Zeitschrift: Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der Eidg. Tech. Hochschule, Stiftung Rübel, in Zürich

Herausgeber: Geobotanisches Institut, Stiftung Rübel (Zürich)

Band: 103 (1989)

Artikel: Ligningehalt und andere Merkmale des Schilfhalmes ("Phragmites australis" [Cav.] Trin. ex Steudel) in Beziehung zur Röhrichtbewirtschaftung = Content of lignin and other characteristics of reed stalks ("Phragmites australis [Cav.] Trin, ex Steudel) dependingu on management

Autor: Guntli, Albert P.

Kapitel: 3: Material und Methoden

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-308912

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 14.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. UNTERSUCHUNGSGEBIETE

3.1.1. Versuchsfeld Altenrhein/SG

3.1.1.1. Geographische Angaben und Schutzmassnahmen

Das in dieser Arbeit untersuchte Schilfmaterial stammt vom Südostufer des Bodensees (Gemeinde Altenrhein/SG; siehe Fig. 11, 14, 19) aus einer Schilfröhrichtgesellschaft (*Phragmitetum communis*). Die artenarme Pflanzengesellschaft von ca. 170 ha Fläche wird hier von *Phragmites australis* beherrscht. Dieses *Phragmitetum* ist mit seiner Uferlinie, die aus südsüdwestlicher nach nordnordöstlicher Richtung führt, den vom See her wehenden z.T. heftigen Winden und Stürmen aus West und Nord stark ausgesetzt.
Auf der Landseite und im östlichen Teil geht die Röhrichtgesellschaft von Altenrhein in ein Pseudoröhricht mit viel *Phalaris arundinacea* L. über. Das Schilfröhricht dieses Bodenseestandortes ist als Zeiger für stark schwankende Wasserstandsverhältnisse (Schwankungsbereich bis 3 m; die Differenz zwischen dem mittleren Hoch- und Niederwasserstand beträgt 1.6 m) und durch die flache

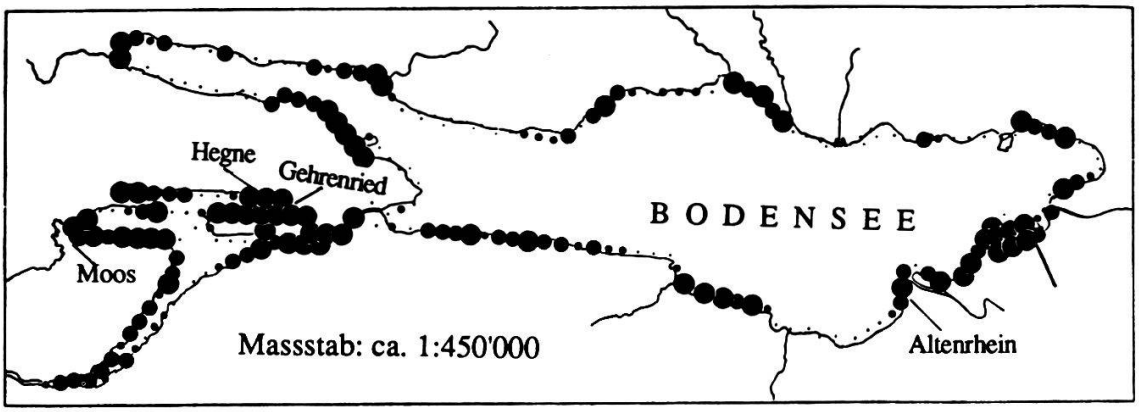

Fig. 11. Röhrichtgesellschaften (*Phragmitetum communis*) des Eulitorals am Bodensee und Lage der Schilfstandorte.
Lineare Ausdehnung des *Phragmitetums*: · fehlend; • < 10%; ● 10-50%; ● > 50% der Uferlinie einnehmend (nach LANG 1973, ergänzt).
Reedbed communities (Phragmitetum communis) of the eulitoral on the Bodensee (cf. LANG 1973, complemented) and reed positions.
Linear extension of Phragmitetum: · missing; • < 10%; ● 10-50%; ● > 50% of lakeside grown (cf. LANG 1973, supplemented).

Uferbank charakteristisch (LANG 1973); es gehört nach RUTTNER (1962) dem Eulitoral an, welches während des sommerlichen Hochwasserstandes überschwemmt wird und beim Niederwasserstand im Winter trocken liegt (Fig. 12 und 13).

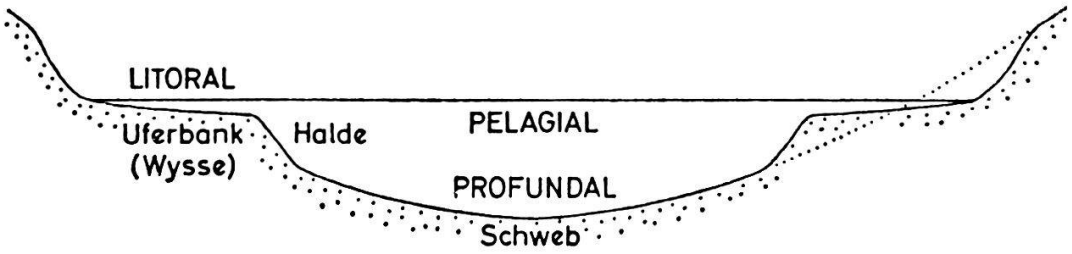

Fig. 12. Morphologie des Bodenseebeckens und der Lebensräume im See (nach LANG 1968).
Morphology of the Bodensee basin and the habitats in the lake (cf. LANG 1968).

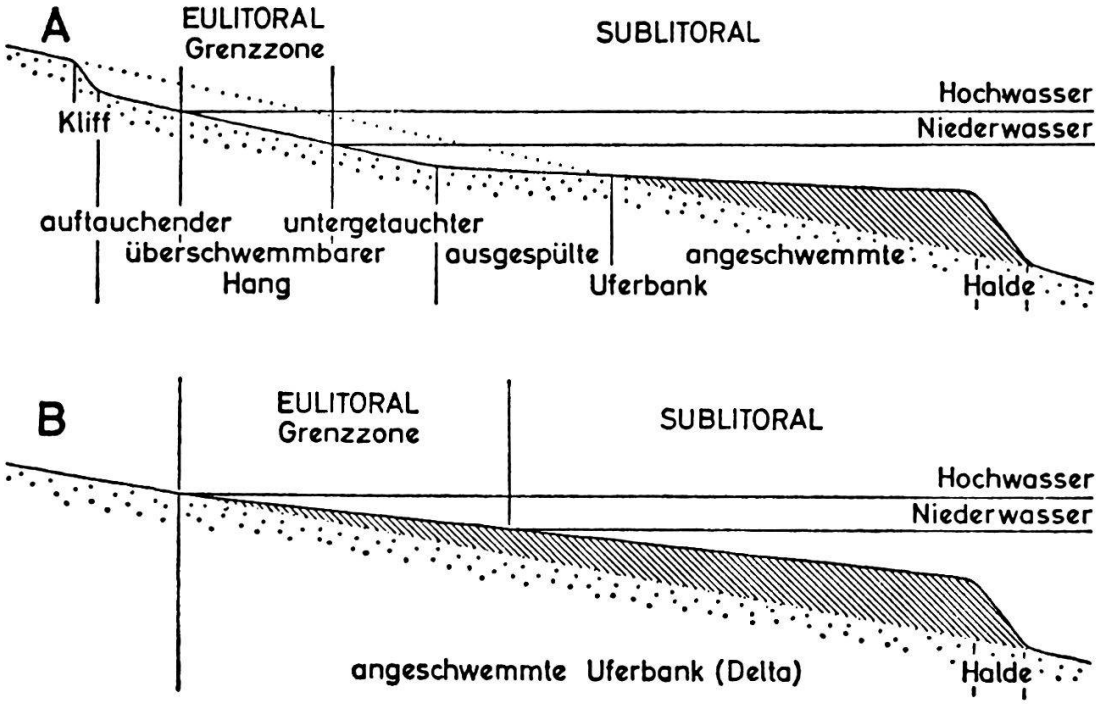

Fig. 13. Morphologische und ökologische Standortsgliederung im Uferbereich (schematisch) (nach LANG 1973).
Morphological and ecological structure of locations on the lakeside (rough outline) (cf. LANG 1973).
A: Abtragungs- Abrasionsufer - *abrasion lakeside*
B: Anschwemmungs- oder Akkumulationsufer (Flussdelta) - *accumulation lakeside (river-delta)*
Punktierte Linie: Ursprünglicher Uferverlauf - *Dotted line: original shore*

Fig. 14. Seefront des Schilfgebietes von Altenrhein am 15.2.89 (Wassertiefstand). Im Vordergrund: Röhrichtsperre.
Lake-front of the reed-area of Altenrhein on February 15, 1989 (low water). In the foreground: reedbarrage.

Die Schilfzone von Altenrhein wurde über Jahre hinweg vom Geobotanischen Institut der ETH Zürich beobachtet und erforscht, und verschiedene Untersuchungsprojekte kamen hier zur Durchführung, z.B. Einzäunungsversuche von Schilfflächen nach KLÖTZLI (1973) sowie KLÖTZLI und ZÜST (1973a).
Vor diesem Uferabschnitt errichtete man im Winter 1983/84 eine bewegliche (schwimmende) Röhrichtsperre (Fig. 14), welche das Treibzeug vom Schilf möglichst fernhalten soll (BINZ 1989). Die schwimmende (eigens für dieses Gebiet von der "Schilfgruppe" der ETH Zürich geplante und konzipierte) Konstruktion eignet sich für Gewässer mit grossen Wasserstandsschwankungen. Sie ist von der Ortsgemeinde Altenrhein auf Empfehlung des Geobotanischen Instituts der ETH in Auftrag gegeben und erbaut worden. Die Konstruktion der Anlage basiert auf dem Pilotversuch in Triboltingen/TG am Bodensee-Untersee. Die Anlage hält das Treibgut auf und hat den starken Beanspruchungen bis heute standgehalten. BINZ (1989) weist darauf hin, dass ein solcher schwimmender Zaun nicht als Wellenbrecher eingesetzt werden kann; der Dämpfungseffekt liegt bei maximal 20%. Die Errichtung von Röhrichtsperren setzt aber voraus, dass das angeschwemmte Treibzeug periodisch entfernt wird (BINZ und KLÖTZLI 1978, BINZ 1989); nur so erzielt die Anlage die gewünschte Schutzwirkung.

Dank der initiativen Naturschutztätigkeiten der Ortsbürgergemeinde von Altenrhein/SG und deren Präsidenten sind sowohl die Kontrollgänge als auch die regelmässige Reinigung der schwimmenden Zäune vom Getreibsel gewährleistet.

3.1.1.2. Windverhältnisse im Untersuchungsgebiet von Altenrhein

Da der Wind die Hauptursache der direkten oder indirekten mechanischen Belastung des Röhrichts ist, werden im folgenden einige Angaben zur Windsituation im Versuchsgelände gemacht. HUSS (1975) hat die Windverhältnisse in der Bodenseeregion untersucht und wegen der Verschiedenheiten im Landschaftscharakter das Gesamtgebiet in drei Bereiche eingeteilt: Überlingersee, Obersee bis zur Linie Altenrhein-Wasserburg und Lindau-Bregenzer-Bucht mit Rheinmündungsgebiet. In dieser Unterteilung gehört das Altenrheiner Untersuchungsgebiet zum Südostufer des Oberseegebietes, da sich hier der aus südlicher Richtung einfallende Rheintalabwind nicht mehr so stark auswirken kann. Die nächstgelegene Windmessstation des mittleren Seeabschnittes liegt bei Horn/TG, 6.5 km W von Altenrhein. Die Häufigkeiten der Windrichtungen im Tagesablauf für Horn sind in Fig. 15 anschaulich dargestellt. In Fig. 15 ist die Tageszeit in der Horizontalen aufgetragen, die Windrichtungen in der Vertikalen, wobei die Nordrichtung den oberen und unteren Bildrand begrenzt. In den dunkel angelegten Feldern bleibt die Windhäufigkeit unter 2%, sie schreitet von Kurve zu Kurve um

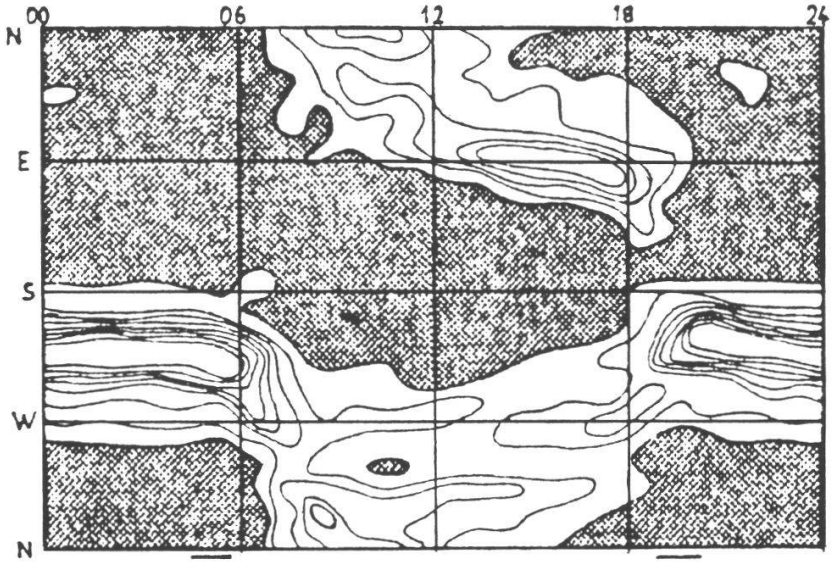

Fig. 15. Isoplethen der Windrichtungen im Tagesgang für Horn/TG (nach HUSS 1975).
Isopleths of the wind-directions in the course of the day for Horn/TG (cf. HUSS 1975).

2% fort, so dass die Maxima von den Kurvenscharen umhüllt sind. Die Zeiten der Sonnenauf- und -untergänge sind durch kräftige Linien unter dem unteren Bildrand gekennzeichnet.
Die Darstellung umfasst die Windverhältnisse der Sommermonate Juni bis August in Vierteljahresmitteln wiedergegeben, da sie die charakteristischen Züge der tagesperiodischen Zirkulationen, die bei weitem vorherrschen, am deutlichsten zeigen (HUSS 1975). Für Horn ist das nächtliche Häufigkeitsmaximum eng auf SW beschränkt. Am Morgen wendet sich die Richtung rasch über NW nach N bis NE hin, während nach Mittag reine Ostwinde überwiegen.
BINZ (1989) zeigt mit seinen "Richtungsvektoren für das Windfeld vor dem Versuchsfeld in Altenrhein", dass die grössten Kräfte von den Wellenbelastungen her aus nordwestlicher Richtung aufs Versuchsgelände von Altenrhein einwirken.

3.1.2. Schilfstandorte am Bodensee-Untersee

Weiteres Schilfmaterial stammt aus dem Euliteral von den Ufergebieten des Bodensee-Untersees der Gemeinden Hegne und Moos sowie des Gehrenriedes (alle Landkreis Konstanz, Fig. 11). In den Schilfgebieten von Moos und vom Gehrenried hat OSTENDORP (1988, 1989) Untersuchungen zum Nährstoffgehalt der Sedimentoberschichten durchgeführt. Dabei wurden mitunter die gesamte organische Substanz, der Gesamtstickstoff und der Gesamtphosphor gemessen. In den (nach OSTENDORP 1989) "naturnahen" Schilfflächen des Gehrenriedes waren die Nährstoffmesswerte wesentlich niedriger als im Schilfgebiet von Moos (Tab. 2). Verschiedene physikalische und chemische Untersuchungen zum Schilf und Wasser dieses Gebietes von OSTENDORP (1981, 1983, 1986 und 1987) und SCHRÖDER (1973, 1976, 1979 und 1987) ergänzen die oben genannten Sedimentuntersuchungen.

3.2. SCHILFMATERIAL

3.2.1. Schilf von Altenrhein/SG

Das Material für die morphologischen Erhebungen und Ausmessungen der Jahre 1978/79 stammt aus den Schilfbeständen des Bodenseeufers vor Altenrhein. Der Bewirtschaftung dieser materialliefernden Schilffläche wurde besondere Aufmerksamkeit geschenkt (Fig. 16-18), indem man auf eine möglichst gleichblei-

bende Feldereinteilung (Mäh-, Brand-, und unbewirtschaftete Zone) während der gesamten Untersuchungsperiode achtete; die unbewirtschaftete Zone wird hier auch als "unbeeinflusste" oder "ungeschnittene" Schilffläche bezeichnet. Wie sich die Änderungen in der Bewirtschaftung im Detail auf die Umweltbedingungen von *Phragmites australis* auswirken, ist nicht bekannt. Es war nicht Aufgabe der vorliegenden Arbeit auf diese mikroklimatischen und ökophysiologischen Untersuchungen einzugehen.
Zum Schutz vor Frost und gegen die mechanischen Einflüsse des Wellenganges und des Treibgutes der uferseitigen gebrannten und gemähten Schilfflächen blieb ein Röhrichtstreifen von einer Tiefe von rund 5-15 m unbeeinflusst stehen. Einen solchen Schutzgürtel forderten für die exponierte Seeseite des Schilfröhrichts KLÖTZLI (1974), KLÖTZLI und ZÜST (1973a) sowie KRISCH et al. (1979).
Die gezielten, winterlichen Abbrennaktionen haben in den Jahren 1975 bis 1979 und auch in den Achzigerjahren unter Berücksichtigung der Witterung und der Trockenheit des Schilfes jeweils zwischen Anfang Februar und Mitte März stattgefunden. Es wurde darauf geachtet, dass die Vegetation noch in der winterlichen Ruhe war und noch keine Sprosse trieben. Auch KOVACS (1976) forderte für die *Phragmites*-Mahd, dass sie am Ende der Vegetationsperiode oder im Winter erfolgen müsse, da sonst die Rhizome stark geschwächt würden.
Unmittelbar vor dem Brennen wurden mit der Sense die vorbestimmten Mähflächen und -schneisen geschnitten, damit das Feuer beim Abbrennen der gewünschten Schilfflächen nicht auf andere Gebiete übergreifen konnte. Es war bei Föhnlagen oft recht schwierig, den Schilfbrand am richtigen Ort zu legen und das Feuer unter Kontrolle zu halten (Fig. 18). Das geschnittene Schilfmaterial wurde aus der Versuchsfläche herausgetragen, um eine in der Folge entstehende zusätzliche Düngung oder Getreibselbildung zu verhindern.
Ebenfalls aus den Beständen des Gebietes von Altenrhein stammt das Schilfmaterial, welches für die folgenden Ligninuntersuchungen diente:

a) Abhängigkeit des Ligningehaltes von der Bewirtschaftung (Mahd und Brand im Vergleich mit ungeschnittenem Schilf)
b) Ligningehalt in verschiedenen Internodien (vertikale Ligninverteilung)
c) Ligninverteilung im Halmquerschnitt (Ligningehalt in den vier Himmelsrichtungen).

Die Schilfhalme, die in den Untersuchungen b) und c) verwendet worden sind, stammten aus einer Novemberernte. Zur Konservierung des Materials wurden die Internodienstücke in 80%-iges Aethanol gelegt, so dass die Ligninmessungen später ausgeführt werden konnten.

Fig. 16. Altenrhein: nicht bewirtschaftete Schilffläche [II] (Februar 1978)
Untouched reed-area [II]

Fig. 17. Altenrhein: Mähfläche [V] (Februar 1978)
Mown area [V]

Fig. 18. Altenrhein: Brandfläche [IV] (Februar 1978)
Burnt area [IV]

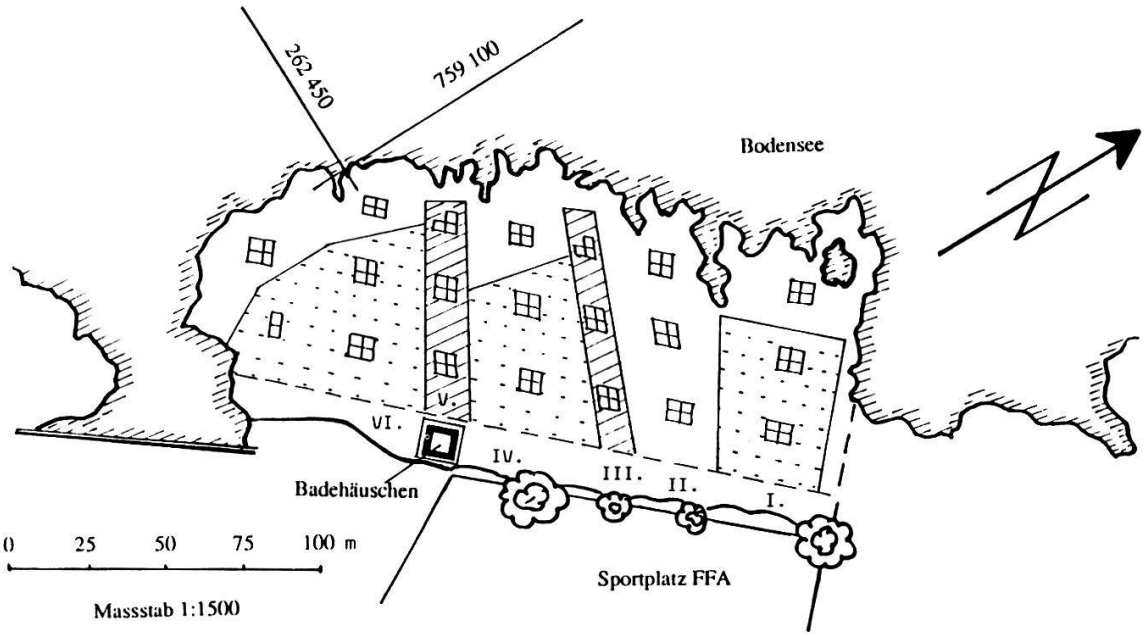

Fig. 19. Bewirtschaftung des Schilfgebietes Altenrhein/SG (1975-79), Sektor D*.
Die Sektorenbezeichnung D* stammt aus früheren Versuchen (KLÖTZLI und ZÜST 1973a,b und BINZ 1989). Die römischen Zahlen I-VI bezeichnen die Reihenfolge der Bewirtschaftungsfelder innerhalb des Sektors D*.
The management of the reed-area of Altenrhein/SG (1975-1979), sector D.*
The indication D originates from earlier experiments (KLÖTZLI und ZÜST 1973a,b und BINZ 1989). The Roman numerals I-VI denote the order of the treated fields inside sector D*.*

26 Brandflächen - *26 burnt plots*
22 gemähte Flächen - *mown plots*
28 ungeschnittene Flächen - *28 untouched plots*
Entnahmestellen - *plots considered*

3.2.2. Schilf vom Bodensee-Untersee

Das Material für die Bestimmung der Ligninänderungen während des Jahresablaufs in den Schilfhalmen stammt aus den Beständen des Bodensee-Untersees aus der Gemeinde Hegne. Zu diesen Beständen existieren keine speziellen Sedimentnährstoffdaten.
Für die Abklärungen des Ligningehaltes in "nährstoffreicherem" und "nährstoffärmerem" Milieu wurde das Material dem Schilfröhricht von Moos und vom Gehrenried entnommen. Die Nährstoffdaten der Sedimentoberschichten, auf welchen die "naturnahen" Bestände vom Gehrenried wachsen, liegen weit unter denen von Moos (Tab. 2). In der vorliegenden Arbeit werden die naturnahen Standorte vom Gehrenried als "oligotroph" und die nährstoffreicheren Schilfstandorte von Moos als "eutroph" bezeichnet.

Tab. 2. Nährstoffgehalt der Sedimentoberschichten in einem naturnahen und nährstoffreicheren Schilfbestand am Bodensee-Untersee (nach OSTENDORP 1989).
Nutritve content of the sediment top-layers in a natural and fairly eutrophic reed-area on the Bodensee-Untersee (cf. OSTENDORP 1989).
TS = Trockensubstanz - *dry substance* FG = Frischgewicht - *fresh weight*

Entfernung vom seew. Schilfrand (m)	Sedimentmasse (kg TS/m²)	Wassergehalt (% d. FG)	Organische Substanz (% d. TS) (kg/m²)	Gesamtstickstoff (% d. TS) (g/m²)	Gesamtphosphor (% d. TS) (g/m²)
Naturnahe Fläche GEHRENRIED: Transsekt GE III (Entnahme am 10.4.1982) Sediment - Festsubstanz (0-2.5 cm Oberschicht)					
-6.0	7.34	36.30	3.400	0.170	0.017
			0.251	12.500	1.250
0.0	8.37	36.80	2.700	0.170	0.017
			0.224	14.200	1.420
6.0	6.13	40.10	3.500	0.210	0.023
			0.214	12.900	1.410
12.0	7.36	41.00	4.200	0.210	0.023
			0.308	15.500	1.690
18.0	7.51	44.10	4.200	0.240	0.028
			0.315	18.000	2.100
24.0	6.98	44.10	4.700	0.290	0.031
			0.329	20.200	2.160
30.0	8.94	40.10	4.100	0.220	0.021
			0.365	19.700	1.180
Nährstoffreiche Schilffläche MOOS: Transsekt MO VIII (Entnahme am 10.12.1981) Sediment - Festsubstanz (0-2.5 cm Oberschicht)					
-4.8	8.82	nicht bestimmt	3.000	0.180	0.020
			0.260	15.900	1.760
0.0	6.54		9.800	0.420	0.015
			0.640	27.600	0.480
4.8	1.25		47.800	2.180	0.164
			0.600	27.300	2.050
9.6	0.95		49.600	2.390	0.166
			0.470	22.700	1.580
14.4	1.12		53.900	2.380	0.161
			0.600	26.700	1.800
19.2	1.36		56.700	2.520	0.161
			0.770	34.300	2.190
24.0	1.45		52.800	2.260	0.135
			0.770	32.800	1.960
28.0	1.54		49.900	2.240	0.116
			0.770	34.500	1.790

3.3. METHODEN

3.3.1. Morphologische Schilfaspekte der Erhebungen 1978/79

HÜRLIMANN (1951) betont die Wichtigkeit der Beobachtung der periodischen Erscheinungen im Leben einer Pflanze für die Abklärung ihrer Autökologie. Dies ist aber auch für die Konkurrenzbeziehungen am Standort und für die Lebensgeschichte eines ganzen Pflanzenbestandes von grosser Bedeutung. Bei den Erhebungen 1978 und 1979 ging es um die Untersuchung von phänologischen Aspekten an den Schilfpflanzen, die in verschieden bewirtschafteten Zonen aufgewachsen waren.
Im Untersuchungsgebiet von Altenrhein, das regelmässig einmal pro Winter von der einheimischen Bevölkerung gesäubert und vom Getreibsel gereinigt wird, lagen die 76 möglichst einheitlichen Entnahmestellen, welche je einen Quadratmeter gross waren. Dabei entfielen auf die Brandflächen 26, auf die Mähflächen 22 und auf die unbewirtschafteten Flächen 28 Entnahmestellen (Fig. 19).
Den morphologischen Untersuchungen an Schilfhalmen wurde das folgende Messprogramm zugrunde gelegt:

1. **Halmhöhen**: Auf einem "Messbrett" (Brett mit Metermass) wurden die Halmlängen bestimmt.
2. **Halmdurchmesser**: Mit einer Schublehre wurden die Halmdicken je auf ca. 10 cm (2. Internodium) und auf 120 cm Halmhöhe gemessen.
3. **Knotenzahl**: Die Anzahl Knoten pro Halm wurde ausgezählt.
4. **"Zigarrenbildungen" an der Sprossspitze**: Das prozentuale Auftreten der Zigarrenbildung in den Entnahmestellen wurde bestimmt. (Parasitenbefall und in der Folge Verkrüppelung der Blütenrispe in eine "Zigarre")
5. **Halmdichte**: Die Anzahl Halme pro Quadratmeter wurde festgestellt.
6. **Trockensubstanz**: Nach den Erhebungen (1-5) wurden die Schilfernten der Entnahmestellen für zwei Tage im ventilierten Trockenofen bei einer Temperatur von 85°C getrocknet und anschliessend gewogen (g/m^2).

Pro Entnahmestelle standen im Durchschnitt 33-54 Halme für die Untersuchungen zur Verfügung. Die unterschiedliche Zahl der Entnahmestellen (Tab. 3) kommt daher, dass trotz diverser Vorsichtsmassnahmen (schneiden von Mähschneisen, Berücksichtigung der Windverhältnisse, Feuerwache durch die Feuerwehr) die Brandflächengrössen nicht jedes Jahr genau identisch waren und dass die Schilfschnittflächen relativ klein blieben. Der Schilfschnitt mit Sense, Sichel und/oder Gertel war sehr aufwendig; zweimal wurden die vorbestimmten Flächen "von Hand" geschnitten. Auch als das Schilf mit einer Einachsermäh-

maschine gemäht worden war, verblieb das mühsame Entfernen des Schnittgutes.

3.3.2. Mikropräparationstechnik zur histologischen Untersuchung

3.3.2.1. Einführung

Während in früheren Arbeiten (RODEWALD-RUDESCU 1974, RAGHI-ATRI und BORNKAMM 1979, 1980) der Ligningehalt mit chemischen Extraktionsmethoden bestimmt wurde, erfolgte in der vorliegenden Arbeit die Ligninmessung auf optischem Wege. Dazu war eine geeignete Mikropräparate-Herstellung und -Auswertung nötig.
Die Untersuchung lebender oder fixierter, biologischer Gewebe im Durchlichtmikroskop ist aber nur möglich, wenn die Präparate eine sehr geringe Dicke (in der Regel weniger als 1/10 mm) aufweisen. Die aufwendige Anfertigung von Feinschnitten wird erforderlich. Für die Herstellung dieser Schnitte sind grundsätzlich verschiedene Methoden bekannt.
Die Feinschnitte werden zur Hervorhebung der gesuchten Strukturen auf den Diapositiven von einem Bildanalyser automatisch gemessen und ausgewertet. So können die gesuchten anatomischen Ligninstrukturen erfasst werden.

3.3.2.2. Vorversuche

In vielen Voruntersuchungen wurden die für botanische Objekte üblichen Schnitt-Techniken auf ihre Eignung für Serienschnitte geprüft. Anfänglich gelang es, einige Handschnitte mit Rasierklingen herzustellen, die dünner waren als 50 µm. Leider war es aber nicht möglich, viele planparallele (gleichdicke) Schnitte anzufertigen. In der Regel waren die einzelnen Schnitte (über den Querschnitt) keilförmig auslaufend. Auch waren die Schnitte oft zerrissen und damit für die Weiterverarbeitung unbrauchbar. Zudem waren die Rasierklingen nach wenigen Schnitten stumpf und schnitten in der Folge zuwenig gut. Diese Arbeitstechnik war deshalb ungeeignet.
Eine weitere grössere Serie von Schilfhalm-Internodien wurde mit einem "Handmikrotom" geschnitten. Diese Technik zeigte ebenfalls unregelmässige Querschnitt-Dicken und in der Folge auch unregelmässig starke Anfärbungen in den einzelnen Schnitten. Auch waren wieder viele Schnitte zerrissen. Da nur regelmässig gefärbte Präparate mit dem Bildanalyser korrekt ausgewertet werden können, musste auch diese Präparationstechnik fallen gelassen werden.

In der Folge wurden Schnitte mit einem grossen "Schlittenmikrotom" hergestellt. Vorerst wurden die *Phragmites*-Internodienstücke im Wärmeschrank bei 60°C während 24 Stunden getrocknet und dann ca. 3-5 mm lange Stücke abgesägt. Diese wurden anschliessend gemäss WALTER (1961) während 15 Minuten mit Benzol durchtränkt, danach in ein warmes (35°C) Benzol-Paraffin-Gemisch gelegt (30 Minuten), und während 24 Stunden bei 57°C in geschmolzenes Paraffin gebracht. Anschliessend wurden von jedem Objekt Paraffinblöcke gegossen (2.5x2x1.5 cm), diese auf ein in die Objektklemme des Mikrotoms passendes Stabilitätsklötzchen aufgeschmolzen und mit dem Schlittenmikrotom geschnitten.
Die Weiterbehandlung der Paraffinschnitte erfolgte durch Strecken der Schnitte direkt auf fettfreien Objektträgern, welche auf eine Wärmeplatte gelegt wurden. Gemäss ROMEIS (1968) wurden die Schnitte getrocknet, in Xylol entparaffiniert und dann mit Phloroglucin/Salzsäure gefärbt. Erst jetzt konnten Mikrofotos hergestellt werden. Die Herstellung der Präparate mit dieser Technik erforderte einen enormen Zeitaufwand. Zudem wurden die Messer rasch stumpf, und die Dünnschnitte waren auch etwa zerrissen. Deshalb wurde auch diese Arbeitstechnik fallen gelassen.

3.3.2.3. Dünnschliffmethode

3.3.2.3.1. Vorgang

Auf der Suche nach anderen Präparationstechniken wurde bekannt, dass das Chemiefaserunternehmen Viscosuisse AG in Widnau für die Untersuchung ihrer Chemiefasern seit kurzem eine Dünnschlifftechnik einsetzt (ROHNER und BRUNNER 1983). In der Folge wurde dann abgeklärt, ob sich eine ähnliche Präparationsmethode auch für die Schilfhalmuntersuchung eignen könnte. Bereits in den Vorversuchen zeigte es sich, dass diese Dünnschliffmethode im grossen und ganzen den Bedürfnissen entsprach.
Auf einer Nassschleifmaschine (Struers AG, Kopenhagen) lassen sich Querschnitte von bis zu 10 µm (= Minimaldicke) durch den Schilfhalm herstellen. Dabei bleiben die Schilfschliffe plan und die Kantenschärfen ausgezeichnet. Die spröden und harten Gewebe werden mit dieser Technik kaum jemals zerrissen oder zerstört. Zudem ist die Probenverarbeitung rationeller als bei den herkömmlichen Methoden.
Uebersicht über die Arbeitsgänge:
1. Herstellung von Silikonkautschukformen gem. Fig. 20 und 21 (erzeugt aus Si-

likonkautschuk RTV-ME 622 A und RTV-ME 622 B (Schirmer AG).

2. Aussägen von *Phragmites*-Internodienstücken (1 cm lang).
3. Internodienstücke in senkrechter Lage in Araldit-Giessharz einbetten (inkl. orientieren) und Herstellung von quaderförmigen Giessblöcken (in der Kautschukform, Fig. 20).
4. Herausnehmen der ausgehärteten Quader ("Prüflinge") aus der Silikonkautschukform, Anschleifen auf der einen Seite und Abtrennen einer Scheibe von ca. 4 mm Dicke.
5. Aufleimen der Anschliffe auf Objektträger-Gläser.
6. Herstellen von Dünnschliffen.
7. Präparatfärbung, Aufnahme von Mikrodiapositiven und Auswertung.

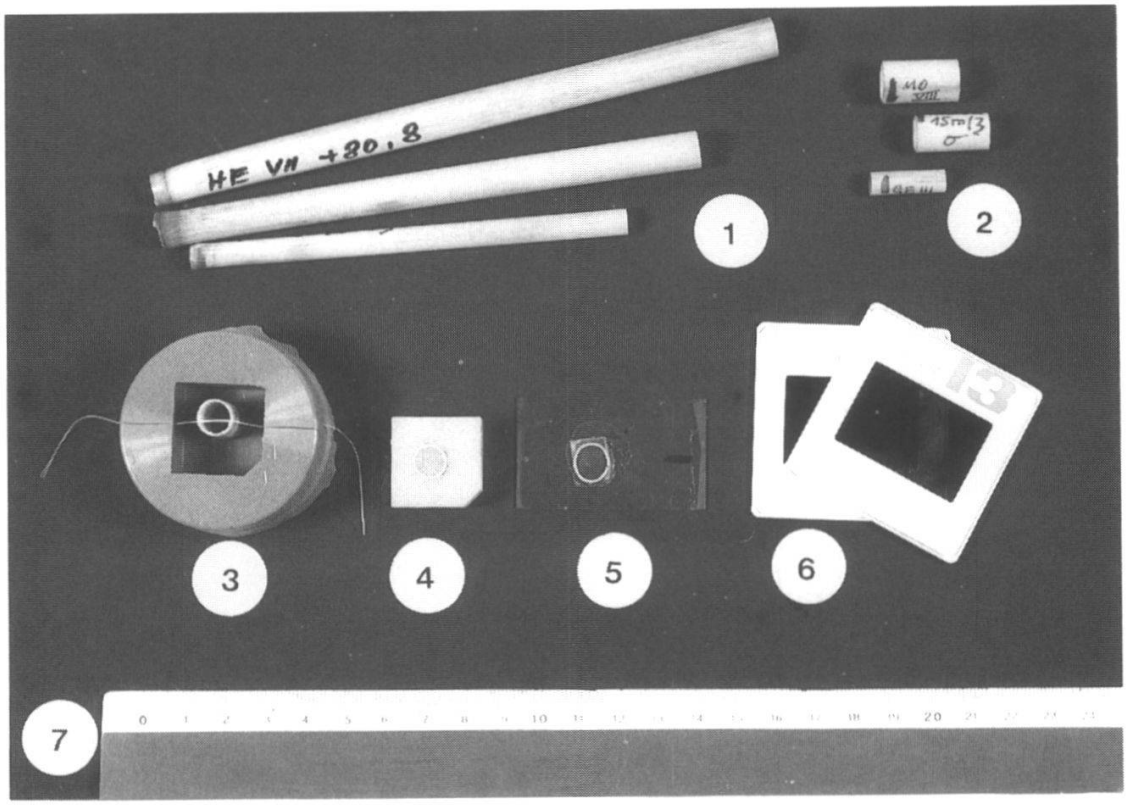

Fig. 20. Verarbeitung des Schilfmaterials bei der Dünnschliffmethode.
Experimentig with reed-material in the thin-grinding method.
1 = *Phragmites*-Internodienstücke - *pieces of Phragmites-internodia*
2 = Prüflinge (verkürzte Schilfproben) - *test-pieces (shorted reed samples)*
3 = Silikonkautschukform mit Prüfling - *mould of silicon-india-rubber with test-sample*
4 = abgesägter Giessharzblock mit eingebettetem Internodienstück
sawn resin block with piece of internodium embedded
5 = auf Objektträger aufgeleimter Internodien-Dünnschliff
thinly-ground internodium glued on slide
6 = Mikrodiapositive des Präparates - *micro-slides of prepared object*
7 = Vergleichsmassstab - *ruler for comparison*

3.3.2.3.2. Einbettung der *Phragmites*-Internodienstücke

Für die anatomischen Untersuchungen wurden Internodien zwischen dem siebten und neunten Knoten (meistens aus dem achten Internodium) ausgewählt und auf einer Proxxontrennmaschine (Eberhard AG) mit einem Diamanttrennscheibenblatt (senkrecht zur Wachstumsrichtung) Stengelstücke von zirka 1 cm Länge aus den zu untersuchenden Halmen herausgeschnitten. Diese wurden dann einzeln mit einem Araldit-Zweikomponentengiessharz (Astorit AG) in Silikon-Kautschukformen (Fig. 21) eingebettet.

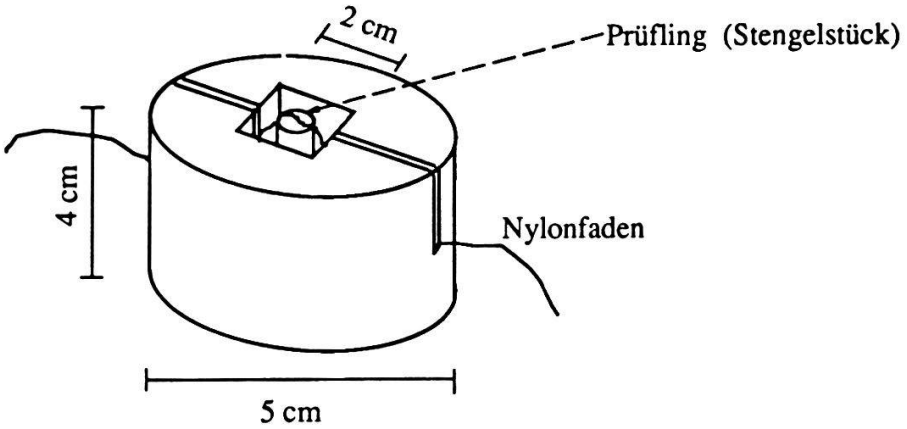

Fig. 21. Silikon-Kautschukform - *Mould of silikon-india-rubber*

Zur Herstellung des Zweikomponentengiessharzes werden Araldit D und Härter HY 956 im Verhältnis 10:2 Teilen gut vermischt; in einem Wegwerf-Plastikbecher wird das Giessharz eine Stunde stehengelassen, rührt in der Zwischenzeit einige Male um, bis eine schäumende, dickflüssige Masse entstanden ist. Nun wird ein wenig vom schäumenden Giessharz in die ausgestanzte Öffnung der Kautschukform gegeben, der Prüfling ins Giessharz gestellt, mit einem Nylonfaden in senkrechter Richtung von oben fixiert und dann das Stengelstück vollständig mit dem Einbettungsharz umgossen. Bei Zimmertemperatur härtet das Giessharz in 16 Stunden aus.
Dank der günstigen Konsistenz dringt mit dieser Methode das Einbettungsmittel nicht zu stark in die einzelnen Zell-Lumina und Hohlräume ein, und die anschliessende Färbung wird kaum mehr beeinträchtigt. Der quaderförmige, ausgehärtete Araldítblock mit dem Prüfling lässt sich nun leicht aus der Einbettungsform für die Weiterverarbeitung herausnehmen.

3.3.2.3.3. Dünnschliffherstellung

Der hergestellte Araldítblock wird zunächst mit der Struers-Nassschleifmaschine einseitig plan geschliffen. Dazu wird zuerst grobes, dann feines Schleifpapier (P 320-, dann P 1000-Struers Waterproof Silicon Carbide) verwendet. Hernach wird der Block 3-5 mm von der Schliffläche entfernt abgesägt und die angeschliffene Blockseite (unter zweistündigem Pressdruck) mit Araldit Rapide (Ciba-Geigy AG) auf einen fettfreien Objektträger geklebt. Die Orientierung des Schilfstückes bleibt bei diesen Arbeitsgängen gewährleistet.
Das Präparat gelangt in einen Struers-Dünnschliffhalter; die Haftung zwischen dem Objekt und dem Halter wird mit einem kleinen Tropfen Glycerin oder Öl erhöht. Mittels der Nassschleifmaschine wird zunächst wieder mit grobem, dann mit feinem Schleifpapier bei einer Tourenzahl von 600 Umdrehungen/Min. auf 40 µm plan geschliffen. Von Zeit zu Zeit wird im Mikroskop die Probendicke kontrolliert. Beim Schliff dringen oft Schilfrückstände in die Gewebeporen ein. Zur Entfernung der allfälligen Schleifspuren, die im Mikroskop sichtbar sind, kann das Araldítplättchen mit Hilfe einer Diamantpaste (Körnung 2.5 µm) poliert und dann im Ultraschallbad gereinigt werden. Nach der Dünnschliffherstellung wird das Präparat während 24 Stunden ausgetrocknet.

3.3.2.4. Präparatfärbungen

Zur Hervorhebung des Lignins (Holzstoff) in den Halmstrukturen wurden in Vorversuchen drei verschiedene Färbungen ausprobiert (BRAUNE et al. 1983). Mit Fuchsin-Pikrinsäure färbten sich die verholzten Zellwände rot an. Die Färbung war in Dauerpräparaten gut haltbar, und benötigte pro Präparat eine gute halbe Stunde Zeitaufwand. Die verholzten Zellwände wurden wenig intensiv, blassrot gefärbt.
Mit Safranin (1%-ig wässerig) lassen sich die verholzten Strukturen in wenigen Minuten rot anfärben. Die Färbung war aber im allgemeinen ebenfalls zu wenig intensiv und der Farbkontrast klein.
Am geeignetsten erwies sich die Phloroglucin/Salzsäure-Färbung, welche die verholzten Zellstrukturen in kurzer Zeit intensiv rot anfärbte. Diese Progressivfärbung ist eine sehr spezifische Ligninreaktion; sie ist in Dauerpräparaten leider nicht haltbar, dafür aber sehr kontrastreich. Für die Färbung tropft man (in Abweichung von den Literaturangaben) Phloroglucin (1% Phloroglucin in Äthanol abs., frisch angesetzt) auf die aufgeleimten Schilfpräparate und lässt wenigstens 20 Minuten einwirken. Dann gibt man Salzsäure auf das Präparat ($HCl_{konz.}$:H_2O=

1:1). Innerhalb von 10-30 Minuten färben sich die Präparate intensiv rot. Der Differenzierungsgrad der Färbung wird in einem Stereomikroskop (Wild AG) beobachtet und festgestellt. Mit Glycerin/Äthanol$_{abs.}$ (4:1) kann die immer intensiver werdende Färbung gestoppt oder wenigstens stark gehemmt werden, ohne dass die Kontraste dadurch vermindert werden. Nach Erreichen der gewünschten Farb-Differenzierung wird das Präparat mit einem Deckgläschen abgedeckt. Die Färbung bleibt nur während ein bis drei Stunden unverändert erhalten.

3.3.2.5. Herstellen von Mikrodiapositiven

Für die nachfolgenden Auswertungen im Bildanalyser wurden Mikrodiapositive bzw. (entwickelte) Fotofilmstreifen hergestellt, weil die angewendete Ligninfärbung nicht haltbar war. Mit einer Minolta-Spiegelreflexkamera, welche zusammen mit einem Einstellobjektiv auf das Mikroskop aufgesetzt und eingerichtet war, wurden die Aufnahmen gemacht. Der Kunstlichtfilm Kodak Ektachrom 50 Professional brachte mit der zur Verfügung stehenden Photographier-Einrichtung die besten Resultate.
Die Bildaufnahmen erfolgten bei offenem Fotoapparatverschluss über das Einstellobjektiv; dadurch konnten die durch die Kamera-Auslösung erzeugten Fibrationen und Bildunschärfen weitgehend vermieden werden.
Für die Mikroaufnahmen wurden jeweils jene Stellen des Halmquerschliffes gesucht, die einen mittleren Ligninanteil und eine relativ einheitliche Färbung aufwiesen (im "Nord- oder Ostsektor" finden sich die mittleren Ligninwerte). Für den Nachweis der Ligninverteilung über den Stengelquerschnitt erfolgten die Messungen in den Stengelsektoren der vier Himmelsrichtungen. Der genaue Dia-Aufnahmeort wurde dann visuell an einer Stelle bestimmt, wo die Färbung regelmässig erschien.

3.3.2.6. Auswertungen am Bildanalyser

Die ausserordentlich rasche Weiterentwicklung der Instrumente für die quantitative (und qualitative) Bildanalyse während der letzten Jahre hat es möglich gemacht, die Farben im Mikrodiapositiv (bzw. die gefärbten Strukturen im Präparat) direkt zu erfassen. Mit einer Sony-Farbkamera (Color Video Camera DXC-M3 AP) werden Farborte im Dia ausgewählt (Auswahl eines gefärbten Sektors aus dem Halmquerschnitt) und über das IBAS-Programm (= Interaktives Bildanalysen-System, Typ 2) in einem Zeiss-Kontron-Computer ausgewertet und berechnet.

Das Auswerte- und Mess-System gibt die Anteile der bestimmten, ausgewählten Farbflächen im Präparat an und drückt sie in Prozenten der Gesamtfläche des Präparatausschnittes aus. Die Diskriminierung der gewünschten Flächen erfolgt durch interaktive Wahl des Farbortes im Colorbild. Man überprüft die diskriminierten Bildgrenzen visuell aufgrund des erzeugten Pseudofarbbildes, das auf dem Bildschirm erscheint. An jedem Dia werden drei Messungen durchgeführt und daraus der arithmetische Mittelwert berechnet. Dies bedeutet, dass pro Halmquerschnitt insgesamt 12 Messungen vorgenommen werden (also je drei an der gleichen Stelle in den vier Himmelsrichtungen). Es ist vorteilhaft, wenn immer die gleiche Person am Bildanalyser arbeitet; die Messungen zeigen so weniger Abweichungen und werden genauer. Die Messstreuungen (an den gleichen Stellen) während eines Tages waren bei Arbeitsbeginn sehr gering (± 0-5%), abends vor Arbeitsschluss waren die Streuungen aber wegen der Ermüdung grösser (± 0-10%).

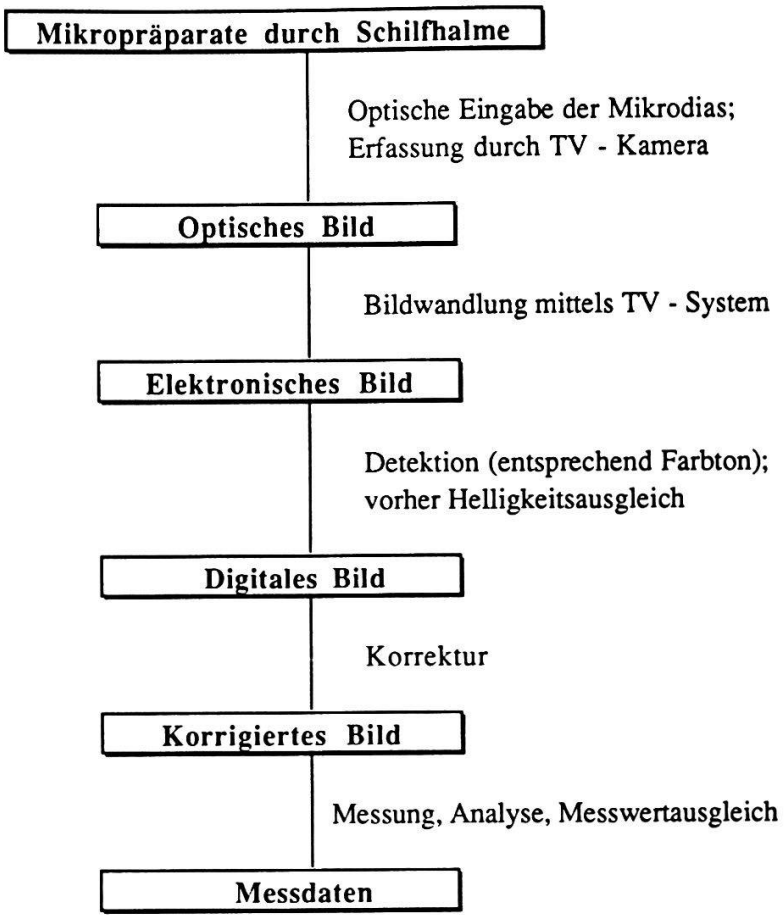

Fig. 22. Bildanalyserauswertungen (nach SELL 1978, verändert).
Picture-analyser results (cf. SELL 1978, altered).

Neben der quantitativen Bildanalyse können auch farbige und schwarz-weisse Computerbilder hergestellt werden .
Übersicht über die Auswertungen am Bildanalyser:
Die Arbeitsweise von vollautomatischen Bildanalysatoren ist in Fig. 22 schematisch dargestellt. Das Untersuchungsobjekt wird bildpunktweise abgerastert, und die gewünschten Objektstrukturen werden softwaremässig gemessen und ausgewertet.

3.3.3. Verteilung des Lignins im Stengelquerschnitt

Zur Abklärung des Ligningehaltes im Stengelquerschnitt wurde an jedem zu untersuchenden Schilfhalm bei dessen Ernte die Ostrichtung mit einer Marke (Papiermarke und Bezeichnung mit wasserfestem Stift) versehen. Die Markierung am Einzelhalm war im Feld einfach anzubringen, da die Schilfstengel im Untersuchungsgebiet von Altenrhein wegen der vom See her wehenden Westwinde und wegen des Wellenschlages nach Osten geneigt sind. Die Richtungsorientierungen an den Halmen blieben auch während der Präparation (beim Dünnschleifen, Färben, Photographieren und elektronischen Auswerten) erhalten.
Für die Messung des Ligningehaltes des Stengelquerschnittes wurden die Ligninmengen in den Sektoren der vier Himmelsrichtungen bestimmt. Bei den anderen Messprogrammen, in denen der Ligningehalt allgemein in den Halminternodien gesucht wurde, erfolgte die Messung jeweils dort, wo eine mittlere Ligninmenge sichtbar war (nördlicher oder östlicher Stengelsektor).