Jahres. Die Umorganisation des Membransystems der Chloroplasten während der Ergrünung fand in allen Chloroplasten des Mesophylls von K3 statt, wie eine Zunahme des Chlorophyll-b/100 Chlorophyll-a Verhältnisses und damit indirekt eine Zunahme des Anteils an Photosystem II (PS II, im Innern der Granastapel lokalisiert) gegenüber Photosystem I (PS I, vor allem in den Stromathylakoiden lokalisiert) zeigt (BOXLER-BALDOMÀ *et al.*, 1997). Diese Befunde zeigen, daß die großen ultrastrukturellen Veränderungen, die in der Thylakoidorganisation innerhalb einer Vegetationsperiode stattfinden, sich nicht negativ auf die Funktion des Chloroplasten auswirken.

Im Lauf der Vegetationsperiode nahm bei K3 die Fläche und Zahl der Plastoglobuli zu. Eine Erhöhung der Plastoglobulizahl bei alternden Nadeln ist für die Fichte von RUETZE und SCHMITT, (1988), SOIKKELI (1977) und für die Kiefer von SOIKKELI (1980) oder bei Angiospermen wie Spinat (LICHTENTHALER, 1969) oder auch bei Baumwolle (BONDADA und OOSTERHUIS, 1998) berichtet worden. Die Zunahme der Plastoglobuli wird mit der Seneszenz und mit dem Thylakoidmembranabbau in Beziehung gebracht (LICHTENTHALER, 1967; SENSER *et al.*, 1975; ZELNIG und GAILHOFER, 1989 BONDADA und OOSTERHUIS, 1998). Die vorjährigen Nadeln von K3 waren noch jung und zeigten kein Merkmal von Seneszenz. Die Erhöhung der Plastoglobulifläche in jungen Nadeln kann damit erklärt werden, daß sich die Chloroplasten und letztlich die Pflanze auf den Winter vorbereiteten. Untersuchungen an der Kiefer (VOGG *et al.*, 1998) haben gezeigt, daß die frostfesten Kiefern die Fluidität ihrer Thylakoidmembranen und damit das Überleben bei niedrigen Temperaturen durch eine Änderung der Protein- und Lipidzusammensetzung der Thylakoide sichern. Schon LICHTENTHALER und PEVELING (1967) sahen in den Plastoglobuli den Speicherort von neu synthetisierten Lipiden, die mit Membranbildungsprozessen zusammenhängen, und SUTINEN (1987 a) erklärte diese Plastoglobulizunahme im Herbst bei jungen Nadeln mit einer Schutzfunktion im Winter und nicht als Seneszenzerscheinung. Damit würden die Plastoglobuli bei jungen Nadeln u. a. die für die neue Lebensphase neu synthetisierten und noch nicht in die Thylakoide eingebauten Lipide enthalten, die auch teilweise zur Energiegewinnung katabolisiert werden könnten. Dies würde auch die

Das Thylakoidsystem bei Chloroplasten vergilbender Nadeln

Erhöhung der Lipidmenge in den Thylakoiden im Winter (SENSER und BECK, 1982), und das Verschwinden der Plastoglobuli im Laufe des Winters erklären.

In den drei untersuchten Vegetationsperioden war in den Chloroplasten der Kontrollfichte K3 im Oktober das Membransystem immer vorhanden und gut entwickelt (Abb. 31 c, f, vergl. SOIKKELI, 1977). Kleine Anschwellungen mancher Thylakoide wurden gelegentlich beobachtet, aber Verformungen oder sogar Membranabbau wurden entgegen den Beobachtungen anderer Autoren (SENSER *et al.*, 1975) zu diesem Zeitpunkt nicht festgestellt.

4.2.4. Das Thylakoidsystem bei Chloroplasten vergilbender Nadeln

4.2.4.1. Änderungen während des Vergilbungsvorgangs

Vergilbung ist bei den geschädigten Fichten am Schöllkopf ein durch intensive Sonneneinstrahlung geförderter Prozeß (SIEFERMANN-HARMS, 1995 b). Dabei sind die Photopigmente gegen die destruktive Wirkung von Sonnenlicht nicht mehr geschützt. Der Zeitpunkt, an dem die Vergilbung bei Fichte F33 einsetzte, änderte sich von Jahr zu Jahr. Er war nicht voraussagbar. Vergilbungsschübe, bei denen innerhalb von drei bis fünf Wochen der Chlorophyllgehalt der Nadeln um 50% zurückging, wurden 1994 und 1995 beobachtet. Bei F33 fand ein Anstieg des Chlorophyllgehalts der vorjährigen Nadeln am Anfang der Vegetationsperiode, wie er bei K3 beobachtet wurde, nicht statt. 1994 nahm der Chlorophyllgehalt schon ab Ende Mai stark ab, bevor eine Ergrünungsphase wie bei K3 eingesetzt hätte, und 1995 begann der Abfall des Chlorophyllgehalts Mitte Mai etwas weniger ausgeprägt als ein Jahr zuvor (SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 d).

Es stellte sich die Frage, welchen Zusammenhang es zwischen der Chlorophyllabnahme und Veränderungen der Chloroplastenzahl geben könnte (s. Abb. 61 a). Wie schon erwähnt blieb die Anzahl an Chloroplasten in den drei untersuchten Vegetationsperioden bei F33 (genau so wie bei K3) unverändert. Damit ist die Möglichkeit, eine Verringerung der Chloroplastenzahl für die Chlorophyllabnahme verantwortlich zu machen, ausgeschlossen. In den Chloroplasten der Fichte F33 verringerte sich mit Einsetzen der Vergilbung die Thylakoidschnittfläche, um innerhalb weniger Wochen auf ca. 50% ihrer Ausgangswerte abzusinken. Damit stellten sich weitere Fragen: Was geschieht mit den Chloroplasten und ihrem Membransystem während der Vergilbung? Verringert sich die Fläche der Thylakoide proportional mit der Größe der Chloroplasten oder ist diese Thylakoidflächenabnahme davon unabhängig (s. Abb. 61 b-d). Und wie sind die Thylakoide dann in den Chloroplasten der vergilbten Nadeln organisiert?

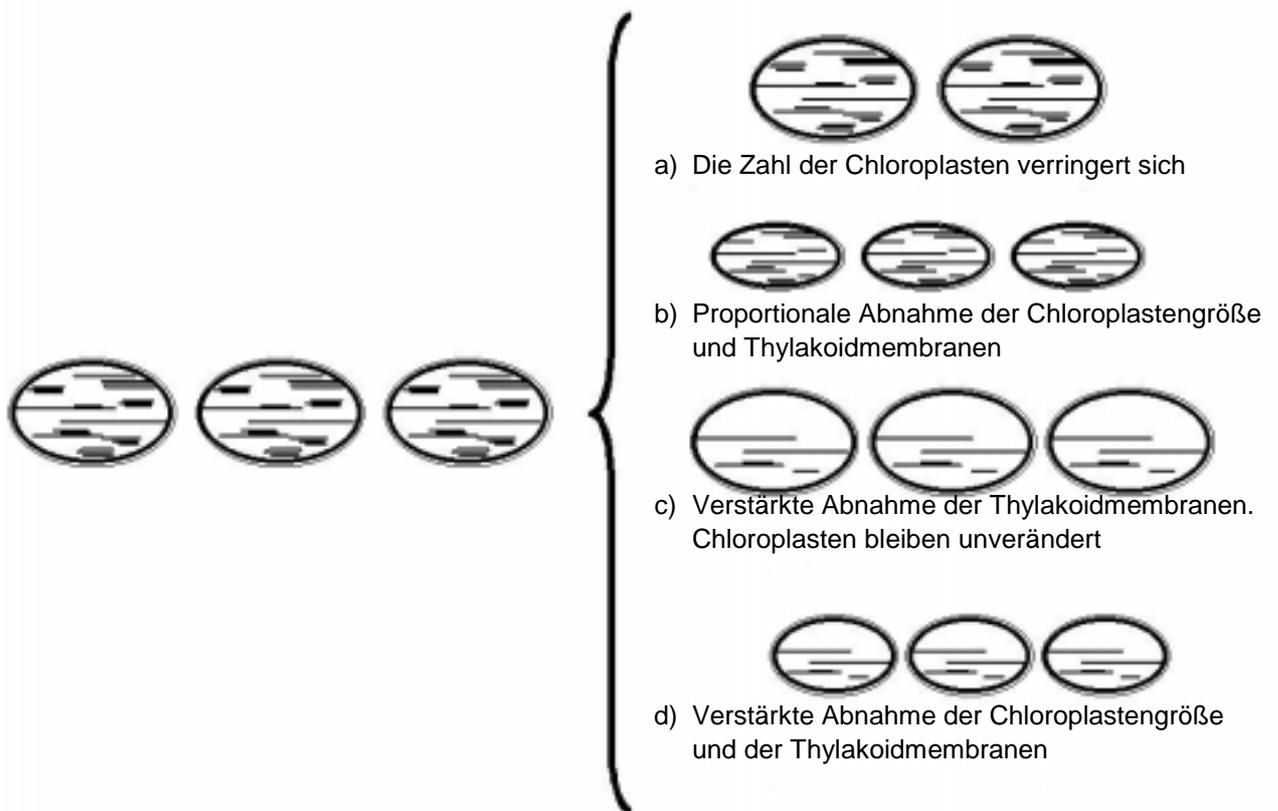


Abb. 61 Während der Vergilbung könnte (a) ein Teil der Chloroplasten ganz verschwinden. Andererseits könnten die Chloroplasten (b) in gleicher Proportion wie ihre Thylakoidmembranen an Größe abnehmen; oder bei starkem Membranabbau (c) ihre Größe beibehalten oder (d) weniger stark ändern.

Mit der Abnahme des Chlorophyllgehalts wurde die Vergilbung sichtbar. Als diese einsetzte, begannen die Chloroplasten kleiner zu werden. Das heißt, eine Verringerung der Schnittfläche der Chloroplasten fand nicht vor der Vergilbung statt. Damit war eine Reduktion der Größe der Chloroplasten von F33 nicht Voraussetzung für den Chlorophyllabbau. Eine Verringerung der Chloroplastengröße ist in „open-top“ Kammerversuchen von Fichten (SUTINEN *et al.*, 1990), die mit Luftschadstoffen behandelt wurden und auch bei Kiefern (MCQUATTIE und SCHIER, 1992; BÄCK *et al.* 1994) beobachtet worden.

Die plötzliche Abnahme des Chlorophyllgehalts der Nadeln von F33 war von physiologischen Veränderungen des photosynthetischen Apparates begleitet: Die Säure- und Photostabilität des peripheren Antennenkomplexes von PS II (LHC II) nahm ab (SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 d). Es besteht ein direkter Zusammenhang zwischen der Säurelabilität und der Photolabilität des LHC's: Je mehr säurelabiles Chlorophyll-a im LHC vorhanden ist, desto weniger sind die LHC-gebundenen Pigmente vor Photooxidation geschützt (SIEFERMANN-HARMS 1995 b). Durch erhöhten Zutritt von Sauerstoff oder von hoch reaktiven Sauerstoffspezies (ROS; reactive oxygen species) unterliegen die

Änderungen während des Vergilbungsvorgangs

lichtempfindlichen Chlorophylle einer verstärkten lichtabhängigen Zerstörung. Chlorophyll-b, Gesamt-Carotin und Neoxanthin nahmen während der Vergilbung in gleicher Verhältnis wie Chlorophyll-a ab (SIEFERMANN-HARMS, 1995 b). Sind die Pigmente beschädigt, dann werden LHC-Proteine schneller abgebaut (THOMA, 1997). Der Abbau spielt sich im Stroma durch Proteasen ab (ANDERSON und ARO, 1997), was möglicherweise mit dem Aussehen des Stromas zusammenhängt (s. Abb. 16), welches bei F33 "körniger" und elektronendichter erschien (vergl. MCQUATTIE und SCHIER, 1992; SELLDÉN *et al.*, 1997). Der Abbau kann aber auch durch eine thylakoidgebundene Endopeptidase erfolgen (CASANO *et al.*, 1994). Diese Autoren haben nach ihren Befunden in *Avena sativa* vorgeschlagen, daß hohe Lichtintensitäten die Bildung von Hydroxylradikalen ($\cdot\text{OH}$) begünstigen, welche die Proteine so modifizieren, daß sie von der Endopeptidase erkannt werden und damit hydrolysiert werden können. Nicht nur die Antennenkomplexe wurden schneller abgebaut, sondern auch die Reaktionszentren waren davon betroffen: Das D1 Protein begann schon vor der Vergilbung Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Fichten zu zeigen. Obwohl die Syntheserate des D1-Proteins unter Streßbedingungen deutlich zunahm, wurde es schneller abgebaut (GODDE, 1997). PS II ist ohne das D1-Reaktionszentrumspolypeptid nicht stabil und zerfällt.

Wenn die erwähnten Proteine, Pigmente und Proteinkomplexe als Teil der Thylakoidmembranen abgebaut werden, dann wäre zu erwarten, daß die Membranen auch abgebaut würden. Dies war der Fall in den vergilbenden Nadeln von F33. Deshalb kann der Abbau der Thylakoidmembranen als Folge des Abbaus der Komponenten des Photosyntheseapparates angesehen werden. Hier erfolgte der Chlorophyll-Abbau, proportional und zeitlich parallel zu der Abnahme der Chloroplastenfläche o.S., der Stromafäche und der Thylakoidfläche (Abb. 35, 37 und 39).

Die proportionale Abnahme der genannten Parameter war nicht von einem Verschwinden der Granathylakoide begleitet. Bis Juli waren trotz Stärke-Akkumulation noch Granastapel zu sehen (Abb. 45). In den wenigen vorhandenen Thylakoidmembranen der vergilbten Nadeln von F33 fand eine effiziente CO_2 -Fixierung trotz Chlorophyll-Abnahme, LHC II-Destabilisierung und Membranabbau statt: d. h. bei F33 gingen die Chlorophyll-Abnahme und die LHC II-Destabilisierung den funktionellen Störungen des Photosyntheseapparates voraus (SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1996). Vergleichbare Ergebnisse sind auch bei krautigen Pflanzen beschrieben worden (DANNEHL *et al.*, 1995; GODDE und DANNEHL, 1994). Ab Juli aber verringerte sich die Anzahl und die Stapelung der Granathylakoide (Abb. 44), und auch die Thylakoidfläche ging weiter zurück, allerdings nicht mehr so abrupt wie zu Beginn der Vergilbung. Die Chloroplastenschnittfläche o.S. und die Stromafäche änderten sich jedoch kaum bzw. nicht.

Diese Befunde lassen annehmen, daß die Vergilbung der Fichte F33 in zwei Phasen abläuft. In der ersten Phase -von Beginn der Vergilbung bis zum Sommer- fand eine Verkleinerung des Photosyntheseapparates bei noch bleibender Funktionsfähigkeit statt. Ultrastrukturell bedeutet dies, daß parallel mit der Vergilbung eine dazu proportionale

Abnahme der Thylakoide (Abb. 39 oben und Mitte) und der Größe des Chloroplasten (Abb. 35 und 37, oben und Mitte) stattfand. Dies entspricht der in Abbildung 61 dargestellten Möglichkeit "b". In der zweiten Phase, ab dem Sommer bis Ende der Vegetationsperiode, fand eine Umorganisation der Thylakoidstapelung in den Chloroplasten statt. Der Membranabbau erfolgte langsamer und nicht mehr proportional zu den Parametern der Chloroplasten-Größe (Chloroplastenschnittfläche o.S., Stroma). Eine Abnahme der Größe der Chloroplasten und des Membransystems ist auch von HE *et al.*, (1994), KURA-HOTA *et al.*, (1990), PALOMÄKI, (1995), und SUTINEN (1987b, 1990) beschrieben worden. Bei letzterer Autorin und bei SENSER *et al.*, (1975), SCHIFFGENS-GRUBER und LÜTZ, (1992) fand der Abbau bevorzugt an den großen Stapeln statt. In der zweiten Phase des Abbauprozesses begannen die Chloroplasten, wie die morphometrischen Parameter zur Länge der Schnitte S1-S3 zeigen, ihre Form zu ändern (sie wurden rund) (Abb. 42). Änderungen der Form und Größe unter Einwirkung abiotischer Faktoren wurden auch bei Kammer-Versuchen (SCHIFFGENS-GRUBER, und LÜTZ, 1992; SUTINEN, 1990) und bei Freilandversuchen (BÄCK *et al.*, 1994; SUTINEN, 1987 b) mit Fichten oder bei *Pisum sativum* (HE *et al.*, 1994) beschrieben.

Das Verschwinden der Thylakoide, insbesondere der Granathylakoide geschah in der zweiten Phase ohne Veränderung des Grades der Vergilbung bzw. die Vergilbung war in der ersten Phase (bis Ende Juli) vollendet. Ab diesem Zeitpunkt vollzog sich nur ein weiterer Abbau eines nicht mehr funktionsfähigen Organells. Dies beantwortet die am Anfang dieses Kapitels gestellten Fragen: während der Vergilbung reduzierte sich die Größe der Chloroplasten und die Menge an Thylakoiden. Innerhalb der ganzen Vegetationsperiode war der Membranabbau allerdings ausgeprägter als die Reduktion der Größe der Chloroplasten. Dies entspricht der Möglichkeit "d" in Abbildung 61: die Größe der Chloroplasten und die Thylakoidmembran nehmen ab, aber nicht proportional.

Ein Erhöhung der Zahl der Plastoglobuli ist ein Merkmal von normaler Seneszenz oder von vorzeitiger Seneszenz, die von abiotischen Stressoren verursacht werden kann (BÄCK *et al.*, 1994; HE *et al.*, 1994; KURA-HOTA *et al.*, 1990; MCQUATTIE und SCHIER 1992; SCHIFFGENS-GRUBER, und LÜTZ, 1992; PALOMÄKI, 1995; SENSER *et al.*, 1975; SOIKKELI, 1980; SUTINEN, 1987 b, 1990). Ein erhöhter Transfer des lipophilen Membranmaterials von F33 in die Plastoglobuli schien vorerst nicht stattgefunden zu haben. Die Fläche der Plastoglobuli variierte stark und stieg im Jahresgang bei der vergilbten Fichte F33 in ähnlicher Weise an wie bei der Kontrollfichte K3. Allerdings nahm die Stromafläche bei F33 ab; damit nahmen Plastoglobuli von F33 relativ zum Stroma eine größere Fläche ein als bei K3. Da die Thylakoide während der Vergilbung abgebaut wurden, ist es denkbar, daß ihre Lipidkomponente in die Plastoglobuli eingebaut wurde (KURA-HOTA *et al.*, 1990; SUTINEN, 1987 b), und möglicherweise keine Vorbereitungen für die winterlichen Thylakoide, wie bei K3 angenommen, eintraten, sondern daß sich die lipophilen Bestandteile der abgebauten Membranen vorerst in den Plastoglobuli ansammelten. Weil aber die Kohlenstoffversorgung des Baumes beeinträchtigt war, erfolgte diese Ansammlung nur vorübergehend. Glycodyacylglycerine (Mono- und Digalaktosyldiacylglycerin) oder Plastochinone können zur

Wirkung der Beschattung auf das Thylakoidsystem

Energiegewinnung eingesetzt werden. Dadurch könnte die Versorgung des vergilbten Chloroplasten selbst und seiner Mesophyllzellen noch eine Weile gesichert werden. Möglicherweise ist dies der Grund, weshalb der Unterschied zwischen der Plastoglobulifläche von F33 und K3 nicht größer war und weitere Schäden im Mesophyll nicht beobachtet wurden.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß die Vergilbung der Fichte F33 am Schöllkopf in zwei Phasen verlief. In einer ersten Phase, die sich bis Juli erstreckte, erfolgte die Vergilbung *per se*, wobei der Photosyntheseapparat sich verringerte, ohne seine Funktionsfähigkeit zu verlieren. In der zweiten Phase, ab Juli, war die Vergilbung vollzogen, während sich der Membranabbau fortsetzte.

4.2.4.2. Wirkung der Beschattung auf das Thylakoidsystem

Um die Hypothese zu überprüfen, ob die Abnahme des Chlorophyllgehaltes und damit der Thylakoidmembranen bei der Fichte 33 ein lichtabhängiger Prozeß ist, wurden die untersuchten Fichten zum Teil beschattet. Damit konnte die Auswirkung hoher Lichtintensität bzw. die Auswirkung der Beschattung bei gleichbleibenden übrigen Belastungen (Magnesiummangel, Ozonbelastung) untersucht werden. SIEFERMANN-HARMS *et al.*, (1997 e) beobachteten, daß mit Beginn der Beschattung der Chlorophyllabbau unterblieb. Anschließend begann der Chlorophyllgehalt zu steigen. Dabei erreichte er ähnliche Werte wie in den Licht- und Schattennadeln der Kontrollfichte K3.

Die Beschattung bei der Kontrollfichte K3 bewirkte keine signifikante Veränderungen der Thylakoidfläche. Die Thylakoidschnittfläche nahm bei den beschatteten Nadeln von F33 nicht gleichzeitig mit dem Chlorophyllgehalt zu. Trotzdem besaßen die Chloroplasten nun ein relativ gut ausgebildetes Membransystem aus Stroma- und Granathylakoiden, und die Nadeln blieben grün (SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 e). Nur in der Sommerprobe war bei den beschatteten Nadeln eine signifikante Erhöhung der Thylakoidfläche festzustellen. Es scheint, daß die Beschattung den Membranabbau in der ersten Phase der Vergilbung (proportionale Verringerung der Chloroplastengröße und Thylakoidfläche) nicht unterbinden konnte, wohl aber den Abbau der Chlorophylle. Die anschließend neu synthetisierten Chlorophyll-Protein-Komplexe wurden in die vorhandenen Membranen eingebaut. Auch wenn das Thylakoidmembransystem nicht regenerierte (die Thylakoidschnittfläche erholte sich nicht), dürfte der Einbau der Chlorophyll-Protein-Komplexe ähnlich wie bei K3 bei der Ergrünung erfolgt sein, d. h. als sich ausdehnendes und dichter gepacktes Membransystem (s. Abb. 60). Ein weiterer Abbau der Thylakoidmembranen wie bei den Chloroplasten der lichtexponierten Nadeln fand bei den beschatteten Nadeln von F33 nicht statt. Die Beschattung konnte eine "ganz normale" Ergrünung nicht wiederherstellen, die Thylakoidschnitt- und die Stromafläche von F33 erreichten nicht die Werte von K3. Auch die physiologischen Parameter von SIEFERMANN-HARMS *et al.*, (1997 e) sprechen dafür: Der

LHC II der beschatteten Nadeln von F33 zeigte sich stabil, aber PS II wies signifikante Störungen auf.

Die Pflanzen haben verschiedene Mechanismen entwickelt, sich vor oxidativem Streß zu schützen. So wird etwa α -Tocopherol, einer weiteren Komponente der Plastoglobuli, eine Rolle als lipophiles Antioxidans und damit als Schutz indirekt gegen hohe Ozonkonzentrationen oder direkt gegen hohe Lichtintensitäten zugeschrieben (ALSCHER *et al.*, 1997). Die Plastoglobuliflächen von F33 und K3 nahmen mit der Beschattung im Sommer ab, was für diese Annahme sprechen könnte. Da die Plastoglobuliflächen sich bei beiden Fichten ähnlich verhielten, dürften die Plastoglobuli bei der Ergrünung der beschatteten Nadeln von F33 keine besondere Rolle gespielt haben.

4.2.4.3. Wirkung einer diagnostischen Düngung auf das Thylakoidsystem

Die beiden untersuchten Fichten waren der gleichen Lichtintensität ausgesetzt, aber nur F33 vergilbte. Eine weitere Ursache der Vergilbung ist in einer Störung der Mineralversorgung bzw. im Magnesiummangel zu suchen. Es ist bekannt, daß ungenügende Mineralversorgung zu Mangelercheinungen in den Pflanzen führt, welche sich auf die Morphologie, bzw. letztlich auf die Ultrastruktur auswirkt (HECHT-BUCHHOLZ *et al.*, 1987; HÜTTL und FINK, 1988; FINK, 1991; FORSCHNER *et al.*, 1989; Marschner, 1995; MEHNE-JAKOBS und GÜLPEN, 1997; POLLE *et al.*, 1994; SCHÄEDLER *et al.*, 1989; TÜRK *et al.*, 1993). Magnesiummangel verursacht Veränderungen in der Ultrastruktur der Chloroplasten (FINK, 1991, 1993); aber auch die Behandlung mit Aluminium verursacht vergleichbare Erscheinungen wie Magnesiummangel (MCQUATTIE und SCHIER, 1992). Es gibt Unterschiede zwischen einer durch reinen Magnesiummangel verursachten Vergilbung und der Vergilbung am Schöllkopf. Unter reinem Magnesiummangel findet ein langsamer Vergilbungsvorgang mit langsamem stetigen Chlorophyllabbau statt, welcher unter der Abbaurate von F33 bleibt (MEHNE-JAKOBS, 1994, 1995, 1996, 1997). Bei Fichtenkeimlingen, die unter Mg-Mangel wuchsen, verlief die Vergilbung ohne Destabilisierung des LHC II (SIEFERMANN-HARMS, 1996). Ein weiterer Unterschied zwischen der Vergilbung am Schöllkopf und der allein durch Magnesiummangel hervorgerufenen Vergilbung ist, daß bei der untersuchten Fichte F33 die Vergilbungsschübe einsetzen, bevor im Mesophyll eine Anreicherung löslicher Zucker festzustellen war (EINIG und MEHNE-JAKOBS, 1997). Das Gegenteil geschieht bei einer Vergilbung, die auf reinem Magnesiummangel beruht (MEHNE-JAKOBS, 1995, 1997). Die Befunde der 1. Schöllkopfstudie ließen vermuten, daß der Vergilbungsvorgang am Schöllkopf nicht allein auf einer durch Magnesiummangel bedingten verlangsamten Neusynthese von Chlorophyll-Protein-Komplexen, sondern auch auf dem verstärkten Abbau des Photosyntheseapparates beruht (SIEFERMANN-HARMS, 1995 b). Dies bestätigte sich in der 2. Schöllkopfstudie (SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 c; GODDE 1997). Magnesiummangel reichte nicht aus, um den LHC II zu destabilisieren

Ozon und die Vergilbung der Fichtennadel

(SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 e). Zusätzlich waren hohe Lichtintensitäten, welchen die sonnenexponierten Nadeln ausgesetzt waren, erforderlich, damit die Vergilbung auftrat. Diese Befunde deuten darauf hin, daß Magnesiummangel am Schöllkopf nicht die einzige Ursache der Vergilbung, jedoch an dieser beteiligt ist.

In der Vegetationsperiode 1996, nach Einwirkung der Magnesiumdüngung, stieg der Magnesiumgehalt der vorjährigen Nadeln von F33 an (SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 e; SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 f). Die Thylakoidquerschnittsfläche und die anderen morphometrischen Parameter der Chloroplasten (z. B. Chloroplastenschnittfläche o.S. oder Stromafäche) entsprachen bei den grün gebliebenen Nadeln der Fichte 33 denen der Kontrollfichte K3. Allerdings stimmten die Chl-Gehalte beider Fichten nur bis Mitte Juli überein. Während sie bei Fichte F33 auf dem erreichten Niveau blieben, stiegen sie bei Fichte K3 weiter an (SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 c). Der D1-Umsatz (GODDE, 1997) und die Säurelabilität des LHC II (SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 c) blieben trotz Ergrünung erhöht, d. h. es fand keine völlige Erholung des Baumes statt. Trotzdem deuten diese Befunde auf eine Abnahme der Streßbelastung der Fichte hin, welche sich auch in der Thylakoidorganisation widerspiegelt: Ausgedehnte Stapelsysteme mit sechs oder mehr Granathylakoiden waren am Ende der Vegetationsperiode bei F33 ebenso wie bei K3 vorhanden. Eine Erhöhung des Magnesiumsgehalts in den Nadeln von F33 dürfte anders als die Beschattung zu verstärkter Chlorophyll-Synthese geführt haben (SIEFERMANN-HARMS, 1996). Im Gegensatz zu der Beschattung und der Vergilbung fand kein Membranabbau mehr statt, sondern nur der Einbau von Chlorophyll-Protein-Komplexen in die Membranen. Nach den Ergebnissen der Messungen der Thylakoidfläche wurden die Chlorophyll-Protein-Komplexe bei den Nadeln von F33, nach Erhöhung des Magnesiumsgehaltes, genau wie bei den Nadeln von K3, d. h., in ein intaktes Membransystem eingebaut.

4.2.4.4. Ozon und die Vergilbung der Fichtennadel

Die bis jetzt darstellten Befunde zeigen, daß hohe Lichtintensität und Mineralmangel bei der Vergilbung der Nadeln zwar beteiligt sind, daß die Verminderung dieser Belastungen jedoch keine "ganz normale" Ergrünung hervorruft. In ihren Untersuchungen stellte SIEFERMANN-HARMS (1997 b) fest, daß beim Unterschreiten einer bestimmten Magnesiumkonzentration die Destabilisierung von LHC II nur dann stattfand, wenn die Ozonkonzentration der Luft erhöht war. Magnesiummangel allein reichte nicht für die Destabilisierung von LHC II aus. Bei Konzentrationen von "freiem" (nicht chlorophyll-gebundenen) Magnesium von 0,12 mg/g TS oder weniger bestand eine direkte Korrelation zwischen der Labilität des LHC II und der Ozonkonzentration, was letztlich zu einem morphometrisch meßbaren Membranabbau der Chloroplasten führte.

Ein weiterer Faktor, welcher sich auf die Vergilbung auswirkt, ist damit Ozon. Ozon verursacht allgemein eine frühzeitige Seneszenz der Blätter (PELL *et al.*, 1997), und entfaltet seine negative Wirkung auf die Pflanzen bzw. Blätter durch die Produktion von ROS (ALSCHER *et al.*, 1997). Der Wirkungsort von Ozon ist nicht direkt der Chloroplast, wie bei der hohen Lichtintensität, sondern die Zellmembran (PELL *et al.*, 1997; MATYSSEK *et al.*, 1997; WELLBURN *et al.*, 1997; SANDERMANN *et al.*, 1998). Nach SAKAKI *et al.*, (1994) verursacht Ozon eine Erhöhung der Aktivität von Lipasen, welche mit Monogalaktosyldiacylglycerid, einem Bestandteil der Chloroplastenmembran, reagieren, um freie Fettsäuren zu erzeugen, welche peroxidiert werden können. Nun ist es möglich, daß bei der Lipidperoxidation RO-Spezies entstehen. Diese würden den Abbau des photosynthetischen Apparates und parallel des Membransystems fördern.

Die untersuchte Kontrollfichte K3 war der gleichen Menge an Ozon ausgesetzt wie die Fichte F33. Trotzdem vergilbte sie nicht und das Membransystem ihrer Chloroplasten wurde nicht abgebaut. Die Veränderungen der Ultrastruktur der Chloroplasten während der Vergilbung am Schöllkopf beruhen auf der Belastung der Pflanzen mit multifaktoriellen abiotischen Stressoren. Abhängig von ihrem jeweiligen Ausmaß können sie synergistisch zur Vergilbung führen. Die beobachteten Stress-Erscheinungen, wie die Verringerung der Thylakoidmembranen insbesondere der Granathylakoide oder die Stärke-Akkumulation sind nicht charakteristisch für einen bestimmten Stressor. Es handelt sich um nicht-spezifische Antworten der Pflanzen auf Stress, die als Indikatoren der Regulations- bzw. Anpassungsversuche des Photosyntheseapparates an die neuen Bedingungen anzusehen sind.

4.3. Auswirkung abiotischer Faktoren auf den Zentralzylinder

Als dritter Einwirkungsort abiotischer Stressoren wurde bei Fichtennadeln der Zentralzylinder erwähnt. Es ist bekannt, daß Schädigungen in diesem zentralen Bereich der Nadeln als fortgeschrittenes Stadium der Einwirkung von Immissionen (SUTINEN, 1987 a, b; ENDLER *et al.*, 1990) aber auch als frühe Reaktion auf Mineralmangel (Fink, 1989, 1992) auftreten können. FINK (1989, 1992) schlug daher vor, daß anhand des Schadensverlaufs zwischen Luftschadstoffen und Mineralmangel als Verursacher unterschieden werden kann (s. Abb. 59).

4.3.1. Das Leitbündel grüner Nadeln

Das Wachstum und die Entwicklung einer Pflanze hängt von der Verfügbarkeit von Photoassimilaten für alle ihre Organe ab. Der Transport der Assimilate von den Produzenten („source“) zu den Verbrauchern („sink“) besteht aus zwei Phasen. Der

Das Leitbündel grüner Nadeln

transversale Transport stellt die erste Phase dar. Sie besteht aus dem Kurz- und dem Mittelstreckentransport. Diese erste Phase beginnt bei den Fichtennadeln in den Chloroplasten der Mesophyllzellen, geht über die Endodermis und endet mit der Beladung des Phloems. Die Endodermis als inneres Abschlußgewebe, welches zwei Gewebekomplexe mit unterschiedlicher Funktion trennt und als physiologische Trennscheide wirkt, stellt aufgrund ihrer Lage eine Trennung/Grenze zwischen dem photosynthetischen Gewebe und dem Leitbündel dar (CARDE, 1978). Die Anordnung ihrer Tüpfel sichert den transversalen Transport der Nährstoffe innerhalb der Nadeln vom Mesophyll zum Leitbündel. In der zweiten Phase, dem Langstreckentransport, werden die Transportbahnen des Phloems der Äste und Stämme verwendet, um die Photoassimilate zu den Verbrauchern bzw. Sink-Organen zu befördern. Das Phloem stellt hierbei ein symplastisches Kontinuum zwischen „Source“ und „Sink“ dar (BLECHSCHMIDT-SCHNEIDER *et al.*, 1997). Als Mechanismus für diesen Transport wird eine durch einen osmotischen Gradienten (Druckstromtheorie, MÜNCH, 1930) geförderte Lösungsströmung angenommen (ESCHRICH *et al.*, 1972). Damit setzt die Versorgung der Pflanze ein intaktes Leitbündel und seine Beladung voraus. Dies soll für die Lebensdauer der Fichtennadeln gewährleistet sein. SUTINEN (1987 a und b) und BLECHSCHMIDT-SCHNEIDER (1989) beobachteten, daß unabhängig von Wachstumsbedingungen die zuletzt gebildeten und ausdifferenzierten Siebzellen älterer Nadeln (sechs Jahre) voll funktionsfähig waren. In den drei hier untersuchten Vegetationsperioden zeigten die vorjährigen Nadeln von K3 keinerlei Vergilbungserscheinungen, und im Zentralzylinder traten keine Veränderungen auf. Der von der einschichtigen Endodermis umgebene Zentralzylinder bestand aus Transfusionsparenchym, Transfusionstracheiden, Strasburgerzellen, Sklerenchymkappenzellen und dem Leitbündel aus Xylem, Kambium und Phloem, die in keinem Moment anormale Veränderungen aufwiesen. Dies zeigten die mikroskopischen Aufnahmen (Tafel 1 – 3, 5, 6 und Abb. 49 oben) die morphometrischen Messungen des Zentralzylinders (Kap. 3.3.) sowie der Befund, daß im Sommer keine zweite Stärke-Akkumulation in den Chloroplasten stattfand, nachdem die im Frühjahr akkumulierte Stärke abgebaut war (Kap. 3.2.6., Tafel 7 II).

4.3.2. Das Leitbündel vergilbender Nadeln

4.3.2.1. Änderungen während des Vergilbungsvorgangs

Die sommerliche Akkumulation von Stärke in den Chloroplasten der Mesophyllzellen wird mit einem nicht intakten Phloem bzw. einem frühzeitigen Phloemkollaps und mit einer mangelhaften bzw. geschädigten Beladung desselben in Beziehung gebracht (HANNICK *et al.*, 1993; MATYSSEK *et al.*, 1992). Verschiedene Autoren haben gleichzeitig eine Stärke-Akkumulation und einen frühzeitigen Phloemkollaps bei Fichten beobachtet (FINK, 1987 und 1991; FORSCHNER *et al.*, 1989; PARAMESWARAN *et al.*, 1985, PUECH und MEHNE-JAKOBS, 1997; SCHMITT *et al.*, 1986). Bei Fichte F33 erfolgte die Stärke-Akkumulation, nachdem die

ersten Veränderungen am Leitbündel stattgefunden hatten, und bevor das Phloem vollständig kollabiert war. Dieser Befund, zusammen mit den Ergebnissen des Kohlenhydratstoffwechsels (EINIG und Mehne-JAKOBS, 1997), der strukturellen Veränderung in den Chloroplasten sowie den dazugehörigen physiologischen Ergebnissen von SIEFERMANN-HARMS *et al.*, (1997 c) und GODDE (1997) könnten anhand folgender Hypothese erklärt werden: Die Stärke-Akkumulation in den Fichtennadeln am Schöllkopf ist auf eine verminderte Beladung des Phloems mit Photoassimilaten zurückzuführen. Dies sei im folgenden näher ausgeführt.

Bei Gymnospermen haben Siebzelle und Strasburgerzelle, im Gegensatz zu Siebelement und Geleitzelle der Angiospermen, nicht eine gemeinsame mütterliche Kambiumzelle, sondern sie gehen aus zwei unterschiedlichen Kambiumzellen hervor (JURZITZA, 1987). Analog zu den Geleitzellen sind die Strasburgerzellen für die Phloembeladung verantwortlich (SRIVASTAVA und O'BRAIN, 1966; BLECHSCHMIDT-SCHNEIDER, 1989 und BLECHSCHMIDT-SCHNEIDER *et al.*, 1997). Folgende Vorgänge könnten bei Fichte F33 zum Phloemkollaps führen. In der ersten Phase der Vergilbung, von Mai bis Juli, wird der Photosyntheseapparat allmählich abgebaut, ohne daß er seine Funktionsfähigkeit verliert, d. h. Stärke wird weiter, aber in kleineren Mengen produziert. Je mehr der Photosyntheseapparat zerstört wird, desto weniger Assimilate werden erzeugt, und damit gelangen weniger Assimilate ins Phloem. Außerdem könnten abiotische Faktoren (hohe Lichtintensität, Luftschadstoffe, Mineralmangel) zu einer verringerten Phloembeladung beitragen. Als Folge wird die Menge an Assimilaten, die zu den „Sink“-Organen geliefert werden, immer kleiner. Versuche von FISCHER und BUSSLER (1988) mit *Phaseolus vulgaris* unter Magnesiummangel zeigten, daß eine Korrelation zwischen der Akkumulation von nicht-strukturgebundenen Kohlenhydraten und der Erniedrigung des Kohlenhydratgehalts in den „Sink“-Organen besteht. Bei Fichte F33 transportierte das Phloem nach Vergilbungsbeginn nicht mehr genügend Assimilate zu den „Sink“-Organen (1. Phase). Dieser Prozeß verstärkte sich mit fortschreitendem Phloemkollaps (2. Phase) im Sommer. Signale aus den „Sink“-Organen (z. B. im Xylem transportierte Hormone. MCDONAL und DAVIES (1996)), könnten den „Source“-Organen bzw. den Kambiumzellen die schlechte Assimilatversorgung anzeigen. Auch die Mesophyllzellen mit ihren stärkebeladenen Chloroplasten sowie die Transfusionparenchym- und Strasburger Zellen des Zentralzylinders mit ihren erhöhten Saccharosegehalten (EINIG und MEHNE-JAKOBS, 1997) könnten Signale an die Kambiumzellen senden (ALONI, 1980; BARBIER-BRYGOO *et al.*, 1997; FUKUDA, 1997; WATANABLE und SAKAI, 1998). Diese würden die Kambiumzellen dazu veranlassen, sich zu teilen, um neue Strasburgerzellen zu erzeugen, und um so zu versuchen, die Phloembeladung und damit die Versorgung der Pflanze mit photosynthetischen Assimilaten zu sichern. Die morphologischen Befunde (Abb. 49 Mitte) unterstützen diese Annahme. Im Leitbündel waren es die Kambiumzellen, die sich zuerst änderten. Ab Ende Mai waren Änderungen in ihrer Form zu beobachten, und Ende Juni bis Mitte August kam es vor allem zu einer Vermehrung der Kambiumzellen, welche von einer Vergrößerung der Kambiumfläche begleitet wurde. Allerdings fand eine normale Ausdifferenzierung der neuen Kambiumabkömmlinge nicht statt, wie das Ausbleiben der

Magnesium und Phloemkollaps

Bildung von Plasmodesmenfeldern als "Globe Pits" oder das Auftreten unvollkommener Zellwände zeigen (Tafel 5). Anomale Differenzierungen waren ab Mitte Juni deutlich zu sehen. Wahrscheinlich können diese Zellen nur wenige Assimilate zum Phloem befördern. Möglicherweise war es dieser Mangel, den die Kambiumabkömmlinge bzw. die nicht richtig differenzierten Strasburgerzellen durch Vermehrung ihrer Zahl (Hyperplasie) und Vergrößerung ihrer wirksamen Membranfläche (Hypertrophie) zu kompensieren versuchten. Parallel zu diesem Prozeß begannen die Siebzellen bei verringerter oder fehlender Phloembeladung an Innendruck (Turgordruck) zu verlieren. Der dabei immer größer werdende Wanddruck bewirkte, daß die Siebzellen vorübergehend oder endgültig in sich zusammenfielen, was zu Verkleinerung bzw. Verlust von verfügbaren Siebzellen mit offenen Lumina führte. Die wenige noch synthetisierte Stärke konnte kaum mehr verarbeitet bzw. weiter geleitet werden und wurde in den Chloroplasten gespeichert, was zu der zweiten Stärkeerhöhung in Sommer führte. Ab Juli, als die Vergilbung vollzogen war, konnten kaum mehr Assimilate geliefert werden. Gleichzeitig erhöhte sich die Vergrößerung bzw. die Hypertrophierung der Kambiumabkömmlinge, wie aus dem Vergleich der Fläche und Zellzahl des Kambiums zu schließen ist (Abb. 50 und 51). Die Stärke wurde nun wahrscheinlich für den eigenen Bedarf der Mesophyllzellen verwendet, was bis zum Herbst zum Verschwinden der Stärkekörner aus den Chloroplasten führte und erklärt, warum die Mesophyllzellen, mit Ausnahme des Thylakoidmembransystems, keine weiteren Schäden zeigten. Nun zerdrückten die hypertrophen und hyperplastischen Zellen die schon beschädigten Siebzellen irreversibel bis zur Unkenntlichkeit.

4.3.2.2. Magnesium und Phloemkollaps

Nach Fink ist der Phloemkollaps auf Mineralmangel zurückzuführen. In seinen Versuchen konnte er nachweisen, daß der Phloemkollaps nicht durch biotische Faktoren (Viren, Mykoplasmen) (FINK, 1987) sondern durch Mineralmangel hervorgerufen wird (FINK, 1989, 1991a und 1992). Bei reinen Magnesiummangel-Versuchen kam es zu vorzeitigem Phloemkollaps und bei Kaliummangel-Versuchen sogar zu Nekrosen von Mesophyllzellen. Auch Fichten aus anderen Gebieten (Hessen und Rheinland-Pfalz, FORSCHNER *et al.*, 1989; Belgien, HANNICK *et al.*, 1993) und aus Kammerversuchen (PUECH und MEHNE-JAKOBS, 1997), die unter Magnesiummangel litten, zeigten Phloemkollaps. Nach den Bodenanalysen ist am Schöllkopf der Bodengehalt an Magnesium gering bis sehr gering (HOCH *et al.*, 1997). Damit lag nahe, Magnesiummangel als Ursache für den Kollaps anzusehen und zu untersuchen, ob eine diagnostische Düngung mit Magnesium den Phloemkollaps vermeiden oder sogar eine Wiederergrünung der beschädigten Nadeln bewirken konnte.

1994 und 1995 wurde der Boden unter der Fichte F33 jeweils zweimal mit Bittersalz (49 % $MgSO_4$, 51% H_2O) gedüngt. 1995 konnten die ersten Reaktionen der Düngung an den neu getriebenen Nadeln beobachtet werden (HOCH *et al.*, 1997; SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1996), nicht aber bei den vorjährigen Nadeln, die weitgehend vergilbten und Phloemkollaps

aufwiesen. Erst 1996, als ein Anstieg der Magnesiumkonzentration in den vorjährigen Nadeln eintrat (HOCH *et al.*, 1997; SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 f), blieben die einjährigen Nadeln von F33 grün, das Leitbündel zeigte keinen Schaden (Abb. 50 unten), und es wurde keine sommerliche Stärkeansammlung in den Chloroplasten festgestellt (Abb. 46). FINK (1989, 1991a, 1992) und HANNICK *et al.*, (1993) bekamen vergleichbare Ergebnisse bei ihren Magnesiumdüngungsversuchen, der Phloemkollaps unterblieb. Aber weder in den Versuchen von HANNICK noch im vorliegenden Magnesiumdüngungsversuch konnte eine Wiederergrünung der schon geschädigten Nadeln erreicht werden: die zweijährigen Nadeln blieben gelb im Gegensatz zu den einjährigen (vorjährigen), die nicht vergilbten, sondern grün blieben.

Nach diesen Befunden stellte sich die Frage nach der Ursache der Veränderungen im Leitbündel unter Magnesiummangel und dem Zusammenhang zwischen Phloembeladung und Magnesiummangel. Wie schon erwähnt, wird angenommen, daß Akkumulation von Stärke im Mesophyll auf eine mangelhafte Phloembeladung zurückzuführen ist, welche mit dem Phloemkollaps und Magnesiummangel zusammenhängt (EINIG und MEHNE-JAKOBS, 1997; FINK, 1992; FORSCHNER *et al.*, 1989; HANNICK *et al.*, 1993; MATYSSEK *et al.*, 1992). Die in den letzten Jahren durchgeführten Forschungen haben gezeigt, daß es pflanzenspezifisch (Auhuber, persönliche Mitteilung; GAMALEI, 1991) zwei verschiedene Wege der Phloembeladung gibt (ESCHRICH und FROMM, 1994), einen apoplastischen und einen symplastischen. Beim apoplastischen Weg wird die Saccharose, die Hauptzuckerform im Phloem der meisten Pflanzen (ZIMMERMANN und ZIEGLER, 1975), via Saccharose-Protonen-Symport ins Phloem transportiert (GIAQUINTA, 1980; VAN BEL, 1993). Dieser Cotransporter läßt osmotisch aktive Saccharose gegen einen Konzentrationsgradienten in das Phloem ein (WARD *et al.*, 1998). Die für diesen aktiven Transport notwendige Energie wird von einer membrangebundenen H⁺-ATPase (BOUCHÉ-PILLON, 1994) durch Hydrolysierung von ATP geliefert. Bis zu 90% des Magnesiums einer Pflanzenzelle kommt als Mg-ATP-Komplex vor (YAZAKI *et al.*, 1988) und dies ist das Hauptsubstrat der ATPasen (REA und SANDERS, 1987). Damit ist die apoplastische Phloembeladung Magnesium-abhängig. Unter starkem Magnesiummangel kann keine Phloembeladung stattfinden, was zu Phloemkollaps und zur Stärke-Akkumulation in den Chloroplasten der Mesophyllzellen führen könnte. Dies würde die Hypothese von FINK (1992, s. o.), daß Magnesiummangel zum Phloemkollaps führt, bestätigen. Andererseits zeigen die ¹⁴C-Mikroautoradiographie-Versuche von BLECHSCHMIDT-SCHNEIDER (1989, 1990 und 1997), daß in Coniferen und insbesondere in der Fichte (aber auch bei manchen Angiospermen) die Phloembeladung auf symplastischem Weg erfolgt. Tatsächlich wurden H⁺-ATPasen, die mit einer apoplastischen Phloembeladung in Beziehung stehen, in den Nadeln der hier untersuchten Fichten durch Immunmarkierungen nicht nachgewiesen (BOXLER-BALDOMÀ und HEUMANN, unveröffentlichte Ergebnisse).

Symplastische Phloembeladung steht mit höherer Plasmodesmatahäufigkeit in Verbindung (BOTHÁ und CROSS, 1997, EVERT *et al.*, 1996; Lucas *et al.*, 1996; GAMALEI *et al.*, 1994; TURGEON 1996; WANG 1995). BLECHSCHMIDT-SCHNEIDER (1989 und BLECHSCHMIDT-

Magnesium und Phloemkollaps

SCHNEIDER *et al.*, 1997) postulierte, daß die Assimilate in den Fichtennadeln vom Mesophyll symplastisch via Endodermis und Transfusionsparenchym in die Strasburger Zellen wandern. Von dort aus werden sie über globuläre Plasmodesmenfelder (die sog. "Globe Pits") direkt in die Siebzellen geladen. Dafür sprechen die hohe Anzahl an Plasmodesmen zwischen diesen Zellen und die Ultrastruktur der globulären Plasmodesmenfelder mit ihren netzwerkartigen Verzweigungen in der verdickten Zellwand und deren Verbundschaltungen auf Höhe der Mittellamelle (s. Abb. 30). Verbindungen vom endoplasmatischen Retikulum über die sekundären globulären Plasmodesmen zu den reifen funktionsfähigen Siebzellen (Abb. 26) sind bei Fichtennadeln (BLECHSCHMIDT-SCHNEIDER, 1989; 1990 und BLECHSCHMIDT-SCHNEIDER *et al.*, 1997), und Kiefernadeln (PARAMESWARAN und LIESE, 1970; CARDE, 1974) nachgewiesen, aber auch im axialen Phloem mancher Coniferen beobachtet worden (NEUBERGER und EVERT, 1974; SCHULZ, 1990). Durch die Plasmodesmen können Partikel bis zu 1kDa fließen (LUCAS, 1995), und durch Veränderung ihrer Größe können Makromoleküle wie mRNA (LUCAS, 1995) oder sogar intakte Virionen hindurchgehen (MAULE, 1991). Es ist trotzdem schwer, sich vorzustellen, wie ein gegen einen Konzentrationsgradienten gerichteter Transport symplastisch durch die Plasmodesmen geschehen kann. GAMALEI *et al.*, (1994) hat folgenden Mechanismus vorgeschlagen: Durch eine Subkompartimentierung der zu transportierenden Zucker kann der Konzentrationsgradient im Cytoplasma erniedrigt werden. Dies würde bedeuten, daß das Magnesium nicht direkt bei der Phloembeladung, und damit beim Phloemkollaps, sondern bei anderen cytoplasmatischen Prozessen eine Rolle spielt.

Das Magnesium ist als Begleiter von ATP und als Cofaktor mancher Enzyme (Kinasen, Phosphatase, PEP-Carboxylase, Aminoacyl-tRNA-Synthase, etc.) wichtig bei der Regulation des Stoffwechsels von Kohlenhydraten, Lipiden und Proteinen. Magnesium ist für die Stabilisierung der Ribosomenuntereinheiten notwendig (CAMMARANO *et al.*, 1972), oder bei der Replikation und Translation von DNA. Auch das Chlorophyll und seine Synthese wie sein Abbau (ver)-brauchen Magnesium (WALKER und WEINSTEIN, 1991; LANGMEIER, *et al.*, 1993). Die Modulation von Rubisco in den Chloroplasten ist Magnesium- und pH-abhängig (PIERCE, 1986). Magnesium ist zudem wichtig bei der Aufrechterhaltung mancher Schutzmechanismen, wie z. B. der Synthese von Glutathion als Antioxidans (BERMANN und RENNENBERG, 1993; POLLE *et al.*, 1992). Das Magnesium (Magnesium-Pektat) der Zellwand älterer Nadeln ist das erste, was bei Magnesiummangel mobilisiert wird, um jüngere Zellen zu versorgen. Dies kann zu einer strukturellen Schwächung der Zellwand führen. Alle diese Beispiele können in Beziehung mit den Vergilbungserscheinungen der Fichte am Schöllkopf stehen.

Magnesiummangel verursachte bei Mais (*Zea mays*) und Bohnen (*Phaseolus vulgaris*) keinen Phloemkollaps (AUHUBER, persönliche Mitteilung). Wenn Magnesiummangel bei Fichte F33 nicht direkt mit dem Phloemkollaps zusammenhängen sollte, stellt sich die Frage, ob weitere abiotische Faktoren den Phloemkollaps beeinflussen könnten. Nadeln von Fichtenclonen aus Langzeit Open-Top Kammerversuchen, die mit Ozon behandelt wurden (von 0,4 bis 102 µg / m³, 7 Stunden am Tag und 5 Vegetationsperioden), zeigten

Veränderungen in den Straßburgerzellen aber kollabiertes Phloem wurde nicht beobachtet (SELLDÉN *et al.*, 1997). Im Gegensatz dazu fanden WELLBURN und WELLBURN (1994) bei den jüngsten Nadeln von Kiefern (*Pinus halepensis* Mill.), die mit hohen Ozonkonzentrationen ($160-225 \mu\text{g} / \text{m}^3$) episodenhaft über zwei Vegetationsperioden behandelt wurden, zusätzlich zu der Stärke-Akkumulation im Mesophyll einen Phloemkollaps im Sommer. Ähnliche Ergebnisse erhielt GÜNTHARD-GOERG *et al.*, (1993). Hier wurden junge Birkenclone (*Betula pendula*) mit verschiedenen Ozonkonzentrationen ($0 - 200 \mu\text{g} / \text{m}^3$) über eine Vegetationsperiode behandelt. Die Behandlung führte zu Stärke-Akkumulation in den Zellen der Bündelscheide und den benachbarten Mesophyllzellen sowie zu verformten, zerquetschten und kollabierten Siebzellen. Die Kambiumfläche nahm mit größeren Ozondosen ab.

4.3.2.3. Auswirkung der Beschattung auf den Phloemkollaps

Die oben dargestellten Befunde deuten darauf hin, daß sich nicht nur Magnesium, sondern auch andere abiotische Faktoren auf die Phloembeladung und den Phloemkollaps auswirken können. In Freilandversuchen ist es sehr schwierig, Fichten gezielt mit Ozon zu behandeln. Wesentlich einfacher war es, die Lichtintensität mittels einer regendurchlässigen Plane herabzusetzen, d. h. beide untersuchten Fichten z. T. zu beschatten. Während des ganzen Versuches blieben alle anderen Stressoren (Ozon, Magnesiummangel) gegenüber den lichtexponierten und beschatteten Nadeln unverändert. Die Beschattung begann am 24.05.1994, d. h. kurz vor Beginn des Vergilbungsprozesses. Bei der nächsten Probenahme am 14.06.1994 waren die lichtexponierten Nadeln schon deutlich vergilbt. Die Beschattung dauerte bis Ende der Vegetationsperiode 1994. Dieser Versuch brachte überraschende neue Ergebnisse (Tafel 10 I und II). Gleich nach Beschattungsbeginn fiel das Phloem zusammen und die Kambiumzellen begannen sich zu vergrößern und zu teilen. In den folgenden Wochen verbesserte sich zwar der Zustand des Phloems, nicht aber der des Kambiums, welches sich jedoch auch nicht verschlechterte. Eine Erholung des Phloems bei Langzeitbelastung mit Ozon wurde von WELLBURN und WELLBURN (1994) an Kiefernadeln (*Pinus halepensis* Mill.) beobachtet.

Die Befunde des Beschattungsversuchs können anhand der oben genannten Hypothese erklärt werden. Durch die plötzliche Beschattung (Reduktion der Photonenflußdichte auf 15 % des Standortlichtes) der schon geschädigten Nadeln von F33 unterschritt die Produktion von Photoassimilaten die Menge, mit der das Phloem noch hätte beladen werden können. Dadurch erhielten die Sink-Organen weniger Kohlenhydrate, was wiederum die "Signalmechanismen" einschaltete. Damit wurden die Kambiumzellen veranlaßt, sich zu vergrößern und zu teilen. Parallel nahm der Turgordruck des Phloems ab und dadurch fielen die Siebzellen zusammen. Allerdings handelte es sich in dieser Anfangsphase um keinen irreversiblen Prozeß. Sobald die Mesophyllzellen sich an die neuen für den Erhalt des Photosyntheseapparats günstigeren Bedingungen angepaßt hatten, begannen sie

Auswirkung der Beschattung auf den Phloemkollaps

genügend Photoassimilate zu produzieren, die nach Transport ins Phloem den Turgordruck der Siebzellen erhöhten und damit zur Wiederherstellung eines normalen Phloems führten. Die Verbesserung der Beladung mit Assimilaten war gegenüber ihrer verstärkten Produktion verzögert, wie die transiente Erhöhung der Stärkekorndicke der beschatteten Nadeln von F33 Anfang Juli 1994 zeigt (Abb. 46 unten). Die Beschattung verhinderte den Abbau des Thylakoidmembransystems in den Mesophyllzellen und den Phloemkollaps im Zentralzylinder. Die beschatteten Nadeln von F33 blieben grün. Bei all diesen Vorgängen blieb der Gehalt an nicht Chlorophyll-gebundenem Magnesium auf gleich niedrigem Niveau wie bei den lichtexponierten Nadeln (SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 f). Dies belegt, daß Phloembeladung und Phloemkollaps nicht allein auf Magnesiummangel zurückzuführen sind. Durch Beschattung konnte bei den Nadeln jedoch der „gesunde Zustand“ nicht vollständig wiederhergestellt werden. PS II wies weiterhin signifikante Störungen auf (SIEFERMANN-HARMS *et al.* 1997 f) und das Kambium zeigte sich hypertroph, wenn auch in wesentlich geringerem Maß als in den lichtexponierten Nadeln von F33. Diese Ergebnisse zeigen, daß sich Mineralmangel nicht unbedingt von innen nach außen auswirkt.

Ein weiterer Befund, welcher bei Fichten sehr selten beschrieben worden ist, ist eine erhöhte Lignifizierung von Zellwänden des Mesophylls (SANDERMANN *et al.*, 1998). In den lichtexponierten und vergilbten Nadeln von F33 im Herbst 1994 und 1995 war eine Lignifizierung der Zellwände der Mesophyllzellen zu beobachten. Auch manche Kambiumabkömmlinge zeigten eine verstärkte Lignifizierung (Tafel 4). Ozon bewirkt eine Erhöhung der Aktivität der Cinnamylalkoholdehydrogenase, ein Schlüsselenzym der Ligninsynthese (LANGE *et al.*, 1995; SANDERMANN *et al.*, 1998). Interessant ist in diesen Zusammenhang, daß bei den beschatteten Nadeln keine zusätzliche Lignifizierung beobachtet wurde, obwohl sie der gleichen Menge an Ozon ausgesetzt waren. PELL *et al.*, (1997) nehmen an, daß die Lignifizierung ein Schutzmechanismus für die Pflanze ist, welcher sie vor weiteren Oxydationen abschirmt. Diese Erklärung ist hier unbefriedigend, weil die Lignifizierung bei den Mesophyllzellen von F33 im Herbst stattfand, als die Chloroplasten kaum mehr Thylakoide aufwiesen und die Vergilbung schon vollzogen war. Eine weitere Möglichkeit wäre der Schutz gegen mögliche biotische Schäden. Die Lignifizierung im Kambiumbereich könnte auch im Zusammenhang mit Wasserstress stehen, da Wasserstress Veränderungen der Nadelstruktur und Nadelphysiologie verursacht (PALOMÄKI *et al.*, 1994; KARLSSON *et al.*, 1997).

Kapitel 5

Zusammenfassung

In Baden-Württemberg ist der Schwarzwald das Hauptgebiet der neuartigen Waldschäden. Die Fichte liegt mit 21% deutlich geschädigter Fläche über dem Landesschnitt dieser Baumart. Der Schöllkopf bei Freudenstadt ist ein sogenanntes Reinluftgebiet. Geringe Magnesiumvorräte im Boden und hohe Lichtintensitäten gehören zu den dort vorkommenden natürlichen Stressoren. Eine beträchtliche Ozonbelastung kennzeichnet das Gebiet. An diesem Standort wachsen visuell gesunde neben geschädigten Fichten, letztere zeigen die für die Montane Vergilbung typischen Schadsymptome von Nadelvergilbung und Nadelverlust. Im Rahmen der 1. Interdisziplinären Freilandstudie am Standort Freudenstadt-Schöllkopf (1989-1991) wurden anhand mehrerer physiologischer und biochemischer Parameter der Standort und die Schadsymptome der dort wachsenden Fichten charakterisiert, nicht aber die zeitliche Aufeinanderfolge von Vorgängen, die im Laufe der Vergilbungsprozesse auftreten. Diese wurden in der 2. Interdisziplinären Schöllkopf-Studie (1993-1996) untersucht. Zum ersten Mal wurden in diese Studie zwischen 1994 und 1996 Untersuchungen zur Struktur und Ultrastruktur der Chloroplasten und des Zentralzylinders einbezogen. Die Zentralfrage dieser Arbeit war damit, die *zeitliche Aufeinanderfolge von morphologischen Veränderungen der Chloroplasten und des Zentralzylinders* aufzuklären, die zum Vergilben bzw. zur Ergrünung der Nadeln einer Fichte führen. Weitere Fragestellungen waren die Auswirkung einer diagnostischen Magnesiumdüngung sowie einer Beschattung der Fichtennadeln auf die Vergilbung zu untersuchen. Für diesen Zweck wurden neben lichtmikroskopischen (Hellfeld- und Fluoreszenzmikroskopie) und elektronenmikroskopischen Methoden neue morphometrische, computerunterstützte Meßmethoden entwickelt, mit denen graduelle Veränderungen von strukturellen Parametern in statistisch absicherbaren Daten erfaßt wurden.

Die drei abiotischen Stressoren (erhöhte Ozonkonzentration, hohe Lichtintensität und Magnesiummangel), die am Standort Schöllkopf vorkommen und dort ihre negative Wirkung entfalten, verursachen makroskopisch eine abrupte Vergilbung der lichtexponierten vorjährigen Nadeln der Fichte F33 (F33) in der Vegetationsperiode 1994 und 1995, nicht aber der vorjährigen Nadeln der Kontrollfichte K3 (K3). Es sind drei mögliche Einwirkungsbereiche abiotischer Stressoren bekannt. Der erste Bereich ist die Epidermis mit ihren Wachsen und Kutikula. Hier wurden keine Veränderungen zwischen den beiden untersuchten Fichten beobachtet.

Der zweite Einwirkungsort ist das Mesophyll. Lichtmikroskopische Untersuchungen ließen keine Veränderungen erkennen. Der einzige Unterschied war, daß im Sommer mehr Stärkekörner in den vergilbten Nadeln von F33 vorhanden waren. Im submikroskopischen Bereich jedoch waren die Vergilbung wie die Ergrünung von deutlichen Veränderungen

begleitet, die nur an den Chloroplasten zu erkennen waren. Diese sind einem im Jahresverlauf immer wiederkehrenden Zyklus von Veränderungen unterworfen. Ein überraschendes Ergebnis dieser Arbeit ist der Befund, daß die Thylakoidschnittfläche der Chloroplasten von K3 während der Ergrünungsphase nicht zunahm, obwohl der Chlorophyllgehalt der Nadeln auf das Doppelte anstieg (SIEFERMANN-HARMS *et al.*, 1997 e, Anhang 6). Die Untersuchungen zur Organisation der Thylakoide ergaben, daß sich während der Ergrünung ein ausgedehnteres und dichter gepacktes Membransystem entwickelt hatte. Trotz erhöhter Lichtintensität bildeten sich höher gestapelte Grana. Die Anzahl von Chloroplasten blieb aber bei den Nadeln von K3 sowie bei denen von F33 unverändert. Ein ganz anderes Bild zeigten die Chloroplasten der Fichte F33. Es konnte festgestellt werden, daß die Vergilbung am Schöllkopf in zwei Phasen ablief. In der ersten Phase, die sich von Ende April bis Juli erstreckte, nahmen die Größe der Chloroplasten und das Thylakoidsystem parallel und proportional ab. In der zweiten Phase, von August bis Ende Oktober, veränderte sich die Größe der Chloroplasten nicht, setzte sich der weitere Membranabbau der Chloroplasten jedoch fort. Am Ende der Vegetationsperiode waren die Chloroplasten der vergilbten Nadeln von F33 im Vergleich zur K3 kleiner, rund und besaßen nur ein sehr rudimentäres Membransystem ohne Granathylakoide. Dies wurde von Veränderungen im Kohlenhydratstoffwechsel begleitet, die sich in einer sommerlichen Stärkeakkumulation widerspiegeln.

Der dritte Einwirkungsort abiotischer Stressoren ist der Zentralzylinder. Die Leitbündel der Nadeln von F33 wiesen schwerwiegende Veränderungen auf. Hier waren ebenfalls zwei Phasen festzustellen. In der ersten Phase kollabierten die Siebzellen, und die Kambiumzellen zeigten erste Formveränderungen. Damit war die Beladung von Assimilaten ins Phloem und ihr Transport zu den "source"-Organen beeinträchtigt. In der zweiten Phase vollzog sich der Phloemkollaps unter Quetschung der Siebzellen durch die hypertrophierten Abkömmlinge des Kambiums. Dieser Vorgang könnte z. B. durch Hormone induziert sein, um neue Strasburgerzellen zu erzeugen, die die Phloembeladung und damit die Versorgung der Pflanze mit photosynthetischen Assimilaten sichern könnten. In den Herbstproben der vergilbten Nadeln wurden im Bereich des Kambiums Zellen mit lignifizierten Zellwänden gefunden.

Eine Beschattung (1994) sowie eine Magnesiumdüngung (1994 und 1995) bewirkten die Ergrünung der Nadeln von F33, d. h., makroskopisch blieben die Nadeln grün. Während sich jedoch die Beschattung sofort auswirkte, denn bereits 1994 besaß F33 neben lichtexponierten vergilbten Nadeln auch beschattete, grüne Nadeln, entfaltete die Magnesiumdüngung ihre Wirkung erst in der Vegetationsperiode 1996. In diesem Jahr blieben alle vorjährigen Nadeln von F33 grün. Beide Behandlungen verhinderten die sommerliche Stärkeakkumulation. Nach Einwirken der Magnesiumdüngung wiesen die Chloroplasten von F33 im Vergleich zu K3 mikroskopisch vergleichbare morphometrische Parameter auf: In ihrer Thylakoidorganisation wiesen sie höhere Granathylakoide auf. Sie behielten ihre Spindelform bei. Im Zentralzylinder unterblieb bei der Magnesiumdüngung der Phloemkollaps. Bei der Beschattung fand jedoch eine proportionale Verringerung der

Chloroplastengröße und des Thylakoidsystems statt. Granathylakoide waren trotz eines Membranabbaus vorhanden. Die Chloroplasten behielten auch hier ihre Spindelform bei. Der Phloemkollaps trat einige Wochen nach der Beschattung ein, aber in reversibler Weise und nicht irreversibel wie bei den lichtexponierten Nadeln. Im Gegensatz zu letzteren war bei den beschatteten Nadeln im Herbst kein Phloemkollaps mehr vorhanden. Trotzdem waren die Kambiumzellen der beschatteten Nadeln von F33 hypertrophiert, jedoch nicht in dem Ausmaß wie in den Jahren zuvor bei den vergilbten Nadeln.

Die hier dargestellten Befunde zeigen, daß die Vergilbung selbst wenig spezifisch für die einzelnen Stressbedingungen zu sein scheint. Deshalb kann anhand des Schadensverlaufs zwischen Luftschadstoffen und Magnesiummangel als verursachendes Prinzip nicht unterschieden werden. Die Vergilbung der Fichte F33 am Standort Schöllkopf ist auf eine synergistische Wirkung der abiotischen Faktoren, Ozon und Magnesiummangel zurückzuführen. Die Fichten der Montanen Höhenstufen des Mittleren Schwarzwaldes haben sich an hohe Lichtintensitäten, erhöhte Ozonkonzentrationen und niedrigen Magnesiumgehalt angepaßt, wie die Fichte K3 beweist. Sie war in den untersuchten Vegetationsperioden immer grün. Solche Fichten befinden sich im Eu-Stress. Im Gegensatz dazu befand sich die Fichte F33 im Dis-Stress. Dies wurde durch die Erhöhung eines der schädigenden Faktoren, in diesem Fall durch erhöhten Magnesiummangel hervorgerufen. Die Minderung eines Streßfaktors, z. B. durch Düngung oder durch Beschattung führte die Fichte F33 zum Eu-Stress zurück.

LITERATUR

- ALDINGER, E., HIRT, R. (1995) Standortkundliche Beurteilung des PEF-Standortes Schöllkopf. S.: 49 – 55. In: Bittlingmeier, L., Reinhardt, W., Siefertmann-Harms, D. (Hrsg.). Waldschäden im Schwarzwald. Ergebnisse einer interdisziplinären Freilandstudie zur montanen Vergilbung am Standort Freudenstad/Schöllkopf. Ecomed Verlag, Landsberg.
- ALONI, R. (1980) Role of auxin and sucrose in the differentiation of sieve and tracheary elements in plant tissue cultures. *Planta* 150: 255 – 263.
- ANDERSON, J. M., ANDERSON, B. (1982) The architecture of photosynthetic membranes: lateral and transverse organization. *Trends Biochem. Sci.* 7: 288 – 292.
- ANDERSON, J. M., ARO, E.-M. (1994) Grana stacking and protection of photosystem II in thylakoid membranes of higher plant leaves under sustained high irradiance: An hypothesis. *Photosynth. Res.* 41: 315-326.
- ANDERSON, J. M., ARO, E.-M. (1997) Proteolytic activities and proteases of plant chloroplasts. *Physiol. Plant.* 100: 863-868.
- ALSCHER, R. G. , DONAHUE, J. L., CRAMER, C. L. (1997) Reactive oxygen species and antioxidants: Relationships in green cells. *Physiol. Plant.* 100: 224-233.
- AUFSEß, H. v. (1973) Mikroskopische Darstellung des Verholungsgrades durch Färbmethoden. *HOLZ als Roh- und Werkstoff*, 31: 24-33.
- BÄCK, J. ;NEUVONEN, S.; HUTTUNEN, S. (1994) Pine needle growth and fine structure after prolonged acid rain treatment in the subarctic. *Plant, Cell Environ.* 17: 1009-1021.
- BARBIER-BRYGOO, H., JOYARD, J., PUGIN, A., RANJEVA, R. (1997) Intercellular compartmentation and plant cell signalling. *Trends Plant Sci.* 2:214 – 222.
- BAUMBACH, G., BAUMANN, K. UND DRÖSCHER, F. (1990) Luftverunreinigungen in Wäldern Baden-Württembergs. –IVD-Bericht Nr. 16, IVD-Abt. Reinhaltung der Luft, Universität Stuttgart.
- BAUMBACH, G., BAUMANN, K. (1995) Luftverunreinigungssituation und Schadgaseintrag am Waldstandort Schöllkopf. S.: 78 – 129. In: Bittlingmeier, L., Reinhardt, W., Siefertmann-Harms, D. (Hrsg.). Waldschäden im Schwarzwald. Ergebnisse einer interdisziplinären Freilandstudie zur montanen Vergilbung am Standort Freudenstad/Schöllkopf. Ecomed Verlag, Landsberg.
- BERGMANN, W. (1988) Ernährungsstörungen bei Kulturpflanzen. G. Fischer Verlag, Stuttgart, New York.
- BERGMANN, L., RENNENBERG, H. (1993) Glutathione metabolism in plants. S.: 109 – 123. In: Sulfur Nutrition and Assimilation in Higher Plants. L. J. De Kok, I. Stulen, H. Rennenberg, C. Brunol, W. E. Rauser eds. SPB Academic Publishing, The Hague, The Netherlands.

- BITTLINGMEIER, L., REINHARDT, W., SIEFERMANN-HARMS, D. (Hrsg.). (1995) Waldschäden im Schwarzwald. Ergebnisse einer interdisziplinären Freilandstudie zur montanen Vergilbung am Standort Freudenstad/Schöllkopf. Ecomed Verlag, Landsberg 450 S.
- BLANK, L., LÜTZ, C. (1990) Tree exposure experiment in closed chambers. *Environ. Pollut.* 64: 189-395.
- BLECHSCHMIDT-SCHNEIDER, S. (1989) Phloembeladung bei *Picea abies* (L.) Karst. Physiologische Betrachtung. *Kali-Briefe* (Büntehof) 19: 467-489.
- BLECHSCHMIDT-SCHNEIDER, S. (1990) Phloem transport in *Picea abies* (L.) Karst. in mid-winter. *Trees* 4: 179-186.
- BLECHSCHMIDT-SCHNEIDER, S., ESCHRICH, W., JAHNKE, S. (1997) Phloem loading, translocation and unloading processes. In: *Trees – Contributions to Modern Tree Physiology*. Ed. H. Rennenberg, W. Eschrich, H. Ziegler. S.: 139-163.
- BONDADA, B. R.; OOSTERHUIS, D. M. (1998) Decline in photosynthesis as related to alterations in chloroplast ultrastructure of a cotton leaf during ontogeny. *Photosynthetica* 35: 467-472.
- BOSCH, C., PFANNKUCH, E., BAUM, U., REHFUESS, K.-E. (1983) Über die Erkrankung der Fichte (*Picea abies*) in den Hochlagen des Bayerischen Waldes. *Forstw. Cbl.* 102: 167-181.
- BOTHA, C. E. J., CROSS, R. H. M. (1997) Plasmodesmatal frequency in relation to short-distance transport and phloem loading in leaves of barley (*Hordeum vulgare*). Phloem is not loaded directly from the symplast. *Physiol. Plant.* 99: 355-362.
- BOUCHÉ-PILLON, S., FEURAT-LESSARD, P., FROMOT, J.-C., SERRANO, R., BONNEMAIN, J.-L. (1994) Immunolocalization of the plasma membrane H⁺-ATPase in minor veins of *Vicia faba* in relation to phloem loading. *Plant Physiol.* 105: 691-697.
- BOXLER-BALDOMÀ, C., HEUMANN, H.-G. (1997) Änderungen in der Struktur des Zentralzylinders während des Vergilbungsvorgangs – Auswirkungen der Magnesium-Düngung. In: D., Siefermann-Harms, C., Boxler-Baldomà, W., Einig, D., Godde, H.-G., Heumann, H., Schneckenburger, K., v. Wilpert. Untersuchungen zur Vergilbung einer Fichte auf montanem, durch Magnesium-Mangel und Ozonbelastung gekennzeichnetem Standort. *FZKA- PEF* 165: 139-152.
- BOXLER-BALDOMÀ, C., SIEFERMANN-HARMS, D., HEUMANN, H.-G. (1997) Änderungen der Thylakoidorganisation bei ergrünenden und vergilbenden Nadeln. In: D., Siefermann-Harms, C., Boxler-Baldomà, W., Einig, D., Godde, H.-G., Heumann, H., Schneckenburger, K., v. Wilpert. Untersuchungen zur Vergilbung einer Fichte auf montanem, durch Magnesium-Mangel und Ozonbelastung gekennzeichnetem Standort. *FZKA- PEF* 165: 51-57.
- BRUNOLD, CH. (1996) Stress bei Pflanzen: Ökologie, Physiologie, Biochemie, Molekularbiologie. Brunold, C.; Rügsegger, A.; Brändle, R. (Hrsg.). UTB Bern; Stuttgart.

- BUNS, R., ACKER, G., BECK, E. (1993) The plastids of the yew tree (*Taxus baccata* L.): Ultrastructure and immunocytochemical examination of chloroplastic enzymes. Bot. Acta 106: 32-41.
- BURKEY, K. O., WILSON, R. F., WELLS, R. (1997) Effects of canopy shade on the lipid composition of soybean leaves. Physiol. Plant. 101: 591-598.
- BUSSOTTI, F., BOTTACCI, A., GROSSONI, P., MORI, B., TANI, C. (1997) Cytological and structural changes in *Pinus pinea* L. needles following the application of an anionic surfactant. Plant, Cell Environ. 20: 513-520.
- CAMMARANO, P., FELSANI, A., GENTILE, M., GUALEZI, C., ROMEO, C., WOLF, G. (1972) Formation of active hybrid 80 – Sübparticles from subunits of pea seedlings and mammalian liver ribosomes. Biochem. Biophys. Acta 281: 625 – 642.
- CARDE, J.-P., (1974) Le tissu de transfert (cellules de Strasburger dans les aiguilles de Pin maritime (*Pinus pinaster* Ait.). II. Caractères cytochimiques et infrastructuraux de la paroi et des plasmodesmes. J. Microscopie 20, 51-72.
- CARDE, J.-P., (1978) Ultrastructural studies of *Pinus pinaster* needles: the endodermis. Amer. J. Bot. 65: 1041-1054.
- CASANO, M. L., LASCANO, H. R., TRIPPI, V. S. (1994) Hydroxyl radicals and a thylakoid-bound endopeptidase are involved in light- and oxygen-induced proteolysis in oat chloroplasts. Plant Cell Physiol. 35: 145-152.
- CHRISTODOULAKIS, N. S., FASSEAS, C. (1990) Air pollution effects on the leaf structure of *Laurus nobilis*, an injury resistant species. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 44: 276-281.
- DANNEHL, H., HERBIK, A., GODDE, D. (1995) Stress-induced degradation of the photosynthetic apparatus is accompanied by changes in thylakoid protein turnover and phosphorylation. Physiol. Plant. 93: 179- 186.
- DE MARTONE, E. (1926) Aréisme et indice d'aridité. C. r. Séanc. Acad. Sci. Paris 182:1395-1398.
- EINIG, W., WEIDMANN, P., EGGER, W., HAMPP, R. (1990) Diurnale Änderungen im Gehalt an Intermediaten des Energie- und Kohlenhydrat-Stoffwechsels in Fichtennadeln. Kernforschungszentrum Karlsruhe, KfK-PEF 61: 311-321
- EINIG, W., HAMPP, R. (1990) Carbon partitioning in Norway spruce: amounts of fructose 2,6-bisphosphate and intermediates of starch / sucrose synthesis in relation to needle age and degree of needle loss. Trees 4: 9-15.
- EINIG, W., EGGER, B., KOLBENSCHLAG, I., GROSCHUPP, C., HAMPP, R. (1995) Kationen, Chlorophyll und Intermediate des Kohlenhydrat- und Energiestoffwechsels in Nadeln unterschiedlich geschädigter Fichten: Jahres- und Tagesgänge, S.: 155-193. In: Bittlingmeier, L., Reinhardt, W., Siefermann-Harms, D. (Hrsg.). Waldschäden im Schwarzwald. Ergebnisse einer interdisziplinären Freilandstudie zur montanen Vergilbung am Standort Freudenstad/Schöllkopf. Ecomed Verlag, Landsberg.

- EINIG, W., LAUXMANN, U., HAUCH, B., HAMPP, R., LANDOLT, W., MAURER, S., MATYSSEK, R. (1997) Ozone-induced accumulation of carbohydrates changes enzyme activities of carbohydrate metabolism in birch leaves. *New Phytol.* 137: 673-680.
- EINIG, W., MEHNE-JAKOBS, B. (1997) Kohlenhydrat-Stoffwechsel und Vergilbungsvorgang von Fichtennadeln: Vergleich von Freilandproben und Kulturexperiment. In: D., Siefermann-Harms, C., Boxler-Baldomà, W., Einig, D., Godde, H.-G., Heumann, H., Schneckenburger, K., v. Wilpert, (1997 a) Untersuchungen zur Vergilbung einer Fichte auf montanem, durch Magnesium-Mangel und Ozonbelastung gekennzeichnetem Standort. *FZKA- PEF* 165: 99-138.
- ENDLER, W., BARSIG, M., WEESE, G., HAFNER, L. (1990) Cytomorphologische Untersuchungen an Nadeln von Kiefern (*Pinus sylvestris* L.) eines Ballungsgebietes. I. Die Feinstruktur von Chloroplasten im Mesophyll in Abhängigkeit von Jahreszeiten, Alter und Schadstoffbelastung. *Angew. Bot.* 64: 289-302.
- ESAU, K. (1977) *Anatomy of Seeds Plants*. 2. Ed. John Wiley and Sons. New York, London, Sidney.
- ESCHRICH, W., EVERT, R. F., YOUNG, J. H. (1972) Solution flow in tubular semipermeable membranes. *Planta* 107: 279-300.
- ESCHRICH, W.; FROMM, J. (1994) Evidence of two pathways of phloem loading. *Physiol. Plant.* 90: 699-707.
- EVERT, R. F.; RUSSIN, W. A., BOTHA, C.E.J. (1996) Distribution and frequency of plasmodesmata in relation to photoassimilate pathways and phloem loading in the barley leaf. *Planta* 198: 572-579.
- FINK, S. (1986) *Pathologische und regenerative Anatomie der Holzpflanzen*. Habilitationsschrift, Universität Marburg/L.
- FINK, S (1987) Anatomie und Histochemie von Koniferennadeln als Diagnosemittel zur Klärung der Beteiligung biotischer und abiotischer Schadfaktoren beim "Waldsterben". *KfK-PEF* 12, Band 1 S.: 113-122.
- FINK, S (1989) Pathological anatomy of conifer needles subjected to gaseous pollutants or mineral deficiencies. *Aquilo Ser. Bot.* 27: 1-6.
- FINK, S. (1991 a) Structural changes in conifer needles due to Mg and K deficiency. *Fertilizer Res.* 27: 23-27.
- FINK, S. (1991 b) Comparative microscopical studies on the patterns of calcium oxalate distribution in the needles of various conifers species. *Bot. Acta* 104: 306-315.
- FINK, S. (1992) Histologische und histochemische Untersuchungen zur Nährstoffdynamik in Waldbäumen im Hinblick auf die neuartigen Waldschäden. *KfK-PEF* 98.
- FINK, S. (1993) Microscopic criteria for diagnosis of abiotic injuries to conifer needles S.: 175-188. In: *Forest Decline in the Atlantic and Pacific Region*. Huettl/Mueller-Dombois (Eds.). Springer Verlag Berlin Heidelberg.

- FISCHER, J. M. C., PETERSON, C. A., BOLS, N. C. (1985) A new fluorescent test for cell vitality using calcofluor white M2R. *Stain Techn.* vol. 60: 69 – 79.
- FISCHER, E. S., BUSSLER, W. (1988) Effects of magnesium deficiency on carbohydrates in *Phaseolus vulgaris*. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkunde*, 151: 295-298.
- FISCHER, C., HÖLL, W. (1991) Food reserves of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) I. Seasonal changes in the carbohydrate and fat reserves of pine needles. *Trees* 5: 187-195.
- FLAMMERSFELD, U., WILD, A. (1992) Changes in the constitution of thylakoid membranes in spruce needles during an open-top chamber experiment. *Bot. Acta* 105: 348-354.
- FORSCHNER, W., SCHMITT, V., WILD, A. (1989) Investigations on the starch content and ultrastructure of spruce needles relative to the occurrence of novel forest decline. *Bot. Acta* 102: 208-221.
- FUKUDA, H. (1997) Tracheary element differentiation. *Plant Cell* 9: 1147 – 1156.
- GAMALEI, Y. (1991) Phloem loading and its development related to plant evolution from trees to herbs. *Trees*, 5: 50-64.
- GAMALEI, Y. V., VAN BEL, A. J. E., PAKHOMOVA, M. V., SJUTKINA, A. V. (1994) Effects of temperature on the conformation of the endoplasmic reticulum and on starch accumulation in leaves with the symplasmic minor-vein configuration. *Planta*, 194: 443-453.
- GIAQUINTA, R. (1980) Mechanism and control of phloem loading of sucrose. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 93: 187-201.
- GERLACH, D. (1984) *Botanische Mikrotechnik*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 3. Auflage.
- GODDE, D., DANNEHL, H. (1994) Stress induced chlorosis and increase in D1 protein turnover precedes photoinhibition in spinach suffering under combined magnesium and sulfur deficiency. *Planta* 195: 291-300.
- GODDE, D. (1997) Funktion und Reparatur des photosynthetischen Apparates in mangelernährten Fichten – Auswirkung von Düngemaßnahmen auf die Stabilität des Photosyntheseapparates. S.: 71 - 98. In: D., Siefermann-Harms, C., Boxler-Baldomà, W., Einig, D., Godde, H.-G., Heumann, H., Schneckenburger, K., v. Wilpert. Untersuchungen zur Vergilbung einer Fichte auf montanem, durch Magnesium-Mangel und Ozonbelastung gekennzeichnetem Standort. *FZKA- PEF* 165: 71-98.
- GORDON, J. C., LARSON, P. R. (1970) Redistribution of ¹⁴C-labelled reserve food in young red pines during shoot elongation. *Forest Sci.* 16: 14-20.
- GÜNTHARDT-GOERG, M. S., MATYSSEK, R., SCHEIDEGGER, C., KELLER, T. (1993) Differentiation and structural decline in the leaves and bark of birch (*Betula pendula*) under low ozone concentrations. *Trees* 7: 104-114.
- HANNICK, A. F., WATERKEYN, L., WEISSEN, F., VAN PRAAG, H. J. (1993) Vascular tissue anatomy of Norway spruce needles and twigs in relation to magnesium deficiency. *Tree Physiology* 13: 337-349.

- HANSEN, J. (1992) Jahreszeitliche Dynamik des Kohlenhydratmetabolismus der Waldkiefer (*Pinus sylvestris* L.). Ph. D. Thesis, Universität Bayreuth.
- HANSEN, J., BECK, E. (1994) Seasonal changes in the utilization and turnover of assimilation products in 8-year-old Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) trees. *Trees* 8: 172-182.
- HANSEN, J., TÜRK, R., VOGG, G., HEIM, R., BECK, E. (1997) Conifer carbohydrate physiology: updating classical views. In: *Trees – Contributions to modern tree physiology*. Ed. H. Rennenberg, W. Eschrich, H. Ziegler. S.: 97-108.
- HE, J., HUANG, L.-K. WHITECROSS, M. I. (1994) Chloroplast ultrastructure changes in *Pisum sativum* associated with supplementary ultraviolet (UV-B) radiation. *Plant, Cell Environ.* 17: 771-775.
- HECHT-BUCHHOLZ, C., JORNS, C. A., KEIL, P. (1987) Effects of excess aluminium and manganese on Norway spruce seedlings as related magnesium nutrition. *J. Plant Nutr.* 10: 1103-1110.
- HEIMERDINGEN, G. (1951) Zur Mikrotopographie der Saftströme im Transfusionsgewebe der Koniferennadeln. II. Entwicklungsgeschichte und Physiologie. *Planta* 40: 93-111.
- HEINZE, J., BAUMBACH, G. (1989) Untersuchung von SO₂-Ferntransporten bei Nordostwinden am Beispiel von Situationen im Februar 1986. –IVD-Bericht Nr. 15, IVD-Abt. Reinhaltung der Luft, Universität Stuttgart.
- HOCH, R., LUKES, M., TREFZ-MALCHER, G., v. WILPERT, K., SIEFERMANN-HARMS, D. (1997) Bodensituation, Nährelement- und Chlorophyllgehalt der Versuchsbäume und ihrer Reaktion auf diagnostische Düngung mit Mg-Sulfat. In: D., Siefermann-Harms, C., Boxler-Baldomà, W., Einig, D., Godde, H.-G., Heumann, H., Schneckenburger, K., v. Wilpert, (1997) Untersuchungen zur Vergilbung einer Fichte auf montanem, durch Magnesium-Mangel und Ozonbelastung gekennzeichnetem Standort. *FZKA- PEF* 165: 11-20.
- HOCHSTEIN, E. UND HILDEBRAND, E.-E. (1992) Stand und Entwicklung der Stoffeinträge in Waldbestände von Baden-Württemberg. *Allg. Forst- u. J. Ztg.* 163: 21-26.
- HOCHSTEIN, E. (1995) Stoffdeposition in Fichtenbeständen am Schöllkopf. S.: 67-77. In: Bittlingmeier, L., Reinhardt, W., Siefermann-Harms, D. (Hrsg.). *Waldschäden im Schwarzwald. Ergebnisse einer interdisziplinären Freilandstudie zur montanen Vergilbung am Standort Freudenstad/Schöllkopf*. Ecomed Verlag, Landsberg.
- HOLOPAINEN, T.; ANTTONEN, S.; PALOMÄKI, V.; KAINULAINEN, P.; HOLOPAINEN, J.K. (1996) Needle ultrastructure and starch content in Scots pine and Norway spruce after ozone fumigation. *Can. J. Bot.* 74: 67-76.
- HUBER, B. (1947) Zur Mikrotopographie der Saftströme im Transfusionsgewebe der Koniferennadel. I. Mitteilung. *Anatomischer Teil I. Planta*, 35: 331-351.
- HÜTTL, R. E., FINK, S. (1988) Diagnostische Düngungsversuche zur Revitalisierung geschädigter Fichtenbestände (*Picea abies* Karst.) in Südwestdeutschland. *Forstw. Cbl.* 107: 173-183.

- HUGES, J., MCCULLY, M. E. (1975) The use of an optical brightener in the study of plant structure. *Stain Techn.* 5: 319-329.
- INGESTAD, T. (1979) Mineral nutrient requirements of *Pinus sylvestris* and *Picea abies* seedlings. *Physiol. Plant.* 45: 373-380.
- IMAN, R. L., (1982) Graphs for use with the Lilliefors test for normal and exponential distributions. *Amer. Statist.* 36: 109-112.
- JAHN, G., MÜHLHÄUSER, G., HÜBNER, W., BÜCKING, W. (1990) Zur Frage der Veränderung der natürlichen Waldgesellschaften am Beispiel der montanen und hochmontanen Höhenstufe des westlichen Nordschwarzwaldes. *Mitteilungen des Vereins für Forst. Standortskunde und Forstpflanzenzüchtung* 35: 15-25.
- JUNG, G., WILD, A. (1988) Electron microscopic studies of spruce needles in connection with the occurrence of novel forest decline I. Investigations of the mesophyll. *J. Phytopathol.* 122: 1-12.
- JURZITZA, G. (1987) *Anatomie der Samenpflanzen*. Thieme Verlag. Stuttgart, New York.
- KARLSSON, P. E., MEDIN, E. L., WALLIN, G., SELLDÉN, G., SKÄRBY, L. (1997) Effects of ozone and drought stress on the physiology and growth of two clones of Norway spruce (*Picea abies*). *New Phytol.* 136: 265-275.
- KONNERT, M. (1990) Bestimmung der genetischen Konstitution von Waldbäumen mit unterschiedlich ausgeprägtem Schadsymptomen auf Baden-Württembergischen Dauerbeobachtungsflächen zur Walderkrankung. *KfK-PEF 61 (Bd. 1)* 101-110.
- KONNERT, M. (1995) Bestimmung der genetischen Konstitution von Probestämmen auf dem PEF-Standort "Schöllkopf" bei Freudenstadt. S.: 149 – 154. In: Bittlingmeier, L., Reinhardt, W., Siefermann-Harms, D. (Hrsg.). *Waldschäden im Schwarzwald. Ergebnisse einer interdisziplinären Freilandstudie zur montanen Vergilbung am Standort Freudenstadt/Schöllkopf*. Ecomed Verlag, Landsberg.
- KOTTKE, I., WÖLLMER, H. (1995) Beobachtungen zur Mykorrhiza- und Feinstwurzelentwicklung sowie zur Aktivität von Bodentieren am Schöllkopf unter Einsatz der Rhizoskopie. S.: 141-148. In: Bittlingmeier, L., Reinhardt, W., Siefermann-Harms, D. (Hrsg.). *Waldschäden im Schwarzwald. Ergebnisse einer interdisziplinären Freilandstudie zur montanen Vergilbung am Standort Freudenstadt/Schöllkopf*. Ecomed Verlag, Landsberg.
- KOZLOWSKI, T. T., WIGNET, C. H. (1964) The role of reserves in leaves, branches, stems and roots on shoot growth of red pine. *Amer. J. Bot.* 51: 522-529.
- KRAPP, A., STITT, M. (1995) An evaluation of direct and indirect mechanisms for the "sink-regulation" of photosynthesis in spinach: Changes in gas exchange, carbohydrates, metabolites, enzyme activities and steady-state transcript levels after cold-girdling source leaves. *Planta* 195: 313-323.

- KUFNER, R., CZYGAN, F.-C., SCHNEIDER, L. (1978) Veränderungen des Pigmentsgehaltes und der Ultrastruktur bei den Plastiden der Nadelnblätter von *Taxus baccata* (L.) während ihrer Entwicklung. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 91: 325 –327.
- KURA-HOTTA, M., HASHIMOTO, H., SATOH, K., KATOH, S. (1990) Quantitative determination of changes in the number and size of chloroplasts in naturally senescing leaves of rice seedlings. Plant Cell Physiol. 31: 33-38.
- LANDOLT, W., GÜNTHARDT-GOERG, M. S., PFENNINGER, I., EINIG, W., HAMPP, R., MATYSSEK, R., (1997) Effects of fertilization on ozone-induced changes in the metabolism of birch leaves (*Betula pendula*). New Phytol. 137: 389-397.
- LANGE, B., LAPEIRRE, C., SANDERMANN, H. JR. (1995) Elicitor-induced spruce stress lignin. Plant Physiol. 108: 1277-1288.
- LANGMEIER, M., GINSBURG, S., MATILE, PH. (1993) Chlorophyll breakdown in senescent leaves: Demonstration of Mg-chelatase activity. Physiol. Plant. 89: 347-353.
- LARCHER, W. (1987) Streß bei Pflanzen. Naturwissenschaften 74: 158-197.
- LEVITT, J. (1980) Response of Plants to Environmental Stress. Vol. I. Academic Press, New York.
- LICHTENTHALER, H.K. (1967) Plastoglobuli in verschiedenen Differenzierungsstadien der Plastiden bei *Allium cepa* L. Planta 72: 1-13.
- LICHTENTHALER, H.K. (1969) Die Plastoglobuli vom Spinat, ihre Größe und Zusammensetzung während der Chloroplastendegeneration. Protoplasma 68: 315-326.
- LICHTENTHALER, H. K., BUSCHMANN, M., DOLL, M., FEITZ, H.-J., BACH, T., KOZEL, U., MEIER, D., RAHMSDORF, U. (1981) Photosynthetic activity, chloroplast ultrastructure and leaf characteristics of high-light plants and of sun and shade leaves. Photosynth. Res. 2: 115-141.
- LICHTENTHALER, H. K., BUSCHMANN, M. (1984) Beziehungen zwischen Photosynthese und Baumsterben. All. Forstz. 39: 12-16.
- LICHTENTHALER, H. K (1996) Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. J. Plant Physiol. 148: 4-14.
- LICHTENTHALER, H. K (1998) The stress concept in plants: an introduction. In: Stress of Life: From Molecules to Man. Ann. New York Academy of Sciences, 851: 187-198.
- LIENERT, G. A. (1973) Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik. Band I, 2. Auflage. Verlag Anton Hain, Meisenheim am Glan.
- LITTLE, C. H., (1970) Derivation of the springtime starch increase in Balsam fir (*Abies balsamea*). Can J. Bot. 48: 1995-1999.
- LORENZ, R. J. (1988) Biometrie 2. Auflage. Gustav Fischer Verlag Stuttgart.
- LUCAS, W J. (1995) Plasmodesmata: Intercellular channels for macromolecular transport in plants. Curr. O. Cell Biol. 7: 673 – 680.

- LUCAS, W J ; BALACHANDRAN, S ; PARK, J ; WOLF, S. (1996) Plasmodesmal companion cell-mesophyll communication in the control over carbon metabolism and phloem transport: Insights gained from viral movement proteins. *J. Exp. Bot.* 47: 1119-1128.
- LUETHY-KRAUSE, B. ; LANDOLT, W., (1990) Effects of ozone on starch accumulation in Norway spruce (*Picea abies*). *Trees*, 4: 107-110.
- LUETHY-KRAUSE, B. ; PFENNINGER, I., LANDOLT, W., (1990) Effects of ozone on organic acids in needles of Norway spruce and Scots pine. *Trees*, 4: 198-204.
- MANDRE, M., TULLUS, H., TAMM, Ü. (1998) The partitioning of carbohydrates and the biomass of leaves in *Populus tremula* L. canopy. *Trees* 12: 160-166.
- MARCO, H. F. (1939) The anatomy of spruce needles. *J. Agricultural Res.* 58: 357-368.
- MARSCHNER, H. (1995) Function of mineral nutrients: Macroelements. S.: 229 – 312. In: *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2. Ed. Academic Press.
- MASUCH, G., FRANZ, J. T., KICINSKI, H. G., KETTRP, A. (1992) Histological and biochemical differences of slightly and severely injured spruce needles of two stands in Northrhine Westphalia. *Environ. Exp. Bot.* 32: 163-182
- MATYSSEK, R., GÜNTHARDT-GOERG, M. S., SAURER, M., KELLER, T. (1992) Seasonal growth, $\delta^{13}\text{C}$ in leaves and stem, and phloem structure of birch (*Betula pendula*) under low ozone concentrations. *Trees* 6: 69-76.
- MATYSSEK, R., HAVRANEK, W. M., WIESER, G., INNES J. L. (1997) Ozone and the forest in Austria and Switzerland. S.: 95 – 134. In: *Forest Decline and Ozone. A comparison of Controlled Chamber and Field Experiments*. H. Sandermann, A. R. Wellburn, R. L. Heath (Eds.). *Ecological Studies* 127. Springer.
- MAULE, A. J. (1991) Virus movement in infected plants. *Crit. Rev. Plant Sci.* 9: 457-473.
- MAURER, S., MATYSSEK, R., GÜNTHARDT-GOERG, M. S., LANDOLT, W., EINIG, W. (1997) Nutrition and the ozone sensitivity of birch (*Betula pendula*). I. Responses at the leaf level. *Trees* 12:1-10.
- MCDONALD, A. J. S., DAVIES, W. J. (1997) Keeping in touch: responses of the whole plant to deficits in water and nitrogen supply. *Adv. Bot. Resch.* 22: 229-300.
- MCQUATTIE, C. J., SCHIER, G. A. (1992) Effect of ozone and aluminium on pitch pine (*Pinus rigida*) seedlings: needle ultrastructure. *Can. J. For. Res* 23:1375-1387.
- MEHNE-JAKOBS, B. (1994) Auswirkung eines experimentell induzierten Magnesiummangels auf die Zusammensetzung der Chloroplastenpigmente bei Fichte (*Picea abies* (L.) Karst.). *Allg. Forst- u. J.-Ztg.* 165: 221-227.
- MEHNE-JAKOBS, B. (1995) The influence of magnesium deficiency on carbohydrate concentrations in Norway spruce needles (*Picea abies* (L.) Karst.). *Tree physiol.* 15: 577-584.

- MEHNE-JAKOBS, B. (1996) Magnesium deficiency treatment causes reductions in photosynthesis of well-nourished Norway spruce. *Trees* 10: 293-300.
- MEHNE-JAKOBS, B. (1997) Physiological consequences of magnesium deficiency. In: *Trees – Contributions of Modern Tree Physiology*. Ed. H. Rennenberg, W. Eschrich, H. Ziegler. Baxkhuys Publishers, Leiden.
- MEHNE-JAKOBS, B., GÜLPEN, M. (1997) Influences of different nitrate to ammonium ratios on chlorosis, cation concentrations and the binding forms of Mg and Ca in needles of Mg-deficient Norway spruce. *Plant Soil* 188: 267-277.
- MEYBERG, M. ; LOCKHAUSEN, J., KRISTEN, U. (1988) Ultrastructural changes in mesophyll cells of spruce needles from a declining forest in northern Germany. *Eur. J. For. Path.* 18: 169-175.
- MÜNCH, E. (1930) *Die Stoffbewegung in der Pflanze*. Jena, Gustav Fischer Verlag.
- NAPP-ZINN, K. (1966) *Anatomie des Blattes I. Blattanatomie der Gymnospermen*. Band VIII. 2. Auflage. Herausgeber: W. Zimmermann, P. Ozenda. Gebrüder Borntraeger, Berlin-Nikolasee.
- NEBE, W., SCHIERHORN, E., ILGEN, G. (1988) REM-investigations and chemical analysis of Norway spruce needles growing in polluted atmosphere. *Flora* 181: 409-414
- NEUBERGER, D. S., EVERT, R. F. (1974) Structure and development of the sieve element protoplast in the hypocotyl of *Pinus resinosa*. *Amer. J. Bot.* 61: 360-374.
- NOACK, F. (1887) Der Einfluß des Klimas auf die Cuticularisation und Verholzung der Nadeln einiger Coniferen. *Jahrb. wiss. Bot.* 18: 519-529.
- O'BRIEN, T. P., U. MCCULLY, M. E. (1981) *The Study of Plant structure: principles and selected methods*. Ed. Termarcarphi, Melbourne.
- OSSWALD, W., ELTSNER, E. F. (1985) Rezentes Fichtensterben in sogenannten Reinluftgebieten. *GIT Fachz. Lab* 5: 400-410.
- PALOMÄKI, V., HOLOPAINEN, J. K., HOLOPAINEN, T. (1994) Effects of drought and waterlogging on ultrastructures of scots pine and Norway spruce needles. *Trees* 9: 98-105.
- PALOMÄKI, V. (1995) Effects of magnesium deficiency on needle ultrastructure and growth of Scots pine seedlings. *Can. J. Forest. Res.* 25: 1806-1814.
- PARAMESWARAN, N., LIESE, W. (1970) Zur Cytologie der Strasburger-Zellen in Coniferennadeln. *Naturwissenschaften*, 57 Jg., 1: 45-46
- PARAMESWARAN, N., FINK, S., LIESE, W. (1985) Feinstrukturelle Untersuchungen an Nadeln geschädigter Tannen und Fichten aus Waldschadensgebieten im Schwarzwald. *Eur. J. For. Path.* 15: 168-182.

- PEACE, E. A., LEA, P. J., DARRAL, N. M. (1995) The effect of open-air fumigation with SO₂ and O₃ on carbohydrate metabolism in Scots pine (*Pinus sylvestris*) and Norway spruce (*Picea abies*). *Plant Cell Environ.* 18: 277-283.
- PELL, E. J., SCHLAGNHAUFER, C. D., ARTECA, R. N. (1997) Ozone-induced oxidative stress: Mechanisms of action and reaction. *Physiol. Plant.* 100: 264-273.
- PIERCE, J. (1986) Determinants of substrate specificity and the role of metal in the reaction of ribulosebiphosphate carboxylase/oxygenase. *Plant Physiol.* 85: 655 – 661.
- PREIS, J., LEVI, C. (1979) Metabolism of starch in leaves: Starch degradation. *Enz. Plant. Physiol.* 6: 282-312.
- POLLE, A., CHAKRABARTI, K., CHAKRABARTI, S., SEIFERT, F., SCHRAMMEL, P., RENNENBERG, H. (1992) Antioxidants and manganese deficiency in needles of Norway spruce (*Picea abies* L.) trees. *Plant Physiol.* 99, 1084-1089.
- POLLE, A.; OTTER, T.; MEHNE-JAKOBS, B. (1994) Effect of magnesium-deficiency on antioxidative systems in needles of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) grown with different ratios of nitrate and ammonium as nitrogen sources. *New Phytol.* 128: 621-628.
- PUECH, L., MEHNE-JAKOBS, B. (1997) Histology of magnesium-deficient Norway spruce needles influenced by nitrogen source. *Tree Physiol.* 17: 301-310.
- REA, P. A., SANDERS, D. (1987) Tonoplast energization: two H⁺ pumps one membrane. *Physiol. Plant.* 71: 131 – 141.
- RENNENBERG, H. (1996) Klima und Klimaveränderungen, Übersicht. S.: 37 - 48. In: Brunold, C.; Rügsegger, A.; Brändle, R. (Hrsg.) *Stress bei Pflanzen. Ökologie, Physiologie, Biochemie, Molekularbiologie.* UTB : Bern, Stuttgart, Wien.
- REYNOLDS, E. S. (1963) The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. cell Biol.* 17: 208-212.
- ROBENEK, H., 1995. *Mikroskopie in Forschung und Praxis.* Kap 3. GIT Verlag GmbH. Darmstadt.
- ROMEIS, B. (1989) *Mikroskopische Technik.* 17. Auflage. Hrsg. P. Böck. Urban & Schwarzenberg. München, Wien, Baltimore.
- ROST, F. W. D. (1995) *Fluorescence microscopy.* Vol. II. Cambridge University Press. New York, Port Chester, Melbourne, Sydney.
- RUETZE, M., SCHMITT, U. (1988) Histologie der Alterung von Fichtennadeln (*Picea abies* (L.) Karst.) *Angew. Bot.* 62: 9-20.
- SAKAKI, T., TANAKA, K., YAMADA, M. (1994) General metabolic changes in leaf lipids in response to ozone. *Plant Cell Physiol.* 35: 53 – 62.
- SANDERMANN, H. JR., ERNST, D., HELLER, W., LANGEBARTELS, CH. (1998) Ozone: an abiotic elicitor of plant defence reactions. *Trends Plant Sci.* 3: 47-50.

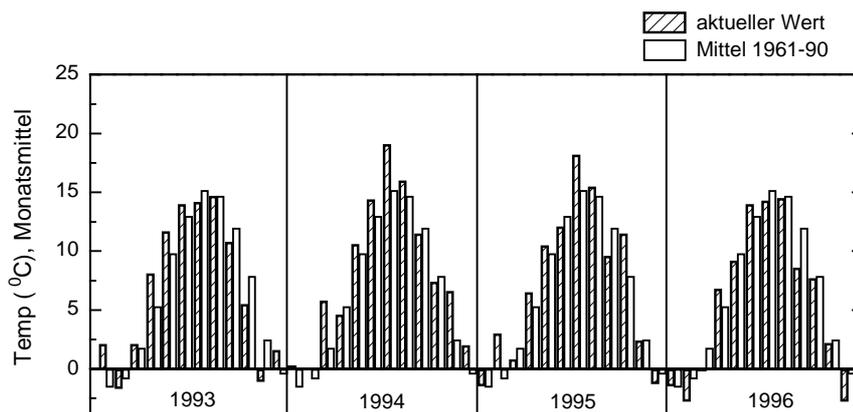
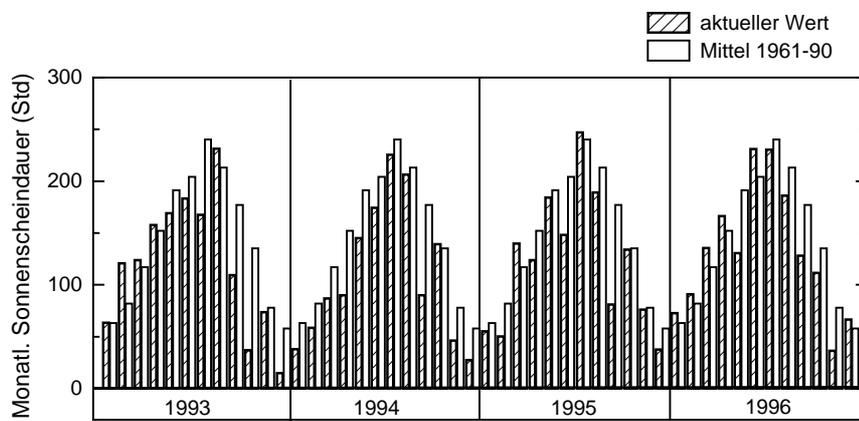
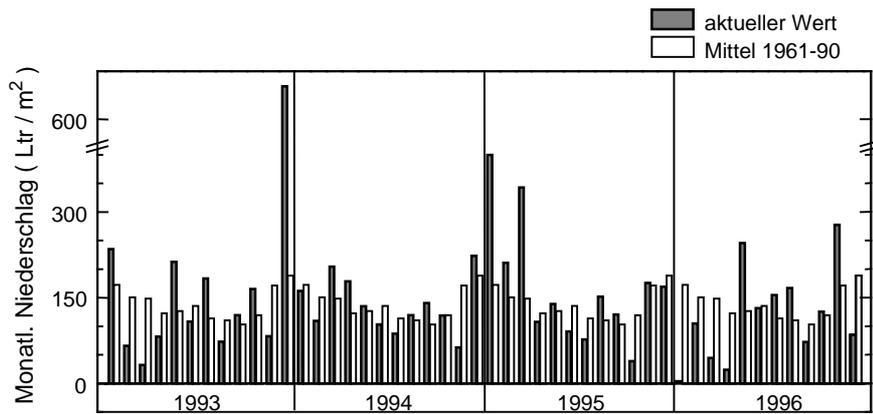
- SCHAEDLER, M., THORNTON, F. C., RAYNAL, D. J., TEPPER, H. B. (1989) Response of trees seedlings to aluminum. *Tree Physiol.* 5: 337-356.
- SCHIFFGENS-GRUBER, A., LÜTZ, C. (1992) Ultrastructure of mesophyll cell chloroplasts of spruce needles exposed to O₃, SO₂ and NO₂ alone and in combination. *Environ. Exp. Bot.* 32: 243-254.
- SCHLICHT H.-J. (1995) Bildverarbeitung digital. Scanner, Drucker, Video, Multimedia unter Windows. 2. Auflage. Addison-Wesley Verlag. Bonn, Paris.
- SCHMITT, U., LIESE, W., RUETZE, M. (1986) Ultrastrukturelle Veränderungen in grünen Nadeln geschädigter Fichten. *Angew. Bot.* 60: 441-450.
- SCHUBERT, R., WAGNER, G. (1993) Botanisches Wörterbuch. 11. Auflage. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart.
- SCHULZ, A. (1990) Conifers. In: Sieve Elements, Comparative Structure, Induction and Development. S. 63-88. Eds. H.-D. Behnke, R. D. Sjolund. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- SCHWAB, M., NOGA, G., BARTHLOTT, W. (1994) Einfluß von Mg- und Ca-Mangel auf Mg und Ca-Gehalte, Chlorophyllgehalt und Chlorophyllfluoreszenz von Fichtennadeln sowie auf die Mikromorphologie und Benetzbarkeit ihrer epiculären Wachse. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 157: 421-427.
- SELLDÉN, G., SUTINEN, S., SKÄRBY, L (1997) Controlled ozone exposures and field observations in Fennoscandia. In: Forest Decline and Ozone. Hrg.: H. Sandermann, A. R. Wellburn, R. L. Heath. Ecological Studies, Vol. 127. Springer Verlag. Berlin, Heidelberg.
- SENER, M., SCHÖLZ, F., BECK, E. (1975) Seasonal changes in structure and function of spruce chloroplasts. *Plant* 126: 1-10.
- SENER, M., BECK, E. (1979) Kälteresistenz der Fichte. II. Einfluß von Photoperiode und Temperatur auf die Struktur und photochemische Reaktionen von Chloroplasten. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 92: 243-259.
- SENER, M., BECK, E. (1982) Frost resistance in spruce (*Picea abies* (L.) Karst.): IV. The lipid composition of frost resistant and frost sensitive spruce chloroplasts. *Z. Pflanzenphysiol.* 105: 241-253.
- SELEY, H. (1936) A syndrom produced by various nocuous agents. *Nature*, 138: 32-34.
- SIEFERMANN-HARMS, D. (1990) Photooxidation and pheophytin formation of chlorophyll in the light-harvesting Chl-a/b-protein complex exposed to fatty acids: Protective role of the intact apoprotein. In: Current Research in Photosynthesis, Vol. II (M. Baltscheffsky ed.). S. 245-416, Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- SIEFERMANN-HARMS, D. (1995 b) Untersuchungen zum Vergilbungsvorgang von Fichten am Standort Freudenstadt-Schöllkopf: Pigmentgehaltsänderungen, Lichtbedarf der Vergilbung und Vorgänge im Chlorophyll-Protein-Komplex LHC II. S.: 334 – 358. In:

- Bittlingmeier, L., Reinhardt, W., Siefermann-Harms, D. (Hrsg.). Waldschäden im Schwarzwald. Ergebnisse einer interdisziplinären Freilandstudie zur montanen Vergilbung am Standort Freudenstadt/Schöllkopf. Ecomed Verlag, Landsberg.
- SIEFERMANN-HARMS, D., ANGERHOFER, A. (1995) In: P. Mathis (Hrsg.): Photosynthesis: from light to biosphere, Vol. II, S. 855-858. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- SIEFERMANN-HARMS, D. UND 32 COAUTOREN (1995 a) Ergebnisse und Folgerungen der interdisziplinären Studie zur Vergilbung von Fichten in montanen Lagen des Schwarzwaldes (Freudenstadt-Schöllkopf 1989-1991). S.: 1-48. In: Bittlingmeier, L., Reinhardt, W., Siefermann-Harms, D. (Hrsg.). Waldschäden im Schwarzwald. Ergebnisse einer interdisziplinären Freilandstudie zur montanen Vergilbung am Standort Freudenstadt/Schöllkopf. Ecomed Verlag, Landsberg.
- SIEFERMANN-HARMS, D., WEINMANN C., HOFER, T., BOXLER-BALDOMÀ, C., HEUMANN, H.-G., SEIDEL, A. (1995 b). Weitere Ergebnisse zum Vergilbungsvorgang- keine kurzfristige Ergrünung nach Mg-Sulfat Düngung. FZKA-PEF-130: 191-199.
- SIEFERMANN-HARMS, D. (1996) Destabilisierung of the antenna complex LHC II during needle yellowing of a Mg-deficient spruce tree exposed to ozone pollution – comparison with other types of yellowing. J. Plant Physiol. 148: 195 - 202.
- SIEFERMANN-HARMS, D., BOXLER-BALDOMÀ, C., DIABATÉ, S., HEUMANN, H.-G., HOCH, R., NAGEL, E., PFÜNDEL, E., SCHNECKENBURGER, H., SEIDEL, A., STRACK, S., TREFZ-MALCHER, G., v. WILPERT, K., ZEIL, M. (1996) Der Vergilbungszustand einer geschädigten Fichte nach zwei Jahren Mg-Sulfat-Düngung//Funktions- und Strukturänderung im Photosyntheseapparat vergilbender Nadeln -keine Ergrünung nach Mg-Düngung. FZKA-PEF-142: 135-149.
- SIEFERMANN-HARMS, D. (1997 a) Einführung: Fragestellung, Untersuchungen, Standort und Bäume. S: 1-10. In: D., Siefermann-Harms, C., Boxler-Baldomà, W., Einig, D., Godde, H.-G., Heumann, H., Schneckenburger, K., v. Wilpert. Untersuchungen zur Vergilbung einer Fichte auf montanem, durch Magnesium-Mangel und Ozonbelastung gekennzeichnetem Standort. FZKA- PEF: 165.
- SIEFERMANN-HARMS, D. (1997 b) Hinweise für einen Zusammenhang zwischen der Ozon-Konzentration und dem Stabilitätszustand des Antennenkomplexes LHC II bei Magnesium-Mangel. S.: 63-70. In: D., Siefermann-Harms, C., Boxler-Baldomà, W., Einig, D., Godde, H.-G., Heumann, H., Schneckenburger, K., v. Wilpert. Untersuchungen zur Vergilbung einer Fichte auf montanem, durch Magnesium-Mangel und Ozonbelastung gekennzeichnetem Standort. FZKA- PEF: 165.
- SIEFERMANN-HARMS, D., BOXLER-BALDOMÀ, C., EINIG, W., GODDE, D., HEUMANN, H.-G., SCHNECKENBURGER, H., v. WILPERT, K. (1997 c) Untersuchungen zur Vergilbung einer Fichte auf montanem, durch Magnesium-Mangel und Ozonbelastung gekennzeichnetem Standort. Ergebnisse der 2. Freilandstudie am Standort Freudenstadt/Schöllkopf (1993-1996). 165 S. Hrsg. FZKA- PEF: 165.

- SIEFERMANN-HARMS, D., BOXLER-BALDOMÀ, C., HEUMANN, H.-G., SCHNECKENBURGER, H. (1997 d) Änderung des Chlorophyllgehalts, der Stabilität des Antennenkomplexes LCH II, der Chlorophyll-Fluoreszenz, und der Ultrastruktur der Chloroplasten während des Vergilbungsvorgangs – auswirkung der Magnesium-Düngung. S.: 21 – 35. In: D., Siefermann-Harms, C., Boxler-Baldomà, W., Einig, D., Godde, H.-G., Heumann, H., Schneckenburger, K., v. Wilpert. Untersuchungen zur Vergilbung einer Fichte auf montanem, durch Magnesium-Mangel und Ozonbelastung gekennzeichnetem Standort. FZKA- PEF: 165.
- SIEFERMANN-HARMS, D., BOXLER-BALDOMÀ, C., HEUMANN, H.-G., SCHNECKENBURGER, H. (1997 e) Auswirkung von Beschattung auf der Vergilbung. S.: 36 – 50. In: D., Siefermann-Harms, C., Boxler-Baldomà, W., Einig, D., Godde, H.-G., Heumann, H., Schneckenburger, K., v. Wilpert. Untersuchungen zur Vergilbung einer Fichte auf montanem, durch Magnesium-Mangel und Ozonbelastung gekennzeichnetem Standort. FZKA- PEF: 165.
- SIEFERMANN-HARMS, D., BOXLER-BALDOMÀ, C., HEUMANN, H.-G., SCHINDLER, CH., SCHNECKENBURGER, H., ZEIL, M. (1997 f). Im dritten Jahr nach der Düngung bleibt der zweite Nadeljahrgag grün - Analyse der Vergilbungsursachen. FZKA-PEF.
- SPURR, A. R. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J. Ultrastr. Res. 26: 31-43.
- SOIKKELI, S. (1977) Seasonal changes in mesophyll ultrastructure of needles of Norway spruce (*Picea abies*). Can. J. Bot. 56: 1932-1940.
- SOIKKELI, S. (1980) Ultrastructure of the mesophyll in Scots pine and Norway spruce: seasonal variation and molarity of the fixative buffer. Protoplasma 103: 241-252.
- SRIVASTAVA, L. M., O'BRIEN, T. P. (1966) On the ultrastructure of cambium and its vascular derivatives. I. Cambium of *Pinus strobus* L. Protoplasma 61: 257-276.
- STEEGBORN, J. (1991) Einfluß von Magnesium auf den Turnover von Pigment-Protein-Komplexen in Fichtenkeimlingen aus definierten Anzuchtsbedingungen. Dissertation, Universität Freiburg.
- SUTINEN, S. (1987 a) Cytology of Norway spruce needles. I. Changes during ageing. Eur. J. For. Path. 17:65-73.
- SUTINEN, S. (1987 b) Cytology of Norway spruce needles. II. Changes in yellowing spruces from the Taunus mountains, West Germany. Eur. J. For. Path. 17: 74-85.
- SUTINEN S., SKATBY L., WALLIN G., SELLDÁN G. (1990). Long-term exposure of norway spruce to ozone in open-top chambers. New Phytol., 115, 345 - 355.
- SUTINEN, S., LUMME, I., MÄENPÄÄ, M., ARKHIPOV, V. (1998) Light microscopic structure of needles of Scot pine (*Pinus sylvestris* L.) in relation to air pollution and needle element concentrations in S.E. Finland and the Karelian Isthmus, N.W. Russia. Trees 12: 281-288.

- THOMA, H. (1997) Chlorophyll: a symptom and a regulator of plastid development. *New Phytol.* 136: 163-181.
- TRUMP, B. F., SMUCKLER, E. A., BENDITT, E. P. (1961) A method for staining epoxy sections for light microscopy. *Ultrastruct. Res.* 5: 343-348.
- TURGEON, R. (1996) Phloem loading and plasmodesmata. *Trends Plant Sci.* 1: 418-423.
- TÜRK, S., GÜLPEN, M., FINK, S. (1993) Aufnahme, Transport und Verbleib von Calcium und Magnesium in Fichten (*Picea abies* [L.] Karst.) und Kiefern (*Pinus silvestris* L.) bei unterschiedlicher Ernährung. *Forstw. Cbl.* 112: 191-208.
- TURUNEN, M., HUTTUNEN, S. (1991) Effects of simulated acid rain on the epicuticular wax of Scots pine needles under northely conditions. *Can. J. Bot.* 69: 412-419.
- UNTHEIM, H. (1995) Waldwachstumskundliche Analyse in der interdisziplinären Studie zur Vergilbung von Fichten im Schwarzwald (Freudenstadt-Schöllkopf). S.: 130 – 140. In: Bittlingmeier, L., Reinhardt, W., Siefermann-Harms, D. (Hrsg.). *Waldschäden im Schwarzwald. Ergebnisse einer interdisziplinären Freilandstudie zur montanen Vergilbung am Standort Freudenstad/Schöllkopf.* Ecomed Verlag, Landsberg.
- VAN BEL, A. J. E. (1993) Strategies on phloem loading. *Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 44: 253 – 281.
- VOGG, G., HEIM, R., GOTSCHY, B., BECK, E., HANSEN, J. (1998) Frost hardening and photosynthetic performance of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). II. Seasonal changes in the fluidity of thylakoid membranes. *Planta* 204: 201-206.
- WALKER, C. J., WEINSTEIN, J. D. (1991) Further characterization of magnesium chelatase in isolate developing cucumber chloroplast. *Plant Physiol.* 95: 1189-1196.
- WALDSCHADENSBERICHT 1997 BADEN-WÜRTTEMBERG. Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt, Baden Württemberg.
- WANG, H. L., PATRICK, J. W., OFFLER, C. E., WANG, X. D. (1995) The cellular pathway of photosynthate transfer in the developing wheat grain. III. A structural analysis and physiological studies of the pathway from the endosperm cavity to the starch endosperm. *Plant Cell Environ.* 8: 389-407.
- WARD, J. M., KÜHN, GH., TEGEDER, M., FROMMER, W. B. (1998) Sucrose transport in higher plants. *Int. Rev. Cyt.* 178: 41 – 71.
- WATANABLE, T., SAKAI, S. (1998) Gene expression of wound-inducible ACC-Synthase. *Planta* 206: 570 – 576.
- WEIKERT, R. M., WEDLER, M., LIPPERT, M., SCHRAMMEL, P., LANGE, O. L. (1989) Photosynthetic performance, chloroplast pigments, and mineral content of various needle age classes of spruce (*Picea abies*) with and without the new flush: an experimental approach for analysing forest decline phenomena. *Trees* 3: 161-172.
- WEINMANN, C.; HEUMANN, H.-G. (1993) Chloroplastenmorphometrie mit Hilfe eines digitalen Bilderfassungs- und Analysesystems. *Beitr. Elektronenmikroskop. Direkabb. Oberfl.* 26.

- WELLBURN, F. A. M., WELLBURN, A. R. (1994) Atmospheric ozone affects carbohydrate allocation and winter hardiness of *Pinus halepensis* Mill. J. Exp. Bot. 45: 607 – 614.
- WELLBURN, A. R., BARNES, J. D., LUCAS, P. W., MCLEOD, A. R., MANSFIELD, T.A. (1997) Controlled O₃ exposures and field observation of O₃ effects in the UK. S.: 201 – 248. In: Forest Decline and Ozone. Hrg.: H. Sandermann, A. R. Wellburn, R. L. Heath. Ecological Studies, Vol. 127. Springer Verlag.
- WENTZEL, K. F. (1997) Die Geschichte der Waldschäden durch Luftschadstoffe. AFZ Der Wald 16: 895-898.
- WHO Licht- und Leitwerte zur Konzentration von Ozon. In: 03,06 Bodennahes Ozon. http://www.icf.de/UIOnline/dua96/html/d306_01.htm#Tab1
- WILD, A., SCHMITT, V. (1995) Diagnosis of damage to Norway spruce (*Picea abies*) through biochemical criteria. Physiol. Plant. 93: 375-382.
- WILD, A., TIETZ-SIEMER, S., RICHTER, C., SCHMITT, V., STROBEL, P. (1995) Physiologische, biochemische und cytomorphologische Untersuchungen an immissions-geschädigten Fichten im Zusammenhang mit den neuartigen Walschäden an einem Standort im Nordschwarzwald (Staatw Wald Freudenstadt). S. 204-255. In: Bittlingmeier. L., Reinhardt, W., Siefertmann-Harms, D. (Hrsg.). Waldschäden im Schwarzwald. Ergebnisse einer interdisziplinären Freilandstudie zur montanen Vergilbung am Standort Freudenstad/Schöllkopf. Ecomed Verlag, Landsberg.
- V. WILPERT, K., HILDEBRAND, E. E. (1995) Bodenchemische Ergebnisse zum PEF-Standort Schöllkopf, S.: 56-66. In: L., Bittlingmeier. W., Reinhardt, D. Siefertmann-Harms, (Hrsg.). Waldschäden im Schwarzwald. Ergebnisse einer interdisziplinären Freilandstudie zur montanen Vergilbung am Standort Freudenstad/Schöllkopf. Ecomed Verlag, Landsberg.
- WINGLER, A., EINIG, W., SCHÄFFER, C., WALLEND, T., HAMPP, R., WALLENDER, H., HYLUND, J.-E. (1996) Influence of different nutrient regimes on the regulation of carbon metabolism in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) seedlings. New Phytol. 128: 323-330.
- YAZAKI, Y., ASUKAGAWA, N., ISHIKAWA, Y., OHTA, E., SAKATA, M. (1988) Estimation of cytoplasmic free Mg²⁺ levels and phosphorylation potentials in mung bean root tips *in vivo* ³¹P NMR spectroscopy. Plant Cell Physiol. 29: 919-924.
- ZELLNIG, G., GAILHOFER, M. (1989) Feinstruktur der Chloroplasten von *Picea abies* verschiedener Standorte im Höhenprofil "Zillertal". Phytol. (Austria) Vol. 29 Fasc.3 Sonderband "Zillertal" pp. 147-161.
- ZECH, W. (1968) Kalkhaltige Böden als Nährsubstrat für Koniferen. Dissertation TU München.
- ZIMMERAMANN, M. H., ZIEGLER, H. (1975) List of sugars and sugar alcohols in sieve-tube exudates. In: Transport in Plants. M. H. Zimmermann und J. A. Milburn Hrg. Encycl. Plant Physiol., New Ser., 1: 245-271. Springer, Berlin.



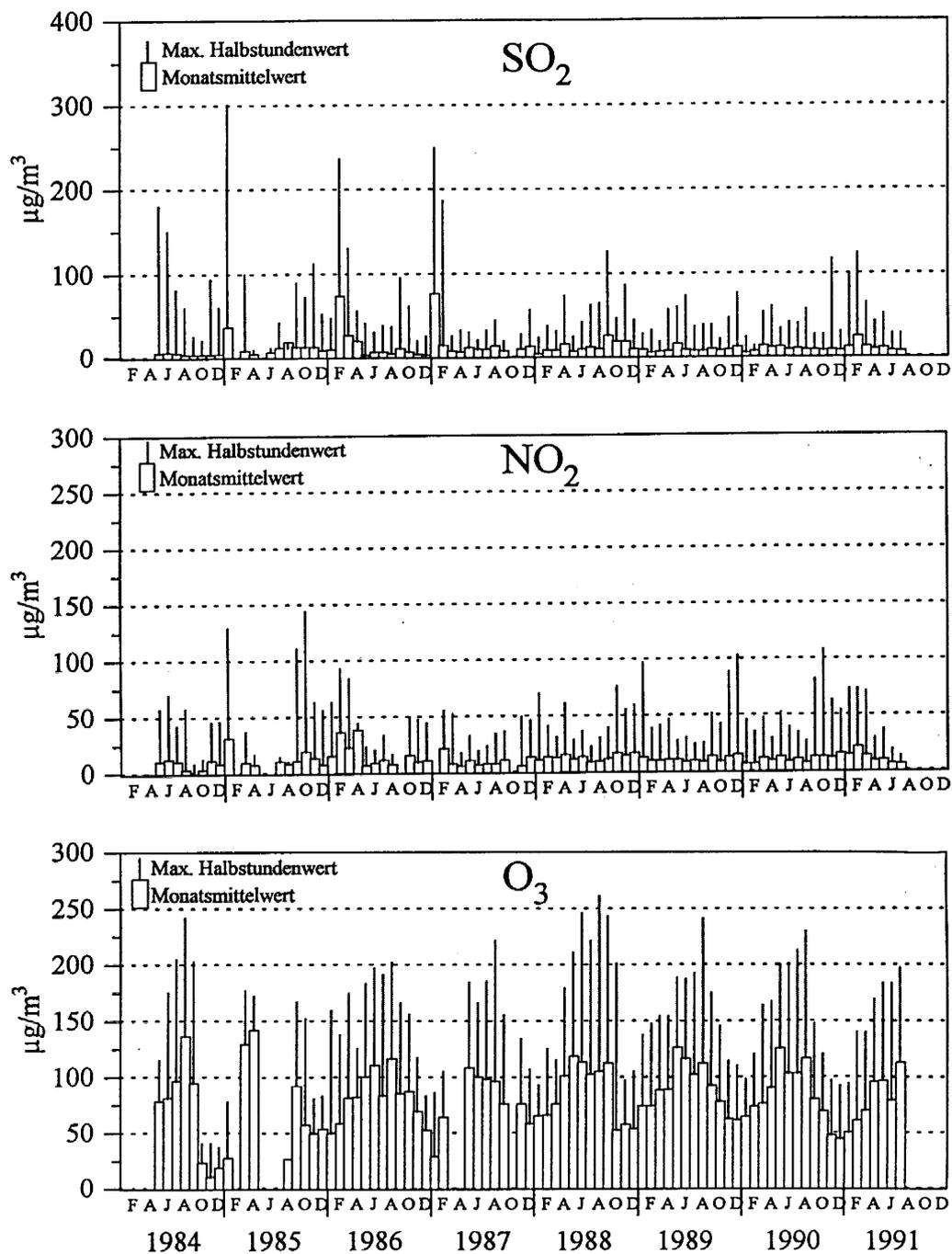
Monatsmittelwerte von Niederschlag, Sonnenscheindauer und Temperatur in den Jahren 1993-1996 und im langjährigen Mittel (1961-1990). Daten der Wetterstation Freudenstadt (Deutscher Wetterdienst, Wetteramt Stuttgart). In: SIEFERMANN-HARMS *et al.* (1997 a).

Anhang 2

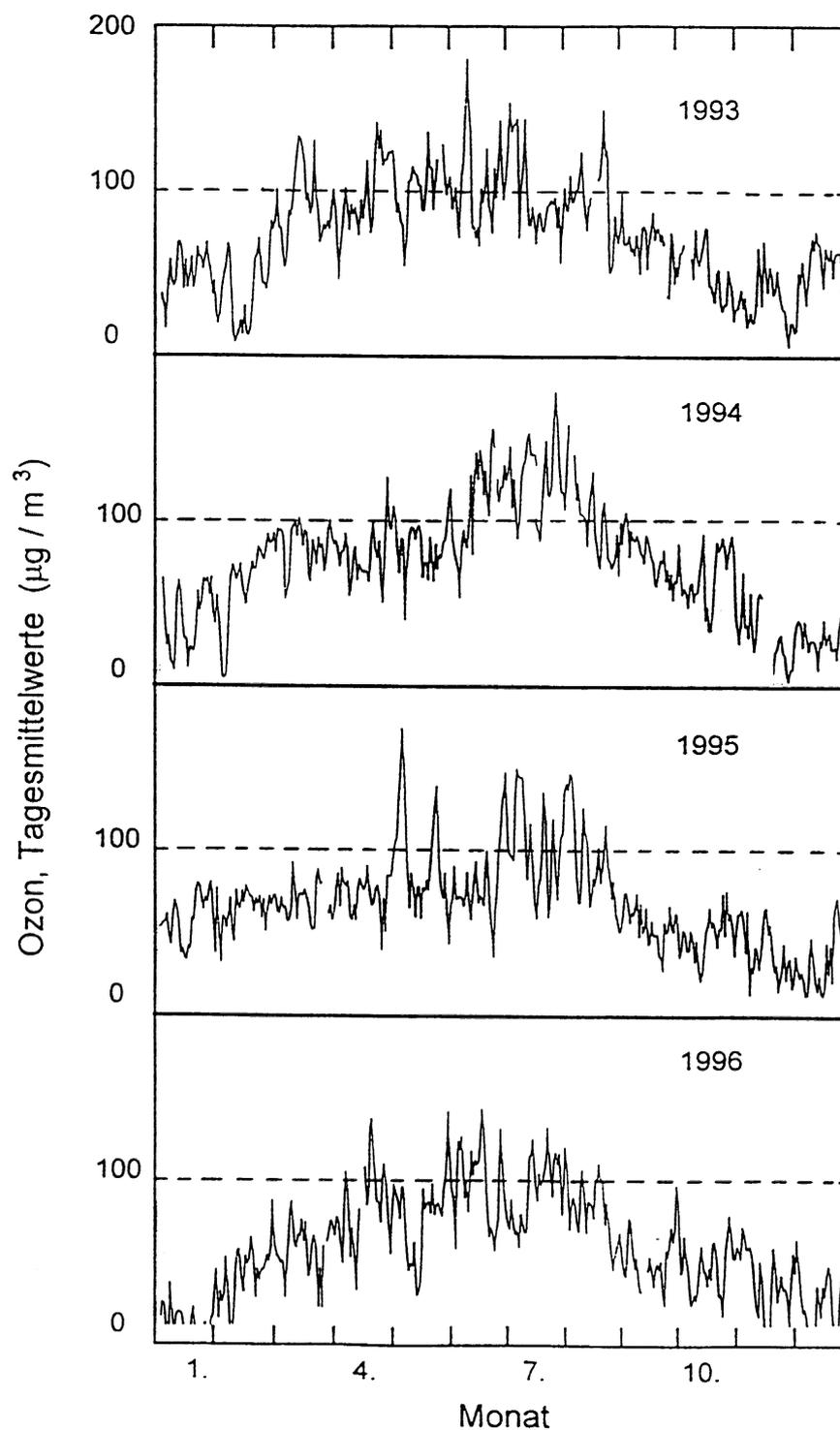
Standort	Hydrologisches Jahr	H ⁺	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺
Rotenfels	1988/89	2,04	2,36	2,27	1,17
Gegenbach		1,06	1,54	1,19	0,55
Schauinsland		1,47	1,93	1,50	0,63
Freudenstadt					
-Schöllkopf		0,56	1,22	0,78	0,38
-Kirschkopf		0,56	0,88	0,46	0,14
Rotenfels	1990/91		1,57	1,48	0,99
Gegenbach			1,24	1,15	0,57
Schauinsland			1,34	1,14	0,53
Freudenstadt					
-Schöllkopf		0,57	0,95	0,64	0,36
-Kirschkopf		0,54	0,84	0,48	0,20

(kmol Ionenäquivalent / ha x Jahr)

Stoffdeposition unter Fichte – Vergleich des Standorts Freudenstad-Schöllkopf mit anderen Schwarzwaldstandorten (Daten von HOCHSTEIN und HILDEBRAND, 1992 und in BITTLINMEIER et al. 1995)



Monatsmittel- und maximale Halbstundenwerte von SO₂, NO₂ und O₃ oberhalb des Baumkronenbereichs am Standort Freudenstadt-Schöllkopf. (Daten von AG Baumbach. Lage des Meßturms vergl. Abb. 1 von BAUMBACH und BAUMANN 1995). In: BITTLINGMEIER *et al.* 1995



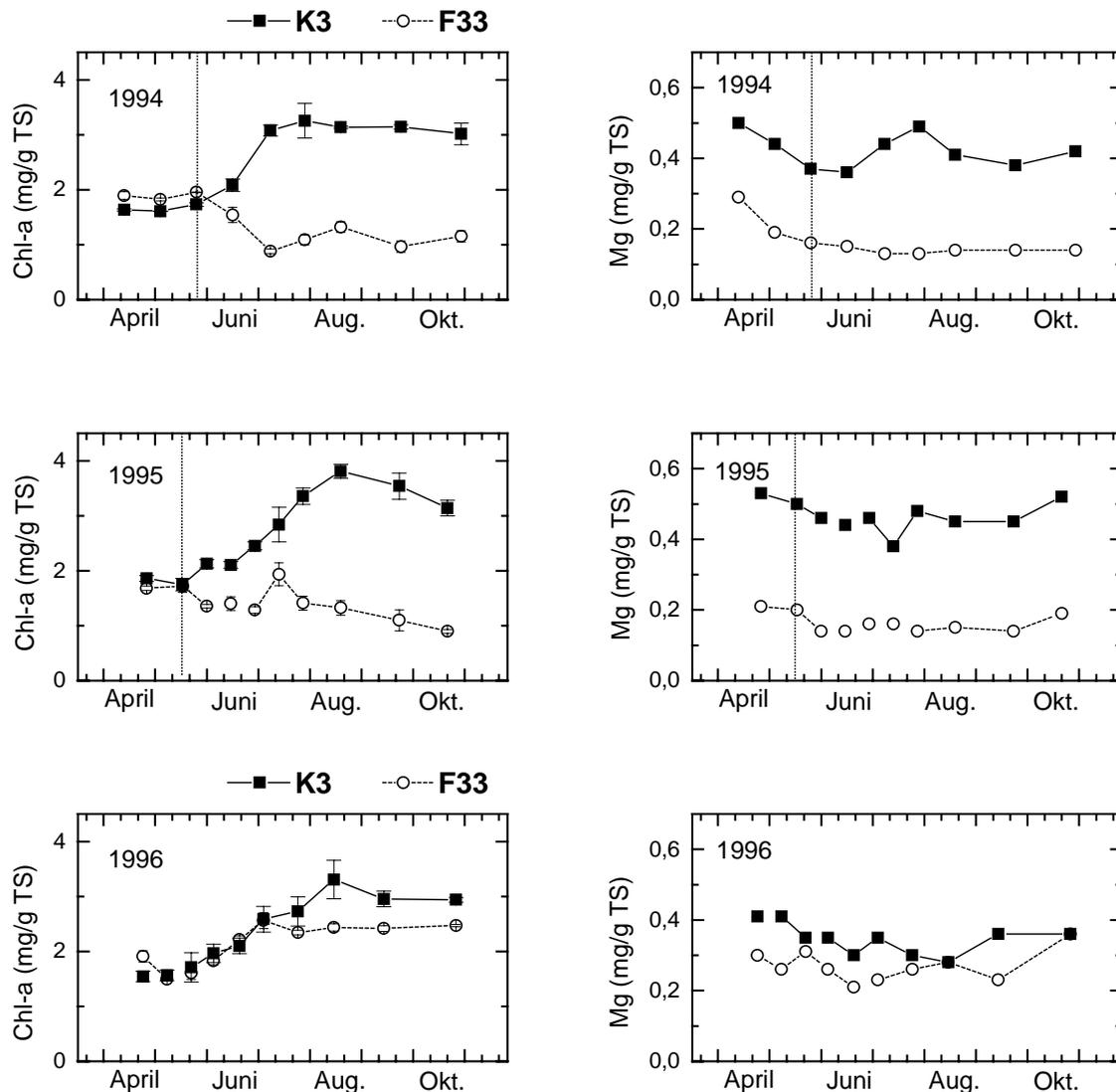
Tagesmittelwerte der Ozonkonzentration in den Jahren 1993 – 1996 an der UMEG-Meßstelle am Nordrand von Freudenstadt. Quelle: UMEG, Landesweites Meßnetz. In: SIEFERMANN-HARMS, 1997 a.

Analyse der Böden unter Fichte 33 und Fichte K3

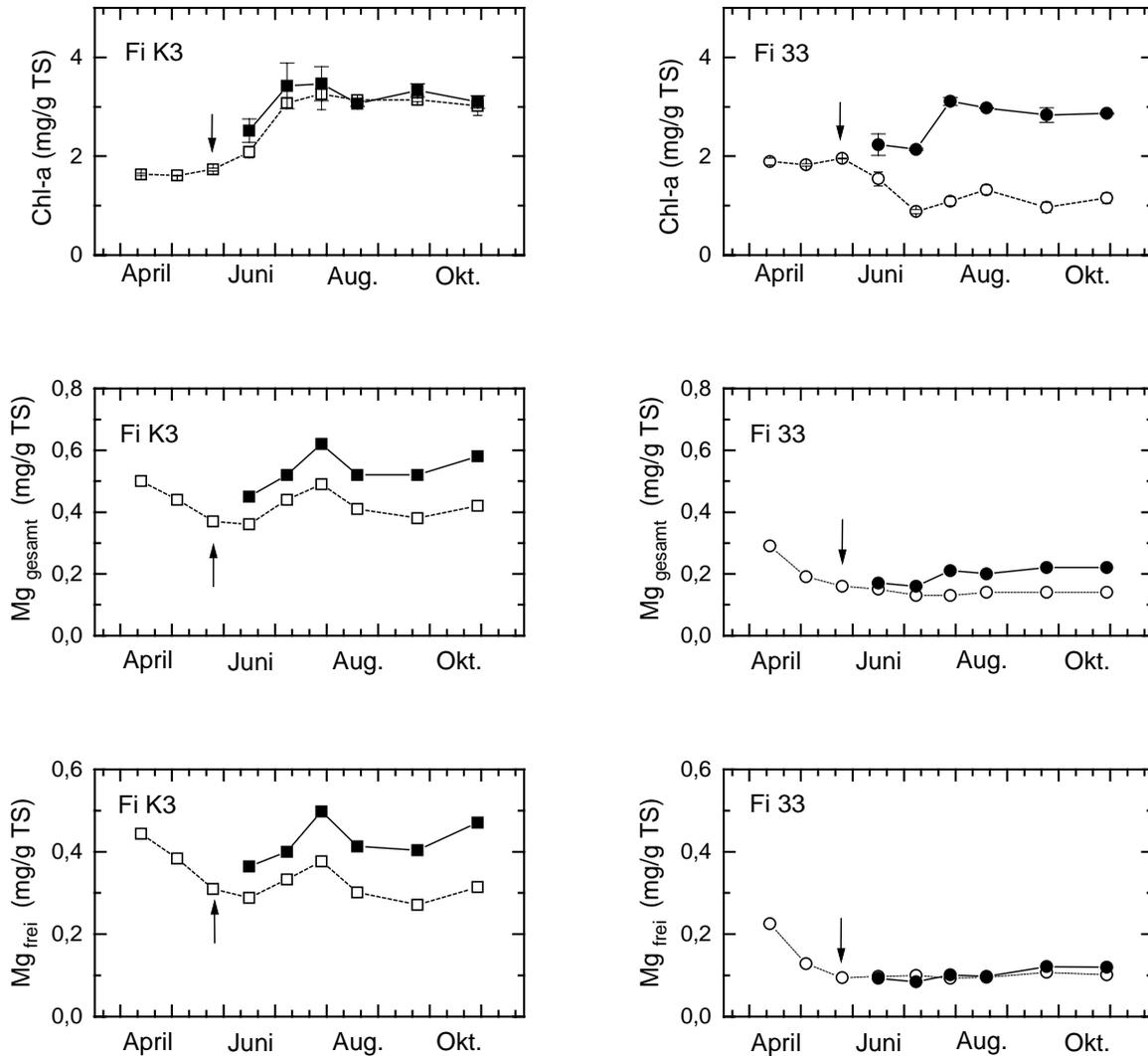
	Fichte F33			Fichte K3	
	Winter 90/91	17.10.95	16.07.96	17.10.95	16.07.96
----- Bodentiefe 0 - 5 cm -----					
pH (H ₂ O)	4,08	3,78	4,16	3,40	3,63
pH (KCl)	3,48	3,07	3,31	2,67	2,78
C (mg g ⁻¹)	-	102,00	106,00	108,00	103,00
N (mg g ⁻¹)	-	6,60	7,60	6,50	6,70
P (mg g ⁻¹)	-	0,63	0,57	0,40	0,35
C/N	-	15,45	13,95	16,60	15,40
C/P	-	161,90	186,00	270,00	294,00
Ionenäquivalente (IÄ, □ mol g ⁻¹) bei Ionenaustausch mit 1N NH ₄ Cl					
H ⁺	4,19	11,19	8,10	29,86	32,43
Na ⁺	1,86	0,56	0,41	0,40	0,23
K ⁺	2,27	2,00	2,84	2,08	2,46
Ca ²⁺	<u>2,60</u>	<u>6,80</u>	<u>29,40</u>	13,50	15,70
Mg ²⁺	<u>2,76</u>	<u>29,28</u>	<u>27,22</u>	5,49	9,57
Mn ²⁺	20,65	9,93	11,50	0,60	0,50
Al ³⁺	137,30	130,20	99,60	73,30	60,30
Fe ²⁺	0,47	4,93	1,40	6,65	3,10
Effekt. Austausch- kapazität (□ IÄ)	172,10	194,90	180,40	131,80	124,40
Basensättigung (%)	5,50	19,80	33,20	16,30	22,50
----- Bodentiefe 5 - 10 cm -----					
pH (H ₂ O)	4,19	3,92	4,16	3,44	3,64
pH (KCl)	3,58	3,38	3,45	2,68	2,77
C (mg g ⁻¹)	-	61,00	62,00	44,00	54,00
N (mg g ⁻¹)	-	4,80	4,90	3,00	4,30
P (mg g ⁻¹)	-	0,62	0,56	0,23	0,25
C/N	-	12,70	12,70	14,70	12,60
C/P	-	98,00	111,00	191,00	216,00
Ionenäquivalente (IÄ, □ mol g ⁻¹) bei Ionenaustausch mit 1N NH ₄ Cl					
H ⁺	3,36	4,89	4,31	25,88	23,23
Na ⁺	1,97	0,43	0,36	0,24	0,23
K ⁺	2,09	1,77	2,13	0,98	1,32
Ca ²⁺	<u>2,10</u>	<u>2,70</u>	<u>8,40</u>	3,00	2,90
Mg ²⁺	<u>2,01</u>	<u>15,92</u>	<u>8,75</u>	1,64	1,86
Mn ²⁺	19,35	16,19	12,12	0,36	0,20
Al ³⁺	107,30	122,90	115,00	84,60	78,00
Fe ²⁺	0,21	0,62	0,46	5,15	2,93
Effekt. Austausch- kapazität (□ IÄ)	138,30	165,40	151,50	121,80	110,70
Basensättigung (%)	5,90	12,60	13,00	4,80	5,70

Daten in: HOCH *et al.*, 1997.

Anhang 6 (I)



Chl-a-Gehalt (oben, n=4) und Mg-Gehalt (Mitte, n=1) der Nadeln. Untersucht wurden sonnenexponierte Nadeln der Kontrollfichte K3 (Quadrat) und der geschädigten Fichte 33 (Kreis) in den Vegetationsperioden 1994 (Nadeljahrgang 1993) bis 1996 (Nadeljahrgang 1995). Die gestrichelte Linie (oben und Mitte) markiert den letzten Probenahmetermin, an dem der vorjährige Nadeljahrgang von Fichte 33 noch keine visuell erkennbaren Vergilbungssymptome zeigte. Mg-Düngung der Fichte 33 in den Jahren 1994 und 1995 bewirkte 1996 eine bessere Mg-Versorgung der vorjährigen Nadeln und das Ausbleiben der Vergilbung (unten). Aus SIEFERMANN-HARMS et al. (1997 c).



Chl-a-Gehalt (oben, $n=4$), Mg_{gesamt} - und Mg_{frei} - Gehalt (Mitte und unten, $n=1$) von sonnenexponierten (offene Symbole) und künstlich beschatteten (geschlossene Symbole) Nadeln der Fichten K3 (links, Quadrat) und 33 (rechts, Kreis). Mg_{frei} : 'freies', d.h. nicht Chl-gebundenes Mg. TS: Trockensubstanz. Der Pfeil markiert den Beginn des Beschattungsexperiments (24.5.1994). Nadeljahrgang 1993; Vegetationsperiode 1994. Aus SIEFERMANN-HARMS *et al.* (1997 c).

DANKSAGUNGEN

Herrn Prof. Dr. H.-G. Heumann danke ich für die Überlassung des Themas, die zahlreichen, anregenden Diskussionen, vor allem für die gewährte wissenschaftliche Freiheit und das in mich gesetzte Vertrauen, das Projekt durchführen zu können.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. H. K. Lichtenthaler danke ich für die Übernahme des Korreferats.

Frau Dr. Siefermann-Harms danke ich herzlich für ihre unterstützende Beratung und ihre stets anregenden Diskussionen.

Frau Dr. Planas-Bohne danke ich für ihr Bereitschaft, die Korrektur meiner deutschen Sprache zu übernehmen.

Herrn Dr. M. Seyfried danke ich für die unzähligen Stunden "schon wieder am Computer basteln"!

Den Co-Doktorandinnen und Co-Doktoranden sowie Staatsexamenkandidatinnen und -kandidaten des Botanischen Instituts I danke ich für die vielseitige Unterstützung und anregende Diskussionen bei unseren Mittwochstreffen.

Frau Purper danke ich für ihre technische Unterstützung und für die gemeinsamen Kaffeepausen.

Ferner will ich mich bei allen Mitarbeitern des Botanischen Instituts I für die angenehme Arbeitsatmosphäre bedanken.

Dem PEF-Projekt des Forschungszentrum Karlsruhe und der Universität Karlsruhe danke ich für die finanzielle Unterstützung.

Ein ganz besonderer Dank gilt allen, die mich privat wie beruflich unterstützt haben und es mir damit ermöglicht haben, daß ich Familie und Forschung vereinbare konnte.