II Material und Methoden

II.1 Pflanzenkultur

Die beiden Sommerweizensorten Nandu und Minaret (*Triticum aestivum* L. cv. Nandu, cv. Minaret) wurden in zwei Expositionsjahren angebaut.

Nandu ist diejenige Sommerweizensorte, die laut aktueller Sortenliste in Deutschland am häufigsten angebaut wird. An dieser Sorte nahm unsere Arbeitsgruppe 1994 ausschließlich Wachstums- und Ertragsuntersuchungen vor. Die Sommerweizensorte Minaret wurde sowohl 1994 als auch 1995 für physiologisch/biochemische Analysen und Wachstums-/Ertrags-Untersuchungen verwendet. 1995 wurde Minaret zusätzlich einer zeitlich differenzierten Wachstumsanalyse unterzogen. Aus diesem Grunde ließen sich bei der Sorte Minaret im Jahr 1995 Ergebnisse beider Untersuchungsebenen gut verknüpfen.

Die Pflanzen wurden in der Gießener Expositionsanlage aus Open-Top-Kammern exponiert. Eine Beschreibung der Anlage findet sich bei Fangmeier et al. (1992). Die Konstruktion der Kammern ist angelehnt an die von Heagle et al. (1973) erstmalig beschriebene.

Ausgesät wurden die Pflanzen 1994 am 28. 4. und 1995 am 27. 4.. Die Aussaat erfolgte direkt in den Open-Top-Kammern in Rohrtöpfe (Länge 42 cm, Durchmesser 10,3 cm, Volumen 3,3 l), die weiß gestrichen waren, um eine Überhitzung zu vermeiden. Es handelte sich also um ein Topfkultur-Experiment. Als Substrat diente ein lehmiger Sandboden, der von einer Ackerfläche aus der Nähe Gießens stammte und vor der Befüllung der Töpfe mit Sand im Verhältnis 1:1 gemischt wurde. Durch die Sandbeimischung wurde eine Verdichtung des Substrats in den Töpfen vermieden. Die Begasung begann vor dem Auflaufen der Saat, das etwa 7 Tage nach dem Aussaat-Termin erfolgte. 18 Tage nach Aussaat wurden die Pflanzen von 5 auf 2 Pflanzen pro Topf vereinzelt.

Einen Zeitplan der Düngerapplikation zeigt Tabelle 2.1. Es wurden zwei Düngerbehandlungen gegeben: Die eine Hälfte der Töpfe in einer Kammer war gut mit Dünger versorgt („+Düngung“: +Dgg.), die andere war „mangelversorgt“ („-Düngung“: -Dgg.). 1994 erfolgte Ozonbegasung nur mit guter Düngemittelversorgung, während sich 1995 auch in den „Ozon“-Kammern beide Düngevarianten befanden. Wie Tabelle 2.1 zu entnehmen ist, wurde Weizen an vier Terminen zu den Stadien „Keimung“, „Bestockung“, „Schossen“ und „Ährenschieben“ gedüngt. Die Wahl der Termine orientierte sich an gängiger landwirtschaftlicher Praxis (Reiner et al. 1992). Einem Verlust durchgesickerten Düngers beugten Untersetzer vor: Das Sickerwasser wurde nach den Düngeterminen wieder der Substratoberfläche zugeführt.

Die Grundversorgung (Applikation 1) wurde stets in Form eines NPK-Flüssigdüngers gegeben. An den übrigen Terminen erhielt die „-Düngung“ nur NPK-Flüssigdünger, während zusätzliche Stickstoffgaben für die gute Mineralstoffversorgung in Form von NH_4NO_3 verabreicht wurden. Die Gesamtmenge an Stickstoff in der „+Düngung“ war so gewählt, daß heute übliche Düngergaben um ca. 50% überschritten wurden (Reiner et al. 1992), und orientierte sich damit an der erwarteten Wachstumssteigerung unter erhöhtem CO_2.

Eine Tropfen-Bewässerungsanlage der Firma DGT versorgte das Getreide im Zweitagesabstand mit Wasser. Trockenstreß wurde nach Möglichkeit vermieden; die Pflanzen waren insgesamt gut gewässert. Die Töpfe waren zur Bestandes-Simulation in den Kammern dichtgestellt. Die Bestandesdichte wurde nach jeder Ernte wiederhergestellt, indem die Töpfe neu gruppiert wurden. Eine Pestizidapplikation wurde 1994 am 56. Tag nach Aussaat (Pirimor) und 1995 am 75./82. Tag nach Aussaat (Neudosan) erforderlich. Sie erfolgte nach dem „ceteris paribus“-Prinzip in allen Kammern.

Tab. 2.1: Zeitplan der Düngerapplikation in den Expositionsjahren 1994/1995. Wachstumsstadien nach dem Phänologieschlüssel von Tottman & Broad (1987).

Nr. der Applikation	**Datum und Wachstums-stadium**	**Expositionsjahr**	
		1994	**1995**
1	Datum	28. 04.	02. 05.
	Tag nach Aussaat	00	05
	Stadium	00	07
	N-Gabe (kg ha^{-1}): „-Dgg./+Dgg.“	20/20	20/20
2	Datum	30. 05.	02. 06.
	Tag nach Aussaat	32	36
	Stadium	24	24
	N-Gabe (kg ha^{-1}): „-Dgg./+Dgg.“	65/125	65/140
3	Datum	13. 06.	12. 06.
	Tag nach Aussaat	46	46
	Stadium	34	37
	N-Gabe (kg ha^{-1}): „-Dgg./+Dgg.“	26/50	26/60
4	Datum	23. 06.	30. 06.
	Tag nach Aussaat	56	64
	Stadium	57	65
	N-Gabe (kg ha^{-1}): „-Dgg./+Dgg.“	39/75	39/80
	Ges. N-Gabe (kg ha^{-1}) „-Dgg./+Dgg.“	150/270	150/300

II.2 Behandlungsvarianten, Expositionsbedingungen und Witterung

Die Behandlungsvarianten:

In beiden Expositionsjahren wurden nur nichtgefilterte Kammern (NF) für die Experimente verwendet: In der Kontrollvariante A-NF war die Kohlendioxid- und Ozonkonzentration demzufolge nahe der Außenluftkonzentration (siehe Tabelle 2.2). CO_2-Begasung steigerte in den Behandlungen A160-NF und A320-NF die Konzentration um 160 oder um 320 µmol mol^{-1}. Die proportionale Ozonaddition (Fangmeier et al. 1992) folgte dem Tagesverlauf der Außenluftkonzentration und erhöhte die Werte auf das Anderthalb- bis Zweifache (Varianten NF1,5 der Tabelle 2.2). Ozonaddition war nur mit Außenluft-CO_2 (A-NF1,5) und höchster CO_2-Konzentration (A320-NF1,5) kombiniert. Jede Behandlung wurde in zwei Kammern wiederholt. 1995 mußte jedoch eine Kammer der Begasungsvariante A-NF1,5 wegen eines Ozon-unfalls aus der Untersuchung ausgeschlossen werden. Die Praxis, nichtgefilterte Luft zu verwenden, unterschied sich von der Praxis der Vergangenheit, bei der die Wirkung Ozon-angereicherter Luft mit derjenigen Aktivkohle-gefilterter Luft verglichen wurde (Fangmeier et al. 1993).

Die Expositionsbedingungen:

Tabelle 2.2 enthält die innerhalb der beiden Expositionsperioden in den einzelnen Behandlungen erreichten 24-Stundenmittel der Spurengaskonzentrationen. Dargestellt sind auch die Hintergrundkonzentrationen anderer phytotoxischer Spurengase (NO, NO_2, SO_2) am Standort Gießen. Niedrige SO_2-Konzentrationen, wie sie typisch für den Sommer in Deutschland sind, wurden in der Expositionszeit gemessen. Vom Umweltbundesamt veröffentlichte Jahresmittelwerte der NO_2-Konzentrationen lagen im alten Bundesgebiet flächendeckend zwischen 10,5 und 20,9 nmol mol^{-1} (UBA 1992). Die hier gemessenen Mittelwerte für den Expositionszeitraum befanden sich am unteren Rand dieses Konzentrationsbereiches. Auf Kohlendioxid und Ozon wird weiter unten eingegangen.

Tab. 2.2: Spurengas-Konzentrationen in der Außenluft und in den Open-top-Kammern (24-Stundenmittel von Expositionsbeginn bis zur Erntereife) für die Expositionsjahre 1994/1995. Die Mittelwerte der zwei Kammerwiederholungen sind durch '/' getrennt.
Abkürzungen der Behandlungen: A: CO_2-Konz. in der Außenluft, A160: CO_2-Konz. in der Außenluft plus 160 µmol mol^{-1}, A320: CO_2-Konz. in der Außenluft plus 320 µmol mol^{-1}, NF: O_3-Konzentration in der Außenluft, NF1,5: 1,5-fache Außenluft-O_3-Konzentration

Jahr	Spurengas CO_2: µmol/mol Rest: nmol/mol	Außen-luft	Behandlung A-NF	 A160-NF	 A320-NF	 A-NF1,5	 A320-NF1,5
	CO_2	362	363/359	515/534	628/649	362/367	625/653
	O_3	30,1	29,2/30,0	30,1/29,9	29,6/30,0	38,8/39,1	39,5/42,5
1994	NO	2,1			2,0		
	NO_2	12,1			11,5		
	SO_2	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0
	CO_2	396	395/407	547/537	697/584	395/397	604/588
	O_3	26,6	24,5/23,7	23,4/23,0	22,7/25,0	45,5/44,4	47,1/44,5
1995	NO	3,3		3,1		2,5	
	NO_2	10,5		10,0		10,5	
	SO_2	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0

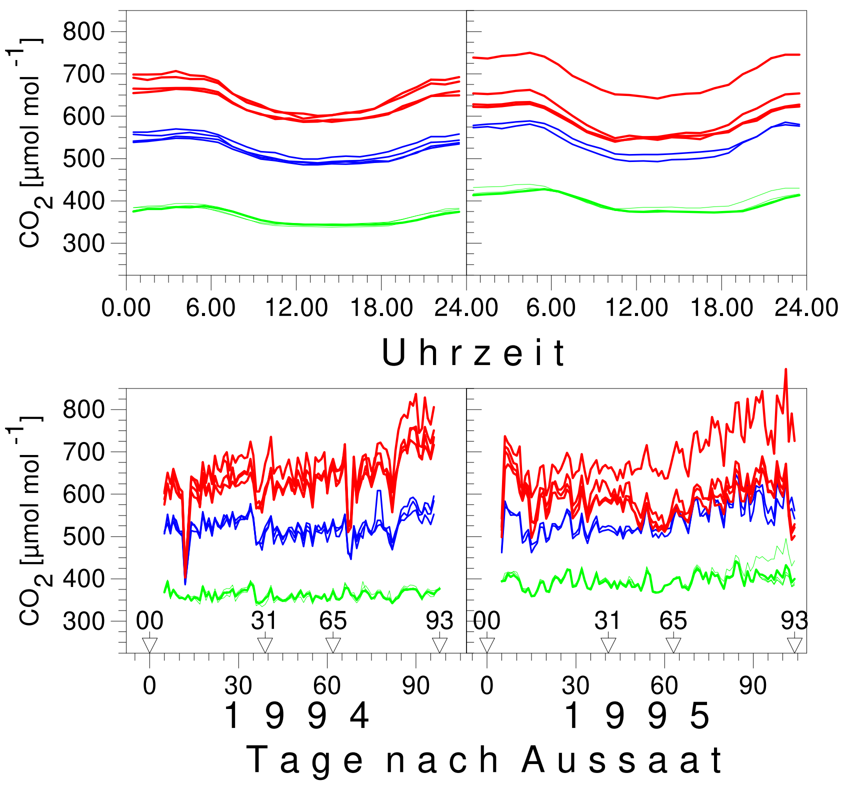

Abb. 2.1: oben: Tagesverlauf der CO_2-Stundenmittel 1994/1995.
unten: Verlauf der 24-Stundenmittel der CO_2-Konzentration 1994/1995.
Mit Pfeilen gekennzeichnet sind die Stadien nach dem Phänologieschlüssel von Tottman & Broad (1987): Aussaat 00, Beginn Schossen 31, Vollblüte 65, Erntereife 93.

Abbildung 2.1 zeigt in den oberen Grafiken den Tagesverlauf der CO_2-Konzentration mit niedrigen Tages- und hohen Nacht-Konzentrationen. Für die höchste Konzentration traten

1995 Unterschiede zwischen den Kammerwiederholungen auf (vgl. Tabelle 2.2). Von dem Ährenschieben an wichen die Konzentrationen voneinander ab, wie die untere Graphik der Abbildung 2.1 darlegt.

Wie für einen stadtnahen Standort zu erwarten (UBA 1992, Cape et al. 1994), war die Ozonbelastung am Nachmittag hoch, und die Stundenmittel der Ozonkonzentration schwankten im Tagesverlauf stark (vgl. Abbildung 2.2 oben). Nach einem Anstieg am Vormittag traten maximale Stundenmittel zwischen 14^{00} und 18^{00} Uhr auf; am späteren Abend sank die Konzentration deutlich ab. Die Maxima der Stundenmittel für die Expositionsperiode betrugen in den NF-Kammern 40 nmol mol^{-1} und 80 nmol mol^{-1} in den NF1,5-Behandlungen. Höchste gemessene Stundenmittel waren etwa 2,5-fach höher. Bis zum Stadium „Schossen" waren die Ozonwerte niedrig (Ausnahme: Tag 10 im Jahr 1995; siehe Abbildung 2.2 unten). In beiden Untersuchungsjahren stiegen die Ozon-Tagesmittel kurz vor Erreichen der Vollblüte an und verblieben bis zur Erntereife auf einem hohen Niveau. Diese Phase war durch eine sonnige, heiße und trockene Witterung gekennzeichnet (siehe unten).

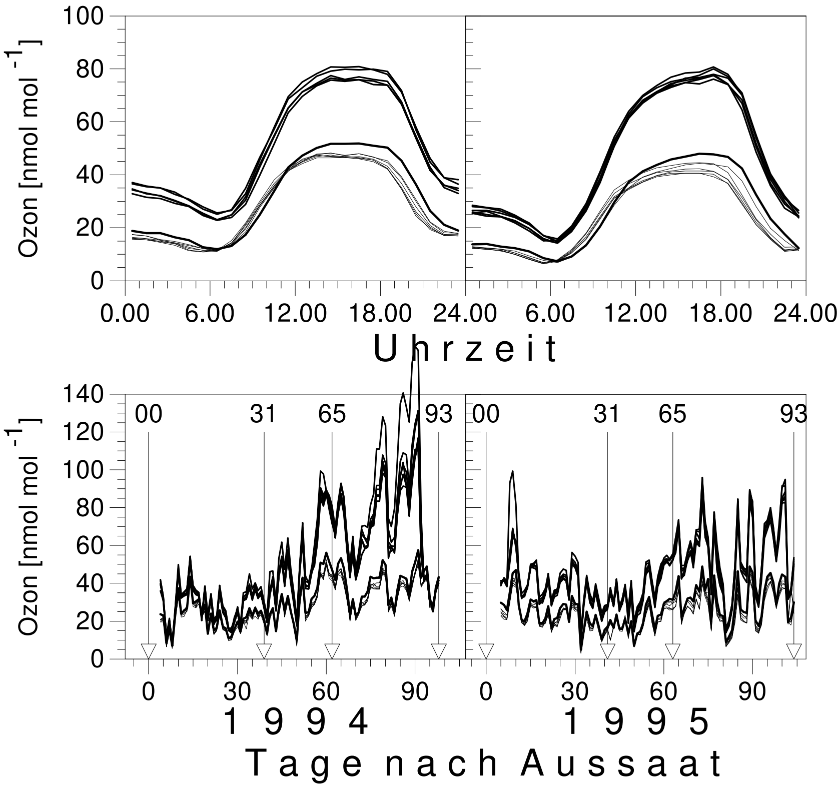

Abb. 2.2: oben: Tagesverlauf der O_3-Stundenmittel 1994/1995.
unten: Verlauf der 24-Stundenmittel der O_3-Konzentration 1994/1995.
Mit Pfeilen gekennzeichnet sind die Stadien nach dem Phänologieschlüssel von Tottman & Broad (1987): Aussaat 00, Beginn Schossen 31, Vollblüte 65, Erntereife 93.

In der Europäischen Union basieren die Ozon-Grenzwerte zum Schutz der Vegetation zur Zeit auf dem AOT40-Konzept (= **a**ccumulated exposure **o**ver a **t**hreshold of 40 ppb, Fuhrer et al. 1997). Für die Expositionsperioden 1994 und 1995 waren die kalkulierten AOT40-Werte vergleichbar. In Abbildung 2.3 sind für die Expositionsperiode 1995 AOT40-Entwicklung und die darauf beruhende Schätzung ozonbedingter Ertragsausfälle dargestellt. In Open-Top-Kammerstudien existierte gemeinhin bis 35 ppm h eine lineare Beziehung zwischen AOT40-Wert und ozonbedingtem Weizenertragsausfall (Fuhrer et al. 1997, siehe Definitionsbereich Abbildung 2.3). Insofern waren massive Ertragsausfälle (40%) schon in der NF-Variante zu erwarten. Nimmt man an, daß die Linearität auch bei höheren AOT40 bestehen bleibt, hätte Ozon in NF1,5 mit einem AOT40-Wert von ca. 60 ppm h die Ertragsbildung gänzlich unterdrücken müssen.

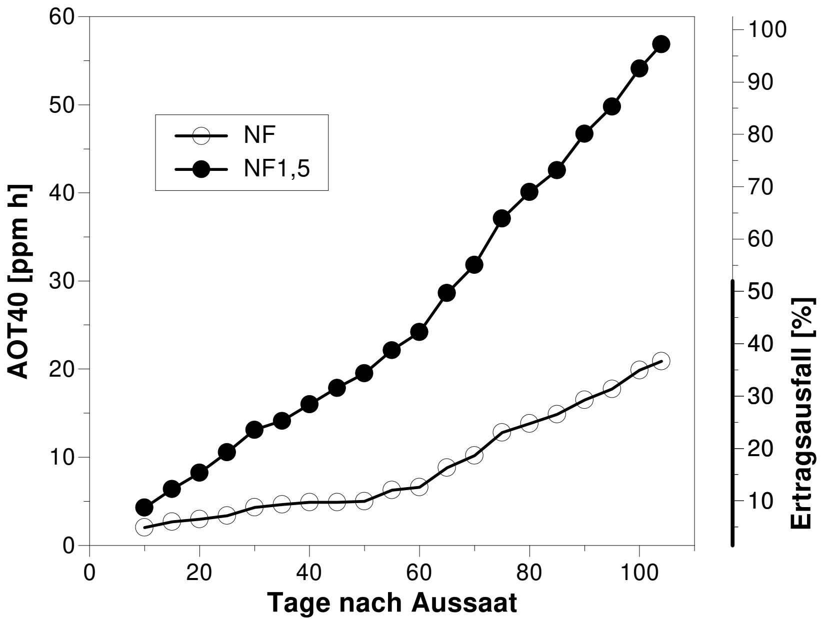

Abb. 2.3: Entwicklung der AOT40-Werte während der Expositionsperiode 1995 und aus AOT40-Werten geschätzter Ertragsausfall (Fett: Definitionsbereich, Erläuterung siehe Text).

Die Witterungsbedingungen:

Mikroklimatische Faktoren beeinflussen das Pflanzenwachstum. Obwohl Open-Top-Kammern zu den freilandnahen Expositionssystemen zählen, weichen (mikro-)klimatische Faktoren innerhalb der Kammern von denen des Freilands in einem für das Pflanzenwachstum relevanten Ausmaß ab (Fuhrer 1994). Um welche Abweichungen handelt es sich dabei?

Die Einstrahlung differiert gegenüber den Außenverhältnissen. Für die Absorptionseigenschaften der Polyethylenfolie gilt: Geringe Absorption im sichtbaren Wellenlängenbereich; fast komplette Absorption unterhalb 385 nm (Fangmeier et al. 1992). Es existiert ein Einfluß der Kammerventilationsrate auf die Ausbildung von Grenzschichten, der rückwirken kann auf den Gaswechsel. Wachstum und Entwicklung von Weizen sind abhängig von der Temperatursumme (Reiner et al. 1992). Nach Fangmeier et al. (1992) war die Durchschnittstemperatur aber während einer sonnenreichen Periode im Sommer um 2,3°C höher und die relative Feuchte um 5% niedriger als Außen. Die maximale Temperaturdifferenz betrug 4,8°C; die maximale Differenz der relativen Feuchte 10%. Da diese Differenzen am Tage bei witterungsbedingt ohnehin schon hoher Temperatur und niedriger relativer Feuchte auftreten und für kammerinterne Extrembedingungen sorgen, muß zu dieser Zeit ein Einfluß auf den Gaswechsel existieren (zum Temperatureinfluß auf die Photosynthese siehe Larcher 1994b).

Die Expositionsperiode beider Jahre indes kann aufgrund der Wetterverhältnisse (vgl. Abbildung 2.4) in zwei distinkte Phasen eingeteilt werden: Phase 1 dauerte von der Aussaat bis kurz vor der Blüte und war durch wechselhafte Bedingungen, niedrige Temperaturen und eine hohe relative Feuchte gekennzeichnet. In der Phase 2, die den Zeitraum von Blüte bis Erntereife umfasst, war es sonnig, heiß und trocken. Maximale Tages-Temperaturen lagen in dieser Zeit häufig oberhalb von 35°C, die relative Feuchte konnte dann in den Kammern unter 30% absinken.

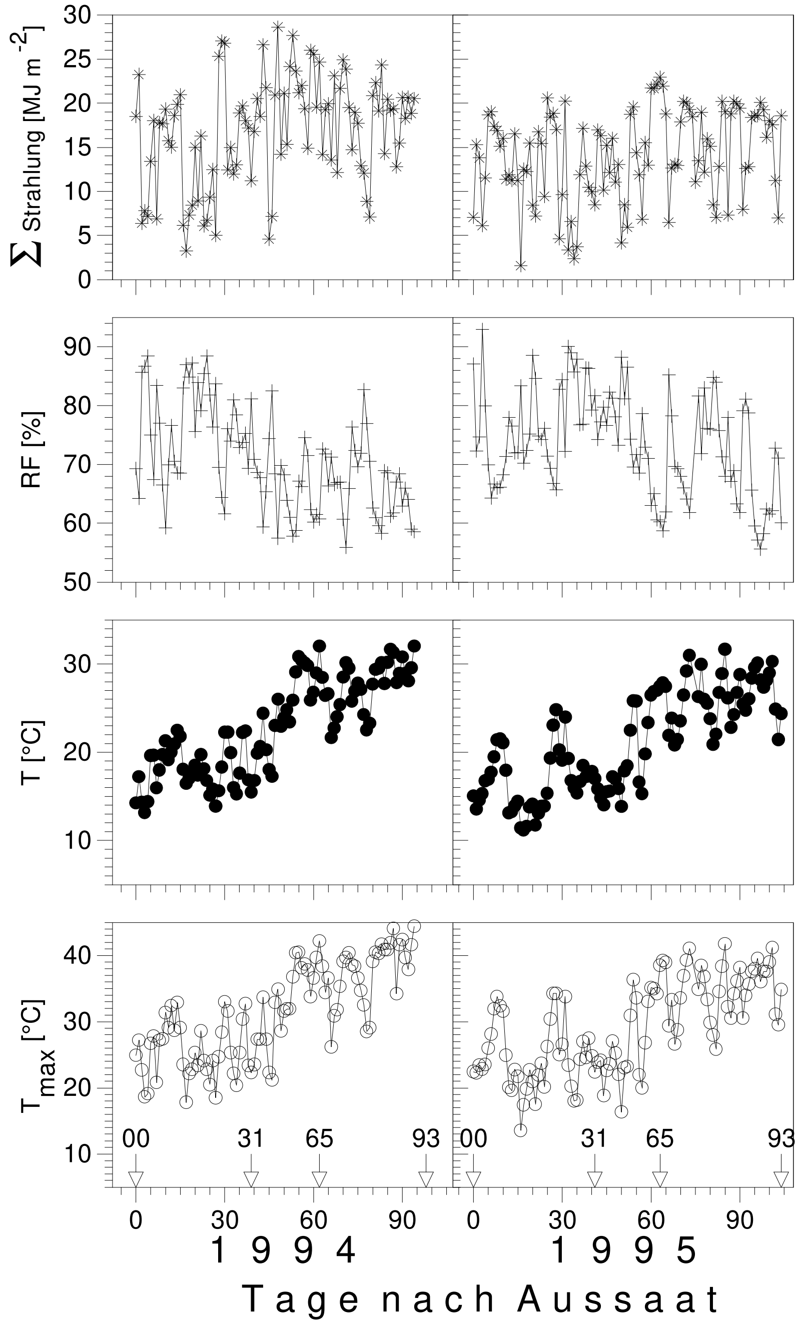

Abb. 2.4: Verlauf der Strahlungssummen (∑ Strahlung), der Tagesmittel der relativen Feuchte (RF), der Tagesmittel der Temperatur (T), der maximalen Tagestemperatur (T_{max}) 1994/1995. Mit Pfeilen gekennzeichnet sind die Stadien nach dem Phänologieschlüssel von Tottman & Broad (1987): Aussaat 00, Beginn Schossen 31, Vollblüte 65, Erntereife 93.

II.3 Wirkungserhebungen

II.3.1 Wachstums- und Ertragsmessungen

1994 wurden beide Weizensorten viermal für eine Biomassebestimmung geerntet. Die vier Ernten erfolgten zu den Stadien Schossen, Anthese, Milchreife, Erntereife. Geerntet wurden jeweils 4 Töpfe (4 Parallelen) der einzelnen Behandlungsvarianten in einer Kammer. Zusätzlich wurde bei der Sorte Minaret, beginnend mit dem 48. Tag nach Aussaat (Stadium: Beginn Schossen) und endend mit der Erntereife am 92. Tag, in wöchentlichem Abstand eine Biomasse-Ernte von 4 Töpfen pro Variante durchgeführt. Bei diesen Ernten wurden die Haupthalme in die Internodienfraktionen 1-3 zerlegt, getrocknet (24 Stunden bei 105°C), gemahlen und für spätere Kohlenhydratanalysen zurückgelegt (zwei unterste Internodien: Fraktion 1, folgendes: Fraktion 2, Ährenstiel: Fraktion 3).

Bei der einzigen 1995 angebauten Sommerweizensorte Minaret wurde eine andere Vorgehensweise gewählt als im Jahr 1994. Die „klassische“ Praxis, eine große Zahl von Pflanzen an wenigen Terminen zu ernten und über Varianzanalyse auf Behandlungsunterschiede zu testen, wurde ergänzt um den sogenannten funktionalen Ansatz nach Hunt (1990). In der funktionalen Wachstumsanalyse werden Ernten in kürzeren Abständen und mit geringerer Wiederholungszahl vorgenommen. Entsprechend wurden 1995 an Sommerweizen 3 „klassische“ Ernten mit jeweils 5 geernteten Töpfen pro Kammer und Variante in den Stadien Schossen, Blüte und Erntereife und 8 „funktionale“ Ernten mit 1 geerntetem Topf im wöchentlichen Intervall durchgeführt. Die nicht mit Ozon begasten Pflanzen wurden dreimal zusätzlich geerntet (3 Töpfe).

Die Termine für die Biomasse-Ernten (Ausnahme: 8 Zwischenernten für Halm-Kohlenhydratanalysen an Sorte Minaret im Jahr 1994) können Tabelle 2.3 entnommen werden.

Zu den einzelnen Ernteterminen wurde die Zahl der Pflanzenorgane (Blätter, Halme, Ähren) und nach 24-stündiger Trocknung bei 105°C die Trockenmasse der Fraktionen bestimmt. Grüne Blattflächen und Fahnenblattflächen, soweit vorhanden, wurden mit dem Blattflächenmeßgerät LI-COR 3300 (LI-COR, Lincoln, NE, USA). gemessen. Gewichte photosynthetisch aktiver und seneszenter Blätter wurden getrennt erfaßt; Blätter dann als seneszent gewertet, wenn 50% ihrer Fläche gelb war. Der Harvest-Index (Verhältnis Kornertrag zu Oberirdischer Trockenmasse) sowie die Ertragsparameter Tausendkorngewicht, Kornzahl pro Ähre und Ährenzahl liegen für die Endernten vor.

Von jeder Variante wurde ein Topf bei den wöchentlichen „funktionalen“ Ernten des Jahres 1995 für eine spätere Wurzelraumanalyse zurückgestellt und bis dahin im Kühlraum aufbewahrt. Die Ergebnisse der Wurzel-Trockenmassenbestimmung flossen in die Sproß:Wurzel-Allometrie ein.

Die Bestimmung der Stickstoffgehalte getrockneter Proben wurde in Auftrag gegeben. Die Messungen wurden mit einem Element-Analysator CHN Rapid (Heraeus, Hanau, Germany) im Institut für Bodenkunde der JLU Gießen vorgenommen.

Tab. 2.3: Zeitplan der Biomasse-Ernten in den Expositionsjahren 1994/1995. Stadien nach dem Phänologieschlüssel von Tottman & Broad (1987). Wdh. = Zahl der Wiederholungen pro Kammer und Variante.

Ernte	**Sommerweizensorte und Expositionsjahr**			
	Nandu/ Minaret	**Minaret**		
	1994	**1995**	**Stadium**	**Wdh.**
1. (klassisch)	08. 06.	07. 06.	31-33	4/5
2. (klassisch)	30. 06.	29. 06.	65	4/5
3. (klassisch)	11. 07.		75	4
4. (klassisch)	01. 08.	09. 08.	93	4/5
funktionale Ernten:		30. 05.	22-27	1
		14. 06.	39	1
		21. 06.	52	1
		05. 07.	69	1
		13. 07.	77	1
		20. 07.	83	1
		27. 07.	92	1
		02. 08.	92	1

II.3.2 Gaswechselmessung

Messungen des Momentan-Gaswechsels auf der Ebene des Blattes oder der Ähre wurden 1994 an beiden angebauten Weizensorten vorgenommen und erfolgten direkt in den Kammern, also unter Wuchsbedingungen.

Da es keinen diskreten Photosynthesesensor gibt, wird Gaswechsel mit Meßsystemen gemessen (Field et al. 1989). In solchen Systemen erfolgt die Messung von Photosynthese (A), Transpiration (E), Stomatärer Leitfähigkeit (g_s) und Interzellulärer CO_2-Konzentration (c_i) simultan. Die von dem Meßsystem ausgegebene Photosyntheserate stellt hierbei einen kalkulierten Parameter dar (Field et al. 1989). Dasselbe gilt für die Transpiration, etc..

Gemessen wurde hier mit dem portablen LI-6200 (LI-COR, Lincoln, NE, USA). Bei dem LI-6200 handelt es sich um ein geschlossenes, absolut messendes Gaswechselmeßsystem. Eine Funktionsbeschreibung des Systems findet sich bei Field et al. (1989) und von Willert et al. (1995). Detaillierte Angaben, auch zu den System-Gleichungen, liefert die Geräteanleitung

„LI-6200 Technical Reference“ (LI-COR 1990). Auf die Darstellung der Gleichungen wird hier verzichtet. Allgemeine Gaswechselberechnungen präsentieren Ball (1987), Field et al. (1989) und von Willert et al. (1995), darunter auch solche für geschlossene Systeme. Abbildung 2.5 zeigt ein Funktionsschema des Gerätes.

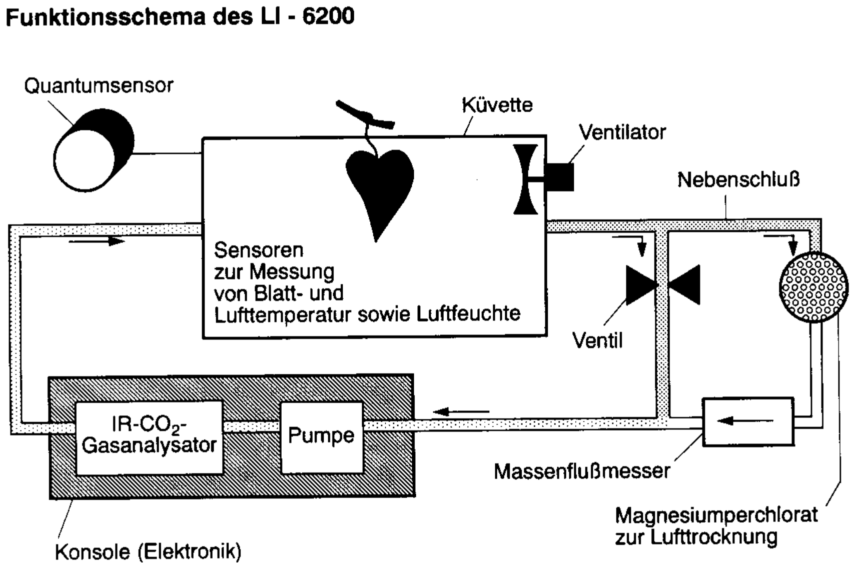

Abb. 2.5: Funktionsschema des geschlossenen Gaswechselmeßsystems LI-6200. Erläuterungen siehe Text. (nach von Willert et al. 1995)

Das LI-6200 besteht grundsätzlich aus drei Komponenten, dem IR-CO_2-Gasanalysator, der Küvette und der Nebenschluß-Trocknungseinheit. Angeschlossen ist als Bestandteil der Konsole ein Daten-Logger.

Der Infrarot-CO_2-Gasanalysator (LI-6250) gehört dem differentiellen nicht-dispersiven Typ an und mißt die absolute CO_2-Konzentration über deren Absorption im Infrarot-Wellenlängenbereich. Für die Messung von Absolutkozentrationen muß die Referenzseite des Gasanalysators über Natronkalk CO_2-frei gehalten werden. Der LI-6250 ist aus Gründen der Vibrationsunempfindlichkeit mit einem Blei-Selen-Detektor und nicht mit einem „normalen“ Luft-Detektor (Sestak et al. 1971, Field et al. 1989) ausgestattet. Ein dem Detektor vorgeschalteter optischer Filter schließt eine Wasserdampf-Querempfindlichkeit aus, er ist nur durchlässig im Bereich des 4,26 µm CO_2-Absorptionsbandes.

Die Küvette, in die ein Blattsegment zur Messung eingespannt wird, besteht aus transparentem Lexan mit einer inneren Lage aus Teflon, um Wasserdampfabsorption zu reduzieren. Für einen dichten Abschluß zum Blatt (Dichtigkeit stellt bei geschlossenen Systemen ein bedeutsames Problem dar.) sorgte ein geschlossener Schaum aus Polyethylen (Volara). Die

Kammergröße muß bei geschlossenen Systemen auf die Photosynthese des eingespannten Objektes abgestimmt sein. Hier wurde eine Viertel-Liter-Kammer eingesetzt. Die Küvette ist ausgestattet mit Sensoren für Photonenflußdichte (Quantumsensor), Blatt-, Lufttemperatur und Luftfeuchte. Die Spannungssignale der Sensoren, ebenso wie die von Gasanalysator und Massenflußmesser, werden von einem Daten-Logger aufgezeichnet und verrechnet. Ein Ventilator durchmischt die Küvettenluft und erhöht so die Grenzschichtleitfähigkeit des Blattes. Aus der Verdunstung eines feuchten Whatman-Filterpapiers ähnlicher Dimensionierung, wie sie Weizenblätter haben, wurde die Leitfähigkeit der Blattgrenzschicht bei angeschaltetem Ventilator geschätzt. Eine Pumpe, die im geschlossenen Kreislauf von Küvette und Gasanalysator lokalisiert ist, sorgt für einen kontinuierlichen Luftdurchstrom. Alle Schlauchverbindungen bestehen aus BEV-A-LINE, das auch Field et al. (1989) wegen seiner geringen Wasserdampfabsorptionseigenschaften und seines geringen Preises empfehlen.

Die Trocknungseinheit, gefüllt mit Magnesiumperchlorat, befindet sich im Nebenschluß. Vor der eigentlichen Messung wurde in einer Testmessung der für die Trocknung notwendige Luftdurchsatz ermittelt; dabei wurde das Ventil der Einheit manuell reguliert, bis die Feuchte konstant blieb. So wurde dem System eine der Transpiration entsprechende Wasserdampfmenge durch Trocknung entzogen, und die relative Feuchte während der Messung annähernd konstant gehalten. Für die Kalkulation der Transpiration ist in der Trocknungseinheit ein Massenflußmesser lokalisiert.

Das Funktionsprinzip des LI-6200 ist wie folgt: Der Analysator mißt die vom eingespannten Blattsegment hervorgerufene Reduktion der Absolut-CO_2-Konzentration im geschlossenen Kreislauf. Für die Berechnung der Photosyntheserate wird die Zeit, die das Blatt für eine Reduktion der Absolut-CO_2-Konzentration im System um 4 μmol mol^{-1} benötigt, multipliziert mit dem totalen Systemvolumen (Küvette, Schlauchverbindungen, Gasanalysator) und bezogen auf die eingespannte Blattfläche. Aus einer Sequenz von 4 Photosynthesemessungen (Reduktion der CO_2-Konzentration um 4 x 4 μmol mol^{-1}) mußte der erste Wert meist verworfen werden, weil sich noch kein Gleichgewicht eingestellt hatte. Die Gaswechselmessung verläuft mit dem System so schnell (1-2 Minuten), daß sich die mikroklimatischen Bedingungen für das Blatt nur unwesentlich ändern. Deshalb wurde bei der Konstruktion des LI-6200 auf jegliche Kontrolle der Umweltparameter in der Küvette verzichtet. Der primäre Einsatzzweck des LI-6200 ist demzufolge die Messung des Momentan-Gaswechsels im Feld.

An allen Meßtagen wurde vor Meßbeginn folgende Prozedur — Dauer etwa 1,5 Stunden — durchgeführt: Zunächst mußte sich das laufende Porometer innerhalb von ca. 30 Minuten an die Kammerbedingungen adaptieren. Anschließend wurde eine Kalibration des Analysators durchgeführt. Die nichtlineare Beziehung von CO_2-Konzentration und Spannungssignal ist durch ein Polynom vorgegeben. Durch eine in den Systemkreislauf geschaltete Natronkalk-Einheit wurde die CO_2-Konzentration auf der Probenseite abgesenkt und dann eine Nulleinstellung vorgenommen. Für die Kalibration der „Steigung" stand ein Eichgas mit 500 $\mu mol\ mol^{-1}$ CO_2 zur Verfügung. Im Anschluß daran wurde das System auf Lecks getestet. Die CO_2-Konzentration im Kreislauf wurde dazu erniedrigt, und aus der Rate, mit der die Konzentration wieder anstieg, wurde auf die Leckrate geschlossen. Eine Leck-Korrektur wurde in die Systemgleichungen eingeführt. Die jeweils bei dem Leck-Test gemessene Leckrate wurde für die Korrektur eingegeben. Ein weiterer Test, der K-Test, quantifizierte die Effekte der Wasserdampfabsorption und diente dem allgemeinen System-Check. Probleme wie feuchte Trocknungseinheit, Kondensation oder Schmutz im System, noch nicht erfolgte Akklimation an die Außenbedingungen zeigen sich im K-Test.

Die Messungen erfolgten im Zeitraum 3. 6. - 10. 7. 1994 zwischen 11^{00} und 19^{00} Uhr unabhängig von den Witterungsbedingungen, d.h. sowohl bewölkte als auch Strahlungstage wurden einbezogen. Anfangs wurden jüngste, gerade vollständig entfaltete Blätter vermessen; später wurde das Fahnenblatt für die Messungen herangezogen. Die Ährenphotosynthese der Weizensorte Minaret wurde in der Periode 24. 6. - 10. 7. 1994 bestimmt. In diese Messungen waren die Behandlungen A-NF, A320-NF, A-NF1,5, A320-NF1,5 einbezogen.

Wegen der Problematik, die mit dem Vergleich von Gaswechselparametern aus Feldmessungen verbunden ist, erfolgte die Analyse der Gaswechseldaten mit speziellen graphischen Methoden, die in den Kapiteln II.3.4 sowie III.2.5.3 beschrieben sind.

II.3.3 Kohlenhydrat-Analyse

Kohlenhydrat-Analysen wurden an der Sommerweizensorte Minaret vorgenommen. 1994 erfolgten die Messungen an Proben der Haupthalme, 1995 erfolgten sie an Proben jüngster Blätter.

Die Ernteprozedur:

1994 wurden beginnend mit dem Stadium 30 (Schossen) und endend mit der Erntereife in wöchentlichen Abständen 4 Töpfe pro Variante (A-NF, A320-NF, nur „+Düngung") aus einer der Kammerwiederholungen geerntet. Die Haupthalme wurden in die Internodien-Fraktionen 1-3 zerlegt, getrocknet (24 Stunden bei 105°C), gemahlen und für die spätere Analyse zurückgelegt. Fraktion 1 bestand aus den zwei untersten Internodien, Fraktion 2 aus dem nach oben folgenden Internodium und Fraktion 3 aus dem Ährenstiel.

1995 wurden Kohlenhydrate in jüngsten entfalteten Blättern sowie in Fahnenblättern der Weizensorte Minaret bestimmt. Pflanzen der Behandlungen A-NF, A-NF1,5 und A320-NF, A320-NF1,5 (allesamt „+Düngung“) aus den ersten 6 wöchentlichen Ernten wurden für die Analysen genommen. Die Anzahl der Parallelen pro Variante und Kammer betrug dabei 1. Die letzte in die Analyse einbezogene Ernte erfolgte am 69. Tag nach Aussaat. Die Ernte der Blätter fand jeweils um 14^{00} Uhr statt. Da die Proben für weitere biochemische Analysen zur Verfügung stehen sollten, wurden sie sofort in flüssigen Stickstoff eingebracht und bei -80°C aufbewahrt.

Die Probenaufarbeitung:

Bei den Proben des Untersuchungsjahres 1994 wurden 10 mg trockenes Probenmaterial eingewogen. Bei dem gefrorenen Frischmaterial aus dem Jahr 1995 waren es 80 mg. Jede Probe wurde folgendem Extraktionsverfahren unterzogen — ein Verfahren, das sich an der klassischen, in dem Buch „Methods in Plant Biochemistry“ (Sturgeon 1990, Avigad 1990, Pontis 1990) vorgestellten Methode orientierte: Zunächst erfolgte eine Inkubation der Probe in 3 x 3,33 ml 80%igem Ethanol und 2 x 5 ml Wasser. Die Inkubationszeit betrug jeweils 30 Minuten. Jedesmal wurde 15 Minuten bei 80°C im Ultraschallbad und 15 Minuten bei 100°C im Wasserbad inkubiert. Um saure Fructanhydrolyse zu vermeiden, wurde das Extraktionswasser mit Triethanolamin auf pH 7,5 gebracht. Nach jedem Extraktionsschritt wurden die ethanol-/wasserlöslichen Verbindungen von den unlöslichen Zellbestandteilen durch Zentrifugation in einer Heraeus Biofuge (3500 rpm) abgetrennt. Die 3 Ethanolextrakte bzw. 2 Wasserextrakte wurden dekantiert, später vereinigt und auf 20 ml aufgefüllt. Ein abschließender Filtrationsschritt entfernte höhermolekulare Verbindungen sowie störende Farbstoffe (Chlorophyll). Dazu dienten Sep-Pak-Säulen (Waters™ Sep-Pak Vac). Die Alkohol-/Wasserextrakte enthielten nun — bereit für die Analyse — die löslichen Kohlenhydrate; im Pellet befand sich die in den gewählten Extraktionsmitteln unlösliche Stärke. Das Pellet wurde vor der Stärkeanalyse im Wärmeschrank 1-2 Stunden bei 90°C getrocknet.

Der Nachweis reduzierender Zucker:

Der photometrische Nachweis reduzierender Zucker (hier im wesentlichen freie Glucose und Fructose) basierte auf einer Methode von Lever (1977). Der Nachweis nutzt die Bildung eines gelben, bei 415 nm absorbierenden Farbkomplexes aus, die stattfindet, wenn reduzierende Enden der Zuckermoleküle in heißer alkalischer Lösung mit dem Oxidationsmittel 4-Hydroxybenzoesäure-Hydrazid (PAHBAH) reagieren. Bei dem Farbkomplex handelt es sich entweder um Dibenzoylhydrazone (bei Reaktion mit Glucose) oder um anionische Hydrazon-Formen (bei Reaktion mit anderen reduzierenden Zuckern). Zugesetzte zweiwertige Kationen (hier: Ca^{2+}) erhöhen die Absorption der Farbkomplexe (Lever et al. 1984).

0,4 ml Probenlösung und wechselnde Mengen einer Glucoselösung (0,1 g Glucose l^{-1}) für die Eichreihe, die bei jedem Nachweis mitlief, wurden zunächst nach folgendem Schema mit Wasser versetzt:

Pipettierschema: Reduzierende Zucker	**Probe [ml]**	**Eichreihe [µg Glucose]**							
		0	**10**	**20**	**30**	**40**	**60**	**80**	**90**
Extrakt [ml]	**0,4**	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucoselösung [ml]	**-**	-	0,1	0,2	0,3	0,4	0,6	0,8	0,9
Aqua dest. [ml]	**0,6**	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,4	0,2	0,1

Dem Saccharose-Nachweis (siehe unten) analog wurden die Lösungen dann 2 Stunden bei 30°C im Wasserbad inkubiert. Nach Zugabe von 5 ml Lösung P und kurzem Durchmischen mittels Vortex erfolgte eine erneute Inkubation für 5 min im kochenden Wasserbad. Der dabei entstehende Farbkomplex mußte aufgrund seiner Instabilität (ca. 20 min stabil) sofort nach dem Abkühlen im Spektrophotometer (Beckman DU 64) gemessen werden.

Die Nachweislösung setzte sich wie folgt zusammen:

Lösung A:
14,704 g tri-Na-Citrat-Dihydrat
1,47 g $CaCl_2$ x 2 H_2O
20 g NaOH-Plätzchen
gelöst in Aqua dest., aufgefüllt auf 1 l Gesamtvolumen

Lösung P:
5 g Hydroxybenzoesäure-Hydrazid
gelöst in 1 l Lösung A

Der Gehalt an reduzierenden Zuckern wurde anhand der mitgeführten Eichreihe nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Reduzierende Zucker}\left[\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{TM}\right]=\frac{\text{Wert aus Eichgerade}\left[\mu\text{g Glucose}\right]\cdot\text{Verdünnungsfaktor}}{\text{Einwaage}\left[\text{mg TM}\right]\cdot 1000}$$

Der Verdünnungsfaktor betrug 50. Für die Blätter mußte die eingewogene Frischmasse noch mit dem Verhältnis Trockenmasse/Frischmasse multipliziert werden, um die Einwaage Trockenmasse (Einwaage TM) zu erhalten.

Der Saccharose-Nachweis:

Die Saccharose selbst ist ein nicht-reduzierendes Disaccharid (β-D-Fructosefuranosyl-α-D-Glucosepyranosid, Avigad 1990). Sie wird durch Invertase (β-D-Fructofuranosidase, EC 3.2.1.26) unter Wasseraddition gespalten (Avigad 1990). Durch Wahl einer kurzen Inkubationszeit läßt sich die Invertase-Spaltung von Fructanen der Inulin-Serie (Pontis 1990) verhindern. Die bei der Saccharose-Spaltung entstehenden Einfachzucker β-D-Fructose und α-D-Glucose sind reduzierend und konnten durch die oben beschriebene Methode zum Nachweis reduzierender Zucker nach Lever (1977) quantitativ erfaßt werden.

0,2 ml Probenlösung wurden hier mit 0,1 ml Invertaselösung und 0,7 ml Aqua dest. versetzt, und es wurde wiederum eine Glucose-Eichreihe erstellt. Dabei wurde nach folgendem Pipettierschema vorgegangen:

Pipettierschema: Saccharose	**Probe [ml]**	**Eichreihe [µg Glucose]**							
		0	**10**	**20**	**30**	**40**	**60**	**80**	**90**
Extrakt [ml]	**0,2**	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucoselösung [ml]	**-**	-	0,1	0,2	0,3	0,4	0,6	0,8	0,9
Invertase [ml]	**0,1**	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Aqua dest. [ml]	**0,7**	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,3	0,1	-

Die Lösungen wurden sodann mit der Invertase 2 Stunden bei 30°C im Wasserbad inkubiert. Die weitere Vorgehensweise einschließlich des photometrischen Nachweises war wie oben bereits beschrieben.

Der Gehalt an Saccharose plus Reduzierenden Zuckern läßt sich anhand der Eichreihe errechnen. Zur Berechnung diente folgende Formel:

$$\text{Saccharose} + \text{Red. Z.}\ \left[\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{TM}\right] = \frac{\text{Wert aus Eichgerade}\ \left[\mu\text{g Glucose}\right] \cdot \text{Verdünnungsfaktor}}{\text{Einwaage}\ \left[\text{mg TM}\right] \cdot 1000}$$

Der Verdünnungsfaktor betrug hier 100. Bei Einwaage von Frischmasse wurde wiederum mit dem Verhältnis Trockenmasse/Frischmasse multipliziert, um die Einwaage Trockenmasse (Einwaage TM) zu erhalten.

Um den Saccharosegehalt zu erhalten, mußte der Gehalt an reduzierenden Zuckern subtrahiert werden. Der so kalkulierte Saccharose-Gehalt war aufgrund der Wasseraddition bei der enzymatischen Spaltung zu hoch und wurde durch Multiplikation mit dem Faktor 0,95 entsprechend korrigiert. Also gilt:

$$\text{Saccharose}\left[\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{TM}\right]=\left(\left(\text{Saccharose}\ +\ \text{Red. Z.}\right)\ -\text{Red. Z.}\right)\cdot 0{,}95$$

Der Fructan-Nachweis:

Es ist bekannt, daß Sommerweizen neben Isokestose Fructane vom Phlein-Typ (Verknüpfung der Fructose über β-2,6-Bindungen) sowie verzweigte Fructane enthält (Pollock & Chatterton 1988, Pontis 1990). Fructane sind Oligo- bis Polysaccharide, bestehend aus Fructose-Monomeren und einer endständigen Saccharoseeinheit (Pollock & Chatterton 1988). Sie sind, wie Saccharose, säurelabil. Fructane, selbst nicht-reduzierend, werden durch Säure-Hydrolyse in die reduzierenden Fructose-Monomere überführt. Der Nachweis nutzte diese Eigenschaft: Fructane werden gemäß Pontis (1990) aus der Zunahme der Reduktionskraft nach milder saurer Hydrolyse mengenmäßig erfaßt. Es konnte folglich Lever's Methode reduzierende Zucker nachzuweisen (Lever 1977) auch für den Fructan-Nachweis eingesetzt werden.

Das oben beschriebene Extraktionsverfahren trennte die Fructane auf. Während Fructane mit weniger als 7 Fructoseeinheiten als ethanollöslich gelten, sind solche mit größerer Kettenlänge wasserlöslich (Pontis 1990). Von dieser Fraktionierung wurde allerdings kein Gebrauch gemacht, da die Extrakte auch hier vereinigt wurden.

0,4 ml Probe wurden mit 0,6 ml 0,2N HCl versetzt Die Fructan-Hydrolyse erfolgte über 120 Minuten bei 100°C im Wasserbad. Ob die Inkubationszeit ausreichend war, wurde durch Zugabe von Inulin zur Probenlösung getestet. Bei einer gewählten Dauer von 90 Minuten konnten 95% des eingewogenen Inulins als reduzierende Zucker nachgewiesen werden. Damit war die maximale Nachweisgrenze erreicht, denn 5% des Inulins bilden bei Säurebehandlung nicht-reduzierendes Difructoseanhydrid. Da Fructane vom Phlein-Typ ungefähr 1,5-fach säurelabiler sind als solche vom Inulin-Typ und eine zusätzliche Sicherheitsreserve von 30 min eingeführt wurde, sollte die Phlein-Hydrolyse bei Wahl einer 120-minütigen Inkubationszeit vollständig erfolgt sein. Die Eichreihe wurde mit der Verdünnungsreihe einer Fructoselösung (0,1 g Fructose gelöst in 1 l 0,12 N HCl) erstellt. Es wurde folgendes Pipettierschema eingehalten:

Pipettierschema: Fructane	Probe [ml]	Eichreihe [µg Fructose]							
		0	10	20	30	40	60	80	90
Extrakt [ml]	**0,4**	-	-	-	-	-	-	-	-
Fructoselösung [ml]	**-**	-	0,1	0,2	0,3	0,4	0,6	0,8	0,9
Probe: 0,2N HCl [ml] Eichreihe: 0,12N HCl	**0,6**	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,4	0,2	0,1

Durch die Methode nach Lever wurden in dieser Lösung Fructane, Saccharose und freie Reduzierende Zucker nachgewiesen. Der Gehalt an Fructanen plus Saccharose plus Reduzierenden Zuckern wurde anhand der Eichreihe nach folgender Formel errechnet:

$$\text{Fructane + Sacch. + Red. Z.}\left[g\cdot g^{-1}\text{TM}\right]=\frac{\text{Wert aus Eichgerade}\left[\mu g\text{ Fructose}\right]\cdot\text{Verdünnungsfaktor}}{\text{Einwaage}\left[\text{mg TM}\right]\cdot 1000}$$

Der Verdünnungsfaktor betrug hier 50. Bei Einwaage von Frischmasse wurde wiederum mit dem Verhältnis Trockenmasse/Frischmasse multipliziert, um die Einwaage Trockenmasse (Einwaage TM) zu erhalten. Der Fructan-Gehalt ergibt sich dann nach:

$$\text{Fructane}\left[g\cdot g^{-1}\text{TM}\right]=\left(\left(\text{Fructane + Sacch. + Red. Z.}\right)\text{ - Sacch. }-\text{Red. Z.}\right)\cdot 0{,}9$$

Der Faktor 0,9 trägt dem Umstand Rechnung, daß eine Wasserspaltung erfolgt ist, freie Fructose mithin 180/162-fach schwerer ist als die Fructoseeinheit im Fructan. Je kurzkettiger die Fructane, desto größer ist der Fehler, den man bei dieser Rechnung macht (Extremfall: Faktor 0,93 für das Trisaccharid Kestose).

Der Stärke-Nachweis:

Aus den Extraktionsrückständen wurde Stärke mit DMSO gelöst, enzymatisch mit Glucoamylase (1,4-α-D-Glucan Glucohydrolase, EC 3.2.1.3) gespalten und als Glucose mit einem GOD/POD-Reagenz, angelehnt an Sugiura & Hirano (1977), photometrisch bestimmt. Glucoseoxidase (β-D-Glucose:Sauerstoff 1-Oxidoreduktase (GOD), EC 1.1.3.4) oxidiert β-D-Glucose in einem ersten Schritt zu D-Glucono-1,5-Lacton unter Bildung von Wasserstoffperoxid. Im nächsten Schritt des gekoppelten enzymatischen Tests reagiert Peroxidase (Donator:Wasserstoffperoxid Peroxidase Oxidoreduktase, EC 1.11.1.7) mit Wasserstoffperoxid und dem Elektronen-Donator, hier 4-Amino-Antipyrin (Sugiura & Hirano 1977, Sturgeon 1990). Dabei bildet sich ein bei 510 nm absorbierender Farbkomplex.

Das getrocknete Pellet aus der Extraktion löslicher Kohlenhydrate wurde mit 2 ml DMSO (Dimethylsulfoxid), einem Stärke-Lösungsmittel (Kurtzman et al. 1973), versetzt und 10 Minuten im Wasserbad bei 100°C aufgekocht. War die Lösung auf Zimmertemperatur abgekühlt, erfolgte die Zugabe von 1 x 1,3 ml 0,1 M Na-Acetat-Puffer pH 4,8. Das Pellet wurde noch zweimal in 3,3 ml 0,1 M Na-Acetat-Puffer pH 4,8 aufgenommen. Rückstände wurden jeweils in der Tischzentrifuge abgetrennt, die Überstände gemeinsam gesammelt und schließlich mit Puffer auf 10 ml aufgefüllt.

Zur Stärkespaltung wurde das Gemisch von 2 ml Stärkelösung und 1 ml Gucoamylase-Lösung über Nacht bei 37°C im Trockenschrank inkubiert. Als Kontrolle diente ein Ansatz mit 1 ml Glucoamylase in 2 ml Na-Acetat-Puffer. Der Nachweis erfolgte in 1 ml des jeweiligen Ansatzes. Stets wurde eine Glucose-Eichreihe mitgeführt, wobei nach folgendem Pipettierschema verfahren wurde:

Pipettierschema: Stärke	**Probe [ml]**	**Eichreihe [µg Glucose]**							
		0	**10**	**20**	**30**	**40**	**60**	**80**	**90**
Extrakt [ml]	**1,0**	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucoselösung [ml]	**-**	-	0,1	0,2	0,3	0,4	0,6	0,8	0,9
Na-Acetat-Puffer [ml]	**-**	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,4	0,2	0,1

Jede Proben- bzw. Eichlösung wurde mit 5 ml GOD-Lösung versetzt und anschließend 20 min bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur wurde die Absorption bei 510 nm gegen den Eichreihen-Nullwert gemessen. Die Berechnung des Stärkegehaltes erfolgte aus der Eichgeraden unter Abzug des Kontrollwertes:

$$\text{Stä rke}\left[g \cdot g^{-1}\text{TM}\right] = \frac{\text{Wert aus Eichgerade}\left[\mu\text{g Glucose}\right] \cdot \text{Verdünnungsfaktor}}{\text{Einwaage}\left[\text{mg TM}\right] \cdot 1000}$$

Der Verdünnungsfaktor betrug 15. Für die Blätter mußte die eingewogene Frischmasse noch mit dem Verhältnis Trockenmasse/Frischmasse multipliziert werden, um die Einwaage Trockenmasse (Einwaage TM) zu erhalten.

Die bei dem Stärke-Nachweis eingesetzten Lösungen setzten sich wie folgt zusammen:

DMSO:	Dimethylsulfat getrocknet p.A.
0,1 M Natriumacetatpuffer pH4,8:	20 ml 0,2 M Eisessig (11,4 ml 100%ige Essigsäure in 1 l A. dest.) mit 30 ml 0,2 M Na-Acetatlösung (16,4 g Na-Acetat in 1 l A. dest.) und 50 ml A. dest. gemischt.
0,2 M Natriumacetatpuffer pH4,8:	20 ml 0,2 M Eisessig mit 30 ml 0,2 M Na-Acetatlösung gemischt.
Glucoamylaselösung:	40 mg Glucoamylase (Amyloglucosidase aus *Aspergillus niger*, Boehringer) mit 0,2 M Na-Acetat-Puffer pH 4,8 auf 25 ml aufgefüllt.
GOD-Lösung:	12,4 g Na_2HPO_4 x 2 H_2O 6,2 g NaH_2PO_4 x H_2O 2 g Benzoesäure 0,1 g 4-Amino-Antipyrin 1,5 g p-Hydroxybenzoesäure gelöst in 900 ml A. dest.. Nach Zugabe von 20 mg Glucoseoxidase und 5 mg Peroxidase mit A. dest. aufgefüllt auf 1l. Aufbewahrung unter Lichtabschluß im Kühlschrank.

II.3.4 Statistische Analysen

Für alle im folgenden genannten statistischen Verfahren wurde das Progammpaket SPSS für WINDOWS, Version 6.1.3 (SPSS Inc., Chicago, USA) eingesetzt; Modell-Kalkulationen wurden mit Microsoft EXCEL 4.0 für WINDOWS (Microsoft Corporation, Redmond, USA) durchgeführt, Graphiken mit SPSS oder mit PlotIt für WINDOWS, Version 3.1 (Scientific Programming Enterprises, Haslett, USA) erzeugt.

Anhand des Datenmaterials aus den klassischen Biomasse-Ernten (Sorte Nandu, Minaret im Jahr 1994; Sorte Minaret im Jahr 1995) wurden Mittelwerte der Organzahlen, Trockenmassen sowie abgeleiteter Wachstumsparameter auf Behandlungsunterschiede getestet. Als statistisches Testverfahren diente die mehrfaktorielle Varianzanalyse (Sokal & Rohlf 1981, Sachs 1992). Der Einfluß der nominalskalierten Größen CO_2-Behandlung, Ozonbehandlung und Stickstoff-Versorgung auf den jeweiligen intervallskalierten Parameter wurde mittels der SPSS-Prozedur „Allgemeine Mehrfaktorielle ANOVA“ untersucht. Die Varianzanalyse hat zwei Voraussetzungen: Varianzhomogenität und Normalverteilung. Auf Varianzhomogenität testet SPSS mit dem Cochran's-C-Test und dem Bartlett-Box-F-Test (vgl. Sachs 1992, S. 614ff.). Gegenüber Verletzung der Normalverteilungsannahme ist die Varianzanalyse relativ robust (siehe Sokal & Rohlf 1981, S. 412ff.). Wurde von der Varianzanalyse die Nullhypothese, die Mittelwerte aller Behandlungsstufen entstammten einer gemeinsamen Grundgesamtheit und seien zufallsbedingt verschieden, verworfen, schloß sich ein multipler Mittelwertvergleich (SPSS-Prozedur: ONEWAY) an. Von den durch SPSS angebotenen Alternativen des a posteriori Mittelwertvergleichs wurde der als konservativ geltende LSD-Test wegen der guten graphischen Darstellbarkeit der Testergebnisse gewählt.

Für die Durchführung der funktionalen Wachstumsanalyse war die Kenntnis regressionsanalytischer Methoden, wie Mallow's C_p , Tests auf Normalverteilung und Homoskedastizität der Residuen, Residuenanalyse sowie der Statistische Vergleich von Polynomen über Konfidenzbänder Voraussetzung (vgl. Draper & Smith 1981). Näheres ist in Kapitel III.1.1 zu finden. Ein statistischer Vergleich über 95%-Vertrauensbereiche erfolgte im Falle der Sproß:Wurzel-Allometrie. Der Vorteil einer solchen Bereichsschätzung besteht nach Sachs (1992) in der Quantifizierung ihrer Unschärfe. Signifikant verschieden auf dem 5% Signifikanzniveau sind zwei Parameter (hier: Die Steigung der Allometrie zweier Behandlungen.), wenn ihre Vertrauensbereiche einander nicht überlappen.

Für Darstellung und Vergleich der Gaswechseldaten wurde mehrfach auf verteilungsunabhängige graphische Methoden zurückgegriffen, die Chambers et al. (1983) in ihrem Buch

„Graphical Methods for Data Analysis“ beschreiben. Trägt man gemessene Photosyntheseraten gegen die den Messungen zugrundeliegende Lichtintensität (Photonenflußdichte) auf, sieht man sich konfrontiert mit einer großen Variabilität, die zurückzuführen ist auf die Verschiedenheit der klimatischen Bedingungen, der Stomatareaktion, des Blatt-N-Gehalts zum Meßzeitpunkt sowie auf die Wirksamkeit vieler nichtlinearer Beziehungen. Um das mittlere Verhalten in einer solchen Punktewolke zu beschreiben, wurde die LOWESS-Prozedur (= **Lo**cally **We**ighted **S**catterplot **S**moothing; Chambers et al. 1983, S. 91-104) angewandt. Wegen der hohen Variabilität und wegen der zugrundeliegenden Nichtlinearitäten war der Verteilungstyp der Photosyntheseraten etc. für die einzelnen Behandlungen verschieden. Für den quantitativen Vergleich zweier Datenverteilungen unabhängig von dem jeweiligen Verteilungstyp empfehlen Chambers et al. (1983, S.48-56) den Quantil-Quantil-Plot, der hier für den Behandlungsvergleich von Gaswechselparametern eingesetzt wurde.