

Ultraschallemissionen als Nachweis von Kavitationsereignissen in Pflanzen

Silvia B. KIKUTA, Institut für Botanik, Department für Integrative Biologie und Biodiversitätsforschung, Universität für Bodenkultur Wien (BOKU), Wien, Österreich

Kurzfassung. Wasser wird in den Leitelementen (Tracheen und Tracheiden) höherer Pflanzen unter Zugspannung transportiert. Bei Stresseinwirkung reißen die kapillaren Wassersäulen ab. Der Übergang des Wassers von der flüssigen in die gasförmige Phase wird als Kavitation bezeichnet. Kavitierende Pflanzenzellen emittieren Ultraschallsignale. Trockenstress-induzierte Ultraschallemissionen wurden in den Blättern holziger (*Euonymus latifolia* L., *Ilex aquifolium* L.) und krautiger (*Mercurialis perennis* L., *Vincetoxicum hirundinaria* L.) Angiospermen gemessen. An zwei Koniferenarten (*Picea abies* L. Karst., *Pinus cembra* L.) wurde die akustische Aktivität von Zweigholz und Nadeln verglichen.

Durch Erstellung von Verwundbarkeitskurven (% AEs versus Wasserpotential) wurden art- und organspezifische Schwellenwerte des Wasserpotentials, bei dem ein Anstieg der akustischen Aktivität einsetzte (Ψ_{cav}), bestimmt. Das Blattxylem der beiden krautigen Arten erwies sich bei Austrocknung in Umgebungsluft als sehr empfindlich gegenüber Kavitationen. Bei den Koniferenarten waren deutliche Unterschiede in der Kavitationsresistenz von Zweigholz und Nadelxylem zu beobachten, wobei die Ultraschallemissionen in den Nadeln bei höheren (= weniger negativen) Wasserpotentialen begannen als in den Zweigen. Aus Druck-Volumen (pV)- Kurven wurde das osmotische Potential am Turgorverlustpunkt ($\Psi_{o(tvp)}$) abgeleitet und zum Wasserpotential bei Kavitationsbeginn in Beziehung gesetzt. $\Psi_{o(tvp)}$ war stets negativer als Ψ_{cav} .

1. Einleitung

Wasser bildet in den Leitelementen von Xylem und Holz zusammenhängende kapillare Wassersäulen, die von den transpirierenden Oberflächen der Blätter bis zu den absorbierenden Oberflächen der Wurzeln reichen. Das in den Leitbahnen unter Zugspannung stehende flüssige Wasser ist in einem metastabilen Zustand, der sowohl durch Kohäsion der Wassermoleküle miteinander als auch durch Adhäsion zwischen Wassermolekülen und Cellulosematerial der Zellwand aufrechterhalten wird (Kohäsions-Tensions-Theorie der Wasserleitung) [1, 2]. Der Energiezustand des Wassers ändert sich beim Fluss durch das Kontinuum aus Boden, Pflanze und Atmosphäre (SPAC). Als Triebkraft für den Wassertransport wirkt ausschließlich der Gradient des Wasserpotentials (Ψ), das ein Maß für den Energiegehalt des Wassers in einem bestimmten System darstellt [3].

Bei Erreichen spezifischer Schwellenwerte des Wasserpotentials reißen die Wassersäulen in den Leitelementen ab. Es bilden sich winzige, hauptsächlich mit Wasserdampf gefüllte Bläschen, wodurch eine lokale Blockade der Wasserleitung bewirkt wird. Der abrupte Übergang des Wassers von der flüssigen in die gasförmige Phase wird als Kavitation bezeichnet. Verschiedene Mechanismen der Luftkeimbildung wurden diskutiert [4, 5, 6]. Der bei Pflanzen wahrscheinlichste, experimentell gut belegte Mechanismus wird „Air-seeding“ genannt [7]: Aus einem benachbarten, bereits

luftgefüllten Leitelement (z.B. als Folge von Schädlingsbefall, Blattabwurf, Wind oder mechanischen Beschädigungen) dringen Luftkeime durch die Poren in der Tüpfelmembran der Zellwand in das Innere eines noch wasserführenden Elementes ein. Entscheidend für den Lufteintritt ist die Druckdifferenz zwischen dem Luftdruck im bereits kavitierten Element und dem Unterdruck im noch leitenden Element. Die kritische Druckdifferenz ist abhängig vom Durchmesser der Poren in der Tüpfelmembran [8, 9, 10, 11] und wird umso größer, je kleiner die Poren sind.

Kavitierende Zellen emittieren akustische Signale, die durch elastische Schwingungen der Zellwände induziert werden. Nach Kavitation des Xylemsaftes steigt der Druck im Zellinneren an, die Zellwände entspannen sich und beginnen zu schwingen [12, 13]. Die Ausbreitung der Schallemissionen wird stark von den Eigenschaften des Messobjektes (z.B. Feuchtezustand, Orientierung der Cellulosemikrofibrillen) beeinflusst. Signale breiten sich im Holz schneller aus als der Geschwindigkeit von Ultraschall in Wasser (1.53 km/s) entspricht. Dies weist darauf hin, dass das Cellulosematerial der Zellwände das Leitungsmedium für die akustischen Emissionen ist [13].

Ultraschallemissionen als Folge von Kavitationsereignissen in trockengestressten Pflanzenorganen sind an holzigen Angiospermen [14, 15, 16] und Gymnospermen [17, 18, 19, 20] beschrieben. In diesen Studien wurde die Verwundbarkeit vor allem von Stamm- und Zweigholz, in geringerem Maß von Wurzeln und Blattstielen untersucht. Wenige Publikationen gibt es zu Ultraschallmessungen an Laubblättern [21, 22], keine Literatur über akustische Emissionen aus Koniferennadeln.

Ziel der vorliegenden Studie war die Erfassung von trockenstress-induzierten Ultraschallemissionen in verschiedenen Pflanzenarten und -organen, sowie die Abschätzung spezifischer Unterschiede in der Verwundbarkeit gegenüber Kavitationen.

2. Material und Methoden

2.1 Pflanzenmaterial

Zweige von Fichte (*Picea abies* L. Karst.) und Zirbe (*Pinus cembra* L.) wurden in 1700 m Höhe in Praxmar, Tirol, geerntet und transpirationsgeschützt ans Institut für Botanik, Universität für Bodenkultur Wien gebracht. Die Zweige wurden unter Wasser nachgesägt, mit der Schnittstelle in wassergefüllte Gefäße gestellt, in Plastiksäcke gehüllt und bis zur völligen Aufsättigung im Kühlraum belassen.

Voll ausdifferenzierte Blätter von Voralpen-Spindelstrauch (*Euonymus latifolia* L.) und Stechpalme (*Ilex aquifolium* L.), zwei holzigen Arten, sowie von Wald-Bingelkraut (*Mercurialis perennis* L.) und Schwalbenwurz (*Vincetoxicum hirundinaria* L.), zwei krautigen Arten, wurden im Garten der Universität für Bodenkultur Wien geerntet und in Wasser aufgesättigt. An *Euonymus*, *Mercurialis*, *Vincetoxicum* wurden akustische Verwundbarkeitskurven und Druck-Volumen-Kurven erstellt, an *Ilex* vergleichende AE-Messungen an Ober- und Unterseite der Mittelrippe und Oberseite der Blattspreite durchgeführt.

2.2 Messung der Ultraschallemissionen

Als Mess-System wurden I15I Sensoren (70-200 kHz, 20 dB Vorverstärkung) in Verbindung mit 4615 Drought Stress Monitoren (Physical Acoustics Corp.) verwendet. Die Gesamtverstärkung betrug 72 dB, die Single-channel-event-time-out 400 µs. Bei Exposition der Sensoren ohne pflanzliches Objekt in freier Luft wurden bei dieser Einstellung 2-5 Signale innerhalb von 24 Stunden registriert.

Bei *Ilex* wurde ein I15I Sensor über der Mittelrippe auf der Blattoberseite montiert, ein zweiter genau gegenüber auf der Blattunterseite. In einer weiteren Mess-Serie wurde ein Sensor auf der Oberseite der Mittelrippe angebracht, der zweite auf der Oberseite der Blattspreite.

2.3 Messung des Gesamtwasserpotentials (Ψ_t)

Bei Fichte und Zirbe wurde Ψ_t an benadelten Zweigendrieben mit der Druckkammer (Plant Water Status Console, Serie 3000, Soilmoisture Equipment Corp.) bestimmt. An Blättern von *Euonymus*, *Mercurialis* und *Vincetoxicum* wurde das Blattwasserpotential automatisch und kontinuierlich mit L-51 Thermoelement-Blatthygrometern (Wescor, Inc.), die an einen CR7X Datalogger (Wescor/Campbell Water Potential System) angeschlossen waren, nach der Psychrometer-Methode gemessen.

2.4 Akustische Verwundbarkeitskurven (% AEs versus Wasserpotential)

Die Zahl der bis zu einem bestimmten Zeitpunkt vom austrocknenden Pflanzenorgan emittierten akustischen Signale wurde als Prozent des Maximums berechnet und gegen das entsprechende Wasserpotential aufgetragen. Aus dem Kurvenverlauf wurde das Wasserpotential, bei dem massive Kavitationen einsetzen (Ψ_{cav}), abgeleitet und so die jeweiligen Schwellenwerte für die untersuchten Pflanzenarten und -organe bestimmt.

2.4.1 Vergleich Zweig und Koniferennadel

Bei Fichte und Zirbe wurden Verwundbarkeitskurven gleichzeitig am Zweigholz und auf der Nadeloberseite gemessen.

Ein I15I Sensor wurde am Holz des Zweiges mittels Klemme (Anpressdruck ca. 30 N) fixiert. Im Bereich der Kontaktfläche wurden ca. 2 x 2 cm der Rinde entfernt und das freigelegte Holz mit mittelviskoser Silikonpaste, die als Kopplungsmittel und Schutz vor lokaler Austrocknung diente, abgedeckt. Ein zweiter I15I Sensor wurde an der Oberseite von drei (bei Fichte) bzw. fünf (bei Zirbe) parallel liegenden Nadeln mittels Klemme befestigt.

Die auf einem Labortisch exponierten Zweige trockneten durch freie Transpiration in Umgebungsluft aus. Die aus Zweig bzw. Nadeln emittierten akustischen Signale wurden kumulativ bis zum Aufhören der Aktivität gemessen und die Gesamtzahl jeweils als 100% gesetzt. Zu bestimmten Zeitpunkten, die vom Austrocknungsverlauf des Objektes abhängig waren, wurde das Wasserpotential mit der Druckkammer bestimmt.

2.4.2 Laubblätter

Bei *Euonymus*, *Mercurialis* und *Vincetoxicum* wurde der I15I Sensor an der Blattoberseite über der Mittelrippe im unteren Blattdrittel fixiert, das L-51 Hygrometer auf der Oberseite der Blattspreite in Bereichen mit wenigen Blattnerven. An den in Umgebungsluft austrocknenden Blättern wurden Schallemission und Wasserpotential kontinuierlich aufgezeichnet. Die Messung wurde beendet, wenn sich keine AEs mehr ereigneten.

2.5 Druck-Volumen (pV)- Kurven

An aufgesättigten Blättern von *Euonymus*, *Mercurialis* und *Vincetoxicum* wurden Druck-Volumen-Kurven erstellt, um die Beziehung zwischen Wasserpotential und Wassergehalt der Gewebe zu erfassen [23, 24]. Die Wasserpotentiale wurden mit L-51 Blatthygrometern gemessen, der relative Wassergehalt (R) aus Frischgewicht (FG), Sättigungsgewicht (SG)

und Trockengewicht (TG) nach der Formel $R = (FG - TG) / (SG - TG)$ berechnet. Aus den pV -Kurven wurde das osmotische Potential am Turgorverlustpunkt ($\Psi_{o(tvp)}$) als eine der wichtigen Komponenten des Wasserpotentials abgeleitet.

3. Ergebnisse und Diskussion

Auf der Blattoberseite von *Ilex aquifolium* wurden über der Mittelrippe 3546 ± 452 AEs gemessen, auf der Blattunterseite 2132 ± 260 ($P < 0.05$, Mann-Whitney U-Test). Dieser Unterschied in der Zahl der kumulativen AEs ist durch die Blattanatomie erklärbar: Der Xylemteil des Gefäßbündels ist zur Blattoberseite orientiert. Die Leitelemente des Xylems, in denen Wasser unter Zugspannung transportiert wird, sind durch sekundäre Verdickungen der Zellwand verstärkt. In Richtung Blattunterseite werden die Signale durch die lebenden, dünnwandigen Zellen des Phloemteils und das Schwammparenchym des Mesophylls stark gedämpft. Anatomische Untersuchungen ergaben, dass in der Gefäßbündelscheide im Bereich des Xylems wesentlich mehr Fasern vorhanden waren als um den Phloemteil (B. Kartusch, pers. Mitteilung). Es gibt Hinweise darauf, dass nicht nur kavitierende wasserleitende Elemente beim Austrocknen akustische Signale produzieren sondern auch mechanische Festigungselemente (z.B. Fasern und Sklereiden) mit dicken Zellwänden [25].

Aus der Blattspreite wurde eine sehr geringe Zahl kumulativer AEs registriert (98 ± 25), hingegen eine wesentlich höhere Zahl aus der Oberseite der Mittelrippe (1888 ± 191). Dieser Unterschied war hoch signifikant ($P \leq 0.001$, Mann-Whitney U-Test). Die geringe Zahl von AEs aus der Blattspreite kann darauf zurückzuführen sein, dass lebende Parenchymzellen beim Austrocknen kaum Ultraschallsignale emittieren [26]. Auch waren auf der Spreitenfläche nur kleine Blattnerven mit wenigen Leitelementen vorhanden, d.h. die Zahl der Zellen, die kavitimieren können, war gering.

Wurden die Blattstiele erneut in Wasser eingestellt und dadurch die Dehydrierung der Blätter unterbrochen, so hörte die AE-Aktivität nach einiger Zeit auf. Das Frischgewicht stieg an, was darauf schließen lässt, dass tatsächlich Wasser aufgenommen worden ist. Dies führte zu einer Zunahme des relativen Wassergehaltes, einer Entspannung der Stress-Situation und damit einem Nachlassen der Kavitationsereignisse.

Die Verwundbarkeitskurven der Blätter von *Euonymus*, *Mercurialis* und *Vincetoxicum* zeigen charakteristische, unterschiedliche Verläufe (Abb. 1). Bei *Euonymus* verläuft die Kurve sigmoid mit drei deutlich unterscheidbaren Abschnitten (Abb. 2). Die Kavitationsschwelle ist klar erkennbar, Ψ_{cav} liegt bei -1.75 MPa. Jenseits des Schwellenwertes steigt die Kurve steil an. In diesem Abschnitt wird eine große Zahl von AEs registriert. Allmählich schwenkt die Kurve zu einem Plateauwert ein: Die vorhandenen Leitelemente sind bereits kavitiert, die AE Aktivität stoppt bei einem Wasserpotential von ca. -3.75 MPa. Am Turgorverlustpunkt betragen das osmotische Potential ($\Psi_{o(tvp)}$) -2.16 MPa, der relative Wassergehalt (R_{tvp}) 0.90 ; 37.5% der AEs haben sich bis zu diesem Punkt ereignet. Das Wasserpotential nimmt zwischen Kavitationsschwelle und Turgorverlustpunkt um 0.41 MPa ab.

Bei *Mercurialis* beginnen die akustischen Emissionen bereits bei einem sehr hohen Wasserpotential von -0.17 MPa (Abb. 2; bei *Vincetoxicum* ähnlicher Verlauf, keine Abb.). Am Turgorverlustpunkt haben sich 91.2% der AEs ereignet, das osmotische Potential liegt bei -1.68 MPa, der relative Wassergehalt bei 0.86 . Das Wasserpotential nimmt zwischen Kavitationsschwelle und Turgorverlustpunkt um 1.51 MPa ab. Bei einem Wasserpotential von -3.11 MPa sind 100% AEs erreicht. Das Wasserpotential bei 50% AEs (Abb. 3) war bei *Euonymus* (-1.88 ± 0.09 MPa) hoch signifikant ($P \leq 0.001$, Mann-Whitney U-Test) negativer als bei *Mercurialis* (-0.52 ± 0.07 MPa) und *Vincetoxicum* (-0.60 ± 0.10 MPa).

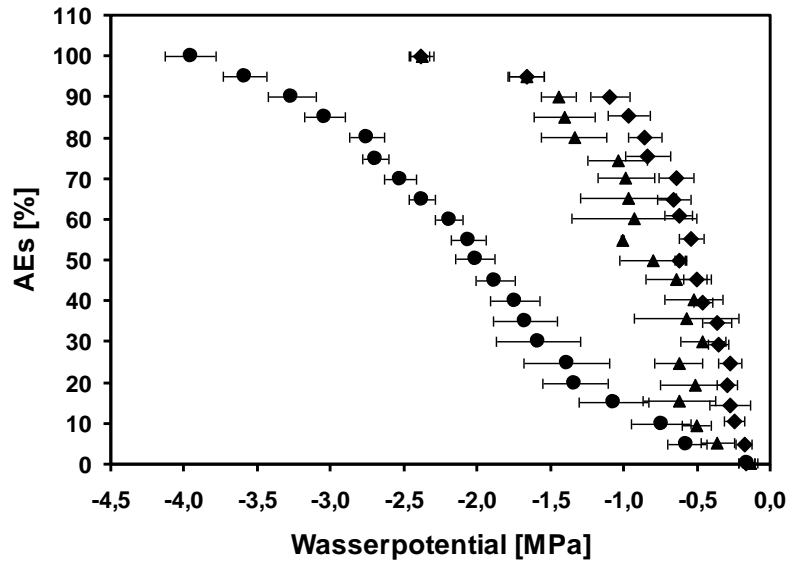


Abb. 1 Verwundbarkeitskurven von *Euonymus latifolia* (●), *Vincetoxicum hirundinaria* (▲), *Mercurialis perennis* (◆). Mittelwerte aus 6-8 Kurven pro Art ± Standardfehler (SE).

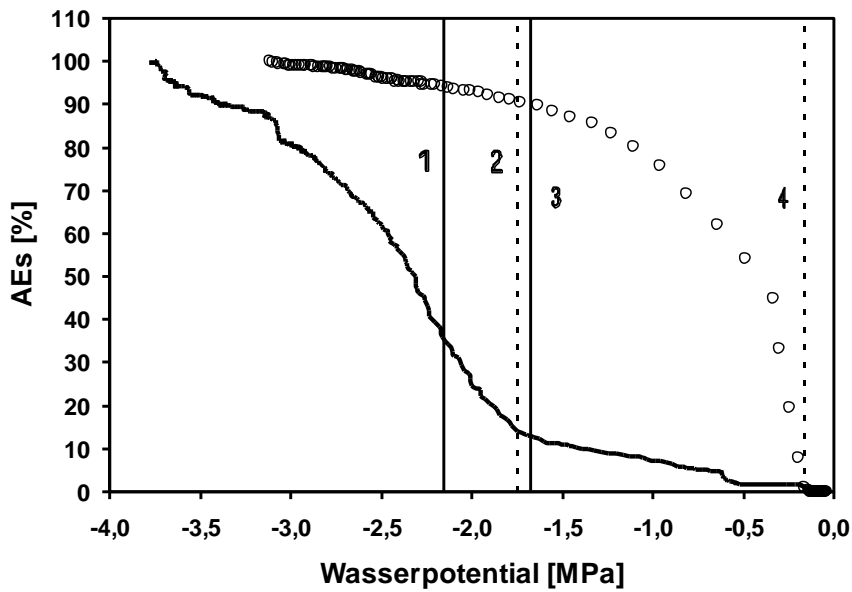


Abb. 2 Verwundbarkeitskurve eines Blattes von *Euonymus latifolia* (schwarze Linie) und *Mercurialis perennis* (○). Vertikale durchgehende Linien bezeichnen das osmotische Potential am Turgorverlustpunkt (Ψ_{tvp}): (1) *Euonymus*, (3) *Mercurialis*, vertikale strichlierte Linien das Wasserpotential zu Beginn starker AE-Aktivität (Ψ_{cav}): (2) *Euonymus*, (4) *Mercurialis*.

Für die Interpretation der unterschiedlichen Kurvenverläufe der drei Arten sind anatomische Untersuchungen, die Aufschluss über die Dimensionen der vorhandenen Leitelemente (Zahl, Länge, Volumen, Dicke der Zellwand) und die Größe der Poren in der Tüpfelmembran geben, unerlässlich. Betrachtet man die Standortsansprüche der beiden untersuchten Krautigen, so überrascht der ähnliche Verlauf ihrer Verwundbarkeitskurven.

Mercurialis bevorzugt frische Edellaubwälder, *Vincetoxicum* trocken-warme, lichte Wälder und steinige Trockenrasen. Messungen der im Tagesgang am Standort erreichten negativsten Wasserpotentiale in Verbindung mit Messungen der akustischen Emissionen und der stomatären Leitfähigkeit könnten Hinweise auf die Kavitationsresistenz der beiden Arten geben. Die Holzpflanze *Euonymus* kommt in frischen bis feuchten Edellaubwäldern, besonders Schluchtwäldern, vor. Dennoch liegt die Kavitationsschwelle bei negativeren Wasserpotentialen im Vergleich zu den beiden Krautigen. Anatomische Untersuchungen sollen folgende Annahme klären: Zuerst, bei noch hohem Wasserpotential, kavitieren die größten, empfindlichsten Leitelemente, dann die Masse der Elemente, zuletzt die resistentesten. Eine deutliche Größenverteilung der Elemente sollte erkennbar sein.

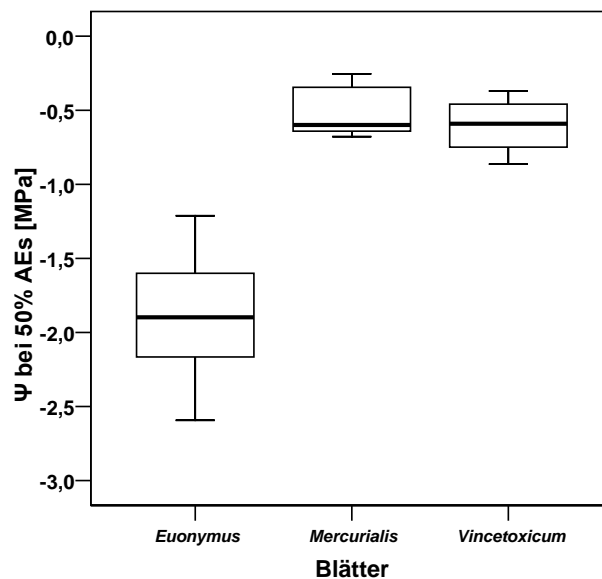


Abb. 3 Wasserpotentiale bei 50% AEs von *Euonymus latifolia*, *Mercurialis perennis* und *Vincetoxicum hirundinaria*, abgeleitet aus Verwundbarkeitskurven, n = 6-19.

Bei Fichte und Zirbe setzten die Kavitationen im Nadelxylem bei einem höheren Wasserpotential ein als im Zweigholz. Die Nadeln von Fichte begannen bei -2.25 MPa zu kavitieren, das Zweigholz bei -3.65 MPa (Abb. 4). Waren 50% AEs erreicht, konnte kein Unterschied mehr festgestellt werden, in beiden Organen lag das Wasserpotential bei ca. -3.6 MPa. In den Nadeln von Zirbe war Ψ_{cav} mit -0.55 MPa erstaunlich wenig negativ (Abb. 5). Im Zweigholz lag die Kavitationsschwelle mit -2.7 MPa in einem ähnlichen Bereich wie bei der Fichte. Bei 50% AEs bestand großer Unterschied in den Wasserpotentialen der Nadeln (-1.45 MPa) und des Zweigholzes (-3.39 MPa).

Die mit der akustischen Methode ermittelten Kavitationsschwellen des Zweigholzes von Fichte und Zirbe stimmen gut mit den nach der hydraulischen Methode (% Verlust der hydraulischen Leitfähigkeit vs. Wasserpotential) gewonnenen Daten überein [27]. Die hohen (= wenig negativen) Werte von Ψ_{cav} in den Nadeln von Zirbe müssen durch weitere Messungen abgeklärt werden. Anatomische Untersuchungen sollen eine Abschätzung der Zahl der im Leitbündel vorhandenen Tracheiden ermöglichen, ebenso die Beantwortung der Frage, ob sich diese Zahl zu den erfassten akustischen Emissionen in Beziehung setzen lässt.

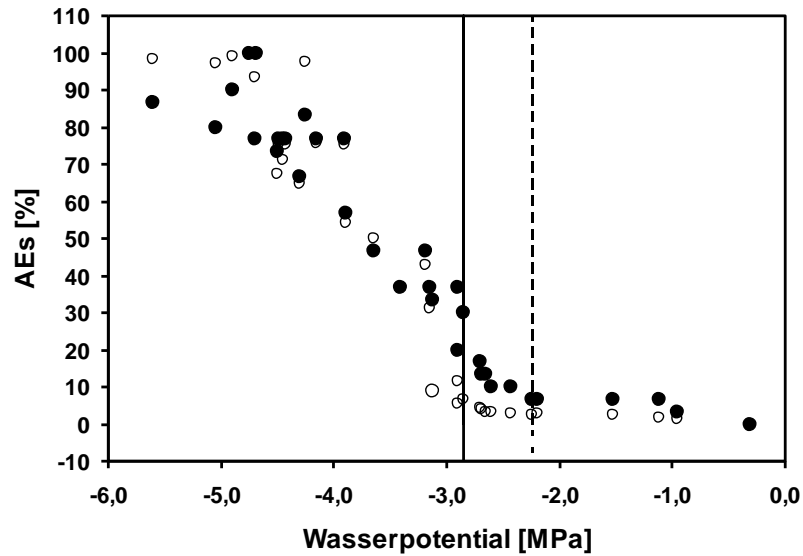


Abb. 4 Verwundbarkeitskurven von *Picea abies*; (○) Zweig (●) Nadeln. Die vertikale durchgehende Linie bezeichnet die Kavitationsschwelle (Ψ_{cav}) des Zweigholzes, die vertikale strichlierte Linie Ψ_{cav} des Nadelxylems.

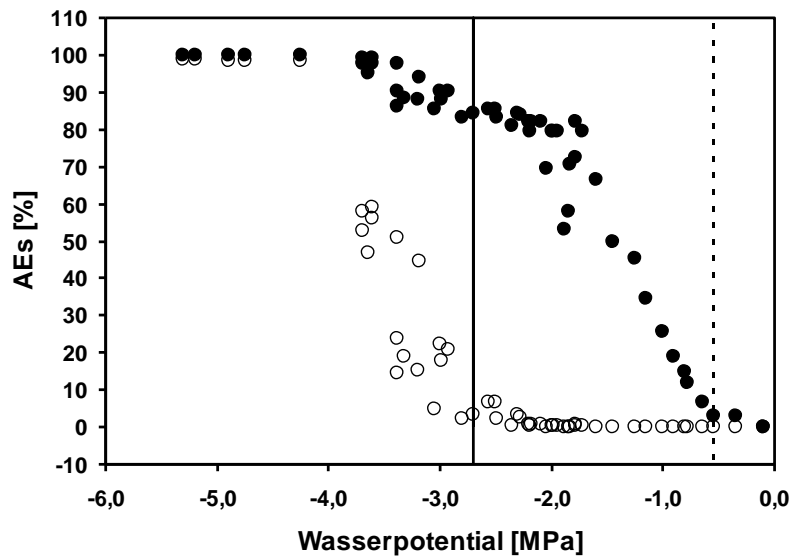


Abb. 5 Verwundbarkeitskurven von *Pinus cembra*; (○) Zweig (●) Nadeln. Die vertikale durchgehende Linie bezeichnet die Kavitationsschwelle (Ψ_{cav}) des Zweigholzes, die vertikale strichlierte Linie Ψ_{cav} des Nadelxylems.

4. Schlussfolgerung

Die akustische Methode ist geeignet zur Erstellung von Verwundbarkeitskurven an unterschiedlichen Pflanzenorganen und kann erste Informationen über die Kavitationsresistenz der untersuchten Arten geben. Für eine detailliertere Analyse sind anatomische Untersuchungen erforderlich und die Kombination mit der hydraulischen Methode empfehlenswert.

Referenzen

- [1] Boehm J. (1893) Capillarität und Saftsteigen. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 11, 203-212
- [2] Dixon H.H. & Joly J. (1895) On the ascent of sap. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 186, 563-576
- [3] Slatyer R.O. & Taylor S.A. (1960) Terminology in soil-plant-water relations. *Nature* 187, 922-924
- [4] Pickard W.F. (1981) The ascent of sap in plants. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 37, 181-229
- [5] Tyree M.T. & Sperry J.S. (1989) Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 40, 19-38
- [6] Tyree M.T. & Ewers F.W. (1991) The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* 119, 345-360
- [7] Zimmermann M.H. (1983) *Xylem Structure and the Ascent of Sap*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York Tokyo
- [8] Sperry J.S. & Tyree M.T. (1990) Water-stress-induced xylem embolism in three species of conifers. *Plant, Cell and Environment* 13, 427-436
- [9] Cochard H., Cruiziat P. & Tyree M.T. (1992) Use of positive pressures to establish vulnerability curves. *Plant Physiology* 100, 205-209
- [10] Jarbeau J.A., Ewers F.W. & Davis S.D. (1995) The mechanism of water-stress-induced embolism in two species of chaparral shrubs. *Plant, Cell and Environment* 18, 189-196
- [11] Langan S.J., Ewers F.W. & Davis S.D. (1997) Xylem dysfunction caused by water stress and freezing in two species of co-occurring chaparral shrubs. *Plant, Cell and Environment* 20, 425-437
- [12] Ritman K.T. & Milburn J.A. (1988) Acoustic emissions from plants: ultrasonic and audible compared. *Journal of Experimental Botany* 39, 1237-1248
- [13] Tyree M.T. & Sperry J.S. (1989) Characterization and propagation of acoustic emission signals in woody plants: towards an improved acoustic emission counter. *Plant, Cell and Environment* 12, 371-382
- [14] Ritman K.T. & Milburn J.A. (1991) Monitoring of ultrasonic and audible emissions from plants with or without vessels. *Journal of Experimental Botany* 42, 123-130
- [15] Lo Gullo M.A. & Salleo S. (1991) Three different methods for measuring xylem cavitation and embolism: a comparison. *Annals of Botany* 67, 417-424
- [16] Hacke U. & Sauter J.J. (1996) Drought-induced xylem dysfunction in petioles, branches, and roots of *Populus balsamifera* L. and *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.. *Plant Physiology* 111, 413-417
- [17] Borghetti M., Raschi A. & Grace J. (1989) Ultrasound emission after cycles of water stress in *Picea abies*. *Tree Physiology* 5, 229-237
- [18] Jackson G.E., Irvine J. & Grace J. (1995) Xylem cavitation in two mature Scots pine forests growing in a wet and a dry area of Britain. *Plant, Cell and Environment* 18, 1411-1418
- [19] Perks M.P., Irvine J. & Grace J. (2004) Xylem acoustic signals from mature *Pinus sylvestris* during an extended drought. *Annals of Forest Sciences* 61, 1-8
- [20] Hölttä T., Vesala T., Nikinmaa E., Perämäki M., Siivola E. & Mencuccini M. (2005) Field measurements of ultrasonic acoustic emissions and stem diameter variations. New insight into the relationship between xylem tensions and embolism. *Tree Physiology* 25, 237-243
- [21] Crombie D.S., Milburn J.A. & Hipkins M.F. (1985) Maximum sustainable xylem sap tensions in *Rhododendron* and other species. *Planta* 163, 27-33
- [22] Kikuta S.B., Lo Gullo M.A., Nardini A., Richter H. & Salleo S. (1997) Ultrasound acoustic emissions from dehydrating leaves of deciduous and evergreen trees. *Plant, Cell and Environment* 20, 1381-1390
- [23] Tyree M.T. & Richter H. (1981) Alternative methods of analysing water potential isotherms: some cautions and clarifications. I. The impact of non-ideality and of some experimental errors. *Journal of Experimental Botany* 32, 643-653.
- [24] Tyree M.T. & Richter H. (1982) Alternate methods of analysing water potential isotherms: some cautions and clarifications. II. Curvilinearity in water potential isotherms. *Canadian Journal of Botany* 60, 911-916
- [25] Kikuta S.B. (2003) Ultrasound acoustic emissions from bark samples differing in anatomical characteristics. *Phyton* 43, 161-178
- [26] Oertli, J.J. 1989. The plant cell's resistance to consequences of negative turgor pressure. In: *Structural and Functional Responses to Environmental Stresses*. Kreeb K.H., Richter H., Hinckley T.M. (eds). pp. 73-88. PB Academic Publishing. The Hague
- [27] Mayr S., Hacke U., Schmid P., Schwienbacher F. & Gruber A. (2006) Frost drought in conifers at the alpine timberline: xylem dysfunction and adaptations. *Ecology* 87, 3175-3185