

Water Relations of Lianas

Dissertation

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Eberhard Karls Universität Tübingen
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

vorgelegt von

M.Sc. Tatiana dos Santos Miranda
aus Porto Alegre, Brasilien

Tübingen

2013

Tag der mündlichen Qualifikation:

20.11.2013

Dekan:

Prof. Dr. Wolfgang Rosenstiel

1. Berichterstatter:

PD. Dr. Dr. Wilfried Konrad

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. James Nebelsick

TABLE OF CONTENTS

TABLE OF CONTENTS.....	III
AUTHOR'S CONTRIBUTION TO THE PUBLICATIONS	IV
ABSTRACT	V
ZUSAMMENFASSUNG	VII
RESUMO	IX
MOTIVATION FOR THIS STUDY	1
1 INTRODUCTION	2
1.1 Vines and lianas as biological models for effective water transport	2
1.2 The plant in the water potential gradient of the soil-plant-atmosphere continuum	3
1.2.1 Wood evolution and structure	5
1.2.2 Vascular system of the stems	7
1.2.3 Xylem and stem water potential	10
1.2.4 Repair of embolism.....	11
1.3 Leaves.....	12
1.3.1 Leaf size and venation	13
1.4 Stomata	14
1.4.1 Control of stomatal aperture and transpiration	16
1.5 What makes lianas a promising model for nature inspired design of efficient water transport systems?.....	19
2 OBJECTIVES	22
3 FOCUS OF INCLUDED RESEARCH PAPERS.....	23
Publication 1: "Diurnal pattern of stomatal conductance in the large-leaved temperate liana <i>Aristolochia macrophylla</i> depends on spatial position within the leaf lamina"	24
Publication 2: "Visualization of small water droplets on surfaces with different degree of wettability by using Cryo-scanning electron microscopy"	27
Publication 3, "Visualization of embolism formation in the xylem of liana stems using neutron radiography"	28
4 CONCLUDING REMARKS AND OUTLOOK	30
4.1 Liquid transport and surfaces	30
4.2 Detection of embolism in xylem vessels	31
4.3 Eco physiology and wood anatomy of <i>Aristolochia macrophylla</i>	31
4.4 Notes for future research	32
4.4.1 Function of root systems	32
4.4.2 Intensified studies of air bubble dynamics inside the xylem vessels	33
REFERENCES	35
APPENDIX 1.....	i
APPENDIX 2.....	i
APPENDIX 3.....	i

AUTHOR'S CONTRIBUTION TO THE PUBLICATIONS

Publication 1: *“Diurnal pattern of stomatal conductance in the large-leaved temperate liana Aristolochia macrophylla depends on spatial position within the leaf lamina”*.

Tatiana Miranda, Martin Ebner, Christopher Traiser, Anita Roth-Nebelsick.

Annals of Botany (2013): V.111 (5): 905-915. doi: 10.1093/aob/mct061

http://www.oxfordjournals.org/our_journals/annbot/recently_accepted_papers.html

Own contributions:

Scientific ideas: 80%

Data generation: 90%

Analysis and interpretation: 80%

Paper writing: 80%

Publication 2: *“Visualization of small water droplets on surfaces with different degree of wettability by using Cryo-scanning electron microscopy”*.

Dagmar Voigt, Anita Roth-Nebelsick, **Tatiana Miranda**, Martin Ebner, Stanislav Gorb.

Journal of Advanced Microscopy Research (2012): V. 7: 64-67. doi: 10.1166/jamr.2012.1091

Own contributions:

Scientific ideas: 30%

Data generation: 30%

Analysis and interpretation: 30%

Paper writing: 30%

Publication 3: *“Visualization of embolism formation in the xylem of liana stems using neutron radiography”*.

Christian Tötzke, **Tatiana Miranda**, Wilfried Konrad, Julien Gout, Nikolay Kardilov, Martin Dawson, Ingo Manke, Anita Roth-Nebelsick.

Annals of Botany (2013): V.111(4):723-30. doi: 10.1093/aob/mct014.

www.aob.oxfordjournals.org. 2013.

Own contributions:

Scientific ideas: 40%

Data generation: 50%

Analysis and interpretation: 40%

Paper writing: 40%

ABSTRACT

This dissertation considers the flux of water from the soil through the xylem of woody vines towards the atmosphere. Due to the strategy of using self-supporting plants to climb up into the canopy, vines are able to minimize the formation of wood as a supporting tissue. As a consequence, vines have to supply a relatively high amount of leaf biomass using relatively narrow stems. In this approach, the hypothesis is followed that vines deal with high leaf/stem ratios by i) developing wood morphological structures which promote highly efficient, undisturbed water transport and ii) adjusting their water budget (and transpiration fluxes) to changing environmental conditions. We furthermore assume that the control of embolism plays a crucial role in the management of the plant's water budget. Besides analyzing relationships between vine anatomy, eco-physiology and external factors, it was attempted to illuminate the biomimetic potential of vines as models for nature inspired design of energy efficient and reliable systems for transport of fluids.

Wood anatomy and hydraulic properties of several tropical (*Adenia lobata*, *Aristolochia brasiliensis*, *Bauhinia cumingiana*) and temperate vines (*Aristolochia macrophylla*, *Parthenocissus quinquefolia* and *Parthenocissus tricuspidata*) were studied in order to identify structures which are related to water transport at different climatic conditions. Furthermore, formation of embolism in xylem vessels through cold neutron radiography was investigated.

The results showed that the considered temperate lianas develop high hydraulic stem conductance. *A. macrophylla* achieved $8.3 \cdot 10^{-5}$ m/s, *P. quinquefolia* $7.6 \cdot 10^{-5}$ m/s while tropical lianas showed lower stem conductivity *A. lobata* $5.2 \cdot 10^{-5}$ m/s, *B. cumingiana* $8.1 \cdot 10^{-6}$ m/s and *A. brasiliensis* $3.9 \cdot 10^{-6}$ m/s (units according to hydraulic head, see below). This may indicate that lianas of temperate climates show a more intense gas exchange and therefore water flux to compensate for the winter (dormant) season. The analysis of wood anatomy showed that all analyzed species have anatomical characteristics that are considered advanced such as simple perforate plates, vascentric tracheids and axial parenchyma (Carlquist 2001, Carlquist 2002). The formation and temporal course of an embolism event could be successfully observed in individual conduits of xylem, with cold neutron radiography.

In order to examine the response of water budget of the broad leaved vine *A. macrophylla* to different environmental boundary conditions, the stomatal conductivity on an intra-leaf scale at high temporal (hourly) resolution was monitored. The dynamics of stomatal conductivity (g_s) is related to: 1) stem and leaf water potential and 2) atmosphere and soil water conditions which were simultaneously recorded. Stomatal conductivity not only showed a characteristic diurnal course, but also varied significantly between different positions within a single leaf. Stem water potential was correlated with stomatal conductivity ($r = 0.659$, $p < 0.001$ $n = 177$) which implies a response of the water tension inside the plant to the diurnal variation of the atmospheric water potential. For *A. macrophylla*, the diurnal stem water potential average (5 until 18h) was -1.5 MPa in the leaf and -1.36 MPa in stem, with -97.7 MPa in the atmosphere and -0.1 MPa in the soil (not considered rain periods). With sufficient water supply in the soil, the diurnal course of water vapor pressure deficit in the atmosphere was crucial for the behavior of the plant in the soil-plant-atmosphere-continuum (SPAC), with xylem potential tracking air humidity, despite tight stomatal regulation.

As a whole, the results demonstrate the structural and ecophysiological adaptations of vines to enable and support high water transport capabilities and to support a balanced water budget.

ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen dieser Dissertationsarbeit wurde der Wassertransport durch das Xylem von Lianen in die Atmosphäre untersucht. Da Lianen die Strategie verfolgen, gestützt auf andere Pflanzen in die Höhe zu wachsen, konnten sie im Laufe des Evolutionsprozesses die Ausbildung von eigenem Stützgewebe minimieren. Als Konsequenz davon müssen Lianen allerdings eine relativ hohe Blattbiomasse über schmale Stämme mit Wasser versorgen. Wir verfolgten in unserem Ansatz die Hypothese, dass Lianen Versorgungsengpässen, die sich durch das ungünstige Verhältnis von Blattmasse zu Stamm ergeben, folgendermaßen begegnen: Durch i) die Entwicklung von morphologischen Strukturen im Holz, die einen hocheffizienten, ungestörten Wassertransport garantieren, und ii) Anpassung ihres durch Transpiration verursachten Wasserverlustes an sich ändernde Umweltbedingungen über die Regulierung der stomatären Leitfähigkeit. Des Weiteren sind wir davon ausgegangen, dass die Vermeidung, Eindämmung und Reparatur von Embolien eine entscheidende Rolle bei der Aufrechterhaltung der Wasserversorgung von Lianen spielt. Es wurden nicht nur die Beziehungen zwischen Morphologie, Ökophysiologie und von auf die Pflanze einwirkenden Umweltfaktoren untersucht, sondern auch das biomimetische Potential von Lianen als biologische Modelle zur Entwicklung energieeffizienter und zuverlässiger Flüssigkeitstransportsysteme.

Die Holzanatomie und hydraulischen Eigenschaften von mehreren tropischen Lianen (*Adenia lobata*, *Aristolochia brasiliensis*, *Bauhinia cumingiana*) wurden den Eigenschaften von Lianen aus der gemäßigten Klimazone (*Aristolochia macrophylla*, *Parthenocissus quinquefolia* and *Parthenocissus tricuspidata*) gegenübergestellt. Auf diese Weise sollten Strukturen identifiziert werden, die mit dem Wasser-Transport bei unterschiedlichen klimatischen Bedingungen in Verbindung stehen. Die Bildung und Ausbreitung von Embolien in Xylemgefäßen wurde anhand von kalter Neutronenradiographie untersucht.

Die Ergebnisse zeigten für die Lianen aus der gemäßigten Klimazone hohe hydraulische Leitfähigkeiten im Stamm (*A. macrophylla* $8,3 \cdot 10^{-5}$ m/s, *P. quinquefolia* $7,6 \cdot 10^{-5}$ m/s) für die tropischen Lianen hingegen geringere Werte (*A. lobata* $5,2 \cdot 10^{-5}$ m/s, *B. cumingiana* $8,1 \cdot 10^{-6}$ m/s and *A. brasiliensis* $3,9 \cdot 10^{-6}$ m/s). Die höheren Stammeitfähigkeiten der Lianen aus der gemäßigten Klimazone ermöglichen einen

intensiven Gasaustausch während der Vegetationszeit. Dadurch kann der metabolische Stillstand im Winter kompensiert werden. Die Analyse der Holzanatomie zeigte, dass die untersuchten Arten Merkmale aufweisen, die als evolutiv fortgeschritten angesehen werden. Dazu gehören einfach perforierte Platten, vasizentrische Tracheiden und Axialparenchym (Carlquist 2001, Carlquist 2002). Der zeitliche Verlauf einer Embolie konnte erfolgreich in einem einzelnen Gefäß mittels kalter Neutronenradiographie beobachtet werden.

Im Zentrum dieser Studie stand die Regulation des Wassertransportes der breitblättrigen Liane *A. macrophylla* unter sich ändernden Umweltbedingungen. Durch ein zeitlich und räumlich hochauflösendes Monitoring konnte die Dynamik der stomatären Konduktivität innerhalb von Einzelblättern im Verlauf eines Tages abgebildet werden. Wir setzten die Dynamik stomatärer Konduktivität in Beziehung zum i) Stamm- und Blattwasserpotential und zu ii) den Klima- und Bodenwasserbedingungen, die parallel dazu aufgenommen wurden. Die stomatäre Leitfähigkeit wies nicht nur einen charakteristischen Tagesgang auf, sondern variierte auch signifikant zwischen den verschiedenen Positionen eines Einzelblattes. Das Stammwasserpotential korrelierte mit der stomatären Leitfähigkeit ($r = 0.659$, $p < 0.001$, $n = 177$), was eine Abhängigkeit der Wasserspannung in der Pflanze von Schwankungen des atmosphären Wasserpotentials im Tagesverlauf impliziert. Für die von uns untersuchte *A. macrophylla* im Arboretum des botanischen Gartens in Tübingen war das durchschnittliche Stammwasserpotential (5 bis 18 Uhr) -1.36 MPa, das Blattwasserpotential -1.5 MPa, bei durchschnittlichem -97.7 MPa in der Atmosphäre und -0.1 MPa im Boden (ohne Berücksichtigung von Regenperioden). Aufgrund der guten Wasserverfügbarkeit im Boden war das Wasserdampfdruckdefizit der Atmosphäre (VPD) entscheidend für das Verhalten der Pflanze bezüglich stomatärer Regelung im Boden-Pflanze-Atmosphäre Kontinuum (SPAC). Hierdurch wurde ein Überschreiten eines kritischen Wertes der Xylemspannung vermieden.

In ihrer Gesamtheit demonstrieren die Ergebnisse, dass es verschiedene strukturelle und ökophysiologische Anpassungen gibt, die es Lianen ermöglichen große Mengen an Wasser zu transportieren und einen ausgeglichenen Wasserhaushalt sicherzustellen.

RESUMO

Esta dissertação considerou o fluxo de água de cipós lenhosos (lianas) a partir do solo através do xilema em direção a atmosfera. Devido à estratégia de utilizar outras plantas com tecido de suporte para alcançar a copa das árvores, cipós ou lianas são capazes de minimizar a produção de madeira como tecido de suporte. Como consequência cipós têm que abastecer uma quantidade relativamente elevada de folhas para um caule relativamente estreito. Nesta abordagem, seguimos a hipótese que lianas suprem carências resultantes da relação desfavorável entre a elevada taxa de folhas / raio de tronco, através: i) do desenvolvimento de estruturas morfológicas da madeira que promovam um transporte de água altamente eficiente e imperturbável, ii) de ajustar seu orçamento água e os fluxos de transpiração às mudanças das condições ambientais. Neste contexto nós assumimos que o controle da embolia desempenha um papel crucial no manejo do orçamento de água das lianas. Além de analisar as relações entre a anatomia das lianas, a ecofisiologia e fatores ambientais nós almejamos iluminar o potencial das lianas como modelos biomiméticos inspirado no design da natureza, para produzir um sistema de transporte de fluidos eficiente, confiável e sem uso de energia.

A anatomia da madeira e as propriedades hidráulicas de lianas tropicais (*Adenia lobata*, *Aristolochia brasiliensis*, *Bauhinia cumingiana*) e temperadas (*Aristolochia macrophylla*, *Parthenocissus quinquefolia* e *Parthenocissus tricuspidata*) foram estudadas com o propósito de identificar as estruturas relacionadas com o transporte de água em diferentes condições climáticas. Adicionalmente foi investigada a formação de embolia nos vasos do xilema por meio de radiografia de nêutrons frios.

Os resultados mostraram que as lianas de clima temperado, consideradas neste trabalho, desenvolvem alta condutância hidráulica do caule. *A. macrophylla* alcançou $8,3 \cdot 10^{-5}$ m/s, *P. quinquefolia* $7,6 \cdot 10^{-5}$ m/s enquanto as lianas de clima tropical mostraram condutividade hidráulica do tronco mais baixa *A. lobata* $5,2 \cdot 10^{-5}$ m/s, *B. cumingiana* $8,1 \cdot 10^{-6}$ m/s und *A. brasiliensis* $3,9 \cdot 10^{-6}$ m/s. Isso pode indicar que as plantas de clima temperado, para compensar a estação de inverno, mostram uma troca gasosa mais intensa e, portanto maior fluxo de água que as lianas de clima tropical. A análise da anatomia da madeira mostrou que todas as espécies analisadas têm características anatômicas que são consideradas avançadas evolutivamente, tais como placas de perfuração simples,

traqueídeos vasicêntricos e parênquima axial (Carlquist 2001, Carlquist 2002). A formação e evolução temporal de um evento de embolia pode ser observado com êxito em condutos individuais do xilema, com a radiografia nêutrons frios.

Com vista em analisar a resposta do orçamento de água da liana com folhas grandes *A. macrophylla* em diferentes condições ambientais, foi monitorada a condutividade estomática em escala intrafoliar seguindo uma minuciosa resolução temporal (por hora). Nós relacionamos a dinâmica da condutividade estomática (g_s) com i) o potencial hídrico do caule e da folha e ii) simultaneamente foram registrados as condições de água mostradas pela atmosfera e solo. A condutividade estomática não só mostrou um curso diurno característico, mas também variou significativamente entre as diferentes posições dentro de uma folha. O potencial de água do tronco foi correlacionado com a condutividade estomática ($r = 0,659$, $p < 0,001$ $n = 177$), e mostrou uma correlação significativa entre a tensão de água no interior da planta com a variação diurna do potencial de água na atmosfera. Para *A. macrophylla* o potencial médio diurno de água do tronco (5 até às 18h) foi de -1,5 MPa na folha, de -1,36 Mpa no caule, -97,7 MPa na atmosfera e -0,1 MPa no solo (não foram considerados os períodos de chuva). O suprimento de água no solo e as condições de déficit de pressão de vapor (VPD) da atmosfera são cruciais para o comportamento da planta no sistema solo-planta-atmosfera-continuum (SPAC). Deste modo foi evitado a estrapolação de um valor crítico da tensão do xilema.

Como um todo, os resultados evidenciaram as adaptações ecofisiológicas e estruturais das lianas para permitir e apoiar a capacidade de transporte de água e sustentar um orçamento equilibrado de água.

I certify that I have only used the resources indicated for the preparation of the present work.

Tübingen, November 2013

*For my parents
Zeferino Corrêa Miranda und
Norma dos Santos Miranda*

*Para meus pais
Zeferino Corrêa Miranda e
Norma dos Santos Miranda*

MOTIVATION FOR THIS STUDY

There are numerous studies on the plant water transport system (Sperry et al. 1987, Bazzas 1990, Kramer 1995, Zwieniecki and Holbrook 1998, Braun 1999a, Braun 1999b, Costa 2001, Tyree and Zimmermann 2002, Koronen 2006, Konrad 2007, Brodersen et al. 2010, Fichot 2011, Sperry 2011). There are, however, fewer studies in which the various components of the water transport system, such as climate parameters, stem water potential, leaf water potential and stomatal conductance or contact angle of wood cells have been addressed using an integrated method. This is important in order to understand the function of each component of the water transport system. It is especially important for possible technical transfer, as the boundary conditions for a working system can be identified in this way. This general description of a functioning natural system was an essential aspect of the project *“Energieautarker Flüssigkeitsferntransport mit faserbasierten Systemen”* (Appendix 1). The studies conducted within this PhD represent the biological part of this project and were included in the total project funding.

1 INTRODUCTION

1.1 Vines and lianas as biological models for effective water transport

Climbing plants - vines or lianas – are very interesting model organisms with respect to water transport (Putz and Mooney 1991). In the nineteenth century, Charles Darwin was fascinated by their structure and behaviour, which he described in his “Movement and habits of climbing plants” (Darwin 1865). Later Schenk in Germany wrote two classical memoirs dealing mainly with the stem anatomy of climbing plants (Schenk 1892). There are various studies concerning lianas, focusing on anatomy, ecology, systematic, physiology and behavior (Ewers et al. 1990, Gartner 1991, Gentry 1991, Restom and Nepstad 2001, Fisher et al. 2002, Clearwater et al. 2004, Andrade et al. 2005), but there are few studies that have investigated the whole plant as a functioning system.

Life in forest habitats is highly competitive. The evolution of vines was probably driven by selective advantages offered by the climbing habit: fast access to light without the need to construct an expensive thick woody stem. In order to escape from the dark forest floor, without investing into supporting tissue, vines exploit self-supporting plants for height increase. The strategy of lianas to climb trees and shrubs makes them “mechanical parasites”. Lianas compete with trees for light, water and nutrients (Figure 1). Ogawa suggested that competition with lianas is an important cause of tree death (Ogawa et al. 1965).

The climbing habit evolved independently many times during the course of plant evolution (Gentry 1991). Peñalosa citing Schenck stated that at least half of the families of vascular plants have climbers species (Peñalosa 1984). More than 90% of all lianas species known in the world are restricted to the tropical regions (Walter and Mueller-Dombois 1971). The presence of lianas, in abundance, is one of the most notable features that differentiate the tropical from temperate forests (Gentry 1991). There is current evidence that vines and lianas benefit from global warming and anthropogenic CO₂ increase as well as from human disturbance of primary forests (Putz and Mooney 1991, Phillips et al. 2002, Burnham 2004, Schnitzer and Bongers 2011). An inevitable consequence of the climbing life style is that vines have to support a relative high amount of leaf biomass with water and nutrients using stems of low cross sectional areas. Lianas have been estimated to account for

32-36% of the leaf litter of tropical forests in Thailand (Ogawa et al. 1965) which is supported by only 1-5% of the wooden biomass (Putz and Mooney 1991).

The evolutionary response of lianas was the development of highly effective water transport systems. Lianas from all woody plants show highest rates of sap flow (Gentry 1991), for example the transport velocity range from 1 m/h (conifers) up to 150 m/h (Lianas) (Larcher 2003). The wood of lianas has particularly large vessels to transport water. This strategy contributes to the success of lianas in the competition for light and nutrients in the forest ecosystem.



Figure 1: Left: The trunk of a tree covered by stems of lianas in the Atlantic rain forest in southern Brazil. The lianas compete with trees for nutrients and water taken from the soil, use the stem of the trees for support and cover their canopies with their leaves, thus leading to the shading of host tree leaves impeding photosynthesis. Right: The study plant, *Aristolochia macrophylla*, in the Arboretum of the Botanical Garden of the University of Tübingen.

1.2 The plant in the water potential gradient of the soil-plant-atmosphere continuum – SPAC

On a global scale, the movement of water through the plant contributes enormously to the hydrological cycle because it represents an efficient way for water to move from the soil to

the atmosphere (Zwieniecki and Holbrook 2009). In order to describe water transport processes between a plant and its environment, it is convenient to employ the water potential concept. The water potential specifies the thermodynamic state of the water compared to pure water, or the capacity of water to do work (Slatyer and Taylor 1960). The water potential at a given site quantifies the tendency of water to move to another site due to the combined effects of gravity, pressure, osmotic and matrix forces. The total water potential at a given site is therefore composed of:

$$\Psi = \Psi_g + \Psi_p + \Psi_o + \Psi_m + \Psi_m + (\text{Equation 1})$$

Where: Ψ_g = gravimetric potential, Ψ_p = pressure potential; Ψ_o = osmotic potential; Ψ_m = matrix potential, Ψ_h = humidity potential (Larcher 2003).

Water potential is an energy dimension which for this approach was transferred to the pressure dimension MPa. This means water will move from an area of higher water potential to an area that has lower water potential (Figure 2). In order to describe fluxes of water from the soils through plant tissues towards the atmosphere, the concept of soil-plant-atmosphere-continuum (SPAC) was introduced (Löscher et al. 1982, Tyree and Zimmermann 2002). The water is extracted from the soil and transported against the force of gravity and frictional resistance (Larcher 2003). The plant bridges the water potential gradient between the soil and the atmosphere. In isothermal systems, the water potential may be changed by: 1) increasing the concentration of dissolved substances, or by 2) a change of pressure (Larcher 2003). For long distances, cormophytes adopted a water transport system which is driven by pressure gradients, because the change of osmotic potential is time-consuming and requires metabolic energy.

The principal concept of water movement through the SPAC is as follows: Soil water, which already has slightly negative water potentials (of mostly around -0.001 to - 0.1 MPa), is absorbed by the root systems. To do so, roots have to generate an even more negative water potential by matrix effects and by osmotic gradients. Water passes along the roots by 1) symplastic transport which requires a transfer from cell to cell driven by osmotic gradients and by 2) apoplastic transport which takes place along the space outside the cell membranes (Figure 2 bottom left). The water uptake by the roots depends on the absorption surface of the root system and the gradient in water potential between the soil and roots. This relation can be described by the following equation:

$$A_a = S \cdot (\psi_s - \psi_r / \sum r) \text{ (Equation 2)}$$

This equation gives the amount of water that can be absorbed by the root system per unit time. (A_a = amount of water absorbed, S = exchange surface soil/root, $\psi_s - \psi_r$ = hydric potential gradient between soil and root, $\sum r$ = transfer resistances) (Larcher 2003). When the water reaches the central cylinder of the root, the water flows into the vascular system of the plant (Figure 2).

The water movement along the plant occurs similarly to electrical flow, described by Ohm's law. Therefore the continuum soil-plant-atmosphere can be represented by an electric circuit system (Larcher 2003). The water transport system (besides several transport resistances emanating from the passage through the root system and the xylem – water transport tissue in plants) has to overcome: 1) resistance to water absorption from the soil, 2) transport resistance during the root passage, 3) transport resistance within the xylem, resistance within the leaves, and 4) pressure difference originating from height (hydrostatic gradient). All in all, the plant body is placed between the (more or less) negative water potential of the soil and the highly negative water potential of the atmosphere. Many details and physical aspects are still poorly understood.

1.2.1 Wood evolution and structure

“Wood” describes xylem produced by secondary growth (growth in diameter of stem and roots) (Esau 1965), and is most prominent in trees and shrubs. The first tree with secondary wood consisting of tracheids was *Archaeopteris* (Late Devonian). The extraordinary biomechanical properties of wood as a supporting tissue allowed greater plant heights and consequently improved access particularly to light (Pittermann 2010). The expansion of woody plants radically revolutionized structure and functioning of terrestrial ecosystems in terms of energy fluxes and cycles of matter (Pittermann 2010). Large amounts of carbon and nitrogen can be stored in forest biotopes. The formation of soils, which are a basic component of many ecosystem processes, was considerably intensified by the increase in mass and height of woody plants. The cycling of water was intensified by the plant mediated transfer of water from the soil to the atmosphere. The expansion of forests during the Devonian and Carboniferous modified the global radiation budget due to decrease of the albedo of the earth surface (increase) and impact on concentration of greenhouse gases

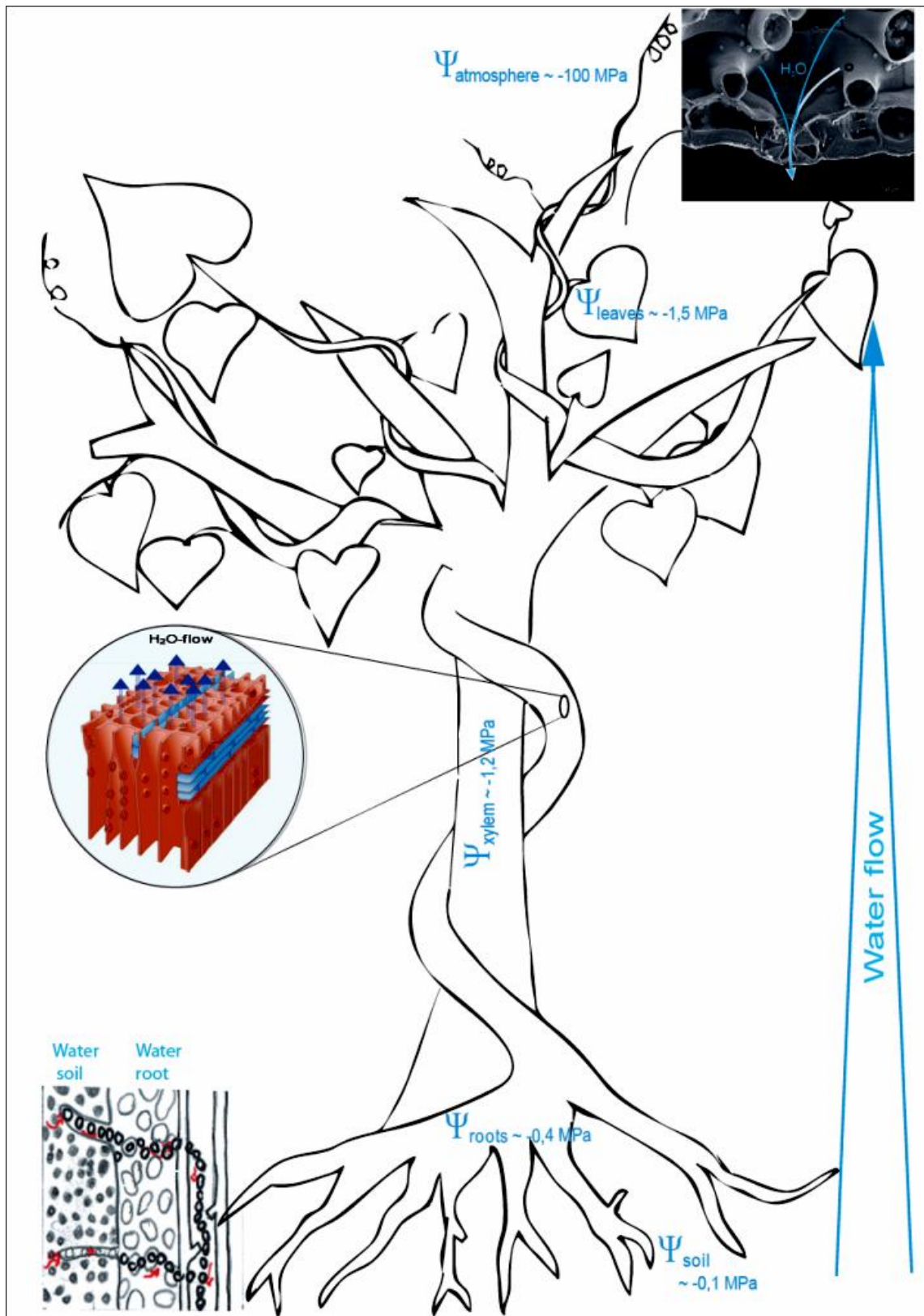


Figure 2: The relationships of water potential in the soil, plant and atmosphere in a liana. Below left: root absorption is shown occurring by capillary force and/or osmosis (symplastic and apoplastic transport). The central figure shows the flow of water through the xylem vessels and the top drawing shows the water evaporating from leaf parenchyma cells through the stomatal opening. Central and top inset drawing from (Wanner and Nultsch 2004).

(CO₂ reduction due to photosynthesis and carbon sequestration). Increase in height not only required increasingly sophisticated supporting tissues, but also highly effective transport systems for water and nutrients. Wood is a porous, hygroscopic three dimensional material consisting almost exclusively of dead cells. The cell walls of wood are composed of cellulose and hemicelluloses which are impregnated with lignin (Strasburger et al. 1991). Conducting elements of wood are orientated in longitudinal direction which explains the anisotropic character in terms of water conductance.

The vessels of xylem are continuous multicellular tubes (Holbrook and Zwieniecki 2005), proposed to have emanated from modifications of the developmental program which generates unicellular tracheids (see below). There are various adaptations of xylem elements to the environmental needs of plants, for example: long tracheids from primitive woods evolved to fibers showing decrease in length and reduction of pit borders forming fibers, decrease in length, reduction in inclination of walls, change from scalariform to simple perforation plates forming vessels elements, and from scalariform to alternate vessel-to-vessel intervessel pits arrangement (Figure 3) (Carlquist 2001, Tyree and Zimmermann 2002).

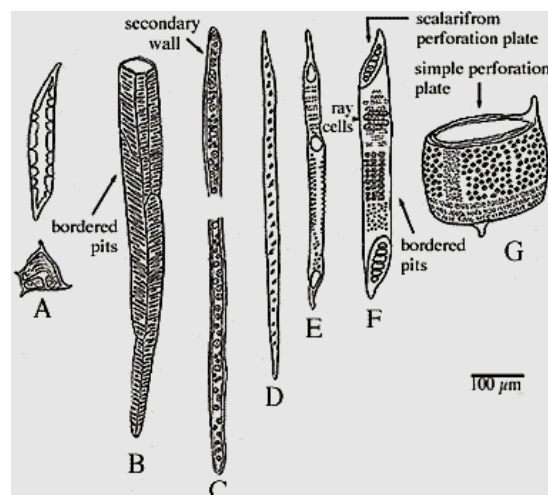


Figure 3: The evolution of fibers and vessel elements from tracheids: (A) sclereid reinforced with lignin; (B) tracheid of *Woodwardia*, a fern; (C) *Pinus*, a conifer; (D) fiber tracheid; (E-G) angiosperm xylem; (E-F) tracheids, (G) vessel member (Kenrick and Crane 1997).

1.2.2 Vascular system of the stems

The xylem consists of a network of dead cells (tracheids and/or vessels) together with accessory tissues such as xylem parenchyma. The sum of the cross sectional area of all conductive elements represents the conduction area of xylem. The specific hydraulic

conductivity depends on the diameter of the conductive elements. This corresponds to the Hagen-Poiseuille's law: conductivity of a capillary is proportional to the fourth power of the diameter of a tube pipe“(Tyree and Zimmermann 2002, Larcher 2003, Roth-Nebelsick 2006).

$$J = (r^4 \pi / 8\mu) \cdot (\Delta p / \Delta l) \text{ (Equation 3)}$$

Where: J = flow rate: (m³/s), r = radius (m), μ = viscosity of the liquid (Pa s), Δp = pressure (Pa), Δl = length (m).

Doubling the radius of a capillary thereafter causes a 16-fold improvement in conductivity. For example, a vessel with 40 μm can conduct the same amount of fluid than 16 vessels with 20 μm (Tyree and Zimmermann 2002). In practice, the conductivity is lower because vessels are not ideal smooth tubes.

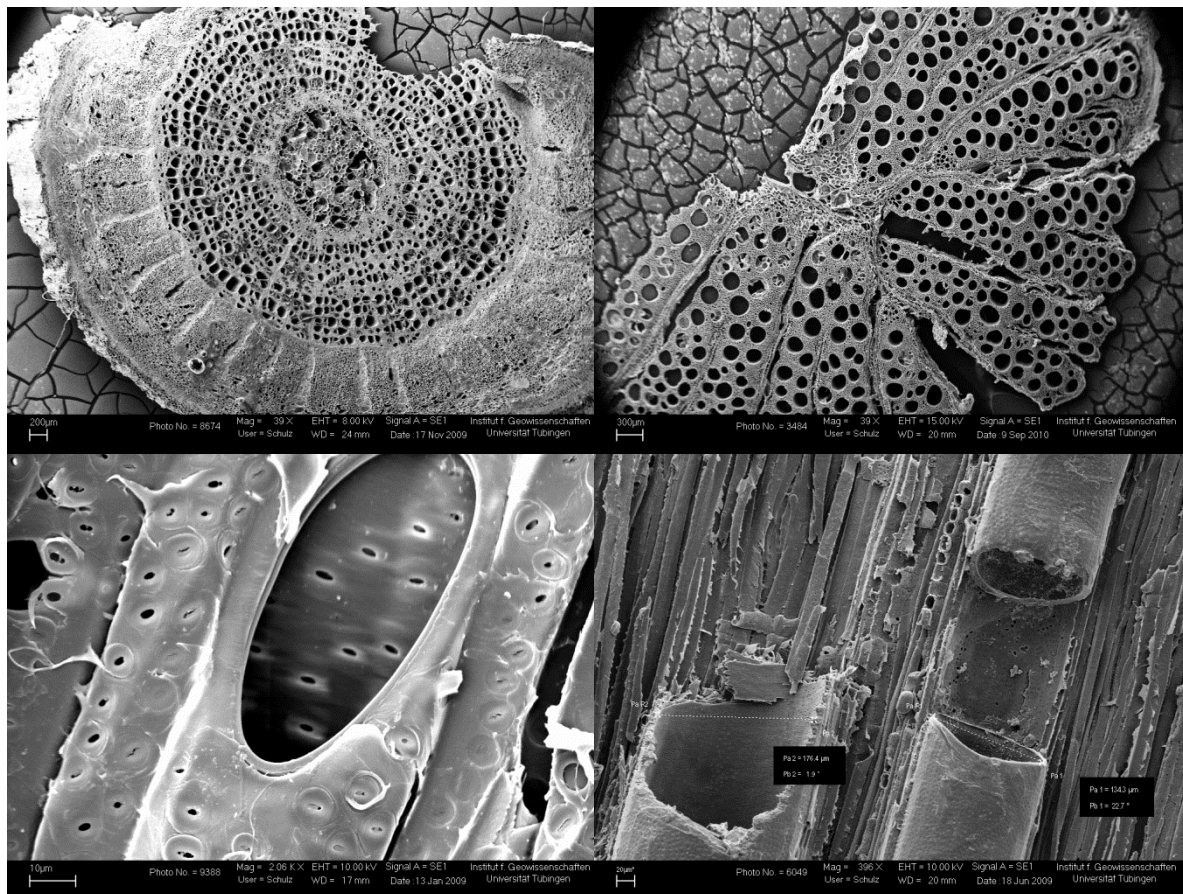


Figure 4: SEM images of xylem. Above left: cross section in the stem of *Parthenocissus tricuspidata*, displaying the distribution of xylem vessels in growth rings. Above right: cross section in the stem of *Aristolochia brasiliensis* with absent growth ring boundaries. Below left: vessel element of *Hedera helix* showing simple perforate plate and alternate intervessel to vessel pits arrangements. Below right: longitudinal section in xylem vessels of *Serjania sp* displaying alternate vessel-to-vessel pits arrangement and a large vessel.

The transport runs through numerous interconnected capillaries, vessels and tracheids (Figure 4). Tracheids are unicellular, dead cells with lignified secondary cell walls. They are interconnected by bordered pit-pairs. Tracheids, phylogenetically the older water conducting elements, are elongated single cells which meet the function of mechanical support as well as the function of water conductance (Figure 3). Usually, gymnosperms only show tracheids. Angiosperms which radiated at the end of the low Cretaceous (165 Ma ago), divided those functions among fibers and vessels. Fibers are able to compensate strong mechanical forces and vessels are specialized on water transport. Vessels are able to achieve large diameters and lengths by fusion of vessel members.

The vessel elements are the typical conducting cells of the angiosperm xylem. These vessels are specialized for hydraulic conductance, through increasing of lumen diameter (Holbrook and Zwieniecki 2005). Their end walls are partially or completely dissolved at maturity, thus forming perforations (Carlquist 2001). These perforations occur on the proximal and distal ends of the vessel walls. The perforated areas are called perforation plates, which are not lignified portions of the vessels interconnecting the lumina of the vessels (Figure 4).

The lateral walls of vessels are punctuated by small pores called pits, which allow the exchange of fluids between vessels. Pits comprise the cavity of the pit and the membrane of the pit. There are two main types of pits, simple and bordered. Simple pits are those, in which the secondary vessel wall is not curved on the pit, they are located between the parenchyma cells. Bordered pits are those in which the secondary vessel wall is curved on them forming a chamber, they are located between tracheids or vessel elements (Tyree and Zimmermann 2002) see figure 5. Pits are sealed by pit membranes, composed of primary porous cell wall materials, which are permeable to xylem sap (Carlquist 1985b, Tyree and Ewers 1991, Holbrook and Zwieniecki 2005). The pore size of the pit membranes ranges from 5 to 420 nm (Pittermann et al. 2005).

At first glance, the presence of pit membranes appears to be disadvantageous because the lateral conductivity is reduced by them. If, however, embolism occurs, the membranes of the pits enable the isolation of embolism in the affected vessel (Crombie et al. 1985 et al. 1985, Tyree and Zimmermann 2002, Sperry 2003), because the gas bubbles cannot easily pass through a wet pit membrane (Tyree and Zimmermann 2002). The surface

tension usually makes the void/water interface stop at the pit membrane between adjacent conduits and prevents it from advancing to the adjacent conduits (Tyree and Ewers 1991).

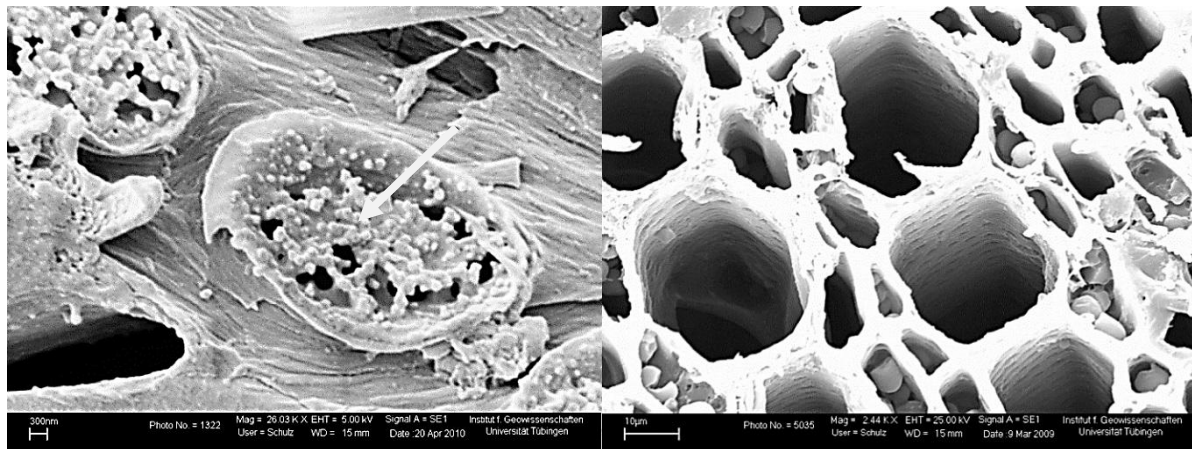


Figure 5: SEM images of pits. Left: Cross section in a pit of *Falcherbia albida* tree from the Kuiseb River in the Namib Desert, display the dried vestured pit membrane (white arrow). Right: Vessels elements of *Strophantus hispidus* (vine from central Africa), the small dots are the pits that interconnect the vessels.

This process is extremely important because the result of embolism is that the tension of the affected vessels disappears leading to the collapse of the water column (cavitation). In the functional neighboring vessels, the persisting tension leads to a pressure gradient between the embolized vessels and the neighboring vessels. The pressure gradients between dysfunctional and functional vessels pose the risk of uncontrolled spreading of gas to functional vessels. In such a chain reaction, the entire xylem would be inoperable in a short time. This is exactly what is prevented by the pit membrane. Despite this mechanism, embolism occurs due to various reasons. Embolism dysfunction, however, can be repaired. Sometimes embolisms can be repaired daily and sometimes during the next growth season (Tyree and Zimmermann 2002). There are many theories to explain how the bubbles behave in xylem vessels (Tyree and Zimmermann 2002, Meng et al. 2006, Konrad and Roth-Nebelsick et al. 2009). In this study, the behavior of air bubbles in xylem vessels *in vivo* as well as in a technical fiber based prototype was investigated.

1.2.3 Xylem and stem water potential

The plant water status depends on the water potential in the soil close to the roots on the one hand and the transpirative water loss to the atmosphere via the stomata of the leaves, on the other. When the supply of water in the soil decreases and/or the water demand

which is necessary to compensate the transpiration loss towards the atmosphere increases, the water potential in xylem vessels drops to more negative values, increasing the tension of the water column.

The stem water potential can be measured by different methods such as by a Scholander pressure bomb or by *in situ* stem psychrometry. The psychrometric determination of the water potential in the xylem of the stem provides a good measure of the water status of the whole plant. The water potential of the stem is more stable than the leaf water potential with respect to the entire plant, because, for example, the leaf water potential is more vulnerable to disturbances in the energy balance. The stem water potential is not subject to low temporary variations (Dixon and Tyree 1984) and can be continually registered under natural conditions.

Basic principle of psychrometric water potential determination is the direct measurement of the vapor pressure equilibrium of tissues. The psychrometry is the measurement of the temperature reduction of a moistened thermometer by evaporation of water down to the dew point. A dry reference thermometer measures the ambient temperature. Both thermometers are coupled in a measurements chamber. Stem water potential can be derived from the difference between wet and dry temperature, the so-called psychrometric difference. According to (Dixon and Tyree 1984) stem water potential (Ψ_{xylem}) is calculated by the following equation:

$$\Psi_{xylem} = R \cdot T/V_w \cdot (e/es(T)) \text{ (Equation 4)}$$

Where: R= molar gas constant: 8,31451 J/(molK), T= temperature, V_w=partial molar volume of water (m³/mol), e= actual vapor pressure of water vapor in the psychrometer (Pa), es(T)= saturation vapor pressure of water (Pa), the unit of Ψ_{xylem} is Pascals (Pa).

1.2.4 Repair of embolism

Plants have evolved mechanisms to repair embolisms. The pre-requisite for embolism repair is the generation of positive pressures in the xylem. If pressure in the xylem is at 0 MPa or more, bubbles may be removed within a few hours (Tyree and Zimmermann 2002). Suction tension in the xylem for example drops at night when transpiration is absent or during long lasting rain events. Roots can generate osmotic pressures of more than 0 MPa which additionally promotes the repair of embolism. This effect is particularly strong at springtime

in order to remove gas bubbles which have been induced by freezing during the winter time (Strasburger et al. 1991, Tyree and Zimmermann 2002, Larcher 2003). Living tissues in the xylem, as well as rays and xylem parenchyma can play an important role in the refilling process, particularly during the much-debated embolism repair under negative pressure (Salleo et al. 2001, Vesala et al. 2003, Nardini et al. 2011). This embolism repair is only possible if local pressure pulses are generated. One possible mechanism for embolism repair is the influx of water into embolized vessels from adjacent living wood parenchyma, driven by turgor derived pressure. Vesala et al. 2003 showed that living cells by their turgor pressure can push xylem sap into embolized vessels.

Most studies on embolism repair apply conventional experimental methods, e.g. the measurement of hydraulic conductivity whose temporal changes demonstrate vessel embolism or refill indirectly (Sperry et al. 1987, Zwieniecki and Holbrook 1998, Cochard et al. 2001, Vogt 2001). These methods require destructive sampling and therefore make *in vivo* measurements impossible. There are different invasive methods for detecting air bubbles and cavitation in xylem vessels as nuclear magnetic resonance imaging (MRI) (Clearwater et al. 2004), Synchrotron X-ray imaging (Lee and Kim 2008, Brodersen et al. 2010) and acoustic methods (Kiruta et al. 1997). Noninvasive methods to observation of embolism in xylem vessels are rare (Holbrook et al. 2001, Scheenen et al. 2007). In this dissertation, a non-invasive method, cold neutron radiography, was applied to xylem transport for the first time. Furthermore, the contact angle of xylem is important for embolism repair. Contact angles were studied for various species within this PhD project.

1.3 Leaves

Leaves represent the “suction pumps” which initiate the transport of water. “Pumping” is accomplished by the transpiration process, which denominates the evaporation of water inside the leaves and subsequent diffusion flux of water vapor to the atmosphere.

The structure of a typical broad leaf is demonstrated in figure 6. The leaf is enclosed by the upper and lower epidermis. This epidermis is covered with the cuticle, a waxy layer that acts as transpiration barrier. The epidermis is equipped with stomata. The degree of stomatal opening is actively controlled by guard cells. The interior of the leaf is filled by palisade and spongy parenchyma. In the elongated palisade cells, the largest portion of the

photosynthesis takes place, while substomatal chamber and intracellular air spaces are usually located in the spongy parenchyma.

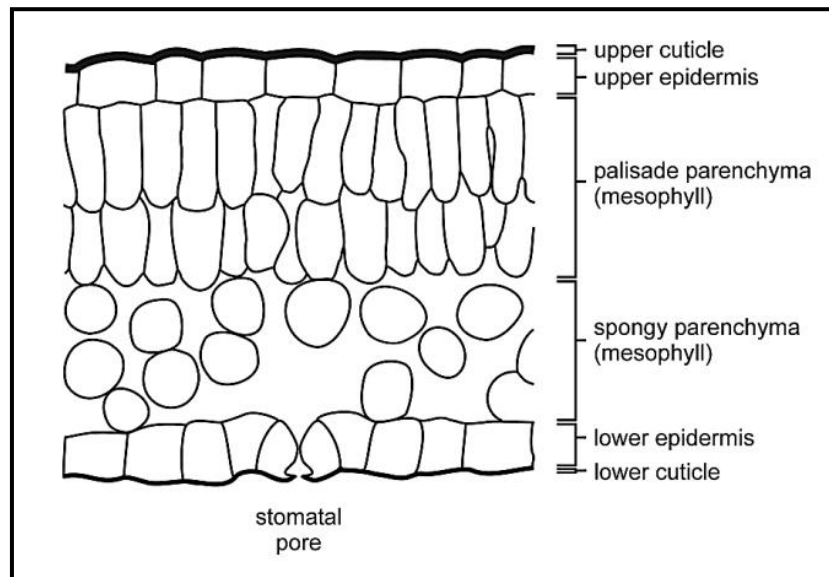


Figure 6: Schematic leaf cross section showing the typical kinds of tissue with the upper and lower epidermis with waxy cuticle, the mesophyll consisting of palisade parenchyma and spongy parenchyma and a stomatal pore in the lower epidermis. (drawing by M. Grein).

1.3.1 Leaf size and venation

The leaves are adapted to the environment in which they develop. Leaf size and width tends to increase with increasing humidity environment (Ashton 1964, Webb 1968, Brünig 1970, Givnish 1987, Royer et al. 2008). Competition for light is also a factor that determines the size of the leaves. Plants that live in moist and shady environments, such as rainforests, tend to have large leaves (Givnish 1987). Variations in leaf size influence the plant growth rate mainly through its effects on the conductance of the leaf boundary layer (air layer around the leaf), which in turn affects leaf heat exchange, uptake of carbon dioxide and loss of water vapor (Givnish 1987).

In large leaves, as in the leaves of *A. macrophylla* (Figure 7), a considerable amount of the leaf area will be quite distant from the insertion point of the petiole, which represents the entry point of water to the leaf lamina. For a large and entire leaf, margins and tip should be therefore more prone to water stress than basal or more central leaf regions since these sites are located at the "end" of the pressure drop that extends over the leaf venation during transpiration.

The venation supplies the mesophyll of the leaf with water and nutrients. The density of veins in the leaf varies according to the size of the leaf, starting on in the middle vein at the basis in direction to tip and margins. Venation density correlates with leaf hydraulic conductance (Sack and Holbrook 2006, Nardini et al. 2008). The vein system is a complex network of xylem conduits, for the distribution of water according to the specific needs of the assimilating cells (Roth-Nebelsick et al. 2001). The relationship between leaf size, vein density, stomatal and hydraulic conductivity were considered in this study.



Figure 7: A macrophyll of the liana *Aristolochia macrophylla*. The leaf shows a cordate heart-shaped base and pinnate leaf venation.

1.4 Stomata

Johann Hedwig was the first researcher of the 18th century who understood that the stomata act as 'transpiration openings'(Hedwig 1797). After him, many scientists studied the regulation of stomatal conductivity (Parsons 1978, El-Sharkawy et al. 1985, Beyschlag and Pfanz 1990, Pospíšilová and Šantrůček 1994, Herbst 1995, Pataki et al. 1998, Larcher 2003, Roth-Nebelsick 2004, Shimazaki et al. 2007, Konrad 2008, Roth-Nebelsick et al. 2009). A stoma consists of two stomatal guard cells (figure 8) surrounded by two subsidiary cells (adjacent cells in the leaf epidermis). The aperture is regulated via osmotic gradients by the

turgor of the guard cells and subsidiary cells. Considering gas exchange between plant and atmosphere, it always has to keep in mind that CO₂ has to pass through the same stomatal gateway into the plants that ejects water vapor into the atmosphere. Transpiration and photosynthesis are coupled, which means that high stomatal conductance, on the one hand, promotes assimilation and, on the other hand, poses the threat of water stress. This dilemma is further enhanced by the fact that diffusion coefficient (DC) of water vapor is 60% greater than DC of CO₂ (Denny 1995). Land plants therefore had to adapt stomatal conductance in such a way that an optimal trade-off between minimizing water loss and maximizing CO₂ assimilation is achieved.

Regulation of gas exchange and hence the rate of water loss against the rate of carbon harvest is controlled via closure and opening of the stomata. These act as turgor-operated valves that control water loss and CO₂ uptake during photosynthesis. Water relations of plants and plant biomass accumulation are therefore closely related to photosynthetic rates and stomatal conductivity (Camargo and Marenco 2011).

Stomatal density is the amount of stomata per square millimeter leaf surface area. The more stomata there are, the more CO₂ can be absorbed and the more water can be released to the environment (Bazzaz 1990, Larcher 2003). Depending on the species and environmental conditions, the stomata can vary between 10 and 80 μm in length and density is typically between 100 and 1000 stomata mm⁻² (Franks and Beerling 2009). Physiological ecologists have studied how various morphological and physiological properties permit a plant to survive and compete successfully in certain environments, but not in others. When water is not available, excessive evaporation can lead to desiccation and a disruption of photosynthetic function. Sun adapted species, however, often have high stomatal densities (Parlange and Waggoner 1970, Givnish 1988). Stomatal density may increase or decrease in response to environmental variations such as sunlight or water availability. Even within single leaves (in the same plant) variation of SD had been observed (Pospišilova and Šantrucecek 1994, Poole et al. 2000, Sellin and Kupper 2005). SD tends also to be negatively correlated to the CO₂ concentration of the atmosphere, which has varied considerably during the history of the Earth (Roth-Nebelsick 2004, Konrad 2008). Variations of stomatal conductance may be caused by differences in SD. An important question

addressed by this study was if there is variation in stomatal conductivity within of different regions of leaves in dependency of leaf size and venation.

1.4.1 Control of stomatal aperture and transpiration

Transpiration loss from the stomatal cavities to the atmosphere creates a water deficit, which has to be replaced by the vascular water supply system. The vascular pathway has hydraulic continuity from the root-to-soil interface to the different parts and organs of the plant (Figure 2). The driving force for water movement in this system is generated by surface tension at the evaporating surfaces. The energy for evaporation – and therefore for the whole transport process – comes from the sun. The evaporating surface is represented by cell walls of the mesophyll cells (Figure 6). These surfaces form a porous medium with pore sizes in the nm range. Consequently, evaporation generates a curvature in the water menisci within the pores of the cell wall lined by cellulose microfibrils (Figure 8). The menisci in the cell wall pores are able to generate strong suction forces due to their curvature in nm range (Lösch et al. 1982, Tyree and Zimmermann 2002, Pittermann 2010, Sperry 2011). The radius of curvature of these menisci is sufficiently small as to be able to support water columns as long as one hundred meters (approximate size of the highest existing trees and lianas). By applying the empirical Jurin's law (which describes the rise and fall of a liquid within a thin capillary tube), it was found that a radius of 0.12 μm supports a water column of 120 meters (Tyree and Zimmermann 2002).

Water is pulled towards the menisci of the transpiring sites from the foliar vein system and escapes (almost exclusively) in vapor state to the atmosphere via the stomatal openings by a diffusion process which follows Fick's law which describes diffusion). According to Fick's law, the molecules diffuse from a region of high concentration to a region of low concentration, or in favor of a concentration gradient. The subsequent diffusion flux of water vapor across the stomata follow the strong gradient in water potential between the aerial parts of the plant, (-1 to -4 MPa) and the atmosphere (up to -130 MPa), which arises from the evaporation deficit of the atmosphere.

Transpiration rate is a function of vapor concentration difference and diffusion conductivity ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) where: J = transpiration rate, g_s = stomatal conductance ($\text{mmol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$), ΔC = vapor concentration difference ($\text{mol m}^{-3} / \text{mol m}^{-3}$). The conductance of a whole leaf (leaf

conductance) is – if stomata are at least partially open – almost entirely due to stomatal conductance ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Larcher 2003).

$$J = g_s \cdot \Delta C \text{ (Equation 5)}$$

External climate factors affect transpiration intensity by defining the water potential gradient between leaf interior and the atmosphere. Transpiration flux at constant stomatal conductance increases with rising temperatures and decreasing of water content of the atmosphere (Monteith and Unsworth 2007). External climate factors affect transpiration intensity by defining the water potential gradient between leaf interior and the atmosphere. Transpiration flux at constant stomatal conductance increases with rising temperatures and decreasing of water content of the atmosphere (Monteith and Unsworth 2007). For example, air movement (wind) promotes transpiration flux by disturbance of boundary layers around the leaf. Under low wind conditions, boundary layers are thick and are able to impede gas exchange. Boundary layer thickness, however, is also dependent on leaf size, shape and roughness (Vogel 1970, Grace et al. 1995, Roth-Nebelsick et al. 2001).

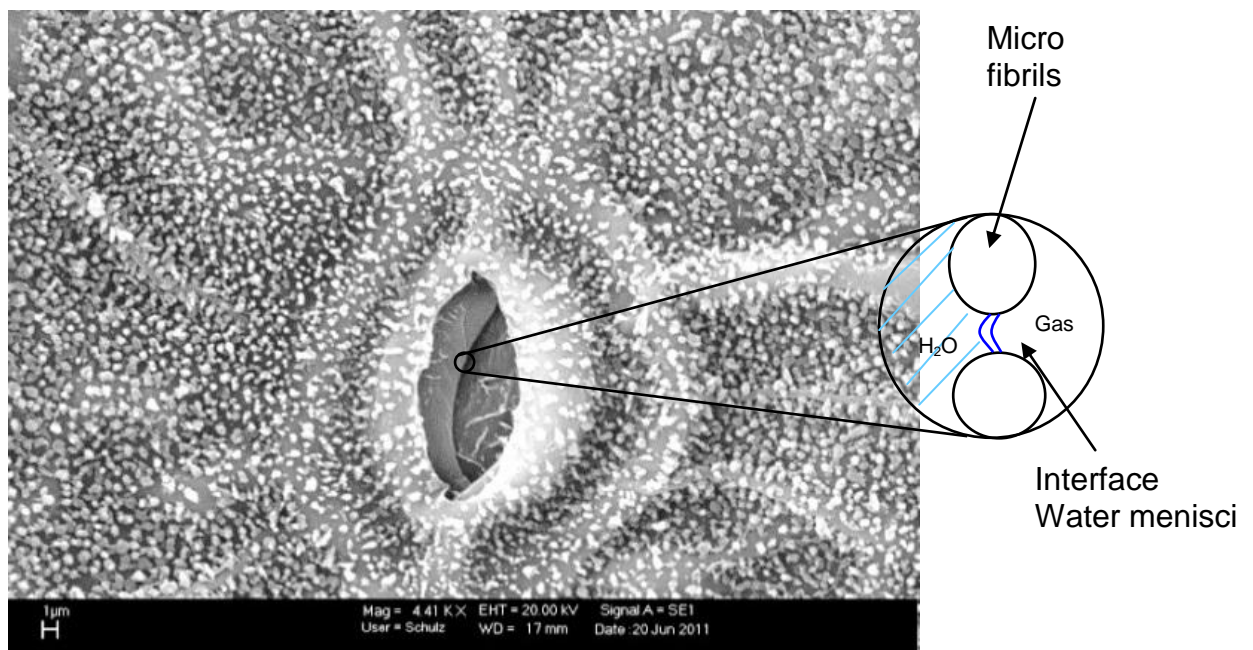


Figure 8: SEM micrography of stomata of *A. macrophylla*. The detail shows the meniscus between water and air inside the plant cell wall.

Atmospheric conditions usually show high diurnal and – in seasonal climates - seasonal variation. To cope with short-term environmental changes, stomatal aperture and therefore

stomatal conductance can be regulated according to the needs of the plant with respect to its water and carbon balance (Collatz 1991, Buckley 2005). The response to environmental stimuli is integrated into the system of g_s regulation in order to prevent water loss that would lead to excessive embolism (Sperry 2002, Brodribb and Holbrook 2003, Sack and Holbrook 2006). Stomatal conductance (g_s) is regulated by plants by the stomatal aperture which is mediated by ABA (abscisic acid), Potassium-ions, availability of water in the leaves and the environment. For many plants, a diurnal pattern of g_s can be observed, with highest g_s values during the morning when VPD (vapor pressure difference) is low and subsequent decline of g_s during the later course of the day, under increasing VPD (Larcher 2003). The diurnal pattern of g_s thus reflects the strategy of maximizing carbon gain while minimizing water loss (Cowan 1977, Berninger 1996, Katul 2010).

In terms of the water transport through the plant, stomatal control prevents breakdown (overcharging) of the vascular water supply system that would lead to excessive embolism within stems and leaves (Sperry et al. 2002, Brodribb and Holbrook 2003, Sack and Holbrook 2006), while simultaneously allowing to assimilate as much carbon as possible. Most models assume uniform g_s over a leaf (Ball et al. 1987, Collatz et al. 1991, Leuning 1995, Katul et al. 2010). Heterogeneity of stomatal aperture, however, across a leaf was reported on a microscale (“stomatal patchiness”) and on the macroscale (Beyschlag and Pfanz 1990, Terashima 1992, Pospišilova and Šantrucecek 1994, Weyers and Lawson 1997, Lawson and Weyers 1999, Mott and Buckley 2000).

The distribution and size of stomata may cause differences in maximum stomatal pore area across a leaf. Studies have demonstrated that the main reason for non-uniform stomatal conductance, however is heterogeneous stomatal aperture (Pospišilova and Šantrucecek 1994, Nardini 2008). There are various types of stomatal heterogeneity. The result is a complex spatio-temporal pattern in g_s over a leaf (Pospišilova and Šantrucecek 1994, Mott and Buckley 2000).

In this dissertation, g_s was monitored for defined leaf zones in the large-leaved temperate deciduous vine *Aristolochia macrophylla* over two consecutive vegetation periods under natural conditions and related to xylem water potential and climate parameters. The results were compared to other woody species.

1.5 What makes lianas a promising model for nature inspired design of efficient water transport systems?

Lianas show two types of wood. Wood from a self-supporting growth phase (phase A) is contrasted by wood produced during the non-self-supporting growth phase (phase B) after having established contact with a supporting host tree. Wood produced during the growth phase A has vessels and rays of narrow wood, while the wood of phase B has broad vessels and rays of wood as well as more flexible stems (Figure 9) (Rowe and Speck 1996, Hoffman et al. 2003). Lianas compensate sparse xylem volume by having wider vessels. Wider vessels are, however, vulnerable to embolism. An important question is which strategy lianas use to protect large vessels from cavitation.

An unusually high proportion of lianas have true tracheids (= tracheids as the ground tissue of wood) or vasicentric tracheids (Carlquist 1985a, Carlquist 1985b). Those vines which lack tracheids or vasicentric tracheids can achieve conductive safety in other ways. According to Carlquist (Carlquist 1985a, Carlquist 2001), vessel grouping of narrow vessels with the wide vessels (Figure 11) is such a strategy. Narrow vessels are less likely to embolize than wide ones.

Narrow vessels can maintain the conductive pathway when the wide vessels are disabled. Another mechanism of achieving conductive safety is the sheathing of vessels with fibrous soft tissues. Sometimes vines and lianas have wide, tall rays with thin walls, separating the vessel-bearing fascicular areas (Figure 10). Thin walled rays that offer flexible tissue between plates of vessel-containing fibers provide a form of “cable construction”. Cable construction permit twisting and shifting of the vessel-bearing parts of the wood such as the vine changes positions in its environment, all the while protecting the vessels (Carlquist 1985). The wood of lianas has numerous large vessels to achieve highly efficient water transport. This strategy makes lianas successful in the competition for light and nutrients in the forest ecosystem. Furthermore, embolism repair may represent an important feature in liana water transport, as well as a tight regulation of water loss. These aspects were considered in the PhD project.

Existent porous materials which are able to transport water without pumping, such as glass fiber mats, stick to the principle of capillary rise at positive pressures. Water in that

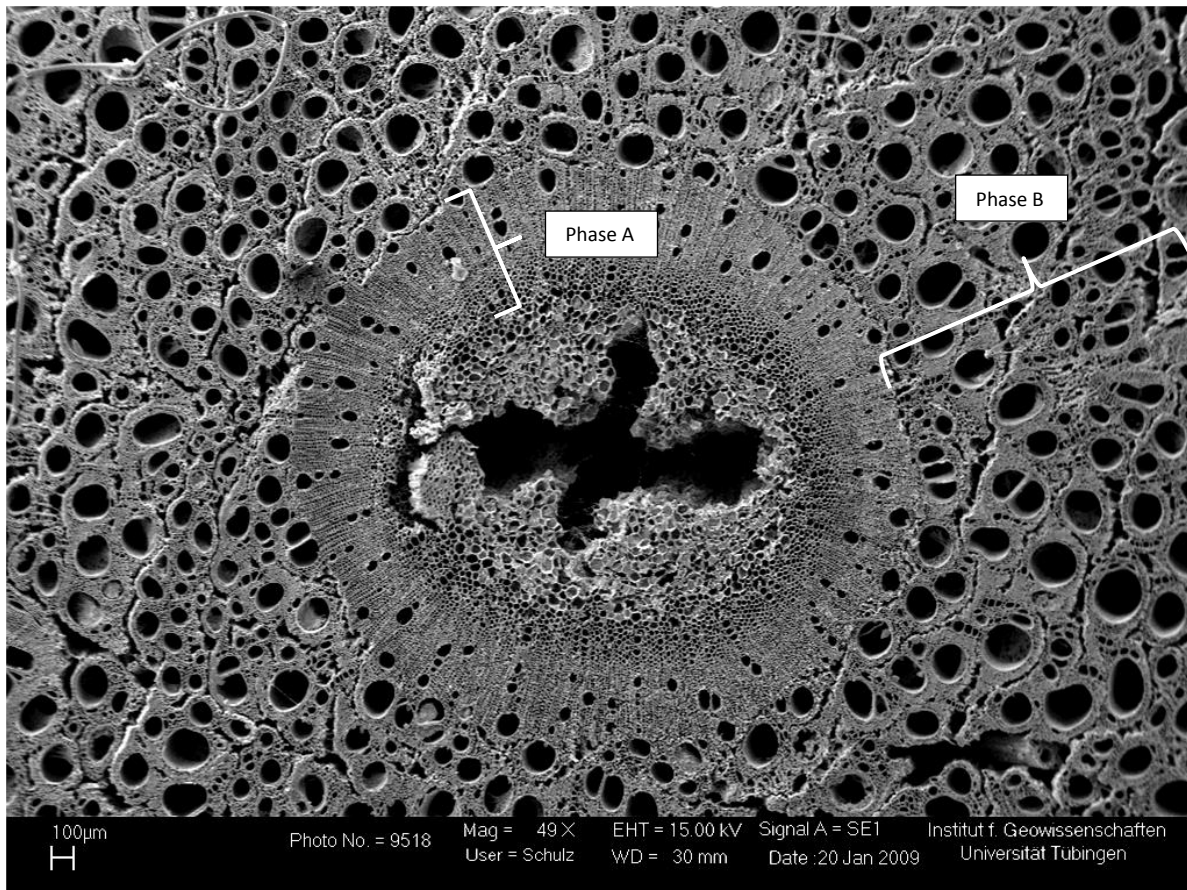


Figure 9: Displays growth stages of the xylem of the liana *Banispteriopsis caapi*: phase A with supporting tissue, and phase B with large vessels and small support tissue.

way can only be transported to heights of less than 1 m and velocities of only several centimeters per hour (Roth-Nebelsick 2006).

The vascular systems of vines on the contrary provide water transport at high speed to heights of almost 100 meter and therefore represent a promising biological model for a nature inspired design of a highly efficient and reliable water transport systems which can run at low energy costs. Until now, no technical system exists that is able to transport water under tension at the hydraulic conductance of xylem, particularly those of lianas. Experimental systems that are able to generate more or less stable tensions in water columns are microporous materials, such as hydrogel (Tötzke 2008). There are various practical applications, for example, irrigation systems, micro fluidic devices and evaporative/cooling structures which may benefit from transferring constructional and functional principles of xylem into technical concepts.

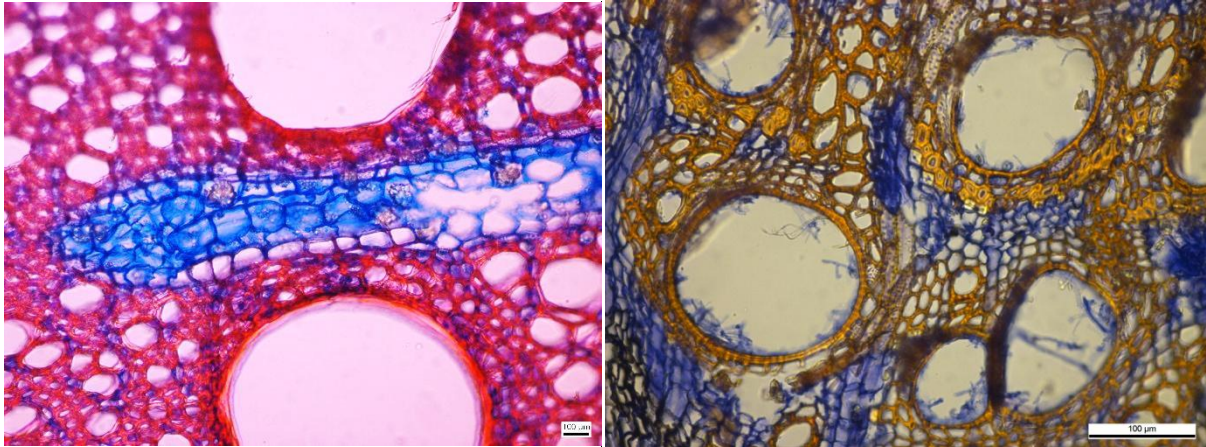


Figure 10: Photographs with light microscope staining with safranin and astra blue: Left: *A. macrophylla* display two large vessels surrounded by narrow vessel (red). Note the radius of parenchyma cells (blue) between the two large vessels. Right: *Banisteriopsis caapi* shows large vessels surrounded by narrow vessels in yellow and parenchyma cells in blue.

2 OBJECTIVES

The central question addressed by this dissertation theme was how lianas cope with the need to maximize water transports rates while simultaneously ensuring transport safety. The following detailed aspects were considered.

- Evaluation of lianas showing high water flow rates based on the cross-section of the stem axis and experiments of water flow through the stem
- Wood anatomical studies aiming at detailed descriptions of the structure of the xylem.
- Contact angle measurements on vessel walls, to allow for a better understanding of the physical basis of liana water transport.
- Behavior of air bubbles in xylem vessels *in vivo* as well as in technical prototypes made with fibers.
- Ecophysiological studies on the absorption, transport and transpiration of water in the study plants. These studies were used to evaluate the fine-tuning between the pressure gradient in the wood and the rate of water loss of the leaves via evaporation. These studies were performed in parallel:
 1. Registration of stem tension by stem psychrometry.
 2. Relationship between leaf size, vein distribution, stomatal conductance and hydraulic conductivity, variation in stomatal conductivity within different regions of leaves in dependency of leaf size and venation. In particular the questions were addressed: A) to what extent is g_s correlated with water conditions in the vascular system? and B) does the intra leaf dynamics in g_s across single leaves respond to fluctuating atmosphere conditions and water supply by the vein system?
 3. Registration of osmotic potential by sap psychrometry.

3 FOCUS OF INCLUDED RESEARCH PAPERS

The water in plants is transported along a decreasing water potential gradient from the soil across the vascular system towards the atmosphere. Water transport strongly depends on environmental boundary conditions. The water relations between vines and the environment as a whole are there illuminated. In order to address the principal topic of this study question: How is the response of the water transport of vines in relation to changing of atmosphere conditions? Stem water potential, leaf water potential and stomatal conductivity are related to each other and to climate parameters (Publication 1).

As a methodological baseline for the study of interactions between water and vessel walls water droplets on surfaces with different degree of wettability were analyzed by Cryo-scanning electron microscopy (Publication 2). Water transport under tensile stress inevitably implicates the problem of embolism. Neutron radiography was used to address the question: What happens in xylem vessels when there is entry of air bubbles? (Publication 3).

The overall goal of this thesis was to investigate structures and mechanisms of water transport in lianas as a model for nature inspired design of effective systems for transport of liquids. For this reason correlations between hydraulic properties of tropical and temperate lianas and wood anatomy were looked for. Several features of the plant vascular system were implemented in prototypes created by the Institute of Textile and Technology Process Denkendorf (Institut für Textil- und Verfahrenstechnik Denkendorf - ITV) (Appendix 1).

Publication 1: “Diurnal pattern of stomatal conductance in the large-leaved temperate liana *Aristolochia macrophylla* depends on spatial position within the leaf lamina”

In this publication, the results of two extended field campaigns during the vegetation periods of 2010-2011 are described. The study aimed at analyzing interrelationships between various water related eco physiological parameters of an *Aristolochia macrophylla* vine growing in the Arboretum of the Botanical Garden of Tübingen and fluctuating atmosphere conditions at the study site.

Stem water potential, leaf water potential and stomatal conductivity (on an intra-leaf scale) was monitored at high temporal resolution and related to climate conditions which were simultaneously recorded directly at the study site. The site located in Arboretum of Botanical Garden at University Tübingen. Additionally, anatomical features of leaf zonal vein densities and stomatal density were measured to assess trends in local hydraulic supply. Stomatal conductivity of *A. macrophylla* was registered at several positions of various leaves (Figure 11) in order to figure out if there are intra-leaf patterns of g_s . Statistical analysis of the results showed that, in fact, there was not only a distinct diurnal pattern course of g_s but also significant differences in g_s between different zones of a leaf. The g_s showed only weak correlation with stem water potential and atmosphere water potential. Rather, g_s was a product of both plus (probably) a circadian rhythm.

For visualization of dynamics of g_s at *A. macrophylla* 3 dimensional plots were computed across a leaf at several stages of day. It was assumed that the varying intra-leaf pattern of g_s represents a strategy to prevent leaf zonal water stress and subsequent vein embolism. Highest values of g_s were registered in the early morning hours (Figure 12-13), when the water vapor deficit (VPD) is still low. The analysis of the graph (from paper 1 - Fig. 7) shows that the early hours of the morning, when the air is saturated with water and the Ψ_{xylem} is close to zero, is the time when the stomata allow the maximum opening of the day ($\sim 700 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) especially at the tip of the leaf. The other areas of the leaf do not have this behavior in the early hours of the morning, but at other times of the day. The leaf manages the stomatal conductance according to climate parameters, displaying a temporal and spatial pattern. This shows that air humidity is an important factor that drives stomatal opening.

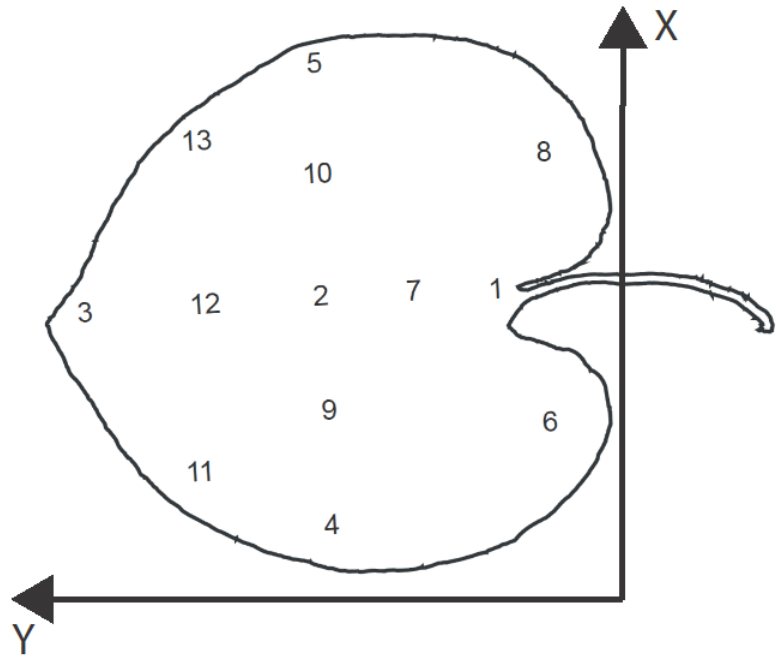


Figure 11: The leaf zones monitored with respect to the diurnal pattern of g_s . 1 = base, 2 = center, 3 = tip, 4 = right, 5 = left, 6 = bottom right, 7 = base – 7 cm, 8 = bottom left, 9 = right – 5 cm, 10 = left – 5 cm, 11 = upper right, 12 = tip – 7cm, 13 = upper left.

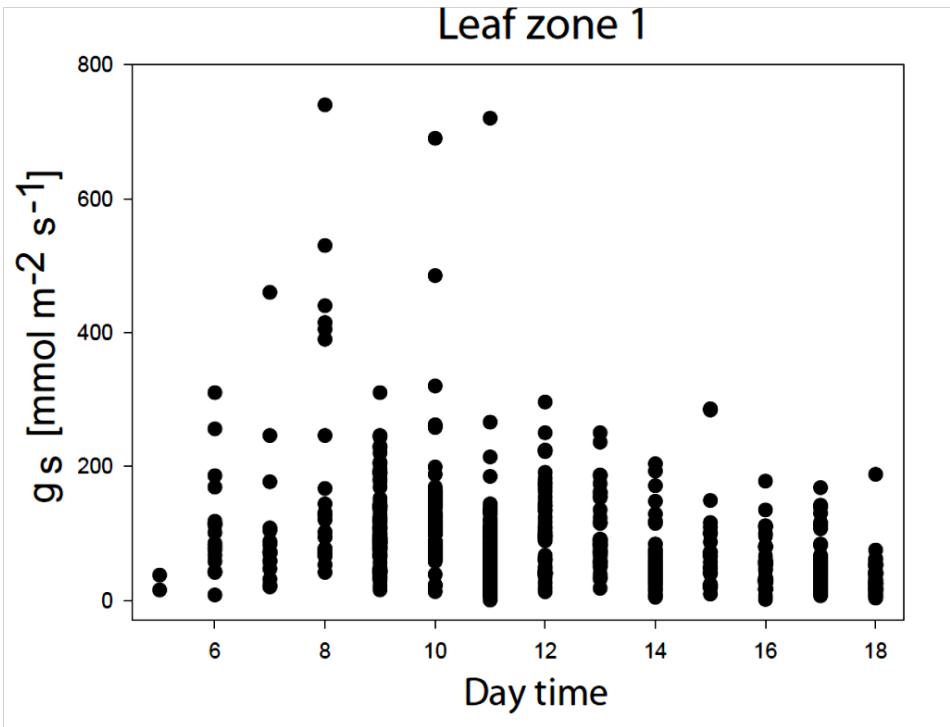


Figure 12: The graph shows the dynamics of g_s during a day to the leaf position 1 (tip).

Stomata Conductivity (g_s) 5:00 – 7:00 h

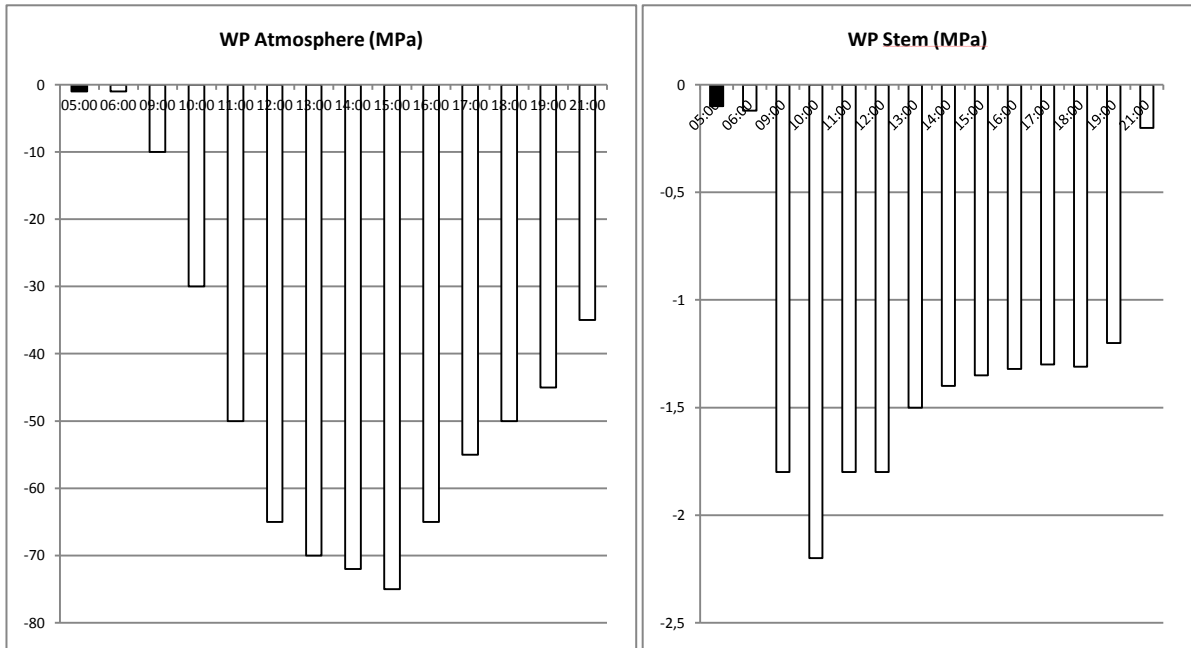
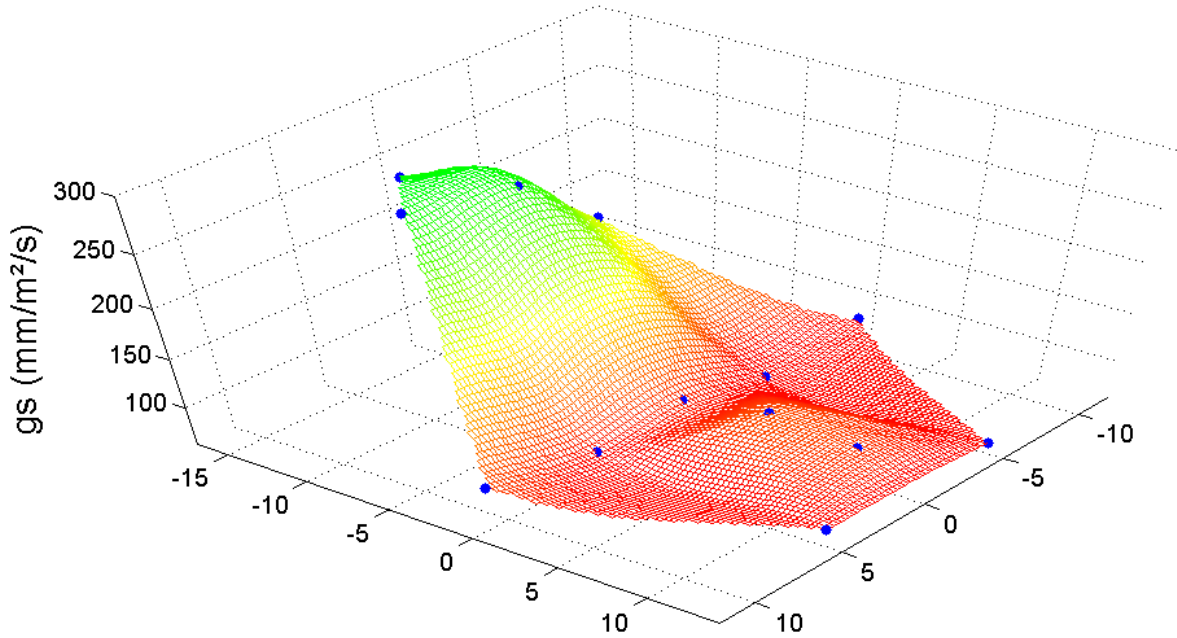


Figure 13: Above: Graphic representation of the average of g_s values in one leaf of *A. macrophylla* at 5 -7 AM, the y and x axis is in cm unit. Below: Water potential (WP) of atmosphere and stem (MPa). In the early morning, at approximately water-saturated atmosphere, the plant open the stomata at the leaf tip (far away on the supply lines) where the light supply is particularly good, but with the hydraulic gradient higher than of the leaf base.

Publication 2: “Visualization of small water droplets on surfaces with different degree of wettability by using Cryo-scanning electron microscopy”.

As water movement inside plants is based on the establishment of the contact between sap and the vessel walls, the interaction of water with different surfaces was studied at the beginning of this PhD-thesis.

This methodological article is focused on the interaction between small water droplets and biological and artificial surfaces, visualized by Cryo-scanning electron microscopy. The visualization of small water droplets is important for understanding the wetting phenomena of small biological structures as surfaces that show strong local differences in wettability at a micro scale (diameter in the μm -range) or that show surface roughness (Sun et al. 2004, Quéré 2008, Sun et al. 2009). Conventional measurement methods of contact angles are based on larger drops, about 10 μl or so. These droplets are too large to reveal phenomena due to micro-roughness.

The condensed small drops on surfaces are also of interest for studies dealing with adhesion or friction, because superficial water layers influence contact phenomena (Willmer 1986). The interactions of fluids with biological and artificial surfaces are highly relevant for many biomimetic studies (Enskat and Barthlott 1993, Peacock et al. 1998, Koch and Barthlott 2009). Static contact angles (θ) between 3 μl water droplets and surfaces with different degrees of hydrophobicity have been determined in biological and artificial hydrophilic and hydrophobic surfaces. On hydrophilic test surfaces (contact angle $< 50^\circ$) as glass and glass sputter-coated with gold-palladium, no complete drops were visible in the Cryo-SEM. On hydrophobic and super-hydrophobic test surfaces ($\theta > 110^\circ$), as salinized glass and upper side of the avocado leaf, mostly complete drops could be observed. The sphere-like appearance of the frozen surface water increased with increasing contact angle. The droplets, however, are not complete, since water evaporates during the process.

The results of this study indicate that Cryo-SEM represents a suitable technique for observing behavior of water microdroplets as water film, condensation and coalescence on hydrophilic and hydrophobic surfaces of on biological and artificial objects (Figure 14).

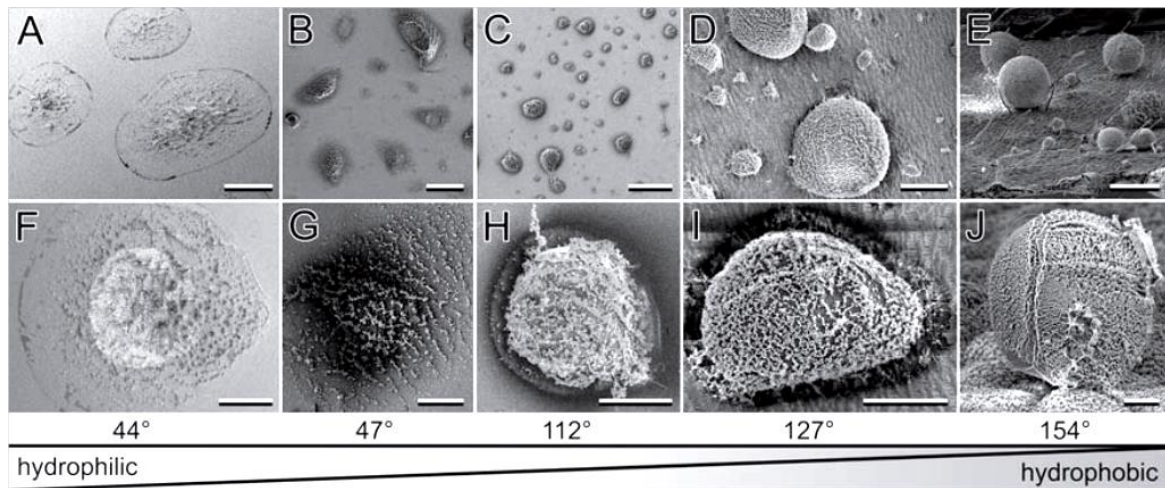


Figure 14: Cryo-SEM micrographs of water droplets on differently wettable surfaces. (A), (F) Gold–palladium layer; (B), (G) normal glass; (C), (H) hydrophobic glass; (D), (I) Teflon; (E), (J) the upper leaf of avocado (*Persea americana*). The inset indicates the θ of water on the surfaces studied. Please, note an increasing hydrophobicity from the left to the right. Scale bars: (A), (C)–(J) = 100 μm ; (B) = 500 μm .

Publication 3, “Visualization of embolism formation in the xylem of liana stems using neutron radiography”

This work focuses on the formation of embolism in xylem vessels, i.e. the consequences of cavitation, and possible repair of embolism. This paper presents an *in situ* technique for detecting embolism inside the xylem vessels of vines at operating conditions. Cold neutron radiography (CONRAD) was applied as a method to observe embolism and potential refilling in conduits of lianas. The lianas species *Adenia lobata*, *Aristolochia macrophylla* and *Parthenocissus tricuspidata* were radiographed at a resolution of 50 μm , which proved to be adequate for detection of air intake into the xylem vessels.

We observed that water stress and/or vibration is not sufficient to provoke embolism, as revealed by cold neutron radiography. For example, a potted *Adenia lobata* was subjected to water stress by interrupting the daily watering procedure for two days. This procedure was performed in order to increase tension in the water column of xylem vessels, which did not happen. Embolism had to be introduced by drastic measures: by cuttings into the stem it was then possible to detect air bubbles inside xylem vessels by neutron radiography. Before starting the radiographic measurement, approximately half of the xylem tissue had to be cut in such a way that a complete wedge was removed from the stem exposing the cut area to the air. It was, however, not possible to visualize embolism though

it could be observed that the process of wound closure seems to be completed after 10 min. No embolism could be detected during several hours after the manipulation.

In experiments with *Parthenocissus tricuspidata*, where the stem was cut entirely and subsequently radiographed for 1.5 hours, events of embolism could be monitored with cold neutron radiography. After 36 minutes, the contraction of elastic tissues was recognizable. The visualization of embolism was possible after 38 min (see figure 15). During embolism development, it was possible to quantify the decrease of the water content inside the vessel. According to figure 15A, the development of the water thickness in this stem section is characterized by two phases of continuous and approximately linear reduction in a water layer thickness interrupted by a short period of rapid water loss between $t = 38$ min and $t = 42$ min; it thus take 4 minutes to empty the vessel.

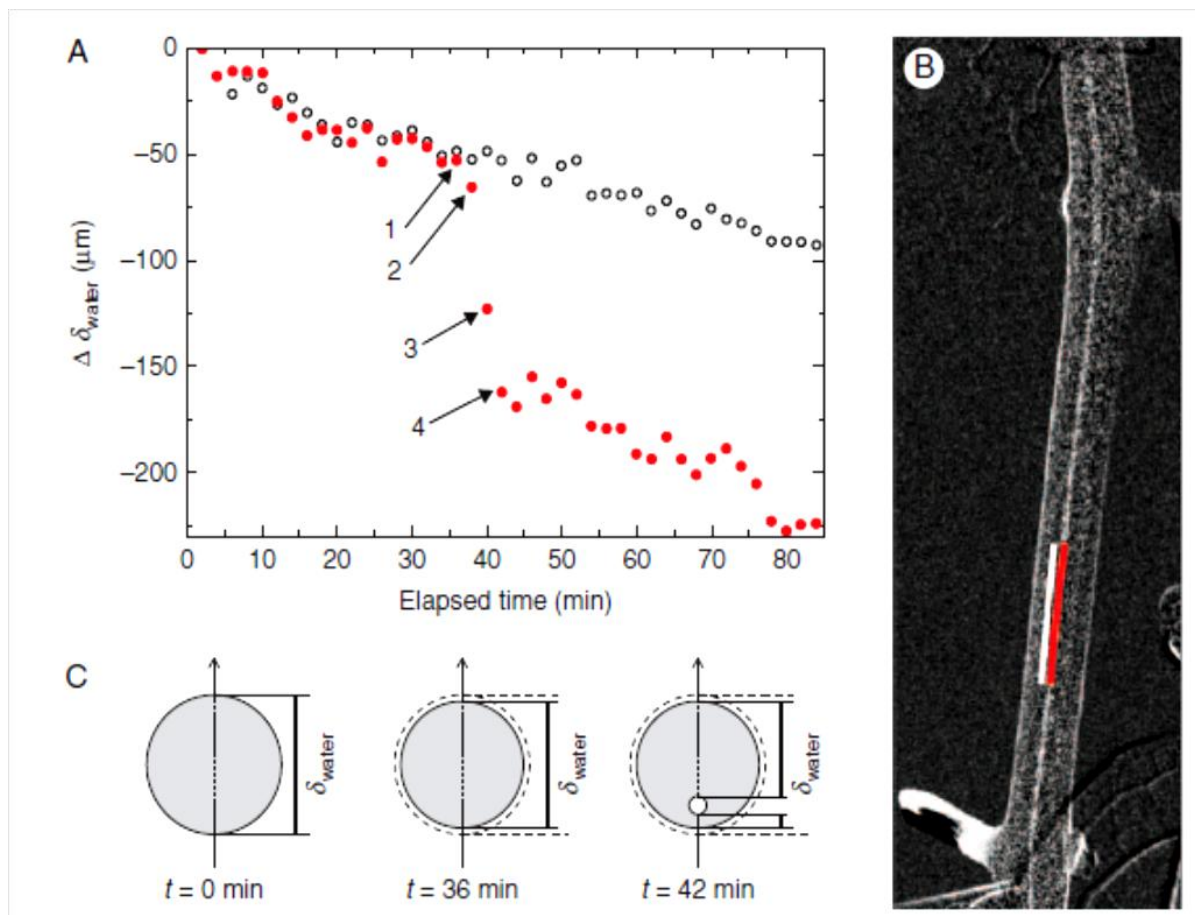


Figure 15: (A) displays the data points 1, 2, 3 and 4 correspond to the water loss at times 36, 38, 40 and 42 min of start the experiment. (B) Plots of the mean water thickness change for the stem regions marked red and white. (C) Schematic representation of water of δ_{water} at $t = 36$ min and $t = 42$ min, due to stem shrinkage and embolism.

4 CONCLUDING REMARKS AND OUTLOOK

4.1 Liquid transport and surfaces

Parts of the study presented in the report of the project “Energieautarker Flüssigkeitsferntransport mit faserbasierten Systemen” and the study concerning the visualization of small water droplets on different surfaces presented in article # 2 were conducted in order to evaluate the possibility of determining contact angle of droplets in the μm - range because wettability affects embolism formation and repair. Studies of this kind could illuminate the mechanisms behind embolism formation and repair, the interaction of air bubbles and water droplets in different biological and on artificial surfaces.

The occurrence of "grooves" which alternate with thickenings along the vessel walls may represent a functional structure in order to promote refilling of embolized and cavitated conductive elements. Studies reported that wall thickenings accelerate water flow in vessels under experimental conditions (Jeje and Zimmermann 1979), and that this sculpturing could accelerate refilling of embolized vessels (Carlquist 2001). On the other side the presence of starch-rich axial parenchyma adjacent to xylem vessels may provide a way to build up local positive pressure which compresses gas bubbles (Hetherington and Woodward 2003). The presence of starch could result in movement of sugar into vessels, permitting osmotic entry of water into given areas, as already mentioned by (Carlquist 1985b, Hetherington and Woodward 2003). In fact granules which are possibly composed of starch have been observed inside of vessels and tracheids of the studied lianas (Figure 17 A and O). That brings us to believe that water input to cavitated vessels could be realized via osmotic mechanisms as a possible mechanism to repair embolized vessels, as suggested by (Tyree and Zimmermann 2002, Larcher 2003).

The results showed that for the examined species there was no correlation between the climate conditions that are typical for their natural habitats and the values of the contact angles between air bubble and vessel walls. All species examined have hydrophilic vessel walls with $\theta < 50^\circ$ (Table 1). Warts can make the contact angle more hydrophilic because warty layer is sufficiently rough to enhance the wettability of the tracheids (Koronen 2006). A more hydrophilic contact angle promotes refilling after embolism.

The study conducted by (Koronen 2006) considered plant species of dry and wet habitat and demonstrated that species of dry habitats showed perfectly wettable xylem walls due to the presence of warts. The results on vessel wall structures and of lianas conducted within this work show that almost all lianas have smooth granulated walls and hydrophilic contact angles. A publication on this subject is in preparation.

4.2 Detection of embolism in xylem vessels

This study showed that neutron radiography is a valuable tool for direct observation of water transport in plants. After the insertion of several cuts to a stem, air bubbles were observed inside the xylem vessels. The CONRAD method allowed a quite exact determination of the discharge time of a single vessel (four minutes) after the appearance of embolism.

Neutron radiography allows for an almost continuous monitoring of embolisms. In this way embolism inside of individual xylem vessels can be detected from the time of its formation, development and spreading. Cold neutron radiography with a better resolution appears to be a promising approach to study the still poorly understood mechanisms of vessel refilling (embolism repair). This study, furthermore, may indicate an extraordinarily high resistance of lianas against embolism.

4.3 Eco physiology and wood anatomy of *Aristolochia macrophylla*

Field studies of the temperate vine *A. macrophylla* indicate that climate conditions are related to eco-physiological behavior of the plant in a complex way (Figure 14). Statistical analysis showed that stomatal conductivity (g_s) differs significantly in time and across the large leaf blades (see Figure 12 and 13). Stomatal regulation is not only adjusted to changes in atmospheric conditions during the course of a day, but also responds to the water supply situation at different leaf zones.

Another striking feature of the water dynamics observed at *A. macrophylla* was that the stem water potential (Ψ_{xylem}) correlates strongly with the VPD (Spearman's $\rho = 0.663$ $P < 0.001$, $n = 3674$). The water potential in the xylem is a central factor in the transport of water through the plant and is closely related to cavitation and embolism repair. The lower the water potential, the more "unsaturated" is the system with water. The water potential thus

indicates the tension in the xylem. As soil water conditions were at constantly favorable values during the measurements, the decreasing stem water potential during the course of a summer day is caused by increasing water loss via transpiration.

Blockage of conductive elements by embolism, in turn, may increase the stress on still functional vessels, which induces a positive feedback leading to more and more negative water pressures. Control of gas exchange, which serves to counteract dehydration by closure of the stomata, only partially solves this problem and is not capable of maintaining constant water conditions inside the plant.

The spatial-temporal pattern of g_s appears to represent an appropriate strategy to prevent water stress and subsequent vein embolism in peripheral regions of large leaves. The spatial-temporal trends in g_s for *A. macrophylla* leaves may indicate that the inherent hydraulic differentiations found for whole plants can be repeated on a lower scale in large leaves, as each zone in a large leaf functioned as a small leaf.

In summary, the study of the internal morphology of the liana xylem, the results of contact angles measurements, neutron radiography and the dynamics of g_s showed that lianas combine high water transport capability with avoidance of, and resistance against embolism.

The question of embolism repair remains unclear: It was not clear if the difficulty of observing embolism in the studied species was due to efficient embolism avoidance, or if experimental procedures have to be improved.

4.4 Notes for future research

For future experiments related to water transport in plants, the following considerations should be taken into account:

4.4.1 Function of root systems

The root system represents the interface between the plant and its soil environment. It is the entry point for water into the plant and feeds the xylem-based water supply system. The dimensions and physiology of the roots are therefore decisive for water conditions and fluxes in the vascular system of transpiring plants. Studies of root structure, anatomy and

physiology are necessary for a better understanding of the processes in the soil-plant-atmosphere continuum (SPAC). With regard to water transport at negative pressures in the xylem of transpiring plants, studies dealing with ultra-filtration and the temporary buildup of root pressure should be advanced. For example, in early spring plants probably use root pressure to eliminate gas bubbles which originate from the thawing frozen sap. It would be therefore desirable to record pressure conditions at the roots and relate them to the stem water potential. This has been done preferentially with *Vitis vinifera*, but much less is known about other liana species.

4.4.2 Intensified studies of air bubble dynamics inside the xylem vessels

This study showed that in situ observation of gas bubbles in the vascular system of living plants by neutron radiography is possible. Another promising application of neutron radiography would be the observation of the refilling process of cavitated vessels and embolism repair.

As the neutron radiation method is controversial due to its moderate spatial resolution, high costs and radiation burden for the environment, alternative light microscope techniques should be developed for study of air bubbles inside the xylem tissue.

A possible approach is the observation of longitudinal thin sections of the xylem, which are mildly dehydrated and re-watered shortly before beginning of the observation. In this way, air bubbles can be introduced into water filled section of the xylem. According to this method, a cover slip prevents additional air from entering into the tissue. First observations of gas bubbles dynamics within xylem samples have already realized within the framework of this thesis (Figure 16). The extinction of gas bubbles in xylem vessels under atmosphere pressure was registered in high spatial and temporal resolution by video recordings in time lapse mode. Cryo-SEM observation of shock-frozen water-air mixtures within vessels may allow the interaction of structured vessel walls and embolism at high spatial resolution to be studied.

Structures such as helical wall thickenings are suggested to be a strategy used to refill the vessels after cavitation (Carlquist 2001, Kohonen 2006). The function of these wall structures is has been controversially discussed and is still far from being clear.

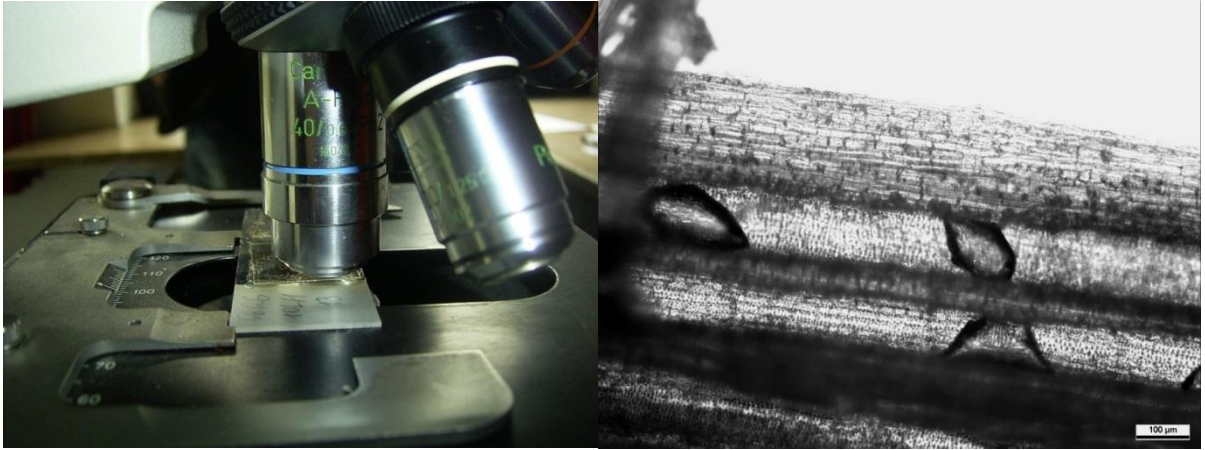


Figure 16: Experiment shows the method for air bubble observation inside of xylem vessels of the liana *Bauhinia cumingiana*.

REFERENCES

- Andrade, J.L., Meinzer, F.C., Goldstein, G. and S.A. Schnitzer. (2005). "Water uptake and transport in lianas and co-occurring trees of a seasonally dry tropical forest." *Trees* **19**(3): 282-289.
- Ashton, P.S. (1964). *Manual of the Dipterocarp trees of Brunei state*, Oxford University Press.
- Ball, J.T., Woodrow, I.E. and J.A. Berry, (1987). "A model predicting stomatal conductance and its contribution to the control of photosynthesis under different environmental conditions." *Prog. in Photosyn Res* **4**: 221-224.
- Bazzas, F.A. (1990). "The response of natural ecosystems to the rising global CO₂ levels." *Ann Rev Ecol and System* **21**: 167-196.
- Berninger, F., Mäkelä, A. and P. Hari (1996). "Optimal control of gas exchange during drought: empirical evidence." *Ann Bot* **77**: 469-476.
- Beyschlag, W. and H. Pfanz (1990). "A fast method to detect the occurrence of nonhomogeneous distribution of stomatal aperture in heterobaric plant leaves." *Oecologia* **80**: 52-55.
- Braun, P. and J. Schmid (1999a). "Sap flow measurements in grapevines (*Vitis vinifera* L.) 1. Stem morphology and use of the heat balance method." *Plant and Soil* **215**: 39-45.
- Braun, P. and J. Schmid (1999b). "Sap flow measurements in grapevines (*Vitis vinifera* L.) 2. Granier measurements." *Plant and Soil* **215**: 47-55.
- Brodersen, C.R., McElrone, A.J., Choat, B., Matthews, M.A. and K.A. Shackel (2010). "The dynamics of embolism repair in xylem: in vivo visualizations using high-resolution computed tomography." *Plant Physiol* **154**(3): 1088-1095.
- Brodribb, T.J. and N.M. Holbrook (2003). "Stomatal closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits." *Plant Physiol* **132**(4): 2166-2173.
- Brüinig, E.F. (1970). "Stand structure, physiognomy and environmental factors in some lowland forests in Sarawak." *Trop Ecol* **11**: 26-43.
- Buckey, T.N. (2005). "The control of stomata by water balance." *New Phytol* **168**: 275-292.
- , Ecuador." *Forest Ecol and Manag* **190**(1): 43-55.
- Camargo, M.A.B. and R.A. Marenco (2011). "Density, size and distribution of stomata in 35 rainforest tree species in Central Amazonia." *Acta Amazon* **41**: 205-212.
- Carlquist, S. (1966a). "Wood anatomy of Compositae: a summary, with comments on factors controlling wood evolution." *Aliso* **6**(2): 25-44.
- Carlquist, S. (1982). "Wood Anatomy of Onagraceae: Further Species; Root Anatomy; Significance of Vestured Pits and Allied structures in Dicotyledons." *Ann. Missouri Bot. Garden* **69**(4): 755-769.
- Carlquist, S. (1985). "Observations on functional wood histology of vines and lianas: vessel dimorphism, tracheids, vasicentric tracheids, narrow vessels, and parenchyma." *Aliso* **11**(2): 139-157.
- Carlquist, S. (1985a). "Vasicentric tracheids as a drought survival mechanism in the woody flora of southern California and similar regions; review of vasicentric tracheids." *Aliso* **11**(1): 37-68.
- Carlquist, S. (1985b). "Observations on functional wood histology of vines and lianas: vessel dimorphism, tracheids, vasicentric tracheids, narrow vessels, and parenchyma." *Aliso* **11**(2): 139-157.
- Carlquist, S. (2001). *Comparative wood anatomy, systematic, ecological and evolutionary aspects of dicotyledon wood*. Heidelberg, Springer Press.

- Carlquist, S. (2002). "The tracheid-vessel element transition in angiosperms involves multiple independent features: Cladistic consequences." *Amer J Bot* **89**(2): 185-195.
- Clearwater, M.J., Lowe, R.G., Hofstee, B.J., Barclay, C., Mandemaker, A.J. and P. Blattmann (2004). "Hydraulic conductance and rootstock effects in grafted vines of kiwifruit." *J Exp Bot* **55**(401): 1371-1382.
- Cochard, H., Forestier, S. and T. Améglio (2001). "A new validation of the Scholander pressure chamber technique based on stem diameter variations." *J Exp Bot* **52**(359): 1361-1365.
- Collatz, G.J., Ball, T., Grivet, C. and J.A. Berry (1991). "Physiological and environmental regulation of stomatal conductance, photosynthesis and transpiration: a model that includes a laminar boundary layer." *Agric Forest Meteor* **54**: 107-136.
- Costa, A.R. (2001). *As relacoes hídricas das plantas vasculares*. Portugal, Univ. de Évora Press.
- Cowan, I.R. and G.D. Farquhar (1977). "Stomatal function in relation to leaf metabolism and environment." *Symp Soc Exp Biol* **31**: 471-505.
- Crombie et al. 1985, D.S., Hipkins, M.F. and J.A. Milburn (1985). "Gas penetration of pit membranes in the xylem of Rhododendron as the cause of acoustically detectable sap cavitation." *Aust J Plant Physiol* **12**: 445-453.
- Darwin, C. (1865). *Movements and Habits of Climbing Plants*. London, Burlington House Press.
- Denny, M.W. (1995). *Air and water. The biology and physics of life's media*, Princeton Univ. Press.
- Dixon, M.A. and M.T. Tyree (1984). "A new stem hygrometer, corrected for temperature gradients and calibrated against the pressure bomb." *Plant Cell Environ* **7**(9): 693-697.
- El-Sharkawy, M.A., Cock, J.H. and A.D.P. Hernandez (1985). "Stomatal response to air humidity and its relation to stomatal density in a wide range of warm climate species." *Photosyn Res* **7**(2): 137-149.
- Ensikat, H.J. and W. Barthlott (1993). "Liquid substitution: a versatile procedure for SEM specimen preparation of biological materials without drying or coating." *J. Microsc* **172**(3): 195-203.
- Esau, K. (1965). *Plant Anat* New York, John Wiley Press.
- Ewers, F.W., Cochard, H. and M.T. Tyree (1997). "A survey of root pressures in vines of a tropical lowland forest." *Oecologia* **110**: 191-196.
- Ewers, F.W., Fisher, J.B., Chiu, S.-T. and S.-T. Chiu (1990). "A survey of vessel dimensions in stems of tropical lianas and other growth forms." *Oecologia* **84**: 544-552.
- Fichot, R., Chamaillard, S., Depardieu, C., Le Thiec, D., Cochard, H., Barigah, T. S. and F. Brignolas (2011). "Hydraulic efficiency and coordination with xylem resistance to cavitation, leaf function, and growth performance among eight unrelated *Populus deltoides* x *Populus nigra* hybrids." *J Exp Bot* **62**(6): 2093-2106.
- Fisher, J.B., Tan, H.T.W. and L.P.L. Toh (2002). "Xylem of rattans: Vessel dimensions in climbing palms." *Am. J. Bot* **89**(2): 196-202.
- Franks, P.J. and D.J. Beerling (2009). "Maximum leaf conductance driven by CO₂ effects on stomatal size and density over geologic time." *Proc Natl Acad Sci USA* **106**(25): 10343-10347.
- Gartner, B.I. (1991). "Stem hydraulic properties of vines vs. shrubs of western poison oak, *Toxicodendron diversilobum*." *Oecologia* **87**: 180-189.
- Gentry, A.H. (1991). The distribution and evolution of climbing plants. *The biology of vines*. In Putz F.E. and H.A. Mooney (eds.) Cambridge, Cambridge University Press: 3-50.
- Givnish, T.J. (1987). "Comparative studies of leaf form: assessing the relative roles of selective pressures and phylogenetic constraints" *New Phytol* **106**(Suppl.): 131-160.

- Givnish, T.J. (1988). "Adaptation to sun and shade: A whole-plant perspective." *Aust J Plant Physiol* **15**: 63-92.
- Grace, J., Loyd, J., McIntyre, J., Miranda, A., Meir, P., Miranda, H., Moncrieff, J., Massheder, I.W. and J. Gash (1995). "Fluxes of carbon dioxide and water vapour over an undisturbed tropical forest in south-west Amazonia." *Glob Change Bio* **1**(1): 1-12.
- Hedwig, J. (1797). *Sammlung seiner Zerstreuten Abhandlungen und Beobachtungen über botanisch-ökonomische Gegenstände: 2 Bändchen*. Leipzig, Crussius Press.
- Herbst, M. (1995). "Stomatal behaviour in a beech canopy: an analysis of Bowen ratio measurements compared with porometer data." *Plant Cell Environ* **18**: 1010-1018.
- Hetherington, A.M. and F.I. Woodward (2003). "The role of stomata in sensing and driving environmental change." *Nature* **424**: 901-908.
- Hoffman, B., Chabbert, B., Monties, B. and T. Speck (2003). "Mechanical, biochemical and ultrastructural properties of wood and their changes during ontogeny in the two tropical lianas *Bauhinia guianensis* and *Condylocarpon guianense*." *Planta* **217**: 32-40.
- Holbrook, N.M. and M.A. Zwieniecki (2005). *Vascular transport in plants*. Burlington, USA, Elsevier Academic Press.
- Holbrook, N.M., Ahrens, E.T., Burns, M.J. and M.A., Zwieniecki (2001). "In vivo observation of cavitation and embolism repair using magnetic resonance imaging." *Plant Physiol* **126**: 27-31.
- Jeje, A.A. and M.H. Zimmermann (1979). "Resistance to water flow in xylem vessels." *J Exp Bot* **30**(117): 817-827.
- Katul, G., Manzoni, S., Palmroth, S. and R. Oren (2010). "A stomatal optimization theory to describe the effects of atmospheric CO₂ on leaf photosynthesis and transpiration." *Ann Bot* **105**: 431-442.
- Kenrick, P. and P. Crane (1997). *The Origin and Early Diversification of Land Plants. A Cladistic Study* Washington D.C., Smithsonian Institution Press.
- Kiruta, S.B., Lo Gullo, M.A., Nardini, A., Richter, H. and S. Salleo, (1997). "Ultrasound acoustic emissions from dehydrating leaves of deciduous and evergreen trees." *Plant Cell Environ* **20**: 1381-1390.
- Koch, K. and W. Barthlott (2009). "Superhydrophobic and superhydrophilic plant surfaces: an inspiration for biomimetic materials." *Philos Trans A Math Phys Eng Sci* **367**(1893): 1487-1509.
- Konrad, W. (2007). *Functional anatomy and biophysical mechanisms of fluid transport in vascular plants: Implications for structural optimisation in fossil and extant plants*. PhD Thesis Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Germany.
- Konrad, W. and A. Roth-Nebelsick (2009). The influence of the wall contact angle on gas bubble behaviour in xylem conduits under tension and possible consequences for embolism. *6th Plant Biomechanics Conference*. Cayenne: 32-39.
- Konrad, W., Roth-Nebelsick, A. and M. Grein, (2008). "Modelling of stomatal density response to atmospheric CO₂." *J Theor Biol* **253**(4): 638-658.
- Kohonen, M.M. (2006). "Engineered wettability in tree capillaries." *Langmuir* **22**: 3148-3153.
- Kramer, P.J. and J.S. Boyer (1995). *Water relations of plants and soils*. Elsevier Science Publishing Press.
- Larcher, W. (2003). *Ökophysiologie der Pflanzen*. Stuttgart, UTB Press.
- Lawson, T. and J. Weyers (1999). "Spatial and temporal variation in gas exchange over the lower surface of *Phaseolus vulgaris* L. primary leaves." *J. of Exp. Botany* **50**: 1381-1390.
- Lee, S.-J. and Y. Kim (2008). "In vivo visualization of the water-refilling process in xylem vessels using X-ray micro-imaging" *Ann Bot* **101**: 595-602.

- Leuning, R. (1995). "A critical appraisal of a combined stomatal–photosynthesis model for C3 plants." *Plant Cell Environ* **18**: 339–355.
- Lösch, R., Tenhunen, J.D., Pereira, J.S. and O.L. Lange (1982). "Diurnal courses of stomatal resistance and transpiration of wild and cultivated Mediterranean perennials at the end of the summer dry season in Portugal." *New Phytol* **108**: 267–276.
- Meng, D.D., Kim, J. and C.-J. Kim (2006). "A degassing plate with hydrophobic bubble capture and distributed venting for microfluidic devices." *J Micromech Microeng***16**(2): 419-424.
- Monteith, J. and M. Unsworth (2007). *Principles of environmental physics*, Elsevier Academic Press.
- Mott, K.A. and T.N. Buckley (2000). "Patchy stomatal conductance: emergent collective behaviour of stomata." *Trends Plant Sci* **5**: 258–262.
- Nardini, A., Gortan, E., Ramini, M. and S. Salleo (2008). "Heterogeneity of gas exchange rates over the leaf surface in tobacco: an effect of hydraulic architecture?" *Plant Cell Environ* **31**: 804-812.
- Nardini, A., Lo Gullo, M.A. and S. Salleo (2011). "Refilling embolized xylem conduits: is it a matter of phloem unloading?" *Plant Sci* **180**(4): 604-611.
- Ogawa, H., Yoda, K. and T. Kira (1965). "Comparative ecological studies on three main types of forest vegetation in Thailand II, Plant Biomass." *Nat Life South-East Asia* **4**: 49-80.
- Parham, R.A. and W.M. Baird (1974). "Warts in the evolution of angiosperm wood." *Wood Sci Technol* **8**: 1-10.
- Parlange, J.Y. and P.E. Waggoner (1970). "Stomatal Dimensions and Resistance to diffusion." *Plant Physiol* **46**: 1-10
- Parsons, L.R. (1978). "Responses of sap flux and stomatal conductance of *Pinus taeda* L. trees to stepwise reductions in leaf area." *Plant Physiol* **62**: 64-70.
- Pataki, D.E., Ram, O. and N. Philips (1998). "Responses of sap flux and stomatal conductance of *Pinus taeda* L. trees to stepwise reductions in leaf area." *J. Exp. Bot* **49**(322): 871-878.
- Peacock, J., Van Rensburg, L., Krüger, H. and C.F. van der Merwe (1998). "Liquid substitution: An alternative procedure for leaf surface studies with scanning electron microscopy." *Scan Microsc* **12**(2): 401-412.
- Peñalosa, J. (1984). "Basal branching and vegetative spread in two tropical rain forest lianas." *Biotropica* **16**: 1-9.
- Phillips, O.L., Martínez, A.V., Arroyo, L., Baker, T.R., Killeen, T., Lewis, S.L., Malhi, Y., Mendoza, A.M., Neil, D., Vargas, P.N., Alexiades, M., Cerón, C., Di Fiore, A., Erwin, T., Jardim, A., Palacios, W., Saldias, M. and B. Vincent (2002). "Increasing dominance of large lianas in Amazonian forests." *Nature* **418**: 770-774.
- Pittermann, J. (2010). "The evolution of water transport in plants: an integrated approach." *Geobiology* **8**(2): 112-139.
- Pittermann, J., Sperry, J.S., Hacke, U.G., Wheeler, J.K. and E.H. Sikkema (2005). "Torus-margo pits help Conifers compete with angiosperms." *Science* **310**: 1924.
- Poole, I., Lawson, T., Weylers, J.D.B., Raven, J.A. (2000). "Effect of elevated CO₂ on the stomatal distribution and leaf physiology of *Alnus glutinosa*." *New Phytol* **145**: 511-521.
- Pospišilová, J. and J. Šantrůček (1994). "Stomatal Parchiness." *Biol Plantarum* **36**(4): 481-510.
- Putz, F.E. and H.A. Mooney (1991). *The biology of vines*. Cambridge, Cambridge University Press.
- Quéré, D. (2008). "Wetting and roughness." *Annu Rev Mater Res* **38**: 71-99.
- Restom, T. G. and D.C. Nepstad (2001). "Contribution of vines to the evapotranspiration of a secondary forest in eastern Amazonia." *Plant Soil* **236**: 155-163.

- Roth-Nebelsick, A. (2004). "Reconstructing atmospheric carbon dioxide with stomata: possibilities and limitations of a botanical pCO₂-sensor." *Trees* **19**(3): 251-265.
- Roth-Nebelsick, A. (2006). "Die Prinzipien der pflanzlichen Wasserleitung. Nach oben gezogen." *Bio unserer Zeit* **36**(2): 110-118.
- Roth-Nebelsick, A., Hassiotou, F. and E. J Veneklaas. (2009). "Stomatal crypts have small effects on transpiration: a numerical model analysis." *Plant Physiol* **151**(4): 2018-2027.
- Roth-Nebelsick, A., Mosbrugger, V. and H. Kerp. (2001). "Evolution and function of leaf venation architecture: a review." *Ann Bot* **87**: 553-566.
- Rowe, N. P. and T. Speck (1996). "Biomechanical characteristics of the ontogeny and growth habit of the tropical liana *Condilocarpon guianense* (Apocynaceae)." *Int J Plant Sci* **157**: 406-417.
- Royer, D.L., McElwain, J.C., Adams, J.M. and P. Will (2008). "Sensibility of leaf size and shape to climate within *Acer rubrum* and *Quercus kelloggii*." *New Phytol* **179**: 808-817.
- Sack, L. and N.M. Holbrook (2006). "Leaf hydraulics." *Annu Rev Plant Biol* **57**: 361-381.
- Salleo, S., LoGullo, M.M., Raimondo, F. and A. Nardini (2001). "Vulnerability to cavitation of leaf minor veins: any impact on leaf gas exchange?" *Plant Cell Environ* **24**: 851-859.
- Scheenen, T.W., Vergeldt, F.J., Heemskerk, A.M. and H. Van As (2007). "Intact plant magnetic resonance imaging to study dynamics in long-distance sap flow and flow-conducting surface area." *Plant Physiol* **144**(2): 1157-1165.
- Schenck, H. (1892). *Beiträge zur Biologie und Anatomie der Lianen : im Besonderen der in Brasilien einheimischen Arten*. Jena, Fischer Press
- Schnitzer, S.A. and F. Bongers (2011). "Increasing liana abundance and biomass in tropical forests: emerging patterns and putative mechanisms." *Ecol. Letters* **14**(4): 397-406.
- Sellin, A. and P. Kupper (2005). "Effects of light availability versus hydraulic constraints on stomatal responses within a crown of silver birch." *Oecologia* **142**(3): 388-397.
- Shimazaki, K., Doi, M., Assmann, S.M. and T. Kinoshita (2007). "Light regulation of stomatal movement." *Annu Rev Plant Biol* **58**: 219-247.
- Slatyer, R.O. and S.A. Taylor (1960). "Terminology in plant and soil water relations." *Nature* **187**: 922-924.
- Sperry, J.S. (2003). "Evolution of water transport and xylem structure." *Int J Plant Sci* **164**(Suppl. 3): 115-127.
- Sperry, J.S. (2011). *Hydraulics of vascular water transport*. In: Wojtaszek, P (eds.) *Signaling and Communication in Plants: Mechanical Integration of Plant Cells and Plants*. Berlin, Springer Press.
- Sperry, J.S., Hacke, U.G., Oren, R. and J.P. Comstock (2002). "Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply." *Plant Cell Environ* **25**: 251-263.
- Sperry, J.S., Holbrook, N.M., Zimmermann, M.H. and M.T. Tyree (1987). "Spring filling of xylem in wild grapevine." *Plant Physiol* **83**: 414-417.
- Sperry, J.S. and T. Ikeda (1997). "Xylem cavitation in roots and stems of Douglas-fir and white fir." *Tree Physiol* **17**: 275-280.
- Strasburger, E., Noll, F., Schenck, H. and A.F. Schimpfer (1991). *Lehrbuch der Botanik für Hochschulen*. Germany, Gustav Fischer Press.
- Sun, M., Watson, G.S., Zheng, Y., Watson, J.A. and A. Liang (2009). "Wetting properties on nanostructured surfaces of cicada wings." *J Exp Biol* **212**(19): 3148-3155.
- Sun, T., Wang, G., Feng, L., Bigian, L., Yongmei, M., Lei, J. and D. Zhu (2004). "Reversible switching between superhydrophilicity and Superhydrophobicity." *Angew Chem Int* **43**(3): 357-360.
- Terashima, N. (1992). "Anatomy of non-uniform leaf photosynthesis." *Photosynth Res* **31**: 195-212.

- Tötzke, C. (2008). *Untersuchungen über den Zustand tensilen Wassers in Bäumen*. Unpublished PhD Thesis Freien Universität Berlin, Germany.
- Tyree, M. and F.W. Ewers (1991). "The hydraulic architecture of trees and other woody plants." *New Phytol* **119**: 345-360.
- Tyree, M. and M.H. Zimmermann (2002). *Xylem structure and the ascent of sap*. Germany, Springer Press.
- Vesala, T., Hölttä, T., Perämäki, M., Nikinmaa, E. (2003). "Refilling of a hydraulically isolated embolized xylem vessel: model calculations." *Ann Bot* **91**: 419-428.
- Vogel, S. (1970). "Convective cooling at low airspeeds and the shapes of broad leaves." *J Exp Bot* **21**(1): 91-101.
- Vogt, U. K. (2001). "A new validation of Scholander pressure chamber technique based on stem diameter variations." *J Exp Bot* **25**(360): 1527-1536.
- Walter, H. and D. Mueller-Dombois (1971). *Ecology of tropical and subtropical vegetation*. Edinburgh, UK, Olive and Boyd Press.
- Wanner, W. and W. Nultsch (2004). *Mikroskopisch-Botanisches Praktikum für Anfänger*. Stuttgart, Thieme Press.
- Webb, L.J. (1968). "Environmental relationships of the structural types of Australian rain forest vegetation." *Ecology* **49**: 296-311.
- Webber, I. (1936). "The wood of sclerophyllous and desert shrubs and desert plants of California." *Amer J Bot* **23**: 181-188.
- Weyers, J.D.B. and T. Lawson (1997). "Heterogeneity in stomatal characteristics." *Adv Bot Res* **26**: 317-352.
- Willmer, P. (1986). Microclimatic effects at the plant surface. *Insects and the Plant Surface*. In: B. Juniper and R. Southwood (Eds.). London, Edward Arnold: 65-80.
- Zwieniecki, M.A. and N.M. Holbrook (1998). "Short term changes in xylem water conductivity in white ash, red maple and white spruce." *Plant Cell Environ* **21**: 1173-1180.
- Zwieniecki, M.A. and Holbrook, N.M. (2009). "Confronting Maxwell's demon: biophysics of xylem embolism repair." *Trends Plant Sci* **14**(10): 530-534.

Publication 1

Diurnal pattern of stomatal conductance in the large-leaved temperate liana *Aristolochia macrophylla* depends on spatial position within the leaf lamina

Diurnal pattern of stomatal conductance in the large-leaved temperate liana *Aristolochia macrophylla* depends on spatial position within the leaf lamina

Tatiana Miranda¹, Martin Ebner¹, Christopher Traiser² and Anita Roth-Nebelsick^{2,*}

¹Department of Geosciences, University of Tübingen, Sigwartstr. 10, D-72076 Tübingen, Germany and

²State Museum of Natural History, Rosenstein 1, D-70191 Stuttgart, Germany

* For correspondence. E-mail anita.rothnebelsick@smns-bw.de

Received: 20 November 2012 Revision requested: 9 January 2013 Accepted: 29 January 2013

- **Background and Aims** The large distance between peripheral leaf regions and the petiole in large leaves is expected to cause stronger negative water potentials at the leaf apex and marginal zones compared with more central or basal leaf regions. Leaf zone-specific differences in water supply and/or gas exchange may therefore be anticipated. In this study, an investigation was made to see whether zonal differences in gas exchange regulation can be detected in large leaves.
- **Methods** The diurnal course of stomatal conductance, g_s , was monitored at defined lamina zones during two consecutive vegetation periods in the liana *Aristolochia macrophylla* that has large leaves. Local climate and stem water potential were also monitored to include parameters involved in stomatal response. Additionally, leaf zonal vein densities were measured to assess possible trends in local hydraulic supply.
- **Key Results** It was found that the diurnal pattern of g_s depends on the position within a leaf in *A. macrophylla*. The highest values during the early morning were shown by the apical region, with subsequent decline later in the morning and a further gradual decline towards the evening. The diurnal pattern of g_s at the marginal regions was similar to that of the leaf tip but showed a time lag of about 1 h. At the leaf base, the diurnal pattern of g_s was similar to that of the margins but with lower maximum g_s . At the leaf centre regions, g_s tended to show quite constant moderate values during most of the day. Densities of minor veins were lower at the margin and tip compared with the centre and base.
- **Conclusions** Gas exchange regulation appears to be zone specific in *A. macrophylla* leaves. It is suggested that the spatial–diurnal pattern of g_s expressed by *A. macrophylla* leaves represents a strategy to prevent leaf zonal water stress and subsequent vein embolism.

Key words: Stomatal conductance, heterogeneous stomatal conductance, macrophyll, leaf size, leaf venation, diurnal pattern, stem water potential, *Aristolochia macrophylla*.

INTRODUCTION

Plant gas exchange is regulated by a sophisticated control of stomatal conductance, g_s , that responds to various environmental stimuli, particularly light, vapour pressure deficit (VPD), the water supply situation at the roots, mediated by abscisic acid (ABA), and the internal CO₂ concentration (Wong *et al.*, 1979; Buckley, 2005). All these responses to various stimuli are integrated into a system of regulation of g_s to prevent transpiration rates that would lead to excessive embolism of stem and leaves (Sperry *et al.*, 2002; Brodribb *et al.*, 2003; Sack and Holbrook, 2006), while simultaneously allowing for harvesting as much carbon as possible. One manifestation of co-ordinating these two conflicting tasks is the typical diurnal pattern of g_s , with the highest g_s values during the morning when the VPD is low and subsequent decline of g_s during the day under increasing VPD (Larcher, 2003). This diurnal pattern is in accordance with the strategy of maximizing carbon gain while minimizing water loss (Cowan and Farquhar, 1977; Berninger *et al.*, 1996; Katul *et al.*, 2010). Instantaneous g_s can vary considerably among

leaves of an individual plant, depending on the actual environmental conditions experienced by single leaves, and can be additionally modulated according to the position within a crown (Sellin and Kupper, 2005).

Many models of stomatal conductance are based on the assumption of instantaneous g_s being uniform over a leaf (Ball *et al.*, 1987; Collatz *et al.*, 1991; Leuning, 1995; Dewar, 2002; Damour *et al.*, 2010; Katul *et al.*, 2010). There is, however, ample evidence that g_s varies substantially within single leaves (Terashima, 1992). There are various types of stomatal heterogeneity. Local variances in stomatal density (SD) and size can be involved, but the main reason for non-uniform stomatal conductance is heterogeneous stomatal aperture. During the last few years, attention was mainly focused on ‘stomatal patchiness’, the phenomenon of joint behaviour of groups of stomata (patches). The degree of aperture of one stomatal patch is independent from the aperture of adjacent patches, and complex patterns of g_s over a leaf may result (Pospíšilová and Šantrůček, 1994; Mott and Buckley, 2000). There are, however, also macroscopic differences in g_s (Terashima, 1992). Nardini *et al.* (2008) found for

tobacco leaves that g_s was higher in the apical region than in the basal parts of the leaf. In leaves of *Commelina communis*, a gradient in g_s between the central and the peripheral parts of the leaves was detected (Smith *et al.*, 1989). The reasons for the various types of stomatal heterogeneity are still under debate. In the case of stomatal patchiness, problems with short-term responses to environmental perturbations are assumed to play a role (Buckley, 2005; Kaiser, 2009). For the macroscopic gradients found in *C. communis* and *Nicotiana tabacum*, hydraulic factors have been suggested that lead to spatial variations in water supply over the leaf lamina, making local adaptations of gas exchange necessary (Smith *et al.*, 1989; Nardini *et al.*, 2008).

In large leaves, a considerable amount of the leaf area will be quite distant from the point of insertion of the petiole that represents the source of water for the lamina. The risk of water stress at peripheral leaf regions is particularly enhanced if g_s is high and homogeneous over the whole lamina. Under these circumstances, the leaf water potential (ψ_{leaf}) should show minimum values along the margins and the tip (Roth-Nebelsick *et al.*, 2001; Cochard *et al.*, 2004). Moreover, differences in local boundary layer structure may arise in large leaves, with the lowest boundary layer thickness at peripheral regions. For a large and entire leaf, the margins and tip should therefore be more prone to water stress than basal or more central leaf regions since these sites are located at the 'end' of the pressure drop that extends over the leaf venation during transpiration. In fact, size is one leaf trait that shows significant negative correlation with decreasing humidity (Givnish, 1987; Scoffoni *et al.*, 2011).

Spatial differences in stomatal regulation mitigating or preventing leaf zonal water stress might therefore be anticipated. Since, however, instantaneous g_s at any point within a leaf is the result of superposition of various factors to which stomata respond (diurnal patterns, response to external environmental stimuli, local water status or signals from the roots), g_s is prone to a high statistical noise that may obscure such zonal patterns. In the study presented here, g_s was monitored for defined leaf zones in the large-leaved temperate deciduous vine *Aristolochia macrophylla* over two consecutive vegetation periods. *Aristolochia macrophylla* shows a dense crown with large, thin and entire leaves. Furthermore, the leaves of *A. macrophylla* show almost identical length and width. This shape leads to a high 'accumulation' of leaf area that should particularly promote two-dimensional gradients of water supply. Along with g_s , xylem water potential and climate parameters were also monitored. The study was performed on an adult specimen under natural conditions.

MATERIALS AND METHODS

Study site and plant material

The study was conducted on a specimen of *A. macrophylla* growing in the Arboretum at the Botanical Garden of the University of Tübingen. The location of the specimen is 48° 32'26.16"N, 9°2'2.56"E, 412 m a.s.l. The soil at the growing site is situated above an argillaceous parent rock material of the late Triassic formation, which promotes a favourable water supply. The plant grows entwined around a dead tree

and reached a height of around 6 m at the time of the study (Supplementary Data Fig. S1). The growing site of the specimen is fully exposed to sunlight. The leaves considered were at a height of 1.50–1.90 m above ground, and showed an area of 29 086 + 5928 mm². The leaves therefore belong to the macrophyll category (Ellis *et al.*, 2009).

Climate parameters

The climatic parameters at the study site were recorded by the mobile weather station WD-2700 (Watchdog, PCE group, PCE Germany, Meschede, Germany). The recordings were read with the software WD-SPEC. Air temperature, soil humidity, leaf temperature, air humidity, photosynthetic active radiation (PAR) and solar radiation, precipitation, wind speed and wind direction were logged at intervals of 5 min during the entire observation period. The VPD was calculated from relative air humidity, air temperature and the equation for saturated vapour pressure according to Jones (1992). Soil water potential was measured regularly during the study period by using the tensiometer device of the Watchdog weather station.

Stem water potential

Xylem water potential in the stem (ψ_{xylem}) was monitored continuously at regular intervals during the growing seasons of 2010 (May–August) and 2011 (June–July). ψ_{xylem} was measured *in situ* by using the stem psychrometer StepLog (Plant Water Status Instruments, Guelph, Ontario, Canada) (Dixon and Tyree, 1984). The measurement intervals were selected according to the weather conditions. During rainy periods, no measurements were carried out. The sensor was attached to the base of the stem, at a height of about 30 cm. The bark was removed carefully until sapwood with an area similar to the contact area of the sensor, about 27 mm², was exposed (Vogt, 2001). The sensor was then fixed to the sapwood by clamps and tape, sealed with silica gel, and carefully isolated using foam material. Mounting of the StepLog was finished by wrapping plastic film around the stem and sensor. Furthermore, the sensor was always attached at a site on the stem that was shielded by leaves from insolation. Measurements were performed with a time interval of 60 min.

The position of the sensor had to be changed every 2 weeks and the open sapwood was sealed with a special paste after the sensor was removed. This long-term monitoring was possible since the plant, due to its size, shows a ramifying stem whose numerous distal branches were large enough to allow for these manipulations. Before each measurement, the sensor was calibrated with 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 and 0.9 molal (mol kg⁻¹) NaCl solutions at 20 °C (Lang, 1967). With each solution, six values were taken at 15 min intervals. The mean of the last four values was estimated for a calibration line. To account for thermal gradients, the values of the first 5 h after installation were discarded.

Stomatal conductance

The value of g_s was measured with a Porometer AP4 (Delta-T Devices Ltd, Cambridge, UK) at different and defined positions or zones within the leaf lamina (= leaf

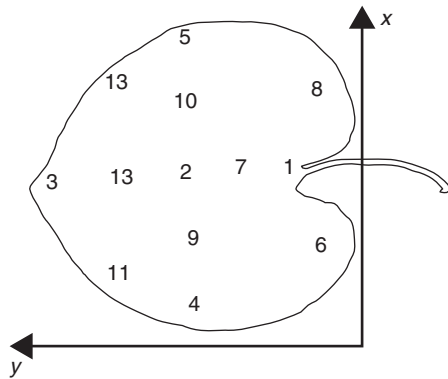


FIG. 1. The various leaf zones that were monitored with respect to the diurnal pattern of g_s .

zones, indicated in Fig. 1). The contact area between the leaf and measurement chamber is 51 mm^2 ($17 \text{ mm} \times 3 \text{ mm}$). Measurements were taken at these positions over entire days at each hour during the vegetation periods 2010 and 2011, simultaneously with the monitoring of ψ_{xylem} . Measurements were taken on at least four leaves at each hourly measurement. Since measurements were taken under very different daytime conditions (high humidity and cooler temperatures early in the morning, lower humidity and higher temperatures during noon/afternoon), we had to recalibrate the porometer several times over a day, necessary after each adaption of the relative humidity set point in the measurement cup to air humidity. According to pilot studies at the study site, we waited until a stable value appeared, usually after about 7–10 s. This was necessary because the early morning measurements in particular were difficult to perform due to the high air humidity and we wanted to perform all measurements in a similar way.

In order to avoid permanent damage of the leaf tissue inflicted by repeated attachment of the measurement chamber of the porometer, a different set of randomly selected leaves was used for each measurement. A total of about 4000 single measurements were taken on about 40 d during the entire study. The number of measurements at the various leaf zones are: zone 1, $n = 521$; zone 2, $n = 394$; zone 3, $n = 573$; zone 4, $n = 554$; zone 5, $n = 545$; zone 6, $n = 336$; zone 7, $n = 74$; zone 8, $n = 301$; zone 9, $n = 126$; zone 10, $n = 126$; zone 11, $n = 105$; zone 12, $n = 345$; and zone 13, $n = 99$. To assess local insolation at the leaves, we used the radiation data which are provided by the light sensor of the porometer during g_s measurement.

Leaf osmotic potential

Osmotic potential, ψ_{osm} , was measured by using a portable PSYPRO water potential system (Wescor Inc., Logan, UT, USA). As osmotic potential sensor, a C-52 sample chamber (Wescor Inc.), was connected to the PSYPRO. Measurement of ψ_{osm} also included leaves which were used for determination of g_s . Leaf sap was obtained by using the Markhart leaf press (Wescor Inc.) which allows for extraction of the liquid sample directly onto a filter paper disc. After soaking the filter paper disc, it was immediately transferred to the C-52 sample chamber.

Measurements were performed partially on-site or in the laboratory. In the latter case, leaves were harvested in the field, sealed in a plastic bag and immediately brought to the laboratory where they were frozen at -20°C while still sealed in the bag. Liquid samples were then obtained after thawing. Previous control measurements on liquid samples obtained from frozen vs. non-frozen leaves revealed no significant differences in osmotic potential. The measurement and calibration routines of the PSYPRO water potential system was carried out according to standard methods with commercial calibration solutions of different osmotic potential (Wescor Inc.). Calibration was performed before the measurements.

Stomatal density

Stomatal density was determined for the leaf zones 1–5 (Fig. 1) by using scanning electron microscopy (SEM), with a LEO Model 1450 VP (Variable Pressure) (LEO Electron Microscopy Ltd, Cambridge, UK) available at the Institute for Geosciences, University of Tübingen. For SEM, dry material was used. After mounting on stubs, the leaf pieces were sputtered with gold, with a BAL-TEC Model SCD 005/CEA 035 (BAL-TEC GmbH, Witten, Germany). The samples were observed under vacuum mode, with an accelerating voltage of 10 kV and a working distance of 15 mm. The SD (number of stomata per leaf area = number/ mm^2) was counted in five adjacent areas of each zone 1–5 for a minimum area of $300 \mu\text{m}^2$ for each single count (Poole and Kürschner, 1999).

Vein density

Since leaf hydraulic conductance correlates with venation density (Sack and Holbrook, 2006; Nardini *et al.*, 2008), the density of lower order (second and third order veins) and higher order (= minor) veins was measured at different leaf zones to assess possible regional differences in leaf hydraulic conductance. Digital images were taken from three randomly selected leaves of *A. macrophylla*. Leaf veins of first, second and third order were identified according to the ‘Manual of leaf architecture’ (Ellis *et al.*, 2009). Determination of vein density was performed by using ImageJ, Version 1.46 (Rasband, 1997–2012). Four identical rectangular sample areas of $20 \times 30 \text{ mm}$ were located at the top, central, basal and marginal parts of the lamina (Supplementary Data Fig. S2). In order to calculate the vein density (mm mm^{-2}) of lower order veins, the veins were then digitalized by polylines within the sample areas. The sum of vein length within each sample area was determined for the second and third vein order separately.

Higher order vein density was obtained by measuring the total length of minor veins within a partial area of the sample areas that were also considered for lower order vein density. These measurements were conducted for the same three leaves. For this, stereomicroscope images of the lower leaf side of *A. macrophylla* were sufficient since the minor veins are dark green and therefore clearly visible within the lighter green lamina. The total minor vein length of images of leaf areas of about $50\text{--}100 \text{ mm}^2$ was determined by using ImageJ, Version 1.46, (Rasband, 1997–2012). All minor veins were outlined by using the line tool, and the total length of the lines was measured.

Hydraulic conductivity at different positions of the major vein

To assess trends in local hydraulic conductivity along the major vein, conduit number and size were also determined at leaf zones 1–3 for the three leaves that were considered for vein density measurements. Hand sections were prepared using the fresh material. Sections through the major vein at leaf zones 1, 2 and 3 were then identified. The cross-sectional shape of the conduits was mostly elliptic and the lengths of both the major and minor axis were determined by using the line tool of ImageJ. The sections also allowed the number of conduits within the major vein at the three different leaf zones to be determined.

According to the Hagen–Poiseuille law for elliptic tubes, the relationship between volume flow rate Q , pressure gradient ($\Delta p/\Delta l$) and conduit size is as follows:

$$Q = \frac{\pi}{4\mu} \times \frac{a^3 b^3}{a^2 + b^2} \times \frac{\Delta p}{\Delta l} \quad (1)$$

with μ = viscosity of water (1.003×10^{-3} Pa s at 20°C), a = half-length of the long axis of the ellipse, b = half-length of the short axis of the ellipse, p = pressure and l = tube length (Bruus, 2008).

For a bundle of capillaries, hydraulic conductivity K_h can be calculated (N = number of conduits; Leyton, 1975):

$$K_h = N \left[\frac{\pi}{4\mu} \times \frac{a^3 b^3}{a^2 + b^2} \right] \quad (2)$$

K_h from eqn (2) should indicate the maximum potential local hydraulic conductivity of the vein as limited by conduit size and number. For calculation of an approximative value of K_h , mean values of a and b were used. It should be noted that an exact calculation of K_h requires the determination of the efficient conduit size parameters, a_{eff} and b_{eff} , which are somewhat larger than a_{mean} and b_{mean} (Leyton, 1975).

Statistical analysis

For the statistical analysis, SPSS 19 (IBM, USA) and Past (Hammer *et al.*, 2001) were used. To test the differences between zonal g_s values for statistical significance, the non-parametric Kruskal–Wallis test for independent samples was applied with subsequent Mann–Whitney test plus Bonferroni correction, because the data (according to the Shapiro test) showed no clear trend for normal distribution. g_s was tested for significant differences between leaf zones at different intervals during the daytime. These intervals were defined as ‘early morning’ (EM), 0500–0800 h; ‘morning’ (M), from after 0800 h to 1100 h; ‘noon’ (N), from after 1100 h to 1400 h; ‘early afternoon’ (EA), from after 1400 h to 1600 h; ‘afternoon’ (A), from after 1600 h to 1900 h; and ‘evening’ (E), later than 1900 h.

The graphical representation of the zonal distribution of g_s was created by applying the ‘Interpolation tool’ of ‘Matlab’ (TheMathWorks, Inc.). For each of the 13 considered regions, the zonal mean values of g_s were derived for the defined time intervals and used as a basis for the interpolation maps representing the distribution of g_s over the whole lamina at each time interval.

For the stomatal density, SD, no clear trend for normal distribution was found, and the Kruskal–Wallis test was also used in this case.

RESULTS

Climate parameters

Daily climate at the measurement site, averaged over the time period of measurement, is shown in Fig. 2. VPD increases rapidly during a day, reaching a maximum around early afternoon, parallel to the increase of air temperature that attains an average maximum of about 25°C at noon. For the rest of the day, neither parameter changed substantially until early evening.

Stem water potential

The mean temporal pattern of ψ_{xylem} for the entire measurement period is shown in Fig. 3. In the early morning, ψ_{xylem} is about -0.2 MPa, and starts to decline rapidly after 0900 h, reaching its daily minimum of about -1.5 MPa at 1200 h. In the afternoon, ψ_{xylem} starts to rise again. Pre-dawn values are reached during the night, at about 0300–0400 h. ψ_{xylem} is strongly correlated with VPD (Spearman’s $\rho = 0.663$, $P < 0.001$, $n = 3674$).

Stomatal conductance

Figure 4 shows the diurnal course of $g_{s,\text{mean}}$, the mean of all measurements of g_s that were taken during a certain daytime

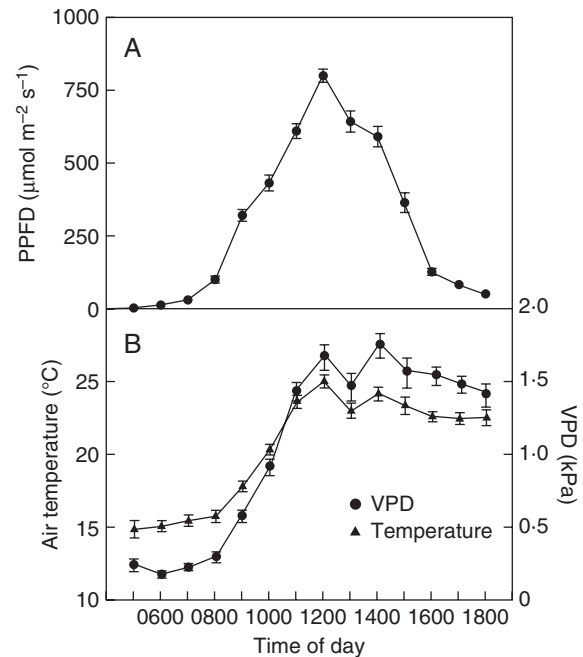


FIG. 2. Climate at the growing site of the *A. macrophylla* individual. The data were collected over the whole study period that comprised the vegetation periods 2010 and 2011. The mean values are plotted against hour of the day, with the error bars representing the 95% confidence interval. (A) Photosynthetic photon flux density (PPFD). (B) Vapour pressure deficit (VPD) and air temperature, as indicated.

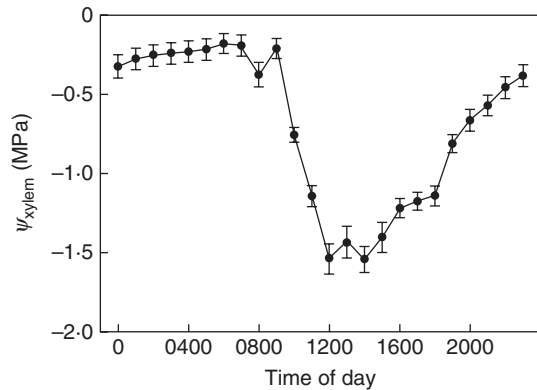


FIG. 3. Daily course of ψ_{xylem} within the stem of the *A. macrophylla* individual. The data were collected over the whole study period that comprised the vegetation periods 2010 and 2011. The mean values are plotted against hour of the day, with the error bars representing the 95 % confidence interval.

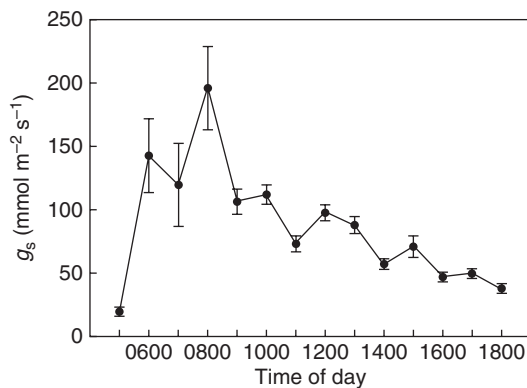


FIG. 4. Hourly mean values of g_s derived from all measurements during the study period. The error bars represent the 95 % confidence interval.

interval within the study period. $g_{s,\text{mean}}$ soars in the early morning, during dawn, and attains its maximum during the morning hours between 0800 and 0900 h. After this time, $g_{s,\text{mean}}$ decreases gradually, without any substantial rise for the rest of the day.

Spatial patterns of stomatal conductance

The diurnal pattern of g_s at the considered zones of the leaf lamina, $g_{s,\text{zonal}}$, is depicted in Fig. 5. There are distinct local differences visible for diurnal $g_{s,\text{zonal}}$. In the early morning (0500–800 h), $g_{s,\text{zonal}}$ is highest in the apical region of the leaf. Then, apical $g_{s,\text{zonal}}$ decreases and during the morning (0800–1100 h) is similar to the leaf margins, where $g_{s,\text{zonal}}$ is highest during the morning. During ‘noon’ (1100–1400 h), $g_{s,\text{zonal}}$ is substantially depressed over the whole lamina, with higher $g_{s,\text{zonal}}$ at the leaf base and the apical region. $g_{s,\text{zonal}}$ then decreases gradually during the rest of the day, with slightly higher values at the leaf tip and base than in the rest of the leaf. Central leaf regions show almost constantly low values. It should be noted that the contour maps shown in Fig. 5 do not contain any information on the areas between the measured zones. The ‘true’ g_s map may be

more complex in reality (Lawson and Weyers, 1999). The complete data set of g_s is provided in Supplementary Data Fig. S3, showing a scatter plot of $g_{s,\text{zonal}}$ against time of day for each lamina zone (1–13).

Statistical tests were performed with respect to the significance of daytime differences in $g_{s,\text{zonal}}$ at the various lamina regions. The results for the early morning and morning are summarized in Table 1. Many differences between leaf regions that are visible in Fig. 5 are also statistically significant. For instance, early morning $g_{s,\text{zonal}}$ at the apical region is significantly different from that in most other regions. The original statistical tables are shown in Supplementary Data Table S1.

To assess a possible influence of local or temporal differences in irradiance on g_s , leaf zonal photosynthetic photon flux density (PPFD) was recorded simultaneously with $g_{s,\text{zonal}}$ during each measurement by the light sensor within the porometer cup. Figure 6 summarizes the diurnal course of $g_{s,\text{zonal}}$ and PPFD zonal for the lamina zones 1–5. These were selected because they showed the highest $g_{s,\text{zonal}}$ values throughout the measurements. Figure 6 shows that there are minor differences in PPFD for the various zones. The differences in the temporal course of $g_{s,\text{zonal}}$ appear, however, not to be caused by differences in the PPFD. Rather, $g_{s,\text{zonal}}$ follows a site-specific diurnal pattern. For example, at leaf zone 1, $g_{s,\text{zonal}}$ increases to its maximum value and then decreases substantially well before maximum irradiance is reached. The apical region shows a particularly strong and early increase in $g_{s,\text{zonal}}$ at dawn and holds this maximum for quite a long time, compared with the duration of the maximum $g_{s,\text{zonal}}$ at the other zones. $g_{s,\text{zonal}}$ decreases at all zones after 0900 h. A slight recovery is seen after 1100 h, but $g_{s,\text{zonal}}$ plunges again shortly afterwards with no substantial increase for the rest of the day. At all zones, $g_{s,\text{zonal}}$ reaches its maximum well before the PPFD maximum.

In Fig. 7 the diurnal courses of VPD, ψ_{xylem} and $g_{s,\text{zonal}}$ at three different leaf zones, the apical region (leaf zone 3) and two regions close to the leaf centre (leaf zones 9 and 10), are shown together. The central zones, which are situated opposite to each other across the major vein, show almost identical behaviour with respect to the diurnal $g_{s,\text{zonal}}$ pattern that differs greatly from the pattern at the tip during the morning, as expected from Fig. 5. $g_{s,\text{zonal}}$ at the leaf centre increases more slowly than at the tip and reaches much lower maximum values. The rapid decline at the leaf tip starts after a decrease in ψ_{xylem} and an increase in VPD set in. Shortly afterwards $g_{s,\text{zonal}}$ starts to drop at the tip, ψ_{xylem} shows a brief recovery towards the early morning value and then decreases continuously during the rest of the day.

Leaf osmotic potential

Mean ψ_{osm} data of leaf zones 1–4 and 5 (4 and 5 here summarized as ‘margin’) obtained during early morning and morning are shown in Fig. 8. According to the data, ψ_{osm} tends to be lower in the morning compared with the early morning. The lowest values occur at the leaf tip. Statistically significant differences between the data could, however, not be confirmed.

Stomatal density

Aristolochia macrophylla shows quite a low SD (Fig. 9). At the centre and the tip, higher values were found than at the

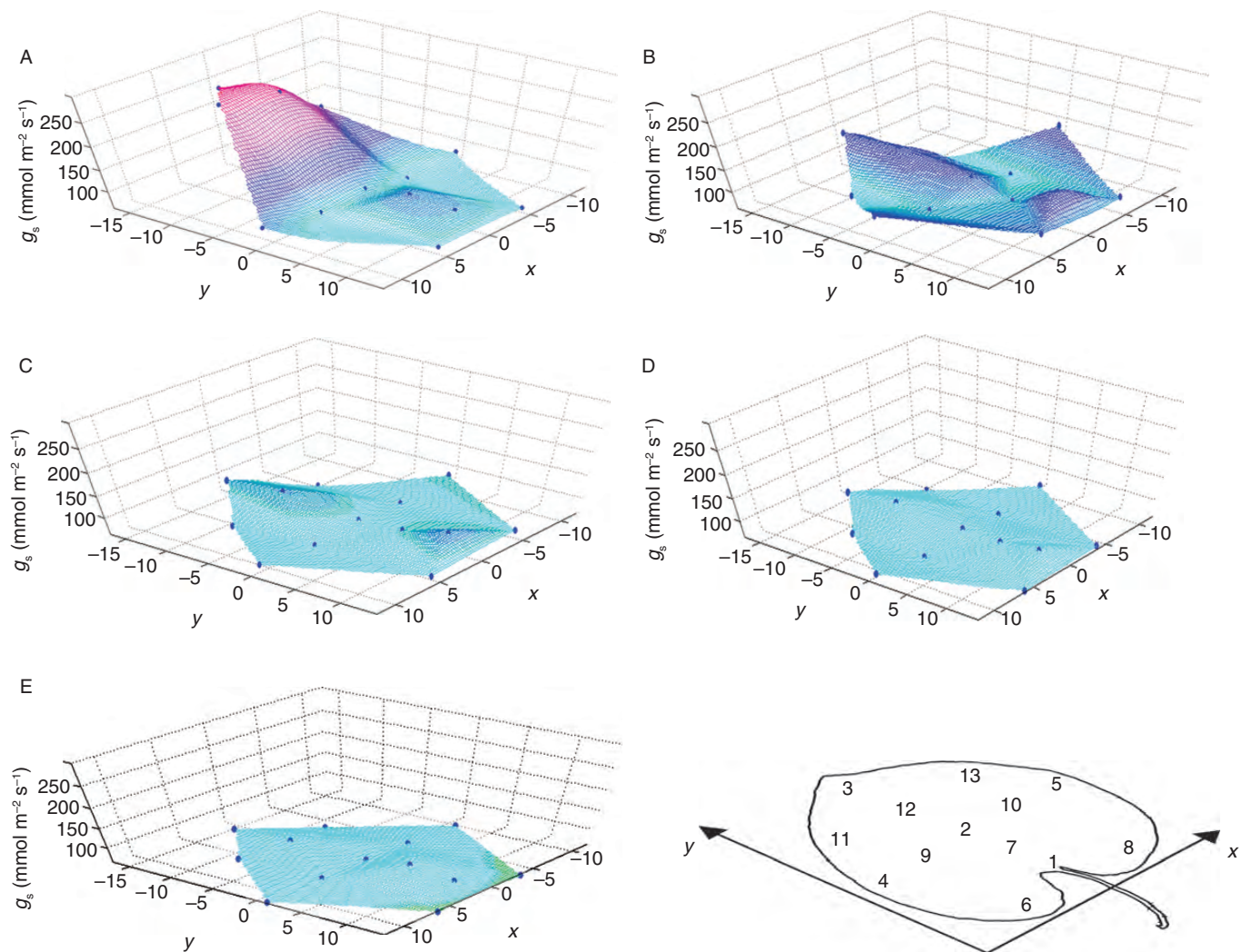


FIG. 5. Spatial representation of g_s of the various considered leaf zones at different times of the day over the study period. The points in the graphs indicate the leaf zones: an image showing the orientation of the graphs and the position markers with respect to the leaf is included. The graphs were generated by calculating the mean g_s within a certain time of day at the various zones, and then interpolating g_s at the zonal values with the Interpolation Tool of 'MatLab' for the entire lamina. The spatial co-ordinates of the x- and y-axis are relative co-ordinates to allow for showing the defined leaf zones. For example, (0,0) denotes the leaf centre, (0, -15) the uppermost point at the leaf tip, and (0, 15) the insertion point of the petiole. (A) 'Early morning' (EM), 0500–0800 h. (B) 'Morning' (M), from after 0800 h to 1100 h. (C) 'Noon' (N), from after 1100 h to 1400 h. (D) 'Early afternoon' (EA), from after 1400 h to 1600 h. (E) 'Afternoon' (A), from after 1600 h to 1900 h.

margins and the leaf base. The differences between the tip and leaf centre and the other zones are statistically significant (Kruskal–Wallis, $P < 0.001$, with subsequent Dunn's method of pairwise multiple comparison, $P < 0.05$). We did not detect differences in stomatal size over the leaf.

Venation density and vein conduit size

The density of the lower order veins (second and third order) is plotted against leaf zones 1–4 and 5 in Fig. 10. The densities of both the second and the third order veins are highest at the base (leaf zone 1), lowest at the leaf centre (leaf zone 2) and then increase towards the leaf tip (leaf zone 3) and margin (leaf zones 4 and 5). Leaf zonal differences in venation densities are lower for the third order veins. Here, vein

densities for leaf zones 3 and 4–5 are almost identical. For the third order veins, no statistically significant differences between densities at the different leaf zones could be found. For the second order veins, however, analysis of variance (ANOVA) indicated statistically significant differences ($P = 0.041$), with the Tukey test showing differences between leaf zones 1 and 2 ($P = 0.035$). Minor vein density (vein order > 3) at leaf zones 1–4 and 5 is also shown in Fig. 10. The density is lowest at the leaf tip and margins. The differences are statistically significant (ANOVA, $P = 0.011$).

The results of conduit size and number within the major vein are summarized in Table 2. The long and short axes of the elliptically shaped cross-sections of the vein conduits are lowest at the tip. Additionally, the number of conduits within the major vein decreases, as expected. Correspondingly,

potential K_{vein} , as derived from the local dimensions of the conduits along the major vein, decreases, with a strong drop between the major vein centre and tip.

TABLE 1. Statistical significance between differences in values of g_s at the considered leaf zones (see Fig. 1) during the early morning (0500–0800 h; indicated by *) and morning (from after 0800 h to 1100 h; indicated by †)

Leaf zone	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1													
2													
3	*	*											
4				*									
5				*									
6	†			*									
7													
8				*									
9	†		*	†									
10													
11	†	†	†										
12	*	*		*	*	*		*	*	*		†	
13	†	†	†	†	†								†

Statistical significance is marked if $P < 0.05$ (Mann–Whitney tests after Bonferroni correction). The raw data can be found in Supplementary Data Table S1.

DISCUSSION

Leaf zonal g_s and microclimate

The daily courses of g_s are species-specific patterns resulting from the superposition of diurnal rhythm and responses to various environmental factors (Lösch et al., 1982; Lo Gullo and Salleo, 1988; Goldstein et al., 1998; Mencuccini et al., 2000). That instantaneous g_s can be non-uniform over a leaf is a well-known fact which has been known for some time, and the mere existence of heterogeneity found for g_s in *A. macrophylla* is therefore not surprising. There are different kinds of spatial heterogeneity of stomatal aperture or g_s that have been reported so far, reaching from the microscale, i.e. from small groups of stomata (stomatal patchiness), to whole leaf regions on the macroscale (Beyschlag and Pfanz, 1990; Terashima, 1992; Pospíšilová and Šantrůček, 1994; Weyers and Lawson, 1997; Lawson and Weyers, 1999; Mott and Buckley, 2000).

Particularly remarkable for *A. macrophylla* are the substantial zonal differences in the diurnal courses of g_s over its large leaves that produce a co-ordinated spatial–temporal pattern. Some recent reports of macroscopic and temporal heterogeneity of g_s or stomatal aperture over leaf laminae exist for *C. communis* (Smith et al., 1989), *Phaseolus vulgaris* (Lawson and Weyers, 1999), *Tradescantia virginiana* (Nejad

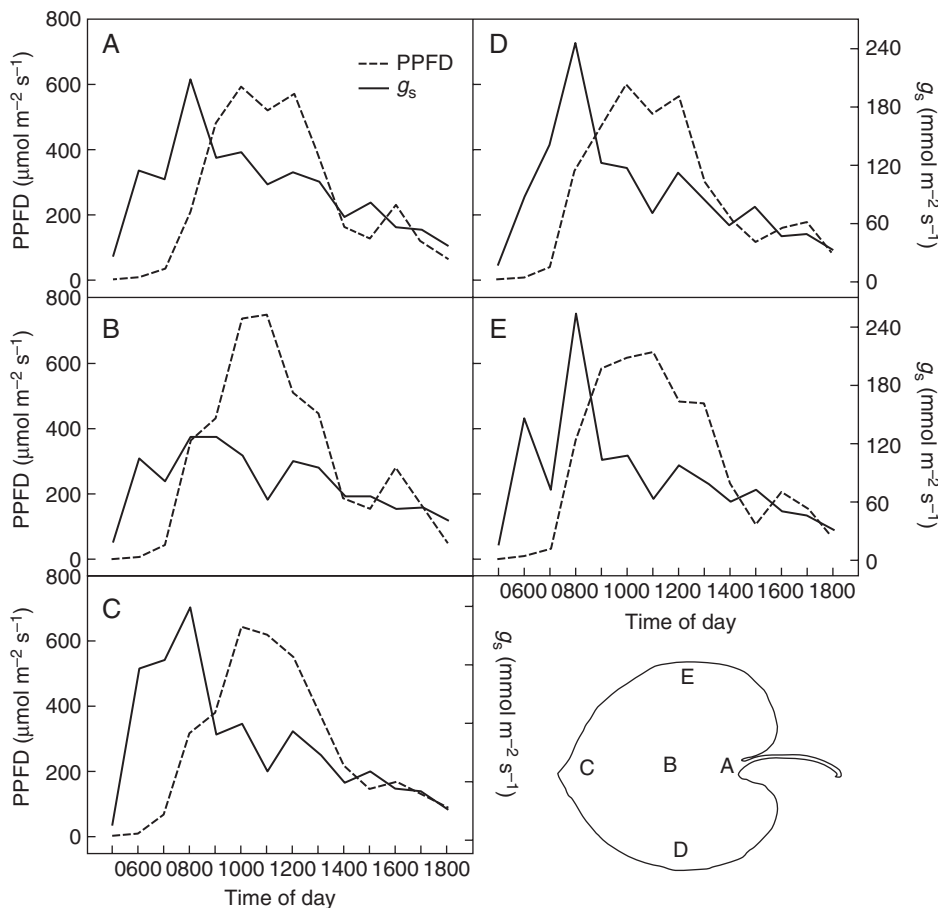


FIG. 6. Course of mean hourly daily PPFD that was received by the leaf zones 1–5, plotted together with mean hourly g_s at these zones. (A) Leaf zone 1. (B) Leaf zone 2. (C) Leaf zone 3. (D) Leaf zone 4. (E) Leaf zone 5.

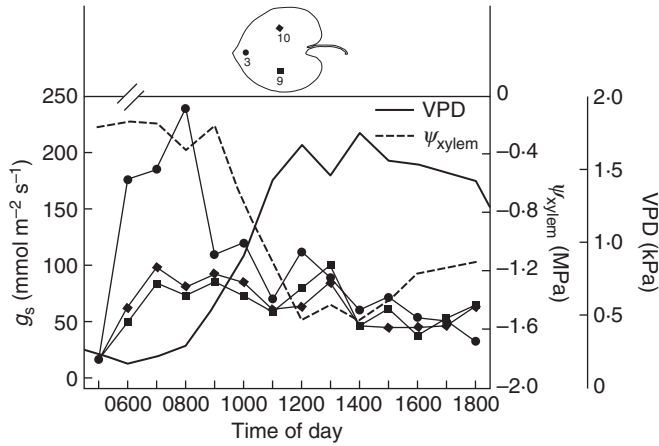


FIG. 7. Course of mean hourly daily VPD and ψ_{xylem} of the stem, plotted together with mean hourly g_s at the leaf zones 3, 9 and 10, as indicated in the inset illustration.

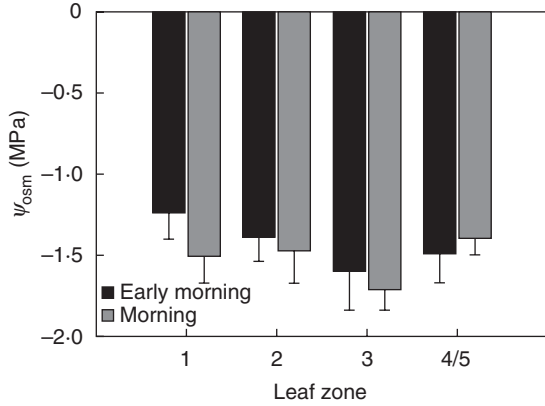


FIG. 8. Mean ψ_{osm} of leaf zones 1–3 and 4/5 (leaf margin) in the early morning (EM, 0500–0800 h) and morning (M, from after 0800 h to 1100 h). The error bars represent the s.e.

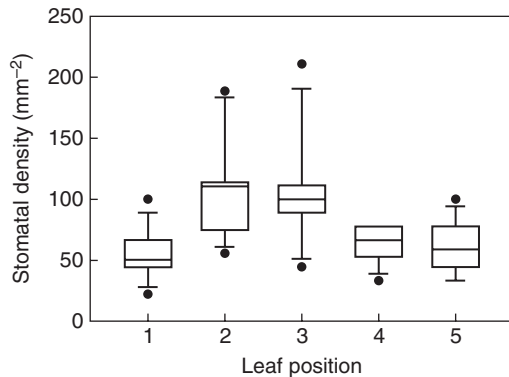


FIG. 9. Stomatal density at leaf zones 1–5. The boxes span the 50% interquartile, and the median is indicated by the horizontal line within the boxes. The error bars mark the highest and lowest value. Outliers are indicated by circles.

et al., 2006) and *N. tabacum* (Nardini *et al.*, 2008). In *C. communis*, stomatal aperture peaks during noon, with the largest aperture in the leaf centre and a gradually decreasing

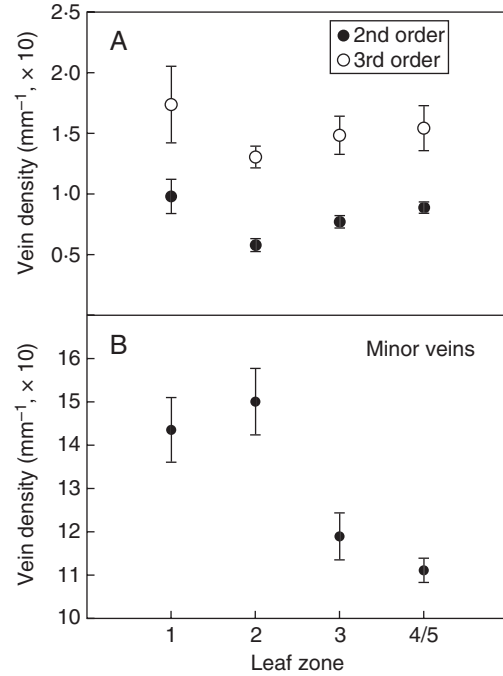


FIG. 10. Vein density at leaf zones 1–3 and 4/5 (leaf margin). (A) Density of second and third order veins. (B) Density of minor veins. The error bars represent the s.e.

TABLE 2. Length (d) of the long and short axes of the elliptically shaped cross-sections of the conduits inside the major leaf vein in *A. macrophylla* and the number of conduits inside the vein at three different leaf zones (base, centre and tip). The potential hydraulic conductivity of the vein (K_h), approximated by using the conduit dimensions, is also shown

Leaf zone	$d_{\text{Long axis}}$ (μm)	$d_{\text{Short axis}}$ (μm)	n_{conduits}	K_h ($\text{m}^4 \text{MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$)
1 (base)	30.1 ± 8.3	19.9 ± 6.6	53 ± 8.3	4.31×10^{-10}
2 (centre)	28.4 ± 2.9	20.1 ± 7.3	27 ± 2.9	1.96×10^{-10}
3 (tip)	11.6 ± 2.5	8.2 ± 2.2	10 ± 3.5	1.53×10^{-12}

aperture towards the leaf margins (Smith *et al.*, 1989). In *T. virginiana*, depending on the growth conditions, stomata located at the margin of the leaves tended to close more readily after leaf excision than those located at the leaf centre (Nejad *et al.*, 2006). To our knowledge, the present study is the first one to document data of spatial–temporal patterns in g_s across leaves over whole vegetation periods under natural conditions. The different diurnal patterns in g_s at the considered leaf zones, shown in Figs 5–7, indicate a trend of zone-specific stomatal behaviour, with the leaf tip showing high g_s preferably during the early morning. Quite striking in this respect is the symmetric nature of this spatial–temporal pattern: the right and left leaf zones, for example, express a synchronous pattern. On the whole, the marginal regions and tip appear to show similar diurnal patterns and amplitude of $g_{s,\text{zonal}}$.

It is unlikely that the observed differences in diurnal patterns of g_s at the various leaf zones of *A. macrophylla* are

caused by stomatal responses to leaf microclimate or weather conditions since different leaves were monitored over two vegetation periods. The growing site was well watered during the whole observation period by regular precipitation events, also demonstrated by ψ_{soil} which seldom dropped below -0.1 MPa. Various causes are suggested to lead to macroscopic differences in stomatal aperture or g_s . Local differences in SD and stomatal size are known to occur and may contribute to g_s differences over a leaf (Poole et al., 1996; Weyers and Lawson, 1997). The results of local SD in *A. macrophylla* revealed higher values at the leaf centre and tip, compared with the margins and base. Since diurnal variations of g_s are not directly consistent with these SD differences, it is unlikely that the spatial and temporal patterns of g_s in *A. macrophylla* were caused by stomatal frequency distribution.

Microclimatic differences over a leaf were suggested as another factor that is able to generate local differences in g_s . Crucial for local microclimatic conditions at a certain leaf zone is – with all other factors being equal – the boundary layer thickness that tends to be higher in the central leaf region compared with the leaf margins and tip (Schuepp, 1993; Weyers and Lawson, 1997). An increase in boundary layer thickness towards the leaf centre is expected particularly for large and whole leaves, with a substantial parallel decrease in mass and heat transfer (Vogel, 1968; Grace et al., 1980; Roth-Nebelsick, 2001). Intuitively, it appears therefore to be beneficial for a large leaf to allow higher g_s in the leaf centre where the boundary layer tends to be thicker and the risk of heat stress higher than at the margins or tip. The observation of higher g_s values in the central part of *C. communis* leaves compared with the margins, as reported by Smith et al. (1989), would match this assumption.

The results of the present study, that shows for *A. macrophylla* higher g_s at the tip and leaf margins compared with the leaf centre, contradict this idea. The possibility exists that g_s may have been systematically altered in the centre of the leaves during measurements due to disturbance of a thick central boundary layer by the measurement cup. In this case, however, central g_s values would be expected to be more or less homogeneously affected, and diurnal patterns at the respective zones would have become less obvious. However, g_s values at different zones in the middle area of the leaf (leaf zones 2, 7, 10 and 12) show substantial and systematic differences with respect to diurnal patterns. There are also distinct differences in the patterns at the leaf margins and the tip, both of which should show similarly thin boundary layers. It should also be noted that even moderate wind velocities cause more complex patterns of boundary layer thickness in which differences between the leaf margins and centre are blurred (Wigley and Clark, 1974). The climate data recorded during our measurements indicate that some wind was often present at the considered site, usually with velocities around 1 m s^{-1} .

Leaf zonal g_s and water supply

The natural habitat of *A. macrophylla*, often dissected uplands and rocky slopes within forests of the Cumberland and Blue Ridge mountains in the eastern USA, corresponds

to the obviously quite high water demand of this species that is also indicated by its large and thin leaves. Leaf size is a trait linked to climate, with large-leaved species tending to prefer moist and/or shady habitats (Givnish, 1987; Peppe et al., 2011). Since leaf venation systems can offer substantial resistance to flow (Cochard et al., 2004), a steep water potential gradient may develop if homogeneous evaporation occurs over the whole lamina of a large leaf with unsustainably high negative water potentials particularly at the leaf margins or tip.

In *N. tabacum*, which has large leaves with a size and shape similar to those of *A. macrophylla*, both g_s and venation density were found to be higher at the leaf tip than at the leaf base (Nardini et al., 2008). Since no diurnal pattern of g_s was provided for *N. tabacum*, it is not clear whether g_s at the leaf tip was constantly higher than at the base. If so, then it is possible that high apical g_s in *N. tabacum* is supported by the higher venation density at this leaf zone, because K_{leaf} is positively correlated with venation density. In *A. macrophylla*, however, no higher venation density could be found at the leaf margins or tip. On the contrary, minor venation density was lower at the tip and margin in *A. macrophylla* leaves as compared with the other leaf zones considered. Also, local K_{leaf} in *A. macrophylla* probably decreases further with increasing distance from the petiole, since the number and size of the major vein conduits decreases in the same direction. Although K_{vein} , the hydraulic conductivity of a leaf vein, depends on various factors, conduit size and number will dictate maximum K_{vein} .

Hydraulic supply of a leaf, expressed by leaf hydraulic conductance K_{leaf} , or its reverse, resistance, is in fact linked to gas exchange regulation (Sack and Holbrook, 2006; Guyot et al., 2012). There is evidence that the venation of large leaves is more prone to cavitation, compared with smaller leaves (Scoffoni et al., 2011). In a study on gas exchange of different cultivars of *P. vulgaris*, it was found that g_s was negatively correlated with typical leaf size (Mencuccini and Comstock, 1999), supporting the idea that leaf water transport represents a bottleneck for gas exchange particularly in large leaves. The spatial-temporal pattern of g_s expressed by *A. macrophylla* appears to represent a quite appropriate strategy to prevent water stress and subsequent vein embolism in peripheral regions of large leaves. The leaf tip, showing the greatest distance to the petiole, performs its highest gas exchange rate in the early morning, starting with dawn, when the VPD is still low to moderate. The leaf margins follow thereafter. All marginal regions including the tip then decrease their g_s well before ψ_{xylem} plunges after they have exploited the morning as a time slot of favourable conditions for gas exchange. In fact, the pre-noon decrease of g_s in the tip and margins leads to a short recovery of ψ_{xylem} (Fig. 7). The values of g_s in all other regions tend to moderate to low values over the whole day that decline more or less gradually towards the evening. The low variability in ψ_{osm} found for the various leaf zones might also indicate that the observed g_s patterns prevent turgor loss.

Despite this gradual decline in mean g_s , the transpirational load upon the xylem increases, driven by the VPD increase that sets in during the morning. Mean daily minimum ψ_{xylem} in *A. macrophylla* during the growing season is similar to typical values found for mesophytic woody plants (Larcher,

2003), and it may be assumed that beyond this value risk of embolism will rise. Furthermore, vulnerability to embolism can be higher in the leaf veins than in the stem (Salleo *et al.*, 2001), and a close co-ordination between leaf conductance and g_s was repeatedly reported (Brodrribb *et al.*, 2003; Sack and Holbrook, 2006). Therefore, the tendency for stomatal limitation and leaf zonal patterns of g_s in *A. macrophylla* appears to be necessary to prevent ψ_{xylem} from entering a regime of high cavitation risk, thereby avoiding embolism, a crucial prerequisite for maximizing carbon gain.

Conclusions

The diurnal course of gas exchange regulation in *A. macrophylla* leaves depends on the leaf zone. Positional co-ordination of gas exchange is commonly found for the different insertion heights within a plant (Larcher, 2003; Sellin and Kupper, 2005). These intercanopy gradients reflect not only differences in microclimate but also local water deficits and/or hydraulic constraints. The entire plant water system with its local differentiations is integrated by stomatal function modulating supply and demand (Sellin and Kupper, 2005). The spatial–temporal trends in g_s over *A. macrophylla* leaves may indicate that the inherent hydraulic differentiations found for whole plants can be repeated on a smaller scale in large leaves. If this finding turned out to be a general strategy of gas exchange regulation in large leaves, then other leaf traits may be involved, such as leaf venation architecture. *Aristolochia macrophylla* leaves show a palmate venation that may convey a particularly appropriate hydraulic system for independently regulated units of a whole leaf. There is in fact evidence that leaves showing palmate venation systems, often of the macrophyll class, are quite unaffected by major vein damage (Sack *et al.*, 2008). Possibly, this venation type facilitates hydraulic and gas exchange partitioning of large leaves.

SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary data are available online at www.aob.oxfordjournals.org and consist of the following. Figure S1: image of the study plant. Figure S2: illustration of the lamina fields that were considered for venation density. Figure S3: raw data of hourly g_s for all leaf lamina zones. Table S1: results of the statistical tests of zonal differences in g_s .

ACKNOWLEDGEMENTS

We wish to thank the Botanical Garden of the University of Tübingen for providing access to the plant and for helpful support. We also thank Hartmut Schulz, University of Tübingen, for assisting with the SEM studies, and Stephan Ebner, Tübingen for programming the Interpolation Tool within MATLAB. We gratefully acknowledge James Nebelsick (University of Tübingen) for critically reading the English manuscript. This manuscript greatly benefitted from the comments of two anonymous reviewers and the Handling Editor, Jiří Šantrůček. This work was supported by the German Federal Ministry of Education and Research

(Project ‘Fibre-based transport of liquids’, no. 01RB0713A by a grant to A.R.-N., within the programme ‘BIONA’).

LITERATURE CITED

- Ball JT, Woodrow IE, Berry JA. 1987. A model predicting stomatal conductance and its contribution to the control of photosynthesis under different environmental conditions. *Progress in Photosynthesis Research* **4**: 221–224.
- Berninger F, Mäkelä A, Hari P. 1996. Optimal control of gas exchange during drought: empirical evidence. *Annals of Botany* **77**: 469–476.
- Beyschlag W, Pfanz H. 1990. A fast method to detect the occurrence of non-homogeneous distribution of stomatal aperture in heterobaric plant leaves. Experiments with *Arbutus unedo* L. during the diurnal course. *Oecologia* **82**: 52–55.
- Brodrribb TJ, Holbrook NM, Edwards EJ, Gutiérrez MV. 2003. Relations between stomatal closure, leaf turgor and xylem vulnerability in eight tropical dry forest trees. *Plant, Cell and Environment* **26**: 443–450.
- Bruus H. 2008. *Theoretical microfluidics*. New York: Oxford University Press.
- Buckley TN. 2005. The control of stomata by water balance. *New Phytologist* **168**: 275–292.
- Cochard H, Nardini A, Coll L. 2004. Hydraulic architecture of leaf blades: where is the main resistance? *Plant, Cell and Environment* **27**: 1257–1267.
- Collatz GJ, Ball MC, Grivet C, Berry JA. 1991. Physiological and environmental regulation of stomatal conductance, photosynthesis, and transpiration: a model that includes a laminar boundary layer. *Agricultural and Forest Meteorology* **54**: 107–136.
- Cowan IR, Farquhar GD. 1977. Stomatal function in relation to leaf metabolism and environment. *Symposium of the Society for Experimental Biology* **31**: 471–505.
- Damour G, Simonneau T, Cochard H, Urban L. 2010. An overview of models of stomatal conductance at the leaf level. *Plant, Cell and Environment* **33**: 1419–1438.
- Dewar RC. 2002. The Ball–Berry–Leuning and Tardieu–Davies stomatal models: synthesis and extension within a spatially aggregated picture of guard cell function. *Plant, Cell and Environment* **25**: 1383–1398.
- Dixon MA, Tyree MT. 1984. A new stem hygrometer, corrected for temperature gradients and calibrated against the pressure bomb. *Plant, Cell and Environment* **7**: 693–697.
- Ellis B, Daly DC, Hickey LJ, *et al.* 2009. *Manual of leaf architecture*. Ithaca: The New York Botanical Garden Press.
- Givnish TJ. 1987. Comparative studies of leaf form: assessing the relative roles of selective pressures and phylogenetic constraints. *New Phytologist* **106**: 131–160.
- Goldstein G, Andrade JL, Meinzer FC, *et al.* 1998. Stem water storage and diurnal patterns of water use in tropical forest canopy trees. *Plant, Cell and Environment* **21**: 397–406.
- Grace J, Fasehun FE, Dixon M. 1980. Boundary layer conductance of the leaves of some tropical timber trees. *Plant, Cell and Environment* **3**: 443–450.
- Guyot G, Scoffoni C, Sack L. 2012. Combined impacts of irradiance and dehydration on leaf hydraulic conductance: insights into vulnerability and stomatal control. *Plant, Cell and Environment* **35**: 857–871.
- Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. 2001. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* **4**.
- Jones HG. 1992. *Plants and microclimate*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Kaiser H. 2009. The relation between stomatal aperture and gas exchange under consideration of pore geometry and diffusional resistance in the mesophyll. *Plant, Cell and Environment* **32**: 1091–1098.
- Katul G, Manzoni S, Palmroth S, Oren R. 2010. A stomatal optimization theory to describe the effects of atmospheric CO₂ on leaf photosynthesis and transpiration. *Annals of Botany* **105**: 431–442.
- Lang ARG. 1967. Osmotic coefficients and water potentials of sodium chloride solutions from 0 to 40 °C. *Australian Journal of Chemistry* **20**: 2017–2023.
- Larcher W. 2003. *Physiological plant ecology*, 4th edn. Cambridge: Cambridge University Press.

- Lawson T, Weyers J. 1999.** Spatial and temporal variation in gas exchange over the lower surface of *Phaseolus vulgaris* L. primary leaves. *Journal of Experimental Botany* **50**: 1381–1391.
- Leuning R. 1995.** A critical appraisal of a combined stomatal–photosynthesis model for C₃ plants. *Plant, Cell and Environment* **18**: 339–355.
- Leyton L. 1975.** *Fluid behaviour in biological systems*. Oxford: Clarendon Press.
- Lo Gullo MA, Salleo S. 1988.** Different strategies of drought resistance in three mediterranean sclerophyllous trees growing in the same environmental conditions. *New Phytologist* **108**: 267–276.
- Lösch R, Tenhunen JD, Pereira JS, Lange OL. 1982.** Diurnal courses of stomatal resistance and transpiration of wild and cultivated Mediterranean perennials at the end of the summer dry season in Portugal. *Flora* **172**: 138–160.
- Mencuccini M, Comstock J. 1999.** Variability in hydraulic architecture and gas exchange of common bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars under well-watered conditions: interactions with leaf size. *Australian Journal of Plant Physiology* **26**: 115–124.
- Mencuccini M, Mambelli S, Comstock J. 2000.** Stomatal responsiveness to leaf water status in common bean (*Phaseolus vulgaris*) is a function of time of day. *Plant, Cell and Environment* **23**: 1109–1118.
- Mott KA, Buckley TN. 2000.** Patchy stomatal conductance: emergent collective behaviour of stomata. *Trends in Plant Science* **5**: 258–262.
- Nardini A, Gortan E, Ramani M, Salleo S. 2008.** Heterogeneity of gas exchange rates over the leaf surface in tobacco: an effect of hydraulic architecture? *Plant, Cell and Environment* **31**: 804–812.
- Nejad AR, Harbinson J, van Meeteren U. 2006.** Dynamics of spatial heterogeneity of stomatal closure in *Tradescantia virginiana* altered by growth at high relative air humidity. *Journal of Experimental Botany* **57**: 3669–3678.
- Peppe DJ, Royer DL, Cariglino B, et al. 2011.** Sensitivity of leaf size and shape to climate: global patterns and paleoclimatic applications. *New Phytologist* **190**: 724–739.
- Poole I, Kürschner WM. 1999.** Stomatal density and index: the practice. In: Jones TP, Rowe NP. eds. *Fossil plants and spores: modern techniques*. London: The Geological Society, 257–260.
- Poole I, Leyers JDB, Lawson T, Raven JA. 1996.** Variations in stomatal density and index: implications for paleoclimatic reconstructions. *Plant, Cell and Environment* **19**: 705–712.
- Pospišilová J, Šantrůček J. 1994.** Stomatal patchiness. *Biologia Plantarum* **36**: 481–510.
- Rasband WS. 1997–2012.** *ImageJ*. <http://imagej.nih.gov/ij/>. (accessed 10 November, 2012).
- Roth-Nebelsick A. 2001.** Computer-based analysis of steady-state and transient heat transfer of small-sized leaves by free and mixed convection. *Plant, Cell and Environment* **24**: 631–640.
- Roth-Nebelsick A, Uhl D, Mosbrugger V, Kerp H. 2001.** Evolution and function of leaf venation architecture: a review. *Annals of Botany* **87**: 553–566.
- Sack L, Holbrook NM. 2006.** Leaf hydraulics. *Annual Review of Plant Biology* **57**: 361–381.
- Sack L, Dietrich EM, Streeter CM, Sánchez-Gómez D, Holbrook NM. 2008.** Leaf palmate venation and vascular redundancy confer tolerance of hydraulic disruption. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **105**: 1567–1572.
- Salleo S, LoGullo MA, Raimondo F, Nardini A. 2001.** Vulnerability to cavitation of leaf minor veins: any impact on leaf gas exchange? *Plant, Cell and Environment* **24**: 851–859.
- Schuepp PH. 1993.** Tansley Review No. 59. Leaf boundary layers. *New Phytologist* **125**: 477–507.
- Scoffoni C, Rawls M, McKown A, Cochard H, Sack L. 2011.** Decline of leaf hydraulic conductance with dehydration: relationship to leaf size and venation architecture. *Plant Physiology* **156**: 832–843.
- Sellin A, Kopper P. 2005.** Effects of light availability versus hydraulic constraints on stomatal responses within a crown of silver birch. *Oecologia* **142**: 388–397.
- Smith S, Weyers JDB, Berry WG. 1989.** Variation in stomatal characteristics over the lower surface of *Commelina communis* leaves. *Plant, Cell and Environment* **12**: 653–659.
- Sperry JS, Hacke UG, Oren R, Comstock JP. 2002.** Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. *Plant, Cell and Environment* **25**: 251–263.
- Terashima I. 1992.** Anatomy of non-uniform leaf photosynthesis. *Photosynthesis Research* **31**: 195–212.
- Vogel S. 1968.** ‘Sun leaves’ and ‘shade leaves’: differences in convective heat dissipation. *Ecology* **49**: 1203–1204.
- Vogt UK. 2001.** Hydraulic vulnerability, vessel refilling, and seasonal courses of stem water potential of *Sorbus aucuparia* L. and *Sambucus nigra* L. *Journal of Experimental Botany* **52**: 1527–1536.
- Weyers JDB, Lawson T. 1997.** Heterogeneity in stomatal characteristics. *Advances in Botanical Research* **26**: 317–352.
- Wigley G, Clark JA. 1974.** Heat transport coefficients for constant energy flux models of broad leaves. *Boundary-Layer Meteorology* **7**: 139–150.
- Wong SC, Cowan IR, Farquhar GD. 1979.** Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature* **282**: 424–426.

Publication 2

Visualization of small water droplets on surfaces with different degree of wettability by using Cryo-scanning electron microscopy

Visualization of Small Water Droplets on Surfaces with Different Degree of Wettability by Using Cryo-Scanning Electron Microscopy

Dagmar Voigt^{1,2,*}, Anita Roth-Nebelsick³, Tatiana Miranda⁴,
Martin Ebner⁴, and Stanislav Gorb^{1,2}

¹Max-Planck Institute for Metals Research, Thin Films and Biological Systems,
Heisenbergstraße 03, D-70569 Stuttgart, Germany

²Department of Functional Morphology and Biomechanics, Zoological Institute,
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Am Botanischen Garten 1–9, D-24098 Kiel, Germany

³State Museum for Natural History Stuttgart, Rosenstein 1, D-70101 Stuttgart, Germany

⁴Institute for Geosciences, University of Tübingen, Sigwartstraße 10, D-72076 Tübingen, Germany

Cryo-scanning electron microscopy (Cryo-SEM) was applied to visualize mm- and μ m-sized water droplets on surfaces differing in their wettability. The shape of droplets varied depending on the surface energy of surfaces studied. On superhydrophobic surfaces, mostly complete drops could be observed. In the Cryo-SEM samples on hydrophilic surfaces, where ice was sublimated, the shape and original size of droplets and water films was recognised due to network- or foam-like residues present in water. The snapshots of dynamical processes, such as condensation or coalescence, were visualized at a high resolution.

Keywords: Coalescence, Condensation, Cryo-Scanning Electron Microscopy, Cryo-SEM, Surface, Water Droplets, Wettability.

1. INTRODUCTION

Visualization of macroscopic water droplets on surfaces and the estimation of surface energy are usually performed by means of contact angle (CA) measurements utilising light microscopy. An increasing number of recent studies demonstrates the potential of atomic force microscopy (AFM) and cryo-scanning electron microscopy (Cryo-SEM) in observing aqueous droplets and their contact areas on superhydrophobic surfaces at high resolutions.^{1–5} The results of previous studies indicate that droplets of water and substitutes with a radius of about 1 mm or larger can be observed,^{1,5} but visualization of smaller droplets is rather challenging.

The visualization of smaller water droplets is important for understanding the wetting phenomena of relatively small biological structures, such as insect wings or legs, or on surfaces that show strong local differences in wettability at a microscale.^{6,7} Some other studies require the analysis of the distribution, condensation, and coalescence of fog droplets or water-solved substances

(e.g., pesticides).^{8–10} The visualization of condensed droplets on surfaces is also of interest for studies dealing with adhesion or friction, because water layer on surfaces strongly influences contact phenomena.^{11–14}

In this communication, we report on Cryo-SEM observations of tiny water droplets on surfaces with different wettability. We explored the influence of different sample preparations on the results obtained.

2. MATERIALS AND PREPARATION METHODS

2.1. Sample Preparation

Various objects with different degree of wettability were prepared: cleaned hydrophilic glass slides (Superior; Paul Marienfeld GmbH Co. KG, Lauda-Königshofen, Germany), silanised hydrophobic glass slides, a gold-palladium layer on the smooth surface of Spurr resin, Teflon tape (PTFE Gewindedichtband DIN EN 751-3 Klasse FRp), freshly emerged leaves of avocado (*Persea americana* Mill., Lauraceae) and asparagus (*Asparagus officinalis* [L.], Asparagaceae). Before use, glass slides

*Author to whom correspondence should be addressed.

were cleaned by successive immersions in Piranha solution (mixture of sulphuric acid H_2SO_4 and hydrogen peroxide H_2O_2 , 3:1, v/v), rinsed with Aqua Millipore and dried immediately by means of compressed air jet. To make glass slides hydrophobic, they were silanized with 97% 1H, 1H, 2H, 2H-perfluorodecyltrichlorosilane ($C_{10}H_{17}Cl_3F_{17}Si$, SIH5841.0; ABCR, Karlsruhe, Germany).

To estimate the degree of wettability of the samples, static contact angles (CA) of Aqua Millipore water droplets ($3 \mu l$) were estimated on each surface using the high-speed optical CA measuring device OCAH200 and SCA20 3.7.4 software (Data-Physics Instruments GmbH, Filderstadt, Germany).

2.2. Cryo-SEM

Surface areas of 5×5 mm were cut off from samples and attached to the sample holder, either mounted horizontally using polyvinyl alcohol Tissue-Tek[®] OCT[™] compound (Sakura Finetek Europe, Zoeterwoude, The Netherlands) (Fig. 1(A)) or clamped vertically to the holder (Fig. 1(B)). Then, samples were sprayed with Aqua Millipore water from a distance of 10 cm by using a perfume atomizer, immediately submersed in liquid nitrogen for 1–5 s. The chamber was evacuated, and under vacuum conditions, the sample holder was transferred into the Gatan ALTO2500 cryo-preparation system (Gatan Inc., Abingdon, UK) combined with the Cryo-SEM Hitachi S-4800 (Hitachi High-Technologies Corp., Tokyo, Japan). In the preparation chamber the sample was kept at -140 °C, sputter-coated with gold–palladium (6 nm), and finally transferred and examined in a frozen state in the Cryo-SEM at 5 kV accelerating voltage and -120 °C temperature. The procedure from spraying to examination took about 3 min.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Static CA of Aqua Millipore water droplets ($3 \mu l$) on different surfaces, estimated by using the high-speed optical

Table I. Static contact angles of Aqua Millipore water droplets ($3 \mu l$) on different surfaces. Different letters in the right column indicate significant differences in contact angle values between surfaces (one-way ANOVA, $F_{5,54} = 304.4$, $p < 0.001$, followed by all pairwise multiple comparison procedures Tukey test, $p < 0.05$), $n = 10$ droplets per surface.

Surface	Mean	SD	Statistic differences
Glass	46.8	4.5	a
Silanised glass	112.1	1.0	b
Glass sputter-coated with gold–palladium	44.3	3.8	c
Teflon tape	127.1	3.8	a
Smooth Spurr resin	70.4	12.7	d
Upper side of the avocado leaf	154.2	13.9	e

contact angle measuring device OCAH200, are presented in Table I. CA value of water on asparagus cladophylls has been previously reported to be 107.4° .¹⁵

On hydrophilic surfaces (contact angle $< 50^\circ$), no complete drops were visible in the Cryo-SEM. Here, some remnants at the sites, where water droplets were initially located, were observed. These foam- or net-like remnants are presumably solid substances originating from the gold–palladium coating or/and impurities dissolved in water (Figs. 2(A), (B), (F), (G)). Interestingly, on superhydrophobic surfaces (contact angle $> 110^\circ$), mostly complete drops could be observed (Figs. 2(C)–(E), (H)–(J)). Completeness of the droplets decreased with increasing wettability. The degree of water loss from the droplets during preparation process may be explained by the surface-to-volume ratio of the drops that decreases with decreasing wettability of the surface (Fig. 2). However, even for hydrophilic surfaces it was possible to visualize tiny droplets of several microns in diameter. Droplets' dimensions and sometimes their contact bridges to the surface could be estimated from the micrographs.

Some evaporation was also observed in droplets frozen on hydrophobic surfaces. Black circular shadows surrounding such droplets might be an indication of their

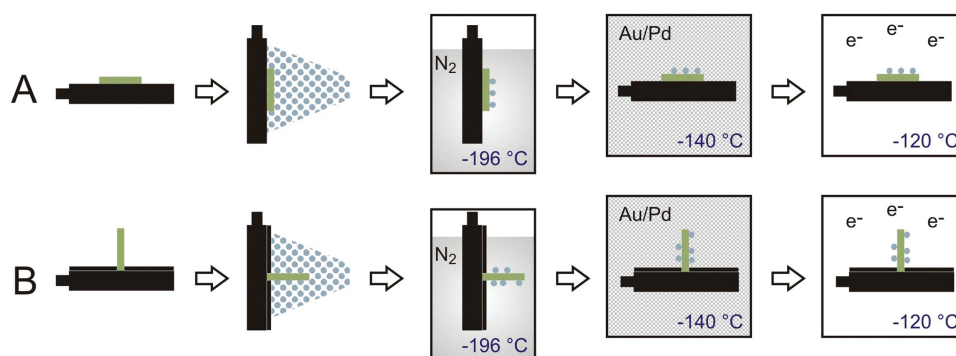


Fig. 1. Scheme showing the sample preparation on Cryo-SEM metal holders. The sample was glued at a horizontal position (A) or clamped at a vertical position (B) to the holder surface. Then, the sample was sprayed perpendicularly to the sample holder with Aqua Millipore water, dipped into liquid nitrogen, and the chamber with the sample was evacuated. At vacuum conditions, the sample was transferred to the pre-chamber of the Cryo-SEM and sputter-coated with gold–palladium at -140 °C. Finally, samples were observed in the SEM at -120 °C and 5 kV acceleration voltage.

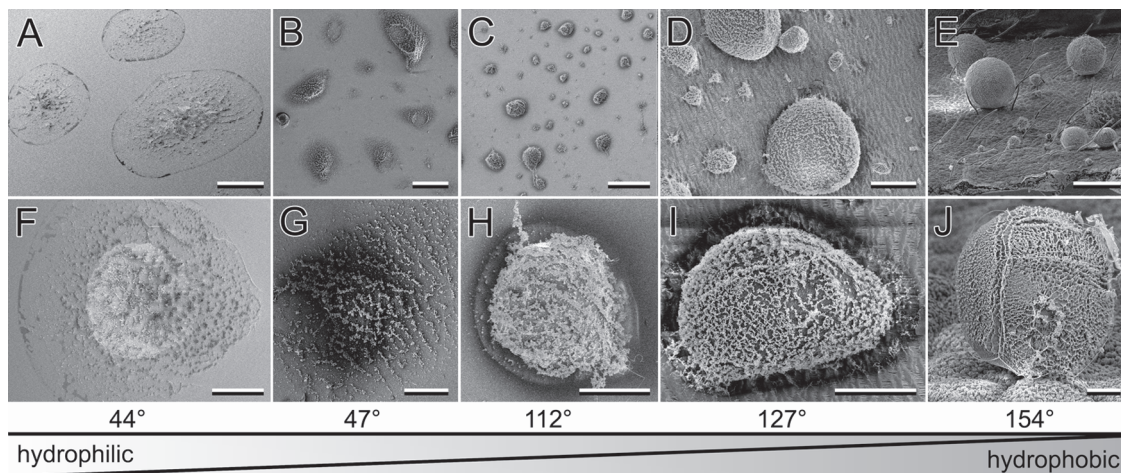


Fig. 2. Cryo-SEM micrographs of water droplets on differently wettable surfaces. (A), (F) Gold–palladium layer; (B), (G) normal glass; (C), (H) hydrophobic glass; (D), (I) Teflon; (E), (J) the upper leaf of avocado (*Persea americana*). The inset indicates the CA of water on the surfaces studied. Please, note an increasing hydrophobicity from the left to the right. Scale bars: (A), (C)–(J) = 100 μm ; (B) = 500 μm .

initial contact area. Only on the superhydrophobic surface of avocado (contact angle > 150°), covered with crystalline wax, frozen droplets showed almost no evaporation in Cryo-SEM and maintained their original shape. On this surface, droplets frequently adhered to wax-free filamentous trichomes (Fig. 3(A)). At higher magnification, the visualization of contact sites between droplets and surface structures, e.g., single wax crystal, was possible (Figs. 3(B)–(D)).

The results of this study indicate that Cryo-SEM represents a suitable technique for observing the contact behaviour of water microdroplets on various surfaces.

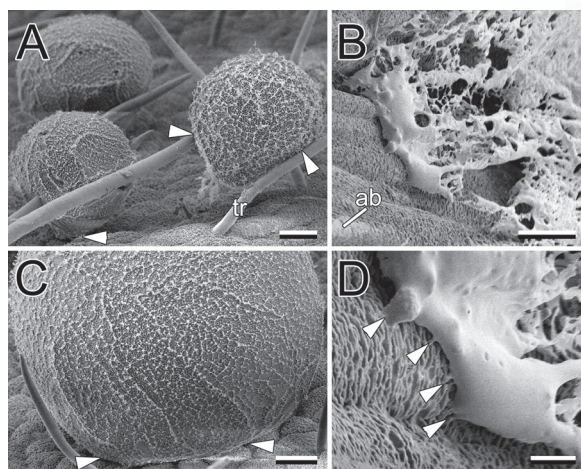


Fig. 3. Cryo-SEM micrographs of water droplets on plant surfaces. (A), (C) Spherical droplets on the surface of upper leaves of avocado (*Persea americana*), densely covered with crystalline wax platelets and filamentous trichomes. (B), (D) Almost completely evaporated, flat droplet and net-like residues on a cladophyll of asparagus (*Asparagus officinalis*) plant showing an alternated epicuticular crystalline wax coverage with local abrasions of wax crystals. *tr*, trichome; *ab*, abraded surface; arrow heads point to sites, where water contacts the surface. Scale bars: (A)–(C) = 20 μm , (D) = 5 μm .

Delivered by Ingenta to:
 Scientific and Technical Information Centre
 30.15.2014 10:20:18
 Local contact angles of fluids including water on micro- and nanostructured surfaces can be monitored. Additionally, fluid behaviour on surfaces with local differences in wettability can be visualized for example on plant surfaces, having alternated or abraded crystalline wax coverage^{15,16} (Figs. 3(B), (D)). Recently, tiny haemolymph droplets, pinned to wax free tips of the superhydrophobic, hierarchically structured integument of sawfly larvae (Insecta, Symphyta) were visualized with the use of the Cryo-SEM technique.¹⁷

Another application field of such a Cryo-SEM technique is in studies of water condensation on surfaces. Here droplet coalescence and interception of fog or other aerosols by a surface might be visualized at a high resolution. Top views of horizontally positioned samples may particularly help in estimation of the number of droplets per unit area, their distribution and aggregation to thin water films, and the proportions of different droplet dimensions. Such data are particularly useful in studies of dynamic processes of both fog collection and self-irrigation in desert plants.¹⁰ Lateral views of vertically clamped samples are only suitable for the observation of water droplets on hydrophobic and superhydrophobic samples. From those micrographs, contact angles, also of extremely small droplets (1–10 μm diameter), may be estimated, and contact sites between droplets and surface structures might be visualized.

4. CONCLUSIONS

Cryo-SEM is a suitable method to visualize small water droplets, their dimensions, distribution, and aggregation on different surfaces at a high magnification. Although on hydrophilic samples, frozen water evaporated completely, residues well indicated initial droplet dimension

and shape. Also on hydrophobic surfaces certain evaporation of frozen droplets was observed. On superhydrophobic surfaces, droplets remained almost in their original shape. On the latter surfaces, the contact sites between water and tiny surface structures were visualised. The Cryo-SEM technique helps in the interpretation of current studies on static and dynamic wetting of microscopic surfaces by tiny droplets.

Acknowledgments: This study was partially supported by a grant of the Federal Ministry of Education and Research, Germany (No. 01RB0706, “3DBioFilter,” program BMBF BIONA) to Anita Roth-Nebelsick, and by the German Science Foundation (grant DFG GO 10-1) to Stanislav Gorb.

References and Notes

1. S. Herminghaus, R. Fery, and D. Reim, *Ultramicroscopy* 69, 211 (1997).
2. S. N. Gorb, D. Voigt, and E. V. Gorb, *Modern Research and Educational Topics in Microscopy*, edited by A. Méndez-Vilas and J. Díaz, Formatex, Badajoz, Spain (2007), Microscopy Series 2, pp. 812–819.
3. P. Chen, L. Chen, D. Han, J. Zhai, Y. Zheng, and L. Jiang, *Small* 5, 908 (2009).
4. S. N. Gorb and E. V. Gorb, *Functional Surfaces in Biology: Adhesion-Related Effects*, edited by S. N. Gorb, Springer, Dordrecht (2009), Vol. 2, pp. 205–238.
5. H. J. Ensikat, A. J. Schulte, K. Koch, and W. Barthlott, *Langmuir* 25, 13077 (2009).
6. M. Sun, G. S. Watson, Y. Zheng, J. A. Watson, and A. Liang, *J. Exp. Biol.* 212, 3148 (2009).
7. D. Quéré, *Ann. Rev. Mat. Res.* 38, 71 (2008).
8. B. Aryal and G. Neuner, *Oecologia* 162, 1 (2010).
9. J. Burkhardt, *Atmos. Environ.* 12, 2001 (1994).
10. A. Roth-Nebelsick, M. Ebner, T. Miranda, V. Gottschalk, D. Voigt, S. N. Gorb, T. Stegmaier, J. Sarsour, M. Linke, and W. Konrad, *J. R. Soc. Interface*, doi:10.1098/rsif.2011.0847 (2012).
11. P. Willmer, *Insects and the Plant Surface*, edited by B. Juniper and R. Southwood, Edward Arnold Publishers, London (1986), pp. 65–80.
12. G. Huber, H. Mantz, R. Spolenak, K. Mecke, K. Jacobs, S. N. Gorb, and E. Arzt, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 45, 16293 (2005).
13. S. Buhl, C. Greiner, A. del Campo, and E. Arzt, *Int. J. Mat. Res.* 100, 1119 (2009).
14. D. Voigt, J. Schuppert, S. Dattinger, and S. N. Gorb, *J. Zool.* 281, 227 (2010).
15. D. Voigt and S. Gorb, *Proc. R. Soc. London B* 277, 895 (2010).
16. J. Burkhardt, *Ecol. Monogr.* 80, 369 (2010).
17. D. Voigt, S. Gorb, and J.-L. Boevé, *Zoology* 114, 265 (2011).

Received: 19 May 2012. Accepted: 4 June 2012.



Publication 3

**Visualization of embolism formation in the xylem of liana stems
using neutron radiography**

TECHNICAL ARTICLE

Visualization of embolism formation in the xylem of liana stems using neutron radiography

Christian Tötze^{1,2,*}, Tatiana Miranda³, Wilfried Konrad³, Julien Gout¹, Nikolay Kardjilov¹,
Martin Dawson^{1,4}, Ingo Manke¹ and Anita Roth-Nebelsick^{3,5}

¹Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie (HZB), D-14109 Berlin, Germany, ²Technische Universität Berlin, D-10623 Berlin, Germany, ³Universität Tübingen, D-72076 Tübingen, Germany, ⁴University of Salford, Salford M5 4WT, UK and ⁵Staatliches Museum für Naturkunde Stuttgart (SMNS), D-70191 Stuttgart, Germany

*For correspondence. E-mail christian.toetze@helmholtz-berlin.de

Received: 14 September 2012 Returned for revision: 12 October 2012 Accepted: 13 December 2012

- **Background and Aims** Cold neutron radiography was applied to directly observe embolism in conduits of liana stems with the aim to evaluate the suitability of this method for studying embolism formation and repair. Potential advantages of this method are a principally non-invasive imaging approach with low energy dose compared with synchrotron X-ray radiation, a good spatial and temporal resolution, and the possibility to observe the entire volume of stem portions with a length of several centimetres at one time.
- **Methods** Complete and cut stems of *Adenia lobata*, *Aristolochia macrophylla* and *Parthenocissus tricuspidata* were radiographed at the neutron imaging facility CONRAD at the Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie, with each measurement cycle lasting several hours. Low attenuation gas spaces were separated from the high attenuation (water-containing) plant tissue using image processing.
- **Key results** Severe cuts into the stem were necessary to induce embolism. The formation and temporal course of an embolism event could then be successfully observed in individual conduits. It was found that complete emptying of a vessel with a diameter of 100 µm required a time interval of 4 min. Furthermore, dehydration of the whole stem section could be monitored via decreasing attenuation of the neutrons.
- **Conclusions** The results suggest that cold neutron radiography represents a useful tool for studying water relations in plant stems that has the potential to complement other non-invasive methods.

Key words: Xylem, plant water transport, embolism, neutron radiography, *Adenia lobata*, *Aristolochia macrophylla*, *Parthenocissus tricuspidata*.

INTRODUCTION

Plants employ a fascinating mechanism that facilitates water transport against the gravitational potential. According to the cohesion–tension theory, evaporation at the nanoporous walls of mesophyll cells and subsequent transpiration induces capillary forces driving the long-distance water transport without additional metabolic energy input. Water is conducted by the xylem tissue, a transport structure that basically consists of dead capillary-like cells (Tyree and Zimmermann, 2002). While transpiration at the leaves generates suction that pulls the water through the plant, pressure inside the xylem tissue can fall below vapour saturation pressure or may even become negative, i.e. the water is under tension. This thermodynamically metastable state favours the (unlimited) growth of microscopic gas bubbles, leading to embolisms (Tyree and Sperry, 1989). As a consequence, the affected xylem vessels are blocked and lose their capacity for water transport.

Plants have developed various safety strategies to ensure the reliability of their water management even under most unfavourable conditions. A central safety feature is the active control of the transpiration rate by stomata. Specialized guard cells regulate the stomata opening to avoid unnecessary or excessive leaf transpiration that would otherwise lead to a critical drop of xylem pressure (Brodribb *et al.*, 2003).

Nonetheless, there are situations, e.g. during periods of persistent drought, where xylem pressure can fall under a critical threshold below which embolism events are promoted. For this reason, the xylem has a dedicated hydraulic architecture to cope with these situations. Individual xylem vessels are interconnected to form a complex transport network with a high degree of flow path redundancy. Hydraulic junctions between the xylem members, so-called pits, act like biologic safety valves. They allow the passage of liquid water but form barriers for the propagation of gas–liquid interfaces, thus preventing the uncontrolled spread of gas emboli (Crombie *et al.*, 1985; Sperry, 2003; Wheeler *et al.*, 2005).

Due to the great redundancy of flow paths represented by the high number of single interconnected conduits, plants can easily compensate the dysfunction of individual vessels. However, with increasing numbers of embolisms the overall conductance of the xylem decreases. Conduits can remain functional for just a few days or for >100 years (Tyree and Zimmermann, 2002), but the first step towards a state of permanent dysfunction probably involves a state of embolism. Repair mechanisms for embolized vessels could, therefore, have an important stabilizing effect on the plant water supply.

There is already theoretical and experimental evidence that embolized xylem vessels can be repaired. Even the refill of empty conduits under negative pressure is possible, as has

been shown in various studies (Tyree *et al.*, 1999; Hacke and Sperry, 2003; Salleo *et al.*, 2004). Living tissues in the xylem, rays and xylem parenchyma can play an important role in the refilling process, particularly during the much-debated embolism repair under negative pressure (Vesala *et al.*, 2003; Salleo *et al.*, 2006; Nardini *et al.*, 2011). Most studies on embolism repair apply conventional experimental methods, e.g. the measurement of hydraulic conductivity whose temporal changes demonstrate vessel embolism or refill indirectly (Sperry *et al.*, 1987; Zwieniecki and Holbrook, 1998; Cochard *et al.*, 2001; Vogt, 2001). These methods require destructive sampling and therefore make *in vivo* measurements impossible.

To understand refilling mechanisms thoroughly, direct observations of embolism formation and/or refill are desirable, i.e. *in vivo* visualization of formation, change and disappearance of gas spaces inside conduits. Recently, the rapid technological progress of imaging techniques has offered novel experimental approaches for studies of embolism formation and refilling. One method to realize *in vivo* observations of embolism formation is nuclear magnetic resonance imaging (MRI) (Holbrook *et al.*, 2001; Clearwater and Clark, 2003; Windt *et al.*, 2006; Scheenen *et al.*, 2007). The resolution ($<100\ \mu\text{m}$) is sufficiently high to distinguish individual xylem vessels in plants with very wide vessels ($D > 100\ \mu\text{m}$), e.g. some liana species (Ewers *et al.*, 1990). However, the low temporal resolution (17 min per acquisition) hampers the observation of dynamic changes of embolism or refill. Further limitations to MRI studies of xylem transport are given by the physical restrictions on plant samples which must be fitted into the MRI-magnet bore and that represents a laborious and complicated task for larger specimens (Clearwater and Clark, 2003). Moreover, the high magnetic field around the sample makes the use of additional electronic devices during the observation difficult.

Synchrotron X-ray imaging is an alternative technique that was successfully used to visualize embolism formation and refilling of vessels within bamboo and rice leaves and within intact grapevine stems (Lee and Kim, 2008; Brodersen *et al.*, 2010; Kim and Lee, 2010). The advantage of this method is the high spatial ($2\ \mu\text{m}$) and temporal resolution ($t = 10\ \text{ms}$) which allows the visualization of small morphological details and dynamic changes at the same time (Banhart, 2008; Banhart *et al.*, 2010), as has also been recently demonstrated by the observation of vessel refill in grapevine stems (Brodersen *et al.*, 2010). A drawback of high resolution X-ray synchrotron imaging for the observation of embolisms in elongated xylem vessels is the small field of view. Depending on the chosen image resolution the field of view dimension is only a few millimetres, whereas elongated xylem vessels have typical lengths of several centimetres.

In this study an alternative method based on cold neutron radiography was applied as a novel approach to study embolism events. Neutrons have unique properties for imaging: they are weakly attenuated by many metals like aluminium but, on the other hand, they are strongly attenuated by H-containing compounds. In contrast to X-rays the attenuation coefficient does not increase proportionally with the atomic number as neutrons do not interact with the electrons in the atomic shell. The high sensitivity for water along with the great penetration potential for metals make neutrons very

attractive to investigate water distributions in various systems (Schillinger *et al.*, 2000; Lehmann, 2008; Manke *et al.*, 2009; Banhart *et al.*, 2010; Kardjilov *et al.*, 2011c). Neutron imaging techniques have proven to be a very useful tool to study water distribution in technical systems, e.g. fuel cells (Bellows *et al.*, 1999; Lehmann *et al.*, 2009; Schröder *et al.*, 2009; Hussey *et al.*, 2010; Schröder *et al.*, 2010; Manke *et al.*, 2011; Tötze *et al.*, 2011). Furthermore, it has also already been successfully applied to study different phenomena of the water transport in plants (Nakanishi and Matsubayashi, 1997; Arif *et al.*, 2006; Oswald *et al.*, 2008; Matsushima *et al.*, 2009a, b; Nakanishi, 2009). The spatial resolution is about $20\text{--}50\ \mu\text{m}$ (Boillat *et al.*, 2008, 2010; Hickner *et al.*, 2008; Williams *et al.*, 2012) which is appropriate to study the embolism formation in wider vessels.

MATERIALS AND METHODS

Neutron-imaging technique

The experiments were performed at the CONRAD measuring station located at the end of a curved neutron guide, which faces the cold-neutron source of the BER-II research reactor at the Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie (HZB). The beam is passed through a collimation system with a circular aperture of 2 cm providing neutrons with wavelengths between about 2 and $12\ \text{Å}$ (peaking at $3.1\ \text{Å}$) and a neutron flux of approx. $1.6 \times 10^7\ \text{cm}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ (Kardjilov *et al.*, 2009, 2011b).

A $10 \times 10\ \text{cm}^2$ lithium fluoride scintillator screen with a thickness of $50\ \mu\text{m}$ was used to convert impinging neutrons into visible light. The absorption image formed on the scintillator screen is projected onto the 16-bit 2048×2048 CCD chip of the camera (Andor DW436N-BV) via a mirror and a 105 mm-focus Nikon camera lens (Kardjilov *et al.*, 2011a). Total image acquisition time was 24 s; 20-s exposure plus 4-s readout.

Image processing

The visualization of embolism events by neutron imaging requires appropriate image processing. This includes dark-field and flat-field correction of the neutron absorption images to eliminate the CCD dark current signal and the inhomogeneities of the beam profile, respectively. Moreover, a median filter was applied over five consecutive images to reduce the image noise. The initial image of each sequence served as a reference image for the calculation of quotient images. This approach enhances the sensitivity for the detection of any sample changes occurring during the experiment and allows estimating variations in the sample water content quantitatively. The normalization procedure is based on the Lambert–Beer law which describes the beam attenuation as a function of sample thickness and composition (Banhart, 2008). At time $t = n$, the intensity $I_n(x, y)$ of a neutron beam passing the sample with a thickness δ_n in z -direction is given by

$$I_n(x, y) = I_{0,n}(x, y) e^{-\int_0^{\delta_n} \mu(x, y, z) dz} \quad (1)$$

Where $\mu(x, y, z)$ denotes the distribution of the local attenuation coefficient in the sample and $I_{0,n}(x, y)$ the initial beam intensity distribution.

To evaluate eqn (1) further, we assume (a) that the plant sample can be partitioned into a water fraction and a ‘dry biomass’ fraction and (b) that the variation of the respective attenuation coefficients μ_{water} and μ_{dry} with respect to the x -, y -, z -co-ordinates is negligible. Thus, eqn (1) can be approximated as

$$I_n(x, y) = I_{0,n}(x, y) e^{-[\mu_{\text{dry}}\delta_{\text{dry},n}(x,y) + \mu_{\text{water}}\delta_{\text{water},n}(x,y)]} \quad (2)$$

$\delta_{\text{water}}(x, y)$ and $\delta_{\text{dry}}(x, y)$ refer to the hypothetical thickness of water and biomass fraction. Taking the initial image ($t = \text{start}$) as a reference, image normalization of the n th image amounts to

$$\frac{I_n(x, y)}{I_{\text{start}}(x, y)} = \frac{I_{0,n}(x, y) e^{-[\mu_{\text{dry}}\delta_{\text{dry},n}(x,y) + \mu_{\text{water}}\delta_{\text{water},n}(x,y)]}}{I_{0,\text{start}}(x, y) e^{-[\mu_{\text{dry}}\delta_{\text{dry},\text{start}}(x,y) + \mu_{\text{water}}\delta_{\text{water},\text{start}}(x,y)]}} \quad (3)$$

As we further assume δ_{dry} and the beam intensity I_0 to remain constant during the experiment, eqn (3) simplifies to

$$\frac{I_n(x, y)}{I_{\text{start}}(x, y)} = e^{-\mu_{\text{water}}[\delta_{\text{water},n}(x,y) - \delta_{\text{water},\text{start}}(x,y)]} \quad (4)$$

Defining $\Delta\delta_{\text{water},n}(x, y) = \delta_{\text{water},n}(x, y) - \delta_{\text{water},\text{start}}(x, y)$ and rearranging eqn (4) one obtains

$$\Delta\delta_{\text{water},n}(x, y) = \frac{1}{-\mu_{\text{water}}} \ln \left[\frac{I_n(x, y)}{I_{\text{start}}(x, y)} \right] \quad (5)$$

This expression connects the difference of water thickness in the z -direction between times $t = \text{start}$ and $t = n$ at any position (x, y) in the detector plane with the corresponding measured beam intensities. Thus, the normalization procedure transforms the grey value of a pixel at position (x, y) into the thickness variation of water at this position.

Experimental set-up

The aim of these experiments was the detection and visualization of embolism events and potential repair mechanisms in the xylem of liana plants. Some general advantages of this plant type for radiographic experiments are the flexible stems which can be fixed to a supporting structure and positioned into the field of view. Moreover, the xylem tissue contains extraordinarily wide vessels with diameters up to $>100 \mu\text{m}$ which meets the resolution capability of the imaging method. The focus of the experiments was on three different liana species: *Adenia lobata*, *Aristolochia macrophylla* and *Parthenocissus tricuspidata*. The plants were cultivated in flower pots in the Botanical Garden of the Universität Tübingen. At the time of the experiment, the plants were between 6 months and 12 months old. Additionally, stems of outdoor plants of *P. tricuspidata* were used that climbed the façade of one of the HZB buildings.

To provide basic physiological conditions appropriate to observe embolism formation and subsequent repair we organized the radiographic experiments in the following manner.

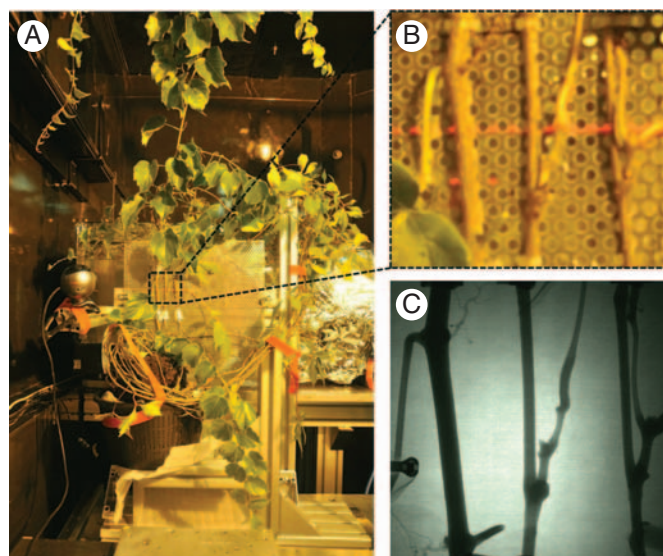


FIG. 1. General experimental set-up: (A) photograph of a liana plant (*Parthenocissus tricuspidata*) arranged in the measuring position; (B) detail showing the field of view of the neutron detector, stems are fixed with cable ties to a perforated aluminium sheet; (C) the same detail displayed as a (raw) neutron image.

(a) During the first period the liana plants were subjected to water stress to induce embolism events. This was achieved by stopping watering for 2–4 d prior to the experiments. (b) Additional invasive measures such as partial cutting of xylem tissue were applied to enhance water stress and, thus, the probability of embolism events. (c) Then, plant samples were watered and left in the dark for several hours, thus providing favourable physiological conditions for embolism repair. Neutron radiographic images were taken throughout the whole sequence of steps, except for a short interruption needed for watering.

The general experimental set-up is illustrated in Fig. 1. The liana plants were mounted on an aluminium frame and placed in the neutron beam. The stem sections under investigation were arranged within the field of view and firmly fixed to a perforated aluminium sheet which was positioned 1 cm in front of the scintillator screen. The stems were clamped to the perforated plate to prevent sample movement that would decrease image quality and accuracy of water quantification.

A high-pressure sodium vapour lamp with an electrical power of 600 W was used to illuminate the plant samples in the measurement room. The average light intensity (PAR) at the leaf surface was about $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and the relative humidity was 30%. The stomatal conductivity of leaves was measured with a Delta-T porometer of the type AP4. *Parthenocissus tricuspidata* showed mean values of $22.3 \text{ mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, *Adenia lobata* $19.8 \text{ mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and *Aristolochia macrophylla* $23.7 \text{ mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

RESULTS AND DISCUSSION

Testing the imaging method

In this study neutron radiography was applied as a novel method to visualize embolism formation and potential

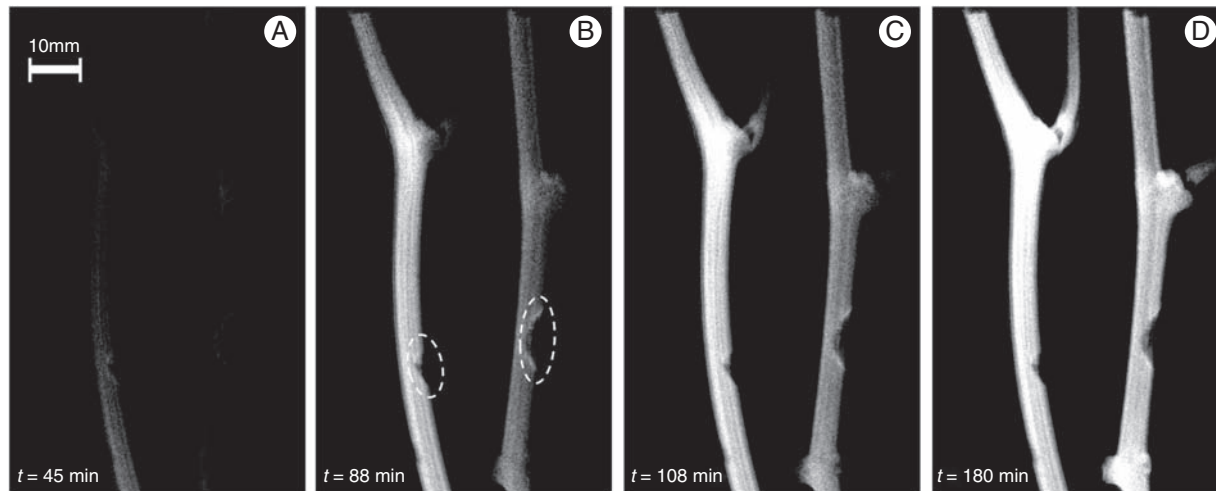


FIG. 2. Normalized neutron images showing D_2O ascent in cut stems of *Aristolochia macrophylla* (left) and *Parthenocissus tricuspidata* (right). The displayed stem section starts approx. 10 cm above the submerged stem ends. t denotes the time elapsed after D_2O watering. Note: stems of both samples are cut in half at the positions outlined by dashes in (B).

refilling. The suitability of the experimental set-up was tested in a preliminary experiment. The water ascent in cut liana stems was visualized using heavy water (D_2O) as a contrast agent. Plant samples were arranged to fit into the field of view and fixed to a perforated aluminium sheet as described above. The stems were cut and submerged into a D_2O reservoir. Upon illumination, the plant began to transpire water from its leaves, replacing increasing amounts of xylem water with heavy water. As D_2O attenuates neutrons much less than H_2O , the ascending D_2O front in the xylem tissue could be tracked as a contrast change in the neutron images. The image sequence of Fig. 2 visualizes the D_2O transport in cut stems of *Aristolochia macrophylla* and *Parthenocissus tricuspidata*. In fact, water and D_2O are transported simultaneously. The water column inside the stem xylem is moving upwards and pulls the D_2O column into the xylem vessels. The consecutive images are normalized with respect to the initial image of the sequence. The quotient pictures reveal the exchange of water for D_2O over a 3-h period, illustrating the ascending water. Note the stems of both samples are cut in half to study the effect of severed vessels on the water balance of the tissue located above. For both samples, the image sequences prove that the D_2O uptake takes place in both the intact and the injured parts of the stem. Apparently, lateral interchange, e.g. due to interconnectivity and tortuosity of vessels and diffusive transport, can compensate the loss of transport capacity in the transected vessels.

Transpiration rates inside the facility were always quite low, and amounted to about $20\text{--}40\text{ mmol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$. This was very probably due to the environmental conditions. Low transpiration rates were also observed elsewhere on study plants under similar conditions (Clearwater and Clark, 2003).

Observation of embolism formation

Preliminary neutron radiographic experiments showed that water stress caused by substrate desiccation, i.e. no watering of

the pots over several days, failed to trigger embolism events in the considered plant species. Therefore, various methods were tested to intensify the water stress and to promote embolism, for instance, partial and complete stem cutting as well as exposure to ultrasonic waves. Stem cutting, however, turned out to be the most effective method. We will focus on selected results obtained by partial and complete stem transection.

A potted *Adenia lobata* plant was subjected to water stress by interrupting the daily watering procedure for 2 d. Before starting the radiographic measurement approximately half of the xylem tissue was cut in such a way that a complete wedge was removed from the stem exposing the cut area to the air.

Figure 3A displays a (flatfield- and darkfield-corrected) radiograph of the sample showing the general shape and structure of the stem. In Fig. 3B a detail of the stem section around the cut is displayed as a normalized image revealing changes of the stem water content occurring within 10 min after notching the stem. The bright rhomboid area surrounding the lesion turns up after cutting, intensifies and expands for 10 min before its size and intensity stabilizes. Obviously, the contrast change is the result of evaporative water loss of the plant tissue adjacent to the lesion that was exposed to air. The evolution of the bright shape is probably linked to the process of wound closure which counteracts evaporative loss of injured tissue. Wound closure seems to be completed after 10 min since no further significant contrast change is observed. However, no other changes were observed that could be attributed to embolism events. This is remarkable since the disconnection of a significant portion of the conducting tissue was expected to affect the water system substantially, thereby, leading to embolism. However, no embolism could be detected during several hours after the manipulation. Figure 3 demonstrates the robustness of the water transport despite stem injury. It proves that only a small stem region around the cut is affected by water loss, suggesting that wound closure quickly counteracts evaporative water loss of stem tissue.

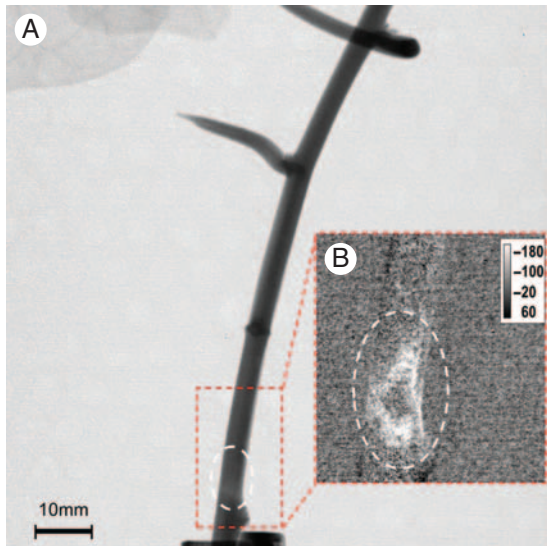


FIG. 3. Radiograph of an *Adenia lobata* stem 10 min after cutting: (A) flatfield- and darkfield-corrected radiograph of the sample showing general shape and structure of the stem; (B) normalized detail revealing changes in stem water content; the grey scale displays the change in effective water thickness $\Delta\delta_{\text{water}}$ in micrometres.

The overall difficulty to provoke embolism may be attributed to the conditions in the experimental chamber, particularly the low-light conditions affecting stomatal conductance. Embolism tends to be markedly reduced under these conditions. However, there are also other reports that show that it can be difficult to promote embolism during non-invasive imaging. Kim and Lee (2010) dehydrated plants of *Oryza sativa* until severe wilting occurred to observe embolism via X-ray imaging methods. However, no embolism event could be detected unless the leaves were cut to generate air/water interfaces inside the conduits. Also no embolism could be provoked in intact *Ripogonum scandens* plants during MRI imaging and it was necessary to place the cut end of a severed stem into a PEG solution with high osmotic potential (Clearwater and Clark, 2003). The conditions under which embolism events set in is strongly species dependent and various taxa appear to avoid embolism (Vogt, 2001). Remarkable in our studies is the circumstance that none of the liana species considered showed embolism with intact stems, even if the stem was severely damaged by a wedge cut with a large area of stem tissue being exposed to air.

Since the partial transection of the xylem was not sufficient to trigger embolisms in either *A. lobata* or in other species (data not shown), the procedure was changed and in another experiment a liana stem (*Parthenocissus tricuspidata*) was completely cut through and subsequently radiographed for 1.5 h. While leaves were illuminated to initiate transpiration and the build-up of water stress, no water was supplied to the cut end of the stem. The sequence of normalized images in Fig. 4 documents the development of the stem water status. Within the first 36 min the intensity was quite stable for the whole stem section except for the stem edges which brighten (Fig. 4A). This effect continues throughout the

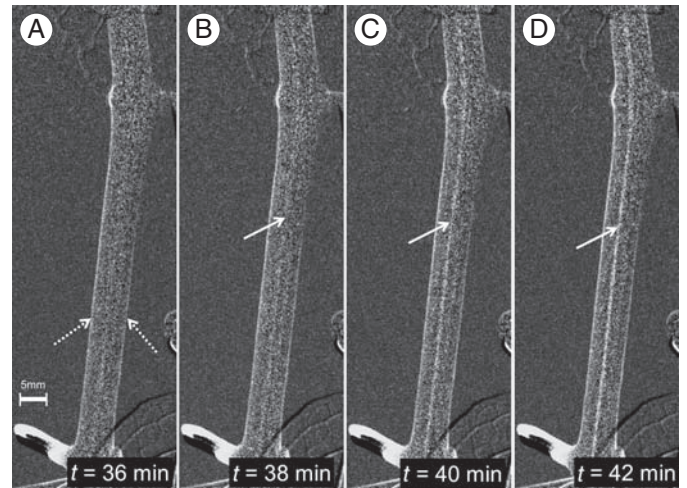


FIG. 4. Normalized image sequence showing the embolism formation in *P. tricuspidata*. The same stem section is displayed at different times after cutting: (A) after 36 min prior to embolism formation, bright stem edges indicate stem shrinking (dashed arrows); (B) at 38 min, a bright fibre-like structure appears along the stem axis (indicated by the arrow in Fig. 4B). In the subsequent images (Fig. 4C and D, $t = 40$ and 42 min) the shape and intensity of the bright structure further increases and stays almost constant for the rest of the experiment. The shape of the affected region as well as its rapid development suggests that xylem embolism has occurred. Note: images are shown as negatives to allow for easier identification of contrast changes.

whole experiment and can be explained by the contraction of elastic portions of the xylem tissue. This contraction is caused by the decreasing water potential and leads to a slight shrinkage of the liana stem. A coupling between stem water content and stem diameter was also recently demonstrated by using MRI (De Schepper et al., 2012). However, after 38 min a fibre-like bright structure appears along the stem axis (indicated by the arrow in Fig. 4B). In the subsequent images (Fig. 4C and D, $t = 40$ and 42 min) the shape and intensity of the bright structure further increases and stays almost constant for the rest of the experiment. The shape of the affected region as well as its rapid development suggests that xylem embolism has occurred.

As described in the Methods, the normalization procedure allows a quantitative estimation of the change of water thickness which is transmitted by the neutron beam. The grey value of each pixel denotes the reduction in water thickness in the z -direction at the detector position (in μm). In Fig. 5 the variation of the mean water thickness during the experiment was evaluated for a stem section that was obviously affected by an embolism (area marked red in Fig. 5B) and, for comparison, a section located next to the embolized vessel (area marked white in Fig. 5B).

According to Fig. 5A, the evolution of the water thickness in the stem section marked red (see Fig. 5B) is characterized by two phases ($t = 0$ min \dots 38 min and $t = 42$ min \dots 85 min) of continuous and approximately linear thickness reduction interrupted by a short intermediate phase of rapid water loss between $t = 38$ min and $t = 42$ min (see also data points 1, 2, 3 in Fig. 5). The early and late phases of moderate thickness reduction can be explained by the contraction of elastic tissue caused by the falling plant water potential (equivalent to increasing water stress). This amounts to shrinkage of the stem

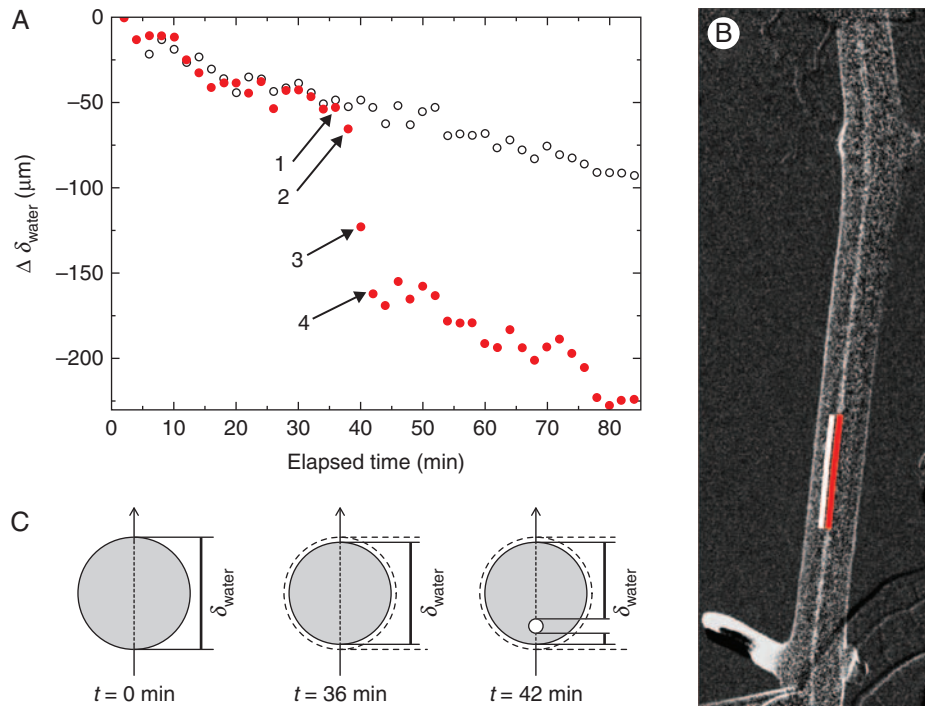


FIG. 5. (A) Plots of the mean water thickness change for the stem regions marked red and white in (B). Data points 1, 2, 3 and 4 correspond to the labels in Fig. 4A, B, C and D, respectively. (C) Schematic representation of δ_{water} at $t = 0$, $t = 36$ min and $t = 42$ min, due to stem shrinkage and embolism. Note that the diagram is not drawn to scale and that the position of the embolized vessel is speculative with respect to the z -direction.

diameter at a rate of about $1.7 \mu\text{m min}^{-1}$, which corresponds to the increasingly bright stem edges observed in Fig. 4. Between data points 1 and 3 the water thickness reduction rate (about $25 \mu\text{m min}^{-1}$) is one order of magnitude higher than before and afterwards. During these 4 min, the water thickness is reduced by about $100 \mu\text{m}$. Since typical vessel diameter of this species range between 50 and $100 \mu\text{m}$, it is most likely that an embolism was formed in a xylem vessel. This interpretation is corroborated by the sudden emergence of the fibre-like structure observed in the normalized images of Fig. 4. For comparison, the evolution of the water thickness is also plotted for a stem area next to the embolized vessel (see area marked white in Fig. 5B). While in the first 36 min the effective water thickness decreases in both regions simultaneously at the same rate, the rapid water loss between $t = 38$ and $t = 42$ min is only detected in the stem section affected by the embolism. In contrast, in the stem section next to it the approximately linear trend of water thickness reduction occurring continuously throughout the measured period is caused by the contraction of elastic tissue due to increasing water stress.

Behaviour after watering

In the second part of the experiment it was attempted to observe rehydration and, ideally, refilling processes in the stem of *P. tricuspidata*. To provide appropriate rehydration conditions the plant was watered by submerging the end of the stem into a water reservoir after cutting. Furthermore, the plant illumination was switched off to minimize leaf

transpiration. Radiographs were taken for another 2.5 h; the initial image of this series served as a reference image for the normalization procedure.

It is to be expected that rehydration leads to an increase in the thickness of the xylem tissue and, therefore, the water column within it. The evolution of the liana stem is documented in Fig. 6 by a sequence of normalized images including the evaluation of the mean change in water thickness for two selected stem regions. The sequence of images shows that with elapsing time the whole stem area brightens, i.e. the stem tissue does not rehydrate but continues to lose water. Moreover, several additional embolisms form in the xylem which is reflected by the emergence of bright fibre-like structures, e.g. at $t = 12$ min and $t = 122$ min after watering (Fig. 6B, D). The embolism events correlate with a sudden reduction in the water thickness in the affected stem areas (cf. Fig. 6).

The appearance of additional embolism events indicates that no rehydration via the cut surface occurred. Possibly the stem region above the cut was already too dehydrated for water uptake. Consequently, the drought stress in the plant increased further, entailing additional contraction of elastic tissue. The shrinking rate of about $0.9 \mu\text{m min}^{-1}$ is much lower compared with that observed before watering ($1.7 \mu\text{m min}^{-1}$). Probably, the turning-off of the illumination leads to stomatal closure, which reduced leaf transpiration significantly. Unaffected by the lower shrinking rate due to contraction of living stem tissue, embolism events show the same dynamic behaviour, i.e. reducing the water thickness by 50 – $100 \mu\text{m}$ within a few minutes.

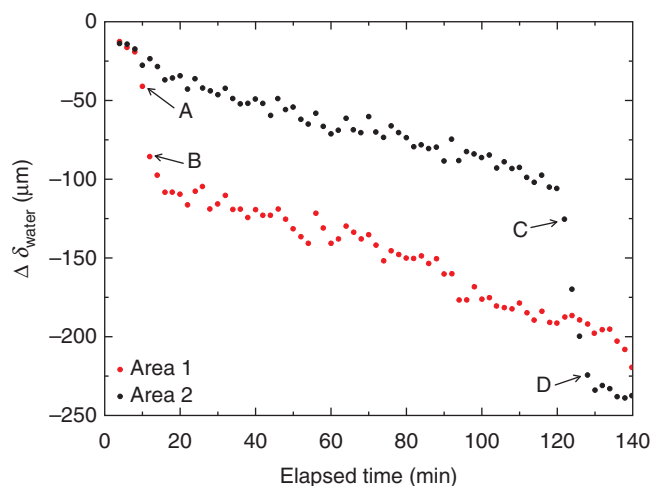
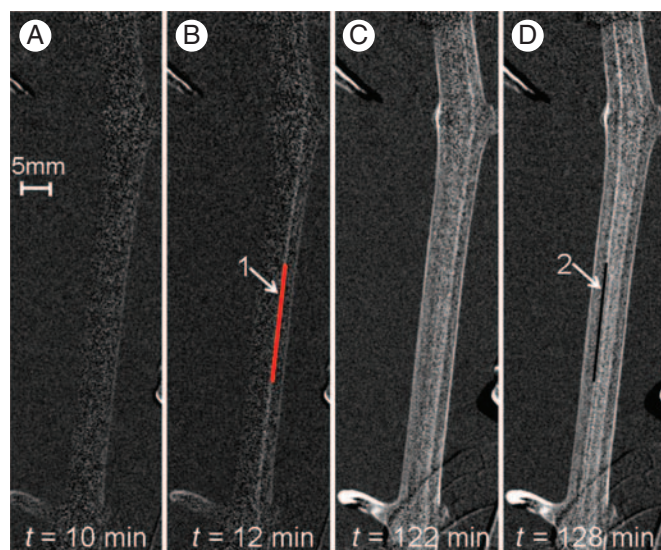


FIG. 6. Plot of the mean water thickness change after watering for the stem regions marked in images (B) and (D), respectively. Note: images are shown as negatives to allow an easier identification of contrast changes.

Conclusions

The observations made within this study show that neutron radiography is a suitable tool for direct monitoring of gas spaces within the xylem by detecting changes in transmitted water thickness in whole plant stems. The temporal resolution of the observed embolism events allowed for quite exact determination of the discharge time of a single vessel; this was completed in our study in about 4 min. To our knowledge, this was the first attempt to use neutron imaging for the visualization of embolism formation in plants. One of the advantages of neutron radiography is that a considerable portion of a stem can be observed with a quite acceptable temporal resolution. The results of this study demonstrate the great potential of neutron imaging for biological studies of water transport phenomena in plants. The approach should principally allow observation of gas spaces in the xylem of intact plants under suitable conditions. Further work is necessary to address the conditions and circumstances under which embolism

formation and repair occur. It is suggested that this method represents a very promising tool for gaining more information on the *in vivo* processes occurring during embolism and vessel refill.

ACKNOWLEDGMENTS

The research activities were partly funded by the German Federal Ministry for Education and Science (BMBF) under grant number 01RB0713A (BIONA).

LITERATURE CITED

- Arif M, Jacobson DL, Hussey DS. 2006. Neutron imaging study of the water transport in operating fuel cells. *FY 2006 Annual Progress Report*, 875–877.
- Banhart J. ed. 2008. *Advanced tomographic methods in materials research and engineering*. Oxford: Oxford University Press.
- Banhart J, Borbely A, Dzieciol K, et al. 2010. X-ray and neutron imaging: complementary techniques for materials science and engineering. *International Journal of Materials Research* **101**: 1069–1079.
- Bellows RJ, Lin MY, Arif M, Thompson AK, Jacobson D. 1999. Neutron imaging technique for *in situ* measurement of water transport gradients within nafion in polymer electrolyte fuel cells. *Journal of the Electrochemical Society* **146**: 1099–1103.
- Boillat P, Kramer D, Seyfang BC, Frei G, et al. 2008. *In situ* observation of the water distribution across a PEFC using high resolution neutron radiography. *Electrochemistry Communications* **10**: 546–550.
- Boillat P, Frei G, Lehmann EH, Scherer GG, Wokaun A. 2010. Neutron imaging resolution improvements optimized for fuel cell applications. *Electrochemical and Solid-State Letters* **13**: B25–B27.
- Brodersen CR, McElrone AJ, Choat B, Matthews MA, Shackel KA. 2010. The dynamics of embolism repair in xylem: *in vivo* visualizations using high-resolution computed tomography. *Plant Physiology* **154**: 1088–1095.
- Brodribb TJ, Holbrook NM, Edwards EJ, Gutiérrez MV. 2003. Relations between stomatal closure, leaf turgor and xylem vulnerability in eight tropical dry forest trees. *Plant, Cell & Environment* **26**: 443–450.
- Clearwater MJ, Clark CJ. 2003. *In vivo* magnetic resonance imaging of xylem vessel contents in woody lianas. *Plant, Cell & Environment* **26**: 1205–1214.
- Cochard H, Lemoine D, Améglio T, Granier A. 2001. Mechanisms of xylem recovery from winter embolism in *Fagus sylvatica*. *Tree Physiology* **21**: 27–33.
- Crombie DS, Hipkins MF, Milburn JA. 1985. Gas penetration of pit membranes in the xylem of *Rhododendron* as the cause of acoustically detectable sap cavitation. *Australian Journal of Plant Physiology* **12**: 445–453.
- De Schepper V, van Dusschoten D, Copini P, Jahnke S, Steppe K. 2012. MRI links stem water content to stem diameter variations in transpiring trees. *Journal of Experimental Botany* **63**: 2645–2653.
- Ewers FW, Fisher JB, Chiu ST. 1990. A survey of vessel dimensions in stems of tropical lianas and other growth forms. *Oecologia* **84**: 544–552.
- Hacke UG, Sperry JS. 2003. Limits to xylem refilling under negative pressure in *Laurus nobilis* and *Acer negundo*. *Plant, Cell & Environment* **26**: 303–311.
- Hickner MA, Siegel NP, Chen KS, Hussey DS, Jacobson DL, Arif M. 2008. *In situ* high-resolution neutron radiography of cross-sectional liquid water profiles in proton exchange membrane fuel cells. *Journal of The Electrochemical Society* **155**: B427–B434.
- Holbrook NM, Ahrens ET, Burns MJ, Zwieniecki MA. 2001. *In vivo* observation of cavitation and embolism repair using magnetic resonance imaging. *Plant Physiology* **126**: 27–31.
- Hussey DS, Jacobson DL, Arif M, Coakley KJ, Vecchia DF. 2010. *In situ* fuel cell water metrology at the NIST Neutron Imaging Facility. *Journal of Fuel Cell Science and Technology* **7**: 021024. <http://dx.doi.org/10.1115/1.3007898>.
- Kardjilov N, Hilger A, Manke I, Strobl M, Dawson M, Banhart J. 2009. New trends in neutron imaging. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* **605**: 13–15.

- Kardjilov N, Dawson M, Hilger A, et al. 2011a.** A highly adaptive detector system for high resolution neutron imaging. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* **651**: 95–99.
- Kardjilov N, Hilger A, Manke I, Strobl M, Dawson M, Williams S, Banhart J. 2011b.** Neutron tomography instrument CONRAD at HZB. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* **651**: 47–52.
- Kardjilov N, Manke I, Hilger A, Strobl M, Banhart J. 2011c.** Neutron imaging in materials science. *Materials Today* **14**: 248–256.
- Kim HK, Lee SJ. 2010.** Synchrotron X-ray imaging for nondestructive monitoring of sap flow dynamics through xylem vessel elements in rice leaves. *New Phytologist* **188**: 1085–1098.
- Lee S-J, Kim Y. 2008.** *In vivo* visualization of the water-refilling process in xylem vessels using X-ray micro-imaging. *Annals of Botany* **101**: 595–602.
- Lehmann E. 2008.** Recent improvements in the methodology of neutron imaging. *Pramana Journal of Physics* **71**: 653–661.
- Lehmann EH, Boillat P, Scherrer G, Frei G. 2009.** Fuel cell studies with neutrons at the PSI's neutron imaging facilities. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* **605**: 123–126.
- Manke I, Strobl M, Kardjilov N, et al. 2009.** Investigation of soot sediments in particulate filters and engine components. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* **610**: 622–626.
- Manke I, Markotter H, Totzke C, et al. 2011.** Investigation of energy-relevant materials with synchrotron X-rays and neutrons. *Advanced Engineering Materials* **13**: 712–729.
- Matsushima U, Herppich WB, Kardjilov N, Graf W, Hilger A, Manke I. 2009a.** Estimation of water flow velocity in small plants using cold neutron imaging with D₂O tracer. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* **605**: 146–149.
- Matsushima U, Kardjilov N, Hilger A, Manke I, Shono H, Herppich WB. 2009b.** Visualization of water usage and photosynthetic activity of street trees exposed to 2 ppm of SO₂: a combined evaluation by cold neutron and chlorophyll fluorescence imaging. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* **605**: 185–187.
- Nakanishi TM. 2009.** Neutron imaging applied to plant physiology: neutron imaging and applications. In: Bilheux HZ, McGreevy R, Anderson IS eds. New York, NY: Springer, 305–317.
- Nakanishi TM, Matsubayashi M. 1997.** Nondestructive water imaging by neutron beam analysis in living plants. *Journal of Plant Physiology* **151**: 442–445.
- Nardini A, Lo Gullo MA, Salleo S. 2011.** Refilling embolized xylem conduits: is it a matter of phloem unloading? *Plant Science* **180**: 604–611.
- Oswald SE, Menon M, Carminati A, Vontobel P, Lehmann E, Schulin R. 2008.** Quantitative imaging of infiltration, root growth, and root water uptake via neutron radiography. *Vadose Zone Journal* **7**: 1035–1047.
- Salleo S, Lo Gullo MA, Trifiló P, Nardini A. 2004.** New evidence for a role of vessel-associated cells and phloem in the rapid xylem-refilling of cavitated stems of *Laurus nobilis* L. *Plant, Cell & Environment* **27**: 1065–1076.
- Salleo S, Trifiló P, Lo Gullo MA. 2006.** Phloem as a possible major determinant of rapid cavitation reversal in stems of *Laurus nobilis* (laurel). *Functional Plant Biology* **33**: 1063–1074.
- Scheenen TWJ, Vergeldt FJ, Heemskerk AM, Van As H. 2007.** Intact plant magnetic resonance imaging to study dynamics in long-distance sap flow and flow-conducting surface area. *Plant Physiology* **144**: 1157–1165.
- Schillinger B, Lehmann E, Vontobel P. 2000.** 3D neutron computed tomography: requirements and applications. *Physica B: Condensed Matter* **276–278**: 59–62.
- Schröder A, Wippermann K, Mergel J, et al. 2009.** Combined local current distribution measurements and high resolution neutron radiography of operating Direct Methanol Fuel Cells. *Electrochemistry Communications* **11**: 1606–1609.
- Schröder A, Wippermann K, Lehnert W, et al. 2010.** The influence of gas diffusion layer wettability on direct methanol fuel cell performance: a combined local current distribution and high resolution neutron radiography study. *Journal of Power Sources* **195**: 4765–4771.
- Sperry JS. 2003.** Evolution of water transport and xylem structure. *International Journal of Plant Science* **164**: S115–S127.
- Sperry JS, Holbrook NM, Zimmermann MH, Tyree MT. 1987.** Spring filling of xylem vessels in wild grapevine. *Plant Physiology* **83**: 414–417.
- Tötze C, Manke I, Arlt T, et al. 2011.** High resolution large area neutron imaging detector for fuel cell research. *Journal of Power Sources* **196**: 4631–4637.
- Tyree MT, Sperry JS. 1989.** Vulnerability of xylem to cavitation and embolisms. *Annual Review of Plant Physiology* **40**: 19–38.
- Tyree MT, Zimmermann MH. 2002.** *Xylem structure and the ascent of sap*. Berlin: Springer-Verlag.
- Tyree MT, Salleo S, Nardini A, Lo Gullo MA, Mosca R. 1999.** Refilling of embolized vessels in young stems of laurel: do we need a new paradigm? *Plant Physiology* **120**: 11–21.
- Vesala T, Hölttä T, Perämäki M, Nikinmaa E. 2003.** Refilling of a hydraulically isolated xylem vessel: model calculations. *Annals of Botany* **91**: 419–428.
- Vogt UK. 2001.** Hydraulic vulnerability, vessel refilling, and seasonal courses of stem water potential of *Sorbus aucuparia* L. and *Sambucus nigra* L. *Journal of Experimental Botany* **52**: 1527–1536.
- Wheeler JK, Sperry JS, Hacke UG, Hoang N. 2005.** Intervessel pitting and cavitation in woody Rosaceae and other vesselless plants: a basis for a safety versus efficiency trade-off in xylem transport. *Plant, Cell & Environment* **28**: 800–812.
- Williams SH, Hilger A, Kardjilov N, et al. 2012.** Detection system for micro-imaging with neutron. *Journal of Instrumentation* **7**: P02014. <http://dx.doi.org/10.1088/1748-0221/7/02/P02014>.
- Windt CW, Vergeldt FJ, De Jager PA, Van As H. 2006.** MRI of long-distance water transport: a comparison of the phloem and xylem flow characteristics and dynamics in poplar, castor bean, tomato and tobacco. *Plant, Cell & Environment* **29**: 1715–1729.
- Zwieniecki MA, Holbrook NM. 1998.** Diurnal variation in xylem hydraulic conductivity in white ash (*Fraxinus americana* L.), red maple (*Acer rubrum* L.) and red spruce (*Picea rubens* Sarg.). *Plant, Cell & Environment* **21**: 1173–1180.

APPENDIX 1

„Energieautarker Flüssigkeitsferntransport mit faserbasierten Systemen“

Offizieller Abschlussbericht

Bericht zum Projekt im BMBF Rahmenprogramm BIONA – Bionische Innovationen für nachhaltige Produkte und Technologien „*Energieautarker Flüssigkeitsferntransport mit faserbasierten Systemen*“ online verfügbar:

<http://opac.tib.uni-hannover.de/DB=1/SET=5/TTL=1/SHW?FRST=6>

Bei dem Gesamtprojekt handelt es sich um ein angewandtes Projekt, bei dem viele Ergebnisse noch der Geheimhaltung unterliegen. Der vollständige Abschlussbericht kann nicht öffentlich eingesehen werden, und daher erscheint als Gesamtübersicht über das Projekt die verkürzte öffentliche Fassung.

Aus dem Ergebnisspool des nicht öffentlichen Berichtes erwarten wir mindestens eine weitere Publikation über Blasenverhalten in Xylemgefäßen. Als obigen Gründen ist es jedoch im Moment noch nicht möglich, diese Ergebnisse öffentlich dazustellen, da dieses erst mit den Kooperationspartnern ausgehandelt werden muss.

ABSTRACT

This thesis was integrated into a joint project aimed at nature inspired design of fiber based systems for energy independent water transport. The final report of the BMBF Project presents the fundamental biological research which was accompanying the development of the correspondent technical water transport system based on the transfer of plant functional structures into fiber based systems.

The biologic research was aimed at identification of appropriate biological models and characterization of plant functional structures, which promote water transport against gravity. A prototype of a fiber based system was devised together with engineers of the ITV in Denkendorf and project partners from the textile industry.

The research tools used to clarify the anatomy, observation of air bubbles, and response towards varying atmosphere conditions are described in detail within the report (Appendix 2). The anatomical and eco physiological studies were conducted on *Aristolochia macrophylla*, *Clematis vitalba*, *Parthenocissus quinquefolia*, *Parthenocissus tricuspidata*, *Adenia lobata*, *Aristolochia brasiliensis*, *Bauhinia cumingiana*, *Tilia cordata* and *Paulownia fortunei*. The screening of hydraulic properties of different liana species cultivated in the Botanical Garden of the University Tübingen showed 5 species with very high stem conductivities. Highest hydraulic conductivity was found in *Aristolochia macrophylla* (8.3E-05 m/s) followed by *Parthenocissus quinquefolia* with 7.6E-05 m/s (Table 1). The hydraulic conductance of the stem was calculated using the equation:

$$K_h = (q \cdot l) / (A \cdot \Delta h)$$

Where: K_h = hydraulic conductance (m/s), q = flow rate (m³/s), A = area (m²), Δh = height gradient (m), l = length (m).

The vines analyzed in this study featured different types of wall structures: smooth (S), smooth with granulation (SG), and warty (W) see Table 1. Although helical thickenings are common in vessels of plants that grow at dry or freezing climate conditions (Webber 1936, Carlquist 1966a, Carlquist 1982), the species investigated did not show this feature. In place of helical thickenings, grooves were observed (canals) which are interconnecting the pits. Pits in turn are interconnecting the vessels (Figure 17 A, D, G, J, M).

Tab. 1: The anatomical and surfaces analyses of the studied lianas. Abbreviations: vessel diameter (VD), contact angle (CA) between wall surface and air bubbles, thickness of the grooves in the vessels and walls structures of the vessel. For wall structure S: smooth, SG: smooth with granulation and SG: smooth with granulation, W: warty.

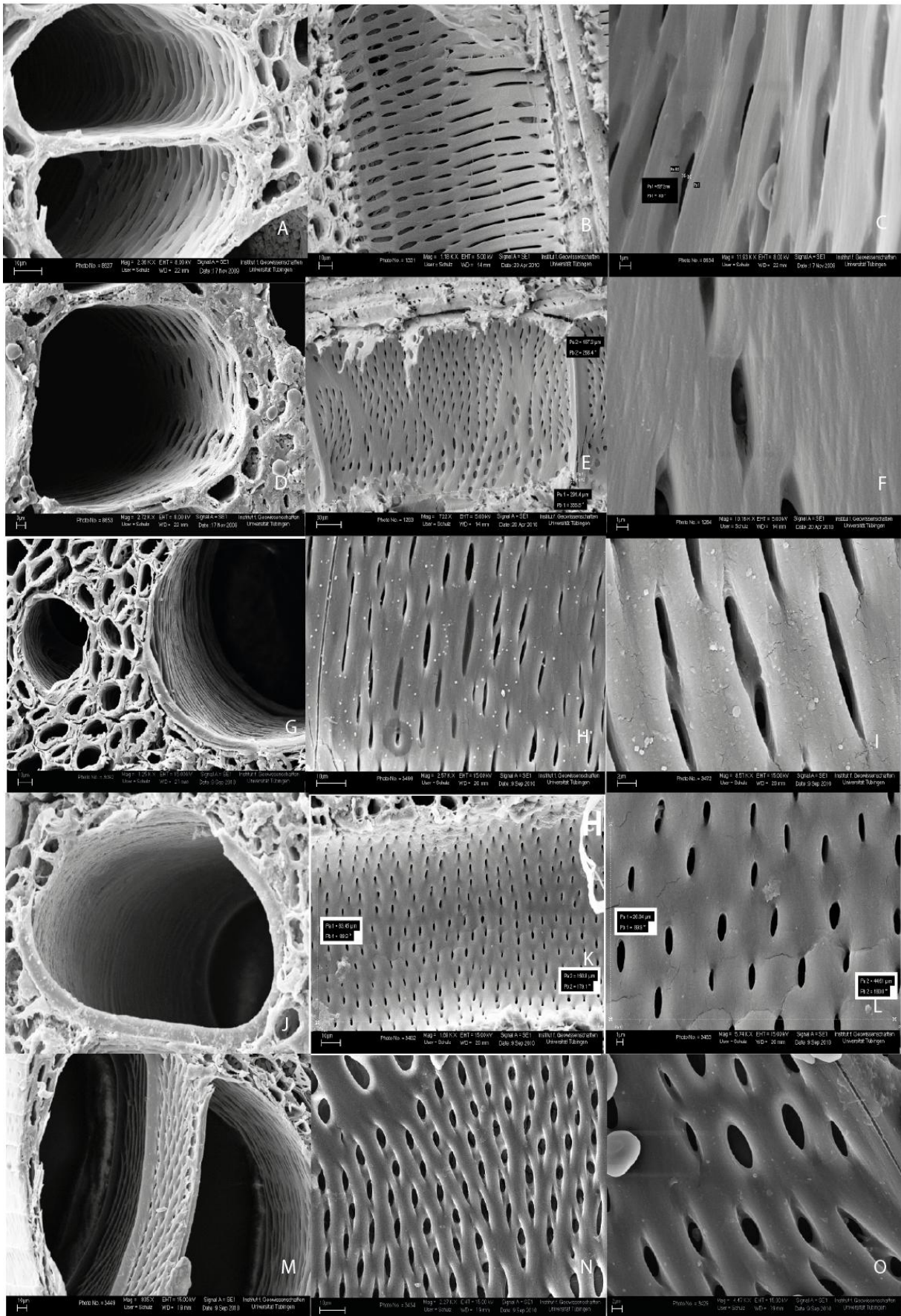
Vine species	VD wider (µm)	VD average (µm)	θ (°)	Wall structure	Wall grooves (µm)	Stem hydraulic conductivity (m/s)
<i>A. macrophylla</i>	249	52.6	31.34	SG	2-5.6	8,3E-05
<i>P. quinquefolia</i>	196	78.9	35.67	SG	0.7-2	7,6E-05
<i>A. brasiliensis</i>	219	53.1	26.97	W	1-3.6	3.9E-06
<i>B. cumingiana</i>	203	84.3	32.48	S	1-2.8	8,1E-06
<i>Adenia lobata</i>	423	57.8	34.15	S	1-4.3	5,2E-05

All analyzed species featured simple perforate plates. *A. macrophylla* and *P. quinquefolia* displayed smooth wall surfaces with granulations (Figure 17 B-C, E-F), *B. cumingiana* and *Adenia lobata* has smooth wall surfaces (Figure 17 K-L, N-O, Table 1) whereas *A. brasiliensis* contains warts on the surface of vessels and tracheids (Figure 17 H-I, Table 1). Vessel walls with warts is a characteristic trait of woody plant species of a low evolutionary stage whereas in more evolved plants the occurrence of warts in the vessel walls may occur in late wood (Parham and Baird 1974).

The pits arrangements in species of *A. macrophylla*, *A. brasiliensis* were transitional (Figure 17 B) with coalescent pit apertures (Figure 17 C, I). For *P. quinquefolia*, *A. lobata*, the pits arrangements were alternate (Figure 17 E, N) with coalescent pit apertures. Only *B. cumingiana* has opposite pits arrangement and simple pit apertures (Figure 17 K- L). The vine species featuring smooth walls with granulations, scalariform pit arrangements and coalescent pit apertures showed highest hydraulic conductivities of the stem (see Table 1). Because these features cause less resistance to the flow of water and simultaneously provide security against the spread of air bubbles.

Figure 17 (next page): Scanning electron micrographs of xylem vessel surfaces: A, B, C (*A. macrophylla*), A: show axial parenchyma and adjacent vessels, the vessel walls are linked pits, B: displays overview of the smooth but finely granulate wall surface showing transitional pits distribution, C: show pit opening in smooth wall of vessel element. D, E, F (*P. quinquefolia*) D: show photo of a large vessel, E: show overview of fine granulate vessel wall, with alternate pits distribution, F: close up of vessels showing smooth but finely granulated vessel wall. G, H, I (*A. brasiliensis*), A: overview of tangential section, shows narrow and large vessels, H: overview of wall surface, display warty layer and transitional pits distribution, I: close up of the wall of vessel element, shows coalescent pit openings with two pits in site. J, K, L (*B. cumingiana*), J: overview of vessel element in cross section, K: longitudinal section displays smooth wall and opposite pits distribution, L: close up, shows smooth wall. M, N, O (*A. lobata*), M: displays vessel element linked to a wall, N: overview of vessel wall, display grooves between the pits and alternate pits distribution, O: close up show smooth wall and coalescent pit aperture.

Wall surface structure of xylem vessels



The results showed that *Aristolochia macrophylla* is a particularly interesting model organism for the design of water transport systems: *A. macrophylla* showed high flow rates, promoted by wide vessels (Table 1). The vessel walls are smooth with some surface granulation. Measurements of contact angles at the air/water interface indicate moderate hydrophilic conditions ($\theta = 31.34^\circ$). *A. macrophylla* vessels tolerated maximum tensile stresses of -2.9 MPa at sunny days. The species appears to be highly resistant to embolism under normal environmental conditions. A very important feature is the highly ordered porosity of the woody xylem of *A. macrophylla* at different scale levels. The vessels represent an anisotropic porous medium with high longitudinal conductivity, but show a very small lateral conductivity. The basic findings were considered when devising the technical prototype. In accordance with the ITV Denkendorf the bionic prototypes were produced by bundling of technical fibers with segmented porosity. A first prototype was tested at the Botanical Garden of the University of Tübingen (Figure 18 left).

Uplift of water in the technical construction lasted for several days and exceeded 1 m vertical height at some of the test runs. An important feature derived from the xylem was the segmentation of the flow path. Water was transported within and between the fibers. Air bubbles thus did not block the entire path. Rather, water transport continued even with conspicuous amounts of air inside the system (Figure 18 right). The outcome of the primary test series was promising.

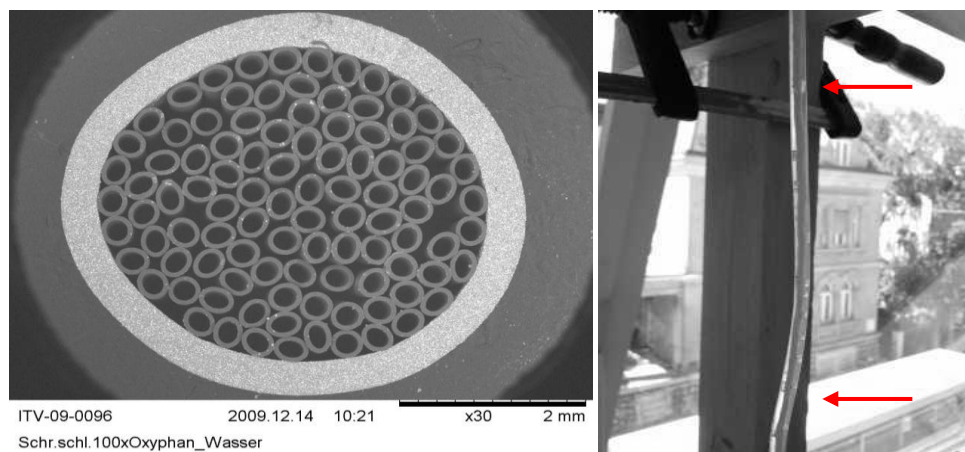


Figure 18: Left: Display SEM image of a technical conduit "Oxyphan hollow fiber membrane" in the shrink tube, 100 fibers in the conduit. Right: A technical fiber system devised for transporting water, note air bubbles (red arrow) that were formed in PVC pipe.

Offizieller Abschlussbericht

Zuwendungsempfänger:

Deutsche Institute für Textil- und Faserforschung
Denkendorf (DITF) vertreten durch
Institut für Textil- und Verfahrenstechnik (ITV)
Universität Tübingen
TWD Fibres

Förderkennzeichen:

01RB0713A
01RB0713B
01RB0713C

Vorhabensbezeichnung:

„Energieautarker Flüssigkeitstransport“

Laufzeit des Vorhabens:

01.02.2008 – 30.11.2011

Titel des Verbundprojektes:

Energieautarker Flüssigkeitsferntransport mit faserbasierten Systemen

Projekt im BMBF-Rahmenprogramm

„BIONA – Bionische Innovationen für nachhaltige Produkte und Technologien“

Fördermaßnahme: BIONA

Gesamtprojektleitung:

ITV Denkendorf, Dr.-Ing. Thomas Stegmaier

Teilprojektleitung:

Institut für Textil- und Verfahrenstechnik (ITV) Denkendorf:

Dr. Thomas Stegmaier mit Dipl.-Ing. Fatih Bagkesen

Institut für Geowissenschaften (IFG) der Universität Tübingen:

PD Dr. Anita Roth-Nebelsick mit M. Sc. Tatiana Miranda,

Dr. Dr. Wilfried Konrad.

Helmholtz-Zentrum Berlin: Dr. Christian Tötze

TWD Fibres GmbH: Hr. Wolfgang Hundt

Inhaltsverzeichnis:	3
I Kurze Darstellung des Gesamtvorhabens	5
II Eingehende Darstellung	18
- Universität Tübingen und HMI Berlin (Teilvorhaben 1): Analyse biologischer Vorbilder zur pflanzlichen Langstreckenwassertransport FKZ: BMBF 01RB0713B	18
- Fa. TWD Fibres GmbH (Teilvorhaben 2): Entwicklung textiler Fasermaterialien FKZ: BMBF 01RB0713C	39
- ITV Denkendorf (Teilvorhaben 3): Entwicklung und Erprobung faserbasierter Werkstoffe mit funktionellen Oberflächen FKZ: BMBF 01RB0713A	40

Inhaltsverzeichnis

I.	Kurze Darstellung des Vorhabens.....	5
1	Aufgabenstellung	5
2	Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde.....	6
3	Planung und Ablauf.....	6
4	Wissenschaftler und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	8
4.1	Bionische Konzeption zur technischen Realisierung des pflanzlichen Wassertransportes.....	8
4.2	Wassertransport in Pflanzen.....	8
4.3	Flüssigkeitstransport in technischen Systemen.....	9
4.3.1	Grundlagen zur Kapillarität	9
4.3.2	Flüssigkeitstransport in Textilien.....	12
5	Zusammenarbeit im Verbundvorhaben	16
II.	Eingehende Darstellung.....	18
1	Teilvorhaben 1: Universität Tübingen und HMI Berlin	18
1.1	Umfeld der Arbeiten	18
1.2	Planung und Ablauf	20
1.3	Laborstudien zu Anatomie und Leitfähigkeit.....	21
1.4	Neutronenradiographie (mit HZB)	21
1.5	Feldstudien.....	23
1.6	Ergebnisse.....	27
1.6.1	Feldstudien	27
1.6.2	Laborstudien.....	28
1.6.3	Kontaktwinkelmessung.....	31
1.6.4	Neutronenradiographie zur Visualisierung des Wassertransportes und der Embolie in verschiedenen Lianen.....	32
1.7	Zusammenfassung	35
1.8	Literaturverzeichnis zum Teilvorhaben 1	36
2	Teilvorhaben 2: TWD Fibers Deggendorf	39
3	Teilvorhaben 3: Institut für Textil- und Verfahrenstechnik Denkendorf ...	40
3.1	Basisentwicklungen zum Wassertransport mit Kapillarkräften.....	40
3.1.1	Methoden zur textilphysikalischen Analyse von Fasern und Garnen... 40	
3.1.2	Methoden zur Bestimmung des Wassertransportverhaltens	42

3.1.3	Verwendete Materialien und Basisergebnisse.....	45
3.1.4	Einfluss der Textilstruktur	49
3.1.5	Maximal erreichbare Steighöhen.....	52
3.1.6	Feldversuche mit Bewässerungssystemen auf Basis von Kapillarkräften	53
3.2	Basisentwicklungen zum Wassertransport unter Zugspannung.....	61
3.2.1	Unterdruckerzeugung durch Evaporation	61
3.2.2	Demonstration des Verdunstungsdruckes.....	63
3.2.3	Unterdruckerzeugung durch starke Hygroskopie.....	74
3.2.4	Diskussion der technischen Umsetzung zu Wassertransportsystemen	75
3.2.5	Entwicklung von Bewässerungssystemen.....	77
3.2.6	Herstellung faserbasierter Wasserleitelemente	77
3.2.7	Systementwicklungen zur Embolieentfernung aus dem Gesamttransportsystem	80
3.2.8	Feldversuche mit Bewässerungssystemen auf Basis tensiler Kräfte...	87
3.3	Diskussion der Ergebnisse und Zusammenfassung	92
3.4	Literaturverzeichnis zum Teilvorhaben 3.....	97
4	Erfolge oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse	98
5	Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse	98
6	Während der Projektlaufzeit bekannt gewordene Ergebnisse Dritter.....	99

I. Kurze Darstellung des Vorhabens

1 Aufgabenstellung

Das Gesamtziel des Bionik-Projektes Energieautarker Flüssigkeitsferntransport mit faserbasierten Systemen bestand in der Entwicklung innovativer Fasertransportsysteme nach dem Vorbild des Wassertransportes in Pflanzen. Pflanzen können in ihrem Wassertransportgewebe, dem Holz oder Xylem, wässrige Lösungen über lange Strecken ohne Aufwendung eigener Energie gegen die Gravitation bewegen. Die Transportrate entspricht überdies genau dem Bedarf.

In dem Vorhaben sollten diese Wassertransporteigenschaften in Pflanzen sowie die morphologischen und biochemischen Eigenschaften der für den Transpirationssog verantwortlichen Blattgewebe erstmals unter dem Aspekt einer technischen Übertragbarkeit interdisziplinär analysiert werden. Ziel war es, völlig neue Wege zu eröffnen, um die Prinzipien der biologischen Flüssigkeitstransportsysteme durch das Zusammenspiel verschiedener Kräfte (Zug-, Kapillar- und Grenzflächenkräfte) in technische Produkte zu übertragen.

In der Kombination dieser Kräfte liegt das große technologische Potential, das vor allem mit faserbasierten Werkstoffen realisiert werden kann. Hier werden die Einzelmechanismen und gleichzeitig auch in der Physik anerkannten Kräfte kombiniert:

- Hohe Kapillarkräfte durch Mikro-, Nano- und Hohlfasern,
- Ausrüstungen zur Veränderung der Oberflächenbenetzbarkeit von Faserwerkstoffen,
- Kohäsionskräfte mit max. 1-2 bar negativem Druck.

Die angestrebten textilen Produkte sollen in verschiedene Einsatzbereiche, wie z.B. in Bewässerungssystemen (Landwirtschaft), als Drainagesystem (z.B. zur Altbausanierung), private Haushalte sowie die Erkenntnisse daraus auch in Bekleidungs- und Medizinbereiche Verwendung finden.

2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Der Ausgangspunkt des Projekts war die Überzeugung, dass durch Fasertechnologien und unter Einsatz weiterer Materialien und Verfahren der Flüssigkeitstransport in Pflanzen in technische Anwendungen überführt werden kann.

Zur Erreichung dieses Zieles war eine enge Zusammenarbeit von Partnern aus der industriellen Faserherstellung (TWD GmbH), der chemischen Hilfsmittelindustrie (CHT r. Beitlich GmbH), der textilen Herstellung (Fa. Mattes&Ammann KG, Ploucquet Holding GmbH, Brückner Plant Technologies GmbH & Co. KG), biologischer Grundlagenforschung (Eberhard Karls Universität Tübingen, Hahn-Meitner-Institut Berlin) sowie anwendungsnaher Forschung und Verfahrensentwicklung (ITV Denkendorf) vorgesehen.

3 Planung und Ablauf

Das Ziel bestand in der Konzeption, Konstruktion und Fertigstellung von Prototypen, die aus technischen faserbasierten Materialien bestehen, welche so zu einer Struktur verarbeitet werden, dass eine dem pflanzlichen Wassertransportmechanismus entsprechende Wasserleitung erfolgt. Folgende - dem Xylem entsprechende – Grundstrukturen waren angestrebt: in Längsrichtung ausgerichtete kapillare Hohlräume, Abtrennung für die Embolievermeidung.

Zur Erreichung der Forschungsziele waren folgende Arbeitsschritte vorgesehen:

Weitere Analyse der relevanten biologischen Funktionen in Pflanzen unter dem Aspekt der Konzeption und Entwicklung eines Modells, das die Mechanismen des Wassertransportes und der Emboliebeseitigung der wasserleitenden Gefäße in Pflanzen nachbildet. Diese Arbeiten erfolgten nahezu ausschließlich durch das Institut für Geowissenschaften an der Universität Tübingen sowie dem Hahn-Meitner-Institut in Berlin.

Detaillierte Entwicklung von Konzepten zur bionischen Umsetzung. Unter der Federführung des ITV Denkendorf sollten die bionischen Konzeptionen erarbeitet und mit den Industriepartnern diskutiert werden. Aus den Diskussionen mit den vielfältigen Facetten der Industrie sollten machbare Lösungen extrahiert und weiterentwickelt werden.

Entwicklung und Einsatz im Labor und in Feldversuchen von technischen Faserkonstruktionen zum Flüssigkeitstransport. Ausgehend von Laborvoruntersuchungen am HMI Berlin und am ITV Denkendorf sollten Prototypen in Zusammenarbeit mit Fa. TWD und den anderen Industriepartnern erstellt und in Feldversuchen erprobt werden.

Die Industriepartner sollten im Laufe des Projektes in enger Zusammenarbeit mit den Instituten die ökonomischen Rahmenbedingungen der Entwicklung abstecken und damit den Projekterfolg mit lenken.

Der tatsächliche Ablauf erfolgte gemäß dieser Planung. Die Detailschritte und Detailziele änderten sich naturgemäß infolge der Erkenntnisse aus biologischer Seite und den Fortschritten in der technischen Umsetzung.

4 Wissenschaftler und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

4.1 Bionische Konzeption zur technischen Realisierung des pflanzlichen Wassertransportes

4.2 Wassertransport in Pflanzen

Das Projekt knüpfte an den aktuellen Stand der Wissenschaft zum pflanzlichen Wassertransport an (Konrad & Roth-Nebelsick 2003; Lösch 2003; Sperry 2003; Salleo, Lo Gullo et al. 2004; Lopez, Kursar et al. 2005; Roth-Nebelsick 2006; Christman, Sperry et al. 2009). Der pflanzliche Wassertransport stellt ein einmaliges biologisches Transportsystem mit ungewöhnlichen Eigenschaften dar, da das im Xylem nach oben geleitete Wasser unter Zugspannung transportiert wird, die sich als negativer Druck manifestiert. Der Wasserstrom durch das Xylem wird durch die Verdunstung (Transpiration) an den Blättern angetrieben. Das Wasser verdunstet im Blattinneren aus den Zellwänden der lebenden Blattzellen. Die Zellwände bestehen aus einer Zellulosematrix, die Poren im Nanometerbereich aufweist. Durch die Verdunstung aus diesen Zellwänden heraus bildet sich in den Zellwandporen eine gewölbte Wasser-Luft-Grenzfläche (Meniskus), die aufgrund ihrer starken Krümmung beträchtliche Nachsaugkräfte aufzubringen vermag. Ferner verhindern die engen Poren Lufteinbrüche in die Zellwandmatrix. Diese Zellwandmatrix der lebenden Mesophyllzellen umschließt hermetisch die Wassertransportbahnen der Blätter, die als Xylem der Blattaderungen an die Wassertransportwege des Stammes angeschlossen sind. Der Druckgradient zwischen den Zellwandporen der lebenden Blattzellen und der Blattaderung lässt Wasser aus den Wasserleitbahnen zu den Orten der Verdunstung fließen.

Die Transportgeschwindigkeiten reichen dabei von 1 m/h (Koniferen) bis zu 150 m/h (Lianen) (Larcher 2003). Aufgrund der großen Höhen, die gegen die Schwerkraft überwunden werden können, des internen Transportwiderstandes des Xylems und des Nachleitwiderstandes im Boden entstehen dabei Druckgradienten, die zu negativen Drücken im Wasser führen: das Wasser im Xylem steht unter Zugspannung. Dieser Zustand ist analog der mechanischen Spannung, unter der ein Festkörper steht, an dem gezogen wird, z.B. ein herabhängendes Seil, an dem sein eigenes Gewicht zieht

Eindrucksvoll wurde dies beispielsweise durch A.T. Hayward für die Bewältigung einer Höhendifferenz von 17 Metern beschrieben (Hayward, 1970). In Pflanzen sind direkt negative Drücke von bis zu ca. -0.6 bzw. -0.9 MPa (-9 bar) gemessen worden (Wei, Steudle et al. 2001). Damit die Pflanze ihren gesamten Wassertransport mit dem Kohäsions-Spannungs-Mechanismus durchführen kann, betritt zunächst das Wasser die Leitbahnen blasenfrei. Das Bodenwasser fließt dabei zuerst in die Wurzelhaare, das sind feine Auswüchse der Wurzeln. Holz stellt somit ein poröses

Medium mit anisotroper Leitfähigkeit dar: hohe longitudinale (d.h.von der Wurzel zur Krone) und geringe laterale Leitfähigkeit. Auf seinem Weg zu den transpirierenden Blättern wechselt das Wasser dabei mehrfach von einem Gefäß in ein folgendes. Dies geschieht durch Wandporen, die als Tüpfel bezeichnet werden, und in denen eine feinporige Tüpfelmembran zwei Nachbargefäße voneinander trennt.

Es existieren zahlreiche Studien zum System des pflanzlichen Wassertransportes. Jedoch gibt es nahezu keine Untersuchungen, bei denen die verschiedenen Komponenten des Wassertransportsystems, Klimaparameter, Stammwasserpotential, Blattwasserpotential und stomatäre Leitfähigkeit sowie Kontaktwinkel und Blasenverhalten im Holz in möglichst umfassender Weise simultan und integriert erfasst werden. Dies ist jedoch wichtig, um den Zusammenhang dieser einzelnen Komponenten und ihren Einfluss auf das Gesamtsystem zu evaluieren. Insbesondere ist dies wichtig für die Übertragung in die Technik, da die Randbedingungen für ein funktionierendes System auf diese Weise identifiziert werden können. Diese Gesamtbeschreibung eines funktionierenden natürlichen Systems war ein wesentlicher Aspekt der biologischen Begleitforschung.

4.3 Flüssigkeitstransport in technischen Systemen

4.3.1 Grundlagen zur Kapillarität

Flüssigkeiten, die mit einem Rohr mit sehr engem Querschnitt, einer Kapillare in Berührung kommen, zeigen aufgrund von Oberflächen- und Grenzflächenspannungen den Kapillareffekt. Bei hydrophiler Kapillaroberfläche steigt der Flüssigkeitsspiegel, genannt Kapillaraszension. An der oberen Grenzfläche zwischen Flüssigkeit und Luft bildet sich ein konkaver Meniskus aus. In diesem Fall übersteigt die Adhäsionskraft die Kohäsionskraft (Harten 2009). Andererseits ist bei hydrophober Oberfläche rechts im Bild ein Absinken des Flüssigkeitsspiegels zu beobachten, die

Kapillardepression. Der Meniskus bildet eine konvexe flüssig-gas Grenzfläche wobei sich Adhäsions- und Kohäsionskraft umgekehrt verhalten (Harten 2009; Butt 2006). Zusätzlich eingezeichnet ist der Kontaktwinkel, ein Maß für die Benetzbarkeit.

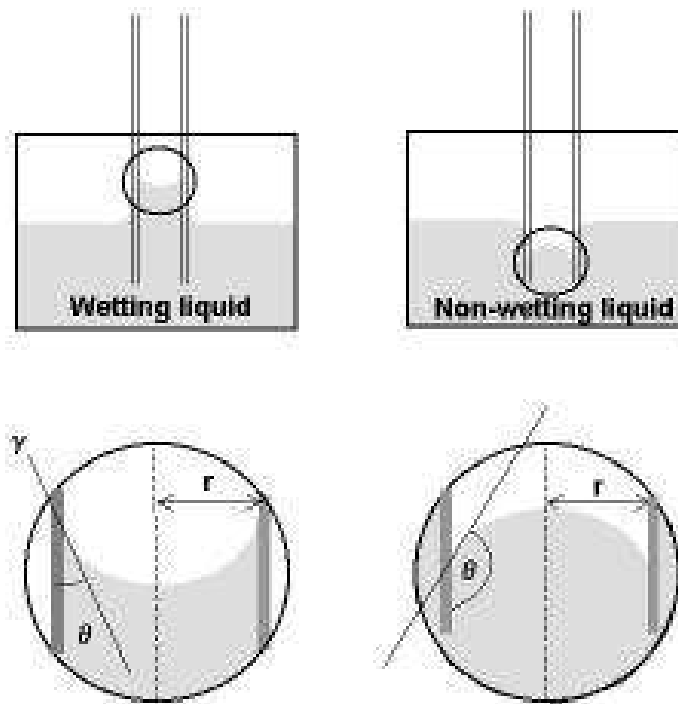


Abb. 1: Entwicklung des Flüssigkeitsspiegel in einer Kapillare (oben) und Kapillarszension bzw. Kapillardepression (unten)

Kohäsion

Kohäsion bezeichnet den intermolekularen Zusammenhalt. Wasser ist durch seine Dipol Moleküle in der Lage Wasserstoffbrücken über Van-der-Waals Kräfte auszubilden, die in der Lage sind sehr großer Zugbeanspruchung standzuhalten. So ist der Wasserfaden in einer Kapillare unter Zugbeanspruchung durch den Kapillareffekt sehr reißfest (Daniel 1997).

Adhäsion

Adhäsionskräfte wirken hier zwischen der Flüssigkeit und der Kapillarwand. Auch hier sind elektrochemische Wechselwirkungen aufgrund der Stoffeigenschaften auslöser dieses Phänomens. Je größer die Adhäsionskräfte umso besser folglich die Haftung zwischen Flüssigkeit und Wand (Daniel 1997).

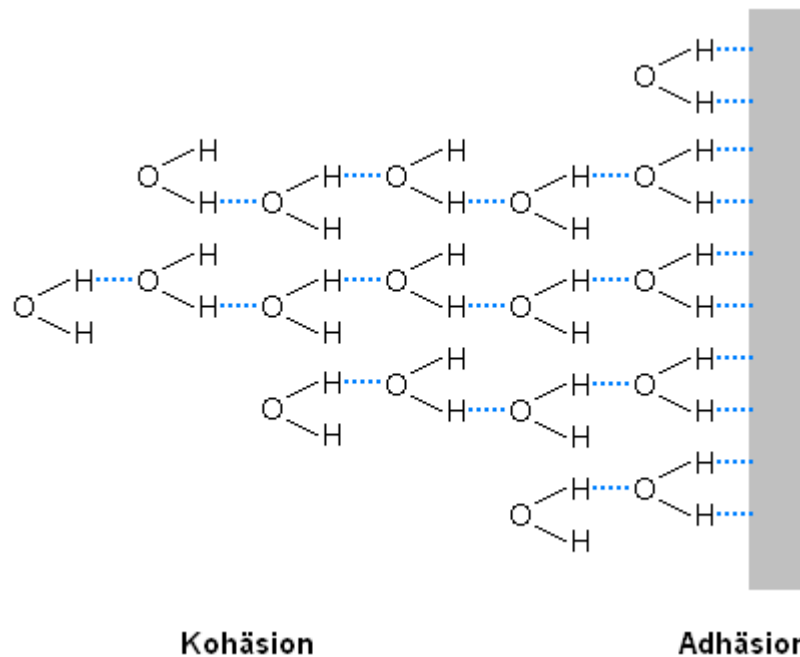


Abb. 2: Kohäsion und Adhäsion zwischen Flüssigkeit und Wand

Der Lotuseffekt ist hier ein schönes Beispiel für das Zusammenspiel aus Kohäsions- und Adhäsionskräften. Da die Blattoberfläche des Lotus hydrophob, also sehr schlecht benetzbar ist, perlt der durch Kohäsionskräfte geformte Wassertropfen einfach ab. Die Adhäsionskräfte sind dabei sehr gering.

Benetzbarkeit

Die Benetzbarkeit ist ein Phänomen der Grenzflächenbildung zwischen Gas-, Fest- und Flüssigphase. Sie ist abhängig von den jeweiligen Oberflächenenergien der beteiligten Stoffe. Sichtbar wird diese durch den Kontaktwinkel θ , der sich zwischen Feststoff und Flüssigkeitstropfen ausbildet (Paus 2007).

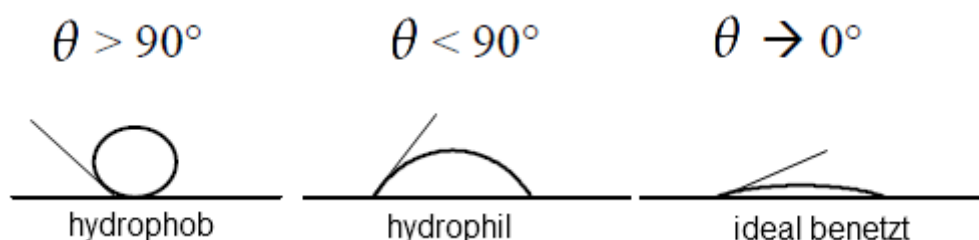


Abb. 3: Vollständige Benetzung findet bei ca. $\theta = 0^\circ$ statt. Die Oberfläche ist hydrophil. Bis 90° spricht man von Teilbenetzung bei abnehmender Hydrophilie. Bei $\theta > 90^\circ$ verhält sich die Oberfläche hydrophob (Paus 2007).

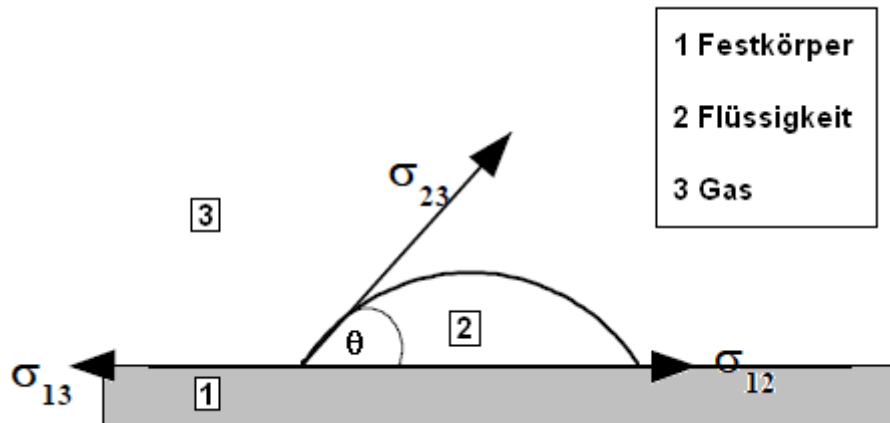


Abb. 4: Kontaktwinkel θ zwischen den Phasen, σ_{12} ; Grenzflächenspannung: Festkörper – Fluid, σ_{13} ; Grenzflächenspannung: Fluid – Gas, σ_{23} ; Oberflächenspannung Fluid

$$\cos \theta = \frac{\sigma_{13} - \sigma_{12}}{\sigma_{23}}$$

Gl. 1

Die Werte für die Oberflächen- und Grenzflächenspannungen finden sich in diverser Fachliteratur zu entsprechenden Stoffeigenschaften wieder. Gemessen werden kann der Kontaktwinkel mit unterschiedlichen Methoden, beispielsweise mit einem Tensiometer (S. Abb. 18). Aus den Erkenntnissen ausgehend kann man hier sagen dass für das Ansteigen des Wasserspiegels in einer Kapillare eine möglichst hydrophile Kapillarwand von Nöten. Die Entwicklung faserbasierten Wasserleitelemente sollten ebenfalls möglichst hydrophile Oberflächen Eigenschaften besitzen.

Technische Systeme, die niederviskose Flüssigkeiten über große Strecken energiefrei transportieren, existieren bislang noch nicht. In dem hier vorgeschlagenen Projekt soll ein besonders effizienter Wasserleitmechanismus für flüssigkeitsttransportierende auf der Basis technischer Textilien konzipiert und erarbeitet werden.

4.3.2 Flüssigkeitstransport in Textilien

Der Flüssigkeitstransport auf Basis von Kapillarkräften in Faserstrukturen wird über kurze Distanzen bereits in vielen Anwendungen eingesetzt wie Kerzen- und Lampendochte, Geotextilien, Dochte zur Bewässerung und weitere. Der Mechanismus wurde in der Vergangenheit nur für einige Spezialanwendungen detaillierter erforscht bzw. empirisch optimiert:

In Schutzbekleidungssystemen ist der ausreichende Schweißtransport eine grundlegende Forderung, dem durch entsprechende Textilkonstruktionen Rechnung getragen wird.

Polsterbezüge für Automobilsitze müssen in der Lage sein, den Schweiß des Fahrers in tiefere Textilschichten abzuleiten.

In der Brennstoffzelle haben Vliese aus Carbonfasern die Aufgabe, das entstehende Wasser schnell abzutransportieren.

In der Bewässerung werden Dochte aus Glasfasern eingesetzt, die eine Wassertransporthöhe von 15-20 cm erreichen.

Zumeist liegt diesen Systemen eine starke Kapillarwirkung mit geeigneter Kombination von hydrophilen und hydrophoben Oberflächen zugrunde. Die zur Zeit bekannten technischen Textilien sind in der Lage, Wasser über eine Höhe von maximal 15 bis 20 cm zu fördern (Ortmann; Brownless 1996). Die Transportgeschwindigkeit ist jedoch sehr niedrig und liegt bei einigen Zentimetern pro Stunde. Bislang konnten noch keine technischen Lösungen entwickelt werden, um über längere Distanzen hinweg Flüssigkeiten ohne mechanische Pumpensysteme zu transportieren und zudem höhere Transportgeschwindigkeiten – und damit auch höhere Transportraten – zu erreichen. In diesem Projekt werden die entwickelten faserbasierten Flüssigkeitstransportsysteme auf die Wasserförderung orientiert untersucht sowie in der Bewässerung zur Entwicklung neuartiger Bewässerungssysteme erforscht. Der Stand zur in der Anwendung bereits eingesetzte Bewässerungssysteme werden im Folgenden vorgestellt.

Landwirtschaftliche Bewässerungssysteme

Oberflächenbewässerung

Bei der Oberflächenbewässerung wird das Wasser über den Zuleitkanal oberirdisch verteilt. Dabei liegt die Wassernutzungseffizienz bei nur 40-50%.

Unterflurbewässerung

Die Unterflurbewässerung beruht auf dem System der Anhebung des Grundwasserspiegels durch an den Seiten des Feldes mit Wasser gefüllte Gräben und einem undurchlässigen Untergrund. Hinzu kommt, dass ein unterirdisches Rohrsystem nötig ist, was einen starken Eingriff in die Natur erfordert.

Eine Systemlösung wurde durch Internationale Geotextil Gesellschaft mbH über seine Vertriebsgesellschaft Eco Rain aktuell auf den Markt gebracht. Die Wassereinsparung beträgt dabei 70 Prozent. Gegenüber dem Ansatz des vorliegenden Projektes sind die Notwendigkeit einer Pumpe oder eines Gefälles als derzeitige Nachteile zu nennen.

Beregnung

Bei dem System der Beregnung wird das Wasser auf die Pflanzen gesprüht, was eine Wassernutzungseffizienz von 60-70% ergibt.

Tropfenbewässerung

Dieses System hat die höchste Wassernutzungseffizienz (80-90%) aber auch die höchsten Installationskosten.

Kapillar-Bewässerungsverfahren im Gartenbau und Privatbereich

Docht-Bewässerung:

Die Dochte werden in der Bewässerung zum größten Teil aus mikrofeinen Glasfasern in Form eines Faserbündels eingesetzt. Diese Dochte besitzen eine große Kapillarität, eine große Oberfläche und damit hohe Kontaktfläche zum Substrat. Ein auf dem Markt angebotenes Produkt sind die Dochte der Fa. Ortmann-Kapillarbewässerung (Ortmann). Für diese Art der Bewässerung ist eine großflächige Befeuchtung der Erde nötig. Dementsprechend kommt es auch hier zu einem Verlust durch Verdunstung.

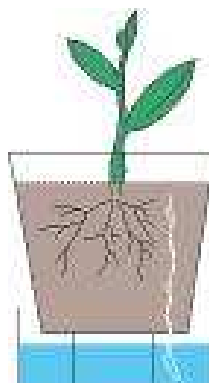


Abb. 5: Docht-Bewässerung für Topfpflanzen (Ortmann)

Bewässerung mit Kapillarmatten:

Kapillarmatten werden je nach Bedarf der Pflanze bewässert. Die Gießmenge wird von den jeweiligen Gärtnern oder Mitarbeitern bestimmt. Da das Überschusswasser aus der Matte verdunstet, liegt der Wasserverbrauch auch hier über dem tatsächlichen Wasserbedarf der Pflanze. Von Nachteil bei dieser Bewässerungsmethode ist die schlechte Wasserverteilung in den Matten.

Aus der Analyse des Stands der Technik leiten wir für die zu entwickelnden neuen Bewässerungssysteme folgende angestrebten Vorteile ab:

- Reduzierung des Wasserverlustes durch bedarfsgerechte Bewässerung

- Kontinuierliche Bewässerung ohne Pumpen, wobei die Fördermenge des Wassers allein von der Pflanze reguliert wird → Verzicht auf Sensorik und elektronische Regelung
- Wartungsfreiheit durch Aufbereitung und Reinigung von verschmutztem Wasser zur sauberen Wasserversorgung der Pflanzen durch die in den Eintritts- und Austrittstellen integrierten Filter

Durch das angestrebte neue System ergeben sich die folgenden wirtschaftlichen und ökologischen Vorteile:

- Wassernutzungseffizienz von ca. 100%
- Keine Energiekosten für den Wassertransport
- Reduzierung der sonst für die Bewässerung notwendigen Personalkosten
- Kein Fachpersonal für Unterhaltung notwendig
- Keine schädlichen Folgen wie Versalzungserscheinungen für die Natur
- Die landwirtschaftliche Nutzung von minderwertigen Böden wird möglich

Die bisher bekannte, maximale Höhe des transportierten Wassers durch die Kapillarität beträgt bei technischen Textilien 15 bis 20 cm. In diesen Systemen beruht der Flüssigkeitstransport meist auf einer starken Kapillarwirkung in Verbindung mit hydrophilen bzw. hydrophoben Oberflächen.

5 Zusammenarbeit im Verbundvorhaben

Das Verbundprojekt wurde entsprechend der Fachkompetenzen in einer engen Kooperation von zwei Instituten und zwei Industriebetrieben bearbeitet und in 4 Teilprojekte angegangen (Tab. 1):

Teilvorhaben	Thema	Bearbeiter
1	Entwicklung und Erprobung textiler Werkstoffe mit funktionellen Oberflächen	Institut für Textil- und Verfahrenstechnik, Denkendorf TWD-Fibers Deggendorf
2	Analyse biologischer Vorbilder zur Entwicklung bionischer Konzepte	Institut für Geowissenschaften der Universität Tübingen
3	Entwicklung textiler Fasermaterialien und Durchführung der Untersuchungen sowie Entwicklung von hydrophilen Ausrüstungen	Institut für Textil- und Verfahrenstechnik, Denkendorf TWD-Fibers Deggendorf CHT Tübingen
4	Entwicklung neuartige Bewässerungssysteme und Erprobung von Prototypen	Institut für Textil- und Verfahrenstechnik, Denkendorf Institut für Geowissenschaften der Universität Tübingen

Tab. 1: Verbundpartner und Aufgaben im Projekt

Ferner war das HZB, vormals das Hahn-Meitner Institut, ein weiterer wesentlicher Kooperationspartner, der im Unterauftrag wertvolle biologische Analysen durchführte. Einige lichtmikroskopische Studien wurden in Zusammenarbeit mit der Plant Biomechanics Group der Universität Freiburg durchgeführt. Außerdem bestand eine intensive Kooperation mit dem Botanischen Garten der Universität Tübingen.

Die **Fa. TWD Fibres GmbH, Deggendorf** ist seit 2005 ein Unternehmen der Daun & Cie. Gruppe und international erfolgreich in der Chemiefaserindustrie tätig. Die TWD wurde 1959 gegründet und erzielt mit ca. 830 Beschäftigten einen Umsatz von ca. 100 Mio. Euro. Produziert werden vorwiegend hochwertigste Garne für den Einsatz im Automobil-, Bekleidungs- und Heimtextilsektor. Dabei werden die Technologien der Spinnerei, Texturierung, Färberei sowie Qualitätsmanagement eingesetzt. Die Fa. TWD sieht ihre Zukunft – im Hinblick auf die asiatische Konkurrenz - vor allem in innovative High-Tech Fasermaterialien.

Das **Institut für Textil- und Verfahrenstechnik (ITV) Denkendorf** unterstützt mit ca. 200 Mitarbeitern kleine und mittlere Unternehmen in Forschungs- und Entwicklungsprojekten in Form der industriellen Gemeinschaftsforschung. Die

Arbeitsfelder sind an diesem Hauptziel orientiert und decken die ganze Bandbreite der Textiltechnologie und angrenzender Bereiche ab. In Ergänzung zur wissenschaftlich orientierten Arbeit werden Auftragsforschung und Informationsverteilung angeboten. Alle Projekte konzentrieren sich auf die Entwicklung neuer bzw. die Verbesserung existierender Technologien und Produkte.

Das vorliegende Projekt wurde in der Forschungsgruppe Umwelttechnik/Technische Textilien bearbeitet.

Das **Institut für Geowissenschaften der Universität Tübingen** (IFG) bearbeitet seit vielen Jahren Studien zum Form/Funktionszusammenhang des pflanzlichen Wassertransportes und Wärmeaustausches sowie der evolutiven Anpassung entsprechender Gewebe. Insbesondere basieren diese Studien auf numerischen Methoden. Es werden jedoch auch mathematisch-analytische Studien durchgeführt sowie anatomische Untersuchungen (licht- und elektronenmikroskopisch) zum Struktur-Funktionszusammenhang. Die Studien umfassen neben Fragestellungen zum Wasser- und Wärmetransport auch Grenzflächeneffekte und Gasaustausch.

Das IFG ist zusammen mit dem ITV Denkendorf Mitglied der Bionik-Netzwerke „BIOKON“ (gefördert durch das BMBF) und Kompetenznetz Biomimetik „Pflanzen und Tiere als Ideengeber für die Entwicklung biomimetische Materialien und Technologien“ (gefördert durch das Land Baden-Württemberg).

Als assoziierte industrielle Partner wirkten mit:

Fa. Mattes&Ammann KG

Fa. CHT R. Beitlich

Fa. Ploucquet Holding GmbH

Fa. Brückner Plant Technologies GmbH & Co. KG

Aufgrund der laufend neuen Erkenntnisse konzentrierten sich die Arbeiten auf die Fa. CHT. Die Fa. **CHT** ist ein global operierendes Chemieunternehmen. Die spezifische Einsatzgebiete der Produkte erstrecken sich auf dem Gebiet der Textilhilfsmittel auf die Bereiche Faserhilfsmittel, Vorbehandlung, Färberei, Garment, Ausrüstung, Beschichtung, Druckerei, Siebdruck, Bauchemie/Petfood, Farbstoffe (BEZEMA), und Textilpflege. Im Projekt wurden insbesondere die Möglichkeiten der Fa. CHT zur Veränderung der Oberflächeneigenschaften von Fasern bzw. Textilien eingesetzt und hier Chemikalien bzw. Hilfsmittel bereitgestellt bzw. Versuchsreihen im Technikum der CHT gefahren.

II. Eingehende Darstellung

1 Teilvorhaben 1: Universität Tübingen und HMI Berlin

Das Vorhaben enthielt die biologische Begleitforschung, bei dem die Struktur und Funktionsweise des Wasserleitsystems von Holzpflanzen charakterisiert wurde, um die für die technische Übertragung notwendigen Prinzipien zu identifizieren.

Im Fokus dieser Arbeit standen Lianen, da diese für ihre außergewöhnlichen Wasserleiteigenschaften bekannt sind. Diese versorgen meist eine große Blattbiomasse in großer Höhe über relativ geringe Stammquerschnitte mit Wasser und weisen dementsprechend effektive Wassertransporteigenschaften auf. Mehrere tropische und gemäßigte Lianen aus dem botanischen Garten in Tübingen wurden daher im Rahmen dieses Projektes untersucht.

Die Herausforderung, Wasser über lange Strecken unter Zugspannung, also unter Auftreten negativer Drücke zu transportieren, forcierte Kletterpflanzen im Laufe der Evolution dazu, Mechanismen entwickeln um

- Embolien möglichst zu vermeiden,
- den Wassertransport trotz Embolien zu gewährleisten und
- Embolien zu reparieren.

Das am Standort Tübingen ausgeführte Begleitprojekt untersuchte, ob und wie derartige Funktionalitäten am biologischen Vorbild auftreten und evaluierte die Relevanz der Ergebnisse für die technische Anwendung.

1.1 Umfeld der Arbeiten

Die Projektgruppe „Funktionelle Morphologie und Biomimetik“ ist angesiedelt am Arbeitsbereich für Biogeologie und angewandte Paläontologie des Institutes für Geowissenschaften, Universität Tübingen, und ist Mitglied im bundesweiten Kompetenznetz BLOKON und im Kompetenznetz Biomimetik des Landes Baden-Württemberg. Zu den Kernkompetenzen der Projektgruppe gehört die Erforschung der Zusammenhänge zwischen organismischen Strukturen und Fluidbewegungen (funktionelle Morphologie und Anatomie, Modellbildung, Simulation). Verschiedene Forschungsprojekte befassen sich thematisch mit der bionischen Anwendbarkeit von biologischen Fluid-Struktur-Interaktionen (z. B. BMBF: Ideenwettbewerbe Bionik 2004 und 2006): Durch die bisherigen Forschungsarbeiten steht ein umfangreiches Know-How zur Untersuchung biologischer Strömungsprozesse zur Verfügung.

Die Arbeiten wurden am Institut für Geowissenschaften (IFG) der Universität Tübingen ausgeführt. Dort stand die dafür wesentliche Infrastruktur zu Verfügung. Insbesondere die Kooperation mit dem Botanischen Garten der Universität Tübingen

ist hier zu nennen. Diese beschränkte sich nicht nur auf die Versorgung mit benötigtem Pflanzenmaterial, sondern auch auf die Möglichkeit, Arten am natürlichen Standort im Garten direkt zu untersuchen. Ferner waren die Arbeiten eng in die Projektkooperation mit den Mittragstellern (ITV Denkendorf) eingebettet. Zudem bestand während der ersten Hälfte des Projektes eine enge Zusammenarbeit mit dem Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie GmbH (HZB) in Berlin, das ebenfalls ein Projektkooperationspartner war. Die am HZB ausgeführten Untersuchungen, vor allem die Neutronenstrahlexperimente in Zusammenarbeit mit Dr. C. Tötze, stellten wertvolle innovative Studien dar (siehe weiter unten im Bericht).

Die für die biologische Begleitforschung geeigneten Zielarten wurden aus einer Gruppe von Lianen nach folgenden Kriterien evaluiert:

- Effizienz des Wassertransportes (hohe Durchflussraten)
- Holzanatomie (große Leitgefäße).

So wurden insbesondere *Aristolochia macrophylla*, *Parthenocissus quinquefolia* und *Clematis vitalba* aus gemäßigten Klimazonen und *Adenia lobata*, *Aristolochia brasiliensis* und *Bauhinia cumingiana* aus tropischen Klimazonen untersucht. Außerdem wurde das ökophysiologische Verhalten dieser Lianen mit den Bäumen *Paulownia fortunei* (großen Blätter) und *Tilia cordata* (Baum mit kleinen Blättern) verglichen.

Die Arbeiten wurden in enger Kooperation mit der Universität Tübingen IUG, der Fa. TWD-Fibers Deggendorf, dem Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie GmbH (HZB) und dem Botanischen Garten der Universität Tübingen durchgeführt. Die wissenschaftlichen Untersuchungen an Lianen (mit Ausnahme der Neutronenradiographie) wurden überwiegend am Institut für Geowissenschaften in der AG Paläontologie und Biogeowissenschaft der Universität Tübingen durchgeführt, und einige Ergänzungsstudien am ITV.

Die Entwicklungen zur technischer Realisierung sowie Herstellung von faserbasierten Leitelementen wurde in Zusammenarbeit mit TWD-Fibers Deggendorf und ITV Denkendorf erfolgt. Im ITV wurden Verfahrenstechnische und Messtechnische Entwicklungen durchgeführt sowie die Prototypen wurden im Labormaßstab getestet.

Die weitgehenden Feldversuche mit entwickelten Prototypen (technischen Faserbündeln), soweit sie in Tübingen erfolgten, wurden im Botanischen Garten der Universität Tübingen durchgeführt.

Die Neutronenstrahlexperimente fanden am HZB statt, wobei hier Dr. Christian Tötze der unmittelbare Ansprechpartner war.

1.2 Planung und Ablauf

Die biologische Begleitforschung gliederte sich in folgende Abschnitte, die der genauen Erfassung der Leistungsfähigkeit und Struktur des bionischen Vorbildes dienen:

Von Anfang an konzentrierten wir uns auf Lianen, da viele Hinweise darauf existieren, dass diese Pflanzengruppe hohe Leitfähigkeiten aufweisen muss, um eine große Blattbiomasse über relativ dünne Sprossachsen mit Wasser versorgen zu können.

Mittels Durchflussexperimenten, bei denen ein bekannter Druckgradient eine Wasserströmung durch Probestücke der betrachteten Lianen antrieb, wurde die Leitfähigkeit der Zielarten ermittelt. Parallel dazu erfolgte die Untersuchungen der entwickelten faserbasierten Leitsysteme an Volumenfluss und Leitfähigkeit.

Um genaue Kenntnisse über den Zusammenhang von Form/Struktur und funktionalen Charakteristiken zu erhalten, wurden die Untersuchungspflanzen bezüglich ihrer Holzanatomie und Mikrostruktur der einzelnen Leitbahnelemente untersucht und dokumentiert.

Aus diesen Kenntnissen ausgehend wurde im Zusammenarbeit mit TWD-Fibers Fasern und Leitelemente im ITV Denkendorf entwickelt, welche von der Oberflächeneigenschaften und Geometrie her den natürlichen Vorbildern ähneln.

Ökophysiologische Untersuchungen bezüglich der Wasseraufnahme, des Wassertransportes und der Wasserabgabe der Untersuchungspflanzen

Eine gründliche Kenntnis der Parameter des pflanzlichen Wassertransports läßt auch die Leistungsfähigkeit eines entsprechenden technischen Konstruktes besser erkennen. Als zentraler Parameter soll dabei die tages- und jahreszeitliche Dynamik des Wasserpotentials im Xylem und in den Blättern aufgenommen werden und in Bezug zu mikroklimatischen Faktoren sowie Transpirationsraten gestellt werden.

Die durchgeführten Untersuchungen dazu sind:

- Dynamik der stomatären Leitfähigkeit von Blättern von *Aristolochia macrophylla*
- Experimente zur Visualisierung des Wassertransportes in Lianen durch Neutronenradiographie (mit HZB)
- Kontaktwinkelmessungen an Kapillarwänden

Experimente zur energieautarken Wasserleitung durch Synthesefasersysteme (mit ITV Denkendorf)

Viele der aufgeführten Arbeitspunkte wurden zum größten Teil parallel ausgeführt, bzw. erstreckten sich über die gesamte Projektlaufzeit. Hierzu ist zu bemerken, dass

der Zeitablauf bei der Arbeit mit biologischem Material von den biologischen Rhythmen diktiert wird. So wurden die ökophysiologischen Studien und die Messungen der stomatären Dynamik über drei aufeinanderfolgenden Vegetationsperioden durchgeführt, um genügend statistisch belastbare Daten zu erhalten.

Die gemeinsamen Experimente zur Neutronenradiographie fanden vom 19.9.2009 bis zum 29.9.2009 statt, am HZB in Berlin. Mindestens ein Monat vor diesen Untersuchungen wurde für die Vorbereitungen in Tübingen benötigt.

Während der gesamten Projektlaufzeit fanden regelmäßig Statusbesprechungen und Seminare mit den Projektpartnern statt. Ferner wurde das Projekt regelmäßig zu den BIONA-Meetings in Berlin vorgestellt.

1.3 Laborstudien zu Anatomie und Leitfähigkeit

Verschiedene Lianen-Arten wurden bezüglich ihrer Anatomie und hydraulischen Eigenschaften untersucht.

Probennahme: Botanischer Garten, Tübingen, Freiland im Raum Tübingen.

Anatomie

Die Anatomie zum Holzkörper und damit zum Xylem der Lianen wurde mittels Lichtmikroskopie und Rasterelektronmikroskopie (REM) analysiert. Die Messung der Gefäßlängen und ihrer Durchmesser erfolgte mit der Druckluft -Methode von Ewers & Fisher (1989). Die Erfassung der Holzterminologie folgt der IAWA Nomenklatur (International Association of Wood Anatomists) (Wheeler, Baas et al. 1989). Die folgenden Untersuchungen wurden erfolgt:

- Messung der Gefäßlängen (Ensikat & Barthlott 1993)
- Wasserleitfähigkeit des Lianenholzes (Durchflussexperiment Sperry, Donnelly et al. 1988).
- Kontaktwinkelmessungen (Kohonen 2006)
- Beobachtung von Luftblasen in Gefäßen

1.4 Neutronenradiographie (mit HZB)

In diesem Projektteil wurde die Wasserdichte in intakten Lianenpflanzen untersucht, und auf etwaige Embolieereignisse getestet. Für die Visualisierung des Wasseraufstiegs in Pflanzen bietet sich die Neutronen-Radiographie als nichtinvasives, bildgebendes Verfahren an. Die maximal erreichbare Auflösung des Verfahrens liegt im Bereich von 100 µm, also genau im Bereich des typischen Durchmessers vieler Gefäße. Bei diesem Verfahren wird eine kalte Neutronenquelle

benötigt, die die Ableitung eines Neutronenstrahles auf das Untersuchungsobjekt erlaubt. Eine entsprechende Einrichtung steht am HZB zur Verfügung. Die Einrichtung besteht aus der Experimentalstation CONRAD, wobei der Forschungsreaktor BER-II die Quelle der kalten Neutronen darstellt. Der Strahl passiert ein System an dessen Ende eine kreisrunde Apertur von 2 cm Durchmesser einen Neutronenflux mit einer Wellenlänge zwischen 2 and 12 Å und einer Dichte von etwa $10^6 \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ liefert. Die zu untersuchenden Objekte wurden vor einem Szintillator platziert, der eine neutronensensitive Schicht von etwa 50 µm Dicke aufwies, bestehend aus Lithiumfluorid. Bei Stimulation durch Neutronen sendet diese Schicht Licht aus, welches durch einen Spiegel in eine Kameralinse einer 16 bit CCD Kamera (Andor DW436N-BV) geleitet wird. Bilder wurden etwa alle 24 Sekunden aufgenommen.

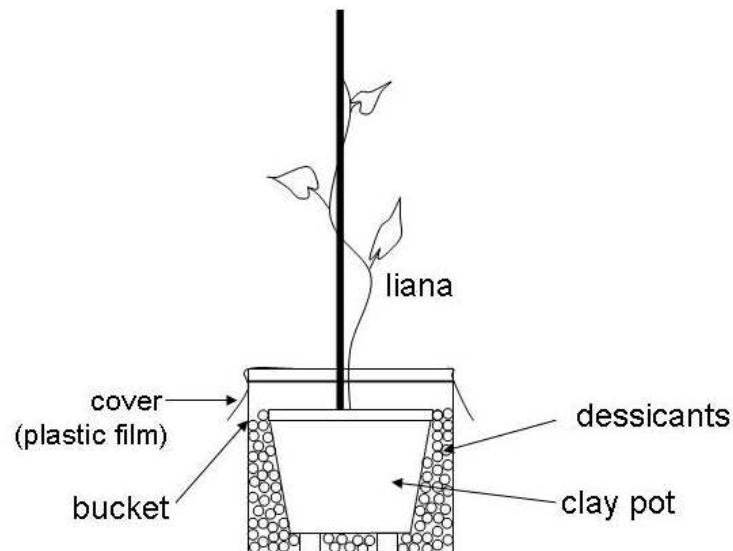


Abb. 6: Zeigt den Aufbau des Pflanzmediums zur Erzeugung von Wasserstress vor dem Experiment mit Neutronenradiographie.

Mittels Bildverarbeitung (von dem aktuellen Bild wird das vorherige subtrahiert) lässt sich dann die Änderung der Wasserdichte feststellen und somit das etwaige Auftreten von Embolien nachweisen. Die folgenden Arten wurden verwendet: *Aristolochia macrophylla*, *Parthenocissus quinquefolia*, *Parthenocissus tricuspidata*, *Clematis vitalba* und *Adenia lobata*. Die Pflanzen wurden in speziellen Töpfen eingebracht, die kontrolliertes Austrocknen und damit Wasserstress ermöglichten (Abb. 6). Hierzu wurde das Trocknungsmittel Siliziumdioxid verwendet. Zusätzlich zum Trocknungszustand wurden andere Manipulationen verwendet und auf Embolieauslösung getestet: Vibrationen, Einstiche sowie Anschnitte.

1.5 Feldstudien

Zur Entwicklung eines biomimetisch inspirierten Wasserleitsystems war es notwendig zu wissen, wie der Wassertransport im Gesamtkontinuum Boden-Liane-Atmosphäre funktioniert und auf Stresssituationen reagiert. Aus diesem Grund wurden an verschiedenen im botanischen Garten Tübingen (Arboretum und Tropicarium) angesiedelten Lianen ökophysiologische Messungen durchgeführt und in Beziehung zu den klimatischen Randbedingungen gesetzt. Im Rahmen mehrerer Messkampagnen erfolgte ein Monitoring von 1) Stammwasserpotential durch Stammpsychrometrie (Steplog), 2) Blattwasserpotential durch Presssaftpsychrometrie (Psypro), 3) Messung der stomatären Leitfähigkeit durch Porometrie (AP-Porometer) und 4) simultane Erfassung der Klimaparameter durch eine mobile Klimastation. Vor Beginn der Messkampagne wurden die Geräte und Messmethoden an bereits mit diesen Geräten untersuchten Pflanzen wie *Sambucus nigra* (Vogt 2001) überprüft. Es wurden Messungen im Freiland und in Gewächshäusern (bei tropischen Arten) durchgeführt.

Ort der Untersuchungen und Pflanzenmaterial

Die untersuchten Pflanzen im Arboretum des botanischen Gartens siedeln an einem Südhang (48°32'26.16"N; 9°2'2.56"E, 412 m) auf tonigem Boden über Knollenmergel. Das Bodenwasserpotential lag während der gesamte Messzeit bei relativ konstanten Werten von -0.1 MPa.

Stammwasserpotentialmessungen

Das Wasserpotential im Xylem ist eine zentrale Größe beim Wassertransport durch die Pflanze und steht in engem Zusammenhang mit Kavitation und Embolieroperatur. Je niedriger das Wasserpotential, um so „ungesättigter“ ist das System mit Wasser. Das Wasserpotential gibt somit an, wie stark die Zugspannung im Xylem ist. Bilden sich in einem wässrigen Medium Gasblasen, so ist deren Verhalten in entscheidender Weise von dem Wasserpotential der sie umgebenden Flüssigkeit abhängig. Ob Blasen sich auflösen, hängt von ihrem Radius sowie vom Wasserpotential ab (Konrad & Roth-Nebelsick 2003). Um das Wasserpotential im Xylem zu messen, wurde ein Stamm Psychrometer verwendet.

Das Stammwasserpotential wurde in situ mit einem Stammpsychrometer (Plant Water Status Instruments, Canada) (Abb. 7) an *Aristolochia macrophylla* gemessen. Dieses Gerät ist zurzeit das einzige, das das Wasserpotential an der Stammbasis einer intakten Pflanze messen kann. Das Stammwasserpotential wurde von 2009 bis 2011 während der Vegetationsperiode im 60 Minuten-Takt aufgenommen. Die Kalibrierung des Instruments wurde mit 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 and 0.9 molalen (mol kg^{-1}) NaCl Lösungen bekannten Wasserpotentials bei 20°C durchgeführt (Lang, 1967).

Der Stammpsychrometer wurde an einem beschatteten Teil des Stammes installiert und die Messkammer mit Styropor isoliert um Temperaturschwankungen zu minimieren. Die Messwerte wurden täglich kontrolliert und das Gerät bei Bedarf neu installiert. Die Werte der ersten 5 Stunden nach Neuinstallation wurden nicht verwendet, um Daten nach Einstellung des Gleichgewichtes zu erhalten.



Abb. 7: Stammpsychrometer an *Aristolochia macrophylla* (l.) zur Aufnahme des Wasserpotentials im Xylem (r.).

Blattwasserpotential

Zum Vergleich mit dem Stammwasserpotential auf der einen Seite und der stomatären Konduktivität auf der anderen Seite wurde daher auch das Blattwasserpotential mit einem Psychrometer (PSYPRO, Wescor) gemessen.

Messungen wurden durchgeführt vom 26.6.2009-31.7.2009 und vom 28.6.2010 bis 28.7.2010. Auf diese Weise wurden die zentralen Zeiträume der Vegetationsperiode erfasst.

Das Blattwasserpotential wurde durch Presssaft, gewonnen mit der Markhart Leaf Press (Wescor, Inc., Logan, Utah, USA), ermittelt (Abb. 8).



Abb. 8: Blatt-Psychrometer (Psypro) mit Messkammer und Zubehör.

Messungen der stomatären Leitfähigkeit

Der Wasserverlust infolge Transpiration an den Blättern durch die Stomata stellt die „Pumpe“, oder besser ausgedrückt, den Sog dar, der Wasserströmung durch das Xylem antreibt. Die stomatäre Leitfähigkeit, also die momentane Durchlässigkeit dieser Mikroporen für Wasserdampf, ist mittels eines Porometers wie das AP4 möglich (Abb. 9).

Der Tagesgang der Leitfähigkeit wurde an Blättern verschiedener Arten gemessen: *Aristolochia macrophylla*, *Clematis vitalba*, *Paulownia fortunei* und *Tilia cordata*. Die Messung erfolgte an verschiedenen Blattposition, was insbesondere für die sehr großen Blätter wesentlich war (Abb. 10).

Für jeden Messzyklus (= stündliche Messung) wurden mindestens 4 Blätter pro Art verwendet.

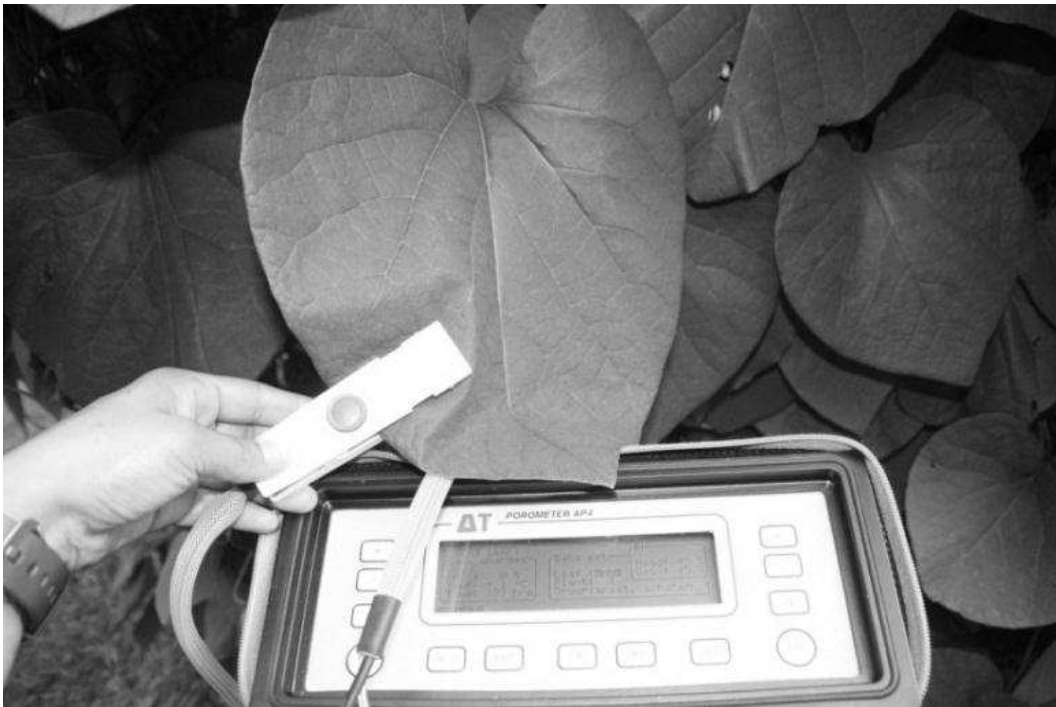


Abb. 9: Porometer AP4, mit welchem die Blattleitfähigkeit gemessen wurde.

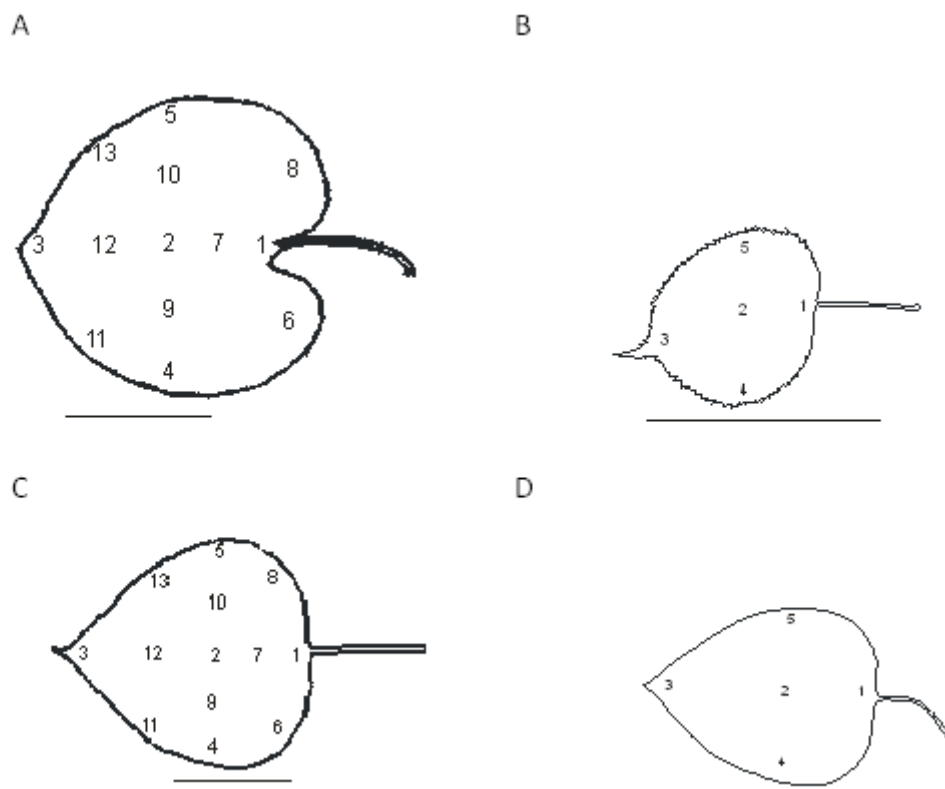


Abb. 10: Definierte Messpunkte zur Erfassung der lokalen Blattleitfähigkeit. A. *macrophylla* (A), *T. cordata* (B). *P. fortunei* (C) und *C. vitalba* (D).

1.6 Ergebnisse

1.6.1 Feldstudien

Als Feldstudien werden im Folgenden sowohl die Untersuchungen an Freilandmaterial als auch an Gewächshausmaterial bezeichnet. Das Material stammte in allen Fällen aus dem Botanischen Garten der Universität Tübingen.

Monitoring des Xylemwasserpotential mittels Psychrometrie an *Aristolochia macrophylla*

Bei *A. macrophylla* handelt es sich um eine Liane der gemäßigten Klimazone. Während der Untersuchungen stellte sich schon bald heraus, dass diese Art als biologisches Vorbild geeignet ist (siehe weiterfolgende Abschnitte). Daher konzentrierten sich die ökophysiologischen Studien zur Transpirationsregulation frühzeitig auf diese Art.

Die Blätter von *A. macrophylla* sind sehr groß. Der leitende Querschnitt des Stammes ist hingegen recht klein (Abb. 10 und Abb. 11). Das Stammwasserpotential reagiert intensiv auf den Tagesgang des atmosphärischen Wasserpotentials (Abb. 11), als Resultat der bald nach Sonnenaufgang einsetzenden Transpiration an den Blättern. Die Korrelation dieser beiden Größen ist daher erwartungsgemäß hoch (Pearson's Korrelationskoeffizient, $r = 0.659$, Signifikanzniveau $p < 0.001$, $n = 177$). Aufgrund der Kopplung von atmosphärischem Wasserpotential und Lufttemperatur besteht ein ähnlicher Zusammenhang zwischen Stammwasserpotential und Lufttemperatur.



Abb. 11: Pflanze *A. macrophylla* an ihrem Standort. Der obere Ausschnitt zeigt eines der großen Blätter und der untere den schmalen Stamm.

1.6.2 Laborstudien

Anatomie und Leitfähigkeit

Die Ergebnisse von Messung der Gefäßlängen mit der Druckluft-Methode sind in der Tab. 2 zusammengefasst.

Art	SL (m)	SD (cm)	Max. Länge der Gefäße (cm)	Max. Diameter (μm)	Min. Diameter (μm)
<i>A. macrophylla</i>	2	4,2	180	249	5,7
<i>C. vitalba</i>	2,61	6	238	420	5,5
<i>P. quinquefolia</i>	1	4	54	161	5,5
<i>P. tricuspidata</i>	1	4,5	62	136	5,6

Tab. 2: Lianen der Gemäßigten Klimazonen und Gefäßlänge. SL: Stamm-Länge und SD: Stamm-Durchmesser

Mikroskopische Analyse des Xylems

Die durchschnittliche Gefäßweite aller hier betrachteten Lianen beträgt zwischen 50 und 85 μm . Die maximalen Weiten typischer Gefäße sind jedoch weitaus größer. Der größte aufgefunden Durchmesser beträgt 423.9 μm , im Xylem von *Adenia lobata* (Tab. 2). Grundsätzlich weisen fast alle Arten sehr weite Gefäße auf, wie sie typisch für Lianen sind.

Neben den Gefäßdimensionen wurden noch andere Merkmale betrachtet, denen ein Zusammenhang mit der Wasserleitfähigkeit zugeschrieben wird. So besitzen viele Arten der gemäßigten Breiten spiralförmige Skulpturierungen der Gefäßinnenwände. (Carlquist 2001). Hier wird ein Zusammenhang mit Trockenheit oder Gefrieren und damit Embolien vermutet. Physikalische Erklärungen sind jedoch bislang unbefriedigend. Derartige Skulpturierungen wurden für die hier betrachteten Arten zwar nicht gefunden, dafür aber Rinnen, die die Tüpfel miteinander verbinden. Derartige Strukturen werden als "Koaleszente Tüpfelaperturen" bezeichnet. Diese Rinnen weisen einen Durchmesser von 700 nm bis 5.6 μm auf. Ferner wurden Perforationsplatten zwischen Gefäßgliedern gefunden sowie warzenförmige Wandskulpturierungen. Tab. 3 fasst die Merkmale und ihr Auftreten bei den betrachteten Arten zusammen.

Vine species	VD wider (µm)	VD average (µm)	Flow rate cm ³ /h	Active xylem (%)	Wall structure	Wall grooves (µm)	SPP	ScPP	VT	VT
<i>A. macrophylla</i>	249	52,6	69.7	55	SG	2-5.6	○	—	○	○
<i>P. quinquefolia</i>	196	78,9	26.5	61.8	SG	0.7-2	○	—	○	○
<i>A. brasiliensis</i>	219	53,1	35.2	60	W	1-3.6	○	—	—	—
<i>B. cumingiana</i>	203	84,3	61.4	84	S	1-2.8	○	—	—	—
<i>Adenia lobata</i>	423	57,8	69.2	73.2	S	1-4.3	○	—	—	—

Tab. 3

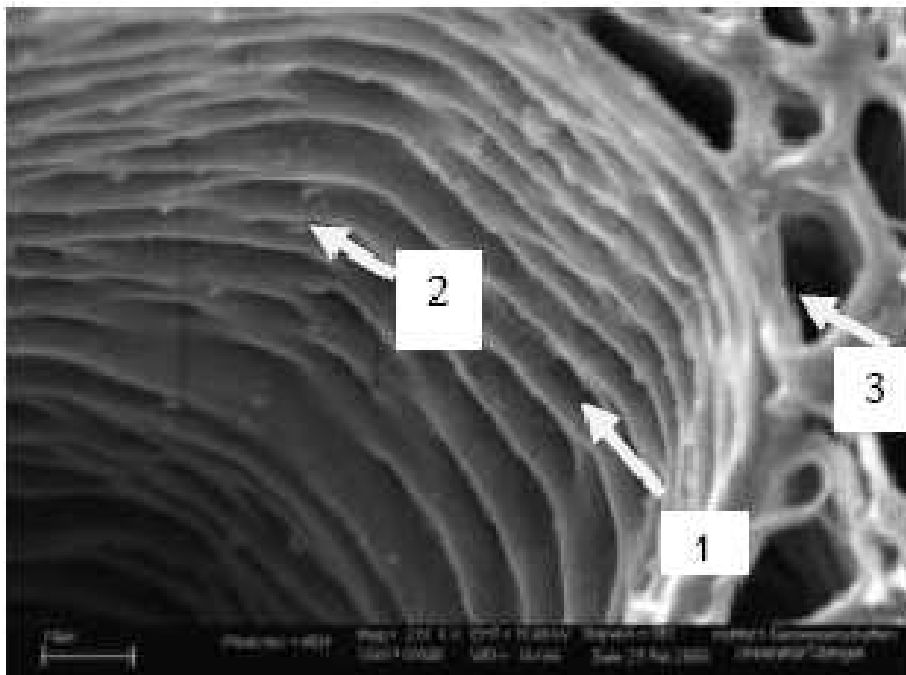


Abb. 12: Querschnitts des Gefäßes Element von *A. macrophylla* zeigt die Rillen (Grooves) zwischen den Tüpfelöffnungen (1). Granulen (Stärkekörner?) (2). Vasizentrische Tracheide (3).

Die Funktion dieser Xylemfeinstrukturen ist meist umstritten und alles andere als klar. Unter dem Aspekt einer möglichen Übertragbarkeit der Prinzipien des pflanzlichen Wassertransportes in technische Konstrukte wäre es natürlich wünschenswert, hier mehr Informationen funktionaler Natur zu bekommen. Sind derartige Strukturen entscheidend für den pflanzlichen Wassertransport? Dass gewisse Strukturen einen Zusammenhang mit Klimaparameter zeigen legt gewisse selektive Vorteile nahe. Für

helikale Strukturen wurde vorgeschlagen, dass diese das Wiederauffüllen nach einer Embolie erleichtern, ebenso wie warzige Innenskulpturierungen (Carlquist 2001; Kohonen 2006). Eine experimentell beobachtete Beschleunigung bei Vorliegen von helikalen Verdickungen liegt ebenfalls vor (Roth-Nebelsick & Speck 2000). Rinnen zwischen den Tüpfeln könnten ähnliche Effekte haben. Jedoch steht ein Beweis für eine derartige Funktion noch aus.

Stamm-Wasserleitfähigkeit (Durchflussexperiment)

An verschiedenen Lianen wurde die hydraulische Leitfähigkeit des Xylems mittels Durchflussexperimenten untersucht. *Aristolochia macrophylla* zeigte die höchsten Durchflussraten, gefolgt von *Adenia lobata*, *Bauhinia cumingiana*. *Aristolochia brasiliensis* und *Parthenocissus quinquefolia* wiesen geringere Wasserleitfähigkeiten auf. Abb. 13 zeigt beispielhaft einen Datensatz). Durch die Verwendung von Eosin wurde jeweils nach den Durchflussexperimenten der leitende Querschnitt markiert. Ferner wurden anhand von Schnitten die aktiven Gefäße und deren Durchmesser ermittelt. Daraus konnte dann die spezifische Leitfähigkeit ermittelt werden. Diese liegt für *A. macrophylla* bei etwa 400 cm²/s MPa.

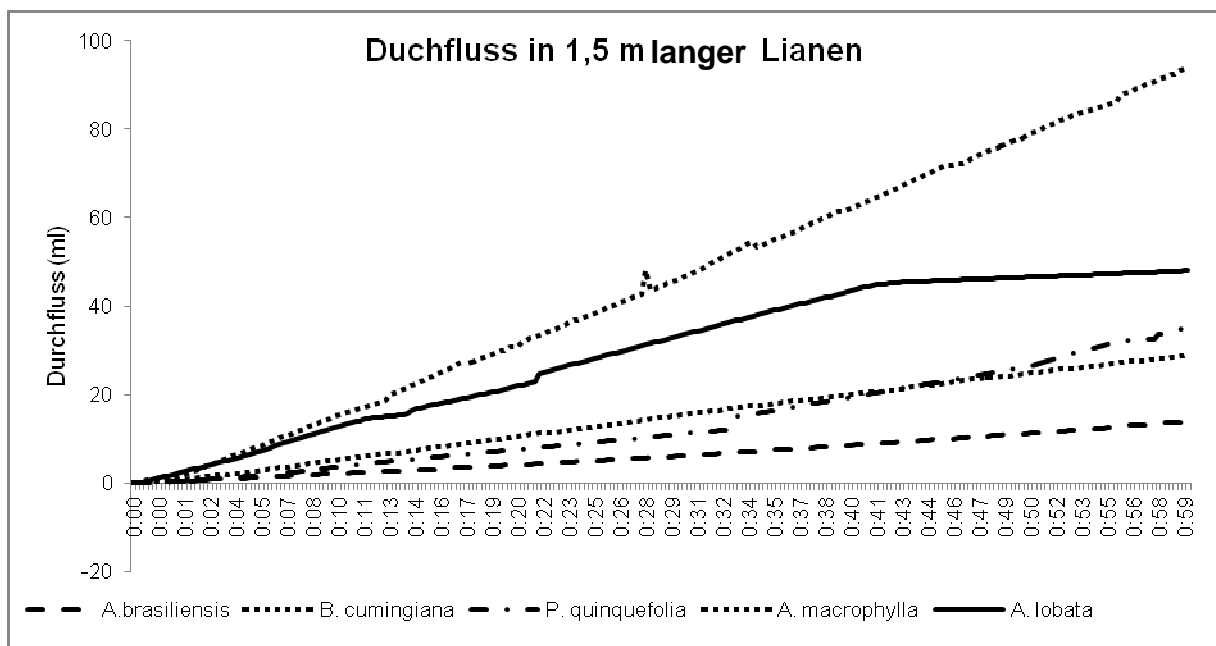


Abb. 13: Das Diagramm zeigt beispielhaft die Durchflussrate durch 4 Lianenarten während eines einstündigen Durchflussversuches.

Beispielhaft sind die Ergebnisse dieses Arbeitsteiles für einige Einzelmessungen von *A. macrophylla* und *P. quinquefolia* dargestellt in Abb. 13. Insgesamt ist bemerkenswert, dass die Durchflussrate und damit die Leitfähigkeit nicht sehr stark mit dem Gefäßdurchmesser korreliert ($r=-0.135$ $p<0.05$ $n=468$). Dies ist jedoch nicht ungewöhnlich, da bei diesem biologischen Material strukturelle Details zu diesem Phänomen führen können. Z.B. sind die Gefäße nicht komplett kreisrund, zeigen

Formschwankungen oder Gefäße können durch den Schnittprozess teilweise blockiert sein und damit geringere Durchflussraten aufweisen als im natürlichen Material. Stark negativ mit der Durchflussrate hingegen korreliert die Anzahl der Gefäße pro mm^2 ($r=-0.840$ $p<0.001$ $n=468$) (Abb. 20). Dies ist zu erwarten, da eine höhere Gefäßdichte natürlich mit einem geringeren durchschnittlichen Gefäßdurchmesser einhergeht. Die Dichte der Gefäße schwankt je nach Art und – wie erwartet – gemäß des Gefäßdurchmessers (Abb. 14).

Weite Gefäße weisen eine geringe Dichte auf, jedoch sind gerade sie es, die den Großteil der Leitfähigkeit ausmachen. Gemäß des Hagen-Poiseuilleschen Gesetzes steigt die Leitfähigkeit einer Kapillare mit der 4. Potenz ihres Radius an. Daher führen auch geringe Verkleinerungen des Radius zu spürbar schlechterer Leitfähigkeit. Dieses Ergebnis dokumentiert zwar den nahe liegenden Umstand, dass wenige weite Gefäße besser leiten können als viele enge. Jedoch ist ein derartiges Gebilde auch anfälliger gegen Embolien, da der Ausfall einiger weiter Gefäße die Wasserleitfähigkeit stärker beeinträchtigt, als der Ausfall einiger engerer Gefäße.

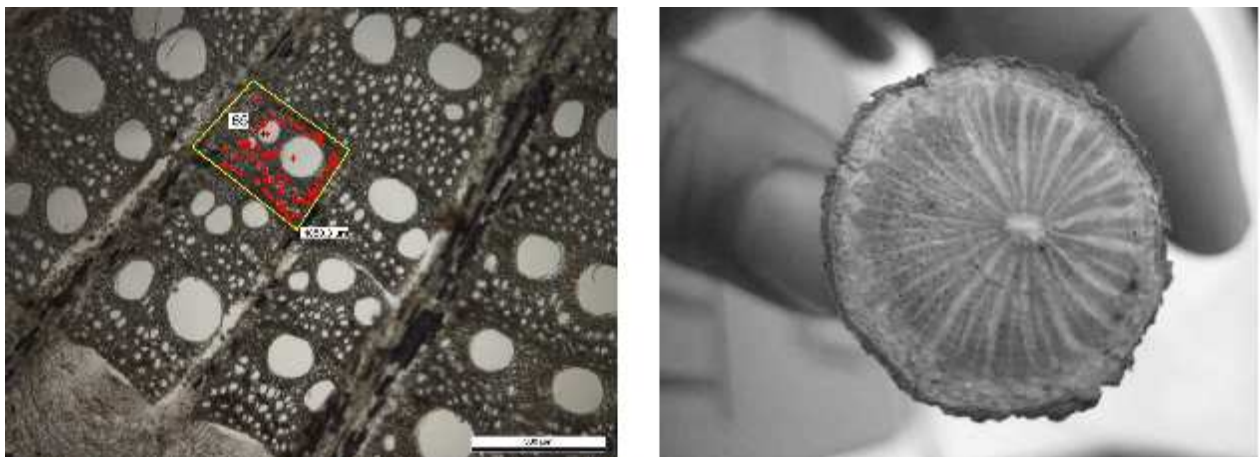


Abb. 14: Gefäße innerhalb einer markierten Fläche zwischen zwei Markstrahlen im Bereich des leitenden Xylems ausgezählt wurden (l.), das leitende Xylem durch den Durchfluss von Eosin (r.).

Die roten Teile zeigen den leitenden Anteil der Querschnittsfläche.

1.6.3 Kontaktwinkelmessung

Die Ergebnisse der Kontaktwinkelmessungen sind in Abb. 15 zusammengefasst. Der durchschnittliche Kontaktwinkel beträgt $20^\circ - 30^\circ$ und ist damit niedriger als üblicherweise für Laubhölzer angegeben (Zwieniecki & Holbrook 2000). Etwa 30 % der Gefäße zeigen sogar einen Kontaktwinkel von nahezu Null (Abb. 15). Insbesondere niedrige Kontaktwinkel wies die Liane *Adenia lobata* auf. Die Werte liegen damit wie erwartet im hydrophilen Bereich. Ein Kontaktwinkel von durchgehend Null kommt dabei vor, ist aber offensichtlich nicht zwingend.

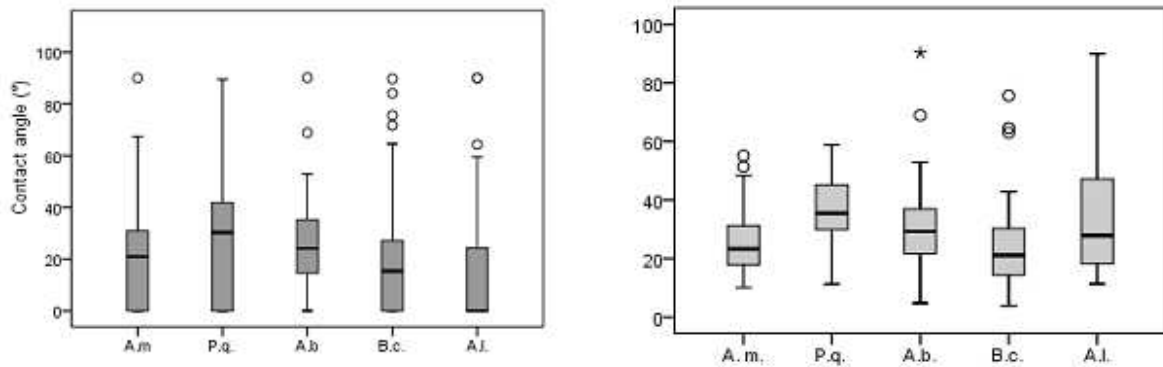


Abb. 15: Ergebnisse der Kontaktwinkelmessungen. Links: Kontaktwinkel der einzelnen Arten. Rechts: Prozentzahl der Gefäße, die einen Kontaktwinkel von Null aufwiesen. A.m.=*Aristolochia macrophylla*, P.q.=*Parthenocissus quinquefolia*, A.b.=*Aristolochia brasiliensis*, B.c.=*Bauhinia cumingiana*, A.l.=*Adenia lobata*

Ein deutlicher Unterschied im Kontaktwinkel zwischen den Arten ist jedoch nicht erkennbar. Ein derartiger Zusammenhang zwischen Habitat und Kontaktwinkel wurde von Kohonen (2006) für eine Konifere nachgewiesen. Hier jedoch ist dergleichen nicht zu sehen, was daran liegen könnte, dass die Lianenwuchsform grundsätzlich niedrige Kontaktwinkel begünstigt.

Verhalten von Luftblasen im Xylem

Das Verhalten von Luftblasen in Gefäßen wurde durch Videoaufnahmen dokumentiert. Diese sind auf Anfrage erhältlich. Dargestellt konnte in mehreren Fällen das Auflösen der Luftblasen. Grundsätzlich wäre dieser Vorgang auch im intakten Xylem vorstellbar, sofern die Zugspannung endet, etwa durch Stoppen der Transpiration und günstige Umweltbedingungen (z.B. nachts oder nach Niederschlägen). Scheinbar begünstigt insbesondere der Kontakt mit einer tüpfelbesetzten Wand die Blasenauflösung. Dies kann an der Feinstrukturierung liegen, die die lokalen Grenzflächenverhältnisse beeinflusst. Derartige Phänomene sind grundsätzlich möglich. Der Einfluss von strukturierten Oberflächen auf Grenzflächen ist ein wohlbekanntes Phänomen in der Grenzflächenphysik (Quére 2008). Leider konnten wir im Rahmen dieses Projektes diesen Beobachtungen nicht weiter nachgehen. Die Beobachtungen zum Blasenverhalten im Xylem legen jedoch nahe, dass es notwendig ist, derartigen Studien mehr Zeit zu widmen.

1.6.4 Neutronenradiographie zur Visualisierung des Wassertransportes und der Embolie in verschiedenen Lianen

Im Berichtszeitraum wurden in Zusammenarbeit mit dem Projektpartner Dr. Christian Tötze Untersuchungen zur Visualisierung des Wassertransportes an verschiedenen Lianen mittels Neutronenradiographie am Helmholtz-Zentrum für Neue Materialien durchgeführt. Bei dieser Methode macht man sich die „Sichtbarkeit“ des Wassers für

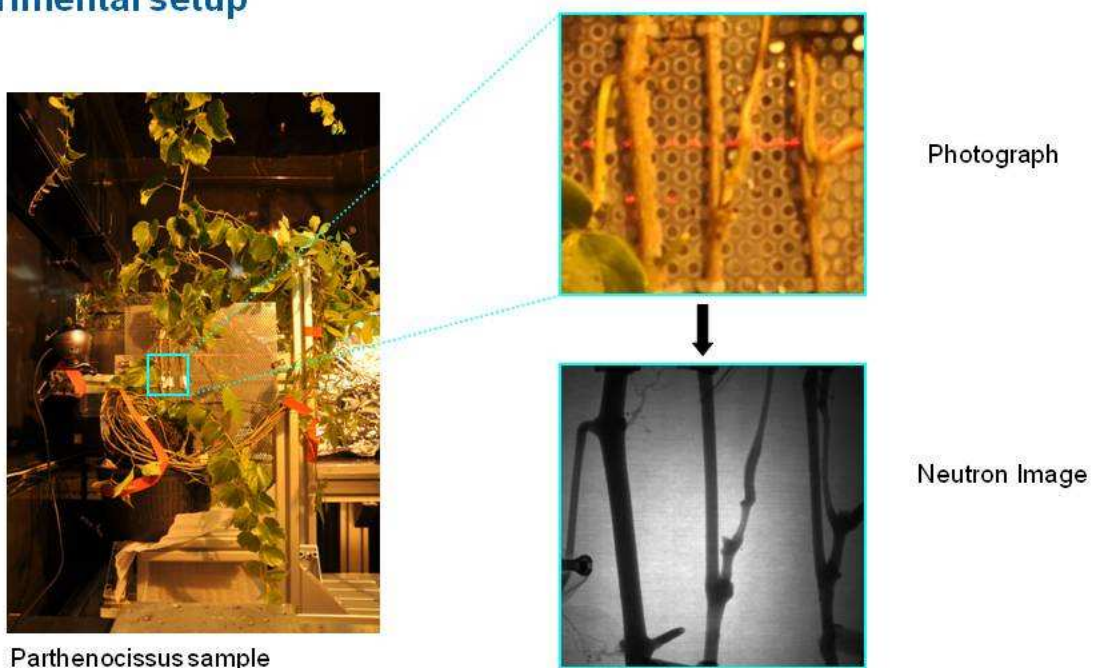
Neutronen zunutze. Änderungen im Wassergehalt oder Entstehung von Gasräumen können so am funktionierenden System beobachtet werden.

Eingetopfte Lianen wurden in eine Experimentalkammer verbracht und die Sprossen an einer für Neutronen unsichtbaren Aluminiumwand fixiert. Es wurden dann unterschiedliche Manipulationen vorgenommen:

- Erzeugung von Wasserstress durch Austrocknung des Substrates
- Zufügen von Wasser durch Gießen
- Hell- und Dunkelphasen
- Einschnitte in die Sprosse
- Erschütterungen durch Ultraschallvibrationen

In Vivo Study of Embolism Formation in Lianas

Experimental setup



Parthenocissus sample

Photograph

Neutron Image

Abb. 16: Illustration des Versuchsaufbaues. Links: Einblick in die Experimentalkammer. Rechts oben: Fixierung der Sprosse an der Aluminiumwand. Rechts unten: Neutronenbild derselben Sprosse. Je höher die Wasserdichte, desto dunkler erscheint das Objekt.

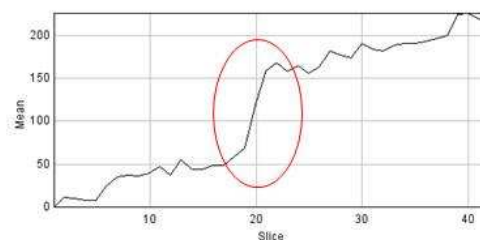
Während der Experimente stellte sich heraus, dass die Lianen insgesamt ausgesprochen stabil gegen Embolien waren. Während die Visualisierung des Wassers im Xylem eindeutig gelang, war es zunächst nicht möglich, Embolien zu

provozieren. Weder kontrolliertes Austrocknen, Anstiche, Anschnitte noch Vibrationen führten zu Embolien in den Pflanzen. Dies galt für alle Arten. Erst durch drastische Manipulationen konnten Veränderungen festgestellt werden. Die Erzeugung von Embolien erforderte starke Einschnitte in den Spross. Abb. 16 zeigt die Entstehung einer Embolie durch einen derartigen Einschnitt. Die breite weiße Linie im linken Teilbild von Abb. 17 zeigt ein embolisiertes Gefäß in *P. quinquefolia* nach Einschnitt unterhalb des Beobachtungsfensters. Die Dimensionen dieses Bereiches entsprechen dem eines größeren Gefäßes im Xylem von *P. quinquefolia*. Die zeitliche Entstehung der Embolie läßt sich durch Analyse der Bildsequenzen darstellen. Die Analyse des Gefäßbereiches zeigt eine starke Abnahme der Wasserschichtdicke, verursacht durch die Embolie.

Water loss – Embolism detection



Phase I: Illuminated+dry



Embolism
Quick vessel
discharging

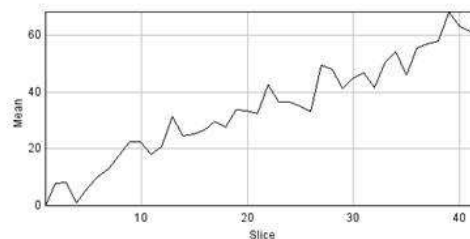


Abb. 17: Entstehung einer Embolie durch einen Schnitt. Das Bild links zeigt das embolierte Gefäß als weißen Bereich. Das Bild rechts oben dokumentiert die Entstehung der Embolie durch die Abnahme der Wasserschichtdicke mit der Zeit.

Zum Vergleich die Entwicklung der Wasserschichtdicke im selben Zeitintervall außerhalb des Gefäßes.

Dieses Ergebnis zeigt 1) dass eine Embolie durch die Neutronenradiographie sichtbar gemacht werden kann, und 2) dass die Lianen in der Tat ausgesprochen stabil gegen Embolien sind. Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass das gesamte hydraulische System, von den Wurzeln bis zu den evaporierenden sites, so abgestimmt ist, dass Embolien vermieden werden sollen. Dies hängt vermutlich mit

den sehr weiten Gefäßen zusammen, deren Wiederbefüllung schwierig ist. Eine Reparatur konnte bislang grundsätzlich nur bei Wein, und dort im natürlichen Zustand nur im Frühling nachgewiesen werden. Denn Gefrierereignisse verursachen unweigerlich eine Embolie. Die Zunahme der leitenden Querschnittsfläche, dargestellt durch Eosinfärbung, demonstrierte, dass *A. macrophylla* ebenfalls dazu in der Lage ist.

1.7 Zusammenfassung

Die Ergebnisse des Teilvorhabens des Standortes Tübingen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Aristolochia macrophylla hat sich als biomimetisch außerordentlich interessanter Modellorganismus für Wassertransport unter Zugspannung erwiesen. Die Gründe hierfür sind:

A. macrophylla ist zu hohen Fließgeschwindigkeiten durch weite Gefäße in der Lage, und damit zu effizientem Wassertransport. Dies wird ebenfalls dokumentiert durch die hohe Leitfähigkeit des Xylems dieser Art. Die Strukturen der Gefäßwände sind glatt, abgesehen von einigen granulösen Körpern. Aufwendige Strukturierungen, deren natürliche Funktion überdies nicht genau bekannt ist, sind demnach nicht notwendig.

Die Kontaktwinkel sind hydrophil, aber nicht notwendigerweise extrem hydrophil. Aufwendige Materialien oder Beschichtungen sind demnach ebenfalls nicht notwendig.

In diesem Material können Zugspannungen von mindestens -1.5 MPa auftreten, trotz glatter Wand und nicht extrem hydrophiler Kontaktwinkel. Offensichtlich wird an der Entnahmeseite die Wasserabgabe derart kontrolliert, dass eine bestimmte Grenzspannung nicht überschritten wird.

Die Art ist sehr widerstandsfähig gegen Embolien während des normalen Betriebes.

A. macrophylla ist jedoch zur Emboliereparatur im Frühjahr fähig, und damit grundsätzlich in der Lage, Luft in den Gefäßen mittels Überdruck zu beseitigen. Blasenaufösungen konnten auch direkt in den Gefäßen beobachtet werden.

Die Ergebnisse zum natürlichen Vorbild demonstrierten somit die einzelnen Faktoren, die zum Funktionieren des pflanzlichen Wasserleitsystems beitragen. Eine ganz wesentliche Eigenschaft ist die hoch geordnete Porosität auf verschiedenen Skalenebenen. Die Gefäße stellen ein stark anisotropes poröses Medium mit hoher longitudinaler Leitfähigkeit, aber sehr geringer lateraler Leitfähigkeit dar. Diese longitudinale Leitfähigkeit wird durch parallel ausgerichtete Kapillaren erzielt. Die

nächste Ebene der Porosität wird durch die Kapillarwände gebildet. Diese sind ebenfalls porös, um das Wasser den Übertritt von einer Kapillaren in die nächste zu ermöglichen. Auch hier ist die Porosität nicht statistisch charakterisiert, sondern durch streng geometrische Porenmuster. Die nächste Stufe der Kapillarität wird durch die nanoporöse Membran in den Tüfpelporen erreicht.

Diese streng hierarchische und geordnete Porosität ist es, die die Zugspannungen letztendlich beherrschbar machen, für eine Abschottung ausgefallener Gefäße sorgen, sowie die Leitfähigkeit bedarfsgerecht anzupassen und die Leitbahn zu segmentieren. Gemäß den bionischen Vorbildern wurden im ITV Denkendorf Faserbündel mit segmentierter Porosität hergestellt. Testmessungen wurden u. a. in Tübingen durchgeführt. Diese Testkörper zeigen, dass Wasserströmung durch Entnahme an einer Seite generiert und über eine lange Strecke aufrechterhalten werden kann. Ferner wurde die Arrestierung von auftretenden Luftblasen demonstriert, und der Transport bestand trotz dieser Luftblasen weiter (siehe Bericht des ITV).

1.8 Literaturverzeichnis zum Teilvorhaben 1

- Brodersen, C.R., McElrone, A.J., Choat, B., Matthews, M.A., Shackel, K.A., 2010. The dynamics of embolism repair in xylem: in vivo visualizations using high-resolution computed tomography. *Plant Physiology* 154, 1088-1095.
- Brownless, N.J., Anand, S.C., Holmes, D.A., Rowe, T., 1996, The Dynamic of Moisture Transportation. *Text. Inst.*:172-182.
- Butt, K.G.M., Kappl H-J., 2006. *Physics and Chemistry of Interfaces*. Wiley-VCH, 7.
- Carlquist, S., 1982. Wood anatomy of Onagraceae: further species; root anatomy; significance of vestured pits and allied structures in dicotyledons. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 69:755-769.
- Carlquist S., 1985. Vasicentric tracheids as a drought survival mechanism in the woody flora of southern California and similar regions; review vasicentric tracheids. *Aliso* 11(1): 37-68.
- Carlquist, S., 2001. *Comparative wood anatomy*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
- Christman, M.A., Sperry, J.S., Adler, F.R., 2009. Testing the 'rare pit' hypothesis for xylem cavitation resistance in three species of *Acer*. *New Phytologist* 182, 664-674.
- Daniel, H., *Physik* 1.1997. de Gruyter:11-21.

- Ensikat, H.J., Barthlott, W., 1993. Liquid substitution: a versatile procedure for SEM specimen preparation of biological materials without drying or coating. *Journal of Microscopy* 172, 195-203.
- Ewers, F.W., Fisher, J.B., 1989. Techniques for measuring vessel lengths and diameters in stems of woody plants. *American Journal of Botany* 76, 645-656.
- Harten., Physik. 2009. Springer.:23-33.
- Hayward, A.T., 1970. Mechanical Pump with Suction Lift of 17m. *Nature*, Vol. 225, S. 376-377.
- Holbrook, N.M., Ahrens, E.T., Burns, M.J., Zwieniecki, M.A., 2001. In vivo observation of cavitation and embolism repair using magnetic resonance imaging. *Plant Physiology* 126, 27-31.
- Jeje A.A, Zimmermann, M.H., 1979. Resistance to water flow in vessels. *Journal of Experimental Botany* 30:817-827.
- Kim, H.K., Lee, S.J., 2010. Synchrotron X-ray imaging for nondestructive monitoring of sap flow dynamics through xylem vessel elements in rice leaves. *New Phytologist* 188, 1085-1098.
- Kohonen, M.M., 2006. Engineered wettability in tree capillaries. *Langmuir* 22, 3148-3153.
- Konrad, W., Roth-Nebelsick, A., 2003. The dynamics of gas bubbles in conduits of vascular plants and implications for embolism repair. *Journal of Theoretical Biology* 224, 43-61.
- Kohonen MM, Helland, A., 2009. On the function of wall sculpturing in xylem conduits. *Journal of Bionic Engineering* 6: 324-329.
- Konrad, W., Roth-Nebelsick., 2009. The influence of the contact angle on gas bubble behavior in xylem conduits under tension and possible consequences for embolism. *6th Plant Biomechanics Conference – Cayene*, November 16 -21.
- Larcher, W., 2003. *Physiological plant ecology*, 4th ed. Cambridge University Press, Cambridge.
- Lösch, R., 2003. Wasserhaushalt der Pflanzen. Quelle & Meyer, Wiebelsheim.
- Lopez, O.R., Kursar, T.A., Cochard, H., Tyree, M.T., 2005. Interspecific variation in xylem vulnerability to cavitation among tropical tree and shrub species. *Tree Physiology* 25, 1553-1562.
- Mendes K, Gomes, P., Alves, M., 2010. Floristic inventory of a zone of ecological tension in the atlantic forest Brazil. *Rodriguésia* 61(4): 669-676.
- Nobel, P.S., 2005. *Physicochemical and environmental plant physiology*, 3rd ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam.
- Ortmann., <http://www.kapillar-ortmann.de>

- Parham, R.A., Baird W.M., 1974. Warts in the Evolution of Angiosperm Wood. *Wood Science and Technology* 8: 1-10.
- Paus, H., 2007. Physik in Experimenten und Beispielen. Hanser
- Quéré, D., 2008. Wetting and roughness. *Annual Review of Materials Research* 38, 71-99.
- Roth-Nebelsick, A., 2006. Die Prinzipien der pflanzlichen Wasserleitung. *Biologie in unserer Zeit* 36, 110-118.
- Roth-Nebelsick, A., Speck, T., 2000. Mechanical and hydrodynamic properties of vessels with tertiary helical thickenings: new information about possible functional relationships, in: Spatz, H.-C., Speck, T. (Eds.), *Plant Biomechanics 2000*. Thieme, Stuttgart.
- Salleo, S., Lo Gullo, M.A., Trifilo, P., Nardini, A., 2004. New evidence for a role of vessel-associated cells and phloem in the rapid xylem-refilling of cavitated stems of *Laurus nobilis* L. *Plant, Cell and Environment* 27, 1065-1076.
- Sperry, J.S., 2003. Evolution of water transport and xylem structure. *International Journal of Plant Science* 164, S115-S127.
- Sperry, J.S., Donnelly, J.R., Tyree, M.T., 1988. A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant, Cell and Environment* 11, 35-40.
- Vogt, U.K., 2001. Hydraulic vulnerability, vessel refilling, and seasonal courses of stem water potential of *Sorbus aucuparia* L. and *Sambucus nigra* L. *Journal of Experimental Botany* 52, 1527-1536.
- Wei, C., Steudle, E., Tyree, M.T., Lintilhac, P.M., 2001. The essentials of direct xylem pressure measurement. *Plant, Cell and Environment* 24, 549-555.
- Wheeler, T.D., Stroock, A.D., 2008. The transpiration of water at negative pressures in a synthetic tree. *Nature* 455, 209-212.
- Zwieniecki, M. A. and N. M. Holbrook., 2000. Bordered pit structure and vessel wall surface properties. Implications for embolism repair. *Plant Physiology* 123, 1015-1020.

2 Teilvorhaben 2: TWD Fibers Deggendorf

Die Arbeiten der TWD Fibres GmbH waren neben der Beratung der Forschungspartner insbesondere die Herstellung bzw. die Beschaffung geeigneter Fasersysteme. Die durchgeführten Arbeiten umfassten im Detail:

Ausarbeitung des Kooperationsvertrags mit Projektpartnern mit der Rechtsabteilung. Zu klären waren insbesondere Fragen der Vermarktung und der Exklusivitäten.

Teilnahme an den Projektsitzungen in Denkendorf, Tübingen und Berlin.

Marktrecherche zu Hohlfasern.

Konstruktion und Beschaffung von Düsenprofilen 3C + „Wagenrad“ für das Ausspinnen von Hohlfasern.

Spinnversuche von Hohlfasern aus den Polymeren PET und PA. Als Ergebnis war festzuhalten: die Faserquerschnitte bilden sich z.T. nicht plangemäß aus bzw. sind zu klein, um ausreichende Durchflussraten mit Wasser zu erzielen.

Beschaffung von profiliertem Filamentgarn PET LOY dtex 660f26 und Bereitstellung an das ITV Denkendorf. Das Ergebnis: es ergaben sich gute Durchflussraten im Faserverbund.

Vorbereitung eines externen Spinnversuchs für profiliertes Filamentgarn PA 6.6.

Konstruktion und Herstellung von Kombinationsgarnen aus hydrophoben und hydrophilen Komponenten mit rundem Querschnitt.

Herstellung von Fasern mit besonderem Profilquerschnitt, wobei die Rundquerschnitte als Abstandshalter wirken und die Profilkonäle freihalten sollten.

Die weiteren von TWD hergestellten und zur Verfügung gestellten Garne sind in Tab. 4 des Teilvorhabens des ITV Denkendorf aufgelistet.

Die Details zu diesen Arbeiten als auch die Ergebnisse hinsichtlich der Anwendungstests sind im Teilvorhaben 3 des ITV Denkendorf festgehalten.

3 Teilvorhaben 3: Institut für Textil- und Verfahrenstechnik Denkendorf

Die Entwicklungsarbeiten am ITV waren auf die Anwendung von Funktionsmechanismen fokussiert, um diese auf technische Anwendungen übertragen zu können. Aufbauend auf den biologischen Erkenntnissen wurden entsprechende Versuchseinrichtungen aufgebaut, geeignete Materialien recherchiert bzw. entwickelt, die Systemen zusammengesetzt und erprobt. Ziel war den Flüssigkeitstransport mit faserförmigen Medien zu erreichen. Die in der Natur beobachteten zwei Funktionsprinzipien des Flüssigkeitstransportes auf Basis von

- Kapillarkräften und
- Zugkräften in der Wassersäule

waren die Grundlage der Arbeiten. Die beiden Prinzipien konnten getrennt voneinander analysiert und technische Anwendungen entwickelt werden. Entsprechend sind nachfolgend die beiden Prinzipien getrennt im Bericht behandelt. Kombinationen dieser Prinzipien – analog der Natur – sind auch in technischen Systemen möglich und vorgesehen.

3.1 Basisentwicklungen zum Wassertransport mit Kapillarkräften

3.1.1 Methoden zur textilphysikalischen Analyse von Fasern und Garnen

Zur physikalischen Eigenschaftsprüfung der Garne wurden nachfolgende Geräte und Verfahren eingesetzt.

3.1.1.1 Feinheitsbestimmung

Zur Feinheitsbestimmung wird der Uster-Tester verwendet. Bei der so genannten Uster-Gleichmäßigkeitsprüfung werden die Garne auf „die Gleichmäßigkeit der Massenverteilung eines Fadens in Längsrichtung gemessen, registriert und ausgewertet“. Dieses Verfahren liefert unter anderem die Daten zur Faserfeinheit /1/.

3.1.1.2 Bestimmung der Benetzungseigenschaften

Zur Bestimmung der Benetzungseigenschaften der Fasern wurde ein Tensiometer eingesetzt. Es dient zur softwaregesteuerten Bestimmung von Kontaktwinkeln und davon abhängigen Eigenschaften der Prüfkörper (Abb. 18).



Abb. 18: Tensiometer DCAT 21 der Firma Dataphysics

Wir verwendeten als Prüfflüssigkeit destilliertes bzw. voll entsalztes Wasser bei einer Prüftemperatur von $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$. Die Oberflächenspannung betrug $72,8 \text{ mN/m}$.

3.1.1.3 Drehungsprüfer

Der manuelle Drehungsprüfer dient zur Bestimmung der Drehung, Drehungsrichtung und der Fachung von Garnen und Zwirnen. Beim Herstellen der Zwirne wurde in Anlehnung an DIN 53924 pro Garn ein Gewicht von 5 g eingestellt.

Das Gerät setzten wir in diesem Projekt ein, um die Garne zu fachen und Zwirne herzustellen. In Abb. 19 ist das eingesetzte Prüfgerät bildlich zu sehen.



Abb. 19: Manueller Drehungsprüfer der Fa. Zweigle; Gesamtansicht (l.), Zählwer in S und Z Richtung (r.)

3.1.1.4 Bestimmung der Ungleichmäßigkeit am Uster Tester 3

Der Uster Tester 3 bestimmt mit einem Sensor kapazitiv die Gleichmäßigkeit von Garnen sowie Bänder und Vorgarne. Aus den Ergebnissen können die Werte wie

Ungleichmäßigkeit, dreidimensionaler Durchmesser des Garnes, Dichte des Garnes abgelesen werden/2/.

3.1.1.5 Optische Analytik

Das Rasterelektronenmikroskop (REM) Hitachi TM 1000, wie in Abb. 20 dargestellt, tastet mittels gebündelter Elektronenstrahlen die morphologische Struktur der Probe ab /2/.



Abb. 20: Rasterelektronenmikroskop (REM) TM 1000 der Fa. Hitachi

3.1.2 Methoden zur Bestimmung des Wassertransportverhaltens

Zur Bestimmung des Wassertransportverhaltens wurden zwei Messmethoden verwendet.

Die Ermittlung der Sauggeschwindigkeit von Wasser in faserbasierten Flüssigkeitsleitsystemen erfolgte angelehnt an die DIN 53924, die die Bestimmung der Sauggeschwindigkeit von Wasser in textilen Flächengebilden beschreibt. Der Begriff Sauggeschwindigkeit ist wie folgt definiert: „Geschwindigkeit, mit der Wasser in textilen Flächengebilden durch Kapillarkräfte transportiert wird. Nach dieser Norm wird nur die Geschwindigkeit des Wassertransports entgegen der Schwerkraft bestimmt. Als Maß gilt die Steighöhe innerhalb der bestimmten Zeitabständen“ /3/.

Eine neu entwickelte Methodik wurde zur Bestimmung der maximalen Steighöhe verwendet. Dazu bedarf es einer Prüfeinrichtung, die in ihrem Aufbau flexibel und in der Höhe einstellbar ist. Mit einer Prüflüssigkeit, die aus einer 1%-igen wässrigen Lösung des Farbstoffes C.I. DIRBLU 086 besteht, wird die Steighöhe des Wassers im Faserbündel für unser Auge leicht erkennbar. Das Garn wird an einer Halterung so befestigt, dass es mit dem am unteren Ende des Garnes befestigten Prüfgewicht

ca. 3-5 mm in die Prüflüssigkeit eintaucht. Ab dem Eintauchen wird die Steighöhe pro Zeiteinheit gemessen. Die Sauggeschwindigkeit wird hierbei in mm angegeben. Diese bedeutet die gemessene Steighöhe in einer Versuchszeit von 5 Minuten. In Abb. 21 ist der Versuchsaufbau nach 5 Minuten Versuchslaufzeit dargestellt.

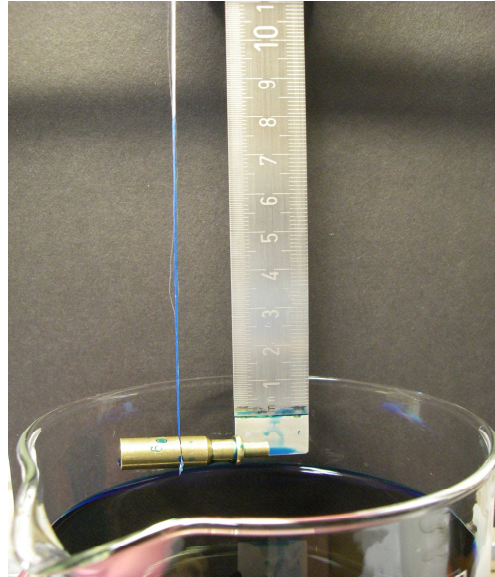


Abb. 21: Prüfvorrichtung zur Sauggeschwindigkeit und Steighöhe

Zur Ermittlung der maximalen Steighöhe wurde die Versuchsdauer verlängert als auch die Prüfvorrichtung auf die Höhe von über 1 Meter erhöht.

Des Weiteren wurden die Garne bzw. die Flüssigkeitsleitsysteme mit Glasröhrchen bzw. transparenten Schläuchen ummantelt, um den Einfluss der Verdunstung auf die Kapillarität zu vermeiden. Das seitlich angebrachte Lineal ermöglichte das Ablesen der Steighöhe. Die Prüfeinrichtung für mehrere Garne ist in Abb. 22 dargestellt.

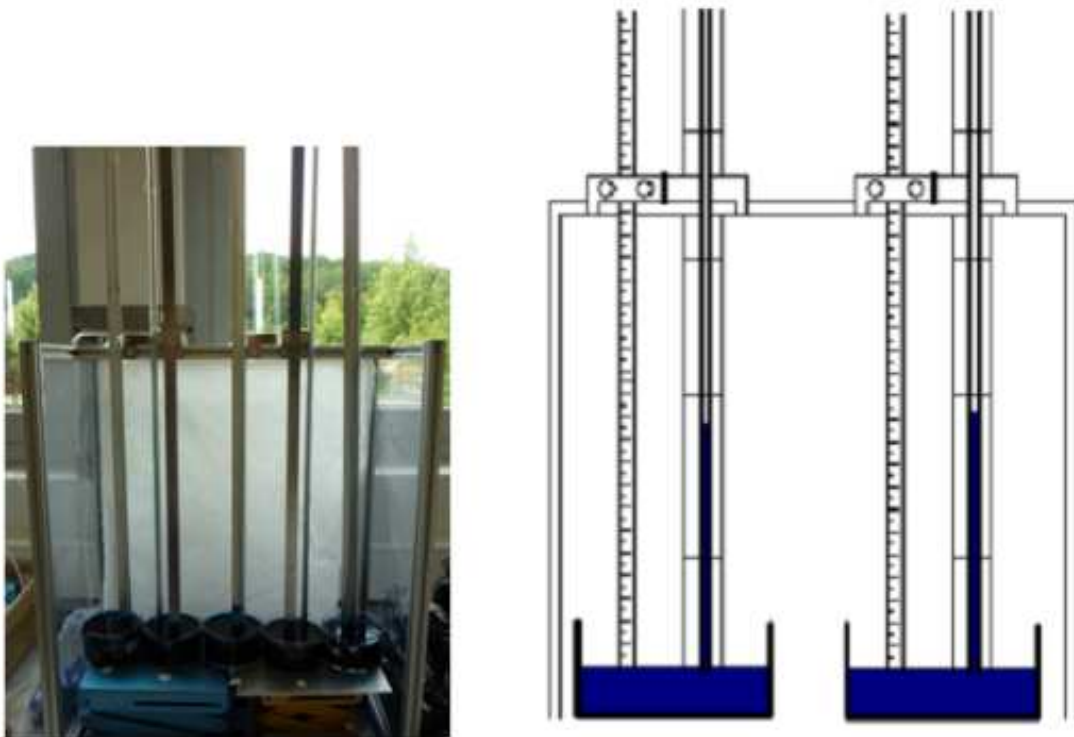


Abb. 22: Messstand im Labor (a) und schematischer Aufbau zur Messung der Sauggeschwindigkeit und Steighöhe

Das Langzeitverhalten der Garne und gefachten Garne sowie Zwirnewurde in einer Versuchsdauer von 120 Stunden gemessen, da dann erst keine Steighöhenänderungen mehr eintraten. Die Messintervalle wurden entsprechend an 120 Stunden angepasst.

3.1.3 Verwendete Materialien und Basisergebnisse

Verwendete Garne mit Vorauswahl und Voruntersuchungen

Faser-, Garn-, Material- und Herstellungsspezifikationen beeinflussen die Wassertransportgeschwindigkeit und Transporthöhe in einem Fasersystem. Entsprechend wurden in den folgenden Untersuchungen die eingesetzten Materialien variiert.

Für die Tests wurden über 60 verschiedene Garne aus gleichem Polymer ausgewählt bzw. designed, welche in Zusammenarbeit mit der Firma TWD Deggendorf und dem ITV Denkendorf hergestellt wurden. Die Garne unterscheiden sich durch Feinheit, Struktur sowie Oberflächeneigenschaft. Im Labor wurde nach DIN 53924 an den Einzelgarnen die Sauggeschwindigkeit ermittelt. Ferner wurden die Stapelfasergarne hinsichtlich ihrer Garnstärke, Faserfeinheit, Haarigkeit, Garndurchmesser und Faseranzahl geprüft. Für die Multifilamentgarne wurden die Eigenschaftsangaben der Hersteller in Bezug auf Faser- und Garnfeinheit übernommen, woraus sich die Faserquerschnittsfläche berechnen ließ.

Tab. 4 zeigt einen Überblick über die verwendeten Filament- und Stapelfasergarne. Die Nummer gibt eine laufende Zahl an, die in späteren Kapiteln wieder herangezogen wird.

Nr.	Hersteller	Faseranzahl [f]	Sauggesch- windigkeit nach DIN 53924 [mm]	Faserform
2	TWD	384	108	Rund
29	ITV	20	11	Rund
30	ITV	20	18	Rund
4	TWD	23	42	Rund
27	ITV	24	19	Keule
28	ITV	24	24	Keule
31	ITV	24	15	Stern
32	ITV	24	17	Stern
20	ITV	24	47	Keule
21	ITV	24	54	Stern
24	ITV	24	25	Keule
25	ITV	24	27	Stern
6	TWD	24	26	Rund
12	ITV	24	17	Stern
13	ITV	24	22	Stern
8	TWD	24	24	Rund
9	TWD	24	37	Rund
25	ITV	24	27	Stern
16	TWD	26	89	Stern
17	TWD	26	85	Stern
18	TWD	26	84	Stern
26	ITV	48	47	Stern/Keule
22	ITV	48	58	Stern/Keule
47	ITV	490	103	Rund
10	TWD	48	73	Rund

Tab. 4: Zusammenstellung der Eigenschaften der überprüften Garne zur Vorauswahl

Aus dieser Fülle von Garnen musste eine Vorauswahl getroffen werden. Dazu orientierten wir uns an dem Kennwert der Sauggeschwindigkeit nach DIN 35924 im Zusammenhang mit der Faseranzahl:

- Werden die Garne nach ihrer Faseranzahl in Gruppen geordnet, ist einen Zusammenhang zwischen der Sauggeschwindigkeit und der Faseranzahl zu erkennen: Je mehr Fasern ein Garn bilden, umso höher steigt die Flüssigkeit im Garn beim Steighöhenversuch.
- Auch innerhalb der gleichen Gruppe variieren die Sauggeschwindigkeit teilweise stark, die wir auf verschieden große Kapillarräume zurückführen. Garne, welche innerhalb ihrer Faseranzahlgruppe die besten Steighöhen zeigten, wurden für die weiteren Versuche ausgewählt und festgehalten sowie der Kontaktwinkel zu Wasser mitnotiert.

Die Vorversuche mit den in Tab. 4 aufgelisteten Garnen haben gezeigt dass die Faseranzahl und Steiggeschwindigkeit in Zusammenhang stehen und je dicker das Garn ist desto besser ist die Steiggeschwindigkeit. Um die Stapelfasergarne näher untersuchen zu können wurden Ringspinngarne hergestellt welche an Garn- und Faserfeinheit variieren. Die Fasern wurden aus der gleichen Herstellungspartie genommen so dass die Oberflächen Eigenschaften mit dynamischem Kontaktwinkel von 53° ähnlich waren. Für diese Garne wurde sowohl die Garnungleichmäßigkeit, Sauggeschwindigkeit nach DIN 35924 als auch die dynamometrischen Werte mittels UT-3 bzw. Tensorapid ermittelt. Die Prüfung zur Garnungleichmäßigkeit erfolgte nach Herstellungsmethode USTER-Tester. Tab. 5 liefert die Informationen über die untersuchten Ringspinngarne und die Ergebnisse zu den durchgeführten Untersuchungen.

Nr.	Spinnverfahren	Sauggeschwindigkeit nach DIN 53924 [mm]	CVm [%]	Dick [+50% /km]	Haarigkeit	Garndurchmesser [mm]	Garndichte [g/cm ³]	Faseranzahl
43	Ring	40	12,95	6,3	4,34	0,21	0,61	222
42		61	8,89	6,3	5,21	0,27	0,57	370
41		102	9,2	48,4	8,98	0,44	0,54	926
46		36	11,26	22,5	4,15	0,22	0,55	154
45		62	8,89	2,1	4,73	0,26	0,63	256
44		98	6,97	0,8	8,87	0,43	0,58	641
49		41	12,3	5	4,62	0,21	0,58	118
48		50	10,16	1,3	4,89	0,26	0,64	196
47		103	7,83	0,8	9,46	0,43	0,57	490

Tab. 5: Ringgarne mit den zugehörigen Parameter sowie der Sauggeschwindigkeit

Die Garnfeinheit und die Faserdicke haben einen deutlichen Einfluss auf das Kapillaritätsverhalten. Entsprechend ändern sich die Mikrostruktur und die Kapillarbildung im Garnaufbau. Die Steiggeschwindigkeit steht mit der Garndurchmesser und Haarigkeit in Zusammenhang.

Aufgrund der höheren Sauggeschwindigkeit und leichtere Verarbeitung wurden aus Tab. 4 und Tab. 5 die folgenden Garne ausgewählt (Tab. 6) mit dem Ziel weitere optimierte Garne herzustellen.

Nr.	Garnart (Faserform)	Faseranzahl	Kontaktwinkel [°]	Sauggeschwindigkeit nach DIN 53924 [mm]
2	Filament (rund)	384	53,7	108
16	Filament (stern)	26	53,2	89
47	Ringspinn garn (rund)	490	53,6	103
21	Filament (stern)	24	53,0	54
60	Rotorgarn (rund)	1961	53,0	116

Tab. 6: Ausgewählte Garne mit materialspezifischen Kenndaten

Nachfolgend werden die Garne Nr. 2, 16 und 47 genauer beschrieben, da diese für die drei wichtigsten Versuchsreihen verwendet wurden mit folgenden Besonderheiten:

Garn 2 besteht aus feinen Mikrofasern mit einem Einzelfaserdurchmesser vom 6,7 μm . Dadurch entstehen kleine Kapillare und eine große aktive Kapillaroberfläche.

Garn Nr. 16 ist ein Strukturfasergarn und hat einen sternförmigen Querschnitt. Durch die Struktur der Faser sind die Kapillarräume unterschiedlich groß. Es hat einen Einzelfaserdurchmesser von 48,78 μm .

Garn Nr. 47 gehört zu der Gruppe der Stapelfasergarne und hat einen runden Querschnitt. Die Struktur eines Stapelfasergarns ermöglicht keine langen, zusammenhängenden Kapillarräume, da die Einzelfasern sich unkontrolliert berühren.

3.1.4 Einfluss der Textilstruktur

Einfluss der Faser- und Garnfeinheit von Stapelfasergarnen

Die Ergebnisse der Sauggeschwindigkeit zu den hergestellten Ringspinn garnen ergab, dass sich die Sauggeschwindigkeit mit der Garndicke bei drei unterschiedlichen Faserfeinheiten erhöht, da die Faseranzahl bzw. aktive Oberfläche im Querschnitt steigt.

Mit der Dicke der Garne werden die Fasern bei Ringspinn garnen paralleler. Die Gleichmäßigkeit und die Parallelität der Garne sprechen für die Kapillarität in einem

Garnkomplex. Deshalb wird beobachtet, dass bei Ringspinn Garnen die kapillare Steighöhe mit den gröber werdenden Garnfeinheiten zunimmt.

Einfluss der Faserfeinheit von Filamentgarnen

Multifilamentgarne bestehen aus neben einander liegenden parallelen Endlosfasern, die durchgehende Kapillaren bilden. Hierbei spielt die Größe der Kapillaren bei der Sauggeschwindigkeit eine wichtige Rolle. Mit dem Einsatz von feineren Fasern und der damit verbundenen größeren Faseranzahl bei gleicher Garndicke entsteht in einem Garnsystem eine größere aktive Oberfläche, welche eine positive Wirkung auf die Sauggeschwindigkeit hat. Die Versuchsergebnisse zur kapillaren Sauggeschwindigkeit mit unterschiedlichen Grundmaterialien und Faserfeinheiten ergaben, dass sich die Oberflächeneigenschaften der Fasern aus gleichem Grundmaterial sich kaum auswirken.

In der Theorie wird angenommen, dass die Sauggeschwindigkeit mit der Erhöhung des Kapillardurchmessers steigt und die maximal erreichbare Steighöhe mit kleiner werdenden Kapillaren größer wird. Die Sauggeschwindigkeit ist mit feineren Fasern größer. Deshalb müssen neben den Kapillargrößen noch andere sekundäre Parameter für die Sauggeschwindigkeit eine Rolle spielen. In den nachfolgenden Analysen werden diese Parameter wie die Größe der aktiven Oberfläche und Kapillarform insbesondere im Hinblick auf die maximale Steighöhe näher untersucht.

Einfluss der Benetzungseigenschaften

Hierbei wurden Garne in Zusammenarbeit mit TWD Deggendorf hergestellt und mit CHT Tübingen gewaschen und anschließend mit einer silikonhaltigen Hydrophilieausrüstung behandelt.

Danach wurden an diesen Garnen Steighöhenversuche im Labor durchgeführt.

Es ergeben sich nach der Ausrüstung der Garne niedrigere Sauggeschwindigkeiten. Der dynamische Kontaktwinkel der einzelnen Garne lag vor der Ausrüstung bei 53°, nach der Ausrüstung hat sich diese Eigenschaft nicht geändert. Die Messungen am Tensiometer ergaben ähnliche Werte hinsichtlich der Benetzbarkeit.

Die Garnausrüstung erfolgte bei Fa. CHT zuerst durch ein Waschprozess und ein anschließendes Foulardieren, so dass die Garnstruktur sowie die Anordnung der einzelnen Fasern im Garn unkontrolliert verändert wurden. Diese Faktoren haben wohl einen negativen Einfluss auf die Sauggeschwindigkeit. Auf Garnausrüstungen haben wir deshalb im Weiteren verzichtet.

In diesem Projekt wurden deshalb Garne mit ähnlichen nicht wasserlöslichen Spinnpräparationen ausgewählt, so dass keine zusätzlichen Hydrophilierung benötigt wurde.

Einfluss der Texturierung

Um den Einfluss der Texturierung festzustellen, wurden gezielt Garne aus unterschiedlichen Faserformen mit ähnlicher Einzelfaserfeinheit hergestellt und anschließend texturiert. Die Oberflächeneigenschaften der Fasern waren gleich. In Tab. 7 sind die hergestellten Garne zusammengestellt.

Nr.	Garnart	Faseranzahl	Querschnitt [μm^2]	Kontaktwinkel [°]
28	Filament (Keule)	24	568	52
30	Filament (Rund)	20	681	52
32	Filament (Stern)	24	568	52

Tab. 7: Hergestellte Garne zum Texturieren

In Abb. 233 sind die Messergebnisse zu texturierten Garne aus Tab. 7 zu entnehmen.

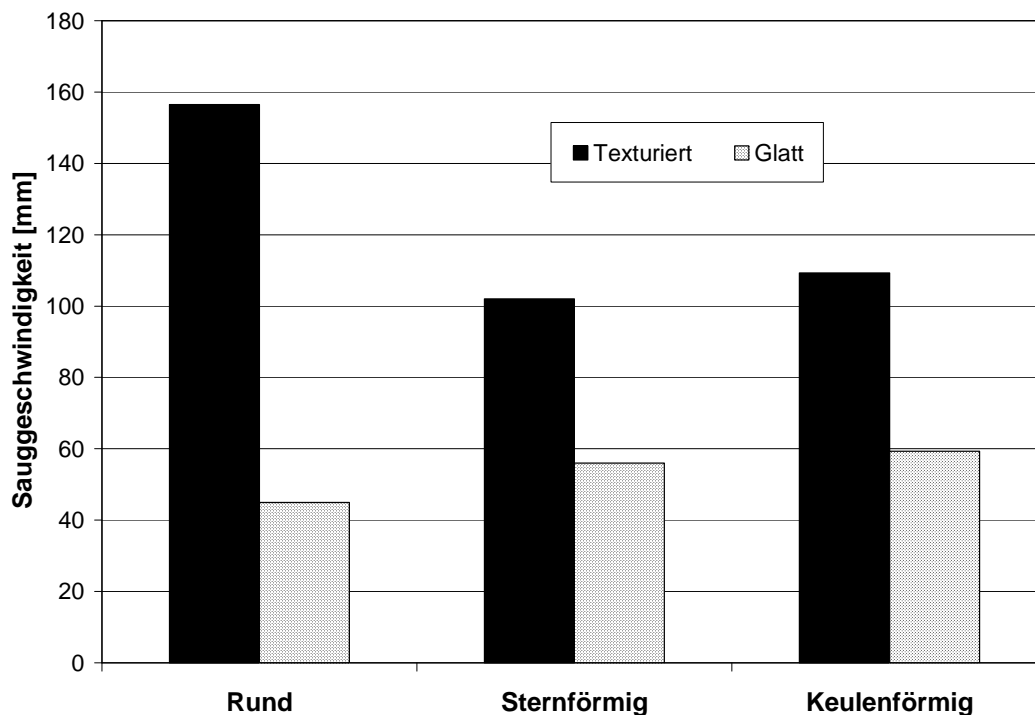


Abb. 23: Vergleich zur Sauggeschwindigkeit der texturierten und nicht texturierten Garne

In Abb. 23 ist deutlich zu erkennen, dass mit den texturierten Garne bessere Sauggeschwindigkeiten erzielt wurden gegenüber nicht texturierten Garnen. Das Texturieren erhöht infolge der Kräuselung die aktive Oberfläche der Fasern unabhängig von der Form.

3.1.5 Maximal erreichbare Steighöhen

Für vergleichende Untersuchungen zur maximalen Steighöhe wurden Garne aus Tab. 6 genommen und so gefacht, dass die gleiche aktive Faserfläche der gefachten Garne erreicht wird. Die Garne wurden jedoch hierbei nicht gedreht sondern eine parallele Anordnung der Garne erzielt. Anschließend wurden diese Garne hinsichtlich der maximalen Steighöhe gemessen. Dabei wurde die Messzeit von 120 Stunden gewählt (Abb. 24).

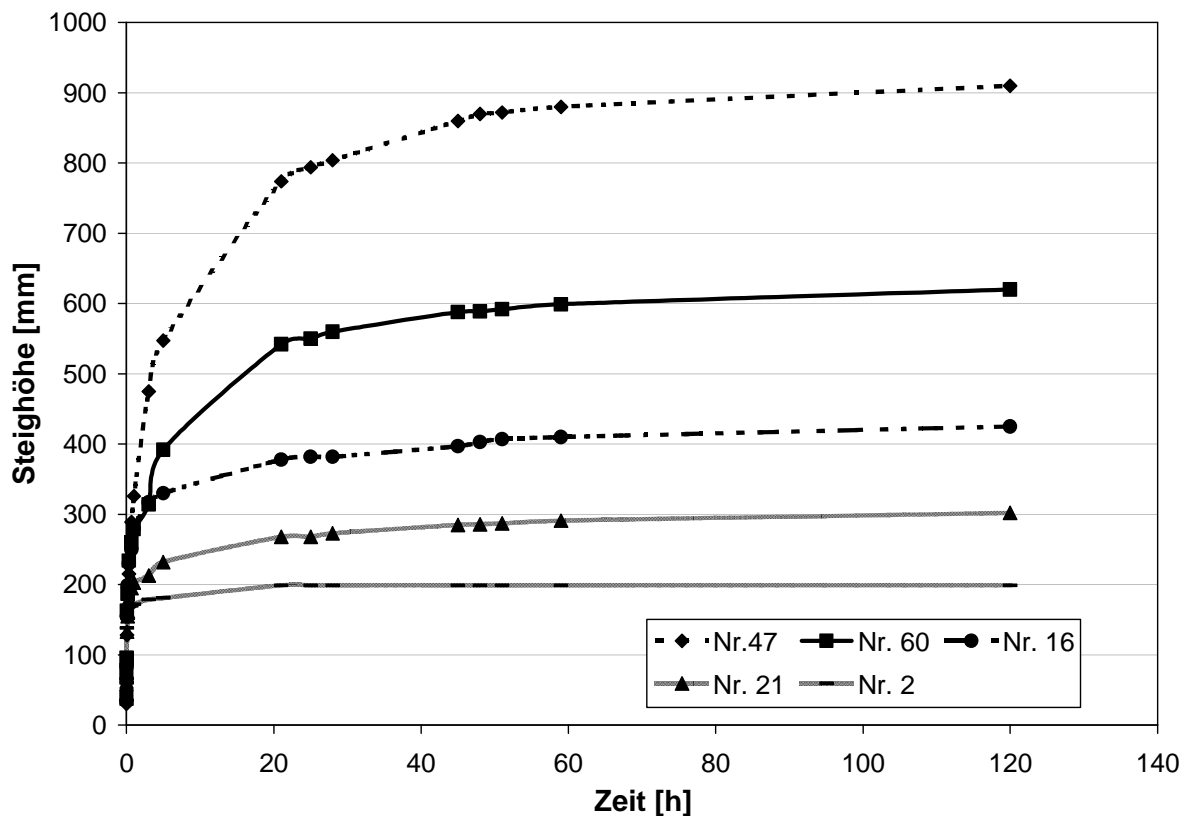


Abb. 244: Maximaler Steighöhenverlauf der Wasserleitsysteme bei gleicher aktiver Oberfläche, berechnet über Gesamtumfang der Fasern

Die Ergebnisse in Abb. 24 machen deutlich, dass die maximale Steighöhe der Garnsysteme noch von den weiteren Parametern, welche aufgrund der Faseranordnung variieren, abhängt, da die Steighöhe sich trotz gleicher aktiver Oberfläche und ähnlichen Benetzungseigenschaften der Fasern voneinander stark unterscheiden. Es ist noch zu erkennen, dass die Steighöhe der Stapelfasergarne, Garn Nr. 47, am Höchsten ist.

Die aktive Faseroberfläche und die offene Kapillargesamtfläche sind zwei entscheidende Parameter für die maximale Steighöhe in Faserbündel. Zur weiteren Entwicklung der Modelle wurden Garnsysteme so hergestellt, dass durch die Gesamtquerschnitte der Fasern im Bündel ein Vergleichsparameter entsteht, der die unterschiedlichen Garnsysteme unabhängig von der Form und Feinheit beschreibt.

Damit konnte eine Steighöhe vom 1000 mm mit Garn Nr. 47 erreicht werden. Dies war möglich durch die Modellierung des Kapillarsystems, damit verbunden die Erhöhung der Faseranzahl sowie kontrollierte Änderung des Neigungswinkels der Fasern und Garne.

3.1.6 Feldversuche mit Bewässerungssystemen auf Basis von Kapillarkräften

Im Anschluss an die vorgestellten Basisentwicklungen war nun das Ziel faserbasierte Leitsysteme in einem Praxisversuch zur kapillaren Bewässerung einzusetzen. Hierfür sollte eine möglichst hohe Wassertransporthöhe zwischen Wasseroberfläche und Pflanztopf mit Hilfe des Kapillareffekts überbrückt werden. Mit diesem System kann eine bedarfsorientierte Bewässerung erzielt werden, die genau den Wasserverbrauch der Pflanze liefert und im Vergleich zu anderen Bewässerungssystemen den Wasserverbrauch deutlich reduziert. Zu diesem Zweck wurden zwei Versuchsreihen durchgeführt.

Versuch 1: Basisversuch

Die Auswahl und Vorbereitung der Kapillargarne erfolgte auf Basis der bisherigen Erkenntnisse hinsichtlich Sauggeschwindigkeit und Steighöhe. Als Wasserverteiler wurden Gewebe und Vliese verwendet.

Als Versuchspflanze wurde eine Grünstilbe eingesetzt. Die Wassermenge im Reservoir wurde täglich abgelesen und so die Wassertransportmenge bestimmt. Hierbei wurde noch die Vitalität der Pflanze anhand der Untersuchung der stomatären Leitfähigkeit gemessen. Dadurch konnte der Zustand und die Reaktion der Pflanze bei der Kapillarbewässerung beobachtet und bewertet werden. Die eingesetzten Systeme sind in Tab. 8 zusammengestellt.

Versuchsdatum/Dauer	28.03.2011-28.04.2011 / 30 Tage
Versuchspflanze	chlorophytum comosum (Grünlilie)
Kapillare Bewässerungssysteme	Pfl. 1: Vlies + Garn Nr.2 Pfl. 2: Vlies + Garn Nr.47 Pfl. 3: Vlies + Garn Nr. 16 Pfl. 4: Gewebe + Garn Nr. 16 Pfl. 5: Gewebe + Garn Nr. 47 Pfl. 6: Gewebe + Garn Nr. 2
Wassertransporthöhe	50 cm, Transportlänge 55 cm

Tab. 8: Zusammenstellung der Versuchskomponenten zum Versuch 1

Abb. 255 ist der Versuchsaufbau mit hergestellten Kapillarbewässerungssysteme dargestellt.



Abb. 255: Versuchsaufbau im botanischen Garten der Universität Tübingen

In Abb. 266 sind die Ergebnisse über die Versuchsdauer graphisch dargestellt.

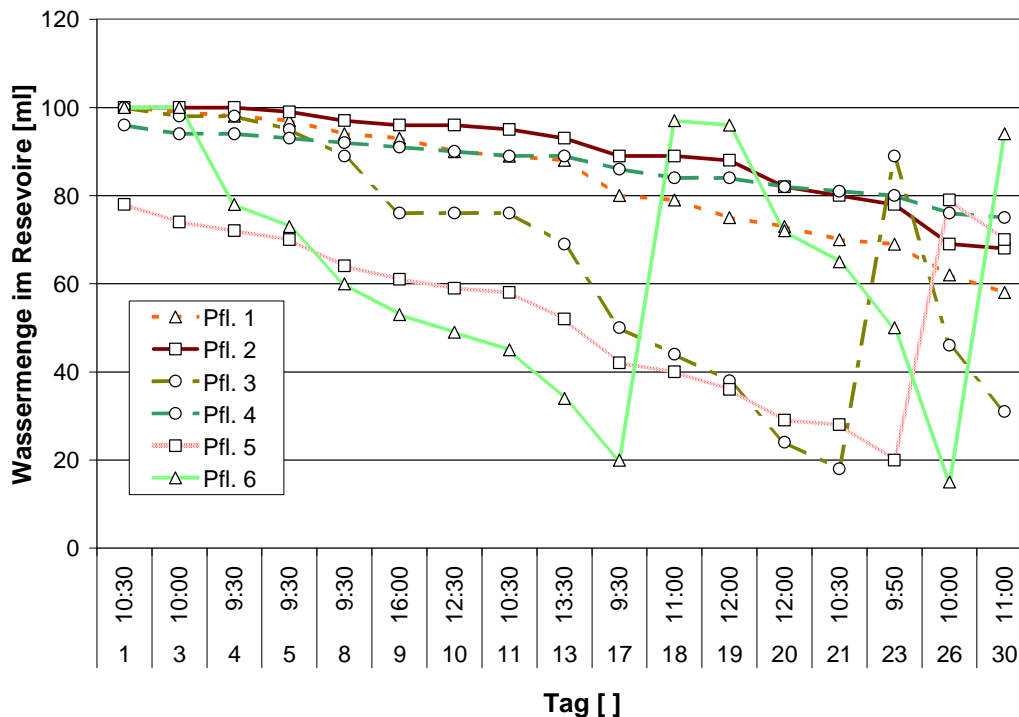


Abb. 26: Wassermenge im Reservoir über den Versuchszeitraum von einem Monat mit unterschiedlichen Leitsystemen

Die transportierte Wassermenge variierte je nach eingesetztem Leitelement und Wasserverteiler. Auffälligkeiten über der Versuchsdauer werden folgend aufgelistet:

- Tag 17.: Pfl. 6 wurde 80 ml Wasser nachgefüllt
- Tag 21.: Pfl. 3 wurde 80 ml Wasser nachgefüllt
- Tag 23.: Pfl. 5 wurde 80 ml Wasser nachgefüllt
- Tag 26. Pfl. 6 wurde ein zweites Mal 80 ml Wasser nachgefüllt

Die Versuchspflanze „Grünlinie“ reagiert auf Trockenheitsperioden sehr robust, was im Experiment die stomatäre Leitfähigkeit nicht messbar machte.

Einfluss des Wasserverteilers:

Für die Pflanze 6 musste zwei Mal Wasser ins Reservoir nachgefüllt werden, wie in Abb. 26 abzulesen ist. Dieses System funktionierte somit am besten. Bei der Pflanze 6 wurde das Leitelement aus Garn Nr. 2 mit dem Wasserverteiler aus Gewebe eingesetzt. Die Pflanze 1 war mit dem gleichem Leitelement versehen jedoch als Wasserverteiler wurde hierbei Vlies verwendet. Das System für Pflanze 6 transportierte die vierfache Menge an Wasser wie das System zur Pflanze 1. Dies macht die Rolle des Wasserverteilers deutlich. Mit dem Gewebe konnte somit eine bessere Wasserversorgung der Pflanze erzielt werden.

Die bessere Wasserleitung des Glasgewebes bestätigte sich auch bei der Pflanze 5. Mit dem gleichen Leitelement (aus Garn Nr. 47) ergab sich gegenüber der Pflanze 2 (Vlies) die doppelte Wassermenge.

Beim Vergleich des Wachstums der Pflanze 3 mit Pflanze 4 wurde festgestellt, dass die transportierte Wassermenge des Systems mit Gewebe schlechter war wie mit Vlies (gleiches Leitsystem aus Garn Nr. 16). Dieses Phänomen konnte nach dem Abbau der Versuche und anschließenden Analyse der Wurzelentwicklung der Pflanzen geklärt werden. Die Wurzeln der Pflanze 3 und 4 wuchsen stärker in die Zwischenräume der Fasern hinein und nahmen das Wasser meist aus den Fasern direkt auf, was die Rolle des Wasserverteilers deutlich verringerte.

Einfluss des Leitsystems:

Der Vergleich der Leitelemente zeigt, dass die Leitelemente aus Stapelfasergarn Nr. 47, durchschnittlich niedrigere Wassermenge transportieren. Diese Ergebnisse entsprechen jedoch nicht den Erkenntnissen zur Steiggeschwindigkeit und zur Steighöhe im Labor. Die Systeme aus dem Garn Nr. 47 zeigten dort die höchsten Werte. Die beiden anderen zwei Leitelemente aus Garn Nr. 2 und Nr. 16, welche mehr Wasser wie Garn Nr. 47 an die Pflanze transportiert haben, bestanden aus Multifilamentgarnen.

Die Wassermenge ändert sich jedoch je nach Wasserbedarf der Pflanzen und ändert sich noch je nach Verhalten und Wachstum der Wurzeln. Im Bezug auf die Wasserverteiler im Pflanzentopf sind fortführende Untersuchungen zur Verknüpfung der Kontaktflächen erforderlich, sowie eine genauere Untersuchung zur Tauglichkeit des Wasserverteilers und Leitelementes für den Wassertransport.

Versuch 2: Optimierte Wasserversorgung

Hierfür wurden die Wasserleitelemente hergestellt, sodass die Wechselwirkungen zwischen maximale Steighöhe und Wassertransportmenge möglich war.

Aus Versuch 1 erwiesen sich die Geweben als vorteilhaft. Deshalb wurden diese einheitlich eingebaut. Aus gleichem Grund wurden die Leitsysteme nur aus Garn Nr. 2 und Garn Nr. 16 hergestellt.. Für eine statistische Bewertung wurden 6 Leitsysteme hergestellt, die in zwei Gruppen eingeordnet werden können:

- System 1a,1b und 1c (jeweils mit Garn Nr. 16) und
- System 2a, 2b und 2c (jeweils mit Garn Nr. 2).

Die beiden Systeme wurden in dem Wachstumsversuch kombiniert. Jeweils 2 identische Leitsysteme wurden mit einem anderen System für eine Pflanze gleichzeitig eingesetzt.

Jedes System wurde in einem separaten Reservoir gestellt, sodass die transportierte Wassermenge unabhängig abgelesen werden konnte. Die hergestellten Wasserleitsysteme sind in Tab. 9 zusammengestellt.

Versuchsdatum/Dauer	29.09.2011-02.10.2011 / 43 Tage
Versuchspflanze	anturium (Zierpflanze)
Kapillare Bewässerungssysteme	anturium 1: Leitelemente; System 1a,1b und System 2a anturium 2: Leitelemente System 2b, 2c und System 1c
Wassertransporthöhe	60 cm, Transportlänge 65 cm
Wasserverteiler / Abmessungen	Gewebe / 10x10 cm

Tab. 9: Zusammenstellung der Versuchskomponenten vom Versuchsaufbau zum Versuch 2

Die hergestellten Leitsysteme mit den Herstellungsparametern sind in Tab. 10 zu sehen.

System	Garn	Konstruktion der Garnsysteme
System 1a, 1b, 1c	Garn Nr. 16	3X(16 Fach 60 T/m)
System 2a, 2b, 2c	Garn Nr. 2	3X(16 Fach 60 T/m)

Tab. 10: Herstellungsparametern der eingesetzten Systeme zum Versuch 2

Zu den beiden Versuchspflanzen wurde noch eine dritte als Referenz ohne Bewässerungssystem beobachtet.

Nach dem Aufbau der Versuchsanordnung wurden die Pflanzen gegossen, so dass das Wasser von der Seite der Pflanze in die Kapillare einfluss und mit dem hochsteigenden Wasser in der Kapillare zusammentraf. Somit konnte die Zeit der Wasserbefüllung des Wasserversorgungssystems verkürzt werden.

In Abb. 27 und Abb. 28 ist der Versuchsaufbau mit der Anordnung der einzelnen Systeme dargestellt.

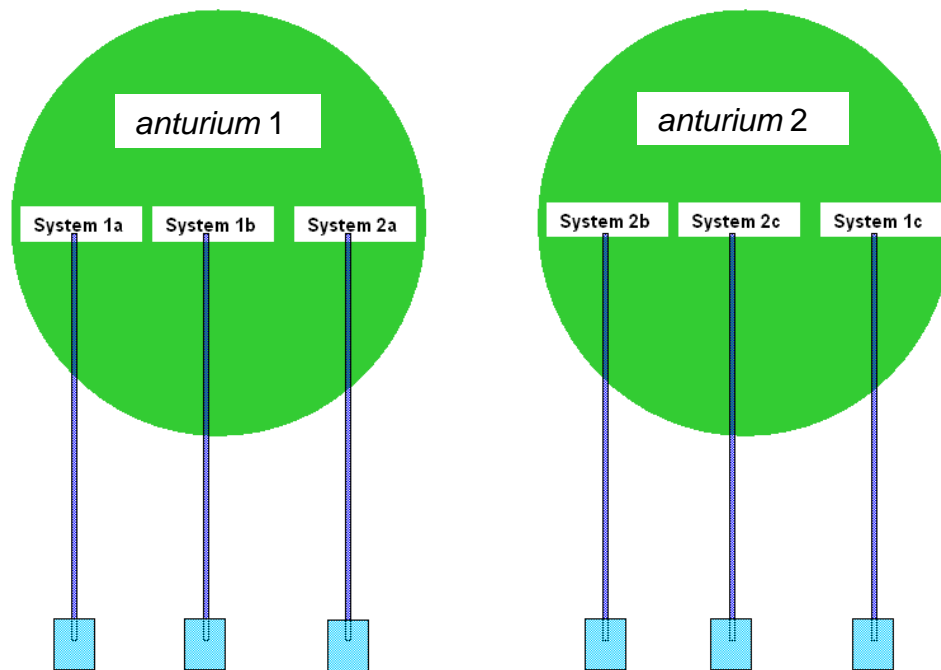


Abb. 27: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus zur kapillaren Bewässerung, Versuch 2



Abb. 28: Versuchsaufbau im botanischen Garten, Einsatz der Systeme im Pflanztopf (l.), Versuchsaufbau auf die Transporthöhe von 60 cm (r.)

Der Versuch dauerte 43 Tage und war erfolgreich. Die Versuchsergebnisse zur Pflanzenbewässerung zeigt Abb..

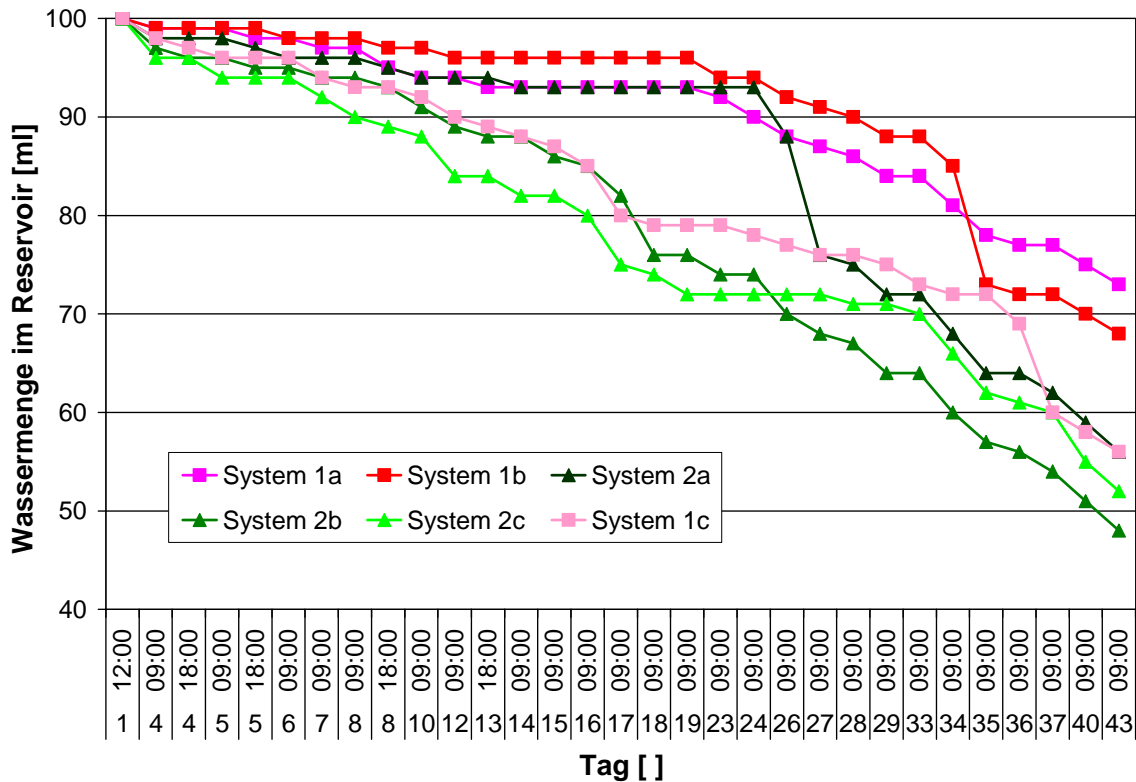


Abb.29: Wassermenge im Reservoir über den Versuchszeitraum vom 42 Tage zum Versuch 2

Über die Versuchsdauer hat das System 2b, welches zur Pflanze 2 angeschlossen war und aus Garn Nr. 2 bestand, die höchste Wassermenge transportiert.

Der Mittelwert der Wassermenge von System 2a, 2b und 2c betrug durchschnittlich 48 ml pro Systemeinheit wobei System 1a, 1b und 1c durchschnittlich nur 34,3 ml Wasser transportierte. Die Steighöhenversuche der Kapillarsysteme im Labormaßstab zeigten dazu, dass das System aus Garn Nr. 2 eine maximale Höhe von über 90 cm und aus Garn Nr. 16 ca. 50 cm besaß.

Die Pflanze *anturium* ist eine robuste Hauspflanze, sodass eine genaue Aussage über die Vitalität der Pflanze nicht getroffen werden konnte. Vom Anfang an war die stomatäre Leitfähigkeit der Referenzpflanze und Versuchspflanzen unter $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ und somit sehr niedrig. Die Ergebnisse der stomatären Leitfähigkeit über die Versuchsdauer sind aus Abb. 29 ersichtlich.

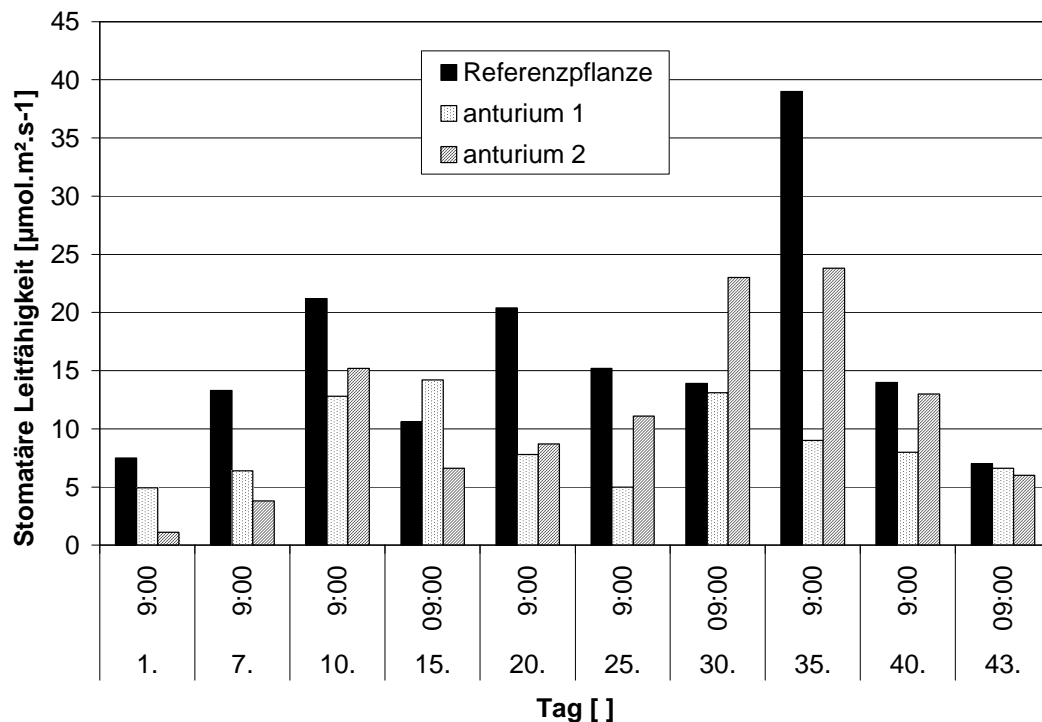


Abb. 29: Vergleich der stomatäre Leitfähigkeit der Versuchspflanzen und der Referenzpflanze zum Versuch 2

Die Feldversuche waren nicht danach gerichtet die Pflanzen mit der höchsten Leistung der Leitsysteme zu bewässern, sondern die Grundlagen zur Bewässerung der Pflanzen mit entwickelten Kapillargarnen zu erarbeiten. Die Versuche zeigten, dass die transportierte Wassermenge im Wesentlichen niedriger als der Wasserbedarf der Pflanze war.

Die Daten geben somit Aufschluss, mit welchem erhöhten Querschnitt die Wasserleitsysteme ausgelegt werden sollten, um den vollen Wasserbedarf zu decken:

Unter dieser Betrachtungsweise wurde festgestellt, dass mit den Systemen 2a, 2b und 2c aus Garn Nr. 2 durchschnittlich 1,12 ml Wasser pro Tag transferiert wurde. Dies ergibt eine Wassermenge von 19,6 ml/cm²/Tag unter Berücksichtigung der offenen Gesamtkapillarfläche in der Berechnung. (S. Tab. 10).

3.2 Basisentwicklungen zum Wassertransport unter Zugspannung

Einleitung

Um das Wasser unter Zugbelastung transportieren zu können, muss es in einem geschlossenen System von jeglichem Lufteindringen isoliert sein. Aber auch die im Wasser gelöste Luft stellt aufgrund derer möglicher Freisetzung im Transportsystem ebenso eine Störung dar. Die physikalischen Randbedingungen, wie eine Flüssigkeit unter einer Sogkraft hochgezogen wird, wurde bereits mit der Kohäsionstheorie von J. Böhm beschrieben /4/. „Das Wasser kann der hohen Zugbelastung widerstehen, weil das Wasser stark polar ist und die Kohäsionskräfte zwischen den Molekülen und die Adhäsion zu der Behälterwand solche Spannungen standhalten“ /5/.

Der pflanzliche Wassertransport stellt neben dem komplexen, morphologischen und biologischen Zusammenspiel aller Transportelemente einen einzigartigen Flüssigkeitstransportsmechanismus dar. Umso interessanter ist es die Wirkungsprinzipien des pflanzlichen Wassertransports zu verstehen und diese Erkenntnisse in die Technik umzusetzen, um die Flüssigkeiten bzw. Wasser weit über die konventionellen Saugpumpenleistungen mit erheblich größerer Höhe zu transportieren. Auf Grund der hohen Komplexität des hydraulischen Systems und der einzigartigen biologischen Regelmechanismen der Bäume, ist es eine große Herausforderung die theoretischen und praktischen Erkenntnisse des pflanzlichen Wassertransportes im Detail zu verstehen und anschließend in technische Anwendungen zu übertragen und zu integrieren.

3.2.1 Unterdruckerzeugung durch Evaporation

Technische Nachbildungen lassen die komplexen Randbedingungen für den pflanzlichen Wassertransport leichter verstehen. An ihnen können die physikalischen Bedingungen des Flüssigkeitstransportes gründlich in Einzelfunktionen untersucht werden. Für die Erzeugung des Unterdruckes durch Verdunstung eignen sich technisch nachgebildete Verdunstungselemente mit fein strukturierten Poren. Die Größe des Saugdruckes, der sich in einer Pore entwickelt, hängt mit der Oberflächenspannung σ des Wassers und den Adhäsionskräften zwischen Wasser und Porenwand zusammen /6/. Diese wird durch den Kontaktwinkel α und dem Porenradius r ausgedrückt (Gl. 2). Das Verfahrensprinzip zur Erzeugung des Verdunstungsdruckes an einer feinporösen Oberfläche ist in Abb. 30 in zwei Schritten illustriert.

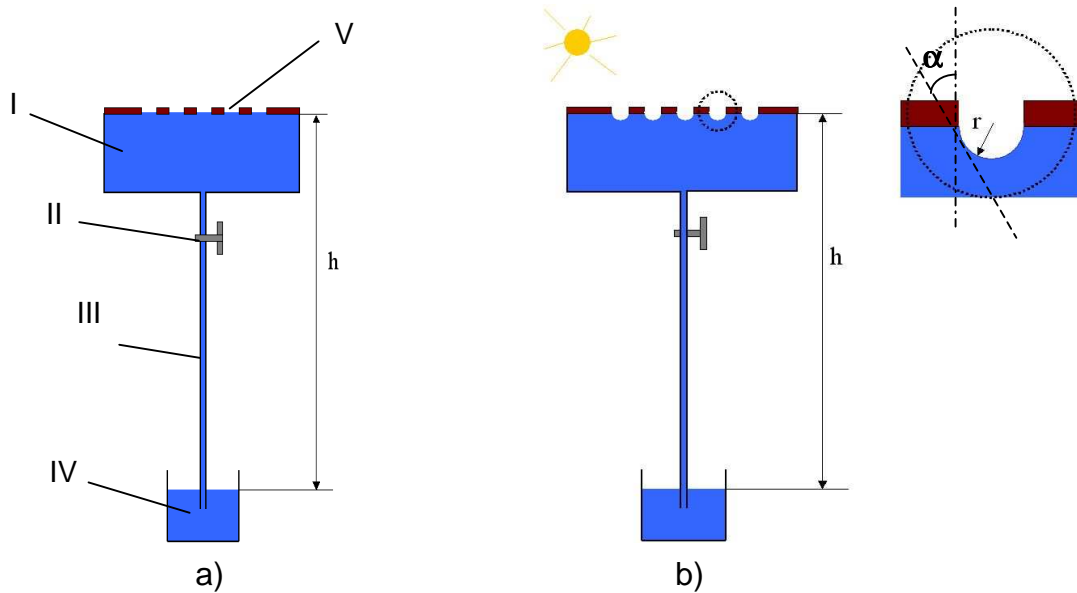


Abb. 30: Illustration der Verdunstung an der Oberfläche eines feinporigen Verdunstungselementes und der Aufbau der Menisken; Vollständig mit Wasser benetzte Poren im Gleichgewichtszustand (a), Die Meniskenbildungen zwischen den Poren während der Verdunstung (b)

Die Darstellung besteht im Wesentlichen aus einem auf eine Höhe (h) gestellten, feinporösen Verdunstungselement (I) und einem Leitelement bzw. einer Kapillare (III), um das Verdunstungssystem mit dem Wasserreservoir (IV) zu verbinden. Die Entstehung des Verdunstungsdruckes erfolgt in mehreren Phasen. Während der Anfangsphase der Verdunstung (a) sind die Poren vollständig mit Wasser befüllt. Durch das Ventil (II) kann bei der Startphase der hydrostatische Druck ausgeglichen werden, der durch die hängende Wassersäule entsteht. Während der Verdunstung zieht sich das Wasser je nach Benetzungsgrad und Porenstruktur zwischen den Poren zurück und bildet dort die so genannten Menisken aus (b). Diese Menisken in den Poren (V) erzeugen Kapillarkräfte, welche das Wasser über die zwischenmolekularen Anziehungskräfte unter Sogspannung setzen. Hierbei übt die Kapillarität eine Kraft in Gegenrichtung der Schwerkraft aus, so dass dabei auf Grund der Kraftrichtung ein negativer hydrostatischer Druck entsteht [7]. Dieses Phänomen lässt sich anhand der Umsetzung der Young-Laplace-Gleichung für zylindrische Kapillaren erklären:

$$\Delta P = \frac{2\pi r \sigma \cos \alpha}{-\pi r^2} = -\frac{2\sigma \cos \alpha}{r}$$

Gl. 2

Wie in Gl. 2 an dem Kontaktwinkel ersichtlich ist, entsteht ein Kapillardruck durch die Dreiphasengrenze zwischen Wasser-Luft-Festkörper.

Beispiel: Um das Wasser auf einer Höhe von 10 m aufrecht zu halten muss ein Kapillardruck von minimal 980 mbar (1 atm) erzeugt werden. Zum anderen wird das dynamische Verhalten des Wassers einen gewissen Strömungswiderstand zeigen, wenn das Wasser nicht nur gehalten, sondern in den Kapillaren empor transportiert wird.

In den Untersuchungen zu technischen Realisierungen ergab sich beispielsweise ein Volumenstrom des Wassers von maximal 0,3 ml/min in den großlumigen Kapillaren mit Innenradius 0,4 mm. Damit errechnet sich eine Strömungsgeschwindigkeit von maximal 0,59 m/min. Der Strömungswiderstand auf der verwendeten Kapillarlänge vom 1 m wird damit sehr gering und wird deshalb nicht berücksichtigt.

Diese Phänomene sind bei den biologischen Vorbildern zu beobachten. Das hydraulische Transportsystem der Bäume besteht aus großlumigen Wassertransportgefäßen von den Wurzeln bis zu den Blättern. Diese Beobachtung lässt sich mit der Hagen-Poiseuille-Gleichung erklären /8/:

$$J = \frac{V}{t} = \frac{\pi r^4}{8\eta} \cdot \frac{\Delta P}{l}$$

Gl. 3

[J = Durchflussvolumen V pro Zeiteinheit t ; r = Radius; η = Viskosität vom Wasser ($\eta_{H_2O/20^\circ C} = 1 \cdot 10^{-3}$ Pa.s); ΔP = Druckabfall der entlang der Röhre mit der Länge l].

Aus der Formel wird die enorme Bedeutung des Durchmessers der einzelnen Leitelemente für den Wasserstrom deutlich, welcher mit der 4. Potenz des Röhrendurchmessers ansteigt.

Die wesentlich einflussreicheren Randbedingungen für den pflanzlichen Wassertransport werden später intensiv analysiert, wobei der Schwerpunkt bei der Ausarbeitung der Wechselwirkungen zwischen den Materialeigenschaften der eingesetzten porösen Elementen und der Verdunstung lag.

3.2.2 Demonstration des Verdunstungsdruckes

Ein Modellaufbau für die Simulation des Wasseraufstiegs durch Verdunstung wurde bereits 1896 von E. Askenasy entwickelt /9/. Das Versuchssystem bestand aus einem porösen und mit Gips gefüllten Glastrichter als Verdunstungskörper und einer an den Körper angekoppelten Glaskapillare, in der das Wasser durch die Transpirationskraft hochgezogen wird. Das System wurde am Anfang mit Wasser befüllt und das Ende der Kapillare in Quecksilber getaucht. Anschließend ließ er das Wasser aus dem porösen Körper verdunsten. Die durch die Verdunstung entstandenen zwischenmolekularen Kräfte zogen das Quecksilber nach oben und somit konnte der Transpirationsdruck über die Quecksilberhöhe gemessen werden.

Dabei wurde eine Quecksilberhöhe von 83 cm erreicht. Dies entspricht einem absoluten Druck von $P = -0,1\text{bar}$ und umgerechnet einer Höhe von 11,15 m Wassersäule. Das System wurde auch durch den Botaniker A. Ursprung /10/ verwendet und weiterentwickelt. Hierfür wurde als Verdunstungselement ein Keramikfilter eingesetzt, welcher auf Grund der Produktspezifikationen, der mechanischen und chemischen Stabilität sowie der festen Bauweise, auch in dieser Arbeit eingesetzt.

Die bislang verwirklichten Simulationen sowie die dafür aufgebauten Systeme in der Literatur sind darauf ausgerichtet, die maximale Wasserförderhöhe durch die Saugkraft der Transpiration zu messen, um die Funktionsweise des pflanzlichen Wassertransports zu verstehen. Aufbauend auf den Experimenten und den Erfahrungswerten der wissenschaftlichen wurden in dieser Arbeit weitere Modelle entwickelt, um die diversen Komponenten des Flüssigkeitstransportes zu analysieren und zu verstehen. Ferner wurden Methoden entwickelt zur Quantifizierung der verdunsteten Wassermenge und der Wassertransporthöhe.

Zum Einsatz kam dabei Quecksilber, das gegenüber Wasser ein um den Faktor 13,6 höheres spezifisches Gewicht besitzt. Damit war es möglich, die Höhe der Versuchsaufbauten im Vergleich zu Wasser um den gleichen Faktor zu reduzieren. Mit Wasser erfolgten Analysen zur Verdunstungsrate.

Auf die experimentellen Untersuchungen wird in den nächsten Kapiteln näher eingegangen.

3.2.2.1 Ermittlung mit Quecksilber

Dieser Versuchsaufbau besteht im Wesentlichen aus wasserleitenden Transportelementen aus Glaskapillaren und einem Verdunstungskörper sowie aus Verbindungsstücken, um eine luftdichte und druckstabile Ankopplung der einzelnen Komponenten zu gewährleisten. Die Abmessungen der Glaskapillaren wurden nach den biologischen Vorbildern großlumig gewählt, da der Strömungswiderstand bei engen Kapillaren ein Hindernis für den Langstreckentransport darstellt (S. Gl. 3).

Zur Ermittlung des Transpirationssoges wurden Verdunstungselemente aus Membranfasern aus unterschiedlichen Polymeren und Porengrößen sowie beschichtete Keramikfilter mit verschiedenen Beschichtungen und Feinheiten verwendet. Bei der Auswahl der Verdunstungselemente wurde darauf geachtet, dass die Druckstabilität, Chemikalienresistenz und Wasserdurchlässigkeit bei geringerem Differenzdruck vorhanden ist.

Details hierzu sind:

Die Membranfasern bestehen aus synthetischen Polymeren. Diese Fasern konnten als Leitelement sowie gleichzeitig als Verdunstungskörper in einem Transportsystem eingesetzt werden.

Die Keramikfilter sind von Innen mit einer Membranschicht versehen. Der feinporöse Aufbau des Keramikfilters bietet eine gute Ausgangsmöglichkeit zum Einsatz als Verdunstungselement, jedoch müssen diese mit den separaten Leitelementen verbunden werden. Zum Einsatz kamen Monokanal, 8 und 23 Kanäle.

Die Kenngrößen der verwendeten Verdunstungselemente sind in Tab. 11 zusammenfassend dargestellt.

Verdunstungselement	Bezeichnung	Außendurchmesser/ Wandstärke [mm]	Mittlere Porengröße [µm]	Verdunstungsfläche auf die Länge von 100 mm [cm ²]
Membranfaser	A	0,3x0,05	≤0,2	0,94
	B	0,2x0,04	-	0,88
	C	0,5x0,1	≤0,2	1,57
Beschichtete Keramikfilter	Monokanal	10x2	10KD/0,03/ 0,05/0,1	12,35*
	8 Kanäle	25x2	0,2	107,99*
	23 Kanäle	25x2	0,2	1541,64*

Tab. 11: Kenngrößen der verwendete Verdunstungselemente, Länge: 70 mm(*)

Wie in der Tabelle ersichtlich ist, wurde die Oberfläche der Verdunstungskörper aus Fasern auf die Länge von 100 mm, die Keramikbauteile auf die Länge von 70 mm berechnet, da die Produkte von den Herstellern so angefertigt werden. Die in der Tabelle angegebene Verdunstungsfläche der Membranfaser ist die Gesamtfläche der Einzelfasern.

Die schematischen Darstellungen des Versuchsaufbaus und der Versuchsdurchführung sind in (Abb. 31) zu sehen.

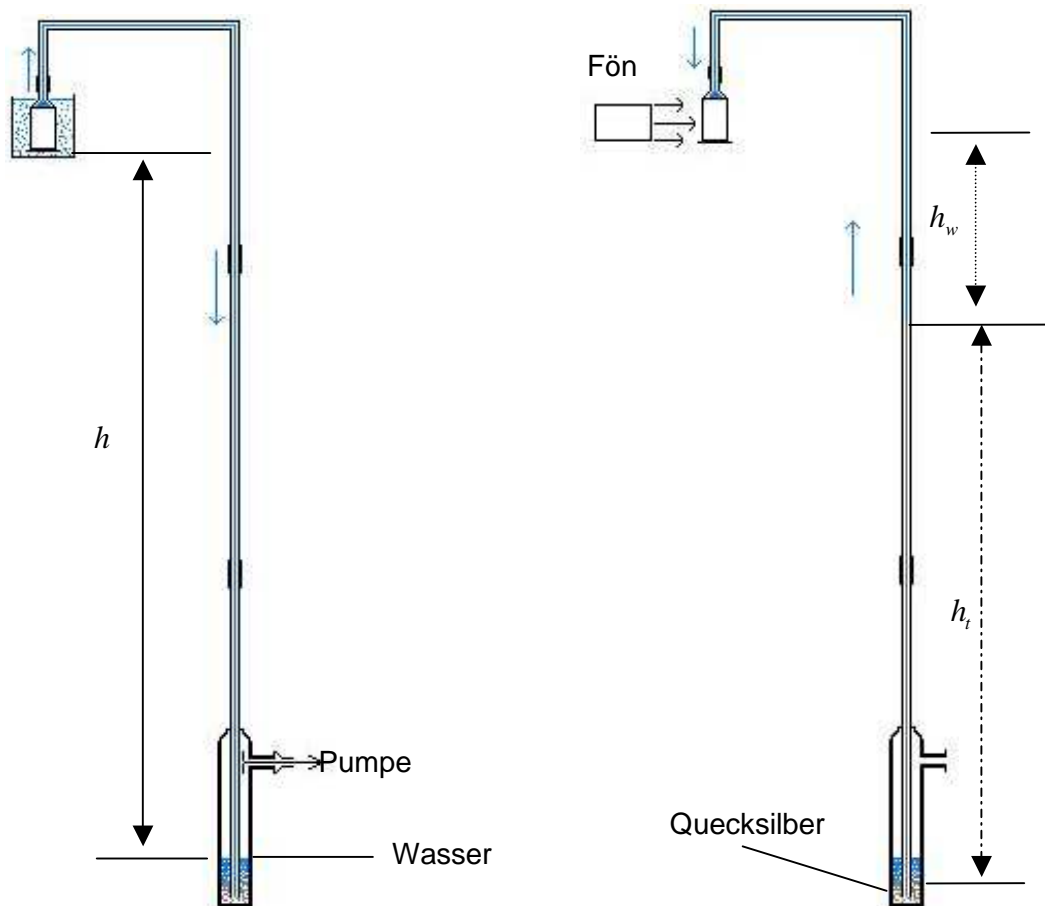


Abb. 31: Befüllen der Kapillaren (l.), Messung des Transpirationsdruckes (r.)

[h = Wassertransporthöhe; h_t = Höhe des gehobenen Quecksilbers in der Zeit t ; h_w = Resthöhe der Kapillaren in der Zeiteinheit (t)].

Mit diesem Versuchsaufbau konnte gezeigt werden, dass das Wasser in einem kavitationsfreien System unter dem negativen Druck transportiert werden kann. Anhand der integrierten Barometer können die Druckwerte im System ermittelt werden.

$$\Delta P = g(\rho_{Hg} \cdot h_t + \rho_{H_2O} \cdot h_w)$$

Gl. 4

[ρ_{Hg} = spezifisches Gewicht Quecksilber; ρ_{H_2O} = spezifisches Gewicht Wasser; g = Gravitationskonstant]

Nach der Herstellung und Präparation der Einzelteile wurde der komplette Versuchsstand installiert (Abb. 32).



Abb. 32: Laborversuchsstand zur Untersuchung des Verdunstungsdruckes mit Quecksilber [Im Bild sind Faserspulen der Membranfaser, Glaskapillare und die Verdunstungskörper im transparenten Lufttrichter des Fönes und der Fön zu sehen. Ein Manometer erfasst den Druck an der Eintrittseite, wobei dies hier mit Quecksilber erfolgte]

Die Ergebnisse der Versuchsreihe mit den erzeugten Saugdrücken finden sich in Tab. 12 wieder.

Datum	H [mmHg]	ΔP [bar]	Verdunstungselement
05.07.2010	245	0,326	Keramikfilter Monokanal 10KD
05.07.2010	220	0,293	Keramikfilter Monokanal 10KD
05.07.2010	248	0,330	Keramikfilter Monokanal 10KD
22.07.2010	350	0,465	Membranfaser A, Feinheit: 200nm
23.07.2010	370	0,492	Membranfaser A, Feinheit: 200nm
23.07.2010	100	0,133	Membranfaser A, Feinheit: 200nm
26.07.2010	325	0,432	Membranfaser A, Feinheit: 200nm
26.07.2010	310	0,412	Membranfaser A, Feinheit: 200nm
26.07.2010	571	0,761	Keramikfilter 8 Kanäle, Mittlere Porengröße: 200nm
30.07.2010	430	0,573	Keramikfilter 8 Kanäle, Mittlere Porengröße: 200nm
13.08.2010	475	0,633	Keramikfilter 8 Kanäle, Mittlere Porengröße: 200 nm
18.08.2010	504	0,671	Keramikfilter 8 Kanäle, Mittlere Porengröße: 200nm
17.05.2011	519	0,991	Keramikfilter, Monokanal Mittlere Porengröße: 100nm
18.05.2011	840	1,119	Keramikfilter Monokanal Mittlere Porengröße: 100nm
30.05.2011	815	1,086	Keramikfilter Monokanal Mittlere Porengröße: 100nm
02.06.2011	860	1,146	Keramikfilter Monokanal Mittlere Porengröße: 100nm
02.06.2011	872	1,162	Keramikfilter Monokanal Mittlere Porengröße: 50nm
05.07.2011	980	1,306	Keramikfilter Monokanal Mittlere Porengröße: 50nm
05.07.2011	543	0,723	Keramikfilter Monokanal Mittlere Porengröße: 50 nm
06.07.2011	926	1,234	Keramikfilter Monokanal Mittlere Porengröße: 50 nm
11.07.2011	915	1,219	Keramikfilter Monokanal Mittlere Porengröße: 50 nm
11.07.2011	903	1,203	Keramikfilter Monokanal Mittlere Porengröße: 50nm

Tab. 12: Ergebnisse der erzielten Unterdrücke

Hierbei konnten mit Monokanal-Keramikfiltern mit der Feinheit von 100 und 50nm Saugdrücke erreicht werden bis zu $-1,3$ bar, wobei mit 50 nm Poren die höchsten Unterdrücke der Versuchsreihe ermittelt werden konnten. Die erreichte Quecksilberhöhe mit 980 mmHg entspricht einem Saugdruck von 1,306 bar und

umgerechnet einer Wassersäule von etwas mehr als 13 m. Hierbei beträgt der Absolutdruck p im System bei einem Umgebungsdruck von $\Delta P=1,013\text{bar}$ $p= -0,293$ bar. Der negative Wert zeigt, dass das Wasser unter Zugspannung gesetzt wurde und sich in einem thermodynamisch metastabilen Zustand befindet.

In Tab. 12 ist auch zu erkennen, dass der Verdunstungsdruck der feinen Keramikfilter deutlich höher liegt als der der größeren Keramikfilter. Dies ist zurückzuführen auf die stärkere Krümmung der Menisci (Wasser-Luft Grenzfläche) von kleineren Poren und daraus folgend auf die größeren aktiven Kapillarkräfte der Verdunstungsfläche. Die feinen Poren der Grenzflächenschicht sind für die starke Haltekraft durch die entstehenden Kapillarkräfte zuständig. Die mögliche Drucksenkung mit eingesetzten Verdunstungselementen im System wurde nach Young-Laplace-Gleichung (S.Gl. 2) berechnet. In Abb. 33 sind die Werte aufgelistet.

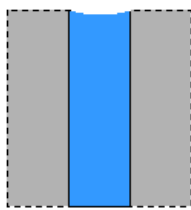
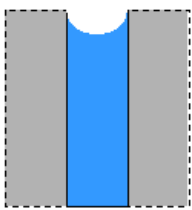
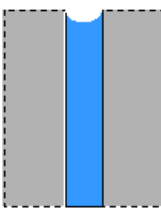
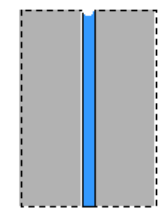
Verdunstungselement	Membranfaser A	Keramikfilter 8-Kanäle	Keramikfilter Monokanal 100 nm	Keramikfilter Monokanal 50 nm
Schematische Darstellung der aufgebauten Menisken zwischen den Poren				
Mittlerer Porenradius r (nm)	100	100	50	25
Kontaktwinkel θ (°)	87	0	52	52
$p(\text{MPa})= -\frac{2\sigma \cos\alpha}{r}$	-0.8	-1,45	-1,79	-3,58

Abb. 33: Spezifikationen der in Tab. 12 aufgelisteten Verdunstungselemente und die berechneten Kapillardrucke nach der Young-Laplace-Gleichung

Die Berechnungen geben zunächst die Unterschiede der berechneten Kapillardrucke auf Basis der Kontaktwinkel θ und des Porenradius r zu erkennen. Die Drucksenkung durch die Membranfaser A beträgt auf Grund der schlechten Benetzbarkeit der Porenwand -0,8 bar und lag unterhalb des benötigten Druckwertes von minimum -1,013 bar, um die Wassersäule unter Zugspannung zu setzen. Mit den Keramikfiltern wurden höhere Druckwerte erreicht, so dass eine Drucksenkung deutlich unterhalb des atmosphärischen Druckes erzielt werden konnte. Aus den in Tab. 12 dargestellten Werten aus den Experimenten wurden Mittelwerte berechnet und anschließend mit den theoretisch errechneten Werten in Abb. 33 gegenübergestellt. In Abb. 34 ist dieser Vergleich graphisch dargestellt.

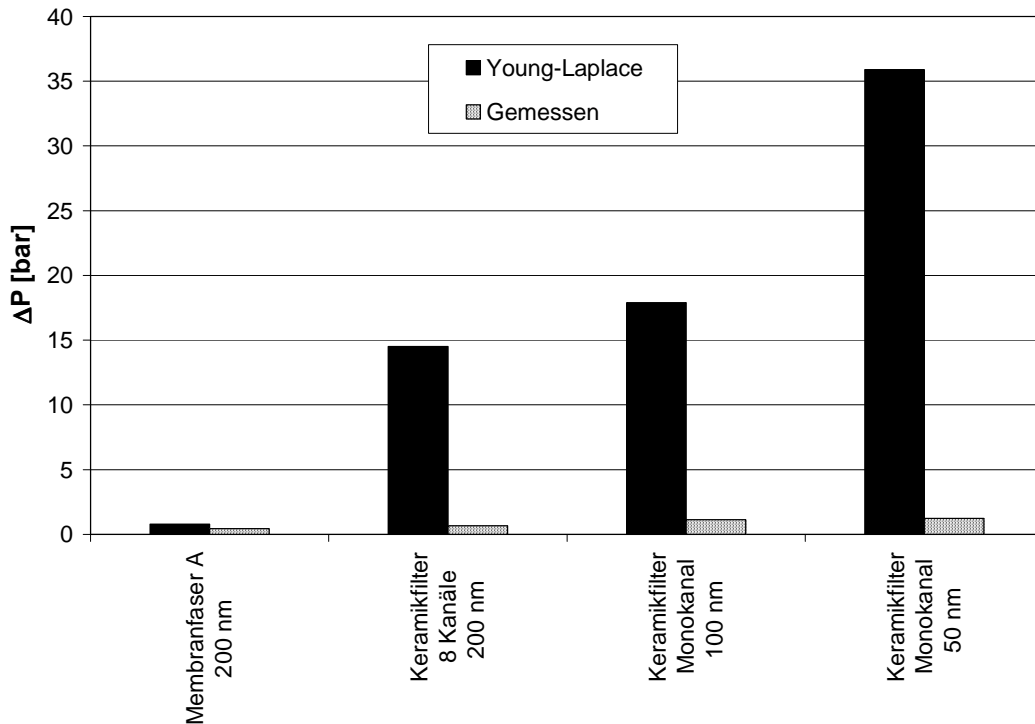


Abb. 34: Vergleich der möglichen Kapillardrücke in den Poren der Verdunstungselemente nach Young-Laplace mit den gemessenen Werten aus Tab.

12

Die Abb. 34 lässt zunächst erkennen, dass die berechneten und gemessenen Werte eine ähnliche Tendenz haben, wobei die gemessenen Werte weit unter den theoretischen Werten liegen. Die Abweichung zwischen Experiment und Theorie nimmt mit zunehmendem Porenradius zu. Ein Vergleich zwischen Keramikfilter-Monokanal 100 und 50 nm Porendurchmesser verdeutlicht erneut, dass durch die Verkleinerung der Poren größere Kapillardrücke erreicht werden können. Der Vergleich zwischen Membranfaser und Keramikfilter 8-Kanäle mit dem gleichen Porenradius gibt Auskunft über die Rolle des Kontaktwinkels θ ($^\circ$), so dass die Membranfaser mit Porenradius 200 nm wegen der schlechteren Benetzbarkeit geringere Werte zeigten.

Die größte Pore des Verdunstungselementes bestimmt den höchsten Wert des Saugdruckes, da diese die entstehenden minimalen Kapillarkräfte bildet und unter einem Gegensog als erste zusammenbricht. In Abb. 35 ist die Standardabweichung vom Mittelwert des gemessenen Kapillardruckes an unterschiedlichen Keramikfiltern als Funktion des Porenradius graphisch aufgetragen.

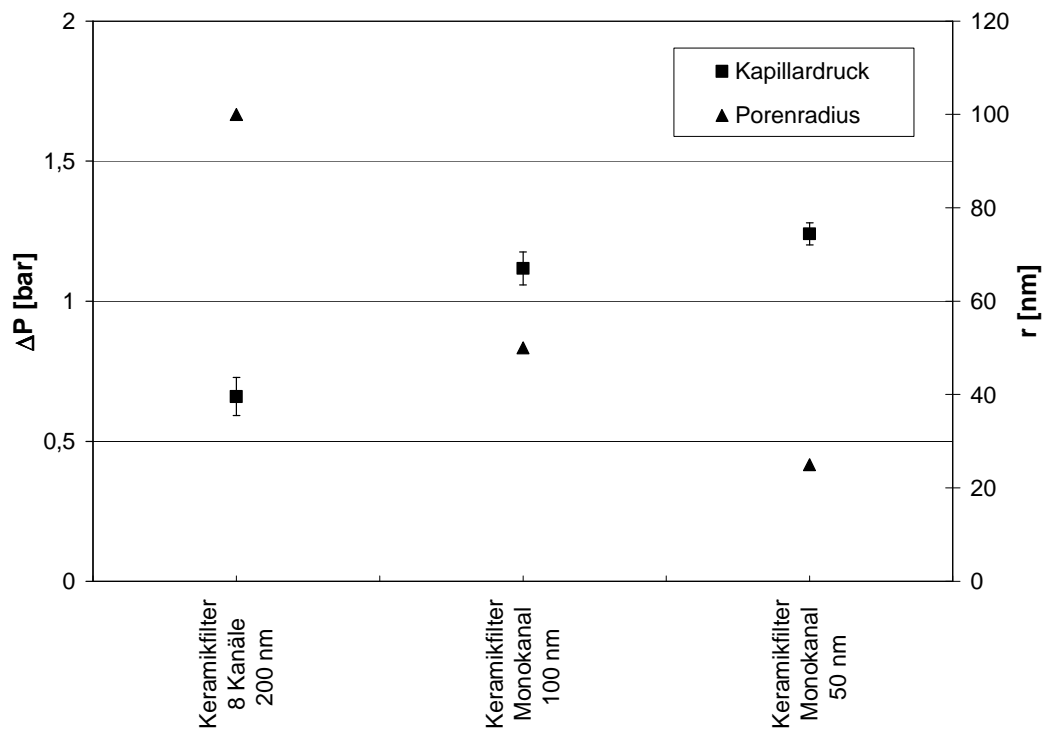


Abb. 35: Standardabweichung vom Mittelwert des gemessenen Kapillardruckes als Funktion des Porenradius

Die Abb. 35 lässt zunächst erkennen, dass die Standardabweichung mit abnehmendem Porenradius kleiner wird. Die zunehmende Entwicklung des Kapillardruckes mit der Abnahme des Porenradius in der Grafik bestätigt die Tatsache, dass mit den feineren Keramikfiltern höhere Verdunstungsdrücke erzielt werden können (Tab. 12).

3.2.2.2 Ermittlung mit Wasser

Für die Messung der Verdunstungsdrücke direkt mit Wasser wurde ein weiterer Versuchsaufbau konzipiert, mit dem auch der Einfluss der materialspezifischen Eigenschaften auf die Wasserförderhöhe sowie auf die Verdunstungsmenge ermittelt werden konnte.

Versuchsaufbau

Der Versuchsaufbau besteht aus Kombinationen verschiedener Materialien, welche zur Wasserleitung und Verdunstung dienen. In Abb. 36 ist der Versuchsaufbau für die Durchführung einer Demonstration im Treppenhaus des ITV über eine Höhe vom 4,75 m dargestellt.



Abb. 36: Versuchsstand zur Ermittlung des Transpirationsdruckes im Treppenhaus des ITV; Versuchsstand auf einer Höhe vom 4,75 m (l.), Messung der transportierten Wassermenge in Abhängigkeit der Zeit (r.)

Der Versuchsstand wurde auf den Transporthöhen von 30, 75, 150, 300 und 450 cm getestet. Eine weitere Höhe ließ sich aufgrund der Innenräumlichkeit des ITV-Denkendorf nicht einzurichten, so dass eine Transporthöhe mehr als 5 Meter nicht demonstriert werden konnte.

Einsatz semipermeabler Membranfasern

Die verwendeten Membranfasern sind in Tab. 13 zu sehen.

Verdunstungselement	Basispolymer	Außendurchmesser/ Wandstärke [mm]	Mittlere Porengröße [μm]	Oberfläche auf die Länge von 150 mm [cm^2]
Membranfaser	A	0,3x0,05	$\leq 0,2$	1,41
	B	0,28x0,04	-	1,31
	C	0,5x0,1	$\leq 0,2$	2,35

Tab. 13: Eingesetzte Membranfasern als Wasserleit- und Verdunstungselement

Die Membranfaser B und C wurden zwar bei den Versuchen mit getestet. Jedoch konnte aus diesen Fasern kein funktionierendes Transportsystem hergestellt werden.



Verdunstungsseite

Abb. 37: Eine Variante der hergestellten Transpirationssysteme aus Membranfasern mit einer Wassertransporthöhe von 150 cm

Bei diesem Versuchskonzept kann die Verdunstungsfläche proportional zur Faseranzahl variiert werden. Als Verdunstungsfläche A wurde die Innenfläche genommen. Dabei wurde eine Wassertransporthöhe vom 30 cm gehalten, um die Auswirkung des statischen Wasserdruckes, der ein Gegendruck zur Wasserströmung ausübt, so minimal wie möglich zu halten. Aufgrund des Versuchsaufbaus in U-Form waren noch kleinere Höhen nicht zu realisieren.

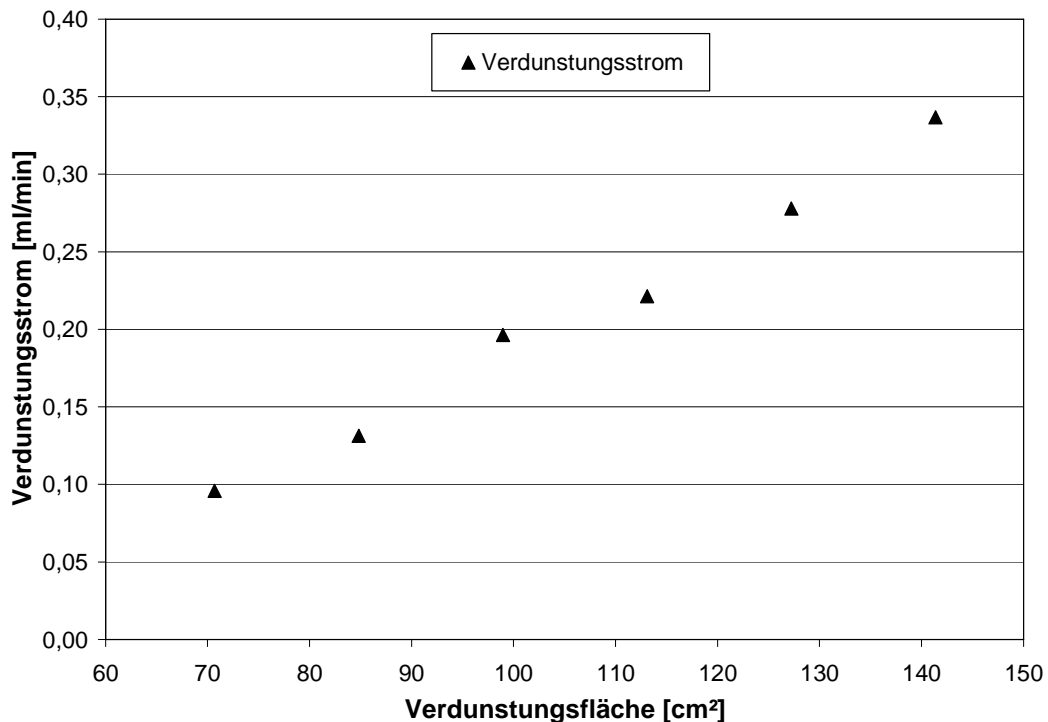


Abb. 38: Verdunstungsstrom als Funktion der Verdunstungsfläche

Die Abb. 38 liefert die Informationen über den Verdunstungsstrom an unterschiedlichen Verdunstungselementen als Funktion der Verdunstungsfläche zwischen den Poren innerhalb einer Materialkonstruktion. Es ist zu erkennen, dass der Verdunstungsstrom sich mit der Verdunstungsfläche A proportional erhöht.

Aufgrund der Materialkonstruktionen können die Transpirationswiderstände unterschiedlich sein. Hierzu analysierten wir unterschiedliche Verdunstungselemente, wobei wiederum die Verdunstungsfläche als Vergleichsmaß für die Verdunstungsrate (Verdunstungsstrom Q pro Verdunstungsfläche A) zu Grunde gelegt wurde.

3.2.3 Unterdruckerzeugung durch starke Hygroskopie

In diesem Kapitel wird ein neues Modell vorgestellt, um Wasser durch den Quelldruck stark hygroskopischer Materialien gegen die Schwerkraft zu transportieren. Dabei wird das transportierte Wasser an Verdunstungsseite in flüssiger Form gespeichert und steht den Pflanzen zur Verfügung. Im Prinzip wird der Verdunstungsdruck des pflanzlichen Wassertransportsystems durch Saugdruck bzw. Quelldruck der stark hygroskopischen Materialien ersetzt.

Die bisherigen Untersuchungen zur Wasserförderung durch Verdunstung zeigen, dass das Wasser durch den Verdunstungsdruck nur hoch transportiert werden kann, wenn die Verdunstung auf einer feinporigen Oberfläche erfolgt und wenn die Kapillarkräfte zwischen den Poren ausreichend hoch sind, um eine Wassersäule aufrecht zu halten. Wenn man nun vor der Verdunstung die Poren in voll benetztem

Zustand mit stark hygroskopischen Polymeren in Verbindung bringt, wird das Porenwasser durch hygroskopische Kräfte der Polymere angezogen. Der hierbei entstehende Sogdruck steht den statischen und dynamischen Widerständen des Wassers entgegen. Da das Wasser dabei in den hochquellfähigen Polymeren gespeichert wird, steht es als „Quellwasser oder Verbundwasser“ für eine weitere Anwendung zur Verfügung. Aus Tab. 14 sind die Ergebnisse dazu mit den durchgeführten Untersuchungen zu entnehmen.

Datum	Höhe [mmHg]	Eingesetzte Menge vom hygroskopischen Material [g]	ΔP [bar]	Oberfläche [mm ²]	Verdunstungselement Länge: 70 mm
06.07.2010	326	0,43	0,43	5438,21	Keramikfilter 8 Kanäle
20.07.2010	370	0,49	0,49		
30.07.2010	401	0,53	0,53		
30.07.2010	402	0,59	0,53		
10.08.2010	322	0,43	0,42	5438,21	Keramikfilter 23 Kanäle
10.08.2010	375	0,48	0,50		
11.08.2010	400	0,59	0,53		
30.05.2011	308	0,41	0,41	12,35	Keramikfilter Monokanal
02.06.2011	352	0,46	0,46		
02.06.2011	350	0,53	0,46		

Tab. 14: Ermittelte Sogdrücke an unterschiedlichen Verdunstungselementen

Die Tab. 14 verdeutlicht, dass durch den Quelldruck der hygroskopischen Materialien in dem aufgebauten geschlossenen Transportsystem ein hoher Saugdruck von bis zu 0,53 bar aufgebaut werden kann. Dies entspricht einer Wasserförderhöhe von 5,40 m. Es ist ebenfalls zu erkennen, dass der Quelldruck sich mit der Steigerung der eingesetzten Menge erhöht.

3.2.4 Diskussion der technischen Umsetzung zu Wassertransportsystemen

In dem vorherigen Kapitel wurde der Wassertransport vorgestellt bei dem der notwendige Saugdruck durch Verdunstung entsteht. Dabei geht das transportierte Wasser in Gasform über und steht somit den Pflanzen nicht zur Verfügung. Wenn man jedoch die Nutzung des transportierten Wassers in Betracht zieht, ist es möglich, das transportierte Wasser durch Kondensation in die flüssige Form umzuwandeln. Von Prof. Rechenberg wurden im Jahr 2007 in den Wüsten Saharas Experimente zur Wasserrückgewinnung durch Pflanzenblätter durchgeführt /11/. Dabei wurden Pflanzenblätter mit durchsichtigen Folien umschlossen und so in einem geschlossenen Raum das transpirierte Wasser kondensiert. Die Experimente

zeigten, dass mit diesem Verdunstungs-Kondensationssystem der Pflanzen bis zu 3 l/m²/Tag an Wasser gewonnen werden könnte.

Die im Experiment am ITV transportierte Wassermenge durch Verdunstung gibt Tab. 15 zusammenfassend wieder.

Verdunstungsrate [ml/cm²/min]				
Wasserförderhöhe (cm)	Membranfaser A	Keramikfilter 8 Kanäle	Keramikfilter 23 Kanäle	Keramikfilter Monokanal
30	2,41E-03	2,59E-03	2,59E-04	6,64E-03
75	1,77E-03	2,32E-03	1,36E-04	5,91E-03
150	9,20E-04	2,13E-03	7,14E-05	5,02E-03

Tab. 15: Gesamtvergleich der Verdunstungsraten der eingesetzten Verdunstungselemente

Von den Ergebnissen in Tab. 15 ausgehend ergibt sich eine Wasserfördermenge bei einer Höhe von 1,5 Meter von 72,2 l/m²/Tag.

Eine interessante Alternative stellen saugfähige Medien dar, die die erforderliche Wasserpotenzialdifferenz aufbauen und so den Wassertransport ermöglichen. Dies geschieht solange, bis die saugfähigen Medien mit Wasser getränkt sind.

Für den Einsatz in der Bewässerung können für die notwendige Wasserpotentialdifferenz die Saugdrücke von Pflanzenwurzeln eingesetzt werden. Die Pflanzenwurzeln entnehmen an der Abgabeseite dem Transportsystem das benötigte Wasser, indem sie in den Wurzeln einen Druckgradienten zwischen sich und dem Transportsystem erzeugen. Dieser Druckgradient ist bedarfsorientiert: er steigt, wenn die Pflanze mehr Wasser benötigt. Wichtig dabei ist, dass der Kontakt zwischen Wurzeln und den Poren des Wasserabgabesystems großflächig hergestellt wird, damit ein genügend hoher Wasserfluss entsteht. Hier für ist die Kapillarität des porösen Verdunstungskörpers von großer Bedeutung.

Welche Menge Wasser hierbei der Pflanze zur Verfügung gestellt werden kann, ist aus Tab. 16 zu entnehmen.

Wassermenge [ml/Tag]			
Wasserförderhöhe (cm)	Keramikfilter 8 Kanäle	Keramikfilter 23 Kanäle	Keramikfilter Monokanal
150	748,8	480	336

Tab. 16: Wasserfördermenge durch unterschiedliche Verdunstungskörper und hygroskopisches Material

Wie die Tab. 16 dargestellt, kann mit den entwickelten Systemen bis zu 0,75 l Wasser pro Tag auf die Höhe von 150 cm zur Pflanze hin transportiert und für die Aufnahme der Wurzeln zur Verfügung gestellt werden.

Aufgrund der höheren Wassertransportmenge des Keramikfilters 8-Kanäle wird für die weitere Entwicklung der Bewässerungssysteme dieses Verdunstungselement als Wasserabgabestelle eingesetzt.

3.2.5 Entwicklung von Bewässerungssystemen

Bei der Pflanzenbewässerung ist die besondere Herausforderung die Effizienz der Wassernutzung. Oft verdunstet ein großer Teil ungenutzt. Bei konventionellen Systemen der Bewässerung wie Oberflächen- und Tropfenbewässerung beträgt die Wassernutzung ca. 70-80 %.

Die Bewässerungssysteme bestehen im Wesentlichen aus Wassereintrittsstelle, Wasserleitelement und Wasserabgabestelle. Die Wassereintrittsstellen sind bei der Prototypenentwicklung nicht berücksichtigt. Für die Ausbildung werden jedoch Lösungsvorschläge erarbeitet.

Für einen großflächigen Einsatz sind die neuen Versorgungssysteme entsprechend hoch zu skalieren. Dazu gehören eine kontinuierliche Zuspelung durch einen großflächigen Verteiler sowie die Anschlüsse der Wasserleitsysteme an die jeweiligen Wasserquellen. Insbesondere sind Embolien zu beachten und idealerweise zu beseitigen. Durch den Innendruck kleiner als 1atm wird das Wasser gedehnt. Bei einer weiteren Drucksenkung im Systeminneren bildet sich aus der im Wasser gelösten Luft mit der Zeit feine Luftbläschen. Diese führen zu den Embolien der Leitgefäße. Die Löslichkeit von Luft in Wasser ist abhängig vom Gesamtdruck des Wassers und der Temperatur. Bei sinkendem Druck oder bei höherer Temperatur nimmt die Löslichkeit der Gase im Wasser ab.

Die Gefahr der Embolien sinkt mit geringeren Drücken. Doch selbst bei der anvisierten Bewässerungshöhe von 1,5 Meter wird ein Innendruck von 0,84 bar absolut sich einstellen. Auch dort können kleinere Drucksenkungen mit der Zeit zum Abbrechen des Wassertransportes führen.

Im hier Abhilfe zu schaffen werden im folgenden Kapitel die entsprechenden Analysen an Pflanzen insbesondere zur Emboliebeseitigung vorgestellt und daraus die Ableitung von technischen Lösungen.

3.2.6 Herstellung faserbasierter Wasserleitelemente

Bei der Faserauswahl zur Herstellung der Wasserleitelemente ist die Benetzbarkeit der Fasern berücksichtigt, die nicht nur auf dem Kontaktwinkel Wasser-Festkörper ermittelt wurde, sondern auf den Voruntersuchungen des kapillaren Wasseranstiegs in Kapitel 1 beruht.

Für die Herstellung der Wasserleitelemente wurden Garne aus unterschiedlichen Faserfeinheiten- und Formen ausgewählt, um die Kapillargrößen und Anzahl in einem Garnbündel zu variieren. Die Benetzbarkeit der Fasern waren mit einem dynamischen Kontaktwinkel vom 53-54° etwa gleich. Jedoch wurden Membranfasern mit schlechterer Benetzbarkeit (87°) nur zum Vergleich in die Herstellung und Untersuchung aufgenommen. Der Einfluss der Benetzungseigenschaften wurde in den folgenden Kapiteln analysiert.

Im folgenden Bild sind die Beispiele der hergestellten Leitsysteme zu sehen.

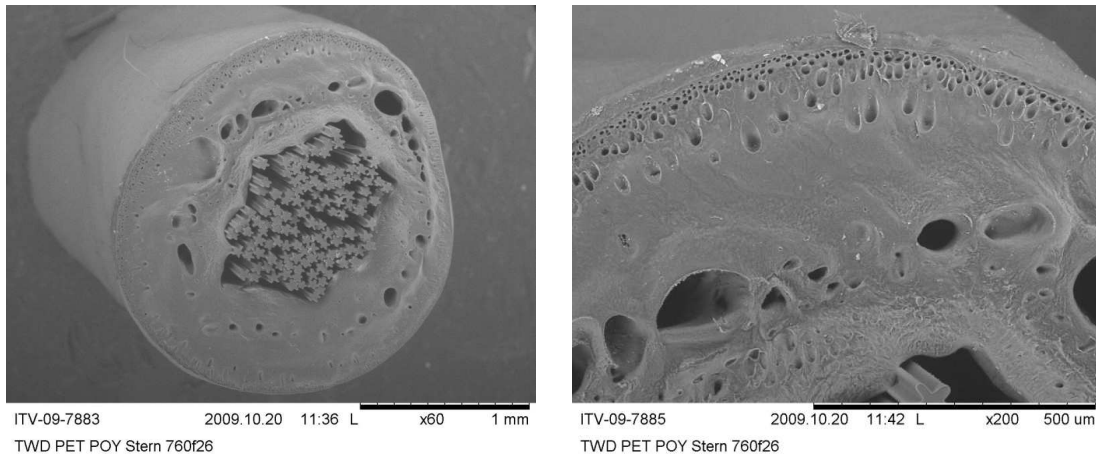


Abb. 39: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen vom Querschnitt der ummantelten Sternfasern nach dem Nassspinnverfahren (r.), poröser Membranmantel (l.).

Schlauchummantelung

Faserbasierte Wassertransportsysteme werden hierbei durch das Einfügen der Fasern in einen Schlauch realisiert, der dem Faserbündel eine Luftdichtigkeit sowie Stabilität verleiht. Die Fasern werden zuerst auf die erzielte Faseranzahl gefacht und anschließend in den Schlauch eingezogen.

3.2.6.1 Versuchsaufbau und Durchführung zur experimentellen Bestimmung der hydraulischen Wasserleitfähigkeit

Für die Messungen der Wasserleitfähigkeit von faserbasierten Leitelementen wurden Parameter wie Querschnittsfläche des Leitelementes A_G und die gesamte offene Fläche der Kapillaren A_k in einem Fasersystem variiert. Hierbei werden Faserbündel so gefacht, so dass die gesamte offene Fläche A_G der einzelnen Leitelemente konstant ist. Durch die Variationen weiterer Parameter wie Gesamtumfang der Fasern im Leitsystem C_G und daraus resultierenden Kapillargrößenverteilung können relevante Zusammenhänge zwischen den Kenngrößen der Fasern ermittelt werden. Dazu werden Durchmesser und Umfang der einzelnen Fasern mit einem

Bildverarbeitungsprogramm gemessen und daraus die Kenndaten berechnet. Die verwendeten Wasserleitelemente aus sind in Tab. 17 mit den Kenndaten aufgelistet.

Garn Nr.	Einzelfaserfläche [mm ²]	Faserumfang [mm]	Kontaktwinkel [°]	Fachen (Garnanzahl im System)	Gesamtfaserfläche [mm ²]	Gesamtfaserumfang [mm]
0	4,1648	942,0	87	100	4,16	9,42
2	0,0038	21,8	54	103	1,49	867
16	0,2182	243,5	53	26	1,47	167
17	0,1779	220,2	54	66	1,48	186
21	0,1137	119,5	53	55	1,50	158
47	0,0181	55,8	54	17	1,50	464
59	0,0181	55,8	54	4	1,41	437

Tab. 17: Untersuchte Garne mit gemessenen Kenngrößen und daraus berechneten Abmaßen in einem Schlauch von 3 mm

Versuchaufbau

Die Prüfung der spezifischen Wasserleitfähigkeit basiert auf dem Verfahren zur Bestimmung von Durchflussraten in den Holzpflanzen. Ein Versuchsmodell „Sperrymethods“ zur hydraulischen Leitfähigkeitsmessung von pflanzlichen Stammsegmenten /12/ wurde vom Department of Biology der University of Utah entwickelt. Dieser Versuchsaufbau machte es möglich, den Volumen- bzw. Massenfluss durch ein Faser-Schlauch-System experimentell zu ermitteln, woraus sich anschließend die Leitfähigkeit und Geschwindigkeit jeder Probe berechnen ließ.

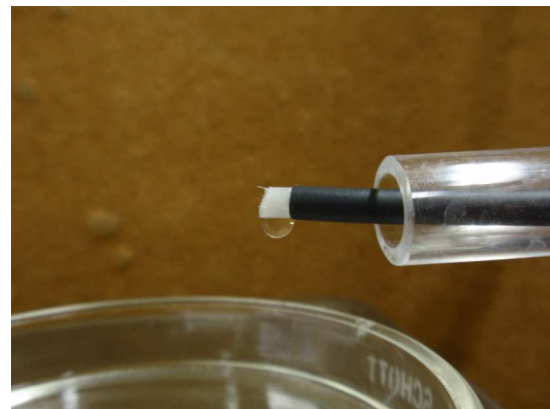
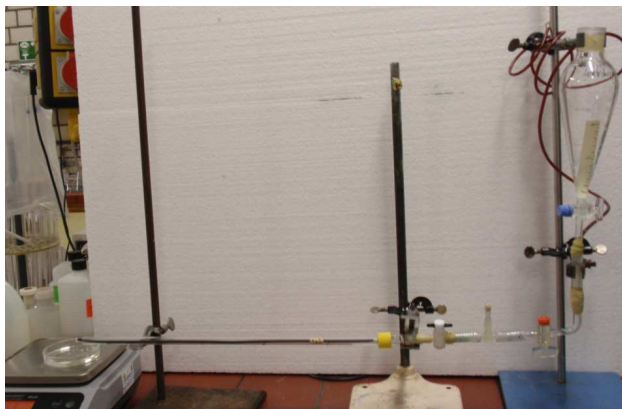


Abb. 40: Messvorrichtung zur Bestimmung des Massenflusses

Die Wasserleitelemente bestehen aus fasereingefügten Schläuchen, so dass die Fasern in dem System möglichst kompakt aneinander liegen.

Durch unterschiedliche Flüssigkeitsfüllhöhen wurde der hydrostatische Druck $P_{hyd} = \rho g h_w$ variiert. Der Wasserdruck wurde möglichst klein gehalten, um die Auswirkung der Besetzbarkeit der Kapillare auf die Wasserleitfähigkeit zu beobachten.

Das Gewicht des Wassers, das mit der Zeit aus dem Schlauch in eine Glasschale tropfte, wurde mit einer Feinwaage in 3 Minuten Takt ermittelt und auf das Volumen umgerechnet (Abb. 40). Die Ermittlung der Messwerte sind so lange gedauert bis einen konstanten Volumenfluss erreicht wurde.

3.2.6.2 Ergebnisse und Auswertungen zur hydraulischen Wasserleitfähigkeit

In Anlehnung an die theoretische Modellierung zum Volumenfluss in einem Faserbündel wurden die relevanten Kenngrößen berechnet und in Tab. 18 mit Versuchsergebnissen zusammenfassend eingetragen.

Garn Nr.	A [mm ²]	C [mm]	C/A	A ³ /C ² [mm]	Druckgradient [Mpa]	Volumenstrom [m ³ /s]	hydrostatische Leitfähigkeit [m ⁴ MPa/s]
0	2,9	9,4E+01	3,2E+01	2,7E-03	2,0E-02	6,5E-09	6,6E-07
2	5,6	8,6E+02	1,5E+02	2,3E-04	2,3E-03	1,1E-10	2,5E-08
16	5,6	1,6E+02	2,9E+01	6,4E-03	9,8E-04	2,9E-08	1,5E-05
17	5,6	1,8E+02	3,3E+01	5,2E-03	9,8E-04	3,6E-08	1,9E-05
21	5,6	1,6E+02	2,8E+01	6,9E-03	9,8E-04	2,0E-08	1,0E-05
47	5,6	4,6E+02	8,3E+01	8,1E-04	2,3E-03	1,3E-07	2,8E-05
59	5,6	4,4E+02	7,8E+01	9,4E-04	2,3E-03	8,1E-08	1,8E-05

Tab. 18: Zusammenstellung der Ergebnisse zur hydraulischer Leitfähigkeit und zum Volumenstrom mit den Kenndaten der untersuchten Leitelente

3.2.7 Systementwicklungen zur Embolieentfernung aus dem Gesamttransportsystem

Von den pflanzenphysiologischen Erkenntnissen ausgehend werden hierbei Wasserleitelemente entwickelt, die eine Partitionierung der Kapillaren entlang der Wassertransportkanäle ermöglichen. In einem Bündel bzw. sogenannten Garn- oder Zwirnform bilden die Fasern unterschiedlich große Kapillare, die eben so dem biologischen Vorbild ähneln.

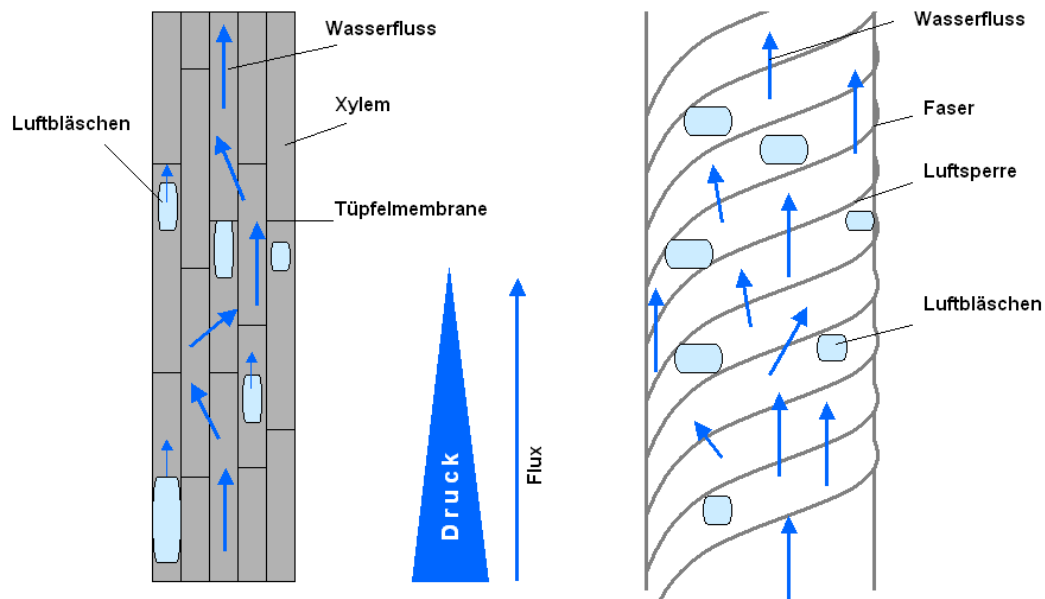


Abb. 41: Schematische Darstellung der Partitionierung von Xylem und die Luftsperrung mit sogenannten Tüpfeln (r.) und ein Modell der komplexen Garnsysteme zur technischen Realisierung (l.) Anhand des entwickelten Konzeptes aus Fasern wurde die Rolle der geteilten Kapillaren bei der Embolienvermeidung und Entfernung analog zu den pflanzlichen Transportsystemen untersucht. In diesem Kapitel werden dazu die Untersuchungen dargestellt.

Analysen zur Blasenausbreitung in den Kapillaren

Zunächst wurden die Leitelemente hinsichtlich der Auswirkung der Trennung der Kapillaren eines Leitelementes untersucht. Dazu wurden Leitsysteme aus unterschiedlichen Fasern auf das Verhalten der Luftbläschen visuell untersucht. Die Leitsysteme aus fasereingefügten Schläuchen (Tab. 17) wurden vollständig mit Wasser befüllt. Dann wurde mit einer dünnen Nadel durch den Schlauch hindurch ca. 0,1 ml Luft eingepresst. Danach wurde eine kurzzeitige Strömung erzeugt durch die Zugabe von 5 ml Wasser in 5 Sekunden in das Leitsystem. Die Bilder zu dieser Untersuchung sind in Abb. 42 dargestellt.

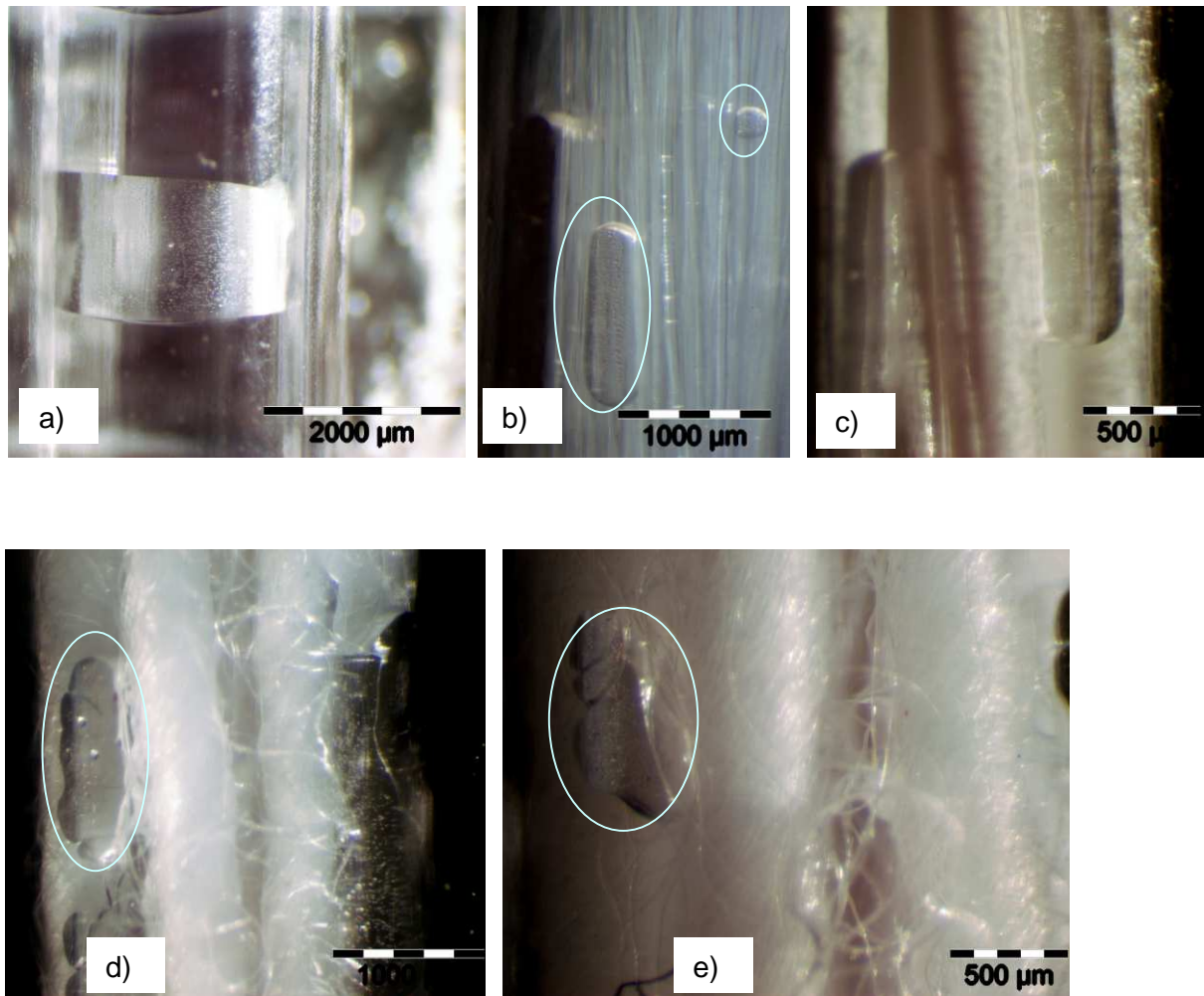


Abb. 42: Makroskopische Aufnahmen der mit Luftblasen dotierten Wasserleitsysteme; PVC Mikroschlauch (a), Garn Nr. 16 (b.), Garn Nr. 0 (c) und Garn Nr. 47 (d,e)

Die Beobachtung unter einem Makroskop zeigte, dass die Luftbläschen schnell die Form der betroffenen Kapillare ausfüllen, so dass dies bei einer Einzelkapillare wie beim hohlen PVC Schlauch zur Embolie führt (a). Die Mehrfach-Kapillarität zwischen den Fasern verhindert, dass die Bläschen sich auf den ganzen Querschnitt verbreiten. Jedoch sind die luftdotierten Kapillaren von der Embolie selber betroffen.

In Längsrichtung ergab sich eine weitere interessante Beobachtung: Bei Endlosgarnen mit durchgehender Kapillare baut sich keine Hemmung einer Luftblase in Flussrichtung auf. Im Gegensatz dazu bilden Stapelfasergarnen aus den gedrehten Kurzfasern entlang des Garnes Kapillaren, die ständig unterbrochen sind. Somit bilden die Kurzfasern ein Hindernis der Blasenbewegung.

Diese positive Eigenschaft der Stapelfasergarne ist Wassertransport unter Sogdruck noch bedeutender, da kleine Bläschen unter Sogdruck schnell zu einer Embolie werden.

Analysen zur Blasenabscheidung

Weiterführend zur Systementwicklung für die Embolienvermeidung wurde ein Versuchsmodell entwickelt, mit dem das Verhalten der Luftbläschen unter Sogdruck längere Zeit studiert werden kann. Der Versuchsaufbau enthält zudem Möglichkeiten für das Separieren und Entfernen der Luft aus den Leitelementen. Zum Erzeugen des Sogdruckes wurde die Verdunstung mit dem Verdunstungskörper Keramikfilter 8-Kanäle eingesetzt und Fasern in einen an die Anschlüsse passenden Schlauch aus PVC mit einem Innendurchmesser vom 2,4 mm eingefügt. Dazu wurde das Stapelfasergarn ausgewählt, dessen hydraulische Wasserleitfähigkeit die höchsten Werte gezeigt hat.

Für die Erhöhung des Volumenflusses wurde versucht, die Garnanzahl im Schlauch zu verringern. Dies hatte jedoch Grenzen, da die Garne unter einem Wasserdruck aus dem Schlauch hinausgedrückt wurden. Die untersuchten Leitsysteme und die Ergebnisse bis zu dem maximal erreichbaren Volumenfluss unter einem Druckgradienten vom 240mmWS bzw. $2,35 \times 10^{-3} \text{MPa}$ sind in Tab. 19 zusammengestellt.

Leitelement	Faser bzw. Garne im Schlauch	Abmessungen des Schlauches [ø mm]	Länge [cm]	Fachen	Volumenstrom [m ³ /s]	hydrostatische Leitfähigkeit [m ⁴ /Mpa*s]
PVC Mikroschlauch	keine	0,8 x 2,4	165	-	2,1E-07	1,5E-04
PVC Mikroschlauch	Garn Nr. 47			11	7,6E-08	5,5E-05
	Garn Nr. 47			8	1,1E-07	7,7E-05
	Garn Nr. 47			7	-	-

Tab. 19: Zusammenstellung der hergestellten Leitelemente aus Fasern und Ergebnisse zur Untersuchung der hydraulischen Leitfähigkeit

Der Modellaufbau und Versuchsdurchführung

Die Transportsysteme wurden mit und ohne Zwischengehäuse analysiert und mit Druckmessungen begleitet.

Bei den Versuchen ohne Zwischengehäuse erfolgten die Druckmessungen direkt am Verbindungselement bzw. am Verdunstungskörper.

In Abb. 43 ist der Versuchsstand dargestellt.



Abb. 43: Versuchsaufbau zur Untersuchung der Embolievermeidung

Wie mit den blauen Pfeilen in Abb. 43 markiert, wird das Wasser durch Verdunstung in das Zwischengehäuse hoch transportiert. Die Länge der Kapillare bis zum Gehäuse beträgt 140 cm; der Verdunstungskörper stand 15 cm unter dem Gehäuse. Die Länge der Leitung zwischen Gehäuse und Verdunstungskörper ist 25 cm, so dass die Gesamtlänge des Wasserleitelementes 165 cm war.

Entstehende Luft sollte somit im Zwischengehäuse abgeschieden werden. Falls auf dem Weg des Wassers aus der Zwischengehäuse zum Verdunstungskörper weitere Luftbläschen entstehen, sollten auch diese in das Zwischengehäuse hochsteigen. Somit kann die Luft aus beiden Teilen der Transportleitung in das Gehäuse einfließen.

Diese Funktion wird vor allem bei langsamer Strömungsgeschwindigkeiten und bei kleinen Bläschen erwartet /13/. Wenn die Luftbläschen zu Embolien werden, so dass der gesamte Querschnitt der Leitung luftbefüllt ist, wird die Luft vom Zwischengehäuse mit der Strömung hin zum Verdunstungskörper wandern und sich

dort ansammeln. Diese führt mit der Zeit zu Systemunterbrechungen, da der molekulare Kontakt des Wassers in der Leitung unterbrochen wird.

Die Versuchsreihen erfolgten jeweils 24h lang. Längere Versuchszeiten waren auf Grund der Einsatzdauer des Fönes nicht möglich. In Abb. 44 ist der zeitliche Verlauf des Innendruckes mit unterschiedlichen Leitelementen sowie der Transportsysteme mit und ohne Zwischengehäuse dargestellt.

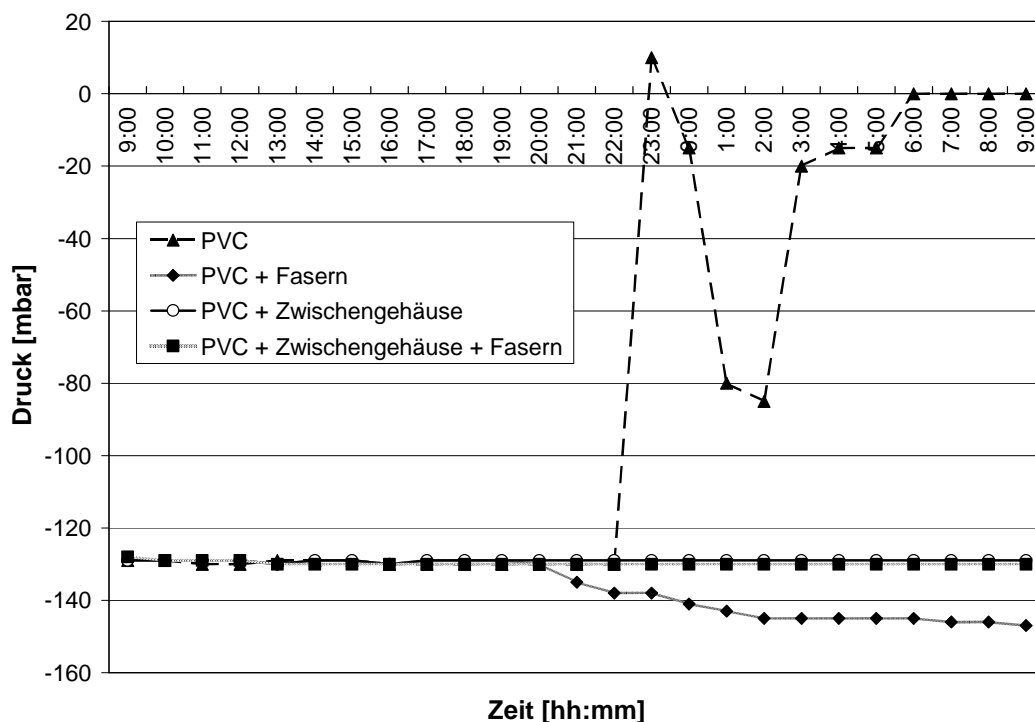


Abb. 44: Vergleich des Innendruckes mit unterschiedlichen Leitelementen mit und ohne Zwischengehäuse

Aus Abb. 44 ist zu erkennen: beim Einsatz von Fasern im PVC Schlauch bleibt der Unterdruck über 24h erhalten. Ohne Fasern im PVC Schlauch und ohne Zwischengehäuse bricht der Unterdruck nach 14 Stunden zusammen.

Weitere Beobachtungen zeigten, dass die im PVC Schlauch entstandene Luft mit der Strömung bis in den Verdunstungskörper hin gedrückt wurde und sich im Verbindungsstück sammelte. Damit brach der molekulare Kontakt des Wasserfadens an der Seite des Verdunstungskörpers ein. Ab dem Moment ist das System nicht mehr stabil und das Wasser läuft in das Reservoir zurück.

Aus den Ergebnissen dieser Untersuchungsreihe geht deutlich hervor, dass die Leitungen aus fasereingefügten Schläuchen die Luftbläschen in der Leitung zurückhalten, so dass die Luftbläschen nicht in die Richtung zum Verdunstungskörper fließen. Diese ermöglichte eine längere Einsatzdauer des Transportsystems.

Die visuelle Beobachtung der angesammelten Luft im Zwischengehäuse machte deutlich, dass Leitelemente mit Fasern eine erhebliche Rolle bei der Zurückhaltung der Bläschen in der Leitung spielen. Die Menge der Luftbläschen nach 24h ist deutlich verschieden (Abb. 45).

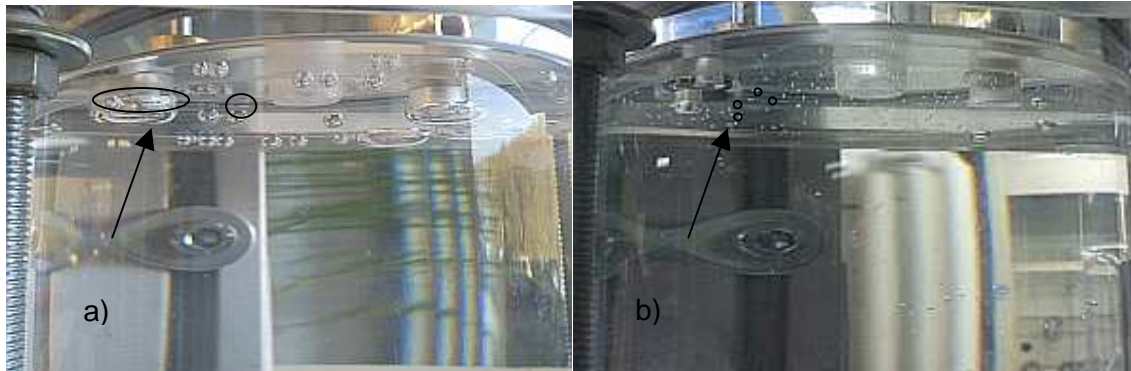


Abb. 45: Bildaufnahmen der im Zwischengehäuse gesammelten Luft nach 24h Versuchsdauer, PVC Hohlschlauch (a.) und Faser-eingefügter PVC-Schlauch (b.)

Das Sperren der Luftbläschen mit Fasern führt zur Bildung kleinerer Bläschen gegenüber einem PVC-Hohlschlauch ohne Fasern.

In Abb. 46 ist der dazugehörige Verlauf des Verdunstungsstromes wiedergegeben.

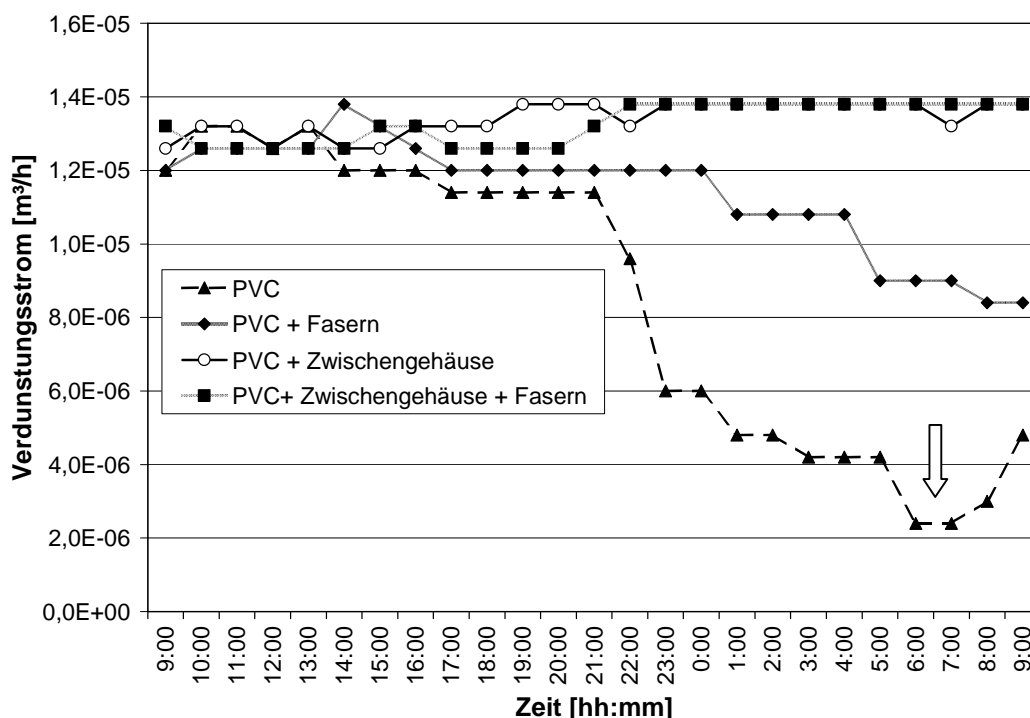


Abb. 46: Verlauf des Verdunstungsstroms der unterschiedlichen Leitelemente in 24h sowie der Einfluss der Zwischengehäuse auf den Verdunstungsstrom

Aus Abb. 46 ist zu ersehen, dass der Volumenstrom mit dem Verlauf des Innendruckes stark zusammenhängt.

Die durchgeführten Untersuchungen für einen Zeitraum von einem Tag zeigten deutlich, dass die fasereingefügten Schläuchen aufgrund der Luftsperrung zwischen den Fasern zur Verhinderung der Entstehung von Embolien helfen. Weiterhin ist es gelungen durch das Zwischengehäuse die Luft aus dem Leitungssystem abzusondern. Dadurch war ein stabiler und störungsfreier Wassertransport über 24 h möglich.

3.2.8 Feldversuche mit Bewässerungssystemen auf Basis tensiler Kräfte

Die Idee für die Verwendung eines faserbasierten Systems orientiert sich nach dem direkten Einsatz der entwickelten Transportsysteme bei der Pflanzenbewässerung. Wasser soll ohne Energiezufuhr entgegen der Schwerkraft von einem Wasserreservoir bis hin zu Topfpflanzen transportiert werden. Hierzu wurden Versuche im Botanischen Garten Tübingen durchgeführt, wobei verschiedene Faserleitsysteme und Wasserspender getestet wurden. Die Voruntersuchungen im Labormaßstab haben erwiesen dass der Auftrieb und das Speichern vom Wasser auf eine Transporthöhe von 150 cm mit hygroskopischen Materialien möglich ist. Hierbei wurde bis auf die Wassermenge vom 13 ml/20min erreicht.

3.2.8.1 Versuchsaufbau und Durchführung

Für diese Versuchsreihe wurde eine Vorrichtung mit 2 stufenlos verschiebbaren Messtischen an einer langen Schiene konstruiert wobei die Transporthöhe bzw. Distanz zwischen Wasserreservoir und der Pflanze 150 cm betrug. Die Höhe hat sich auf Grund der Vorversuche zum Wassertransport mit Zugspannungen ergeben. Die transportierte Wassermenge wird mit der Transporthöhe geringer.

Der Versuchsaufbau im Botanischen Garten der Universität Tübingen ist in Abb. 47 zu sehen.

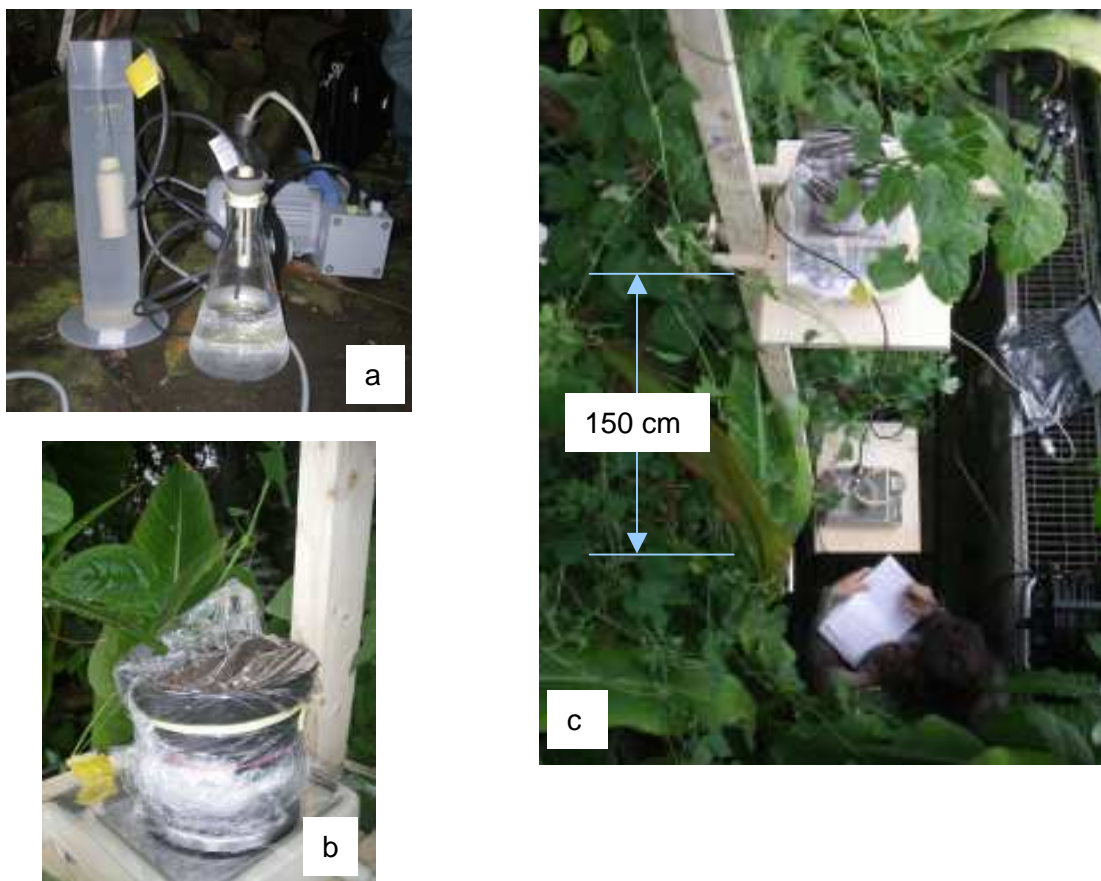


Abb. 47: Versuchsvorbereitung und –Aufbau zur Pflanzenbewässerung, Befüllvorgang (a), Einsatz der Wasserspender im Pflanztopf (b) und der gesamte Versuchsaufbau im botanischen Garten mit der tropischen Liane „*adenia lobata*“

Im botanischen Garten wurde das bereits im Vorversuch geprüfte Wasserleitungssystem zunächst vorbereitet. Das System wurde mit Hilfe einer Saugpumpe und eines Glaskolben mit destilliertem Wasser befüllt und somit die Leitelemente luftfrei gemacht, Abb. 47 .

3.2.8.2 Ergebnisse und Diskussion zu durchgeführten Bewässerungsversuchen

Versuch 1: Basisversuche

Hierbei wurde zum Wasseranstieg und Wasserspeicherung der Sogdruck eines hygroskopischen Materials an der Verdunstungsseite verwendet.

Die gravimetrische Bestimmung des Wassertransfers vom Wasserreservoir in den Pflanztopf sowie Gewichtszunahme des Pflanztopfes sind in Abb. 48 graphisch dargestellt.

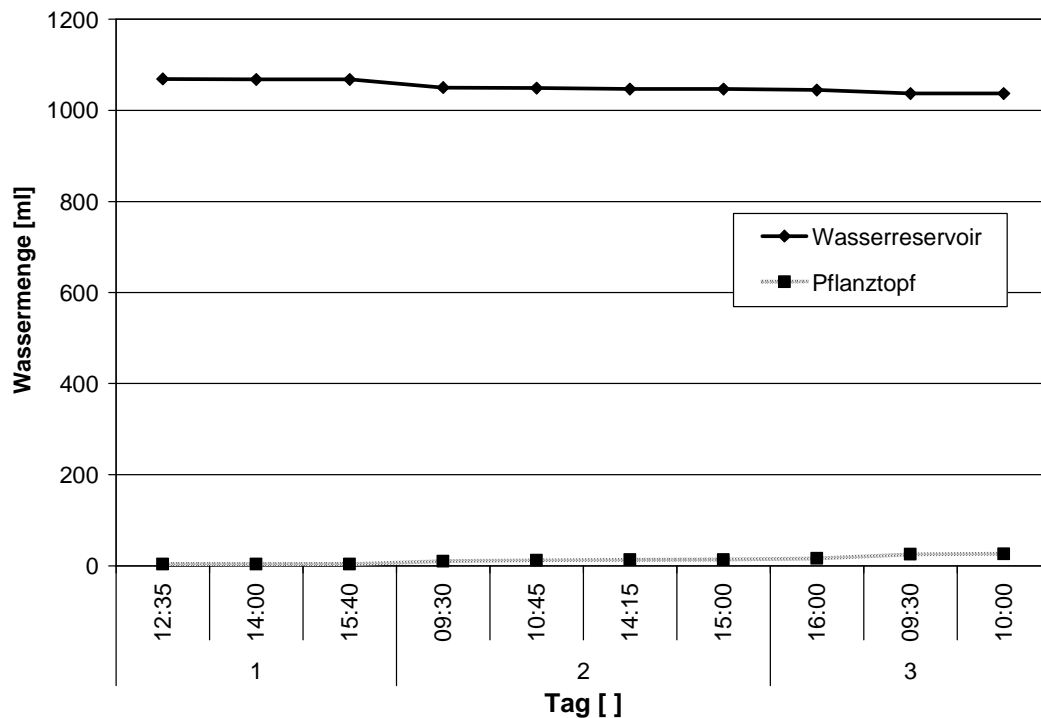


Abb. 48: Ergebnisse zum Versuch 1, zum Pflanztopf transferierte Wassermenge und Wasserverbrauch der Pflanze

Aus den Versuchsergebnissen für 3 Tage in Abb. 48 ist zu entnehmen, dass das Gewicht des Wasserreservoirs mit der Zeit abnimmt, während das Gewicht des Pflanztopfes in fast gleichem Masse zunimmt. Wasser vom Reservoir wurde über 150 cm Höhe entgegen der Schwerkraft in den Pflanztopf überführt. Am ersten Tag des Versuchs wurde ca. 22 ml Wasser transferiert. Daraus ergibt sich ein Volumenfluss vom 0,916 ml/h. Dieser halbiert sich nach dem 2.Tag auf 10 ml, so dass sich der Volumenfluss auf 0,467 ml/h verringerte.

Die Gewichtszunahme des Pflanztopfes zeigt, dass am ersten Tag dem Pflanztopf 10 ml Wasser angereichert wurde. Diese entspricht einem Volumenfluss von 0,41 ml/h. Am 2.Tag hingegen erhöhte sich die Anreicherungsrate auf 0,72 ml/h. Die Gewichtszunahme des Pflanztopfes zeigt, dass das Wasser von der Pflanze nicht verbraucht wurde. Aus den Erkenntnissen ist zu erkennen, dass die Pflanze Wasser aus dem hygroskopischen Material entnehmen konnte, wobei diese nur einen Tag lang funktionierte. Die Untersuchungen der Vitalität der Pflanze anhand der stomatären Leitfähigkeit zeigten, dass der Versuchspflanze nicht genügend Wasser zur Verfügung stand (Abb. 49).

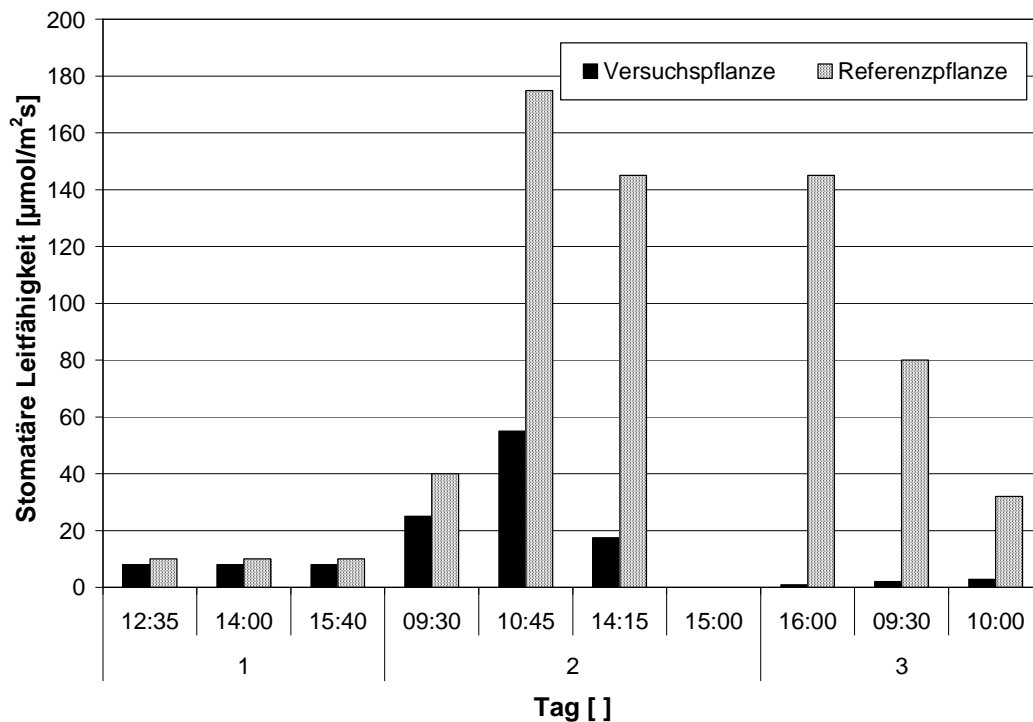


Abb. 49: Vergleich der stomatäre Leitfähigkeit der Versuchspflanze und der Referenzpflanze

Abb. 49 zeigt deutlich, dass es der Versuchspflanze ab dem ersten Tag schlechter erging als die Referenzpflanze.

Aus diesen Erkenntnissen ausgehend wurde einen noch optimierten Versuch 2 durchgeführt.

Versuch 2: Optimiertes Leitungssystem

Versuchsdatum/Dauer: 16.12.2010-23.01.2011 / 37 Tage

Bei diesem Versuch waren die Leitsysteme und der Wasserspender gleich wie bei Versuch 1 ausgelegt. Hierbei wurde jedoch die Menge des hygroskopischen Materiales reduziert. Damit sollten die Wechselwirkungen zwischen dem Wassertransport und dem hygroskopischen Material sowie dem Wasserbedarf der Pflanze analysiert werden. Die Verdunstung aus dem hygroskopischen Material konnte durch eine Isolierung des Pflanztopfes ausgeschlossen werden. Die Ergebnisse zu dieser Untersuchung sind aus Abb. 50 und Abb. 51 zu entnehmen.

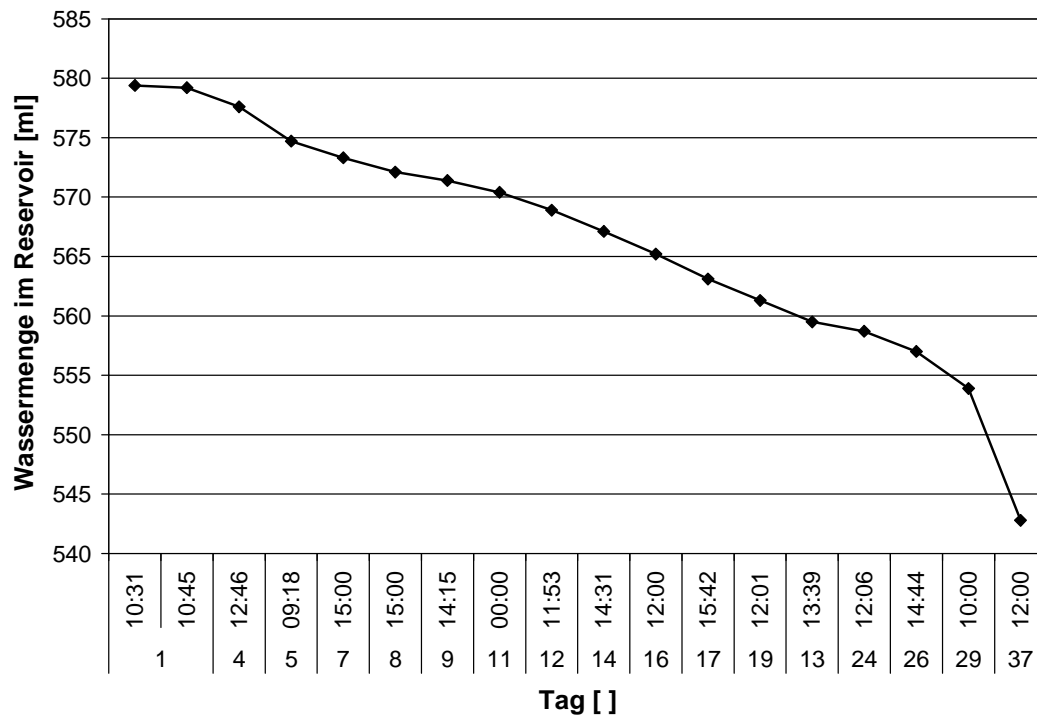


Abb. 50: Ergebnisse zum Versuch 2 und die transferierte Wassermenge

Aus den Ergebnissen zum Ablauf der transportierten Wassermenge ist deutlich zu erkennen, dass der Wassertransport über 37 Tage vom Reservoir in den Pflanztopf kontinuierlich erfolgte. In Abb. 51 sind die Werte über die stomatäre Leitfähigkeit der Versuchs- und Referenzpflanze zu sehen.

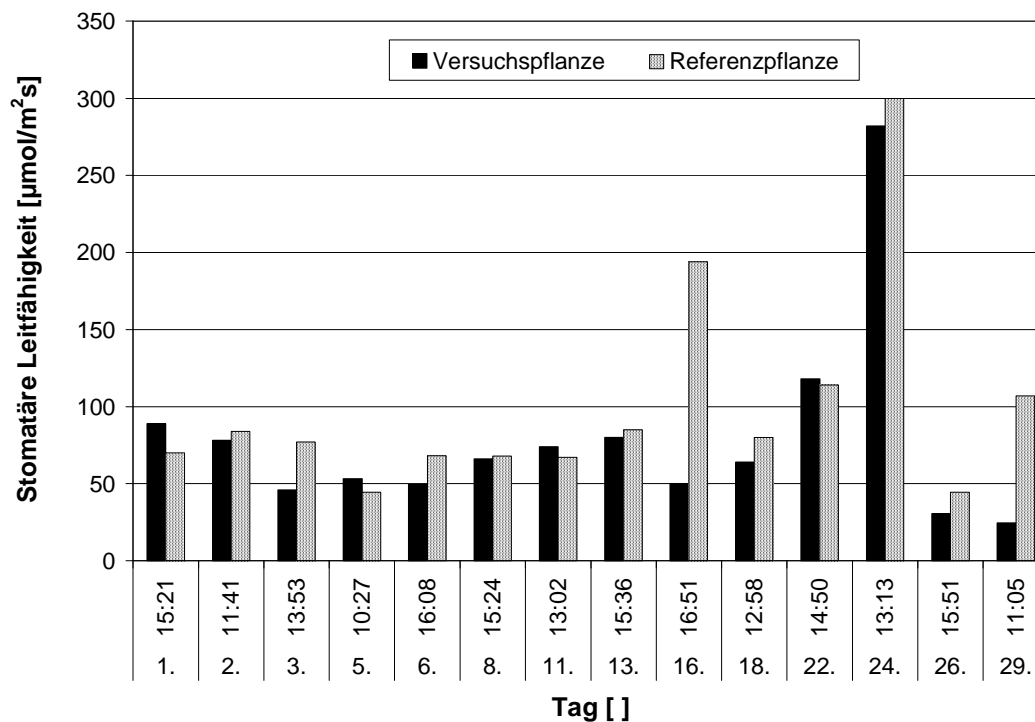


Abb. 51: Vergleich der stomatären Leitfähigkeit der Versuchspflanze und der Referenzpflanze

Der Werte der stomatären Leitfähigkeit von der Versuchspflanze sind im Mittel etwas geringer als die der Referenzpflanze. Dies ist zurückzuführen auf die nicht völlig ausreichend gelieferte Wassermenge an die Versuchspflanze. Für die Versuchspflanze wurde über die 37 Tage ca. 1 ml/Tag Wasser geliefert. Diese Menge ist gleichzeitig als Volumenfluss des Leitelementes anzunehmen.

Während des Versuches wurden Luftbläschen im Leitsystem beobachtet, welche die Transportmenge negativ beeinflusst (S. Kapitel 3.2.7).

Trotz der geringfügigen Unterversorgung mit Wasser machen die Erkenntnisse deutlich, dass die Transportmenge ausschließlich von der Pflanze bestimmt wurde (das hygroskopischen Material war bei Versuchsbeginn gesättigt). Die Wasserentnahme der Pflanze aus dem hygroskopischen Material erfordert einen entsprechenden Sogdruck, welcher das Wasser hoch zieht. Damit stellt die hygroskopische Materialien einen Widerstand in der Wasserversorgungskette dar, der sich in der geringen Unterversorgung gegenüber der Referenzpflanze äußert. Das Synchronisieren zwischen der Wasseraufnahme des hygroskopischen Materialies und der Wasserentnahme der Pflanze aus dem hygroskopischen Material ist von Pflanzenart und –Wurzelwachstum stark abhängig.

3.3 Diskussion der Ergebnisse und Zusammenfassung

Im Rahmen der Projektarbeiten wurden textiltechnische und verfahrenstechnische Methoden einbezogen, um faserbasierte Leitsysteme zu entwickeln. Dazu wurden Kapillareffekte und tensile Zugspannungen ausgenutzt, um energieautark Wasser über eine bestimmte Höhe und Länge zu transportieren.

Zum Wassertransport mit Kapillarkräften

Zum kapillaren Wassertransport wurden Modelle entwickelt, die den energieautarken Wassertransport in faserbasierten Kapillarsystemen hinsichtlich der Steighöhe und der Leitfähigkeit beschreiben. Dazu wurde zunächst nach bestehenden mathematischen und physikalischen Modellen für den Flüssigkeitstransport in einem Garnsystem recherchiert und diese weiterentwickelt.

Für den Kapillareffekt verantwortlich ist die Randkraft, wesentlich bestimmt durch den aktiven Umfang und die Hydrophilie der Fasern im System, repräsentiert durch den Kontaktwinkel zwischen Flüssigkeit und Faseroberfläche. Die Gewichtskraft des Wassers, beeinflusst durch die zusammenhängenden Kapillarräume, also der freien Fläche zwischen den Fasern, wirkt dem Kapillareffekt entgegen. Je größer der Kontakt zwischen Fasern und Wasseroberfläche, umso stärker wirkt der Kapillareffekt. Bestehen im Verhältnis dazu große freie Zwischenräume zwischen den Fasern wirken entsprechend geringere Kapillarkräfte.

Die entwickelten Modelle wurden in den Versuchsreihen auf ihre Anwendbarkeit überprüft. Dazu erfolgten experimentelle Analysen zur Sauggeschwindigkeit und zur Steighöhe, die beide stark zeitabhängig sind. Damit ist es gelungen, sowohl für die Sauggeschwindigkeit als auch für die Steighöhe, direkte Zusammenhänge zwischen dem entwickelten Modell und den experimentellen Messungen für die Kapillarität aufzuzeigen.

Für die Entwicklung wurden über 60 Garne analysiert, die sich in vielen relevanten Eigenschaften unterschieden. Der Ausgangspunkt für die Analyse war die Faseranzahl im Garn und die Ergebnisse der Sauggeschwindigkeit an einem Einzelgarn nach DIN-53924. Die Messungen zeigten mit größerer Zahl der Fasern bei gleichem Garnquerschnitt einen Anstieg der Sauggeschwindigkeit. Entsprechend erfolgte eine Vorauswahl der Fasern bzw. Garne. Folgende Schlussfolgerungen können daraus gezogen werden:

- Die Kapillarität in einem Garnsystem kann mit den primären Eigenschaften wie der Faserfeinheit und der Oberflächeneigenschaften der Fasern und Garne beeinflusst und gesteuert werden.
- Die Garnfeinheit und die Faserdicke wirken sich bei Stapelfaser- und Filamentfasergarnen unterschiedlich auf das Kapillarverhalten aus.

Zum Wassertransport mit tensilen Kräften

Um den Wassertransport von Pflanzen von über 100 Metern zu verstehen, erfolgten Basisentwicklungen zum Wassertransport mit tensilen Kräften.

Hierbei wurden die bislang bekannten Simulationen sowie die dafür aufgebauten Systeme in der Literatur recherchiert und nach System von A. Ursprung /10/ eine Demonstrationsanlage gebaut. Diese realisiert die erforderlichen Saugdrücke durch Verdunstung an keramischen Verdunstungselementen. Die bisher aus der Literatur bekannten wissenschaftlichen Untersuchungen waren darauf ausgerichtet, die maximale Wasserförderhöhe durch die Saugkraft der Transpiration zu messen. Aufbauend auf diesen Experimenten und den Erfahrungswerten der wissenschaftlichen Kooperationspartner wurden weitere mathematische und experimentelle Modelle entwickelt, um die diversen Komponenten des Flüssigkeitstransportes zu analysieren und zu verstehen.

Ferner wurden Methoden zur Quantifizierung der verdunsteten Wassermenge und der Wassertransporthöhe entwickelt. Der Verdunstungsdruck wurde durch die Wasser- bzw. Quecksilberhöhe ermittelt.

Mit Wasser erfolgten Analysen zur Verdunstungsrate durch die Ermittlung des Verdunstungsstroms in Zusammenhang mit der Verdunstungsfläche. Dabei steigt der Verdunstungsstrom mit der Verdunstungsfläche A proportional an.

Aus den Laboruntersuchungen ausgehend ergab sich eine Wasserfördermenge bei einer Höhe von 1,5 Meter von 72,2 l/m²/Tag mit einem Keramikfilter aus 8 Kanälen.

Die Ergebnisse gaben ferner die Unterschiede der Benetzung der Poren im Hinblick auf die berechneten Kapillardrücke auf Basis der Kontaktwinkel θ und des Porenradius r zu erkennen:

- Die Drucksenkung durch eine eingesetzte Membranfaser beträgt auf Grund der schlechten Benetzbarkeit der Porenwand -0,8 bar und lag unterhalb des benötigten Druckwertes von minimum -1,013 bar, um die Wassersäule unter Zugspannung zu setzen.
- Erfolgreicher waren die Experimente mit den keramischen Verdunstungselementen. Mit Monokanal-Keramikfiltern der Feinheit von 100 und 50 nm wurden Saugdrücke bis zu -1,3 bar erreicht. Mit 50 nm Poren wurden die höchsten Unterdrücke ermittelt. Die erreichte Quecksilberhöhe mit 980 mmHg entspricht einem Saugdruck von 1,306 bar und umgerechnet einer Wassersäule von etwas mehr als 13 m. Hierbei beträgt der Absolutdruck p im System bei einem Umgebungsdruck von $\Delta P=1,013$ bar $p=-0,293$ bar. Der negative Wert zeigt, dass das Wasser unter Zugspannung gesetzt wurde und sich in einem thermodynamisch metastabilen Zustand befindet.

Zur Steigerung der Gesamteffizienz der Wasserförderung wurde ein neues Materialkonzept erprobt, das den Wassertransport durch den Quelldruck stark hygroskopischer Materialien unterstützt. In den Experimenten wurde festgestellt, dass durch den Quelldruck des hygroskopischen Materiales im geschlossenen Transportsystem ein hoher Saugdruck von bis zu 0,53 bar aufgebaut wird. Dies entspricht einer Wasserförderhöhe von 5,4 m. Hierbei hat sich eine Höchstwasseraufnahmemenge von 13ml eines 8-kanäligen Keramikkörpers bei einer Höhe von 1,5 Meter für die weiteren Anwendungsversuche als geeignet erwiesen.

Herstellung faserbasierter Wasserleitelemente

Der Wassertransport unter Sogspannung erfordert eine luftdichte Umhüllung gegen das Eindringen von Luft von außen nach innen sowie eine mechanische Stabilität gegen das Kollabieren der Transportkanäle. Hierfür wurden unterschiedliche Ummantelungstechnologien eingesetzt:

Die hergestellten faserbasierten Leitelemente wurden durch numerische Modelle berechnet und hinsichtlich Volumenfluss und Wasserleitfähigkeit mit neuen Analysemethoden getestet. Zur Quantifizierung der Leistung wurde die hydraulische Leitfähigkeit $C_{h,emp}$ aus experimentellen Analysen abgeleitet. Die Basismethode wurde vom Sperry & Tyree (1990) für die Bestimmung der Leitfähigkeit von

pflanzlichen Leitelementen verwendet. Die Zusammenhänge der Materialparameter der Leitsysteme auf den Volumenfluss konnten damit analysiert werden. Der Volumenfluss erhöhte sich mit zunehmendem Kapillaritätswert. Mit den neuartigen faserbasierten Leitsystemen konnte ein Volumenfluss von 11,24 Liter/Tag ermittelt werden. Das Einlegen von Fasern in einen Schlauch bewirkt eine hohe Porosität von über 90 % und verringert den Volumenfluss nur geringfügig.

Zur Embolireparatur

Insbesondere sind bei Zugspannungen die Embolien zu beachten und idealerweise zu beseitigen. Zur Realisierung einer Embolienreparatur erfolgten zunächst entsprechende Analysen an Pflanzen. Daraus wurden technische Lösungen abgeleitet. Eine Vielzahl von strukturellen Eigenschaften des Holzes sorgt für die Optimierung und das störungsfreie Funktionieren des pflanzlichen Wassertransports. Die erarbeitete technische Lösung besteht aus zwei Prinzipien:

- Der Einbau eines Entlüftungssystems eliminiert Gasblasen.
- Von den pflanzenphysiologischen Erkenntnissen ausgehend wurden Wasserleitelemente entwickelt, die eine Partitionierung der Kapillaren entlang der Wassertransportkanäle ermöglichen. In einem Bündel bilden die Fasern unterschiedlich große Kapillare, die ebenso dem biologischen Vorbild ähneln.

Die hergestellten faserbasierten Leitsysteme wurden entsprechend detailliert auf das Verhalten bei Embolien untersucht:

- Die hohe Kapillarität zwischen den Fasern verhindert, dass die Bläschen sich auf den ganzen Querschnitt verbreiten.
- In Längsrichtung ergab sich eine weitere interessante Beobachtung: Bei durchgehende Kapillare baut sich keine Hemmung einer Luftblase in Flussrichtung auf. Im Gegensatz dazu bilden aus den gedrehten Kurzfasern entlang des Garnes Kapillaren, die ständig unterbrochen sind. Somit bilden die Kurzfasern ein Hindernis in der Blasenbewegung. Diese positive Eigenschaft ist beim Wassertransport unter Sogdruck noch bedeutender, da kleine Bläschen unter Sogdruck schnell zu einer Embolie werden.

Für die Beobachtung der Blasenbewegungen und der Luftansammlung sowie der Druckentwicklung während des Embolienauftritts im System wurde ein Gehäuse aus transparentem Plexiglas angefertigt. Die faserbasierten Wasserleitsysteme halten die Luftbläschen in der Leitung zurück und sperren diese zwischen den Fasern ein. Diese ermöglichte eine längere Einsatzdauer des Transportsystems.

Feldversuche

Die Systeme wurden anschließend zur Pflanzenbewässerung eingesetzt. Dabei wurden die Saugdrücke von Pflanzenwurzeln zur Bildung der notwendigen Wasserpotentialdifferenz ausgenutzt. Die Pflanzenwurzeln entnehmen an der Abgabeseite des Transportsystems das benötigte Wasser, indem sie in den Wurzeln einen Druckgradienten zwischen sich und dem Transportsystem erzeugen. Stark hygroskopische Materialien wurden getestet, um den Kontakt zwischen Wurzeln und Wasser zu unterstützen. Mit den entwickelten Systemen konnte im Labormaßstab bis zu 0,75 l Wasser pro Tag auf die Höhe von 150 cm zur Pflanze transportiert und für die Aufnahme der Wurzeln zur Verfügung gestellt werden.

Die Feldversuche zur Pflanzenbewässerung machten deutlich, dass die Transportmenge ausschließlich von der Pflanze bestimmt wird - somit erfolgte eine bedarfsorientierte Bewässerung der Pflanzen. Die transportierte Menge hängt stark von der Wasseraufnahmefähigkeit des hygroskopischen Materiales ab. Durch den Einsatz einer erhöhten Menge an hygroskopisches Material sowie vergrößerten Fläche des Wasserverteilers konnte die transportierte Wassermenge gesteigert werden. Der Einsatz von faserbasierten Wasserleitsystemen und eines Entlüftungssystems ermöglichte die Vermeidung von Embolien und die Entfernung von Luftbläschen und damit eine erhebliche Verlängerung der Betriebszeit.

3.4 Literaturverzeichnis zum Teilvorhaben 3

- 1 Fourné, F., 1995. Synthetische Fasern. *Hanser-Verlag* 3-446,16058-2
- 2 Prüfprotokolle aus dem Zentralen Prüflabor am Institut für Textil und Verfahrenstechnik Denkendorf
- 3 DIN 53924 (1997-03-00), Prüfung von Textilien, Bestimmung der Sauggeschwindigkeit von textilen Flächengebilden gegenüber Wasser (Steighöhenverfahren)
- 4 Böhm. J.,1893. Kapillarität und Sanftsteigen, *ber. Dtsch. Bot. Ges.*11: 203-212.
- 5 Roth-Nebelsick, A., 2006. Nach Oben gezogen. Die Prinzipien der pflanzlichen Wasserleitung. *Biol.Unserer Zeit* 36(2): 110-118.
- 6 Schubert, H., 1982. Kapillarität in porösen Feststoffsystemen.: 78-98.
- 7 Nobel, Park S., 2009. Physicochemical and Environmental Plant Physiologie. 4: 89-91.
- 8 Lösch, R., 2003. Wasserhaushalt der Pflanzen.: 170-172.
- 9 Askenasy, E., 1895. Über Sanftsteigen. *Verhandl. D. Heidelberg. Naturhist. Med. Vereins N.* Serie V: 325-345.
- 10 Ursprung, A., 1913. Zur Demonstration der Flüssigkeitskohäsion. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft.*: 388-400.
- 11 Rechenberg, I., 2009. Wüstenpumpe *Astragalus Trigonus*. Technische Universität Berlin, FH Bionik und Evolutionstechnik., Vortrag.
- 12 Sperry, J., Duncan, S., Measuring hydraulic conductivity. – <http://biologylabs.utah.edu/sperry/methods.html>
- 13 Piesche, M., 1998-1999. Mehrphasenströmungen, Bildung und Bewegung von Blasen.: 5.1-5.2.

4 Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

Es sind mindestens 3 Publikationen zur Veröffentlichung der hier erzielten Ergebnisse der bionischen Begleitforschung geplant, wovon die nachfolgend zuerst genannte fast fertiggestellt ist.

- Dynamics of stomatal conductivity of *Aristolochia macrophylla* on an intraleaf scale incomparision with other woody plants (Autoren:Tatiana Miranda, Martin Ebner, Anita Roth-Nebelsick) In Bearbeitung
- Relationships between vessel structure, hydraulic properties, and gas bubble behavior in the xylem of temperate and tropical vines (Autoren:Tatiana Miranda, Martin Ebner, Wilfried Konrad and Anita Roth-Nebelsick) In Bearbeitung
- Ecophysiological study of *Aristolochia macrophylla* with notes of the stem water potential and stomatal conductivity in comparison with climatic parameters (Autoren:Martin Ebner, Tatiana Miranda and Anita Roth-Nebelsick)
- Energieautarker Flüssigkeitsferntransport mit faserbasierten Systemen“ (Autoren: Linke, M.; Stegmaier, T.; Dauner, M.; Sarsour, J.:). Vortrag zum 1. Statusseminar BIONA, Bad Honnef, 27.-28. 11. 2008

Ferner ist eine Publikation zur biomimetischen Umsetzung durch das ITV Denkendorf geplant, zusammen mit dem Partnerinstitut an der Universität Tübingen.

5 Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die in diesem Teilprojekt erzielten Ergebnisse enthalten integrierte Beschreibungen des Wassertransportes durch Lianen, der Pflanzengruppe mit der höchsten Xylemleitfähigkeit. Dokumentiert wurde die hohe Stabilität der Wassersäule in intakten Pflanzen. Insbesondere umfassend wurden die Verhältnisse bei *Aristolochia macrophylla* analysiert, eine Art, die mehrere technisch interessante Aspekte aufweist, wie z.B. den relativ einfachen Bau weiter Leitbahnen. Bisherige artefizielle Systeme, die Wasser unter Zugspannung halten können, sind in der Regel nur zu sehr geringen Transportraten in der Lage, wie z.B. das 2008 beschriebene mikrofluidische System (Wheeler & Stroock 2008). Die in diesem Projekt beschriebenen Prinzipien lassen sich hingegen auf größere Systeme übertragen, die wesentlich höhere Flussraten erzielen können.

Zwar sind die in diesem Projekt erstellten Prototypen noch im Versuchsstadium. Jedoch konnte durch diese ersten Konstruktionen die grundsätzliche Machbarkeit dargestellt werden. Veröffentlichungen von anderer Seite, wie z.B. die von Wheeler &

Stroock (2008), demonstrieren das große Interesse an funktionsfähigen Systemen dieser Art, und die bisherigen Konstrukte erzielen nur sehr geringe Flussraten über recht kurze Distanzen. Die Verwendungsmöglichkeiten leistungsfähigerer Systeme sind vielfältig, z.B. Trocknungseinrichtungen, die das Wasser durch Verdampfung wegtransportieren oder Kühlungssysteme.

Für den Grundlagenforschungsbereich sind die Ergebnisse ökophysiologisch überaus interessant. Die Darstellung der starken räumlich-zeitlichen Regulation bezüglich der Transpiration an großen Blättern ist ökologisch ein neues Ergebnis. Zwar kennt man das Phänomen der heterogenen Blattleitfähigkeit schon seit längerem. Dass jedoch die Leitfähigkeit verschiedener Blattregionen zeitlich versetzt gesteuert wird, war bislang unbekannt. Auch die Beobachtungen von Blasenverhalten und Kontaktwinkel an den Lianenhölzern stellen neue Ergebnisse dar. Es ist zu erwarten, dass die in diesem Projekt erzielten biologischen Ergebnisse wesentlich zur Xylemforschung beitragen, und dass der Standort Tübingen bezüglich seiner Etablierung in dieser Forschungsrichtung profitieren wird. Auf jeden Fall haben die Projektarbeiten die Erfahrungen und das Know-How von xylemphysiologischen Arbeiten stark vertieft, wobei die intensiven Kontakte zur Fasertechnologie starke interdisziplinäre Impulse geliefert haben.

Zusammenfassend lässt sich somit feststellen, dass die Ergebnisse sowohl in geeigneter Weise weiter verwertet werden, als auch als Entwicklungskern im Rahmen von bewährten Netzwerkkoperationen dienen werden. Daneben werden auch im Rahmen dieses Projektthemas weiterführende Studien mit Anwendungshintergrund angestrebt. Die wissenschaftlichen Ansätze werden im Bereich von Forschung und Lehre von Interesse sein, bezüglich weiterer Anstrengungen in der Grundlagenforschung, die auch die studentische Ausbildung mit einbezieht. Ein weiterer Transfer in die Wissenschaft wird durch geeignete Publikationen erfolgen.

6 Während der Projektlaufzeit bekannt gewordene Ergebnisse Dritter

Während des Projektjahres 2010 wurden 2 Artikel publiziert, die die Beobachtung des Wassertransportes in Leitbündeln mittels Synchrotronstrahlung beschreiben (Brodersen, McElrone et al. 2010; Kim & Lee 2010). Eine Publikation (Brodersen et al. 2010) bezog sich auf bereits anderswo beschriebene Embolireparatur bei Wein, wobei hier die Abläufe räumlich hochauflösender gezeigt wurden. Die zweite Publikation (Kim & Lee, 2010) beobachtete Embolien und das Stoppen des Meniskus an skalariformen Perforationsplatten. Die Embolien waren jedoch künstlich erzeugt, und überdies an Blättern beobachtet. Die Inhalte dieses Projektes wurden durch diese zwei Publikationen nur am Rande berührt.

APPENDIX 2

Appendix 2

Results of statistical tests for g_s between different lamina zones and for different times of day. The upper triangle of the matrices gives results for Mann-Whitney tests, whilst the lower triangles give Bonferroni corrections. For lamina zone numbers see Figure 15 in the main text. Abbreviations: AM: Early morning, M: Morning, N: Noon, EA: Early afternoon, A: Afternoon.

EM		base	Base-6	Center	Tip-6	Tip	Bottom_Right	Bottom_Left	Left	Right	Left-5	Right-5	Left_up	Right_up
EM	base	0	0,9591	0,4722	8,63E-05	0,00034	0,3785	0,2107	0,04904	0,2154	0,3476	0,5686	0,6694	0,6719
EM	Base-6	1	0	0,4899	0,00807	0,02451	0,4383	0,2358	0,1326	0,3729	0,2648	0,7773	0,7033	0,7508
EM	Center	1	1	0	6,13E-05	8,18E-05	0,8042	0,5614	0,2792	0,8682	0,5714	0,8734	0,9078	0,3098
EM	Tip-6	0,00673	0,6294	0,00478	0	0,4431	0,00014	4,03E-05	7,05E-06	0,0001	0,00014	0,00046	0,01608	0,1764
EM	Tip	0,02624	1	0,00638	1	0	0,00029	4,35E-05	8,00E-06	0,00022	0,00029	0,00086	0,02984	0,3013
EM	Bottom_Right	1	1	1	0,01085	0,02256	0	0,7289	0,5064	0,9912	0,8017	0,8272	0,9001	0,3758
EM	Bottom_Left	1	1	1	0,00314	0,0034	1	0	0,647	0,823	0,984	0,7182	0,7792	0,2117
EM	Left	1	1	1	0,00055	0,00062	1	1	0	0,3749	0,6721	0,2785	0,3756	0,09753
EM	Right	1	1	1	0,00813	0,01727	1	1	1	0	0,8119	0,588	0,7812	0,2153
EM	Left-5	1	1	1	0,01094	0,02294	1	1	1	1	0	0,7158	0,6629	0,2888
EM	Right-5	1	1	1	0,03558	0,06729	1	1	1	1	1	0	0,9227	0,6251
EM	Left_up	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0,5139
EM	Right_up	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0

M	0	base	Base-6	Center	Tip-6	Tip	Bottom_Right	Bottom_Left	Left	Right	Left-5	Right-5	Left_up	Right_up
M	base	0	0,00925	0,1078	0,4353	0,4902	0,00677	0,00049	0,2119	0,03305	3,07E-05	0,0016	1,76E-05	2,86E-06
M	Base-6	0,7212	0	0,09641	0,05651	0,03051	0,5467	0,8388	0,06854	0,1777	0,4287	0,6678	0,1452	0,03247
M	Center	1	1	0	0,5466	0,34	0,1646	0,03406	0,7601	0,6088	0,00221	0,06627	0,00048	6,08E-05
M	Tip-6	1	1	1	0	0,8303	0,09072	0,01164	0,8004	0,3117	0,00225	0,04513	0,00058	4,03E-05
M	Tip	1	1	1	1	0	0,02203	0,00314	0,5025	0,1252	0,00022	0,00837	7,17E-05	6,72E-06
M	Bottom_Right	0,528	1	1	1	1	0	0,461	0,08862	0,3348	0,1023	0,685	0,0259	0,00607
M	Bottom_Left	0,03787	1	1	0,9076	0,2452	1	0	0,02033	0,0755	0,6015	0,5221	0,1354	0,0196
M	Left	1	1	1	1	1	1	1	0	0,4099	0,00249	0,04148	0,00065	9,88E-05
M	Right	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0,01168	0,1845	0,0022	0,00026
M	Left-5	0,0024	1	0,1726	0,1752	0,01708	1	1	0,1941	0,9112	0	0,1469	0,2944	0,07005
M	Right-5	0,125	1	1	1	0,6532	1	1	1	1	1	0	0,02033	0,00248
M	Left_up	0,00137	1	0,03764	0,04537	0,00559	1	1	0,05055	0,1712	1	1	0	0,4876
M	Right_up	0,00022	1	0,00474	0,00314	0,00052	0,4731	1	0,00771	0,02008	1	0,1933	1	0

N	0	base	Base-6	Center	Tip-6	Tip	Bottom_Right	Bottom_Left	Left	Right	Left-5	Right-5	Left_up	Right_up
N	base	0	0,7914	0,05323	0,3323	0,2265	0,00239	0,09266	0,347	0,02169	0,1216	0,0194	0,0252	0,00298
N	Base-6	1	0	0,1914	0,3473	0,5603	0,05638	0,3434	0,7152	0,1762	0,1562	0,04415	0,03133	0,00539
N	Center	1	1	0	0,00277	0,4542	0,3074	0,8811	0,3085	0,7216	0,9132	0,2817	0,3606	0,03996
N	Tip-6	1	1	0,2161	0	0,03085	5,23E-05	0,0076	0,05405	0,00092	0,01787	0,00154	0,00179	0,00021
N	Tip	1	1	1	1	0	0,05274	0,5784	0,805	0,2584	0,4443	0,14	0,173	0,02167
N	Bottom_Right	0,1864	1	1	0,00408	1	0	0,2002	0,02763	0,3995	0,6364	0,7517	0,8287	0,1831
N	Bottom_Left	1	1	1	0,5925	1	1	0	0,3729	0,7214	0,653	0,2444	0,2539	0,04413
N	Left	1	1	1	1	1	1	1	0	0,1653	0,3504	0,08938	0,1001	0,01275
N	Right	1	1	1	0,07154	1	1	1	1	0	0,9479	0,4201	0,4598	0,07056
N	Left-5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0,4286	0,4788	0,0849
N	Right-5	1	1	1	0,1198	1	1	1	1	1	1	0	0,9936	0,3584
N	Left_up	1	1	1	0,1393	1	1	1	1	1	1	1	0	0,3068
N	Right_up	0,2327	0,4207	1	0,0162	1	1	1	0,9948	1	1	1	1	0

	0	base	Base-6	Center	Tip-6	Tip	Bottom_Right	Bottom_Left	Left	Right	Left-5	Right-5	Left_up	Right_up
EA	base	0	0,9558	0,7296	0,3089	0,8547	0,01071	0,1303	0,8937	0,9707	0,4456	0,2382	0,9138	0,09252
EA	Base-6	1	0	0,9069	0,6856	0,5565	0,0276	0,08961	0,6557	0,7178	0,446	0,1331	0,8777	0,06464
EA	Center	1	1	0	0,453	0,4948	0,00115	0,02221	0,5112	0,6343	0,2834	0,09311	0,6459	0,02808
EA	Tip-6	1	1	1	0	0,1753	0,00074	0,00982	0,2173	0,1916	0,06829	0,05835	0,2135	0,02373
EA	Tip	1	1	1	1	0	0,00326	0,06745	0,9545	0,9382	0,32	0,2166	0,6668	0,07689
EA	Bottom_Right	0,8358	1	0,08937	0,05786	0,2539	0	0,2604	0,00523	0,00322	0,267	0,425	0,1381	0,99
EA	Bottom_Left	1	1	1	0,766	1	1	0	0,06823	0,07197	0,8249	0,9814	0,4844	0,5478
EA	Left	1	1	1	1	1	0,4075	1	0	0,9154	0,4111	0,1667	0,9177	0,06074
EA	Right	1	1	1	1	1	0,2509	1	1	0	0,2819	0,2192	0,6214	0,08185
EA	Left-5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0,6243	0,6638	0,3389
EA	Right-5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0,4601	0,6444
EA	Left_up	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0,2243
EA	Right_up	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0

	0	base	Base-6	Center	Tip-6	Tip	Bottom_Right	Bottom_Left	Left	Right	Left-5	Right-5	Left_up	Right_up
A	base	0	0,1873	0,9081	0,3826	0,6286	0,00452	0,00048	0,2016	0,1783	0,7646	0,8946	0,237	0,4662
A	Base-6	1	0	0,1683	0,3731	0,07804	0,00625	0,00208	0,04102	0,03339	0,1907	0,2314	0,05238	0,1031
A	Center	1	1	0	0,5298	0,5571	0,00837	0,00112	0,1821	0,1484	0,7011	0,8195	0,1892	0,479
A	Tip-6	1	1	1	0	0,2078	0,00273	0,00019	0,05856	0,0566	0,4188	0,6502	0,1049	0,309
A	Tip	1	1	1	1	0	0,01158	0,00099	0,4642	0,3479	0,8781	0,8409	0,356	0,6411
A	Bottom_Right	0,3522	0,4873	0,6526	0,213	0,903	0	0,5505	0,04297	0,05111	0,08048	0,08598	0,3897	0,235
A	Bottom_Left	0,03714	0,1623	0,08716	0,01462	0,07702	1	0	0,00602	0,00568	0,0395	0,02183	0,185	0,08883
A	Left	1	1	1	1	1	1	0,4692	0	0,8315	0,5616	0,5699	0,5692	0,8826
A	Right	1	1	1	1	1	1	0,4429	1	0	0,5033	0,5245	0,6282	0,9444
A	Left-5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0,8842	0,3555	0,5328
A	Right-5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0,3791	0,5656
A	Left_up	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0,8038
A	Right_up	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0

APPENDIX 3

APPENDIX 3

Abreviation	Description
ABA	abscisic acid (plant hormone)
CA	contact angle
CONRAD	<u>C</u> old <u>N</u> eutron <u>R</u> adiography
Cryo-SEM	cryo-scanning electron microscope
CTA	cohesion-tension-adhesion theory
DC	diffusion coefficient
EP	potential evaporation
la	left above
lb	left below
LM	light microscope
PF	fresh weight of leaves
ra	right above
rb	right below
r_{crit}	critical radius
S	smooth
SD	stomatal density
SEM	scanning electron microscope
SG	smooth with granulation
SPAC	soil plant atmosphere continuum
VD	vessel diameter
W	warty

Symbol	Unit	Description
A	[m ²]	cross sectional area
A _a	[m ³ s ⁻¹]	volume of absorbed water per time
A _x	[m ²]	xylem area
e	[Pa]	actual vapor pressure of water in the psychrometer
e _s	[Pa]	saturation pressure of water vapor
g _s	[mmol m ⁻² s ⁻¹]	stomatal conductivity
J	[mmol m ⁻² s ⁻¹]	flow rates
K _h	[m s ⁻¹]	hydraulic conductance
Q	[m ³ s ⁻¹]	flow rates
R	[J mol ⁻¹ K]	gas constant
r	[m]	radius
S	[-]	exchange surface soil/root
T	[°C/K]	temperature
t	[s]	time
V	[m s ⁻¹]	velocity
VPD	[MPa]	vapor pressure difference
V _w	[m ³ mol ⁻¹]	molar volume of water
ΔC	[-]	concentration difference
Δp	[MPa]	difference in hydraulic pressure
Δp/Δl:	[MPa m ⁻¹]	pressure gradient
θ	[°]	contact angle
ψ	[MPa]	water potential
ψ _g	[MPa]	gravimetric water potential
ψ _h	[MPa]	humidity water potential
ψ _m	[MPa]	matrix water potential
ψ _o	[MPa]	osmotic water potential
ψ _{osm}	[MPa]	osmotic water potential
ψ _p	[MPa]	pressure water potential
ψ _r	[MPa]	root water potential

ψ_s	[MPa]	soil water potential
ψ_{xylem}	[MPa]	xylem water potential
Σr	[MPa s m ⁻³]	transfer resistance
μ	[Pa s ⁻¹]	viscosity of water