

5. Zusammenfassung

Reaktion von *Laguncularia* auf Besalzung

Die strauch- bis baumartig wachsende weiße Mangrove *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn f war Gegenstand der durchgeführten Untersuchungen. Ihr natürlicher Standort innerhalb des Mangals ist auf sandig-schlammigem Boden, der kaum noch Überflutungen durch das Meerwasser ausgesetzt ist. Die Pflanze zeichnet sich an diesem Standort durch ihre hohe Salztoleranz aus.

In den Vereinigten Arabischen Emiraten wird *Laguncularia racemosa* im kustennahen Wustenenbereich zur Begrünung angepflanzt und mit Meerwasser 2 Stunden täglich im Tropfverfahren bewässert.

In der vorliegenden Arbeit wurden diese Bedingungen mit Hilfe eines Kultursystems auf Basis eines Sand-Torf-Gemisches nachgeahmt. Um einheitliche Ergebnisse zu erzielen, wurden die Pflanzen im Gewächshaus kultiviert. Parallel wurden Jungpflanzen NaCl-arm (Kontrolle) auf Basisnährlosung (modifiziert nach Epstein, 1972) oder als Hochsalzvariante mit einer Zugabe von $500 \text{ mol} \times \text{m}^{-3} \text{ NaCl}$ angezogen.

Ziel dieser Arbeit war es, die morphologischen, cytologischen und physiologischen Auswirkungen hoher NaCl-Belastung ($500 \text{ mol} \times \text{m}^{-3}$) auf *Laguncularia racemosa* zu untersuchen. Anhand der Ergebnisse sollten die Möglichkeiten der wirtschaftlichen Nutzung unter Salzwasserbewässerung von *Laguncularia racemosa* diskutiert werden.

Der sich unter Salzstress verändernde Blattaufbau wurde durch lichtmikroskopische und elektronenmikroskopische Untersuchungen (TEM und REM) dokumentiert.

Im Verlauf der Entwicklung wurden vergleichende Untersuchungen zum Wachstum, Wasserhaushalt, Chlorophyll-, Mineralstoff- (K^+ , Na^+ , Ca^{++} , Mg^{++} und Cl^-) und Nährstoffgehalt (z. B. Proteine, Kohlenhydrate) durchgeführt.

Neben Gewebeanalysen wurde die Elementzusammensetzung und Elementverteilung (z. B. im Blatt) mit Hilfe der Energiedispersiven Röntgenmikroanalytik an einem Rasterelektronenmikroskop gemessen. Weiterhin wurde der Einfluß von NaCl auf die Menge bzw. Zusammensetzung sekundärer Inhaltsstoffe (Phenole, hydrolysierte und kondensierte Tannine) erfaßt.

Struktur und Wachstum

Makroskopisch reagierte die Pflanze auf die Besalzung mit einer Verminderung des Wachstums und einer Reduktion der Blattfläche.

Die notwendige Ektoparasitenbekämpfung mit dem systemisch wirkenden Pflanzenschutzmittel *Metasystox R hatte ein Absterben der gesamten Hochsalzvarianten zur Folge, wohingegen alle Kontrollpflanzen überlebten. Bei wirtschaftlicher Nutzung von *Laguncularia* an salinen Standorten wäre es möglicherweise sehr wichtig, bei der Dosisbestimmung des jeweiligen Pflanzenschutzmittels die Standortbedingungen einzubeziehen.

Weiterhin erhöhten sich bei den NaCl-Varianten die Anzahl der Stomata und der Salzdrüsen pro Blattfläche. Die gezeigte Zunahme ermöglicht bei günstigen Standortbedingungen (niedriges Wasserpotential in der Luft) ein schnelleres Auffüllen des CO_2 -Vorrats in den Interzellularen des Blattes bei geringem Wasserverlust.

Der Aufbau des Blattes ist bifazial aufgrund der Anordnung und der Morphologie des Palisadengewebes (Kap. 3.2.3.5 und 3.2.4.3).

Morphologische Veränderungen durch Salzstress zeigte die NaCl-Variante durch Ausbildung von Sukkulenz und der Bildung eines inneren Wassergewebes. Verantwortlich für die Ausbildung der Sukkulenz war Chlor, welches eindrucksvoll durch die EDX-Analyse gezeigt werden konnte.

Ebenso wurde durch die EDX-Analyse geklärt, daß die Blattflächendrüse von *Laguncularia racemosa* im hohen Maße Natrium und Chlor unter Salzbelastung ausscheidet. Bei geringem Salzangebot sezerniert die Drüse die obengenannten Elemente, verschiedene andere Elemente und organische Verbindungen, was auf eine geringe Ionen-Selektivität der Drüse schließen läßt. Aufgrund dieser Ergebnisse kann *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. f. die weiße Mangrove zu den salzabscheidenden Mangroven gerechnet werden. Es ist somit ratsam, die Kopfchendrüse (Typ 3) in Zukunft wieder als Salzdrüse zu bezeichnen.

Geringe NaCl-Konzentrationen in der Nährlösung können auf Dauer durch Bakterienbefall der Kopfchendrüse zu Degeneration führen. NaCl-Sekretion schützt besonders in warmen und feuchten Klimaten vor einem Bakterienbefall der Drüse.

NaCl hatte innerhalb der Terminalzellen eine Vergrößerung der Vakuolen und der Interzellularen zwischen diesen Zellen zur Folge.

Innerhalb der Terminal- und Basalzellen kam es durch NaCl-Belastung zu einer vermehrten Bildung von Zellwandprotuberanzen. Innerhalb der Epidermis- und Schwammparenchymzellen der NaCl-Variante kam es zu einer vermehrten Ausbildung von Vesikeln. Sowohl die Bildung von Zellwandprotuberanzen als auch von Vesikeln unter NaCl-Belastung deutet auf eine Erhöhung der Austauschkapazität und der Transportrate hin. Die vermehrte Vesikelbildung deutet auch auf eine Erhöhung der Speicheraktivität hin.

Erhöhte Substratsalinität führte zu einer plastischen Dehnung und zu einer Verdickung der Zellwände des Schwammparenchyms, was der Pflanze bei Wasserstress Standortvorteile bieten konnte. Die genannten Strukturveränderungen entsprechen weitestgehend den Reaktionen anderer Halophyten und deuten auf Anpassungen an saline Standorte hin, die notwendig sind, um exzessive NaCl-Konzentrationen im Substrat zu überleben.

Physiologie

Bezüglich der Physiologie der Pflanze hatte der Salzstress eine Erhöhung des Chlorophyll a/b-Verhältnisses zu Beginn des Versuchs zur Folge. Dadurch konnte *Laguncularia* wahrscheinlich den höheren Energiebedarf für die Anpassung an die Salzbelastung decken.

Auch der Gehalt an löslichen Proteinen nahm unter steigender Substratsalinität deutlich zu, was als ein Indiz für die hohe Salztoleranz der Mangrove gewertet werden kann.

Die Tendenz zur Kohlenhydratspeicherung im Blatt der Pflanze konnte auch als eine Anpassung an den Salzstress gesehen werden. Die ständig niedrigeren Kohlenhydratgehalte in der Wurzel der NaCl-Varianten gegenüber den Kontrollen kann als ein Hinweis auf energieverbrauchende Prozesse wie selektive Ionenaufnahme oder Transportprozesse gewertet werden. Die erhöhte Salzdrüsenaktivität der NaCl-Variante ist ein weiterer energieverbrauchender Aspekt.

Die negative Beeinflussung des Sekundärstoffwechsels (Phenole, hydrolysierte und kondensierte Tannine) durch die NaCl-Belastung konnte ein weiteres Indiz für energiezehrende Vorgänge innerhalb der NaCl-gestressten Pflanze sein.

Mit zunehmender Versuchsdauer konnte die NaCl-Variante über vermehrte Aufnahme von Natrium, Chlor und die Bildung anderer organischer Osmotika das osmotische Potential (mOsmol) erhöhen und das Wasserpotential (MPa) erniedrigen. Die Pflanze hatte dadurch ein

niedrigeres Wasserpotential als die Bodenlösung. Sie war somit in der Lage, entlang des Konzentrationsgradienten Wasser bis in das Blatt zu transportieren.

Im Zusammenhang mit der Salztoleranz ist besonders bemerkenswert, daß die NaCl-Variante trotz des hohen Natriumgehaltes in der Nährlösung selektiv Kalium aus dem Boden aufnahm. Auch die schnelle Adaptation der Wurzel an die hohe NaCl-Konzentration im Substrat und der demgegenüber langsame Anstieg der NaCl-Konzentration in Sproß und Blatt, deuten auf Ultrafiltrationsprozesse in der Wurzel hin. Die dadurch erfolgte Verminderung der Natriumkonzentration in den oberirdischen Pflanzenteilen ist ein Faktor für hohe Salztoleranz. Ständige hohe NaCl-Gaben führten im Laufe des Versuchs zu einer Abnahme von Magnesium und Kalzium im Blattgewebe der Hochsalzvariante gegenüber der Kontrolle. Insgesamt hatte die hohe NaCl-Belastung aber keine Auswirkung auf die Magnesium- und Kalzium-Homöostase, und es traten keine Mangelerscheinungen auf. Die Mobilisation des Kalzium-Pools, erkennbar an der Abnahme der Kalzium-Oxalatkristalle (Kap. 3.2.5.4.1), scheint besonders in den Schwammgewebszellen die hohe Chlorkonzentration in diesen Zellen abzapfen zu lassen. Diese Pool-Bildung ermöglicht es *Laguncularia*, bei vorübergehend extremen Salzbelastungen Mangelerscheinungen vorzubeugen und bildet einen erheblichen Selektionsvorteil gegenüber anderen Halophyten.

Wirtschaftliche Nutzung

Laguncularia hat aufgrund des sehr ausgeprägten Sekundärstoffwechsels keine sehr große Bedeutung für die Tierernährung an Standorten wie z. B. Florida (USA). In Küstenwüsten von Entwicklungsändern stellt *Laguncularia* diesbezüglich eine erwägenswerte Alternative dar, weil nicht viele andere Pflanzen diesen Extremstandort ertragen können.

Durch Salzwasserbewässerung wurde die Bildung von Phenolen und Tanninen negativ beeinflusst. Es war eine Zunahme des Proteingehaltes und eine Tendenz zur Kohlenhydratspeicherung im Blatt von *Laguncularia racemosa* unter NaCl-Belastung festzustellen. Die Salzwasserbewässerung wirkte sich dahingehend positiv auf das Nutzungspotential als Futterpflanze aus.

Das hohe NaCl-Angebot in der Bodenlösung hat negative Auswirkungen auf die Tierernährung. Die daraus folgenden extrem hohen NaCl-Konzentrationen und die Abnahme der Mineralstoffe (Magnesium und Kalzium) im Blatt wirken sich negativ auf den Nährwert der Pflanze aus.

Die ausschließliche Ernährung von Herbivoren mit Pflanzenteilen von *Laguncularia racemosa* kann deshalb nicht empfohlen werden. Auch die unter Salzbelastung noch vorhandene Konzentration an Phenolen und Tanninen wurde sich bei Alleinfütterung der Pflanze ungünstig auf die Produktivität und Gesundheit der Tiere auswirken.

Der kombinierte Anbau von *Laguncularia* mit anderen Halophyten und wertvollen Futterpflanzen wäre ein durchaus praktikables Modell, um die Pflanze unter Salzwasserbewässerung für die Tierernährung zu nutzen. Ebenso wäre eine Nutzung durch Silierung der sukkulenten und wenig schmackhaften Blätter mit Zusatzstoffen und wertvollen Pflanzen möglich.

Aber auch der Schatten, den *Laguncularia* den Tieren gerade in den Küstengebieten der Wüsten bieten konnte, wäre für die Tiergesundheit ein wesentlicher Gesichtspunkt.

Ein weiterer wirtschaftlicher Aspekt wäre die Nutzung aller Pflanzenteile zum Gerben von Tierhäuten. Das leicht mit der Hand zu gewinnende Holz der Pflanze kann als Bau- oder Brennholz verwendet werden. Die pharmazeutische Nutzung der sekundären Inhaltsstoffe wäre ein weiterer interessanter Gesichtspunkt.

6. Summary

Influence of salt stress on the morphology, physiology and the economic use of the White mangrove *Laguncularia racemosa* (L.) GAERTN f

Ludger Wegmann

Reaction of *Laguncularia* to high NaCl salinity

Laguncularia racemosa (L.) Gaertn f, the White mangrove, was chosen for investigation. The natural environment of *Laguncularia* is the mangal on sandy and muddy soil with temporary flooding by sea water. At this location the plant is characterized by its high salt tolerance.

In the United Arab Emirates (UAE) *Laguncularia racemosa* is used for greenification of deserts near the coast and was cultivated with sea water drip irrigation (2 hours daily).

In this study these conditions were imitated by a culture system based on a sand peat mixture. The plants were cultivated in a greenhouse, to achieve standardized results. Parallel young plants were irrigated without NaCl (control) or with NaCl (500 mol x m⁻³ NaCl) in the base solution (modified after Epstein, 1972).

The aim of the study was to investigate morphological, cytological and physiological changes of *Laguncularia racemosa* during development under high NaCl stress. On the base of these results, the economic benefit of *Laguncularia racemosa* cultivated with high salinity irrigation will be discussed.

Structural changes in leaf anatomy between the controls and salt stressed plants were documented by light and electron microscopical studies (TEM and SEM). Comparative analysis during the development of the physiological parameters like growth, water relations, chlorophyll contents, element composition (K⁺, Na⁺, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ and Cl⁻) and nutrient contents (e.g. protein, carbohydrate) were performed. In addition to tissue analysis, element contents and distribution (e.g. in the leaf) were measured by energy dispersive X-ray microanalysis at a scanning electron microscope. Further, the influence of high NaCl salinity on the quantity and composition of secondary compounds was studied.

Structure and growth

The reaction of *Laguncularia* to high NaCl salinity was a reduction in growth rate and leaf area.

The necessary pest control with the systemic insecticide ³Metasystox R destroyed the high salinity plants, the control plants survived insecticide treatment. For the economic use of *Laguncularia* at high salinity habitats it could be very important to take this sensitivity into consideration, when dosing a pesticide.

The number of stomata and salt glands per leaf area were also increased in the salt stressed plants. The shown increase in the number of salt glands with increased salt stress at physiological environmental conditions (low water potential in the air) allows a rapidly fill up of the CO₂ store in leaf intercellulares by low water loss.

The structure of the leaf is bifacial, because of the arrangement and morphology of the palisadeparenchym (chapter 3 2 3 5 and 3 2 4 3)

The high salinity plants showed morphological changes at high NaCl stress by an increase in succulence and a development of an interal water tissue Chloride was responsible for the increase in succulence, which was shown impressive by EDX-analysis

EDX-analysis also demonstrated that the microscopic small glands on the leaf surface of *Laguncularia* are secreting high amounts of sodium and chloride At low NaCl supply the glands were secreting abovementioned elements, different other elements and organic combinations This points out that the glands have a low ion-selectivity Because of these results *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn f., the White mangrove, is a salt-secreting mangrove So it is advisable to redefine the microscopic small gland on the leaf surface as a salt gland

Low NaCl concentrations in the irrigation water were leading to degeneration of the salt glands by bacterial attack Secretion of NaCl protected the salt gland against bacterial attack, especially in warm and humid climates

High salinity caused an expansion of the intercellulares and the vacuoles of the terminal cells In the basal and terminal cells NaCl stress was leading to an increase in cell wall protuberances In the epidermis and spongy parenchym cells of the NaCl treated plants an increase in vesicles was detected Both, the enhanced production of cell wall protuberances and vesicles under NaCl stress were interpreted as an increase in exchange capacity and transport rate Further, the increase in vesicles points to an enhancement of the store activity High salinity in the soil leads to a plastic expansion and an increase of thickness of the cell walls in the spongy parenchym This could be an environmental advantage for the plant during water stress The changes of leaf structure under high NaCl salinity in the soil were corresponding to the reactions of other halophytes, and are interpreted as adaptations to habitats with high salinity, necessary to survive excessive NaCl concentrations

Physiology

The experiments of salt stress resulted in an increase in the chlorophyll a/b ratio and enabled *Laguncularia* to cover the high energy demands for the adaptation to salt stress

The contents of soluble proteins increased with rising NaCl stress, which could be interpreted as sign for high salt tolerance in this mangrove

The tendency of carbohydrate accumulation in the leaf could be seen as an adaptation to salt stress The constant lower carbohydrate contents in the root of NaCl treated plants compared to the controls were interpreted as the result of energy consuming processes like selective ion uptake or transport processes The rising salt gland activity of salt stressed plants could be another energy consuming aspect

The negative influence of high salinity in the soil on secondary compound metabolism (phenol, hydrolyzed or condensed tannins) of the NaCl stressed plants could be another sign for high energy consuming processes

With advancing experimental course, the high salinity plants were also increasing osmotic potential (mOsmol) and decreasing water potential (MPa) by the increase in sodium, chlor and other osmotically active substances After six weeks, the water potential of the NaCl stressed plants was lower than the water potential of the soil allowing the plant to assimilate water In this respect it was remarkable that in spite of the high sodium concentrations in the soil, the salt treated plants had selectively taken up potassium

The prompt adaptation of the root to high NaCl concentrations in the soil and the slow increase of the NaCl contents in shoot and leaf indicates ultrafiltration in the root. The reduction of sodium by functional regulation mechanisms in shoot and leaf points to a high salt tolerance of *Laguncularia*.

Permanent high NaCl concentrations in the soil during development caused a decrease of calcium and magnesium in the leaf tissue of salt stressed plants. In summary high salinity had no influence on magnesium and calcium homeostasis and no deficiency symptoms were observed. The mobilisation of the calcium pool, noticed by a decrease of calcium oxalate crystals (chapter 3.2.5.4.1), could function in the spongy parenchyma cells as a buffer of high chlor concentrations in these cells. These pools give *Laguncularia* the opportunity to tolerate temporary extreme high salt stress without deficiency symptoms. This is a considerable selection advantage in contrast to other halophytes.

Economic usefulness

Laguncularia has only little importance for animal nutrition in regions like e.g. Florida (USA), because of its high secondary compound metabolism. In deserts near the coast of developing countries *Laguncularia* can be a considerable alternative, because only a few other plants tolerate such environmental conditions.

Salt water irrigation had a negative influence on the development of phenols and tannins. In the leaf of *Laguncularia racemosa* soluble proteins increased and a tendency of carbohydrate accumulation under NaCl stress was noted. In the view of the aspects here salt water irrigation has a favourable effect on the use of this plant as animal food.

The extreme high NaCl concentrations in the leaf of the plant and the decrease of magnesium and calcium are negative aspects for animal nutrition, induced by high soil salinity. Therefore, the exclusive nutrition of herbivores with parts of *Laguncularia racemosa* cannot be recommended. Additionally, the concentration of secondary compounds under salt stress have negative effects on the productivity and health of the animals.

The combination of the species with other halophytes and valuable crops would be a practicable model to use the plant as animal food under salt water irrigation. In the same way it could be possible to use the not tasty succulent leaves by silage with valuable crops and additional substances.

Another important point of view for animal health in coastal deserts is that livestock can use the shade of *Laguncularia*.

The use of all plant tissues for tanning animal skins could be a further economic aspect. The timber of the plant that is easily obtained by hand can be used as fuel or construction material.

The pharmacological use of secondary compounds of *Laguncularia* could be also very important.