Charakteristische Meristemschäden in Fichtenwurzeln durch niedrigen pH-Wert und Aluminium-Ionen

Von Berthold Metzler und Franz Oberwinkler,
Lehrstuhl Spezielle Botanik der Universität Tübingen

In jüngster Zeit wurde mehrfach durch experimentelle Arbeiten gezeigt, daß niedriger pH und erhöhte Konzentrationen von Aluminiumionen im Substrat Fichtenwurzeln schädigen können (5, 6, 9, 11, 12, 13, 14, 15). Problematisch ist es jedoch bisher, die Schädigungen an Wurzeln im Freiland zu erkennen.

Ziel dieser Arbeit ist, einen möglichst leicht identifizierbaren und quantifizierbaren morphologischen Indikator herauszuarbeiten, um die Diagnose eines primären Wurzelschadens durch Bodenversauerung oder freie Aluminiumionen zu erleichtern. Dazu dienten zwei Versuchsreihen mit Fichtensämlingen. Es wurden sterile Versuchsbedingungen gewählt, um störende Fremdinfektionen zu vermeiden.)*

Material und Methoden

Für die Versuchsreihe a) wurde Fichtensaatgut der Staatsklenge Nagold (Herkunft Oberschwaben, 184 019) mit H_2O_2 oberflächensterilisiert und nach zweiwöchiger Vorkeimzeit auf Agarplatten in 500-ml-Erlenmeyerkolben mit 200 ml einer Mischung aus Perlit und Sphagnum (14 : 1) und 175 ml Nährlösung nach Marx (8) gepflanzt. Es wurden vier pH-Stufen mit jeweils 27 Kolben mit je drei Pflanzen angesetzt (pH 6,0, 4,8, 3,8 und 3,0). Die Ansäuerung erfolgte mit Schwefelsäure. Während der sechsmonatigen Versuchszeit sank der pH-Wert ab (Tab.). Der Aluminium- und Calcium-Gehalt der Nährlösungen wurde bei Abschluß des Versuchs mit AAS an neun bzw. zwölf Einzelproben mit mehreren Wiederholungen gemessen (Abb. 1). Der Anstieg der Konzentrationen ist auf die Freisetzung der Elemente aus dem Perlit bei niedrigem pH zurückzuführen.

**) Frau A. Dressel betreute sorgfältig die Kulturen und fertigte die histologischen Schnitte an; Frau Dr. I. Kottke gab wertvolle Anregungen. Prof. Dr. G. Winkelmann, Institut für Mikrobiologie, stellte das AAS-Analysegerät zur Verfügung. Der Bundesminister für Forschung und Technologie förderte das Projekt.*

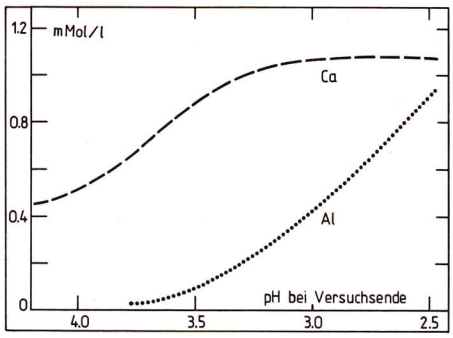

Abb. 1: Calcium- und Aluminiumgehalt in der Nährlösung bei Abschluß von Versuchsreihe a). Je nach pH-Wert in den einzelnen Kolben wurden unterschiedliche Mengen von Ca und Al aus dem Perlit freigesetzt.

Für die Versuchsreihe b) wurde Saatgut verwendet, das nach Herkunft und Vorbehandlung gleich wie in Versuchsreihe a) war. Die Sämlinge wurden einzeln in senkrechtstehende Petrischalen mit Filterpapier und 20 ml Ingestad-Nährlösung (4) gepflanzt (Abb. 2). Dieses Kultursystem ist eine abgeänderte Form der Methode von Fortin et al. (3). Die Kontamination der Nährlösung mit Aluminiumionen aus dem Filterpapier war auch unter sehr sauren Bedingungen geringer als 0,1 mMol/l. Es wurden nur zwei pH-Stufen (pH 3,0 und 3,5) mit je 20 Pflanzen angesetzt. Jeweils die Hälfte davon wurde mit 1 mMol Aluminiumsulfat/l (= 54 ppm Al) belastet; das molare Ca/Al-Verhältnis war dann 0,23. Am Ende der zehnwöchigen Versuchszeit variierte der pH in den einzelnen Schalen zwischen 2,6 und 3,7 (vgl. Abb. 8).

Ergebnisse: Meristemausgrenzung und Übergipfelung

In Versuchsreihe a) nahm das Frischgewicht von Sproß und Wurzeln und die Wurzelspitzenzahl pro Pflanze zum niederen pH-Wert hin stark ab. Der Anteil brauner Wurzelspitzen nahm zu. Besonders bei der niedrigsten pH-Stufe wuchsen oft direkt hinter verbräunten Spitzen ungewöhnliche übergipfelnde Seitenwurzeln aus. Gelegentlich traten sogar Serienübergipfelungen auf (Abb. 3, 4). Der Abstand zwischen Spitze und Neuaustrieb betrug in der Regel nur 0,2 bis 1,0 mm. Die Zahl

Tab.: Anteil der braunen und übergipfelten Wurzelspitzen in den Wurzelsystemen von Versuchsreihe a)

pH-Stufe bei Versuchsbeginn	Versuchsende	Zahl der ausgezählten Pflanzen	Gesamtzahl der Wurzelspitzen	braune Wurzelspitzen (%)	übergipfelte Wurzelspitzen (%)
6,0	3,7	13	5 730	0,9	0
4,8	3,3	18	2 823	1,3	0,001
3,8	3,1	18	1 724	3,2	1,4
3,0	2,6	20	144	66,0	27,8

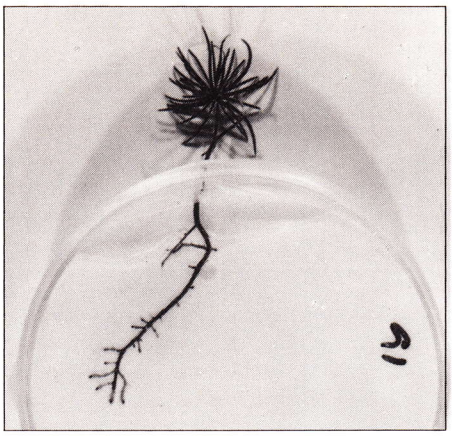

Abb. 2: Kultursystem für die Versuchsreihe b).

dieser charakteristischen Übergipfelungen war bei den höheren pH-Stufen sehr niedrig (s. Tab.).

In Längsschnitten zeigt sich regelmäßig, daß in den übergipfelten Wurzelspitzen die Meristeme (Teilungsgewebe) durch eine mehrlagige Zellschicht quer zur Wurzellängsachse vom Zentralzylinder abgeschottet werden und degenerieren (Abb. 5, 6). Diese Schicht enthält Zellen mit phenolischem Material sowie mit suberin- und ligninhaltigen Zellwänden; sie verläuft kontinuierlich mit der Endodermis. In den ausgegrenzten Meristemen bleibt der Zellverband erhalten. Obwohl noch Zellkerne vorhanden sind, ist im elektronenmikroskopischen Bild ersichtlich, daß sie nicht mehr funktionsfähig sind. Im Vergleich zu den vitalen Zellkernen des Zentralzylinders erscheint das Chromatin hier coaguliert (Abb. 7). Der vitale Zentralzylinder dieser Wurzeln war reichlich mit Stärke versorgt, die mit Melzers Reagens und elektronenoptisch nachgewiesen wurde.

Bei den von Anfang an niedrigen pH-Stufen **der Versuchsreihe b** traten die charakteristischen Übergipfelungen der Wurzelspitzen zahlreich auf. In Abb. 8 ist der prozentuale Anteil der übergipfelten Wurzelspitzen gegen den pH in den einzelnen Kulturgefäßen bei Versuchsende aufgetragen. Es zeigt sich eine deutliche Steigerung mit sinkendem pH bis zu 37 % an einer Pflanze bei pH 2,62. Zwei mit Aluminium behandelte Pflanzen wiesen bei pH 3,3 mit jeweils 17 % einen für diese pH-Stufe hohen Anteil von Übergipfelungen auf. Bei den übrigen Pflanzen kann jedoch kein Zusammenhang zwischen Aluminiumzugabe und den Übergipfelungen festgestellt werden. Alle überprüften Übergipfelungen zeigten in Längsschnitten die Ausgrenzung des Meristems vom Zentralzylinder.

Summary

In two experiments with Norway spruce the hitherto undescribed pattern of meristematic abortion in root tips was induced by low pH and aluminium ions in the substrate. It is a potential bioindicator for detrimental soil conditions. Studies in forest stands comparing sites of different pH and content of aluminium ions in the soil are needed.

Abb. 3: Wurzeln mit typischen übergipfelten Wurzelspitzen (Pfeile). Auch der Neuaustrieb stellt meist das Wachstum bald ein.

Abb. 4: Feinstwurzel mit mehrfacher Übergipfelung.

Siehe hierzu auch „Das Rhizoskop – eine Möglichkeit zur störungsfreien Beobachtung des Wurzelraumes" in AFZ Nr. 20/1986 (Waldböden und Schäden).

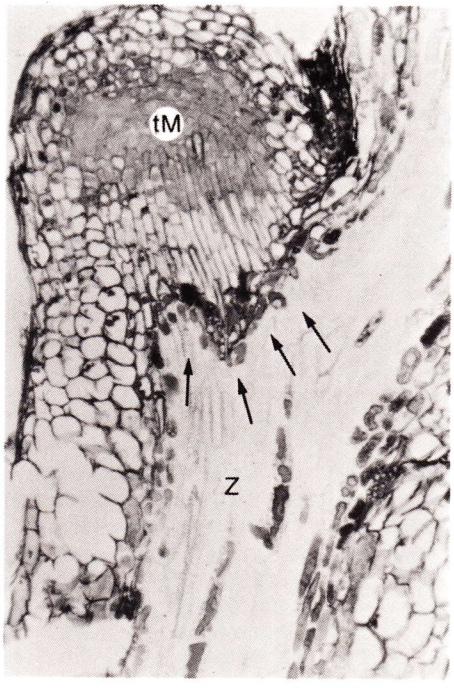

Abb. 5: Kryotom-Längsschnitt durch eine Wurzelspitze mit übergipfelndem Seitentrieb. Eine metacutisierte Schicht von Zellen (Pfeile) schottet das absterbende Meristem (tM) der primären Wurzelspitze gegen den Zentralzylinder (Z) ab. Re. o. der Neuaustrieb.

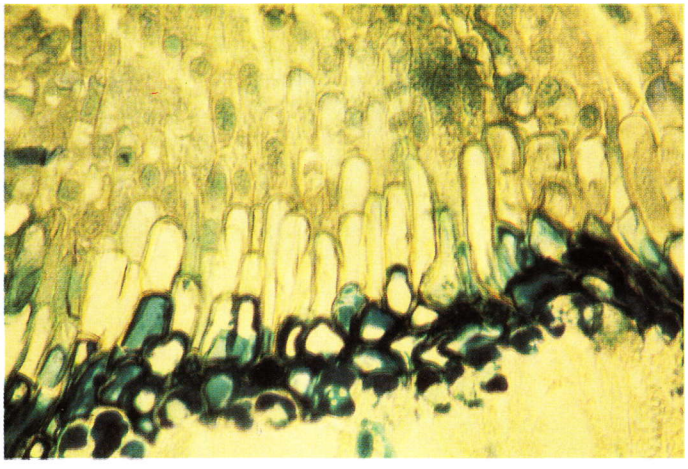

Abb. 6: Detail aus einem Längsschnitt einer übergipfelten Wurzelspitze mit Meristemausgrenzung. Oben: Totes Meristem mit noch morphologisch erhaltenen Zellkernen. Mitte: Zellpalisade mit lignifizierten Zellwänden, darunter intensiv angefärbte Schicht kleiner Zellen mit phenolischem Inhalt. Unten: vitaler, hellgefärbter Zentralzylinder (Kryotomschnitt mit Toludinblaufärbung).

Abb. 9: Verkümmerte Seitenwurzelanlagen bei 54 ppm Aluminium in der Nährlösung.

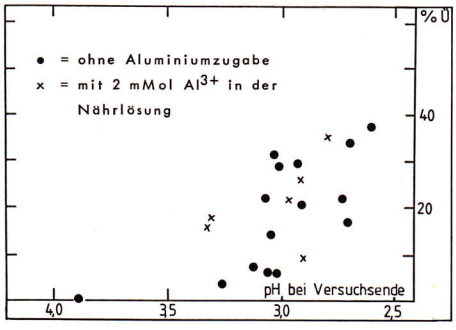

Abb. 8: Anteil übergipfelter Wurzelspitzen pro Pflanze (% Ü) in Abhängigkeit vom pH-Wert des Substrates nach Abschluß der Versuchsreihe b).

Abb. 7: Elektronenmikroskopisches Bild der Meristemausgrenzung. Oben: tote Zellen des Spitzenmeristems mit Plasmolyse. Die Zellkerne haben einen kondensierten Inhalt und unterscheiden sich deutlich von denen lebender Zellen. Darunter die Abschottungsschicht aus polyphenolhaltigen Zellen (A). Unten: vitale plasmatische Zellen des Zentralzylinders (Z) mit feinkörnigen Zellkernen (N) und weiß erscheinenden Stärkekörnern (S). (X = Xylem). Vergrößerung: 1 350x.

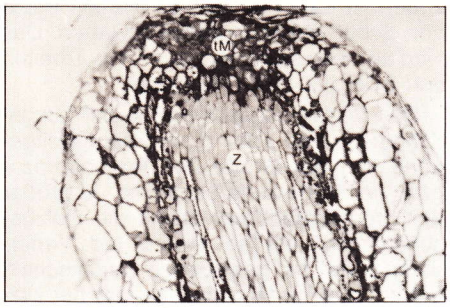

Abb. 10: Längsschnitt durch eine gedrungene Wurzel aus dem Substrat mit 54 ppm Aluminium bei pH 2,9. Oben: abgestorbenes Meristem (tM), darunter eine Zellschicht mit phenolischem Material. Die vorderen Zellen des Zentralzylinders (Z) sind noch plasmatisch und scheinen auch noch teilungsfähig zu sein.

Das Wurzelsystem der mit Aluminium behandelten Pflanzen war häufig so kümmerlich ausgebildet, daß einige noch vor Abschluß des Versuchs abstarben. Die Seitenwurzeln waren oft nur ansatzweise und knotig ausgebildet (Abb. 9). Als anatomische Schadbilder waren hier abgestorbene Meristemzellen und eine Zellschicht mit phenolischem Material direkt hinter abgestorbenen Meristemen zu erkennen (Abb. 10).

Diskussion

Das Absterben des Spitzenmeristems und dessen Abschottung vom Zentralzylinder („meristematic abortion" [10]) mit der meist nachfolgenden Übergipfelung durch einen subapikalen Neuaustrieb stellt eine abnorme Wurzelentwicklung dar. Bisher war dieser anatomische Befund nicht beschrieben. In unseren Versuchen wurde diese Meristemausgrenzung im sehr sauren Bereich nahe pH 3 im Substrat induziert. Hohe Konzentrationen von Aluminiumionen scheinen die Ausprägung dieses Schadbildes verstärken zu können. Weitere Auslöser sind hierfür nicht bekannt. Deshalb kann die Meristemausgrenzung als Indikator für primäre Wurzelschädigung durch Bodenversauerung gelten.

Junga (6) beschrieb für Fichtensämlinge eine Störung der Apikaldominanz und auch das Absterben von Wurzelspitzen bei 20 ppm Aluminium in Hydrokultur mit pH 3,8 („Wurzeltyp c"). Ähnliches fanden Simon et al. (13) bei pH 3 auch ohne Aluminium. Ob dabei die typischen Meristemausgrenzungen vorliegen, ist unbekannt, da keine anatomischen Untersuchungen dazu veröffentlicht wurden. Nur so könnte ausgeschlossen werden, daß das Spitzenmeristem durch andere Ursachen zerstört wurde.

„Wurzelstörpunkte" verwenden Blaschke (1) als Parameter für Wurzelschädigung bei Weißtanne und Liss et al. (7) bei Fichten. Der Gedanke an bodenbedingte Meristemschäden liegt sehr nahe, es scheint sich aber nach den Beschreibungen der Autoren hier eher um Wundreaktionen nach Verletzung oder Parasitenbefall zu handeln.

Makkonen-Spieker (9) fand bei hohen Aluminium-Konzentrationen in der Nährlösung (bis 120 ppm) bei pH 3,8 eine zunehmende Zahl von absterbenden Zellen in den Wurzelmeristemen von Fichten. Die gefundenen Schäden entsprechen denen aus Experiment b) (Abb. 11). Daneben fand sie, wie bereits Evers (2), genetische Unterschiede in der Aluminium-Empfindlichkeit einzelner Fichtenklone.

Bei eigenen Untersuchungen an Fichtenbeständen auf sauren Böden im Schwarzwald, Odenwald und im Erzgebirge fanden sich typische Übergipfelungen von Wurzelspitzen mit den entsprechenden Meristemausgrenzungen; deren Häufigkeit lag unter 1 % der Wurzelspitzen. Weitere Erhebungen an Beständen mit verschiedener Bodenazidität sind erforderlich, um die Korrelation dieses Schadbildes mit dem pH-Wert und der Konzentration von freien Aluminiumionen im Freiland zu bestätigen.

Literaturhinweise

1) BLASCHKE, H., 1981: Veränderungen bei der Feinwurzelentwicklung in Weißtannenbeständen. Forstw. Cbl. 100, 190–195.
2) EVERS, F. H., 1983: Ein Versuch zur Aluminium-Toxizität bei Fichte. Forst- u. Holzwirt 38, 305–307.
3) FORTIN, J. A., PICHÉ, Y., and LALONDE, M., 1980: Technique for the observation of early morphological changes during ectomycorrhiza formation. Can. J. Bot. 58, 361–365.
4) INGESTAD, T., 1959: Studies on the nutrition of forest tree seedlings. II. Mineral nutrition of spruce. Physiol. Plant. 12, 568–592.
5) JORNS, A., und HECHT-BUCHHOLZ, C., 1985: Aluminiuminduzierter Magnesium- und Calciummangel im Laborversuch bei Fichtensämlingen. AFZ 46, 1248–1252.
6) JUNGA, U., 1984: Sterilkultur als Modellsystem zur Untersuchung des Mechanismus der Aluminium-Toxizität bei Fichtenkeimlingen *(Picea abies* Karst.). Berichte des Forschungszentrums Waldökosysteme und Waldsterben Göttingen, Bd. 5.
7) LISS, B., BLASCHKE, H., und SCHÜTT, P., 1984: Vergleichende Feinwurzeluntersuchungen an gesunden und erkrankten Altfichten auf zwei Standorten in Bayern – ein Beitrag zur Waldsterbensforschung. Eur. J. For. Path. 14, 90–102.
8) MARX, D. H., 1969: The Influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic fungi and soil bacteria. Phytopathology 59: 153–163.
9) MAKKONEN-SPIEKER, K., 1984: Auswirkungen des Aluminiums auf junge Fichten *(Picea abies* Karst.) verschiedener Provenienzen. Dissertation, Freiburg.
10) METZLER, B., 1985: Morphological changes in root tips of Norway spruce *(Picea abies)* induced by low pH and aluminium ions in the substrate. EC-COST workshop on indirect effects of air pollution on forest trees. Jülich, 5./6. 12. 85.
11) ROST-SIEBERT, K., 1983: Aluminium-Toxizität und -Toleranz an Keimpflanzen von Fichte *(Picea abies* Karst.) und Buche *(Fagus silvatica* L.) AFZ 38, 686–689.
12) SCHOLZ, F., und GEBUREK, T., 1983: Über die Wirkung saurer Niederschläge auf die genetische Struktur von Waldbaumpopulationen. VDI-Berichte 500, 195–203.
13) SIMON, V., und ROTHE, G. M., 1985: Aluminiumbedingte Stoffwechseländerungen in Fichtenkeimlingen. AFZ 36, 931–935.
14) STIENEN, H., 1985: Struktur und Funktion von Feinwurzeln gesunder und erkrankter Fichten *(Picea abies* [L.] Karst.) unter Wald- und Kulturbedingungen. Dissertation, Hamburg.
15) TISCHNER, R., KAISER, R., und HÜTTERMANN, A., 1983: Untersuchungen zum Einfluß von Aluminiumionen auf das Wachstum von Fichtenkeimlingen in Abhängigkeit vom pH-Wert. Forstw. Cbl. 102, 329–335.