III Ergebnisse

Der Ergebnisteil besteht aus zwei Abschnitten:

Der erste Abschnitt, mit „Methodische Aspekte“ überschrieben, beschreibt die wichtigsten erarbeiteten Methoden sowie Erfahrungen im Umgang mit diesen Methoden. Die Methoden-Darstellung wurde hier teilweise in das Ergebniskapitel verlagert, um bestimmte Aspekte im Diskussionsteil auch diskutieren zu können.

Der zweite Abschnitt ist mit „Der Kohlenstoffhaushalt von Weizenpflanzen in der Interaktion erhöhter CO_2-/O_3-Konzentration und Stickstoffversorgung“ betitelt. In diesem Teil, dem „eigentlichen“ Ergebnisteil, wird die Reaktion der Weizenpflanzen beginnend mit der Ebene der Gesamtpflanze, d.h. beginnend mit einer hohen Integrationsstufe, beschrieben. Es folgt eine Charakterisierung der allometrischen Beziehungen von Sproß und Wurzel. Im weiteren wird nach Reaktionen der Kohlenstoffsenken und der Kohlenstoffquellen unterschieden. Angefangen mit den Wachstumsreaktionen über physiologische Reaktionen bis hin zu Reaktionen der Inhaltsstoffe, nämlich der Kohlenhydrate, steigt man innerhalb der zwei genannten Kategorien die Integrationsstufen hinab.

Innerhalb der Kapitel des zweiten Abschnitts wurde i.allg. eine einheitliche Struktur eingehalten, die sich an dem Vorbild orientiert, das das 1986 erschienene Buch „Plant Physiology“ von Taiz & Zeiger gibt. Ähnlich wie in diesem Buch sind die Kapitel hier in sich abgeschlossene Einheiten, die jeweils mit Zusammenfassungen abschließen. Einleitend erfolgt stets der Rückbezug auf die Fragestellung, d.h. die Detailfrage der CO_2-Problematik, die das Kapitel zu beantworten sucht oder auf deren Beantwortung das Kapitel hinführen soll, wird genannt. Im folgenden wird gezeigt, mit welchen Methoden die Frage beantwortet werden sollte. Die erste Betrachtungsweise der Ergebnisse ist eine allgemeine. Es werden wichtige Einflußgrößen benannt, das Allgemeingültige von Kurvenverläufen herausgearbeitet. Danach wird die Interaktionswirkung von CO_2-/O_3-Konzentration und Stickstoffversorgung beschrieben und im weiteren die Eingangsfrage beantwortet. Ergebnisse werden ansatzweise in einen Zusammenhang zu denen anderer Kapitel gebracht. Der Textteil schließt mit einer Kurzzusammenfassung. Die Kurzzusammenfassung dient andererseits als Ausgangspunkt, von dem aus man in die Diskussion einsteigen kann, — sie wird dem zugehörigen Diskussionskapitel vorangestellt. Am Ende des jeweiligen Ergebniskapitels finden sich zusammengestellt die Abbildungen.

Die Gliederung der Ergebniskapitel wiederholt sich bei den Diskussionskapiteln.

III.1 Methodische Aspekte

III.1.1 Methodik der Wachstumsanalyse

Klassische Wachstumsanalyse und Funktionale Wachstumsanalyse

Hunt (1990) stellt die klassische Vorgehensweise, eine kleine Anzahl von Ernten mit jeweils großem Stichprobenumfang durchzuführen und zu den Erntezeitpunkten mit Varianzanalyse und multiplen Mittelwertvergleichen auf Behandlungsunterschiede zu testen, der funktionalen Pflanzenwachstumsanalyse gegenüber. In dem Ansatz der funktionalen Wachstumsanalyse wird eine geringe Menge von Pflanzen häufiger geerntet (zur Ernteprozedur in diesem Experiment siehe Kapitel II.3.1). Um die Wachstumsprozesse zu beschreiben, werden an diese Daten dann empirisch Funktionen angepaßt.

Die beiden Ansätze lassen sich mit zwei Möglichkeiten vergleichen, die Geschwindigkeit eines Autos zu beschreiben (Hunt 1990): Man kann die mittlere Geschwindigkeit aus der zurückgelegten Wegstrecke und der benötigten Zeit bestimmen — dies entspricht dem klassischen Ansatz. Der Geschwindigkeitsverlauf kann aber auch durch Ablesen eines Kilometerzählers verfolgt werden — dies entspricht dem funktionalen Ansatz. Hierdurch gewinnt man eine detailliertere zeitliche Beschreibung des Wachstums.

Das mit 3 Biomasseernten in den Stadien Bestockung, Blüte und Erntereife mit jeweils 5 geernteten Töpfen pro Variante und Kammer ursprünglich für eine klassische Wachstumsanalyse angelegte Weizenexperiment des Jahres 1995 wurde ergänzt durch zusätzliche funktionale Ernten (Wdh. 1 pro Variante und Kammer), die im wöchentlichen Intervall durchgeführt wurden. Mit der Wahl eines wöchentlichen Ernteintervalls wurde der Empfehlung von Causton & Venus (1981, S.37-41) annähernd entsprochen, für die Bestimmung einer relativen Wachstumsrate mit geringer Schwankung und ausreichender Frequenz ein sechstägiges Ernteintervall zu wählen. Für die Sommerweizensorte Minaret konnte mit dieser Ernteprozedur 1995 eine funktionale Wachstumsanalyse realisiert werden. Funktionen wurden an die Oberirdische Trockenmasse, die grüne Blattfläche, die Trockenmasse grüner/seneszenter Blätter, die Halm- und Ähren-Trockenmasse angepasst.

Basiskonzepte der (funktionalen) Wachstumsanalyse

Über das Fachgebiet und die Methodik der „Funktionalen Wachstumsanalyse“ gibt es eine Reihe zusammenfassender Bücher, die der englischen Schule entstammen (Hunt 1982, Hunt 1990, Causton & Venus 1981).

„Basic Growth Analysis“, von Hunt 1990 veröffentlicht, stellt die elememtaren Größen der Wachstumsanalyse dar und gibt eine Einführung in das Gebiet. Anhand der fundamentalen Gleichung der Pflanzenwachstumsanalyse sollen die zugrundeliegenden Konzepte und Größen dargestellt werden:

$$R = E \cdot \frac{L_W}{W} \cdot \frac{L_A}{L_W} \qquad (1)$$

Die relative Wachstumsrate (relative growth rate (RGR): R) ist als Trockenmassenzunahme pro Zeit bezogen auf die Gesamttrockenmasse der Pflanze definiert. Sie setzt sich zusammen aus dem Produkt des Anteils der produktiven an der gesamten Pflanzenmasse (leaf weight ratio (LWR): L_W/W), der spezifischen Blattfläche (specific leaf area (SLA): L_A/L_W) und der Produktivitätsrate der Blattflächeneinheit (net assimilation rate (NAR): E), die den Gesamttrockenmassenzuwachs pro Blattflächeneinheit angibt. Drei Typen von Größen sind in der Gleichung zu finden: Ratengrößen (RGR, NAR), eine morphologische Verhältnisgröße (LWR) und eine andere Verhältnisgröße (SLA). Daneben gibt es noch einen vierten Typ, den der integrativen Größen (z.B. Blattflächen-Lebensdauer oder leaf area duration (LAD)).

Varianzstabilisierende Transformation der Rohdaten

Funktionen werden in der funktionalen Wachstumsanalyse mithilfe der Regressionsanalyse angepasst. Eine wichtige Voraussetzung für die „einfache“ Regressionsanalyse über die Minimierung ungewichteter Abweichungsquadrate ist nach Hunt (1982) die Homoskedastizität der Erntegruppen, d.h. Varianzhomogenität über den gesamten Untersuchungszeitraum. Da normalerweise die Variation für größere Pflanzen größer ist, werden die Werte standardmäßig lo-garithmisch transformiert, um die Voraussetzung erfüllen. Die Varianzhomogenität wurde nach der ln-Transformation, die auch hier durchgeführt wurde, mit dem Levene-Test geprüft. Nach der Transformation wiesen niedrige Werte generell eine etwas größere Varianz auf.

Die Wahl des geeigneten empirischen Funktionstyps

In dem Buch „Plant Growth Curves“ hat Hunt (1982) die Thematik der funktionalen Wachstumsanalyse vertieft und präsentiert häufig verwendete Funktionen mit ihren jeweiligen Vor- und Nachteilen. Er nimmt eine Einteilung in lineare und nichtlineare Funktionen vor.

Zahlreiche nichtlineare Funktionstypen sind in der Pflanzenwachstumsanalyse verwendet worden (Hunt 1982, S. 121-147). Sie zeigen fast durchgängig ein asymptotisches Verhalten. Unter diesen Modellen ragt die 4 Parameter enthaltende Richardsfunktion als häufig verwendete, ausreichend flexible Funktion mit gut in Wachstumsbegriffen interpretierbaren Parametern hervor. Causton & Venus (1981) favorisieren in ihrem Buch „The biometry of Plant Growth“ — einer statistischen Abhandlung der Thematik — die Verwendung der Richards-Funktion. Pflanzliches Wachstum, betrachtet über die gesamte Ontogenie, ist nach Causton & Venus deterministisch und sollte besser über eine biologisch bedeutungsvolle (asymptotisch angelegte) Funktion beschrieben werden, die die Endgröße in ihren Parametern abschätzt, als über eine rein „empirische“ lineare Funktion mit wenig aussagefähigen Parametern.

Trotzdem wurden in dieser Untersuchung Polynome an die Daten angepasst, denn die Verwendung von Polynomen weist folgende Vorteile auf: Polynome kann man einfacher statistisch analysieren, sie sind leicht differenzierbar und für die Ableitungen lassen sich Konfidenzintervalle angeben. Dies ist von Bedeutung für relative Wachstumsraten, die sich aus der Ableitung der Trockenmassenfunktion (ln-transformiert) errechnen lassen. Polynome sind bezüglich der Parameter lineare Funktionen, d.h. die Parameter verhalten sich additiv. Für einen Verlauf von Pflanzentrockenmassen (TM) über die gesamte Ontogenie empfiehlt Hunt ein Polynom 3. Grades. Es ist zudem das einfachste Polynom für die Bestimmung zeitlich variabler relativer Wachstumsraten. Eine Reihe von methodisch wichtigen Artikeln, in denen dieses Polynom an Daten angepasst wurde, haben Hughes & Freeman veröffentlicht — darunter eine Studie mit einem statistischen Vergleich der Wachstumskurven von Pflanzen, die verschiedenen CO_2-Konzentrationen ausgesetzt wurden (Hughes & Freeman 1967). Der höchste Grad eines Polynoms, das an die Weizendaten angepasst wurde, war im Fall der Halmtrockenmasse der vierte Grad.

Die lineare Regression von Polynomen

Mathematisch läßt sich das Modell eines Polynoms n-ten Grades, das auf ln-transformierte Daten angewendet wird, folgendermaßen formulieren:

$$y = \ln Y = \beta_0 t^0 + \beta_1 t^1 + \beta_2 t^2 + \ldots + \beta_n t^n + \varepsilon \tag{2}$$

Mit y wird die transformierte abhängige Variable, mit Y die primäre abhängige Variable bezeichnet. Die unabhängige Variable, der „Tag nach Aussaat“, ist t in der Gleichung. t^0 ist eine Dummy-Variable mit Wert 1 (siehe unten). Mit β sind die unbekannten Parameter der Funktion benannt. Für einen gegebenen Tag nach Aussaat ergibt sich durch das Modell der Wert der abhängigen Variable y mit einer Abweichung ε. Das unbekannte ε kann durch Fehler methodischer Art, aber auch durch die biologische Variabilität bedingt sein.

Die Parameter β sind fest. Ihre Größe wird man niemals exakt kennen, denn es müßten alle möglichen Werte y für jedes t bekannt sein. Man kann sie jedoch aus den experimentellen Beobachtungen schätzen. Die Schätzer von β_0, β_1,.. werden mit b_0, b_1,.. bezeichnet. Für den aus den Daten vorhergesagten Wert $\hat{y}$ gilt dann:

$$\hat{y} = b_0 t^0 + b_1 t^1 + b_2 t^2 + \ldots + b_n t^n \tag{3}$$

Die Schätzung wird mit der Methode der minimalen Abweichungsquadrate vorgenommen. Die Güte der Schätzung wird durch das Bestimmtheitsmaß R^2 angegeben. Die einzelnen Meßwerte y_i streuen um den Mittelwert $\bar{y}$ (SS_{Gesamt}). Diese Streuung setzt sich zusammen aus der Streuung der Meßwerte y_i um den geschätzten Funktionswert $\hat{y}$ ($SS_{Residual}$) und aus der Streuung der Funktionswerte um das Gesamtmittel ($SS_{Regression}$). R^2 ist das Verhältnis $SS_{Regression}/SS_{Gesamt}$ und kann Werte zwischen 0 und 1 (optimale Beziehung) annehmen.

Im folgenden werden sämtliche Basis-Annahmen der Regression dargestellt. Die erste ist: In dem Modell der Gleichung 2 ist ε_i eine normalverteilte Zufallsvariable mit einem Mittelwert von 0 und der Varianz σ^2 ($\varepsilon_i \sim N(0, \sigma^2)$). Dann sind ε_i , ε_j , $i \neq j$ voneinander unabhängig und die Varianz von $y_i(t_i)$ ist gleich σ^2. Die zweite Voraussetzung, die in der Praxis der Wachstumsanalyse keine Probleme bereitet, ist die weitgehend exakte Bestimmbarkeit der unabhängigen Variable t. Die dritte Voraussetzung, die oben schon erwähnt wurde, ist die Varianzhomogenität über den gesamten Erntezeitraum.

Aus der Varianz-Covarianz-Matrix der Parameterschätzer läßt sich die Varianz von $\hat{y}$ für ein bestimmtes t nach folgender Formel berechnen (Causton & Venus 1981, S. 84):

$$V(\hat{y}) = \sum_{i=0}^{n} t^{2i} \cdot V(b_i) + 2 \cdot \sum_{i=0}^{n} \sum_{j=0}^{i-1} t^{(i+j)} \cdot Cov(b_i, b_j) \tag{4}$$

Das 95% Working-Hotelling-Konfidenzband, das den wahren Wert bzw. den Erwartungswert y(t) mit 95%iger Wahrscheinlichkeit enthält und Gültigkeit für die gesamte Kurve aufweist, ist dann gegeben durch (Sachs 1992, S. 556):

$$\hat{y} \pm \sqrt{2F_{(p,n-p)}} \cdot s(\hat{y}) \qquad (5)$$

Der Wert $F_{(p,\, n\text{-}p)}$ ist der kritische Wert der F-Verteilung für die Zahl der Beobachtungen n und Parameter p. Dieser wird multipliziert mit der Standardabweichung $s(\hat{y})$, der Wurzel von $V(\hat{y})$.

Bei der polynomialen Regression kommt der Wahl eines möglichst niedrigen Grades bei ausreichender Anpassungsgüte eine herausragende Bedeutung zu. Prinzipiell läßt sich an n Erntemittel ein Polynom vom Grad n-1 genau anpassen, aber die Funktion „overfitted“ die Daten dann. Gefolgt wurde der Empfehlung Hunt’s (1982), eine möglichst einfache Funktion zu wählen und „biologische“ Kriterien wichtiger zu erachten als statistische. Polynome höheren Grades wurden durch das Graphikprogramm PlotIt für WINDOWS, Version 3.1 angepasst und der Kurvenverlauf visuell beurteilt. Ein „unbiologischer“ Verlauf führte zum Ausschluß des entsprechenden Polynoms: Beispielsweise wurden Polynome mit einem Umkehrpunkt im Bereich abfallender Blattflächen nicht verwendet. Unter den verbleibenden Polynomen waren statistische Entscheidungskriterien für die Wahl des Polynomgrades maßgebend (siehe Draper & Smith 1981, S. 294-379). Während das Bestimmtheitsmaß R^2 aufgrund des besseren Fits mit jedem zusätzlichen Grad des Polynoms zunimmt, bezieht das gegenüber dem R^2 nach unten korrigierte „adjusted R_a^2“ (Def. siehe Draper & Smith 1981, S. 91f.) den Verlust an Freiheitsgraden durch den zusätzlichen Parameter ein und kann bei Steigerung des Grades wieder absinken. Das Polynom der Wahl sollte ein maximales R_a^2 aufweisen. R_a^2 hat eine Beziehung zu einer weiteren statistischen Prüfgröße: Mallow’s C_p (Draper & Smith 1981, S. 299ff.). Bei einem Vergleich mehrerer Polynome hat dasjenige mit dem höchsten Grad ein C_p, das der Zahl der Parameter p im Polynom entspricht. Gewählt wurde ein Polynom niedrigeren Grades, wenn sich mit einem geringeren Verbrauch an Freiheitsgraden ein $C_p \bullet p$ ergab.

Die Überprüfung der Datenanpassung mithilfe der Residuenanalyse

Als Residuen werden die Abweichungen der Meßwerte von dem für diesen Zeitpunkt angepaßten Funktionswert bezeichnet. Ihre Analyse kennzeichnet Modellfehler und gibt Aufschluß darüber, inwieweit die Basisannahmen der Regressionsanalyse erfüllt sind (Draper & Smith 1981, S. 141-193). Die Residuen wurden gegen die Funktionswerte und gegen den Tag nach Aussaat aufgetragen. Sind die Voraussetzungen gegeben und ist das Modell adäquat, sollten die Residuen in dieser Auftragung in einem horizontalem Band um die Null streuen. Transformationsprobleme zeigen sich durch eine von der Höhe des Funktionswertes abhängigen Varianz. Wurde das falsche Modell gewählt, streuen die Residuen in der Auftragung gegen den Funktionswert systemisch um einen von Null verschiedenen Wert, z.B. für niedrige Funktionswerte um einen Wert kleiner Null und für größere um einen Wert größer Null. Zusätzlich wurde die Normalverteilung der Residuen über einen Kolmogoroff-Smirnoff-Test und für n<60 über den auf eine Schiefe der Verteilung empfindlich reagierenden Shapiro-Wilks-Test geprüft.

Statistische Vergleiche angepaßter Funktionen

Funktionen wurden an die Daten der Behandlungen (2 Kammerwiederholungen, Ausnahme: A-NF1,5 mit einem Kammerausfall wegen Ozonunfall) angepasst und graphisch dargestellt. Miteingezeichnet wurden in die Graphiken 95% Working-Hotelling-Konfidenzbänder mit Gültigkeit für die gesamte Regressionsfunktion (Def. siehe Draper & Smith 1981 S. 31, Sachs 1992 S. 556). Diese wurden von dem Graphikprogramm PlotIt für WINDOWS, Version 3.1 geliefert. Im Fall der Verhältniswerte (z.B. LAR) wurden die Konfidenzbänder mit dem Tabellenkalkulationsprogramm EXCEL 4.0 für WINDOWS berechnet (Näheres siehe unten).

Die 95%-Vertrauensbänder sind wie folgt zu interpretieren: Mit 95%iger Sicherheit enthält das jeweilige Band den Erwartungswert y für die Behandlung. Für einen Kurvenvergleich gilt: Überdecken sich die Vertrauensbereiche nicht, so besteht auf dem gewählten Signifikanzniveau (5%) ein statistisch signifikanter Unterschied (siehe Sachs 1993, S. 66). Überdekken sich die Vertrauensbereiche, so darf nicht davon ausgegangen werden, daß keine signifikanten Unterschiede bestehen (bes. bei Varianzheterogenität). Das Überlappungskriterium ist somit konservativ.

Die Kalkulation der relativen Wachstumsrate, der Verhältnisgrößen und der Produktivitätsrate der Blattflächeneinheit

Leitet man das Polynom ab, das an die ln-transformierten Daten der oberirdischen Trokkenmasse angepaßt wurde, ergibt sich die relative Wachstumsrate. Mathematisch reduziert sich der Polynomgrad bei der Ableitung des Polynoms um eins. Da für die Oberirdische Trokkenmasse durchweg ein Grad von 3 gewählt wurde, wird der Schätzer für den Erwartungswert der relativen Wachstumsrate durch das folgende quadratische Polynom beschrieben (Causton & Venus 1981, S. 52f):

$$\hat{R} = b_1 + 2b_2 t + 3b_3 t^2 \tag{6}$$

mit der Varianz (allgemein für ein Polynom vom Grad n):

$$V\left(\hat{R}\right) = \sum_{i=1}^{n} i^2 t^{2(i-1)} \cdot V\left(b_i\right) + \sum_{i=1}^{n}\sum_{j=1}^{n} ijt^{(i+j-2)} \cdot Cov\left(b_i, b_j\right) \qquad \text{i} \neq \text{j} \tag{7}$$

Für die Kalkulationen wurden also Parameter des Ausgangspolynoms für die Oberirdische Trockenmasse sowie deren Varianz-Covarianz-Matrix benötigt. Die Durchführung der Kalkulationen erfolgte mit EXCEL 4.0 für WINDOWS. Die Varianz-Covarianz-Matrix der Parameter lieferte die Multiple Lineare Regression innerhalb von SPSS für WINDOWS, Version 6.1.3. Ein 95% Working-Hotelling-Konfidenzband für die Kurve ließ sich mit Gleichung 5 berechnen.

Die Kalkulation der „leaf area ratio“ (LAR) soll als Beispiel für die Kalkulation der Verhältnisgrößen dienen. Wenn man eine klassische Wachstumsanalyse durchführt, lassen sich Verhältnisgrößen, wie die LAR, für jede Pflanze bilden. Ein Behandlungsmittelwert der LAR soll dann ein Schätzer für den Mittelwert der zugrundeliegenden Population sein. Causton & Venus (1981, S. 23f) argumentieren gegen eine solche Vorgehensweise: Da die Basisdaten der Blattfläche und Trockenmasse (annähernd) log-normal verteilt sind, ist es auch die Verhältnisgröße LAR. Deshalb ist es besser, die Analyse der LAR in logarithmischer Form auszuführen. Entsprechend wird auch in der funktionalen Wachstumsanalyse vorgegangen: Die Schätzwerte für den natürlichen Logarithmus der Blattfläche ($\hat{l}_A$) und der oberirdischen Trockenmasse ($\hat{w}$) für einen Tag nach Aussaat t erhält man dabei, abweichend von der klassischen Wachstumsanalyse, aus den angepaßten Funktionen. Dann ist der Erwartungswert des natürlichen Logarithmus der LAR für den Tag t (Causton & Venus 1981, S.23f):

$$E\left\{\log_e (L_A / W\right\} = \hat{l}_A - \hat{w} \tag{8}$$

mit der Varianz:

$$V\left\{\log_e (L_A / W\right\} = V(\hat{l}_A) + V(\hat{w}) - 2 \cdot Cov(\hat{l}_A, \hat{w}) \tag{9}$$

Aus der Varianz kann nach Gleichung 5 wiederum das Konfidenzband berechnet werden. Nach Causton & Venus (1981) ist der Covarianzterm problematisch. Sie geben auf Seite 55 eine Gleichung für dessen Abschätzung:

$$Cov(\hat{l}_A, \hat{w}) = r \cdot \left\{V(\hat{l}_A) \cdot V(\hat{w})\right\}^{1/2} \tag{10}$$

r ist dabei der Korrelationskoeffizient zwischen Blattfläche und oberirdischer Trockenmasse.

r wird berechnet nach:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^{h}\sum_{j=1}^{N}\left(l_{Aij} - \bar{l}_{Ai}\right)\cdot\left(w_{ij} - \overline{w}_i\right)}{\left\{\sum_{i=1}^{h}\sum_{j=1}^{N}\left(l_{Aij} - \bar{l}_{Ai}\right)^2 \cdot \sum_{i=1}^{h}\sum_{j=1}^{N}\left(w_{ij} - \overline{w}_i\right)^2\right\}^{\frac{1}{2}}} \tag{11}$$

Dabei sind l_{Aij} und w_{ij} die Blattfläche und die Gesamttrockenmasse der j-ten Wiederholungspflanze der i-ten Ernte. $\bar{l}_{Ai}$ und $\overline{w}_i$ stehen für die Mittelwerte der N Wiederholungen der i-ten Ernte.

Im Falle der LAR, die ausschließlich logarithmisch berechnet wurde, ist man damit am Ende angekommen. Die SLA hingegen wurde nicht logarithmisch dargestellt. Dafür mußten folgende Kalkulationen durchgeführt werden — hier beispielhaft für die LAR dargestellt.

$$E(L_A/W) = \exp\left[E\left\{\log_e\left(L_A/W\right)\right\} + \frac{1}{2}\cdot V\left\{\log_e\left(L_A/W\right)\right\}\right] \tag{12}$$

$$V(L_A/W) = \exp\left[2\cdot E\left\{\log_e\left(L_A/W\right)\right\} + V\left\{\log_e\left(L_A/W\right)\right\}\right] x\left(\exp\left[V\left\{\log_e\left(L_A/W\right)\right\}\right] - 1\right) \tag{13}$$

Die Produktivitätsrate der Blattflächeneinheit (NAR: E) wird geschätzt über die Beziehung E = R/(L_A/W). Während L_A/W annähernd log-normal verteilt ist, ist die relative Wachstumsrate R annähernd normal verteilt (Causton & Venus 1981, S.55f). Schätzer für den Erwartungswert und die Varianz der NAR müssen durch Approximationsformeln (Causton & Venus 1981, Appendix S.261) berechnet werden — dies ergibt sich als Konsequenz, weil die NAR Quotient von R und L_A/W mit den beschriebenen Verteilungen ist. Die Anwendung der Formeln ergibt (Causton & Venus 1981, S.55):

$$E(E) = E(R)\Big/E(L_A/W) + E(R)\cdot V(L_A/W)\Big/\left\{E\left(L_A/W\right)\right\}^3 - Cov\left(R, L_A/W\right)\Big/\left\{E\left(L_A/W\right)\right\}^2 \tag{14}$$

$$V(E) = V(R)\Big/\{E(L_A/W)\}^2 + \{E(R)\}^2\cdot V(L_A/W)\Big/\left\{E\left(L_A/W\right)\right\}^4 - 2\cdot E(R)\cdot Cov\left(R, L_A/W\right)\Big/\left\{E\left(L_A/W\right)\right\}^3 \tag{15}$$

Problematisch ist abermals der Covarianzterm. Causton & Venus plädieren dafür, in Ermangelung einer anerkannten Methode für die Abschätzung der Korrelation von R und L_A/W, den Korrelationskoeffizienten (siehe Gleichung 10) auf Null zu setzen. So wurde auch hier verfahren.

Praktische Auswertungsprobleme

Um die Prozedur „Multiple Linear Regression“ des SPSS-Programm-Paketes für WINDOWS, Version 6.1.3 für die Regression von Polynomen zu verwenden, mußte die Variable „Tag nach Aussaat (t)“ zunächst potenziert werden (t^2, t^3,..). Die SPSS-Prozedur dient eigentlich dazu, aus einer Vielzahl von Einflußfaktoren auf eine abhängige Variable die wichtigsten herauszufiltern und die Abhängigkeit mathematisch zu beschreiben. Abhängigkeiten zweier Faktoren voneinander führen logischerweise zum Ausschluß eines Faktors. Problematisch ist, daß zwischen den „Variablen t, t^2, t^3... starke Abhängigkeiten bestehen. Den Ausschluß vermeidet man durch Herabsetzen des „Tolerance Limits“ über den gleichnamigen SPSS-Syntaxbefehl.

Für die Errechnung der Verhältniswerte und deren Konfidenzbänder wurden die Varianzen der Funktionswertschätzungen benötigt. Für die LAR beispielsweise wurden die Varianzen der geschätzten Funktionswerte der Blattfläche und der oberirdischen Trockenmasse benötigt. Diese ließen sich aus der Varianz-Covarianz-Matrix der Parameter, einschließlich b_0, berechnen (siehe Gleichung 4). Wegen der besonderen Gleichungsstruktur (Multiplikation mit verschiedenen Potenzen des Tages nach Aussaat t) drohten numerische Rundungsprobleme. Wenn die einzelnen Varianzen/Covarianzen dieser Matrix bis auf die 8. Nachkommastelle bekannt waren, wurde die Varianz bis auf die fünfte Nachkommastelle genau berechnet. Dies zeigte ein Vergleich der mit SPSS errechneten Werte mit Werten, die von Dr. G. Eichner vom Mathematischen Institut der JLU Gießen mit dem Programm Mathematica kalkuliert wurden. Mathematica rechnet mit Brüchen ohne zu runden. Um eine Genauigkeit in der 8. Nachkommastelle für die Varianzen/Covarianzen zu erreichen, war es erforderlich, die Primärdaten mit einem Faktor bis zu 10^9 in 1000er Schritten zu multiplizieren und jeweils die Varianz-Covarianz-Matrix vom Programm errechnen zu lassen. Damit auch die Varianz von b_0 und alle Covarianzen der übrigen Schätzer mit b_0 von SPSS angegeben werden, wurde eine Dummy-Variable mit dem Wert 1 für alle Tage nach Aussaat eingeführt. Anstelle eines Intercept-Modells wurde dann ein Ursprungsmodell kalkuliert.

Die Kalkulation allometrischer Beziehungen

Causton & Venus widmen den allometrischen Beziehungen der Organ(-systeme) und ihrer Kalkulation in ihrem Buch mit „Relationships between plant parts“ ein eigenes Kapitel (Causton & Venus 1981, S.173-218). Ein einfache und kurze Einführung in allometrische Berechnungen geben auch Sokal und Rohlf (1981, S.547ff) in einem Abschnitt über Modell II

Regression. Modell II Regression ist für Sokal & Rohlf der Spezialfall linearer Regression mit fehlerbehafteter unabhängiger Variable.

Die Sproß-/Wurzel-Allometrie (und nicht das Sproß:Wurzel-Verhältnis) sollte für die Weizensorte Minaret anhand der Daten aus dem Jahr 1995 berechnet werden. Sproß- (S) und Wurzel-Trockenmasse (R) verhalten sich zueinander wie (Causton & Venus 1981, S. 173):

$$S = a \cdot \mathrm{R}^k \qquad (16)$$

Nach ln-Transformation ergibt sich für Sproß/Wurzel eine sogenannte lineare Allometrie:

$$\ln S = \ln a + k \cdot \ln \mathrm{R} \qquad (17)$$

In der doppelt-logarithmischen Auftragung ist k die Steigung der Allometrie mit folgender Bedeutung: k ist das Verhältnis der Relativen Wachstumsraten von Sproß und Wurzel (Causton & Venus 1981, S. 181). Je größer k ist, desto stärker wird das Sproßwachstum gegenüber dem Wurzelwachstum gefördert. Weil die Wurzeltrockenmasse fehlerbelastet ist, kann man keine „normale“ Regression (Modell I Regression nach Sokal & Rohlf) durchführen. Stattdessen wurde hier die sogenannte „reduced major axis“ oder „geometric mean“ Regression nach den Angaben von Sokal & Rohlf angewendet. Im folgenden werden die benötigten Gleichungen präsentiert:

$$k = \pm \frac{SD(\ln S)}{SD(\ln R)} \qquad (18)$$

SD steht für Standardabweichung.

$$\ln a = MW(\ln S) - k \cdot MW(\ln R) \qquad (19)$$

ln a ist der Achsenabschnitt in der doppeltlogarithmischen Auftragung.

$$SE(k) = SE(b) \qquad (20)$$

b stellt die Steigung der normalen Regression dar.

$$95\%CI = t_{(0{,}05;FG)} \cdot SE(k) \qquad (21)$$

95%CI repräsentiert das 95% Konfidenzintervall für k; SE ist der Standardfehler von k, t der 5%-Grenzwert der t-Verteilung für die zugehörigen Freiheitsgrade. Signifikante Behandlungsunterschiede auf dem 5% Signifikanzniveau bestehen, wenn die Konfidenzintervalle einander nicht überlappen.

III.1.2 Der Weg zu einem kombinierten Photosynthese-/Stomata-Modell

Für ein Verständnis, wie das Photosynthese-Modell nach Farquhar et al. (1980) aufgebaut ist und welche Rückschlüsse aus Veränderungen der A/c_i-Kurven nach Wachstum unter erhöhter CO_2-/O_3-Konzentration gezogen werden können, ist Voraussetzung, daß man sich mit den Basiskonzepten der Kurven vertraut macht. Insofern beschäftigt sich der erste Kapitelabschnitt mit diesen Konzepten.

Der „Normalfall" ist, daß A/c_i-Kurven mit offenen Photosynthese-Meßsystemen und angeschlossener Gasmischanlage aufgenommen werden (allgemein: Field et al. 1989; Beispiele: Sage et al. 1989, Harley & Sharkey 1991, Harley et al. 1992, Tuba et al. 1994). Wenige Autoren haben bisher geschlossene Meßsyteme für eine Aufnahme von A/c_i-Kurven eingesetzt (Beispiel: Pettersson & McDonald 1992). Von Erfahrungen, die mit der Aufnahme von A/c_i-Kurven durch ein geschlossenes Photosynthese-Meßsystem gemacht wurden, handelt der zweite Abschnitt.

Anhand von A/c_i-Kurven kann das Photosynthese-Modell von Farquhar et al. (1980) parametrisiert werden. Eine Beschreibung des Photosynthese-Modells nimmt der dritte Abschnitt vor. Eine Photosyntheserate läßt sich (nur) aus Umweltvariablen vorhersagen, wenn man das Photosynthese-Modell mit einem Stomata-Modell kombiniert. Folglich ist im letzten Abschnitt eine Beschreibung des empirischen Stomata-Modells zu finden.

Konzepte der A/c_i-Kurven

Der interzelluläre CO_2-Partialdruck (**c_i**) berechnet sich auf der Angebotsseite aus stomatärer Leitfähigkeit für CO_2 (**$g_{s\ CO2}$**, Steigung der Angebotsfunktion) und dem CO_2-Außenpartialdruck (**c_a**), wie Abbildung 3.1 zeigt. Das c_i ergibt sich bei Momentanmessung (**A aktuell**) als Schnittpunkt von Angebotsfunktion und Nachfragefunktion des Mesophylls. Die Nachfragefunktion des Mesophylls stellt die eigentliche A/c_i-Kurve dar. Der Bezug der Photosynthese auf c_i macht unabhängig von der Stomatareaktion.

Auf der A/c_i-Kurve existieren 3 Bereiche der Photosynthese-Limitation (Farquhar & von Caemmerer 1982, Harley & Sharkey 1991):

1) Bei niedrigem c_i limitiert die RubisCO die Photosynthese (**RubisCO-Limitation**). Die Kurve stellt einen kleinen Ausschnitt der Michaelis-Menten-Kinetik der RubisCO dar. Eine wichtige Größe ist hier die Anfangssteigung (**Carboxylierungseffizienz CE**), die mit der Zahl aktiver RubisCO-Zentren korreliert.

2) Es folgt eine Limitation durch Regeneration des Primärakzeptors RuBP, die v.a. bedingt ist durch die Lichtprozesse (**e^--Transport-Limitation**).

3) Bei hohem c_i (bes. bei tiefer Temperatur) wird der Abtransport der Photosynthese-Produkte limitierend. Im Cytoplasma von Mesophyllzellen reichern sich Triosephosphate an, wodurch die Chloroplasten an anorganischem Phosphat P_i verarmen (**P_i-Limitation**, Harley & Sharkey 1991). Liegt eine P_i-Limitation vor, hemmt weitere Erhöhung des c_i charakteristischerweise die Photosynthese („reversed sensitivity of assimilation to CO_2"). Bei Bedarf (niedrige Temperatur) wurde das Modell von Farquhar et al. (1980) nach Harley & Sharkey (1991) um die P_i-Limitation erweitert.

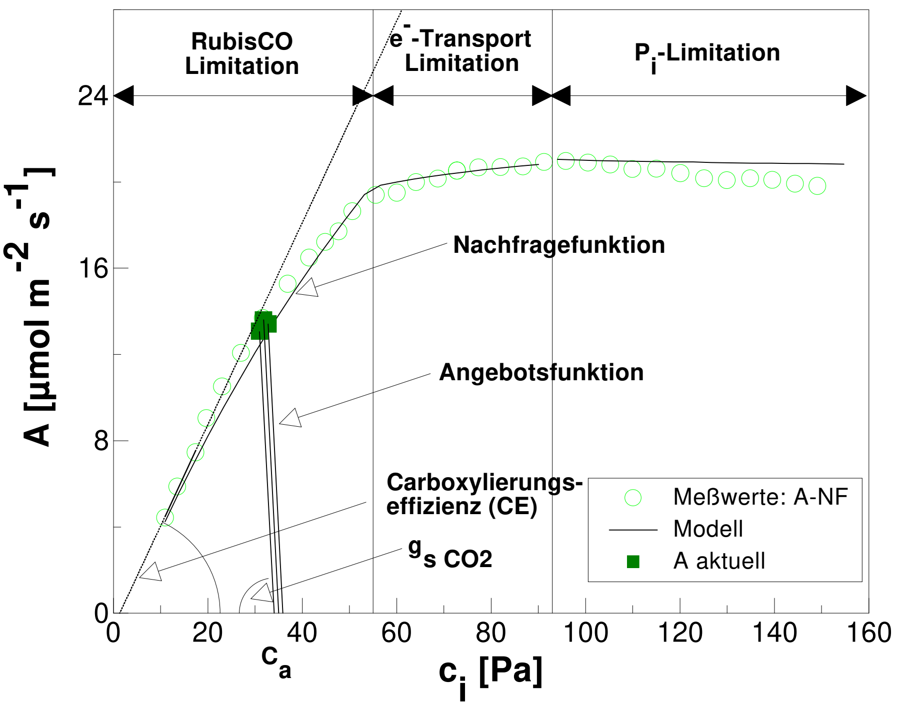

Abb. 3.1: Konzepte der A/c_i-Kurven am Beispiel: Weizensorte Minaret 1995, 2. Anzucht, Blüte, Behdlg. A-NF (PPFD = 1650 µmol m^{-2} s^{-1}, T_{Blatt} = 21°C)

Die Aufnahme von A/c_i-Kurven mit einem geschlossenen Photosynthese-Meßsystem

Das geschlossene Photosynthese-Meßsystem LI-6200 (LI-COR, Lincoln, NE, USA) wurde für die Kurvenaufnahme eingesetzt. Bei der Kurvenaufnahme mit einem geschlossenen System muß eine hohe Anfangskonzentration eingestellt werden; durch die Blatt-Photosynthese selbst kommt es dann im geschlossenen Kreislauf zu einer Abnahme der CO_2-Konzentration. Im Gegensatz zur Momentanmessung der Photosyntheserate herrscht bei der Kurvenaufnahme zeitweise ein hoher CO_2-Konzentrationsgradient zwischen Kuvetten-Innerem und Außenluft. Deshalb wurde nach Angaben von LI-COR eine Korrektur der

Gaswechselberechnungen um die Leckrate durchgeführt (McDermitt 1991 „LI-COR application note 103“).

Pettersson & McDonald (1992) erhöhten die CO_2-Anfangskonzentration im LI-6200, indem sie ausgeatmete Luft am Umschaltventil zwischen offenem und geschlossenem Modus einbliesen. Ausatemluft enthält bekanntlich Kohlendioxid in einer Konzentration von ungefähr 4-5 Vol.%. Da das Blatt der hohen Konzentration über einen längeren Zeitraum ausgesetzt war und es einige Minuten dauerte, bis die Konzentration so weit (auf ca. 2000 ppm) abgesunken war, daß der Meßbereich des Infrarot-Gasanalysators (IRGA) erreicht war, kamen mir Zweifel, ob die Photosynthese durch das Kohlendioxid nicht geschädigt wird. Probleme kann auch der hohe Wasserdampfgehalt der ausgeatmeten Luft verursachen. Das System wurde durch eine Konstruktion verbessert, die für eine CO_2-Injektion geeignet war: Mit einer gasdichten Hamilton-Spritze (1000µl) wurde Kohlendioxid am oben erwähnten Umschlagventil durch eine GC-Membran in den Kreislauf injiziert, um eine Anfangskonzentration von ca. 1500 ppm einzustellen. Dafür wurden bei einem Gesamtvolumen des Systems von 566 cm^3 ca. 600µl reines Kohlendioxid benötigt, das aus der Gasversorgung der Open-Top-Anlage aufgenommen wurde. In der Zeit, die dies erforderte (ca. 5-10 min.), konnte sich die Pflanze an das sättigende Lichtangebot (PPFD = 1650 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) des Halogenstrahlers adaptieren. Bei der 2. Anzucht wurde noch vor der Kurvenaufnahme die aktuelle Photosyntheserate gemessen. Die Start-Injektion mußte wegen der hohen Flußrate im System sehr schnell (ca.5 s) erfolgen, damit nicht ein Teil des injizierten Kohlendioxids das System schon wieder verlassen hatte.

Durch die Blattphotosynthese nahm die CO_2-Konzentration im geschlossenen Kreislauf ab, bis der Kompensationspunkt erreicht war. Je nach eingespannter Blattfläche dauerte dieser Vorgang 30-45 Minuten. Das System wurde so programmiert, daß eine Photosyntheserate berechnet wurde aus der Zeit, die jeweils für die Abnahme der CO_2-Außenkonzentration um 30 ppm nötig war. Es handelte sich also um eine dynamische Methode der Kurvenaufnahme. Nach McDermitt et al. (1989) zeigten Kurven, die mit dem geschlossenen LI-6200-Photosynthesemeßsystem aufgenommen wurden, eine hervorragende Übereinstimmung mit simultan von einem offenen Meßsystem gemessenen. Eigene Versuche, übereinstimmende Kurven simultan mit dem LI-6200 und dem Waltz-Minikuvettensystem der Arbeitsgruppe von Prof. Esser aufzunehmen, waren weniger erfolgreich. Da für Farquhar et al. (1980) „steady state“-Bedingungen Voraussetzung sind, blieben Zweifel an der dynamischen

Methode der Kurvenaufnahme. Aus den Ergebnissen jedoch folgt die Vertrauenswürdigkeit der Methode (siehe Kapitel III.2.5.4).

Durch den CO_2-Absorber aus Natronkalk (= Gemisch aus NaOH, KOH, $Ca(OH)_2$, fest), der über ein Ventil seriell in den Kreislauf geschaltet werden kann und normalerweise der Nullpunkt-Kalibration des IRGA dient, war es möglich, die CO_2-Konzentration im System bis ungefähr auf Null zu erniedrigen. So konnte ein Kurvenabschnitt unterhalb des Kompensationspunktes generiert werden. In diesem Abschnitt war das System so programmiert, daß jede Veränderung der CO_2-Außenkonzentration um 4 µmol mol^{-1} zur Berechnung einer Photosyntheserate führte. Durch Photorespiration und Atmung erhöhte sich in diesem Kurvenabschnitt die CO_2-Konzentration und näherte sich dem CO_2-Kompensationspunkt von unten an. Dem ganzen lag die Idee zugrunde, daß sich eine bessere Abschätzung der Carboxylierungseffizienz vornehmen läßt, wenn oberhalb und unterhalb des Kompensationspunktes Datenpunkte vorliegen. Nachdem eine lineare Regression durchgeführt worden war, welche Datenpunkte oberhalb und unterhalb des Kompensationspunktes einbezog, zeigte eine Analyse der Residuen aber Abweichungen von der Linearität. Dies erinnert an den Kok-Effekt, der das Verhalten von Lichtsättigungskurven unterhalb des Lichtkompensationspunktes kennzeichnet und dessen biologische Bedeutung darin liegt, daß er Unterschiede der Atmung im Licht und im Dunkeln sichtbar macht (Villar et al. 1994). Ob das hier gefundene Verhalten eine biologische Bedeutung hat, wurde nicht hinterfragt. Auf jeden Fall wurden bei der weiteren Auswertung Daten unterhalb des Kompensationspunktes ausgeschlossen.

Für die Diagnose einer P_i-Limitation haben A/c_i-Kurven eine Bedeutung, die bei reduzierter Sauerstoffkonzentration (2% O_2) aufgenommen werden (Sharkey 1985, Harley & Sharkey 1991). Charakteristisch für eine P_i-Limitation ist, daß die Photosynthese absinkt, wenn die Photorespiration durch Verwendung einer 2%igen Sauerstoffkonzentration unterdrückt wird. Die „Bruttophotosynthese", die man bei 2% O_2 mißt, liegt damit unterhalb der „Nettophotosynthese" (gemessen bei 21% O_2). Harley & Sharkey (1991) erklären dieses Verhalten mit einer Phosphatfreisetzung, die mit der Photorespiration verbunden ist und die die Phosphat-Limitation der Photosynthese abschwächt. Technisch wird bei offenen Photosynthese-Meßsystemen eine Gaszusammensetzung mit reduzierter Sauerstoffkonzentration erzeugt, indem man die Gasmischanlage anstelle von Luft und Kohlendioxid mit Stickstoff und Kohlendioxid betreibt. Es enstand die Idee, die Praxis des offenen Systems auf das geschlossene System zu übertragen und eine Kurvenaufnahme bei reduzierter Sauerstoffkonzentration durchzuführen. Hierzu wurde an das Umschlagventil ein mit Stickstoff gefüllter Luftballon angeschlossen. Nachdem das System eine Zeit lang im offenen Modus CO_2- und O_2-freie Luft aus dem Ballon gesogen hatte, wurde wiederum CO_2 auf die beschriebene Weise injiziert, um eine hohe CO_2-Anfangskonzentration zu erzeugen, und dann das Ventil auf geschlossenen Modus umgestellt. Danach erfolgte die Kurvenaufnahme wie bereits beschrieben.

Allgemein traten bei der Aufnahme von A/c_i-Kurven folgende Probleme auf:

1) Die ersten Photosyntheseraten bei hohem c_i lagen vielfach niedrig, d.h. es dauerte eine gewisse Zeit bis sich die Flüsse stabilisiert hatten. Solche Werte wurden bei der Auswertung nicht berücksichtigt.

2) Wie sich herausstellte, war es notwendig, die relative Feuchte im System konstant zu halten. Geschah dies nicht, resultierte aus dem Drift der relativen Feuchte und der damit verbundenen Stomata-Reaktion vermutlich eine Fehlberechnung der interzellulären CO_2-Konzentration, erkennbar an einer für das berechnete c_i zu niedrigen Photosyntheserate. Auch hier war das Mittel der Wahl, solche Werte nicht zu berücksichtigen.

3) Nimmt man eine Kurve bei reduzierter O_2-Konzentration auf, ist der Konzentrationsgradient für Sauerstoff bedeutend höher als für Kohlendioxid. Insofern spielen für Sauerstoff Lecks im System eine größere Rolle. Wegen der größtenteils höheren Bruttophotosynthese war der Zeitraum kürzer, der für die Kurvenaufnahme bei reduzierter O_2-Konzentration erforderlich war. Dies war natürlich von Vorteil. Trotzdem: Wenn bei der Kurvenaufnahme kein Sauerstoff eingedrungen wäre, sollte das eingespannte Blatt auch am Ende keine Photorespiration und keine Atmung zeigen und die Kurve müßte gegen einen Kompensationspunkt $c_i = 0$ Pa streben. Tatsächlich wurden mit $R_D = 0$ aber Kompensationspunkte zwischen 0,61 und 0,8 Pa bestimmt. Daraus wurde geschätzt, daß die Sauerstoffkonzentration während der Messung stets unter 5% blieb, jedoch nicht unter 2%.

4) Meist lag die bei reduzierter Sauerstoffkonzentration aufgenommene Kurve in einem Bereich hoher c_i deutlich unterhalb der am gleichen Blatt aufgenommenen normalen A/c_i-Kurve, obwohl diese in dem Bereich kein Anzeichen für eine P_i-Limitation aufwies. Dies wurde als langsame Erholung der Photosynthese von dem anfänglichen Einstrom CO_2-freien Stickstoffs gedeutet. Bei der Auswertung wurde der Bereich hoher c_i für O_2-reduzierte Kurven ausgegrenzt. Für die Diagnose einer P_i-Limitation waren diese Kurven also so nicht geeignet. Im Ergebnisteil (Kapitel III.2) wurde deshalb auf eine Darstellung der Ergebnisse aus A/c_i-Kurven, die bei reduzierter Sauerstoffkonzentration aufgenommen wurden, verzichtet.

Hier soll aber mit Abbildung 3.2 ein Beispiel gebracht werden, das beide an einem Blatt aufgenommenen Kurven enthält. Einerseits zeigen die Kurven eine gelungene Übertragung der Praxis offener Meßsysteme auf das geschlossene, andererseits wird deutlich erkennbar, wie eine kurzfristig erhöhte CO_2-Konzentration das Verhältnis von Nettophotosynthese (Förderung) und Photorespiration (Hemmung) beeinflußt.

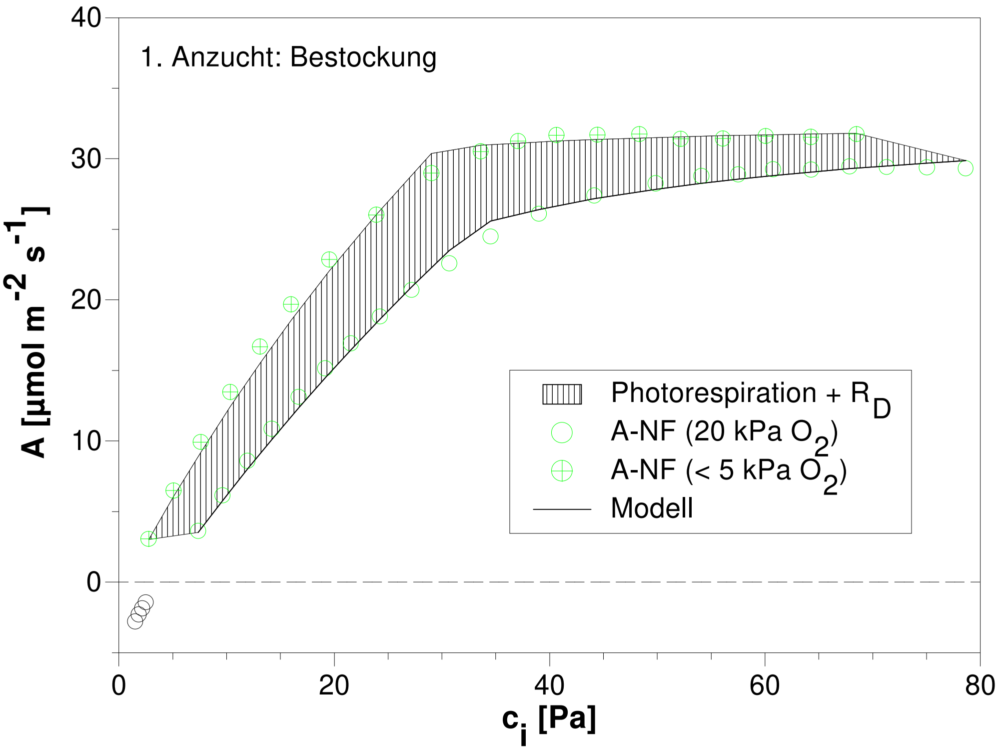

Abb. 3.2: Bei normaler und reduzierter Sauerstoffkonzentration aufgenommene A/c_i-Kurven am Beispiel Weizensorte Minaret 1995, 1. Anzucht, Bestockung, A-NF. Meßbedingungen: PPFD = 1650 µmol m^{-2} s^{-1}, T_{Blatt} = 28°C. Der schraffierte Bereich entspricht Photorespiration incl. Atmung (R_D).

Das Photosynthese-Modell

Das verwendete Photosynthese-Modell ist eine nach Sharkey (1985) modifizierte Version des Modells von Farquhar, von Caemmerer & Berry (1980). Sharkey führte zusätzlich die Phosphat-Limitation in das Modell ein, die auftritt, wenn in der Pflanze ein Kohlenhydratrückstau entsteht, sich Triosephosphate im Cytosol von Mesophyllzellen anreichern und deren Chloroplasten an anorganischem Phosphat verarmen.

Die Nettoassimilation (A) ist danach gegeben durch:

$$A = V_c \cdot (1 - \frac{0{,}5 \cdot O}{\tau \cdot C_i}) - R_D = \min\{W_c, W_j, W_p\} \cdot (1 - \frac{0{,}5 \cdot O}{\tau \cdot C_i}) - R_D \qquad (22)$$

(V_c = Carboxylierungsrate der RubisCO; O,C_i = CO_2-, O_2-Partialdruck; R_D = „day respiration“ Respiration im Licht; τ = Spezifitätsfaktor der RubisCO; min = Minimum)

W_c, W_j, W_p beschreiben darin die limitierenden Prozesse in den 3 Limitationsbereichen der A/c_i-Kurve.

1) Die RubisCO-Limitation ist ausschließlich abhängig von der Enzymcharakteristik der RubisCO:

$$W_c = \frac{V_{C\max} \cdot C_i}{C_i + K_m} \tag{23}$$

($V_{C\max}$ = maximale Carboxylierungsrate der RubisCO, K_m = Michaelis-Menten-Konstante der RubisCO = $K_c\ (1+O/K_o)$)

Harley et al. (1992) haben den Bereich über die aus einem biochemischen Experiment bekannte Temperaturabhängigkeit von K_c, K_o (Michaeliskonstanten für Carboxylierung, Oxygenierung) und τ modelliert. Für Weizen ergaben sich bei dieser Vorgehensweise starke Abweichungen von den Daten (Daten nicht gezeigt). Auf Anregung von Dipl. Physiker J. Hoffstadt aus der Arbeitsgruppe von Prof. Esser und abweichend von Harley et al. wurde deshalb hier für die Modellierung der RubisCO-Limitation CE in den Mittelpunkt gestellt.

Für A gilt dann bei Vorliegen der RubisCO-Limitation:

$$A = \frac{V_{C\max} \cdot \left(C_i - \Gamma^*\right)}{C_i + K_m} - R_D \tag{24}$$

(Γ^* = Scheinbarer Kompensationspunkt nach Addition von R_D)

Durch Differentiation dieser Gleichung nach c_i erhält man nach Farquhar & von Caemmerer (1982):

$$\frac{dA}{dC_i} = V_{C\max} \cdot \frac{\Gamma^* + K_m}{\left(C_i + K_m\right)^2} \tag{25}$$

An Γ^* ergibt sich daraus CE nach:

$$\frac{dA}{dC_i} = CE = \frac{V_{C\max}}{\Gamma^* + K_m} \tag{26}$$

CE ließ sich aus einer A/c_i-Kurve ermitteln wie folgt: Zunächst wurde ein mittleres R_D auf die Werte addiert. Zugrundegelegt wurden 0,82 µmol m^{-2} s^{-1} aus n=16 Messungen der Dunkelatmung bei 30°C sowie 0,27 µmol m^{-2} s^{-1} bei 21°C. An die 3 Werte mit dem niedrigsten c_i wurde (wie in Abb. 3.1 zu sehen) eine Gerade angepaßt. Deren Steigung war CE, deren Schnittpunkt mit der x-Achse Γ^*.

Setzt man (26) in (24) ein, ergibt sich eine Gleichung mit einer Unbekannten, nämlich K_m:

$$A = CE \cdot \frac{\left(C_i - \Gamma^*\right) \cdot \left(1 + \frac{\Gamma^*}{K_m}\right)}{\left(\frac{C_i}{K_m} + 1\right)} - R_D \qquad (27)$$

$$A = W_j \cdot (1 - \frac{\Gamma^*}{C_i}) - R_D \qquad (28)$$

K_m und J_{max} (siehe unter 2) wurden über das Minimum der Gleichungen (27) und (28) mittels Nichtlinearer Regression (SPSS für WINDOWS, Version 6.1.3) simultan geschätzt. Das Minimum der Gleichungen (27) und (28) wurde an Daten angepaßt, die aus dem c_i-Bereich stammten, in dem die Photosynthese mit zunehmendem c_i anstieg.

$V_{C\,max}$ ist dann:

$$V_{C\max} = CE \cdot \left(\Gamma^* + K_m\right) \qquad (29)$$

2) Die weiteren Schritte der Modellierung erfolgten nach Harley et al. (1992) sowie Harley & Baldocchi (1995). Die Limitation durch die e^--Transportrate (J) ergibt sich aus:

$$W_j = \frac{J \cdot C_i}{4 \cdot \left(C_i + 2 \cdot \Gamma^*\right)} \qquad (30)$$

Diese Gleichung setzt indirekt voraus, daß vier Elektronen ausreichend ATP und NADPH für die RuBP-Regeneration im Calvin-Zyklus erzeugen (Farquhar & von Caemmerer 1982).
Die Lichtabhängigkeit von J ist gegeben durch:

$$J = \frac{\alpha \cdot I}{\left(1 + \frac{\alpha^2 \cdot I^2}{J_{\max}^2}\right)^{1/2}} \qquad (31)$$

(α = Effizienz der Lichtenergie-Konversion auf der Basis eingestrahlten Lichts [mol e^-/mol Photonen] wird mit 0,24 angenommen, I = Photonenflußdichte [µmol m^{-2} s^{-1}], J_{max} = lichtgesättigte e^--Transportrate)

J_{max} ist temperaturabhängig über die Arrhenius-Gleichung (Harley et al. 1992):

$$J_{\max} = \frac{\exp\left[c - \Delta H_a / \left(R \cdot T_k\right)\right]}{1 + \exp\left[\left(\Delta S \cdot T_k - \Delta H_d\right) / \left(R \cdot T_k\right)\right]} \qquad (32)$$

(R = Gaskonstante, T_k = Blattemperatur [K], c = Konstante, ΔH_a = Aktivierungsenergie, ΔH_d = Deaktivierungsenergie, ΔS = Entropieterm)

3) Für die P_i-Limitation gilt:

$$W_p = 3 \cdot TPU + \frac{V_c \cdot \Gamma *}{C_i} \tag{33}$$

(TPU [µmol m^{-2} s^{-1}] = Triosephosphatverbrauch)

TPU wurde durch nichtlineare Regression geschätzt. Zugrundegelegt wurde der Bereich der Daten, in dem die Photosynthese mit zunehmendem c_i abfiel.

Das Stomata-Modell

Die interzelluläre CO_2-Konzentration kommt zustande durch das Zusammenspiel der Photosynthese-Eigenschaften des Mesophylls und der Stomataleitfähigkeit für Wasserdampf (g_s). c_i wird als unabhängige Variable im Photosynthese-Modell benötigt. c_i ergibt sich auf der „Angebotsseite“ (siehe oben, Abbildung 3.1) aus:

$$C_i = C_a - \frac{A \cdot 1{,}6 \cdot 100}{g_s} \tag{34}$$

(C_a = CO_2-Partialdruck außerhalb der Grenzschicht, 1,6 = Verhältnis der Diffusivitäten für CO_2 und H_2O, 100 = Korrektur , wenn A in µmol m^{-2} s^{-1} und g_s in mmol m^{-2} s^{-1})

Um die Photosyntheserate (nur) aus Umweltvariablen vorhersagen zu können, ist es notwendig, das Modell der Assimilation mit einem Stomata-Modell zu kombinieren. Mangels mechanistischer Modelle mußte ein empirisches Modell des Stomataverhaltens herangezogen werden. Harley et al. (1992) haben sich eines vereinfachten Ball, Woodrow & Berry-Modells (Ball et al. 1987) bedient. Ball et al. (1987) beschrieben die Stomataleitfähigkeit für Wasserdampf durch die lineare Gleichung (vor ≈):

$$g_s = g_0 + g_1 \cdot \frac{A \cdot h_s}{C_s} \approx g_0 + g_1 \cdot \frac{A \cdot RH}{C_a} \tag{35}$$

(h_s und C_s = Relative Feuchte und CO_2-Partialdruck an der Blattoberfläche innerhalb der Grenzschicht, g_0 = Minimale Stomataleitfähigkeit im Lichtkompensationspunkt bei A = 0, g_1 = Empirischer Sensitivitätskoeffizient der Stomataleitfähigkeit gegenüber Assimilation, CO_2-Partialdruck, Feuchte und Temperatur)

Die von Harley et al. (1992) eingeführte Modifikation (nach ≈) bestand in einem Ersatz der Relativen Feuchte und des CO_2-Partialdrucks innerhalb der Grenzschicht durch entsprechende Werte außerhalb der Grenzschicht (RH, C_a). Wegen der hohen Ventilationsrate, die in Kuvetten erreicht wird und die den Einfluß der Grenzschicht minimiert, wird der so eingeführte Fehler gering sein.

Leuning (1995) modifizierte das Ball, Woodrow & Berry Modell der Stomataleitfähigkeit wie folgt:

$$g_s = g_0 + a_1 \cdot \frac{A}{\left[(c_s - \Gamma) \cdot (1 + D_s / D_0)\right]} \tag{36}$$

(D_s und c_s = Wasserdampfsättigungsdefizit und CO_2-Konzentration an der Blattoberfläche innerhalb der Grenzschicht, D_0 und a_1 = Empirische Koeffizienten, Γ = CO_2-Kompensationspunkt)

Nach Leuning verbesserte die Einführung von Γ das Modellverhalten bei niedrigen c_s-Werten. Die hyperbolische Abhängigkeit der Stomataleitfähigkeit vom Wasserdampfsättigungsdefizit, die die lineare Abhängigkeit von der Relativen Feuchte ersetzte, beschrieb in Leuning's Artikel das Verhalten von Leitfähigkeit und interzellulärer CO_2-Konzentration auf Variation der Luftfeuchte besser. Die Modellparameter D_0 und a_1 zeigen eine hochgradige negative Korrelation, d.h. die Wahl des einen beeinflußt die Schätzung des anderen. D_0 wurde von Leuning festgehalten mit dem Ergebnis, daß das Modell sich wiederum (wie bei Ball et al. 1987) auf eine Geradengleichung reduziert — freilich mit anderer Abhängigkeit von der Luftfeuchte. Beste Resultate wurden durch das Leuning-Modell erreicht, wenn die Pflanzen gut mit Wasser versorgt waren.

In diesem Experiment wurde das vereinfachte Stomata-Modell nach Harley et al. (1992) anhand von 1994 an der Weizensorte Minaret erhobenen Daten der Stomataleitfähigkeit parametrisiert. Bei Anwendung des kombinierten Photosynthese-/Stomata-Modells muß für c_i iterativ eine Lösung gefunden werden, da A und g_s voneinander abhängig sind. Mittels Gleichung (22) und (36) konnten für ein Start-c_i Photosyntheserate A und Stomataleitfähigkeit g_s errechnet werden. c_i wurde dann solange variiert, bis Gleichung (35) erfüllt war. Praktisch wurde die Iteration in EXCEL 4.0 für WINDOWS mit dem Befehl „Zielwertsuche" durchgeführt. Wegen der oben geschilderten Vorteile wurde zusätzlich überprüft, ob das Modell von Leuning (1995) bei der Parametrisierung einen besseren Fit ergab.