

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Blütenbewegung bei *Bulbophyllum lobbii*
(Orchidaceae)-Analyse des Bewegungsmechanismus“

Verfasserin

Elisabeth Kogler

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag.rer.nat.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 444

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Diplomstudium Ökologie

Betreuerin / Betreuer:

ao. Univ.-Prof. Dr. Michael Kiehn

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
1.1	Familie der Orchidaceae (Knabenkrautgewächse)	7
1.1.1	Systematische Stellung im Pflanzenreich	7
1.1.2	Verbreitung und Lebensweise	8
1.1.3	Botanische Merkmale	9
1.1.4	Genus <i>Bulbophyllum</i>	10
1.1.5	<i>Bulbophyllum lobbii</i>	11
1.2	Bewegungen im Pflanzenreich	13
1.2.1	Bewegungsphysiologie der Pflanzen	13
1.2.1.1	Bewegungstypen	14
1.2.1.2	Bewegungsmechanik	16
1.2.2	Mechanismen bekannter Pflanzenbewegungen	18
1.3	Blütenbewegungen	21
1.2.3	Einteilung der Bewegungstypen	21
1.2.4	Bewegungsmechanik bei Blüten	23
1.2.4.1	Wachstum der Zellwand	24
1.2.4.2	Wasserumlagerungen	24
1.2.5	Die Blütenbewegung von <i>Bulbophyllum lobbii</i>	26

1.3 Fragestellungen zu Blütenbewegungen bei	
<i>Bulbophyllum lobbii</i>	27
1.3.1 potentielle Wachstumsbewegungen	27
1.3.2 potentielle Turgorbewegungen	28
1.3.3 anatomische Strukturen	28
2 Untersuchungsmaterialien, Methoden, Versuchsabläufe,	
Ergebnisse und Interpretation der Einzelversuche	29
2.1 Wachstum der Blüte	29
2.1.1 Einleitung	29
2.1.2 Material und Methoden	30
2.1.3 Ergebnisse	32
2.1.4 Diskussion	38
2.2 Bestimmung der Zelllängen und Vergleich der inneren	
und der äußeren Epidermis des dorsalen Sepalums	38
2.2.1 Einleitung	38
2.2.2 Material und Methoden	39
2.2.3 Ergebnisse	41
2.2.4 Diskussion	44
2.3 Behandlung mit Wachstumshormonen	46
2.3.1 Einleitung	46

2.3.2	Material und Methoden	47
2.3.3	Ergebnisse	48
2.3.4	Diskussion	49
2.4	Behandlung mit dem Atmungsgift Natriumazid	50
2.4.1	Einleitung	50
2.4.2	Material und Methoden	51
2.4.3	Ergebnisse	52
2.4.4	Diskussion	55
2.5	Osmotisches Potential	56
2.5.1	Einleitung	56
2.5.2	Material und Methoden	58
a)	Bestimmung der Zellsaftkonzentration mittels Grenzplasmolyse	58
b)	Presssaftmethode	59
c)	Plasmometrische Methode	60
2.5.3	Ergebnisse	62
a)	Zellsaftkonzentration mittels Grenzplasmolyse	62
b)	Presssaft	63
c)	Plasmometrie	66
2.5.4	Diskussion	66

2.6 Säulenchromatographie	
Hochdruck – Flüssigkeitschromatographie (HPLC) und Gaschromatographie (GC)	69
2.6.1 Einleitung	69
2.6.2 Material und Methoden	70
a) GC	70
b) HPLC	71
c) Lösungen	71
2.6.3 Ergebnisse	73
a) GC	73
b) HPLC	74
2.6.4. Diskussion	75
2.7 Entwässerung mit 1 molarer Manitolllösung	77
2.7.1 Einleitung	77
2.7.2 Material und Methoden	77
2.7.3 Ergebnisse	78
2.7.4 Diskussion	79
2.8 Anatomische Untersuchungen	80
2.8.1 Einleitung	80
2.8.2 Material und Methoden	81
2.8.3 Ergebnisse	82
2.8.4 Diskussion	83

3	Gesamtdiskussion	84
3.1	Literaturvergleiche	84
3.2	Wachstumsbewegung oder Turgorbewegung?	86
3.3	Offene Fragen und Ausblick	89
4	Literaturverzeichnis	91
5	Abstract	106
5.1	Englisch	106
5.2	Deutsch	107
6	Anhang	108
6.1	Poster	108
7	Danksagung	109
8	Curriculum Vitae	110

1 Einleitung

1.1 Familie der Orchidaceae (Knabenkrautgewächse)

1.1.1 Systematische Stellung im Pflanzenreich

Die Familie der Orchideen gehört zur Gruppe der einkeimblättrigen Pflanzen (Monokotyledonae) (Dressler, 1987) und ist mit ungefähr 782 Gattungen und 18300 bekannten Arten (Fischer et al., 2008) nach den Korbblütlern die zweitgrößte Angiospermenfamilie und die größte Familie unter den Monokotylen (Fischer, 2006, Atwood, 1986). Die Angaben zur Artenzahl der Orchideenfamilie unterscheiden sich sehr stark in den verschiedenen Literaturwerken; sie reichen von 12 000 bis über 35 000 Arten. Unter Berücksichtigung vieler Unklarheiten erscheint die Annahme plausibel, dass es etwa 20 000 bis 25 000 Orchideenarten gibt (Dressler, 1987, Atwood, 1986). Das von R. L. Dressler 1981 veröffentlichte Klassifikationssystem für Orchideen teilt die Familie in 6 Unterfamilien und 21 Stämme (Arditti, 1992).

Fossilfunden zufolge haben sich die ersten bedecktsamigen Blütenpflanzen in der Kreidezeit vor 130 bis 145 Millionen Jahren entwickelt (Nabors, 2007). Im Gegensatz dazu sind die ersten Vorläufer der Orchideen erst vor etwa 85 Millionen Jahren im heutigen Gebiet von Indonesien entstanden (Rysy, 1985). Da es sich bei Orchideen ausschließlich um krautige Pflanzen handelt, sind sie nur selten als Fossilien erhalten geblieben. Deshalb sind fossilisierte Orchideen kaum in Sedimentgesteinen zu finden und stellen auch dann nur eine eher fragwürdige Quelle zur Erforschung der Orchideenevolution dar, weil die Ähnlichkeit zwischen ihnen und rezenten Orchideenarten meist nur oberflächlich zu sein scheint (Arditti, 1992). Die Vorläufer der heutigen Orchideen wiesen ausschließlich eine terrestrische Lebensweise auf. Die Entwicklung zum epiphytischen Dasein fand vor ca. 65 Millionen Jahren statt (Silvera et al., 2009) und stellt eine Anpassung an periodisch trockenes Klima und schlechte Nährstoffverfügbarkeit dar (Gravandeel et al., 2004). Der erdgeschichtlich älteste fossile Orchideenfund ist ca. 15- 20 Millionen Jahre alt (Santiago et al., 2007). Alle heute lebenden Arten der Orchidaceae sind international geschützt, da sie unter die besonderen Schutzbestimmungen des Washingtoner Artenschutzübereinkommens fallen (CITES, 2012).

1.1.2 Verbreitung und Lebensweise

Nach ihrer Entstehung im tropischen Asien sind Orchideen heutzutage bis auf die Wüstengebiete und die Gebiete des ewigen Eises auf der ganzen Erde verbreitet (Rysy, 1985). Meist sind es humusliebende Stauden, die in den gemäßigten Breiten nur terrestrisch, d.h. im Boden wurzelnd (geophytisch) vorkommen (Fischer 2006). Die meisten Arten (ca. 90%) (Rysy, 1985) findet man jedoch in den humiden Tropen, wo sie als Epiphyten auf anderen Pflanzen oder Pilzen leben (Fischer, 2006). Orchideen bilden während ihrer Embryonalentwicklung kein Keimblatt aus, da hier die Samenkeimung in besonderer Weise abgeändert ist (Brieger et al., 1992). Das namensgebende Grundcharakter der monokotylen Pflanzen kann daher bei den Orchidaceen nicht festgestellt werden (Brieger et al., 1992). Wie 80% aller Landpflanzen (Bothe & Hildebrandt, 2003) leben Orchideen in Symbiose mit endotrophen Mykorrhiza-Pilzen (Fischer, 2006). Die Pilzhypen durchdringen zwar die Zellwände der Pflanzen, dringen aber nicht wie schädigende Pilze in den lebenden Bestandteil (das Cytoplasma) der Pflanzenzellen ein (Bothe & Hildebrandt, 2003). Orchideen sind auf diese Pilzsymbiosen angewiesen (Stützel, 2006). Die mikroskopisch kleinen Samen besitzen nur wenig oder kein Nährgewebe (Rysy, 1985). Sie würden bald nach der Keimung absterben, wenn sie nicht schon in einer frühen Phase von den Pilzhypen ernährt würden (Bothe & Hildebrandt, 2003). Die einfache Struktur der primitiven Samen und die obligatorische Pilzsymbiose sind charakteristisch für alle Vertreter aus der Familie und sind physiologisch eng miteinander verbunden (Brieger et al., 1992). Orchideen sind auch später noch stark von der Nährstoffversorgung durch die Pilzhypen abhängig (Stützel, 2006, Brieger et al., 1992). Eine optimale Nährstoffversorgung im Substrat ist für Orchideen unter Umständen negativ, denn sie unterdrückt die Ausbildung von Mykorrhiza. Da Orchideen ohne die Pilze nicht mehr leben können, sterben sie ab, wenn Magerwiesen gedüngt oder die Pflanzen an sehr nährstoffreichen Standorten eingepflanzt werden (Bothe & Hildebrandt, 2003).

1.1.3 Botanische Merkmale

Orchideen besitzen als einkeimblättrige Pflanzen parallelnervige Laubblätter (Rysy, 1985). Diese sind wechselständig angeordnet und in den meisten Fällen ungestielt, einfach und ganzrandig (Fischer et al., 2008). Die Infloreszenz ist meist als Ähre oder seltener als Traube ausgebildet. Die Blütenformel lautet: $\downarrow P_{3+3} (A_1 G_{(3)})$ (Fischer, 2006). Die zwittrigen Lilienblüten besitzen drei äußere und drei innere Perigonblätter (Fischer et al., 2008). Die 3 Tepalen des äußeren Kreises werden oft als Sepalen bezeichnet, weil sie sich meist stark von den 2 paarigen Tepalen des inneren Kreises (Petalen) unterscheiden (Fischer, 2006). Das mittlere Kronblatt ist zu einer Lippe (=Honiglippe, =Labellum) umgebildet, unterscheidet sich stark von den anderen, meist kleineren Blütenhüllblättern (Fischer et al., 2008) und ist nicht selten gespornt (Fischer, 2006). Alle Blüten sind daher zygomorph (Rysy, 1985). Während die „normale“ Monokotylenblüte eine radiäre Symmetrie und daher mehr als 2 Symmetrieebenen besitzt, vermag nur die Mediane einer jeden Orchideenblüte diese in 2 spiegelbildlich gleiche, links und rechts gelegene Hälften zu zerlegen (Brieger et al., 1992). Bei den meisten Orchideenarten drehen sich die Knospen zur Zeit der Anthese um 180° (Resupination), so dass sich die Lippe an der Unterseite der geöffneten Blüte befindet (Dressler, 1987). So eignet sich die Blüte besser als Landeplatz für Bestäuber (Fischer et al., 2008). Der unterständige Fruchtknoten ist durch diese Resupination meist seilartig verdreht (Fischer, 2006). Die Vertreter dieser Familie besitzen meist nur ein fruchtbares Staubblatt, das auf der Blüte immer der nach unten gedrehten Lippe gegenübersteht (Dressler, 1987). Staubblatt und Griffel bilden zusammen einen säulchenartigen Komplex, der als Gymnostemium bezeichnet wird (Fischer, 2006). Die Pollenkörner sind zu Pollinien zusammengeklebt (Rysy, 1985; Arditti, 1992; Brieger et al., 1992). Die Narbe entspricht zwei Narbenlappen, der 3. ist zum sogenannten Rostellum umgewandelt und dient den Pollinien als Haftorgan (Fischer et al., 2008). Die Frucht der Orchidaceae ist eine Kapsel (Fischer, 2006), die zahlreiche mikroskopisch kleine Samen enthält, die aus unentwickelten Embryonen ohne Nährgewebe bestehen (Rysy, 1985). Die Keimung kann daher nur mithilfe von symbiontischen Bodenpilzen erfolgen (Mykotropie) (Fischer et al., 2008).

1.1.4 Genus *Bulbophyllum*

Bulbophyllum ist mit ca. 1200 Arten die artenreichste Gattung der Familie und gehört auch zu einer der formenreichsten Subtriben, den Bulbophyllinae (Brieger et al., 1992). Ihr Verbreitungsschwerpunkt liegt in Südostasien einschließlich der Inselwelt von Malaysia und Indonesien sowie Papua-Neuguinea (Vermeulen, 1991). *Bulbophyllum* ist eine von wenigen Orchideengattungen, die pantropisch zu finden ist (McDonald & Lim, 2002). So kommen viele Arten auch in den Tropen Afrikas einschließlich Madagaskars, in Mittel- und Südamerika sowie in Australien und Neuseeland vor (Brieger et al., 1992). Die hohe Artenzahl und das riesige Verbreitungsgebiet ermöglichen eine außergewöhnliche Vielfalt von vegetativen und generativen Merkmalen (Sieder, 2001). Zahlreiche *Bulbophyllum*-Arten besiedeln in den tieferen Lagen die immergrünen Regenwaldgebiete, bevorzugt werden aber Nebelwälder in 1500 bis 2500 Metern Seehöhe (Brieger et al., 1992).

Der Name *Bulbophyllum* (von griechisch „bulbos“ = Knolle und „phyllon“ = Blatt) bezieht sich auf das Erscheinungsbild typischer Vertreter der Gattung (Sieder, 2001). *Bulbophyllum*-Arten bilden an einem kriechenden Rhizom Pseudobulben (Dressler, 1993), an deren Spitze sich 1-2, in seltenen Fällen 3, winzige bis größere Blätter befinden (Brieger et al., 1992). Das dorsale Sepalum ist frei und nicht mit den seitlichen verwachsen (Brieger et al., 1992). Die Lippe ist meistens zungenförmig (McDonald & Lim, 2002), häufig konvex, gerade oder gebogen, aber niemals rundlich oder länglich vertieft (Brieger et al., 1992). Sie ist fast ausnahmslos beweglich und fast immer als regelrechtes Schaukellabellum ausgebildet. Über ein Gelenk oder Bändchen ist sie mit dem stark verdickten Säulenfuß verbunden (McDonald & Lim, 2002). Die Säule ist meist kurz und dick und besitzt kein verlängertes, aufwärtsweisendes Rostellum. Die Antheren sind nicht hornartig verlängert. Die Infloreszenz ist niemals doldig oder trugdoldig. Sie kann ein- bis vielblütig, kurz- oder langgestielt sein. Das dorsale Sepalum weist keine durchsichtigen Flecken auf (Brieger et al., 1992). Die Blütengröße reicht von den 3mm großen Blüten der oft als kleinste Orchidee bezeichneten *B. minutissimum* F. Muell. aus Australien bis zu 30cm bei *B. echinolabium* J.J. Smith aus Sulawesi (Sieder, 2001). Der Habitus, die Infloreszenz und die Blütenstruktur sind ungewöhnlich vielfältig (Brieger et al., 1992).

1.1.5 *Bulbophyllum lobbii*

Bulbophyllum lobbii Lindl. ist nach neuerer Literatur in die Sektion *Sestochilus* (Breda) Benth. & Hook.f. einzuordnen (Hochschartner, 2006). Zur Sektion *Sestochilus* werden 45 (Seidenfaden et al., 1990) bis 65 (McDonald & Lim, 2002) verschiedene Arten mit einem Verbreitungsgebiet von Nepal über Hinterindien und die Sundainseln bis nach Neuguinea und die Philippinen bzw. bis nach China gezählt (Seidenfaden et al., 1990). Die meisten Arten sind große Epiphyten mit kriechendem Rhizom und deutlich ausgeprägten Pseudobulben (Comber, 1990). Die Sektion *Sestochilus* unterscheidet sich in einigen Punkten von anderen *Bulbophyllum*-Sektionen. Die Kronblätter sind eher groß, in den meisten Fällen mehr als halb so groß wie die Kelchblätter, statt klein (wie bei Sektion *Ephippium*) und glatt statt behaart (bei Sektion *Hirtula*). Außerdem werden bei *Sestochilus* deutliche Pseudobulben ausgebildet, im Gegensatz zu den unscheinbaren bei der Sektion *Aphanobulbon* (Seidenfaden et al., 1992). Die meisten Blüten dieser Sektion produzieren einen angenehmen Duft, andere haben einen fauligen Geruch. Die Duftstoffe locken potentielle Bestäuber, wobei es sich vorwiegend um Fliegen handelt, an (Comber, 1990). Interessanterweise nehmen männliche Fliegen beim Pollensammeln chemische Verbindungen aus dem Blütengewebe auf und wandeln sie in Pheromone um, die wiederum weibliche Fliegen zur Blüte locken (Cheiri: Nishida et al., 2004). Auch das Labellum spielt eine entscheidende Rolle bei der Anlockung von Bestäubern. Einige Autoren nehmen an, dass durch den Wind ausgelöste Bewegungen der Lippe den Flügelschlag von Fliegen imitieren und somit visuell anziehend auf potentielle Bestäuber wirken (Barth, 1985; Meve & Liede, 1994; Borba & Semir, 1998). Neben der optischen Anlockung ist die Beweglichkeit der Lippe auch für die Pollenverbreitung wichtig (Ridley, 1890). Gelandete Fliegen werden durch den Mechanismus gegen die Pollinienkammern gepresst, wodurch das klebrige Pollinarium an ihnen haften bleibt (Taxeira, 2004).

Bei *Bulbophyllum lobbii* sind die birnenförmigen Bulben nur wenige cm voneinander entfernt angeordnet (Brieger et al., 1992) und tragen jeweils nur ein Blatt (Comber, 1990). Die Laubblätter sind durchschnittlich 20 x 5 cm groß und weisen eine lange, stielartige Basis auf. Die Infloreszenz ist einblütig und die Laubblätter immer etwas überragend. Die Blüten haben ausgebreitet einen Durchmesser von durchschnittlich 7cm. Das dorsale Sepalum steht aufrecht, ist zugespitzt und im Mittel 5 x 1,2 cm

groß. Die lateralen Sepalen sind stark assymetrisch, etwa gleich lang, aber an der konkaven Basis viel breiter und insgesamt so zurückgerollt, dass die Spitzen abwärts weisen. Die Petalen sind 3,5 cm lang und schmal und zwischen den Sepalen hindurch nach rückwärts geschlagen und abwärts gekrümmt. Sepalen und Petalen weisen eine gelbliche Grundfärbung auf und sind rotbraun geadert. Das dorsale Sepalum ist meist auch gefleckt. Das zungenförmige Labellum sitzt dem sehr langen, fein rötlich punktierten Säulenfuß an (Brieger et. al, 1992). Sie besitzt an der Basis einen runden, erhöhten Kallus, der bei der Bestimmung der Pflanze von großem Nutzen sein kann (McDonald & Lim, 2002).

Bulbophyllum lobbii ist weit verbreitet und kommt in Indien, Burma, Thailand, Kambodscha, Malaysia, Borneo, Sumatra, Java, Bali, Flores und auf den Philippinen vor. Dort besiedelt sie sowohl die tieferen als auch die höheren Lagen bis zu einer Höhe von 2000 Metern (McDonald & Lim, 2002). Die Orchideen wachsen auf Baumstämmen und großen Ästen (McDonald & Lim, 2002) und bevorzugen schattige und feuchte Verhältnisse (Hochschartner, 2006). Die Blütezeit findet in der Regel jährlich zwischen dem späten Frühjahr und dem Frühsommer statt (Brieger et. al, 1992). Außerdem ist es möglich, dass die Pflanzen das ganze Jahr über Blüten tragen, wobei die Hauptblütezeit dann zwischen Jänner und April und zwischen Juni und August stattfindet (McDonald & Lim, 2002).

Bulbophyllum lobbii wurde 1827 entdeckt, als Breda einige javanesische Pflanzen von Kuhl & v. Hasslet beschrieb und sie als *Sestochilus uniflorum* illustriert (Hochschartner, 2006). Der Name *Bulbophyllum lobbii* erscheint erstmals 1847 im *Botanical Register*. John Lindley benannte die Pflanze nach ihrem Entdecker Thomas Lobb (1820 – 1894) (Lindley, 1847; McDonald & Lim, 2002). Dieser Name hat bis heute Bestand (Hochschartner, 2006).

1.2 Bewegungen im Pflanzenreich

1.2.1 Bewegungsphysiologie der Pflanzen

Die Fähigkeit zur Bewegung ist eine Grundfunktion des Lebens. Sie ist allen Tieren und Pflanzen gemein (Jacob, 1966). Pflanzen besitzen keine Nervenzellen, keine Sinnesorgane und keine Muskeln wie Tiere, haben aber analoge Reiz-Reaktions-Systeme entwickelt, um sich durch Bewegungen in ihrer Umwelt zu orientieren (Brennicke, Schopfer, 2010). Im Tierreich herrscht der aktive Ortswechsel, die Lokomotion, vor, während sich die freie Ortsbewegung pflanzlicher Organismen im Wesentlichen auf niedere Pflanzen beschränkt (Wejnar, 1982). Auch Mikroorganismen und bestimmte Zellstadien sind zur freien Fortbewegung befähigt. So sind zum Beispiel die Schwärmsporen vieler Algen und Pilze und die männlichen Gameten sogar noch bei den Pteridophyten und einigen Gymnospermen (*Ginkgo*) frei beweglich (Hart, 1990). Die Lageveränderung höherer Pflanzen entspricht demgegenüber meistens Bewegungen der Organe festgewachsener Individuen (Wejnar, 1982). Gesteuerte Bewegungen ihrer Organe ermöglichen es den Pflanzen die Anpassung an Umweltgegebenheiten (Brennicke, Schopfer, 2010). Laubblätter orientieren sich während des Tages zum Licht, Schlingpflanzen klettern an festen Oberflächen empor, Tulpenblüten öffnen und schließen sich in Abhängigkeit von der Temperatur, die Blättchen tropischer Mimosen klappen bei mechanischer Erschütterung zu, zahlreiche Blüten öffnen und schließen sich täglich jeweils zur gleichen Zeit und verhalten sich wie eine „Blumenuhr“, die Fiederblättchen der Robinie und vieler anderer Pflanzen sind tagsüber ausgebreitet, während sie nachts in „Schlafstellung“ übergehen und ihre Blättchen senken, viele Früchte besitzen Mechanismen, mit deren Hilfe sie ihre Samen wegschleudern. Bei vielen Pflanzen zählen die Bewegungsvorgänge zu ihren imponierendsten Lebensäußerungen (Wejnar, 1982).

Außer den Unterschieden im Bewegungsvermögen gibt es aber auch Unterschiede zwischen Pflanze und Tier in den zur Bewegung führenden Mitteln. Während die Bewegungen von tierischen Organismen und Organen fast ausschließlich auf der Kontraktilität von Eiweißmolekülen beruhen, gibt es bei den Pflanzen eine Vielzahl mechanischer Mittel, die eine Bewegung ermöglichen können (Jacob, 1966).

Die Bewegungsphysiologie der Pflanze ist sowohl hinsichtlich der Bewegungsmechanismen als auch hinsichtlich der Regulation von Bewegungen durch äußere Faktoren viel weniger einheitlich als die Bewegungsphysiologie der Tiere (Ruhland, 1959).

1.2.1.1 Bewegungstypen

Eine Einteilung der pflanzlichen Bewegungen kann auf unterschiedliche Weise erfolgen. Teilt man Bewegungen nach dem äußeren Verlauf ein, werden die freien Ortsbewegungen als eine besondere Gruppe behandelt. Dazu gehören neben den Schwimmbewegungen von Einzellern auch die Bewegungen von Inhaltskörpern der Zelle (=Kern- oder Plastidenbewegung). Werden solche freien Ortsbewegungen von äußeren Reizen beeinflusst, so spricht man von Taxien. Hier unterscheidet man zwischen phobischen Reaktionen, wenn die Bewegungsänderung nicht in Richtung der Reizwirkung erfolgt, sondern in der Organisation der Zellen und Zelleinschlüsse begründet ist, und topische Reaktionen, die zur Reizquelle hin (positive taktische Bewegung) oder von ihr fort (negative taktische Bewegung) verlaufen (Ruhland, 1959).

Induzierte (= aitionome) Bewegungen lebender Organe werden durch äußere Reize ausgelöst (Steubing & Schwantes, 1981). Krümmungsbewegungen festsitzender Pflanzenteile, die durch einen einseitigen Reiz ausgelöst und in ihrer Richtung bestimmt werden, nennt man Tropismen. Ein Organ bewegt sich entweder zum Reiz hin (positiver Tropismus) (Liscum, 2002) oder vom Reiz weg (negativer Tropismus) (Blancaflor & Masson, 2003). Die tropistischen Bewegungen sind den topotaktischen Reaktionen analog (Ruhland, 1959). Je nach Art des auslösenden Reizes unterscheidet man zwischen Phototropismus (Lichtreiz), Geotropismus (Reiz ausgehend von der Erdbeschleunigung), Thigmotropismus (Berührungsreiz), Chemotropismus (chemischer Reiz) usw. (Steubing & Schwantes, 1981). Nastische Bewegungen (Nastien) sind Reaktionen auf einen Reiz, wobei die Bewegungsrichtung nicht vom Reiz, sondern durch den Bau des Organs bestimmt wird (Findlay, 1984 b). Somit sind sie den phototaktischen Bewegungen analog (Ruhland, 1959). Sie lassen sich ebenfalls nach der Art des auslösenden Reizes einteilen: Thermonastie (Reizung durch Temperaturänderungen), Photonastie

(Reizung durch Schwankungen der Lichtintensität), Thigmonastie (Berührungsreiz), Chemonastie (chemischer Reiz) und Seismonastien (Erschütterungsreiz), bei Schließzellen auch Hygronastien. Nastien vollziehen sich meist relativ schnell und können reversibel sein (Steubing & Schwantes, 1981).

Die Einteilung der Reizbewegungen in Tropismen und Nastien wird oft als Erklärungsprinzip bevorzugt, ist aber sehr unphysiologisch, da es meist von anatomisch-morphologischen Bedingungen abhängt, ob ein Organ tropistisch oder nastisch reagiert. Vorteilhafter erscheint eine Einteilung nach den die Bewegung regulierenden inneren oder äußeren Reizen, weil dabei die physiologischen Hintergründe mitberücksichtigt werden (Ruhland, 1959). Den induzierten Bewegungen stehen dann die autonomen (=endogenen) Bewegungen gegenüber. Diese werden durch innere, im Organismus liegende Reize ausgelöst (Steubing & Schwantes, 1981). Der endogene Steuermechanismus wird auch als die biologische Uhr des Organismus bezeichnet (Raven et al., 2006). Zu ihrer Auslösung und Orientierung muss kein spezifischer Außenfaktor einwirken, außer jenen, die für das einfache Wachstum und für die normalen Lebensleistungen nötig sind (Haupt, 1977). Endogene Rhythmen beschreiben biologische Prozesse, die periodisch alternierend ablaufen, obwohl externe Bedingungen gleichzeitig konstant bleiben (Bünning, 1956). Viele Stoffwechselvorgänge in Pflanzen verlaufen in wechselnden Phasen hoher und tiefer Aktivität. Transpiration, Atmung oder die Synthese bestimmter Enzyme unterliegen einem Tagesrhythmus, der auch dann beibehalten wird, wenn sämtliche Umweltbedingungen konstant gehalten werden. Läuft die Periodik mit einer Frequenz von ungefähr 24 Stunden ab, so wird sie als circadiane Rhythmik bezeichnet. Die endogenen Perioden schwanken zwischen 21 und 27 Stunden. Licht, bzw. der Tag/Nacht- Wechsel wirkt als Taktgeber und stellt solche biologischen Uhren durch negative Rückkoppelung auf genau 24 Stunden ein. Beteiligt sind dabei Rot- und Blaulicht. Da der Rotlichteffekt durch dunkelrotes Licht reversibel ist, geht man davon aus, dass Phytochrom beteiligt ist (Bünning, 1946, Stöcklin, 2007, Brennicke & Schopfer, 2010). Phytochrom steuert auch die circadiane Rhythmik der Expression von Genen, welche für Proteine des Photosystems II codieren, das für die Photosynthese benötigt wird (Anderson & Kay 1995).

Wie man die Bewegungen der Pflanzen einteilt, kann willkürlich gewählt werden und sollte rein nach Gründen der Zweckmäßigkeit erfolgen (Ruhland, 1959). Für die unten folgenden Fragestellungen erscheint eine Einteilung nach der Bewegungsmechanik am sinnvollsten.

1.2.1.2 Bewegungsmechanik

Im Tierreich erfolgen Bewegungen immer mit Hilfe von Muskeln und deren Vorstufen. Dabei spielen Eiweißproteine vom Myosintyp eine entscheidende Rolle. Ein vollentwickeltes Nervensystem ermöglicht die Weiterleitung eines von spezifischen Rezeptoren aufgenommenen Reizes, der über Nervenregung schließlich die Muskelkontraktion beeinflusst. Bei den Pflanzen gibt es kein vorherrschendes Prinzip, nachdem alle Bewegungen erfolgen. Die Kontraktilität von Eiweißen spielt zwar auch bei Pflanzenzellen, z.B. in Geißeln, aber auch bei der Teilungsspindel und bei der Plasmaströmung eine Rolle. Sie gehört zu den elementaren physiologischen Phänomenen, die jeder lebenden Zelle zukommen und von den höher entwickelten Organismen weiterentwickelt wurden. Ebenso weit verbreitet sind aber Bewegungen durch Turgoränderungen, Bewegungen durch Wachstumsverschiedenheiten, durch Kohäsionskräfte, Quellungsvorgänge, Geißeln, Schleimabsonderung oder durch Plasmaströmung usw. (Ruhland, 1959).

Die freie Ortsbewegung durch begeißelte Strukturen oder Absonderung von Schleim bleibt im Wesentlichen auf die niederen Pflanzen beschränkt. Wie bereits erwähnt tritt sie allerdings auch bei der Plasma- und der Organellenbewegung im Zellinneren auf. Sie wird meist autonom gesteuert, kann jedoch durch Außenfaktoren in ihrer Geschwindigkeit modifiziert werden (Biskup, 2011).

Durch Quellung hervorgerufene Bewegungen werden als hygroskopische Bewegungen bezeichnet. Diese dienen vor allem der Sporen-, Pollen-, Samen- und Fruchtausbreitung und laufen meist in den Zellwänden toter Zellen ab. Die Bewegung ist rein physikalisch bedingt und reversibel. Unterschiedlicher Gehalt an Pectin und Cellulose bewirken ein unterschiedliches Quellverhalten der fibrillären Schichten bei Wassereinstrom beziehungsweise bei Entquellung. Tote Zellen dehnen sich bei Quellung fast nur senkrecht zur Richtung der Mikrofibrillen. Liegen

Gewebeschichten mit unterschiedlichem Mikrofibrillenverlauf und unterschiedlicher Zellwandzusammensetzung übereinander Quertextur der Cellulosefibrillen in der Zellwand), so kommt es bei sich veränderndem Feuchtegehalt der Gewebe zu Krümmungen oder Torsionen (Biskup, 2011, Sitte et al., 2002).

Kohäsionsbewegungen beruhen auf den sehr starken Kohäsionskräften von Wassermolekülen selbst in dünnen Wasserschichten (Sitte et al., 2002). Die Bewegung wird durch Zellschrumpfung infolge von Verdunstung von Innenwasser verursacht (Biskup, 2011). Da sich das Füllwasser wegen der sehr hohen Kohäsions- und Adhäsionskräfte weder von den Wänden lösen noch selbst zerreißen kann, muss es dabei zu einer Schrumpfung der ganzen Zelle kommen (Brauner & Rau, 1966, Renner, 1915).

Explosionsbewegungen dienen vorwiegend der Pollen- Samen- und Sporenausbreitung. Der Vorgang ist irreversibel. Turgeszenz. Zellen und dabei entstehende Gewebespannung stellen den zugrundeliegenden Mechanismus der Bewegung dar. Der bekannte Schleudermechanismus der Früchte von *Impatiens* entspricht einer irreversiblen Turgorbewegung (Biskup, 2011).

Organbewegungen höherer Pflanzen können durch zwei unterschiedliche Mechanismen hervorgerufen werden. Turgorbewegungen beruhen auf reversiblen osmotischen Veränderungen des Volumens bestimmter Zellen oder der Zellen einer bestimmten Region (Hill & Findley, 1981, Findley, 1984). Wachstumsbewegungen resultieren aus differentielltem Wachstum innerhalb eines Organs oder zwischen Organen (Hart, 1990). Tropismen vollziehen sich meist relativ langsam und kommen meist durch verschieden starkes Wachstum gegenüberliegender Flanken eines Organs zustande. Turgoränderungen sind nur sehr selten ursächlich daran beteiligt. Nastien beruhen hingegen häufig auf reversiblen Turgoränderungen, manchmal sind aber auch Wachstumsbewegungen daran beteiligt. Autonome Bewegungen können entweder durch Wachstums- oder Turgorbewegungen bewirkt werden (Sitte et al., 2002). Turgor –und Wachstumsbewegungen können endogen oder exogen gesteuert werden (Hart, 1990).

1.2.2 Mechanismen bekannter Pflanzenbewegungen

Die in feuchter Luft geschlossenen Schuppen der Kiefernzapfen (*Pinus*) führen Entquellungsbewegungen aus, indem sie sich bei Trockenheit öffnen (Hygrochasie). Die Zellwände an der Außenseite der Schuppen trocknen bei niedriger Luftfeuchte ein, und schrumpfen und die Schuppe krümmt sich nach außen, sodass der Samen herausfallen kann (Bartels, 1958, Brauner & Rau, 1966, Sitte et al., 2002). Die Hülsen vieler Fabaceen öffnen sich hingegen durch xerochasische Reaktionen. Die Quellungsbewegung wird hier durch Feuchtigkeit hervorgerufen (Biskup, 2011). Die Öffnungs- und Schließbewegungen der Strohblumen (*Helichrysum bracteatum*) stellen ebenfalls Quellungsbewegungen dar (Brauner & Rau, 1966).

Die Einzelzellen des das Farnsporangium umfassenden Rings bei *Dryopteris goldiana* besitzen verdickte Zwischen- und Innenzellwände, während die Außenwände unverdickt sind. Bei Austrocknung werden die äußeren Zellen durch Kohäsionszug des Wassers zusammengezogen und die Sporenkapsel reißt auf (Brauner & Rau, 1966, Ursprung, 1915).

Die Bewegung der Stomataschließzellen zählt zu den bekanntesten Bewegungsphänomenen im Pflanzenreich und ist für den Gasaustausch der meisten Landpflanzen von großer Bedeutung. Über das Öffnen und Schließen der Stomata können Transpiration, CO₂- Aufnahme und Photosyntheserhythmus reguliert werden (Blatt, 2000). Die Stomatabewegung wird sowohl durch innere als auch durch äußere Faktoren reguliert. Das Öffnen der Schließzellen wird durch eine niedrige CO₂-Konzentration (chemonastisch) und durch photosynthetisch aktives Licht (photonastisch) stimuliert, während das Schließen der Stomata durch Dunkelheit, niedrige Luftfeuchtigkeit (hygronastisch) und hohe Temperaturen (thermonastisch) hervorgerufen wird (Lawson et al, 2002). Die thermonastische Reaktion erscheint ökologisch zweckmäßig, da mit steigender Temperatur der Wasserverlust durch Transpiration stark zunimmt (Sitte et al, 2002). Die Öffnungsweite der Spaltöffnungen wird jedoch auch durch die Phytohormone Auxin (Blatt & Thiel, 1994) und Abszissinsäure (Blatt et al., 1997) gesteuert. Die Bewegung unterliegt außerdem einer circadianen Rhythmik, die zu einer von der Tageszeit abhängigen verschiedenen starken Bereitschaft führt, auf exogen induzierende Faktoren zu reagieren. Der

Zeitgeber für diese Rhythmik ist der Tag-Nachtwechsel (Stålfelt, 1963). Der Mechanismus der Bewegung ist auf eine Differenz des Turgors in den Schließzellen und den angrenzenden Epidermiszellen zurückzuführen (von Mohl, 1856). Die Veränderungen des Turgors kommen meist durch Veränderungen des osmotischen Potentials und daran gekoppelte Wasserverluste zustande und sind somit mit Volumenänderungen verbunden. Steigt der osmotische Wert in den Schließzellen relativ zur Umgebung (das heißt das osmotische Potential wird negativer), strömt Wasser in die Schließzelle ein und bewirkt durch Anstieg des Turgors und der folgenden Volumenvergrößerung eine Öffnung der Schließzelle. Nimmt der osmotische Wert relativ zur Umgebung ab, strömt Wasser aus und der Turgor sinkt. Die Volumenabnahme führt dabei zum Verschluss der Schließzellen (Ketellapper, 1963).

Die Schlafbewegungen der Laubblätter einiger Pflanzenarten entsprechen einer autonomen Turgorbewegung. Bei Tageslicht stehen die Blätter oder Fiederblättchen horizontal, während sie nachts zusammenklappen und Schlafstellung einnehmen. Diese Bewegung wird als Nyktinastie bezeichnet und unterliegt einer circadianen Rhythmik, die durch die biologische Uhr der Pflanze gesteuert wird (Ueda & Yamamura, 2000). Sie tritt häufig bei Vertretern aus der Unterfamilie der Schmetterlingsblütler (Faboideae) aus der Familie der Fabaceae (Hülsenfrüchtler) auf (Ueda & Nakamura, 2006). Bei *Mimosa* und *Phaseolus* ist die Bewegung auf rhythmische Turgoränderungen in spezialisierten Motorzellen (Pulvini) an der Blattstielbasis (*Mimosa*) beziehungsweise am Übergang zwischen Blattspreite und Blattstiel (*Phaseolus*) zurückzuführen (Pfeffer, 1909; Pfeffer 1917, Umrath, 1931, Satter & Galston, 1981, Engelmann, 2003, Brennicke & Schopfer, 2010). Diese osmotischen Veränderungen werden durch die Bewegung von K^+ , Cl^- und einigen anderen Ionen in die oder aus den Motorzellen und den darauffolgenden Wasserein- oder -ausstrom reguliert (Allen, 1969, Satter, 1979).

Die seimonastische Blattbewegung bei *Mimosa pudica* unterscheidet sich von der regelmäßigen nyktinastischen Reaktion (Weintraub, 1950). Sie reagiert auf Änderungen der Lichtintensität, auf schnelle Erwärmung und auf schnelle Abkühlung und kann ebenso durch Verletzungen und Hitzestress ausgelöst werden. Die Erschütterung durch umherstreifende Tiere tritt in der Natur jedoch am häufigsten auf

(Roblin, 1979). Nach Berührung klappen zunächst die Fiederchen paarweise zusammen, dann senken sich die einzelnen Fiedern und schließlich klappt der Blattstiel nach unten. Bei starker Reizung kann die Reaktion auf weitere Teile der Pflanze, die nicht direkt gereizt wurden, fortschreiten (Hesse et al, 1957).

Die Orientierung vieler Sprossachsen und Blätter zum Licht entspricht einer positiven phototropen Reaktion. Sie ermöglicht der Pflanze die optimale Ausnutzung des Sonnenlichts zur Erhöhung der Photosyntheserate. Die Haftwurzeln von *Hedera helix* wenden sich hingegen vom Licht ab (negativer Phototropismus) (C. Darwin & F. Darwin, 1880, Negbi et al., 2012). Positiver Phototropismus kommt häufig im Bereich der Sprossachsen vor, negativer in der Wurzelspitze (Esmon et al., 2005). In beiden Fällen gelten Wachstumsdifferenzen in den gegenüberliegenden Organflanken als Ursache, die eine Krümmung der Organe hervorrufen (Hager & Schmidt, 1968).

Gravitrope Pflanzen sind in der Lage, ihre Organe durch Wachstumskrümmung in eine bestimmte Richtung zur Erdbeschleunigung zu bringen (Molas & Kiss, 2009). Das nach oben gerichtete Wachstum von Sprossspitzen entspricht einer negativen gravitropen Reaktion, die eine bessere Positionierung der Blätter zur Sonne und für deren Gasaustausch gewährleistet (Chen et al., 1999). Der Gravitropismus ermöglicht es z. B. Pflanzen an einem Hang, eine aufrechte Haltung einzunehmen (Wild & Schmitt, 2012). Das abwärts gerichtete Wachstum der Wurzelspitzen stellt eine positive gravitrope Bewegung dar (Chen et al., 1999).

Bei den Pendelbewegungen (Nutationen) von Keimpflanzen und jungen Spross- und Infloreszenzachsen handelt es sich um Wachstumsbewegungen. Sie gehen auf zeitlich ungleiches Wachstum verschiedener Organflanken zurück (Darwin, 1915, Gradmann, 1927, Heathcote & Idol, 1965, Sitte et al., 2002). Die Bewegung entspricht meist einer autonomen Bewegung, die durch einen endogenen Oszillator gesteuert wird (Darwin, 1915, Heathcote & Aston, 1970). Als Beispiel dienen hier die Bewegungen von *Phaseolus multiflorus*, *Helianthus annuus*, und *Arabidopsis thaliana* (Stolarz, 2009). Manchmal wird die Nutationsbewegung aber auch exogen gesteuert, wie es zum Beispiel bei den Ranken der Zaunrube der Fall ist. Hier findet die Bewegung als Reaktion auf einen Berührungsreiz statt (Thigmonastie).

Die Blätter der insektivoren Gattung *Drosera* besitzen dorsiventral gebaute Randtentakel, die sich bei Reizung durch das Beutetier chemonastisch zur Blattmitte krümmen. Der chemische Reiz ist dabei stärker als die Berührungsreize (Thigmonastien). Die Mitteltentakel sind radiär gebaut und zeigen Chemotropismus. In allen Fällen sind Wachstumsverschiedenheiten an den Krümmungen beteiligt (Sitte et al., 2002).

1.3 Blütenbewegungen

1.3.1 Einteilung der Bewegungstypen

Bei den Öffnungs- und Schließbewegungen von Blüten können verschiedene Typen unterschieden werden: nächtliche und tagsüber auftretende Bewegungen, sowie einmalige von sich (periodisch) wiederholenden Bewegungen. Der Zeitpunkt der Blütenöffnung kennzeichnet den Beginn einer Periode, in der Bestäuber von der Blüte angelockt werden, um den eigenen Pollen auszubreiten und auf andere Blüten zu übertragen und um mitgeführten Pollen auf der eigenen Blüte zu platzieren, die Blüte somit zu bestäuben und die Fruchtentwicklung zu ermöglichen. Bei vielen Arten sind die Blüten permanent geöffnet, wobei die Öffnungsperiode durch eine Schließbewegung oder durch das Verwelken oder Abfallen der Kronblätter abgeschlossen wird. Bei anderen Arten wechseln sich Perioden der Öffnung und Perioden der Schließung alternierend ab (van Doorn & van Meeteren, 2003).

Die Gruppe der Angiospermae verfügt über eine Vielzahl von Fortpflanzungsstrukturen. Deshalb ist es nicht überraschend, dass auch die Mechanismen der Blütenöffnung stark variieren. Für die Grundlagen der Bewegungsmechanik von Blüten müssen daher 2 Kategorien unterschieden werden (Reid & Evans, 1986):

1. Die Öffnung der Blüte bezieht sich auf die Entwicklung eines an die Blüte angrenzenden Gewebes. So ist zum Beispiel bei einigen Arten aus der Familie der Iridaceae das Wachstum des Blütestiels für eine Öffnung erforderlich. Oft müssen auch erst bedeckende Teile wie Tragblätter oder Kelchblätter abgesondert oder abgetrennt werden. In manchen Blüten, zum Beispiel in jenen von *Oenothera* ssp.,

sind die Kelchblätter durch eine kräftig entwickelte Zellennaht zu einer festen Hülle verbunden (Sigmond, 1930a). Nach Sonnenuntergang verursachen tiefe Temperaturen und veränderte Luftfeuchtigkeit eine Abnahme der Transpiration. Die fortdauernde Wasserzufuhr aus dem Boden erhöht den Turgor in den Blütenorganen, bewirkt ein Anschwellen der Knospe – vor allem der Kronblätter – und führt schließlich zur Öffnung der Blütenhülle (Sigmond, 1930b). Bei einigen anderen Arten werden die Kelchblattränder von einem Wulst so stark zusammengehalten, so dass eine Öffnung verhindert wird. Erst wenn die Kronblätter stark genug entwickelt sind, um den Widerstand zu bewältigen, öffnet sich die Blüte (van Doorn & van Meeteren, 2003).

2. Die Blütenöffnung ist abhängig von Bewegungen der Kronblätter. Hier können mindestens vier Typen unterschieden werden:

- a) Die Öffnung beruht auf einer reversiblen Ionenakkumulation und ist unabhängig von Längenwachstum.
- b) Das Absterben von Zellen in einem bestimmten Kronblattabschnitt bewirkt die Öffnung.
- c) Die Bewegung beruht auf einem Wasserverlust während des Tages und einer Wasseraufnahme in der Nacht.
- d) Differentielles Wachstum führt zu einer Öffnung (van Doorn, van Meeteren, 2003).

Die beiden oben angeführten Kategorien von Blütenöffnungen schließen sich nicht gegenseitig aus. Das Abwerfen schützender Hüllblätter oder das Wachstum des Blütenstiels treten zum Beispiel oft in Kombination mit differentielltem Wachstum der Kronblätter auf (Reid & Evans, 1986).

Schließbewegungen können auf uneinheitlichem Wachstum oder auf reversiblen Turgoränderungen beruhen, aber sie finden auch durch Turgorverlust beruhend auf Seneszenz statt. Im letzteren Fall ist die Schließung permanent. Die Kronblätter fallen nach der Seneszenz üblicher Weise ab, aber die Zeitspanne zwischen Seneszenz und Abwerfen der Kronblätter variiert deutlich bei den verschiedenen Pflanzenarten (v. Doorn, 1997). Bei einigen Arten schließen sich die Blüten niemals. Die Kronblätter werden abgeworfen, wenn die Blüte noch immer geöffnet ist (van Doorn & van Meeteren, 2003).

1.3.2 Bewegungsmechanik bei Blüten

Die Bewegungen, die Laub- und Blütenblätter ausführen, lassen sich trennen in solche, welche durch ungleich beschleunigtes oder verzögertes Wachstum antagonistischer Zellkomplexe zustande kommen, und in solche, welchen kein Wachstum zu Grunde liegt, sondern nur eine vorübergehende abwechselnde Verlängerung und Verkürzung bestimmter Gewebekomplexe (Kraus, 1879). In beiden Fällen wird angenommen, dass physiologische Unterschiede zwischen Blattober- und Blattunterseite die Bewegung ermöglichen (Mückschitz, 1950). Bewegungen, die auf Wachstumsvorgänge zurückzuführen sind, führen im Zusammenhang mit der gesteigerten Expansionskraft der Zellen zu einer dauernden Volumszunahme. Auch durch Turgorveränderungen ermöglichte Bewegungen bewirken eine Zunahme der Expansionskraft, aber die Steigerung des Druckes auf die Zellwand ruft hier keine bleibende Vergrößerung der Zellen hervor (Kraus, 1879). Beruht die Bewegung auf Wachstumsphänomenen, so spricht man von Nutationsbewegungen (Pfeffer, 1875). Diese können entweder durch äußere Reize (Licht, Temperatur usw.) induziert werden oder als autonome Nutationsbewegung ohne äußeren Anstoß auftreten (Ruhland, 1959). Beschreibt das Organ kreisende Bewegungen, spricht man von Circumnutationen. Sie treten außer bei Keimpflanzen vor allem bei Winde- und Rankenkletterern auf und erleichtern das Auffinden einer geeigneten Stütze. (Darwin, 1915, Gradmann, 1927). Für die Bewegungen ohne Wachstum führt Pfeffer (1875) den Ausdruck Variationsbewegung ein. Das mechanische Mittel für reversible und regelbare Turgorbewegungen ist die Turgeszenz der Zellen.

Die Krümmung der Blütenblätter kommt durch eine Verlängerung der einen Seite und/ oder durch eine Verkürzung der anderen Seite zustande. Eine Verbiegung des Organs tritt auch auf, wenn die Längenveränderungen auf den beiden gegenüberliegenden Seiten zwar in die gleiche Richtung, aber unterschiedlich stark erfolgen. Die Veränderung der Seitenlängen bei vielzelligen Organen beruht auf Volum- oder Formveränderungen der Zelle. Volumenänderungen pflanzlicher Zellen kommen fast ausschließlich durch die Aufnahme oder Abgabe von Wasser zustande (Haupt, 1977).

1.3.2.1 Wachstum der Zellwand

Den Veränderungen der Zellwand während des Blütenwachstums und der Blütenöffnung ist lange Zeit wenig Beachtung geschenkt worden (Winkenbach, 1971; Wiemken-Gehrig et al., 1974; de Vetten & Huber, 1990; O'Donoghue et al., 2002a, b). Die Zellwand von wachsenden Zellen ist sehr dünn (0,1-1 μm) und besteht hauptsächlich aus Polysacchariden und wenigen Strukturproteinen (Cosgrove, 2005). Junge Zellen nehmen Wasser auf und vergrößern dadurch ihr Volumen. Die streng regulierte vollständige Reorientierung aller Komponenten erlaubt der Zellwand, sich nach allen Richtungen auszudehnen, bis die ausgewachsene Zelle ihre Form und ihre Größe beibehält (Carpita & Gibeaut, 2008). Durch Einlagerung von Wand-Bausteinen wird die Zellwand dabei plastisch gedehnt (Haupt, 1977). Neue Polymere werden in die Zellwand integriert und verhindern dadurch, dass diese dünner wird und reißt (Cosgrove, 2005). Wachsende Kronblätter von Nelken weisen hohe Cellulase- und Pektin-Esterase-Aktivitäten auf (Panavas et al., 1998). Expansine sind pH-abhängige Proteine, die unter sauren Bedingungen die Zellwand dehnbarer machen, indem sie das Gerüst aus Cellulose-Mikrofibrillen auflockern (Rayle & Cleland, 1992). Die Expression von Expansinen wurde zum Beispiel in den Blüten der Tomatenpflanze nachgewiesen (Brummel et al., 1999). Nach Wasserentzug kann sich die Zellwand nun nicht mehr auf ihre ursprüngliche Dimension verkleinern. Dieser Vorgang wird als Wachstum bezeichnet und ist irreversibel. Ausgewachsene Zellen verhalten sich anders. Die Zellwand wird durch den Turgordruck elastisch gedehnt. Bei Wasserentzug kann die Zellwand wieder ihren Ausgangszustand einnehmen und das Volumen der Zelle verkleinert sich entsprechend. Wasseraufnahme führt hier zu reversibler Volumenvergrößerung. Der Vorgang ist auch in der Natur beliebig oft wiederholbar. Es handelt sich dabei sowohl um Volumenvergrößerungen als auch um Volumenverkleinerungen (van Doorn & van Meeteren, 2003).

1.3.2.2 Wasserumlagerungen

Das Zellwachstum reagiert meist sehr sensibel auf eine Abnahme des Wasserpotentials im Gewebe. Die Öffnung von geschnittenen Rosenblüten wird oft durch eine Blockade am basalen Ende des Blütenstiels verhindert. Dadurch wird das

Wasserpotential in den Blüten verkleinert (van Doorn, 1997 a). In den Blüten der Baumwolle und in Chrysanthemen hingegen entfalten sich die Blüten normal, auch wenn die Laubblätter bereits verwelkt sind. Die Kronblätter der Blüten wachsen weiter, während das Wachstum der jungen Laubblätter aufhört. Offensichtlich wird dabei Wasser aus anderen Teilen der Pflanze in die Kronblätter umgelagert (Trolinder et al., 1993). Die Unabhängigkeit vieler Blüten von der Wasserverfügbarkeit stellt vermutlich eine Anpassung an eine Umwelt dar, in der regelmäßig Dürre eintritt. Sobald die Blüten entwickelt sind, gewinnt der Schutz des Reproduktionsapparates an Bedeutung gegenüber der Aufrechterhaltung vegetativer Strukturen.

Auch reversible und regelbare Turgorbewegungen unterliegen der Wasserpotentialgleichung (osmotische Zustandsgleichung). Sinkender Turgor im Bewegungsgewebe durch Wasserabgabe beziehungsweise die damit verbundene Abnahme des Zellvolumens bilden die Ursache für Variationsbewegungen. Die plötzliche Wasserabgabe kann in einer schnell erhöhten Permeabilität des Plasmalemmas begründet sein. Dabei tritt Zellsaft mit gelösten Ionen (Cl^- , K^+) in die Interzellularen aus, was zu einer Turgorerhöhung der Nachbargewebe führen kann. Auch hier gilt wie beim Wachstum, dass unsymmetrische Wanddehnung zur Krümmung der Zelle, ungleiche Volumensänderung der Zellen eines Organs zur Organkrümmung führt. Eine Volumensvergrößerung nichtwachsender Zellen führt stets zu einer Erhöhung des Turgors. Der Druck des Zellinhaltes auf die Zellwand und auf die umgebenden Zellen ist dem Betrag nach gleich dem entgegengerichteten Druck der Zellwand und des Gewebes auf den Zellinhalt (Wanddruck und Gewebedruck oder Außendruck). Mit zunehmender elastischer Spannung der Wand ist diese zunehmend bestrebt, ihre Oberfläche zu verkleinern. Dies ist ohne Volumensverkleinerung möglich, wenn die Zelle die Kugelform anstrebt. Langgestreckte Zellen haben deshalb bei Wasseraufnahme die Tendenz, sich zu verkürzen und entsprechend zu verbreitern. Geringe Volumensänderungen können bereits zu erheblicher Größenänderung in einer Dimension führen. Wandspannung und Turgor spielen hier also eine entscheidende Rolle als Bewegungsursache (Haupt, 1977).

1.3.3 Blütenbewegung bei *Bulbophyllum lobbii*

Kogler hat in seiner Diplomarbeit (2010) die Blütenbewegung von *Bulbophyllum lobbii* als eine autonome circadiane Rhythmik klassifiziert. Seine Lichtversuche zeigen, dass die Öffnungs- und Schließbewegungen immer einem Rhythmus von annähernd 24 Stunden gehorchen. Eine wichtige Eigenschaft circadianer Rhythmen ist das „Zeitgedächtnis“ (Bünning, 1977). Lichtversuche zeigen eindeutig eine starke Wechselwirkung der Blütenbewegung mit Licht. Einerseits dient Licht als exogener Zeitgeber für die autonome circadiane Rhythmik, andererseits hat es einen starken Einfluss auf die Intensität der Bewegung in Form eines Stressfaktors. Der Einfluss von Licht als Zeitgeber ist vor allem dadurch erkennbar, dass alle in den Lichtversuchen parallel untersuchten Pflanzen genau gleich auf die veränderte Umwelt reagieren. Dauerlicht und Dauerdunkel wirken auf die Pflanze als Stressfaktor. Die Periodenlängen der Blütenbewegung verkürzen sich nach dem Lichtwechsel und die Intensität ist gedämpft. Aber auch unter veränderten Lichtbedingungen (72 h Dauerlicht und 72 h Dauerdunkel) läuft die Rhythmik beinahe unverändert weiter. Da sich die Blüte während der jeweils 72 h andauernden Phasen im Dauerlicht und im Dauerdunkel mit annähernd der gleichen Periodizität schließt und öffnet, ist die Bewegung nicht rein lichtabhängig. Die Rhythmik ist auch durch weitere abiotische Faktoren beeinflussbar. So wirken hohe Temperaturen in diesem Fall als abiotischer Stress. Die Rhythmik der Bewegung bleibt konstant, die Intensität der Schwingung nimmt aber stark ab (Kogler, 2010).

Am unteren Stielende abgeschnittene Blüten von *Bulbophyllum lobbii* öffnen und schließen sich trotz der Abtrennung von der Pflanze. Kogler (2010) zeigt in einem Experiment, dass sowohl die Rhythmik als auch die Intensität der Schwingung unverändert bleiben. Somit steuert die Blüte selbst und nicht andere Teile der Pflanze die Bewegung. Da mit Ausnahme des Blattstiels sämtliche grüne Pflanzenteile fehlen, kann man davon ausgehen, dass die Energie für die Blütenbewegung von der Blüte bereitgestellt wird (Kogler, 2010). Van Doorn (1997) und Trolinder (1993) führten ähnliche Experimente mit abgeschnittenen Rosenblüten beziehungsweise mit Baumwolle durch. Eine mögliche Erklärung für den Fortbestand der Blütenbewegung nach dem Abtrennen wäre ein Zusammenhang der Bewegung mit dem Phytochromsystem (van Doorn & van Meeteren, 2003).

1.4 Fragestellungen

1.4.1 potentielle Wachstumsbewegungen

Untersuchung der Orchideenblüte:

- Weist die Blüte zwischen dem Zeitpunkt ihrer vollständigen Entfaltung und dem Ende ihrer Lebenszeit ein deutliches Wachstum auf?
- Welche Blütenteile tragen gegebenenfalls zum Wachstum der Blütenhülle in der Zeit bei?
- Weisen die Blütenstiele zwischen dem Zeitpunkt der ersten Blütenöffnung und dem Ende der Lebenszeit der Blüte Wachstum auf?
- Wird das Wachstum der Blüte und der einzelnen Blütenblätter mit der Zeit abgeschwächt oder eingestellt?

Bestimmung der Zelllänge:

- Führen die Zellen der Epidermisschichten des dorsalen Sepalums echtes Streckungswachstum pro Zeiteinheit durch?
- Wie verhalten sich die gegenüberliegenden Blütenblattflanken dabei zueinander?
- Treten in den gegenüberliegenden Epidermisschichten tagesperiodische Schwankungen der Wachstumsverhältnisse auf?
- Wie findet die Verteilung des Wachstums in den Epidermisschichten des dorsalen Sepalums statt?

Reaktion auf Auxin:

- Wie reagiert die Blüte auf die Behandlung mit Wachstumshormonen?
- Wird durch eine Aufnahme von Auxin unmittelbar eine Bewegung induziert?

Reaktion auf Natriumazid:

- Wie reagiert die Blüte auf die Behandlung mit einem Atmungsgift?
- Wird die Bewegung eingestellt, wenn das Wachstum zum Erliegen kommt?

1.4.2 potentielle Turgorbewegungen

Bestimmung des osmotischen Potentials:

- Weisen die verschiedenen Pflanzenteile (Laubblatt, Blütenstiele und Blüten) Unterschiede in ihrem osmotischen Potential auf?
- Weisen die einzelnen Blütenteile (dorsales Sepalum, laterale Sepalen, paarige Petalen) Unterschiede in ihrem osmotischen Potential auf?
- Weisen die Epidermiszellen in den gegenüberliegenden Blütenblattflanken des dorsalen Sepalums Unterschiede in ihrem osmotischen Potential auf?
- Kommt es dabei zu tagesperiodischen Schwankungen?

Zellsaftanalyse:

- Wie liegen die Zuckermoleküle in geöffneten und in geschlossenen Blüten vor?
- Kommt es während einer Öffnungsbewegung zur Umwandlung von osmotisch wenig aktiven, langkettigen Polysacchariden (Stärke oder Fructan) zu stark Wasser anziehenden Monosacchariden, wie Glucose oder Fructose?
- Sind andere Besonderheiten der Zellsaftzusammensetzung zu beobachten?

Entwässerung:

- Führt eine vollständige Entwässerung, die durch Einwirken einer hochkonzentrierten Zuckerlösung herbeigeführt wird, zur Einnahme einer Schlafstellung? Wenn ja, ist der Vorgang reversibel?

1.4.3 anatomische Strukturen

Untersuchung der zellulären Strukturen des Blattstiels und des dorsalen Sepalums:

- Gibt es in den Zellen der an der Bewegung mitwirkenden Blütenblätter Strukturen oder Gelenke, die für die Bewegung verantwortlich sein könnten beziehungsweise ohne die eine Bewegung nicht stattfinden kann?

2 Untersuchungsmaterialien, Methoden, Versuchsabläufe, Ergebnisse und Interpretation der Einzelversuche

- Pflanzenmaterial:

Von den Bundesgärten Schönbrunn und dem Botanischen Garten Wiens wurden für die Versuche zur Beschreibung des der Blütenbewegung zugrunde liegenden Mechanismus 25 Individuen von *Bulbophyllum lobbii* (Akzessionsnummer 210_82 I – XXI, 403 - 1, 187_92, 187_92 a und 187_92 b) zur Verfügung gestellt. Um an Ort und Stelle mit den Pflanzen arbeiten zu können, wurden sie während der Blütezeit in den Gewächshäusern des Biozentrums (1090 Wien, Althanstr. 14) und des Botanischen Gartens der Universität Wien (1030 Wien, Rennweg 14) untergebracht. Die Hauptblütezeit von *Bulbophyllum lobbii* ist lt. Brieger et al. (1992) jedes Jahr von Frühjahr bis Frühsommer. Bei den im Glashaus kultivierten Individuen verhielt es sich ebenso. Die Untersuchungen erstreckten sich über zwei Blühphasen. Alle in den Abbildungen dargestellten Ergebnisse der unten beschriebenen Versuchsabläufe entsprechen Mittelwerten. Die Stichprobenmenge ist für jede Untersuchung gesondert angegeben.

2.1 Wachstum der Blüte

2.1.1 Einleitung

Dorsiventral gebaute Organe wie Blütenblätter sind gegenüber radiär gebauten Organen in ihrer Bewegungsfreiheit eingeschränkt und können sich meistens nur in einer Ebene krümmen. Liegt der Bewegung differentielles Wachstum zugrunde, so wird die Öffnungsbewegung durch stärkeres Wachstum an der Blattoberseite (Innenseite der Blütenknospe) in der Nähe der Basis verursacht. Das Schließen der Blüten ist dementsprechend auf verstärktes Wachstum der Unterseite zurückzuführen. Viele Blüten öffnen und schließen sich zu wiederholten Malen, oft im Rhythmus von Tag und Nacht. Bei erneuter Öffnungs- und Schließbewegung werden weitere Zellen der Ober- bzw. Unterseite ins Streckungswachstum einbezogen.

Dementsprechend sind Blüten, die sich mehrmals geöffnet haben, deutlich größer als solche, die sich gerade zum ersten Mal geöffnet haben (Haupt, 1977).

2.1.2 Material und Methoden

- 20 Blüten von verschiedenen *Bulbophyllum lobbii* - Individuen
- Standardlineal

Die Blüten werden ab dem Zeitpunkt ihrer ersten Öffnung jeden Tag zur gleichen Uhrzeit (10:00) im geöffneten Zustand untersucht. Dabei werden der Durchmesser der Blüten sowie die einzelnen Blütenblätter mittels eines Standardlineals abgemessen. Das dorsale Sepalum ist in den meisten Fällen asymmetrisch zugespitzt. Seine Länge wird bestimmt, indem das Lineal am Mittelpunkt der Blütenblattbasis (M) angesetzt und die Länge einer normalen, vertikalen Linie (l) zwischen Mitte der Blattbasis (M) und einem der Blütenblattspitze analogen Punkt (P) gemessen wird (Foto 1).

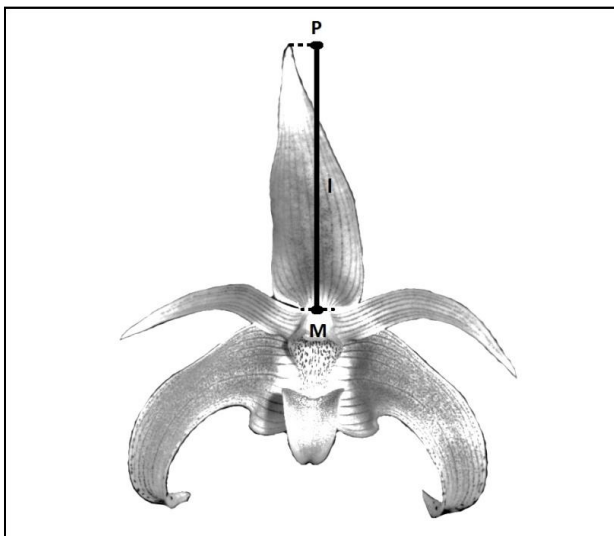


Foto 1: Längenbestimmung des dorsalen Sepalums

Bei allen anderen Perigonblättern ist dies nicht so einfach möglich. Sie sind stark asymmetrisch und weisen mit ihren Spitzen nach unten. Die genaue Länge zu bestimmen ist, ohne Verletzungen der Blüte herbeizuführen, nicht möglich. Aus diesem Grund wird hier nur der direkte Abstand (l_{1-4}) zwischen der Mitte der Blütenblattbasis ($M_{b\ 1-4}$) und der Blütenblattspitze ($S_{pet\ 1,2}$; $S_{sep\ 1,2}$) bestimmt (Foto

2). Wächst das untersuchte Blütenblatt, so vergrößert sich auch der Abstand zwischen diesen beiden Zonen.

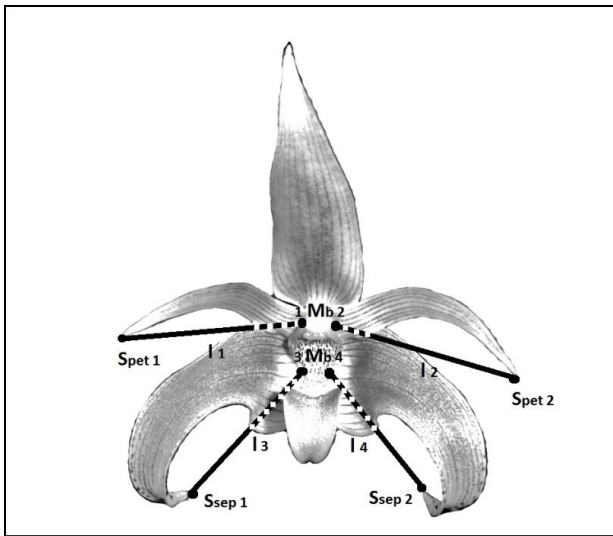


Foto 2: Längenbestimmung der lateral Sepalen und der paarigen Petalen

Auch die Bestimmung des Durchmessers erweist sich bei den zygomorphen Blüten als problematisch. Der Blütendurchmesser wird hier als der Abstand (d) zwischen einem der Fahnen spitze analogen und in der gleichen Höhe befindlichen Punkt (P) zum Mittelpunkt (M) einer gedachten horizontalen Linie zwischen den Spreitenspitzen der lateral Sepalen definiert (Foto 3).

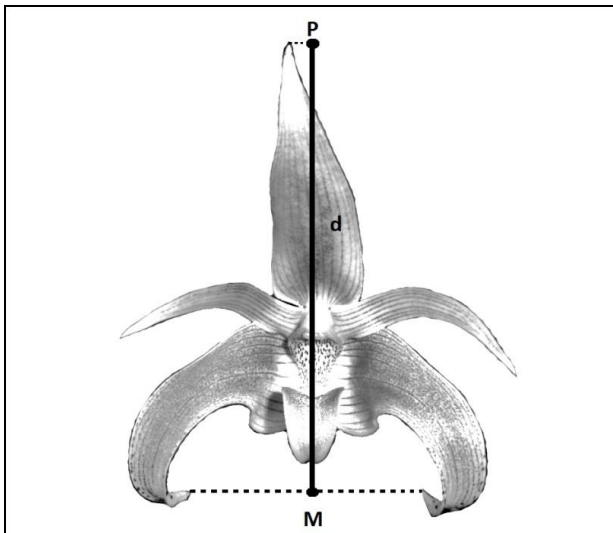


Foto 3: Bestimmung des Blütendurchmessers

2.1.3 Ergebnisse

Der Durchmesser der Blütenhülle nimmt bis zur 12. Öffnung stetig zu (Abb. 1). Junge Blüten weisen am Tag ihrer ersten Öffnung einen Durchmesser von durchschnittlich 8,06 cm auf. Ausgewachsene Blüten sind im Durchschnitt hingegen 10,09 cm groß. Das entspricht einem Wachstum von 26,74%. Gegenüber frisch entfalteten Blüten nimmt die Blütengröße demnach im Laufe ihrer Lebenszeit um mehr als ein Viertel ihrer ursprünglichen Länge zu. Ab dem 12. Tag der Blüte ist kein Blütenwachstum mehr festzustellen (Abb. 1).

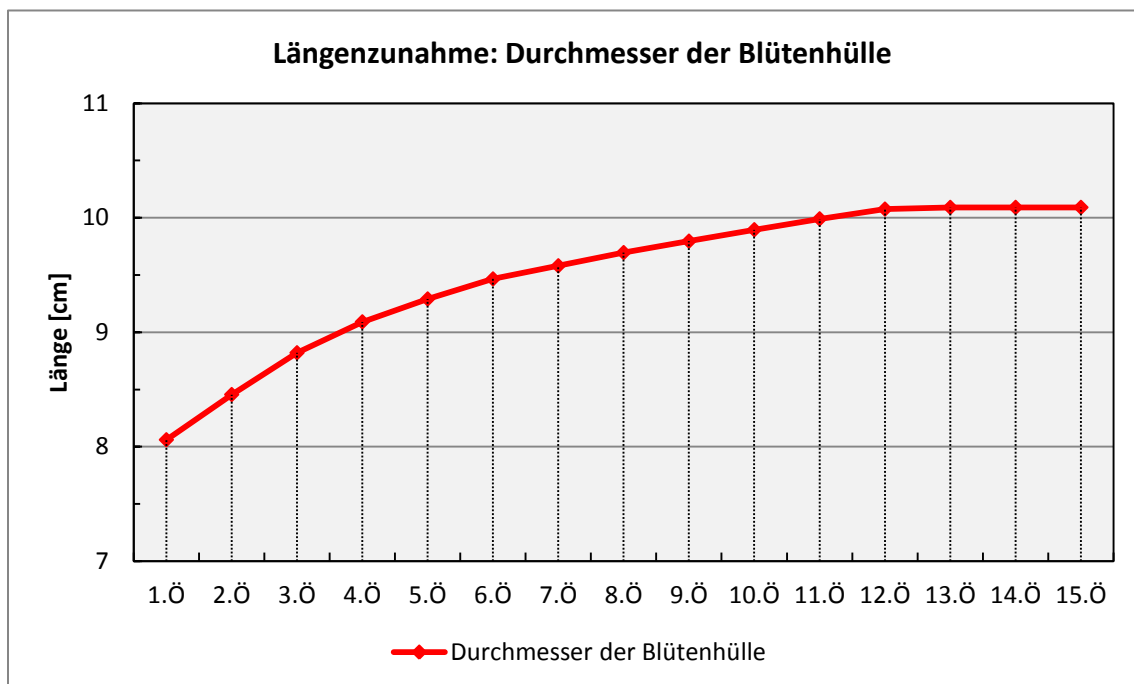


Abb. 1: *B. lobbii*: Zunahme des Durchmessers der Blütenhülle mit der Zeit

Ö: Durchmesser der Blüte Öffnung

Abbildung 2 zeigt die durchschnittliche Abnahme der Wachstumsintensität aller untersuchten *B. lobbii*-Blüten mit der Zeit. Die intensivste Längenzunahme ist bis zur 4. Öffnung zu beobachten. In dieser Zeit wächst die Blüte durchschnittlich 3,5 mm pro Tag. Von der 4. bis zur 7. Öffnung beträgt die Vergrößerung des Durchmessers pro Tag nur noch durchschnittlich 1,7 mm. Ab der 7. Bewegungsperiode (also zwischen 7. und 8. Öffnung) nimmt der Durchmesser der Blütenhülle um nur mehr durchschnittlich 0,9 mm zu. Die meisten Blüten stellen nach der 11. Bewegungsperiode, beziehungsweise zwischen der 11. und der 12. Öffnung, das

Wachstum ein. Nur bei einzelnen Individuen konnte ein geringes Wachstum bis zur 13. Öffnung nachgewiesen werden (Abb.2).

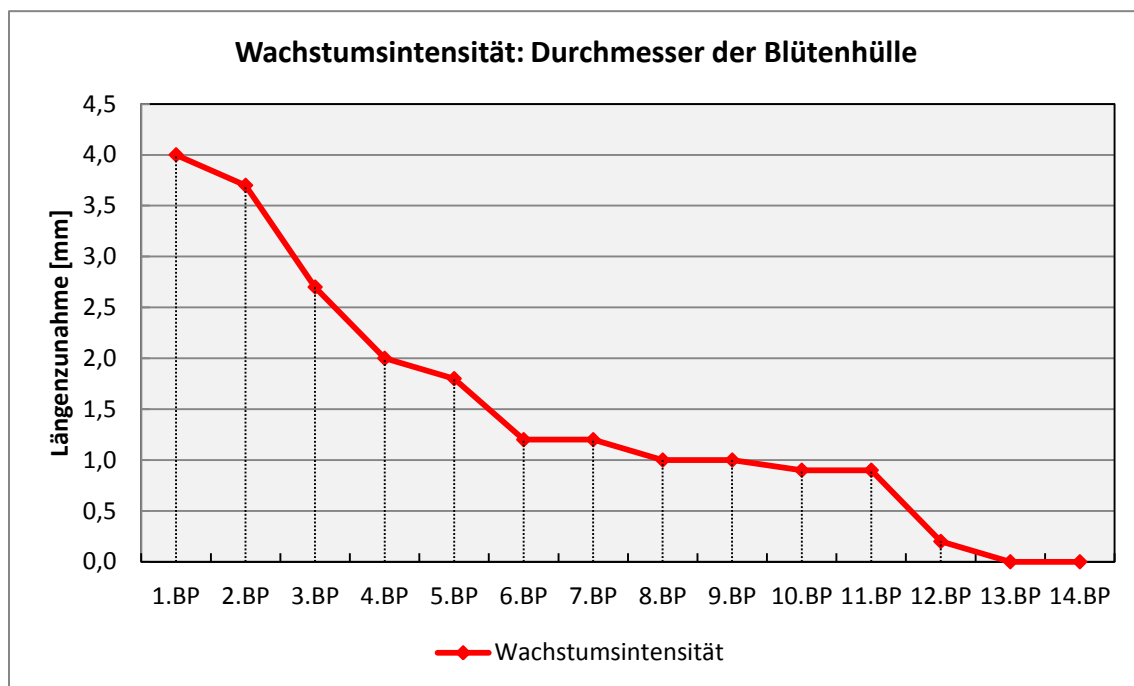


Abb. 2: Abnahme der Intensität des Wachstums mit der Zeit

BP: Wachstum Bewegungsperiode (von einer Öffnung zur nächsten)

Das dorsale Sepalum weist bei allen untersuchten *B. lobbii*-Individuen das stärkste Wachstum auf. Mit einer durchschnittlichen Blütenblattlänge von 5,29 cm bei der 1. Öffnung und von 7,17 cm bei ausgewachsenen Blüten wächst die Fahne einer frisch aus der Knospe entsprungenen Blüte um durchschnittlich 35,54 %, ehe sie ihre endgültige Länge erreicht hat. Die Fahnen ausgewachsener Blüten sind demnach um mehr als ein Drittel ihrer ursprünglichen Größe gewachsen (Abb. 3).

Die Wachstumsintensität nimmt demgegenüber mit der Zeit ab (Abb. 4). Während die Fahnen von der 1. bis zur 2. Öffnung um durchschnittlich 4,2 mm wachsen und zum Zeitpunkt der 3. Öffnung ein deutliches Wachstum von durchschnittlich 3,9 mm aufweisen, beträgt die Längenzunahme des dorsalen Sepalums während der 3. Bewegungsperiode, das heißt zwischen der 3. und der 4. Öffnung, bereits nur noch durchschnittlich 2,4 mm. Ab der 5. Öffnung wächst das Blütenblatt nur mehr durchschnittlich 0,75 mm pro Tag, bis es ebenfalls zum Zeitpunkt der 12. Öffnung das Wachstum einstellt (Abb. 4).

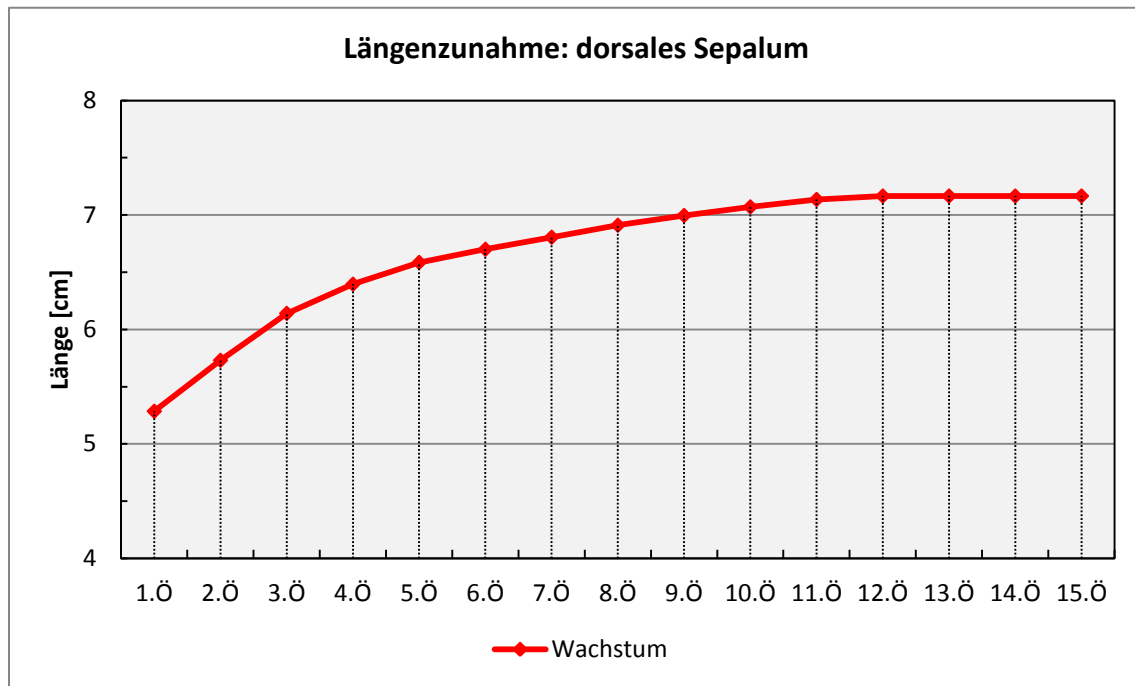


Abb. 3: Längenwachstum des dorsalen Sepalums mit der Zeit

Ö: Blütenblattlänge Öffnung

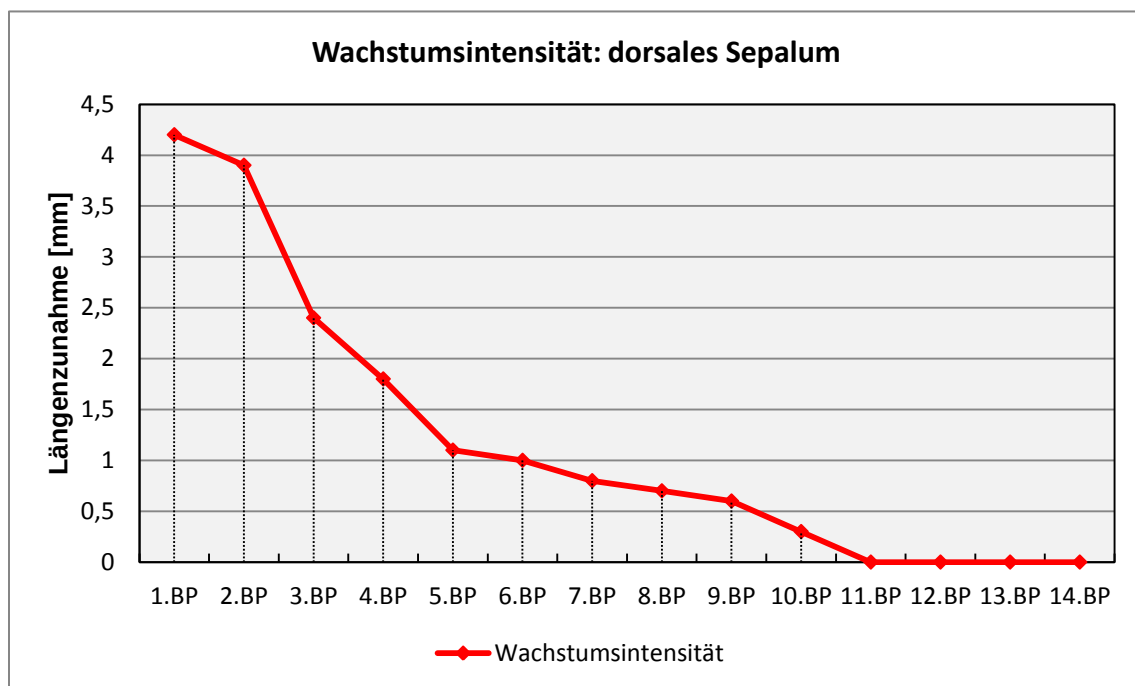


Abb. 4: Abnahme der Wachstumsintensität des dorsalen Sepalums mit der Zeit

BP: Wachstum Bewegungsperiode (von einer Öffnung zur nächsten)

Die beiden lateralen Sepalen weisen während der gesamten Blühzeit kein Wachstum auf. Der Abstand zwischen der Blütenblattspitze und dem Mittelpunkt der Blütenblattbasis beträgt durchschnittlich 3,44 cm und vergrößert sich nicht (Abb. 5).

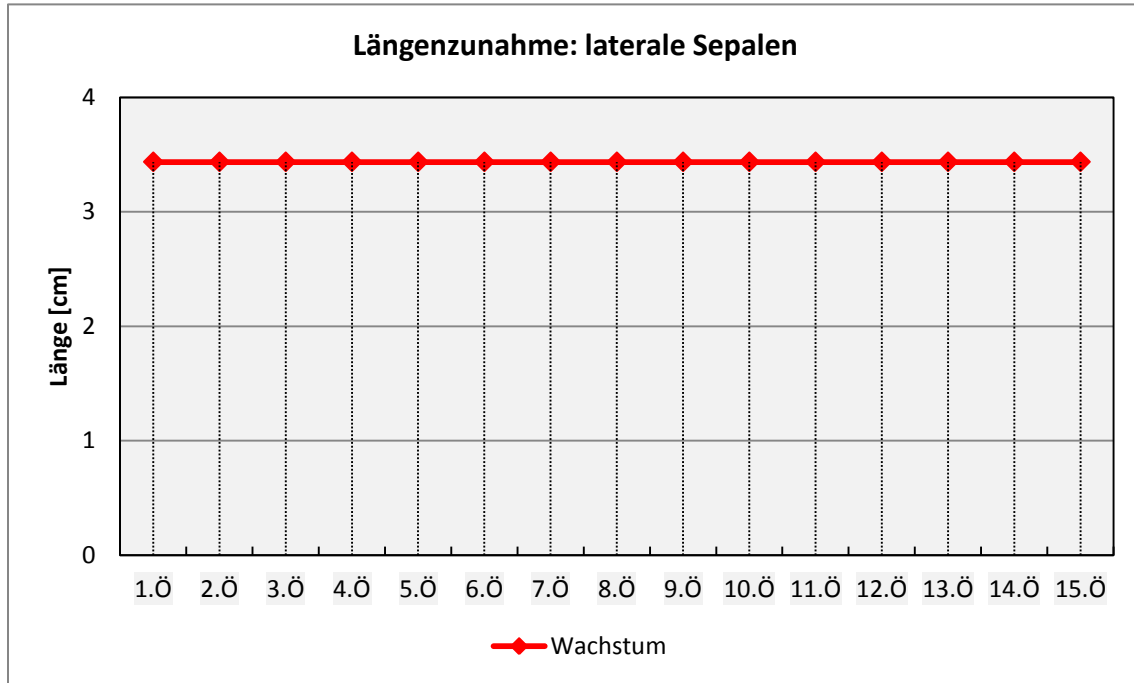


Abb. 5: Konstante Länge der lateralen Sepalen mit der Zeit

Ö: Blütenblattlänge Öffnung

Bei den paarigen Petalen ist ebenfalls ein Längenwachstum zu beobachten. Das maximale Wachstum findet zwischen der 2. und der 3. Öffnung statt und beträgt nur durchschnittlich 1,3 mm. Die Längenzunahme erfolgt hier weitaus weniger deutlich und wird bereits nach der 5. Öffnung eingestellt (Abb. 6).

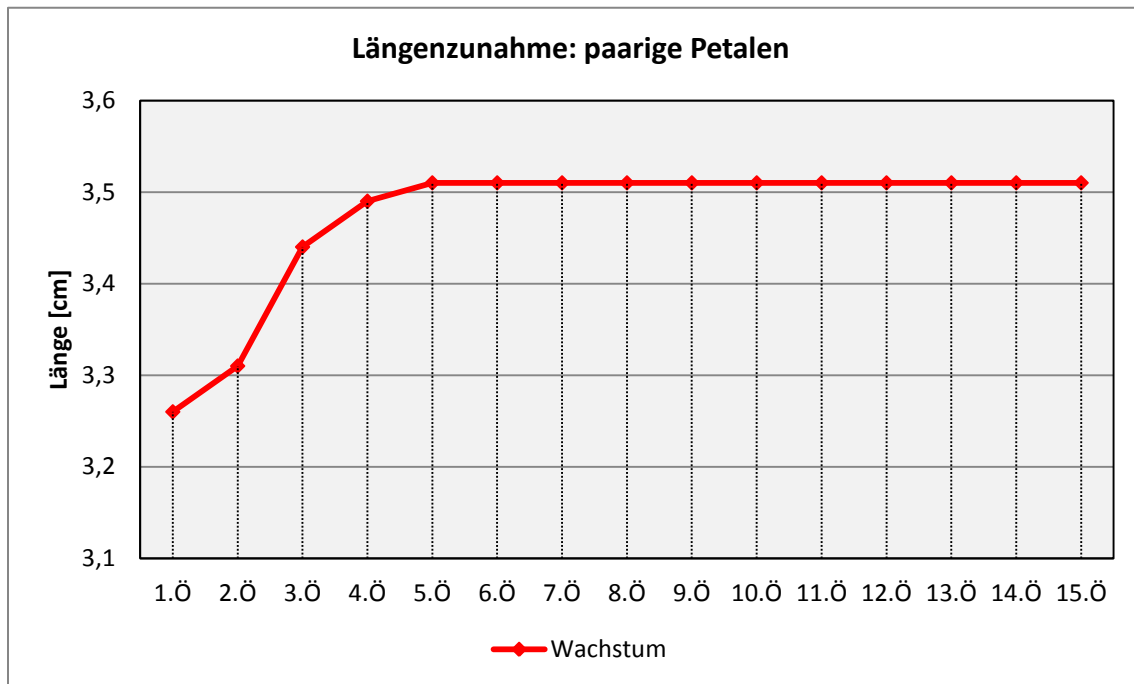


Abb. 6: Geringe Längenzunahme der paarigen Sepalen mit der Zeit

Ö: Blütenblattlänge Öffnung

Auch das Wachstum des Blütenstiels zeigt eine ansteigende Kurve (Abb. 7). Zum Zeitpunkt der ersten Öffnung besitzen die Blüten bereits einen durchschnittlich 23,10 cm langen Stiel. Nach abgeschlossenem Wachstum beträgt die Länge des Blütenstiels durchschnittlich 26,41 cm. Ein Blütenstiel von *B. lobbii* wächst demnach durchschnittlich um 3,29 cm. Das entspricht einer Längenzunahme von 14,24 %. Einige Blütenstiele erreichen eine Länge von über 30 cm. Die gemessene Rekordlänge beträgt 33,2 cm (Abb. 7).

Auffällig ist, dass auch hier die Wachstumsintensität auf die gleiche Weise abnimmt (Abb. 8). Bis zur 3. Öffnung wachsen die Blütenstiele durchschnittlich um 7,1 mm pro Tag, im weiteren Verlauf bis zur 6. Öffnung nur noch um durchschnittlich 3,3 mm pro Tag. Bis zur 12. Öffnung verlängern sie sich noch durchschnittlich um 1,5 mm. Danach weisen die Blütenstiele fast aller *B. lobbii*-Individuen kein Wachstum mehr auf. Nur einzelne Blütenstiele wachsen noch um 1 mm bis zur 13. Öffnung (Abb. 8).

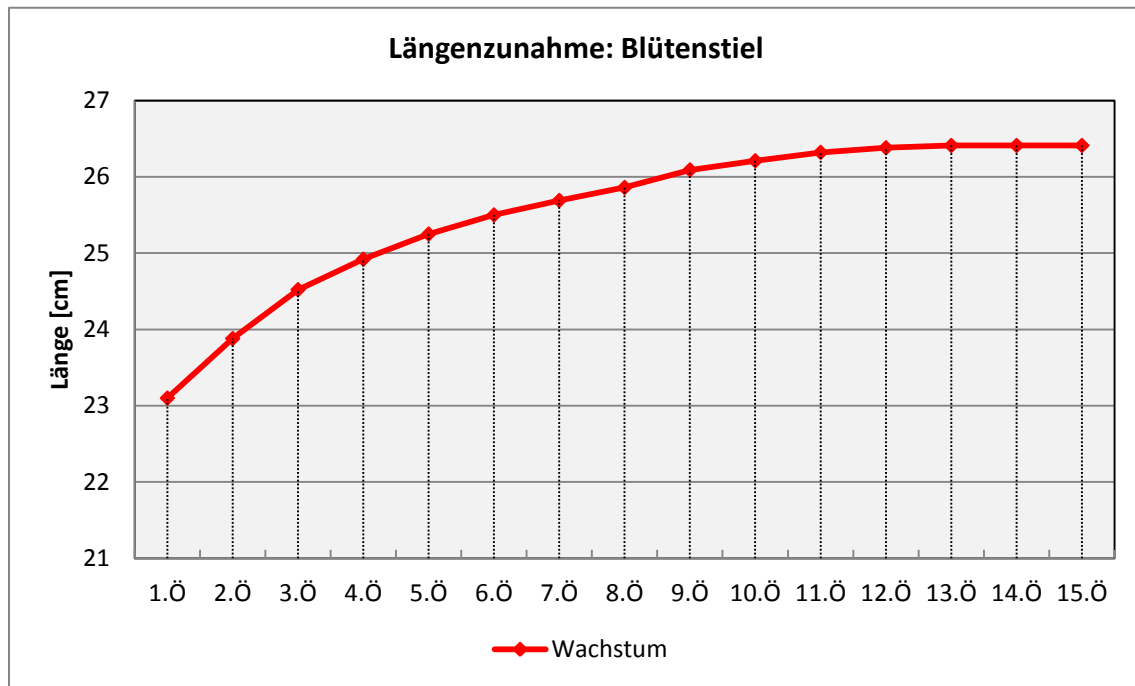


Abb. 7: Längenwachstum des Blütenstiels mit der Zeit

Ö: Blütenstiellänge Öffnung

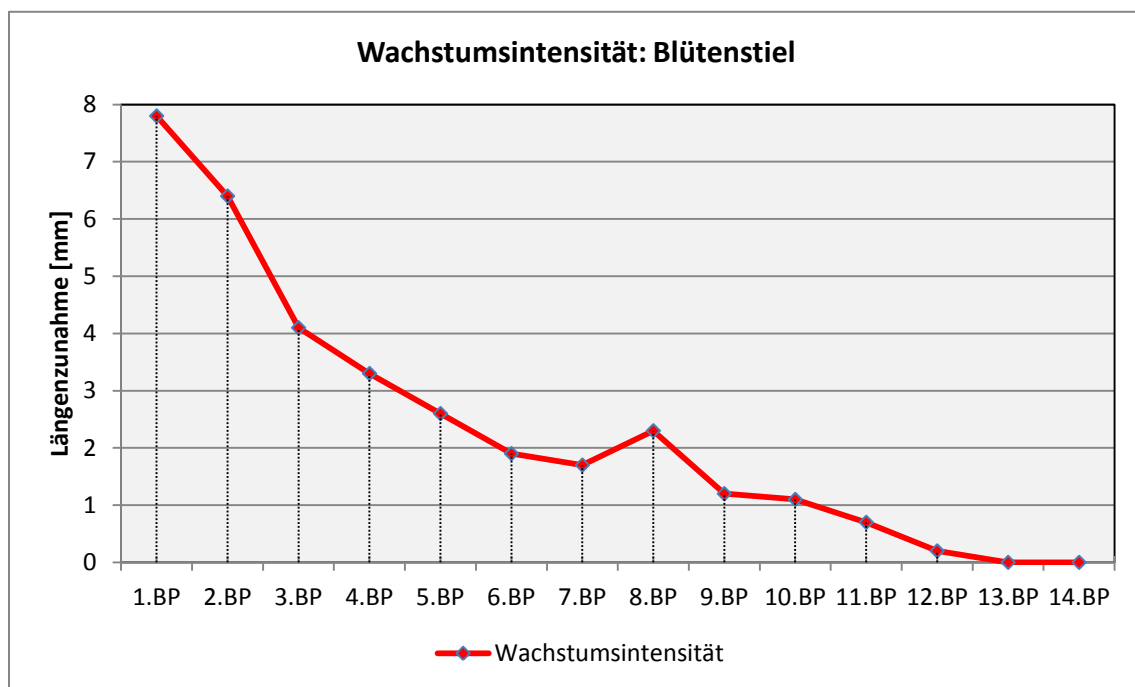


Abb. 8: Abnahme der Wachstumsintensität des Blütenstiels mit der Zeit

BP: Wachstum Bewegungsperiode (von einer Öffnung zur nächsten)

2.1.4 Diskussion

Laut Literatur weisen die Blüten von *B. lobbii* einen durchschnittlichen Durchmesser von 7cm auf (Brieger et. al, 1992). Die in dieser Arbeit erhobenen Daten weichen mit einem Durchmesser von durchschnittlich 8,06cm bei jungen und 10,09cm bei ausgewachsenen Blüten deutlich von diesem Wert ab (Abb. 1). Bei allen untersuchten *B. lobbii*-Pflanzen weist das dorsale Sepalum das stärkste Wachstum auf (Abb. 3). Das wenig ausgeprägte Wachstum der paarigen Petalen ist generell nur bei jüngeren Blüten zu beobachten (Abb. 6). Die lateralen Sepalen wachsen nicht (Abb. 5). Deshalb erscheint das dorsale Sepalum ausgewachsener *B. lobbii*-Blüten sehr dominant und überdimensioniert. Zusätzlich nimmt auch die Länge des Blütenstiels in jeder Bewegungsperiode zu (Abb. 7). Das dorsale Sepalum führt von allen Blütenblättern die stärkste Bewegung aus. Die paarigen Petalen bewegen sich weit weniger deutlich und die Lokomotion erschöpft sich schneller. Die lateralen Sepalen bewegen sich nie. Der Blütestiel führt zusätzlich noch starke, drehende Bewegungen aus (siehe auch Kogler, 2010). Im Durchschnitt sind sowohl das Wachstum wie auch die Blütenbewegung bei *B. lobbii* bis zum 12. Tag der Blütezeit zu beobachten. Das Blütenwachstum schwächt sich, ebenso wie die Bewegung mit der Zeit stark ab (Abb. 2). Der maximale Öffnungsgrad einer Blüte von *B. lobbii* wird am 6. Tag erreicht und beträgt $113,64^\circ$ (Kogler, 2010). Zum Zeitpunkt der 6. Öffnung hat das dorsale Sepalum den Großteil seines Wachstums abgeschlossen und vergrößert seine Länge ab dann nur mehr geringfügig im Vergleich zu vorher (Abb. 4). Die Blütenbewegung von *B. lobbii* korreliert in jedem untersuchten Punkt mit dem Wachstum der an der Lokomotion beteiligten Blütenteile, was auf einen Zusammenhang zwischen Wachstum und Bewegung hindeutet.

2.2 Bestimmung der Zellflächen und Vergleich der inneren und der äußeren Epidermis des dorsalen Sepalums

2.2.1 Einleitung

Öffnungen sind generell bedingt durch eine Ausdehnung der Zellen (van Doorn & van Meeteren, 2003). Eine in die Länge wachsende Einzelzelle krümmt sich, wenn

das Wachstum der Zellwand nicht symmetrisch verläuft (intrazelluläre Asymmetrie). Ein vielzelliges Organ krümmt sich durch Wachstum, wenn die Verteilung des Wachstums der Einzelzellen nicht symmetrisch ist (interzelluläre Asymmetrie). Diese Asymmetrie kann in einer subapikalen Wachstumszone lokalisiert sein. Daraus folgt differentielles Wachstum antagonistischer Flanken, wobei die stärker wachsende Flanke konvex wird. Die überwiegend irreversible Vergrößerung der Zellen geht mit einer Vergrößerung des Volumens und mit einer Vergrößerung der Oberfläche einher. Die Öffnungsbewegung entspricht einer Blattkrümmung, die durch stärkeres Wachstum an der Blattoberseite (Innenseite der Blütenknospe) in der Nähe der Basis verursacht wird. Das Schließen der Blüten ist dementsprechend auf verstärktes Wachstum der Unterseite zurückzuführen. Die Bewegung scheint beim flüchtigen Betrachten reversibel zu sein und damit der Definition des Wachstums zu widersprechen. Die einzelne Zelle vergrößert sich aber dennoch irreversibel, führt also ein echtes Streckungswachstum durch. Bei erneuter Öffnungs- und Schließbewegung werden weitere Zellen der Ober- bzw. Unterseite ins Streckungswachstum einbezogen. Zellwachstum kommt bei höheren Pflanzen auf zwei verschiedenen Wegen zustande. In meristematischen Geweben teilen sich embryonale Zellen und wachsen anschließend ausschließlich durch Plasmavermehrung wieder zur ursprünglichen Größe heran. In ausdifferenzierten Geweben wachsen dagegen die Zellen unter Aufnahme von sehr großen Mengen Wasser in die Vakuole zu ihrer endgültigen Größe heran. Das Streckungswachstum führt zu sehr viel stärkerer Zellvergrößerung als das Plasmawachstum und ist deshalb für Wachstumskrümmungen viel wichtiger (Haupt, 1977). Da sich die Untersuchungen ausschließlich auf bereits ausdifferenziertes Gewebe der Blüten beziehen, wird im Folgenden nur das Streckungswachstum der Zellen in Form der Oberflächenvergrößerung berücksichtigt.

2.2.2 Material und Methoden

- 60 Blüten von *Bulbophyllum lobbii* (5 pro Öffnung und 5 pro Schließung)
- Lichtmikroskop
- Programm Cell*D
- Objektträger

- Deckgläser
- Wasser
- Rasierklinge

Um festzustellen, ob die beobachtete Blütenbewegung auf ungleich beschleunigtem Wachstum antagonistischer Zellkomplexe beruht, werden nach jeder abgeschlossenen Öffnung und nach jeder abgeschlossenen Schließung 5 Blüten benötigt. Da die Blüten ab der 7. Öffnung nur mehr wenig Wachstum aufweisen und auch die Bewegungsintensität abnimmt, beschränken sich die Untersuchungen zum Großteil auf jüngeres Blütenmaterial. Das dorsale Sepalum führt von allen Blütenblättern die intensivste Bewegung aus und weist auch das stärkste Wachstum auf. Deshalb werden für die Erhebungen der Daten die dorsalen Sepalen von je 5 Blüten nach der 1. bis zur 6. Öffnung und nach der 1. bis zur 6. Schließung mittels Rasierklinge vom Rest der Blüte abgetrennt. Die Blütenblätter werden in 3 ca. 1,5 cm² große Stücke quergeschnitten. Diese werden auf einen Objektträger aufgebracht, mit einem Tropfen Wasser und einem Deckglas versehen und anschließend lichtmikroskopisch untersucht. Mithilfe einer im Lichtmikroskop integrierten Digitalkamera ist es möglich, die Zellflächen der Epidermis abzufotografieren und anschließend mit Cell*D zu vermessen (Foto 4). Danach werden die Präparate umgedreht und die Zellflächen der gegenüberliegenden Blütenblattflanke dokumentiert. Um aussagekräftige Ergebnisse erzielen zu können, müssen die äußeren Schichten der Epidermiszellen möglichst vollständig abfotografiert und Daten von möglichst vielen Zellen erhoben werden. Außerdem ist es wichtig, den richtigen Maßstab entsprechend der verwendeten Vergrößerung in die Fotos einzubrennen. In den folgenden Abbildungen werden die Mittelwerte der erhobenen Daten graphisch dargestellt. Um Blütenmaterial für ergänzende Untersuchungen zu sparen, muss die untersuchte Stichprobenmenge klein gehalten werden.

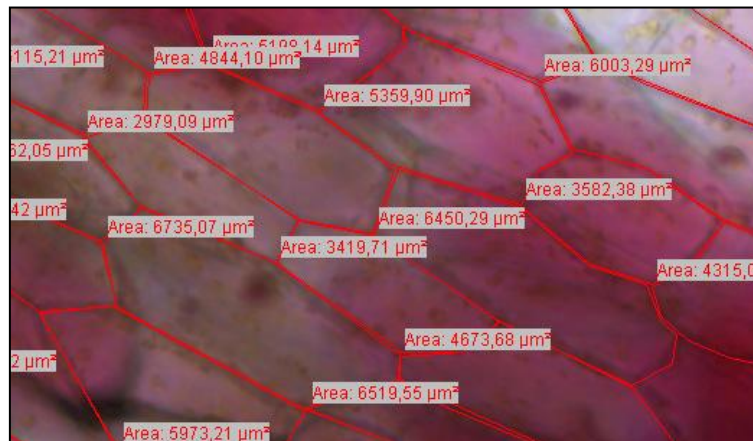


Foto 4: Oberflächenbestimmung von Epidermiszellen mittels Cell*D

2.2.3 Ergebnisse

Die durchschnittliche Zellfläche einer Epidermiszelle eines jungen Blütenblatts, das sich gerade entfaltet hat, beträgt $4716 \mu\text{m}^2$. Im Laufe der ersten 6 Bewegungsperioden vergrößert sich die durchschnittliche Oberfläche einer Epidermiszelle um $200 \mu\text{m}^2$ von einer Öffnung zur nächsten (Abb. 9). Nach der 7. Öffnung ist die Zunahme der durchschnittlichen Zellgröße nur noch sehr gering. Nach der 12. Öffnung wird das Flächenwachstum der Epidermiszellen vollständig eingestellt. Die Epidermiszellen ausgewachsener Blütenblätter weisen eine durchschnittliche Oberfläche von $6125 \mu\text{m}^2$ auf. Die Zellen vergrößern ihre Oberfläche demnach um durchschnittlich ca. 30% ihrer ursprünglichen Größe. In Abbildung 9 lassen sich außerdem deutliche Unterschiede zwischen den Wachstumskurven der äußeren und der inneren Epidermiszellen erkennen. Die gegenläufigen Schwingungen der beiden Kurven in Abbildung 9 deuten bereits auf Wachstumsverschiedenheiten hin. Während sich die Blüte schließt und das dorsale Sepalum nach innen klappt, wachsen die Zellen der äußeren Epidermis deutlich stärker als jene der inneren Blütenblattblatthanke. Bei der Blütenöffnung wachsen hingegen fast ausschließlich die Zellen der inneren Epidermis. Die in den Abbildungen angegebenen Daten beziehen sich stets auf Mittelwerte. Nach jeder Bewegungsperiode werden möglichst alle Zellen der inneren und der äußeren Epidermis vermessen und der Mittelwert daraus errechnet. Der Mittelwert entspricht der durchschnittlichen Fläche einer Einzelzelle in der jeweiligen Blütenblattflanke.

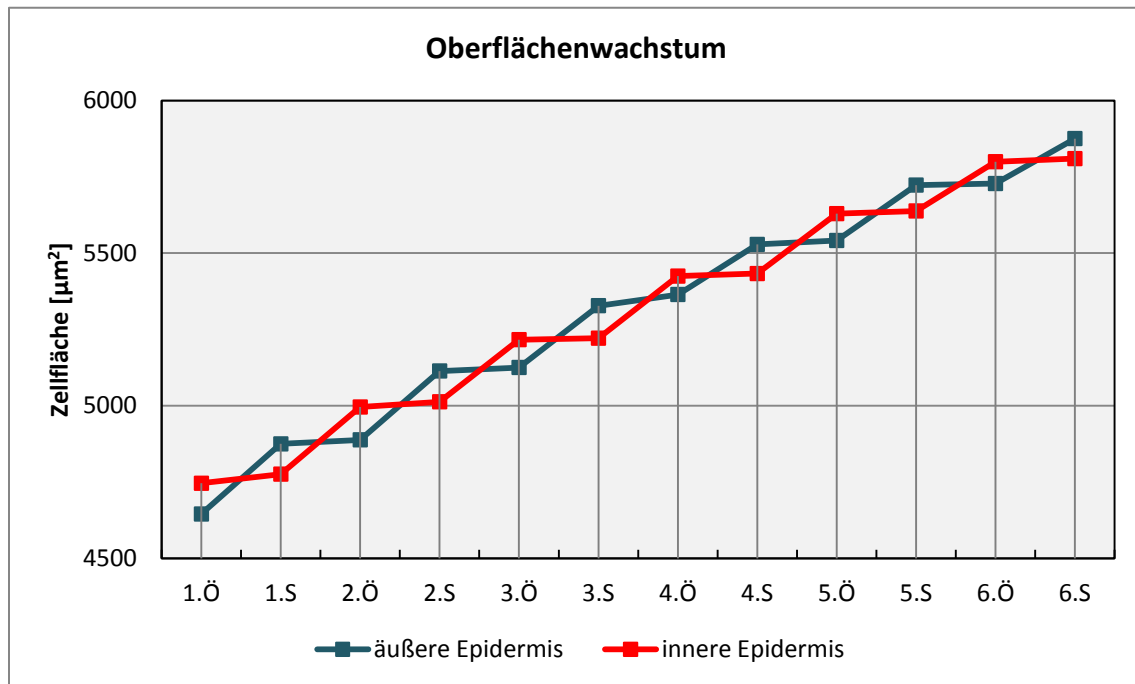


Abb. 9: Durchschnittliche Flächenzunahme der äußeren und der inneren Epidermiszellen mit der Zeit

Ö: durchschnittliche Zellfläche Öffnung, S: durchschnittliche Zellfläche Schließung

Tatsächlich nimmt die durchschnittliche Zelloberfläche der inneren Epidermis während einer Öffnung um ca. $200 \mu\text{m}^2$ zu. Im Laufe einer Schließung hingegen wächst sie kaum. Eine äußere Epidermiszelle vergrößert sich demgegenüber im Laufe einer Öffnung praktisch nicht und während einer Schließung um durchschnittlich ca. $190 \mu\text{m}^2$ (Abb. 10).

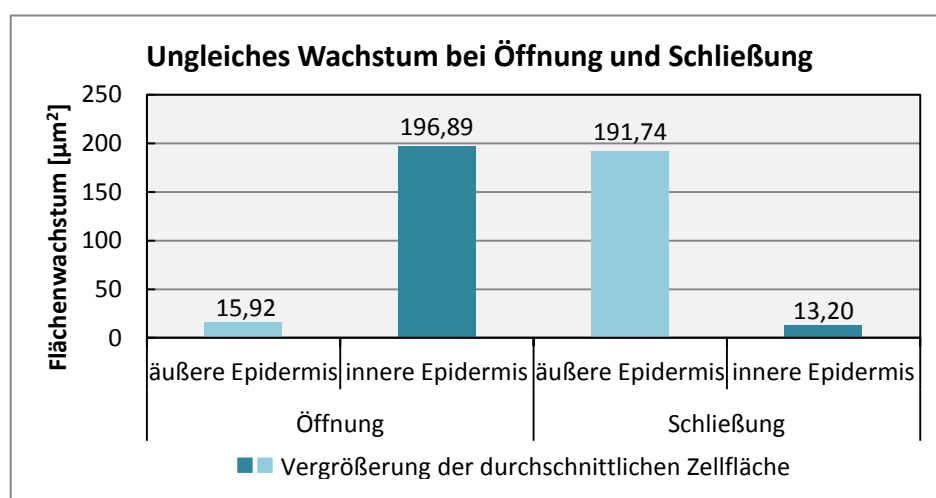


Abb.10: Stärkeres Wachstum der inneren Epidermiszellen während der Öffnung bzw. stärkeres Wachstum der äußeren Epidermiszellen während der Schließung

Die Zellen einer vollständig geöffneten Fahne sind in der inneren Epidermis durchschnittlich um ca. $87 \mu\text{m}^2$ größer als in der äußeren Epidermis. Nach einer Schließung weisen die Zellen der äußeren Epidermis um durchschnittlich $92,04 \mu\text{m}^2$ größere Oberflächen als jene der inneren Epidermis auf (Abb. 11). Blüten, die ihr Wachstum eingestellt haben verweilen in geöffnetem Zustand. Die inneren Epidermiszellen alter Blüten sind demnach stets um durchschnittlich ca. $90 \mu\text{m}^2$ größer als die äußeren Abschlusszellen.

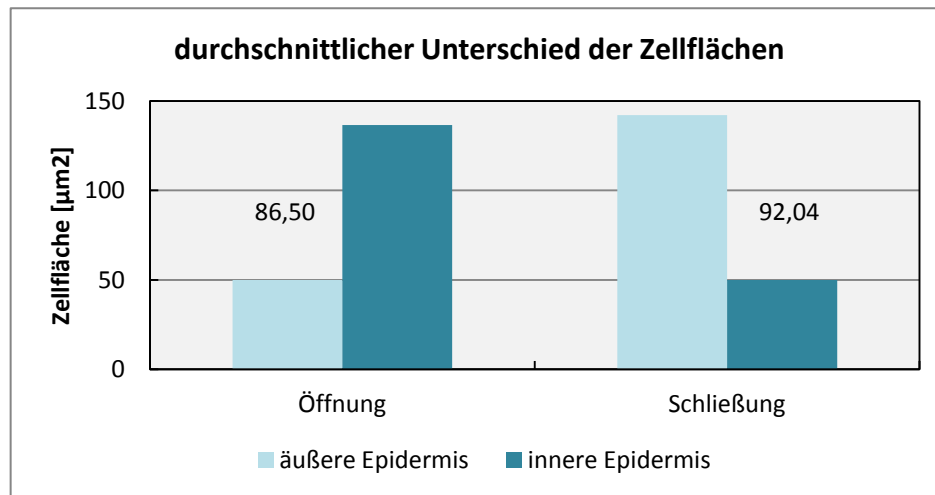


Abb. 12: Unterschied der durchschnittlichen Zellfläche in der inneren und in der äußeren Epidermis bei geöffneten und geschlossenen Blüten

Die durchschnittliche Zellfläche nimmt bis zur 12. Öffnung während jeder halben Bewegungsperiode zu. Dieser Wert ermöglicht den Vergleich der Wachstumsverhältnisse auf gegenüberliegenden Blütenblattflanken. Tatsächlich verhält es sich jedoch anders. Die Zellen des Abschlussgewebes wachsen nicht immerfort von Öffnung zu Öffnung beziehungsweise von Schließung zu Schließung, sondern sie wachsen und erreichen innerhalb einer Bewegungsperiode ihre endgültige Fläche. Bei erneuten Bewegungsperioden werden weitere Zellen des umliegenden Gewebes ins Wachstum miteingeschlossen. Epidermiszellen in der Nähe der Blütenblattbasis sind zum Zeitpunkt der ersten Öffnung um durchschnittlich $200 \mu\text{m}^2$ größer als jene des mittleren Blütenblattabschnitts. Letztere weisen wiederum eine um durchschnittlich $100 \mu\text{m}^2$ größere Oberfläche auf als Epidermiszellen der Blütenblattspitze (Abb. 13). Die Unterschiede der durchschnittlichen Zellfläche in den verschiedenen Blütenblattabschnitten sind zunächst noch gering. Zum Zeitpunkt der zweiten Öffnung sind jedoch bereits ca.

50% der Epidermiszellen des 1. Abschnitts über der Blütenblattbasis ausgewachsen und weisen eine Zellfläche von durchschnittlich $6271\mu\text{m}^2$ auf. Spätestens bei der 3. Öffnung sind beinahe alle Zellen der Blütenblattbasis ausgewachsen. Die Epidermiszellen der anschließenden Zonen wachsen während dieses Zeitraums hingegen nicht beziehungsweise kaum. Ab der 3. Öffnung werden die Abschlusszellen des benachbarten mittleren Kronblattabschnitts in das Wachstum miteinbezogen. Nachdem die dort liegenden Zellen nach der 5. Öffnung ihr Wachstum eingestellt und eine durchschnittliche Zellfläche von $6124\mu\text{m}^2$ erreicht haben, beginnen die Zellen der Kronblattspitze zu wachsen. Nach der 6. Schließung weisen jene Zellen eine Oberfläche von durchschnittlich $5987\mu\text{m}^2$ auf (Abb. 13).

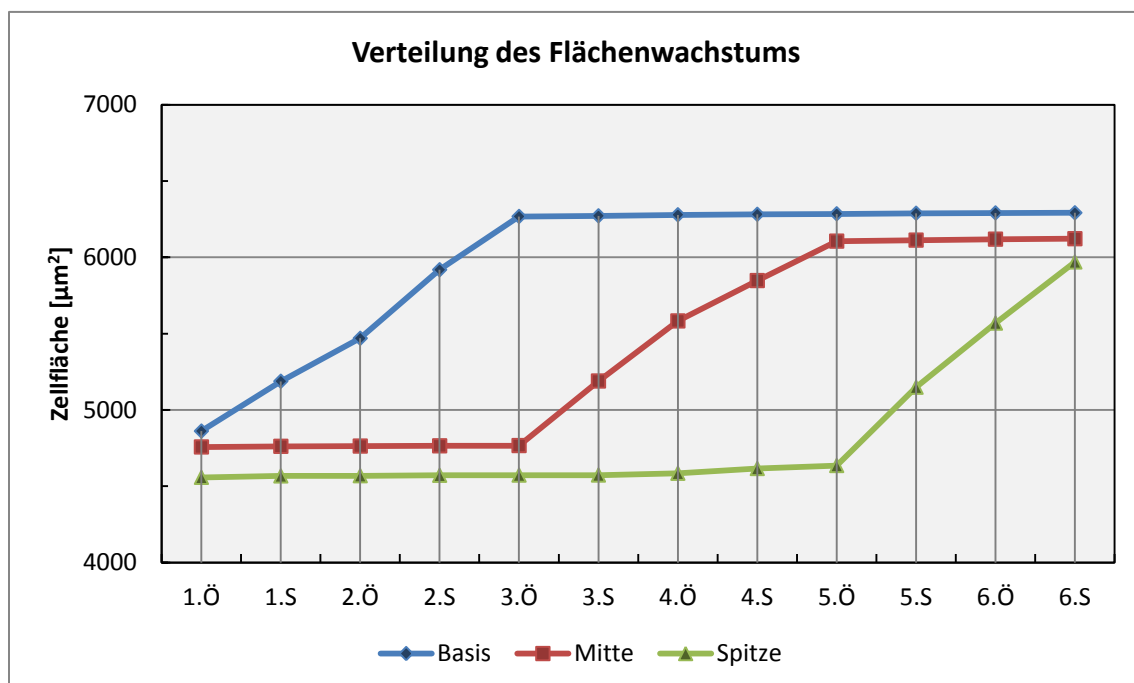


Abb. 13: Aufeinanderfolgendes Wachstum der benachbarten Abschnitte des dorsalen Sepalums

2.2.4 Diskussion

Die Wurzel- und Sprossorgane höherer Pflanzen stammen von terminal gelegenen Meristemen ab. Durch Teilung embryonaler Zellen wird neues Zellmaterial hervorgebracht, das anschließend den Prozess der Differenzierung durchläuft. Ein zentraler Aspekt der Differenzierung ist die Zellstreckung. Die Zellstreckung ermöglicht die eigentliche Volumenzunahme des sich entwickelnden pflanzlichen Organs (Buschmann, 2002).

Bei der Entwicklung von Blüten spielt Zellteilung zunächst eine große Rolle. Die Asymmetrie in den Blüten von *Antirrhinum* basiert auf Besonderheiten in der Wachstumsrichtung sich teilender Zellen, weniger auf regional unterschiedlichen Wachstumsraten (Rolland-Lagan et al., 2003). In jungen Blättern überlappen Zellteilung und Zellstreckung einander oft stark. Sie besitzen selbst Meristemcharakter. Zellteilungen können in Blättern deshalb stattfinden, bis sie 90 % ihrer Größe erreicht haben. Danach wachsen auch Blätter ausschließlich durch Zellstreckung (Dengler & Tsukaya, 2001). Zellteilungen können zuletzt im Bereich des vaskulären Gewebes festgestellt werden, wodurch vermutlich dem höheren Bedarf an Stofftransport Rechnung getragen wird (Donnelly et al., 1999). Auch das Volumen eines erwachsenen Blattes hängt wesentlich von der Zellstreckung ab; in Blättern können die Zellen das zwanzig- bis fünfzigfache Volumen ihrer meristematischen Vorläufer einnehmen (Van Volkenburgh, 1999).

Bei den jungen Blüten von *Bulbophyllum lobbii* konnte kein Wachstum durch Zellteilung festgestellt werden. Die Ergebnisse zeigen, dass die Zellen der Epidermis des dorsalen Sepalums echtes Streckungswachstum durchlaufen (Abb. 9 -13). Während einer Bewegungsperiode wachsen die Zellen eines bestimmten Blütenblattabschnittes, bis sie ihre endgültige Größe erreicht haben, indem sie Wasser in ihre Vakuolen aufnehmen. Die durchschnittliche Zellfläche in diesem Blütenblattabschnitt nimmt folglich während dieser Zeit zu, während sie in anderen Bereichen, in denen das Streckungswachstum zu diesem Zeitpunkt noch nicht eingesetzt hat, unverändert bleibt. Innerhalb der nächsten Bewegungsperiode vergrößern benachbarte Zellen ihre Oberfläche und die durchschnittliche Zellfläche in diesem Bereich steigt weiter an. Das Längenwachstum des dorsalen Sepalums basiert nicht auf immer fortwährendem Streckungswachstum derselben Epidermiszellen. Die Ergebnisse zeigen, dass es während der Bewegungsperioden der Blüte zur aufeinanderfolgenden Expansion der Epidermiszellen benachbarter Kronblattabschnitte kommt (Abb. 13). Die durchschnittliche Zellfläche nimmt auf beiden Seiten der Epidermis durchgehend zu (Abb. 9). Sie ist keinen tagesperiodischen Schwankungen unterworfen, wie es zu erwarten wäre, wenn die Bewegung ausschließlich auf reversibler Wasseraufnahme beruhen würde. Daraus kann man schließen, dass Wachstum bei der Bewegung eine große Rolle spielt.

Bei *Tulipa* sind hauptsächlich die Mesophyllzellen für das Wachstum verantwortlich; die Epidermiszellen folgen nur der Expansion des Mesophylls (Wood, 1953). Ob es bei *Bulbophyllum lobbii* in den inneren Schichten der wachsenden Blütenblätter zu Zellteilung oder Streckungswachstum kommt, und die Epidermiszellen nur der Ausdehnung des umliegenden Gewebes folgen, konnte im Rahmen dieser Untersuchungen nicht geklärt werden. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die Epidermiszellen unterschiedlicher Blütenblattflanken- und abschnitte ihre Oberfläche zu unterschiedlichen Zeitpunkten während der Bewegungsperioden vergrößern (Abb.9 und 13).

2.3 Behandlung mit Wachstumshormonen

2.3.1 Einleitung

Die Regulierung des Wachstums in der Zelle und im Gewebe erfolgt durch spezifische Faktoren, die in der Zelle in geringer Konzentration vorkommen und somit einen limitierenden Faktor darstellen. Der bekannteste Regulator ist das Auxin (Haupt, 1977). Auxin spielt eine zentrale Rolle bei der Regulation des Wachstums und der Entwicklung von Pflanzen. Es fördert die Zellteilung und das Streckungswachstum von Zellen, Tropismen (Phototropismus und Gravitropismus), die Apikaldominanz und die Fruchtreife (Thimann, 1977). Wegen seiner primären Wirkung, der Induktion der Zellstreckung, wurde die entdeckte Substanz Auxin genannt, abgeleitet vom griechischen Verb für „wachsen lassen“. Indol-3-Essigsäure (IAA oder IES) ist das wichtigste Auxin höherer Pflanzen. Ein Auxin enthaltender Agarblock wird einseitig auf eine Hafer-Koleoptile aufgesetzt, der die Spitze entfernt wurde (*Avena* – Krümmungstest). Infolge der einseitigen Auxin-Applikation kommt es zur einseitigen Wachstumsförderung auf dieser Seite und die Koleoptile krümmt sich in die, von der Applikation abgewandten Richtung (differentielles Wachstum) (Biskup, 2003). Der Haupt-Syntheseort von Auxin sind sich rasch teilende, entwickelnde Gewebe, insbesondere junge, sich entwickelnde Blätter. Trotzdem sind auch alle anderen Teile einer jungen Pflanze prinzipiell zur de- novo-Synthese von Auxin fähig, wenn auch in weit geringeren Mengen (Ljung et al., 2001). Da das Auxin nur in bestimmten Geweben produziert und in streng gesetzmäßiger Richtung entlang

eines Gradienten und in Abhängigkeit von der Stoffwechselsituation transportiert wird, kann in einem vielzelligen Organ das Wachstum der Einzelzelle durch die Nachbarzellen über den Steuerfaktor Auxin reguliert werden (Haupt, 1977). Der Transport von Auxin findet sowohl von Zelle zu Zelle über den Symplasten (polarer, energieabhängiger Transport) als auch über das Phloem (unpolarer, passiver Transport) statt und ist immer basipetal gerichtet (Biskup, 2003). Wenn verschiedene Zellen eines Gewebes verschiedene Konzentrationen Auxin enthalten und dadurch verschieden stark wachsen, resultiert daraus eine Krümmungsbewegung, die in ihrer Richtung von Auxin gesteuert wird. Auf diese Weise werden die potentiell gleich wachstumsfähigen Zellen zu unterschiedlichem Wachstum veranlasst. Eine andere Ursache für ungleiches Wachstum antagonistischer Flanken ist ein von vornherein ungleiches Wachstumspotential der Zellen. Unterschiedliche Zellen reagieren dann unterschiedlich auf gleiche Auxin-Konzentrationen (Haupt, 1977).

2.3.2 Material und Methoden

- 20 Blüten von *Bulbophyllum lobbii* (10 geöffnete und 10 geschlossene Blüten)
- 10 Erlenmayerkolben
- Glaselektrode zur Messung des pH-Werts (zusätzlich auch Indikatorpapier)
- IAA-Lösung (1 mM, 20 µl)
- 0,1 M KOH oder 0,1 M HCl-Lösung
- Schere
- Spritze

Für das folgende Experiment wurden junge Blüten der ersten Bewegungsperiode verwendet. 10 Blüten wurden samt Petiolus mittels Schere von der Pflanze abgetrennt und in einen mit einer 1mM Auxinlösung gefüllten Erlenmayerkolben gestellt. Die übrigen Blüten verblieben an der Mutterpflanze und wurden an ausgewählten Stellen mit kleinen Tropfen (20 µl) IAA-Lösung versehen. Alle untersuchten Blüten wurden während des gesamten Experiments nicht aus ihrer gewohnten Umgebung im Glashaus entfernt, um etwaige Stressreaktionen zu vermeiden. Das Wachstumshormon wird also entweder über die wässrige Lösung im Kolben durch den Petiolus oder über die Tröpfchen durch die Epidermis aufgenommen. Der pH-Wert der wässrigen Lösungen sollte möglichst neutral (pH 7)

sein und muss gegebenenfalls mit 0,1M KOH oder mit 0,1M HCl reguliert werden. Da Auxin das Streckungswachstum fördert und induziert, sollte nach der Aufnahme von IAA eine Reaktion in Form einer Bewegung beobachtet werden können. Das Experiment wurde mit geöffneten und geschlossenen Blüten durchgeführt. Der Öffnungswinkel der Blüten ergibt sich aus der Position zwischen dem dorsalen Sepalum und den unbeweglichen lateralen Sepalen und entspringt am Blütenboden am Ende des Blütenstiels (Kogler, 2010). Eine eventuell durchgeführte Bewegung wird über die Veränderung des Öffnungswinkels gemessen. Zusätzlich wird die Bewegung mittels einer Digitalkamera mit Serienbildfunktion dokumentiert, indem im 5-Minuten-Rhythmus ein Foto der Blütenposition gemacht wird.

2.3.3 Ergebnisse

Keine der untersuchten Pflanzen zeigte eine unmittelbare Reaktion auf die Behandlung mit Auxin. Der Öffnungswinkel beträgt zum Zeitpunkt der ersten Öffnung durchschnittlich 78°. Nach 8 Stunden konnte keine Veränderung des Öffnungswinkels und somit keine Bewegung festgestellt werden (Abb. 14). Weder die abgeschnittenen Blüten mit Blütenstiel noch die an der Pflanze verbliebenen Blüten reagierten auf IAA. Auch die aufgenommenen Bilder zeigen keine Veränderung des Öffnungszustandes.

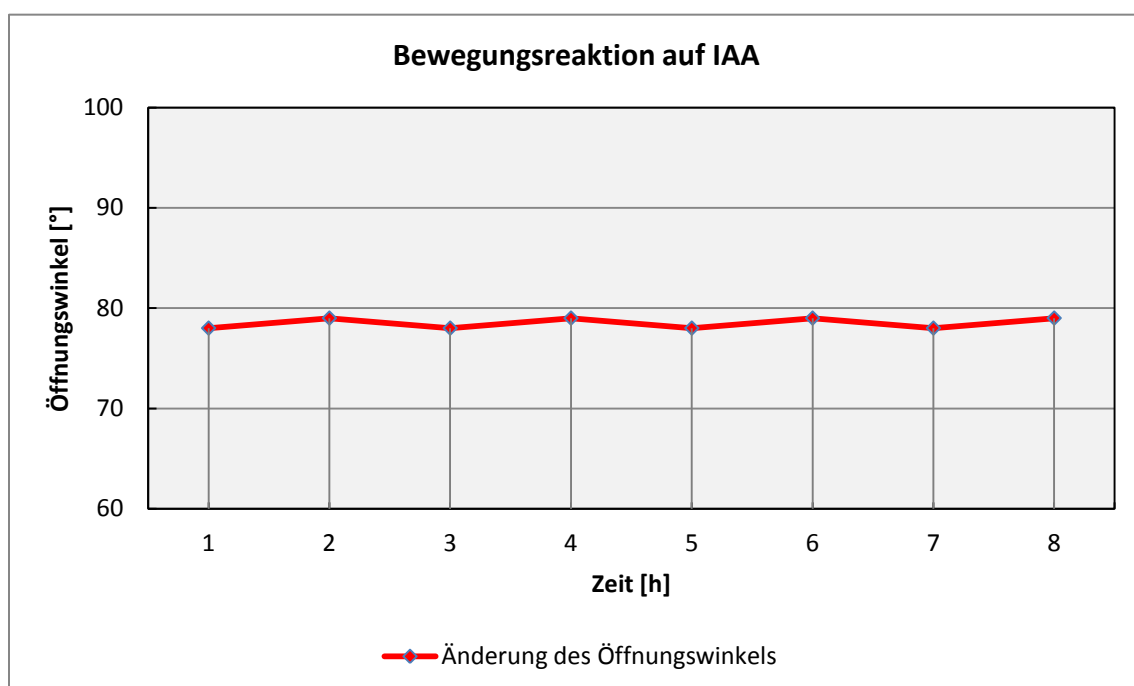


Abb. 14: Keine Änderung des Öffnungswinkels nach der Behandlung mit IAA

Wider Erwarten verschoben sich die mittleren Öffnungs- und Schließzeiten (siehe auch Kogler, 2010) in den darauffolgenden Bewegungsperioden um durchschnittlich 2 Stunden nach hinten. Die Blüten beginnen sich nicht wie sonst üblich um durchschnittlich 02:20 Uhr, sondern erst um durchschnittlich 04:30 Uhr morgens zu öffnen. Die Schließung erfolgt durchschnittlich kurz vor Mitternacht, also ebenfalls mehr als 2 Stunden später als im normalen Rhythmus. Auffallend ist, dass sich die Blüten während dieser Zeit überhaupt nicht mehr bewegen und auch die rhythmischen nickenden Bewegungen des Blütenstiels, die normalerweise zwischen einer Öffnung und der nächsten Schließung oder umgekehrt zu beobachten sind, eingestellt wurden.

2.3.4 Diskussion

Das Einrollen der Fangblätter von *Drosera capensis* ist auf einen internen Auxintransport von der Blattspitze zu dem Punkt, an dem das Beutetier von den klebrigen Tentakeldrüsen festgehalten wird, zurückzuführen (Bopp & Weber, 1981). Die Zugabe von IAA verstärkt die Reaktion beträchtlich: sie startet früher und zeigt eine steilere Kurve als bei der Kontrolle. Eine an der Blattspitze aufgebrachte IAA-Lösung stimuliert das Wachstum an der Stelle des Blattes, wo die Beute festklebt. Ein longitudinaler Transport von Auxin muss somit in der Reaktionskette eine Rolle spielen. Auch in den Fiederblättchen von *Mimosa pudica* wird durch die Behandlung mit Auxin eine Bewegungsreaktion ausgelöst (Umrath et al., 1978). Bei den Koleoptilen von *Triticum aestivum* (Arnal, 1953) und dem Hypokotyl von *Phaseolus vulgaris* (Heathcote, 1965) konnte ein Zusammenhang von Circumnutation und Auxintransport nachgewiesen werden. Die Krümmung der Organe während der Nutation schreitet entsprechend dem Transport von IAA von der Spitze zur Basis des Organs (basipetal) fort. Die Nutationsbewegungen der Sprossachsen von *Pisum sativum* endeten nach Zugabe von Auxin Transport Inhibitoren (NPA) (Britz & Galston, 1983). Obwohl viele Studien zeigen, dass IAA bei Nutationen eine große Rolle spielt, reicht seine bloße Anwesenheit nicht aus, um Bewegungen dieser Art hervorzurufen (Anker, 1972). Nutationsbewegungen scheinen eher von der natürlichen polaren Bewegung von IAA durch die Pflanze abzuhängen (Minorsky, 2003).

Dass die Blüten von *B. lobbii* keine Reaktion auf die Behandlung mit Auxin zeigten, hängt eventuell mit der Verwendung zu hoher oder zu niedriger Auxinkonzentrationen zusammen. Der Stillstand der Blütenbewegung ist demnach eventuell auf einen Stresszustand der Pflanzen zurückzuführen. Auch veränderte Lichtintensitäten und hohe Temperaturen können bei der Blütenbewegung von *B. lobbii* als Stressfaktor wirken. Die Bewegung wird folglich abgeschwächt oder eingestellt (Kogler, 2010). Die geeignete Dosierung ist in den meisten Fällen schwierig und muss für jede Pflanzenart und für jedes Gewebe eigens abgestimmt werden (Ueda & Nakamura, 2006). Auch nach der Akkumulation anderer Auxinkonzentrationen (0,4mM und 2,8mM, 10^{-2} - 10^{-3} M (Ueda, Nakamura, 2006), 2mM – 0,5mM (Watanabe & Umrath, 1983) konnte bei der Blütenbewegung von *B. lobbii* kein stimulierender Einfluss von IAA festgestellt werden. Da die Auxin-Konzentration in lebenden Geweben in vivo normalerweise optimal ist, zeigt zusätzliche Applikation von Auxin keine wachstumsfördernde, sondern im Gegenteil oft hemmende Wirkung. Die hemmende Wirkung zu hoher Auxin-Konzentrationen wird mit der von Auxin ebenfalls induzierten Ethylen-Produktion in Zusammenhang gebracht. Ethylen zeigt bereits in sehr geringen Konzentrationen hemmende Wirkung (Biskup, 2003). Auch die verspäteten Öffnungs- und Schließzeiten sind möglicherweise darauf zurückzuführen.

2.4 Behandlung mit dem Atmungsgift NaN_3

2.4.1 Einleitung

Die Wasseraufnahme erfolgt beim Wachstum hauptsächlich durch Osmose. Der osmotische Wert des Zellsaftes wird durch die Wasseraufnahme stark verringert. Es müssen laufend osmotisch wirksame Substanzen in die Vakuole nachgeliefert werden, damit das Wachstum nicht eingestellt wird. Dabei wird der assimilatorische Stoffwechsel beansprucht, denn es müssen die benötigten Substanzen aus der Photosynthese oder aus der Mobilisierung von Reservestoffen zur Verfügung gestellt werden. Zusätzlich wird der dissimilatorische, Energie liefernde Stoffwechsel beansprucht, da die Substanzen in die Vakuole gegen einen Konzentrationsgradienten transportiert, also durch Aufwendung von Energie

hineingepumpt werden müssen (osmotische Arbeit). Erfordernis für das Wachstum ist eine plastisch dehnbare Zellwand. Diese plastische Dehnbarkeit erfordert die Synthese und Einlagerung neuer Zellwandfibrillen. Somit wird auch für die Zellwandsynthese beim Wachstum der assimilatorische Stoffwechsel benötigt. Zumindest für die Konzentrierung der Wandsubstanz in den Golgi-Vesikeln und ihr Transport an den Ort der Einlagerung benötigt Energie aus der Dissimilation. Auch die Plasmamembranen, vor allem der Tonoplast und das Plasmalemma, erfordern ein erhebliches Flächenwachstum und stellen ebenfalls Ansprüche an den Stoffwechsel. Ein intakter Atmungsstoffwechsel ist Voraussetzung für das Wachstum. Eine Hemmung der Atmung um wenige Prozent kann zu einer drastischen Wachstumshemmung führen. Der optimale Bereich gegenüber verschiedenen Außenfaktoren ist für das Wachstum häufig enger als für die Atmung (Bünning, 1948; Haupt, 1977).

2.4.2 Material und Methoden

- 20 Blüten von *Bulbophyllum lobbii* (10 geöffnete und 10 geschlossene Blüten)
- Natriumazid-Lösung (NaN_3 40 mM)
- 10 Erlenmeyerkolben
- Rasierklinge
- Geodreieck oder Winkelmesser

Durch Zusatz des Atemgifts Natriumazid NaN_3 (Url, 1958) sollte das Wachstum gehemmt werden. Für das Experiment werden 5 geöffnete und 5 geschlossene Blüten unterschiedlichen Alters am unteren Ende des Blütenstiels von der Pflanze abgetrennt und in mit 40 mM Natriumazid-Lösung gefüllte Erlenmeyerkolben gestellt. Zwei Individuen von *B. lobbii* werden mit reichlich Natriumazid-Lösung gegossen. *B. lobbii* 210_82 VI trägt 5 Blüten unterschiedlichen Alters und wird um 11: 00 Uhr gegossen, wenn alle darauf befindlichen Blüten vollständig geöffnet sind. Um 23:00 Uhr wird die Lösung mit dem Atemgift *B. lobbii* 210_82 XIV zugegeben, dessen 5 Blüten zu dieser Zeit vollständig geschlossen sind. Die Pflanzen verbleiben während des Experiments im Glashaus. Der Hemmungsgrad des Wachstums wird über die Änderung des Öffnungswinkels mit der Zeit gemessen. Mithilfe eines Winkelmessers

kann der Öffnungswinkel der Blüten nach jeder vergangenen Stunde bestimmt werden. Der Öffnungswinkel der Blüten ergibt sich aus der Position zwischen dem dorsalen Sepalum und den unbeweglichen lateralen Sepalen und entspringt am Blütenboden am Ende des Blütenstiels (Kogler, 2010). Zur Kontrolle wird die Änderung der Öffnungswinkel von 10 unbehandelten Blüten dokumentiert. 5 davon werden mittels Rasierklinge von der Pflanze abgeschnitten und in Erlenmeyerkolben mit Wasser gestellt, die restlichen 5 verbleiben an den Pflanzen und werden mit reinem Leitungswasser gegossen.

2.4.3 Ergebnisse

Nach der erfolgreichen Aufnahme von Natriumazid kam es bei allen untersuchten Blüten zu einem Bewegungsstopp. Die abgeschnittenen und in den Kolben gestellten Blüten zeigten nach der Behandlung mit dem Atmungsgift gar keine Bewegung mehr (Abb. 15). Die Blüten sind unterschiedlich alt und weisen daher sehr unterschiedliche Öffnungswinkel von 93 - 118 ° im offenen und von 52 – 96 ° im geschlossenen Zustand auf. Die einzelnen Öffnungswinkel verändern sich in den folgenden 12 Stunden nicht. Die in Abbildung 15 angegebenen Werte der stündlich gemessenen Öffnungswinkel entsprechen den Mittelwerten aller untersuchten geöffneten beziehungsweise geschlossenen Blüten.

Die von der Pflanze abgetrennten und in reines Wasser gestellten Blüten führten ihren gewohnten Bewegungsrhythmus fort (Abb. 16). Die um 11:00 Uhr geöffnet abgetrennten Blüten beginnen nach durchschnittlich 5 Stunden (ab 16:00 Uhr), sich zu schließen. Der Öffnungswinkel beträgt zunächst durchschnittlich 107,8 ° und nimmt in den folgenden Stunden ab, bis die Blüten vollständig geschlossen sind und einen durchschnittlichen Öffnungswinkel von 78,4 ° einnehmen. Der Öffnungswinkel der geschlossenen Blüten vergrößert sich hingegen sofort. Nach durchschnittlich 6 Stunden sind die Blüten geöffnet und weisen einen durchschnittlichen Öffnungswinkel von 106, 8 ° auf (Abb.16).

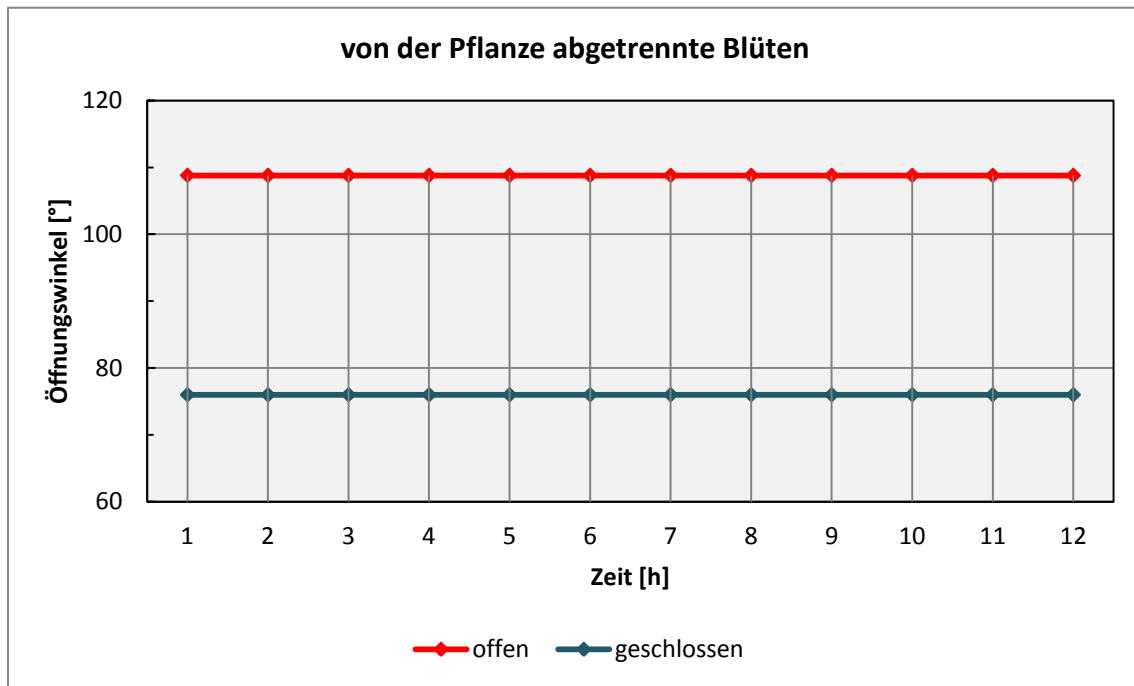


Abbildung 15: Keine Änderung des Öffnungswinkels nach der Aufnahme von Natriumazid über den Petiolus einer von der Pflanze abgetrennten Blüte von *B. lobbii*

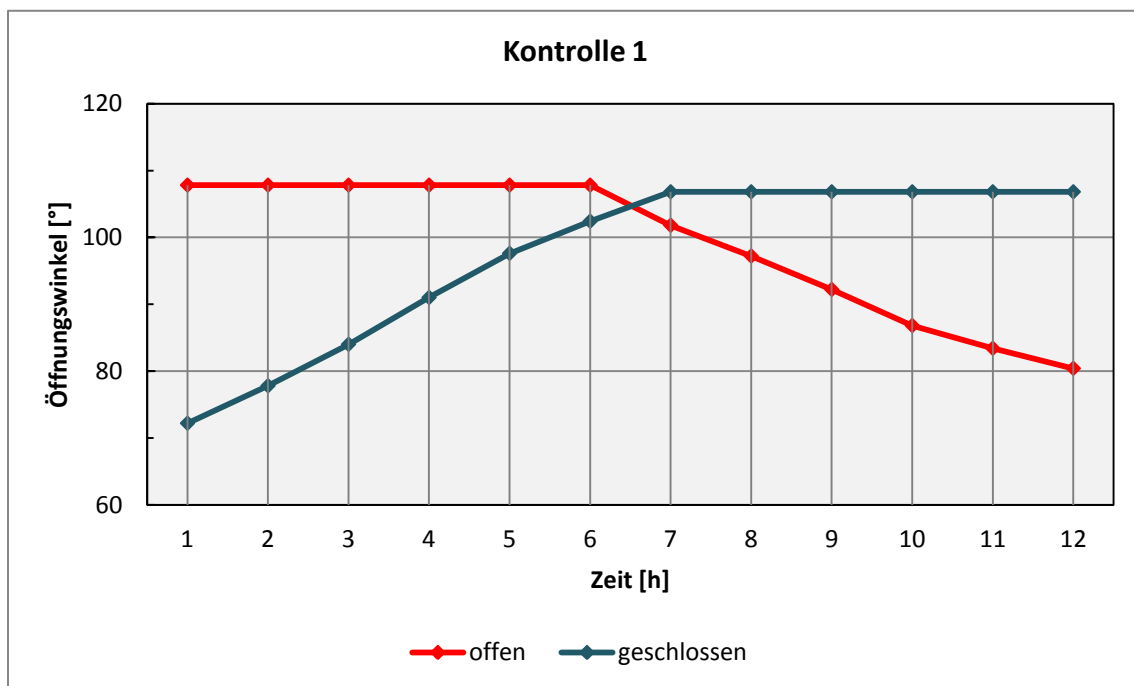


Abbildung 16: Änderung des Öffnungswinkels unbehandelter, von der Pflanze abgetrennter und in Wasser situierter Blüten von *B. lobbii* (Kontrolle 1)

Die an der Pflanze verbliebenen Blüten bewegen sich nach der Zugabe des Atemgifts nur geringfügig (Abb. 17). Die geöffneten Blüten weisen Öffnungswinkel von 91–135° auf. Nach 4 Stunden ist eine Verkleinerung des Öffnungswinkels um

durchschnittlich $8,6^\circ$ zu beobachten. 2 der untersuchten Blüten verringern ihren Öffnungswinkel bis zur 6. Stunde nach der Behandlung. Danach bleibt der Öffnungswinkel jeder einzelnen Blüte konstant und beträgt zwischen 83 und 128° . Ähnlich verhält es sich bei den im geschlossenen Zustand gegossenen Blüten. Der Öffnungswinkel beträgt hier zuerst zwischen 61° und 102° und nimmt nach ungefähr 4 Stunden um durchschnittlich $4,2^\circ$ zu. Anschließend kommt es zu keiner weiteren Vergrößerung des Öffnungswinkels. Abbildung 17 sind die Mittelwerte der stündlich dokumentierten Öffnungswinkel aller untersuchten geöffneten beziehungsweise geschlossenen Blüten zu entnehmen.

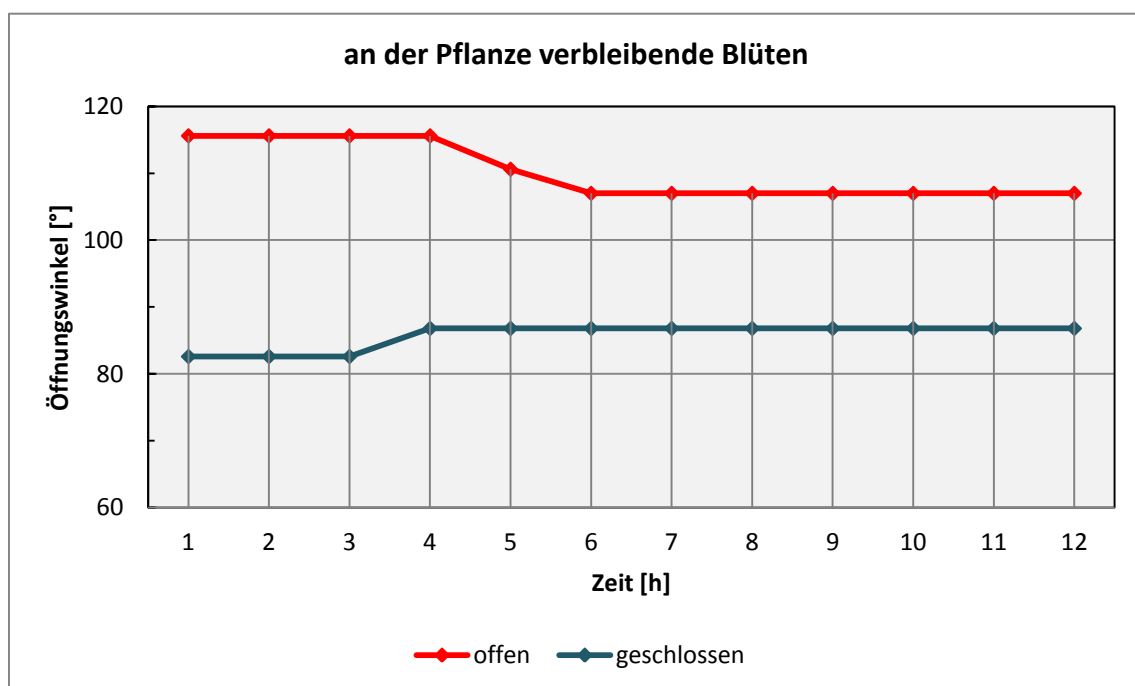


Abbildung 17: Geringe Änderung des Öffnungswinkels nach der Aufnahme von Natriumazid einer an der Mutterpflanze befindlichen Blüte

Die mit reinem Leitungswasser gegossenen Kontrollblüten führen wie erwartet eine Bewegung aus und verändern demnach deutlich ihren Öffnungswinkel (Abb. 18). Geöffnete Blüten beginnen nach 5 Stunden damit, ihren Öffnungswinkel von durchschnittlich 109° kontinuierlich zu verkleinern. Nach weiteren 6 Stunden sind sie vollständig geschlossen mit einem Öffnungswinkel von durchschnittlich $79,8^\circ$. Die geschlossenen Kontrollblüten verändern ihren Öffnungswinkel von durchschnittlich $74,8^\circ$ erneut bereits in den ersten 6 Stunden, bis die Öffnung abgeschlossen und ein Winkel von durchschnittlich $109,6^\circ$ eingenommen wird (Abb. 18).

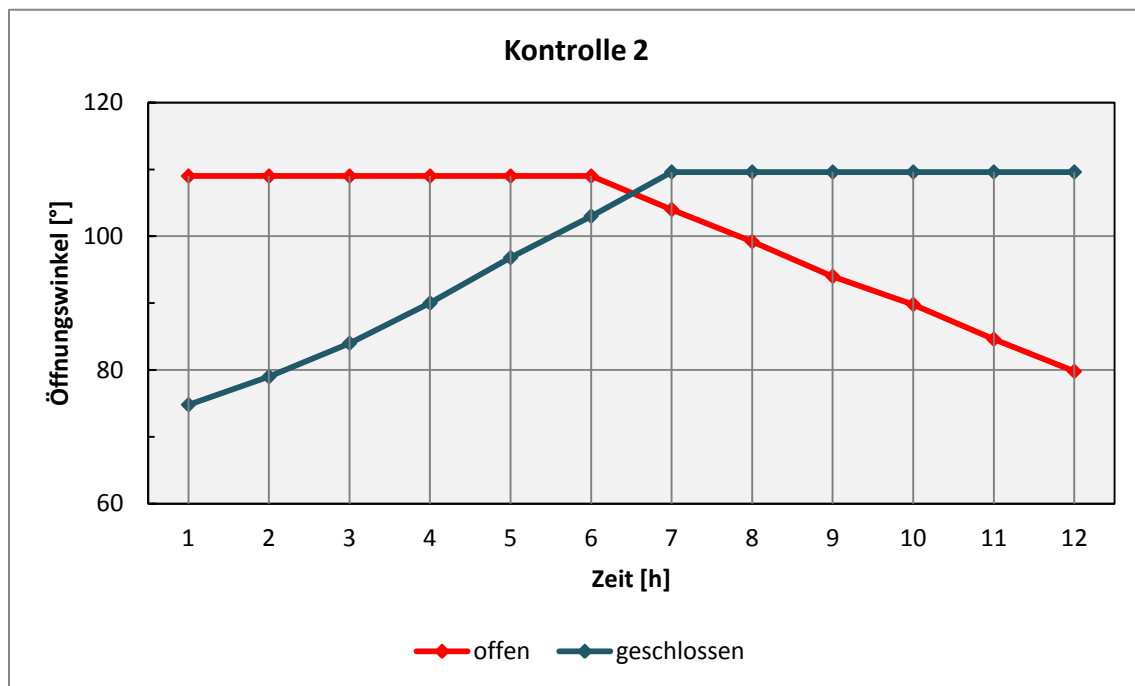


Abbildung 18: Änderung des Öffnungswinkels unbehandelter, an der Pflanze befindlicher Blüten von *B. lobbii* (Kontrolle 2)

2.4.4 Diskussion

Wird die Atmung der Pflanze gehemmt oder unterbrochen, so müsste es bereits nach wenigen Minuten zu einem Wachstumsstopp aller betreffenden Organe kommen (Ray, 1961, Schopfer, 2006). Alle mit dem Atmungsgift behandelten Blüten stellen tatsächlich schon nach kurzer Zeit ihre Bewegungsaktivität ein. Da die Synthese von neuem Pflanzenmaterial Energie aus dem Atmungsstoffwechsel benötigt, könnten diese Ergebnisse auf einen Zusammenhang der Bewegung mit Wachstumsprozessen in den beteiligten Blütenteilen hindeuten. Da allerdings auch Turgorbewegungen auf Wasseraufnahme durch Osmose und auf Veränderungen in der Zellwand und im Zellinneren beruhen, sind auch sie auf einen intakten Atmungsstoffwechsel angewiesen. Um die Annahme zu festigen, dass die Blütenbewegung von *Bulbophyllum lobbii* auf regionalen Wachstumsverschiedenheiten beruht, müssen daher weitere Untersuchungen durchgeführt werden.

2.5 Bestimmung des Osmotischen Potentials

2.5.1 Einleitung

Die Nettoaufnahme- oder abgabe von Wasser in einer Zelle erfolgt durch Osmose. Dabei findet ein passiver Transport von Wasser durch eine semipermeable Membran statt. Das Wasser fließt dabei immer von einer niedrigkonzentrierten (hypotonischen) Lösung in Richtung der höherkonzentrierten (hypertonischen) Lösung. Die Zellwand der Pflanzenzelle übt dabei einen Gegendruck auf die turgeszenten Zellen aus und wirkt der Aufnahme von Wasser entgegen. Die Konzentration der gelösten Substanzen und der Druck der Zellwand auf die Zelle bilden zusammen das Wasserpotential Ψ der Zelle. Wasser bewegt sich durch eine Membran stets von der Lösung mit dem höheren Potential zu der Lösung mit dem niedrigeren Potential.

$$\Psi = \Psi_P + \Psi_S$$

Das Druckpotential (Ψ_P) entspricht dem physikalischen Druck der Zellwand auf die Lösung. Ψ_S ist das Potential gelöster Substanzen und verhält sich indirekt proportional zur Konzentration gelöster Stoffe in einer Lösung. Ψ_S wird auch osmotisches Potential (Ψ_π) genannt. Der Druck auf eine Lösung (Ψ_P) kann entweder positiv oder negativ sein. Ein negativer Druck ergibt eine Saugspannung. Hingegen ist Ψ_S immer negativ. Je größer die Konzentration der gelösten Stoffe, umso negativer wirkt Ψ_S (Campbell, 1997).

Die Blattentwicklung reagiert sensibel auf Wassermangel. Bereits ein geringer Verlust des Zellurgors kann zu einer Reduktion der Volumenzunahme führen (Dale, 1988). Die Auflockerung der Zellwand während der Ausdehnung führt zur Abnahme des Turgordrucks. Dadurch wird das Wasserpotential der Zellen sich ausdehnender Gewebe gesenkt, wodurch ein wachstumsabhängiger Wasserpotentialgradient zwischen expandierendem und vollentwickeltem Gewebe aufrecht erhalten werden kann (Nonami et al., 1987; Boyer 1988).

Die Abhebung des lebenden Protoplasten von der Zellwand, die durch das Vorhandensein einer äußeren wasserentziehenden Lösung hervorgerufen wird, wird als Plasmolyse bezeichnet (de Vries, 1877). In einer hypertonischen Umgebung, in

der eine höhere Konzentration gelöster Ionen vorliegt, besitzt die Zelle zunächst ein höheres Wasserpotential als ihr Umfeld. Wasser strömt aus der Zelle aus und Plasmolyse setzt ein. Die Zelle verliert so lange Wasser, bis das Wasserpotential von Zelle und Umgebung ausgeglichen sind. In einem hypotonischen (niedriger konzentrierten) Medium ist das Wasserpotential der Zelle vorerst niedriger als das ihrer Umgebung. Die Zelle nimmt folglich Wasser durch Osmose auf und wird turgeszent. Das osmotische Gleichgewicht wird erreicht, wenn der Gegendruck der elastischen Zellwand der Wasseraufnahme entgegenwirkt und die Werte für die Wasserpotentiale der Zelle und des umliegenden Mediums gleich sind (Campbell, 2003). Der Protoplast kann sich bei Plasmolyse auf unterschiedliche Weise von der Zellwand ablösen. Am häufigsten treten konkave und konvexe Plasmolyseformen auf (Oparka, 1994). Die Plasmolyseform gibt Hinweise über den physiologischen Zustand des Protoplasten (Stadelmann, 1956, 1966) und über die Bindung des Protoplasten an die Zellwand (Lee-Stadelmann et al., 1984). Hypertonische Lösungen bewirken eine schnelle, konvexe Plasmolyse (Küster, 1929), bei der sich der Protoplast von den schmälere transversalen Wänden ablöst und konvexe Enden aufweist (Oparka, 1994).

Der Zustand, in dem sich die Pflanzenzelle in einer isotonischen Lösung befindet, heißt Grenzplasmolyse. Der Gegendruck der Zellwand entspricht genau dem Turgordruck und die Saugkraft der Zelle ist gleich Null. Bei Grenzplasmolyse beginnt sich das Cytoplasma langsam und leicht von der Zellwand abzulösen (Derry, 1929, Stadler, 1966).

Falls es bei der Blütenbewegung von *Bulbophyllum lobbii* zu Wasserumlagerungen von vollentwickeltem Gewebe der Laubblätter und des unteren Teiles des Blütenstiels zu sich ausdehnendem Gewebe der Blütenblätter und des oberen Teiles des Blattstiels kommt, müssten die einzelnen Pflanzenteile unterschiedliches osmotisches Potential aufweisen. Beruht die Bewegung auf einer reversiblen Änderung des Turgordrucks in den Zellen der Kronblätter, geht sie mit einer rhythmischen Änderung des osmotischen Potentials in den betroffenen Zellen einher. Demnach müsste das osmotische Potential der inneren Epidermis tagsüber höher sein als nachts. Die vorangegangenen Untersuchungen haben bereits gezeigt, dass Wachstumsbewegungen an der Bewegung beteiligt sind. Die Wasseraufnahme

erfolgt auch beim Wachstum, also bei der irreversiblen Wasseraufnahme, hauptsächlich durch Osmose. In sich entwickelnden Zellen sinkt durch Konzentrierung ihrer Vakuolen ihr osmotisches Potential, wodurch Wasser für Wachstum in ihre Zellen aufgenommen werden kann. Der osmotische Wert des Zellsaftes wird durch die Wasseraufnahme stark verdünnt. Es müssen dabei laufend osmotisch wirksame Substanzen in die Vakuole nachgeliefert werden, damit das Wachstum nicht eingestellt wird. (Haupt,1966).

Sind Wasserumlagerungen an der Bewegung beteiligt, so sind in beiden Fällen osmotische Änderungen in den an der Bewegung beteiligten Pflanzenteilen zu erwarten.

2.5.2 Material und Methoden

a) Ermittlung der Zellsaftkonzentration mittels Grenzplasmolyse:

- 10 Blüten von *Bulbophyllum lobbii* (5 geöffnete und 5 geschlossene)
- Handmikrotom
- Verdünnungsreihe einer NaCl-Lösung
- Lichtmikroskop
- Objektträger
- Federpinzette

Verdünnungsreihe: Der errechnete Wert wird mittels Gefrierpunkt-Osmometer überprüft (Tab. 1):

Osmolarität [osmol/ L]	
errechneter Wert	gemessener Wert
0,1	0,112
0,2	0,209
0,25	0,262
0,3	0,326
0,35	0,371
0,4	0,438
0,45	0,474
0,5	0,514

Tabelle 1: Eichungsreihe der errechneten
Werte der NaCl- Lösung

Zur Ermittlung der Zellsaftkonzentration werden mittels Handmikrotom Flächenschnitte der oberen und der unteren Epidermis der dorsalen Sepalen angefertigt. Die Gewebestückchen werden anschließend auf einem Objektträger platziert und mit verschiedenen Konzentrationen der hypertonischen Lösung versehen. Nach 5 Minuten wird unter dem Lichtmikroskop untersucht, bei welcher Konzentration Grenzplasmolyse eingetreten ist, das heißt der osmotische Wert des Zellsaftes genau dem der verwendeten Außenlösung entspricht. Durch Auszählen von jeweils 50 Zellen wird ermittelt, wie hoch der Prozentsatz der plasmolysierten Zellen ist.

b) Presssaftmethode:

- 50 Blüten (25 geöffnete und 25 geschlossene), 3 Laubblätter, 10 Blütenstiele von *Bulbophyllum lobbii*
- Flüssiger Stickstoff

- 4°-Kammer
- Spritze
- Filterpapier
- Pipette
- Eppendorfgefäße
- Zentrifuge
- Osmometer

5 geöffnete und 5 geschlossene Blüten werden mittels Rasierklinge am terminalen Ende des Blütenstiels von der Pflanze abgetrennt. Außerdem werden insgesamt 3 Laubblätter sowie die Blütenstiele vom Rest der Pflanze abgeschnitten. Anschließend werden von 20 geöffneten Blüten und von 20 geschlossenen Blüten (je 4 der ersten 5 Bewegungsperioden) die Blütenblätter separat abgetrennt. Die Blüten, die Blattstiele und die Laubblätter werden sofort im Anschluss in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Danach wird das Pflanzenmaterial in der 4°-Kammer aufbewahrt. Die gefrorenen Pflanzenteile werden in eine Plastikspritze mit eingelegtem Filterpapier gefüllt und bei Raumtemperatur aufgetaut. Da für die Durchführung des Versuches mindestens 20 µl Presssaft benötigt werden, müssen für die Herstellung eines Presssaftes aus den einzelnen Blütenteilen je 2 analoge Blütenblätter (zum Beispiel zwei dorsale Sepalen) verwendet werden. Der Presssaft wird aus der Spritze herausgedrückt, gleichzeitig mittels Pipette aufgesogen und in ein Eppendorfgefäß überführt. Die durch die Eiskristallbildung zerstörten Zellwände und Plasmagrenzschichten geben bei entsprechendem Druck den Zellinhalt frei. Um störende Schwebstoffe im Presssaft zu entfernen, wird dieser anschließend 5 Minuten lang zentrifugiert. Die so erhaltene Suspension wurde im Gefrierpunktosmometer auf ihre Osmolarität hin gemessen.

Ein Osmol ist eine Einheit für die Anzahl an gelösten Substanzen, die in 1 L Lösung unter Normalbedingungen einen osmotischen Druck von 2269 kPa (=22,4 atm) erzeugt. Für Stoffe, die in Lösung nicht in Ionen zerfallen, entspricht 1 mol/ L 1 osmol/ L.

c) Plasmometrische Methode:

- 20 Blüten von *Bulbophyllum lobbii* (10 geöffnete und 10 geschlossene)
- Mikrotom
- 0,5 osmolare Mannitol-Lösung ($C_6H_8(OH)_6$), MG = 182,17 g/mol)
- Lichtmikroskop
- Objektträger
- Federpinzette

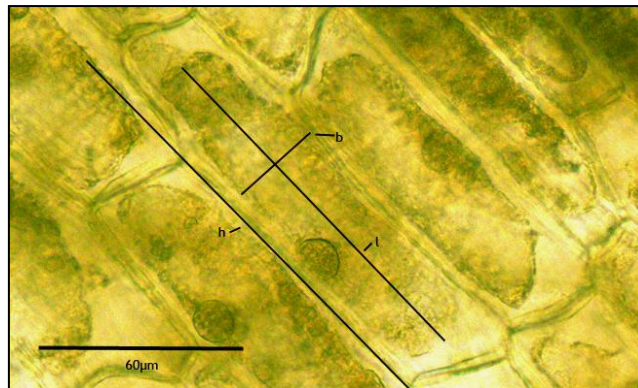


Foto 5: Flächenschnitt des dorsalen Sepalums von

B. lobbii: Bestimmung der Parameter in den Epidermiszellen, nach Höfler (1981)

Die plasmometrische Methode (Höfler, 1918) gibt das Verhältnis vom Volumen des Protoplasten zum Volumen der Zelle an. Die Konzentration des Zellsaftes steht zu seinem Volumen in linearer Beziehung. Im Zustand des osmotischen Gleichgewichts ist das Volumen des abgehobenen Protoplasten dem Hypertoniegrad des Plasmolytikum umgekehrt proportional (Abb. 19) (Härtel, 1962).

$$G = \frac{1 - \frac{b}{3}}{h}$$

$$OW = G * c$$

OW= osmotischer Wert, G = Plasmolysegrad (dimensionslos),

C = Konzentration des Plasmolytikums (osmol) (nach Höfler, 1981)

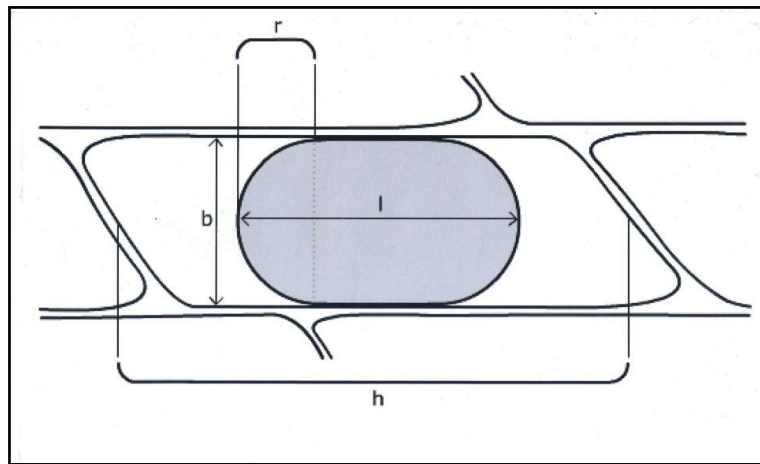


Abb. 19: Darstellung einer plasmolysierten Zelle im hypertonen

Medium, l = Länge des Protoplasten, h = innere Zelllänge,

b = innere Zellbreite ($b = 2r$)

Mittels Handmikrotom werden Flächenschnitte der dorsalen Sepalen angefertigt. Die Zellen der unterschiedlichen Epidermisschichten werden mit einer osmotisch wirksamen 1 molaren Mannitollösung versehen. Anschließend werden die plasmolysierten Zellen der inneren und der äußeren Epidermis von geöffneten und geschlossenen Blüten lichtmikroskopisch untersucht und die entsprechenden Größen aus Abbildung 19 bestimmt (Foto 5).

2.5.3 Ergebnisse

a) Zellsaftkonzentration mittels Grenzplasmolyse

Die Anzahl plasmolysierter Zellen nimmt mit steigender Konzentration der Außenlösung zu (Abb 20). Bei einer Konzentration von 0,35 osmol/ L zeigen bereits 50 % der gezählten Epidermiszellen Grenzplasmolyse (Foto 6). Dieser Wert entspricht dem durchschnittlichen osmotischen Wert der Epidermiszellen und stellt somit den gesuchten Grenzplasmolysewert dar (Abb. 20).

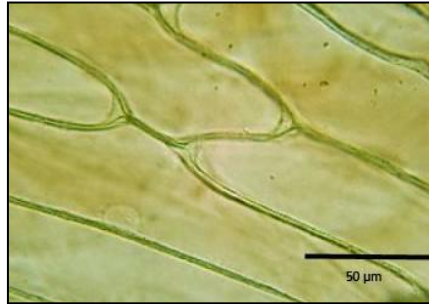


Foto 6: Grenzplasmolyse in den Epidermiszellen
der Blüten von *B. lobbii* bei 0,35 osmol CaCl₂:KCl - Lösung

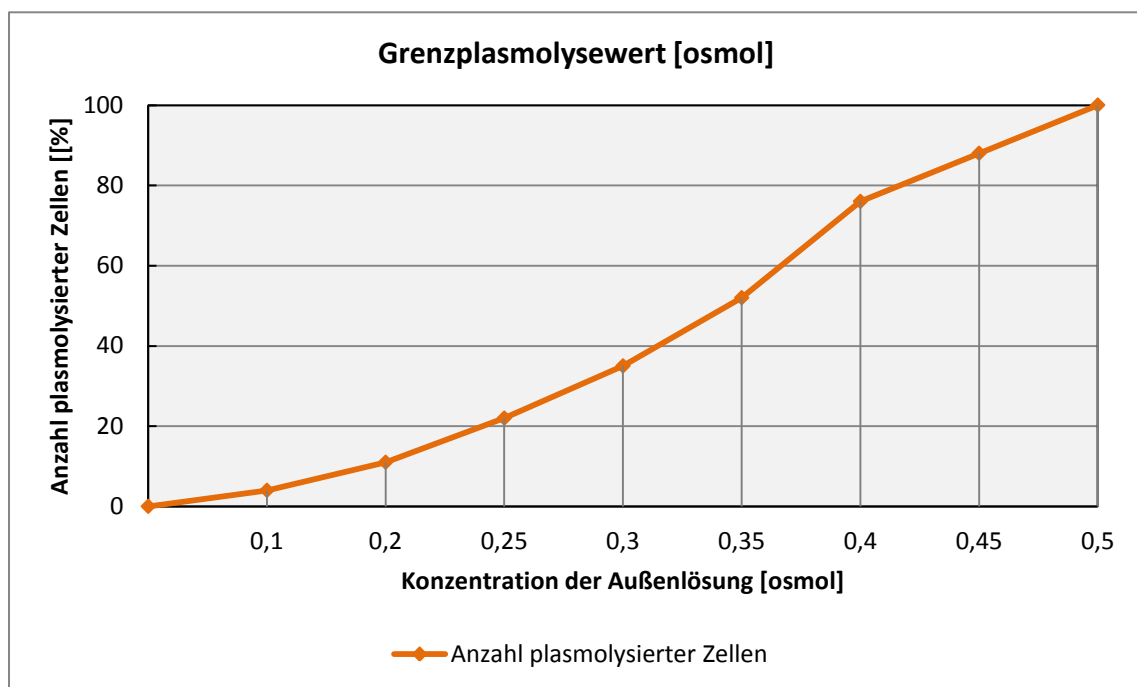


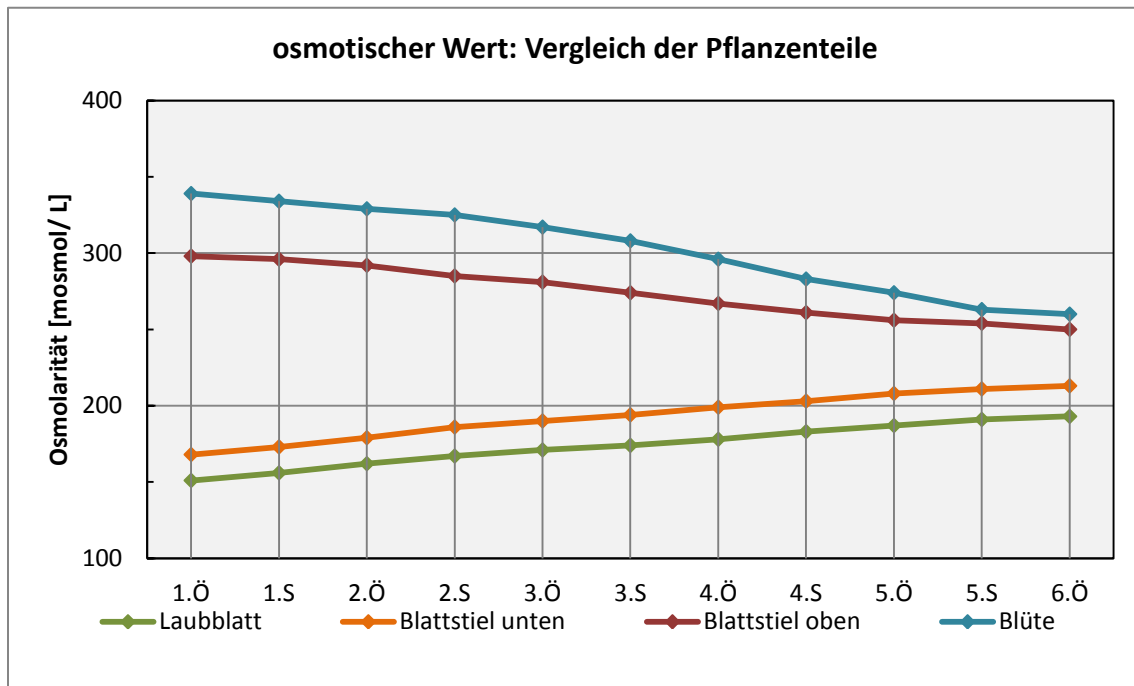
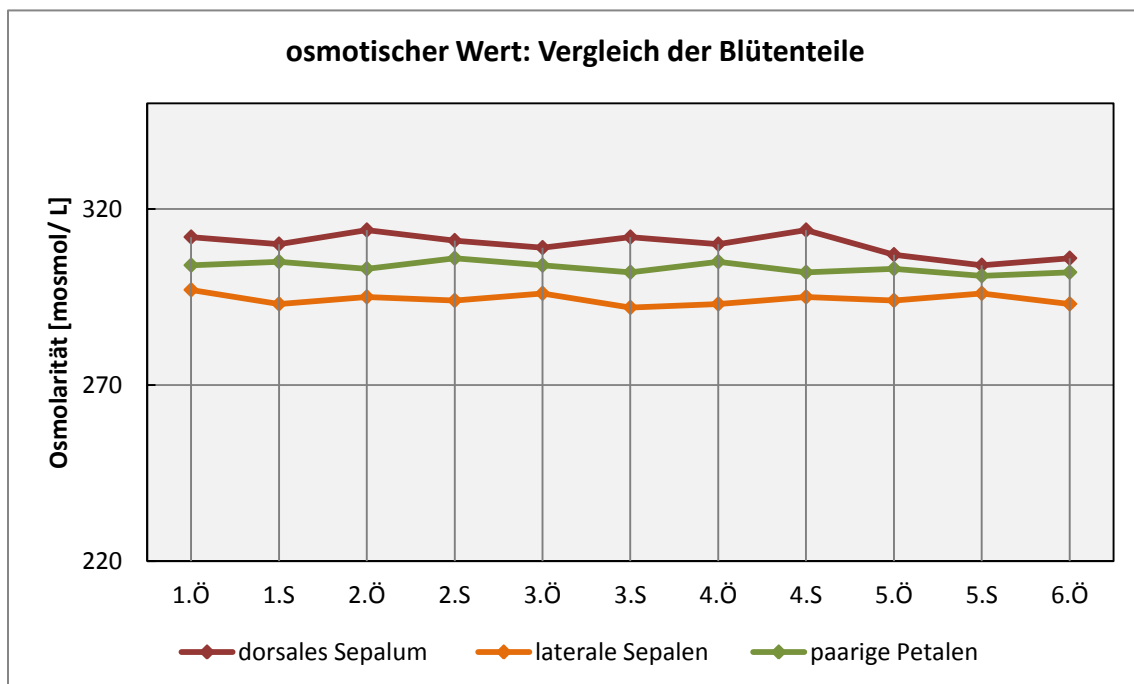
Abb 20: Zunehmende Anzahl plasmolysierter Zellen bei steigender Konzentration (osmol/ L)
der Außenlösung

b) Presssaft:

In Abbildung 21 ist die Änderung des osmotischen Druckes in den verschiedenen Pflanzenteilen graphisch dargestellt. Die Blüten weisen vom Zeitpunkt ihrer Entfaltung bis zum Ende der 5. Bewegungsperiode stets das niedrigste osmotische Potential auf. Sie besitzen zunächst eine Konzentration gelöster Substanzen von 339 mosmol. Der osmotische Druck nimmt mit der Zeit ab. Zum Zeitpunkt der 6. Öffnung weisen die Blüten Konzentrationswerte von durchschnittlich 260 auf. Der durchschnittliche osmotische Wert der Blüten über die ersten 5 Bewegungsperioden

beträgt 302 mosmol/ L. Das osmotische Potential der anderen Pflanzenteile ist demgegenüber deutlich höher. Die Konzentration der gelösten Substanzen beträgt in den Laubblättern zum Zeitpunkt der ersten Öffnung durchschnittlich 151 mosmol/ L und nimmt mit der Zeit zu. Auffallend ist die gegenläufige Änderung des osmotischen Druckes in den zwei getrennt untersuchten Teilen des Blütenstiels. Die Konzentration der osmotisch aktiven Teilchen im oberen Teil des Blütenstiels beträgt durchschnittlich 298 mosmol/ L und nimmt mit der Zeit zu. Der osmotische Druck ist hier stets höher als im unteren Teil des Blütenstiels. Der untere Teil des Blütenstiels weist zum Zeitpunkt der ersten Öffnung viel geringere Konzentrationswerte von durchschnittlich 168 mosmol /L auf und zeigt eine ansteigende Kurve. Tagesperiodische Schwankungen des osmotischen Wertes konnten in den untersuchten Pflanzenteilen nicht festgestellt werden (Abb. 21).

Der osmotische Wert in den Blütenblättern weist ebenfalls keine nennenswerten tagesperiodischen Schwankungen auf (Abb. 22). In den dorsalen Sepalen ist die Osmolarität mit durchschnittlich 312 mosmol/ L zum Zeitpunkt der ersten Öffnung und mit durchschnittlich 306 mosmol /L nach der 5. Bewegungsperiode relativ konstant und stets am höchsten. Der osmotische Wert der paarigen Petalen ist mit Konzentrationswerten zwischen 302 und 306 mosmol / L etwas niedriger. Die lateralen Sepalen weisen das höchste osmotische Potential auf, da die Konzentration der gelösten Substanzen hier zwischen 292 und 297 mosmol/ L beträgt und somit stets unter jener der anderen Blütenblätter liegt. Der durchschnittliche osmotische Wert beträgt im dorsalen Sepalum 310 mosmol/ L, in den lateralen Sepalen 294 mosmol/ L und in den paarigen Petalen 303 mosmol/ L (Abb. 22).

Abb. 21: Änderung des osmotischen Wertes in den Pflanzenteilen von *B. lobbii* mit der ZeitAbb. 22: Änderung des osmotischen Wertes in den Blütenteilen von *B. lobbii* mit der Zeit

c) Plasmometrie:

Der osmotische Wert nimmt in beiden Epidermisschichten mit der Zeit ab. Die Zellsaftkonzentration der äußeren Epidermis beträgt zum Zeitpunkt der ersten Öffnung durchschnittlich 412 mosmol. Während einer Öffnung ist sie stets höher als der entsprechende Wert der inneren Epidermiszellen, der bei der ersten Öffnung durchschnittlich 407 mosmol entspricht. Bei den Sepalen der geschlossenen Blüten zeigt es sich umgekehrt. Der osmotische Wert der inneren Epidermiszellen ist dann höher als jener der äußeren. Die durchschnittliche Konzentration der gelösten Substanzen über die ersten 5 Bewegungsperioden beträgt sowohl in der äußeren als auch in der inneren Epidermis durchschnittlich 371 mosmol.

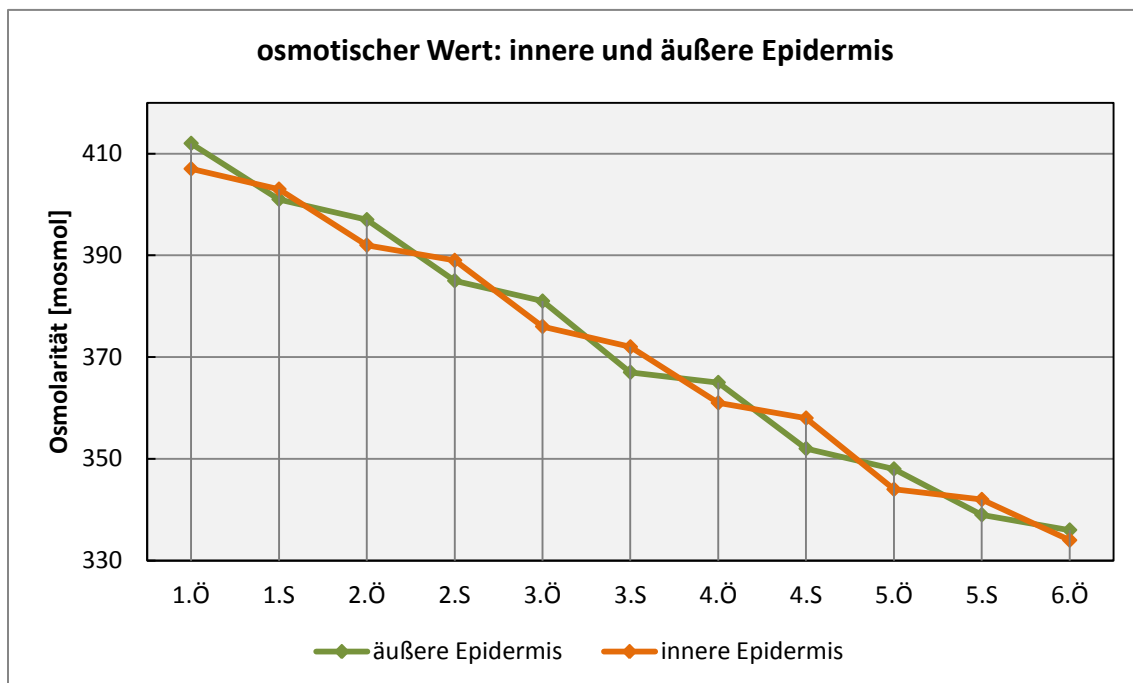


Abb. 23: Die Änderung des osmotischen Wertes in der äußeren und in der inneren Epidermis der dorsalen Sepalen von *B. lobbii* mit der Zeit

2.5.4 Diskussion

Die Bestimmung der Zellsaftkonzentration der Epidermiszellen mittels Grenzplasmolyse führte zu einem osmotischen Wert von 0,35 osmol (Abb. 20). Die plasmometrische Methode lieferte ein ähnliches Ergebnis, indem der durchschnittliche osmotische Wert 0,37 osmol beträgt (Abb. 23). Bei der Interpretation

der Presssaftanalyse stellt sich ein grundlegendes Problem. Der Presssaft, der aus den ganzen Blüten gewonnen wurde, weist eine Osmolarität von 0,3 osmol/ L auf (Abb. 21). Der osmotische Wert des Presssaftes der einzelnen Blütenteile beträgt für jeden Blütenblatttyp ebenfalls durchschnittlich 0,3 osmol/ L (Abb. 22). Diese Werte weichen deutlich von jenen der anderen Methoden ab. Da ein ganzes Organ für die Untersuchung herangezogen wird, kann es sein, dass zu viel Phloem- und Vakuolensaft miteinfließt und den osmotischen Wert des Zellsaftes verfälscht. Außerdem könnten osmotisch wirksame Substanzen im Pressrückstand zurückbleiben. Gewebisdifferenzierung kann bei der Presssaftmethode nicht mitberücksichtigt werden. Da jedoch alle Blüten und separaten Blütenteile gleich behandelt wurden, kann man mithilfe der Ergebnisse durchaus Rückschlüsse auf die Verhältnisse innerhalb der Blüte schließen. Die plasmometrische Methode ist genauer und viele Studien bedienten sich der Plasmolysefähigkeit der Pflanzenzelle, um die Zellsaftkonzentrationen individueller Zellen zu bestimmen (Geiger *et al.*, 1973, Evert *et al.*, 1977; Fisher & Evert, 1982; Russin & Evert, 1985).

Die Untersuchungen zeigen, dass die Blüten, egal ob offen oder geschlossen, von allen Pflanzenteilen das niedrigste osmotische Potential aufweisen (Abb.21). Das osmotische Potential des oberen Teiles des Blütenstiels ist höher, der Unterschied ist aber eher gering. Der untere Teil des Blütenstiels weist wiederum ein höheres osmotisches Potential auf als der obere Teil. Zum Zeitpunkt der ersten Öffnung beträgt der Unterschied 130 mosmol/ L, wird aber im Laufe der folgenden Bewegungsperioden kleiner. Das osmotische Potential der Laubblätter ist wiederum kleiner als das Letztere. Diese Ergebnisse könnten auf einen Wasserpotentialgradienten hinweisen, der das Wasser von den vollentwickelten Pflanzenteilen zu den sich ausdehnenden Zellen der Blüten transportiert.

Der Unterschied des durchschnittlichen osmotischen Potentials in den verschiedenen Pflanzenteilen ist zum Zeitpunkt der ersten Öffnung am größten (Abb.21). Der osmotische Wert der Blüten und des oberen Teil des Blattstiels nehmen mit der Zeit ab, das heißt ihr osmotisches Potential steigt im Laufe der Bewegungsperioden stetig an. Der untere Teil des Blattstiels und die Laubblätter zeigen eine entgegengesetzte Kurve. Ihr osmotisches Potential sinkt mit der Zeit. Nach der 6. Öffnung ist noch immer ein deutlicher Unterschied der osmotischen Werte der unterschiedlichen Pflanzenteile zu beobachten, aber die Differenz ist bereits viel kleiner. Die

Abschwächung der Bewegung und des Wachstums mit der Zeit könnten damit in Zusammenhang stehen.

Innerhalb einer Blüte weist das dorsale Sepalum durchschnittlich das niedrigste osmotische Potential auf (Abb. 22). Der Zellsaft der paarigen Petalen ist durchschnittlich weniger konzentriert als jener des dorsalen Sepalums. In den lateralen Sepalen ist die Zellsaftkonzentration am geringsten und das osmotische Potential höchsten. Der Unterschied zwischen den durchschnittlichen osmotischen Werten der verschiedenen Blütenblätter ist eher gering. Er könnte jedoch zu einem bevorzugten Transport von Wasser in die sich bewegenden und wachsenden Blütenblätter führen.

In den Zellen der äußeren und der inneren Epidermis kommt es zu einer tagesperiodischen Schwankung des osmotischen Wertes (Abb. 23). Die Zellsäfte der inneren Epidermiszellen weisen während einer Öffnung geringere Konzentrationen auf, als jene der äußeren Epidermiszellen. Das könnte darauf hindeuten, dass die inneren Epidermiszellen während einer Öffnung mehr Wasser aufnehmen und deshalb turgeszenter sind. Da es sich bei einer Schließung genau umgekehrt verhält (Abb. 23), ist ein Zusammenhang der gegenläufigen, tagesperiodischen Änderung des osmotischen Potentials mit dem Wachstum und der Bewegung der Blüte naheliegend.

Die gegenläufigen Schwankungen des osmotischen Potentials (Abb. 23) erklären vielleicht, warum der durchschnittliche osmotische Wert ganzer Blüten und ganzer Blütenteile relativ konstant (Abb. 21 und 22) ist. Demnach würden die Wasserumlagerungen beziehungsweise die Konzentrationsänderungen des Zellsaftes auf lokaler Ebene zwischen den Blütenblättern und zwischen den gegenüberliegenden Epidermisschichten stattfinden. Dies könnte erklären, warum das durchschnittliche osmotische Potential der gesamten Blüte keinen tagesperiodischen Schwankungen unterliegt.

2.6 Säulenchromatographie:

Hochdruck–Flüssigkeitschromatographie (HPLC) und Gaschromatographie (GC)

2.6.1 Einleitung

Die Mobilisierung von gespeicherten Kohlenhydraten und der Import von Stärke aus dem Apoplasten in die Zelle begleitet bei den meisten untersuchten Arten die Blütenöffnung. Junge Kronblattzellen besitzen oft eine beträchtliche Menge an Stärke, die kurz vor der Öffnung schnell in Glucose und Fructose umgewandelt wird. Bei *Alstroemeria peregrina* (Collier, 1997), *Lilium sp.* (Bialeski et al., 2000b), *Magnolia grandiflora* (Griesel, 1954), *Rosa sp.* (Ho, Nichols, 1977), *Tradescantia reflexa* (Horie, 1961) und *Turnera ulmifolia* (Ball, 1933) spielt die Stärke eine wichtige Rolle für das Wachstum der Blüten.

Zwischen den einzelnen Petalen einer Blüte und zwischen sich öffnenden Blüten und Blütenknospen besteht eine Konkurrenzsituation um Kohlenhydrate. In geschnittenen Madelon-Rosen resultierte die Entfernung der äußeren Kronblätter direkt nach der Ernte in einem Anstieg des Zuckergehalts und der Oberfläche der Inneren Kronblätter (Marissen, 1991). Um größere Einzelblüten zu produzieren, werden benachbarte Blütenknospen von der Pflanze entfernt. Die Konkurrenz um Zuckerressourcen verschärft sich bei mangelnder Verfügbarkeit von Kohlenhydraten (v. Meeteren et al., 2001).

Wachsende Knospen und sich öffnende Blüten beschleunigen das Eintreten der Seneszenz von bereits entfalteten Blüten. Die Entfernung von Blütenknospen erhöht dementsprechend die Langlebigkeit der an der Pflanze verbleibenden Blüten (v. der Meulen-Muisers et al., 1995). Eine starke Abnahme des gesamten Kohlenhydratgehalts der an der Pflanze verbleibenden Blüten tritt auf. In den entfernten Blüten ist die Abnahme viel geringer (v. der Meulen-Muisers, 2000). All das deutet auf einen Kohlenstofftransport von verwelkenden Blüten zu sich gerade öffnenden hin, zumindest bei geschnittenen Infloreszenzen, die bei geringer Lichtintensität gewachsen sind. Hier werden Kohlenhydrate schnell zum limitierenden Faktor für Knospenwachstum und Blütenöffnung (van Doorn & van Meeteren, 2003).

Die folgenden Untersuchungen sollen klären, ob geöffnete und geschlossene Blüten Unterschiede im Vorliegen der Zuckerverbindungen aufweisen. Es wurde bereits gezeigt, dass das durchschnittliche osmotische Potential ganzer Blüten und einzelner Blütenblätter keinen tagesperiodischen Schwankungen unterliegt (Abb.21 und 22). Auf lokaler Ebene gibt es Unterschiede in der Zellsaftkonzentration zwischen den äußeren und den inneren Epidermiszellen (Abb. 13). Die Untersuchungen sollen darüber Aufschluss geben, ob Blüten im geöffneten Zustand insgesamt mehr osmotisch wirksame Zuckerverbindungen in ihren Vakuolen konzentrieren als im geschlossenen Zustand.

2.6.2 Material und Methoden

- 20 Blüten von *Bulbophyllum lobbii* (10 geöffnete und 10 geschlossene)

Die Chromatographie gehört zu den Verfahren, bei denen Stoffgemische untersucht werden, indem man sie in ihre einzelnen Bestandteile auftrennt (Trenntechniken oder Separationsverfahren). Basis der Auftrennung der Stoffe ist die unterschiedliche Verteilung der Stoffe in zwei Phasen. Die mobile Phase (Flüssigkeit oder Gas) bewegt sich an der stationären Phase (Feststoff oder Flüssigkeit) vorbei und nimmt die Stoffe dabei unterschiedlich schnell mit.

Bei der Säulenchromatographie befindet sich die stationäre Phase in einer Säule, durch die die mobile Phase fließt. Dazu gehören die Hochdruck – Flüssigkeitschromatographie (HPLC) und die Gaschromatographie (GC).

HPLC steht für High Pressure Liquid Chromatography und ist eine sehr leistungsfähige chromatographische Technik zur Auftrennung und Analyse von Stoffgemischen. Sie gehört zur Gruppe der Säulenchromatographien. Die stationäre Phase ist in eine Stahlsäule gepackt. Flüssigkeiten bilden die mobile Phase.

a) GC:

Zebron 5 (Phenomenex)

Trärgas Helium 1ml/ min

Temperaturprogramm 70°C – 300°C 3°C/ min

Turbomass GC – MS System (Peukin Elmer)

Probenderivatisierung: mit MSTFA silyliert, mit Hydroxylamin oximiert

Probenmenge: 0,5 µl

b) HPLC:

Dionex Summit HPLC

Diodenarray Detektor

UV- Spektrum: 600 nm – 220 nm

Gradient: von A (4,5 % MeOH, 95% H₂O, 0,5 % o-Phosphorsäure) nach B (100 % MeOH)

Start: 100% A; nach 110 min: 100% B

Flussrate: 0,2 ml/ min

Säule: Phenomenex Synergi Max (150 x 2 mm, 4µm, C12)

Probenmenge: 10 µl

c) Lösungen:

Methanol – Lösung (50 ml): 45 ml Methanol + 50 µl Essigsäure + 4,95 ml H₂O + 50 mg BHT

1 %_{ige} Essigsäure – Lösung: 300 ml destilliertes Wasser + 3 ml 100%_{ige} CH₃COOH

BHT (Butyl-Hydroxy-Toluol) ist ein reiner Radikalfänger und verhindert, dass redoxaktive Substanzen von freien Radikalen oxidiert werden und zu anderen Verbindungen polymerisieren. Ohne BHT würden eventuell vorhandene redoxaktive Substanzen während der Extraktion verloren gehen.

Die gefrorenen Blüten werden mithilfe eines Mörsers in einer Reibschale zerrieben und anschließend mit flüssigem Stickstoff übergossen. Das Pflanzenmaterial wird in die hergestellte Methanol-Lösung eingelegt und bis zur weiteren Verwendung im Gefrierschrank bei maximal –20°C gelagert.

Fraktionierung: Das Extrakt wird in eine wässrige, hydrophile Phase und in eine lipophile Phase aufgetrennt. Zucker und phenolische Verbindungen werden dabei voneinander isoliert. Als Polymer-Harz wird Amberlit® XAD 1180 N verwendet. Jede Säule wird mit 2 Teelöffel Amberlit versehen.

Reinigung der Säulen: Mithilfe eines Glasstabs wird ein Stück Watte auf die Amberlitschichte in die Säule gedrückt. Die Säulen werden bis zur 100 ml-Marke mit Methanol aufgefüllt und 5 Minuten stehen gelassen. Danach wird der Inhalt der Säulen abdekantiert und fachgerecht entsorgt. Dieser Vorgang wird anschließend noch einmal wiederholt.

Equilibrieren: Die Säulen werden bis zur 100 ml-Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt und wie oben 5 Minuten stehengelassen. Anschließend wird das Wasser abgegossen und die Säulen werden ein zweites Mal mit destilliertem Wasser gewaschen.

Extrakte: Die Extrakte werden aus dem Gefrierschrank geholt und durch einen mit Watte gefüllten Trichter in einen vorbereiteten und beschrifteten Kolben überführt. Um sicher zu gehen, dass nichts verloren geht, wird mit dem Lösungsmittel nachgespült. Der Inhalt des Kolbens wird mittels Rotavapor eingedampft und eingeengt.

Unter die Säule wird ein beschriftetes Gefäß (wässrige Lösung) gestellt. Der Kolben wird vom Rotavapor entfernt und mit 10 ml 1 %iger CH_3COOH -Lösung versehen. Der Inhalt wird anschließend in die Säule geleert und der Schließmechanismus der Säulen wird so eingestellt, dass die Suspension langsam in den darunter befindlichen Erlenmeyerkolben tropft. Die hydrophilen Substanzen werden dadurch herausgelöst. Anschließend wird die Säule erneut mit ca. 50 ml Essigsäurelösung aufgefüllt und die Suspension laufen gelassen.

Ein sauberes, beschriftetes Gefäß (lipophile Phase) wird nun unter den Säulen positioniert. Die Säulen werden mit 50 ml absolutem Ethanol gefüllt. Der Durchfluss wird wieder so eingestellt, dass die Suspension langsam durchfließt. So kommt es zu einer besseren Verbindung der unpolaren (bzw. polaren) Substanzen und der Verlust wird reduziert. Im Erlenmeyerkolben werden die lipophilen Substanzen aufgefangen.

Die Suspensionen werden über Nacht im Speed Vac getrocknet und anschließend bei -20°C eingefroren. Die Probenaufbereitung für GC und HPLC ist abgeschlossen. Nun können die Proben analysiert und Chromatogramme erstellt werden.

2.6.3 Ergebnisse

a) GC:

Abbildung 25 zeigt die durch GC erhaltenen Chromatogramme nach der Auftrennung der verschiedenen hydrophilen Verbindungsklassen nach der Zeit. Ihr kann man anhand der Peakhöhe die unterschiedlichen Konzentrationen der aufgefangenen Verbindungen entnehmen. Das obere Chromatogramm entspricht der Situation in geöffneten, das untere jener der geschlossenen Blüten. Die Chromatogramme ähneln einander stark. Nach ca. 28 Sekunden erkennt man einen Unterschied in der Konzentration der aufgefangenen Verbindung zwischen geöffneten und geschlossenen Blüten. Dabei handelt es sich um Apfelsäure oder um ihr Salz, Malat. Nach ca. 42 Sekunden werden aus offenen Blüten größere Konzentrationen einer Verbindung aufgefangen als in geschlossenen Blüten. Dieser Peak entspricht Chinasäure. Fruktose (ca. 45 Sekunden) und Glucose (ca. 47 Sekunden) liegen in geöffneten und in geschlossenen Blüten in gleichen Konzentrationen vor. Myo-Inosit (ca. 49 Sekunden) und Saccharose (ca. 64 Sekunden) werden ebenfalls in den Proben detektiert. Ersteres kommt in beiden Bewegungsstadien in gleicher Konzentration vor, während Saccharose in geöffneten Blüten etwas größere Mengen aufweist (Abb. 25).

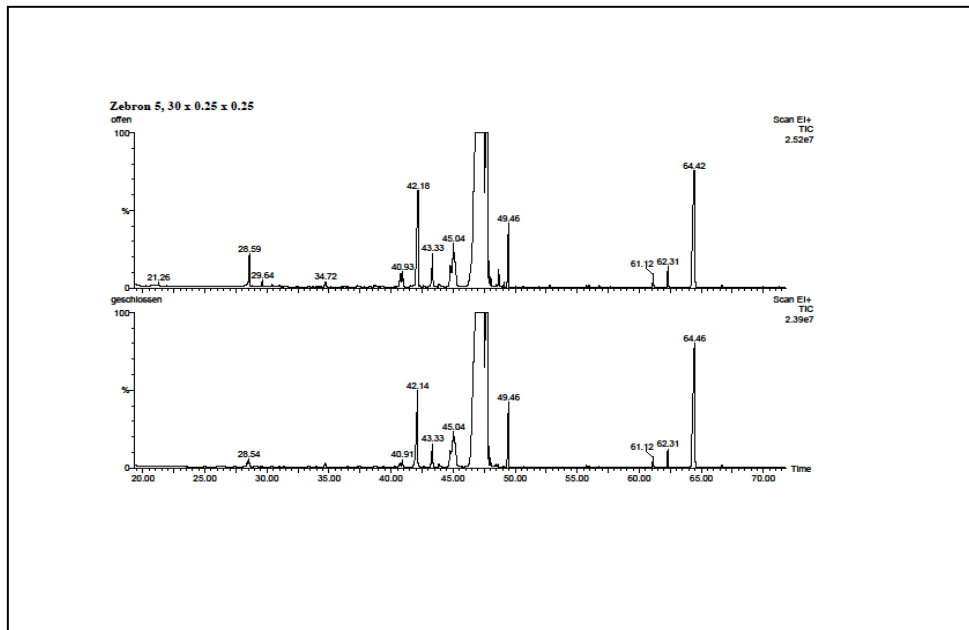


Abb. 25: Chromatogramme der hydrophilen Substanzen des Zellsaftes von geöffneten und geschlossenen Blüten von *B. lobbii* (GC)

b) HPLC:

Die Auftrennung der lipophilen Substanzen, die mittels HPLC detektiert werden konnten, ist in Abbildung 26 ersichtlich. Das obere Chromatogramm beschreibt die Situation in geschlossenen Blüten, das untere jene in geöffneten Blüten. Die Verbindung, die nach ca. 25 Sekunden detektiert wurde, kommt in geschlossenen Blüten in deutlich höherer Konzentration vor als in geöffneten Blüten. Dies ist an der größeren Peakfläche im oberen Chromatogramm zu erkennen. Bei den aufgefangenen Substanzklassen handelt es sich vermutlich hauptsächlich um phenolische Verbindungen. Die detektierten Peaks entsprechen bestimmt nicht jenen Pigmenten, da für deren Erhalt wesentlich größere Mengen extrahiert werden hätten müssen.

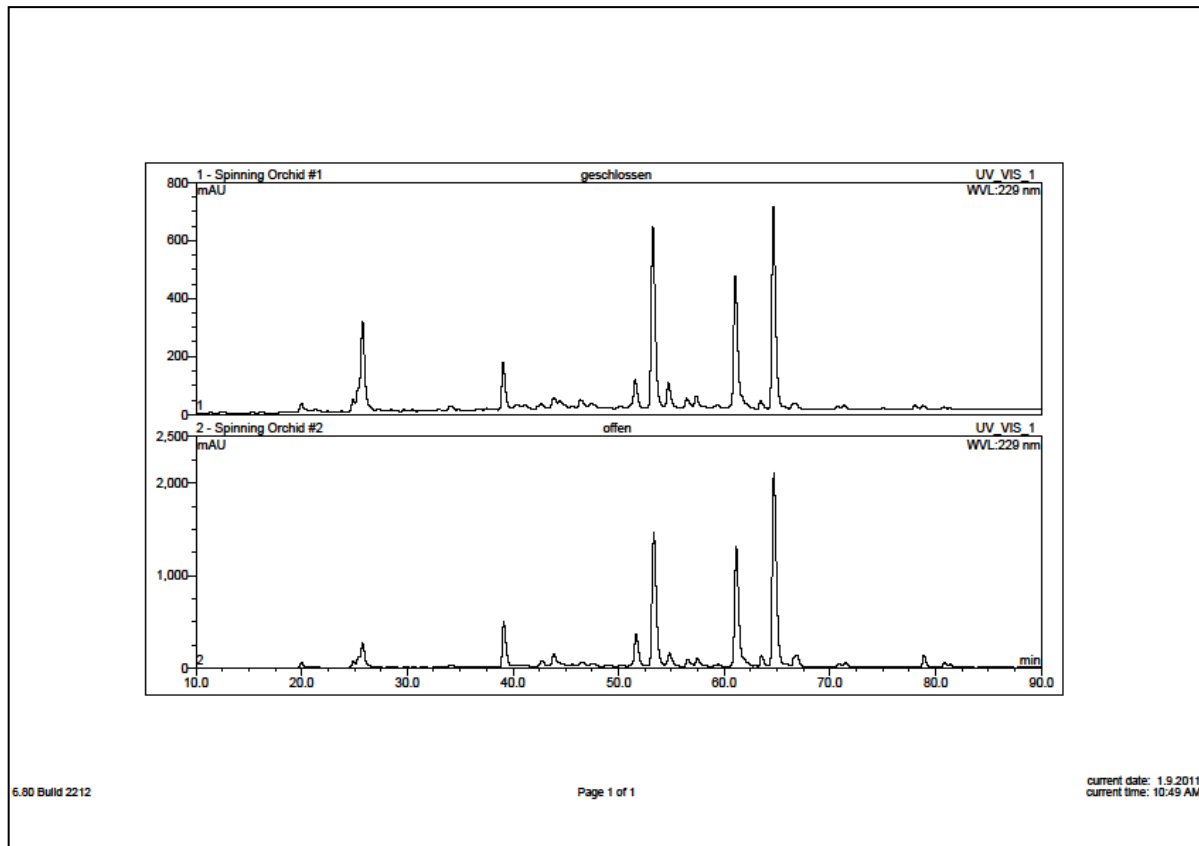


Abb. 26: Chromatogramme der lipophilen Substanzen des Zellsaftes von geschlossenen und geöffneten Blüten von *B. lobbii* (HPLC)

Mit Hilfe des UV- Spektrums können Aussagen darüber getroffen werden, um welche Stoffklasse es sich bei den detektierten Verbindungen handelt (Abb. 27).

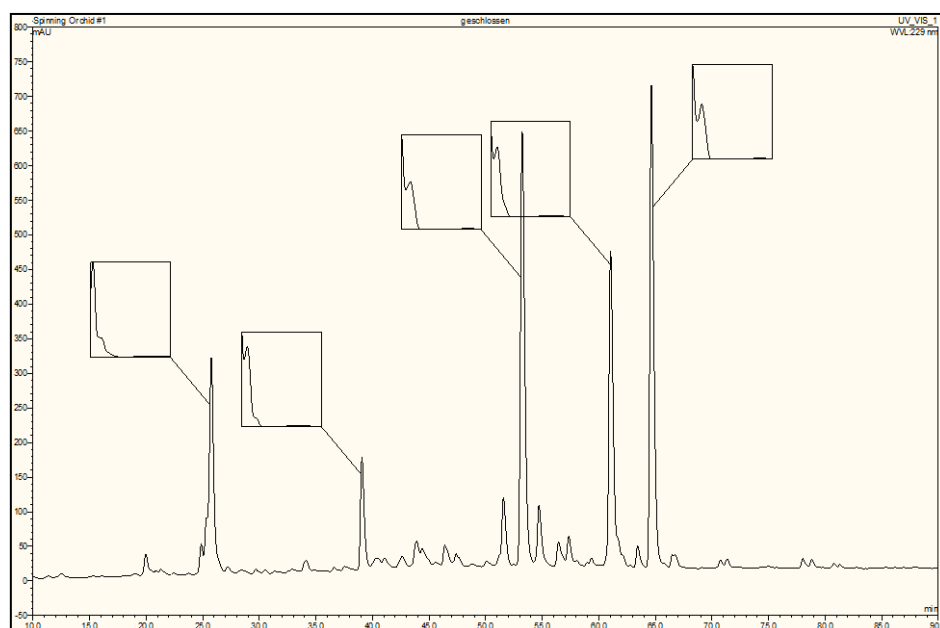


Abb. 27: UV- Spektrum der lipophilen Phase aus dem Presssaft einer geschlossenen Blüte von *B. lobbii* (HPLC)

2.6.4 Diskussion

Im Zellsaft geöffneter Blüten sind höhere Konzentrationen an organischen Säuren wie Apfel- oder Chinasäure enthalten als im Zellsaft geschlossener Blüten (Abb. 25). In den geschlossenen Blüten befindet sich hingegen eine größere Menge an phenolischen Verbindungen (Abb. 26), wobei es sich wie bereits erwähnt, nicht um Pigmente wie Flavonoide handeln kann. Diese aromatischen Verbindungen wirken redoxaktiv (Latscha et al., 2002). Redoxreaktionen haben einen starken Einfluss auf den Zellzyklus und Wachstum. Dabei kommt es durch die Depolarisierung von Membranen zur Signalübertragung. Es könnte zum Beispiel möglich sein, dass Malat als Transportform für Eisen in die Zellen dient. Dieser Komplex kann Eigenschaften als Redoxkatalysator haben. In geschlossenen Blüten würde sich das Eisen dann an die phenolischen Aromaten binden, die noch stärkere Liganden darstellen. Aufgrund der Ergebnisse aus Abbildung 25 erscheint die Annahme gerechtfertigt, dass Malat an der Blütenbewegung von *Bulbophyllum lobbii* beteiligt ist.

Fructose und Glucose liegen in geöffneten und geschlossenen Blüten in gleichen Konzentrationen vor. Saccharose weist in geöffneten Blüten höhere Konzentrationen auf als in geschlossenen Blüten. Das könnte auf einem Saccharoseabbau während einer Schließung hindeuten. Da sowohl in geöffneten als auch in geschlossenen Blüten Glucose, Fructose und Saccharose zu finden sind, ist es möglich, dass die Umwandlung der Zucker regional, zum Beispiel in den Epidermiszellen der gegenüberliegenden Blütenblattflanken stattfindet, und analog dem osmotischen Wert des Zellsaftes in dieser Region tagesperiodischen Schwankungen unterworfen ist.

Die Kronblätter von geschlossenen Blüten von *Hemerocallis* sp. beinhalten demgegenüber keine Stärke, sondern hohe Konzentrationen von Fructan, ein Oligosaccharid aus Fructose- Monomeren. Unmittelbar vor der Blütenöffnung kommt es zu einem schnellen Abbau des Oligosaccharids (Bieleski, 1993). Fructan wird außerdem in den Blüten von *Phipssia algida* (Solhaug & Aares, 1994) und *Campanula rapunculoides* (Vergauwen et al., 2000) angereichert.

Die Petalen mancher Arten beinhalten sowohl Stärke als auch Fructan. In den Kronblättern von *Chrysanthemum* sp. werden beide Polysaccharide während des Wachstums abgebaut (Trusty & Miller, 1991).

Schließlich gibt es auch noch einige Arten, in deren Kronblättern weder Stärke noch Fructan nachgewiesen wurde. Als Beispiel dient *Sandersonia* sp. (Eason et al., 1997). Hier findet man jedoch erhöhte Glucose und Fructose – Konzentrationen, scheinbar als Folge von Stärkeaufnahme aus dem Apoplasten (van Doorn & van Meeteren, 2003).

Blütenöffnungen beruhen auf einer Kombination aus Zuckeraufnahme und Abbau von verschiedenen Polysacchariden. In den Blüten von Gladiolen, wo Stärke eine Quelle von löslichen Kohlenhydraten darstellt, nimmt der Zuckergehalt 7- 8mal mehr zu als der Stärkegehalt abnimmt. Dies deutet auf eine Aufnahme von Zuckern hin (Yamane et al., 1991). Ähnlich verhält es sich in *Freesia*-Blüten. Die Zunahme von Perianth-Zucker ist hier 10mal größer als die Abnahme des Stärkegehalts (v. Meeteren et al., 1995). Der Zuckergehalt und das Trockengewicht von geöffneten Freesien- Blüten werden deutlich reduziert, wenn der Blütenstiel abgeschnitten wird. Der Blütenstiel stellt anscheinend die Hauptzuckerquelle dar.

2.7 Entwässerung mit 1-molarer Manitolösung

2.7.1 Einleitung

Bei manchen Blüten ist die Öffnungs- und Schließbewegung auf ein abwechselndes Ausdehnen und Zusammenziehen von Zellen einer bestimmten Region der Blüte zurückzuführen (Claus, 1926). Die hier vorgelegten Untersuchungen haben bisher gezeigt, dass die an der Bewegung beteiligten Blütenteile echtes Streckungswachstum vollziehen. Da sich die Ergebnisse ausschließlich auf die Epidermiszellen beziehen und es sich dabei stets um Mittelwerte handelt, ist nicht ausgeschlossen, dass eine kleine Gruppe von Zellen im Blütenblattgewebe eine reversible Aufnahme und Abgabe von Wasser durchführt.

2.7.2 Material und Methoden

- 10 geöffnete Blüten von *Bulbophyllum lobbii*
- Verdünnungsreihe einer Mannitol-Lösung: MG =182, 17 g/ mol;
Herstellung einer Lösung: 18, 2 g Manitol auf 100ml Aqua dest.

Herstellung einer Konzentrationsreihe von 1 molar zu 0,1 molar durch Verdünnung

- Magnet und Magnetrührer
- 6 Erlenmeyerkolben
- Digitale Spiegelreflexkamera: Canon Eos5D mit Funktion zur Serienaufnahme



Foto 7: Vollständige Entwässerung der Blüten von *B. lobbii*
durch 1 molare Mannitol- Lösung

Die Blüten werden samt Blütenstiel in ein mit 0,1 molarer Mannitol-Lösung gefülltes und beschriftetes Gefäß gestellt. Der Fotoapparat wird so eingestellt, dass alle 5 Minuten ein Foto der jeweiligen Blüten gemacht wird. Die Gefäße mit den Blüten werden auf einem Tisch vor schwarzem Hintergrund vor der Kamera platziert (Foto 7). Entlang des Grundrisses der Gefäße wird auf dem Tisch eine feine Linie gezogen. Die Blüten werden 1 Stunde lang in die 0,1 molare Lösung gestellt. Danach werden die Gläser ausgetauscht und die Blüten in Gefäße mit einer 0,2 molaren Lösung eingeführt. Die Gefäße mit den Blüten werden in die feinen Kreiszeichnungen auf den Tisch gestellt. Die Blüten sollten dabei wieder so in das Glas gestellt werden, dass sie die gleiche Position wie auf dem letzten Foto der vorigen Konzentration einnehmen. Nach jeder Stunde werden die Blüten erneut in eine höher konzentrierte Lösung gestellt und ihre Bewegung dokumentiert. Die Konzentration der Lösung nimmt pro Stunde um 0,1 Mol/ Liter zu. Nach 9 Stunden werden wenn die Blüten in eine 1 molare Zuckerlösung überführt und darin belassen. Die Blüte soll durch die umliegende osmotisch wirksame Lösung vollständig entwässert werden. Am unteren Ende des Blütenstiels von der Pflanze abgetrennte Blüten führen ihren Bewegungsrhythmus fort (siehe auch Kogler, 2010). Sollte die Bewegung auf einer

reversiblen Wasseraufnahme- und -abgabe durch Zellen einer bestimmten Region beruhen, müsste der starke langandauernde Wasserverlust der Blüte zu einer Schließbewegung führen. Der Öffnungswinkel wird stündlich gemessen. Er ergibt sich aus der Position zwischen dem dorsalen Sepalum und den unbeweglichen lateralen Sepalen und entspringt am Blütenboden am Ende des Blütenstiels (Kogler, 2010).

2.7.3 Ergebnisse

Die vollständige Entwässerung der Blüten führt nicht zu Einnahme der Schlafstellung. Die Blüten haben mehr als 12 Stunden in einer stark osmotischen Lösung verbracht und zeigen keine nennenswerte Veränderung des Öffnungswinkels ihrer Blüten. Der unter normalen Bedingungen eingehaltene Rhythmus wird eingestellt. Bei den Blüten sind auch nachts keine Schließbewegungen zu beobachten. Auch die kreisförmigen Bewegungen des Blütenstiels werden eingestellt. Die Bewegung kommt durch die Entwässerung somit vollständig zum Erliegen.

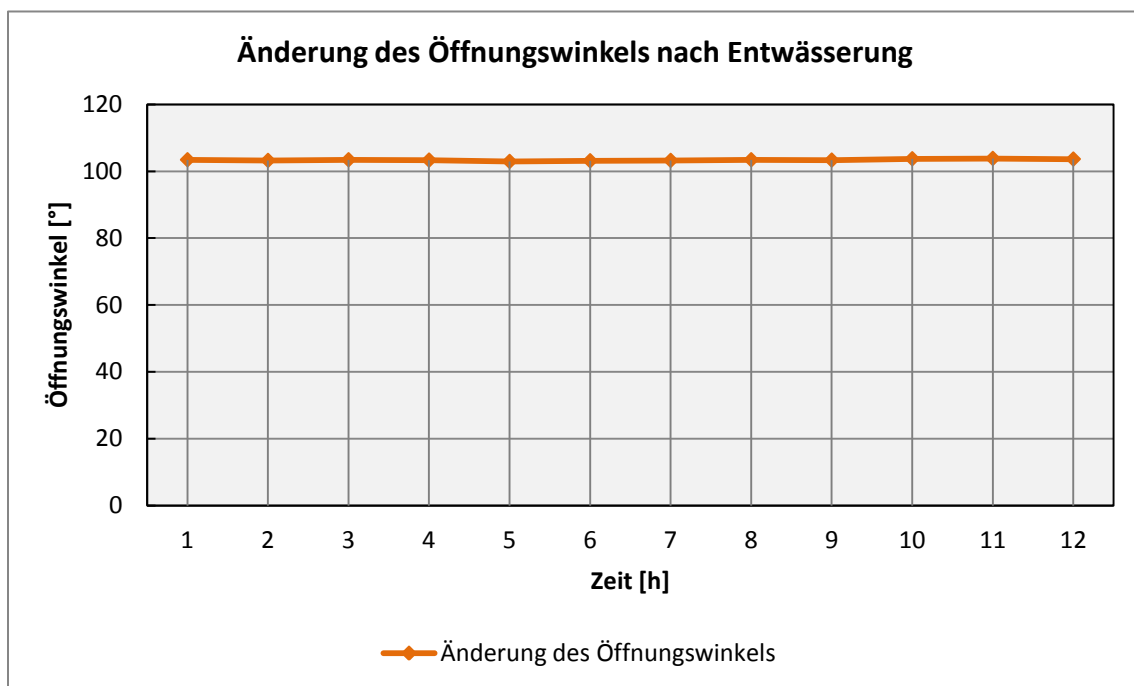


Abb. 28: Änderung des Öffnungswinkels von der Pflanze abgetrennter Blüten von *B. lobbii* nach Entwässerung mit Mannitol

2.7.4 Diskussion

Silene saxifraga schließt ihre Blüten während des Tages und öffnet sie nachts für ca. 5 Stunden. Die Kronblätter rollen sich am Tag aus. Das Einrollen (Schließen) beruht auf einem Netto-Wasserverlust. Das Ausrollen (Öffnen) wird offensichtlich durch das Wiederauffüllen der Zellen mit Wasser gewährleistet. An trockenen Tagen bleiben die Blüten länger geöffnet, wenn der Boden feucht ist und an feuchten Tagen schließen sie sich gar nicht (Halket, 1931). Einige andere *Silene*-Arten zeigen den gleichen Mechanismus (Kraus, 1879; Kerner von Marilaun, 1891; Lindman, 1897).

In den Blüten von *Bulbophyllum lobbii* führt ein Netto-Wasserverlust nicht zu einer Schließbewegung (Abb.28). Das Einstellen der Bewegung kann auf einer Reaktion der Pflanze auf eine Stresssituation gedeutet werden. Vorangegangene Untersuchungen haben gezeigt, dass auch die Behandlung der Blüten mit Atmungsgift einen Bewegungsstopp hervorruft (Abb. 15-18). Das würde die Annahme untermauern, dass Wachstumsprozesse an der Bewegung beteiligt sind. Starker Wasserentzug führt demnach zur Einstellung der Bewegung.

Der Wasserentzug führt bei keiner der untersuchten Blüten zur Einnahme der Schlafstellung. Dass die Bewegung ausschließlich auf einer reversiblen Kontraktion von Zellen einer bestimmten Region oder eines Gelenks beruht, ist daher eher unwahrscheinlich.

2.8 Anatomische Untersuchungen

2.8.1 Einleitung

Turgorbewegungen werden durch osmotische Veränderungen in bestimmten Zellen oder in Zellen einer bestimmten Region hervorgerufen (Hill & Findlay, 1981, Findlay, 1984 a). Das osmotische Potential der Zellen wird durch Aufnahme von Ionen negativer und Wasser strömt ein, wodurch das Volumen der Zellen zunimmt. Der Transport von Ionen aus den Zellen führt hingegen zu Wasserverlust und bewirkt eine Verkleinerung des Zellvolumens (Findlay, 1984 a).

Die Blüten von *Bulbophyllum lobbii* zeigen nach vollständiger Entwässerung keine Einnahme der Schlafstellung (Abb. 24). Dieses Argument spricht gegen das Vorhandensein eines Gelenks, das durch reversible Wasseraufnahme- und -abgabe die Bewegung steuert.

Querschnitte des Blattgelenks von *Phaseolus multiflorus* zeigen, dass sich die im Blattstiel ringförmig angeordneten Leitbündel im Gelenk zu einem zentralen Strang zusammenschließen (Abb. 29). Das dient einer höheren Biegsamkeit des Gelenks. Die Zellen der Rindenschicht sind vor allem auf der Unterseite „Ziehharmonika“-artig angeordnet. Eine Turgoränderung führt dadurch ohne große Beanspruchung der Wanddehnung zu einer Längenänderung des Organs vor allem in der Richtung seiner Längsachse (Brauner & Rau, 1966).

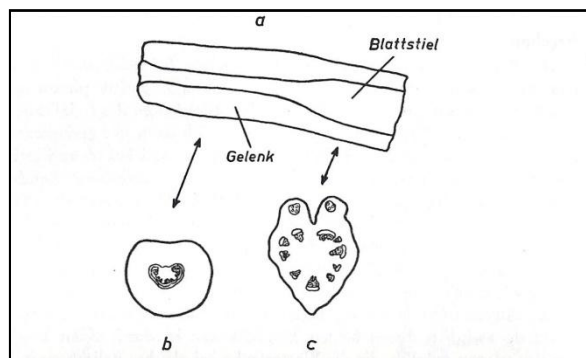


Abb. 29: Leitbündelverlauf im Blattgelenk von *Phaseolus multiflorus*. a) Schematischer Längsschnitt durch Gelenk und Blattstiel; b) Querschnitt durch das Laminargelenk; c) Querschnitt durch den Blattstiel, nach Brauner & Rau (1966)

2.8.2 Material und Methoden

- 10 Blüten samt Blattstiel von *Bulbophyllum lobbii* (5 geöffnete und 5 geschlossene)
- Handmikrotom
- Objektträger, Deckgläser
- Wasser
- Pipette
- Lichtmikroskop

Querschnitte und Längsschnitte des Blütenblattgewebes der dorsalen Sepalen und des Blütenstiels werden mittels Handmikrotom angefertigt. Die Gewebestückchen werden auf Objektträger positioniert und mit einem Tropfen Wasser und einem Deckglas versehen. Anschließend werden die Präparate lichtmikroskopisch untersucht.

2.8.3 Ergebnisse

Ein Längsschnitt durch das Gewebe des Blütenstiel zeigt, dass die Zellen mehr oder weniger „Ziehharmonika“-artig angeordnet sind (Foto 8). Ebenso verhält es sich in den Epidermiszellen der Blütenblätter (Foto 9). Die Querschnitte zeigen, dass sich die Leitbündel im Blütenstiel von *Bulbophyllum lobbii* zu einem zentralen Strang vereinigen (Foto 10).

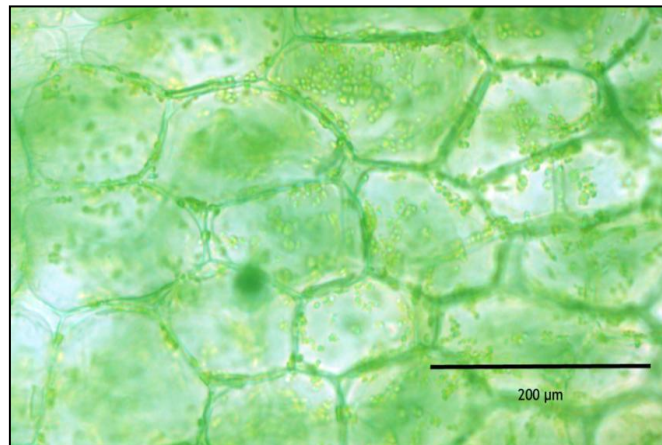


Foto 8: Längsschnitt durch den Blütenstiel von *B. lobbii*: Anordnung der Gewebezellen

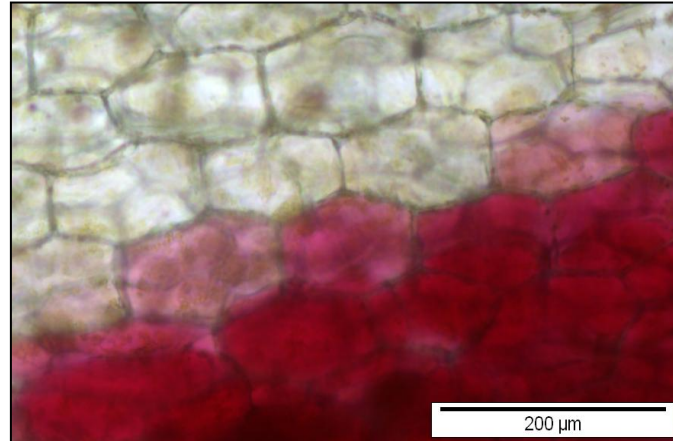


Foto 9: Längsschnitt durch das dorsale Sepalum von *B. lobbii*: zelluläre Anordnung im Epidermisgewebe

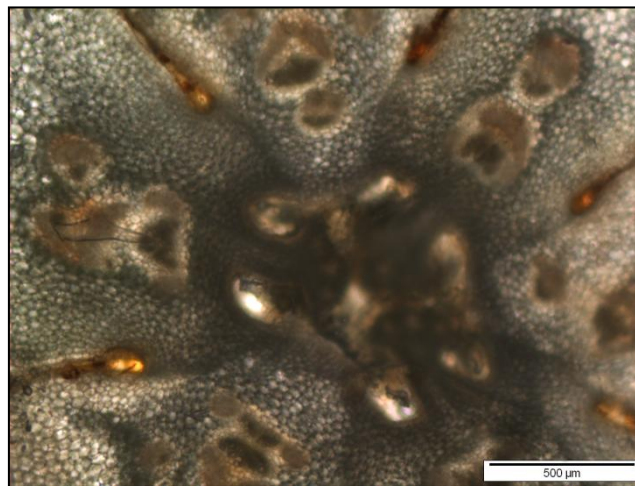


Foto 10: Querschnitt durch den Blütenstiel von *Bulbophyllum lobbii*: Leitbündelstrang

2.8.4 Diskussion

Die sessilen, vielzelligen Pflanzen bewegen ihre Organe durch gerichtete Wachstumsreaktionen oder durch hydraulisch arbeitende Motorgewebe (Brennicke & Schopfer, 2010). Bei der lichtmikroskopischen Analyse des Blütengewebes konnten keine „Gelenk“-ähnlichen Strukturen ausfindig gemacht werden (Foto 9). Die Epidermiszellen des dorsalen Sepalums sind „Zieharmonika“-artig angeordnet. Die Zellwand von wachsenden Zellen ist meist sehr dünn (0,1- 1 µm) (Cosgrove, 2005). Die Epidermiszellen des dorsalen Sepalums von *Bulbophyllum lobbii* weisen hingegen relativ dicke Zellwände von durchschnittlich 3 µm auf. Dies könnte eine Anpassung an die erhebliche Beanspruchung der Wanddehnung, die durch eine

Erhöhung des Turgors entsteht, darstellen. Vollständige Entwässerung führte bei *Bulbophyllum lobbii* nicht zu einer Einnahme einer Schlafstellung. Die Epidermiszellen des dorsalen Sepalums weisen irreversibles Streckungswachstum auf. Daher erscheint die Annahme gerechtfertigt, dass die Blütenbewegung eher nicht auf einer Kontraktion von Zellen oder eines Gelenks beruht. Die dicken Zellwände und die Anordnung der Epidermiszellen in dem am meisten an der Bewegung beteiligten Blütenblattes, dem dorsalen Sepalum, sprechen jedoch für die Anpassung des Blütengewebes an die Aufnahme relativ großer Mengen von Wasser. Die strangförmige Anordnung der Leitbündel im Zentrum des Blütenstiels (Foto 10) ist analog jener im Blattgelenk von *Phaseolus multiflorus* (Brauner & Rau, 1966) und könnte bei der Blütenbewegung von *Bulbophyllum lobbii* eine Funktion besitzen.

3 Gesamtdiskussion

3.1 Literaturvergleiche

Bei den meisten der in der Literatur beschriebenen, auf ihre Bewegungen hin untersuchten Arten beruhen die Bewegungen der Kronblätter auf einem Unterschied in der Wachstumsrate der zwei gegenüberliegenden Kronblattflanken.

Bei Arten, die sich in Abhängigkeit von der Temperatur in den Morgenstunden öffnen, wächst die innere Seite der Kronblätter schneller als die äußere, wenn es warm ist. Kühlere Temperaturen bewirken ein schnelleres Wachstum der äußeren Kronblattflanken, sodass sich die Blüten abends schließen (Wiedersheim, 1904; Pfeffer, 1873; Bünning, 1929; Böhner, 1934). In den Kronblättern von Tulpenblüten weisen die obere und die untere Seite der Mesophyllschicht einen Unterschied von 10 °C in ihrem Temperaturoptimum für Wachstum auf. Auch die thermonastische Reaktion der Blüten von *Crocus* sp. und *Bellis perennis* basiert auf Wachstumsverschiedenheiten (van Doorn & van Meeteren, 2003). Andere Beispiele für Blütenbewegungen, die auf ungleichem Wachstum beruhen, sind *Anemone* sp., *Calendula* sp., *Colchium autumnale*, *Doronicum* sp., *Gentiana* sp., *Helleborus niger* (Kerner von Marilaun, 1891) und *Taraxacum albidum* (Tanaka et al., 1987).

Da diese Bewegungen vom Wachstum der Blütenblätter abhängig sind, verlängern sich die Blütenblätter einer Tulpe während einer thermonastischen Bewegung um 7 % und während eines gesamten Blühzyklus um über 100 % (Sitte et al., 2002).

Das Öffnen und Schließen von Blüten kann auch auf einer reversiblen Ausdehnung und Kontraktion der Zellen beruhen. Die Kronblätter von *Gentiana kochiana* sind ungefähr 5 cm lang und an ihrem basalen Ende verschmolzen. Sie besitzen eine ca. 1- 2 cm lange Zone unterhalb der Spitze, die sich ausdehnen und zusammenziehen kann. Detaillierte Messungen auf beiden Seiten der Kronblätter haben gezeigt, dass sich die Epidermiszellen der inneren Seite während des Tages ausdehnen und nachts zusammenziehen. Die äußere Epidermis hingegen weist keine Änderung in der Länge ihrer Zellen auf. Daraus kann man schließen, dass die Bewegungen auf Turgoränderungen beruhen (Claus, 1926).

Ein ähnlicher Mechanismus wird hinter den Bewegungen von *Kalanchoe blossfeldiana* vermutet. Wie bei *Gentiana* sind die unteren Hälften der Kronblätter miteinander verschmolzen und zeigen keine Bewegung. Die Zone, die die Bewegung ausführt, liegt dort, wo sich die Kronblätter trennen, also im freien Abschnitt. Genaue Messungen der Zelllängen fehlen, aber im Zusammenhang mit der Bewegung treten Unterschiede im Frischgewicht der Kronblätter auf (Becker, 1953; zur Lippe, 1957). Dieses Argument spricht für eine reversible Bewegung, die auf der Änderung des Turgordrucks in den Zellen der Kronblätter beruht (Bünsow, 1960). Die Osmolarität der oberen Epidermis war während des Tages doppelt so hoch wie nachts, was auch auf reversible Ionenaufnahme hindeutet (Schrempf, 1977). Abszisinsäure dämpft den Rhythmus der Öffnungs- und Schließbewegung ab und verringert die rhythmische Änderung des osmotischen Potentials der involvierten Zellen (Schrempf, 1980). In jüngeren *Kalanchoe*-Blüten, deren Kronblätter noch wachsen, laufen die Bewegungen stärker ab als in älteren Blüten, die das Wachstum bereits eingestellt haben (Karvé et al., 1961). Diese Tatsache lässt vermuten, dass auch differentielles Wachstum bei der Bewegung eine große Rolle spielt, zumindest in jungen Blüten (van Doorn, van Meeteren, 2003).

Bei *Ipomoea* beruhen die Öffnungs- und die Schließbewegungen auf Bewegungen der Mittelrippe, nicht so sehr auf jenen der Blattspreite. Unterschiede im Zellwachstum der beiden Seiten bewirken die Bewegung (Kaihara & Takimoto,

1981). Der Unterschied des Zellwachstums beruht auf einem Turgorverlust in einer Gruppe von inneren Epidermiszellen der Mittelrippe (van Doorn & van Meeteren, 2003).

Als autonome Krümmungsbewegungen gelten die Entfaltungsbewegungen (Epinastie und Hyponastie), die Circumnutation, die Nyctinastie und die Gyration (Haupt, 1977).

Circumnutationen basieren auf regelmäßigen Änderungen des Streckungswachstums entlang eines Organs. Generell wird angenommen, dass basipetal gerichtetes differentielles Wachstum die Bewegung hervorruft (Johnsson, 1979). Circumnutationen können allerdings auch auf rhythmischen Schwankungen des Zellturgors beruhen (Millet et al., 1987).

Circumnutationen haben direkt mit dem Strecken des Stängels zu tun. Es findet während der gesamten Zeit des Streckens von *Arabidopsis thaliana*-Keimlingen keine Zellteilung statt (Engelmann, 2003).

Endogene Turgorbewegungen findet man zum Beispiel bei den nyctinastischen Bewegungen der Laubblätter vieler Pflanzen, bei den Stomatabewegungen der Schließzellen sowie bei den Blütenbewegungen der Sonnenblume (*Helianthus annuus*) (Hart, 1990). Bei Letzterem ist noch nicht vollständig geklärt, ob eventuell auch Änderungen der Wachstumsrate an der Bewegung mitwirken. Die Bestäubungsmechanismen vieler Blüten entsprechen mechanisch ausgelösten Turgorbewegungen (Simons, 1981, Sitte et al, 2002). Turgorbewegungen sind meist reversibel und laufen oft sehr rasch ab. Die durch Bewegung ausgelöste Klappbewegung des Gynostemiums von *Stylidium gvaminifolium* dauert zum Beispiel nur 15–30 Millisekunden. Ihnen liegt eine Veränderung im osmotischen Potential von Zellen zugrunde (Findlay & Findlay, 1981, Findlay, 1984 a, Hart, 1990). Dabei wird der hydrostatische Innendruck der Zellsaftvakuolen, der Turgor, in den Parenchymzellen der Bewegungsorgane oft drastisch und einseitig verringert (Schidknecht, 1983).

Turgordruck ist eine treibende Kraft für Zellwachstum und einige Untersuchungen zeigen auch den Effekt von Plasmolyse auf das Streckungswachstum von Zellen (Rudolph et al., 1989).

3.2 Wachstumsbewegung oder Turgorbewegung?

Die Untersuchungen zeigen, dass an der Blütenbewegung von *Bulbophyllum lobbii* Wachstumsvorgänge beteiligt sind (Abb. 1- 13). Auffallend ist dabei, dass sich nur wachsende Blütenteile bewegen. Das Wachstum schwächt sich ebenso wie die Bewegung (Kogler, 2010) mit der Zeit ab.

Die Zellen der äußeren Epidermis des dorsalen Sepalums wachsen während der Schließbewegung stärker als jene der inneren Epidermis. Während einer Öffnung kommt es hingegen in den Zellen der inneren Epidermis zu stärkerem Wachstum (Abb.9). In den ersten Bewegungsperioden beschränkt sich das Wachstum auf die Zellen des basalen Blütenblattabschnittes. Anschließend werden die Epidermiszellen der mittleren Zone in das Wachstum miteinbezogen bis die Streckungsaktivität der Zellen schließlich in die Blütenblattspitze wandert (Abb. 13). Aufgrund dieser Ergebnisse können vielleicht Rückschlüsse auf das Vorhandensein eines Wachstumsgradienten, entlang des Blütenblattes von der Basis zur Spitze, gezogen werden.

Die Behandlung mit Auxin führte zu keiner Bewegungsreaktion (Abb. 14). Dennoch ist nicht ausgeschlossen, dass die Blütenbewegung von *Bulbophyllum lobbii* auxingesteuert ist (siehe auch 2.3.4).

Nach Behandlung mit Natriumazid wird die Bewegung von *B. lobbii* eingestellt (Abb. 15, 17). Da das Wachstum auf einen intakten Atmungsstoffwechsel angewiesen ist, könnte dies auf einen Zusammenhang zwischen Wachstum und Bewegung hindeuten.

Die verschiedenen Pflanzenteile weisen Unterschiede in ihrem osmotischen Potential auf (Abb. 21). Dieses ist in den vollentwickelten Teilen der Pflanze (Laubblatt und unterer Teil des Blütenstiels) höher als in den sich ausdehnenden Geweben des unteren Blütenstiels und der Blüte. Das würde die Annahme unterstützen, dass zwischen den Laubblättern und der Blütenblattspitze ein Wachstumsgradient verläuft. Das osmotische Potential der gesamten Blüten weist keine tagesperiodischen Schwankungen auf (Abb. 23).

Die Analyse des Zellsaftes in den gegenüberliegenden Blütenblattflanken ergab ein höheres osmotisches Potential in den Zellen der inneren Epidermis bei geöffnetem

Zustand der Blüte beziehungsweise der äußeren Epidermis bei geschlossenem Zustand (Abb. 23). Die annähernd einseitige Konzentrierung der Vakuolen beziehungsweise die einseitig vermehrte Wasseraufnahme findet zwischen Öffnung und Schließung dementsprechend nur innerhalb der Blüte und nicht zwischen Blüte und äußerem Gewebe statt. Da sich das osmotische Potential in den verschiedenen Blütenteilen unterscheidet und mit steigender Bewegungsaktivität abnimmt (Abb. 22), erscheint diese Annahme gerechtfertigt. Demzufolge könnte innerhalb der Blüte zu einem Wassertransport in die wachsenden und sich bewegenden Teile der Blüte stattfinden. In geöffneten Blüten sind die inneren Epidermiszellen dann turgeszenter als die äußeren. Eine Verlagerung des Wassers auf die äußere Blütenblattflanke würde danach zu einer Schließbewegung führen. Da sowohl bei durch Wachstum bedingten Bewegungen als auch bei Turgorbewegungen eine Veränderung des osmotischen Potentials zu erwarten ist, erlauben diese Ergebnisse keine Rückschlüsse auf den zugrundeliegenden Mechanismus. Die Unterschiede des osmotischen Potentials zwischen der inneren und der äußeren Epidermis sind eher gering. Der osmotische Druck wird bei Turgorbewegungen jedoch meist stark und einseitig verringert.

Der Zellsaft geöffneter Blüten weist höhere Saccharose-Konzentrationen auf als jener geschlossener Blüten (Abb. 25). Möglicherweise wird Saccharose innerhalb der Blüte während einer Schließung abgebaut. Das könnte bedeuten, dass eine Schließung mehr osmotische Arbeit erfordert als eine Öffnung. Glucose und Fructose liegen in geöffneten und geschlossenen Blüten in gleichen Konzentrationen vor (Abb. 25). Der Abbau von Stärke kann daher theoretisch nicht einfach auf einer Umwandlung in Glucose- und Fructosemoleküle beruhen. Weiterführende Untersuchungen könnten darüber Aufschluss geben, wie die Zuckermoleküle regional und tageszeitabhängig vorliegen.

Die höhere Konzentration an organischen Säuren im Zellsaft geöffneter Blüten (Abb. 25) könnte mit der erhöhten Konzentration phenolischer Verbindungen in geschlossenen Blüten (Abb. 26) im Zusammenhang stehen. Eine mögliche Hypothese stellt dabei die Bindung und der Transport von Eisen durch Malat und bei dessen Umwandlung in der Nacht durch phenolische Verbindungen dar (siehe auch 2.6.3) Aufgrund des deutlichen Unterschieds in der Malatkonzentration zwischen

offenen und geschlossenen Blüten kann man davon ausgehen, dass Redoxreaktionen an der Bewegung beteiligt sind (persönliche Mitteilung Uni.Prof.Hadacek).

Die Entwässerung der Blüte und des Blütenstiels führte nicht zur Einnahme der Schlafstellung (Abb. 28). Da starker Turgorverlust bei Variationsbewegungen gewöhnlich eine Schließbewegung hervorruft, wird angenommen, dass es sich dabei nicht um den ausschlaggebenden zugrundeliegenden Mechanismus der Blütenbewegung handelt. Dass Blüte und Blütenstiel die Bewegung im Folgenden ganz einstellen, spricht erneut für eine Wachstumsbewegung, die nur stattfinden kann, wenn die jungen Zellen mit ausreichend Wasser versorgt werden.

Die Epidermiszellen des dorsalen Sepalums und des Blattstiels zeigen dennoch eine ideale Anordnung für die Aufnahme großer Mengen Wasser (Foto 8, 9). Bei den anatomischen Untersuchungen konnten keine Unterschiede zwischen äußerer und innerer Epidermis beobachtet werden. Die strangförmige Anordnung der Leitbündel im Blattstiel (Foto 10) entspricht einer „Gelenk“-förmigen Struktur, wie sie auch in den Blattgelenken von *Phaseolus* zu finden ist (Abb. 29). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Aufnahme und Verteilung großer Mengen Wasser von Bedeutung für die Bewegung sein dürften.

Insgesamt sprechen die vorliegenden Ergebnisse für differentielles Wachstum als zugrundeliegender Mechanismus der Blütenbewegung von *Bulbophyllum lobbii*. Dabei muss allerdings berücksichtigt werden, dass die Stichprobenmenge für die durchgeführten Untersuchungen relativ klein gehalten werden musste. Um die Annahme sicher bestätigen zu können, dass es sich bei der endogenen Kreisbewegung von *B. lobbii* um eine Nutationsbewegung handelt, müssten für die verschiedenen Versuchsdurchführungen mehr Pflanzenmaterial verwendet werden.

3.3 Offene Fragen und Ausblick

Es wäre interessant, Beobachtungen der Blütenbewegung von *Bulbophyllum lobbii* am natürlichen Standort durchzuführen. Sie könnten Einblicke in die bestäubungsökologische Relevanz der Öffnungs- und Schließbewegung oder in ihre eventuelle Funktion als Schutzmechanismus gegen zunehmende Luftfeuchte geben.

Außerdem könnte dabei festgestellt werden, ob es im Laufe der Blühzeit in der freien Natur zu einer Abschwächung der Bewegung und des Wachstums kommt.

Weiters könnten genauere Untersuchungen des Blütenstiels angestellt werden. So könnten zum Beispiel auch hier die Wachstumsverhältnisse, sowie Zuckerkonzentrationen und –zusammensetzungen bessere Anhaltspunkte über ihre potentielle Relevanz für die Blütenbewegung geben.

Das Wechselspiel zwischen Zucker- und Stärkekonzentrationen und ihr Einfluss auf das osmotische Potential und gegebenenfalls auf die Bewegung bedürfen ebenso weiterer Analysen.

Weitere Untersuchungen könnten außerdem klären, ob und wie sich das redoxaktive Milieu im Gewebe geöffneter und geschlossener Blüten unterscheidet und verändert. Die Methode der zyklischen Voltametrie könnte darüber Aufschluss geben.

Trotz widersprüchlicher Ergebnisse, kann davon ausgegangen werden, dass die Bewegung der Blüten von *Bulbophyllum lobbii* auxingesteuert ist, sofern es sich dabei tatsächlich um eine Wachstumsbewegung handeln sollte. Eine verbesserte Methode zur Herstellung der richtigen Konzentrationen oder eine lokale Quantitätsbestimmung von Wachstumshormonen könnten genauere Aufschlüsse geben.

Zusätzliche anatomische Untersuchungen der Blütenblätter wären von großem Interesse. So könnten Querschnitte der dorsalen Sepalen aufklären, wie die Leitbündelgefäße in den an der Bewegung beteiligten Blütenblättern angeordnet sind und ob dabei Unterschiede zu den anderen Blütenteilen auftreten.

4 Literaturverzeichnis

- Allen R.D., 1969: Mechanism of the seismonastic reaction in *Mimosa pudica*. *Plant Physiology* **44**, 1101-1107.
- Anderson S.L., Kay S.A., 1995: Functional dissection of circadian clock- regulated and phytochrome- regulated transcription of the *Arabidopsis* CAB2. *Proceedings of the National Academy of Science* **92**, 1500-1504.
- Anker L., 1972: *The circumnutation of the Avena coleoptile, its autonomous nature and its interference with the geotropic reaction*. *Acta Botanica Neerlandica* **21**, 71–76.
- Arditti J., 1992: *Fundamentals of orchid biology*. John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapur, 691 pp.
- Arnal C., 1953: Recherches sur la nutation des coléoptiles. I. Nutation et croissance. *Annales Universitatis Saraviensis Naturwissenschaften* **2**, 92–105.
- Atwood J.T., 1986: *The size of the Orchidaceae and the systematic distribution of epiphytic orchids*. *Selbyana* **9**, 171–186.
- Ball N.G., 1933: A physiological investigation of the ephemeral flowers of *Turnera ulmifolia*. *New Phytologist* **32**, 13-36.
- Bartels H., 1958: Untersuchungen über die Hitzetoleranz der Konferenzapfen. *Forstwirtschaftliches Zentralblatt* **77/9-10**, 287-294.
- Barth F.G., 1985: *Insects and flowers: The biology of a partnership*. Princeton University Press, Princeton, 309 pp.
- Becker T., 1953: Wuchsstoff- und Säureschwankungen bei *Kalanchoe blossfeldiana* in verschiedenen Licht-Dunkelwechseln. *Planta* **43/1**, 1-24.
- Bialeski R., 1993: Fructan hydrolysis drives petal expansion in the ephemeral daylily flower. *Plant Physiology* **103**, 213-219.
- Bialeski R., Elgar J., Heyes J., 2000: Mechanical aspects of rapid flower opening in Asiatic Lily. *Annals of Botany* **86/6**, 1175-1183.

- Bialeski R., Elgar J., Heyes J., Woolf A., 2000b: Flower opening in Asiatic Lily is a rapid process controlled by dark-light cycling. *Annals of Botany* **86/6**, 1196-1174.
- Biskup T., 2011: Botanik Band 2 Physiologie. Till Biskup, Berlin, 520 pp.
- Blancaflor E.B., P.H. Masson, 2003: Plant gravitropism: unraveling the ups and downs of a complex process. *Plant Physiol.* **133**, 1677-1690.
- Blatt M.R., 2000: Cellunlar signaling and volume control in stomatal movements in plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* **16**, 221-241.
- Blatt M.R., Grabov A., 1997: Signalling gates in abscisic acid-mediated control of guard cell ion channels. *Physiologia Plantarum* **100**, 481–90.
- Blatt M.R., Thiel G., 1994. K⁺ channels of stomatal guard cells: bimodal control of the K⁺ inward-rectifier evoked by auxin. *Plant Journal* **5**, 55–68.
- Böhner P., 1934: Zur Thermonastie der Tulpenblüte. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* **52**, 336-347.
- Bopp M., Weber I., 1981: Hormonal regulation of the leaf blade movement of *Drosera capensis*. *Physiologia Plantarum* **53**, 491–496.
- Borba E.L., Semir J., 1998: Wind- assisted fly pollination in three *Bulbophyllum* (Orchidaceae) species occuring in the Brazilian campos rupestres. *Lindleyana* **13**, 302-218.
- Bothe H., Hildebrandt U., 2003: Im Stress werden Pilze und Pflanzen Partner. *Forschung* **28/2**, 18-20.
- Boyer J.S., 1988: Cell enlargement and growth-induced water potentials. *Physiologia Plantarum* **73**, 311–316.
- Brauner L., Rau W., 1966: Versuche zur Bewegungsphysiologie der Pflanzen. Springer- Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 138 pp.
- Brennicke A., Schopfer P., 2010: Aktive Bewegungen von Zellen, Organen und Organellen. In Pflanzenphysiologie, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 698 pp.
- Brieger F.G., Maatsch R., Senghas K., 1992: Rudolf Schlechter- Die Orchideen; Band I und II. Paul Parey, Berlin, Hamburg, 944 pp. und 727 pp.

- Britz S.J., Galston A.W., 1983: Physiology of movements in stems of seedling *Pisum sativum* L. cv. Alaska. III. Phototropism in relation to gravitropism, nutation, and growth. *Plant Physiology* **71**, 313–318.
- Brummel D.A., Harpster M.H., Dunsmuir P., 1999: Differential expression of expansin gene family members during growth and ripening of tomato fruit. *Plant Molecular Biology* **39**, 161-169.
- Bünning E., 1929: Über die thermonastischen und thigmonastischen Blütenbewegungen. *Planta* **8/5**, 698-716.
- Bünning E., 1946: Die entwicklungsphysiologische Bedeutung der endogenen Tagesrhythmik bei den Pflanzen. Eine Ergänzung zum Artikel R. Harder. *Die Naturwissenschaften* **9**, 271-274.
- Bünning E., 1948: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 464 pp.
- Bünning E., 1956: Endogenous rhythms in plants. *Plant physiology* **7**, 71-90.
- Bünning E., 1977: Die physiologische Uhr, Teil 1. In: Ruhland W., (Eds.), Handbuch der Pflanzenphysiologie, Vol. 17, 1-3. Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 692 pp.
- Bünsow R., 1953: Endogene Tagesrhythmik und Photoperiodismus bei *Kalanchoe blossfeldiana*. *Planta* **42/3**, 220-252.
- Bünsow R., 1960: The circadian rhythm of photoperiodic responsiveness in *Kalanchoe*. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* **25**, 257-260.
- Buschmann H., 2002: *Tortifolia* Gene kontrollieren das Streckungswachstum in *Arabidopsis*. Klonierung von *Tortifolia* 1. Dissertation der Fakultät für Chemie und Pharmazie der Ludwig-Maximilians-Universität, München, 139 pp.
- Campbell N.A., Reece J.B., 2003: Biologie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, 1606 pp.
- Carpita N.C., Gibeaut D.M., 2008: Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant Journal* **3/1**, 1-30.

- Chen R., Rosen E., Masson P.H., 1999: Gravitropism in higher plants. *Plant Physiology* **120/2**, 343-350.
- CITES, 2012: Appendices I, II and III valid from 22 December 2011. - <http://www.cites.org/eng/app/2011/E-Dec22.pdf> (viewed 02/02/2012)
- Claus G., 1926: Die Blütenbewegungen der Gentianaceen. *Flora* **120**, 198-226.
- Collier D.E., 1997: Changes in respiration, protein and carbohydrates of tulip tepals and Alstroemeria petals during development. *Journal of Plant Physiology* **150**, 446-451.
- Comber J.B., 1990: Orchids of Java. Bentham- Moxon Trust, The Royal Botanic Gardens Kew, 413 pp.
- Cosgrove D., 1986: Biophysical control of plant cell growth. *Annual Reviews of Plant Physiology* **37**, 377-405.
- Cosgrove D., 2005: Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **6**, 850-861.
- Cumming B.G., Wagner E., 1968: Rhythmic processes in plants. *Plant physiology* **19**, 381-416.
- Darwin C., Darwin F., 1881: The power of movements in plants. John Murray, London, 592 pp.
- Darwin F., 1915: Practical Physiology of plants. University Press, Cambridge, 340 pp.
- De Vetten N.C., Huber D.J., 1990: Cell wall changes during the expansion and senescence of carnation (*Dianthus caryophyllus*) petals. *Physiologia Plantarum* **78**, 447-454.
- De Vries H., 1877: Untersuchungen über die mechanischen Ursachen der Zellstreckung ausgehend von der Einwirkung von Salzlosungen auf den Turgor wachsender Pflanzenzellen. Engelmann, Leipzig 120 pp.
- Dengler N.G., Tsukaya H., 2001: Leaf morphogenesis in dicotyledons: current issues. *International Journal of Plant Sciences* **162**, 459-464.
- Derry B.H., 1929: Plasmolyseform und Plasmolysezeit- Studien. *Protoplasma* **8/1**, 1-49.

- Donnelly P.M., Bonetta D., Tsukaya H., Dengler R.E., Dengler N.G., 1999: Cell cycling and cell enlargement in developing leaves of *Arabidopsis*. *Developmental Biology* **215**, 407-419.
- Dressler R.L., 1981: The orchids: natural history and classification. Harvard University Press, Cambridge, 332 pp.
- Dressler R.L., 1987: Die Orchideen. Eugen Ulmer, Stuttgart, 394 pp
- Dressler R.L., 1993: Phylogeny and classification of the orchid family. Dioscorides Press, Portland, 314 pp.
- Eason J.R., de Vré L.A., Somerfield S.D., Heyes J.A., 1997: Physiological changes associated with *Sandersonia aurantiaca* flower senescence in response to sugar. *Postharvest Biology and Technology* **12/1**, 43-50.
- Engelmann W., 2003: Wie Pflanzen wachsen und sich bewegen. Wolfgang Engelmann, Thübingen, 79 pp.
- Esmon C.A., Pedmale U.V., Liscum E., 2005: *Plant tropisms: providing the power of movement to a sessile organism. International Journal of Developmental Biology* **49**, 665–674.
- Evans R.Y., Reid M.S., 1986. Control of petal expansion during diurnal opening of roses. *Acta Horticulturae* **181**, 55-63.
- Evans R.Y., Reid M.S., 1988: Changes in carbohydrates and osmotic potential during rhythmic expansion of rose petals. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **113**, 884-888.
- Evert R.F., Eschrich W., Heyser W., 1977: Leaf structure in relation to solute transport and phloem loading in *Zea mays* L, *Planta* **36**, 77-89.
- Findlay G.P., 1984 a: Membranes and the electrophysiology of turgor regulation. *Australian Journal of Plant Physiology* **28/7**, 619-636.
- Findlay, G.P., 1984 b: Nastic Movements. In *Advanced Plant Physiology*, Wilkins, 186-200.
- Findlay G.P., Findlay N., 1981: Respiration-dependent Movements of the Column of *Stylidium gvaminifolium*. *Australian Journal of Plant Physiology* **8/1**, 45-56.

- Fischer M.A., 2006: Diversität und Systematik der höheren Pflanzen, 30. Auflage. Manuskript. Institut für Botanik, Universität Wien, 158 pp.
- Fischer M.A., Adler W., Oswald K., 2008: Exkursionsflora für Österreich, Liechtenstein und Südtirol, 3. Auflage, Land Oberösterreich, Biologiezentrum der OÖ Landesmuseen, Linz, 1392 pp.
- Fisher D.G., Evert R.F., 1982: Studies on the leaf of *Amaranthus retrofractus* (Amaranthaceae); ultrastructure, plasmodesmatal frequency, and solute concentration in relation to phloem loading. *Planta* **155**, 377-387.
- Geiger D.R., Giaquinta R.T., Sovonick S.A., Fellows R.J., 1973: Solute distribution in sugar beet leaves in relation to phloem loading and translocation. *Plant Physiology* **72**, 585—589.
- Gradmann H., 1927: Die Kreisbewegungen der Ranken- und Windepflanzen. *Die Naturwissenschaften* **15**, 345-352.
- Gravandeel B., Smithson A., Slik F.J., Schuitman A., 2004: Epiphytism and pollinator specialization: drivers for orchid diversity? *Philosophical transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences* **359**, 1523-1535.
- Griesel W.O., 1954: Retardation of maturation in *Magnolia* flowers by maleic hydrazide. *Science* **119**, 843-845.
- Hager A., Schmidt R., 1968: Auxintransport und Phototropismus. *Planta* **83/4**, 347-371.
- Halket A.C., 1931: The flowers of *Silene saxifraga* L.; an inquiry into the cause of their day closure and the mechanism concerned in effecting their periodic movements. *Annals of Botany* **45**, 15-37.
- Hart J.W., 1990: Plant tropisms and other growth movements. Chapman & Hall, London, 209 pp.
- Härtel O., 1962: Über die Möglichkeit der Anwendung der plasmometrischen Methode Höflers auf nicht zylindrische Zellen. *Protoplasma* **57/1-4**, 354-370.
- Haupt W., 1977: Bewegungsphysiologie der Pflanzen. Georg Thieme- Verlag, Stuttgart, 405 pp.
- Heathcote D.G., 1965: *Generation of nutational movements*. *Nature* **208**, 909–910.

- Heathcote D.G., Aston T.J., 1970: The physiology of plant nutation I. Nutation and geotropic response. *Journal of experimental Botany* **21/4**, 997-1002.
- Heathcote D.G., Idol, 1965: Nutation in seedling *Phaseolus multiflorus*. *Annals of Botany* **29/4**, 563-577.
- Hesse G., Banerjee B., Schildknecht H., 1957: Die Reizbewegungen der Mimosoideen und ihre Hormone. *Cellular and Molecular Life Sciences* **13/1**, 13-19.
- Hill B.S., Findlay G.P., 1981: The power of movement in plants: the role of osmotic machines. *Quarterly Reviews of Biophysics* **14/2**, 173-222.
- Ho L.C., Nichols R., 1977: Translocation of ^{14}C -sucrose in relation to changes in carbohydrate content in rose corollas cut at different stages of development. *Annals of Botany* **41**, 227-242.
- Hochschartner G., 2006: Molecular biogeography of the *Bulbophyllum lobbii* Lindl. complex (sect. *Sestochilos*, Orchidaceae) in Southeast Asia. Dissertation. Department of Organismic Biology, Paris-London-University of Salzburg, 126 pp.
- Höfler, K., 1918: Permeabilitätsbestimmung nach der plasmometrischen Methode. *Berichte der deutschen Botanischen Gesellschaft* **36**, 414–422.
- Horie K., 1961: The behavior of the petals in the fading of the flowers of *Tradescantia reflexa*. *Protoplasma* **53**, 377-386.
- Jacob F., 1966: Bewegungsphysiologie der Pflanzen. Akademie- Verlag, Berlin, 168 pp.
- Kaihara S., Takimoto A., 1981: Effects of light and temperature on flower opening in *Pharbitis nil*. *Plant and Cell Physiology* **22**, 215-221.
- Karvé A., Engelmann W., Schoser G., 1961: Initiation of rhythmical petal movements in *Kalanchoe blossfeldiana* by transfer from continuous darkness to continuous light or vice versa. *Planta* **56/6**, 700-711.
- Kerner von Marilaun A., 1891: Pflanzenleben, Band 2. Verlag des Bibliographischen Instituts, Leipzig, 896 pp.
- Ketellapper H.J., 1963: Stomatal physiology. *Plant Physiology* **14**, 249-270.

- Kogler S., 2010: Blütenbewegungen bei *Bulbophyllum lobbii*- Beschreibung der Bewegung und physiologische Grundlagen. Diplomarbeit, Department für Biogeographie, Universität Wien, 100 pp.
- Kraus C., 1879: Beiträge zur Kenntnis wachsender Laub- und Blütenblätter. *Botanische Zeitung* **62**, 11-16, 27-44, 55-80, 90-94.
- Küster E., 1929: Pathologie der Pflanzenzelle Teil 1. *Protoplasma*. Monograph 3. Gebrüder Borntraeger, Berlin, 200 pp.
- Latscha H.P., Kazmaier U., Klein H.A., 2002: Chemie für Biologen. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 717 pp.
- Lawson T., Oxborough K., Morison J.I.L., Baker N.R., 2002: Responses of photosynthetic electron transport in stomatal guard cells and mesophyll cells in intact leaves to light, CO₂, and humidity. *Plant Physiology* **128/1**, 52-62.
- Lee-Stadelmann O.Y., Bushnell W.R., Stadelmann E.J., 1984: Changes in plasmolysis form in epidermal cells of *Hordeum vulgare* infected by *Erysiphe graminis*. evidence for increased membrane-wall adhesion. *Canadian Journal of Botany* **62**, 1714-1724.
- Lee-Stadelmann O.Y., Hulme D.A., Stadelmann E.J., 1981: The apparent viscosity of the protoplasm of subepidermal stem basis cells of *Pisum sativum*. Relation to aging, drought tolerance and water stress. *Physiologia Plantarum* **52**, 65-76.
- Lindley J., 1847: *Bulbophyllum lobbii* Lindl.. *Edward's Botanical Register* **33**, 29.
- Lindman C.A.M., 1897: Remarques sur la floraison du genre *Silene* L.. *Acta Horticulturae Bergiani* **3**, 3-28.
- Liscum E., 2002: Phototropism: Mechanisms and outcomes. In *The Arabidopsis Book*, American Society of Plant Biologists, Rockville, 21.
- Ljung K., Bhalerao R., Sandberg G., 2001: Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in Arabidopsis during vegetative growth. *Plant Journal* **28**, 465-474.
- Marissen N., 1991: Osmotic potential and carbohydrate contents in the corolla of the rose cv. *Madelon*. *Acta Horticulturae* **298**, 145-152.
- McDonald B., Lim S., 2005: *Bulbophyllum lobbii* and its relatives. *The Orchid Review*, September/Oktober 2005, 277-281.

- Meve U., Liede S., 1994: Floral biology and pollination in stapeliads- new results and a literature review. *Plant Systematics and Evolution* **192**, 99-116.
- Millet B., Melin D., Bonnet B., Tavant H., Mercier J., 1978: *Contrôle de la durée de la période du mouvement révolutif du Haricot: rôle des ions Li^+ et K^+ dans le mécanisme de ce phénomène périodique.* *Physiologie Végétale* **16**, 805–815.
- Minorsky P.V., 2003: Circumnutation. *Plant Physiology* **132/4**, 1779-1180.
- Molas M.L., Kiss J.Z., 2009: Phototropism and gravitropism in plants. *Advances in Botanical Research* **49**, 1-34.
- Mückschitz G., 1950: Zur zellphysiologischen Analyse der Blütenbewegungen. Dissertation. Pflanzenphysiologisches Institut der Universität Wien, 366 pp.
- Nabors W.N., 2007: Botanik. Pearson Studios, München, 699pp.
- Negbi M., Zamski E., Ze'evi O., 2012: Photo- and thigmomorphogenetic control of the attachment of the Ivy (*Hedera helix* L.) to its support. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* **108/1**, 9-15.
- Nishida R., Tan K.H., Wee S.L., Hee A.K.W., Toong Y.C., 2004: Phenyl-propanoids in the fragrance of the fruit fly orchid, *Bulbophyllum cheiri*, and their relationship to the pollinator *Bactrocera papayae*. *Biochemical Systematics and Ecology* **32**, 245-252.
- Nonami H., Boyer J.S., Steudle E., 1987: Pressure probe and isopiestic psychrometer measure similar turgor. *Plant Physiology* **83**, 592-595.
- O'Donoghue E.M., Somerfield S.D., Heyes J.A., 2002a: Organization of cell walls in *Sandersonia aurantiaca* floral tissue. *Journal of Experimental Botany* **53**, 513-523.
- O'Donoghue E.M., Somerfield S.D., Heyes J.A., 2002b: Vase solutions containing sucrose result in changes to *sandersonia* (*Sandersonia aurantiaca*) flowers. *Postharvest Biology and Technology* **26**, 285-294.
- Oparka K.J., 1994: Tansley Review 67 Plasmolysis: A new insight into an old process. *New Phytologist* **126**, 571-591.

- Panavas T., Reis P.D., Rubinstein B., 1998: Programmed cell death of daylily petals: activities of wall-based enzymes and effects of heat shock. *Plant Physiology and Biochemistry* **36**, 379-388.
- Pfeffer W., 1873: Untersuchungen über Öffnen und Schliessen der Blüten. In *Physiologische Untersuchungen*. Wilhelm Engelmann, Leipzig, 161-216.
- Pfeffer W., 1875: Die periodischen Bewegungen der Blattoorgane. Engelmann, Leipzig, 176 pp.
- Pfeffer W., 1909: Untersuchungen über die Entstehung der Schlafbewegungen der Blattoorgane. Abhandlungen der mathematisch-physischen Klasse der Königl. Sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften Band 56, Teubner, 472 pp.
- Pfeffer W., 1917: Beiträge zur Kenntnis der Entstehung der Schlafbewegungen. Abhandlungen der mathematisch-physischen Klasse der königl. Sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften Band 64, Teubner, Leipzig, 154pp.
- Phillips H.L., Kende H., 1980: Structural changes in flowers of *Ipomea tricolor* during flower opening and closing. *Protoplasma* **102/3-4**, 199-216.
- Raven P.H., Evert R.F., Eichhorn S.E., 2006: Biologie der Pflanzen. Walter de Gruyter, Berlin, New York, 942 pp.
- Ray, P.M., 1961: Hormonal regulation of plant cell growth. In Control mechanisms in cellular processes, Ronald Press, New York, USA, 185–212.
- Rayle D.L., Cleland R.E., 1992: The acid-growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. *Plant Physiology* **99**, 1271–1274.
- Renner O., 1915: Theoretisches und Experimentelles zur Kohäsionstheorie der Wasserbewegungen. *Jahrbuch für Wissenschaftliche Botanik* **56**, 617-667.
- Ridley H.N., 1890: On the method of fertilization in *Bulbophyllum macranthum* and allied Orchids. *Annals of Botany* **4**, 327-336.
- Roblin G., 1979: *Mimosa pudica*: a model for the study of the excitability in plants. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* **54**, 135-153.

- Rolland- Lagan A., Bangham J.A., Coen E., 2003: Growth dynamics underlying petal shape and asymmetry. *Nature* **422**, 161-163.
- Rudolph U., Gross H., Schnepf E., 1989: Investigations of the turnover of the putative cellulose-synthesising particle rosettes within the plasma membrane of *Funaria hygrometrica* protonema cells, II. Rosette structure and the effects of cyclohexamide, actinomycin D, 2,6 dichlorobenzonitrile, biofluor, heat shock and plasmolysis. *Protoplasma* **148**, 57-69.
- Ruhland W., 1959: Handbuch der Pflanzenphysiologie, Vol. 17/1-23. Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 716 pp.
- Russin W., Evert R.F., 1985: Studies on the leaf of *Populus deltoides* (Saticaceae): uttrastructure, plasmodesmatat frequency, and solute concentrations, *American Journal of Botany* **72**, 1232-1247.
- Rysy W., 1985: Orchideen: Tropische Orchideen für Zimmer und Gewächshaus. BLV Verlagsgesellschaft, München, 191 pp.
- Santiago R.R., Gravendeel B., Singer R.B., Marshall C.R., Pierce N.E., 2007: Dating the origin from a fossil orchid with its pollinator. *Nature* **448**, 1042-1045.
- Satter R.L., 1979: Leaf movements and tendril curling. In *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series VII Physiology of Movements*, Springer-Verlag, Berlin, 442-484.
- Satter R.L., Galston A.W., 1981: Mechanisms of control of leaf movements. *Annual Review of Plant Physiology* **32**, 83-110.
- Schicknecht H., 1983: Turgorine, Hormone der endogenen Tagesrhythmik höher organisierter Pflanzen — Nachweis, Isolierung, Strukturaufklärung, Synthese und Wirkung. *Angewandte Chemie* **95/9**, 689-705.
- Schopfer P., 2006: Biomechanics of plant growth. *American Journal of Botany* **93/10**, 1415-1425.
- Schrempf M., 1977: Studies on the circadian rhythm of petal movement in *Kalanchoe blossfeldiana*. *Journal of Interdisciplinary Cycle Research* **8**, 396-400.
- Schrempf M., 1980: The action of abscisic acid on the circadian petal movement of *Kalanchoe blossfeldiana*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* **100**, 397-407.

- Seidenfaden G., Singh P., Singh M.P., 1990: Orchid genera in Thailand, VIII: *Bulbophyllum* Thou. Bishen Singh Mahendra Pal Singh, Dehra Dun, 228 pp.
- Seidenfaden G., Wood J.J., 1992: The orchids of Peninsula Malaysia and Singapore. Olsen & Olsen, Fredensborg, 779 pp.
- Sieder A., 2001: Bemerkungen zur Gattung *Bulbophyllum* und den Bulbophyllinae im Allgemeinen und zu *Bulbophyllum* Section Macrobulbon im Besonderen. *Interorchid 2001*, Botanischer Garten der Universität Wien, 78-83.
- Sigmond H., 1930a: Die Entfaltung de Blütenknospe zweier *Oenothera*-Arten. Teil I. *Beihefte des Botanisches Zentralblatt* **46**, 476-488.
- Sigmond H., 1930b: Die Entfaltung de Blütenknospe zweier *Oenothera*-Arten. Teil II. *Beihefte des Botanisches Zentralblatt* **47**, 69-138.
- Silvera K., Santiago L.S., Cushman J.C., Winter K., 2009: Crassulacean acid metabolism and epiphytism linked to adaptive radiations in the Orchidaceae. *Plant Physiology* **149**, 1838-1847.
- Simons P.J., 1981: The role of electricity in plant movements. *New Phytologist* **87**, 11-37.
- Sitte P., Weiler E.W., Kadereit J.W., Bresinsky A., Körner C., 2002: Strasburger Lehrbuch der Botanik. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, 1123 pp.
- Solhaug K.A., Aares E., 1994: Remobilization of fructans in *Phippisia algida* during rapid inflorescence development. *Physiologia Plantarum* **91**, 219-225.
- Stadelmann E.J., 1966: Evaluation of turgidity, plasmolysis and deplasmolysis in plant cells. In *Methods in Cell Physiology*, Academic Press, London, New York, 143-216.
- Stadelmann E.J., 1956: Plasmolyse und Deplasmolyse. In *Encyclopedia of plant physiology*, vol. 2. ed. Ruhland W., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 71-115.
- Stålfelt M.G., 1963a: Die Abhängigkeit des osmotischen Potentials der Stomatazellen vom Wasserzustand der Pflanze. *Protoplasma* **57/1-4**, 719-729.

- Stålfelt M.G., 1963b: Diurnal Dark Reactions in the Stomatal Movements. *Physiologia Plantarum* **16/4**, 756-766.
- Stålfelt M.G., 1966: The role of the epidermal cells in the stomatal movements. *Physiologia Plantarum* **19/1**, 241-256.
- Steubing L., Schwantes H.O., 1981: Ökologische Botanik. Quelle & Meyer, Heidelberg, 408 pp.
- Stöcklin J., 2007: Die Pflanze Moderne Konzepte der Biologie. Bundesamt für Bauten und Logistik BBL, Bern, 79 pp.
- Stolarz M., 2009: Circumnutation as a visible plant action and reaction- Physiological, cellular and molecular basis for circumnutations. *Plant Signaling & Behavior* **4/5**, 380-387.
- Stützel T., 2006: Botanische Bestimmungsübungen. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 112 pp.
- Sweeney B.M., 1963: Biological clocks in plants. *Plant physiology* **14**, 411-440.
- Tanaka O., Murakami H., Wada H., Tanaka Y., Nak Y., 1988: Flower opening and closing of *Oxalis martiana*. *Journal of Plant Research* **102/2**, 245-253.
- Tanaka O., Tanaka Y., Wada H., 1988: Photonastic and thermonastic opening of capitulum in dandelion, *Taraxacum officinale* and *Taraxacum japonicum*. *Botanical Magazine Tokyo* **101**, 103-110.
- Tanaka O., Wada H., Yokoyama T., Murakami H., 1987: Environmental factors controlling capitulum opening and closing of dandelion, *Taraxacum albidum*. *Plant and Cell Physiology* **28**, 727-730.
- Taxeira S.D.P., Borba E.L., Semir J., 2004: Lip anatomy and its implications for the pollination mechanisms of *Bulbophyllum* species (Orchidaceae). *Annals of Botany* **93**, 499-505.
- Thimann K.V., 1977: Hormone action in the whole life of plants, University of Massachusetts Press, Amherst, 448 pp.
- Trolinder N.L., McMichael B.L., Upchurch D.R., 1993: Water relations of cotton flower petals and fruit. *Plant, Cell and Environment* **16**, 755-760.

- Trusty S.E., Miller W.B., 1991: Postproduction carbohydrate levels in pot chrysanthemums. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **116**, 1013-1018.
- Ueda M., Nakamura Y., 2006: Metabolites involved in plant movement and 'memory': nyctinasty of legumes and trap movement in the Venus flytrap. *National Product Reports* **23**, 548-557.
- Ueda M., Yamamura S., 2000: Chemistry and Biology of Plant Leaf Movements. *Angewandte Chemie International Edition* **39/8**, 1400-1414.
- Umrath K., 1931: Der Übergang der Blätter in Schlafstellung. *Planta* **13/1**, 169-192.
- Umrath K., Thaler I., Steiner G., 1979: Die Wirkung von 3- Indolylessigsäure auf die Spaltöffnungsweite. *Phyton* **19**, 253-258.
- Url W., 1958: Zur Wirkung der Atmungsgifte Natriumazid und Dinitrophenol auf die Permeabilität von *Blechnum spicant*- Zellen. *Sitzungsberichte der österreichischen Akademie der Wissenschaften, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Klasse* **167/5**, 298-319.
- Url W., 1971: The site of penetration resistance to water in plant protoplasts. *Protoplasma* **72**, 427-447.
- Ursprung A., 1915: Über die Kohäsion des Wasser im Farnannulus. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* **33**, 153- 162.
- van der Meulen- Muisers J.J.M., van Oeveren J.C., Meijkamp B.B., Derks F.H.M., 1995: Effect of floral bud reduction on individual flower longevity in Asiatic hybrid lilies. *Acta Horticulturae* **405**, 46-57.
- van der Meulen-Muisers J.J.M., 2000: Genetic and physiological aspects of postharvest flower longevity in Asiatic hybrid lilies (*Lilium L.*). PhD thesis, University, The Netherlands, Wageningen, 75-87.
- van Doorn W.G., 1997: Water relations of cut flowers. *Horticultural Reviews* **18**, 1-85.
- van Doorn W.G., v. Meeteren U., 2003: Flower opening and closure: A review. *Journal of Experimental Botany* **54/389**, 1801-1812.
- van Meeteren U., van de Peppel A.C., van Gelder H., 2001: DOCIS: a model to simulate carbohydrate balance and development of inflorescence during vase life. *Acta Horticulturae* **543**, 359-365.

- van Meeteren U., van Gelder H., van de Peppel A.C., 1995: Aspects of carbohydrate balance during floret opening in freesia. *Acta Horticulturae* **405**, 117-122.
- van Volkenburgh E., 1999: Leaf expansion – an integrating plant behaviour. *Plant Cell & Environment*. **22**, 1463-1473.
- Vergauwen R., van den Ende W., van Laere A., 2000: The role of fructan in flowering of *Campanula rapunculoides*. *Journal of Experimental Botany* **51**, 1261-1266.
- Vermeulen J.J., 1991: Orchids of Borneo. Vol. 2 Bentham- Moxon Trust, The Royal Botanic Gardens Kew, 352 pp.
- von Mohl H., 1856: Welche Ursachen bewirken die Erweiterung und Verengung der Spaltöffnungen? *Botanische Zeitung* **14**, 697-704.
- Watanabe S., Umrath K., 1983: The Influence of Plant Hormones on Leaf Movements of *Mimosa pudica*. *Phyton* **23**, 49-54.
- Weintraub M., 1952: Leaf movements in *Mimosa pudica* L.. *New Phytologist* **50**, 357-382.
- Wejnar R., 1982: Bewegungen der Pflanzen. Aulis- Verlag Deubner & Co KG, Köln, 135 pp.
- Wiedersheim W., 1904: Studien über photonastische und thermonastische Bewegungen. *Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik* **40**, 230-241.
- Wiemken-Gehrig V., Wiemken A., Matile P., 1974: Mobilization von Zellwandstoffen in der welkenden Blüte von *Ipomoea tricolor* Cav. *Planta* **115**, 297-307.
- Wild A., Schmitt V., 2012: Physiologie der Bewegungen. In biochemische und physiologische Versuche mit Pflanzen, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 441 pp. (391-425)
- Winkenbach F., 1971: Zum Stoffwechsel der aufblühenden und welkenden Korolle der Prunkwinde *Ipomoea purpurea*. I. Beziehungen zwischen Gestaltwandel, Stofftransport, Atmung und Invertase-aktivität. *Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft* **80**, 374±390.
- Wood W.M.L. 1953. Thermonasty in tulip and crocus flowers. *Journal of Experimental Botany* **4**, 65-77.
- Yamane K., Kawabata S., Sakiyama R., 1991: Changes in water relations, carbohydrate contents and acid invertase activity associated with perianth

elongation during anthesis of cut gladiolus flowers. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* **60**, 421-428.

zur Lippe T., 1957: Wasseraufnahme und Blütenbewegung an *Kalanchoe*-Infloreszenzen in verschiedenen Licht- Dunkelwechseln. *Zeitschrift für Botanik* **45**, 43-55.

5 Abstract

5.1 Englisch

Flower movements are common in the Plant Kingdom. They fulfill different functions and they are always related to an optimized reproduction. Flower opening and closing is, in most cases, the result of differential growth but it can be also activated by rapid reversible turgor changes. The flowers of *Bulbophyllum lobbii* show circular movements, regulated by an inner physiological clock. To find out which mechanisms determine the movement, anatomical and physiological investigations were carried out. Thereby the diameter of the flowers and their separate parts have been determined as well as the cell areas of the inner and outer epidermal cells, and changes are documented as a function of time. To examine a correlation between the movement and growth processes, the flowers were treated by growth hormones and NaN_3 , which inhibits respiration. Microscopical and cell sap analysis provided additional indications of osmotical changes and cellular structures. The investigations carried out here revealed that flower tissue is expanding acropetally and that differential growth of the antagonistic sides of the dorsale sepalum plays an important role in the movement. Circadian antidromic fluctuations in osmotic potential occur in the outer and in the inner epidermal cells, but the differences are insufficient to cause movement. Flower dehydration does not lead to sleeping position of the flower. Cellular arrangement and thickened cell walls enable the uptake of high amounts of water, required for growth, and the fusion of the vascular bundles to a central strand increases the bendability of the organ. In each case movement correlates with the growth of flower parts, which are involved in movement. The intensity of growth, for example, decreases analogous to the movement. This fact makes it highly likely that the flower movement of *Blulbophyllum lobbii* equates to a growth movement.

5.2 Deutsch

Blütenbewegungen sind im Pflanzenreich weit verbreitet. Sie haben unterschiedliche Funktionen und dienen in jedem Fall der Optimierung der Fortpflanzung. Die Öffnungs- und Schließbewegungen beruhen bei den meisten untersuchten Arten auf Wachstumsverschiedenheiten, manchmal werden sie jedoch auch durch plötzliche, reversible Turgorveränderungen ausgelöst. Die Blüten von *Bulbophyllum lobbii* zeigen kreisförmige Bewegungen, die durch die innere physiologische Uhr endogen gesteuert werden. Um festzustellen, welcher Mechanismus der Bewegung zugrunde liegt, wurden anatomische und physiologische Untersuchungen durchgeführt. Dabei wurden der Durchmesser der Blütenhülle und der einzelnen Blütenteile, sowie die Zellflächen der inneren und der äußeren Epidermiszellen bestimmt und deren Veränderung mit der Zeit dokumentiert. Um den Zusammenhang der Bewegung mit Wachstumsprozessen zu überprüfen, wurden die Blüten des Weiteren mit Wachstumshormonen und Atmungsgift behandelt. Zellsaftanalysen und lichtmikroskopische Untersuchungen gaben Rückschlüsse auf osmotische Veränderungen und zelluläre Strukturen. Die Untersuchungen zeigen, dass sich das Blütengewebe akropetal ausdehnt und dass differentielles Wachstum der antagonistischen Flanken des dorsalen Sepalums bei der Bewegung eine große Rolle spielt. Tagesperiodische gegenläufige Schwankungen des osmotischen Potentials in den inneren und äußeren Epidermiszellen treten auf, die Veränderungen sind jedoch zu gering, um eine Bewegung hervorzurufen. Entwässerung der Blüte führt nicht zur Einnahme der Schlafstellung. Die Anordnung der Epidermiszellen und ihre dicken Zellwände ermöglichen die Aufnahme großer Mengen Wasser, die für das Wachstum benötigt werden, und der Zusammenschluss der Leitbündel im Blütenstiel zu einem zentralen Strang erhöht die Biegefähigkeit des Organs. Die Bewegung korreliert in jedem der untersuchten Punkte mit dem Wachstum der an der Bewegung beteiligten Blütenteile. So schwächt sich zum Beispiel das Wachstum, ebenso wie die Bewegung, mit der Zeit ab. Diese Tatsache lässt vermuten, dass die Blütenbewegung von *Bulbophyllum lobbii* einer Wachstumsbewegung entspricht.

6 Anhang

6.1 Poster

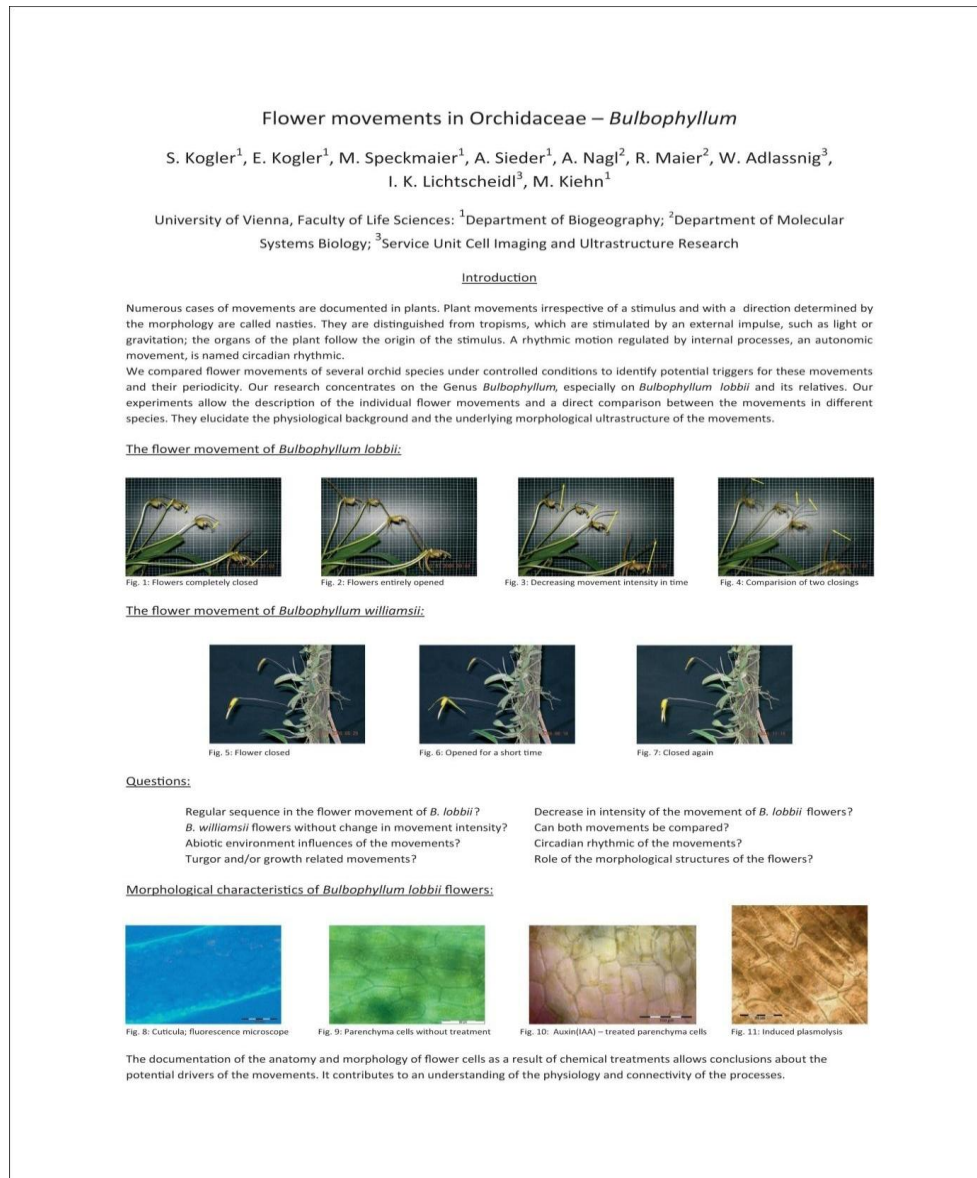


Abb. 30: Poster: Flower movements in Orchidaceae-*Bulbophyllum*

7 Danksagung

Bei der Planung und Durchführung dieser Diplomarbeit erhielt ich von vielen Personen Unterstützung.

Mein erster Dank gilt meinem Diplomarbeitsbetreuer Prof. Dr. Michael Kiehn vom Department für Biogeographie der Universität Wien für das interessante Diplomarbeitsthema und für die Möglichkeit, sehr selbständig arbeiten zu können.

Für die Bereitstellung sämtlicher technischer Geräte und Versuchsmaterialien bedanke ich mich bei Prof. Dr. Irene Lichtscheidl-Schultz von der Core Facility für Cell Imaging und Ultrastrukturforschung. Vor allem möchte ich mich an dieser Stelle bei Mag. Dr. Wolfram Adlassnig und Gregor Eder für ihre persönliche Unterstützung bedanken.

Besonderer Dank gilt auch Dr. Alois Nagl und Ass.-Prof. i. R. Mag. Dr. Wolfgang Punz vom Department für Molekulare Systembiologie und Prof. Dr. Franz Hadacek vom Department für Terrestrische Ökosystemforschung für viele spontane Hilfeleistungen und ihre professionelle Beratung.

Für die Bereitstellung von Pflanzen- und Fotomaterial bedanke ich mich bei Anton Sieder und Manfred Speckmaier vom Botanischen Garten der Universität Wien und bei den Bundesgärten Schönbrunn, im Besonderen bei Robert Wessely und Gerald Schaffer.

Weiters möchte ich Andreas Schröfl und Thomas Joch von den Gewächshäusern des Biozentrums Wien besonderen Dank für die Unterbringung und Pflege des verwendeten Pflanzenmaterials aussprechen.

Abschließend möchte ich meiner Familie und meinem Freund Matthias für die Unterstützung und Aufmunterung während meines ganzen Studiums und der Diplomarbeit danken. Ohne sie wäre es viel schwieriger gewesen, diese Arbeit zu beenden.

8 Curriculum Vitae



Kogler Elisabeth Christiane

Weinberggasse 6/4

1190 Wien, Austria

Tel: +43 650 8408099

E-Mail: elisabethkogler@gmx.at

Persönliche Daten:

Geburtstag:	9. August 1984
Geburtsort:	Linz
Nationalität:	Österreich
Familienstand:	ledig
Kinder:	keine

Schulausbildung:

1990- 1994	VS 2, Volksschule Biesenfeld, Linz, Österreich
1994- 2002	Bundesrealgymnasium Auhof, Linz, Österreich (Matura: Juni 2002)

Studium:

2002	Beginn des Studiums der Biologie; Universität Wien, Österreich
------	---

Praktische Erfahrungen:

2002- 2007	Verkaufstätigkeit bei <i>Flexible Marketing</i>
2007- 2008	Gastronomieangestellte im <i>Ottakringer Landhaus</i> , 1160 Wien
2008- 2009	Nachhilfeunterricht, Lerninstitut <i>Sprawunkel</i> , 1090 Wien
Sommer 2008	botanische Führungen, botanischer Garten, Wien
seit Oktober 2009	Erzieherin, Tagesheimschule St. Ursula, Mauer, Wien

Praktika während des Studiums:

Sommer 2005	Meeresschildkröten, Fethiye, Türkei
Sommer 2006	RELIS, Department für Terrestrische Ökosystemforschung
Sommer 2007	MICDIF, Department für Terrestrische Ökosystemforschung
SS 2008- WS 2012	Tutorin (Freilandübungen zur Ökophysiologie der Pflanzen, Funktionelle Zytologie der karnivoren Pflanzen, Schulversuche, Pflanzenphysiologie für Fortgeschrittene)

