
BACHELORARBEIT

Frau
Saskia Schwab

**Einfluss von Strigolactonen auf
die Adventivwurzelbildung in
Petunienstecklingen unter
Berücksichtigung des
Kohlenhydratmetabolismus und
einer temporären warm-
Dunkelbehandlung**

Mittweida, 2016

Fakultät Angewandte Computer- und
Biowissenschaften

BACHELORARBEIT

Einfluss von Strigolactonen auf die Adventivwurzelbildung in Petunienstecklingen unter Berücksichtigung des Kohlenhydratmetabolismus und einer temporären warm- Dunkelbehandlung

Autor:
Frau

Saskia Schwab

Studiengang:
Biotechnologie/Bioinformatik

Seminargruppe:
BI13w1-B

Erstprüfer:
Prof. Dr. rer. nat. habil. Röbbbe Wünschiers

Zweitprüfer:
Prof. Dr. habil. Philipp Franken

Weitere Betreuer:
Dr. rer. nat. Yvonne Klotek

Einreichung:
Mittweida, 30.09.2016

Bibliographische Beschreibung:

Schwab, Saskia: Einfluss von Strigolactonen auf die Adventivwurzelbildung in Petunienstecklingen unter Berücksichtigung des Kohlenhydratmetabolismus und einer temporären warm-Dunkelbehandlung. - 2016 - 7, 66, 0 S. Mittweida, Hochschule Mittweida, Fakultät Angewandte Computer- und Biowissenschaften, Bachelorarbeit, 2016

Englischer Titel

Influence of Strigolactones on the adventitious root in petunia cuttings, considering the carbohydrate metabolism and a temporary warm dark treatment

Kurzbeschreibung:

Gegenstand dieser Arbeit ist die *in-vitro* Kultivierung von *Petunia hybrida* 'Mitchell'. Ziel der Untersuchung ist einerseits die Etablierung eines *in-vitro* Systems mit Petunien. Andererseits soll die Auswirkung einer warm-Dunkelbehandlung auf die Adventivwurzelbildung sowie den Kohlenhydratmetabolismus auf die Mutante PDR1 und DAD1 festgestellt werden.

Danksagung

Hiermit möchte ich mich herzlich bei Allen bedanken, ohne deren Hilfe diese Arbeit so nie zustande gekommen wäre. Ganz besonders möchte ich mich bei meinen Betreuern Herrn Prof. Dr. rer. habil. Philipp Franken und Herrn Prof. Dr. rer. nat. habil. Röbbel Wünschiers für ihre tatkräftige Unterstützung danken.

Besonderer Dank gilt Herrn Prof. Wünschiers der durch seinen Ideenreichtum und seine freundliche und ausgeglichene Art mich auch durch „schwere See“ sicher und kompromisslos gesteuert hat.

Mit Freude und Dank denke ich an die schöne Zeit am Leibniz-Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau in Erfurt zurück, die ich unter der kompetenten und freundschaftlichen Mitbetreuung von Frau Dr. Klopotek erfolgreich verbrachte. Mit viel Geduld und Übersicht führte Sie mich in den faszinierenden Prozess der Adventivwurzelbildung und deren Möglichkeiten ein. Ein ganz spezieller Dank gilt Herrn Franken der durch seine Unkompliziertheit und Kompromissbereitschaft mir die Bachelorarbeit ermöglichte. Nicht vergessen möchte ich die technischen Angestellten die für alle Frage offen waren und deren herzliche Antworten mich immer weiterbrachten.

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie, meinen Freunden und Kommilitonen, die mich während meines Studiums unterstützt und motiviert haben.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis.....	III
Tabellenverzeichnis	VI
Abkürzungsverzeichnis	VII
1 Einleitung.....	1
1.1 Adventivwurzeln.....	1
1.2 ABW bei Petunienstecklingen	5
1.3 Phytohormone	6
1.4 Strigolactone	8
1.5 Kohlenhydrate.....	14
2 Zielstellung	16
3 Material.....	17
3.1 Chemikalien	17
3.2 Medium.....	18
3.3 Molekularbiologische Reagenzien.....	18
3.4 Material	18
3.5 Geräte.....	19
4 Methoden	20
4.1 Pflanzenmaterial und Wachstumsbedingungen	20
4.2 Wurzelbonitur der Stecklinge	20
4.3 Probenahme von Stecklingen.....	21
4.5 Kohlehydratanalyse	23
4.5.1 Herstellen der Lösungen, Enzyme und Puffer	23
4.5.2 Bestimmung der löslichen Zucker	24
4.6 Statistische Auswertung.....	25
5 Ergebnisse.....	26
5.1 Der Einfluss von unterschiedlichen Saccharosekonzentrationen auf die AWB... 26	
5.2 Einfluss einer warm- Dunkelbehandlung auf die AWB und den Kohlehydratgehalt von <i>Petunia × hybrida</i> ‘Mitchell’ Stecklingen.....	29
5.3 Einfluss einer temporären warm-Dunkelbehandlung auf die AWB von DAD1 Stecklingen.....	35

5.4 Einfluss einer temporären warm-Dunkelbehandlung auf die AWB und den Kohlehydratgehalt von PDR1 Stecklingen	38
6 Diskussion	49
6.1 Der Einfluss von unterschiedlichen Saccharosekonzentrationen auf die AWB ...	49
6.2 Einfluss einer warm- Dunkelbehandlung auf die AWB und den Kohlehydratgehalt von <i>Petunia × hybrida</i> ‘Mitchell’ Stecklingen.....	51
6.2.1 Eine kurzzeitige warm - Dunkelbehandlung hat einen positiven Effekt auf die AWB	51
6.2.2 Einfluss einer warm-Dunkelbehandlung auf den Kohlehydratgehalt.....	52
6.2.3 Während einer warm-Dunkellagerung kommt es zur Verarmung von Kohlenhydraten.....	53
6.2.4 Eine warme Dunkelbehandlung steigert die Verfügbarkeit von Kohlenhydraten in der Lichtphase	54
6.3 Einfluss einer temporären warm-Dunkelbehandlung auf die AWB von DAD1 Stecklingen.....	57
6.3.1 Die Hemmung des Strigolacton Biosynthesegen DAD1 erhöht die AWB ...	57
6.3.2 Eine warm-Dunkelbehandlung hat keinen Einfluss auf die Strigolacton Biosynthese Mutante und den Wildtyp.....	57
6.4 Einfluss einer temporären warm-Dunkelbehandlung auf die AWB und den Kohlehydratgehalt von PDR1 Stecklingen	60
6.4.1 Der PDR1 Transporter hat einen Einfluss auf die Wurzelanzahl und -länge	60
6.4.2 Temporäre Dunkelbehandlungen besitzen einen negativen Einfluss auf den Kohlenhydratgehalt der Mutante von PDR1	61
6.4.3 Der PDR1 Transporter hat einen Einfluss auf die Invertaseaktivität.....	62
6.4.4 Die Kontrollstecklinge der PDR1 Mutante besitzen einen signifikant niedrigeren Kohlehydratgehalt	64
7 Ausblick	66
7 Zusammenfassung	67
Literaturverzeichnis	70
Selbstständigkeitserklärung.....	86

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der AWB.	2
Abbildung 2: Grundlegender Aufbau eines Strigolactones [Lopez-Obando et al., 2015].	9
Abbildung 3: Biosynthese von Strigolactonen [Seto und Yamaguchi, 2014].	11
Abbildung 4: Modell für die Regulierung der AWB durch die Strigolactone bei Erbsen und <i>Arabidopsis</i> [Rasmussen 2012]. Die Pfeile zeigen einen fördernden Effekt und die Linie mit einem vertikalen Strich geben eine Hemmung an. Die gestrichelten Linien geben mögliche Wege an, in denen Strigolactone die AWB beeinflussen können.	13
Abbildung 5: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus mit <i>Petunia × hybrida</i> 'Mitchell' Stecklingen. Bis auf die Kontrolle wurden die verschiedenen Dunkelvarianten (D1, D2, D3) unterschiedlich lange in Dunkelheit gelagert und anschließend ins Licht gestellt.	21
Abbildung 6: Grundlegender Aufbau eines Stecklings. Die schwarzen Linien zeigen die Schnittstellen.	22
Abbildung 7: Schematische Darstellung der Kohlenhydratanalyse.	23
Abbildung 8: Darstellung der phänotypischen Veränderungen bei den mit 30 g/l Saccharose behandelten (a und b) Stecklingen, sowie ein Steckling (c) ohne phänotypische Veränderungen (0 g/l Saccharose).	27
Abbildung 9: Einfluss unterschiedlicher Saccharosekonzentrationen auf die Wurzellänge. Unterschiedliche Buchstaben innerhalb des Merkmals zeigen signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) auf.	27
Abbildung 10: Gegenüberstellung der Bewurzelung von 20 (a) und 30 g/l (b) Saccharose nach 11 Tagen.	27
Abbildung 11: Einfluss unterschiedlicher Saccharosekonzentrationen auf die Wurzelanzahl. Unterschiedliche Buchstaben innerhalb des Merkmals zeigen signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) auf.	28
Abbildung 12: Einfluss unterschiedlicher Saccharosekonzentrationen auf die Gesamtwurzellänge. Unterschiedliche Buchstaben innerhalb des Merkmals zeigen signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) auf.	28
Abbildung 13: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Wurzellänge. Unterschiedliche Buchstaben innerhalb des Merkmals zeigen signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) auf. Die Abkürzung hpe steht für <i>hours post excision</i>	29

- Abbildung 14: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Wurzelanzahl. Unterschiedliche Buchstaben innerhalb des Merkmals zeigen signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) auf. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*. 30
- Abbildung 15: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Gesamtwurzellänge. Unterschiedliche Buchstaben innerhalb des Merkmals zeigen signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) auf. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*. 30
- Abbildung 16: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf den Kohlenhydratgehalt. Unterschiedliche Buchstaben innerhalb des Merkmals zeigen signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) auf. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*. 32
- Abbildung 17: Vergleich des Kohlenhydratgehalts im Blatt und Spross zwischen einer 24 hpe Dunkelbehandlung (D1) mit den Kontrollstecklingen (K). Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzungen hpe und hpd steht für *hours post excision* und *hours post darkness*. 34
- Abbildung 18: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Wurzellänge von der (Mut) und dem Wildtyp (WT) von DAD1. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*. 35
- Abbildung 19: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Wurzelanzahl von der Mutante (Mut) und dem Wildtyp (WT) von DAD1. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*. 36
- Abbildung 20: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Gesamtwurzelanzahl von der Mutante (Mut) und dem Wildtyp (WT) von DAD1. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*. 37
- Abbildung 21: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Wurzellänge von der Mutante (Mut) und dem Wildtyp (WT) von PDR1. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*. 38
- Abbildung 22: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Wurzelanzahl von der Mutante (Mut) und dem Wildtyp (WT) von PDR1. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen

signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*. 39

Abbildung 23: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Gesamtwurzellänge von der Mutante (Mut) und dem Wildtyp (WT) von PDR1. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*. 39

Abbildung 24: Einfluss kurzzeitigen Dunkelbehandlungen auf den Kohlenhydratgehalt von der Mutante (Mut) und dem Wildtyp (WT) von PDR1. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*. 42

Abbildung 25: Der Einfluss einer 24 hpe Dunkelbehandlung auf den Kohlenhydratgehalt im Blatt von der Mutante und dem Wildtyp von PDR1. Die 24 hpe Dunkelbehandlung (D1) wird dabei mit den Kontrollstecklingen (K) verglichen. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Die Abkürzungen hpe und hpd steht für *hours post excision* und *hours post darkness*. 44

Abbildung 26: Der Einfluss einer 24 hpe Dunkelbehandlung auf den Kohlenhydratgehalt im Spross von der Mutante und dem Wildtyp von PDR1. Die 24 hpe Dunkelbehandlung (D1) wird dabei mit den Kontrollstecklingen (K) verglichen. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzungen hpe und hpd steht für *hours post excision* und *hours post darkness*. 46

Abbildung 27: Gegenüberstellung des Kohlenhydratgehaltes der unbehandelten Mutanten und Wildtyp Stecklinge. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*. 48

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Darstellung der verschiedenen Probenahme Tage mit den dazugehörigen Behandlungen und der anschließenden Wurzelbonitur (Tag 10). Die Bezeichnungen D1-3 stehen für die verschiedenen Dunkelvarianten. Die Stecklinge kamen bei diesen Versuchen erst nach 1, 2 und 3 Tagen wieder ans Licht. 22

Abkürzungsverzeichnis

5DS	5-deoxystrigol
ABC	<i>ATP-binding cassette</i>
AHK	Cytokininrezeptoren Arabidopsis Histidinkinase
ATP	Adenosintriphosphat
AWB	Adventivwurzelbildung
CCD7	<i>carotenoid cleavage dioxygenase 7</i>
CCD8	<i>carotenoid cleavage dioxygenase 8</i>
CL	Carlactone
CO₂	Kohlenstoffdioxid
D1/D2/D3	Dunkelvariante 1/2/3
D27	<i>rice Dwarf27</i>
DAD1	<i>decreased apical dominance1</i>
FM	Frischmasse
hpd	<i>hours post darkness</i>
hpe	<i>hours post excision</i>
IAA	Indol-3-Essigsäure
MAX2	<i>more axillary growth2</i>
MAX4	<i>MORE AXILLARY GROWTH 4</i>
Mut	Mutante
NAD	Nicotinamidadenindinukleotid
NaOCl	Natriumhypochlorit
PAT	polaren Auxintransport
PDR1	<i>pleiotropes drug resistance 1</i>
PPFD	photosynthetische Photonenflussdichte [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]
RMS4	<i>RAMOSUS 4</i>
SL	Strigolactone
WT	Wildtyp

1 Einleitung

1.1 Adventivwurzeln

Bei den Adventivwurzeln handelt es sich um Wurzeln, die nicht am Hauptvegetationspunkt der Pflanze entstehen. Adventivwurzeln können dabei an Sprossachsen oder an Blättern entstehen. Eine Ursache für die Entstehung von Adventivwurzeln sind äußere Reize, wie eine Verletzung am Blattsteckling. Die Vorteile bei dieser Methode sind, dass relativ einfach in kurzer Zeit eine große Anzahl von Klonen (gleichartige Pflanzen) produziert werden können. [Ford et al., 2002]. Die Adventivwurzelbildung (AWB) sorgt dafür, dass ein neues Wurzelsystem aufgebaut wird und folglich eine neue Pflanze entsteht [Blakesley et al., 1991]. Pflanzen nehmen über die Wurzeln Wasser- und Mineralstoffe auf. Des Weiteren dienen Wurzeln der Speicherung von Reservestoffen und der Verankerung der Pflanzen im Boden [Blakesley et al., 1991; Kull, 1993].

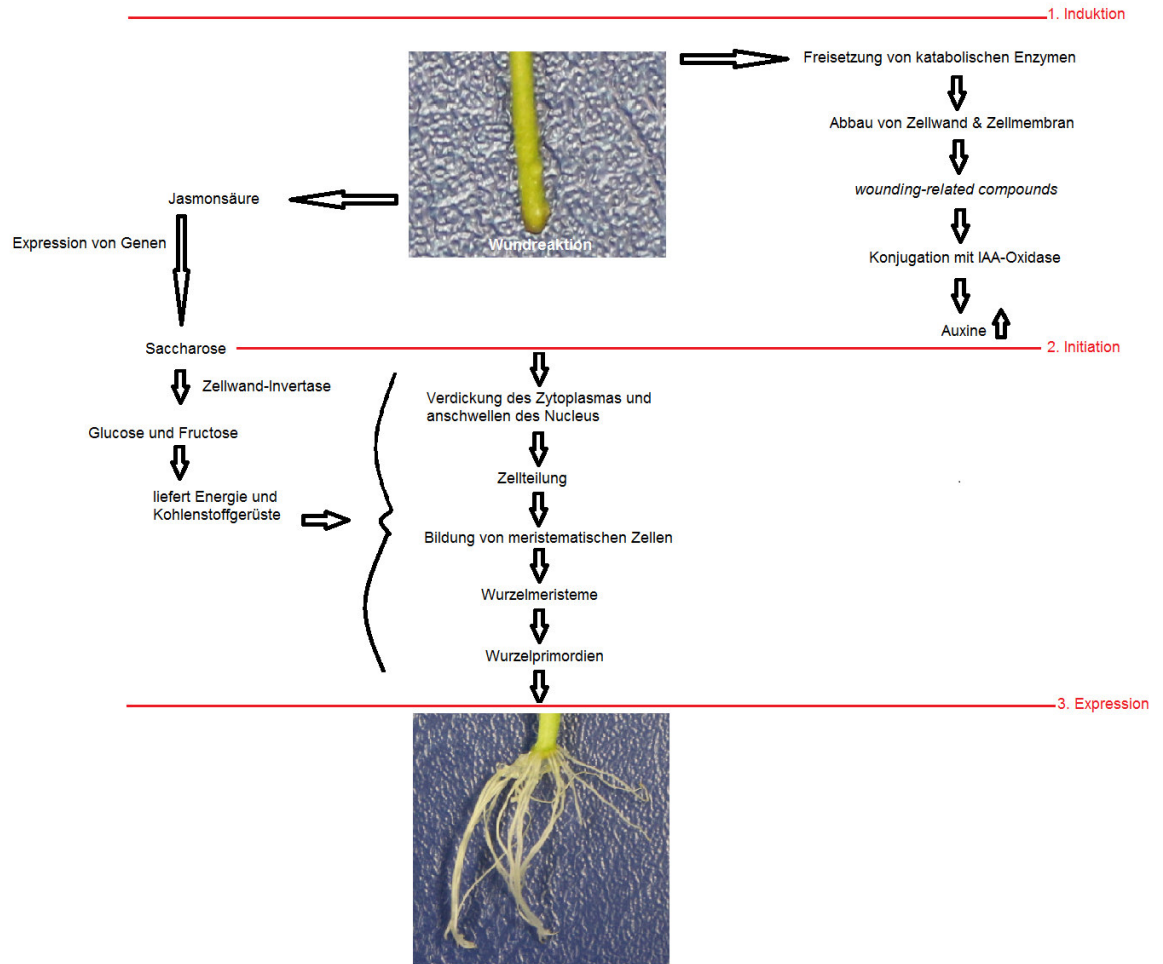


Abbildung 1: Schematische Darstellung der AWB.

Der Prozess der AWB besteht aus drei voneinander abhängigen physiologischen Phasen. Die Phase erfüllen unterschiedlichen Anforderungen, diese bestehen aus der Induktion, der Initiation und der Expression [Li et al., 2009]. Bei diesem Prozess werden die Phasen durch verschiedene Umweltfaktoren wie der Temperatur, der Lichtintensität, den Phytohormonen, Kohlenhydraten, Mineralsalzen und anderen Molekülen beeinflusst. Diese Faktoren können zum Beispiel als Signalmolekül fungieren oder die Expression von Genen einleiten [Li et al., 2009]. Die verschiedenen Phasen und deren Länge können allerdings nicht exakt voneinander getrennt werden [Blakesley et al., 1991]. Zudem können bei manchen Pflanzen (wie z.B. Pappel, Weide) die Wurzelmeristeme schon lateral vorgebildet sein, sodass die AWB bei den Stecklingen in einem späteren Stadium der Induktionsphase beginnt [Hartmann et al., 1990; De Klerk et al., 1999].

Beim Abschneiden des Stecklings von der Donorpflanze wird eine Wundreaktion (siehe Abb. 1) ausgelöst, die ausschlaggebend für die spätere Bewurzelung ist [Hartmann et al., 1990; De Klerk et al., 1999]. Die Verletzung des Stecklings stellt die erste Phase der Induktion (0-24 h) [De Klerk, 2002] der AWB dar. Bei der Induktion treten molekulare und biochemische Veränderungen auf, die ohne sichtbare morphologische Veränderungen von statten gehen [Kevers et al., 1997; De Klerk et al., 1999]. In dieser Phase erlangen die Zellen ihre Kompetenz zur Bildung von Wurzelmeristemen. Es kommt zu einer Verdichtung des Zytoplasmas und zum Anschwellen des Nucleus [Chang und Chan, 1976]. Des Weiteren kommt es aufgrund der Wundreaktion zur Expression von wundresponsiven Genen. Weiterhin werden in den Zellen die Synthese und Freisetzung von katabolischen Enzymen (z.B. Peroxidase, Phospholipasen, Glucanasen) angeregt. Diese bauen Zellstrukturen wie die Zellwand und Zellmembran ab [De Klerk et al., 1999]. Die Abbauprodukte, auch *wounding-related compounds* genannt, fördern den Bewurzelungsprozess, indem sie unter anderem durch Konjugation mit den IAA-Oxidase (das Enzym spaltet durch Oxidation die Indol-3-Essigsäure (IAA)) die Auxinsynthese (Auxin ist ein Phytohormon) fördern [De Klerk et al., 1999]. Es kommt in der Sprossbasis zu einer Erhöhung des endogenen Gehaltes an freier IAA [Maldiney et al., 1986; Jarvis, 1986]. Die Auxine sind für die AWB eines der wichtigsten Phytohormone [Li et al., 2009]. Die verschiedenen Phasen der AWB benötigen unterschiedliche Konzentrationen an freiem IAA [Kevers et al., 1997; De Klerk et al., 1999]. Auxine fördern die Wurzelinduktion, besitzen in späteren Phasen allerdings eine hemmende Wirkung auf die Differenzierung und das Längenwachstum der Adventivwurzeln [Geneve et al., 1988; Lyndon, 1990; Ahkami et al., 2013]. Daher treiben die Peroxidasen den Auxinkatabolismus voran und senken somit den Gehalt an freier IAA (Auxinen) in späteren Phasen. Zu Beginn sorgt eine geringe Konzentration der Peroxidasen dafür, dass der Gehalt an freier IAA erhöht wird [Berthon et al., 1989; Gaspar et al., 1992]. Die Oxidation freier IAA wird zu Beginn der AWB durch polyphenolische Verbindungen (Antioxidantien) verhindert. Des Weiteren wird, dass während der Wundreaktion unter Stress stehende Pflanzengewebe durch Reaktion mit reaktiven Sauerstoffspezies geschützt [De Klerk et al., 1999; Naija et al., 2008].

Darüber hinaus kommt es in allen Pflanzen während einer Verwundung zu einer schnellen Erhöhung des endogenen Gehalts an Jasmonsäure. [Schillmiller und Howe,

2005]. Die Jasmonsäure aktiviert die Expression spezifischer Gene, die für Enzyme der Jasmonatbiosynthese, des Zuckermetabolismus (z. B. Zellwandinvertase) und für Abwehrproteine codieren [Roitsch und González, 2004; Wasternack, 2007]. Die Zellwandinvertase spaltet Saccharose in Hexosen. Diese können anschließend als Speicher in Stärke umgewandelt werden oder direkt als Energiequelle verwendet werden [Ahkami et al., 2010]. Zusätzlich zu der Jasmonsäure haben vermutlich noch Stickstoffmonoxid, Wasserstoffperoxid und Kohlenstoffmonoxid einen Einfluss auf die Bildung der Adventivwurzeln [Xuegui et al., 2012; Yuting et al., 2014].

In der zweiten Phase, der Initiation (24-96 h) [De Klerk, 2002], werden aufgrund der Auxin-Stimulation Zellen zur Teilung angeregt, wodurch es zur Bildung von meristematischen Zellen [Chang und Chan, 1976] und einer erhöhten RNA-Synthese [Lee et al., 1978] kommt. Durch die Formierung der meristematischen Zellen entstehen die Wurzelmeristeme. Durch weitere Differenzierungen und Wachstum der Wurzelmeristeme kommt es zur Anordnung von Wurzelprimordien in der Dom-Form [Hartmann et al., 1990]. Während dieses Stadiums sinkt der Gehalt an Auxinen.

In der letzten Phase, der Expression (ab 96 h) [De Klerk, 2002], werden die differenzierten Primordien zu Wurzeln. Diese wachsen in die Länge und treten als Wurzeln aus der Stängelbasis aus [Kevers et al., 1997; Hartmann et al., 1990]. Während der Wachstums- und Differenzierungsphase von Wurzelstrukturen werden Kohlenhydrate als Quelle für Energie und Kohlenstoffskelette angesehen [Veierskov, 1988].

Neben den Auxinen spielen auch andere Phytohormone eine regulierende Funktion bei der AWB. Unter anderem kommt es zu einer Interaktion zwischen Auxinen und Cytokinine [Skoog und Miller, 1957]. Die Cytokinine nehmen bei der AWB eine negative Regulierungsfunktion ein [Rashotte et al., 2005]. Diese regulieren unter anderem die Expression von wurzelspezifischen Cyclin-abhängigen Kinasen [John et al., 1993]. Des Weiteren wird die Hemmung der Rhizogenese durch die Unterbrechung der PAT (polarer Auxine Transport) und somit der Ausbildung eines Auxine Gradienten hervorgerufen [Laplaze et al., 2007; Kuderová et al., 2008]. Auxine und Cytokinine stimulieren zusammen die Ethylen Produktion und die Auxine Produktion wird umgekehrt durch Ethylen reguliert [Woeste et al., 1999; Stepanova et al., 2007]. Es gibt

außerdem eine Interaktion zwischen Cytokinin und Ethylen [Casson und Lindsey, 2003; Rashotte et al., 2005]. Denn Cytokinine sind bekannte Ethylen-induzierende Faktoren [Cary et al., 1995]. Welche Rolle das Ethylen bei der Differenzierung der Wurzeln spielt ist noch nicht ganz klar, da es widersprüchliche Daten dazu gibt. Es gibt Pflanzenarten, bei denen eine Ethylen Behandlung die Wurzelbildung verbesserte [beispielsweise Mergemann und Sauter, 2000; Yamamoto et al., 1995]. Bei anderen Pflanzen hat Ethylen einen negativen Effekt auf die AWB [Kępczyński et al., 2006; Negi et al., 2008].

1.2 ABW bei Petunienstecklingen

Ahkami et al. (2009) haben herausgefunden, dass nach dem Abschneiden eines Petunienstecklings von der Mutterpflanze die *Sink-establishment Phase* eingeleitet wird. Die Initiierung der Wundreaktion wird in der Stängelbasis ausgelöst. Von dort ausgehend findet ein starker Anstieg von Auxinen, Jasmonat und des Precursors Oxo-Phytodiensäure statt, was eine Etablierung eines photosynthetisch inaktiven Gewebes (*Sink*) zur Folge hat [Ahkami et al., 2009; Ahkami et al., 2010]. Durch den Anstieg von Jasmonat und Auxinen kommt es unter anderem zu einer apoplastischen Phloementladung, die durch eine erhöhte Aktivität der Zellwandinvertase und eines Monosaccharidtransporters (STP4) verursacht wird [Ahkami et al., 2009; Ahkami et al., 2010]. Aus dem aktiven *Source*-Gewebe (photosynthetisch aktives Gewebe wie z.B. junge Blätter) wird in dieser frühen Phase Saccharose in die Stängelbasis transportiert. Die Saccharose wird in den Apoplasten durch die Zellwandinvertase in Hexosen gespalten. Der Saccharosegehalt reguliert die frühen Phasen der Zellteilungen [Klopotek et al., 2016]. Das Monosaccharid gelangt durch den STP4-Transporter in das Zytosol und kann dort für die Wundheilung und metabolische Vorgänge aufgebraucht werden.

Die Zweite Phase, die *Recovery Phase*, verläuft zwischen 48 bis 72 Stunden nach dem Stecklingsschnitt [Ahkami et al., 2009; Ahkami, 2010]. Dabei kommt es im *Source*-Gewebe zur Synthese von Assimilaten [Klopotek et al., 2016]. Der Gehalt an Gesamtprotein sowie Aminosäuren, Kohlenhydraten und auch die Aktivität der Enzyme

für den Kohlenhydratmetabolismus steigen an. Der Gehalt an aktiven Saccharose-abbauenden Enzymen sinkt während dieser Phase. Zudem steigt die Genexpression eines Markergens für mitotische Zellteilung (CycB1) [Porceddu et al., 1999].

Diese Expression leitet den Übergang zur dritten Phase ein. Die *Maintenance Phase* beginnt ca. nach 72 Stunden [Ahkami et al., 2009; Ahkami, 2010]. Während dieser Zeit differenzieren sich die meristematischen Zellen zu Wurzelprimordien. In den Blättern steigt die Saccharose-Konzentration an und wird von dort in die Sprossbasis transportiert [Klopotek et al., 2016]. Dort wird das Disaccharid symplastisch entladen und zu Hexosen abgebaut. Die Saccharose kann als Stärke gespeichert werden oder als Energiequelle zur Verfügung stehen. Durch den Verbrauch von Energie und Assimilaten sowie der gesteigerten Proteinsynthese kann das Wachstum und die Differenzierung von Wurzelstrukturen vorangetrieben werden [Ahkami et al., 2009]. Nach etwa 192 hpe (*hours post excision*) treten die Wurzeln aus der Stengelbasis aus [Ahkami, 2010]. Wichtige Signal und Botenstoffe während der AWB sind die Phytohormone.

1.3 Phytohormone

Phytohormone sind Pflanzenhormone. Diese regulieren und koordinieren als chemische Botenstoffe den Metabolismus, das Wachstum und die Morphogenese der Pflanze. Pflanzenhormone können dabei in verschiedenen Geweben und Entwicklungsstadien unterschiedliche Reaktionen hervorrufen. [Raven et al., 2006]. Die Wirkungsweise hängt dabei maßgeblich von der Konzentration, der Kompetenz des reagierenden Gewebes und synergistischen bzw. antagonistischen Wechselwirkungen mit anderen Hormongruppen ab [Trewavas und Cleland, 1983].

Auxine, Cytokinine, Ethylen, Abscisinsäure und Gibberilline stellen die fünf klassischen Phytohormone dar [Kende und Zeevaart, 1997]. Dazu kommen noch die Brassinosteroide, die Jasmonsäure (steuert Entwicklungs- und Abwehrprozessen), die Salicylsäure, die Strigolactone sowie das Peptid Systemin (setzt Verwundungssignal frei) [Mendel 2010].

Auxine sind an fast allen Entwicklungsprozessen der Pflanzen beteiligt. Dazu gehören unter anderem Koordinierung der Vaskularentwicklung, der Stimulation der Zellteilung-

und Differenzierung, Wurzelbildung und Sprossstreckung sowie der Apikaldominanz [Hartmann et al., 1990; Davies, 1995].

Der Hauptvertreter unter den Auxinen ist die Indol-3-essigsäure (IAA) [Normanly, 1997; Östin et al., 1998]. Auxine können in allen jungen sich teilungsaktiven Geweben der Pflanze gebildet werden [Ljung et al., 2001a, 2001b]. Der Hauptsyntheseort sind allerdings die oberen Pflanzenteile, wie Apikalmeristeme, junge Blätter und Knospen [Moore, 1989; Normanly, 1997].

Auxine werden über den polaren Auxintransport (PAT) in die Sprossbasis des Stecklings transportiert. In der Sprossbasis kommt es zur Akkumulation von Auxine [Moore, 1989; Garrido et al., 2002]. Durch Oxidation oder Konjugatbildung (z.B. mit Zuckern, Aminosäuren) wird der endogene Gehalt an Auxinen reguliert, indem die physiologisch aktive freie IAA in die inaktive Form überführt wird [Blakesley et al., 1991; Östin et al., 1998]. Der fördernde Effekt der IAA auf die AWB wurde in mehreren Studien durch die Zufuhr exogener IAA als auch durch Auxin-überproduzierenden und Auxin-sensitiven Mutanten von *Arabidopsis* (Acker-Schmalwand) festgestellt [Blakesley et al., 1991; Sukumar et al., 2013; Druege et al., 2014]. Der allgemeinen Auffassung nach hängt der Bewurzelungsvorgang von der Auxinsensitivität des Gewebes ab. Diese wird durch die Höhe des IAA-Transports in die Wurzelzone und deren Akkumulationsrate reguliert [Ford et al., 2002; Garrido et al., 2002].

Die Cytokinine sind an einer Vielzahl von Entwicklungsstadien der Pflanze beteiligt. Darunter fallen unter anderem die Zellteilungs- und Differenzierungsvorgänge, die Samenkeimung sowie die Inhibierung der Bewurzelung in frühen Phasen [Davies, 1995]. Cytokinine werden in den Wurzeln synthetisiert und über das Xylem in der Pflanze verteilt [Letham, 1994]. Dieser Prozess sowie die Akkumulation in der Sprossbasis und die Biosynthese werden durch Auxine kontrolliert [Bangerth, 1994]. Zudem hat eine Studie gezeigt, dass ein hoher Auxingehalt in Zusammenhang mit einem niedrigen Cytokiningehalt die AWB positiv beeinflusst [Hartmann et al., 1990].

Ethylen wird meist als Reaktion auf Stress sowie in reiferem oder alterndem Gewebe gebildet, ist allerdings auch an der Blatt- und Blütenseneszenz, der Fruchtreife, sowie

dem Blatt- und Fruchtfall beteiligt [Raven et al., 2006]. Die Rolle von Ethylen bei der AWB ist noch nicht vollständig bekannt. Bisher weiß man, dass Ethylen sowohl einen fördernden als auch einen hemmenden Effekt auf Pflanzen haben kann [Biondi et al., 1990; Negi et al., 2008; Trupiano et al., 2012]. Darüber hinaus ist bekannt, dass Auxine die Ethylen Produktion beeinflussen [Biondi et al., 1990; Woeste et al., 1999] und dass Ethylen die Auxin-Biosynthese und den Transport von Auxinen zu den Wurzeln reguliert [Swarup et al., 2007].

Wie andere Phytohormone ist auch das Ethylen an der Regulierung der AWB beteiligt [Shibuya et al., 2004]. Die Auswirkungen, die das Ethylen dabei hat, variieren sehr stark. Es gibt Ergebnisse (z.B. Mungobohne und Tomate), die dem Ethylen eine stimulierende Wirkung zuschreiben [Hitchcock und Zimmerman, 1940]. Andere Ergebnisse (ebenfalls von Mungobohne und Tomate) wiederum sprechen von keiner [Mudge und Swanson, 1978] oder einer hemmenden Wirkung [Geneve und Heuser, 1983]. Die Ursachen für die hohe Variabilität liegen laut Clark et al. (1999) in der entwicklungsstadium-abhängigen Ethylensensitivität des Gewebes.

Das Phytohormon Abscisinsäure ist an der Steuerung des Pflanzenwachstums, dem Öffnen und Schließen der Spaltöffnung sowie an der Produktion von Ethylen beteiligt [Mendel, 2010]. Die Funktion, die die Abscisinsäure während der AWB einnimmt, ist noch unklar. Wie bei Ethylen gibt es unterschiedliche Auswirkungen auf die AWB [Hartmann et al., 1990]. Abscisinsäure hat zum Beispiel auf *Arabidopsis* einen hemmenden und bei *Phaseolus coccineus* einen positiven Einfluss auf die AWB [Smet et al., 2003; Abou-Mandour und Hartung, 1980].

Die Aufgabe der Gibberelline liegt im Wachstum der Pflanze sowie der Samenkeimung. Gebildet wird das Phytohormon im jungen Gewebe des Sprosses und in sich entwickelnden Samen. Der Transport dieses Hormons findet höchstwahrscheinlich im Xylem und im Phloem statt [Raven et al., 2006]. Auf die AWB haben die Gibberilline eher eine hemmende Wirkung [Hartmann et al., 1990].

1.4 Strigolactone

Strigolactone sind eine neue Klasse von Phytohormonen. Der Name 'Strigolacton' stammt aus der ersten identifizierten Rolle dieser Verbindung. Strigolactone wurden

damals als Stimulanz für die Keimung von Samen des parasitären Unkrauts *Striga* entdeckt [Cook et al., 1966]. Wegen dieses Unkrauts und weil die chemische Struktur eines Strigolacton ein Lactonring enthält bekam das Phytohormon seinen Namen. Seit 2008 ist bekannt, dass Strigolactone auch bei der negativen Regulierung der Knospenbildung beteiligt ist [Gomez-Roldan et al., 2008; Umehara et al., 2008]. Außerdem sind Orthologe Strigolactone, Signalisierungs- und Synthesegene in allen höheren Pflanzenarten (*Arabidopsis*, Erbse (*Pisum sativum*), Petunie, Tomate, Reis (*Oryza sativa*)) gefunden worden [Drummond et al., 2009; Beveridge und Kyoizuka, 2010; Liang et al., 2010]. Strigolactone sind des Weiteren an der Entwicklung des primären Wurzelwachstums, der Regulierung der lateralen Wurzelbildung, der Wurzelhaarentwicklung, der Samenkeimung, sowie der Photomorphogenese und an Stressreaktionen beteiligt [Czarnecki et al., 2013]. Außerdem verhindern Strigolactone die Sprossverzweigung und sind an der negativen Regulierung der Adventivwurzelbildung beteiligt [Umehara et al., 2008; Rasmussen et al., 2012].

Das Grundgerüst der Strigolactone (SL) besteht aus trizyklischen Lactonen. Diese Ringe werden in der Abbildung 2 als ABC bezeichnet. Der mit einem A beschriftete Kohlenstoffring besteht aus 6 Kohlenstoffatomen und zwei verschiedenen Substituenten. Der C5-Ring (Ring B) besitzt einen Substituenten. Das Grundgerüst ist über eine Enolether Brücke zu einer unveränderlichen α , β -ungesättigten Furanoneinheit (der D-Ring) verbunden [[Al-Babili und Bouwmeester, 2015; Tokunaga et al., 2015].

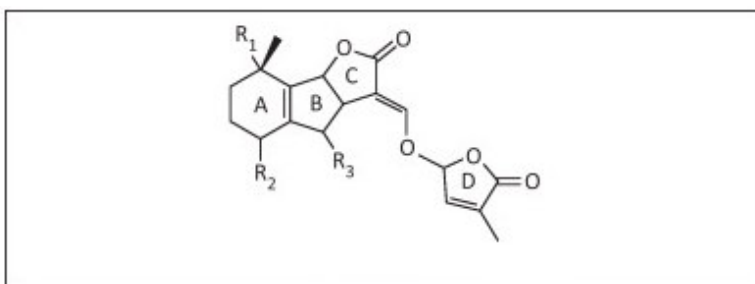


Abbildung 2: Grundlegender Aufbau eines Strigolactones [Lopez-Obando et al., 2015].

Bisher wurden in Wurzelexsudate von verschiedenen Pflanzen mindestens 20 natürlich vorkommende SLs gefunden [Lopez-Obando et al., 2015]. SL werden vermutlich aus

Carotinoide synthetisiert [Crawford et al., 2010]. Für die Synthese (Siehe Abb. 3) finden drei aufeinanderfolgende Reaktionen mit den Enzymen D27 (*rice Dwarf27*), CCD7 (*carotenoid cleavage dioxygenase 7*) und CCD8 (*carotenoid cleavage dioxygenase 8*) statt [Alder et al., 2012]. Zuerst wird all-trans- β -Carotin durch das Enzym D27 in 9-cis- β -Carotin umgewandelt [Seto und Yamaguchi, 2014]. Anschließend katalysiert CCD7 die Spaltung von 9-cis- β -Carotin zu all-trans- β -10'-carotinal [Schwartz et al., 2004]. Allerdings zeigte Alder et al. (2012), dass CCD7 bevorzugt die 9-cis- β -Carotin in 9-cis- β -apo-10'-carotinal umwandelt. Bei Petunien wird das Gen für das CCD7 Protein als DAD3 bezeichnet [Czarnecki et al., 2013]. Das 9-cis- β -apo-10'-carotinal wird anschließend vom CCD8 in 9-cis- β -Carotin umgewandelt [Alder et al., 2012]. Im letzten Schritt katalysiert das CCD8 Enzym (Gen Name bei Petunien: DAD1 [Czarnecki et al., 2013]) eine intramolekulare Umlagerung, wodurch der für die SL charakteristische D-Ring gebildet wird [Seto und Yamaguchi, 2014]. Das entstandene Carlacton (CL) ist eine Biosynthesevorstufe für SLs [Alder et al., 2012]. Das Cytochrom P450 (Gen Bezeichnung bei Petunien: PhMAX1 [Czarnecki et al., 2013]) wandelt anschließend die Carlactone in 5-deoxystrigol (+) - 5DS (5-deoxystrigol) oder (-) - 2'-epi-5DS um. Diese können im Anschluss in andere SL umgewandelt werden [Alder et al., 2012].

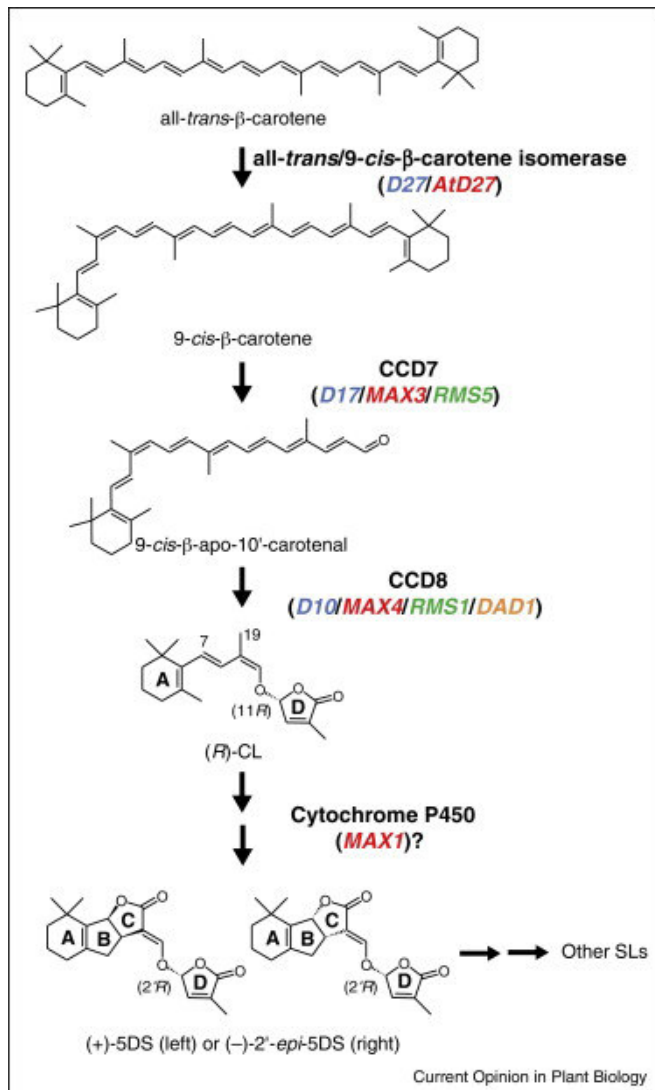


Abbildung 3: Biosynthese von Strigolactonen [Seto und Yamaguchi, 2014].

Strigolactone haben einen hemmenden Einfluss auf die Adventivwurzelbildung. Dies wurde bereits mit *Arabidopsis* und Erbsen (*Pisum sativum*) Pflanzen bestätigt [Rasmussen et al., 2012]. Allerdings stellten Sun et al. (2015) bei Reis Pflanzen fest, dass Strigolactone einen positiven Effekt auf die AWB besitzen.

In *Arabidopsis* unterdrücken Strigolactone die Entwicklung vor oder während der ersten Teilung der Perizykel Zellen [Rasmussen et al., 2012]. Der Gehalt an Strigolactonen wird dabei vom Xylem aus über den MAX2 (*more axillary growth 2*) Reaktionsweg reguliert. Die Initiation der lateralen Wurzelbildung wird ebenfalls in einer max2-abhängigen Weise von geringen Konzentrationen an Strigolactonen reguliert [Kapulnik et al., 2011, Ruyter-Spira et al., 2011]. Die Wirkung von Strigolactonen ist

dosisabhängig [Rasmussen et al., 2012]. Des Weiteren hat man in Tomaten festgestellt, dass die Expression des Strigolakton Biosynthese-Gen *SLCCD7* Lichtabhängig ist [Koltai et al., 2011]. Ob eine Lichtabhängigkeit bei Petunien besteht soll in dieser Arbeit untersucht werden.

Neben den Strigolactonen haben auch die Cytokinine einen negativen Einfluss auf die AWB. Man hat allerdings festgestellt, dass die Strigolactone unabhängig von den Cytokinin die AWB hemmen [Rasmussen et al., 2012]. Ein weiterer wichtigerer Faktor bei der AWB sind die Auxine. Es ist möglich, dass die Strigolactone den Auxine Level im Perizykel negativ beeinflussen und dadurch die Initiation der AWB beeinflusst wird [Rasmussen et al., 2012].

Anhand der bisherigen Ergebnisse von Rasmussen et al. (2012) geht man von dem vereinfachten Modell der Abbildung 4 aus. Das Modell stellt die Rolle der Strigolactone bei der Kontrolle der Adventivwurzelbildung dar. Durch Licht wird die Expression von Strigolacton Biosynthesegenen *CCD7* und *CCD8* stimuliert. Als lokale Reaktion auf den Strigolactone- anstieg kommt es zu Bildung des F-Box Protein *RMS4/MAX2*. Das *RMS4/MAX2* Protein in Zusammenhang mit den Strigolactonen unterdrücken vermutlich die Adventivwurzelbildung [Rasmussen et al., 2012]. Gleichzeitig ist es möglich, dass Strigolactone direkt oder über die Regulierung der Menge an lokalen Auxinen die zufällige Wurzelbildung kontrollieren. Auxine werden über das Biosynthesegen *YUCCA1* gebildet und anschließend werden die Auxine über den basipetal Strom zu den Wurzeln geleitet [Zhao et al., 2001]. Auxine sind an der Induktion der Adventivwurzelbildung beteiligt [Li et al., 2009]. Abgesehen von den Strigolactonen wird die AWB von den Cytokininrezeptoren Arabidopsis Histidinkinase (AHK) gehemmt. Die AHKs werden von den Cytokinin-Biosynthesegens Isopentenyltransferase (IPT) gebildet [Rasmussen 2012].

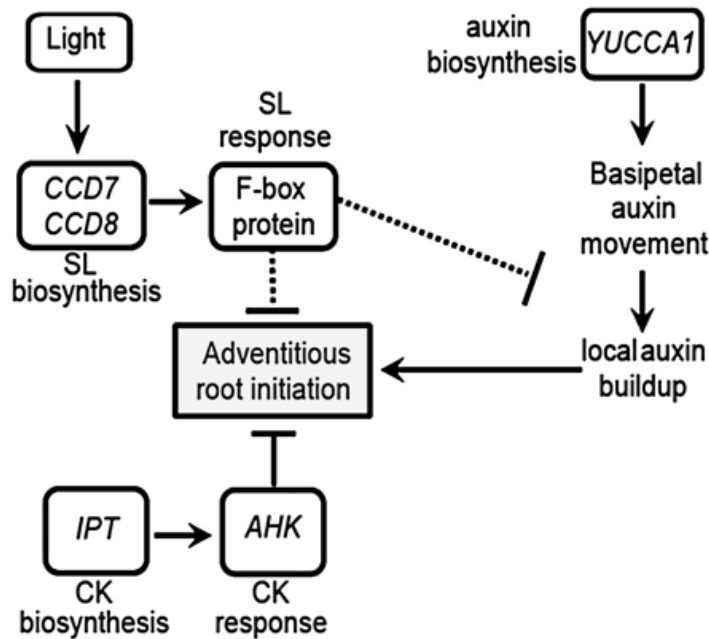


Abbildung 4: Modell für die Regulation der AWB durch die Strigolactone bei Erbsen und *Arabidopsis* [Rasmussen 2012]. Die Pfeile zeigen einen fördernden Effekt und die Linie mit einem vertikalen Strich geben eine Hemmung an. Die gestrichelten Linien geben mögliche Wege an, in denen Strigolactone die AWB beeinflussen können.

Der Transport der Strigolactone erfolgt über einen ABC (*ATP-binding cassette*) -Transporter. *Pleiotropes drug resistance* (PDR) Proteine sind Transportproteine der ABC Transporter Superfamilie. Diese sind in Pflanzen unter anderem bei Krankheitsresistenz und Schwermetalltoleranz beteiligt. Der *Petunia hybrida* ABC-Transporter PDR1 (*pleiotropes drug resistance 1*) ist ein zellulärer Strigolactone Exporteur [Kretschmar et al., 2012]. Die PDR Proteine sind im Allgemeinen an vielen Reaktionen auf biotischen und abiotischen Stress beteiligt [Kretschmar, 2009]. Die PDR Proteine können sowohl in unterirdischen als auch oberirdischen Pflanzenorganen eingebunden sein. Man geht davon aus, dass PDR den Transport pflanzlicher Sekundärmetabolite, wie Terpenoide oder Phenylpropanoide, über die Plasmamembran steuert [Kretschmar, 2009].

Die *Petunia hybrida* PDR1 Mutante hat einen Defekt in der Exsudation von Strigolactonen aus den Wurzeln. Die Mutante entstand aus einer Kreuzung von *Petunia hybrida* Linie W115 und *Petunia hybrida* Linie W138.

Ein anderer Weg ist das Eingreifen in die Biosynthese von Strigolactonen. Dafür wurden die *Decreased apical dominance1* (DAD1) Mutante entwickelt [Snowden et al., 2005]. Das DAD1 / PhCCD8 Gen der *Petunia hybrida* kodiert für die Carotinoid

Spaltung Dioxygenase (CCD) und ortholog für das *MORE AXILLARY GROWTH4* (MAX4) / AtCCD8 Gen [Snowden et al., 2005]. Bei der Mutante ist das Enzym CCD nicht mehr vorhanden, wodurch das 9-cis- β -apo-10'-carotinal nicht mehr in 9-cis- β -Carotin umgewandelt werden kann [Snowden et al., 2005]. Die Mutante entstand aus einer Kreuzung von *Petunia hybrida* Linie W115 und *Petunia hybrida* Linie V26.

1.5 Kohlenhydrate

Um überhaupt Adventivwurzeln zu bilden, sind eine Reihe von morphologischen Veränderungen (u.a. Zellzuwachs und -wachstum sowie die Ausdifferenzierung zu Wurzelstrukturen) nötig. Die Grundlage dafür bilden Syntheseprozesse für Nucleinsäuren und Proteine aus Kohlenstoffgerüsten. Für diese Prozesse ist eine adäquate Nährstoffzufuhr in Form von Kohlenhydraten als Strukturkomponente und Energiequelle notwendig [Stitt und Krapp, 1999]. Daher hängt die Fähigkeit zur Wurzelbildung maßgeblich von der Bereitstellung und dem Transport von Kohlehydraten in die Sprossbasis ab [Veierskov, 1988; Kevers et al., 1997].

Pflanzen sind in der Lage, Photosynthese zu betreiben. Bei diesem Prozess nehmen die Pflanzen unter Ausnutzung von Lichtenergie CO_2 aus der Luft auf und wandeln den Kohlenstoffdioxid mit Wasser in Glucose und Sauerstoff um [Heß, 1993; Huber, 1983]. Dieser Prozess findet in Blättern statt. Dabei handelt es sich um photosynthetisch aktive Gewebe, wie z.B. voll entwickelte Blätter. Das photosynthetisch aktive Gewebe produziert Photoassimilate, die überwiegend in Form von Saccharose im Phloem zum *Sink*-Gewebe (photosynthetisch eingeschränktes oder inaktives Gewebe) transportiert werden, um dort die Nährstoffversorgung zu garantieren. Beim *Sink*-Gewebe handelt es sich unter anderem um junge Blätter, Wurzeln und Sprossmeristeme [Sonnewald und Ebner, 1998].

Die Photosyntheseaktivität der Stecklinge ist ausschlaggebend für die Verfügbarkeit und die Verteilung von Kohlenhydraten während der AWB [Pellicier et al., 2000; Cross et al., 2006]. Die Photosyntheserate ist abhängig von Umweltfaktoren wie Lichtintensitäten und -qualität, der Temperatur und des Kohlenstoffdioxidgehalt. Bei einer zu geringen Lichtintensität wird die Photosyntheserate verringert. Damit

verringert sich auch die Produktion von Assimilaten in den Blättern, was zur Folge hat, dass das Wachstum und die Entwicklung der *Sinks* durch den verminderten Transport von Kohlenstoffverbindungen verzögert ablaufen [Cross et al., 2006].

Durch zu hohe oder zu niedrige Umgebungstemperatur wird die Photosyntheserate ebenfalls herabgesetzt, was einen negativen Effekt auf die Spaltung, die Verfügbarkeit und den Transport von Kohlenhydraten in der Pflanze zur Folge hat [Hikosaka et al., 2006]. Bei Dunkelheit und erhöhten Temperaturen wird die Respirationsrate gesteigert, was einen vermehrten Abbau von Kohlenhydraten zur Folge hat [Jiao und Grodzinski, 1996]. Die Reaktion auf eine Behandlung mit Dunkelheit und Kälte oder Wärme ruft bei Pflanzen sehr unterschiedliche Wirkungen hervor. Bei Nelken [Garrido et al., 1996 und 1998] und Chrysanthenen [Druege et al., 2000] hat eine Kältebehandlung einen fördernden Effekt auf die AWB. Bei Pelargonienstecklingen hingegen haben sowohl niedrige (4 °C) als auch höhere (21 °C) Temperaturen bei Dunkellagerung einen negativen Einfluss auf die AWB [Druege et al., 2004; Mutui et al., 2005].

Bei Petunienstecklingen hat eine kalt-dunkel Behandlung einen positiven Effekt auf die AWB [Klopotek, 2010; Klopotek et al., 2010]. Dabei zeigte sich eine beschleunigte und synchronisierte Bewurzelung. Dies deutet darauf hin, dass die Etablierung des Wurzel-*Sinks* früher vonstattengeht als bei Stecklingen ohne eine kalt-dunkel Behandlung, sodass die Kohlenhydrate bevorzugt in die Region der Rhizogenese transportiert werden [Klopotek et al., 2010].

2 Zielstellung

Durch die Untersuchungen von Klopotek et al. (2010, 2012, 2016) und Klopotek (2010) ist bekannt, dass eine temporäre kalt-Dunkelbehandlung einen positiven Effekt auf die AWB bei Petunien hat. Pflanzen reagieren sehr unterschiedlich auf eine Behandlung mit Dunkelheit und Kälte oder Wärme [Garrido et al., 1996 und 1998; Druége et al., 2000; Druége et al., 2004; Mutui et al., 2005].

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Einfluss einer temporären warm-Dunkelbehandlung auf die AWB bei *Petunia hybrida* 'Mitchell' sowie der Mutante und des Wildtyps von PDR1 unter Bezugnahme des Kohlenhydrathaushaltes in einem *in-vitro* System untersucht. Die Kohlehydrate dienen dabei als Indikator für die Adventivwurzelbildung, da im Verlauf der Bewurzelung morphologische Veränderungen auftreten, die einen hohen Energiebedarf haben. Die Kohlenhydrate dienen dabei als Energiequelle und Strukturkomponente [Haissig, 1984; Veierskov, 1988; Davis, 1988; Kevers et al., 1997; Li und Leung, 2000; Klopotek et al., 2010b]. Des Weiteren wurde mit den *Petunia hybrida* 'Mitchell' Stecklingen sowie der Mutante und dem Wildtyp von DAD1 und PDR1 eine Wurzelbonitur nach einer temporären warm-Dunkelbehandlung durchgeführt.

Die Kultivierung der Stecklinge erfolgte dabei *in-vitro*. Die Vorteile der *in-vitro* Kultivierung liegen darin, dass die Nährstoffzufuhr der Pflanzen durch das Medium genau kontrolliert werden kann. Des Weiteren verkürzt sich die Zeit bis zur AWB auf ca. 10 Tage. Der phänotypische Verlauf der AWB ist des Weiteren durch das Medium sichtbar.

Ziel des Versuchs mit der Mutante und dem Wildtyp von PDR1 und DAD1 war es festzustellen, ob das Deaktivieren des ABC-Transporters oder die Unterbrechung der Strigolactone Biosynthese einen Einfluss auf die AWB von Petunienstecklingen besitzen. Des Weiteren wurde bei den PDR1 Stecklingen (Mutante und Wildtyp) der Kohlenhydratgehalt bestimmt.

3 Material

3.1 Chemikalien

Phosphoglucose Isomerase	Roche Diagnostics GmbH
Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase	Roche Diagnostics GmbH
Hexokinase	Roche Diagnostics GmbH
Invertase	Roche Diagnostics GmbH
Ethanol absolute	Merck KGaA
Flüssigstickstoff	BROSER GmbH
Imidazol $\geq 99,8\%$ GmbH	Sigma-Aldrich Chemie
Magnesiumchlorid-Hexahydrat	Merck KGaA
Nicotinamidadenindinukleotid	AppliChem GmbH
Adenosintriphosphat	Roche Diagnostics GmbH
steriles Leitungswasser	
Tween 20	Merck KGaA
Sodium hypochlorite 14%	
Cl ₂ in aqueous solution GPR RECTAPUR	VWR International
Plant Agar	
Gelstärke: $> 1100 \text{ g/cm}^2$	Duchefa Biochemie B.V.
Murashige & Skoog Medium mit Gamborg B5 Vitaminen, 4414.09 mg/l	Duchefa Biochemie B.V
D (+)-Saccharose $\geq 99,7 \%$	Carl Roth GmbH + Co. KG

3.2 Medium

½ MS Medium

Murashige & Skoog Medium	2, 2 g/L
+ Gamborg B5 Vitamin	
Saccharose	30 g/L
Plant Agar	7 g/L
pH	5,8

3.3 Molekularbiologische Reagenzien

Petunia × hybrid 'Mitchell'(W115), sterile *in vitro*-Pflanzen, vom IGZ

PDR1 Mutante; gekreuzt aus der *Petunia × hybrid* Linie W115 und der *Petunia × hybrid* Linie W138, sterile *in vitro*-Pflanzen, zur Verfügung gestellt von der Arbeitsgruppe um Dr. Lorenzo Borghi von der Uni Zürich

PDR1 Wildtyp (W138), sterile *in vitro*-Pflanzen, zur Verfügung gestellt von der Arbeitsgruppe um Dr. Lorenzo Borghi von der Uni Zürich

DAD1 Mutante; gekreuzt aus der *Petunia × hybrid* Linie W115 und der *Petunia × hybrid* Linie V26, sterile *in vitro*-Pflanzen, zur Verfügung gestellt von der Arbeitsgruppe um Dr. Lorenzo Borghi von der Uni Zürich

DAD1 Wildtyp (V26), sterile *in vitro*-Pflanzen, zur Verfügung gestellt von der Arbeitsgruppe um Dr. Lorenzo Borghi von der Uni Zürich

3.4 Material

Schraubgläser 370 ml

Flaschenland GmbH

3.5 Geräte

Kugelschwingmühle MM 301	Retsch GmbH
Zentrifuge Sigma 3K30 / Zent 3 Sigma	SIGMA Laborzentrifugen GmbH
Brutschrank BE 500	Memmert GmbH + Co. KG
Vortex-Genie 2 Variable Speed Vortex Mixer	Scientific Industries Inc.
Thermomixer comfort	Eppendorf AG
Ultraschallbad RK 255 H	BUNDELIN electronic GmbH & Co. KG
Multifunktions-Mikroplatten-Reader	
FLUOstar Omega BMG	LabTech
Feinwaage CP64	Satorius AG
Mikrotiterplatten mit 96 Vertiefungen 18 EMP	Anicrin S.R.L.
Vakuum-superisolierter Behälter für tiefkalten Flüssigstickstoff APOLLO	Cryotherm GmbH & Co. KG
Autoklav VX-120	SYSTEC GmbH
Sterilbank	PRETTLE Reinrautechnik GmbH
Magnetrührer mit Heizplatte VMS-C7 Advanced	VWR International
Schlauchpumpe IPC-24 - MCP Standard	ESSKA GmbH
Speed Vac Savant SPD 111V	Thermo Fisher Scientific Inc.
Leuchtstofflampen LS 65-1 neutralweiß 20, 65 Watt, Länge 1,50 m	NARVA Lichtquellen GmbH + Co. KG

4 Methoden

4.1 Pflanzenmaterial und Wachstumsbedingungen

Die Samen von der *Petunia hybrida* 'Mitchell', PDR1 und DAD1 wurden fünf Minuten mit 70 % Ethanol und zehn Minuten mit 10 % NaOCl sterilisiert. Für die Verdünnung des NaOCl wurden 5 ml 12%iges NaOCl und 1 ml steriles Leitungswasser mit einem Tropfen Tween 20 gemischt [Klopotek et al., 2010]. Anschließend wurden die Samen fünfmal à drei Minuten mit sterilem Leitungswasser gewaschen. Nach dem Waschen wurden je 25 Samen auf einer ½ MS Platte ausgelegt [Murashige und Skoog, 1962]. Die Platten wurden ca. 13 Tage im Klimaschrank bei 25°C und einer Lichtintensität von 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ inkubiert. Die Photoperiode betrug 16 Stunden Licht und 8 Stunden Dunkelheit. Nach ca. 13 Tagen wurden jeweils drei Sämlinge zusammen auf 40 ml ½ MS Medium in Schraubgläsern umgesetzt.

Die Donorpflanzen (*Petunia hybrida* 'Mitchell', Mutante und Wildtyp von PDR1 sowie DAD1) umfassten einen Bestand von 120 Pflanzen. Diese wurden *in-vitro* auf ½ MS Medium mit einer Saccharosekonzentration von 30 g/l gehalten. Die Photoperiode in dem Klimaraum betragen 16 Stunden Licht bei einer Lichtintensität von 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ und acht Stunden in Dunkelheit. Die Temperatur lag dabei in der Lichtperiode bei 25°C und in der Dunkelperiode bei 21°C. Die Donorpflanzen wurden weder gedüngt noch gegossen. Die experimentelle Analyse begann 3 Monate nach der Aussaat. Die Pflanzen wurden ca. 1-mal im Monat auf neues Medium umgesetzt. Dabei wurden die Pflanzen gestutzt und die Wurzeln gekürzt.

4.2 Wurzelbonitur der Stecklinge

Die Wurzelbonitur wurde jeweils von zehn Stecklingen pro Behandlung durchgeführt. Dabei wurden von jedem Steckling sowohl die Wurzelanzahl als auch die Länge der Wurzeln bestimmt. Die Wurzeln wurden dabei in Längenklassen ($i < 1 \text{ cm}$, $i \geq 1 \text{ cm}$, $i \geq 2 \text{ cm}$, $i \geq 3 \text{ cm}$, $i \geq 4 \text{ cm}$, $i \geq 5 \text{ cm}$, $i \geq 6 \text{ cm}$, $i \geq 7 \text{ cm}$, $i \geq 8 \text{ cm}$) unterteilt [Druege et al., 2007]. Aus den gesammelten Daten wurde der Mittelwert für die Wurzelanzahl und die Gesamtwurzellängen x für jeden Steckling und für alle Stecklinge bestimmt (Formel 1).

$$(1) \quad x \text{ (cm)} = \sum_{i=1}^9 x_i * l_i$$

Dabei betrug x_i die Wurzelanzahl der jeweiligen Wurzelklasse i und l_i die definierten mittleren Wurzellängen (0,5 cm; 1,5 cm; 2,5 cm; 3,5 cm; 4,5 cm; 5,5 cm; 6,5 cm; 7,5 cm; 8,5 cm).

Eine Wurzelbonitur wurde beim Vorversuch mit *Petunia × hybrida* 'Mitchell' Stecklinge nach 11 Tagen vorgenommen. Bei diesem Versuch wurden den ½ MS Medium unterschiedlichen Saccharosekonzentration zugesetzt. Die Saccharosekonzentrationen betragen dabei 0, 5, 10, 20 und 30 g/l.

Des Weiteren wurden eine Wurzelbonitur bei Versuchen mit einer temporären Dunkellagerung durchgeführt. Für diese Versuche wurden *Petunia × hybrida* 'Mitchell' Stecklinge sowie die Mutante und der Wildtyp von PDR1 und DAD1 verwendet. Diese Stecklinge wurden während des Versuches unterschiedlich lange in Dunkelheit gelagert (Bsp. Siehe Abb. 5) und anschließend zu den Kontrollstecklingen ins Licht gestellt. Die Bonitur erfolgte bei den *Petunia × hybrida* 'Mitchell' Stecklingen und den PDR1 (Mutante und Wildtyp) Stecklingen nach 10 Tagen. Bei den DAD1 Stecklingen (Mutante und Wildtyp) wurde die Wurzelbonitur nach 13 Tagen durchgeführt.

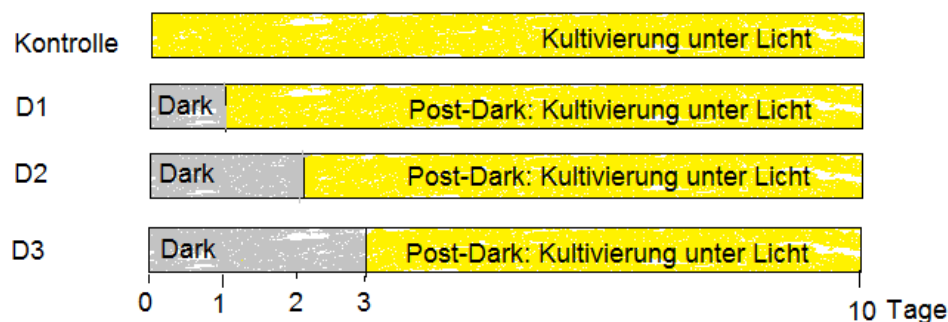


Abbildung 5: **Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus mit *Petunia × hybrida* 'Mitchell' Stecklingen.** Bis auf die Kontrolle wurden die verschiedenen Dunkelvarianten (D1, D2, D3) unterschiedlich lange in Dunkelheit gelagert und anschließend ins Licht gestellt.

4.3 Probenahme von Stecklingen

Stecklinge bestehen aus ca. vier jüngeren Blättern (L1 – L4) und ein bis zwei älteren Blättern (L5 und L6) (siehe Abbildung 6). An den Versuchstagen wurde von den zu beprobenden Stecklingen ein halber Zentimeter der Stängelbasis (SB) siehe Abbildung

6 mit einem Skalpell abgetrennt und in einem Reaktionsgefäß gewogen. Anschließend wurden die Reaktionsgefäße in Flüssigstickstoff gefroren. Des Weiteren wurde für die Blattproben das älteste Blatt (L5) mit einem Skalpell an der Blattbasis abgetrennt und ebenfalls gewogen und eingefroren. Bis zur Kohlenhydratanalyse wurden die Proben bei -80°C aufbewahrt.

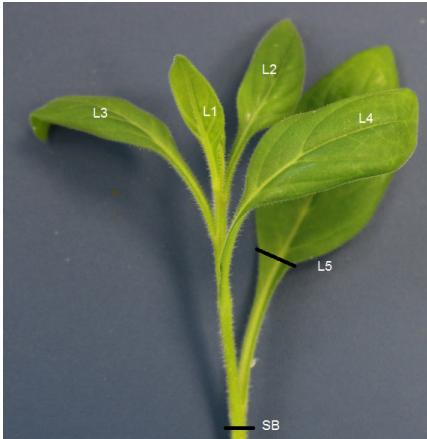


Abbildung 6: **Grundlegender Aufbau eines Stecklings.** Die schwarzen Linien zeigen die Schnittstellen.

Eine Kohlenhydratanalyse wurde bei den *Petunia × hybrida* 'Mitchell' und den PDR1 (Mutante und Wildtyp) Stecklingen vorgenommen. Proben für die Kohlenhydratanalyse wurden dabei nach 0, 1, 2 und 3 Tagen (Kontrolle, D1-3) genommen (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: **Darstellung der verschiedenen Probenahme Tage mit den dazugehörigen Behandlungen und der anschließenden Wurzelbonitur (Tag 10).** Die Bezeichnungen D1-3 stehen für die verschiedenen Dunkelvarianten. Die Stecklinge kamen bei diesen Versuchen erst nach 1, 2 und 3 Tagen wieder ans Licht.

	Beprobung der <i>Petunia × hybrida</i> 'Mitchell' und PDR1 (Mutante und Wildtyp) Stecklinge			
Tag	Kontrolle	D1	D2	D3
0	8			
1	8	8		
2	8	8	8	
3	8	8	8	8
10	10	10	10	10
Anzahl der Stecklinge Insgesamt	42	34	26	18

4.5 Kohlehydratanalyse

Zu den gefrorenen Proben wurden fünf Metallkugeln hinzugefügt und in der Kugelmühle 10 Minuten bei 30 1/s gemahlen (siehe Abb. 7). Die Proben standen vor und nach dem Mahlen auf Eis. Anschließend wurde zu den Blattproben 0,5 ml 80% Ethanol hinzugeben. Zu den Sprossproben kamen 0,25 ml 80% Ethanol. Die Proben wurden kurz gevortext. Danach wurden die Proben eine Stunde bei 80°C inkubiert. Nach dem Abkühlen der Proben auf Eis wurden die Kugeln entfernt. Anschließend erfolgte eine Zentrifugation (13000 rpm) für 15 Minuten bei 4°C. Der Überstand der Proben wurde in neue Reaktionsgefäße (Eppendorf, Hamburg, Germany) überführt. Die neuen Reaktionsgefäße mit dem Überstand wurden anschließend noch einmal 5 Minuten (4 °C) bei 13000 rpm zentrifugiert. Vom Überstand wurden je 20 µl in eine Mikrotiterplatte pipettiert. Für die Referenzprobe wurden 20 µl dest. Wasser verwendet. Die Mikrotiterplatte wurde über Nacht bei 37°C inkubiert.

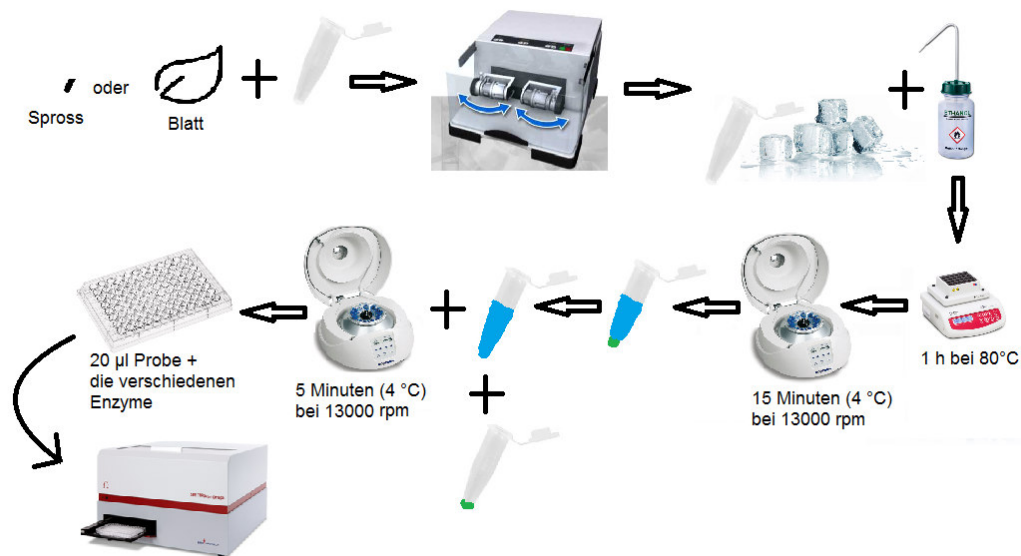


Abbildung 7: Schematische Darstellung der Kohlehydratanalyse.

4.5.1 Herstellen der Lösungen, Enzyme und Puffer

Für den Puffer I wurden 3,4 g Imidazol (100 mM) abgewogen und in etwas dest. Wasser gelöst. Des Weiteren wurden 0,51 g MgCl₂ abgewogen und in dest. Wasser gelöst. Die beiden Lösungen wurden zusammengegeben und mit dest. Wasser auf 400 ml aufgefüllt. Anschließend wurde der pH-Wert mit HCl auf 6,9 eingestellt und mit dest. Wasser auf 500 ml aufgefüllt.

Für den Puffer II wurden 150 mg Nicotinamidadenindinukleotid (AppliChem, Darmstadt, Deutschland) und 60 mg Adenosintriphosphat (Roche, Mannheim, Deutschland) abgewogen und in 100 ml Puffer I gelöst.

Für die Herstellung der Enzyme wurden von der Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase 50 µl in 50 µl Puffer I gelöst. Von der Hexokinase wurden ebenfalls 50 µl pipettiert, allerdings in 100 µl Puffer I gelöst. Bei der Phosphoglucose Isomerase wurden 50 µl in 150 µl Puffer I gelöst. Bei der Invertase wurde 10 mg abgewogen und in 100 µl Puffer I gelöst. Jedes Gemisch wurde anschließend gevortext. Von jeder Probe wurden im Anschluss 100 µl abpipettiert und zu 900 µl Puffer I pipettiert, sodass die Proben in einer 1:2 (Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase), 1:3 (Hexokinase) und 1:4 (Phosphoglucose Isomerase) Verdünnung vorlagen.

4.5.2 Bestimmung der löslichen Zucker

In jedes Well der Mikrotiterplatten wurden 260 µl Puffer II pipettiert. Anschließend wurden 10 µl Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase (1:2 verdünnt) in die Wells pipettiert. Der Gehalt an NADH+H⁺ wurde bei einer Wellenlänge von 340 nm mit einem Mikrotiterplatten-Reader gemessen. Anschließend wurden nacheinander je 10 µl der Hexokinase, Phosphoglucose Isomerase und Invertase dazu pipettiert und dazwischen jeweils der Gehalt an NADH+H⁺ mit dem Mikrotiterplatten-Reader gemessen.

Die Qualität der Zuckermessung wurde mit einer Standardreihe überprüft. Für die Berechnung des Kohlehydratgehaltes pro Gramm Frischmasse wurde die Extinktionsdifferenz ΔH der jeweiligen Kohlenhydrate multipliziert mit den Messvolumen eines Wells und dem totalen Extraktionsvolumen im Wasser. Diese Produkte wurden durch den Extinktionskoeffizienten von NADH+H⁺ (340 nm; E = 6,19), dem Extraktionsvolumen auf der Platte und der Frischmasse in g geteilt (Formel 2).

(2)

$$\frac{\Delta H * \text{Messvolumen (auf Platte = 0,3 ml)} * \text{totales Extraktvolumen in Wasser (= 0,25ml)}}{E_{\text{nm}} (= 5,5 \text{ ml } \mu\text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) * \text{Extraktionvolumen auf Platte (= 0,2ml)} * \text{FM (g)}}$$
$$= \text{Konzentration } \left[\frac{\mu\text{mol}}{\text{g}} \text{ FM} \right]$$

4.6 Statistische Auswertung

Bei allen Ergebnissen wurde der Mittelwert und der Standardfehler berechnet. Des Weiteren wurde eine Signifikanzanalyse mit Hilfe des t-Tests durchgeführt. Alle Berechnungen wurden mit Excel 2016 vorgenommen.

5 Ergebnisse

5.1 Der Einfluss von unterschiedlichen Saccharosekonzentrationen auf die AWB

Mit diesem Versuch wurde die Grundlage für die nachfolgenden Versuche gelegt. Dabei wurden unterschiedliche Saccharosekonzentrationen (0, 5, 10, 20, 30 g/l) verwendet. Es konnte beobachtet werden, dass der Prozess der AWB unterschiedlich schnell verlief.

Nach 11 Tagen fand eine Wurzelbonitur von *Petunia × hybrida* 'Mitchell' Stecklingen statt. Dabei konnte festgestellt werden, dass unterschiedliche Saccharosekonzentrationen einen großen Einfluss auf die AWB haben. Während des Versuches war durch das Medium zu erkennen, dass bereits nach 6 Tagen im zuckerlosen Medium alle Stecklinge (20 Stück) bewurzelt waren. Die Wurzeln hatten dabei eine Länge von ca. 0,5 cm bis über 1 cm. Bei den behandelten Stecklingen mit 5 g/l Saccharose waren zu diesem Zeitpunkt 4 Stecklinge bewurzelt. Bei zwei Stecklingen war eine Kallusbildung zu beobachten. Bei den mit 10 g/l Saccharose behandelten Stecklingen waren noch keine Wurzeln oder eine Kallusbildung zu erkennen. Wohingegen bei der 20 g/l Behandlung die Stecklinge schon eine Verdickung der Sprossbasis (Vorstufe der Kallusbildung) zeigten. Bei der 30 g/l Saccharose Behandlung waren 11 Stecklinge bewurzelt und bei drei Stecklingen war eine Kallusbildung zu erkennen. Allerdings sahen diese Stecklinge phänotypisch am Schlechtesten aus (siehe Abb. 8 a und b). Bei diesen Stecklingen zeigte sich eine Blattsenesenz.

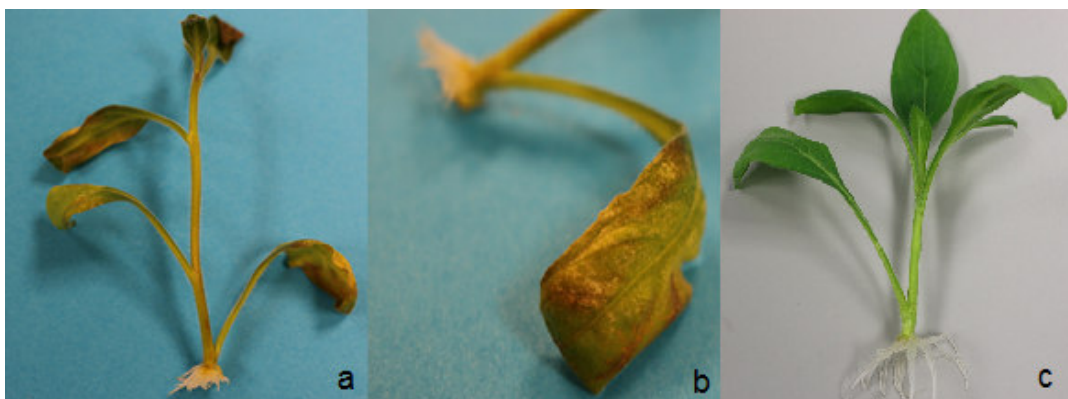


Abbildung 8: Darstellung der phänotypischen Veränderungen bei den mit 30 g/l Saccharose behandelten (a und b) Stecklingen, sowie ein Steckling (c) ohne phänotypische Veränderungen (0 g/l Saccharose).

Bei der Bonitur nach 11 Tagen (Abb. 9) zeigte sich, dass es keine signifikanten Unterschiede zwischen 0, 5 und 30 g/l Saccharose gab. Die 5 g/l Saccharose Behandlung wies des Weiteren keine signifikanten Unterschiede zu 10 g/l Behandlung auf. Die 30 g/l Saccharose Behandlung wies außerdem keinen signifikanten Unterschied zur 10 g/l Saccharose Behandlung auf. Des Weiteren gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen der 10 und 20 g/l Saccharose Behandlung. Die 20 g/l Saccharosekonzentration weist die geringste Wurzellänge auf (siehe Abb. 10).

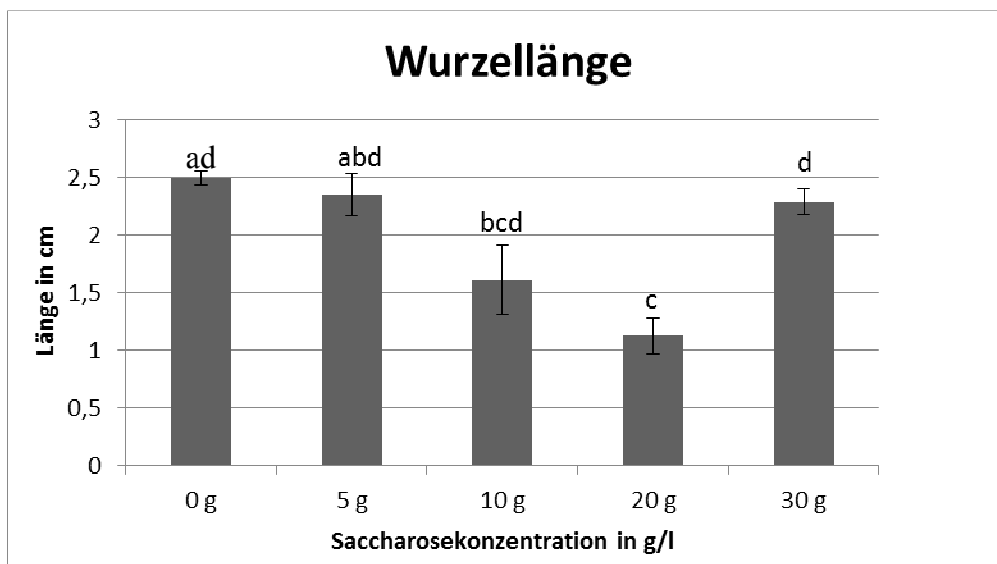


Abbildung 9: Einfluss unterschiedlicher Saccharosekonzentrationen auf die Wurzellänge. Unterschiedliche Buchstaben innerhalb des Merkmals zeigen signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) auf.

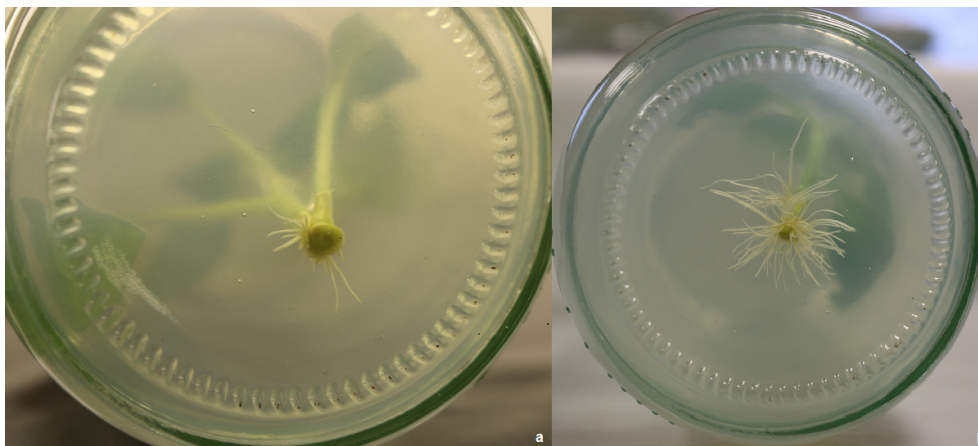


Abbildung 10: Gegenüberstellung der Bewurzelung von 20 (a) und 30 g/l (b) Saccharose nach 11 Tagen.

Bei der Wurzelanzahl (Abb. 11) war zu erkennen, dass es zwischen den Behandlungen mit 5, 10 und 20 g/l Saccharose keine signifikanten Unterschiede gab. Die Saccharosekonzentrationen 0 und 30 g/l wiesen keine signifikanten Abweichungen auf.

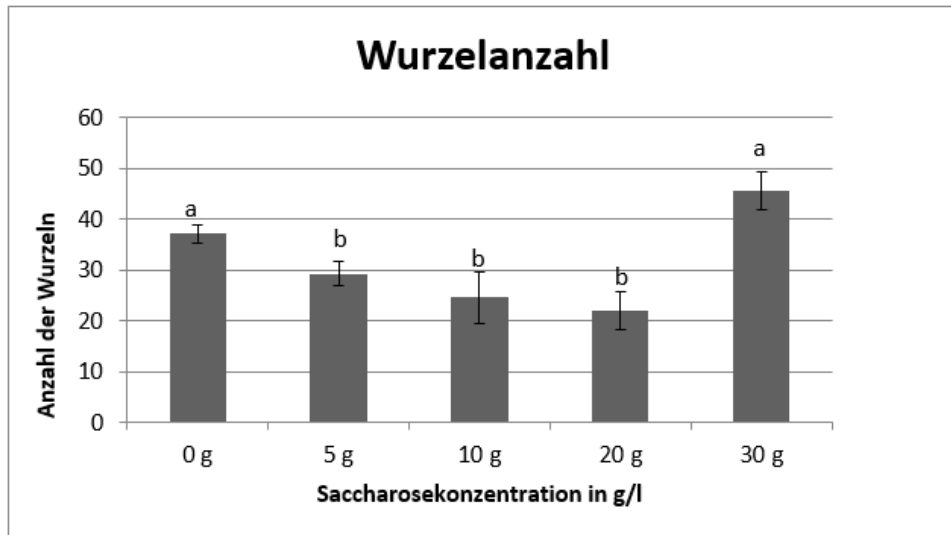


Abbildung 11: **Einfluss unterschiedlicher Saccharosekonzentrationen auf die Wurzelanzahl.** Unterschiedliche Buchstaben innerhalb des Merkmals zeigen signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) auf.

Bei der Gesamtwurzellänge (siehe Abb. 12) gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen der 0 und 30 g/l Saccharose. Die Saccharosekonzentrationen 5 und 10 g/l sowie 10 und 20 g/l wiesen keine signifikanten Unterschiede auf. Ein Unterschied gab es allerdings zwischen 5 und 20 g/l Saccharose.

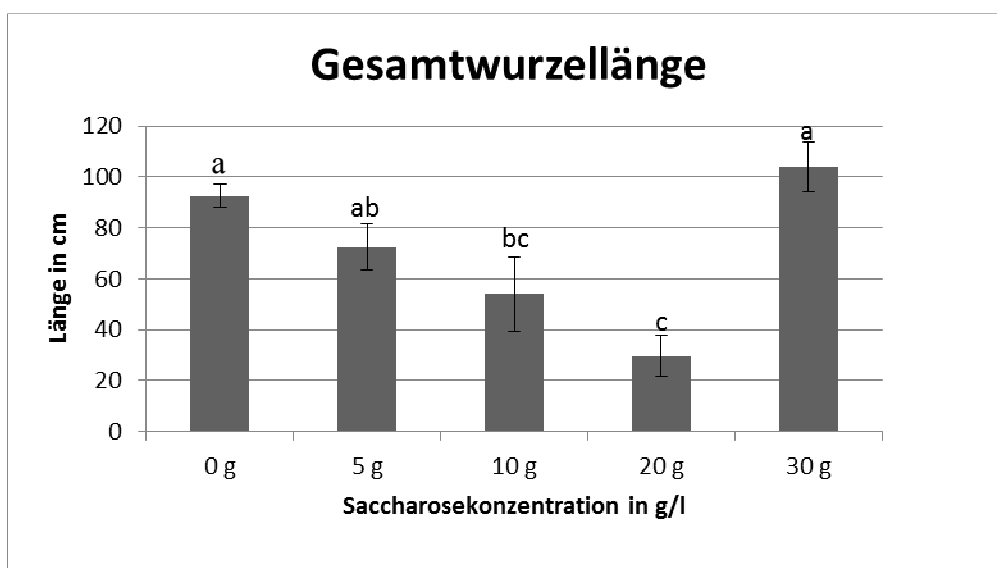


Abbildung 12: **Einfluss unterschiedlicher Saccharosekonzentrationen auf die Gesamtwurzellänge.** Unterschiedliche Buchstaben innerhalb des Merkmals zeigen signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) auf.

5.2 Einfluss einer warm- Dunkelbehandlung auf die AWB und den Kohlehydratgehalt von *Petunia × hybrida* 'Mitchell' Stecklingen

Bei der Wurzelbonitur der *Petunia × hybrida* 'Mitchell' Stecklingen nach einer temporären warm-Dunkelbehandlung war zu beobachten, dass die Dunkelbehandlung eine signifikante Steigerung der Wurzellänge hervorruft (Abb. 13). Bei der Bestimmung der Wurzelanzahl und der Gesamtwurzellänge zeigte sich ein signifikanter Abfall sowohl bei der Wurzelzahl als auch bei der Gesamtwurzellänge nach 72 *hours post excision* (hpe) Dunkelbehandlung (siehe Abb. 14 und 15). Diese sanken auf ein ähnliches Niveau wie die Kontrolle ab.

Bei der Wurzellänge (siehe Abb. 13) zeigt sich ein Unterschied zwischen der Dunkellagerung von 0 und 24 hpe ein deutlicher Anstieg bei der Wurzellänge. Bei den Behandlungen zwischen 24 und 72 hpe gab es keine signifikanten Abweichungen in der Wurzellänge.

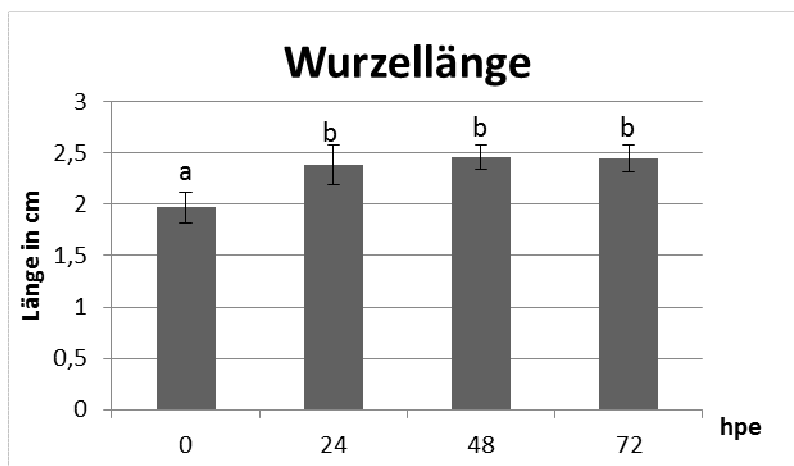


Abbildung 13: **Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Wurzellänge.** Unterschiedliche Buchstaben innerhalb des Merkmals zeigen signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) auf. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*.

Die Bestimmung der Wurzelanzahl und der Gesamtwurzellänge (siehe Abb. 14 und 15) brachte hervor, dass es zwischen den Behandlungen 0 bis 48 Stunden keine signifikanten Unterschiede gab. Bei der 72 hpe Dunkelbehandlung gab es einen deutlichen Abfall der Wurzelanzahl und der Gesamtwurzellänge gegenüber den 24 und 48 hpe Behandlungen.

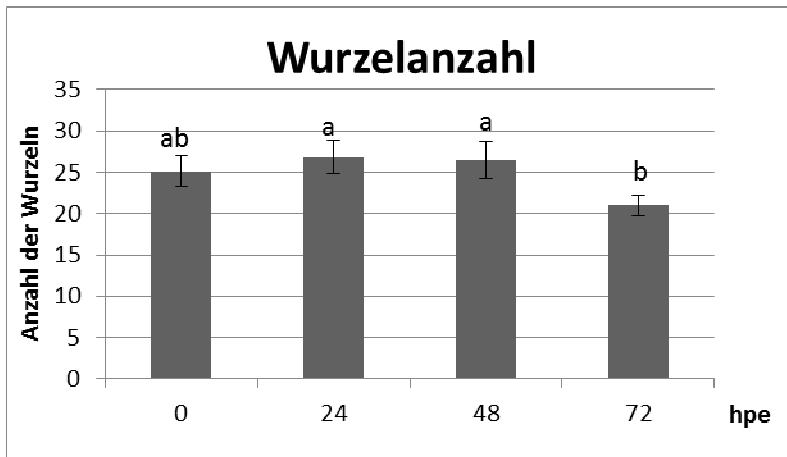


Abbildung 14: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Wurzelnanzahl. Unterschiedliche Buchstaben innerhalb des Merkmals zeigen signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) auf. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*.

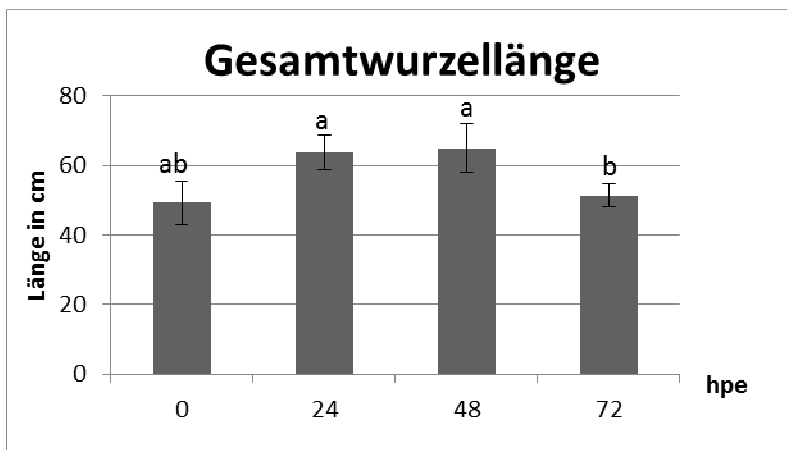


Abbildung 15: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Gesamtwurzellänge. Unterschiedliche Buchstaben innerhalb des Merkmals zeigen signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) auf. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*.

Der sich verändernde Kohlenhydrathaushalt während der AWB wurde an jedem Termin (nach 0, 1, 2 und 3 Tagen) jeweils in dem ältesten Blatt und einem halben Zentimeter der Sprossbasis bestimmt. Der Kohlenhydratgehalt im Blatt nahm während der Dunkellagerung immer weiter ab. Von 0 bis 24 hpe zeigen sich bei allen gemessenen Kohlenhydraten im Blatt und Saccharose im Spross die ersten signifikanten Veränderungen (siehe Abb. 16). Bei Glucose und Fructose ist im Spross zwischen 0 und 24 hpe noch keine signifikanten Veränderungen zu erkennen. Der Glucosegehalt verringerte sich zwischen 24 und 48 hpe um mehr als die Hälfte (Abb. 8a).

Der Fructosegehalt (Abb. 16b) in den Blättern sank zwischen 24 und 48 hpe ebenfalls fast um die Hälfte. Bei Glucose und Fructose waren zwischen 48 und 72 hpe keine

signifikanten Veränderungen mehr zu erkennen. Die Saccharose (Abb. 16c) nahm zwischen 24 und 48 hpe und 48 und 72 hpe nicht mehr signifikant ab.

Im Spross ist der Ausgangsgehalt an Kohlehydraten bis auf die Saccharose viel niedriger als in den Blättern. Identisch ist allerdings, dass während der Dunkellagerung der Gehalt an Kohlehydraten immer weiter abnimmt (Abb. 16 d-f). Bei Glucose und Fructose im Spross (Abb. 16 d und e) ist erst nach 48 hpe ein signifikanter Abfall zu erkennen. Dabei sank der Gehalt der beiden Zucker um deutlich mehr als die Hälfte. Nach 72 hpe war von beiden Kohlenhydraten weniger als 1 $\mu\text{mol g}^{-1}$ FM im Spross vorhanden. Der Saccharosegehalt (Abb. 16f) sank im Gegensatz zu den anderen beiden Zuckern deutlich langsamer ab. Der Abbau der Saccharose nahm im Spross den gleichen Verlauf wie im Blatt. Die Saccharose nahm im Blatt und Spross zwischen 24 und 48 hpe und 48 und 72 hpe nicht mehr signifikant ab.

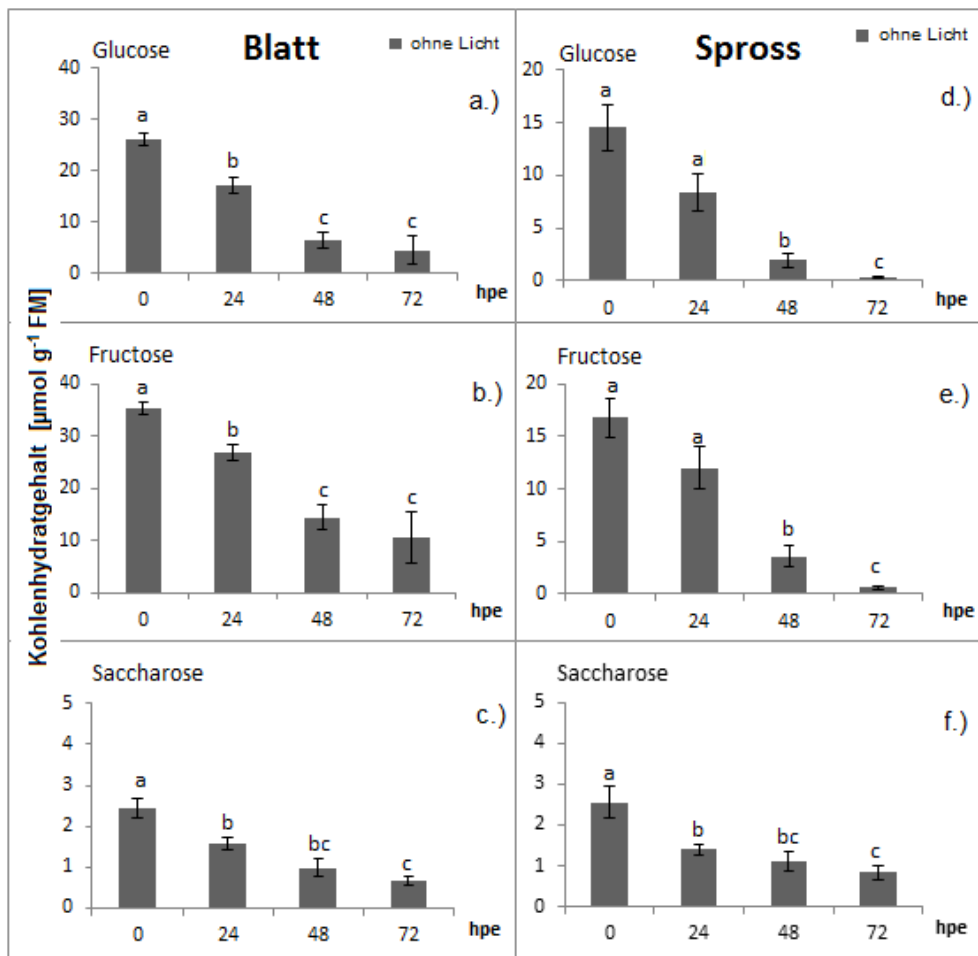


Abbildung 16: **Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf den Kohlenhydratgehalt.** Unterschiedliche Buchstaben innerhalb des Merkmals zeigen signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) auf. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*.

Das Diagramm (siehe Abb. 17) vergleicht die Kontrollpflanzen mit den Stecklingen die vierundzwanzig Stunden in Dunkelheit gelagert wurden. Die Stundenzählung für die dunkelgelagerten Stecklinge beginnt nach der Dunkellagerung (*hours post darkness* (hpd)).

Beim Vergleich der unbehandelten Stecklinge mit den Stecklingen, die vierundzwanzig Stunden Dunkelbehandlung (D1) bekamen (siehe Abb. 17), ist zu beobachten, dass der Kohlenhydratgehalt bei 0 hpe/hpd (*hours post excision /hours post darkness*) bei den behandelten Stecklingen in Blatt deutlich niedriger war. Allerdings stieg dieser auch bei Glucose, Fructose und Saccharose im Blatt (siehe Abb. 17 a-c) nach dem anschalten der Beleuchtung signifikant zwischen 0 und 24 hpd an. Danach ist keine Veränderung im Kohlenhydrathaushalt zu erkennen. Bei den Kontrollstecklingen zeigte sich bei Glucose und Fructose im Blatt (siehe Abb. 17 a- und b) keine signifikante Veränderung zwischen 0 und 48 hpe. Beim Saccharose-Gehalt (siehe Abb. 17 c) zeigte sich in der Kontrolle ein

signifikanter Anstieg zwischen 0 und 48 hpe. Beim Vergleich von Kontrolle und 24 hpe Dunkelgelagerten Stecklingen ist nur zu Beginn ein signifikanter Unterschied zu erkennen. Danach gab es keine signifikanten Unterschieden im Kohlenhydratgehalt. Nur bei Fructose zeigte sich auch bei 24 hpe/hpd ein signifikanter Unterschied.

Im Spross sankt der Glucose-und Fructosegehalt (siehe Abb. 17 d und e) der Kontrolle als auch der 24 hpe dunkelgelagerten Stecklingen im untersuchten Zeitraum signifikant. In der Kontrolle sankt der Glucosegehalt (siehe Abb. 17 d) zwischen 0 und 24 hpe um mehr als die Hälfte. Bei den Stecklingen die 24 h in Dunkelheit gelagerten wurden erfolgte eine signifikante Senkung zwischen 0 und 24 hpd. Der Fructosegehalt (siehe Abb. 17 e) im Spross nimmt sowohl bei der Kontrolle als auch bei den Stecklingen die 24 h in Dunkelheit gelagerten wurden zwischen 0 und 24 hpe/hpd signifikant ab, bleibt danach aber konstant. Der Saccharoselevel (siehe Abb. 17 f) bleibt bei der Kontrolle relativ konstant; bei den in Dunkelheit (24 h) gelagerten Stecklingen hingegen nimmt der Saccharosegehalt im untersuchten Zeitraum signifikant zu. Beim Vergleich der beiden Behandlungen zeigt sich nur zu Beginn ein deutlicher Unterschied im Saccharosegehalt.

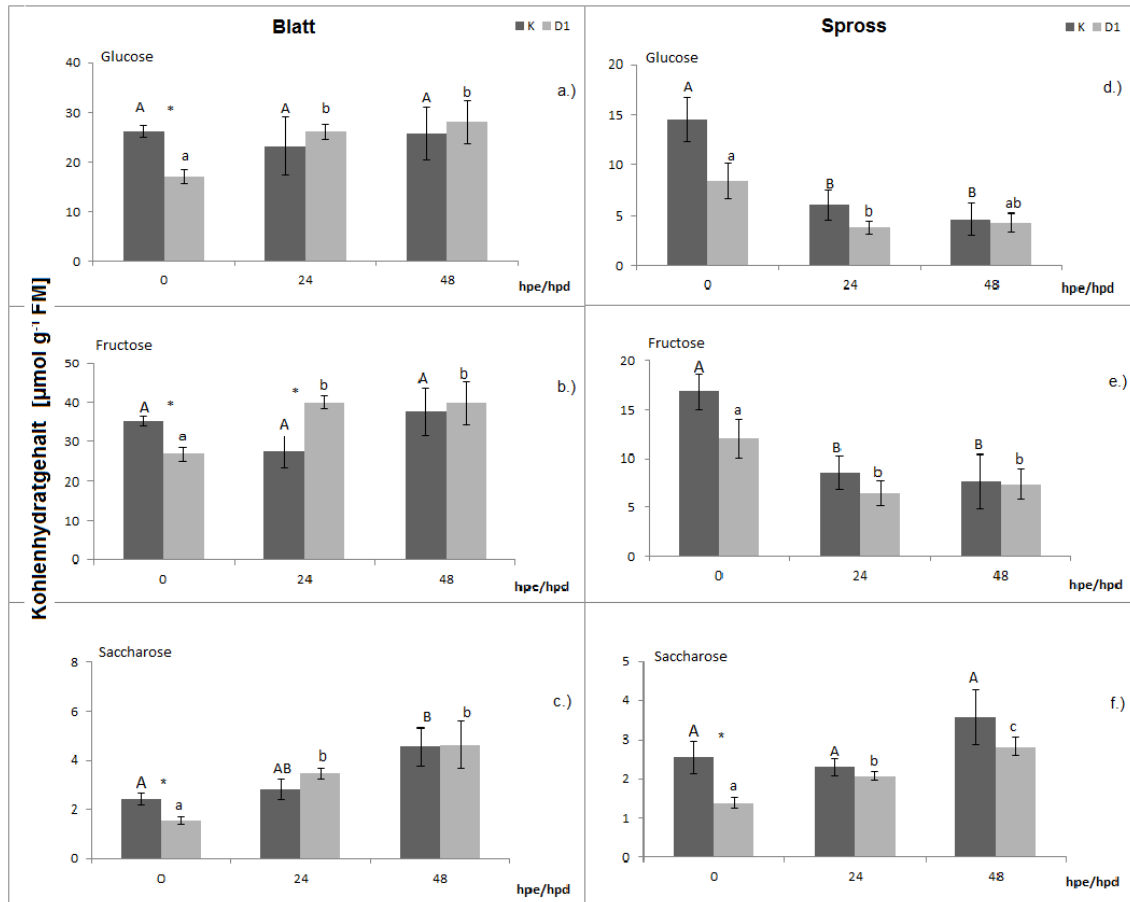


Abbildung 17: Vergleich des Kohlenhydratgehalts im Blatt und Spross zwischen einer 24 hpe Dunkelbehandlung (D1) mit den Kontrollstecklingen (K). Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzungen hpe und hpd steht für *hours post excision* und *hours post darkness*.

5.3 Einfluss einer temporären warm-Dunkelbehandlung auf die AWB von DAD1 Stecklingen

Bei der Wurzelbonitur der Mutante und des Wildtyps von DAD1 nach 13 Tage war bei der Wurzellänge (siehe Abb. 18) zu erkennen, dass in einigen Fällen (0, 72 und 192 hpe) die Mutante (Mut) von DAD1 eine deutlich höhere Wurzellänge aufwies. Beim Wildtyp (WT) war bei den verschiedenen Dunkelbehandlungen nur zwischen 48 und 192 hpe ein signifikanter Unterschied zu erkennen. Zwischen den Zeitpunkten 0 und 24 hpe und 72 und 144 hpe gab es keine sichtbaren Unterschiede. Bei der Mutante gab es signifikante Unterschiede zwischen 0 und 48 hpe sowie zwischen 0 und 192 hpe. Des Weiteren wiesen die Dunkelbehandlungen 48 und 72 hpe und 48 und 144 hpe einen signifikanten Unterschied auf. Beim Vergleich der Mutante mit dem Wildtyp war zu erkennen das bis auf 24, 48 und 144 hpe alle Behandlungen einen signifikanten Unterschied aufwiesen. Bei diesem Vergleich wies die Mut eine höhere Wurzellänge auf.

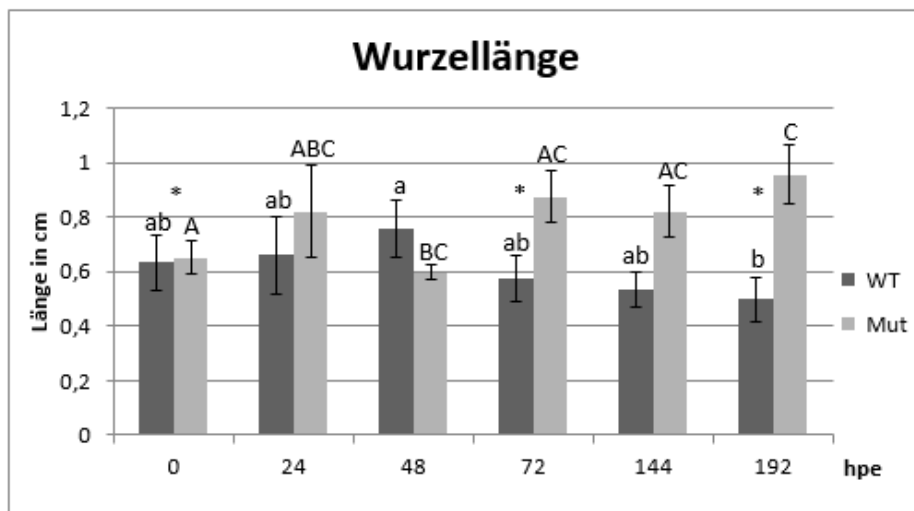


Abbildung 18: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Wurzellänge von der (Mut) und dem Wildtyp (WT) von DAD1. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*.

Bei der Wurzelanzahl (siehe Abb. 19) besaßen bis auf 144 hpe, die Mutante von DAD1 eine deutlich größere Wurzelanzahl als der Wildtyp. Bei dem WT wies die 192 hpe Dunkelbehandlung einen signifikanten Unterschied zu den Dunkelbehandlungen 24, 48 und 144 hpe auf. Die geringste Wurzelanzahl wies dabei die 192 hpe Dunkelbehandlung

auf. Von 0 bis 144 hpe gab es keine signifikanten Unterschiede im Wildtyp. Bei der Mutante gab es zwischen allen Behandlungen keine signifikanten Unterschiede. Beim Vergleich der Mutante mit dem Wildtyp gab es bis auf 144 hpe bei allen Behandlungen einen signifikanten Unterschied.

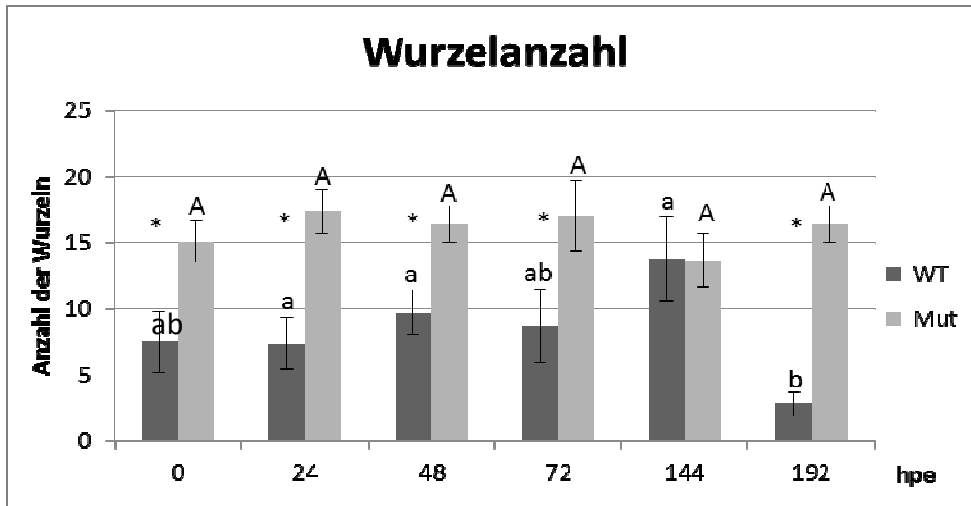


Abbildung 19: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Wurzelnanzahl von der Mutante (Mut) und dem Wildtyp (WT) von DAD1. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*.

Bei der Gesamtwurzellänge (siehe Abb. 20) gab es beim WT zwischen 24, 48 und 144 hpe keine signifikanten Unterschiede. Allerdings waren alle drei Behandlungen signifikant höher als die 192 hpe Dunkelbehandlung. Die 192 hpe wies die geringste Gesamtwurzellänge auf. Die 0 und die 72 hpe Dunkelbehandlung wiesen keine signifikanten Unterschiede zu den anderen Behandlungen auf. Bei der Mutante gab es zwischen der 48 hpe Dunkelbehandlung und der 192 hpe Behandlung eine signifikante Abweichung. Die 48 hpe Behandlung wies dabei die geringere Gesamtwurzellänge auf. Die restlichen Dunkelbehandlungen wiesen keine signifikanten Abweichungen auf. Beim Vergleich der Mutante mit dem Wildtyp gab es bis auf der 48 und der 144 hpe Dunkelbehandlungen überall signifikante Unterschiede. Dabei wies die Mutante die höhere Gesamtwurzellänge auf.

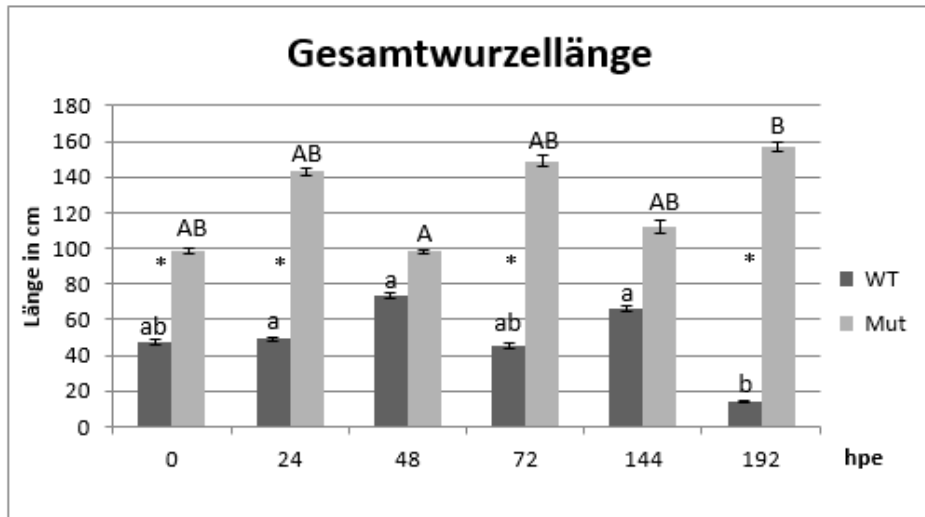


Abbildung 20: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Gesamtwurzellänge von der Mutante (Mut) und dem Wildtyp (WT) von DAD1. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*.

5.4 Einfluss einer temporären warm-Dunkelbehandlung auf die AWB und den Kohlehydratgehalt von PDR1 Stecklingen

Bei der Bonitur der Mutante und des Wildtyps von PDR1 nach 10 Tagen war zu erkennen, dass der Wildtyp eine signifikant höhere Wurzellänge (siehe Abb. 22) aufwies. Beim Vergleich der verschiedenen Dunkelvarianten gab es keine signifikanten Abweichungen. Bei der Mutante gab es ebenfalls keine signifikanten Veränderungen in der Wurzellänge.

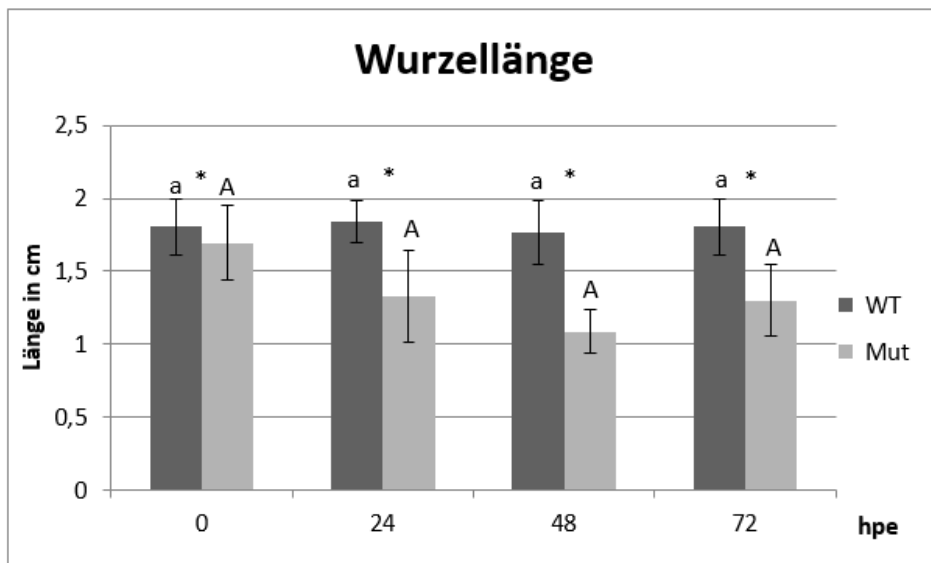


Abbildung 21: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Wurzellänge von der Mutante (Mut) und dem Wildtyp (WT) von PDR1. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*.

Bei der Wurzelanzahl (siehe Abb. 23) wies der Wildtyp ebenfalls bei allen Dunkelvarianten eine signifikant höhere Wurzelanzahl als die Mutante auf. Beim Vergleich der verschiedenen Dunkelvarianten im Wildtyp gab es keine signifikanten Veränderungen. Wie beim Wildtyp wies auch die Mutante beim Vergleich der verschiedenen Varianten keine signifikanten Abweichungen auf.

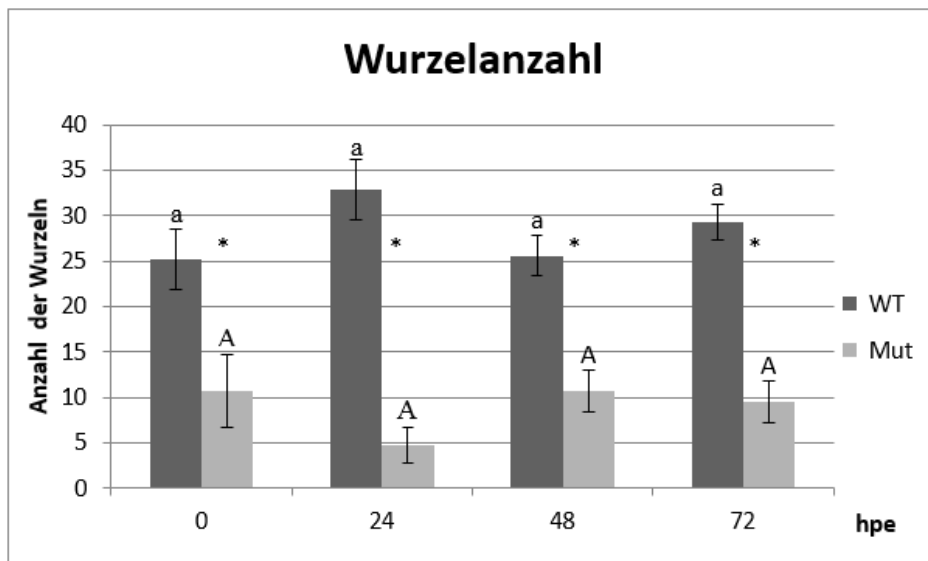


Abbildung 22: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Wurzelanzahl von der Mutante (Mut) und dem Wildtyp (WT) von PDR1. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*.

Bei der Gesamtwurzellänge (siehe Abb. 24) gab es beim Wildtyp bei den verschiedenen Dunkelvarianten keine signifikanten Veränderungen. Die Mutante wies ebenfalls keine signifikanten Abweichungen auf. Beim Vergleich der Mutante mit dem Wildtyp wies der Wildtyp bei allen Dunkelvarianten eine signifikant höhere Gesamtwurzellänge auf.

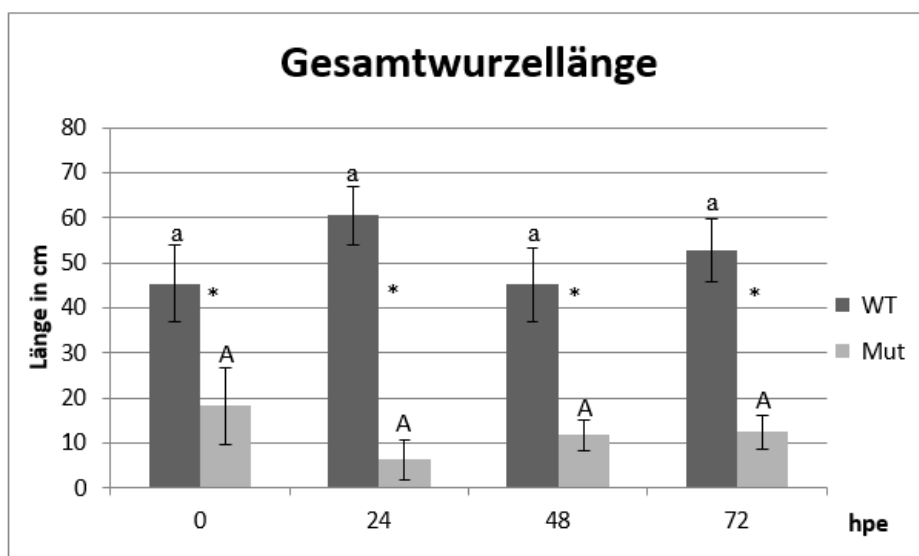


Abbildung 23: Einfluss einer kurzzeitigen Dunkelbehandlung auf die Gesamtwurzellänge von der Mutante (Mut) und dem Wildtyp (WT) von PDR1. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*.

Bei der Kohlenhydratanalyse wurden die löslichen Zucker Glucose, Fructose und Saccharose bestimmt. Das Diagramm (siehe Abb. 25) stellt den Kohlenhydratgehalt im

Blatt und Spross nach den jeweiligen Dunkelbehandlungen (0, 24, 48 und 72 hpe) dar. Im Diagramm wird der Wildtyp mit der Mutante verglichen. Es ist zu erkennen, dass sowohl im Blatt als auch im Spross der Fructosegehalt im Wildtyp von den drei gemessenen Kohlenhydraten am höchsten ist.

In Blatt (siehe Abb. 25a) gab es beim Wildtyp zwischen den unbehandelten und den 24 hpe in Dunkelheit gelagerten Stecklinge einen signifikanten Unterschied. Die dunkelgelagerten Stecklinge wiesen dabei einen deutlich niedrigeren Glucosegehalt auf. Die 48 hpe Dunkelbehandlung wies keinen signifikanten Unterschied zu den unbehandelten und den 24 hpe dunkelbehandelten Stecklingen auf. Die 72 hpe Dunkelbehandlung wies den geringsten Glucosegehalt auf und war dabei signifikant niedriger als alle anderen Varianten (0, 24 und 48 hpe).

Bei der Mutante (siehe Abb. 25a) hingegen sank der Glucosegehalt zwischen den unbehandelten und den 24 hpe in Dunkelheit gelagerten Stecklinge nicht signifikant ab. Die Dunkelbehandlungen 0 und 48 hpe wiesen eine signifikante Abweichung auf. Die 48 hpe Dunkelbehandlung wies dabei einen signifikant geringeren Wert auf. Die Dunkelbehandlungen 48 und 72 hpe wiesen keine signifikante Abweichung auf. Zwischen der Mutante und dem Wildtyp gab es sowohl bei den unbehandelten Stecklingen als auch bei den Stecklingen die eine 48 hpe Dunkelbehandlung hatten einen signifikanten Unterschied.

Der Fructosegehalt (siehe Abb. 25b) sank im Wildtyp zwischen den unbehandelten Stecklingen (Kontrollstecklinge) und den 24 hpe dunkelbehandelten Stecklingen signifikant ab. Die 48 hpe Dunkelbehandlung wies keinen signifikanten Unterschied zu den unbehandelten und den 24 hpe dunkelbehandelten Stecklingen auf. Den geringsten Fructosegehalt wies die 72 hpe Dunkelbehandlung auf. Diese war signifikant niedriger als alle anderen Varianten (0, 24 und 48 hpe). Bei der Mutante (siehe Abb. 25b) gab es im Fructosegehalt im gemessenen Zeitraum keine signifikanten Unterschiede. Beim Vergleich des Wildtyps mit der Mutante, gab es keine signifikanten Unterschiede.

Der gemessene Saccharosegehalt (siehe Abb. 25c und f) war sowohl im Wildtyp als auch in der Mutante deutlich niedriger als der gemessene Glucose- und Fructosegehalt im Blatt. Beim Wildtyp und der Mutante war der Saccharosegehalt zwischen den unbehandelten und den 24 hpe dunkelbehandelten Stecklingen um mehr als die Hälfte

reduziert. Die 48 hpe Dunkelbehandlung wies keinen signifikanten Unterschied zu den unbehandelten und den 24 hpe dunkelbehandelten Stecklingen auf. Die 72 hpe Dunkelbehandlung wies keinen signifikanten Unterschied zu den 24 und den 48 hpe Dunkelbehandlungen auf.

Bei der Mutante (siehe Abb. 25c und f) sank der Saccharosegehalt zwischen den unbehandelten und den 24 hpe dunkelgelagerten Stecklinge signifikant ab. Anschließend gab es keine weiteren (48 und 72 hpe) signifikanten Veränderungen. Zwischen der Mutante und dem Wildtyp gab keine signifikanten Unterschiede.

Im Spross (Wildtyp) war der Glucosegehalt (siehe Abb. 25d) von den unbehandelten Stecklingen ca. drei Mal höher als bei den 24 hpe dunkelbehandelten Stecklingen. Einen weiteren signifikanten Unterschied wies die 72 hpe Dunkelbehandlung zu den 24 und 48 hpe Dunkelbehandlungen auf. Die 48 hpe Dunkelbehandlung wies dabei den signifikant geringeren Glucosegehalt auf. Alle Dunkelbehandlungen (24, 48 und 72 hpe) wiesen einen signifikant geringeren Wert als die unbehandelten Stecklinge auf.

Bei der Mutante (siehe Abb. 25d) wiesen die unbehandelten Stecklinge sowie die 24 und 48 hpe Dunkelbehandlungen keine signifikanten Veränderungen auf. Die 72 hpe Dunkelbehandlung wies einen signifikant niedrigeren Glucosegehalt auf als die 0, 24 und 48 hpe Dunkelbehandlungen. Beim Vergleich der Mutante mit dem Wildtyp gab bis auf die 48 hpe Dunkelbehandlung in allen anderen Varianten (0, 24 und 72 hpe) einen signifikanten Unterschied.

Der Fructosegehalt (siehe Abb. 25e) beim Wildtyp war bei den unbehandelten Stecklingen ca. 3 Mal so hoch wie bei den 24 hpe dunkelbehandelten Stecklingen. Die Dunkelbehandlung 48 hpe wies keine signifikanten Abweichungen zu den Dunkelbehandlungen 24 und 72 hpe auf. Die 24 und 72 hpe Dunkelbehandlungen wiesen einen signifikanten Unterschied auf. Die 72 hpe wies im Spross den niedrigsten Fructosegehalt auf.

Bei der Mutante (siehe Abb. 25e) wies die Dunkelbehandlung 24 hpe keine signifikanten Unterschiede zu den anderen Varianten (0, 48 und 72 hpe auf) auf. Die restlichen Varianten (0, 48 und 72 hpe auf) waren untereinander signifikant. Der Vergleich der Mutante mit dem Wildtyp ergab einen signifikanten Unterschied

zwischen den 24 und 48 hpe Dunkelbehandlungen sowie den unbehandelten Stecklingen.

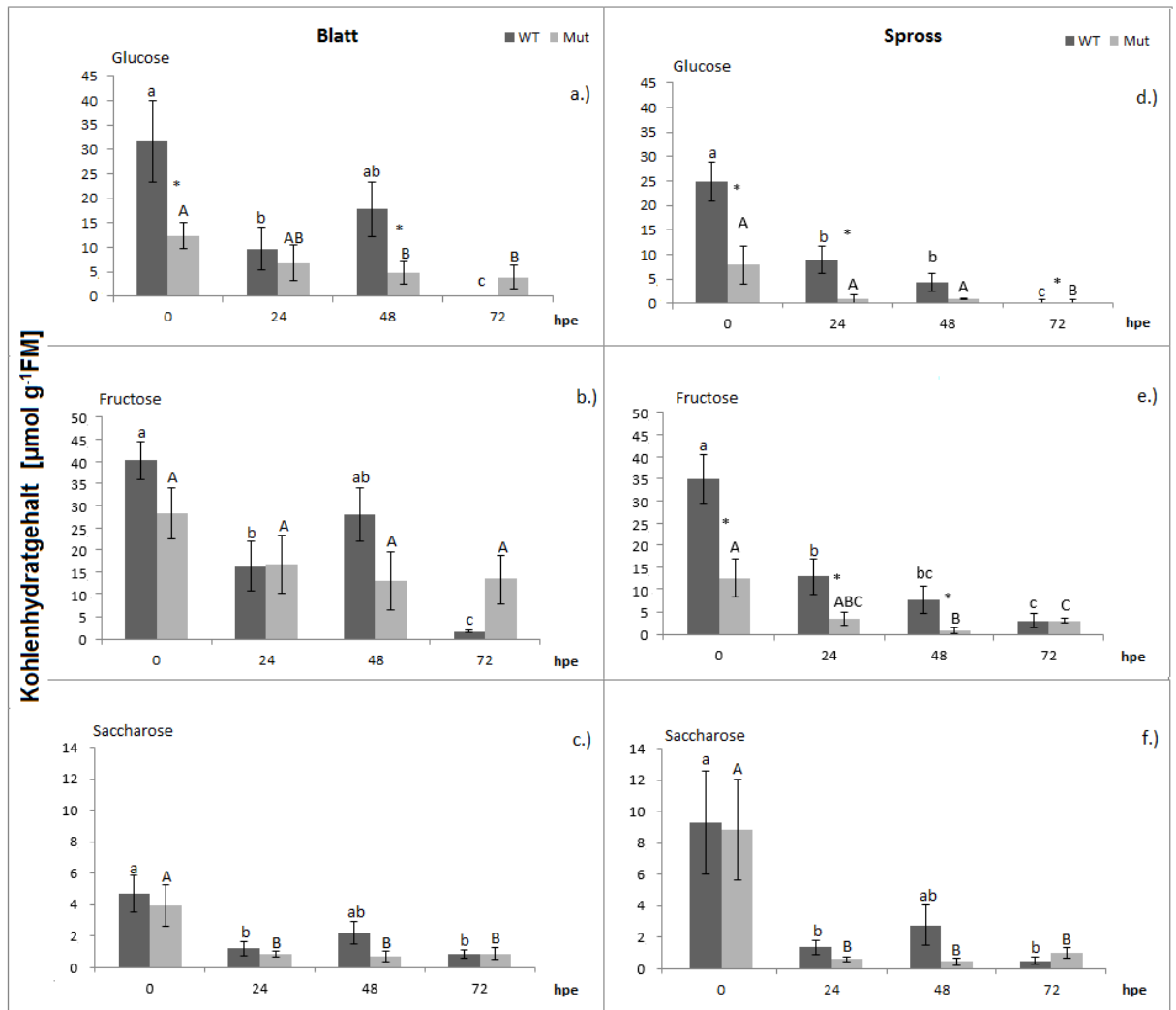


Abbildung 24: Einfluss kurzzeitiger Dunkelbehandlungen auf den Kohlenhydratgehalt von der Mutante (Mut) und dem Wildtyp (WT) von PDR1. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*.

Das Diagramm (siehe Abb. 26) vergleicht die unbehandelten Stecklinge mit den Stecklingen die 24 hpe in Dunkelheit (D1) standen. In diesem Diagramm werden die Kohlenhydrate, Glucose, Fructose und Saccharose im Blatt sowohl von der Mutante als auch vom Wildtyp dargestellt. Beim der Mutante und dem Wildtyp gab es im Glucosegehalt (siehe Abb. 6a) bei den unbehandelten Stecklingen keine signifikanten Veränderungen im untersuchten Zeitraum von 0 bis 48 hpe/hpd (*hours post excision* / *hours post darkness*). Ebenso verhielt es sich mit dem Glucose- und Fructosegehalt (siehe Abb. 26 d und e) im Spross.

Der Fructose- und Saccharosegehalt im Blatt (siehe Abb. 26e und f) blieb bei den unbehandelten Stecklingen während des Versuches annähernd konstant (ohne signifikante Veränderungen). Bei den dunkelgelagerten Stecklingen kam es zu einem signifikanten Abstieg zwischen 0 und 48 hpd. Die 24 hpd Stecklinge wiesen sowohl zu der 0 hpd als auch zu der 48 hpd Behandlungen keine signifikante Abweichung auf.

Der Saccharosegehalt (siehe Abb. 26f) im Spross (Wildtyp) stieg bei den behandelten Stecklingen zwischen den gemessenen Zeitpunkten 0 und 24 hpd signifikant an. Anschließend kam es zu keiner weiteren signifikanten Veränderung. Bei der Mutante gab es im untersuchten Zeitraum keine signifikanten Veränderungen.

Beim Vergleich der Mutante mit dem Wildtyp gab es in den gemessenen Kohlenhydraten im Blatt nur zwischen 0 hpe/hpd einen signifikanten Unterschied. Ebenso verhielt es sich mit dem Saccharosegehalt im Spross. Der Glucosegehalt bei der Mutante wies keine signifikanten Abweichungen beim Vergleich der Mutante mit dem Wildtyp auf. Der Fructosegehalt im Blatt bei der Mutante wies zwischen den 24 hpe/hpd Behandlungen einen signifikanten Unterschied auf.

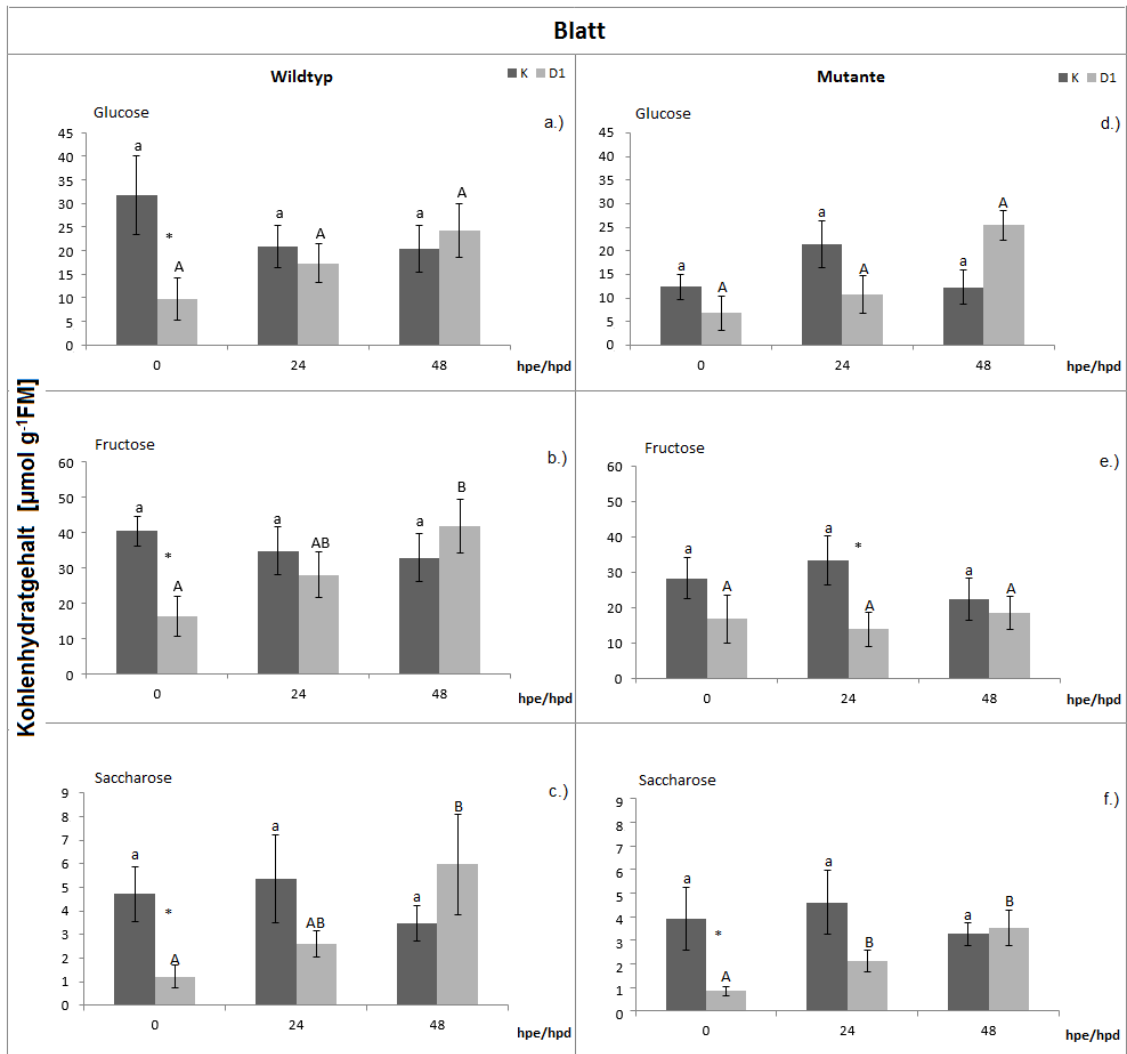


Abbildung 25: Der Einfluss einer 24 hpe Dunkelbehandlung auf den Kohlenhydratgehalt im Blatt von der Mutante und dem Wildtyp von PDR1. Die 24 hpe Dunkelbehandlung (D1) wird dabei mit den Kontrollstecklingen (K) verglichen. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzungen hpe und hpd steht für *hours post excision* und *hours post darkness*.

In der Abbildung 27 werden die unbehandelten mit den 24 hpe (*hours post excision*) dunkelbehandelten Stecklingen verglichen. Dabei werden die Kohlenhydrate Glucose, Fructose und Saccharose dargestellt die im Spross vorhanden waren. Beim Wildtyp sinkt der Glucose- und Fructosegehalt (Abb. 27 a und b) bei den unbehandelten Stecklingen zwischen den Zeitpunkten 0 und 24 hpe signifikant ab. Der Glucose- und Fructosegehalt ist zum Zeitpunkt 0 hpe ca. drei Mal höher als zum Zeitpunkt 24 hpe. Bei beiden Kohlenhydraten gab es anschließend keine weiteren signifikanten Veränderungen. Bei den 24 hpe Dunkelbehandelten Stecklingen gab es im Glucose- und Fructosegehalt des Wildtyps sowie im Fructosegehalt der Mutante (siehe Abb. 27e) im untersuchten

Zeitraum keine signifikanten Veränderungen. Beim Fructosegehalt der Mutante gab es ebenfalls bei den unbehandelten Stecklingen keine signifikante Veränderung im untersuchten Zeitraum.

Der Saccharosegehalt beim Wildtyp (siehe Abb. 27c) sowie der Glucose- und Fructosegehalt (siehe Abb. 27 d und e) der Mutante wiesen in den Kontrollstecklingen keine signifikanten Veränderungen auf. Bei den 24 hpe dunkelbehandelten Stecklingen gab es nur zum Zeitpunkt 48 hpe/hpd (*hours post excision /hours post darkness*) einen signifikanten Anstieg. Vor diesem Zeitpunkt gab es keine signifikanten Veränderungen.

Der Glucosegehalt der Mutante (siehe Abb. 27d) wies bei den Kontrollstecklingen keine signifikanten Veränderungen auf. Bei den 24 hpe dunkelgelagerten Stecklingen kam es zu einem signifikanten Anstieg bei 24 hpd. Anschließend kam es im gemessenen Zeitraum zu keiner weiteren signifikanten Veränderung.

Der Saccharosegehalt der Mutante wies zum Zeitpunkt 0 hpe/hpd in den Kontrollstecklingen keine signifikante Abweichung zu den anderen gemessenen Zeitpunkten (24 und 48 hpe/hpd) auf. Die gemessenen Zeit 24 und 48 hpe/hpd wiesen einen signifikanten Unterschied auf. Bei den 24 hpe dunkelgelagerten Stecklingen kam es im untersuchten Zeitraum zu einer signifikanten Steigung.

Beim Vergleich der Kontrollstecklinge mit den 24 hpe dunkelbehandelten Stecklingen gab es in der Abbildung 27 a-c nur zum Zeitpunkt 0 hpe/hpd einen signifikanten Unterschied. Bei den Abbildungen 27 d und e gab es beim Vergleich der beiden Varianten keine signifikanten Unterschiede. Beim Saccharosegehalt der Mutante gab es zum Zeitpunkt 0 hpe/hpd und zum Zeitpunkt 24 hpe/hpd einen signifikanten Unterschied.

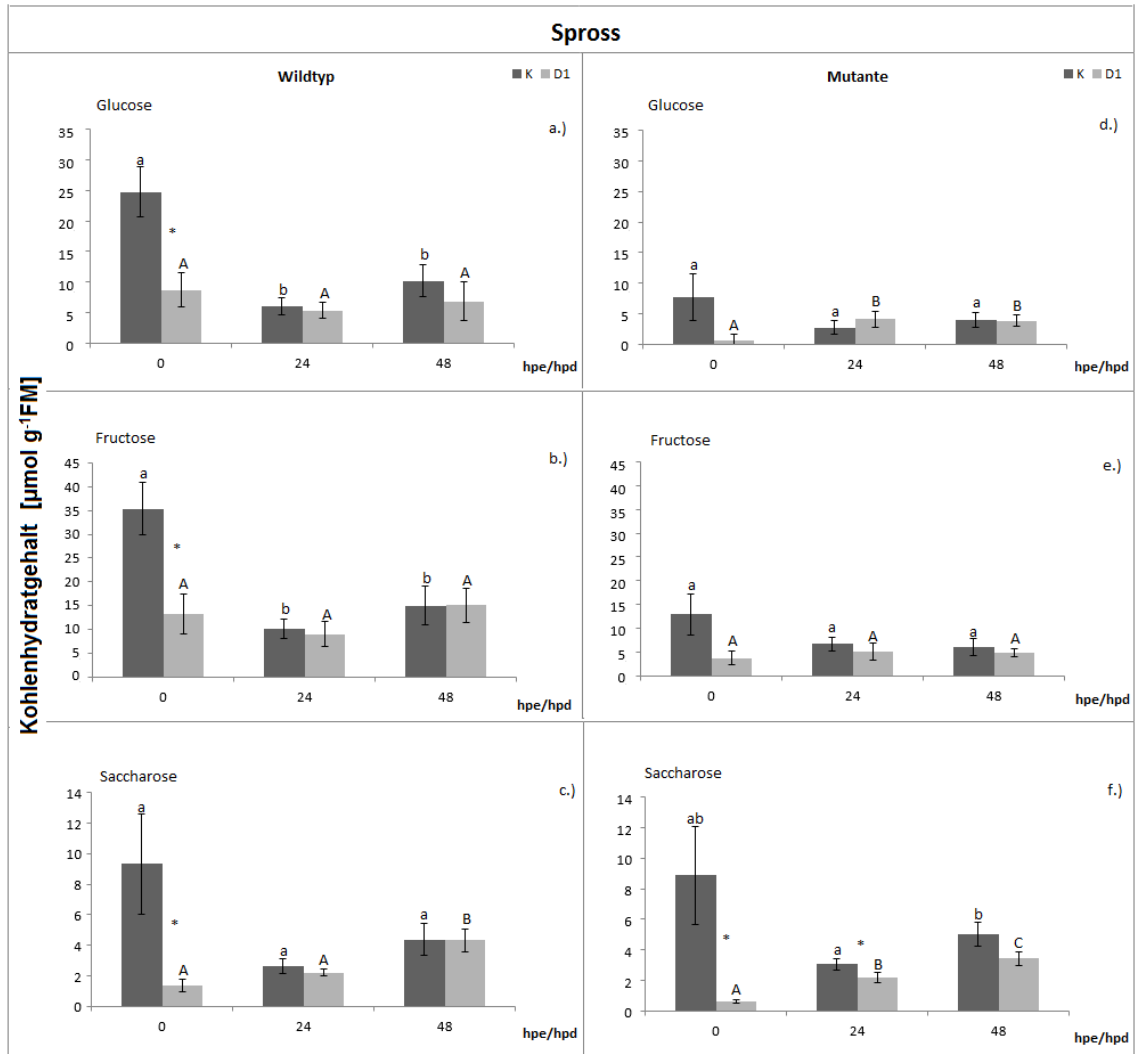


Abbildung 26: Der Einfluss einer 24 hpe Dunkelbehandlung auf den Kohlenhydratgehalt im Spross von der Mutante und dem Wildtyp von PDR1. Die 24 hpe Dunkelbehandlung (D1) wird dabei mit den Kontrollstecklingen (K) verglichen. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzungen hpe und hpd steht für *hours post excision* und *hours post darkness*.

Im Diagramm 28 wird der Kohlenhydratgehalt der unbehandelten Stecklinge (Kontrollstecklinge) von der Mutante und dem Wildtyp gegenübergestellt. Der Glucose- und Fructosegehalt in Blatt (Siehe Abb. 28 a und b) wies sowohl bei der Mutante als auch beim Wildtyp keine signifikanten Veränderungen im untersuchten Zeitraum auf.

Der Saccharosegehalt des Blattes und im Spross (siehe Abb. 28 c und f) wies im Wildtyps eine signifikante Abweichung zwischen den 24 und 72 hpe auf. Die restlichen Stecklinge (0 und 48) wiesen keinerlei Abweichungen zu den beiden Behandlungen (24 und 72 hpe) auf. Die Stecklinge der Mutante wiesen im Blatt (Saccharose) sowie im Glucose- und Fructosegehalt des Sprosses (siehe Abb. 28 d und e) keinerlei signifikante

Veränderungen auf. Beim Glucosegehalt im Wildtyp (Spross) wiesen die 24 und 48 hpe dunkelbehandelten Stecklinge signifikante niedrigere Werte als die unbehandelten Stecklinge (0 hpe) auf. Die 72 hpe Dunkelbehandlung wies nur zu der 24 hpe Dunkelbehandlung eine signifikant höheren Wert auf.

Beim Fructosegehalt (siehe Abb. 28 e) im Wildtyp gab es zwischen den Dunkelbehandlungen 0, 24 und 72 hpe einen signifikanten Unterschied. Dabei wiesen die unbehandelten Stecklinge den höchsten Fructosegehalt auf. Die 48 hpe Dunkelbehandlung war nur gegenüber den unbehandelten Stecklingen signifikant (niedriger).

Im Saccharosegehalt der Mutante (siehe Abb. 28 f) wiesen die unbehandelten Stecklinge eine signifikant höheren Wert als die 72 hpe/hpd dunkle behandelten Stecklinge auf. Des Weiteren gab es einen signifikanten Unterschied zwischen den Dunkelbehandlungen 24 und 48 hpe/hpd. Die 48 hpe/hpd Dunkelbehandlung wies dabei den signifikant höheren Wert auf. Die Dunkelbehandlungen 24 und 48 hpe/hpd wiesen allerdings keine signifikante Abweichung zu den unbehandelten Stecklingen sowie den 72 hpe/hpd dunkelbehandelten Stecklingen auf.

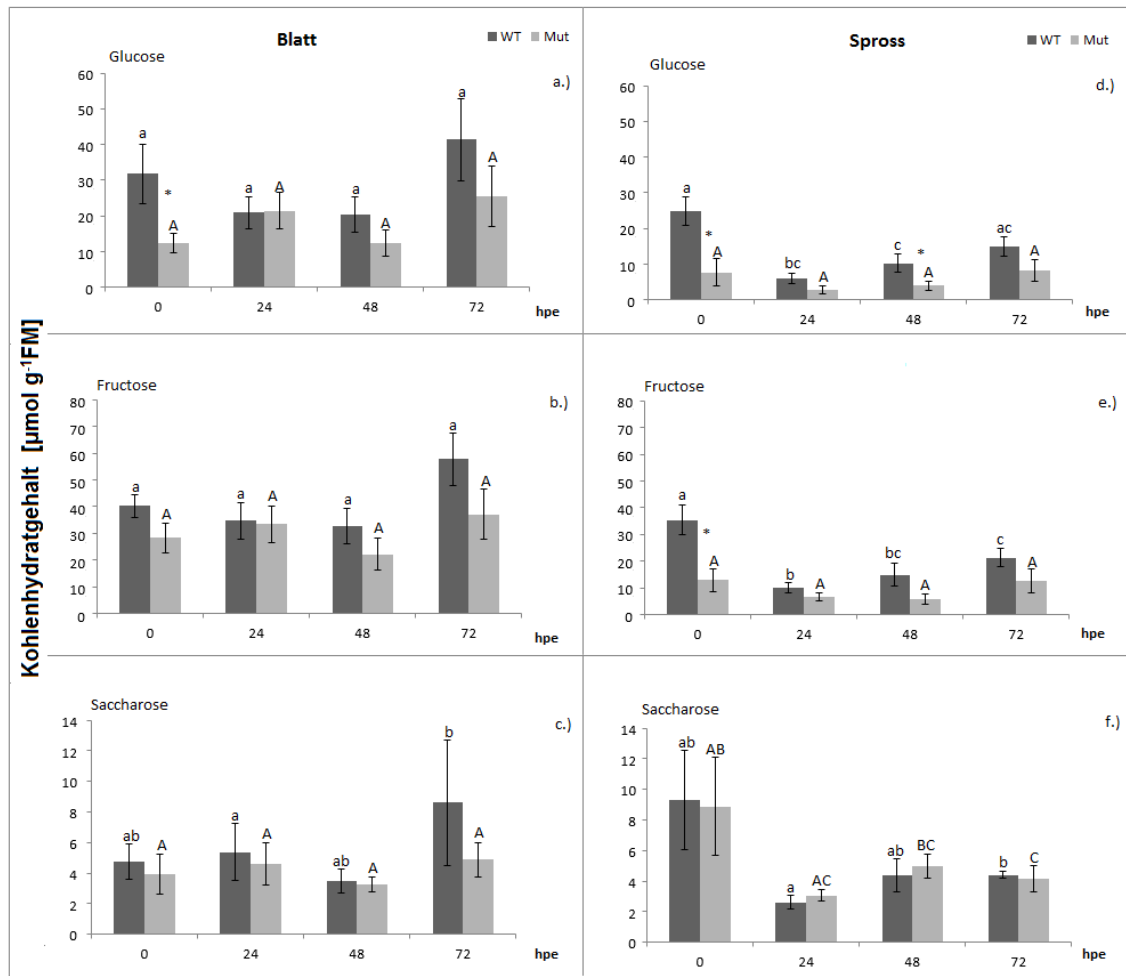


Abbildung 27: Gegenüberstellung des Kohlenhydratgehaltes der unbehandelten Mutanten und Wildtyp Stecklinge. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede zum jeweiligen Zeitpunkt ($p \leq 0,05$). Groß- und Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Behandlung ($p \leq 0,05$) an. Die Abkürzung hpe steht für *hours post excision*.

6 Diskussion

6.1 Der Einfluss von unterschiedlichen Saccharosekonzentrationen auf die AWB

Um den Einfluss unterschiedlicher Saccharosekonzentrationen auf die AWB von Petunienstecklingen zu testen, wurden unterschiedliche Saccharosekonzentrationen dem Wachstumsmedium zugesetzt. Bei diesem Vorversuch ging es darum herauszufinden, bei welcher Saccharosekonzentration die Mutterpflanzen am besten wachsen, sowie die geeignete Konzentration zu bestimmen, bei der die nachfolgenden Versuche durchgeführt wurden.

Saccharose ist eine sehr wichtige Komponente in *in-vitro* Kulturmedien [Faria et al., 2004]. Kohlenhydrate werden den *in-vitro* Kultivierungsmedien zugesetzt, da es bei *in-vitro* Bedingungen zu einem Lichtenergiemangel und einer verringerten CO₂-Konzentration kommt [Tombolato und Costa, 1998; Rittirat et al., 2012]. Pflanzen zeigen unter *in-vitro* Bedingungen oft eine verringerte Fotosyntheserate und eine unvollständige Autotrophie [Faria et al., 2004].

Bei Rosen und dem Amerikanischen Amberbaum (*Liquidambar styraciflua*) hat man festgestellt, dass es einen Zusammenhang zwischen der Saccharosekonzentration und der CO₂ Aufnahme gibt. Dabei stellte man fest, dass je höher die Saccharosekonzentration ist, desto geringer ist die CO₂ Aufnahme [Capellades et al., 1990; Lee et al., 1985].

Bei der Bonitur nach 11 Tagen (siehe Abb. 9) zeigte sich, dass eine Saccharosekonzentration von 0 g/l, 5 g/l und 30 g/l einen positiven Einfluss auf die Wurzellänge besitzen. Die 20 g/l Saccharose hingegen hat eher einen negativen Effekt auf die AWB.

Wenn man dieses Ergebnis im Zusammenhang mit der Wurzelanzahl (siehe Abb. 11) untersucht, sind die geeigneten Konzentrationen an Saccharose 0 und 30 g/l (signifikant höchste Wurzelanzahl). Die restlichen Konzentrationen (5, 10 und 20 g/l) wiesen signifikant niedrigere Wurzelanzahlen auf. Die Ergebnisse der Gesamtwurzellänge

unterstützen die Ergebnisse der Wurzelanzahl, da auch bei der Gesamtwurzellänge die 0 und die 30 g/l Saccharose Behandlungen die besten Ergebnisse hervorriefen.

Demnach sind für die *in-vitro* Kultivierung von Petunien die Saccharosekonzentration 0 g/l und 30 g/l am besten geeignet. Für den Prozess der AWB wird Energie benötigt. Diese kann entweder durch die Fotosynthese produziert oder exogen zugeführt werden. Saccharose dient als Energiequelle für die Differenzierung von Geweben und kann so die Induktion der Organdifferenzierung beeinflussen [Faria et al., 2004]. In Bezug auf diesen Hintergrund ist es am Effektivsten für den Prozess der AWB Zucker bereitzustellen. Demnach und auf Grund von langfristigen Untersuchungen (Petunienstecklinge ohne Saccharose waren nach längerer (ca. 3 Monate) Kultivierung sehr leicht brüchig) wurde für den Aufbau der Mutterpflanzen eine Saccharosekonzentration von 30 g/l gewählt.

Für die nachfolgenden Versuche sollten Kohlehydratanalysen durchgeführt werden. Um die Ergebnisse der Kohlehydratanalysen nicht zu beeinflussen und da die 0 g/l Saccharosebehandlung einen positiven Effekt auf die AWB besitzt, wurde für Versuche das Kultivierungsmedium ohne Saccharose verwendet.

6.2 Einfluss einer warm- Dunkelbehandlung auf die AWB und den Kohlehydratgehalt von *Petunia × hybrida* 'Mitchell' Stecklingen

6.2.1 Eine kurzzeitige warm - Dunkelbehandlung hat einen positiven Effekt auf die AWB

Der Einfluss einer temporären warm-Dunkelbehandlung auf die Adventivwurzelbildung von Petunienstecklingen wurde unter Anwendung unterschiedlich langer Dunkelphasen (24, 48, 72 h) untersucht. Sowohl die unbehandelten also auch die behandelten Stecklinge hatten dabei eine Versuchszeit von 10 Tagen. Die behandelten Stecklinge hatten im Gegensatz zu den Kontrollstecklingen eine verkürzte Lichtphase von 9,8 und 7 Tagen.

Während des Versuches traten bei den behandelten Stecklingen keine phänotypischen Veränderungen (wie z.B. gelber Blätter) auf. Es wird angenommen, dass es während der Dunkelphase zu einer gesteigerten Respirationsrate kommt. Dies hat zur Folge, dass es zu einem erhöhten Kohlenstoff- und Wasserverbrauch kommt [Amthor, 1989]. Beim Vergleich der Unbehandelten mit den behandelten Stecklingen zeigte sich, dass eine 24 und 48 hpe Dunkelbehandlung einen positiven Effekt auf die Wurzelanzahl und -länge besitzt. Eine längere warme-Dunkelbehandlung sorgt für einen Abfall in der Wurzelanzahl und Wurzellänge. Die 72 hpe Dunkelbehandlung besaß ein ähnliches Bewurzelungsniveau wie die Kontrollstecklinge.

Aus den Ergebnissen lässt sich schließen, dass die Warm-Dunkelbehandlung einen positiven Effekt auf die AWB hat (siehe Abb. 13-15). Diese scheint aber auf eine Lagerzeit von 24 bis 48 hpe beschränkt zu sein. Klopotek et al. (2010) stellte bei *Petunia hybrida* 'Mitchell' Stecklingen fest, dass es keine Unterschiede in der Bewurzelung einer Dunkelbehandlung von 10 °C und 20 °C gibt. Die Stecklinge für den Versuch von Klopotek et al. (2010) wurden 7 Tage in Dunkelheit bei 10°C oder 20°C gehalten und anschließend fand nach 9 Tagen im Licht eine Wurzelbonitur statt. Dies lässt vermuten, dass nicht die Temperatur ausschlaggebend für eine beschleunigte Bewurzelung ist, sondern dass in erster Linie die Dunkelheit entscheidend ist. Bei dem Versuch von Klopotek et al. (2010) kam man zu der Erkenntnis, dass es bei einer Dunkelbehandlung bei 20 °C zu phänotypischen Veränderungen wie feine dünne

Wurzeln und gelbe Blätter kommt. Dies konnte in dem vorliegenden Versuch nicht bestätigt werden. Das lässt vermuten, dass diese phänotypischen Veränderungen nur bei einer längeren warm-Dunkelbehandlung vorliegen. Zusammengefasst lässt sich sagen, dass eine kurzweilige Warm-Dunkelbehandlung einen positiven Effekt auf die ABW hat. Eine warm-Dunkelbehandlung über 48 hpe scheint hingegen einen negativen Effekt zu besitzen.

6.2.2 Einfluss einer warm-Dunkelbehandlung auf den Kohlehydratgehalt

Bei der Bildung von Adventivwurzeln war man bisher der Meinung, dass vor allem Phytohormone eine entscheidende Rolle einnehmen [Visser et al., 1996]. Nach neueren Erkenntnissen ist man allerdings zu dem Schluss gekommen, dass auch Kohlehydrate bei der AWB mit beteiligt sind [Druege et al., 2004]. Die Hauptaufgabe der Kohlenhydrate ist dabei die Bereitstellung von Kohlenstoff-Skeletten und Energie in späteren (Initiation, Expression) Phasen der AWB [Gibson, 2005]. Des Weiteren wird vermutet, dass in früheren Phase (Induktion) der AWB die Kohlenhydrate eine regulierende Funktion in der Expression von Genen und auch als Signalmoleküle einnehmen [Koch, 1996; Gibson, 2005]. Vor allem Saccharose und Saccharose-abbauenden Enzyme scheinen an der Etablierung von neuen *Sink*-Gewebe und der Dedifferenzierung von Zellen beteiligt zu sein [Ahkami et al. 2009]. Für die Etablierung von neuen *Sink*-Gewebe werden die Photoassimilate aus den *Source*-Blättern in die *Sink*-Gewebe importiert. Dort sorgen die Photoassimilate für die Bereitstellung von Nährstoffen, um das Wachstum des *Sink*-Gewebes zu fördern [Sonnewald und Ebner, 1998; Rook und Bevan, 2003]. Die Saccharose wird im *Sink*-Gewebe entweder direkt in Hexosen gespalten und als direkte Kohlenstoffquelle verwendet oder als Energiespeicher in Stärke umgewandelt [Ahkami et al. 2009].

Der gemessene Kohlenstoffgehalt in den Blättern und dem Spross (siehe Abb. 17) stimmen mit dem beschriebenen Prozess überein. Anhand der Abbildung 17f ist zu erkennen, dass die Saccharose im Spross im Gegensatz zu den anderen Zuckern signifikant ansteigt. Der Anstieg der Saccharose konnte in den Kontrollstecklingen (Abb. 17f) nicht beobachtet werden. Bei diesen Stecklingen blieb der Saccharosegehalt konstant. Allerdings gab es beim Vergleich der Kontrolle mit den Dunkelbehandelten Stecklingen nur zum Zeitpunkt 0 hpe/hpd einen signifikanten Unterschied zwischen den

Behandlungen. Dies lässt den Schluss zu, dass bei den 24 h Dunkelbehandelten Stecklingen so schnell wie möglich mehr Saccharose aus den Blätter in den Spross transportiert wurde, um den Saccharosegehalt wieder auf ein bestimmtes Niveau zu heben [Veierskov et al., 1982; Haissig, 1984; Klopotek et al., 2012]. Allerdings ist kein Abfall des Saccharosegehaltes (Abb. 9c) im Blatt zu erkennen. Der Saccharosegehalt im Blatt bleibt nach 24 hpd konstant. Das lässt den Schluss zu, dass erst der Saccharosegehalt im Blatt wieder auf ein bestimmtes Niveau angehoben wurde bevor weitere Saccharose in den Spross transportiert wurde. Diese Annahme würde erklären, warum der Saccharosegehalt im Spross zwischen 0 und 48 hpd immer weiter anstieg.

6.2.3 Während einer warm-Dunkellagerung kommt es zur Verarmung von Kohlenhydraten

Aufgrund der durch die Dunkelheit verursachten Hemmung der lichtabhängigen Photosynthese können keine neuen Assimilate in den Blättern gebildet werden. Die ermittelten Daten (Abb. 16) zeigen, dass es während der Dunkellagerung zu einer Verarmung an Kohlenhydraten sowohl im Spross als auch in den Blättern kommt. Die Verarmung des Petunienstecklings an Kohlehydraten wurde bereits in einer Studie von Klopotek et al. (2010, 2012, 2016) festgestellt. Dieser Effekt wurde ebenfalls bei Studien mit Chrysanthemen und Pelargonien beobachtet [Druege et al., 2000 und 2004; Rapaka et al., 2007 und 2008].

Die Daten zeigen, dass es zu einem signifikanten Abbau von Glucose und Fructose nach 24 hpe kommt. Der Abfall von Glucose und Fructose findet sowohl in Blatt als auch im Spross statt. Dabei wird zuerst der Kohlehydratgehalt (Glucose und Fructose) im *Sink*-Gewebe abgebaut. Die Kohlenhydratverarmung (Glucose und Fructose) war im *Sink*-Gewebe des Petunienstecklings stärker ausgeprägt. Dies kann dadurch erklärt werden, dass nach dem Abschneiden des Petunienstecklings Energie benötigt wird um die Wunde zu verschließen. Die dafür benötigten Kohlenstoffgerüste werden aus der in der Nähe liegenden Quelle dem Spross verwendet.

Im Blatt stellt sich nach 24 hpe ein konstantes Level an Glucose und Fructose ein. Im Spross hingegen werden Glucose und Fructose weiter abgebaut. Zusätzlich dazu wird über den gesamt gemessenen Zeitraum auch Saccharose sowohl im Spross als auch im Blatt abgebaut. Der Abbau der Saccharose erfolgt allerdings langsam. Dies lässt sich

damit erklären, dass es beim Anschneiden des Stecklings von der Mutterpflanze zur Erhöhung des endogenen Gehalts an Jasmonsäure kommt. Der erhöhte Jasmonatlevel löst eine Expression spezifischer Gene aus. Als Folge davon erhöht sich der Gehalt an Zellwandinvertase [Roitsch und González, 2004]. Die Zellwandinvertase spaltet Saccharose in Hexosen. Die Versorgung des *Sink*-Gewebes wird hauptsächlich über Saccharose realisiert [Farrar et al., 1995; Sonnewald und Ebner, 1998]. Ahkami et al. (2009) berichteten, dass Saccharose kurz nach dem Abschneiden des Petunienstecklings von der Mutterpflanze von den Blättern aus in die Sprossbasis transportiert wird. Klopotek et al. (2016) stellte zusätzlich fest, dass eine Dunkellagerung einen fördernden Effekt auf den Transport von Saccharose besitzt. Da für den Prozess der AWB (Differenzierungen und des Wachstums von Zellen) sehr viel Energie benötigt wird, wird immer mehr Saccharose von den Blättern aus in den Spross transportiert. Dort wird die Saccharose gespalten und für den Prozess der AWB weiterverwertet [Stitt und Krapp, 1999]. Wie genau die Kohlenhydrate in den einzelnen Entwicklungsstadien bei der AWB eingreifen ist noch unbekannt.

6.2.4 Eine warme Dunkelbehandlung steigert die Verfügbarkeit von Kohlenhydraten in der Lichtphase

Nach der Überführung ins Licht (Abb. 17) kommt es im Blatt zu einem deutlichen Anstieg von Glucose, Fructose und Saccharose. Dies lässt darauf schließen, dass die Photosynthese wiedereingesetzt hat. Nach einiger Zeit pendelt sich der Kohlenhydratgehalt wieder auf ein ähnliches Niveau wie bei der Kontrolle ein.

Der Anstieg des Kohlenhydratlevels nach der Überführung ins Licht konnte schon bei Kiefern und Pelargonie sowie Petunienstecklingen beobachtet werden [Rapaka et al., 2007 und 2008; Ahkami et al., 2009; Klopotek, 2010]. Bei Petunienstecklingen war zu beobachten, dass es in der Stängelbasis mit einer zeitlichen Verzögerung zu einem Anstieg an Glucose und Fructose kam. Analysen haben dabei gezeigt, dass es in den Blättern zu einer Akkumulation von Kohlenhydraten kommt und sich diese Akkumulation bis in die Sprossbasis ausbreitet [Veierskov et al., 1982; Haissig, 1984]. Die Etablierung eines neuen *Sink*-Gewebes mit anschließender Auffüllung der Kohlenstoffreserven ist ein metabolisches Schlüsselereignis vor der Bildung von meristematischen Zellen [Klopotek et al. 2012].

Aus den Ergebnissen ist zu erkennen, dass im Spross der Gehalt an Glucose und Fructose (Abb. 17 d und e) nach der Überführung ins Licht weiter absinkt. Nur der Saccharosegehalt (Abb. 9f) beginnt nach der Überführung wieder zu steigen. Der Grund das Glucose und Fructose im Spross nach dem Anschalten von Licht trotzdem weiter absinkt lässt sich damit erklären, dass diese Kohlehydrate als Energiequelle für den Wachstums- und Differenzierungsprozess von Zellen benötigt wurden [Farrar et al., 1995]. Die Saccharose begann wieder zu steigen, da von den Blättern aus Saccharose ins *Sink*-Gewebe transportiert wurde [Farrar et al., 1995; Sonnewald und Ebner, 1998; Ahkami et al., 2009; Klopotek et al., 2016]. Das Absinken vom Glucose- und Fructosegehalt im Spross und den Anstieg von Saccharose (Spross) konnte bereits von Veierskov (1982) mit Erbsen (*Pisum sativum L. cv. Alaska*) und Haissig (1982 und 1984) mit der Banks-Kiefer (*Pinus banksiana Lamb*) beobachtet werden. In den beiden Studien kam es allerdings nach einiger Zeit zum Anstieg von Glucose und Fructose. Um diesen Effekt in diesem Versuch beobachten zu können, müsste die Kohlehydratanalyse noch weitere Tage durchgeführt werden.

Beim Vergleich der Kontrolle mit der Dunkelvariante 1 ist im Blatt zu erkennen, dass der Kohlenhydratgehalt bei der Dunkelvariante 1 signifikant niedriger ist als bei der Kontrolle. Daraus lässt sich schließen, dass in der Dunkelphase ein Teil des im Blatt vorhandenen Kohlenhydratgehalts verbraucht oder in den Spross transportiert wurden ist. Nach der Überführung ins Licht steigt der Kohlenhydratgehalt wieder an, was darauf schließen lässt, dass die Photosyntheseaktivität wieder angestiegen ist. Bei 72 hpe/hpd weisen die Kontrolle und die Dunkelvariante 1 wieder einen annähernd gleichen Kohlenhydratgehalt auf. Klopotek et al. (2012) stellt fest, dass nach dem Anschalten des Lichts die Photosyntheserate nicht erhöht ist. Dies lässt nur den Schluss zu, dass erst die Reserven im Blatt wieder aufgefüllt werden bevor weitere Kohlehydrate in den Spross transportiert werden.

Im Spross nimmt sowohl bei der Kontrolle, als auch bei der Dunkelvariante 1 der Glucose- und Fructosegehalt (Abb. 17 d und e) zwischen 0 und 24 hpe/hpd signifikant ab. Dabei gibt es keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Behandlungen. Zwischen 24 und 48 hpe/hpd scheint sich der Glucose- und Fructosegehalt auf ein gewisses Maß eingependelt zu haben. Der Gehalt an Glucose ist im Spross niedriger als

Fructose. Daraus lässt sich schließen, dass zuerst die Glucose aufgebraucht wird. Dies lässt sich damit begründen, dass Glucose als Signalmolekül für verschiedene Prozesse wie zum Beispiel für die Expression von bestimmten Genen und weitere Entwicklungsprozesse in Pflanzen beteiligt ist [Sheen et al., 1999].

Die Saccharose in der Dunkelvariante 1 (Abb. 17f) stieg im Gegensatz zu den anderen Kohlenhydraten signifikant an. Dies unterstützt die Aussage vom Vergleich der Dunkelbehandlungen, dass vom Blatt aus Saccharose in den Spross transportiert wird. Zu dieser Erkenntnis sind unter anderen auch Rook und Bevan (2003) sowie Sonnwald und Ebner (1998) gekommen. Diese stellten fest, dass Saccharose im *Sink*-Gewebe für die Bereitstellung von Nährstoffen sorgt, um damit das Wachstum des *Sink*-Gewebes zu garantieren. Bei den Kontrollstecklingen bleibt der Saccharosegehalt konstant. Da es bei den Kontrollstecklingen zu keiner Minimierung der Photosyntheseaktivität kam, wurde somit die Versorgung der *Sink*-Gewebe auch nicht unterbrochen oder minimiert.

6.3 Einfluss einer temporären warm-Dunkelbehandlung auf die AWB von DAD1 Stecklingen

6.3.1 Die Hemmung des Strigolacton Biosynthesegen DAD1 erhöht die AWB

Um den Einfluss von Strigolactonen auf eine temporär warm-Dunkelbehandlung unter Berücksichtigung der AWB zu untersuchen, wurden die Mutante und der Wildtyp von DAD1 unterschiedlich langer Dunkelphasen ausgesetzt. Sowohl die unbehandelten also auch die behandelten Stecklinge hatten dabei eine Versuchszeit von 13 Tagen.

Anhand der ermittelten Daten ist zu erkennen, dass Strigolactone einen negativen Einfluss auf die AWB besitzen. Vor allem bei der Wurzelanzahl (siehe Abb. 19) als auch bei der Gesamtwurzellänge (siehe Abb. 20) besitzt die Mutante, bis auf ein paar Ausnahmen, eine deutlich größere/höhere Wurzelanzahl und -länge. Bei den Ausnahmen (Wurzelanzahl bei 144 hpe und Gesamtwurzellänge bei 48 und 144 hpe) gibt es zwischen der Mutante und dem Wildtyp keine signifikanten Abweichungen.

Dass Strigolactone einen negativen Einfluss auf die AWB besitzen, zeigen auch Ergebnisse von Rasmussen et al. (2012) und Umehara et al. (2008). Rasmussen et al. (2012) stellte mit *Arabidopsis* und Reis Stecklingen fest, dass Strigolactone die Entwicklung vor oder während der ersten Abteilungen der Perizykel Zellen unterdrücken. Des Weiteren ist es möglich, dass die Strigolactone den Auxine Level im Perizykel negativ beeinflussen und dadurch die Initiation der AWB beeinflusst wird [Rasmussen et al., 2012]. Mit den ermittelten Daten konnte gezeigt werden, dass die Hemmung des SL Biosynthesegen DAD1 die AWB erhöht (siehe Abb. 18-20).

6.3.2 Eine warm-Dunkelbehandlung hat keinen Einfluss auf die Strigolacton Biosynthese Mutante und den Wildtyp

Aufgrund der Ergebnisse von Koltai et al. (2011) und Snowden et al. (2005) geht man zurzeit davon aus, dass Licht die Strigolacton Biosynthese-Gene CCD7 und CCD8 stimuliert. Bei Tomaten hat man festgestellt, dass die Expression des Strigolacton Biosynthese-Gen SLCCD7 Lichtabhängig ist [Koltai et al., 2011]. Für den Prozess der AWB geht man bisher davon aus, dass durch Licht die Strigolacton Biosynthese-Gene CCD7 und CCD8 stimuliert werden. Als Reaktion darauf kommt es zur Bildung des F-

Box Protein RMS4/MAX2. Vermutlich unterdrücken Strigolactone im Zusammenhang mit dem RMS4/MAX2 Protein die AWB. Diese stellt Rasmussen et al. (2012) mit *Arabidopsis* und Erbsen Pflanzen fest.

Die ermittelten Daten zeigen, dass bei der Wurzelanzahl (siehe Abb.19), bis auf die 144 hpe Dunkelbehandlung, die Mutante eine deutlich größere Wurzelanzahl aufwies. Bei der 144 hpe Dunkelbehandlung gab es zwischen der Mutante und dem Wildtyp keine signifikanten Abweichungen. Bei der Mutante gab es zwischen den verschiedenen Dunkelbehandlungen keine signifikanten Veränderungen. Demzufolge gab es zwischen der Kontrolle (0 hpe) und den unterschiedlichen Dunkelbehandlungen keine Veränderungen in der Wurzelanzahl. Dies lässt den Schluss zu, dass eine warm-Dunkelbehandlung keinen Einfluss auf die Mutante besitzt. Bei der verwendeten Mutante ist das DAD1 Gen deaktiviert, wodurch das Protein CCD nicht mehr gebildet werden kann und somit das 9-cis- β -apo-10'-carotinal nicht mehr in 9-cis- β -Carotin umgewandelt werden kann [Snowden et al., 2005]. Daher kann kein Strigolacton gebildet werden und somit die AWB durch das Strigolacton nicht gehemmt werden. Aus diesem Grund besitzt die Mutante eine deutlich höhere Wurzelanzahl.

Beim Wildtyp gab es ebenfalls keine signifikanten Veränderungen in der Wurzelanzahl (siehe Abb. 3) zwischen der Kontrolle (0 hpe) und den verschiedenen Dunkelvarianten. Dies lässt den Schluss zu, dass eine Warm-Dunkelbehandlung keinen positiven Einfluss auf die Wurzellänge des Wildtyps besitzt. Des Weiteren kann durch die Ergebnisse abgeleitet werden, dass es für die Strigolacton Biosynthese-Gene CCD7 und CCD8 noch weitere Stimulationsfaktoren gibt oder aber das eine längere Stimulationszeit benötigt wird. Bisher wurde durch Rasmussen et al. (2012) nur Licht als Stimulation der Strigolacton Biosynthese-Gene CCD7 und CCD8 angenommen. Welche Faktoren für die Stimulation der Gene verantwortlich sind konnte mit diesem Versuch nicht bestimmt werden.

Bei der Wurzellänge (siehe Abb. 18) sind im Wildtype ebenfalls keine signifikanten Veränderungen zwischen der Kontrolle (0 hpe) und den verschiedenen Dunkelvarianten zu erkennen. Dieses Ergebnis ist ebenfalls bei der Gesamtwurzellänge (siehe Abb. 20) zu erkennen. Die Ergebnisse unterstützen die Aussagen von der Wurzelanzahl.

Bei der Mutante hingeben (siehe Abb. 18) gibt es beim Vergleich der Kontrolle (0 hpe) mit den verschiedenen Dunkelvarianten signifikante Abweichungen. Die 48 und 192 hpe Dunkelbehandlungen wiesen signifikante Abweichungen zur Kontrolle auf. Dabei wies die 48 hpe Dunkelbehandlung eine geringere und die 192 hpe eine größere Wurzellänge als die Kontrolle auf. Dies könnte darauf hindeuten, dass eine längere (mindestens 192 hpe) Warm-Dunkelbehandlung einen positiven Einfluss auf die Wurzellänge besitzt. Eine Warm-Dunkelbehandlung bis 48 hpe scheint hingegen eher keine, wenn nicht sogar einen negativen Einfluss zu besitzen.

6.4 Einfluss einer temporären warm-Dunkelbehandlung auf die AWB und den Kohlehydratgehalt von PDR1 Stecklingen

6.4.1 Der PDR1 Transporter hat einen Einfluss auf die Wurzelanzahl und -länge

Um den Einfluss von Strigolactonen (SLs) auf eine temporäre warm-Dunkelbehandlung unter Berücksichtigung der AWB zu untersuchen, wurden die Mutante und der Wildtyp von PDR1 unterschiedlich langer Dunkelphasen ausgesetzt. Nach 10 Tagen wurde eine Wurzelbonitur vorgenommen.

Anhand der vorliegenden Diagramme (Abb. 22-24) ist zu erkennen, dass sowohl bei der Wurzelanzahl als auch bei der Wurzellänge der Wildtyp signifikant stärker bewurzelt ist als die Mutante. Daraus kann geschlossen werden, dass der deaktivierte ABC Transporter tatsächlich an dem SL Transport aus der Zelle beteiligt ist [Sasse et al., 2015]. Des Weiteren zeigen die Ergebnisse, dass die AWB bei der Mutante stärker gehemmt wird als die Stecklinge des Wildtyps.

SL werden im Spross und in den Wurzeln gebildet [Delaux et al., 2012]. SL können über das Xylem aus den Wurzeln in andere Teile der Pflanzen transportiert werden [Kohlen et al., 2011]. Bei der Mutante liegt ein Defekt in der Exsudation von Strigolactone vor [Kretschmar, 2009]. Die SL verbleiben somit in den Zellen. Durch eine Feedback-Regulierung wird die Strigolacton Konzentration in den Zellen auf einem bestimmten Maß gehalten [Arite et al., 2007]. Da die Strigolactone nicht aus den Spross in andere Bereiche des Stecklings transportiert werden können befindet sich im Spross der Mutante eine höhere Anzahl an SL. Da SL eine hemmende Wirkung auf die AWB besitzen [Rasmussen 2012] wird dementsprechend die AWB der Mutante stärker gehemmt.

Die Daten zeigen weiterhin, dass eine temporäre Dunkellagerung keinen Einfluss auf die Mutante und den Wildtyp besaßen. Es gab in dem untersuchten Zeitraum keine signifikanten Veränderungen in der Wurzelanzahl und -länge der Mutante und des Wildtyps. Da dieser Effekt sowohl bei der Mutante als auch beim Wildtyp auftritt scheint die Abwesenheit von Licht (bis 72 hpe) keinen Einfluss auf den PDR1 Transporter zu besitzen.

6.4.2 Temporäre Dunkelbehandlungen besitzen einen negativen Einfluss auf den Kohlenhydratgehalt der Mutante von PDR1

Die Daten in der Abbildung 25 zeigen, dass eine temporäre Dunkellagerung einen negativen Einfluss auf den Kohlenhydratgehalt der Mutante und des Wildtyps besitzt. Der höchste Kohlenhydratgehalt wurde jeweils (Mutante und Wildtyp) bei den unbehandelten Stecklingen gemessen. Wie bei den Ergebnissen der Untersuchungen mit *Petunia hybrida* 'Mitchell' (siehe Kapitel 6.2.3) kommt es im Wildtyp und der Mutante zu einer Verarmung an Kohlenhydraten während der Dunkelbehandlungen. Anhand der Daten ist zu erkennen, dass es im Blatt der Mutante (siehe Abb. 25 a-c) bei allen gemessenen Kohlenhydraten nur während der ersten 24 hpe zu einem Abfall des Kohlenhydratgehaltes kam. Anschließend blieb der Kohlenhydratgehalt konstant. Im Spross der Mutante sank der Glucose- und Fructosegehalt (siehe Abb. 25 d und e) nach 24 hpe Dunkellagerung signifikant weiter ab. Der Saccharosegehalt sank nur in den ersten 24 hpe signifikant ab und bleibt anschließend konstant. Da es während der Dunkellagerung zu einer Hemmung der lichtabhängigen Photosynthese kommt, können keine neuen Kohlenhydrate produziert werden. Bei *Petunia hybrida* 'Mitchell' konnte festgestellt werden, dass Saccharose kurz nach dem Abschneiden des Petunienstecklings von der Mutterpflanze vom Blatt aus in den Spross transportiert wurde [Ahkami et al., 2009].

Aus den Ergebnissen kann geschlussfolgert werden, dass bei der Mutante während der Dunkellagerung keine oder nur sehr geringe Mengen an Kohlenhydrate von den Blättern aus in den Spross transportiert wurden, da es nach 24 hpe weder zu einem Abfall des Saccharosegehaltes noch zu Senkung des Glucose- und Fructosegehaltes während der weiteren Dunkellagerung kam.

Beim Wildtyp hingegen kam es im Blatt nach 24 hpe Dunkellagerung zu einem Abfall an Glucose und Fructose. Der Saccharosegehalt blieb nach einem Abfall bei 24 hpe Dunkellagerung im weiteren untersuchten Zeitraum konstant. Mit dem Glucose- und Fructosegehalt wird der Saccharosegehalt im Blatt auf einem konstanten Level gehalten [Govindjee, 20102].

Beim Wildtyp hat eine 48 hpe Dunkelbehandlung keinen signifikanten Einfluss auf den Kohlenhydratgehalt im Blatt sowie den Saccharosegehalt im Spross. Hierbei liegt der Kohlenhydratgehalt auf dem selben Niveau wie der Kohlenhydratgehalt der

unbehandelten Stecklinge. Die Dunkelbehandlungen 24 und 72 hpe besaßen einen signifikant niedrigeren Kohlenhydratgehalt als die unbehandelten Stecklinge.

6.4.3 Der PDR1 Transporter hat einen Einfluss auf die Invertaseaktivität

Die Daten zeigen, dass im (siehe Abb. 26 a-c) Blatt des Wildtyps nur während des Zeitpunkts 0 hpe/hpd ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrolle und den 24 hpe dunkelgelagerten Stecklingen gab.

Während der Dunkellagerung kommt es zur Hemmung der lichtabhängigen Photosynthese, wodurch bei den 24 hpe dunkelgelagerten Stecklingen keine neuen Kohlenhydrate gebildet werden konnten. Demnach wurden die vorhandenen Kohlenhydrate während der Dunkellagerung aufgebraucht, ohne dass neue Kohlenhydrate produziert wurden. Daher kommt es beim Vergleich der Kontrollstecklinge mit den 24 hpe dunkelgelagerten Stecklingen zu einem signifikanten Unterschied zum Zeitpunkt 0 hpd/hpe zwischen den beiden Behandlungen. Nachdem die dunkelbehandelten Stecklinge Licht bekamen, stieg der Fructose- und Saccharosegehalt im Wildtyp signifikant an. Dieser Effekt wurde auch bei den *Petunia hybrida* 'Mitchell' beobachtet (siehe Kapitel 6.2.4). Der Anstieg des Kohlenhydratlevels nach der Überführung ins Licht konnte bereits bei Kiefern, Pelargonie sowie Petunienstecklingen beobachtet werden [Rapaka et al., 2007 und 2008; Ahkami et al., 2009; Klopotek, 2010].

Bei der Mutante hingegen gab es zum Zeitpunkt 0 hpe/hpd nur im Saccharosegehalt einen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrolle und den 24 hpe dunkelgelagerten Stecklingen. Des Weiteren gab es im Fructosegehalt zum Zeitpunkt 24 hpe/hpd einen signifikanten Unterschied beim Vergleich. Der Unterschied zum Zeitpunkt 0 hpe/hpd kann dadurch hervorgerufen werden, dass Saccharose für die Bereitstellung von Nährstoffen im *Sink*-Gewebe sorgt, um so das Wachstum des *Sink*-Gewebes zu garantieren [Rook und Bevan, 2003; Sonnewald und Ebner, 1998].

Bei der Mutante kam es im Glucose- und Fructosegehalt, nach dem die dunkelbehandelten Stecklinge wieder Licht bekamen, zu keiner signifikanten Veränderung. Der Saccharosegehalt fiel nach 0 hpe/hpd signifikant ab, blieb

anschließend im gemessenen Zeitraum allerdings konstant. Die 24 hpe Dunkellagerung hatte keinen Einfluss auf den Glucose- und Fructosegehalt der Mutante.

Anhand der Abbildung 27 a-c ist zu erkennen, dass es im Spross des Wildtyps nur zum Zeitpunkt 0 hpe/hpd einen signifikanten Unterschied zwischen den Kontrollstecklingen und den 24 hpe dunkelgelagerten Stecklingen gab. Dabei sank der Glucose- und Fructosegehalt der Kontrollstecklinge zwischen den Zeitpunkten 0 und 24 hpe/hpd signifikant ab und blieb anschließend konstant. Die 24 hpe dunkelgelagerten Stecklinge wiesen keine signifikanten Abweichungen im untersuchten Zeitraum im Glucose- und Fructosegehalt auf.

Der Glucose- und Fructosegehalt sank ab, da die Kohlenhydrate als Energiequelle für den Wachstums- und Differenzierungsprozess von Zellen benötigt wurden [Farrar et al., 1995]. Durch den Transport von Saccharose in das Sink-Gewebe [Farrar et al., 1995; Sonnewald und Ebnet, 1998; Ahkami et al., 2009; Klopotek et al., 2016] stieg der Saccharosegehalt im untersuchten Zeitraum (siehe Abb. 7 c) an.

Im Vergleich zu den Wildtypstecklingen wies die Mutante einen deutlich geringeren Glucose- und Fructosegehalt auf. Zwischen dem Saccharosegehalt der Mutante und dem Wildtyp gab es keinen großen Unterschied (nicht signifikant). Dies könnte darauf hindeuten, dass die Invertaseaktivität der Mutante eingeschränkt ist.

Im Spross der Mutante blieb bei den Kontrollstecklingen der Glucose- und Fructosegehalt im untersuchten Zeitraum konstant. Im Saccharosegehalt gab es nur zwischen den Zeitpunkten 24 und 48 h/hpd einen signifikanten Unterschied. Saccharose wurde im Spross durch die Invertase in Glucose und Fructose gespalten, um so Energie für die Zelldifferenzierung und das Wachstum von Zellen bereitzustellen [Farrar et al., 1995; Sonnewald und Ebnet, 1998]. Aus diesem Grund gibt es nur im Saccharosegehalt eine signifikante Veränderung. Dieser wird aber durch den Transport von Saccharose aus dem Blatt in den Spross immer wieder aufgefüllt [Ahkami et al., 2009].

Bei den 24 hpe dunkelgelagerten Stecklingen kam es nach der Zufuhr von Licht zu einem signifikanten Anstieg im Glucosegehalt. Da Glucose und auch Saccharose in

Pflanzen als Signalmolekül für Prozesse wie die Expression von bestimmten Genen fungiert [Sheen et al., 1999], wird der verbrauchte Gehalt an Glucose so schnell wie möglich wieder aufgefüllt. Der Gehalt an Fructose blieb im untersuchten Zeitraum konstant. Der Saccharosegehalt stieg während des Versuchs kontinuierlich an. Die Ursache ist wie beim Wildtyp der Transport von Saccharose aus dem Blatt in den Spross [Farrar et al., 1995; Sonnewald und Ebner, 1998; Ahkami et al., 2009; Klopotek et al., 2016].

Zusammengenommen scheint eine 24 hpe Dunkellagerung bei der Mutante (Blatt und Spross) keinen großen Einfluss auf den Glucose- und Fructosegehalt zu besitzen. Der Saccharosegehalt der Mutante scheint sich durch 24 hpe Dunkelbehandlung beeinflussen zu lassen, da es zu den Zeitpunkten 0 und 24 hpe/hpd einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle gibt.

6.4.4 Die Kontrollstecklinge der PDR1 Mutante besitzen einen signifikant niedrigeren Kohlehydratgehalt

Anhand der Daten (siehe Abb. 28) ist zu erkennen, dass die Kontrollstecklinge der Mutante einen deutlich (signifikant) niedrigeren Glucosegehalt im Blatt und Spross besitzen als die Kontrollstecklinge des Wildtyps. Des Weiteren ist der Fructosegehalt im Spross der Mutante signifikant niedriger als der Fructosegehalt (Spross) im Wildtyp. Der Saccharosegehalt wies keine signifikante Abweichung zwischen der Mutante und dem Wildtyp auf.

Die Mutante wies bis auf den Saccharosegehalt im Spross keine messbaren Unterschiede im Kohlehydratgehalt (Blatt und Spross) im untersuchten Zeitraum auf. Bisher ist bekannt, dass MAX2 eine regulierende Funktion bei der Signaltransduktion von Strigolactone einnimmt. MAX2 wird dabei in einer konzentrationsabhängigen Weise von Saccharose unterdrückt [Barbier et al., 2015; Borghi et al., 2016]. Ob Saccharose oder andere Kohlenhydrate mit Strigolactone in Interaktion treten ist bisher noch nicht bekannt. Allerdings weisen die nicht existenten Veränderungen im Kohlenhydratgehalt im Blatt und Spross im untersuchten Zeitraum darauf hin, dass die Abwesenheit des PDR1 Transporters nicht nur Auswirkungen auf die Strigolactone besitzen, sondern auch auf die Kohlenhydrate.

Anhand der Daten des Wildtyp (siehe Abb. 28) ist zu erkennen, dass es im Normalfall zu Veränderungen des Kohlehydratgehaltes während des Untersuchungszeitraums kommt. Ausnahmen dabei sind der Glucose- und Fructosegehalt im Blatt.

7 Ausblick

Die im Rahmen dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse belegen, dass die DAD1 Mutante einen positiven Effekt auf die AWB bei Petunien besitzt. Aufgrund des langsamen Wachstums dieser Pflanzen konnte bisher noch keine Kohlenhydratanalyse durchgeführt werden. Der nächste Schritt sollte also eine Kohlenhydratanalyse mit den Parametern der Wurzelbonitur sein.

Des Weiteren konnte bei dem Versuch mit der PDR1 Mutante festgestellt werden, dass es zu einer Interaktion zwischen Strigolactone und Saccharose kommt. Wie diese Interaktion genau aussieht, ist bisher noch nicht bekannt. Calamar und De Klerk (2002) stellten bei Äpfeln fest, dass unterschiedliche Saccharosekonzentrationen auf die verschiedenen Phasen der AWB unterschiedliche Wirkungen besitzen. Um den Prozess besser verstehen zu können, wäre einer der nächsten Schritte herauszufinden, welche Saccharosekonzentration bei den verschiedenen Phasen der AWB benötigt wird.

Die Ergebnisse der PDR1 Mutante zeigten weiterhin, dass der Kohlenhydratlevel der Donorpflanzen signifikant niedrigere Werte gegenüber dem Wildtyp aufwies. Um die Ursache für dieses Verhalten zu ermitteln, könnte die Expression der Invertase bestimmt werden.

Um den Einfluss der Strigolactone auf die verschiedenen Phasen der AWB bestimmen zu können, gäbe es die Möglichkeit, mit beiden Mutanten eine histologische Untersuchung der Sprossbasis vorzunehmen. Mit diesem Versuch könnte bestimmt werden, ob es durch die Abwesenheit oder das Verbleiben der Strigolactone in den Zellen zu einer Verschiebung der Phasen der AWB kommt. Dieser Versuch könnte ebenfalls mit überexprimierten Strigolactone Mutanten durchgeführt werden.

7 Zusammenfassung

Der Vorversuch hat gezeigt, dass für die *in-vitro* Kultivierung von Petunienstecklingen eine Saccharosekonzentration von 0 oder 30 g/l einen positiven Effekt auf die AWB besitzen. Allerdings bewirkte eine langfristige Kultivierung ohne Zucker, dass die Petunienstecklinge sehr leicht brüchig wurden.

Die temporäre Dunkellagerung von *Petunia hybrida* 'Mitchell' Stecklingen hat gezeigt, dass eine kurzzeitige (24 und 48 hpe) warm-Dunkelbehandlung einen positiven Effekt auf die AWB besitzt. Eine längere warme-Dunkelbehandlung sorgt für einen Abfall der Wurzelanzahl und Wurzellänge. Dieser Abfall ist bereits ab 72 hpe zu erkennen. Da auch eine kalte-Dunkelbehandlung einen positiven Effekt auf die AWB besitzt [Klopotek et al., 20120] kann davon ausgegangen werden, dass nicht die Temperatur, sondern vor allem die Dunkelheit entscheidend ist.

Bei den in Dunkelheit gelagerten Stecklingen kam es im Blatt und Spross aufgrund der Hemmung der lichtabhängigen Photosynthese zu einer Verarmung an Kohlenhydraten. Die Verarmung des Petunienstecklings an Kohlehydraten wurde bereits in einer Studie von Klopotek et al. (2010, 2012, 2016) festgestellt. Dieser Effekt wurde ebenfalls bei Studien mit Chrysanthemen und Pelargonien beobachtet [Druege et al., 2000 und 2004; Rapaka et al., 2007 und 2008]. Die Kohlehydratverarmung (Glucose und Fructose) war im *Sink*-Gewebe des Petunienstecklings stärker ausgeprägt. Dies kann dadurch erklärt werden, dass nach dem Abschneiden des Petunienstecklings Energie benötigt wird, um die Wunde zu verschließen. Die dafür benötigten Kohlenstoffgerüste werden aus der in der am nächsten liegenden Quelle, dem Spross, verwendet.

Nach dem die in Dunkelheit gelagerten Stecklinge Licht bekamen setzte die Photosynthese wieder ein. Die Photosyntheserate ist bei einer derartigen Behandlung allerdings nicht erhöht [Klopotek et al., 2012]. Nach einem deutlichen Anstieg von Glucose, Fructose und Saccharose im Blatt pendelte sich der Kohlehydratgehalt wieder auf ein ähnliches Niveau wie bei der Kontrolle ein.

Im Spross nahm der Glucose- und Fructosegehalt nach dem Anschalten von Licht signifikant ab. Dies lässt sich damit erklären, dass diese Kohlehydrate als Energiequelle für den Wachstums- und Differenzierungsprozess von Zellen benötigt wurde [Farrar et

al., 1995]. Des Weiteren war der Gehalt an Glucose im Spross niedriger als Fructose. Daraus lässt sich schließen, dass zuerst die Glucose aufgebraucht wurde. Die Begründung liegt darin, dass Glucose als Signalmolekül für verschiedene Prozesse wie zum Beispiel für die Expression von bestimmten Genen und weitere Entwicklungsprozesse in Pflanzen beteiligt ist [Sheen et al., 1999].

Der Saccharosegehalt in Spross begann durch das Licht wieder zu steigen, da von den Blättern aus Saccharose ins *Sink*-Gewebe transportiert wurde [Farrar et al., 1995; Sonnewald und Ebner, 1998; Ahkami et al., 2009; Klopotek et al., 2016]. Die Saccharose sorgt im *Sink*-Gewebe für die Bereitstellung von Nährstoffen, um damit das Wachstum des *Sink*-Gewebes zu garantieren [Rook und Bevan, 2003; Sonnewald und Ebner, 1998]. Bei den Kontrollstecklingen bleibt der Saccharosegehalt konstant. Da es bei den Kontrollstecklingen zu keiner Minimierung der Photosyntheseaktivität kam, wurde somit die Versorgung der *Sink*-Gewebe auch nicht unterbrochen oder minimiert.

Bei der Dunkellagerung der Mutante und des Wildtyps von *DAD1* (*Decreased apical dominance1*) hat sich gezeigt, dass Strigolactone einen negativen Einfluss auf die AWB besitzen. Bei der *DAD1* Mutante ist das Enzym die Carotinoid Spaltung Dioxygenase (CCD) nicht mehr vorhanden, wodurch das 9-cis- β -apo-10'-carotinal nicht mehr in 9-cis- β -Carotin umgewandelt werden kann [Snowden et al., 2005]. Die Mutante entstand aus einer Kreuzung von der *Petunia hybrida* Linie *W115* und der *Petunia hybrida* Linie *V26*. Dass Strigolactone einen negativen Einfluss auf die AWB besitzen zeigen auch Ergebnisse von Rasmussen et al. (2012) und Umehara et al. (2008).

Dabei hat sich außerdem gezeigt, dass eine Dunkellagerung (im untersuchten Zeitraum) keinen Einfluss auf die Wurzelanzahl der Mutante und des Wildtyps, sowie er Wurzellänge des Wildtyps besitzt. Aus diesen Ergebnissen kann abgeleitet werden, dass es für die Strigolacton Biosynthese-Gene *CCD7* und *CCD8* noch weitere Stimulationsfaktoren gibt. Bisher wurde durch Rasmussen et al. (2012) nur Licht als Stimulation der Strigolacton Biosynthese-Gene *CCD7* und *CCD8* angenommen. Welche Faktoren für die Stimulation der Gene verantwortlich sind konnte mit diesem Versuch nicht bestimmt werden.

Die Wurzellänge der Mutante deutet darauf hin, dass eine längere (mindestens 192 hpe) Warm-Dunkelbehandlung einen positiven Einfluss besitzt. Eine Warm-

Dunkelbehandlung bis 48 hpe scheint hingegen eher keine, wenn nicht sogar einen negativen Einfluss zu besitzen.

Bei der temporären Dunkellagerung der Mutante und es Wildtyps von PDR1 war zu erkennen, dass sowohl bei der Wurzelanzahl als auch bei der Wurzellänge der Wildtyp signifikant stärker bewurzelt war als die Mutante. Der *Petunia hybrida* ABC-Transporter PDR1 (*pleiotropes drug resistance 1*) ist ein zellulärer Strigolactone Exporteur [Kretschmar et al., 2012]. Die PDR1 Mutante hat einen Defekt in der Exsudation von Strigolactone aus den Wurzeln.

Die Daten zeigten weiterhin, dass es im untersuchten Zeitraum zu keiner signifikanten Veränderung in der Wurzelanzahl und -länge der Mutante und des Wildtyps kam. Da dieser Effekt sowohl bei der Mutante als auch beim Wildtyp auftritt, scheint die Abwesenheit von Licht (bis 72 hpe) keinen Einfluss auf den PDR1 Transporter zu besitzen.

Die Ergebnisse der Kontrollstecklinge zeigten, dass die Mutante einen signifikant niedrigeren Glucosegehalt im Blatt und Spross besaßen als die Donorpflanzen des Wildtyps. Der gleiche Effekt trat beim Fructosegehalt im Spross auf.

Literaturverzeichnis

[Abou-Mandour und Hartung, 1980]

Abou-Mandour, A.A., Hartung, W. (1980): Root and Callus cultures and Stem and Root Segments of *Phaseolus coccineus*. Zeitschrift für Pflanzenphysiologie 100: 25-33.

[Ahkami et al. 2009]

Ahkami, A. H., Lischewski, S., Haensch, K.-T., Porfirova, S., Hofmann, J., Rolletschek, H., Melzer, M., Franken, P., Hause, B., Druge, U., und Hajirezaei, M. R. (2009): Molecular physiology of adventitious root formation in *Petunia hybrida* cuttings: involvement of wound response and primary metabolism. New Phytologist 181: 613–625.

[Ahkami, 2010]

Ahkami, A. (2010): Molecular physiology of adventitious root formation (ARF) in *Petunia hybrida* cuttings: involvement of primary metabolism in root formation. S. 150, Halle, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Naturwissenschaftlichen Fakultät I – Biowissenschaften, Dissertation, S. 15-19 und 87-115.

[Ahkami 2013]

Akami, A.; Melzer, M. (2013): Distribution of indole-3-acetic acid in *Petunia hybrid* shoot tip cutting and relationship between auxin transport, carbohydrate metabolism and adventitious root formation. Planta 3: 499–517.

[Al-Babili und Bouwmeester, 2015]

Al-Babili, S. und Bouwmeester, H. J. (2015): Strigolactones, a novel carotenoid-derived plant hormone. Plant Biol. 66: 161-186.

[Alder et al., 2012]

Alder, A., Jamil, M., Marzorati, M., Bruno, M., Vermathen, M., Bigler, P., Ghisla, S., Bouwmeester, H., Beyer, P., Al-Babili, S. (2012): The path from beta-carotene to carlactone, a strigolactone-like plant hormone. Science, 335: 1348–1351.

[Amthor, 1989]

Amthor, J. S. (1989): Respiration and Crop Productivity. Springer-Verlag New York.

[Arite et al., 2007]

Arite, T., Iwata, H., Ohshima, K., Maekawa, M., Nakajima, M., Kojima, M., Sakakibara, H., Kyojuka, J. (2007): DWARF10, an RMS1/MAX4/DAD1 ortholog, controls lateral bud outgrowth in rice. Plant J. 51:1019-29.

[Barbier et al., 2015]

Barbier, F., Péron, T., Lecerf, M., Perez-Garcia, M.-D., Barrière, Q., Rolčík, J., Boutet-Mercey, S., Citerne, S., Lemoine, R., Porcheron, B., Roman H., Leduc, N., Le Gourrierec, J., [Delaux et al., 2012] Delaux, P.-M., Xi, e X., Timme, R.E., Puech-Pages, V., Dunand, C., Lecompte, E., Delwiche, C.F., Yoneyama, K., Bécard, G., Séjalon-Delmas, N. (2012): Origin of strigolactones in the green lineage. *New Phytologist* 195: 857–871.

[Berthon et al., 1989]

Berthon, J. Y., Maldiney, R., Sotta, B., Gaspar, Th., und Boyer, N. (1989): Endogenous levels of plant hormones during the course of adventitious rooting in cuttings of *Sequoiadendron giganteum in vitro*. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen* 184: 405–412.

[Beveridge und Kyozyuka, 2010]

Beveridge, C.A., Kyozyuka, J. (2010): New genes in the strigolactone-related shoot branching pathway. *Curr Opin Plant Biol* 13: 34–39.

[Blakesley et al., 1991]

Blakesley, D., Weston, G. D. und Hall, J. F. (1991b): The role of endogenous auxin in root initiation Part I: Evidence from studies on auxin application, und analysis of endogenous levels. *Journal of Plant Growth Regulation* 10: 341–353.

[Borghi et al., 2016]

Borghi, L., Liu, G.-W., Emonet, A., Kretzschmar, T., Martinoia, E. (2016): The importance of strigolactone transport regulation for symbiotic signaling and shoot branching. *Planta* 243: 1351.

[Capellades et al., 1990]

Capellades, M., Lemeur, R., Debergh, P. (1990): Kinetics of chlorophyll fluorescence in micropropagated roses hootlets. *Photosynthetica* 24: 190-193.

[Cary et al., 1995]

Cary, A.J., Liu, W., Howell, S.H. (1995): Cytokinin action is coupled to ethylene in its effects on the inhibition of root and hypocotyls elongation in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Physiol* 107:1075–1082.

[Casson und Lindsey, 2003]

Casson, S.A., Lindsey, K. (2003) Genes and signaling in root development. *New Phytol* 158:11–38.

[Chang und Chan, 1976]

Chang, W. C. und Chan, S. J. (1976): Cytochemical studies on the changes of nuclear histones und RNA synthesis activity of adventitious root initials in mung bean hypocotyl cuttings. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 17: 192–202.

[Christianson und Warnick, 1983]

Christianson, M. L. und Warnick, D. A. (1983): Competence and determination in the process of *in vitro* shoot organogenesis. *Developmental Biology* 95: 288–293.

[Clark et al., 1999]

Clark, D. G., Gubrium, E. K., Barrett, J. E., Nell, T. A., und Klee, H. J. (1999): Root formation in ethylene-insensitive plants. *Plant Physiology* 121: 53–59.

[Crawford et al., 2010]

Crawford, S., Shinohara, N., Sieberer, T., Williamson, L., George, G., Hepworth, J., Muller, D., Domagalska, M.A., Leyser, O. (2010): Strigolactones enhance competition between shoot branches by dampening auxin transport. *Development*, 137: 2905–2913.

[Cross et al., 2006]

Cross, J. M., von Korff, M., Altmann, T., Bartzetko, L., Sulpice, R., Gibon, Y., Palacios, N., und Stitt, M. (2006): Variation of enzyme activities and metabolite levels in 24 *Arabidopsis* accessions growing in carbon-limited conditions. *Plant Physiology* 142: 1574–1588.

[Czarnecki et al., 2013]

Czarnecki, O., Yang, J., Weston, D.J., Tuskan, G.A., Chen, J.-G. (2013): A Dual Role of Strigolactones in Phosphate Acquisition and Utilization in Plants. *Int. J. Mol. Sci.* 14: 7681-7701.

[Davies, 1995]

Davies, P. J. (1995): The plant hormones: their nature, occurrence and functions. In: Davies, P. J. (Eds.): *Plant Hormone*, 1–12. Kluwer Academic Press, London.

[De Klerk et al., 1999]

De Klerk, G.-J., Van der Krieken, W., De Jong, J. C. (1999): The Formation of Adventitious Roots: New concepts, new possibilities. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 35: 189–199.

[De Klerk, 2002]

De Klerk, G.J. (2002) Rooting of microcuttings: Theory and practice. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 38: 415-422.

[Dole und Wilkins, 2004]

Dole, J.M. und Wilkins, H. F. (2004): *Floriculture: Principles und Species*. Aufl. 2. Prentice Hall. S. 744–748.

[Druege et al., 2000]

Druege, U., Zerche, S., Kadner, R., Ernst, M. (2000): Relation between nitrogen status, carbohydrate distribution and subsequent rooting of chrysanthemum cuttings as affected by pre-harvest nitrogen supply und cold-storage. *Annals of Botany* 85: 687–701.

[Druege et al., 2004]

Druege, U., Zerche, S., und Kadner, R. (2004): Nitrogen- and storage-affected carbohydrate partitioning in high-light-adapted *Pelargonium* cuttings in relation to survival and adventitious root formation under low light. *Annals of Botany* 94: 831–842.

[Druege et al., 2007]

Druege U., Baltruschat, H., Franken, P. (2007): Piriformospora indica promotes adventitious root formation in cuttings. *Scientia Horticulturae* 112: 422–426.

[Druege et al., 2014]

Druege, U., Franken, P., Lischewski, S., Ahkami, A.H., Zerche, S., Hause, B. und Hajirezaei, M.R. (2014): Transcriptomic analysis reveals ethylene as stimulator and auxin as regulator of adventitious root formation in petunia cuttings. *Front Plant Sci.* 5: 494.

[Drummond et al., 2009]

Drummond, R.S.M., Martínez-Sánchez, N.M., Janssen, B.J., Templeton, K.R., Simons, J.L., Quinn, B.D., Karunairetnam, S., Snowden, K.C. (2009): *Petunia hybrida* CAROTENOID CLEAVAGE DIOXYGENASE7 is involved in the production of negative and positive branching signals in petunia. *Plant Physiol* 151: 1867–1877.

[Faria et al., 2004]

Faria, R.T., Rodrigues, F.N., Olivera, L.V.R., Müller, C. (2004): In vitro *Dendrobium nobile* plant growth and rooting in different sucrose concentrations. *Horticultura Brasileira* 22: 780-783.

[Farrar et al., 1995]

Farrar, J. F., Minchin, P. E. H., und Thorpe, M. R. (1995): Carbon import into barley roots: effect of sugars and relation to cell expansion. *Journal of Experimental Botany* 46: 1859–1865.

[Ford et al., 2002]

Ford, Y.-Y., Bonham, E. C., Cameron, R. W. F., Blake, P. S., Judd, H. L. und Harrison-Murray, R. S. (2002): Adventitious rooting: examining the role of auxin in an easy- and a difficult-to-root plant. *Journal of Plant Growth Regulation* 36: 149–159.

[Garrido et al., 1996]

Garrido, G., Cano, E. A., Arnao, M. B., Acosta, M., Sánchez-Bravo, J. (1996): Influence of cold storage period and auxin treatment on the subsequent rooting of carnation cuttings. *Scientia Horticulturae* 65: 73–84.

[Garrido et al., 1998]

Garrido, G., Cano, E. A., Acosta, M., Sánchez-Bravo, J. (1998): Formation and growth of roots in carnation cuttings: influence of cold storage period and auxin treatment. *Scientia Horticulturae* 74: 219–231.

[Garrido et al., 2002]

Garrido, G., Guerrero, J. R., Cano, E. A., Acosta, M. und Sánchez-Bravo, J. (2002): Origin and basipetal transport of the IAA responsible for rooting of carnation cuttings. *Physiologia Plantarum* 114: 303–312.

[Gaspar et al., 1992]

Gaspar, Th., Kevers, C., Hausman, J. F., Berthon, J. Y., und Ripetti, V. (1992): Practical uses of peroxidase activity as a predictive marker of rooting performance of micropropagated shoots. *Agronomie* 12: 757–765.

[Geneve und Heuser, 1983]

Geneve, R. L., Heuser, C. W. (1983): The relationship between ethephon and auxin on adventitious root initiation in cuttings of *Vigna radiata* (L.) R. Wilcz. *Journal of the American Society Horticultural Science* 108: 330–333.

[Geneve et al., 1988]

Geneve, R. L., Hackett, W. P., und Swanson, B. T. (1988): Adventitious root initiation in de-bladed petioles from the juvenile and mature phases of English Ivy. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 113: 630–636.

[Gibson, 2005]

Gibson, S. I. (2005): Control of plant development and gene expression by sugar signaling. *Current Opinion in Plant Biology* 8: 93–102.

[Gomez-Roldan et al., 2008]

Gomez-Roldan, V., Fermas, S., Brewer, P.B., Puech-Pagès, V., Dun, E.A., Pillot, J.P., Letisse, F., Matusova, R., Danoun, S., Portais, J.C., Bouwmeester, H., Bécard, G., Beveridge, C.A., Rameau, C., Rochange, S.F. (2008): Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature* 455: 189–194.

[Govindjee, 20102]

Govindjee (2012): *Photosynthesis V2: Development, Carbon Metabolism, and Plant Productivity*. Academic Press. Aufl. 1. S. 381.

[Haissig, 1982]

Haissig, B. E. (1982): Activity of some glycolytic and pentose phosphate pathway enzymes during the development of adventitious roots. *Plant Physiology* 55: 261–272.

[Haissig, 1984]

Haissig, B.E. (1984): Carbohydrate accumulation and partitioning in *Pinus banksiana* seedling and seedling cuttings. *Physiologia Plantarum* 61: 13–19.

[Hartmann et al., 1990]

Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, Jr., F. D. (1990): *Plant Propagation – Principles and Practices*. Aufl. 8. Pearson.

[Heß, 1993]

Heß, D. (1993): *Pflanzenphysiologie – Molekulare und biochemische Grundlagen von Stoffwechsel und Entwicklung der Pflanzen*. Aufl. 1. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart.

[Hikosaka et al., 2006]

Hikosaka, K., Ishikawa, K., Borjigidai, A., Muller, O., und Onoda, Y. (2006): Temperature acclimation of photosynthesis: mechanisms involved in the changes in temperature dependence of photosynthetic rate. *Journal of Experimental Botany* 57: 291–302.

[Hitchcock und Zimmerman, 1940]

Hitchcock, A. E., Zimmerman, P. W. (1940): Effects obtained with mixtures of root-inducing and other substances. *Contributions from the Boyce Thompson Institute* 11: 155–159.

[Huber, 19983]

Huber, S.C. (1983): Relation between photosynthetic starch formation and dry-weight partitioning between the shoot and root. *Canadian Journal of Botany* 61: 2709–2716.

[Jarvis, 1986]

Jarvis, B. C. (1986): Endogenous control of adventitious rooting in non-woody cuttings. In: Jackson, M. B. (Eds.): *New Root Formation in Plant und Cuttings*, 191–222. Martinus-Nijhoff, Kluwer Academic Puplicher Group.

[Jiao und Grodzinski, 1996]

Jiao, J., und Grodzinski, B. (1996): The effect of leaf temperature and photorespiratory conditions on export of sugars during steady-state photosynthesis in *Salvia splendens*. *Plant Physiology* 111: 169–178.

[John et al., 1993]

John, P.C.L., Zhang, K., Dong, C., Diederich, L., Wightman, F. (1993): p34^{cdc2} related proteins in control of cell cycle progression, the switch between division and differentiation in tissue development and stimulation of division by auxin and cytokinin. *Aust J Plant Physiol* 20:503–526.

[Kapulnik et al., 2011]

Kapulnik, Y., Resnick, N., Mayzlish-Gati, E., Kaplan, Y., Winger, S., Hershenhorn, J., Koltai, H. (2011): Strigolactones interact with ethylene and auxin in regulating root-hair elongation in Arabidopsis. *J Exp Bot* 62: 2915–2924.

[Kende und Zeevaart, 1997]

Kende, H. und Zeevaart, J. A. (1997): The five „classical“ plant hormones. *The Plant Cell* 9: 1197–1210.

[Kępczyński et al., 2006]

Kępczyński, J., Nemoykina, A., Kępczyńska, E. (2006): Ethylene and in vitro rooting of rose shoots. *Plant Growth Regul* 50:23–28.

[Kevers et al., 1997]

Kevers, C, Hausman, J. F., Faivre-Rampant, O., Evers, D., Gaspar, Th. (1997): Hormonal control of adventitious rooting: Progress and questions. *Angewandte Botanik* 71: 71–79.

[Klopotek et al., 2010]

Klopotek, Y., Haenscha, H.T., Hauseb, B., Hajirezaeic, M.R., Druege, U. (2010): Dark exposure of petunia cuttings strongly improves adventitious root formation and enhances carbohydrate availability during rooting in the light. *Journal of Plant Physiology* 167: 547-554.

[Klopotek, 2010]

Klopotek, Y. (2010): Einfluss einer temporären kalten Dunkelbehandlung auf die Adventivwurzelbildung in Petunienstecklingen unter Berücksichtigung des Kohlenhydratmetabolismus. S.139, Halle, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Naturwissenschaftlichen Fakultät I – Biowissenschaften, Dissertation, S. 85-89.

[Klopotek et al. 2012]

Klopotek, Y., George, E., Druege U., Klaering, H.-P. (2012): Carbon assimilation of petunia cuttings in a non-disturbed rooting environment: Response to environmental key factors and adventitious root formation. *Scientia Horticulturae* 145: 118–126.

[Klopotek et al. 2016]

Klopotek, Y., Franken, P., Klaering, H.-P., Fischer, K., Hause, B. (2016): A higher sink competitiveness of the rooting zone and invertases are involved in dark stimulation of adventitious root formation in *Petunia hybrida* cuttings. *Plant Science* 243: 10–22.

[Koch, 1996]

Koch, K.E. (1996): Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47: 509–540.

[Kohlen et al., 2011]

Kohlen, W., Charnikhova, T., Liu, Q., Bours, R., Domagalska, M.A., Beguerie, S., Verstappen, F., Leyser, O., Bouwmeester, H., Ruyter-Spira, C. (2011): Strigolactones are transported through the xylem and play a key role in shoot architectural response to phosphate deficiency in nonarbuscular mycorrhizal host *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 155: 974–987.

[Koltai et al., 2011]

Koltai, H., Cohen, M., Chesin, O., Mayzlish-Gati, E., Bécard, G., Puech, V., Ben Dor, B., Resnick, N., Wininger, S., Kapulnik, Y. (2011): Light is a positive regulator of strigolactone levels in tomato roots. *J Plant Physiol* 168: 1993–1996.

[Koltai, 2011]

Koltai, H. (2011): Strigolactones are regulators of root development. *New Phytologist* 190: 545–549.

[Kretzschmar, 2009]

Kretzschmar, T. (2009): Pleiotropic Drug Resistance Type ABC Transporters in *Petunia hybrida*: Novel Roles in Symbiotic Interactions, Branch Development and Herbivory Defense. S.160, Zürich, Universität Zürich, Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät, Dissertation, S. 3-4.

[Kretzschmar et al., 2012]

Kretzschmar, T., Kohlen, W., Sasse, J., Borghi, L., Schlegel, M., Bachelier, J.B., Reinhardt, D., Bours, R., Bouwmeester, H.J., Martinoia, E. (2012): A petunia ABC protein controls strigolactone-dependent symbiotic signalling and branching. *Nature* 483: 341–344.

[Kuderová et al., 2008]

Kuderová, A., Urbánková, I., Válková, M., Malbeck, J., Brzobohatý, B., Ménéthova, D., Hejátko, J. (2008): Effect of conditional IPT-dependent cytokinin overproduction on root architecture of *Arabidopsis* seedlings. *Plant Cell Physiol* 49:570–582.

[Kull, 1993]

Kull, U. (1993): *Grundriss der Allgemeinen Botanik*. Aufl. 2. Spektrum Akademischer Verlag. S. 149.

[Laplaze et al., 2007]

Laplaze, L., Benkova, E., Casimiro, I., Maes, L., Vanneste, S., Swarup, R., Weijers, D., Calvo, V., Parizot, B., Herrera-Rodriguez, M.B., Offringa, R., Graham, N., Doumas, P.,

Friml, J., Bogusz, D., Beeckman, T., Bennett, M. (2007): Cytokinins act directly on lateral root founder cells to inhibit root initiation. *Plant Cell* 19:3889–3900.

[Lee et al., 1978]

Lee, L. S., Chen, Y. M. und Lin, C. Y. (1978): Studies on the formation of adventitious root initials in mung bean seedling hypocotyl. *Taiwania* 23: 115–122.

[Lee et al., 1985]

Lee, N., Wetzstein, H.Y., Sommer, H.E. (1985): Effects of quantum flux density on photosynthesis and chloroplasts ultrastructure in tissue cultured plantlets and seedlings of *Liquidambar styraciflua* (Hamamelidaceae) during acclimatization. *Am. J. Bot.* 69: 1579-1586.

[Letham, 1994]

Letham, D. S. (1994): Cytokinins as phytohormones – sites of biosynthesis, translocation, and function of translocated cytokinins. In: Mok, D. W. S., Mok, M. C. (Eds.): *Cytokinins: Chemistry, Activity und Function*. CRC Press.

[Li et al., 2009]

Li, S.-W., Xue, L., Xu, S., Feng, H., and An, L. (2009): Mediators, genes and signaling in adventitious rooting. *Bot. Rev.* 75, 230–247.

[Liang et al., 2010]

Liang, J.L., Zhao, L.J., Challis, R., Leyser, O. (2010): Strigolactone regulation of shoot branching in chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum*). *J Exp Bot* 61: 3069–3078.

[Litauszky, 1999]

Litauszky, R. A. (1999): Untersuchungen zur Wirkungsintensität einer Rejuvenilisierung nach der In-vitro-Vermehrung ausgewählter Gehölzspezies am Merkmal der Adventivwurzelbildung. S. 98, Berlin, Humboldt-Universität Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät, Dissertation, S. 6-10.

[Ljung et al., 2001a]

Ljung, K., Bhalerao, R. P. und Sundberg, G. (2001a): Sites und homeostatic control of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* during vegetative growth. *The Plant Journal* 28: 465–474.

[Ljung et al., 2001b]

Ljung, K., Ostin, A., Lioussanne, L. und Sundberg, G. (2001b): Developmental regulation of indole-3-acetic acid turnover in Scots pine seedlings. *Plant Physiology* 125: 464–475.

[Lopez-Obando et al., 2015]

Lopez-Obando, M., Ligerot, Y., Bonhomme, S., Boyer, F.-D., Rameau, R. (2015): Strigolactone biosynthesis and signaling in plant development. *Development* 142: 3615-3619.

[Lyndon, 1990]

Lyndon, R. F. (1990): *Plant Development: the Cellular Basis*. Unwin Hyman, London.

[Maldiney et al., 1986]

Maldiney, R., Pelese, F., Pilate, G., Sotta, B., Sossountzov, L., und Miginiac, E. (1986): Endogenous levels of abscisic acid, indole-3-acetic acid, zeatin and zeatin-riboside during the course of adventitious root formation in cuttings of *Craigella* and *Craigella* lateral suppressor tomatoes. *Plant Physiology* 68: 426–430.

[Mendel 2010]

Mendel, R.R. (2010): *Zellbiologie der Pflanzen*. Aufl.1. UTB GmbH. S. 242ff.

[Mergemann und Sauter, 2000]

Mergemann, H., Sauter, M. (2000): Ethylene induces epidermal cell death at the site of adventitious root emergence in rice. *Plant Physiol* 124:609–614.

[Moore, 1989]

Moore, T. C. (1989): *Biochemistry and Physiology of Plant Hormones*. Springer Verlag.

[Mudge und Swanson, 1978]

Mudge, K. W., Swanson, B. T. (1978): Effect of ethephon, indole butyric acid, and treatment solution pH on rooting and on ethylene levels within mung bean cuttings. *Plant Physiology* 61: 271–273.

[Mutui et al., 2005]

Mutui, T. M., Mibus, H., Serek, M. (2005): Effects of thidiazuron, ethylene, abscisic acid and dark storage on leaf yellowing and rooting of *Pelargonium* cuttings. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 80: 543–550.

[Naija et al., 2008]

Naija, S., Elloumi, N., Jbir, N., Ammar, S., Kevers, C. (2008): Anatomical and biochemical changes during adventitious rooting of apple rootstocks MM 106 cultured *in vitro*. *Comptes Rendus Biologies* 331: 518–525.

[Negi et al., 2008]

Negi S, Ivanchenko MG, Muday GK (2008): Ethylene regulates lateral root formation and auxin transport in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 55:175–187.

[Normanly, 1997]

Normanly, J. (1997): Auxin metabolism. *Plant Physiology* 100: 431–442.

[Östin et al., 1998]

Östin, A., Kowalyczk, M., Bhalerao, R. P., und Sundberg, G. (1998): Metabolism of indole-3-acetic acid in arabidopsis. *Plant Physiology* 118: 285–296.

[Oud et al., 1995]

Oud, J. S. N., Schneiders, H., Kool, A. J., und van Grinsven, M. Q. J. M. (1995): Breeding of transgenic orange *Petunia hybrida* varieties. *Euphytica* 84: 175–181.

[Pammeter et al., 1993]

Pammenter, N. W., Loreto, F., und Sharkey, T. D. (1993): End product feedback effects on photosynthetic electron transport. *Photosynthesis Research* 35: 5–14.

[Pellicier et al., 2000]

Pellicier, V.; Guehl, J.M.; et al (2000): Carbon and nitrogen mobilization in *Larix x eurolepis* leafy stem cuttings assessed by dual (13)C und (15)N labeling: relationships with rooting. *Tree Physiology* 20: 807–814.

[Porceddu et al., 1999]

Porceddu A., Reale L., Lanfaloni L., Moretti C., Sorbolini S., Tedeschini E., Ferranti F., Pezzotti M. (1999): Cloning and expression analysis of a *Petunia hybrida* flower specific mitotic-like cyclin. *FEBS Letters* 462: 211–215.

[Rapaka et al., 2007]

Rapaka, V. K., Faust, J. E., Dole, J. M., Runkle, E. S. (2007): Diurnal carbohydrate dynamics affect postharvest ethylene responsiveness in portulaca (*Portulaca grandiflora* ‘Yubi Deep Rose’) unrooted cuttings. *Postharvest Biology und Technology* 44: 293–299.

[Rapaka et al., 2008]

Rapaka, V. K., Faust, J. E., Dole, J. M., Runkle, E. S. (2008): Endogenous carbohydrate status affects postharvest ethylene sensitivity in relation to leaf senescence und adventitious root formation in *Pelargonium* cuttings. *Postharvest Biology und Technology* 48: 272–282.

[Rashotte et al., 2005]

Rashotte, A.M., Chae, H.S., Maxwell, B.B., Kieber, J.J. (2005): The interaction of cytokinin with other signals. *Physiol Plant* 123:184–194.

[Rasmussen et al., 2012]

Rasmussen, A.; Mason, M. G., De Cuyper, C., Brewer, P.B., Herold, S., Agusti, J., Geelen, D., Greb, T., Goormachtig, S., Beeckman, T., Beveridge, C.A. (2012):

Strigolactones Suppress Adventitious Rooting in *Arabidopsis* and *Pea*. *Plant Physiology* 158: 1976-1987.

[Rittirat et al., 2012]

Rittirat, S., Thammasiri, K., Te-chato, S. (2012): Effect of media and sucrose concentrations with or without activated charcoal on the plantlet growth of *P. cornucervi* (Breda) Blume & Rchb. f.. *Journal of Agricultural Technology* 8: 2077-2087.

[Roitsch und González, 2004]

Roitsch T., González M. C. (2004): Function and regulation of plant invertases: sweet sensations. *Trends in Plant Science* 9: 606–613.

[Rook und Bevan, 2003]

Rook, F., und Bevan, M. W. (2003): Genetic approaches to understanding sugar-response pathways. *Journal of Experimental Botany* 54 (382): 495–501.

[Ruyter-Spira et al., 2011]

Ruyter-Spira, C., Kohlen, W., Charnikhova, T., van Zeijl, A., van Bezouwen, L., de Ruijter, N., Cardoso, C., Lopez-Raez, J.A., Matusova, R., Bours, R., Verstappen, F., Bouwmeester, H. (2011): Physiological effects of the synthetic strigolactone analog GR24 on root system architecture in *Arabidopsis*: another belowground role for strigolactones? *Plant Physiol* 155: 721–734.

[Sasse et al., 2015]

Sasse, J., Simon, S., Gübeli, C., Liu, G.-W., Cheng, X., Friml, J., Bouwmeester, H., Martinoia, H., Borgh, L. (2015): Asymmetric Localizations of the ABC Transporter PaPDR1 Trace Path of Directional Strigolactone Transport. *Current Biology* 25: 647–655.

[Schilmiller und Howe, 2005]

Schilmiller, A. L., Howe, G. A. (2005): Systemic signaling in the wound response. *Current Opinion in Plant Biology* 8: 369–377.

[Schwartz et al., 2004]

Schwartz, S.H., Qin, X., Loewen, M.C. (2004): The biochemical characterization of two carotenoid cleavage enzymes from *Arabidopsis* indicates that a carotenoid-derived compound inhibits lateral branching. *J Biol Chem*, 279: 46940–46945.

[Seto und Yamaguchi, 2014]

Seto, Y., Yamaguchi, S. (2014): Strigolactone biosynthesis and perception. *Plant Biology* 21: 1-6.

[Sheen et al., 1999]

Sheen, J., Zhou, L., Jangb, J.-C. (1999): Sugars as signaling molecules. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 410–418.

[Shibuya et al., 2004]

Shibuya K., Barry K. G., Ciardi J. A., Loucas H. M., Underwood B. A., Nourizadeh S., Ecker J. R., Klee H. J., Clark D. G. (2004): The central role of PhEIN2 in ethylene responses throughout plant development in petunia. *Plant Physiology* 136: 2900–2912.

[Skoog und Miller, 1957]

Skoog, F., Miller, C.O. (1957): Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured in vitro. *Symp Soc Exp Biol* 11:118–131.

[Smet et al., 2003]

Smet, J.D., Signora, L., Beeckman, T., Inze, D., Foyer, C.H. und Zhang, H. (2003): An abscisic acid-sensitive checkpoint in lateral root development of *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 33: 543-555.

[Snowden et al., 2005]

Snowden, K. C., Simkin, A. J., Janssen, B. J., Templeton, K. R., Loucas, H. M., Simons, J.L., Karunairetnam, S., Gleave, A. P., Clark, D. G., Klee, A.J. (2005): The Decreased apical dominance1/*Petunia hybrida* CAROTENOID CLEAVAGE DIOXYGENASE8 Gene Affects Branch Production and Plays a Role in Leaf Senescence, Root Growth, and Flower Development. *The Plant Cell* 17: 746-759.

[Snowden et al., 2009]

Snowden, K.C., Simkin, A.J., Janssen, B.J., Templeton, K.R., Loucas, H.M., Simons, J.L., Karunairetnam, S., Gleave, A.P., Clark, D.G., Klee, H.J. (2009): The Decreased apical dominance1/*Petunia hybrida* CAROTENOID CLEAVAGE DIOXYGENASE8 gene affects branch production and plays a role in leaf senescence, root growth, and flower development. *Plant Physiology* 15: 1867–1877.

[Sonnewald und Ebnet, 1998]

Sonnewald, U. und Ebnet, M. (1998): Ansätze zur Beeinflussung der photosynthetischen Saccharosebiosynthese. *Vorträge zur Pflanzenzüchtung*. 41: 21–32.

[Stepanova et al., 2007]

Stepanova, A.N., Yun, J., Likhacheva, A.V., Alonso, J.M. (2007): Multilevel interactions between ethylene and auxin in *Arabidopsis* roots. *Plant Cell* 19:2169–2185.

[Stitt und Krapp, 1999]

Stitt, M., Krapp, A. (1999): The molecular physiological basis for the interaction between elevated carbon dioxide and nutrients. *Plant, Cell & Environment* 22: 583–622.

[Sturm und Tang, 1999]

Sturm, A. und Tang, G.-Q. (1999): The sucrose-cleaving enzymes of plants are crucial for development, growth and carbon partitioning. *Trends in Plant Science* 4: 401–407.

[Sukumar et al., 2013]

Sukumar, P., Maloney, G.S. und Muday, G.K. (2013): Localized Induction of the ATP-Binding Cassette B19 Auxin Transporter Enhances Adventitious Root Formation in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 162: 1392-1405.

[Sun et al., 2015] Sun, H., Tao, J., Hou, M., Huang, M., Chen, S., Liang, Z., Xie, T., Wie, Y., Xie, X., Yoneyama, K, Xu, G., Zhang, Y. (2015): A strigolactone signal is required for adventitious root formation in rice. *Ann Bot* 115: 1155-1162.

[Swarup et al., 2007]

Swarup R, Perry P, Hagenbeek D, Van Der Straeten D, Beemster GTS, Sandberg G, Bhalerao R, Ljung K, Bennett MJ (2007): Ethylene up-regulates auxin biosynthesis in *Arabidopsis* seedlings to enhance inhibition of root cell elongation. *Plant Cell* 19:2186–2196.

[Tokunaga et al., 2015]

Tokunaga, T., Hayashi, H., Akiyama, K. (2015): Medicaol, a strigolactone identified as a putative didehydro-orobanchol isomer, from *Medicago truncatula*. *Phytochemistry* 111, 91-97.

[Tombolato und Costa, 1998]

Tombolato, A.F.C.; Costa, A.M.M. (1998): *Micropropagação de plantas ornamentais*. Campinas. Instituto Agrônômico. 72 p.

[Trewavas und Clelund, 1983]

Trewavas, A. J. und Clelund, R. E. (1983): Is plant development regulated by changes in the concentration of growth substances or by changes in the sensitivity to growth substances. *Trends in Biochemical Sciences* 8: 349–357.

[Trupiano et al., 2012]

]Trupiano D, Di Iorio A, Montagnoli A, Lasserre B, Rocco M, Grosso A, Scaloni A, Marra M, Chiatante D, Scippa GS (2012): Involvement of lignin and hormones in the response of woody poplar taproots to mechanical stress. *Physiol Plantarum* 146:39–52.

[Umehara et al., 2008]

Umehara, M., Hanada, A., Yoshida, S., Akiyama, K., Arite, T., Takeda-Kamiya, N., Magome, H., Kamiya, Y., Shirasu, K., Yoneyama, K. Kyojuka, J., Yamaguchi, S. (2008): Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature* 455: 195–200.

[USDA, 2015]

USDA, United States Department of Agriculture (2015): *Floriculture Crops 2015 Summary*

https://www.nass.usda.gov/Publications/Todays_Reports/reports/floran16.pdf, Stand: 02. Juni 2016.

[Veierskov et al., 1982]

Veierskov, B., Skytt Undersen, A., and Nymann Eriksen, E. (1982): Dynamics of extractable carbohydrates in *Pisum sativum*. I. Carbohydrate and nitrogen content in pea plants and cuttings grown at two different irradiances. *Physiologia Plantarum* 55: 167–173.

[Veierskov, 1988]

Veierskov, B. (1988): Relations between carbohydrates and adventitious root formation. In: Davis, T.D., Haissig, B.E., Sankhla, N. (Eds.), *Adventitious root formation in cuttings*, S. 70–78. Dioscorides Press, Portlund, Oregon.

[Visser et al., 1996]

Visser, E.J.W., Cohen, J. D., Barendse, G.W.M., Blom C.W.P.M., Voeselek, L.A.C.J. (1996): An Ethylene-Mediated Increase in Sensitivity to Auxin Induces Adventitious Root Formation in Flooded *Rumex palustris* Sm. *Plant Physiology* 112: 1687-1692.

[Wasternack, 2007]

Wasternack, C. (2007): Jasmonates: an update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *Annals of Botany* 100: 681–697.

[Wenjun et al., 2012]

Wenjun, Z., Xiaokun, L., Fang, C., Jianwei L. (2012): Accumulation and distribution characteristics for nitrogen, phosphorus and potassium in different cultivars of *Petunia hybrida* Vlim. *Scientia Horticulturae* 141: 83–90.

[Wilson, 1994]

Wilson, P. J. (1994): The concept of a limiting rooting morphogen in woody stem cuttings. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 69: 591–600.

[Woeste et al., 1999]

Woeste KE, Vogel JP, Kieber JJ (1999): Factors regulating ethylene biosynthesis in etiolated *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Physiol Plantarum* 105:478–484.

[Xuegui et al., 2012]

Xuegui, B., Christopher, D. T., Radhika, D., Yongping, Y. und Xiangyang, H. (2012): N-3-Oxo-Decanoyl-l-Homoserine-Lactone Activates Auxin-Induced Adventitious Root Formation via Hydrogen Peroxide- and Nitric Oxide-Dependent Cyclic GMP Signaling in Mung Bean. *Plant Physiology* 158: 725-736.

[Yamamoto et al., 1995]

Yamamoto, F., Sakata, T., Terazawa, K. (1995): Physiological, morphological and anatomical responses of *Fraxinus mandshurica* seedlings to flooding. *Tree Physiol* 15:713–719.

[Yuting et al., 2014]

Yuting, L., Wie, Z., Fang, Q., Weiti, C., Yanjie, X., Wenbiao, S. (2014): Hydrogen-rich water regulates cucumber adventitious root development in a heme oxygenase-1/carbon monoxide-dependent manner. *Journal of Plant Physiology* 171: 1-8.

[Zhao et al., 2001]

Zhao, Y., Christensen, S.K., Fankhauser, C., Cashman, J.R., Cohen, J.D., Weigel, D., Chory, J. (2001): A role for flavin monooxygenase-like enzymes in auxin biosynthesis. *Science* 291: 306–309.

[ZMP, 2015]

ZMP, Zentrale Markt- und Preisberichtsstelle (2015): Top Ten Listen für den deutschen Zierpflanzenmarkt 2006. <http://www.g-net.de/zierpflanzenbau.html>, Stand: 02. Juni 2016

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Quellen entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht.

Diese Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Laudenbach, den 30.09.2016

Saskia Schwab