



Johannes Reinhart, \*1995

Schule:  
Hans-Thoma-Gymnasium, Lörrach

Eingang der Arbeit:  
Oktober 2013

Zur Veröffentlichung angenommen:  
November 2013

## Pflanzliche Selbstheilung unter dem Mikroskop

### Der Regenerationsprozess epicuticularer Wachse analysiert mithilfe von Rasterkraftmikroskopie

Eine dünne Wachsschicht schützt Pflanzenblätter vor Schäden. Doch was passiert, wenn dieser Schutz beschädigt wird? Mithilfe von Rasterkraftmikroskopie können Blattoberflächen nach Entfernen des Wachses beobachtet werden. Dabei zeigt sich, dass viele Pflanzen ihre Wachsschicht erneuern können. Die Geschwindigkeit dieses Reparaturprozesses hängt von verschiedenen Umweltbedingungen wie Licht und Trockenheit ab.

#### 1 Einleitung

Das Problem von zerkratzten Smartphonedisplays ist bekannt, oft weisen Handy-, Ipod-Displays oder Uhrengläser nach längerer Nutzung oder Aufbewahrung in der Hosentasche hässliche Kratzer auf. Auch Blätter von Pflanzen sind mechanischen Belastungen und Einwirkungen ausgesetzt und müssen dadurch entstandene Schäden reparieren. Wie funktioniert dieser Prozess und von welchen Umweltbedingungen hängt er ab?

Die Oberfläche von Blättern stellt eine vielfältige Verbindung zwischen der Pflanze und ihrer Umgebung dar. Sie erfüllt wichtige Funktionen wie Schutz vor Wasserverlust, mechanischer Beschädigung oder energiereicher Strahlung. Dazu befinden sich Wachse auf Pflanzenteilen wie Blättern oder Früchten, die manchmal als reifartige Substanz (bei-

spielsweise auf Pflaumenfrüchten) sichtbar sind. Werden die Wachse beschädigt, müssen sie von der Pflanze neu gebildet werden. Dieser Regenerationsprozess spielt sich im Nanometerbereich ab. In der Wissenschaft war es lange Zeit nicht möglich, sich Einblicke in die Welt dieser Größenordnung zu schaffen. Die Auflösung von Lichtmikroskopen ist aufgrund physikalischer Eigenschaften des Lichtes auf  $0,2 \mu\text{m}$  begrenzt. Es erforderte komplexere und hochentwickelte Techniken, um in die Nanowelt vorzudringen. Mithilfe von Rasterelektronen- und Rastertunnelmikroskopie ist dies heutzutage möglich. Jedoch stellen sich diesem Verfahren Limitierungen: Eine elektrisch leitende und unbewegliche Oberfläche ist erforderlich. Aufnahmen von Zellen oder Ähnlichem können so nur mit enormem Präparationsaufwand (Schockgefrieren, mit Gold beschichten, ...) gemacht wer-

den. Eine neuere Technik, die Rasterkraftmikroskopie, ermöglicht es, starre Objekte, die auch nicht elektrisch leiten, zu mikroskopieren. Häufig wird dieses in der Physik verwendet, um kleinste Nanopartikel zu untersuchen. Das Mikroskopieren von biologischen oder sogar lebenden Objekten ist aufgrund der damit verbundenen Schwierigkeit nicht weit verbreitet. Das Rasterkraftmikroskop bietet jedoch die einzige Möglichkeit, biologische Gebilde in ihren kleinsten Details zu beobachten, ohne diese dabei zu zerstören. Deshalb habe ich mich der Herausforderung gestellt, den dynamischen Prozess des Nachwachsens der Wachse auf lebenden Pflanzenblättern mithilfe eines Rasterkraftmikroskopes zu untersuchen. Erkenntnisse hieraus können die Grundlage für mögliche technische Anwendungen zur Selbstreparatur von künstlichen Oberflächen bilden.

Dies würde eine äußere Schicht voraussetzen, welche wachsartige Stoffe speichert und bei Beschädigung freilassen oder neu synthetisieren kann. Wie solch ein Prozess funktionieren könnte, kann man in der Natur genauer beobachten.

Um den Selbstheilungsprozess der Wachsschicht nachweisen zu können, habe ich die Wachse von der Blattoberfläche entfernt, und die nachwachsende Wachsschicht über mehrere Tage beobachtet. Die mikroskopischen Aufnahmen sollen zeigen, wie das Nachwachsen der Wachse abläuft. Bei wenigen Pflanzen wie der *Euphorbia lathyris* oder dem *Ipheion uniflorum* wurde bereits mithilfe von AFM-Untersuchungen eine Wachsneubildung festgestellt [5, 11]. In meiner Arbeit wird die Neubildung von Wachs bei weiteren Pflanzen gezeigt, sowie Untersuchungen zur Struktur der epicuticularen Wachse. Außerdem wird untersucht, wie die Pflanze bei veränderten Umweltbedingungen die Wachsproduktion ändert. Dazu wurde der Versuch mehrmals bei unterschiedlichen Umweltbedingungen durchgeführt. Reaktionen auf veränderte Umweltfaktoren können Aufschluss über Anpassungsprozesse der Pflanze an von der Umgebung bedingten Gegebenheiten geben [10].

## 2 Theoretische Grundlagen

### 2.1 Aufbau der pflanzlichen Cuticula

Die Cuticula ist eine dünne Schicht aus Polysacchariden, Cutin und Wachsen, die auf den äußersten Zellen primärer pflanzlicher Gewebe aufliegt (siehe Abb. 1). Auf ihr befinden sich weitere, sogenannte epicuticulare Wachse [1]. Die Cuticula bildet eine Barriere zur Verminderung der Transpiration, dem Wasserverlust durch Verdunstung. Außerdem bietet sie Schutz vor Mikroorganismen und Verletzungen durch mechanische Einwirkungen. Wächst die Cuticula schneller als die darunterliegende Zellschicht, faltet diese sich zu Cuticularfältelungen auf, was bei einigen Pflanzen zu einer geringeren Benetzbarkeit der Blattoberfläche führt [6].

### 2.2 Chemische Zusammensetzung der Wachse

Im Allgemeinen wird der Begriff Wachs für eine Vielzahl von natürlichen oder künstlichen Produkten verwendet, die in der chemischen Zusammensetzung sehr unterschiedlich sein können, aber gemeinsame Eigenschaften wie Knet-

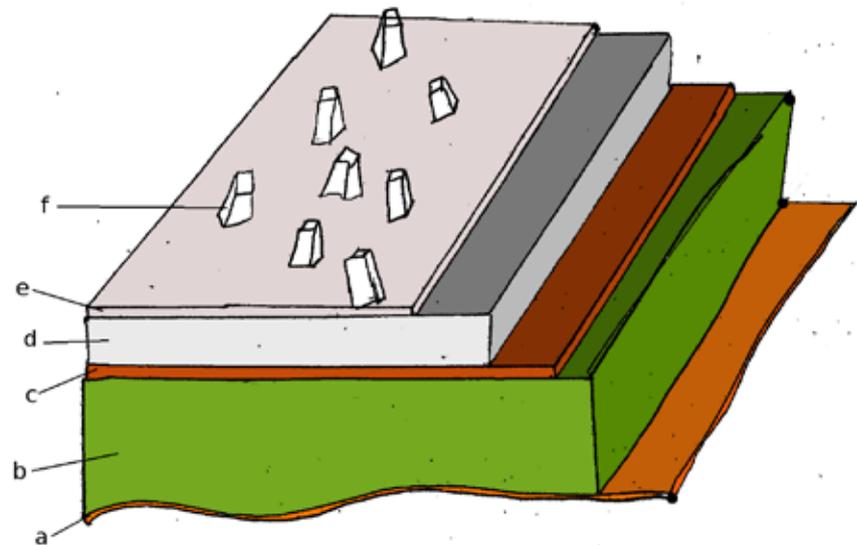


Abb. 1: (Modell modifiziert nach W. Barthlott) Schichtung der pflanzlichen Cuticula: Das Schema zeigt die äußersten Schichten der Epidermis von Pflanzenblättern. Die Wachsschicht ist hier als Wachsfilm (e) mit Wachskristallen (f) dargestellt. Darunter befindet sich die Cuticula (d) mit intracuticularen Wachsen. Diese ist mit der sich darunter befindenden Zellwand (b) durch Pektin (c) verbunden. Darunter liegt die Zellmembran (a) der äußersten Zelle.

barkeit bei Raumtemperatur, eine grobe bis feinkristalline Struktur und farbliches Durchscheinen sowie Polierbarkeit aufweisen [2]. Auch die meisten pflanzlichen Wachse besitzen diese Eigenschaften. Die Wachse von Pflanzenblättern bestehen hauptsächlich aus aliphatischen Kohlenwasserstoffen und deren Derivaten mit Kettenlängen von 20 bis 40 und, im Falle von Estern, bis zu 60 Kohlenstoffatomen. Unter ihnen findet man hauptsächlich Alkohole, Ketone, Fettsäuren und Aldehyde. Alkane und zyklische Verbindungen sind in geringer Menge vorhanden [3]. Weitere Bestandteile bestimmen Form und Eigenschaften der Wachskristalle, welche sich bei verschiedenen Pflanzen stark unterscheiden können. Für Mikroorganismen toxische Komponenten der Wachse schützen vor Befall [12]. Die chemische Zusammensetzung der Wachse bestimmt außerdem die Benetzbarkeit der Blattoberfläche. Durch hydrophobe Bestandteile wird die Benetzbarkeit durch Wasser verringert. Dieser Effekt kann durch die Struktur der Wachse verstärkt werden.

### 2.3 Morphologie der Wachse

Epicuticulare Wachse unterscheiden sich sehr in Struktur und Aufbau. Man unterscheidet zwischen dünnen Wachsfilm, Wachsschichten und Wachskristallen. Wachsfilm sind oft nur wenige Nanometer dünn und bestehen aus nur wenigen Molekülschichten. Sie liegen direkt

auf der Cuticula auf. Wachsschichten sind mehrere Mikrometer dicke Schichten, die oft Brüche aufweisen, welche entstehen, wenn die darunterliegende Cuticula schneller wächst als die Wachsschicht. So können einzelne Wachsböcke entstehen. Solche konnte ich bei der *Kalanchoe blossfeldiana* (Kap. 4.1 Abb. 8d) nachweisen. Wachskristalle treten in unterschiedlichen Formen auf, so können sich Plättchen, Stäbchen, Röhrchen oder Blöcke bilden [4]. Die unterschiedlichen Formen basieren auf Unterschieden in der chemischen Zusammensetzung [5]. Aus der Struktur der Wachse resultieren wichtige Eigenschaften der Blattoberfläche, beispielsweise kann die Benetzbarkeit verringert werden.

### 2.4 Funktion der epicuticularen Wachsschicht

Die Oberfläche von Pflanzenblättern stellt den Übergang zur umgebenden Umwelt der Pflanzen dar. Sie verleiht der Pflanze überlebenswichtige Fähigkeiten, die aus den chemischen Eigenschaften der Wachse und deren Nanostrukturen (Kap. 2.2) resultieren. Die epicuticularen Wachse bilden eine Barriere als Schutz gegen Wasserverlust durch Verdunstung. Diese Barriere schützt auch vor schädlichen Mikroorganismen. Die Wachse sind hydrophob und verringern damit die Benetzbarkeit der Blätter. Die aus den Nanostrukturen der Wachse resultierende Rauigkeit der Oberfläche unter-

stützt diesen Effekt. Auch die Adhäsion von Schmutzpartikeln oder eventuellen schädlichen Mikroorganismen wird durch die raue Oberfläche verringert. Zusammen resultiert daraus ein Selbstreinigungseffekt: bei Regen rollen Wassertropfen leicht von der Blattoberfläche ab und nehmen dabei Schmutzpartikel mit. Dieser Prozess wird oft als Lotuseffekt bezeichnet, da er an der Lotuspflanze besonders stark ausgeprägt ist. Eine weitere Eigenschaft der Wachse ist die Reflexion und Absorption von energiereicher Strahlung. Sie bieten des weiteren Schutz gegen mechanische Belastungen. Eine weitere besondere Eigenschaft ist, dass bei einem vorbeiziehenden Luftstrom durch die Oberflächenrauheit Turbulenzen entstehen, die einen besseren Wärmeaustausch mit der Umgebung ermöglichen und die Oberfläche abkühlen [6].

## 2.5 Selbstheilungsprozess

Der Selbstheilungsprozess ist eine wichtige Eigenschaft, um eine ständige Wachsschutzschicht aufrechtzuerhalten. Wenn Wachse beispielsweise durch mechanische oder chemische Einwirkungen entfernt werden, werden diese von der Pflanze regeneriert, meist jedoch unvollständig.

Pflanzenwachse werden in den Epidermis-Zellen hergestellt. Der Transportmechanismus der Wachse durch die Zellwand und Cuticula ist von der Wissenschaft noch nicht ganz geklärt. Manche Hypothesen gehen davon aus, dass die Wachse aus Poren in der Cuticula kommen, solche konnte man jedoch nicht nachweisen [1]. Es wird vermutet, dass Lipidmoleküle und Bestandteile der Wachse einzeln durch die Cuticula durch bestimmte Kanäle diffundieren und sich später selbst zusammensetzen [1]. Da durch die Neubildung von Wachs die Wachsschicht ein dynamisches Gebilde und keine feste konstante Barriere darstellt, stellt sich die Frage, wie sehr diese an regulierenden Prozessen beteiligt ist; Deswegen soll in dieser Arbeit unter anderem die Änderung des Selbstheilungsprozesses bei unterschiedlichen Umweltbedingungen untersucht werden.

## 3 Vorgehensweise, Methoden

### 3.1 Rasterkraftmikroskopie

Um den Selbstheilungsprozess qualitativ und quantitativ untersuchen zu können, habe ich ein Rasterkraftmikroskop ver-

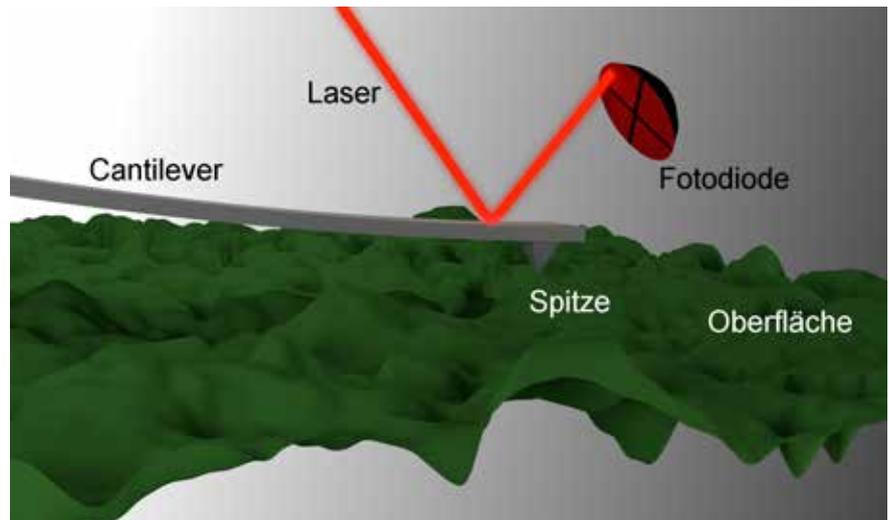


Abb. 2: Funktion eines Rasterkraftmikroskops.

wendet. Dieses bietet gegenüber einem normalen Lichtmikroskop den Vorteil einer hohen Auflösung im Nanometerbereich und die Möglichkeit, Strukturen in Länge und Höhe zu vermessen. Auch sind keine besonderen Vorbereitungen - wie eine aufwändige Beschichtung wie es bei anderen Rastersondenmikroskopen der Fall ist - notwendig. Ich habe ein easyScan-2-AFM-System der Firma Nanosurf verwendet.

Ein Rasterkraftmikroskop (engl.: Atomic Force Microscope [AFM]) ist ein hochauflösendes Rastersondenmikroskop (engl.: Scanning Probe Microscope [SPM]). Es verwendet eine dünne Nadel, die am Ende eines Biegebalkens, Cantilever genannt, befestigt ist (siehe Abb. 2). Die Nadel berührt die Oberfläche. Die Kraft, die dabei aufgewandt wird, kann gemessen werden. Das Mikroskop regelt die Position der Nadel so, dass die auf die Oberfläche ausgeübte Kraft konstant bleibt, indem es den Cantilever entweder in Richtung Oberfläche bewegt, oder von ihr weg. Bewegt sich die Spitze über die Oberfläche, kann ein Höhenfeld erstellt werden, das das Höhenprofil der gemessenen Oberfläche darstellt. Eine solche Aufnahme dauert je nach Auflösung und Bildgröße etwa 5 bis 30 min. Mit dem easyScan-2-AFM-System ist es möglich, in zwei verschiedenen Modi zu messen. Im Contact-Mode berührt der Cantilever die Oberfläche. Dabei wird dieser verbogen. Ein Laser, der vom Cantilever reflektiert wird, trifft auf einen Photodetektor, sodass die Verbiegung gemessen werden kann. Im Tapping-Mode dagegen schwingt der Cantilever mit seiner Resonanzfrequenz. Die Amplitude der

Schwingung nimmt bei kleiner Distanz zur Oberfläche ab. So lässt sich auf das Profil der Oberfläche schließen. Der Tapping-Mode hat den Vorteil, dass sowohl Oberfläche als auch Cantilever wenig durch die Messung abgenutzt werden. Ich habe den Tapping-Mode bevorzugt verwendet.

### 3.1.1 Software

Die Software Nanosurf EasyScan 2 Control steuert das Mikroskop an und speichert die aufgenommenen Höhenprofile als .nid Dateien ab. Diese können mithilfe von Bearbeitungsprogrammen, wie Gwyddion (Gwyddion 2.30 - Free SPM data analysis software: Modular aufgebaute Software zum Analysieren und visuellem Darstellen der Daten von Rastersondenmikroskopen. Quelle: <http://gwyddion.net/>) in Bilder umgewandelt werden.

Wichtig ist es, die Messparameter optimal einzustellen, damit die Bilder möglichst scharf und genau werden. Darunter sind u.a. die Messgeschwindigkeit, Bildgröße, Auflösung und die Angaben zur Regelung der Höhe des Cantilevers. Ein wichtiger Messparameter ist die Messgeschwindigkeit. Wird der Cantilever zu langsam über die Blattoberfläche gezogen, dauert eine Messung zu lange und es kann zu einem sogenannten Drift kommen. Wird der Cantilever zu schnell über die Oberfläche gezogen, so kommt es zu Schwingungen der Nadel und das Oberflächenprofil kann nicht exakt bestimmt werden. Ich habe daher bei meinen Messungen besondere Sorgfalt auf diese Einstellung gelegt. Die Größe des abzuscannenden Bereiches (Image Size)

soll einen Überblick über möglichst viele Wachskristalle geben, aber auch die Möglichkeit bieten, einzelne Wachsinselfen zu unterscheiden. In meinen Messungen betrug die Messfläche  $6,3 \mu\text{m} \times 6,3 \mu\text{m}$ . Die Auflösung (Points/Line) habe ich möglichst hoch eingestellt. Dabei musste ich beachten, dass durch eine Erhöhung der Auflösung eine längere Messdauer bedingt wird.

Bei dem Scannen der Blattoberfläche versucht die Software des Rasterkraftmikroskops, den Abstand des Cantilevers zur Oberfläche konstant zu halten. Je nach Oberflächenstruktur wird die Nadel von der Fläche weiter weg, beziehungsweise näher hin bewegt. Dabei wird ein PID-Regelkreis verwendet, dessen einzelne Komponenten (Gains) individuell angepasst werden können. Der Setpoint gibt den Sollwert an. Hierbei ist zu beachten, dass zu hohe Gains künstliche Schwingungen erzeugen können. Diese werden gegebenenfalls als Artefakte auf den Bildern sichtbar. In Tabelle 1 habe ich die für meine Versuche optimalen Messparameter zusammengefasst.

### 3.1.2 Artefakte

Die Messungen mit dem AFM können durch verschiedene Faktoren gestört werden. Dies führt in den Aufnahmen/Bildern zu Verfälschungen und Fehlern, sogenannten Artefakten. Um die Bilder richtig interpretieren zu können, ist eine genaue Analyse der Fehlermöglichkeiten nötig. Im Folgenden soll auf die am häufigsten vorgekommenen Artefakte näher eingegangen werden:

**Drift** entsteht, wenn sich die zu scannende Probe während des Messvorganges bewegt, oder sich durch thermische Ausdehnung verändert. Gescannte Objekte erscheinen dann verzerrt (siehe Abb. 3a). Durch schnelleres Scannen und gutes Fixieren der Probe kann der

Setpoint	55 % - 65 %
I-Gain	800 - 1500
P-Gain	1000 - 1200
D-Gain	0
Time/Line	1,7 s - 2 s
Image Size	$6,3 \mu\text{m} \times 6,3 \mu\text{m}$
Points/Line	256 - 512

Tab. 1: Messparameter

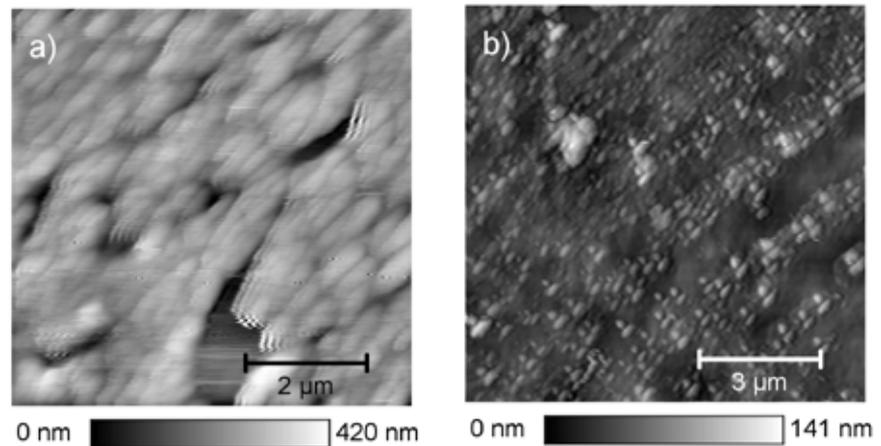


Abb. 3: Artefakte: a) AFM-Aufnahme einer Blattoberfläche mit Drift, Objekte erscheinen länglich und nach rechts oben gezogen. b) AFM-Aufnahme einer Blattoberfläche mit einem Cantilever mit doppelter Spitze, Objekte und Strukturen treten doppelt auf.

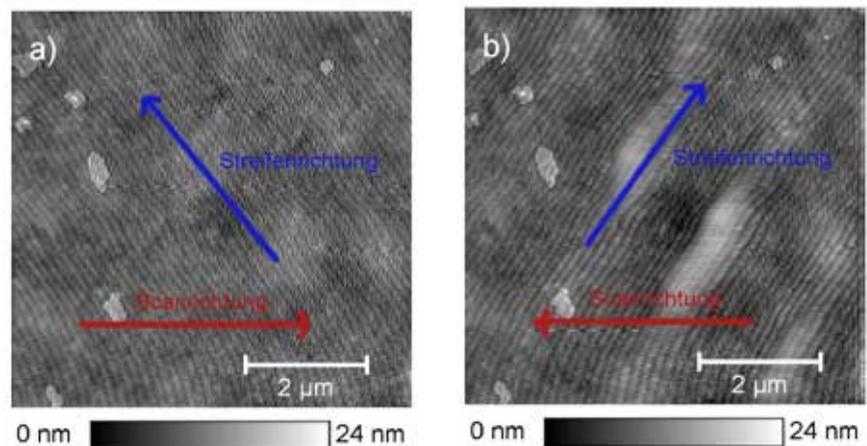


Abb. 4: a) AFM-Aufnahme mit 50 Hz - Schwingung, es entsteht ein streifenartiges Muster von rechts unten nach links oben. Die Scanrichtung war hier von links nach rechts. b) AFM-Aufnahme des Bildausschnittes mit umgekehrter Scanrichtung, Scanrichtung von rechts nach links, die Streifen zeigen in die andere Richtung

Drift zum größten Teil behoben werden. Oft werden, wenn das Mikroskop einige Zeit gescannt hat, die Bilder automatisch besser. Die Bearbeitungssoftware Gwyddion bietet Funktionen zum automatischen Erkennen und Kompensieren dieses Driftes in bereits durchgeführten Aufnahmen an. Bei den Messungen ist darauf zu achten, dass die Nadel sehr spitz ist. Ist die Spitze des Cantilevers stumpf, so werden auch die Aufnahmen unscharf. Unter Umständen kann es auf dem Cantilever Doppelspitzen geben, sodass Objekte doppelt erfasst werden. Insbesondere nach längeren Scanvorgängen kann dies auftreten. Auf dem Bild sind Objekte dann zweifach vorhanden (siehe Abb. 3b).

Unter Umständen können bei Scanvorgängen **Schwingungen** des Cantilevers auftreten. Diese können durch elektromagnetische Schwingungen aus der

Umgebung, sowie Vibrationen des Bodens oder auch größere vibrierende Geräte in der Umgebung des Mikroskops verursacht werden. Auch die künstliche Beleuchtung von an Wechselstrom angeschlossenen Lichtquellen verursacht solche Schwingungen. Eine weitere Ursache von Schwingungen sind zu hohe Gain-Einstellungen im Regler des Mikroskops. Diese Schwingungen sind dann als Streifen in den Aufnahmen zu erkennen (siehe Abb. 4). Um ein möglichst schwingungsfreies Bild zu bekommen, habe ich den Versuch in einem Kellerraum durchgeführt. Das Rasterkraftmikroskop stand zusätzlich auf einem schwingungsdämpfenden Tisch.

### 3.2 Auswertung der Bilder

Die durch die Messung entstandenen Höhenprofile wurden mit der Software Gwyddion ausgewertet. Diese kann .nid-Dateien öffnen und daraus

zwei- und dreidimensionale Ansichten als Bilder anzeigen. Gwyddion bietet Tools zum Bearbeiten und Analysieren der Messungen. So können Querschnitte des Oberflächenprofils als Graphen angezeigt oder auch die Größe einzelner Strukturen ausgemessen werden. Dadurch konnte beispielsweise die prozentuale Wachsbedeckung der Oberfläche ermittelt werden. Mit Gwyddion kann auch gegebenenfalls Drift kompensiert oder auftretende Schwingungen mittels FFT-Filter entfernt werden. Die entstandenen Bilder wurden zu Präsentationszwecken mit dem Bildbearbeitungsprogramm Gimp (GNU Image Manipulation Program. Quelle: <http://www.gimp.org/>) weiterverarbeitet. So konnten Details hervorgehoben und wichtige Stellen markiert werden. Die aus den Bildern gewonnenen Daten, wie Bedeckung der Oberfläche oder Anzahl der Wachsinseln, wurden mit dem Messdatenprogramm Gnuplot (Gnuplot 4.6: Kommandozeilengesteuertes Programm zur graphischen Darstellung von Messdaten. Quelle: <http://www.gnuplot.info/>) graphisch dargestellt.

### 3.3 Auswahl der Pflanzen

Ich habe für meine Versuche verschiedene Pflanzen nach folgenden Kriterien ausgewählt: Verfügbarkeit, Handhabbarkeit (nicht zu groß), glatte Blattoberflächen (um einfaches Mikroskopieren zu ermöglichen), sowie Biegsamkeit der Blätter (zur optimalen Montage am Rasterkraftmikroskop). Dabei habe ich darauf geachtet, dass die Pflanzen aus unterschiedlichen Pflanzenfamilien stammten. Im Einzelnen habe ich die in Tab. 2 aufgelisteten Pflanzen verwendet. Alle AFM-Messungen wurden auf der Blattoberseite durchgeführt.

### 3.4 Versuchsaufbau

Da die Versuche den möglichst natürlichen Prozess der Regeneration der Wachsschicht aufzeigen sollten, wurden die Blätter zum Mikroskopieren nicht von der Pflanze abgetrennt. Dazu musste das Pflanzenblatt möglichst gut fixiert werden, um Artefakte zu vermeiden. Das Blatt habe ich am Probenhalter mithilfe von doppelseitigem Klebeband befestigt. Darüber wurde das Mikroskop gestellt und mithilfe der drei Stellerschrauben an die Probe möglichst nahe angenähert (siehe Abb. 5). Cantilever des Typs Tap190Al-G von der Firma

Art	Familie	dt. Name
<i>Calathea rosea</i>	<i>Marantaceae</i>	Korbmarante
<i>Scindapsus aureus</i>	<i>Araceae</i>	Efeutute
<i>Kalanchoe blossfeldiana</i>	<i>Crassulaceae</i>	Flammendes Käthchen
<i>Hedera helix</i>	<i>Araliaceae</i>	Gemeiner Efeu
<i>Phalaenopsis bellina</i>	<i>Orchidaceae</i>	Orchidee
<i>Dracaena marginata</i>	<i>Asparagaceae</i>	Drachenbaum
<i>Galanthus nivalis</i>	<i>Amaryllidaceae</i>	Schneeglöckchen

Tab. 2: Untersuchte Pflanzen und ihre Familien.

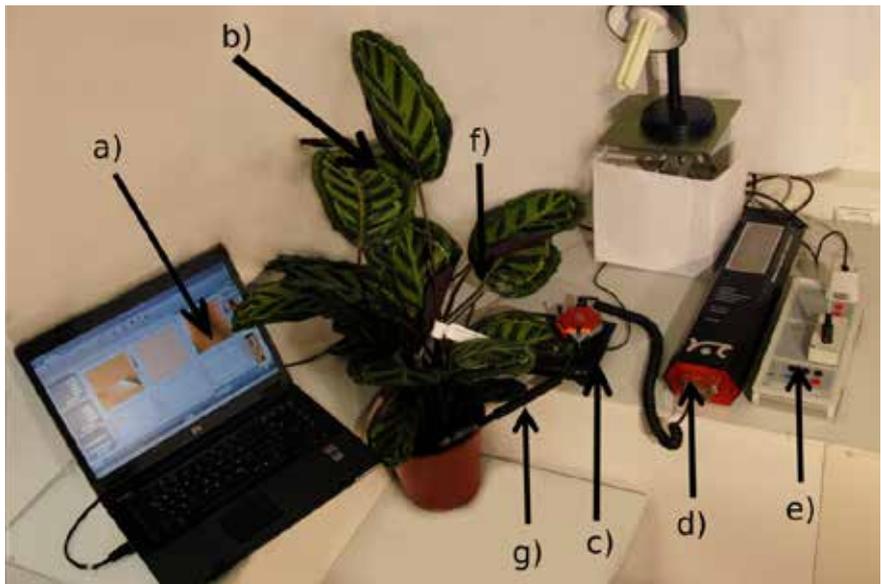


Abb. 5: Versuchsaufbau: a) Computer, b) Pflanze, c) Rasterkraftmikroskop, d) Steuereinheit, e) Cassy, f) Lux-Sensor, g) Feuchtesensor.

NanoAndMore GmbH wurden für die Messungen verwendet.

#### 3.4.1 Entfernen der Wachsschicht

Um eine Regeneration beobachten zu können, musste die Oberfläche beschädigt werden. Dazu habe ich mit unterschiedlichen Methoden versucht, die bestehende Wachsschicht zu entfernen:

- **Chemische Methode:** Mit Dichlormethan kann ein Großteil der Wachse gelöst werden. Durch kurzes Eintauchen in Dichlormethan wurden die Blätter jedoch so stark beschädigt, dass eine Regeneration der Wachse nicht mehr möglich war. Ein einfaches Abwischen der Wachse mit Dichlormethan konnte diese hingegen nur teilweise entfernen. Das gleiche Verfahren mit Methanol zeigte ähnliche Ergebnisse.
- **Mechanische Methode:** Durch Auftragen eines kleinen Tropfens (Durch-

messer 1,5 cm) von Klebstoff war es möglich, die Wachse nach Trocknen des Klebers vollständig zu entfernen (siehe Abb. 6). Am besten eignete sich hierfür UHU Plus Schnellfest 2K-Epoxidkleber. Um eine vollständige Entfernung der epicuticularen Wachse zu erreichen, wurde dieser Prozess zweimal durchgeführt (Methode nach Koch [5]).

#### 3.4.2 Variation von Umweltfaktoren

Ein Großteil der Untersuchungen bestand darin, die Änderung des Wachregenerationsprozesses bei veränderten Umweltfaktoren zu beobachten. Dazu habe ich Beleuchtungsstärke und Bodenfeuchte verändert. Um die Veränderung quantitativ bestimmen zu können, wurde für die Beleuchtungsstärke ein Lux-Sensor (LEYBOLD 666 243 LUX-SENSOR) und für die Bodenfeuchtigkeit ein Feuchtesensor (Feuchte-Sensor S 524 0572) verwendet. Dieser enthielt zusätzlich einen Temperatursensor,

durch den eine Temperaturkontrolle möglich war. Die Sensoren waren an das Messwerterfassungssystem Cassy angeschlossen.

Die Bodenfeuchte habe ich durch unterschiedliche Wasserzufuhr geregelt. Die Beleuchtungsstärke konnte mithilfe von Energiesparlampen gesteuert werden. Dazu wurden zwei 30 Watt OSRAM Dulux intelligent longlife Glühbirnen verwendet. Energiesparlampen sind aufgrund ihres Spektrums besonders gut für die Beleuchtung von Pflanzen geeignet, da diese insbesondere den roten und blauen Anteil des sichtbaren elektromagnetischen Spektrums nutzen [7]. Abb. 7 zeigt das mit einem Leybold-Spektrometer aufgenommene Spektrum dieser Lampen.

Eine Messreihe hat jeweils eine Woche gedauert. Die ersten drei (bzw. fünf Tage bei Variation von Bodenfeuchte) Tage wurde die Pflanze den zuvor festgelegten Bedingungen (Beleuchtungsstärke, Bodenfeuchte) ausgesetzt, damit sich der Stoffwechsel den äußeren Bedingungen zum Beginn der Messungen angepasst hat. Danach wurde die Wachsschicht entfernt und in den folgenden vier bis fünf Tagen - in etwa gleichmäßigen Perioden von ca. 2 Stunden - Aufnahmen der entwachsten Stellen mit dem Rasterkraftmikroskop gemacht. Bei den Messungen wurden die Umweltbedingungen konstant gehalten. Die Beleuchtung wurde gegebenenfalls pro Tag 10 Stunden angestellt, um einen Tag-Nacht Wechsel zu simulieren.

### 3.5 Untersuchungen zur Struktur der Wachse

Um genauere Aussagen über Struktur und molekulare Zusammensetzung der Wachse zu machen, wurden die Wachse der *Calathea rosea* mit Dichlormethan (da üblicherweise verwendetes Chloroform nicht verfügbar) gelöst. Das Blatt wurde in eine Petrischale gelegt und etwas Lösemittel in die entstehende Mulde des Blattes gegeben. Nach 5 min wurde die Lösung gesammelt und teilweise eingedampft, um die Konzentration der Wachse zu erhöhen. Einen Teil dieser Lösung habe ich an der Universität Basel mithilfe des Maldi-ToF-Verfahrens (Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation in Kombination mit Massenspektrometrie mit Flugzeit-



Abb. 6: Entfernen der Wachsschicht mit Klebstoff: Der Klebstoff wird aufgetragen und trocknet (oben). Nach dem Entfernen ist die entwachste Stelle sichtbar (siehe Pfeil unten).

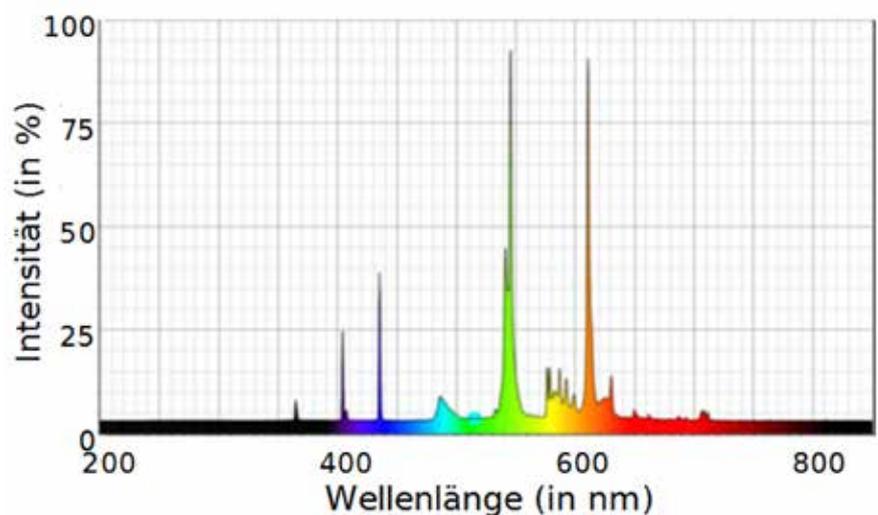


Abb. 7: Spektrum der verwendeten Energiesparlampe. Hauptsächlich der rote und blaue Farbanteil werden von der Pflanze genutzt.

analysator. Verfahren zur Massenanalyse) analysieren lassen. Den anderen Teil der Lösung habe ich auf eine glatte Oberfläche aufgetragen, um die sich darauf anlagernden Moleküle mithilfe des Rasterkraftmikroskops genauer untersuchen zu können. Um eine ausreichend glatte Oberfläche zu erhalten, wurde cleaved HOPG (Highly Ordered Pyrolytic Graphite) verwendet. Dazu werden oberste Molekülschichten des HOPGs mit Klebeband abgezogen, sodass man eine flache Oberfläche erhält. Auf solch einer Oberfläche können AFM-Messungen mit hoher Präzision durchgeführt werden, da keine Hintergrundstrukturen die Messung beeinflussen [8].

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Oberflächenstrukturen und Wachse verschiedener Pflanzen

Nach mehreren Versuchen ist es mir gelungen, Aufnahmen mit dem Rasterkraftmikroskop von Blattoberflächen lebender Pflanzen zu machen. Diese zeigen unterschiedliche Strukturen von Wachsen und der unterliegenden Cuticula. Die Oberflächen von den verschiedenen Pflanzen unterscheiden sich stark. Größere Strukturen (etwa 20 µm) stellen die Konturen von der unterliegenden Zellschicht dar. Kleinere Strukturen entstehen durch Wölbungen der Cuticula. Die feinsten Strukturen der Oberfläche entstehen durch die Anordnung von Wachskristallen.

Die Rasterkraftmikroskopaufnahme in Abb. 8a der *Calathea rosea* zeigt eine dicke Wachsschicht mit größeren Wachskristallen, die dicht angeordnet sind. Abb. 8b zeigt die äußeren Konturen der Zellen der Epidermis sowie größere Wachskristallplättchen (etwa 800 nm im Durchmesser) der *Dracaena marginata*. Die Kristalle sind weniger dicht angeordnet als die der *Calathea*. In Abb. 8c des *Hedera helix* sind größere Wachauflagerungen in Form von runden Klümpchen mit einem Durchmesser von 1 - 2 µm sichtbar. Die *Kalanchoe* (Abb. 8d) besitzt eine dicke Wachskruste mit größeren Wachsböcken. Diese entstehen, wenn die Kruste aufbricht und sich entstehende Spalten vergrößern. Dies ist der Fall, wenn die Cuticula und Epidermis schneller als die fragile Wachsschicht wächst. Die Aufnahme der Orchidee (Abb. 8e) zeigt

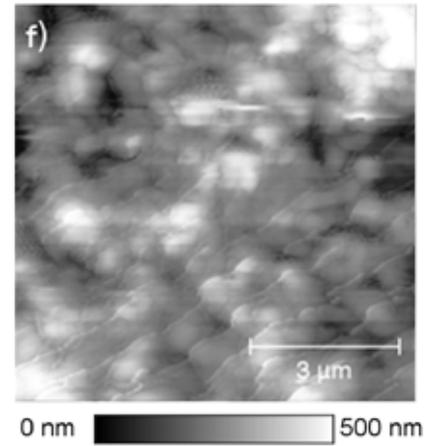
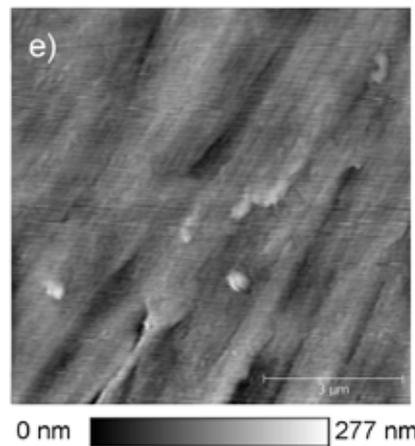
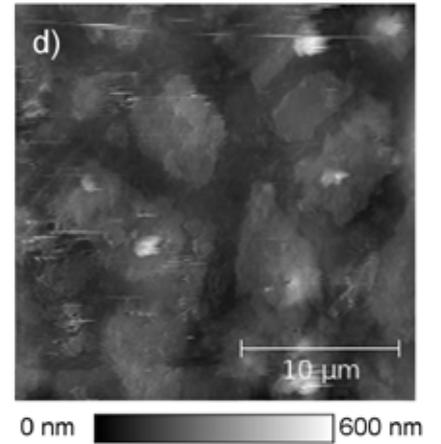
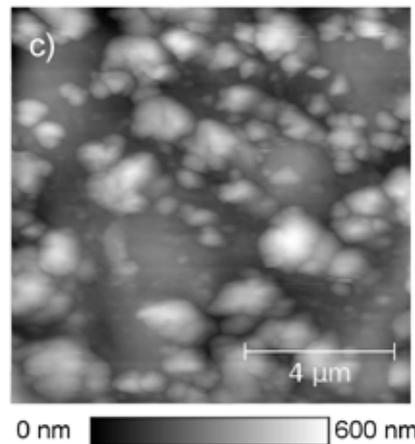
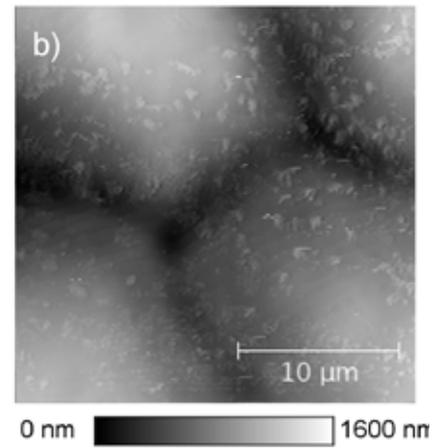
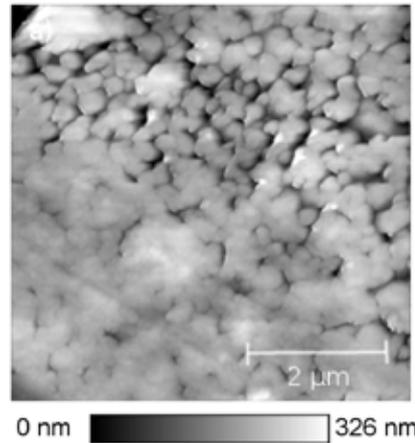


Abb. 8: AFM-Aufnahmen von verschiedenen Blattoberflächen: a) *Calathea rosea* (Marantaceae), b) *Dracaena marginata* (Asparagaceae), c) *Hedera helix* (Araliaceae), d) *Kalanchoe blossfeldiana* (Crassulaceae), e) *Phalaenopsis bellina* (Orchidaceae), f) *Scindapsus aureus* (Araceae).

eine dicke aber flache Wachsschicht. Auf der AFM-Aufnahme des *Scindapsus aureus* (Abb. 8f) ist eine dicke vielschichtige Wachsbedeckung sichtbar. Erkennbar sind zwei Arten von Strukturen: Noppenartige Formen, welche Verformungen der Cuticula darstellen und quer verlaufende Streifen, welche Kanten von Wachsschichten abbilden.

### 4.2 Selbstheilung

Bei einem Großteil der oben genannten Pflanzen war es nur sehr schwer möglich, Rasterkraftmikroskopieaufnahmen von dem Prozess der Regeneration von epicuticularen Wachsen zu machen. Dabei ergaben sich manchmal folgende Schwierigkeiten: Oft waren die Blätter aufgrund ihrer Form nur sehr um-

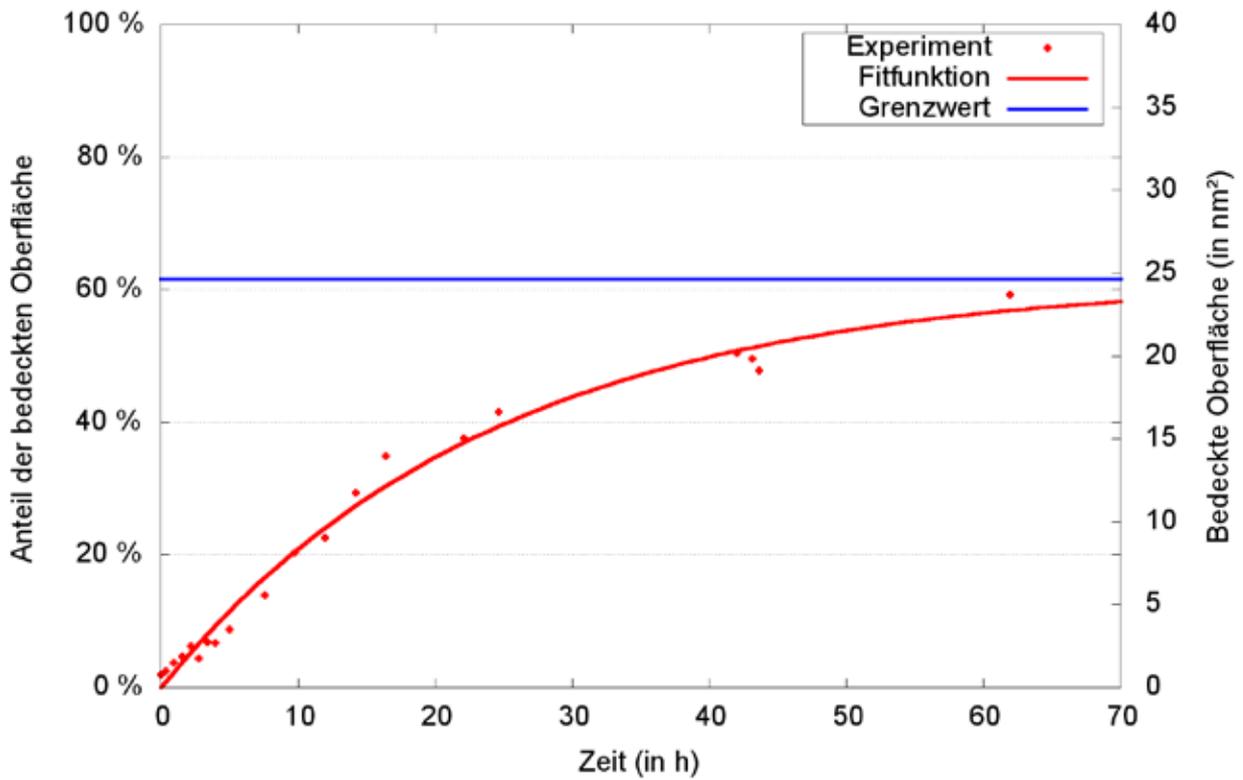


Abb. 9: Wachswachstum der *Calathea rosea* über einen Zeitraum von 70 Stunden.

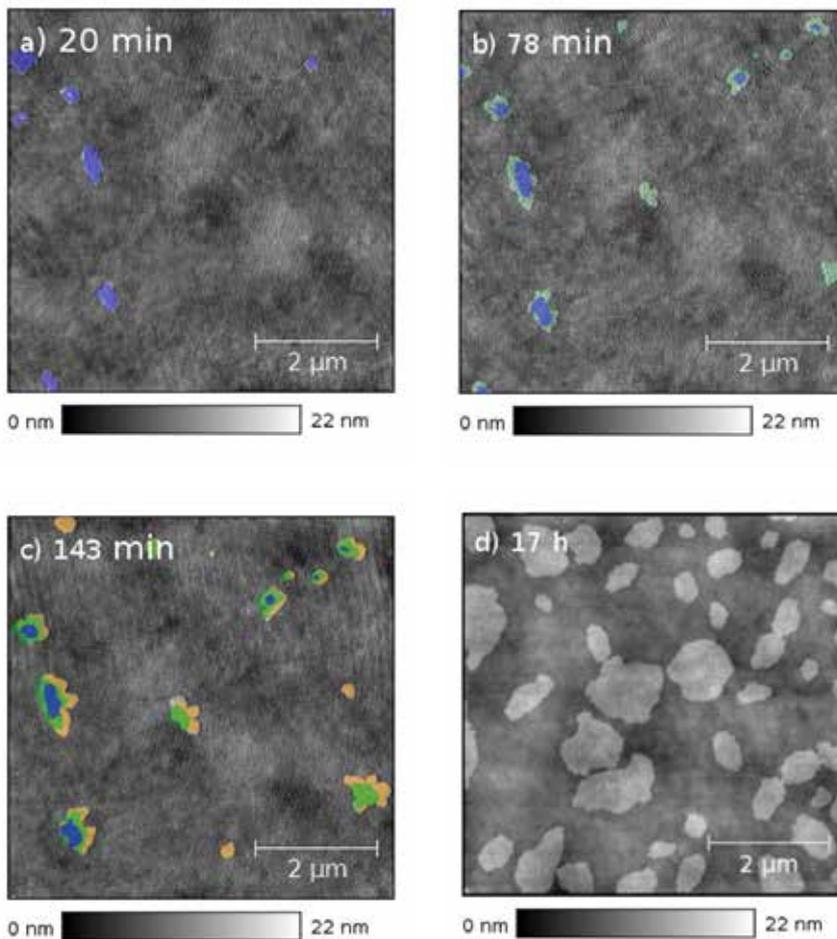


Abb. 10: Neugebildete Wachsschicht der *Calathea rosea* nach einer bestimmten Zeit.

ständig am AFM zu befestigen und bewegten sich dadurch stark. Auch konnte nicht bei allen Pflanzen die Wachsschicht optimal entfernt werden. Am besten war es möglich, den Selbstheilungsprozess der Wachsschicht an der lebenden *Calathea rosea* auf mikroskopischer Ebene zu beobachten.

Diese Pflanze habe ich daher hauptsächlich verwendet. Auch am *Galanthus nivalis* konnte Wachsregeneration nachgewiesen werden. Die Untersuchungen des Wachswachstumes an der Pflanze haben gezeigt, dass die Regeneration sofort nach dem Entfernen des Wachses beginnt. Die Geschwindigkeit der Regeneration konnte durch Änderungen der Umweltfaktoren deutlich beeinflusst werden.

Abb. 9 zeigt die Bedeckung der Oberfläche mit Wachs in Bezug zur Zeit nach dem Entfernen des Wachses. Dazu wurden aus jedem aufgenommenem Bild die Wachskristalle markiert und deren Flächenanteil am gesamten Aufnahmebereich berechnet. Die Messpunkte zeigen, dass es sich um ein Beschränktes Wachstum handelt. Ein Beschränktes Wachstum  $B(t)$  zeichnet sich dadurch aus, dass es eine Sättigungsgrenze  $S$  (Grenzwert) gibt, die das

Wachstum begrenzt. Die Änderungsrate des Wachstums ist proportional zum Sättigungsmanko  $S-B(t)$ , sodass  $B'(t) = k \cdot (S - B(t))$ . Das Wachstum lässt sich dann als  $B(t) = S - (S - B(0)) \cdot e^{-kt}$  beschreiben mit:

$B(t)$  = Wachsbedeckung zum Zeitpunkt  $t$

$B'(t)$  = Wachsbildungsgeschwindigkeit zum Zeitpunkt  $t$

$t$  = verstrichene Zeit (in h)

$k$  = Wachstumsfaktor

$S$  = Sättigungsgrenze / Grenzwert

$e$  = Eulersche Zahl

Mit Gnuplot konnte diese Fitfunktion mit folgenden Parametern an die experimentellen Daten angenähert werden:  $S = 0.63 \pm 0.03$ ,  $B(0) = 0 \pm 0.01$ ,  $k = 0.04 \text{ h}^{-1} \pm 0.004$ .

Diese ist rot in Abb. 9 dargestellt. Der Wachstumsfaktor  $k$  gibt Aufschluss über die Geschwindigkeit des Wachstums. Der Grenzwert ist in der Graphik blau eingezeichnet. Auffällig ist dabei, dass dieser nicht bei 100 % liegt, sondern bei nur 63 %. Die Pflanze ist also nicht fähig, die Wachsschicht vollständig zu regenerieren. Auch spätere Versuche weisen diesen Grenzwert auf (siehe Abb. 16). Dies ist möglicherweise ein Kompromiss für die Pflanze zwischen bestmöglichem Schutz und geringem Kostenaufwand an Energie und Baustoffen.

Vier der Messpunkte aus Abb. 9 wurden aus den vier Bildern aus Abb. 10 erstellt, welche hier den Wachstumsprozess verdeutlichen sollen. Das erste Bild (Abb. 10a) der Oberfläche wurde 20 min nach dem Entfernen der Wachsschicht aufgenommen. Auf einer Fläche von  $40 \mu\text{m}^2$  sind sieben Wachsinselformen sichtbar, die 2 % der Oberfläche bedecken. Die Wachsinselformen wurden in der Abbildung blau markiert und hervorgehoben. Die kleineren Wachsinselformen haben eine annähernd runde Form, die größeren Wachse sind rundlich-unförmig. Von diesen Anfangsinselformen begann der Wachsfilm zu wachsen. Nach etwa einer Stunde haben sich die Wachsinselformen sichtlich vergrößert (Abb. 10b). Neue Wachsinselformen sind dazugekommen. Der hinzugekommene Teil ist hier mit grüner Farbe markiert. Nach 143 Minuten sind etwa 4 % der Oberfläche bedeckt. Neugebildetes Wachs

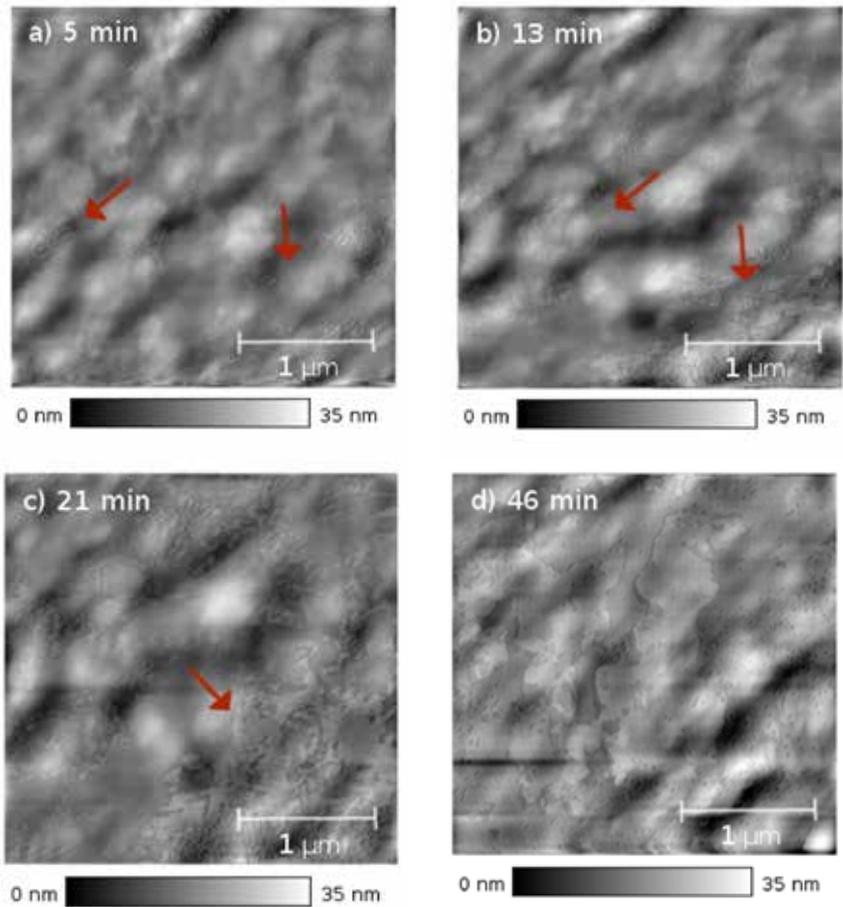


Abb. 11: Neugebildete Wachsschicht des *Galanthus nivalis* nach den angegebenen Zeiten.

ist hier gelb markiert. Die Wachsinselformen haben nun eine dendritische Form. 17 Stunden später sind bereits 35 % der Oberfläche mit einem einfachen Wachsfilm bedeckt. Die Anzahl der einzelnen Wachsinselformen ist deutlich gestiegen. Einige Wachsinselformen haben sich bereits verbunden.

Der Selbstheilungsprozess bzw. die Neubildung der epicuticularen Wachse lief bei dem *Galanthus nivalis* anders als bei der *Calathea rosea* ab. Unter anderem konnte bereits nach nur einer Stunde die gesamte beschädigte Oberfläche mit einem neuen dünnen Wachsfilm bedeckt werden.

Abb. 11 zeigt vier Rasterkraftmikroskopieaufnahmen von einem  $10 \mu\text{m}^2$  großen Ausschnitt der Blattoberfläche. Nach 5 min sind erste Wachse auf der Oberfläche (s. Pfeil) erkennbar. Diese ordnen sich nicht zu einzelnen Wachsinselformen an, sondern sind breiter verteilt. Nach 13 min haben sich die Wachse weiter ausgebreitet; noch sind viele Löcher in diesem ersten Wachsfilm vorhanden. Nach 46 Minuten ist

die Oberfläche fast vollständig bedeckt. Die anfänglichen Löcher in der Wachstruktur verschließen sich. Das Wachswachstum läuft bei dieser Pflanze um ein Vielfaches schneller als bei der *Calathea* ab.

### 4.3 Morphologie und Struktur der Wachse

Bei den Regenerationsversuchen war auffällig, dass die einzelnen Wachsinselformen immer eine ähnliche Höhe aufwiesen, auch nach längerer Zeit. Auf manchen Wachsinselformen haben sich weitere Schichten entwickelt. Auch diese hatten immer die gleiche Höhe. Abb. 12 zeigt den Schnitt durch eine Wachsinselform im frühen Regenerationsstadium der *Calathea rosea*. An den Rändern der Insel sind deutlich die senkrechten Kanten erkennbar mit einer Stufenhöhe von etwa 6,4 nm. Die Beobachtung, dass alle Wachsinselformen eine gleiche Höhe aufwiesen, konnte statistisch nachgewiesen werden: Aus 23 Höhenprofilen verschiedener Wachsinselformen hat sich ein Mittelwert von 5,23 nm mit einer Standardabweichung von  $\pm 1,34$  nm ergeben.

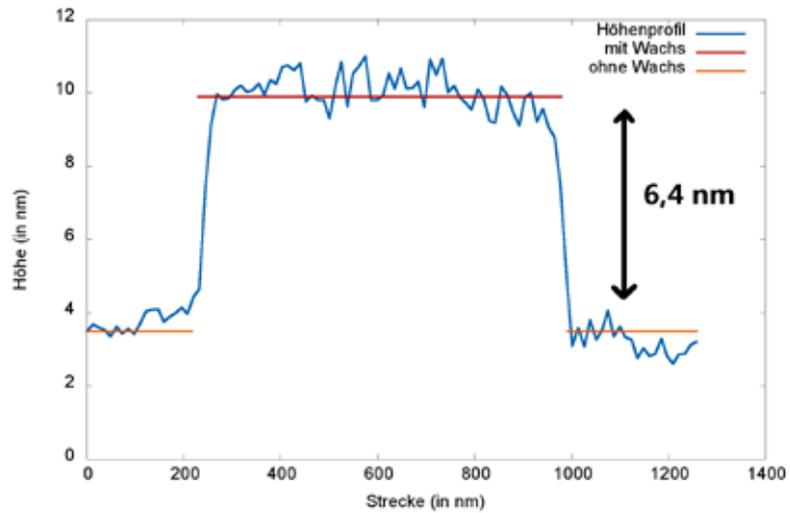
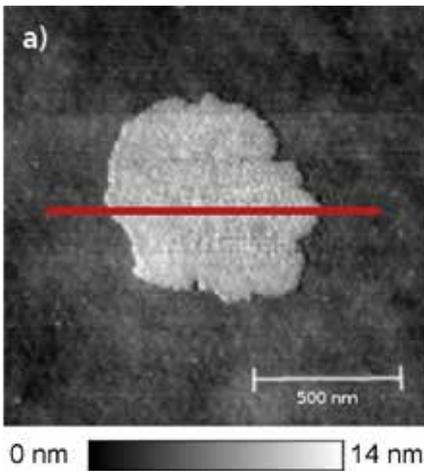


Abb. 12: Höhenprofil durch eine der sich neubildenden Wachsinseln der *Calathea*.

Diese Beobachtungen decken sich mit vorgeschlagenen Modellen über die Anordnung der Moleküle (siehe Koch und Ensikat [3]). Nach dem Modell stehen die einzelnen Moleküle der Wachsinseln senkrecht nebeneinander, sodass die Höhe einer Wachsinsel der Länge der Moleküle entspricht (siehe Abb. 13a). Diese Struktur würde durch Van-der-Waals-Kräfte gestützt werden. Durch Hinzufügen von neuen Molekülen an den Rändern können die Wachsinseln vergrößert werden. Weiter möglich sind doppelschichtige (siehe Abb. 13b), sowie ungeordnete (siehe Abb. 13c) Anordnungen der Wachsmoleküle. Durch Lösen der epicuticularen Wachse und anschließendem Auftragen auf einer flachen Oberfläche können diese mithilfe von Rasterkraftmikroskopie genauer untersucht werden. Eine solche AFM-Aufnahme zeigt Abb. 14.

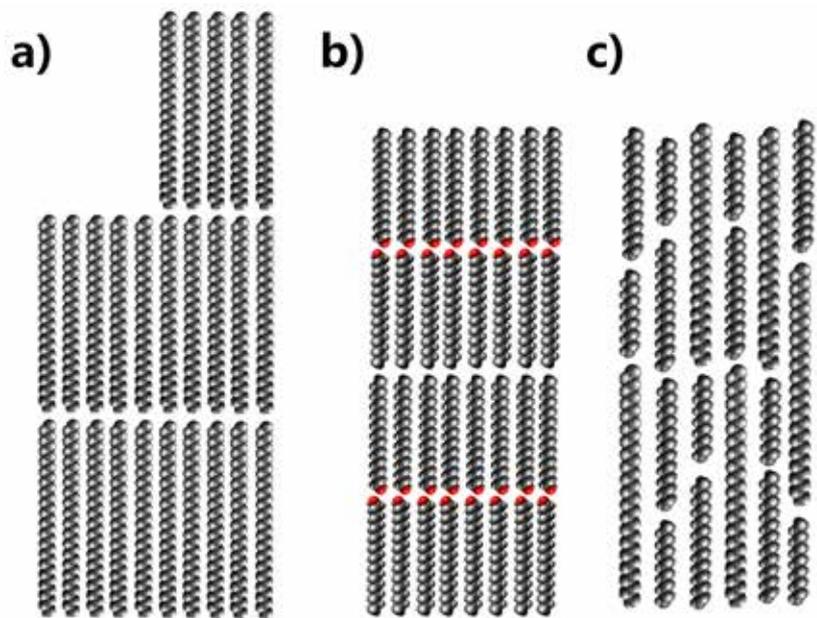


Abb. 13: Modelle (modifiziert nach Koch und Ensikat [3]) über mögliche Anordnungen der Moleküle im Wackskristall.

Die Wachsinseln sind hier breiter verteilt, weisen aber ähnliche Strukturen wie die Wachse auf der Pflanze auf: Größere Wackskristalle (s. Pfeil 2) ähneln den Strukturen die man an der unbeschädigten Pflanze beobachten kann (Abb. 8a). Kleinere Wachsinseln, wie solche, die nach der Wachsentrfernung entstehen, sind ebenfalls sichtbar (s. Pfeil 1). Diese haben trotz ähnlicher Form eine etwas geringere Höhe ( $4,3 \text{ nm} \pm 1,2 \text{ nm}$ ), als die Wachsinseln, die direkt nach der Wachsentrfernung entstanden sind. Jedoch kann man aufgrund der Ähnlichkeit der Wackskstrukturen annehmen, dass es sich um die gleichen, wie auf dem realen Blatt handelt und dass somit die Struktur und der Aufbau der Wackskristalle unter an-

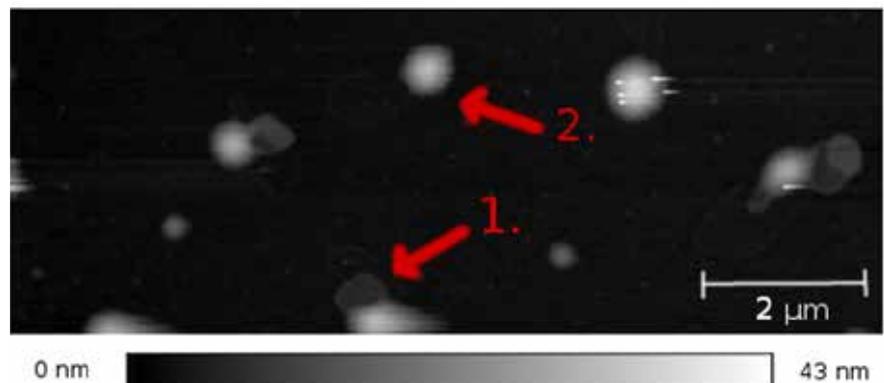


Abb. 14: AFM-Aufnahme einer HOPG-Oberfläche mit epicuticularen Wachsen der *Calathea rosea*.

derem stark von ihrer chemischen Zusammensetzung abhängt und es eine Art selbstständigen Zusammensetzungsprozess der Strukturen gibt, wenn die Mo-

leküle von der Pflanze an die Oberfläche gebracht werden. Die Literatur bestätigt ähnliche Beobachtungen über die Selbstzusammensetzung der Wachse [3].

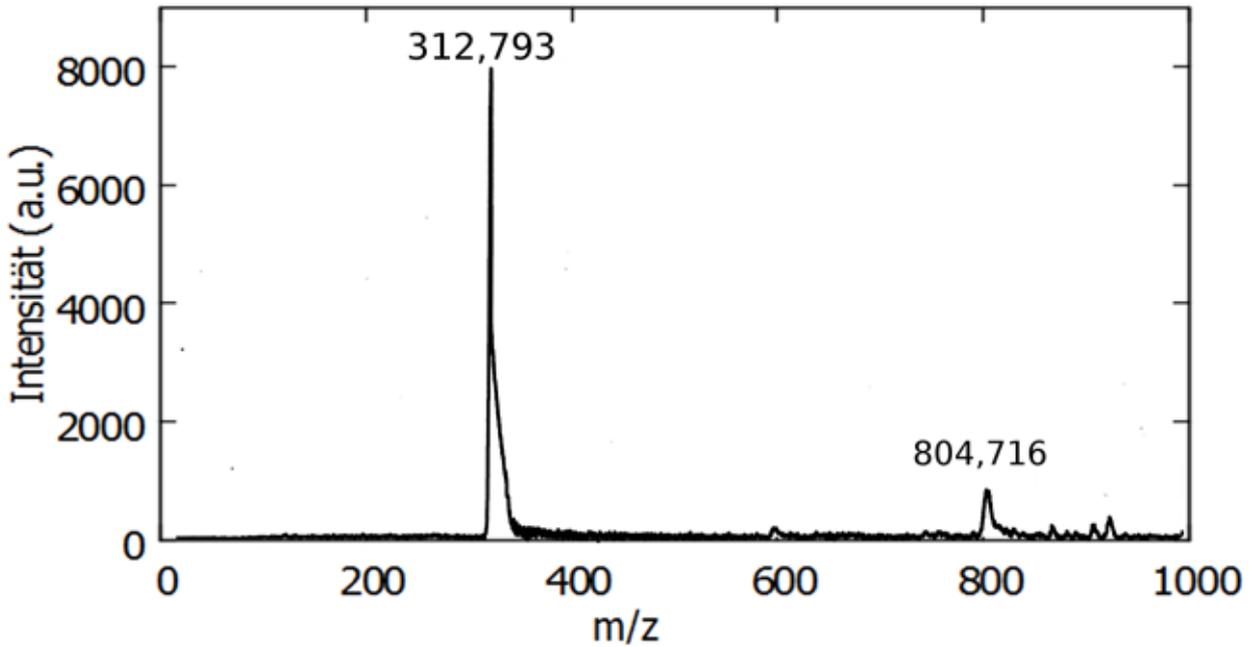


Abb. 15: Massenspektrometrie-Messung eines Maldi-Tof von gelöstem Wachs der *Calathea rosea*.

Eine Analyse mithilfe von Massenspektrometrie von gelösten epicuticularen Wachsen der *Calathea rosea* mit einem Maldi-Tof an der Universität Basel hat das Massenspektrumdiagramm in Abb. 15 ergeben. Besonders auffällig sind zwei Peaks: Ein erster bei dem Massen-Ladungsverhältnis  $312,793 \frac{u}{e}$  und ein zweiter bei  $804,716 \frac{u}{e}$ .

Nimmt man an, dass es sich jeweils um einfache Ladungen handelt und berücksichtigt man die Masse eines angehängten Kationes, erhält man Massen von etwa  $290 u$  beziehungsweise  $780 u$ . Angenommen es handelt sich annäherungsweise um lange aliphatische Kohlenwasserstoffe mit  $n$  Kohlenstoffatomen und  $2n + 2$  Wasserstoffatomen, kann man mit der Formel  $n \cdot 12 u + (2n+2) \cdot 1 u =$  Masse auf eine Kettenlänge von etwa 21 bzw. 56 C-Atomen schließen. Sind eventuell weitere Gruppen am Molekül vorhanden, kann die Länge auch etwas kleiner sein. Die Moleküle hätten dann eine Länge von etwa 2,5 nm bzw. 6,9 nm. Dies spricht für eine doppelschichtige Anordnung der Wachsmoleküle nach Abb. 13 b, dabei würde immer eine Schicht von jeweils zwei des am häufigsten vorkommenden Moleküls der Masse  $290 u$  eine Stufe von der beobachteten Höhe von 4 bis 5 nm bilden.

#### 4.4 Variation von abiotischen Umweltfaktoren

##### 4.4.1 Beleuchtungsstärke

Der Regenerationsprozess der Pflanzenwache wird durch die Beleuchtung

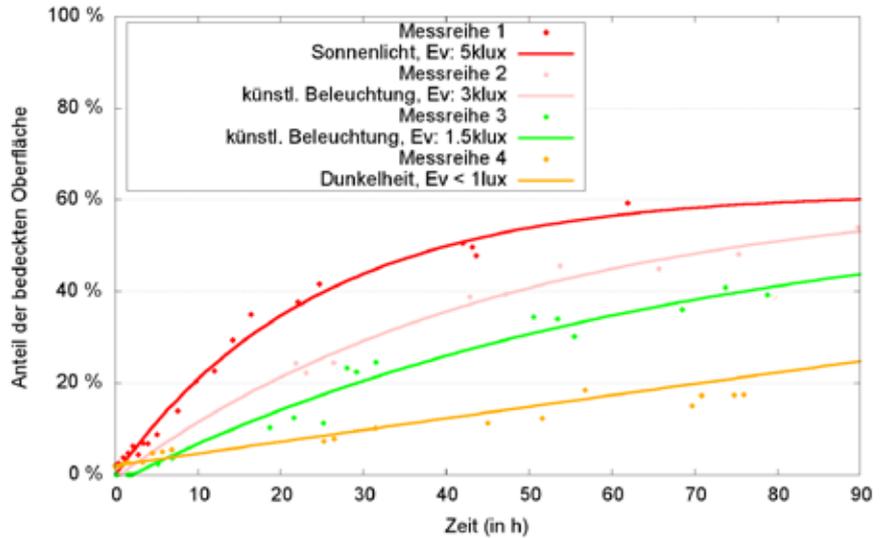


Abb. 16: Wachswachstum auf der *Calathea rosea* in Abhängigkeit von der Beleuchtung.

Messreihe Nr.	Beleuchtungsart	Beleuchtungsdauer pro Tag	Durchschnittliche Beleuchtungsstärke
1	Sonne	10 h	5000 lx
2	künstlich, ESL	10 h	5000 lx
3	künstlich, ESL	10 h	1500 lx
4	keine Beleuchtung	0 h	<1 lx

Tab. 3: Umweltfaktoren zu Abb. 16.

Messreihe Nr.	Sättigungsgrenze S	Startwert B(0)	Wachstumsfaktor k
1	0,62 (± 0,03)	0,00 (± 0,01)	0,04h <sup>-1</sup> (±0,004h <sup>-1</sup> )
2	0,62 (± 0,04)	-0,01 (± 0,04)	0,02h <sup>-1</sup> (±0,003h <sup>-1</sup> )
3	0,60 (± 0,11)	0,00 (± 0,11)	0,015h <sup>-1</sup> (±0,005h <sup>-1</sup> )
4	3,74 (± 78,27)	-3,1 (± 78,26)	0,00070h <sup>-1</sup> (±0,015h <sup>-1</sup> )

Tab. 4: Fitfunktionen der Form  $B(t)=S-(S-B(0))e^{-kt}$ .

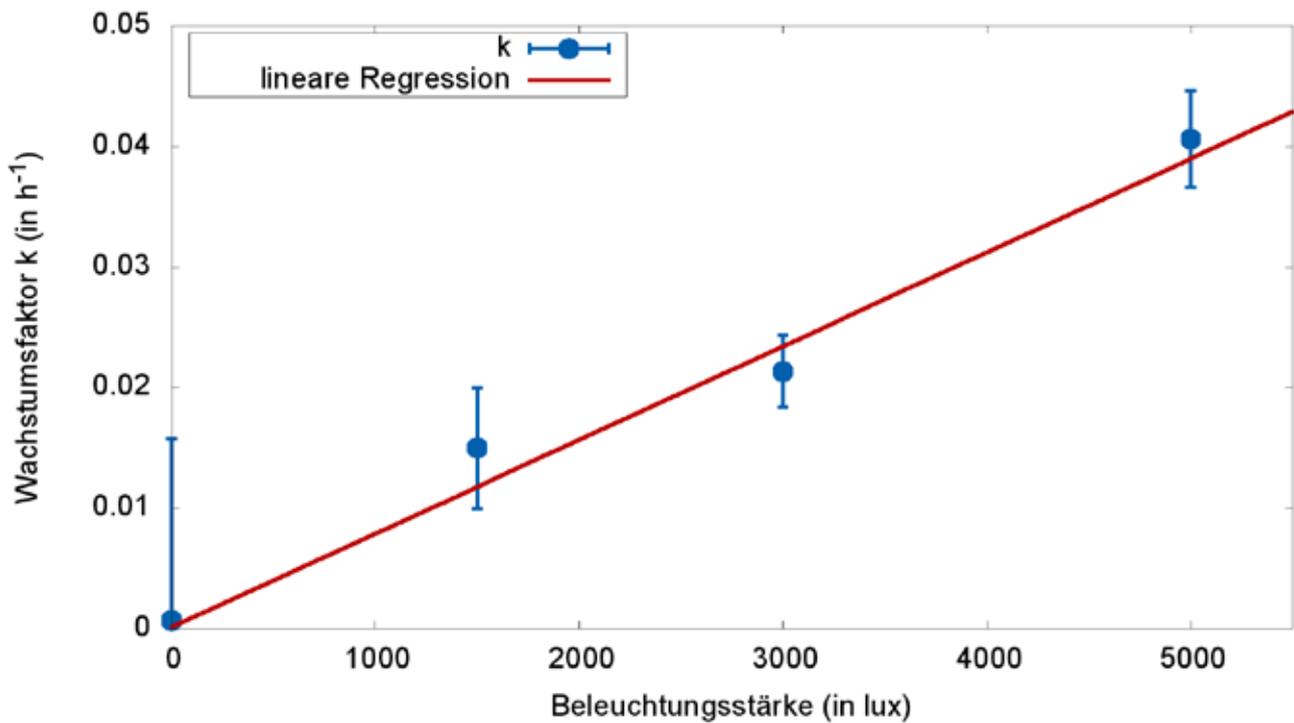


Abb. 17: Zusammenhang zwischen Beleuchtung und Wachstumsfaktor.

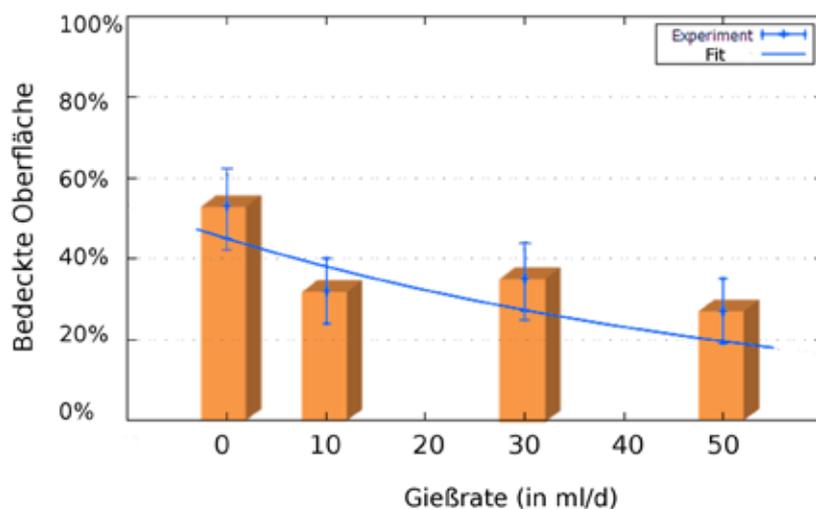


Abb. 18: Abhängigkeit der Geschwindigkeit der Wachsubildung von der Bodenfeuchte.

beeinflusst. Bei starker Beleuchtung lief der Wachstumsprozess schneller ab als in Dunkelheit. Nach etwa 40 Stunden war die stark beleuchtete Oberfläche zu 50 % bedeckt, die Blattoberfläche ohne Beleuchtung nur zu 15 %. Abb. 16 zeigt das Wachstum bei unterschiedlichen Beleuchtungsstärken.

Die rote Kurve zeigt das Wachstum bei natürlicher Sonnenbeleuchtung mit einer durchschnittlichen Beleuchtungsstärke von 5000 lux bei einer Beleuchtungsdauer von 10 Stunden pro Tag. Wie in Kapitel 4.2 wurden die Messpunkte aus den einzelnen Bildern gewonnen, die Fitfunktion

entspricht einem begrenzten Wachstum der Form  $B(t) = S - (S - B(0)) \cdot e^{-kt}$ . Die Werte dazu sind in Tab. 4 aufgelistet. Die gelbe Kurve zeigt das Wachstum bei Dunkelheit. Im Vergleich zur roten Kurve verläuft das Wachstum eher linear, die Regeneration ist sichtbar langsamer. Die pinke und grüne Kurven zeigen das Wachstum bei unterschiedlich starker künstlicher Beleuchtung. Auch hier ist das Wachstum schneller bei der stärkeren Beleuchtung. Die genauen Bedingungen zu den Messreihen sind in Tab. 3 aufgelistet. Um das Wachstum mathematisch zu beschreiben, wurden die Messdaten mit einer Funktion für begrenztes

Wachstum angenähert. Die Werte dazu sind in Tab. 4 aufgelistet. Wie schon in Kapitel 4.2 ist die Sättigungsgrenze bei ca. 60 % auffallend. Nur in Messreihe Nr. 4 ist ein großer Fehler aufgrund starker Streuung der Messpunkte sowie Fehlen von Messpunkten nahe der Sättigungsgrenze. Man kann eine gute Korrelation zwischen Beleuchtungsstärke und Wachstumsfaktor feststellen (Abb. 17).

#### 4.4.2 Bodenfeuchte

Neben dem Einfluss der Beleuchtung konnte auch eine starke Beeinflussung des Regenerationsprozesses durch den Wassergehalt des Bodens beobachtet werden. Da die Blätter der *Calathea rosea* bei den Versuchsreihen schnell zu welken begannen, waren hier Rasterkraftmikroskopieaufnahmen nicht durchführbar, weshalb diese Versuche am Schneeglöckchen (*Galanthus nivalis*) durchgeführt wurden. Hierzu wurden mehrere Pflanzen in vier gleichgroße Blumentöpfe mit jeweils 200 ml Erde separiert und unterschiedlich viel gegossen. Nach jeweils fünf Tagen wurde die Wachsschicht entfernt. 20 Minuten nach Entfernen der Wachsschicht wurde eine AFM-Aufnahme gemacht, um den Anteil der mit Wachs neubedeckten Fläche auszumessen. Dies wurde jeweils dreimal an unterschiedlichen Blättern durchgeführt. Die blaue Fitkurve in Abb. 18 zeigt eine Tendenz,

dass das Wachswachstum bei Trockenheit schneller abläuft als bei sehr viel Wasserzufuhr. So sind bei der Pflanze, die nicht gegossen wurde nach 20 min bereits 53 % der Oberfläche mit neuem Wachs bedeckt, bei einer Wasserzufuhr von täglich 60 ml jedoch nur 28 %. Andere Experimente, bei denen die absolute Wachsmenge an Tabakpflanzen nach mehreren Trockenperioden gemessen wurde, zeigen, dass die erhöhte Wachsproduktion bei Wassermangel eine übliche Anpassungsreaktion von Pflanzen ist [9].

## 5 Fazit

Die Untersuchung von Blattoberflächen mit einem Rasterkraftmikroskop erwies sich zwar als sehr schwierig, ermöglichte es aber, die Struktur der Wachse verschiedener Pflanzen, sowie deren Selbstheilungsprozess zu beobachten. Aus den Aufnahmen konnte die Geschwindigkeit des Wachstumsprozesses aufgezeigt und mithilfe des mathematischen Modells des Beschränkten Wachstums beschrieben werden. Dabei wurde festgestellt, dass

das Wachstum von äußeren Umweltbedingungen wie der Beleuchtungsstärke abhängt. Die Anpassung der Wachsproduktion an Lichtverhältnisse ist eine wichtige Fähigkeit der Pflanze, um sich vor energiereicher Strahlung zu schützen. Dickere Wachsschichten reflektieren und/oder absorbieren Strahlung wie UV-Licht [6]. Der Einfall dieser Strahlung kann durch Wachsproduktion reguliert werden.

Ein Zusammenhang zwischen Photosynthese und Wachsproduktion ist auch möglich. Die Photosynthese ist zuständig für die Bereitstellung von Energie in Form von energiereichen Stoffen. Wird die Photosynthese durch geringere Beleuchtung eingeschränkt, kann dies dazu führen, dass auch die aufwändige Synthese von Wachsen vermindert wird. Es wurde außerdem beobachtet, dass die Wachsneubildung vom Wassergehalt im Boden abhängt.

Erkenntnisse aus der Erforschung des Selbstheilungsprozesses der Wachsschicht können Anreize für technische

Anwendungen geben. Schon heute gibt es eine Vielzahl an technischen Produkten auf dem Markt, die durch Übertragen von Prinzipien aus der Natur in die Technik entstanden sind. Beispielsweise hat man sich die Funktionsweise der selbstreinigenden Eigenschaft von Pflanzenblättern zunutze gemacht, sodass man heute selbstreinigende Wandfarbe mit dem Lotuseffekt kaufen kann. Vielleicht gibt es bald das Handy mit selbstreparierendem Display?

## Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle herzlichst bei Dr. Thilo Glatzel bedanken, für die Hilfeleistung in technischen Details rund um die Rasterkraftmikroskopie sowie ausdauernde Unterstützung bei diesem Projekt. Ein besonderer Dank gilt Hermann Klein für die ständige Motivation und Hilfestellung bei dem Verfassen der Arbeit. Des Weiteren möchte ich mich beim phänomenum Lörrach für die Bereitstellung der Materialien und bei der Uni Basel für die Durchführung der Massenspektrometrie bedanken.

## Quellenverzeichnis

- [1] Koch K, Ensikat H, Bhushan B, Barthlott, W: Self-healing of voids in the wax coating on plant surfaces In: Phil. Trans. R. Soc. A 13, vol. 367 no. 1894 1673-1688, 2009
- [2] Digel w, Kwiatowski G: B.I.-Taschenbuchverlag: Wachs In: Meyers Grosses Taschenlexikon, Band 23, Mannheim, 1990, S.283
- [3] Koch K, Ensikat H: The hydrophobic coatings of plant surfaces: Epicuticular wax crystals and their morphologies, crystallinity and molecular self-assembly In: Micron Volume 39, Issue 7, Oktober 2008, Pages 759 772
- [4] Barthlott W, Neinhuis C, Cutler D, Ditsch F, Meusel I, Theisen I, Wilhelmi H: Classification and terminology of plant epicuticular waxes In: Botanical Journal of the Linnean Society (1998), 126: 237 260.
- [5] Koch K, Neinhuis C, Ensikat H, Barthlott W: Self assembly of epicuticular waxes on living plant surfaces imaged by atomic force microscopy (AFM) In: Journal of Experimental Botany, Vol. 55, No. 397, 2004, pp. 711–718
- [6] Koch K, Bhushan B, Barthlott W: Multifunctional surface structures of plants: An inspiration for biomimetics In: Progress in Materials Science Volume 54, Issue 2, 2009, Pages 137 178
- [7] David M. Gates, Harry J. Keegan, John C. Schleter, Victor R. Weidner: Spectral Properties of Plants In: Applied Optics, January 1965, Vol. 4, No. 1, pp. 1-19
- [8] Tsybukh, Roman: A comparative study of platinum nanodeposits on HOPG (0001), MnO(100) and MnOx/MnO(100) surfaces by STM and AFM after heat treatment in UHV, O2, CO and H2, Leiden Institute of Chemistry, CASC, Faculty of Science, Leiden University, 2010
- [9] Kimberly D. Cameron, Mark A. Teece, Lawrence B. Smart: Increased Accumulation of Cuticular Wax and Expression of Lipid Transfer Protein in Response to Periodic Drying Events in Leaves of Tree Tobacco In: Plant Physiology, January 2006, Vol. 140, pp. 176 183
- [10] Neinhuis C, Koch K, Barthlott W (2001), Movement and regeneration of epicuticular waxes through plant cuticles. Planta 213, 427-434.
- [11] Koch K, Bhushan B, Ensikat HJ, Barthlott W (2009), Self-healing of defects in the wax coating on living plant surfaces and a new specimen preparation method for atomic force microscopy. Phil. Trans R. Soc. A, special issue "Biomimetics: II: fabrication and applications, 367, 1673-1688, doi: 10.1098/rsta.2009.0015
- [12] JT Martin (September 1964): Role of Cuticle in the Defense against Plant Disease. In: Annual Review of Phytopathology, Vol.2: 81 - 100