

# Intra-site variabiliteit van de hydraulische eigenschappen van lianen: een case study in Horizontes, Costa Rica

Simon Dequeker

Studentennummer: 01405710

Promotoren: prof. dr. ir. Kathy Steppe, prof. dr. ir. Hans Verbeeck

Tutor: ir. Fran Lauriks

Masterproef voorgelegd voor het behalen van de graad master in de bio-ingenieurswetenschappen:  
Landbouwkunde

Academiejaar: 2019 - 2020





De auteurs en de promotor geven de toelating deze scriptie voor consultatie beschikbaar te stellen en delen ervan te kopiëren voor persoonlijk gebruik. Elk ander gebruik valt onder de beperkingen van het auteursrecht, in het bijzonder met betrekking tot de verplichting uitdrukkelijk de bron te vermelden bij het aanhalen van resultaten uit deze scriptie.

The authors and promotor give the permission to use this thesis for consultation and to copy parts of it for personal use. Every other use is subjected to the copyright laws, more specifically the source must be extensively specified when using results from this thesis.

De promotoren:

De auteur:

prof. dr. ir. Kathy Steppe, prof. dr. ir. Hans Verbeeck

Simon Dequeker





# Dankwoord

Nu het slechts aftellen is naar de deadline, en hiermee ook naar het einde van mijn traject als student, wil ik mijn thesis graag met enkele zinnen verlengen in de vorm van een dankwoord.

Warme dank gaat uit naar mijn tutor, Fran, naar Félicien, en naar mijn promotoren, professor Steppe en professor Verbeeck. Het tot stand komen van deze thesis was een werk van lange adem en voltrok zich in vele kleine stapjes, maar steeds toonden jullie grote toegankelijkheid en betrokkenheid. Tot in de laatste uren voor het indienen waren jullie bereikbaar en bereid om bij te sturen, waarvoor ik jullie heel erkentelijk ben. Aan Fran, tot jou voel ik me zeer verplicht, zonder jou had deze thesis er helemaal anders uitgezien, hele dikke merci! A Félicien, merci beaucoup pour la bonne supervision du travail sur le terrain, vous avez été d'une grande aide. Aan professor Steppe en professor Verbeeck, bedankt om mij de kans te bieden om mij te verdiepen in dit boeiende onderwerp, en dit in het prachtige Costa Rica.

Maar bovenal, niets belangrijker dan de mensen die er steeds voor je zijn. Bedankt aan mijn vrienden, die, hoewel fysiek afwezig, mij vooruitstuwden met het vooruitzicht van herbroederen in een thesis-vrije zomer. Aan het thuisfront, bedankt om mij twee maanden en een half onvoorwaardelijk te steunen en zelfs geregeld de afwasplicht te beperken. Mama, papa, bedankt om het Costa-Ricaanse avontuur mogelijk te maken. Speciale dank ook aan Levi, voor het nauwkeurig aanpassen van figuren. Je bent beter met computers dan ik ben.

I'm very grateful to Jennifer Powers and German Vargas, for opening up the laboratory in Horizontes to us, and for providing the necessary equipment. This research would not be possible without their help and commitment.

Por último, gracias a mis buenos amigos de Costa Rica por recibirme con los brazos abiertos. Agradecimientos especiales a Franklin, el mejor chef de Costa Rica, y a David Reyes, Marlon (carapicha), Michael y los otros compañeros de Horizontes por la agradable compañía, el compromiso y los juegos de mejenga.



# Preambule

Het doel van deze masterthesis was het onderzoeken van de hydraulische eigenschappen van lianen in het tropisch droogbos van Horizontes, Costa Rica. Dataverzameling vond plaats in de zomer en herfst van 2019, waardoor de belangrijkste resultaten reeds waren verkregen voor het uitbreken van de coronacrisis. Een anatomiestudie op getransporteerde lianenstalen was echter nog gepland (maart-april), en zou een mooie aanvulling geweest zijn op de reeds verworven resultaten. Anderzijds bracht corona een zee van tijd met zich mee, die dankbaar werd ontvangen en gebruikt voor het vormgeven van deze masterproef.





# Inhoudsopgave

<b>Dankwoord</b>	<b>I</b>
<b>Preambule</b>	<b>II</b>
<b>Acroniemen</b>	<b>VI</b>
<b>Symbolen</b>	<b>VII</b>
<b>Abstract</b>	<b>IX</b>
<b>1 Introductie</b>	<b>1</b>
<b>2 Literatuurstudie</b>	<b>3</b>
2.1 Ecologie van lianen . . . . .	3
2.2 Ecofysiologische processen . . . . .	6
2.2.1 Watertransport . . . . .	6
2.2.2 Embolismevorming . . . . .	9
2.2.3 De afweging tussen hydraulische geleidbaarheid en hydraulische veiligheid	12
2.3 Hydraulische architectuur van lianen . . . . .	13
2.4 Lianen als enthousiaste groeiers onder droogte . . . . .	17
2.5 Lianen en droogte . . . . .	20
2.5.1 De afweging tussen hydraulische geleidbaarheid en hydraulische veiligheid	20
2.5.2 Lianen onder droogte . . . . .	22
2.6 Naar een case study in Costa Rica . . . . .	26
<b>3 Materiaal en methoden</b>	<b>28</b>

3.1	Site en proefopzet . . . . .	28
3.2	In situ-waterpotentiaalmetingen . . . . .	30
3.3	Maximale vatlengte . . . . .	31
3.4	Oogsten en transport van takken . . . . .	32
3.5	Uitdrogingsexperimenten . . . . .	32
3.5.1	Vatsbaarheidcurven op basis van de PLC-methode . . . . .	32
3.5.2	Vatbaarheidscures op basis van de optische methode ( $VC_{opt}$ ) . . . . .	36
3.5.3	Vatbaarheidscures op basis van akoestische emissies ( $VC_{AE}$ ) . . . . .	38
3.5.4	Statistische analyse van de uitdrogingsexperimenten . . . . .	42
<b>4</b>	<b>Resultaten</b>	<b>44</b>
4.1	Maximale vatlengte . . . . .	44
4.2	In-situ waterpotentiaalmetingen . . . . .	44
4.3	Stress-strain en de stress-tijd relatie . . . . .	47
4.4	Hydraulische veiligheid . . . . .	49
4.4.1	Hydraulische veiligheid op takniveau: PLC-methode . . . . .	49
4.4.2	Hydraulische veiligheid op takniveau: AE-methode . . . . .	51
4.4.3	Hydraulische veiligheid op bladniveau: OV-methode . . . . .	52
4.5	Vergelijking van de hydraulische veiligheid tussen tak- en bladniveau . . . . .	54
4.6	Veiligheidsmarge en effectieve droogtestress . . . . .	55
4.7	Hydraulische geleidbaarheid en veiligheid . . . . .	56
<b>5</b>	<b>Discussie</b>	<b>57</b>
5.1	Droogtestress bij lianen . . . . .	57
5.1.1	In-situ droogtestress . . . . .	57
5.1.2	Gedrag van lianen onder uitdroging: stress- <i>strain</i> en de stress-tijd relatie . . . . .	58
5.2	Hydraulische veiligheid . . . . .	59
5.2.1	Hydraulische veiligheid op takniveau . . . . .	59
5.2.1.1	Vergelijking tussen PLC en AE-methode . . . . .	59

5.2.1.2	Vergelijking van de hydraulische veiligheid in de tak tussen lianen	63
5.2.2	De verhouding van de hydraulische veiligheid op tak- en bladniveau . . . . .	65
5.3	Effectieve droogtestress: veiligheidsmarge en embolisme in het veld . . . . .	66
5.4	Hydraulische geleidbaarheid en veiligheid . . . . .	67
5.5	Uitdagingen en knelpunten in deze studie . . . . .	69
<b>6</b>	<b>Conclusie</b>	<b>70</b>
	<b>Referenties</b>	<b>72</b>

# Acroniemen

---

Acroniem	Volledig
AE	Akoestische emissie
MVL	Maximale vatlengte
NSK	Niet-structurele koolhydraten
OV	Optische vatbaarheid
PLC	Reductie van de geleidbaarheid
PNUE	Fotosynthetische stikstof gebruiksefficiëntie
SLA	Specifieke bladoppervlakte
VAC	Vat-geassocieerde cellen
VC	Vatbaarheidscurve
VPD	Verdampingsdeficit

---

# Symbolen

Symbool	Beschrijving	Eenheid
$A_{\text{mass}}$	Koolstofassimilatie per eenheid bladmassa	$\text{nmol.g}^{-1}.\text{s}^{-1}$
$A_v$	Embolismevorming in het veld volgens OV	%
$AE_v$	Embolismevorming in het veld volgens AE-signalen	%
$d_i$	Initiële gehydrateerde diameter	$\mu\text{m}$
$d_t$	Diameter tijdens uitdrogen	$\mu\text{m}$
$\Delta d_t/d$	Relatieve radiale krimp ( <i>Strain</i> ) tijdens uitdrogen	$\mu\text{m}/\text{mm}$
$E_r$	Schijnbare radiale elasticiteitsmodulus	MPa
$F$	Debiet	$\text{m}^3.\text{s}^{-1}$
$g$	Gravitatieconstante	$\text{m s}^{-2}$
$g_s$	Stomatale geleidbaarheid	$\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$
$h$	Hoogte	m
$J$	Sapstroomdebiet	$\text{kg.s}^{-1}$
$J_s$	Specifiek debiet van de sapstroom	$\text{kg.s}^{-1}.\text{m}^{-2}$
$K$	Hydraulische geleidbaarheid	$\text{kg.MPa}^{-1}.\text{s}^{-1}$
$K_c$	$K$ bij PLC-methode, gecorrigeerd voor doorsnede en lengte taksegment	$\text{kg.m}^{-1}.\text{MPa}^{-1}.\text{s}^{-1}$
$K_{c,\text{max}}$	$K_c$ van de referentietak	$\text{kg.m}^{-1}.\text{MPa}^{-1}.\text{s}^{-1}$
$K_l$	Blad-specifieke hydraulische geleidbaarheid	$\text{kg.m}^{-1}.\text{MPa}^{-1}.\text{s}^{-1}$
$K_s$	Stam-specifieke hydraulische geleidbaarheid	$\text{kg.m}^{-1}.\text{MPa}^{-1}.\text{s}^{-1}$
$K_{s,\text{pot}}$	Potentiële stam-specifieke hydraulische geleidbaarheid	$\text{kg.m}^{-1}.\text{MPa}^{-1}.\text{s}^{-1}$
$P_n$	Fotosynthesesnelheid	$\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$
$P_{\text{mass}}$	Fosfor massaconcentratie	$\text{mg.g}^{-1}$
$\text{PLC}_v$	Embolismevorming in het veld volgens PLC	%
$\Delta P$	Drukverschil (Literatuurstudie)	Pa
$\Delta P$	Drukverschil over het taksegment (Materiaal en methoden)	Pa
$r_m$	Kromtestraal meniscus	m
$R$	Hydraulische weerstand	$\text{MPa.s.kg}^{-1}$
$\text{VM}_A$	Veiligheidsmarge indien gemeten met OV	MPa
$\text{VM}_{\text{AE}}$	Veiligheidsmarge indien gemeten met AE-signalen	MPa
$\text{VM}_{\text{PLC}}$	Veiligheidsmarge indien gemeten met PLC	MPa
$\delta$	Densiteit van de oplossing	$\text{kg m}^{-3}$
$\sigma$	Oppervlaktespanning water	Pa.m

Symbol	Beschrijving	Eenheid
$\psi$	Waterpotentiaal	MPa
$\psi_l$	Bladwaterpotentiaal	MPa
$\psi_{1,A0}$	Meest negatieve bladwaterpotentiaal met 0% geëmboliseerde vat-oppervlakte in blad	MPa
$\psi_{1,A1}$	Bladwaterpotentiaal met het eerste waarneembare embolisme in het blad	MPa
$\psi_{1,A12}$	Bladwaterpotentiaal met 12% geëmboliseerde vat-oppervlakte in het blad	MPa
$\psi_{1,A50}$	Bladwaterpotentiaal met 50% geëmboliseerde vat-oppervlakte in het blad	MPa
$\psi_{1,88}$	Bladwaterpotentiaal met 88% geëmboliseerde vat-oppervlakte in het blad	MPa
$\psi_{1,100}$	Bladwaterpotentiaal met 100% geëmboliseerde vat-oppervlakte in het blad	MPa
$\psi_{1,min}$	Bladwaterpotentiaal bij maximale lichtinstraling	MPa
$\psi_s$	Stamwaterpotentiaal	MPa
$\psi_{s,12}$	Stamwaterpotentiaal waarbij 12% van de geleidbaarheid is verloren	MPa
$\psi_{s,50}$	Stamwaterpotentiaal waarbij 50% van de geleidbaarheid is verloren	MPa
$\psi_{s,88}$	Stamwaterpotentiaal waarbij 88% van de geleidbaarheid is verloren	MPa
$\psi_{s,AEa}$	Stamwaterpotentiaal met de eerste duidelijk waarneembare toename in AE-activiteit	MPa
$\psi_{s,AE0}$	Meest negatieve stamwaterpotentiaal met 0% AE-signalen	MPa
$\psi_{s,AE12}$	Stamwaterpotentiaal met 12% AE-signalen	MPa
$\psi_{s,AE50}$	Stamwaterpotentiaal met 50% AE-signalen	MPa
$\psi_{s,AE88}$	Stamwaterpotentiaal met 88% AE-signalen	MPa
$\psi_{s,AE100}$	Stamwaterpotentiaal met 100% AE-signalen	MPa
$\psi_{s,max}$	Stamwaterpotentiaal in het veld voor zonsopkomst	MPa
$\psi_{s,min}$	Stamwaterpotentiaal in het veld bij maximale lichtinstraling	MPa
$\Delta\psi$	Vershil in waterpotentiaal	MPa
$\Delta\psi_l$	Dagelijkse variatie in de bladwaterpotentiaal	MPa

# Abstract

Lianen zijn belangrijke componenten in tropische bossen, en verlagen door hun ingrijpende invloed op de bosdynamiek de koolstofopname en -opslag. Lianen lijken voornamelijk te gedijen in verstoorde omgevingen en bij relatief lage beschikbaarheid van water. Desondanks worden lianen vatbaar geacht voor hydraulisch falen (i.e. het breken van de waterkolom) onder droogtestress, als gevolg van hun veronderstelde efficiënte vasculaire systemen. De kennis over de droogtetolerantie van lianen en hoe deze onderling varieert tussen soorten is evenwel erg beperkt. Rekening houdend met de toename van lianen in neotropische bossen de laatste decennia, is inzicht in de eventuele heterogeniteit van het hydraulisch functioneren van lianen onder droogte essentieel om de evolutie van de lianenabundantie en koolstofcyclus onder antropogene klimaatverandering te kunnen voorspellen.

Deze masterthesis onderzoekt daarom de variabiliteit van de hydraulische eigenschappen van vijf abundante lianensoorten (*Serjania schiedeana* (Sapindaceae), *Acacia tenuifolia* (Fabaceae), *Cydista heterophylla* (Bignoniaceae), *Banisteriopsis muricata* (Malpighiaceae) en *Cissus microcarpa* (Vitaceae)) in het bladverliezend tropisch droogbos van Horizontes, Costa Rica. Vatbaarheid voor hydraulisch falen werd bepaald aan de hand van vatbaarheidscurves (i.e. het percentage geleidingsverlies met afnemende waterpotentiaal) voor tak (reductie in geleidingsvermogen (PLC) methode en akoestische emissie (AE) methode) en blad (optische (OV) methode). Metingen van de stamwaterpotentiaal, zowel in-situ als tijdens uitdroging, en de radiale elasticiteit van de tak, maakten het mogelijk om het gedrag van lianen onder droogte in kaart te brengen.

Grote variabiliteit in de hydraulische veiligheid, gekarakteriseerd door  $\psi_{50}$ -waarden, werd vastgesteld tussen lianen.  $\psi_{50}$  varieerde van -1.15 MPa (AE-methode) en -1.07 MPa (OV-methode) in respectievelijk de tak en het blad van *Cissus*, tot -9.48 MPa (AE-methode) en -5.13 MPa (OV-methode) in respectievelijk tak (AE-methode) en blad van *Banisteriopsis*. Echter, de vastgestelde  $\psi_{50}$ -waarden op takniveau verschilden sterk tussen de gehanteerde methodes, waarbij de AE-methode voor alle soorten een sterk verhoogde hydraulische veiligheid aangaf in vergelijking met de PLC-methode. Dit is mogelijk het resultaat van zowel een onder- als overschatting van de hydraulische veiligheid bij respectievelijk de PLC en AE-methode. Grote verschillen in de stamwaterpotentiaal in het veld, de radiale elasticiteit van de stam en het uitdrogingspatroon van lianen, benadrukken het veelzijdige karakter van de gehanteerde hydraulische strategieën.

Deze masterthesis duidt op de grote heterogeniteit van de lianen-groevorm. Tot op vandaag worden lianen beschouwd als een homogene groep, gekenmerkt door efficiënte en kwetsbare vasculaire systemen. Dit wordt echter betwist door de resultaten uit deze masterthesis. Zij beschrijven een grote diversiteit tussen lianen, met een lage (*Cissus*), tot matige (*Acacia*), en zelfs hoge (*Banisteriopsis*, *Cydista* en *Serjania*) hydraulische veiligheid. Integratie van dit veelzijdige hydraulisch karakter van lianen in ecosysteemmodellen is daarom noodzakelijk om de koolstofcyclus in tropische bossen op een accuratere manier te beschrijven en voorspellen. Deze studie roept daarom op tot meer onderzoek om de hydraulische eigenschappen van lianen verder te ontrafelen.



# Hoofdstuk 1

## Introductie

Lianen zijn een karakteristieke component van tropische bossen en groeien voorspoedig in verstoorde, secundaire bossen met een droogteseizoen (Schnitzer, 2005). Door hun ingrijpende invloed op de bosdynamiek, verminderen lianen de koolstofopname en -opslag van tropische bossen (Van Der Heijden *et al.*, 2015). Recente studies duiden bovendien op een toename van lianen in neotropische bossen (Campanello *et al.*, 2016). De reden van deze toename blijft echter vooralsnog ongekend. Aangezien lianen floreren in tropische droogbossen, lijken ze een voordeel te genieten onder droge omstandigheden (DeWalt *et al.*, 2010).

Hydraulisch falen, of het breken van de waterkolom, wordt beschouwd als een van de voornaamste oorzaken van droogte-geïnduceerde plantensterfte (Powers *et al.*, 2020). Lianen worden vaak beschouwd als een homogene groep (e.g. in statistische of vegetatiemodellen), die verondersteld wordt te beschikken over een efficiënt vasculair systeem dat sterk verschilt van dat van bomen (Hacke *et al.*, 2006). Dit efficiënt transportweefsel zou lianen echter ook vatbaar maken voor hydraulisch falen (De Guzman *et al.*, 2017). Data over lianen blijft evenwel relatief schaars. Recente studies tonen ook de grote variabiliteit tussen lianen onderling aan, en zetten hiermee een vraagteken achter het enkelvoudig functionele type van de lianen-groeivorm (Meunier *et al.*, 2020). De droogtetolerantie van lianen blijft echter vooralsnog onderbelicht, en slechts weinig is geweten over hoe lianen hierin onderling verschillen. In deze masterthesis staat de hypothese centraal dat lianen gebruik maken van een spectrum aan droogte-overlevingsmechanismen, die de toename in neotropische droogbossen zou kunnen verklaren. Het hoofdobjectief van deze studie bestaat er daarom uit een beter inzicht te krijgen in de droogtetolerantie en de interspecies variabiliteit van lianen.

In de literatuurstudie worden de relevante ecofysiologische processen toegelicht en volgt een algemene beschrijving van de (hydraulische) architectuur van lianen. Vervolgens wordt de focus gelegd op de reeds vergaarde kennis van het gedrag van lianen onder droogte.

Om de onderzoeksvraag te beantwoorden werd een meetcampagne uitgevoerd in het tropisch droogbos van Horizontes, Costa Rica. De vatbaarheid van vijf abundante lianensoorten (*Serjania schiedeana* (Sapindaceae), *Acacia tenuifolia* (Fabaceae), *Cydista heterophylla* (Bignoniaceae),

*Banisteriopsis muricata* (Malpighiaceae) en *Cissus microcarpa* (Vitaceae)) ten opzichte van hydraulisch falen werd onderzocht met behulp van drie verschillende methoden op tak- (reductie in geleidingsvermogen (PLC) methode en akoestische emissie (AE) methode) en bladniveau (optische (OV) methode). Waterpotentiaalmetingen in het veld en tijdens uitdroging in het laboratorium maakten het mogelijk een beeld te vormen van de in situ-droogtestress en het uitdrogingspatroon van deze lianen.

Deze studie zet een stap richting verbetering van de karakterisatie van het gedrag van lianen onder droogte. Inzicht in de heterogeniteit van de droogtetolerantie van lianen is essentieel om de huidige en toekomstige lianenabundantie te kunnen verklaren en voorspellen. De integratie van lianen in ecosysteemmodellen is noodzakelijk om de koolstofcyclus in de tropen op een realistische manier te beschrijven (Verbeeck en Kearsley, 2016). Omwille van de schaarste aan data werden lianen echter lang genegeerd. De ontwikkeling van ecosysteemmodellen met lianen zijn een jong en opkomend gegeven (Di Porcia E Brugnera *et al.*, 2019), en de bekomen resultaten kunnen worden gebruikt voor de verdere ontplooiing van deze modellen.

# Hoofdstuk 2

## Literatuurstudie

### 2.1 Ecologie van lianen

Lianen zijn dunstammige, gewortelde planten die gebruik maken van de steunstructuur van gastheerbomen om de top van het bladerdak te bereiken en daar hun relatief grote bladmassa te ontvouwen. Lianen zijn een polyfiletische groep en worden daarom gekenmerkt door een enorme diversiteit. Dit wordt verklaard door de herhaalde en onafhankelijke ontwikkeling van klimstructuren binnen de verschillende plantenordes (Schnitzer, 2002).

Lianen zijn een belangrijke en karakteristieke component van tropische bossen (Figuur 2.1) en spelen een belangrijke rol in hun structuur en dynamiek. De aanwezigheid van lianen neemt sterk af met toenemende breedtegraad ten gevolge van hun kwetsbaarheid voor lage temperaturen. Het



**Figuur 2.1:** Een boom wordt overwoekerd door lianen (Tropisch nevelwoud in Monteverde, Costa Rica)

gemiddelde relatieve aandeel van lianen in tropische bossen bedraagt 25% (Schnitzer, 2002), maar dit kan oplopen tot 45% (Schnitzer, 2005). Tussen tropische bossen, zowel regionaal als pantropisch, neemt de abundantie van lianen toe met afnemende gemiddelde jaarlijkse neerslag en met toenemende duur van het droogseizoen (Schnitzer, 2005; DeWalt *et al.*, 2010). Het belang van louter klimatologische variabelen werd echter ook in vraag gesteld. Van Der Heijden en Phillips (2008) vonden dat voornamelijk de bosstructuur en de aanwezigheid en karakteristieken van gastheerbomen het voorkomen van lianen bepalen. Binnen een tropisch bos neemt zowel de abundantie als de diversiteit aan lianen toe op sterk verstoorde en open plaatsen (Schnitzer, 2005). Samenvattend lijken lianen dus voornamelijk goed te gedijen in jonge en verstoorde tropische bossen met een intens droogtseizoen.

De ecologie van lianen en hun invloed op de bosdynamiek en het ecosysteem is lang onbekend terrein gebleven. Een verklaring hiervoor is de moeilijkheid om planten met een grillig groeipatroon en snelle vegetatieve voortplanting, in combinatie met taxonomische onzekerheden, te bestuderen (Schnitzer, 2002). Toenemend onderzoek maakt de cruciale, eerder negatieve rol in de bosdynamiek, en hun belang voor dieren, als voedselbron en als natuurlijke bruggen tussen bomen, steeds meer duidelijk (Schnitzer, 2002).

Het effect van lianen op de bosdynamiek is ingrijpend en meervoudig. In de eerste plaats zijn lianen sterke concurrenten voor ondergrondse (water en nutriënten) en bovengrondse (licht) grondstoffen (Schnitzer, 2018). In een vochtig tropisch bos in Panama (Gigante Peninsula) daalde de lichtinterceptie met 20% na het verwijderen van lianen (Rodríguez-Ronderos *et al.*, 2016). Drie jaar later steeg de vochtigheidsgraad van de bodem op veertig centimeter diepte met 25% (Reid *et al.*, 2015).

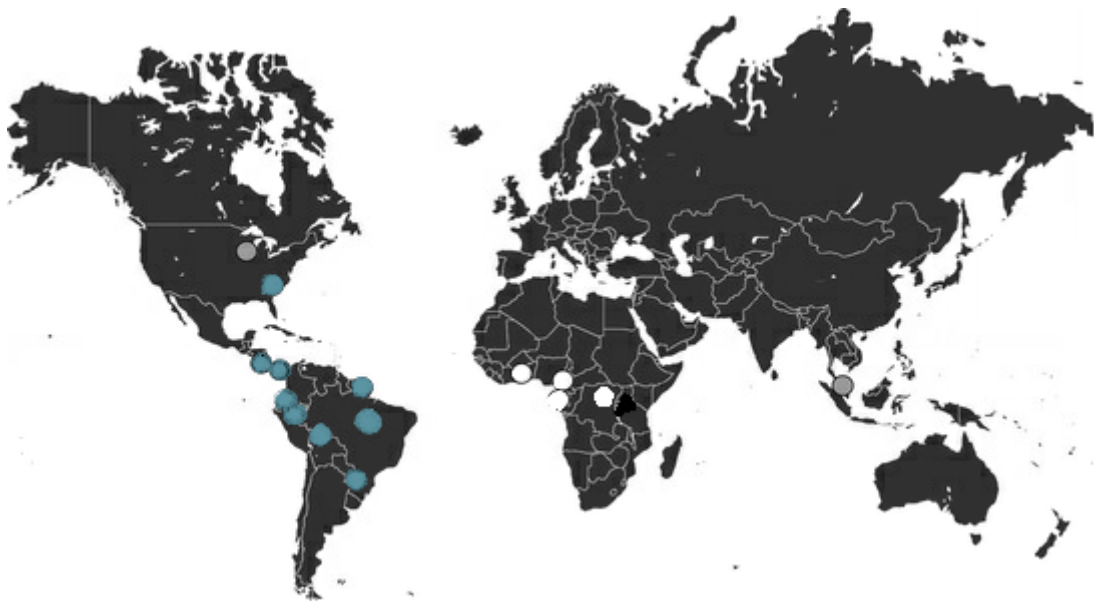
Bovendien ondervinden bomen grote mechanische stress door de aanwezige lianen. Op hun weg naar het kroondak verplaatsen lianen voortdurend boombladeren (Schnitzer, 2018), en het gewicht van afhangende lianen oefent een grote druk uit op hun gastheer (Schnitzer, 2002).

Reeds een veelvoud aan studies beschreef de negatieve impact van lianen op bomen. Lianen verlagen de sapstroom, de groei (tot 84% (Van Der Heijden en Phillips, 2009)), de diversiteit en de fecunditeit (Nabe-Nielsen *et al.*, 2009) van bomen. Daarnaast zorgen lianen voor een verdubbeling tot verdriedubbeling van de mortaliteit (Ingwell *et al.*, 2010; Phillips *et al.*, 2005), en verstoren ze de vestiging van kiemplanten (Stevens, 1987; Barker en Pérez-Salicrup, 2000; Schnitzer, 2001; Van Der Heijden *et al.*, 2015; Schnitzer, 2018). Lokale verstoringen, ontstaan door het omvallen van bomen, zijn een drijvende kracht achter de bosdynamiek en bosvernieuwing. Onder normale omstandigheden vestigen zaailingen zich in deze gevormde openingen, waarna het kroondak zich na verloop van tijd opnieuw sluit (Whitmore, 1984). Vaak worden deze openingen echter gekoloniseerd door snelgroeiende lianen die de traag groeiende, schaduwtolerante bomen verstikken (Whitmore, 1984; Augusto *et al.*, 2000).

De combinatie van de sterk negatieve impact op groei en successie van bomen en de beperkte investering in een koolstofrijke stam, vertalen zich in een sterke afname van de koolstofopname

en -opslag, en in een versnelde koolstofcyclus (Van Der Heijden *et al.*, 2015; Schnitzer, 2018). Zo waren lianen verantwoordelijk voor een reductie van 75% van de bovengrondse koolstofopname in een tropisch bos in Panama (Gigante Peninsula) (Van Der Heijden *et al.*, 2015).

Tropische bossen omvatten bijna 30% van alle aardse koolstof en beslaan 40% van de mondiale koolstofreservoirs (Van Der Heijden *et al.*, 2015). Ze spelen dus een cruciale rol bij het onttrekken van CO<sub>2</sub> aan de atmosfeer en het vertragen van de klimaatopwarming. Recente studies tonen een sterke toename in de abundantie van lianen in neotropische bossen, maar een stabilisatie of zelfs afname in tropische bossen in Afrika en Azië (Figuur 2.2) (Schnitzer en Bongers, 2011; Campanello *et al.*, 2016; Bongers *et al.*, 2020). Tot vandaag blijven de mechanismen verantwoordelijk voor dit patroon onduidelijk (Wright *et al.*, 2015). De invloed van klimaatverandering als het gecombineerde effect van hogere atmosferische CO<sub>2</sub> concentraties en intensere droogteperiodes, en een toenemende graad van natuurlijke en antropogene verstoringen, werden reeds gesuggereerd (Phillips *et al.*, 2002; Schnitzer en Bongers, 2011). Wat de oorzaken ook zijn, de toename van lianen in neotropische bossen heeft verstrekkende gevolgen op de toekomstige koolstofbalans in de tropen, en dus ook voor de opwarming van de aarde. Om de



**Figuur 2.2:** De locatie van studiesites die de verandering van lianenabundantie opvolgen in de tijd. Blauwe cirkels geven de sites aan waar de abundantie of densiteit is gestegen, witte cirkels waar de abundantie is gedaald en grijze cirkels waar de abundantie onveranderd is gebleven. Aangepast van Campanello *et al.* (2016).

hedendaagse en toekomstige koolstofcyclus in de tropen te simuleren, mogen lianen niet langer genegeerd worden. Foutieve representaties van demografische processen maken het onmogelijk voor de huidige ecosysteemmodellen om de koolstofcyclus op een realistische manier te simuleren. Door ook lianen in rekening te brengen, kunnen deze modellen erin slagen om de tropische koolstofcyclus accurater te modelleren. Er bestaat echter nog veel onzekerheid over het fysiologisch functioneren van lianen, en uitgebreide datasets om te gebruiken in globale vegetatiemodellen zijn vooralsnog beperkt (Verbeeck en Kearsley, 2016). Dit leidde ertoe dat

lianen lange tijd werden genegeerd. Toch werd recent voor de eerste maal een vegetatiemodel ontwikkeld waarin lianen werden geïntegreerd (Di Porcia E Brugnera *et al.*, 2019). In dit model werd echter nog geen rekening gehouden met de hydraulische eigenschappen van lianen. De hydraulische architectuur en geassocieerde eigenschappen zijn van cruciaal belang om het gedrag van planten in het huidige en toekomstige klimaat te begrijpen. De hydraulische werking van lianen zou een verklaring kunnen bieden voor de hoge abundantie in tropische droogbossen. Uitgebreide kennis van algemene hydraulische processen in planten en de toepassing hiervan op lianen, is daarom noodzakelijk.

## 2.2 Ecofysiologische processen

Elke dag stromen honderden liters water door de stam van een volwassen boom (Cochard, 2006). Dit water wordt, onder invloed van een passief proces, tientallen meters opwaarts getransporteerd van de wortels naar de bladeren (Cochard, 2006), waar het vervolgens verdampt aan de atmosfeer (transpiratie). Tot op vandaag blijft dit proces, wat volgens sommigen balanceert op de grens van de fysische mogelijkheid, voer voor discussie onder plantenfysiologen (Tyree, 1997; Zimmermann *et al.*, 2004; Bentrup, 2017).

Eensgezindheid bestaat er wel over het cruciaal belang van water op vier verschillende functioneringsniveaus in de plant.

- i) Water is een essentiële molecule bij de fotosynthese. Door de reactie met CO<sub>2</sub>, opgenomen uit de atmosfeer, worden suikers geproduceerd (Steppe, 2018).
- ii) Water treedt op als koelvloeistof tijdens transpiratie. Het energieverbruik bij de omzetting van water in waterdamp in de substomatale ruimten laat de plant toe om de bladtemperatuur in de buurt van de omgevingstemperatuur te houden, ondanks een hoge lichtinstraling (Steppe, 2018).
- iii) Water zorgt voor een hydrostatische druk, turgor, die de plant veerkracht en elasticiteit verleent, en noodzakelijk is voor celexpansie en groei van de plant (Steppe, 2018).
- iv) Water doet ook dienst als een oplos- en transportmiddel voor voedingsstoffen en nutriënten (Steppe, 2018).

### 2.2.1 Watertransport

De waterpotentiaal ( $\psi$  [MPa]) wordt gebruikt om de beschikbaarheid van water aan te geven en heeft een thermodynamische grondslag.  $\psi$  kan worden gedefinieerd als de hoeveelheid arbeid per volume-eenheid nodig om water van een referentietoestand (bv. vrij water bij standaard druk en temperatuur) over te brengen naar een bepaalde plaats in de plant. Een sterk negatieve waarde duidt op een lage waterbeschikbaarheid en een grote zuigspanning. Water verplaatst zich dus passief van minder negatieve, meestal in de wortels, naar een meer negatieve  $\psi$ , meestal in de bladeren (Figuur

2.3) (Steppe, 2018).

Het basisprincipe achter dit opwaartse watertransport werd meer dan 100 jaar geleden voor het eerst benoemd als de cohesie-tensie theorie (Dixon en Joly, 1895). Door een sterke adhesie met de hydrofiele xyleemwand en door cohesiekrachten tussen de watermoleculen onderling, wordt water omhooggetrokken. De aanwezigheid van waterstofbruggen tussen watermoleculen zorgt voor de vorming van een ketting van de wortels tot de bladeren. In de bladeren wordt de continue waterkolom gesplitst, en vele lucht-water menisci worden gevormd aan de celwanden die de substomatale ruimte begrenzen. Door de hoge relatieve luchtvochtigheid diffundeert waterdamp via de stomata naar de atmosfeer. Deze transpiratie, gedreven door zonne-energie, ligt aan de bron van de opwaartse waterstroom.

Dit wordt duidelijker door in te zoomen op de meniscus. Door verdamping trekt water zich terug en verkleint de kromtestraal van de meniscus. Dit leidt, volgens de vergelijking van Young-Laplace (Vergelijking 2.1), tot een verhoogd drukverschil over de meniscus. Transpiratie veroorzaakt zo een negatieve hydrostatische druk (zuigspanning) die zorgt voor de opwaartse beweging van de waterkolom, en die kan worden opgemeten als de  $\psi$  (Scholander *et al.*, 1965).

$$\Delta P = 2\sigma/r_m \quad (2.1)$$

met  $\Delta P$  [Pa] het drukverschil over de meniscus,  $\sigma$  de oppervlaktespanning van water (=0.072 Pa.m bij 25°C) en  $r_m$  [m] de kromtestraal van de meniscus.

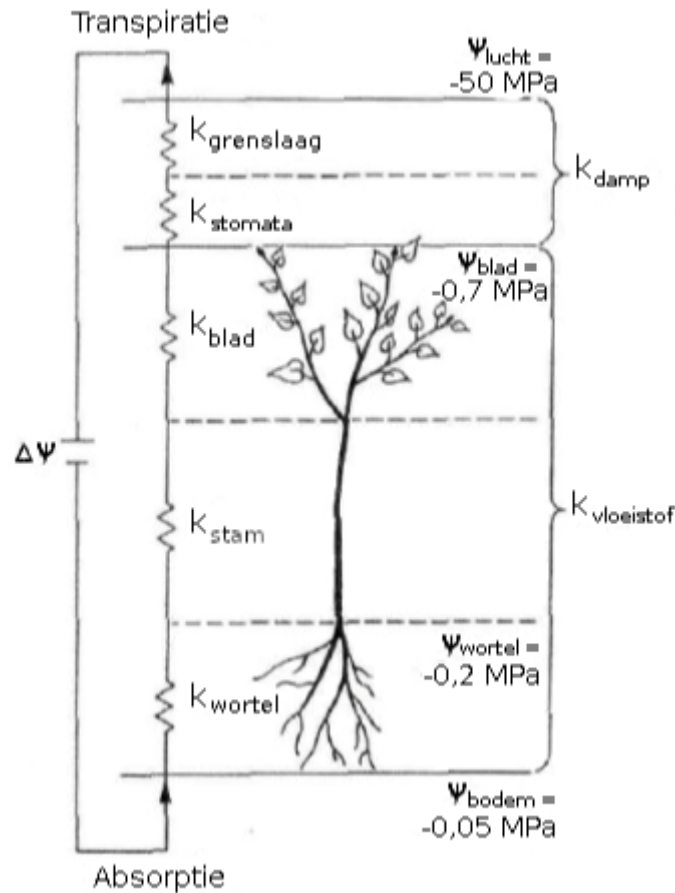
Transpiratie in de bladeren gevolgd door wateropname in de wortels vormt de basis van de waterbalans van de plant. Aangezien transpiratie het gevolg is van het atmosferische dampdrukdeficit en wateropname afhankelijk is van de bodemwaterstatus, kan de waterstroming beschouwd worden in het continuüm bodem-plant-atmosfeer.

Hierin kan, indien transpiratie gelijk is aan opname (stationaire stroming), de waterstroom kwantitatief beschreven worden in analogie met de wet van Ohm (Vergelijking 2.2, analogon model van Van Den Honert (1948)):

$$J = \Delta\psi/R \quad (2.2)$$

met  $J$  [ $\text{kg}\cdot\text{s}^{-1}$ ] het sapstroomdebiet,  $\Delta\psi$  [MPa] het verschil in  $\psi$ ,  $R$  [ $\text{MPa}\cdot\text{s}\cdot\text{kg}^{-1}$ ] de hydraulische weerstand met als inverse de hydraulische geleidbaarheid ( $K$  [ $\text{kg}\cdot\text{MPa}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ]) of het gemak waarmee water zich doorheen de plant verplaatst (Figuur 2.3) (Zimmermann, 1978; McCulloh en Sperry, 2005).

$R$  kent zijn oorsprong door frictie tussen het water en het weefsel verantwoordelijk voor het opwaarts watertransport, het xyleem (Zimmermann, 1978; McCulloh Sperry, 2005). In angiospermen omvat het xyleem vier cellulaire componenten: parenchym, vezels, tracheïden en houtvaten, en samen vormen ze de hydraulische architectuur van de plant (Hacke and Sperry, 2015). Het zijn de houtvaten die verantwoordelijk zijn voor de geleiding van water. Deze zijn opgebouwd uit verschillende houtvatelementen waartussen de dwarswanden zijn gemodificeerd



**Figuur 2.3:** Waterstroming in het bodem-plant-atmosfeer continuüm voorgesteld aan de hand van het analogon model. Deze waterstroming wordt bepaald door het waterpotentiaalverschil ( $\Delta\psi$ ) en de hydraulische geleidbaarheid ( $K$ ). Een grote  $K$  in de plant is het gevolg van een lage  $R$  of frictie tussen het water en het transportweefsel in de plant (Tyree en Ewers, 1991).

tot perforatieplaten. Bij volledige ontwikkeling zijn dit dode cellen zonder celinhoud en met een gelignificeerde celwand (Zimmermann, 1978).

Water in de plant verplaatst zich over een grotere afstand dan de lengte van één enkel houtvat. Radiaal watertransport tussen houtvaten is daarom noodzakelijk en wordt mogelijk gemaakt door de aanwezigheid van stippels. Dit zijn uitsparingen in de secundaire celwand, waardoor twee houtvaten nog enkel worden gescheiden door een poreus stippelmembraan (primaire celwand en middenlamel). Dit stippelmembraan vormt een net van microscopische poriën, gevormd door niet volledig op elkaar aansluitende lagen van cellulose microfibrillen (Schenk et al., 2015).

Voor het vervolg van deze thesis moet  $K$  begrepen worden in termen van  $K_s$  [ $\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{MPa}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ]. Dit is het debiet bij een gegeven drukverschil doorheen een gegeven oppervlakte en lengte van spinhout, of de stam-specifieke hydraulische geleidbaarheid.  $K_s$  is zowel afhankelijk van de totale geleidende oppervlakte als van het aantal houtvaten en hun diameter (Dias *et al.*, 2019). Hierbij is  $K_s$  evenredig aan de vatdiameter tot de vierde macht volgens de wet van Hagen-Poiseuille. Dit betekent dat bij stammen met eenzelfde geleidende oppervlakte, de  $K_s$  van de stam met enkele



grote xyleemvaten groter zal zijn dan deze van de stam met meer kleine vaten. De wet van Hagen-Poiseuille geeft echter een overschatting van  $K_s$ , aangezien ongeveer de helft van  $R$  afkomstig is van eindwand-structuren (stippels en perforatieplaten), en deze wet bovendien uitgaat van ideale capillairen (Jansen *et al.*, 2009). Verschillen in hydraulische architectuur van een plant duiden op verschillen in watergebruik, en in een positionering tussen hydraulische efficiëntie en hydraulische veiligheid (Choat *et al.*, 2005; Jacobsen *et al.*, 2012).

### 2.2.2 Embolismevorming

Het xyleemsap (d.i. water met opgeloste mineralen) staat onder grote spanning. Onder deze metastabiele toestand (Tyree en Dixon, 1986; Cochard, 2006) is het zeer gevoelig voor een plotselinge faseovergang naar de meer stabiele gasfase. Hiervoor moet echter een energie-barrière worden overwonnen, gelijk aan het ontstaan van een luchtbel met een kritieke straal  $r^*$ . Tot op vandaag blijven er vragen bestaan over hoe planten deze spanning verdragen zonder de constante vorming van luchtbellens die de onstabiele staat van het xyleemsap verstoren (Jansen en Schenk, 2015). Deze onduidelijkheid zorgde reeds regelmatig voor controverse rond de cohesie-tensie theorie als basis voor het opwaartse watertransport (Peirce, 1936; Smith, 1994; Zimmermann *et al.*, 2004).

Bubbels ontstaan door heterogene nucleatie (Tyree en Sperry, 1989), wat wil zeggen dat de nucleus zich altijd op een oppervlak zal vormen. Vaak zijn dit ruwe, hydrofobe delen van de xyleemwand of verontreinigingen. Lucht kan ook het xyleem binnentreden door mechanische schade aan bladeren of de stam, of als een onvermijdelijke consequentie van de groei bij het strekken van het protoxyleem (Rockwell *et al.*, 2014).

Kleine bellen (straal  $< r^*$ ) kunnen onder invloed van de oppervlaktespanning van water terug oplossen in het xyleemsap (Tyree *et al.*, 1994). Bij grote spanning, dit is een sterk negatieve  $\psi$ , kan de luchtbel groeien (Tyree *et al.*, 1994). Als de bel de kritieke straal  $r^*$  bereikt, dan neemt het volume explosief toe tot ze het hele lumen bezet en al het aanwezig water heeft verplaatst naar aanliggende vaten (Or en Tuller, 2002).

Geëmboliseerde vaten zijn met lucht gevuld waardoor ze onbruikbaar worden voor watertransport. Hierdoor daalt  $K_s$  en komt het watertransport in gevaar (Hölttä *et al.*, 2012). Embolismevorming kan optreden ten gevolge van droogtestress (Cochard, 2006; Rockwell *et al.*, 2014), vriezen en dooien van xyleemsap (Cochard, 2006), of pathogenen (Vilagrosa *et al.*, 2012). Gezien de opzet van deze masterproef zal enkel droogtestress-gerelateerde embolismevorming worden besproken. Wat volgt, zijn enkele veel beschreven theorieën van dit fenomeen.

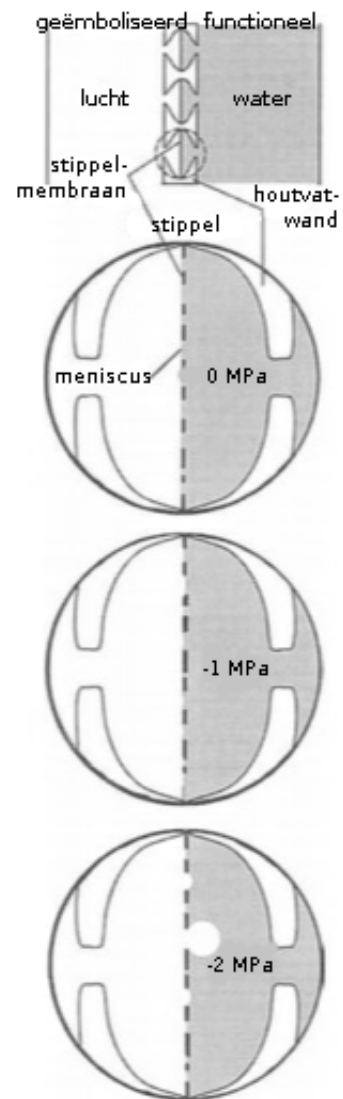
#### Air-seeding hypothese

Het proces waarbij lucht uit een geëmboliseerd vat via het stippelmembraan een functioneel vat binnendringt, wordt beschreven in de *air seeding* hypothese (Cochard *et al.*, 1992; Zimmermann, 2013), en wordt beschouwd als de belangrijkste bron voor vat-embolisme (Rockwell *et al.*, 2014).

(Loepfe *et al.*, 2007; Cochard *et al.*, 2013). Een vat kan dus emboliseren wanneer het via het stippelmembraan in contact staat met een met lucht-gevuld vat. Dit impliceert dat de verspreiding van embolismevorming sterk kan worden beïnvloed door netwerk-effecten en conductiviteitspatronen tussen vaten (Hölttä *et al.*, 2012). Door de vat-verbindende rol van het stippelmembraan vormt het xyleem een geïntegreerd geheel (sectie 2.2.1). Daarnaast is dit membraan verantwoordelijk voor het voorkomen van luchtverspreiding van geëmboliseerde vaten naar aanliggende vaten. In de stippels tussen een functioneel en lucht-gevuld vat ontstaat een lucht-water meniscus (Figuur 2.4) (Tyree *et al.*, 1994), waarvoor de vergelijking van Young-Laplace (Vergelijking 2.1) geldt. Ten gevolge van het dagelijkse transpiratiepatroon varieert de  $\psi$  in het xyleem, en verandert het drukverschil over de meniscus. De stabiliteit van de lucht-water meniscus blijft gevrijwaard door het voortdurend aanpassen van de kromtestraal van de meniscus (Tyree *et al.*, 1994). Bij toename van het drukverschil door toenemende droogtestress, neemt de kromtestraal van de meniscus af tot de minimale straal, gelijk aan de straal van de porie, wordt bereikt (Tyree *et al.*, 1994). Indien het drukverschil verder toeneemt, dan breekt de meniscus en wordt een bubbel, voornamelijk gevuld met waterdamp, in het functionele vat gezogen. Vervolgens vergroot de bel explosief en vult deze het volledige lumen met waterdamp (Tyree *et al.*, 1994; Tyree en Sperry, 1989; Or en Tuller, 2002), waarna lucht uit omringende weefsels het vat binnendringt. Het vat is volledig geëmboliseerd (Tyree en Dixon, 1986). Conform de vergelijking van Young-Laplace wordt de kwetsbaarheid voor embolismevorming bepaald door de grootste porie in het vat, aangezien deze meniscus eerst zal breken. Poriëgrootte is zowel soort als vat afhankelijk en varieert gewoonlijk van 2 tot 200 nm (Jansen *et al.*, 2009; Choat *et al.*, 2008). Hoe meer stippels een vat heeft, hoe groter de kans op een snel falende stippel met grote porie (d.i. de 'rare pit hypothesis' (Wheeler *et al.*, 2005)).

### Nanobubbel theorie

Recent onderzoek toonde de rol aan van oppervlakte-actieve stoffen, zoals fosfolipiden, in het xyleem van angiospermen (Schenk *et al.*, 2015). Aanwezigheid van deze lipide-surfactanten verlaagt de oppervlaktetension van het xyleemsap en het benodigde drukverschil voor *air-seeding* en heterogene nucleatie. Schenk *et al.* (2017) veronderstellen echter dat de surfactanten een coating rond de luchtbubbels aanbrenen. Door de verlaging van de



**Figuur 2.4:** Stippelstructuur tussen een geëmboliseerd en nog functioneel vat. De capillaire kracht van de lucht-water meniscus verhindert het verspreiden van lucht. Wanneer  $\psi$  daalt, wordt de meniscus gradueel door de porie getrokken (Tyree *et al.*, 1994).

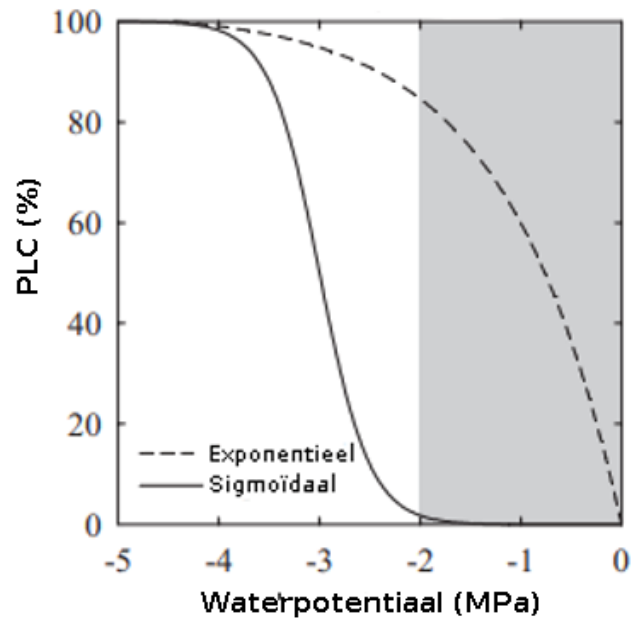
oppervlaktespanning neemt de afmeting van de bubbels af, en wordt  $r^*$  niet bereikt. Hele kleine belletjes, ‘nanobubbels’ zouden aan de lucht-water meniscus ontsnappen zonder hierbij embolisme te veroorzaken. De aanwezigheid van gestabiliseerde nanobubbels in het xyleem is dus zeker niet ongewoon (Schenk *et al.*, 2017). Deze kunnen vervolgens oplossen, of stabiel aanwezig blijven tot wanneer nachtelijke temperaturen de gasoplosbaarheid verhogen (Henry’s law) (Schenk *et al.*, 2015). Lipide surfactanten zijn echter niet in staat om planten volledig te beschermen. Wanneer het drukverschil de lucht-water meniscus breekt, is de productie van gecoate luchtbellens niet meer mogelijk en is embolismevorming onvermijdelijk. In oorsprong stabiele bellens kunnen ook vergroten door een dalende  $\psi$  of door het samenvloeien van verschillende bellens tot een bel met een straal groter dan  $r^*$  (Schenk *et al.*, 2015).

### Hydraulisch falen of stress verlagen?

Bij het optreden van vat-embolisme verlaagt de  $K_s$  van de plant. Indien transpiratie blijft behouden, leert het analogonmodel dat de stamwaterpotentiaal ( $\psi_s$ ) verder daalt. Dit heeft als risico dat nog extra vaten zullen emboliseren. Dit ‘*run away embolism*’ kan uiteindelijk leiden tot 100% geleidingsverlies, en de dood van de plant (Tyree en Sperry, 1988; McDowell *et al.*, 2008). In het vervolg van deze masterproef zal ‘hydraulisch falen’ gebruikt worden om te verwijzen naar dit fenomeen. Hydraulisch falen wordt gezien als een van de voornaamste oorzaken van droogte-geïnduceerde sterfte bij planten (Powers *et al.*, 2020). De hydraulische veiligheid ten opzichte van dit hydraulisch falen zal steeds beschreven worden aan de hand van  $\psi_{50}$ -waarden [MPa]. Dit is de  $\psi_s$  waarbij de potentiële hydraulische geleidbaarheid (d.i.  $K_s$  bij 0% embolismevorming,  $K_{s,pot}$ ) met 50% is verminderd ten gevolge van embolismevorming. Een vatbaarheidscurve (VC, Figuur 2.5) weerspiegelt het verlies aan  $K$  (‘percentage loss of conductivity’, PLC [%]) ten opzichte van  $\psi$  (Cochard *et al.*, 2013). Naast de  $\psi_{50}$ -waarde wordt een VC gekenmerkt door nog twee andere belangrijke indicatoren,  $\psi_{12}$  en  $\psi_{88}$ , die overeenkomen met respectievelijk de start van embolismevorming (i.e. ‘*air-seeding*’ waterpotentiaal) en het moment waarna herstel onmogelijk is (i.e. de dood van de plant) (Epila *et al.*, 2017).

Ondanks dat embolismevorming bij grote droogtestress een gevaar inhoudt voor de plant, is het op korte termijn in staat de droogtestress te verlagen (Meinzer *et al.*, 2001). Water, afkomstig uit het geëmboliseerde vat, komt in de aanliggende vaten terecht en wordt gebruikt in de transpiratiestroom (Hölttä *et al.*, 2009). Bijgevolg kan vat-embolisme worden gezien als een manier om interne waterreserves aan te spreken wanneer de vraag naar water het hoogst is. De duur van dit droogtestress verlagend effect is proportioneel met de transitijd van water in het xyleem, en neemt toe met de plantgrootte (Hölttä *et al.*, 2012).

Sommige soorten beschikken over het vermogen om geëmboliseerde vaten te herstellen en opnieuw te vullen met water (Klein *et al.*, 2018). Lang werd gedacht dat dit enkel ’s nachts, onder een positieve worteldruk, mogelijk was (Sperry *et al.*, 1987). Recente studies tonen echter bewijs voor het hervullen van met lucht-gevulde vaten onder een (licht) negatieve spanning (Nardini *et al.*, 2011; Brodersen en McElrone, 2013; Klein *et al.*, 2018). Osmotische krachten zouden aan de basis liggen van dit proces. Toch is het mechanisme nog niet helemaal opgeklaard en wordt het



**Figuur 2.5:** Een VC als de relatieve verandering in PLC in functie van  $\psi$ . Twee extreme vormen worden waargenomen. Planten waarbij embolismevorming zich reeds voordoet bij lage droogtestress vertonen een exponentiële curve (stippellijn). Deze planten zullen dagelijks te maken krijgen met embolismevorming. Planten kunnen ook een veiligheidszone (grijze zone) inbouwen waarbij embolisme wordt voorkomen. Hier bestaat er een sigmoïdaal verband (volle lijn) tussen  $\psi$  en embolismevorming (Cochard *et al.*, 2013).

voorkomen ervan ook niet door iedereen erkend (Rockwell *et al.*, 2014; Charrier *et al.*, 2016). Hoewel de theorie nog onvolledig is, steunt deze op twee kernpunten: (i) creatie van een positieve waterdruk door het vrijstellen van suikers, afkomstig van zetmeel depolymerisatie in vat-geassocieerde cellen (VAC), in het met lucht-gevulde vat (Secchi en Zwieniecki, 2011; Nardini *et al.*, 2011; Tomasella *et al.*, 2017), en (ii) de verhoogde expressie van niet-structurele koolhydraten (NSK) en aquaporinen in VAC (Chitarra *et al.*, 2014), waardoor een belangrijke rol voor het parenchym en/of floëem wordt verondersteld (Secchi *et al.*, 2017). In overeenstemming met deze theorie toonden Trifilò *et al.* (2019) aan dat vooral soorten met veel xylemparenchym, een proxy voor de opgeslagen hoeveelheid NSK in de stam, over dit herstelvermogen beschikken.

### 2.2.3 De afweging tussen hydraulische geleidbaarheid en hydraulische veiligheid

Wijde vaten verhogen  $K_{s,pot}$  en staan dus in voor een efficiënt watertransport. In deze optiek is het vreemd dat er nooit een vatdiameter groter dan 0.5 mm werd waargenomen. Er is echter een consequentie verbonden aan een hoge  $K_{s,pot}$ , met name een verhoogde vatbaarheid voor hydraulisch falen (Choat *et al.*, 2012). De positionering van de plant tussen hydraulische geleidbaarheid ( $K$ ) en veiligheid heeft vergaande gevolgen voor zijn functioneren

Een hoge  $K_s$  betekent dat er voor een gegeven drukverschil potentieel meer kan worden getranspireerd, waardoor meer  $CO_2$  kan worden opgenomen via de stomata. Dit is waarom een

hoge  $K_s$  gecorreleerd is met een hoge bladfotosynthesecapaciteit (Brodrigg en Feild, 2000; Santiago *et al.*, 2004), een snelle groei en een grote bladoppervlakte per oppervlakte spinthout (Tyree *et al.*, 1998; Gleason *et al.*, 2012). Anderzijds is er voor een bepaalde transpiratiestroom een kleinere transversale doorsnede xyleem nodig. Dit impliceert een lagere constructie- en onderhoudskost van het xyleem per eenheid getranspireerd water (Gleason *et al.*, 2016). Bovendien is er een kleiner drukverschil vereist voor een gegeven transpiratiesnelheid.

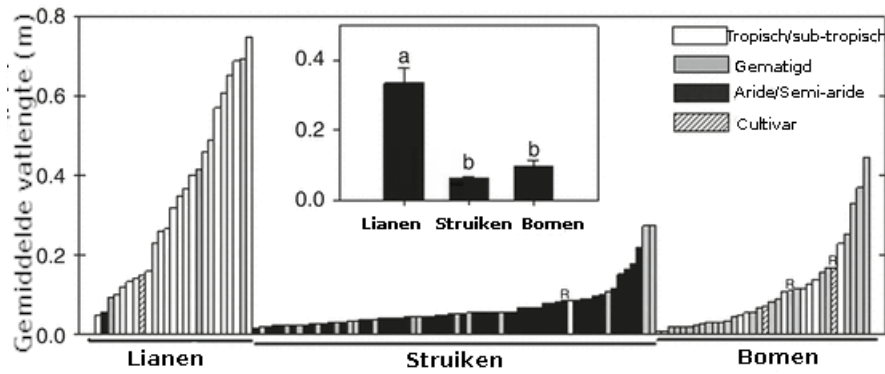
Planten met een hoge hydraulische veiligheid (lage  $\psi_{50}$ ) kunnen functioneren bij een meer negatieve  $\psi$ . Bij deze planten zal voor een gegeven  $\psi$  minder embolismevorming optreden (Gleason *et al.*, 2016). Een hoge hydraulische veiligheid kan zorgen voor een verlengde transpiratie doorheen de dag of het jaar, en een verminderde investering in wortels.

## 2.3 Hydraulische architectuur van lianen

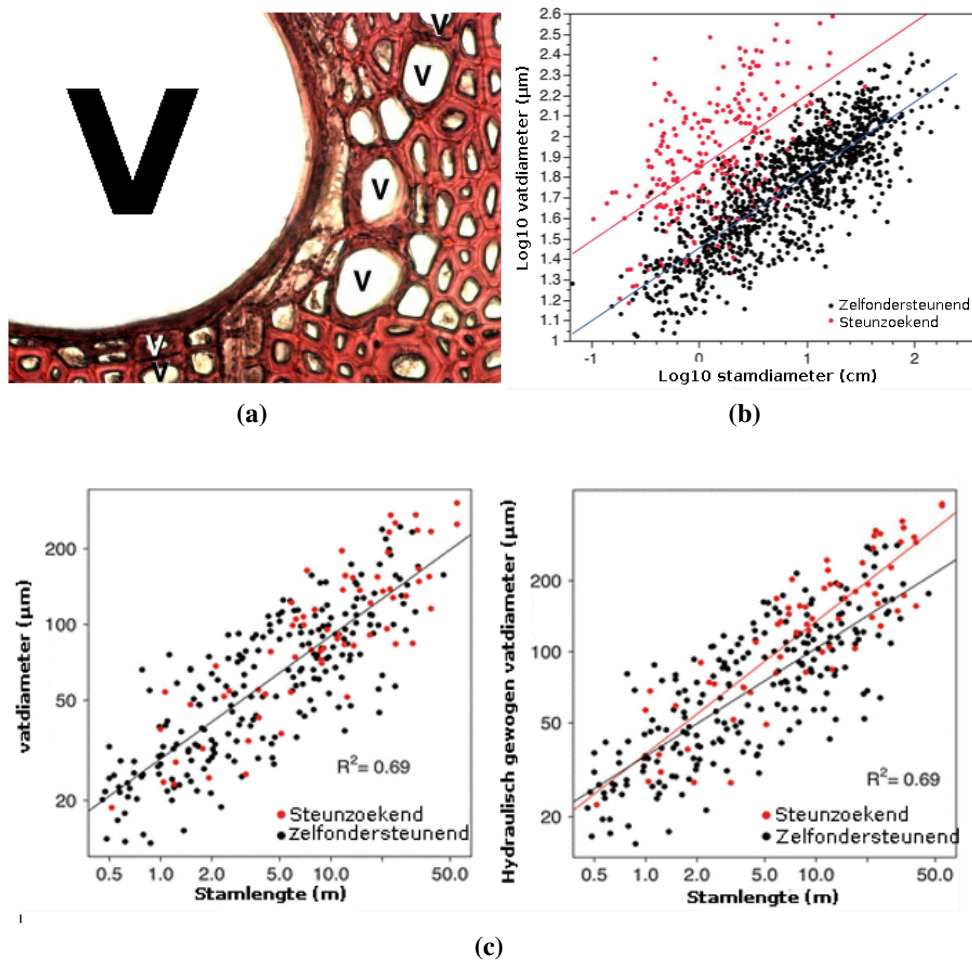
De levenswijze van lianen verschilt sterk met deze van bomen. Bomen zijn genoodzaakt te investeren in een brede en verhoude stam met groot soortelijk gewicht om zelfstandig te groeien. Lianen maken slechts gebruik van deze reeds aanwezige, stevige structuur om de top van het bladerdak te bereiken. Lianen zullen dus sterk inzetten op stam elongatie, en zijn gebaat bij een hoge stamflexibiliteit (Angyalossy *et al.*, 2012). Ontogenetische verschillen kunnen echter bestaan aangezien sommige lianen verschillende levensfasen kennen. Jonge lianen kunnen initieel zelfondersteunend zijn, maar zullen uiteindelijk altijd evolueren naar een steunzoekende levenswijze. Sterke morfologische en fysiologische verschillen bestaan tussen deze twee uitersten (e.g. verschil in biomassa-allocatie en verminderde flexibiliteit bij zelfondersteunende soorten (Wyka *et al.*, 2013; Campanello *et al.*, 2016)) In deze masterthesis zal worden gefocust op de meest beschreven hydraulische eigenschappen van adulte lianen. Aangezien nog niet veel geweten is over de eigenschappen van bladeren en wortels, zullen voornamelijk de hydraulische eigenschappen van de stam besproken worden.

### De stam

Een hoge flexibiliteit van de stam betekent een lage houtdichtheid, xyleem met weinig vezels, veel niet-gelignifieerd parenchym en wijde vaten (Zanne *et al.*, 2010). Lianen hebben de langste houtvaten reeds beschreven in het plantenrijk (Figuur 2.6). Verschillende studies (Cai *et al.*, 2009; Zhu, 2009; Angyalossy *et al.*, 2012; Wyka *et al.*, 2013) beschrijven bovendien een grotere gemiddelde vatdiameter voor een gegeven stamdiameter bij lianen dan bij bomen (Figuur 2.7 (b)). Aangezien  $R$  van de stam ook toeneemt met zijn lengte, en lianen meestal langer zijn dan bomen, is ook een vergelijking op basis van stamlengte gewenst (Ewers *et al.*, 2015). Om de  $K_s$  van planten te kunnen vergelijken, moet er bovendien rekening gehouden worden met de verdeling van de houtvatgrootte (sectie 2.2.1). De hydraulisch gewogen vatdiameter is gebaseerd op de wet van Hagen-Poiseuille en reflecteert de  $K_s$  van vaten. Voor een bepaalde stamlengte vonden Olson *et al.* (2014) geen verschil in gemiddelde vatdiameter, maar wel in gemiddelde hydraulisch



**Figuur 2.6:** Vergelijking van de vatlengte tussen verschillende groeivormen toont het verschil tussen lianen en zelfondersteunende soorten (bomen en struiken). Elke bar representeert een verschillende soort (Jacobsen *et al.*, 2012).



**Figuur 2.7:** Detail van de vaten in lianen met (a) de doorsnede van de stam van *Pandorea pandorana* (Bignoniaceae), waar naast grote vaten ('V') ook verschillende kleinere vaten ('v') voorkomen (vatdimorfisme) (Olson *et al.*, 2014). De vergelijking in gemiddelde vatdiameter tussen lianen en zelfondersteunende planten op basis van (b) stamdiameter en (c) stamlengte. Met de hydraulisch gewogen vatdiameter wordt ook K in rekening gebracht (Olson *et al.*, 2014).

gewogen vatdiameter (Figuur 2.7 (c)). Dit valt te verklaren door het veel voorkomende dimorfisme van de vaten van lianen (Figuur 2.7 (a)). Dit betekent dat de stam naast enkele wijde,

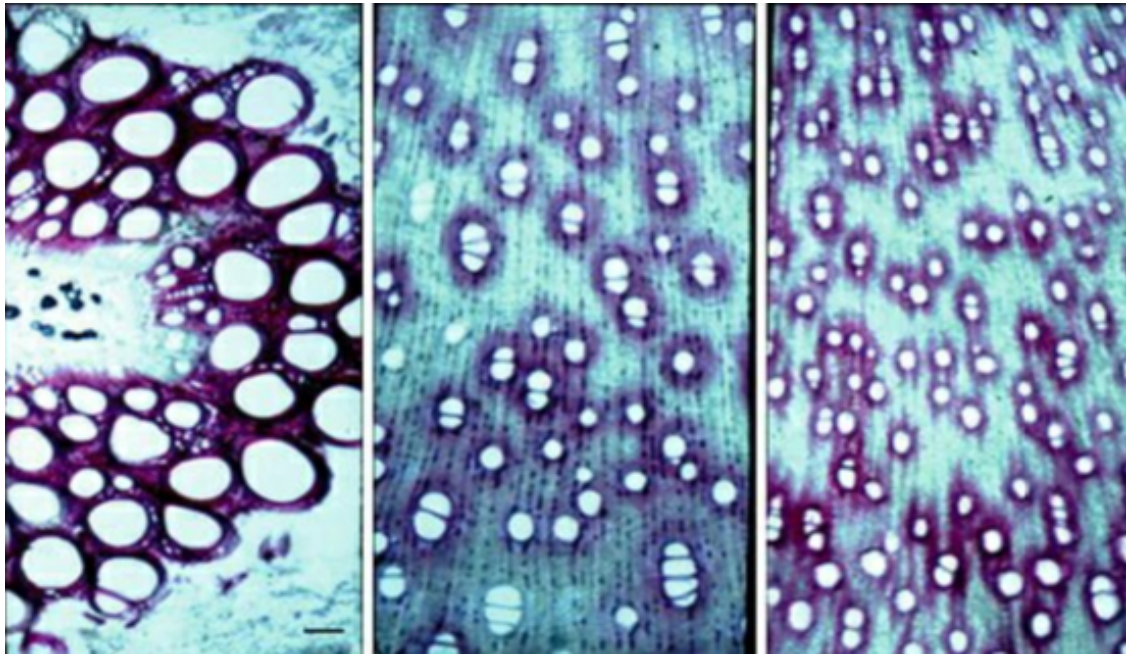
lange vaten voornamelijk veel kleine, korte vaten bevat ((Carlquist, 1984; Gentry en Vasquez, 1993). De aanwezigheid van slechts enkele wijde vaten in lianen (tot 700  $\mu\text{m}$  bij *Cissus hypoglauca* (Ewers *et al.*, 2015)) verhoogt de gemiddelde hydraulisch gewogen vatdiameter. Aangezien lianen geen nood hebben aan grote mechanische stabiliteit, zijn niet veel vezels aanwezig en kunnen wijde vaten gecombineerd worden met een hoog percentage sap-geleidend xyleem ( $P_v$ ). Deze combinatie leidt tot een hoge  $K_s$  (Hacke *et al.*, 2006). Indien er wordt gecorrigeerd voor de bladoppervlakte in plaats van de spinhoutdoorsnede (blad-specifieke hydraulische geleidbaarheid,  $K_l$  [ $\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{MPa}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ]), tonen studies meer gevarieerde resultaten. Reeds lagere (Zhu, 2009), gelijkaardige (Ewers *et al.*, 2015) en hogere (De Guzman *et al.*, 2017)  $K_l$ -waarden werden gerapporteerd voor lianen in vergelijking met zelfondersteunende planten. Wel consistent in deze studies is een kleine transverse spintoppervlakte voor een te bevoorraden bladoppervlakte, dit is de Huber waarde. Samenvattend wordt de lianenstam gekenmerkt door een kleine spintoppervlakte met een hoge  $K_s$ , onder invloed van enkele zeer wijde en lange vaten. Het typische hydraulische design van deze lianenstam met bijhorende eigenschappen wordt geïllustreerd in Figuur 2.8 en Tabel 2.1 voor verschillende groeivormen in het geslacht *Bauhinia*. De homogeniteit van de hydraulische architectuur van lianen wordt echter in vraag gesteld door Meunier *et al.* (2020). In een tropisch regenwoud in Frans-Guyana werden sterk uiteenlopende anatomische kenmerken gevonden tussen lianen onderling.

Het is echter belangrijk op te merken dat  $K_s$  en  $K_l$  geen rekening houden met de lengte van het hydraulische pad. Het hydraulische voordeel van lianen zou daarom wel eens kunnen verdwijnen, indien de lange en onregelmatige weg van een lianenstam naar en in het bladerdek in rekening wordt gebracht (Ewers *et al.*, 2015). Een smalle stam met lage houtdichtheid laat lianen toe om meer te investeren in blad- en wortelontwikkeling (Wyka *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2015). Gerwing en Farias (2000) tonen aan dat lianen tot vijf keer meer bladoppervlakte per centimeter stamdiameter hebben dan bomen. De hoge  $K_s$  is nodig om de relatief grote bladoppervlakte te voorzien van water en nutriënten. Smith-Martin *et al.* (2019b) vonden in een bladverliezend tropisch droogbos echter gelijke allocatiepatronen tussen bomen en lianen indien er werd herschaald naar biomassa.

### Wortels

Over de omvang en diepte van het wortelgestel zijn studies momenteel verdeeld. Lianen zouden dieper geworteld zijn dan bomen waardoor ze in droge perioden uit diepere bodemlagen water kunnen opnemen (Restom en Nepstad, 2004; Andrade *et al.*, 2005; Schnitzer, 2005). Lianen zijn meer afhankelijk van bodemwater dan bomen, aangezien hun dunne stam weinig interne waterreserves toelaat (Chen *et al.*, 2016). Een sterk ontwikkeld wortelgestel lijkt ook evident uitgaande van hun hoge transpiratiesnelheid en nachtelijke  $\psi$  (Schnitzer, 2005; Zhu, 2009). Dit lijkt echter geen consistente eigenschap en de meest recente studies duiden voornamelijk op een oppervlakkig wortelgestel bij lianen (Ewers *et al.*, 2015; De Deurwaerder *et al.*, 2018). Ook Smith-Martin *et al.* (2019a) toonden aan dat lianen minder diep geworteld zijn dan bomen, maar vonden wel langere wortels per centimeter stamdiameter bij lianen.





**Figuur 2.8:** Vergelijking van de transsectionele doorsnede van verschillende groeivormen binnen het genus *Bauhinia* met (a) liaan *B. fassoglensis*, (b) boom *B. blakeana* en (c) struik *B. galpinii*. De drie afbeeldingen worden weergegeven op dezelfde vergroting (schaalbalkje is 200  $\mu\text{m}$ ). Elk van de stammen bevoorraden 3.5  $\text{m}^2$  bladoppervlakte (Tyree en Ewers, 1991).

**Tabel 2.1:** Parameters van het xyleemtransport voor de verschillende groeivormen uit Figuur 2.8 (Tyree en Ewers, 1991).

Soort	Huber value [ $10^{-5}\text{m/m}$ ]	$K_s$ [ $\text{kg s}^{-1}\text{MPa}^{-1}\text{m}^{-1}$ ]	$K_l$ [ $10^{-4}\text{kg s}^{-1}\text{MPa}^{-1}\text{m}^{-1}$ ]
<i>B. fassoglensis</i>	$1.4 \pm 0.3$	$171.1 \pm 29.7$	$11.0 \pm 0.7$
<i>B. blakeana</i>	$11.8 \pm 3.1$	$14.1 \pm 1.9$	$11.2 \pm 1.4$
<i>B. galpinii</i>	$6.0 \pm 0.8$	$11.0 \pm 1.9$	$5.8 \pm 0.8$

Een vergelijkende studie waarbij 51 lianensoorten en 11 zelfondersteunende soorten in beschouwing werden genomen, vond geen verschil in vatdiameter in de wortels (Ewers *et al.*, 1997). Over de vatlengte in de wortels is de kennis momenteel beperkt (Ewers *et al.*, 2015). Worteldruk is een relatief veel voorkomend fenomeen bij klimmende planten (Ewers *et al.*, 1997; Jiménez-Castillo en Lusk, 2013). Hoewel deze niet sterk genoeg is om geëmboliseerde vaten te herstellen in het bovenste deel van de stam, kan dit wel van belang zijn in de wortels en de onderstam (Ewers *et al.*, 2015).

### Bladeren

De hydraulische architectuur van lianenbladeren blijft voorlopig grotendeels ongekend (Wyka *et al.*, 2013). Wel lijken de bladeren van lianen fysiologisch sterk te verschillen van boombladeren, zeker in seizoensgebonden tropische bossen (Ewers *et al.*, 2015). Wright *et al.* (2004) lanceerden het begrip ‘*leaf economic spectrum*’ (LES), een set gecorreleerde bladkarakteristieken. Samen beschrijven ze een continuüm van strategieën met als basis de afweging tussen productiviteit (acquisitief) en persistentie (conservatief). Bladeren met een hoge productiviteit zijn structureel goedkoop, kortlevend en gekenmerkt door een snelle



koolstof-terugverdientijd. In het conservatieve scenario worden kwalitatieve en langlevende bladeren met een trage koolstof-terugverdientijd aangemaakt. Daar waar bomen verdeeld zijn over het spectrum, bevinden lianen zich typisch aan de productieve, acquisitieve zijde. Dit vertaalt zich in kortlevende bladeren met een hoge nutriëntenconcentratie (N en P) (Wyka *et al.*, 2013), gebruiksefficiëntie (Zhu en Cao, 2010) en fotosynthesesnelheid (Paul en Yavitt, 2011; Zhu en Cao, 2010; Wyka *et al.*, 2013), en een lage constructiekost (hoge specifieke bladoppervlakte; SLA) (Wyka *et al.*, 2013; Werden *et al.*, 2018).

## 2.4 Lianen als enthousiaste groeiers onder droogte

De grote variabiliteit tussen lianen onderling maakt het echter moeilijk om hun algemene gedrag of vorm te beschrijven. Zo toonden Asner en Martin (2012) de klimaat-afhankelijkheid aan van de chemische samenstelling van lianenbladeren. Het verschil tussen boom- en lianenbladeren was maximaal bij een gemiddelde jaartemperatuur van 25 °C en 2500 mm jaarneerslag. Echter, in koudere of nattere omstandigheden convergeerde de chemische samenstelling van lianenbladeren naar deze van bomen. Deze klimaat-afhankelijkheid zou een verklaring kunnen geven voor de schijnbaar tegengestelde conclusies uit een nat bos (3100 mm/jaar) in Panama, en een seizoensgebonden tropisch bos (1500 mm/jaar) in China (Xishuangbanna), waar respectievelijk een lagere (Santiago en Wright, 2007) en hogere (Cai *et al.*, 2009; Zhu, 2009; Chen *et al.*, 2015) CO<sub>2</sub> assimilatie per eenheid bladmassa ( $A_{\text{mass}}$  [nmol.g<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>]) werd gevonden voor lianen in vergelijking met bomen. Lianenbladeren lijken dus voornamelijk te verschillen van deze van bomen in de drogere tropische gebieden.

Cai *et al.* (2009) en Chen *et al.* (2015) toonden in het tropisch droogbos (Xishuangbanna) bovendien een seizoenaal verschil aan in de bladfysiologie van immergroene lianen. Zo is de relatieve daling ten opzichte van het natseizoen van  $A_{\text{mass}}$ , de fosfor massaconcentratie ( $P_{\text{mass}}$  [mg.g<sup>-1</sup>]) en de fotosynthetische N-gebruiksefficiëntie (PNUE) kleiner bij lianen dan bij bomen. Lianen lijken dus voornamelijk in seizoensgebonden tropische bossen meer koolstof te fixeren dan bomen, en dit effect is meer uitgesproken in het droogseizoen in vergelijking met het natseizoen.

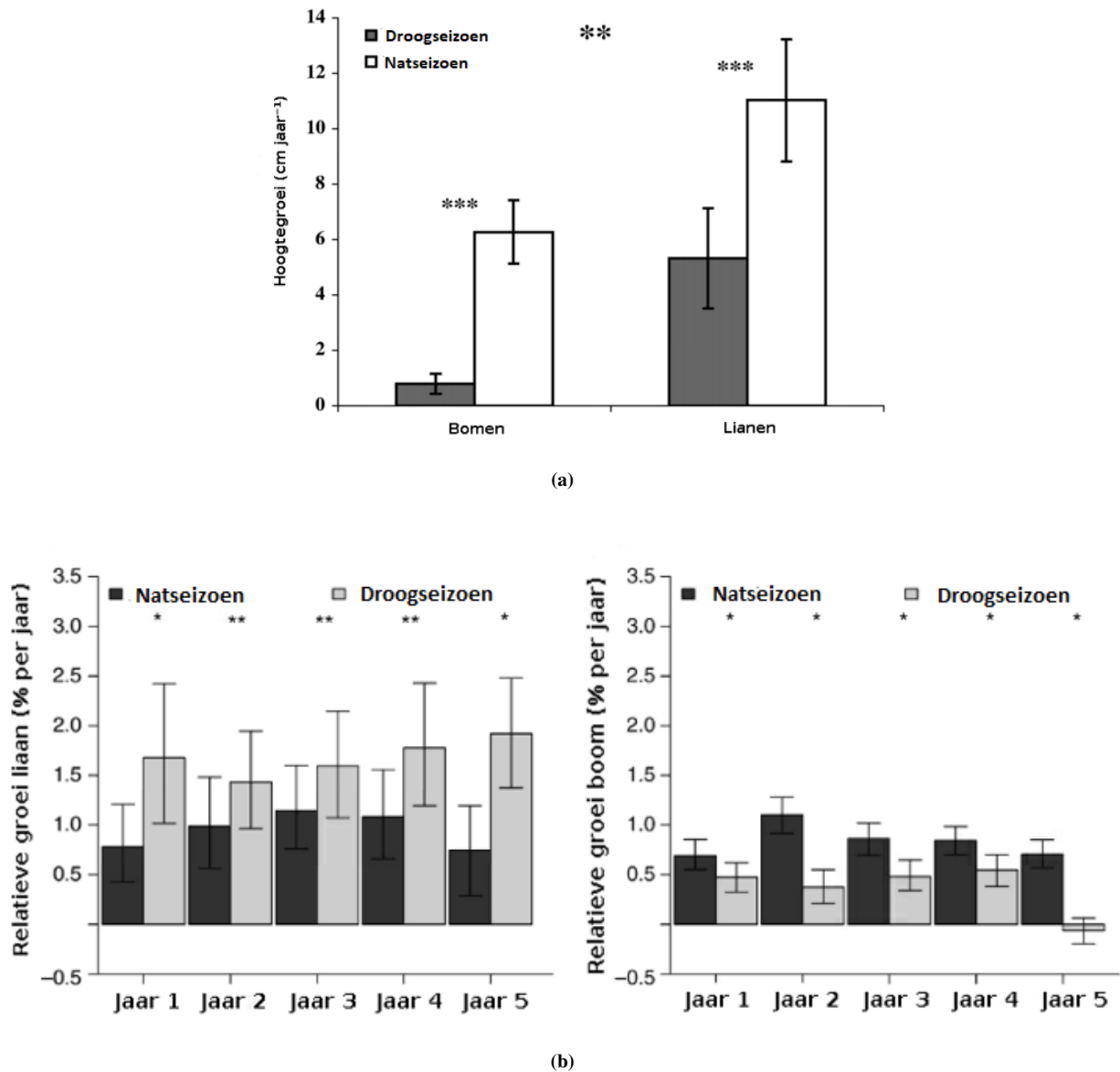
Functionele kenmerken op bladniveau zijn richtinggevend en bepalend voor de strategie van de volledige plant, aangezien ze betrokken zijn in de transpiratie, CO<sub>2</sub> opname, en nutriënten gebruiksefficiëntie (Reich, 2014). De seizoensgebonden groeivoordeelhypothese, geïntroduceerd door Schnitzer (2005), beschrijft een competitief voordeel van immergroene lianen ten opzichte van bomen in seizoensgebonden tropische bossen. Lianen groeien beter dan bomen onder droge omstandigheden, waardoor ze kunnen toenemen in relatieve en absolute abundantie.

Lianen hebben een sterkere hoogtegroeï in vergelijking met bomen ten gevolge van hun beperkte benodigde hoeveelheid biomassa per eenheidslengte (sectie 2.3) (Schnitzer, 2005). Schnitzer (2005) toonde aan dat dit verschil in hoogtegroeï sterk seizoensgebonden is (Figuur 2.9 (a)). In

een tropisch bos in Panama groeiden immergroene lianen dubbel zo snel in het natseizoen en zeven keer sneller in het droogseizoen. Ook meer recente studies ondersteunen dit seizoensgebonden groeivoordeel voor bladhoudende lianen. Een dataset over vijf jaar gaf aan dat de groeisnelheid van voornamelijk immergroene lianen, ditmaal gedefinieerd als de relatieve diametergroei, hoger was in het droogseizoen dan het natseizoen (Schnitzer en Van Der Heijden, 2019). De groei van bomen werd daarentegen sterk aangetast, en stopte volledig tijdens het zeer droge El Niño seizoen in 2015 ('Year 5' in Figuur 2.9 (b)). In een gecontroleerd irrigatie-experiment toonden Smith-Martin *et al.* (2019a) aan dat bomen in goed bewaterde conditie grotere stamdiameters en meer totale biomassa hadden dan seizoenaal droogtegestresseerde bomen, terwijl dit niet het geval was bij immergroene of semi-groenblijvende lianen.

In tropische seizoensgebonden bossen zijn lianen in staat te profiteren van de intense zonnestraling tijdens het droogseizoen door gebruik te maken van droogte-vermijdende strategieën. Een droogseizoen verschaft deze lianen een groeivoordeel dat wegvalt in niet-seizoenaal bossen. Dit groeivoordeel biedt zo een mogelijke verklaring voor de hoge abundantie van (immergroene) lianen in tropische bossen met een droogseizoen (sectie 2.1).

Het typische hydraulische design van lianen, gekenmerkt door een hoge  $K_s$  en geassocieerde hoge productiviteit, lijkt echter ook kwetsbaar voor hydraulisch falen. Tot op heden is er echter nog maar weinig onderzoek uitgevoerd naar de afweging tussen hydraulische efficiëntie en hydraulische veiligheid bij lianen, en hoe deze verschilt ten opzichte van bomen (Van Der Sande *et al.*, 2019; Tack, 2019).



**Figuur 2.9:** Seizoensgebonden groeivoordeel van immergroene lianen met (a) de hoogtegroei van bomen (N=12) en lianen (N=10) in het droog- en natseizoen (Schnitzer, 2005) en (b) de relatieve diameter groeisnelheid van (links) lianen (N=54) en (rechts) bomen (N=128) (Schnitzer en Van Der Heijden, 2019). Balken en errorbalken geven respectievelijk de gemiddelde groei en het 95% betrouwbaarheidsinterval aan. Significante verschillen tussen seizoenen en tussen bomen en lianen onderling zijn aangegeven met \*\*  $P < 0.01$  en \*\*\*  $P < 0.001$  in (a), en met \*  $P < 0.05$  en \*\*  $0.05 < P < 0.1$  in (b).

## 2.5 Lianen en droogte

### 2.5.1 De afweging tussen hydraulische geleidbaarheid en hydraulische veiligheid

De hoge  $K_s$  van lianen gaat meestal gepaard met lage  $\psi_{50}$ -waarden. De  $K_{s,pot}$  en  $\psi_{50}$ -waarden van bomen en lianen worden voor enkele studies weergegeven in tabel 2.2. In een seizoensgebonden tropisch bos in China (Xishuangbanna) werd echter een trend waargenomen met een meer negatieve  $\psi_{50}$  voor lianen dan voor bomen (Zhang *et al.*, 2019). Dit verschil is echter niet significant en werd toegeschreven aan de hoge variabiliteit tussen lianen onderling. In hetzelfde bos vonden Chen *et al.* (2017), hoewel ook niet significant, een minder negatieve  $\psi_{50}$  voor lianen dan voor bomen.

**Tabel 2.2:** Vergelijking van  $K_{s,pot}$  [ $\text{kg s}^{-1}\text{MPa}^{-1}\text{m}^{-1}$ ] en  $\psi_{50}$  [MPa] tussen bomen en lianen. De twee laatste studies (Van Der Sande *et al.*, 2013, 2019) behandelen jonge individuen en hier staat  $K_{s,pot}$  telkens uitgedrukt in [ $\text{mol s}^{-1}\text{MPa}^{-1}\text{m}^{-1}$ ]. ‘\*’ geeft een significant verschil tussen bomen en lianen aan ( $P < 0.05$ ).

Studie	Boom		Liaan	
	$K_{s,pot}$	$\psi_{50}$	$K_{s,pot}$	$\psi_{50}$
De Guzman <i>et al.</i> (2017)	5.31*	-0.70*	10.50	-0.35
Chen <i>et al.</i> (2017)	3.18*	-2.13	8.00	-1.34
Zhang <i>et al.</i> (2019)	1.92	-1.97	3.54	-2.37
Van Der Sande <i>et al.</i> (2019)	396.11*	-1.81*	867.66	-1.12
Van Der Sande <i>et al.</i> (2013)	320.46	-1.98*	844.27	-0.99

De afweging tussen  $K_s$  en  $\psi_{50}$  is terug te brengen tot op anatomisch niveau en wordt in belangrijke mate bepaald door de stippels (secties 2.2.1 en 2.2.2). Een grote hoeveelheid stippels verhoogt de kans op een falende porie (i.e. de *rare pit* hypothese), maar verhoogt wel  $K_s$ . Daarnaast is ook de vatdiameter van belang. Grote en wijde vaten komen  $K_s$  ten goede, maar zijn sneller vatbaar voor embolismevorming (Hargrave *et al.*, 1994; Cai en Tyree, 2010). Dit laatste kan ook verklaard worden door de *rare pit* hypothese, aangezien grote vaten meer stippels bevatten en dus meer kans hebben op de aanwezigheid van een falende porie. Het verband tussen vatdiameter en hydraulische veiligheid is echter variabel en wordt niet bij alle plantensoorten waargenomen (Lens *et al.*, 2011).

Tot op heden focusten slechts drie studies op de relatie tussen  $K_s$  en  $\psi_{50}$  bij bomen en lianen.

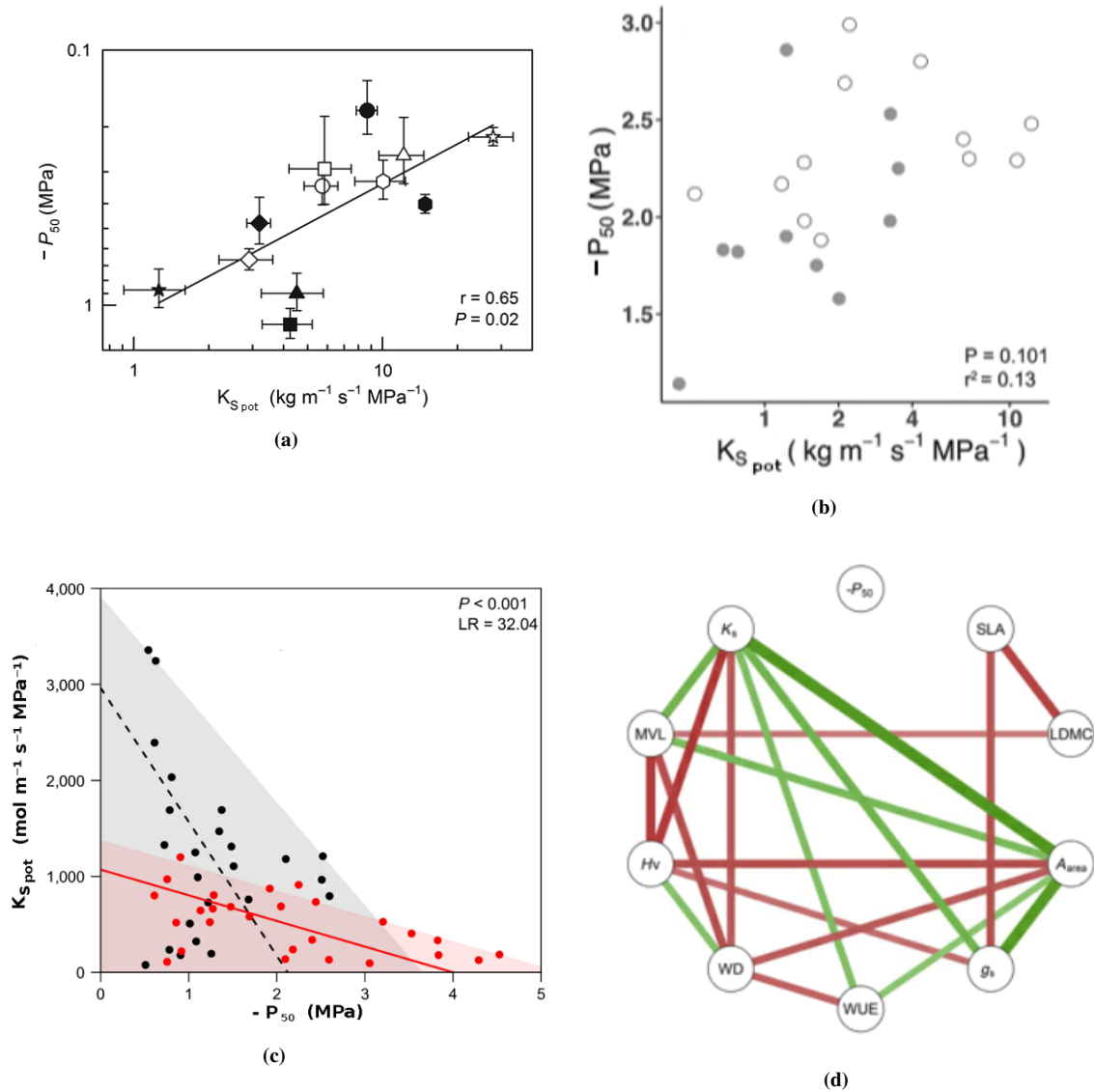
De Guzman *et al.* (2017) onderzochten het evenwicht tussen  $K_{s,pot}$  en  $\psi_{50}$  voor drie lianensoorten en zes boomsoorten in een tropisch droogbos in Panama, en vonden een negatieve correlatie (Figuur 2.10 (a)). Het is echter belangrijk te bemerken dat bomen en lianen in deze studie samen werden beschouwd, en dat eventuele verschillen tussen de groeivormen niet werden nagegaan. Lianen werden bovendien gekenmerkt door een lagere capaciteit (i.e. de hoeveelheid vrijgegeven water uit interne reserves per eenheid  $\psi$ -daling) en een kleiner verschil tussen  $\psi_{12}$  en  $\psi_{50}$ . In combinatie met hun minder negatieve  $\psi_{50}$  (Tabel 2.2) maakt dit lianen kwetsbaar voor

droogtestress geïnduceerde embolismevorming.

Van Der Sande *et al.* (2019) onderzochten het verband tussen  $K_{s,pot}$  en  $\psi_{50}$  op jonge individuen van 24 lianensoorten en 27 boomsoorten in een nat tropisch bos in Panama. Bomen toonden een significant negatief verband tussen  $K_{s,pot}$  en  $\psi_{50}$ . Deze negatieve correlatie werd echter niet teruggevonden bij lianen (Figuur 2.10 (b)). Hoewel geen enkele soort, boom of liaan, erin slaagde een hoge  $K_{s,pot}$  met een negatieve  $\psi_{50}$  (en dus een hoge hydraulische veiligheid) te combineren, biedt de ont koppeling bij lianen ruimte voor het gebruik van verschillende ecologische strategieën. De  $\psi_{50}$ -waarde van lianen bleek bovendien, in tegenstelling tot  $K_{s,pot}$ , niet gecorreleerd met andere functionele kenmerken (Figuur 2.10 (c)), en lijkt dus gecontroleerd door nog ongekende mechanismen.

De resultaten van De Guzman *et al.* (2017) en Van Der Sande *et al.* (2019) zijn niet noodzakelijk tegenstrijdig, aangezien verschillende habitats aanleiding kunnen geven tot verschillende plantstrategieën. Zo vermindert de hoge waterbeschikbaarheid en de lage lichtintensiteit in een nat tropisch bos het belang van respectievelijk een hoge hydraulische veiligheid en een hoge  $K_s$ . Dit verandert in een tropisch droogbos waar bomen en lianen gedwongen worden om dichter bij hun limieten te functioneren, en een belangrijke afweging tussen hydraulische veiligheid en  $K_s$  gemaakt dient te worden. Zhang *et al.* (2019) vonden echter ook geen relatie tussen  $K_{s,pot}$  en  $\psi_{50}$  voor twaalf lianensoorten en tien boomsoorten uit een seizoensgebonden tropisch bos in zuidwest-China. Geen significant verband kon worden vastgesteld voor de gecombineerde data van lianen en bomen, noch na opsplitsing per groeivorm (Figuur 2.10 (d)).

Ontkoppeling van het traditionele verband tussen  $K_s$  en  $\psi_{50}$  kan verklaard worden door de onafhankelijkheid van embolismevorming van het aantal of de oppervlakte aan stippels (Lens *et al.*, 2011). Voor sommige soorten werd reeds vastgesteld dat vooral de stippelstructuur een bepalende rol uitoefent (Lens *et al.*, 2011). Zo bleken in *Acer* planten de membraandikte, diepte van de stippelholte en grootte van de stippelopening sterk gecorreleerd met embolismevorming. Ook het belang van de chemische structuur van het stippelmembraan werd reeds naar voor geschoven, aangezien een hoge calciumconcentratie de flexibiliteit en de luchtverspreiding vermindert (Herbette en Cochard, 2010). Meer onderzoek naar de (chemische) samenstelling van het stippelmembraan lijkt dus essentieel, zowel bij bomen als bij lianen. Naast de stippelstructuur kan ook de connectiviteit tussen vaten (i.e. het aantal vaten waarmee een vat in verbinding staat) het verband tussen  $K_s$  en de hydraulische veiligheid beïnvloeden. Hoewel een hoge connectiviteit in theorie een verhoogde kans op embolismevorming betekent (Loepfe *et al.*, 2007), kan dit in droge gebieden ook noodzakelijk zijn om de geëmboliseerde vaten te omzeilen (Carlquist, 2009) en watertransport te blijven garanderen. Tot slot kan ook het xyleemdimorfisme bij lianen (sectie 2.3) een belangrijke rol spelen om een hoge  $K_s$  met een hoge hydraulische veiligheid te combineren (Zhu *et al.*, 2017). Dit lijkt echter niet voor een meer negatieve  $\psi_{50}$  te kunnen zorgen, aangezien de grote, wijde vaten instaan voor het grootste deel van  $K_{s,pot}$  (De Guzman *et al.*, 2017).



**Figuur 2.10:** Het verband tussen  $K_{s,pot}$  en  $\psi_{50}$  gevonden in (a) De Guzman *et al.* (2017) (open: lianen; gesloten: bomen), (b) Zhang *et al.* (2019) (open: lianen; gesloten: bomen) (c) Van Der Sande *et al.* (2019) (zwart: lianen; rood: bomen). (d) Schematische voorstelling voor lianen van de relatie tussen  $-P_{50}$  ( $-P_{50}$ ) en  $K_s$  en andere functionele kenmerken, nl. maximale vatlengte ( $MVL$ ), Huber waarde ( $H_v$ ), houtdichtheid ( $WD$ ), watergebruiksefficiëntie ( $WUE$ ), stomatale geleidbaarheid ( $g_s$ ), fotosynthetische efficiëntie ( $A_{area}$ ), drogestofgehalte van het blad ( $LDMC$ ) en specifieke bladoppervlakte ( $SLA$ ), waarbij de kleur wijst op een positief (groen) of negatief (rood) verband en de dikte van de lijnen de sterkte van deze relatie aangeeft (Van Der Sande *et al.*, 2019).

## 2.5.2 Lianen onder droogte

Hoewel de relatie tussen  $K_s$  en hydraulische veiligheid voorlopig onduidelijk blijft, werden voornamelijk minder negatieve  $\psi_{50}$ -waarden voor lianen in vergelijking met bomen gemeten, zowel in een jong (Van Der Sande *et al.*, 2013, 2019) als volwassen stadium (Zhu, 2009; Johnson *et al.*, 2013; De Guzman *et al.*, 2017). Toch slagen lianen erin om te overleven, en zelfs floreren, in tropische droogbossen (sectie 2.1). Een aantal verklarende hypothesen werden reeds naar voor

geschoven, en kunnen worden samengevat op drie verschillende niveaus.

### **Aanpassingen van de hydraulische architectuur**

Aangezien de stam van lianen niet genoodzaakt is hoge mechanische stabiliteit te verlenen, hebben deze planten de mogelijkheid om hun vasculaire strategie aan te passen. Een vergelijking van de stamanatomie van bomen en lianen uit een tropisch droogbos en regenwoud leert dat lianen uit het droogbos werden gekenmerkt door een hogere  $K_{s,pot}$ , ten gevolge van een grotere geleidende oppervlakte en wijdere vaten in vergelijking met lianen uit het tropisch regenwoud (Dias *et al.*, 2019). Bomen verschilden niet in  $K_{s,pot}$  tussen beide wouden. Deze aanpassingsmogelijkheid van de vasculaire strategie van lianen in combinatie met het voorkomen van vatdimorfisme, maakt het voor lianen mogelijk hun watertransport ook onder droge omstandigheden op peil te houden. De Guzman *et al.* (2017) registreerden bij lianen uit een tropisch droogbos een snel verlies van  $K_s$  met afnemende  $\psi_s$ . Dit resulteerde in een minder negatieve  $\psi_{50}$  en kon verklaard worden door vroegtijdige embolismevorming in de wijde, lange vaten die een belangrijke bijdrage leveren aan  $K_{s,pot}$ . Verdere afname van  $K_s$  verliep vervolgens meer gradueel. Dankzij hun hoge  $K_{s,pot}$  hebben lianen zelfs na 50 % verlies, een hoge resterende  $K_s$ . Daarnaast isoleren en omsingelen de smallere vaten de brede, waardoor luchttransport tussen wijde vaten onderling wordt vermeden (Carlquist, 1984).

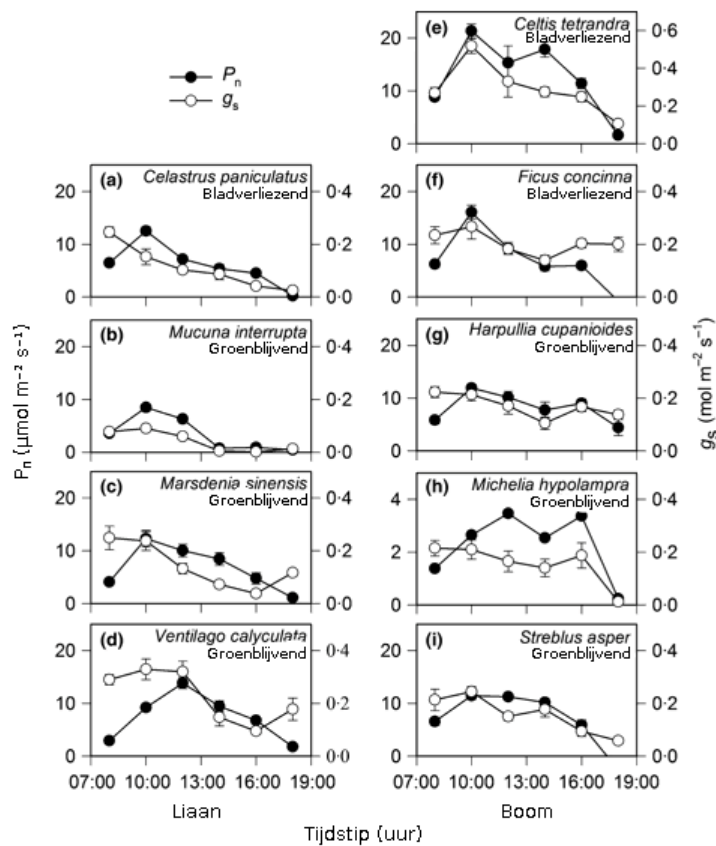
### **Ontwikkeling van droogtevermijdende strategieën op blad en wortelniveau**

In tegenstelling tot de meer gestratificeerde kroon van bomen, situeert het bladerdek van lianen zich volledig in de bovenste regionen van het kroondak. Daar worden de bladeren geconfronteerd met hoge lichtintensiteit en VPD, met grote verdamping tot gevolg (Chen *et al.*, 2015). De manier waarop lianen omgaan met deze grote watervraag, zeker in combinatie met de beperkte waterslag in de dunne stam, is een sleutelement in hun overlevingsstrategie (Chen *et al.*, 2016). Strikte stomatale regulatie zorgt voor een evenwicht tussen transpiratie en fotosynthese enerzijds, en het vermijden van embolismevorming anderzijds. Stomatale controle is een complex mechanisme en is afhankelijk van  $\psi_s$ , bladwaterpotentiaal ( $\psi_l$ ), VPD en het ABA-hormoon (Salleo *et al.*, 2000; Brodribb *et al.*, 2007; Scoffoni *et al.*, 2012). Twee extreme strategieën bestaan voor het watergebruik van planten. Isohydrische planten of droogtevermijdende planten reguleren hun stomata actief en houden zo  $\psi_l$  zo constant mogelijk doorheen de dag. Deze strategie vermijdt embolismevorming, maar beperkt ook de hoeveelheid opgenomen  $CO_2$  en dus de fotosynthese. Anisohydrische planten of droogtetolerante planten reguleren hun stomata minder strikt, waardoor  $\psi_l$  sterk daalt bij toenemende lichtinstraling en VPD (Tardieu en Simonneau, 1998; McDowell *et al.*, 2008). Deze planten kunnen maximaal  $CO_2$  opnemen en houden de fotosynthesesnelheid ( $P_n$  [ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ]) hoog. Dit gaat echter wel ten koste van een vergroot risico op embolismevorming in de stam en het blad.

De watergebruikstrategie van een plant heeft dus gevolgen op bladniveau met betrekking tot de stomatale geleidbaarheid ( $g_s$  [ $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ]),  $P_n$ ,  $\psi_l$  en embolismevorming in het blad. Op stamniveau is deze strategie bepalend voor het specifiek sapstroom debiet ( $J_s$  [ $\text{kg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ ]),  $\psi_s$  en eventuele embolismevorming in de stam.

Kennis van de dagelijkse variatie van  $\psi_l$  ( $\Delta\psi_l$ ) in lianen en de vergelijking ervan met bomen is echter erg beperkt. De Guzman *et al.* (2017) tonen een eerder anisohydrische watergebruikstrategie aan van lianen in vergelijking met bomen in een tropisch droogbos in Panama. De gemiddelde  $\Delta\psi_l$  van zes lianensoorten bedroeg 0.98 MPa, bij evenveel boomsoorten bleef dit beperkt tot 0.69 MPa. Voor beide groeivormen werd een negatief verband vastgesteld tussen  $\Delta\psi_l$  en de capaciteit van het spinthout. Lianen lijken dus voornamelijk te vertrouwen op hun sterke geleidingsvermogen, bomen doen in belangrijke mate beroep op hun interne waterreserves.  $\Delta\psi_l$ -metingen in een tropisch droogbos in Costa Rica (Horizontes) toonden echter geen verschillen in watergebruikstrategieën (Werden *et al.*, 2018) tussen zeventien boomsoorten en zeven lianensoorten. Beide groeivormen hanteerden een continuüm aan strategieën, van isohydrisch tot anisohydrisch.

Metingen van het dagverloop van  $P_n$  en  $g_s$  van de zonnebladeren van vijf boomsoorten en vier lianensoorten uit het tropisch droogbos van Xishuangbanna (China) toonden een duidelijk verschil in het gedrag van beide groeivormen (Figuur 2.12) (Chen *et al.*, 2017). Lianen hadden een maximale  $P_n$  en  $g_s$  in de voormiddag (10u), waarna deze sterk afnamen rond de middag en doorheen de namiddag (12u-16u). Bomen vertoonden echter een min of meer constante  $P_n$  en  $g_s$  over het ganse verloop van de dag (10u-16u).

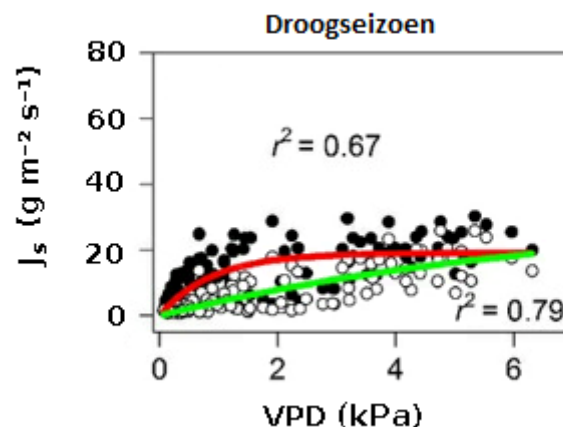


**Figuur 2.11:** Dagverloop van  $P_n$  en  $g_s$  voor lianen (links) en bomen (rechts) in het tropisch droogbos van Xishuangbanna (China) (Chen *et al.*, 2017).

Een gelijkaardig patroon werd waargenomen bij de relatie tussen  $J_s$  en VPD (Chen *et al.*, 2015,



2017). In geval van stationaire stroming doorheen de plant, kan  $J_s$  worden gelijkgesteld met het totale watergebruik van de plant en komt ze overeen met de transpiratie.  $J_s$  kan echter verschillen van de transpiratie wanneer de interne waterreserves worden geraadpleegd of aangevuld (d.i. voornamelijk 's ochtends en 's avonds) (Gimenez *et al.*, 2013; Steppe *et al.*, 2015). Een lineaire toename van  $J_s$  met toenemende VPD werd waargenomen in bomen.  $J_s$  in lianen nam snel toe bij lage VPD ( $< 1$  kPa), waarna deze constant bleef bij hogere VPD.  $J_s$  in lianen was ook steeds hoger dan die van bomen, ongeacht de VPD (Figuur 2.12). De versnelde toename van  $J_s$  in lianen bij lage VPD (Chen *et al.*, 2015, 2017), ondanks een gelijkaardige  $g_s$  (Chen *et al.*, 2017), is een aanduiding van de beperkte interne waterreserves en het belang van bodemwatertransport bij lianen. Bij verdere stijging van het VPD bleef de transpiratie van lianen constant door het toenemend sluiten van hun stomata. In combinatie met een efficiënt watertransport zorgt dit voor een minder negatieve  $\psi_s$  bij maximale lichtinstraling in lianen dan in bomen (Chen *et al.*, 2017). De strategie van lianen lijkt dus tweevoudig: (i) snelle opening van stomata (en dus hoge  $P_n$ ) bij lage VPD, gevolgd door (ii) vroegtijdige sluiting van stomata bij toenemende VPD. Met behulp van deze actieve stomatale regulatie slagen lianen er in om een maximale koolstoffixatie met een minimaal waterverlies te combineren. Meer onderzoek naar de verspreidheid van deze strategie is echter noodzakelijk, aangezien beide studies (Chen *et al.*, 2015, 2017) werden uitgevoerd in hetzelfde droogbos (Xishuangbanna).



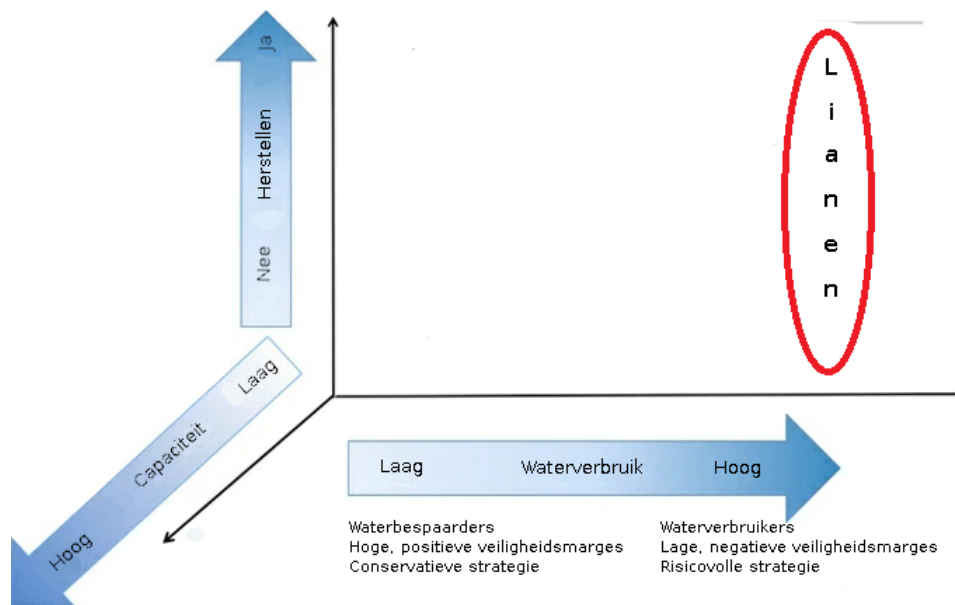
**Figuur 2.12:**  $J_s$  van bomen (open cirkels, groene lijn) en lianen (volle cirkels, rode lijn) ten opzichte van het VPD tijdens het droogseizoen (Chen *et al.*, 2015).

Rekening houdend met de tegenstrijdige bevindingen over de omvang en morfologie van het wortelgestel van lianen (sectie 2.3), lijkt het bestaan van een spectrum van isohydrische, oppervlakkig gewortelde soorten tot anisohydrische, diep gewortelde lianen aannemelijk (Wyka *et al.*, 2013). De suggestie van coördinatie tussen de bovengrondse watervraag en de ondergrondse allocatie van biomassa werd ook door Smith-Martin *et al.* (2019b) gedaan. Immergroene bomen in een tropisch droogbos bleken immers het diepst geworteld, bladverliezende bomen bleken juist over een beperkt wortelgestel te beschikken. Meer onderzoek naar de ondergrondse biomassa-allocatie van bomen en lianen is echter nodig, aangezien dit cruciaal is om het hydraulisch functioneren van de plant te kunnen begrijpen.

### Herstel van geëmboliseerde vaten

Bij maximale lichtinstraling werden er bij lianen reeds  $K_s$ -verliezen opgemeten van 40% en 49% in de stam (Chen *et al.*, 2017; Johnson *et al.*, 2013), en 78% in het blad (Johnson *et al.*, 2013). Embolismevorming is hier dus een dagelijks fenomeen, wat herstel van geëmboliseerde vaten doet vermoeden (sectie 2.2.2). Dagelijkse cycli van embolismevorming en vat-herstel werden reeds aangetoond voor de liaan *Vitis vinifera* (Brodersen *et al.*, 2010; Zufferey *et al.*, 2011).

De wijze waarop dit vat-herstel optreedt is echter nog onduidelijk (sectie 2.2.2). De worteldruk in lianen lijkt niet in staat om vaten tot in de bovenstam te hervullen met water (Ewers *et al.*, 1997). De relatief grote hoeveelheid parenchym in de stam van lianen werd reeds gesuggereerd als een potentiële regulator in dit proces (Johnson *et al.*, 2013).



**Figuur 2.13:** De positionering van lianen in een conceptueel framework van overlevingsstrategieën

## 2.6 Naar een case study in Costa Rica

Er is nog veel onzekerheid over de manier waarop lianen met droogtestress omgaan en hoe lianen hierin onderling verschillen.

Het hydraulische design van lianen is van levensbelang voor hun groei en overlevingskansen in seizoenale tropische gebieden. Voorgaande studies legden reeds enkele algemene kenmerken bloot. Hoge  $K_s$ -waarden geven aan dat lianen enthousiaste groeiers zijn, en sterke groei werd voornamelijk waargenomen onder droge omstandigheden. Hoge  $\psi_{50}$ -waarden en beperkte interne waterreserves wijzen echter op hun gevoeligheid voor droogte, en bevestigen de risicovolle strategie van lianen. De eventuele aanwezigheid van embolisme-herstelmechanismen kan deze strategie ondersteunen (Figuur 2.13).

De toenemende abundantie van lianen in neotropische bossen geeft echter aan dat deze strategie

lijkt te renderen. Deze toename heeft grote gevolgen voor de koolstofbalans, en kan de klimaatopwarming verder versnellen (sectie 2.1). De oorzaken van deze toename blijven echter onduidelijk. Hoe de abundantie van lianen onder klimaatopwarming verder zal evolueren, is evenzeer onbekend. Een grondige kennis van het hydraulisch functioneren van lianen is hiertoe essentieel.

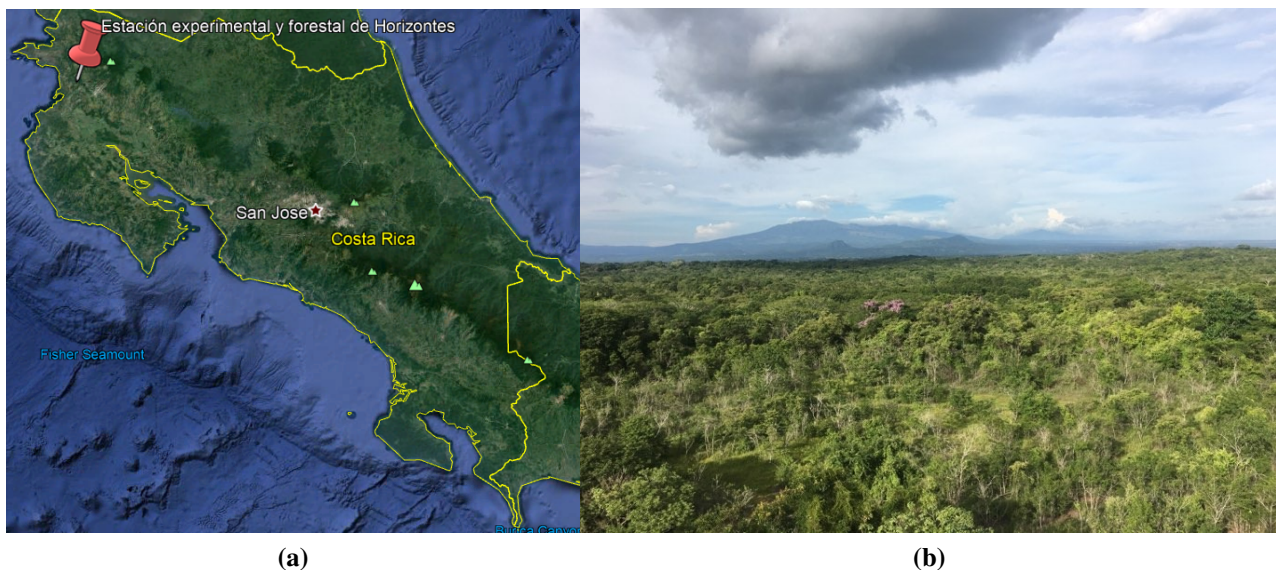
Het hydraulisch functioneren en de hiermee gepaard gaande droogtetolerantie van lianen is vandaag de dag echter nog een (te) onbekend terrein. Lianen worden meestal beschouwd als een homogene groeivorm en relatief weinig studies onderzochten de eventuele inter-en intraspecifieke variabiliteit, zowel op plantniveau als tussen plantorganen, van de droogtetolerantie van lianen. Kennis van deze variabiliteit is echter essentieel om de aanwezigheid van lianen in tropische droogbossen te kunnen verklaren en beschrijven. Daarom focust deze masterthesis zich op de hydraulische eigenschappen van lianen in een tropisch droogbos in Costa Rica.

# Hoofdstuk 3

## Materiaal en methoden

### 3.1 Site en proefopzet

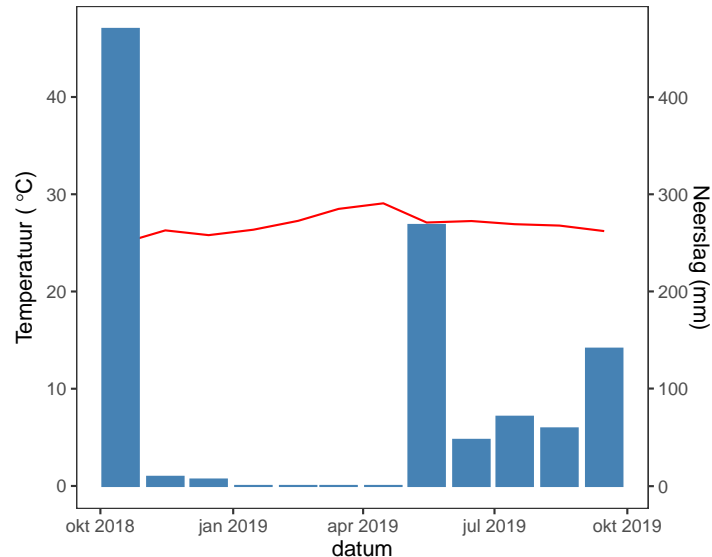
Data werd verzameld in een seizoensgebonden tropisch droogbos, namelijk het *Estación experimental y forestal de Horizontes* (Figuur 3.1) gelegen in het noordwesten van Costa Rica (10.718 N, 85.594 W), in de maanden augustus en september van het jaar 2019.



**Figuur 3.1:** (a) De site is gesitueerd in het noordwesten van Costa Rica in de regio Guanacaste, de droogste regio van Costa Rica. (b) Uitzicht op het secundair tropisch droogbos van Horizontes vanop een uitkijkpost voor branddetectie.

De gemiddelde jaartemperatuur bedraagt 25°C en de gemiddelde jaarneerslag 1750 mm. Zo goed als de volledige jaarlijkse neerslag valt doorheen het natseizoen van mei tot november (Waring *et al.*, 2019). Interjaarlijkse variabiliteit in regenval is echter hoog vanwege de El Niño-Zuidelijke Oscillatie. De maandelijkse temperatuur en neerslag van oktober 2018 tot en met het einde van de meetcampagne in september 2019 zijn weergegeven in Figuur 3.2. In deze tijdspanne viel slechts 1073.4 mm neerslag (gegevens van het meetstation ter plaatse).

Het terrein werd lang blootgesteld aan landbouwactiviteiten, maar na inmiddels dertig jaar regeneratie is Horizontes vandaag een secundair bosgebied met hoge biodiversiteit en een mix van pionier- en midsuccessionele soorten (Werden *et al.*, 2018). De meerderheid van de aanwezige bomen zijn bladverliezend, acht soorten zijn groenblijvend.



**Figuur 3.2:** Maandelijkse neerslag (blauwe balken) en gemiddelde maandtemperatuur (rode lijn) in Horizontes voor de periode oktober 2018 tot en met het einde van de meetcampagne, op 30 september 2019.

Vijf abundante lianensoorten uit verschillende families werden geselecteerd: *Serjania schiedeana* (Sapindaceae), *Acacia tenuifolia* (Fabaceae), *Cydista heterophylla* (Bignoniaceae), *Banisteriopsis muricata* (Malpighiaceae) en *Cissus microcarpa* (Vitaceae). Alle soorten zijn bladverliezend in het droogseizoen. De selectie gebeurde op basis van de abundantie en bereikbaarheid van soorten. Ook de aanwezigheid van voldoende takken met gewenste diameter (3-10 mm, ten gevolge van limitaties van de meetapparatuur) was belangrijk in deze keuze. Om de droogtestress van de onderzochte lianen in kaart te brengen, werd gedurende zes weken (17 augustus tot 30 september 2019) op regelmatige basis de stamwaterpotentiaal ( $\psi_s$ ) in het veld gemeten, zowel voor zonsopgang ( $\psi_{s,max}$ ) als tijdens maximale lichtinstraling (tussen 11u en 13u) ( $\psi_{s,min}$ ). Vatbaarheid voor droogte op tak- en bladniveau, gekarakteriseerd door een vatbaarheidscurve (VC), werd bepaald met behulp van drie technieken: *percentage loss of conductivity* (PLC) (tak), akoestische emissie (AE) (tak) en de optische methode (*optical vulnerability*, OV) (blad). Deze methodes verschillen van elkaar door de manier waarop embolismevorming wordt geregistreerd.

De PLC-methode wordt gezien als de standaard voor het opstellen van VC's (Cochard *et al.*, 2013). De hydraulische geleidbaarheid (K) van verschillende uitdrogende takken wordt over een range aan stamwaterpotentialen ( $\psi_s$ ) gemeten, en de vermindering van K (PLC) in vergelijking met een goed bewaterde referentietak wordt bepaald. Bij de PLC-methode zijn dus meerdere takken nodig voor het opstellen van een VC. Dit is niet het geval bij de AE en OV-methode, waar de embolismevorming wordt bepaald in respectievelijk een enkele uitdrogende tak of blad. Bij

deze methoden wordt niet de PLC opgemeten, maar wel de embolismevorming relatief ten opzichte van de start van de meting, op een optische (OV) of akoestische (AE) wijze.

Voor elk van deze methoden werd embolismevorming geïnduceerd door geleidelijke uitdroging (*bench dehydration*). Voor de geogste takken werd een oorspronkelijk goed bewaterde toestand verondersteld. PLC-metingen werden uitgevoerd tussen 21 augustus en 28 september 2019, OV-metingen tussen 26 augustus en 16 september 2019. Beide metingen werden uitgevoerd ter plaatse in het meetstation. Voor de AE-methode werden de takken (twee voor de soorten *Serjania*, *Acacia* en *Banisteriopsis*, vijf voor de soorten *Cydista* en *Cissus*) verzameld in de nacht van 30 september op 1 oktober, en vervolgens getransporteerd naar België. Metingen werden uitgevoerd in de eerste twee weken van oktober op de Universiteit Gent (Laboratorium voor Plantecologie). Een overzicht van de uitgevoerde metingen en resulterende VC's is te vinden in Tabel 3.1.

**Tabel 3.1:** Overzicht van de uitgevoerde uitdrogingsexperimenten met voor elke methode het aantal verkregen VC's per soort (#curves) en het aantal takken waarop metingen zijn uitgevoerd (#takken) om tot deze curves te komen. Getallen tussen haakjes geven het totaal aantal bemonsterde takken weer, aangezien sommige metingen niet konden worden gebruikt voor de constructie van de VC's (zie tekst).

Soort	PLC-methode (21/08-28/09)		OV-methode (26/08-16/09)		AE-methode (03/10-14/10)	
	#takken	#curves	#takken	#curves	#takken	#curves
<i>Acacia</i>	7 (11)	1	0	0	2	2
<i>Banisteriopsis</i>	9 (13)	1	4 (6)	4	2	2
<i>Cissus</i>	6 (13)	1	5 (6)	5	4 (5)	4
<i>Cydista</i>	10 (22)	1	6	6	4 (5)	4
<i>Serjania</i>	7 (33)	1	6	6	2	2

## 3.2 In situ-waterpotentiaalmetingen

Om een idee te krijgen van het reële stressniveau van de lianen in het veld, werd zowel  $\psi_{s,max}$  als  $\psi_{s,min}$  opgemeten. Er werden drie individuen per soort uitgekozen en  $\psi_s$ -metingen werden, doorheen de tijd, steeds op dezelfde individuen uitgevoerd. Vanaf 25/08 werden slechts twee individuen per soort opgemeten. De geselecteerde planten waren steeds bereikbare, volwassen en omvangrijke lianen met voldoende bladeren die bovendien sterk aan zonlicht werden blootgesteld. Voor elk individu en tijdstip werd  $\psi_s$  driemaal gemeten. Met het oog op consequentie werden steeds gezonde, volwassen bladeren op ooghoogte gemeten. Voor de soorten *Serjania*, *Banisteriopsis* en *Cissus* werd eenmalig (respectievelijk op 17/08, 19/08 en 01/09, en steeds in zonnige omstandigheden) en slechts op een enkel individu, de bladwaterpotentiaal driemaal gemeten tijdens maximale instraling ( $\psi_{l,min}$ ). Hoewel beperkt in aantal, zullen deze metingen gebruikt worden om een inschatting te kunnen maken van het eventuele voorkomen van blad-embolismevorming in het veld.

$\psi_s$  en  $\psi_t$  werden gemeten met een drukkomb (Model 1505D, PMS Instrument Company, VSA).  $\psi_{s,\min}$  werd gemeten door minstens 1 uur voor de meting bladeren af te dekken met een donker zakje bekleed met aluminiumfolie. Zo kon een hydraulisch evenwicht worden bekomen tussen stam en blad. De zakjes werden niet te nauw aangesloten, zodat luchtcirculatie mogelijk bleef en waterdamp van de transpirerende bladeren zou kunnen ontsnappen. Wanneer de binnenkant van de zakjes toch vochtig waren, werden de metingen niet meegenomen in de analyse. Aangezien voor zonsopgang, in afwezigheid van transpiratie, reeds evenwicht tussen stam en blad wordt verwacht, werden geen zakjes gebruikt voor de  $\psi_{s,\max}$ -metingen.

### Dataverwerking

$\psi_{s,\min}$  en  $\psi_{s,\max}$ -metingen werden apart geanalyseerd en werden opgesplitst op basis van de datum van de meting. Aangezien niet alle soorten op eenzelfde dag konden worden opgemeten, en om de vergelijking tussen soorten mogelijk te maken, werden de  $\psi_s$ -metingen van twee dagen samengenomen (31/08 met 01/09 en 23/09 met 30/09 ( $\psi_{s,\min}$ ), 11/09 met 13/09 en 29/09 met 30/09 ( $\psi_{s,\max}$ )). Op deze dagen werd een gelijkaardige droogtestress verondersteld. Iedere groep van metingen werd gefit aan een lineair gemengd-effect model (LME), met de lianensoort en de gemeten boom als respectievelijk vast en random effect. Vervolgens werd een variantieanalyse (ANOVA) uitgevoerd op elk van de verkregen modellen om verschillen in  $\psi_{s,\min}$  en  $\psi_{s,\max}$  tussen soorten te detecteren ( $P < 0.05$ , tweezijdige test).

Om ook te kunnen testen op verschillen in  $\psi_{s,\min}$  en  $\psi_{s,\max}$  overheen de tijd, werd de data een tweede maal opgesplitst, maar nu op basis van de soort (elke groep bestaande uit alle metingen op een enkele soort). Deze data werd vervolgens gefit aan het LME-model met de datum van de meting als vast en de gemeten boom als random effect, waarna opnieuw een ANOVA werd uitgevoerd ( $P < 0.05$ , tweezijdige test).

De statistische analyse van de  $\psi_s$ -metingen vond plaats plaats in RStudio (versie 1.2.5033).

## 3.3 Maximale vatlengte

De soortspecifieke maximale vatlengte (MVL) werd voor alle soorten bepaald. Het proximale einde van een lange (3-4 m) geogste tak werd aangesloten op een flexibel plastic buisje verbonden met een met lucht gevulde spuit. Lucht werd onder druk door de tak gestuurd waarna het distale takeinde stelselmatig onder water werd ingekort tot een regelmatige stroom van bubbels werd waargenomen. De lengte van de tak werd opgemeten en komt overeen met de lengte van het langste vat in de tak (De Baerdemaeker *et al.*, 2019).

## 3.4 Oogsten en transport van takken

Takken werden steeds verzameld volgens het protocol van Choat *et al.* (2015). Aangezien het oogsten van takken uit de kruin praktisch niet mogelijk was, werden volwassen en gezond uitziende lianen op makkelijk bereikbare en relatief open plekken geselecteerd. Takken van *Acacia* en *Cissus* konden steeds (PLC, AE en OV-methode) uit dezelfde lianenpopulatie worden geoogst. Dit was echter niet mogelijk voor *Banisteriopsis*, *Serjania* en *Cydista*. Geoogste takken waren steeds 3-10 mm in diameter, zowel voor de PLC, AE als OV-methode. Takken werden geoogst bij een minimale xyleemspanning voor zonsopgang, om embolismevorming bij het afsnijden van de tak te minimaliseren. Bij het oogsten van takken voor de PLC en AE-methode werd getracht om takken met een lengte van ongeveer tweemaal de MVL te selecteren om artificiële embolismevorming in het distale eind te vermijden. Dit was bij de PLC-methode echter niet altijd mogelijk omwille van (i) de grote benodigde hoeveelheid takken en (ii) de lange MVL, voornamelijk van *Cissus* ( $233.2 \pm 49.30$  cm) en *Banisteriopsis* ( $149 \pm 43.80$  cm). Door de hoge zeldzaamheid van de langste vaten, en de selectie van takken met een afstand tussen het proximale eind en de zone van embolisme-opmeting slechts iets korter dan de MVL, is de kans op beïnvloeding van de stam-specifieke geleidbaarheid ( $K_s$ ) echter klein (Melcher *et al.*, 2012). Indien de geselecteerde tak lang genoeg was, werd met een tweede snede de tak onder water verder ingekort (30-40 cm) om de xyleemspanning te relaxeren.

Bij het oogsten van takken voor de OV-methode werd de MVL niet gerespecteerd, aangezien de focus hier lag op het zoeken van sterk bebladerde takken om voldoende  $\psi_s$ -metingen te kunnen uitvoeren.

Na het afsnijden werden de takken getransporteerd met het snijeinde ondergedompeld in een zakje of ton gevuld met water. Bladeren werden van het zonlicht afgedekt met een donkere, licht bevochtigde vuilniszak om transpiratie te vermijden. PLC en OV-metingen werden uitgevoerd in een laboratorium op de site op een twintigtal minuten rijden van de oogstplaatsen. Takken gebruikt voor de opstelling van VC's met de AE-methode werden getransporteerd naar België, waarna metingen werden uitgevoerd in het Laboratorium voor Plantecologie op de Universiteit Gent.

## 3.5 Uitdrogingsexperimenten

### 3.5.1 Vatsbaarheidcurven op basis van de PLC-methode

#### Vorbereiding van taksegmenten

Takken werden uitgespreid over de vloer om te drogen. Het aantal takken per soort varieerde tussen 11 (*Acacia*) en 33 (*Serjania*). Takken lagen in de schaduw en de snijzijde werd afgeplakt met teflon tape om heterogene uitdroging te vermijden. De uitdrogingsperiode varieerde tussen 0 en 100



uur (*Cissus*), maar was voor elke soort anders wegens de sterk verschillende uitdrogingspatronen. Om een idee te krijgen van het uitdrogingsstadium van de takken, werd  $\psi$  op regelmatige basis opgemeten. Bij het bereiken van de gewenste  $\psi$ , werd de gemiddelde  $\psi_s$  van de takken bepaald. Hiervoor werden drie bladeren, verspreid over de volledige taklengte, gedurende minimaal een uur ingepakt met zilverpapier, waarna  $\psi_s$  kon worden opgemeten met de drukkomb. Bij extreme uitdroging werd het echter moeilijk om  $\psi$  met de drukkomb te bepalen, en werd ook de WP4C (WP4C Dewpoint Potentiometer, Decagon Devices, USA) gebruikt. De wissel van meetmethode was voor de meeste soorten noodzakelijk tussen -5 en -6 MPa. Door grote variatie tussen WP4C-metingen, werd het gebruik van deze methode vermeden indien mogelijk.

Na de bepaling van  $\psi_s$  werd een gezond taksegment aan het distale eind van de tak geselecteerd. Een segment van 15 cm werd verkregen door de tak stelselmatig onder water in te korten. Dit om de xyleemspanning te relaxeren en artefacten ten gevolge van afknippen te vermijden (Wheeler *et al.*, 2013)). Volledige opening van xyleemvaten aan beide zijden werd verzekerd door het snijoppervlak onder water te hersnijden met een scherp scheermesje. Om rechtstreekse instroming in de xyleemvaten te verzekeren, werd de bast aan beide zijden van het taksegment verwijderd (De Baerdemaeker *et al.*, 2019). Eventuele bladeren op het taksegment werden onder water verwijderd (De Baerdemaeker *et al.*, 2019), en de wonden werden met teflon tape omwikkeld om lekken te voorkomen.

De reden voor het kiezen van een segmentlengte van 15 cm was tweevoudig: (i) uit praktische overwegingen omwille van de lange MVL, daar enkel correcte PLC-metingen worden verkregen bij segmenten veel korter (alle vaten open) of langer (alle vaten gesloten) dan de MVL, en (ii) aangezien 15 cm wordt gezien als de standaard, zoals oorspronkelijk uitgevoerd op *Acer saccharum* Marshall door Sperry *et al.* (1988).

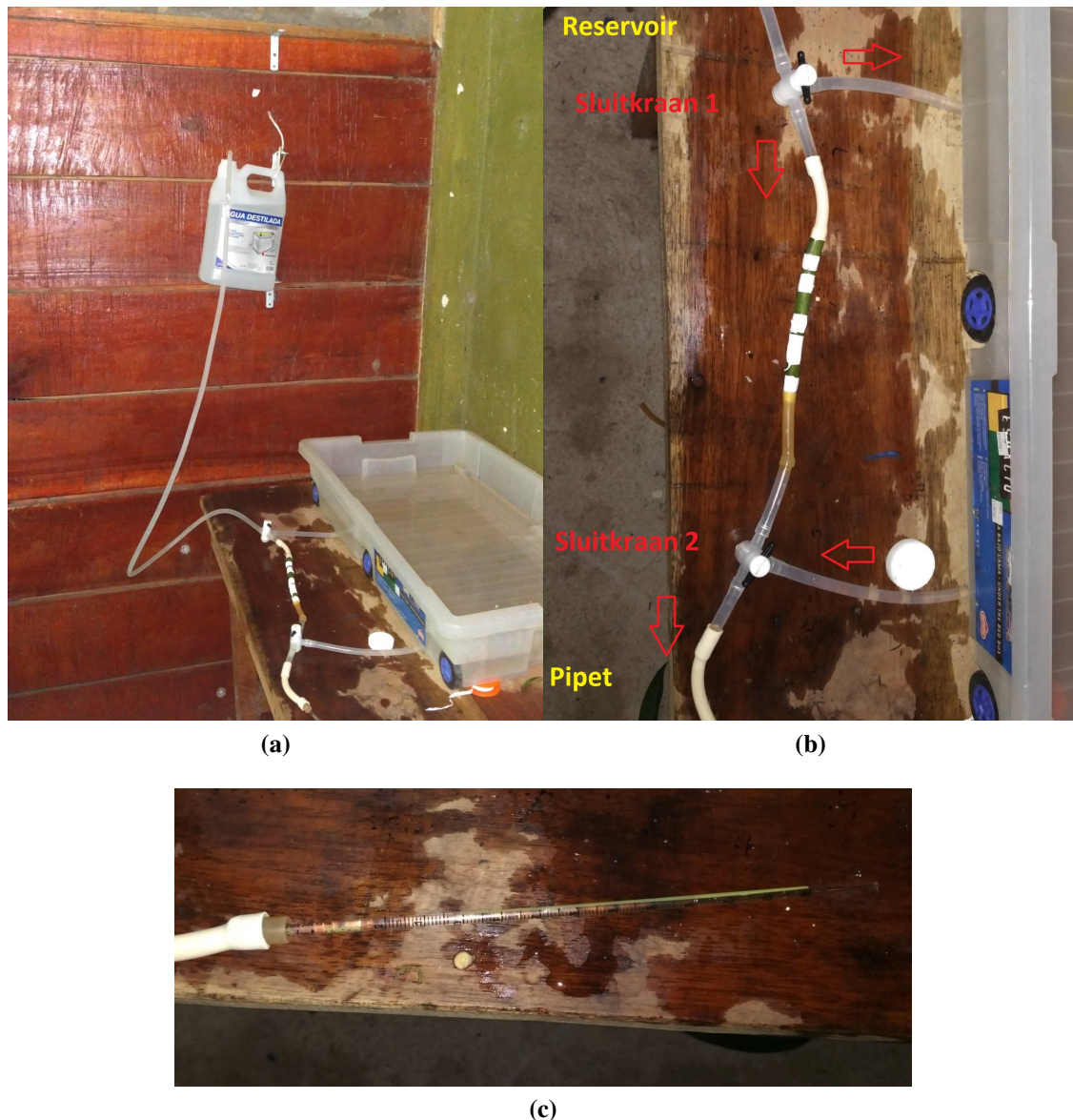
### Opstelling en meting

De opstelling voor het meten van K wordt weergegeven in Figuur 3.3. Een reservoir met een ontgaste en gedestilleerde 10 mmol KCl-oplossing hangt op een instelbare hoogte en zorgt voor het benodigde drukverschil ( $\Delta P$  [Pa]) over het taksegment. Het taksegment wordt tussen twee afsluitkraantjes aangesloten op een plastic buizensysteem. De KCl-oplossing wordt, via dit buizensysteem, in zijn natuurlijke stroomrichting doorheen het taksegment gestuwd, waarna het verder naar de pipet stroomt, waar het debiet ( $F$  [ $\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ ]) kan worden gekwantificeerd.  $\Delta P$  is instelbaar via aanpassing van de hoogte van het reservoir ( $h$  [m]) volgens Vergelijking 3.1:

$$\Delta P = \delta \cdot g \cdot h \quad (3.1)$$

met  $g$  [ $\text{m} \cdot \text{s}^{-2}$ ] de gravitatieconstante en  $\delta$  [ $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ ] de dichtheid van de oplossing ( $997 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$  bij  $25^\circ\text{C}$ ).<sup>1</sup>

<sup>1</sup>De invloed van de temperatuur van de oplossing op de PLC werd minimaal bevonden (0.2% verschil bij een verschil van  $5^\circ\text{C}$  en 50% PLC), waardoor afwijkingen op deze assumptie gedurende ochtend- en middagmetingen geen groot effect zouden mogen hebben.



**Figuur 3.3:** Opstelling in het meetstation voor het opmeten van de hydraulische geleidbaarheid (K). (a) Een reservoir met een 10 mmol KCl-oplossing zorgt voor het nodige drukverschil over het taksegment, waarmee het via een flexibel buizensysteem is verbonden. (b) Bij aansluiting van het segment stroomt de oplossing in beide richtingen aangegeven door de rode pijlen. Bij de start van de meting wordt de positie van sluitkraan 1 gewijzigd, zodat enkel nog stroming doorheen het taksegment mogelijk is. (c) Via het verschuiven van de meniscus in de pipet wordt het debiet (F) in het xyleem bepaald.

Voor aansluiting van het segment worden luchtballen uit het buizensysteem verwijderd (Jacobsen, 2011b). Het stroomopwaarts segmenteinde werd aangesloten op het buizensysteem ter hoogte van sluitkraan 1 (Figuur 3.3 (b)) via nauw aansluitende connectoren. Sluitkraan 1 staat hierbij in de open positie zodat de oplossing door beide buisjes stroomt en de druk over het taksegment beperkt wordt. Gedurende een tiental seconden werd installatie van het taksegment met het buizensysteem getest onder het laagste drukverschil. Indien lekken voorkwamen, werd dit verholpen met teflon tape. Vervolgens werd het stroomafwaarts segmenteinde onder water verbonden met het buizensysteem.

Bij de start van de meting werd de positie van de sluitkranen aangepast, zodat de oplossing enkel door het taksegment kon vloeien. Een stabiele K kan pas gemeten worden in afwezigheid van radiale stroming doorheen het taksegment (instroom = uitstroom). Deze radiale stroming, van xyleem naar de bast, neemt eerst toe, waarna deze daalt naar nul en een stabiele K kan worden opgemeten. Aangezien de lange stabiliseringstijd (tot 300 min in *Malus domestica* (De Baerdemaeker *et al.*, 2019)) gepaard gaat met de hervulling van vaten, is de stabiliteit van K echter niet het beste criterium bij het meten van PLC (De Baerdemaeker *et al.*, 2019). Om hervulling en bijhorende PLC-onderschatting te vermijden, werd daarom niet gewacht op een hydraulisch stabiele toestand. Teneinde de metingen te standaardiseren, werd deze steeds direct na aansluiting van het taksegment gestart, aangezien de gevolgen van radiale waterstroming en hervulling van geëmboliseerde vaten op dat moment minimaal zijn (De Baerdemaeker *et al.*, 2019). Voor ieder taksegment werd F bepaald over drie verschillende  $\Delta P$ 's (3, 6 en 8.5 kPa). De eerste meting werd steeds uitgevoerd bij het laagste  $\Delta P$ , waarna dit werd opgebouwd. Het buizensysteem met het taksegment en de pipet bevonden zich steeds op dezelfde hoogte, enkel het reservoir werd in hoogte verplaatst. Voor een gegeven drukverschil werd driemaal de benodigde tijd gemeten om 0.1 ml (of 0.05 ml bij een kleine F) in de pipet te vullen. Uit het gemiddelde van deze waarden werd F berekend voor de overeenkomstige  $\Delta P$ . K is de richtingscoëfficiënt van de lineaire regressie van F in functie van  $\Delta P$  (Vergelijking 3.2):

$$K = F/\Delta P \quad (3.2)$$

Tot slot werd de gemeten K gecorrigeerd voor de gemiddelde doorsnede en de lengte van het segmentxyleem ( $K_c$  [ $\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{MPa}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ]). Dit maakt de berekening van de PLC mogelijk via Vergelijking 3.3:

$$PLC = (1 - K_c/K_{c,\max}) * 100 \quad (3.3)$$

met  $K_{c,\max}$  de maximale  $K_c$  bij een goed gehydrateerde tak. De PLC van alle taksegmenten wordt dus berekend relatief ten opzichte van een goed bewaterd referentiesegment (met PLC = 0). Een andere optie zou zijn om voor ieder taksegment  $K_{c,\max}$  te bepalen. Dit is mogelijk door na K-meting water onder hoge druk door het taksegment te stuwen (spoeling van het taksegment). Hierbij worden alle geëmboliseerde vaten hersteld, waarna  $K_{c,\max}$  kan worden opgemeten. Het spoelen van taksegmenten kan echter leiden tot een overschatting of onderschatting van  $K_{c,\max}$ <sup>2</sup>. Hierom en omwille van praktische overwegingen met betrekking tot het spoelen (apparatuur en tijdsgebrek), werd de assumptie gemaakt dat  $K_{c,\max}$  gelijk is aan de K gemeten bij goed bewaterde takken.

### Dataverwerking

De PLC van alle takken werd bepaald relatief ten opzichte van een referentietak (Vergelijking 3.3). In afwezigheid van dagelijkse cycli van embolismeherstel, zal de PLC pas toenemen indien de  $\psi_s$  negatiever wordt dan de  $\psi_s$  van de tak in het veld (Jacobsen, 2011a). Dit betekent dat  $K_{c,\max}$  (de referentie) kan worden opgemeten wanneer de droogtestress van de tak niet hoger is dan de

<sup>2</sup>Overschatting door vaten te spoelen die gedurende de ontwikkeling hun functionaliteit verloren hebben (Jacobsen en Pratt, 2012). Onderschatting doordat vaten verstopt kunnen raken door partikels in de spoel-oplossing of door gels in het xyleem (Cochard *et al.*, 2013; De Baerdemaeker *et al.*, 2019).

droogtestress ondervonden in het veld. Als referentie werd daarom gekozen voor de hoogste  $K_c$ -meting bij een  $\psi_s$  (-0.13 MPa (*Cissus* en *Acacia*) tot -2.34 MPa (*Banisteriopsis*)) groter dan  $\psi_{s,\min}$ . Dit was echter niet het geval bij *Banisteriopsis*, waar de referentie werd gekozen bij een  $\psi_s$  iets negatiever dan  $\psi_{s,\min}$  (-0.13 MPa).

Bij extreme uitdroging van de takken werden regelmatig luchtbellen waargenomen in het normaal volledig met oplossing gevuld plastic buizensysteem. Dit wijst op de hervulling van geëmboliseerde vaten met water, en resulteert in een foutieve meting. Wanneer bellen enkel bij het derde drukverschil werden waargenomen, werd de PLC berekend op basis van de metingen bij de eerste twee drukverschillen. Indien reeds bij het eerste of tweede drukverschil bellen werden waargenomen, werden de metingen niet meegenomen in de analyse, behalve indien deze punten omwille van hun zeer hoge PLC (>88%) een meerwaarde betekenden voor het verloop van de curve.

Aangezien slechts vanaf 13/09 consequent werd gelet op de aanwezigheid van bellen, is het mogelijk dat er voordien foutieve metingen werden geregistreerd. Om deze toch in rekening te brengen, werd uit de dataset van metingen na 13/09 voor elke soort de minst negatieve  $\psi_s$  waarbij bellen werden waargenomen,  $\psi_{s,\text{krit}}$ , bepaald. Voor metingen uitgevoerd vóór 13/09 bij een  $\psi_s$  negatiever dan  $\psi_{s,\text{krit}}$ , is de kans op onderschatting van de PLC reëel. Deze metingen werden vergeleken met de overige PLC-metingen bij dezelfde soort. Wanneer een onderschatting van de PLC werd waargenomen, werden deze metingen niet opgenomen in de analyse. Bij *Acacia* en *Cissus* werden respectievelijk twee en één punt(en) toch opgenomen, ondanks het feit dat er hier sprake zou kunnen zijn van een onderschatting. Dit omwille van het kleine aantal PLC-metingen dat kon worden gebruikt voor het opstellen van een VC. Bij *Serjania* werd reeds bij -0.05 MPa luchtbellen in het buizensysteem waargenomen. Metingen uitgevoerd op *Serjania* voor 13/09, werden daarom niet opgenomen in de analyse. Afgezien hiervan werden negatieve en afwijkende PLC-waarden (dit zijn voornamelijk afwijkend hoge waarden ten opzichte van de rest van de curve) niet geselecteerd voor het opstellen van de VC, aangezien zij het bepalen van een klassieke VC onmogelijk maakten. Om een volledig en genuanceerd beeld te kunnen geven van de uitgevoerde metingen, zullen steeds alle opgemeten waarden, ook deze die niet werden geselecteerd voor bepaling van de uiteindelijke curve, worden weergegeven.

### 3.5.2 Vatbaarheidscurves op basis van de optische methode (VC<sub>opt</sub>)

De OV-methode werd toegepast zoals beschreven door Brodribb *et al.* (2016). De methode steunt op de relatief hoge reflectantie van geëmboliseerde vaten. Van elke soort werden drie takken met voldoende bladeren, ieder afkomstig van een ander individu, voor zonsopgang verzameld. Eén blad per tak werd tussen twee dekglasjes met tape op een scanner (Epson V800 Transparency Scanner) bevestigd (Figuur 3.4). Elke tien minuten en tot volledige uitdroging werd van een op voorhand aangeduid venster van ieder blad automatisch een scan genomen (1 (*Banisteriopsis*) tot 4.625 (*Cissus*) dagen). De overige bladeren van de tak werden gebruikt voor  $\psi_s$ -metingen.



**Figuur 3.4:** Eén blad per tak en in totaal drie bladeren werden in een ontspannen houding met tape vastgemaakt op de scanner, opdat bladeren zo weinig mogelijk mechanische stress ondervinden.

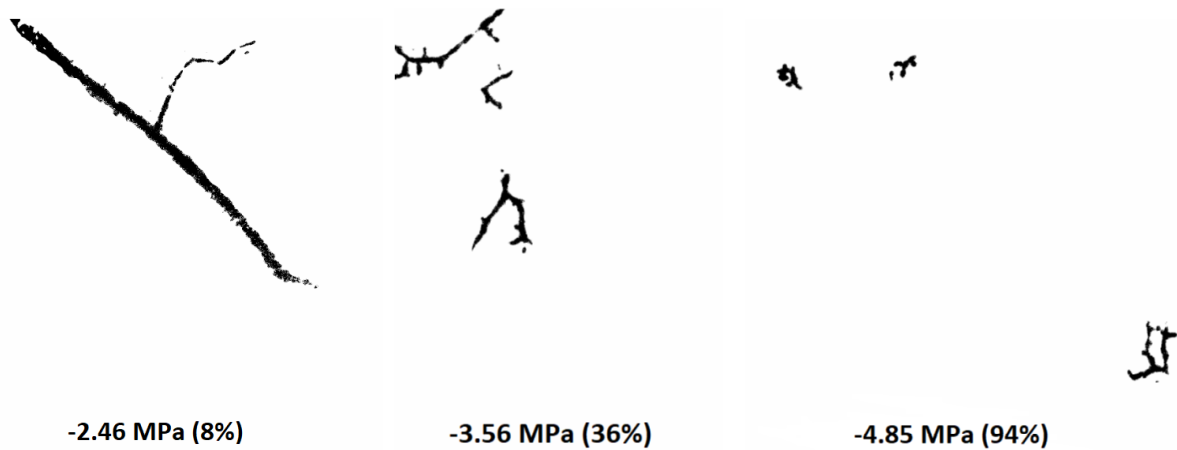
Bladeren werden ingepakt met aluminiumfolie (minstens 1 uur voor de meting), waarna  $\psi_s$  iedere 0.5 - 2u (in uitzondering de periode tussen 20:00u en 07:30u) werd gemeten met de drukkomb. Deze procedure werd voor alle soorten tweemaal herhaald, waardoor maximaal zes (3x2) optische VC's ( $VC_{opt}$ ) per soort konden worden opgesteld.

### Dataverwerking

Een analyse van de gescande beeldsequentie van de uitdrogende bladeren werd uitgevoerd in ImageJ om snelle veranderingen van lichttransmissie in de bladnerven ten gevolge van embolismevorming te identificeren (Brodrigg *et al.*, 2016). Hiervoor werd de 'image subtraction'-functie gebruikt, waarbij pixelwaarden van opeenvolgende afbeeldingen van elkaar worden afgetrokken. Hierdoor worden veranderingen van lichttransmissie in opeenvolgende afbeeldingen geaccentueerd, en trage veranderingen geassocieerd met het opdrogen van de bladeren weggefilterd. Voor elke beeldsequentie van een uitdrogend blad werd een drempelwaarde voor de minimale veranderingen van lichttransmissie, karakteristiek voor embolismevorming, bepaald. Deze drempelwaarde was afhankelijk van de hoeveelheid ruis en dit minimale pixelwaardeverschil tussen opeenvolgende afbeeldingen varieerde van drie (weinig ruis) tot acht (veel ruis). Hierbij werd steeds getracht om de structuur van het embolisme zo duidelijk mogelijk in beeld te brengen, en gelijktijdig ruis, afkomstig van trichomen en inkrimping van het blad, te beperken. Vervolgens werd de beeldsequentie omgezet naar binaire afbeeldingen en dit resulteerde in zwarte embolismegebeurtenissen op een witte achtergrond. Om ruis verder te beperken, werd de 'analyse particles'-functie gebruikt. Aangezien dit niet voldoende bleek, werd overgebleven ruis handmatig verwijderd (Figuur 3.5).

Het totaal aantal zwarte (geëmboliseerde) pixels per foto werd bepaald met de 'Measure stack'-functie, en de som van de pixels over de foto's heen werd gelijk gesteld aan 100%





**Figuur 3.5:** Drie scans van embolismegebeurtenissen gedurende een uitdrogingsexperiment van een blad van *Serjania*, met weergave van  $\psi_s$  en het percentage geëmboliseerde vat-oppervlakte tussen haakjes.

embolismevorming. Via lineaire regressie tussen de gemeten  $\psi_s$  en de verstreken tijd sinds de start van de uitdroging kon een continu verloop van  $\psi_s$  worden beschreven (Excel 2007). Voor *Cissus* was de relatie gesegmenteerd, voor de soorten *Banisteriopsis*, *Serjania* en *Cydista* was deze lineair over de volledige meetperiode. Tenslotte werd het tijdstip van de scans omgezet naar de corresponderende waterpotentiaal, waardoor een  $VC_{opt}$  werd verkregen. Voor *Acacia* konden geen OV-metingen worden uitgevoerd, aangezien de bladstructuur (geen zichtbare nerven) hier niet toe geschikt was. Voor *Cissus* en *Banisteriopsis* konden respectievelijk slechts vijf en vier  $VC_{opt}$ 's worden opgesteld, aangezien embolismevorming bij deze soorten niet altijd zichtbaar was.

### 3.5.3 Vatbaarheidscurves op basis van akoestische emissies ( $VC_{AE}$ )

Embolismevorming gaat gepaard met een plotselinge spanningsval wanneer water onder sterk negatieve druk vervangen wordt door waterdamp. Deze spanningsval kan worden waargenomen onder de vorm van AE-signalen in zowel hoorbare als ultrasone frequenties (Nolf *et al.*, 2015b).

AE-metingen werden uitgevoerd in het Laboratorium voor Plantecologie aan de Universiteit Gent. Acht takken werden gelijktijdig uitgedroogd en gemonitord. Het experiment werd tweemaal uitgevoerd, op 03/10 en op 08/10, zodat een akoestische vatbaarheidscurve ( $VC_{AE}$ ) van in totaal zestien takken kon worden opgesteld. Bij het eerste experiment werden vier *Cydista* en *Cissus*-takken uitgedroogd en AE-signalen opgemeten. Bij het tweede experiment werd hetzelfde gedaan voor twee takken van de overige soorten (*Serjania*, *Acacia* en *Banisteriopsis*), en werd ook een extra herhaling van zowel *Cydista* als *Cissus* uitgevoerd. Dit laatste om het mogelijk effect van vijf dagen extra bewaring na te gaan. Tijdens de bewaring werden lianen in een koelcel (4°C) geplaatst om metabolisme en dehydratatie te minimaliseren. De extra focus op de soorten *Cydista* en *Cissus* kan worden verklaard door een combinatie aan factoren. Het doel was namelijk

om te focussen op soorten die een sterk verschillend uitdrogingspatroon kennen, wat kon worden opgemaakt uit eerdere uitdrogingsexperimenten in Horizontes. Het trage uitdrogingspatroon van *Cissus* (~3 dagen) was sterk verschillend van de andere soorten, voornamelijk *Acacia* en *Banisteriopsis* (< 1 dag). Er werd echter uit veiligheidsoverwegingen voor *Cydista* gekozen. Dit omdat bij *Acacia* geen  $VC_{opt}$ 's konden worden opgesteld, de dunne petiool van *Banisteriopsis* snel brak waardoor het meten van  $\psi_s$  met de drukkomp bij uitgedroogde takken moeilijk was, en *Serjania* gevoelig was voor transport.

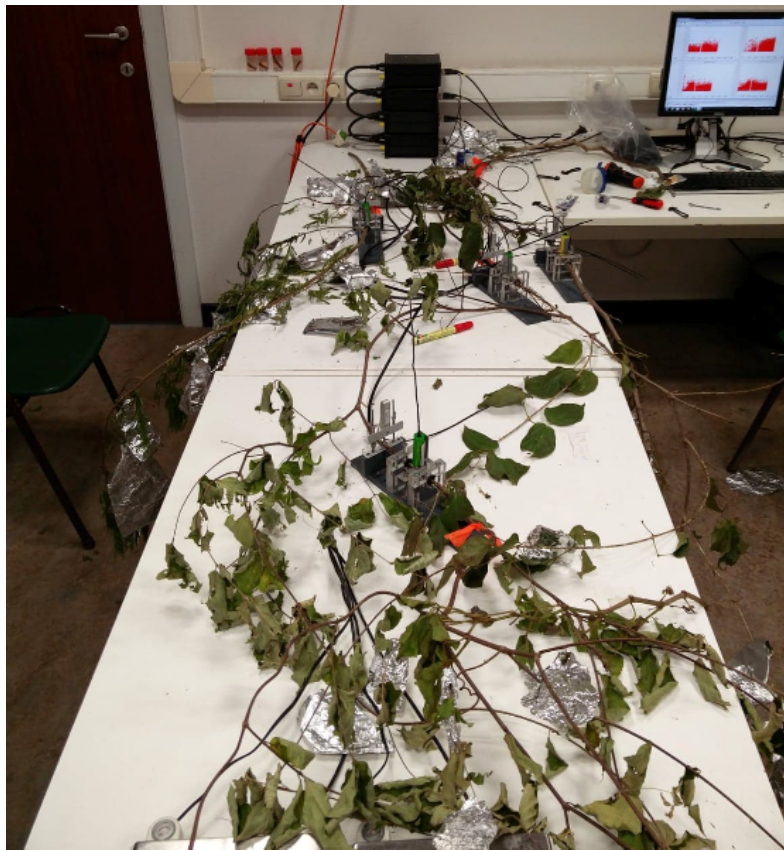
Voor de start van de AE-meting werden bladeren ingepakt in aluminiumfolie zodat  $\psi_s$  tijdens uitdrogen kon worden opgevolgd. Na lokale verwijdering van de bast werden twee sensoren, een dendrometer (DD-S, Ecomatik, Dachau, Duitsland) en een breedband punt-contact AE-sensor (KRNBB-PC, KRN Services, Richland, VSA) op het xyleem van iedere liaan geïnstalleerd voor monitoring van respectievelijk de xyleemkrimp en AE-signalen. De AE-sensor werd met behulp van een compressieveer op het blootgestelde xyleem gedrukt (Figuur 3.6). Om uitdroging van het xyleem ter hoogte van de dendrometer te vermijden werd deze ingevet met vaseline. Bij het installeren van de sensoren werd de ruimte belicht met een artificieel groen licht om fotosynthese en transpiratie te beperken. Uitdroging van de takken werd vermeden door het proximale uiteinde van de tak in het waterzakje te laten. Eenmaal alle sensoren waren geïnstalleerd, werd het waterzakje verwijderd en de TL-verlichting aangestoken om de uitdroging van de takken op te starten. Gedurende de uitdroging werd  $\psi_s$  dag en nacht om het uur tot om de twee uur opgevolgd, tot deze niet meer kon worden opgemeten met de drukkomp (-7 MPa, Model 1000, PMS Instrument Company, VSA). Bij het afknippen van het blad voor  $\psi_s$ -meting werd de registratie van AE-signalen telkens gepauzeerd om foutieve detectie van AE-signalen ten gevolge van verstoringen te vermijden.

Zoals beschreven in De Baerdemaeker (2018) werd dendrometer data verzameld en opgeslagen via een speciaal hiertoe ontwikkeld data-acquisitie board (Laboratorium voor Plantecologie aan de Universiteit Gent) en PhytoSense software (Phyto-IT, Gent). De AE-signalen werden versterkt met 35.6 dB (AMP-1BB-J, KRN Services, Richland, WA, VSA), en golfvormen van 7168 sample-lengte werden verkregen aan een samplesnelheid van 10 MHz. De AE-signalen werden verzameld via 2-kanaals PCI boards en vervolgens getransfereerd naar het AEwin (PCI-2, AEwin E4.70, Mistras Group BV, Schiedam, Nederland) software programma. Een 20-1000 kHz banddoorlaatfilter werd gebruikt, en enkel AE-signalen boven 34 dB werden weerhouden om ruis weg te filteren (Vergeynst *et al.*, 2016).

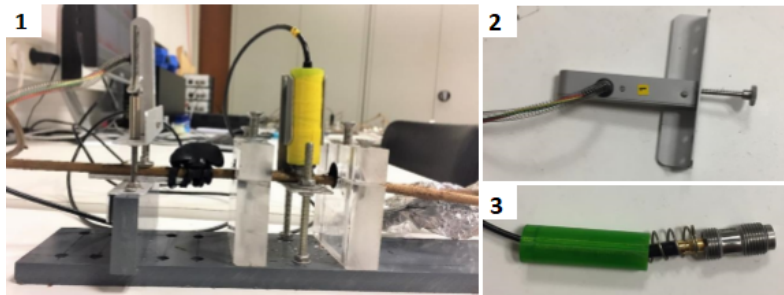
## Dataverwerking

### *Naar een continue waterpotentialiaal*

De verwerking van de dendrometer en AE-data werd uitgevoerd in RStudio (versie 1.2.5033). De radiale xyleemdiameter werd elke minuut geregistreerd door de dendrometer. De radiale inkrimping op ieder moment gedurende het experiment ( $\Delta d_t$ ) kon worden bekomen door de gemeten diameter ( $d_t$ ) te verminderen met de initiële gehydrateerde diameter ( $d_i$ ). Door de radiale krimp te delen door de initiële diameter werd de relatieve radiale krimp of 'strain' bepaald ( $\Delta d_t/d$



(a)



(b)

**Figuur 3.6:** (a) Uitdroging van lianen met gelijktijdige meting van AE en de xylemdiameter. De bladeren die zijn ingepakt met zilverpapier worden gebruikt voor  $\psi_s$ -meting. (b) 1. Een op maat gemaakte houder zorgt voor een stabiele opstelling van de sensoren 2. Een dendrometer 3. Een AE-sensor met compressievoor (Tack, 2019).

$[\mu\text{m}/\text{mm}]$ ) (Vergelijking 3.4):

$$\frac{\Delta d_t}{d} = \frac{d_t - d_i}{d_i} \quad (3.4)$$

Een lineaire (*Cissus*, *Cydista* en *Acacia*) of gesegmenteerde (*Serjania* en *Banisteriopsis*) relatie tussen de continu gemeten  $\Delta d_t/d$  en de manueel gemeten  $\psi_s$  kon worden bepaald. Dit verband, de stress-strain relatie, werd voor elke soort berekend, en liet toe een continue  $\psi_s$  in functie van de tijd te bepalen. Bij enkele takken (een enkel individu van de soorten *Cissus*, *Serjania* en *Acacia*) werd echter een groot verschil vastgesteld tussen de gemeten  $\psi_s$ -waarden en de berekende, continue  $\psi_s$ . Deze zwakke correlatie tussen stress en strain was te wijten aan schommelende dendrometer



metingen (*Acacia*  $R^2=0.15$ ) of tijdelijke stabilisatie van de radiale inkrimping (*Cissus* ( $R^2=0.54$ ) en *Serjania* ( $R^2 = 0.87$ )<sup>3</sup>). Bij *Cissus* werd de continue  $\psi_s$  daarom bepaald met de gemiddelde stress-strain relatie van de overige drie takken, hierbij veronderstellend dat dit verband soort-specifiek is. Bij *Acacia* en *Serjania* werd de gemeten  $\psi_s$  geëxtrapoleerd in de tijd, zoals dit eerder werd gedaan bij de OV-methode.

#### Bepaling van de elasticiteit

De helling van de stress-strain relatie komt overeen met de schijnbare radiale elasticiteitsmodulus ( $E_r$ ) van de takken (Vergelijking 3.5, (Kozłowski en Kramer, 1991)). Planten met een grote elasticiteit kunnen meer water opslaan, en dus ook verliezen tijdens droogte (Lambers *et al.*, 2008). Een grote  $E_r$ -waarde komt overeen met een kleine elasticiteit.

$$E_r = \frac{d(\Delta d_t/d)}{d\psi_s} \quad (3.5)$$

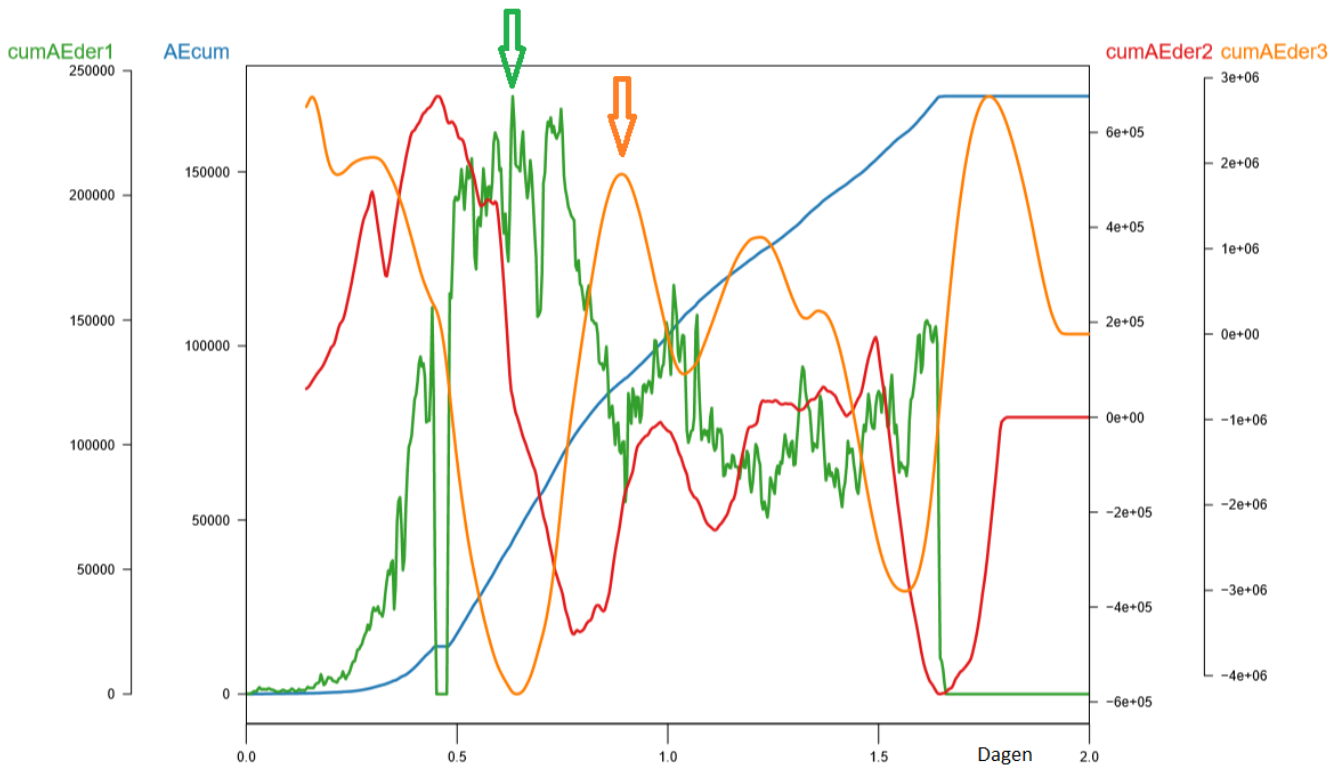
De gemiddelde  $E_r$  werd voor alle soorten bepaald. Takken waarbij de stress-strain relatie niet werd gebruikt voor bepaling van de continue  $\psi_s$ , werden niet opgenomen in de analyse. Het eerste deel van de gesegmenteerde stress-strain relatie van *Serjania* werd echter wel gebruikt voor bepaling van  $E_r$ , aangezien een sterk en representatief verband tussen  $\psi_s$  en de strain ( $R^2 = 0.94$ ) werd vastgesteld vóór het buigpunt.

#### Vatbaarheidscurve

Cumulatieve AE-signalen kunnen worden gebruikt om het verlies aan K (PLC) te kwantificeren (Vergeynst *et al.*, 2015). Registratie van AE-signalen afkomstig van niet-geleidende cellen maakt de analyse echter complex (Nolf *et al.*, 2015a). AE afkomstig van sclerenchym (Kikuta en Richter, 2003), schorsweefsel (Kikuta *et al.*, 1997) of het krimpproces (Vergeynst *et al.*, 2014) zorgen ervoor dat AE-signalen niet tot nul worden herleid na 100% embolismevorming. Dit punt van volledige embolismevorming kan echter worden bepaald door AE-activiteit over tijd te evalueren. Deze akoestische activiteitscurve werd geconstrueerd door de eerste afgeleide van de cumulatieve AE over tijd over een interval van 15 minuten te berekenen. Het moment van de hoogste AE-activiteit valt samen met het steilste deel van de VC, d.i. rond het buigpunt ( $\psi_{50}$ ) (Nolf *et al.*, 2015a). Het eindpunt van de VC (100% embolismevorming) kan worden geïdentificeerd als het moment waarop de AE-activiteit, na haar maximum te hebben bereikt, het sterkst afneemt. Dit komt wiskundig overeen met het lokale maximum van de derde afgeleide van de cumulatieve AE over tijd, na het maximum van de eerste afgeleide ( $\psi_{50}$ -waarde) (Figuur 3.7) (Vergeynst *et al.*, 2016). De tweede en derde afgeleide werden, afhankelijk van de snelheid van uitdrogen, berekend over een interval van 150 tot 300 min om kleinschalige fluctuaties van de eerste afgeleide te elimineren.

De  $VC_{AE}$  werd verkregen door cumulatieve AE-signalen te herschalen ten opzichte van het wiskundige eindpunt (100% embolismevorming), en vervolgens te linken met de eerder

<sup>3</sup>De grote  $R^2$  bij *Serjania* is het gevolg van de gesegmenteerde fit, waardoor er toch een sterk verband kon worden opgesteld. Dit verband is echter niet representatief voor het verdere verloop van de stress-strain relatie.



**Figuur 3.7:** Cumulatieve AE-sigitaal (blauw) over de tijd, verkregen bij een dehydratatie-experiment met *Acacia*. De eerste (groen), tweede (rood) en derde (oranje) afgeleide werden bepaald.  $\psi_{50}$  valt samen met maximale AE activiteit, en dus met de groene piek na 0.69 dagen (groene pijl). De tak is volledig geëmboliseerd na 0.89 dagen, wanneer de derde afgeleide een lokaal maximum bereikt (oranje pijl). AE-signalen werden enkel voor de eerste 40 uur opgeslagen (zie tekst), waardoor een vlak signaal wordt verkregen na 1.67 dagen.

verkregen continue waterpotentialiaal (Excel 2007).

Aangezien data bij het tweede AE-experiment enkel de eerste 40 uur in AEWin werd opgeslagen (en alle data nadien jammer genoeg verloren is gegaan), konden voor sommige lianen geen of slechts onvolledige  $VC_{AE}$ 's worden opgesteld. Voor *Cissus* en *Cydista* was het onmogelijk om een  $VC_{AE}$  op te stellen of  $\psi_{50}$  te bepalen, aangezien het punt van maximale AE-activiteit nog niet was bereikt. Beide takken van *Serjania* en een tak van *Banisteriopsis* bereikten wel hun activiteitspiek. Dit maakte het mogelijk een onvolledige  $VC_{AE}$  tot 50% embolismevorming op te stellen. De overige drie takken (tweemaal *Acacia* en eenmaal *Banisteriopsis*) waren reeds volledig geëmboliseerd, waardoor hier wel een volledige  $VC_{AE}$  (tot 100% embolismevorming) kon worden opgesteld.

### 3.5.4 Statistische analyse van de uitdrogingsexperimenten

De statistische analyse van de uitdrogingsexperimenten vond plaats in RStudio (versie 1.2.5033).

Bij de PLC-methode werden de VC's bepaald door *bootstrapping* via een Monte Carlo simulatie (N=1000). In elke simulatieronde werd de substeekproef gefit aan vier verschillende functies

(Weibull, sigmoïdale en twee polynomische functies). De beste fit werd telkens gebruikt om de PLC over het volledige  $\psi_s$ -bereik te bekomen. Vervolgens werd voor elke  $\psi_s$  de gemiddelde PLC (uit duizend iteraties) bepaald.

Een gemiddelde  $VC_{\text{opt}}$  en een  $VC_{\text{AE}}$  werd voor elke soort verkregen door de individuele curves van de verschillende takken uit te middelen. De *smooth spline* functie uit het *Stats package* in R werd gebruikt om een vloeiende curve te verkrijgen. Alle curves werden geplot met behulp van het *ggplot package*.

De  $\psi_s$  die overeenkomt met 12, 50 of 88% embolisme-gerelateerde PLC ( $\psi_{s,12}, \psi_{s,50}, \psi_{s,88}$ ), AE ( $\psi_{s,AE12}, \psi_{s,AE50}, \psi_{s,AE88}$ ) of geëmboliseerde vat-oppervlakte in het blad ( $\psi_{s,A12}, \psi_{s,A50}, \psi_{s,A88}$ ) werd steeds rechtstreeks afgeleid van de corresponderende curve.

# Hoofdstuk 4

## Resultaten

### 4.1 Maximale vatlengte

Maximale vatlengte (MVL) was sterk verschillend tussen lianensoorten (Tabel 4.1), en was het grootst voor *Cissus* ( $233.2 \pm 49.30$  cm) en *Banisteriopsis* ( $149.3 \pm 43.80$  cm). De kleinste MVL werd teruggevonden bij *Acacia* ( $78.88 \pm 3.15$  cm) en *Serjania* ( $89.8 \pm 10.52$  cm).

**Tabel 4.1:** Gemiddelde maximale vatlengte (MVL,  $\pm$  standaarddeviatie) van de lianen *Acacia*, *Serjania*, *Cydista*, *Banisteriopsis* en *Cissus*.

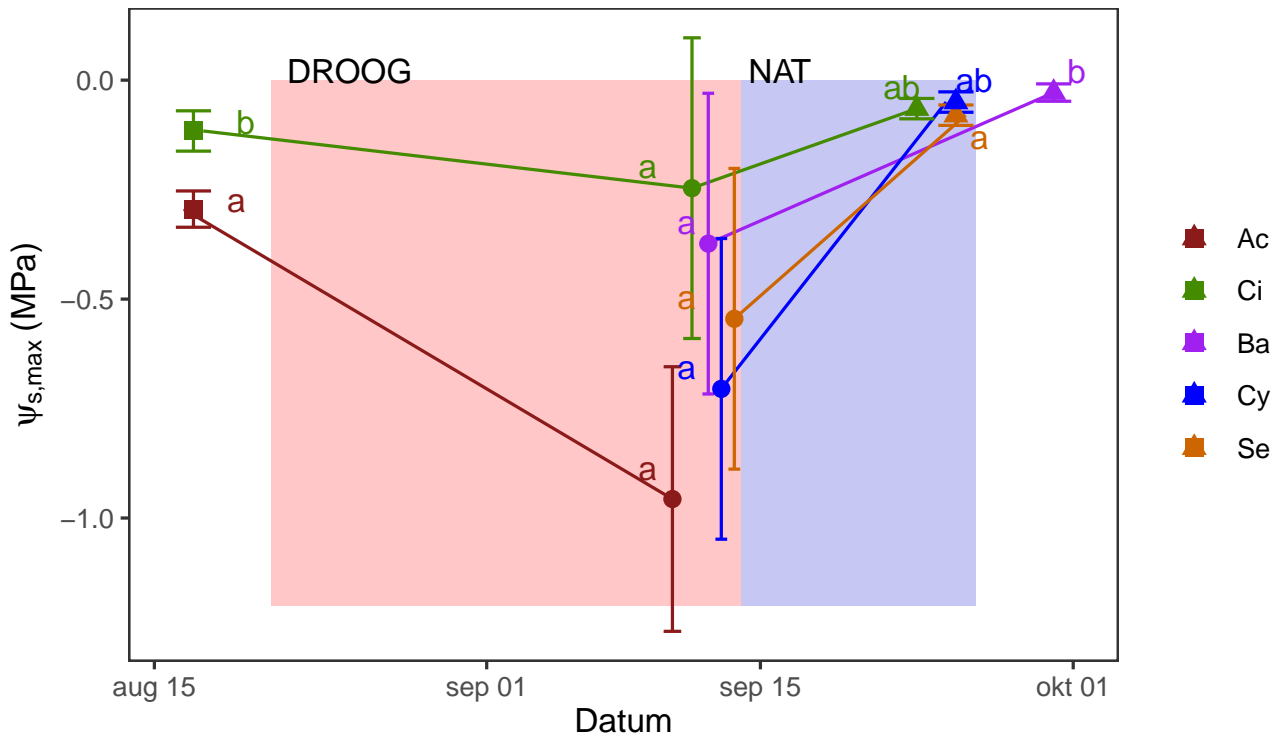
Soort	<i>Acacia</i>	<i>Serjania</i>	<i>Cydista</i>	<i>Banisteriopsis</i>	<i>Cissus</i>
MVL (cm)	78.88 $\pm 3.15$	89.8 $\pm 10.52$	113.42 $\pm 35.00$	149.3 $\pm 43.80$	233.2 $\pm 49.30$

### 4.2 In-situ waterpotentiaalmetingen

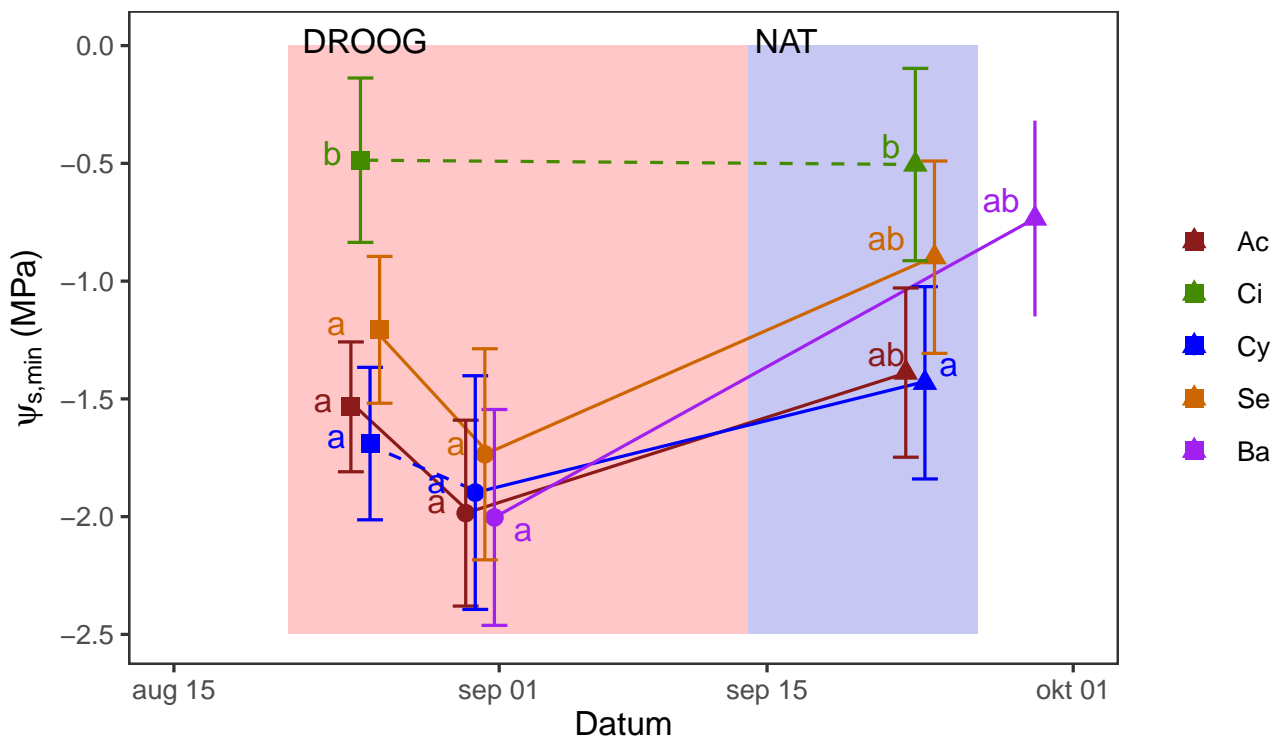
Stamwaterpotentiaalmetingen voor zonsopgang ( $\psi_{s,max}$ ) werden uitgevoerd gedurende drie periodes met verschillende waterbeschikbaarheid (Figuur 4.1 (a)). Alle lianensoorten verschilden significant in  $\psi_{s,max}$  tussen deze drie periodes ( $p < 0.05$ ) (Figuur 4.1 (a), met significante verschillen tussen periodes voor dezelfde soort aangegeven met een volle lijn). Bij de metingen uitgevoerd van 11 tot 13 september waren de omstandigheden het droogst (geen regen sinds 20 augustus) en  $\psi_{s,max}$  het meest negatief. In deze periode werden geen significante verschillen tussen soorten waargenomen. Dit ten gevolge van het beperkt aantal gemeten individuen per soort, en de grote gemeten verschillen tussen individuen van dezelfde soort. Hoewel niet significant, waren de verschillen in de gemiddelde  $\psi_{s,max}$  tussen de soorten *Acacia* (-0.96 MPa), en *Cissus* (-0.25 MPa) ( $p = 0.0635$ ) tijdens droogte groot. Tussen 14 en 26 september viel 137 mm neerslag. Dit weerspiegelt zich in een verhoging van  $\psi_{s,max}$  voor alle soorten.  $\psi_{s,max}$  van *Banisteriopsis* (-0.03 MPa) was hier minder negatief ( $p = 0.04$ ) dan  $\psi_{s,max}$  van *Serjania* (-0.08 MPa), maar verschilde niet van *Cissus* en *Cydista*. De  $\psi_{s,max}$ -waarden gemeten op 17 augustus

liggen tussen de waarden gemeten in droge en natte omstandigheden. In deze half-natte omstandigheden (31 mm neerslag gespreid over 14 dagen, na een droogteperiode van 12 dagen) was de droogtestress van *Acacia* ( $\psi_{s,max} = -0.29$  MPa) hoger ( $p = 0.0015$ ) dan die van *Cissus* ( $-0.11$  MPa).

Ook de stamwaterpotentiaal bij maximale lichtinstraling ( $\psi_{s,min}$ ) varieerde met waterbeschikbaarheid (Figuur 4.1 (b), met significante verschillen tussen periodes aangegeven met een volle lijn). In iedere gemeten periode werden de minst negatieve  $\psi_{s,min}$ -waarden steeds gemeten bij *Cissus*. Na vier dagen droogte, op 25 augustus, was  $\psi_{s,min}$  van *Cissus* ( $-0.49$  MPa) significant hoger dan *Cydista* ( $-1.69$  MPa), *Acacia* ( $-1.53$  MPa) en *Serjania* ( $-1.21$  MPa) (met respectievelijk  $p = 0.007$ ,  $p = 0.01$  en  $p = 0.04$ ). Na zes bijkomende dagen van droogte (31 augustus), was  $\psi_{s,min}$  lager voor *Acacia* en *Serjania*, maar niet voor *Cydista* (aangegeven met stippellijn op Figuur 4.1 (b)). Er was echter geen verschil tussen de lianen (*Acacia*, *Cydista*, *Serjania* en *Banisteriopsis*) onderling. Voor elk van deze lianen nam  $\psi_{s,min}$  vervolgens toe doorheen de natte periode. In goed bewaterde toestand werd enkel een verschil gemeten tussen *Acacia* ( $\psi_{s,min} = -1.39$  MPa) en *Cissus* ( $\psi_{s,min} = -0.51$  MPa) ( $p = 0.045$ ).



(a)



(b)

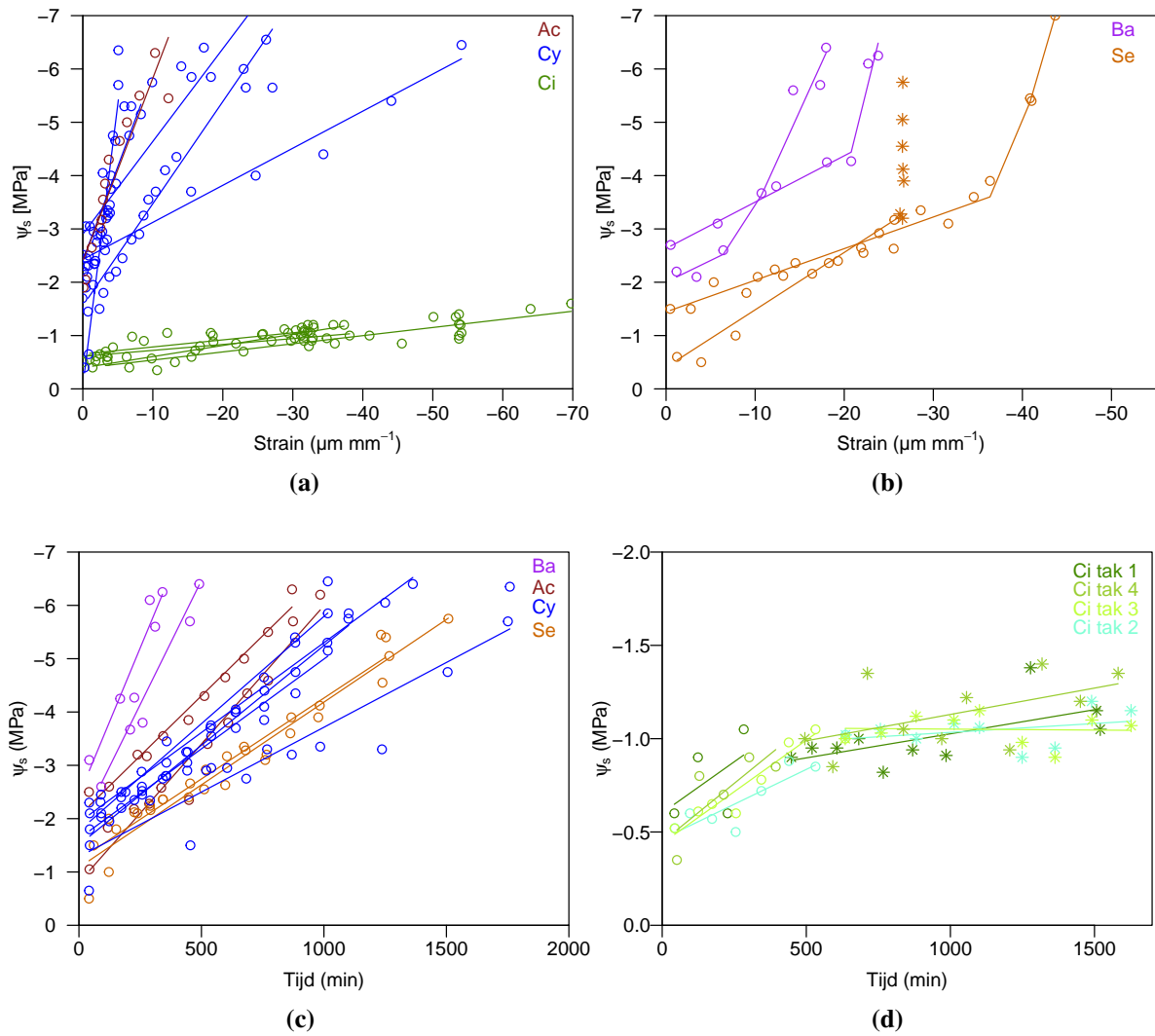
**Figuur 4.1:** Evolutie van (a) de stamwaterpotentiaal voor zonsopgang ( $\psi_{s,max}$ ) en (b) de stamwaterpotentiaal bij maximale lichtinstraling ( $\psi_{s,min}$ ) (met 95% betrouwbaarheidsinterval) van de lianen *Cissus* (Ci), *Serjania* (Se), *Banisteriopsis* (Ba), *Acacia* (Ac) en *Cydista* (Cy) van droge (rode zone) naar natte omstandigheden (blauwe zone). Significante en niet-significante verschillen (Anova, tweezijdige test) tussen periodes voor lianen van dezelfde soort worden aangegeven door respectievelijk volle lijnen en stippellijnen, en verschillen tussen soorten binnen eenzelfde periode worden weergegeven met letters.  $\psi_{s,max}$  en  $\psi_{s,min}$  werden bepaald met behulp van een lineair gemengd regressiemodel.

### 4.3 Stress-strain en de stress-tijd relatie

Figuur 4.2 toont de stress-*strain* relatie, of de relatie tussen de gemeten  $\psi_s$  en de relatieve radiale krimp ten opzichte van de startdiameter of *strain*, voor de verschillende individuele takken van de lianensoorten tijdens uitdroging. Deze relatie was (a) lineair voor *Acacia* (1 tak), *Cydista* (5 takken) en *Cissus* (4 takken), maar (b) gesegmenteerd voor *Serjania* (2 takken) en *Banisteriopsis* (2 takken).  $R^2$ -waarden voor deze relaties waren nooit kleiner dan 0.55 (1 tak van *Cissus*, Tabel 1, Appendix). De gemiddelde schijnbare radiale elasticiteitsmodulus ( $E_r$ ,  $\pm$  de standaarddeviatie) van de lianensoorten wordt weergegeven in Tabel 4.2.

Ondanks grote radiale krimp, daalde  $\psi_s$  bij *Cissus* nooit onder -1.6 MPa. Dit resulteerde in een grote gemiddelde elasticiteit (kleine  $E_r$ ,  $15.2 \pm 4$  MPa) in vergelijking met de andere lianen. Voor *Serjania* ( $E_r$  van  $81.7 \pm 37.2$  MPa naar 410 MPa) en *Banisteriopsis* ( $E_r$  van  $85.2 \pm 5.80$  MPa naar  $527 \text{ MPa} \pm 226 \text{ MPa}$ ) nam de elasticiteit sterk af bij toenemende uitdroging, overeenkomstig met de gesegmenteerde stress-*strain* relatie bij deze soorten. De grote variabiliteit in de stress-*strain* relatie van de verschillende *Cydista* takken (blauw in Figuur 4.2 (a)) zorgde voor een  $E_r$  met grote standaarddeviatie ( $369 \pm 398$  MPa).

De gemiddelde verandering van  $\psi_s$  in functie van de uitdrogingstijd ( $d\psi_s/dt$ ) is weergegeven in Tabel 4.2. Deze relatie was lineair voor *Banisteriopsis*, *Acacia*, *Cydista* en *Serjania* (Figuur 4.2 (c)), waarbij de snelste daling van  $\psi_s$  werd waargenomen bij *Banisteriopsis* ( $-0.58 \pm 0.068 \text{ MPa u}^{-1}$ ) en *Acacia* ( $-0.29 \pm 0.021 \text{ MPa u}^{-1}$ ) ( $R^2$ -waarden in Tabel 1, Appendix).  $\psi_s$  daalde het traagst bij *Cissus* (Figuur 4.2 (d)) en verliep gesegmenteerd over de tijd. In de eerste periode ( $< 600$  min) daalde  $\psi_s$  met  $0.069 \pm 0.035 \text{ MPa u}^{-1}$  hier tot ongeveer -1 MPa. Vervolgens nam de dalende trend af ( $-0.012 \pm 0.0085 \text{ MPa u}^{-1}$ ) en werden grotere variaties in  $\psi_s$  gemeten (aangeduid met ‘\*’ in de figuur).



**Figuur 4.2:** (a)-(b): Evolutie van de stamwaterpotentiaal ( $\psi_s$ ) met toenemende uitdroging ten opzichte van de relatieve radiale krimp (*strain*), waarbij (a) een lineair verband voor de lianen *Cydista* (Cy, n=5), *Cissus* (Ci, n=4) en *Acacia* (Ac, n=1) en (b) een gesegmenteerd verband voor *Banisteriopsis* (Ba, n=2) en *Serjania* (Se, n=2) kon worden vastgesteld. De tijdelijke stabilisatie van de *strain* na het buigpunt (aangeduid met ‘\*’) bij *Serjania* is niet representatief voor het verdere verloop van de stress-*strain* relatie, aangezien de *strain* hierna opnieuw afneemt. (c)-(d): Evolutie van  $\psi_s$  met toenemende uitdroging ten opzichte van de tijd waarbij (c) een lineair verband voor *Banisteriopsis* (n=2), *Acacia* (n=2), *Cydista* (n=5) en *Serjania* (n=2) en (d) een gesegmenteerd verband bij *Cissus* (n=4) werd vastgesteld.  $\psi_s$ -metingen na het buigpunt bij *Cissus* tonen een grote variatie en zijn aangeduid met ‘\*’.

**Tabel 4.2:** Gemiddelde schijnbare radiale elasticiteitsmodulus ( $E_r$ ) met eventuele locatie van het buigpunt (Bgpt) en de verandering van de stamwaterpotentiaal over tijd ( $d\psi_s/dt$ ) ( $\pm$  standaarddeviatie) van de lianen *Acacia*, *Cydista*, *Cissus*, *Banisteriopsis* en *Serjania*, berekend als de gemiddelde helling van respectievelijk het stress-*strain* en stress-tijd verband van de individuele takken van deze soorten. Voor de gesegmenteerde relaties bij *Banisteriopsis* en *Serjania* (stress-*strain*) en *Cissus* (stress-tijd) werden twee waarden berekend, een voor en een na het buigpunt.

	<i>Acacia</i>	<i>Cydista</i>	<i>Cissus</i>		<i>Banisteriopsis</i>		<i>Serjania</i>	
$E_r$ [MPa]	343	369 $\pm$ 398	15.2 $\pm$ 4		85.2 $\pm$ 5.80	527.5 $\pm$ 226	81.7 $\pm$ 37.2	410
Bgpt [- $\mu$ m/mm]					14.43 $\pm$ 9.02		32.04 $\pm$ 8.31	
$d\psi_s/dt$ [-MPa u <sup>-1</sup> ]	0.29 $\pm$ 0.021	0.21 $\pm$ 0,040	0.069 $\pm$ 0.035	0.012 $\pm$ 0.0085	0.58 $\pm$ 0.068		0.19 $\pm$ 0.0085	



## 4.4 Hydraulische veiligheid

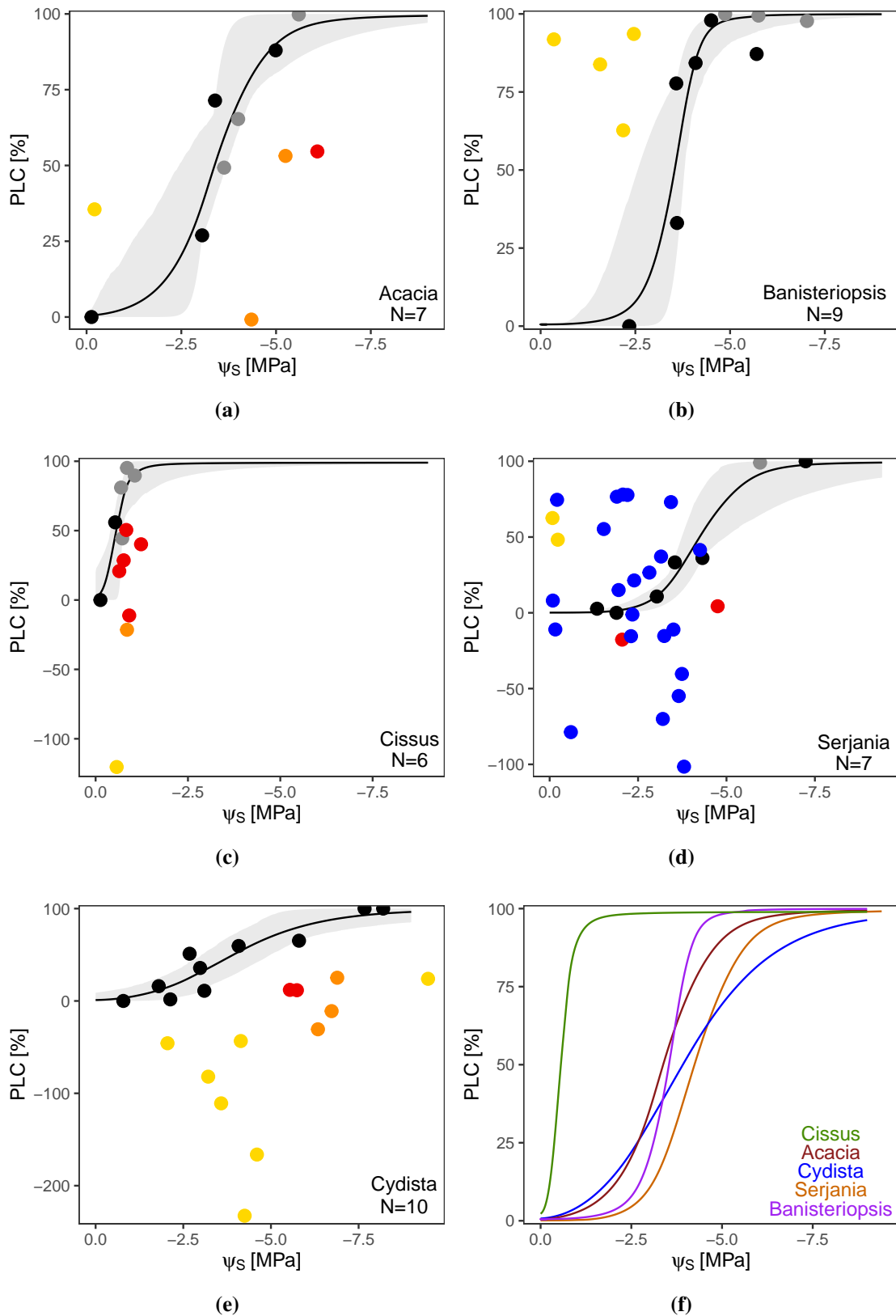
### 4.4.1 Hydraulische veiligheid op takniveau: PLC-methode

Vatbaarheidscurves (VC) en het gemeten geleidingsverlies (PLC) zijn weergegeven in Figuur 4.3. Door de onbetrouwbaarheid van meetpunten ten gevolge van (eventuele) bubbelvorming of negatieve PLC, werden de curves bepaald op basis van de zwarte en grijze punten. Grijze punten werden ondanks (eventuele) bubbelvorming toch gebruikt voor constructie van de VC, en geven dus mogelijk een onderschatting van de PLC. De grijze punten gelegen bij een PLC boven 88% geven zeker een onderschatting, aangezien hier effectief luchtbellens werden waargenomen. Bij grijze punten met een PLC onder 88%, bestaat slechts de mogelijkheid van bubbelvorming en PLC-onderschatting. Hoewel bij deze metingen niet werd gelet op eventuele aanwezigheid van luchtbellens, kunnen deze bij de overeenkomstige  $\psi_s$ -waarden zeker voorkomen, aangezien luchtbellens reeds bij minder negatieve  $\psi_s$  werden waargenomen bij andere taksegmenten. Bij zwarte meetpunten werden geen luchtbellens waargenomen of, indien er niet werd gelet op de aanwezigheid van luchtbellens, vond de meting plaats bij een  $\psi_s$  hoger dan de minst negatieve  $\psi_s$  ( $\psi_{s,krit}$ ) waar reeds luchtbellens werden waargenomen bij deze soort.

Voor alle soorten werd een sigmoïdale trend van toenemende PLC met dalende  $\psi_s$  waargenomen. Hiermee wordt aangetoond dat lianen beschikten over een veiligheidszone waar embolismevorming wordt vermeden (sectie 2.2.2). Vergelijking van de soorten onderling leert dat *Cissus* (Figuur 4.3 (c)) over de laagste hydraulische veiligheid beschikt, en reeds volledig geëmboliseerd is ( $\psi_{s,88}$ ) bij -0.94 MPa (Tabel 4.3). *Serjania* (Figuur 4.3 (d)) en *Cydista* (Figuur 4.3 (e)) werden gekenmerkt door de hoogste hydraulische veiligheid met  $\psi_{s,50}$ -waarden van respectievelijk -4.23 en -3.92 MPa. Het verschil met *Banisteriopsis* ( $\psi_{s,50} = -3.54$  MPa) (Figuur 4.3 (b)) en *Acacia* ( $\psi_{s,50} = -3.38$  MPa) (Figuur 4.3 (a)) is echter niet zo groot.

De curve van *Cydista* vertoont een gradueel verloop. Dit leidt tot een groot verschil in  $\psi_s$  (4.91 MPa) tussen het moment van aanvang en het moment van volledige embolismevorming (d. i.  $\psi_{s,12-88}$ , Tabel 4.3). Dit in tegenstelling tot de eerder steile curve van *Banisteriopsis* ( $\psi_{s,12-88} = 1.44$  MPa) en *Cissus* ( $\psi_{s,12-88} = 0.68$  MPa)

De curves moeten echter, gezien de vele inconsistente meetpunten (gele punten in Figuur 4.3), met voorzichtigheid worden benaderd. Zo werden zowel hoge (*Banisteriopsis*, *Serjania* en *Acacia*) als lage (*Cissus* en *Cydista*) afwijkende PLC-waarden geregistreerd. Bij *Cissus* werden bij veel metingen (n=5) luchtbellens waargenomen (rode punten in Figuur 4.3), mogelijk omwille van de grote, wijde vaten die makkelijk hervullen met water onder druk. Bij *Serjania* werden reeds bij -0.05 (oudere tak) en -2.5 MPa luchtbellens gemerkt. Daarom werd geen enkele meting die werd uitgevoerd voor er werd gelet op de aanwezigheid van bellens (blauwe punten in Figuur 4.3 (d)), gebruikt voor de constructie van de VC van *Serjania*.

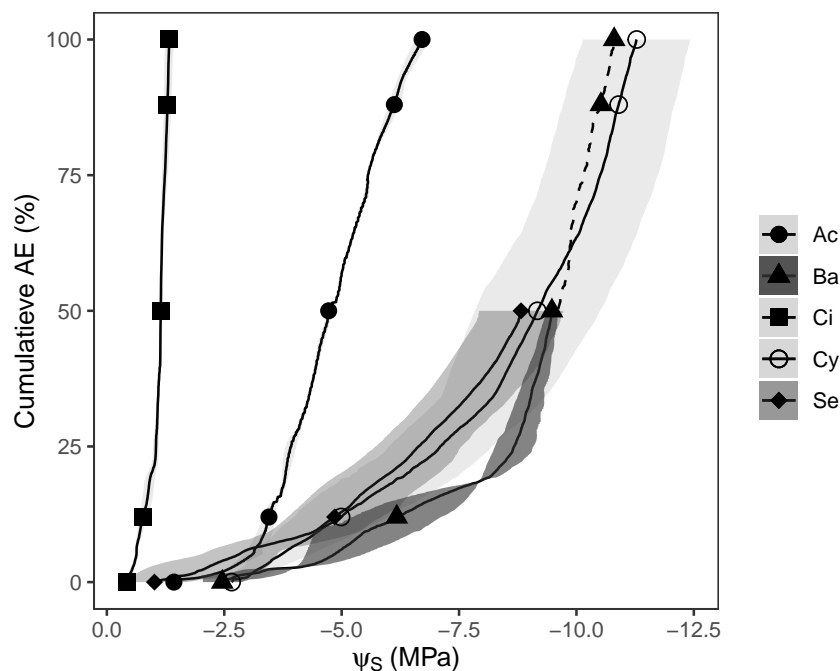


**Figuur 4.3:** Vatbaarheidscurves (VC's) verkregen met de PLC-methode van de lianen (a) *Acacia*, (b) *Banisteriopsis*, (c) *Cissus*, (d) *Serjania* en (e) *Cydista*, en (f) van alle lianen samen. De curves werden opgesteld op basis van de zwarte en grijze punten (som van deze punten =N). Grijze punten duiden op effectieve (PLC > 88%) of eventuele (PLC < 88%) onderschatting van de bekomen PLC-waarden, bij zwarte punten wordt echter geen onderschatting verwacht. In 95% van de simulaties lag de geschatte curve binnen de grijze zone. De rode (metingen met luchtballen), oranje (metingen met een vermoeden van luchtballen) en gele (afwijkende waarden) punten werden niet meegenomen in de bepaling van de VC, maar worden getoond om de grote variabiliteit van de metingen te illustreren.

#### 4.4.2 Hydraulische veiligheid op takniveau: AE-methode

De gemiddelde VC's van de lianen, gemeten met de akoestische emissie (AE) methode ( $VC_{AE}$ ), zijn weergegeven in Figuur 4.4. Bij alle soorten werd een veiligheidszone waargenomen. De laagste hydraulische veiligheid werd waargenomen bij *Cissus* met reeds 50% cumulatieve AE bij  $-1.15 \pm 0.03$  MPa ( $=\psi_{s,AE50}$ , Tabel 4.3). Een hoge en gelijkwaardige hydraulische veiligheid werd gemeten bij de lianen *Serjania* ( $\psi_{s,AE50} = -8.82 \pm 0.90$  MPa), *Cydista* ( $\psi_{s,AE50} = 9.17 \pm 1.19$  MPa) en *Banisteriopsis* ( $\psi_{s,AE50} = -9.48 \pm 0.13$  MPa), terwijl *Acacia* ( $\psi_{s,AE50} = -4.72 \pm 0.08$  MPa) een tussenliggende vatbaarheid voor embolismevorming vertoonde in vergelijking met de overige lianen. Bij *Serjania*, *Cydista* en *Banisteriopsis* werd een groot  $\psi_s$ -verschil gemeten tussen de eerste duidelijk waarneembare toename in AE-activiteit ( $\psi_{s,AEa}$ ) en  $\psi_{s,AE50}$  (Tabel 4.3).

Net als bij de PLC-methode werd bij *Cydista* een groot  $\psi_s$ -verschil tussen begin en einde van embolismevorming ( $\psi_{s,AE12-88}$ , Tabel 4.3) vastgesteld ( $5.91 \pm 1.55$  MPa), en kent de curve van *Cissus* ( $\psi_{s,AE12-88} = 0.52 \pm 0.08$  MPa) een steil verloop. Cumulatieve AE van *Banisteriopsis* nemen toe in twee stappen. Een eerste stijging vindt reeds plaats rond -5 MPa, waarna een tweede, sterke toename volgt rond -9 MPa. Voor het tweede deel van deze *Banisteriopsis*-curve (50 - 100% AE) kon echter geen gemiddelde worden bepaald, aangezien slechts één volledige  $VC_{AE}$  kon worden opgesteld.

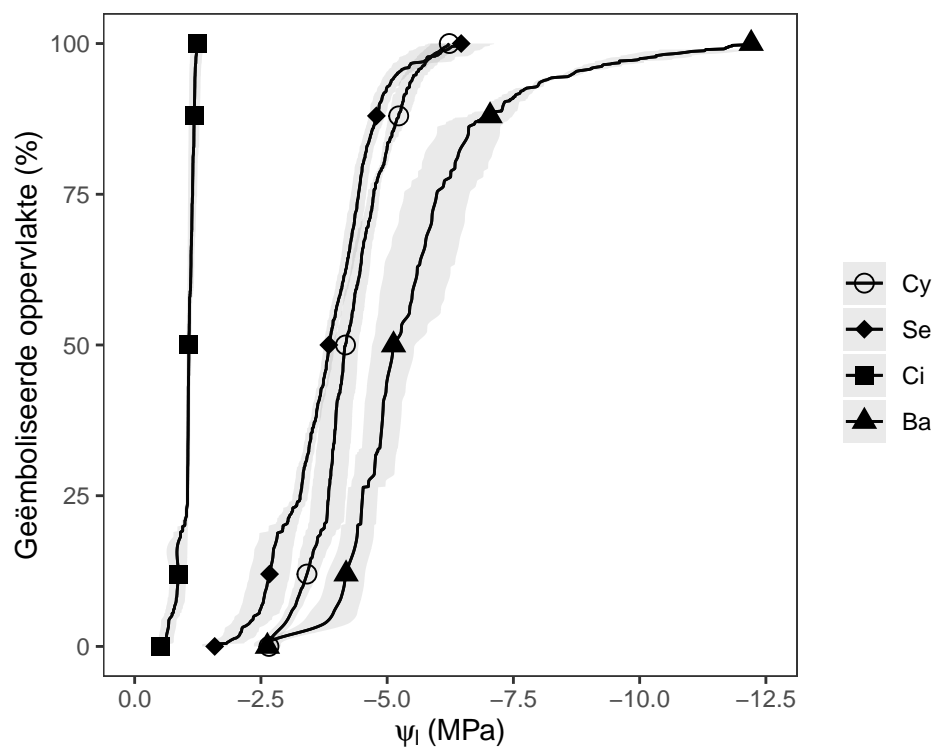


**Figuur 4.4:** Gemiddelde vatbaarheidscurve op basis van de akoestische emissie (AE) methode ( $VC_{AE}$ ) van de lianen *Acacia* (Ac, n=2), *Banisteriopsis* (Ba, n=2), *Cissus* (Ci, n=4), *Cydista* (Cy, n=4) en *Serjania* (Se, n=2). Indien mogelijk is de standaarddeviatie (grijze marge) aangegeven, en gemarkeerde punten geven van onder naar boven de locatie van de stamwaterpotential met 0, 12%, 50%, 88% en 100% AE-signalen (respectievelijk  $\psi_{s,AE0}$ ,  $\psi_{s,AE12}$ ,  $\psi_{s,AE50}$ ,  $\psi_{s,AE88}$  en  $\psi_{s,AE100}$ ). Voor *Serjania* en *Banisteriopsis* kon slechts een gemiddelde curve tot 50% cumulatieve AE-signalen worden opgesteld. Het vervolg van de curve van *Banisteriopsis* (50-100% AE, stippellijn) is slechts gebaseerd op 1 tak.

### 4.4.3 Hydraulische veiligheid op bladniveau: OV-methode

Figuur 4.5 toont de gemiddelde VC's van de lianen op bladniveau, opgesteld met de optische (OV) methode ( $VC_{opt}$ ). Alle curves kennen een sigmoïdaal verloop. *Cissus* heeft op bladniveau de laagste hydraulische veiligheid met reeds 50% geëmboliseerde vat-oppervlakte bij een bladwaterpotentiaal ( $\psi_1$ ) gelijk aan  $-1.07 \pm 0.05$  MPa ( $=\psi_{1,A50}$ , Tabel 4.3). *Serjania* ( $\psi_{1,A50} = -3.85 \pm 0.11$  MPa) en *Cydista* ( $\psi_{1,A50} = -4.18 \pm 0.26$  MPa) vertonen een gelijkwaardige embolisme-resistentie op bladniveau, terwijl *Banisteriopsis* het minst vatbaar bleek voor blad-embolismen ( $\psi_{1,A50} = -5.13 \pm 0.42$  MPa). De  $\psi_s$  waarbij het eerste blad-embolisme werd waargenomen ( $\psi_{1,A1}$ ) bleek bij alle soorten sterk variabel te zijn (grote standaarddeviatie, Tabel 4.3).

Geëmboliseerde vat-oppervlakte nam bij *Banisteriopsis* meer gestaag toe in vergelijking met de andere lianen, en dit uit zich in een groot verschil in  $\psi_1$  tussen de start en het einde van embolismevorming ( $\psi_{1,A12-88} = 2.85 \pm 0.58$  MPa, Tabel 4.3). De  $VC_{opt}$  van *Cissus* werd daarentegen gekenmerkt door een zeer steil verloop en kleine  $\psi_{1,A12-88}$  ( $0.32 \pm 0.20$ ).



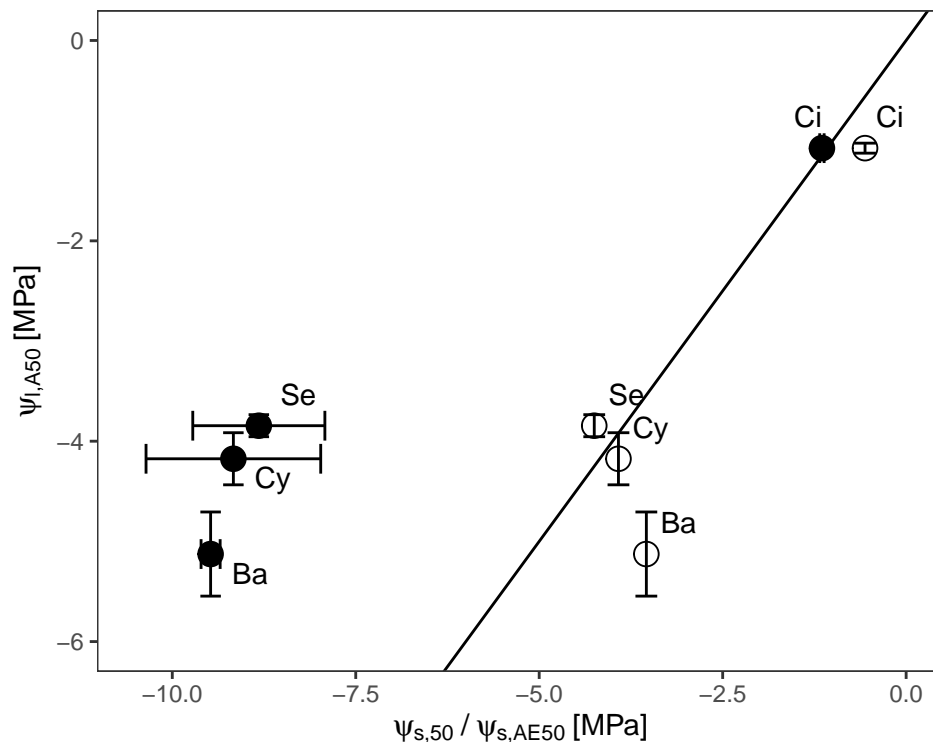
**Figuur 4.5:** Gemiddelde vatbaarheidscurve op basis van de optische methode ( $VC_{opt}$ ) met aanduiding van de standaarddeviatie (grijze marge) van de lianen *Cydista* (Cy, n=6) en *Serjania* (Se, n=6), *Cissus* (Ci, n=5) en *Banisteriopsis* (Ba, n=4), en gemarkeerde punten geven van onder naar boven de locatie van de bladwaterpotentiaal met 0, 12%, 50%, 88% en 100% geëmboliseerde vat-oppervlakte in het blad (respectievelijk  $\psi_{1,A0}$ ,  $\psi_{1,A12}$ ,  $\psi_{1,A50}$ ,  $\psi_{1,A88}$  en  $\psi_{1,A100}$ ).

**Tabel 4.3:** Hydraulische veiligheid van de lianen *Cissus* (Ci), *Acacia* (Ac), *Serjania* (Se), *Banisteriopsis* (Ba) en *Cydista* (Cy) aan de hand van veiligheid-indicatoren (gemiddelde  $\pm$  standaarddeviatie) (met  $\psi_{12}$ ,  $\psi_{50}$ ,  $\psi_{88}$  de stam- ( $\psi_s$ ) of bladwaterpotentiaal ( $\psi_l$ ) bij respectievelijk 12%, 50% en 88% embolismevorming en  $\psi_{12-88}$  het potentiaalverschil tussen  $\psi_{12}$  en  $\psi_{88}$ ) zoals verkregen op takniveau met de PLC ( $\psi_s$ ) en AE-methode ( $\psi_{s,AE}$ ), en op bladniveau met de OV-methode ( $\psi_{l,A}$ ).  $\psi_{s,AEa}$  en  $\psi_{l,A1}$  geven respectievelijk de  $\psi_s$  bij de eerste duidelijk waarneembare toename in akoestische emissie (AE) activiteit en de  $\psi_l$  bij waarneming van het eerste embolisme in het blad aan.

Soort	$\psi_{s,AEa}$	$\psi_{l,A1}$	$\psi_{s,12}$	$\psi_{s,AE12}$	$\psi_{l,A12}$	$\psi_{s,50}$	$\psi_{s,AE50}$	$\psi_{l,A50}$	$\psi_{s,88}$	$\psi_{s,AE88}$	$\psi_{l,A88}$	$\psi_{s,12-88}$	$\psi_{s,AE12-88}$	$\psi_{l,A12-88}$
	[-MPa]													
<i>Ci</i>	0.63 $\pm$ .06	0.63 $\pm$ .44	0.26	0.77 $\pm$ .08	0.86 $\pm$ .16	0.56	1.15 $\pm$ .03	1.07 $\pm$ .050	0.94	1.29 $\pm$ .08	1.18 $\pm$ .11	0.68	0.52 $\pm$ .08	0.32 $\pm$ .20
<i>Ac</i>	2.81 $\pm$ .19		2.08	3.45 $\pm$ .12		3.38	4.72 $\pm$ .08		4.82	6.12 $\pm$ .12		2.74	2.67 $\pm$ .16	
<i>Se</i>	3.45 $\pm$ .13	2.18 $\pm$ .69	3.1	4.85 $\pm$ 1.00	2.67 $\pm$ .40	4.23	8.82 $\pm$ .90	3.85 $\pm$ .11	5.62		4.79 $\pm$ .16	2.52		2.12 $\pm$ .43
<i>Ba</i>	3.88 $\pm$ .08	3.65 $\pm$ 1.00	2.72	6.17 $\pm$ .94	4.19 $\pm$ .37	3.54	9.48 $\pm$ .13	5.13 $\pm$ .42	4.16	10.52	7.04 $\pm$ .45	1.44	4.35	2.85 $\pm$ .58
<i>Cy</i>	3.24 $\pm$ .77	3.41 $\pm$ .86	1.86	4.99 $\pm$ .99	3.41 $\pm$ .21	3.92	9.17 $\pm$ 1.19	4.18 $\pm$ .26	6.77	10.90 $\pm$ 1.14	5.23 $\pm$ .19	4.91	5.91 $\pm$ 1.55	1.82 $\pm$ .28

## 4.5 Vergelijking van de hydraulische veiligheid tussen tak- en bladniveau

De verhouding van de hydraulische veiligheid op tak- en bladniveau wordt weergegeven in Figuur 4.6 voor zowel AE-signalen ( $\psi_{s,AE50}$ , gesloten cirkels) als PLC ( $\psi_{s,50}$ , open cirkels). De relatieve positie ten opzichte van de 1:1-lijn duidt op een hogere hydraulische veiligheid op takniveau (links van deze lijn), dan wel bladniveau (rechts van deze lijn). Voor alle soorten behalve *Cissus* ligt de hydraulische veiligheid van blad en tak dicht bij elkaar indien gemeten wordt met de PLC-methode. *Cissus* en *Banisteriopsis* vertonen zelfs, bij gebruik van  $\psi_{s,50}$ , een hogere hydraulische veiligheid in het blad dan in de tak. Een verschuiving van deze verhouding van de hydraulische veiligheid op tak- en bladniveau vindt plaats indien het punt van 50% embolismevorming wordt bepaald volgens de AE-methode. In dat geval vertonen alle soorten, met uitzondering van *Cissus*, een sterk verhoogde hydraulische veiligheid van de tak in vergelijking met het blad.



**Figuur 4.6:** Vergelijking van de hydraulische veiligheid op bladniveau (uitgedrukt door  $\psi_{1,A50}$  of de bladwaterpotentiaal met 50% geëmboliseerde vat-oppervlakte in het blad) en de hydraulische veiligheid op takniveau bepaald met PLC (open cirkels en uitgedrukt door  $\psi_{s,AE50}$  of de stamwaterpotentiaal met 50% PLC) of AE-signalen (gesloten cirkels en uitgedrukt door  $\psi_{s,AE50}$  of de stamwaterpotentiaal met 50% AE-signalen) van de lianen *Cissus* (Ci), *Serjania* (Se), *Cydista* (Cy) en *Banisteriopsis* (Ba). Horizontale en verticale foutbalken geven de standaarddeviatie weer van de gemiddeldes van respectievelijk  $\psi_{s,AE50}$  en  $\psi_{1,A50}$ .

## 4.6 Veiligheidsmarge en effectieve droogtestress

Vergelijking van de curves zoals bepaald volgens PLC, AE en OV met  $\psi_s$  gemeten in het veld, schetst een beeld van de reële droogtestress en embolismevorming van lianen gedurende de meetcampagne in augustus en september 2019. Dit niveau van droogtestress kan worden beschreven als de veiligheidsmarge (VM), en wordt gedefinieerd als het verschil tussen de meest negatieve gemeten  $\psi_{s,\min}$  en de  $\psi_{50}$  zoals gemeten met de PLC ( $VM_{\text{PLC}}$ ) of de AE-methode ( $VM_{\text{AE}}$ ). In-situ embolismevorming van lianen in de maanden augustus en september kan worden ingeschat door rechtstreekse afleiding van het met de meest negatieve  $\psi_{s,\min}$  corresponderend embolisme-percentages op de VC ( $PLC_v$ ) of  $VC_{\text{AE}}$  ( $AE_v$ ). De VM's,  $PLC_v$  en  $AE_v$  worden voor alle soorten weergegeven in Tabel 4.4.

Door de sterk negatieve  $\psi_{s,\text{AE}50}$  is de  $VM_{\text{AE}}$  van lianen steeds groter dan de  $VM_{\text{PLC}}$ . Zowel met PLC als de AE werden de kleinste marges steeds vastgesteld bij *Cissus* en *Acacia*, met een  $VM_{\text{PLC}}$  van respectievelijk 0.043 en 0.88 MPa, en  $VM_{\text{AE}}$  gelijk aan respectievelijk  $0.63 \pm 0.13$  en  $2.22 \pm 0.19$  MPa.  $PLC_v$  doet een dagelijks voorkomen van embolismevorming bij de onderzochte lianen in het veld vermoeden, aangezien hoge waarden werden gemeten bij *Cissus*, *Acacia*, *Banisteriopsis* en *Cydista* (met  $PLC_v$  respectievelijk 44.08%, 20.17%, 14.64% en 12.2%). Bij implementatie van de  $VC_{\text{AE}}$  wordt echter een ander beeld geschetst. Door de hoge hydraulische veiligheid vastgesteld bij deze methode, werd embolismevorming in het veld in de maanden augustus en september tot nul herleid ( $AE_v$ ).

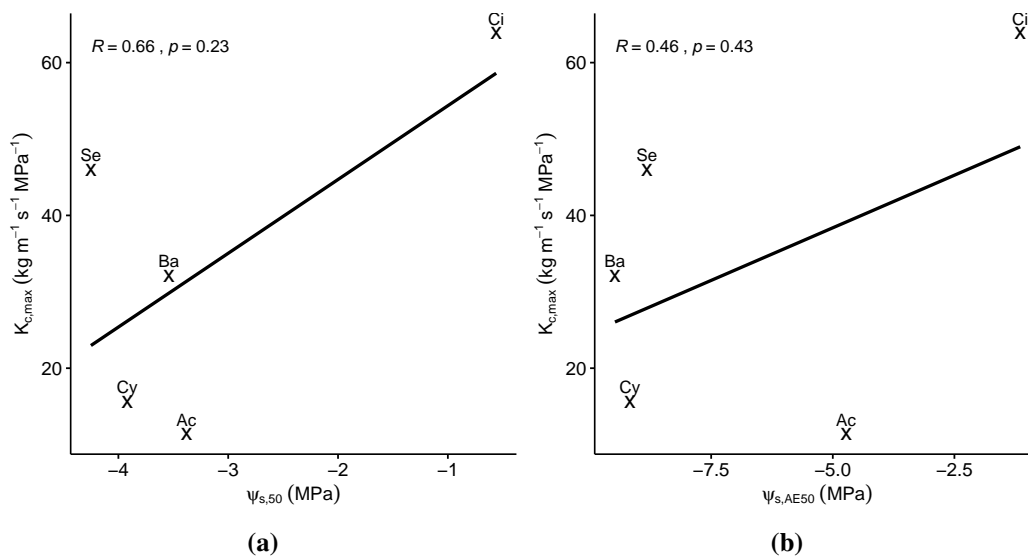
Door de  $VC_{\text{opt}}$ 's en overeenkomstige  $\psi_{l,\text{A}50}$ , bepaald met de OV-methode, te vergelijken met de gemeten  $\psi_l$  bij maximale lichtinstraling ( $\psi_{l,\min}$ ) kan de VM ( $VM_A$ ) en embolismevorming ( $A_v$ ) in het blad worden ingeschat (Tabel 4.4).  $VM_A$ 's verschilden onderling tussen de soorten *Cissus*, *Serjania* en *Banisteriopsis* (met  $VM_A$  respectievelijk gelijk aan 0.443, 1.68 en 2.82 MPa), maar geen enkele van deze soorten kreeg te kampen met blad-embolismen ( $A_v$  respectievelijk gelijk aan 1.9%, 3.3% en 0%). Deze resultaten moeten echter met voorzichtigheid worden behandeld, aangezien  $\psi_{l,\min}$ -metingen slechts eenmalig en op een enkel individu werden uitgevoerd. Voor *Cydista* kon geen  $VM_A$  en  $A_v$  worden bepaald, aangezien bij deze soort geen  $\psi_{l,\min}$ -metingen werden uitgevoerd.

**Tabel 4.4:** In combinatie met de meest negatieve stamwaterpotentiaal en bladwaterpotentiaal bij maximale lichtinstraling (respectievelijk  $\psi_{s,\min}$  en  $\psi_{l,\min}$ ) gemeten gedurende de meetcampagne (augustus en september 2019), kan een uitspraak worden gedaan over de reële kwetsbaarheid van de lianen in deze periode, i.e. de veiligheidsmarge en embolismevorming van lianen in het veld op takniveau volgens PLC (respectievelijk VM en PLC<sub>v</sub>) en akoestische emissie (AE) signalen (respectievelijk VM<sub>AE</sub> en AE<sub>v</sub>), en op bladniveau volgens optische vatbaarheid (OV) (respectievelijk VM<sub>A</sub> en A<sub>v</sub>).

Soort	$\psi_{s,\min}$	$\psi_{l,\min}$	VM <sub>PLC</sub>	VM <sub>AE</sub>	VM <sub>A</sub>	PLC <sub>v</sub>	AE <sub>v</sub>	A <sub>v</sub>
	[-MPa]		[MPa]			[%]		
<i>Ci</i>	0.52	0.55	0.043	0.63 ±.13	0.443	44.08	1.9	1.9
<i>Ac</i>	2.5		0.88	2.22 ±.19		20.17	2.1	
<i>Se</i>	1.88	2.17	2.35	6.94 ±.90	1.68	1.35	1.7	3.3
<i>Ba</i>	2.21	2.31	1.33	7.27 ±.21	2.82	14.64	0	0
<i>Cy</i>	1.88		2.04	7.29 ±1.34		12.2	0	

## 4.7 Hydraulische geleidbaarheid en veiligheid

Geen significant verband werd gevonden tussen de hydraulische geleidbaarheid van de referentietak gebruikt bij de PLC-methode ( $K_{c,\max}$ ) en  $\psi_{s,50}$  ( $p=0.23$ ) (Figuur 4.7 (a)) of  $\psi_{s,AE50}$  ( $p=0.43$ ) (Figuur 4.7 (b)). De hoogste en laagste  $K_{c,\max}$ -waarden werden vastgesteld bij respectievelijk *Cissus* en *Acacia*.



**Figuur 4.7:** Het verband tussen de hydraulische geleidbaarheid van de referentietak gebruikt bij de PLC-methode ( $K_{c,\max}$ ) en de stamwaterpotentiaal waarbij (a) 50% PLC ( $\psi_{s,50}$ ) en (b) 50% AE-signalen ( $\psi_{s,AE50}$ ) voor de lianen *Acacia* (*Ac*), *Serjania* (*Se*), *Cydista* (*Cy*), *Banisteriopsis* (*Ba*) en *Cissus* (*Ci*), met aanduiding van de Pearson correlatiecoëfficiënt en de p-waarde.



# Hoofdstuk 5

## Discussie

### 5.1 Droogtestress bij lianen

#### 5.1.1 In-situ droogtestress

Stamwaterpotentiaalmetingen voor zonsopgang ( $\psi_{s,max}$ ) tonen de droogtestress van de plant en geven een indicatie van het nachtelijk recuperatievermogen van de waterverliezen overdag (Donovan *et al.*, 1999). Gedurende de meest droge periode in de maanden augustus en september (11-13 september) werden, ondanks onderlinge verschillen in gemeten  $\psi_{s,max}$ -waarden, geen significante verschillen in droogtestress tussen de lianensoorten opgemerkt (Figuur 4.1 (a)). Dit kan echter worden toegeschreven aan het kleine aantal gemeten individuen per soort (N=2), en de grote verschillen tussen deze individuen. Onder semi-natte omstandigheden (17 augustus, N=3) kon wel een verschil (0.18 MPa) worden gemeten in het niveau van droogtestress in *Acacia* in vergelijking met *Cissus*. Met toenemende droogte nam dit verschil in  $\psi_{s,max}$  toe tot 0.71 MPa (13 september). De beperkte daling van  $\psi_{s,max}$  van *Cissus* gedurende een droogteperiode van 22 dagen (0.13 MPa, 20 augustus - 11 september), kan mogelijk worden verklaard door de hoge interne waterreserves, die visueel (bij het doorsnijden van een tak) konden worden vastgesteld. Bovendien werd bij deze soort reeds de aanwezigheid van slijmstoffen aangetoond (Angeles en Leon-Gomez, 1997), waardoor *Cissus* zijn interne waterreserves, gebonden aan deze slijmstoffen, beter kan vasthouden (Wang *et al.*, 1994).

De grote beschikbaarheid aan interne waterreserves bij *Cissus* maakt het mogelijk om de stamwaterpotentiaal bij maximale lichtinstraling ( $\psi_{s,min}$ ) hoog te houden (Figuur 4.1 (b)). De aanwezigheid van een significant verschil in  $\psi_{s,min}$  tussen *Cissus* en de overige lianensoorten na vier dagen droogte (25 augustus), maar niet in goed bewaterde toestand (met uitzondering van *Cydista*, eind september), laat vermoeden dat *Cissus* over het vermogen beschikt om  $\psi_{s,min}$  onder droogte stabiel te houden. Er werden bij *Cissus* echter geen  $\psi_{s,min}$ -metingen uitgevoerd onder nog drogere omstandigheden (31 augustus), waardoor deze hypothese niet verder kan worden getest.

De grote hoeveelheid neerslag (137 mm van 14 tot en met 26 september) verklaart de hoge

$\psi_{s,max}$ -waarden en dus goed bewaterde toestand bij alle soorten eind september (Figuur 4.1 (a)). Onder deze omstandigheden kunnen verschillen in  $\psi_{s,min}$  (Figuur 4.1 (b)) niet worden verklaard door verschillen in structurele droogtestress, maar wel door verschillen in watergebruikstrategie tussen soorten. Verschillende watergebruikstrategieën bij lianen werden reeds eerder aangetoond in het *Estación experimental y forestal de Horizontes* (Werden *et al.*, 2018), aangezien lianen werden gekenmerkt door grote onderlinge verschillen in de dagelijkse variatie van de bladwaterpotentiaal (d.i. het verschil van de bladwaterpotentiaal bij zonsopgang en maximale lichtinstraling,  $\Delta\psi_1$ ). Hoewel er tussen beide studies geen overlap is van lianensoorten, ondersteunt Figuur 4.1 (b) de hypothese dat lianen een continuüm van watergebruikstrategieën hanteren, van isohydrisch (*Cissus*) tot anisohydrisch (*Acacia* en *Cydista*). Behalve eventuele verschillen in stomatale regulatie, zou de sterk negatieve  $\psi_{s,min}$  in goed bewaterde omstandigheden bij *Acacia* en *Cydista* ook kunnen duiden op kleine interne waterreserves en geassocieerde capaciteit, al dan niet in combinatie met een lage hydraulische geleidbaarheid (K).

### 5.1.2 Gedrag van lianen onder uitdroging: stress-strain en de stress-tijd relatie

Een hoge elasticiteit of kleine radiale elasticiteitsmodulus ( $E_r$ ) maakt een grote wateropslag in de tak mogelijk (Lambers *et al.*, 2008). Deze interne waterreserves dragen bij tot de hydraulische capaciteit, of de hoeveelheid vrijgegeven water uit interne waterreserves per eenheid  $\psi_s$ -daling (Holbrook, 1995). Dit betekent dat de afname in  $\psi_s$  per hoeveelheid waterverlies, gekarakteriseerd door de *strain* (Figuur 4.2 (a-b)), of per eenheid van uitdrogingstijd (Figuur 4.2 (c-d)) kan worden beperkt.

Voor *Cissus* blijkt de relatie tussen  $\psi_s$  en de uitdrogingstijd gesegmenteerd, waarbij deze liaan er in slaagde om  $\psi_s$  constant te houden rond -1 MPa met toenemende uitdrogingstijd (Figuur 4.2 (d)). Ondanks een gesegmenteerde stress-tijd relatie, werd geen gesegmenteerd verband waargenomen bij de stress-strain relatie voor *Cissus*. Dit is mogelijk een gevolg van de sterke diameterkrimp vastgesteld bij de start van de uitdroging (met een snelle afname van  $\psi_s$ ), en de afname van de krimp bij toenemende droogtestress (met een relatief constante  $\psi_s$ ), en impliceert dat *Cissus* zijn waterverlies kan beperken onder lange periodes van droogte. Mogelijk speelt de aanwezigheid van slijmstoffen hierin een bepalende rol (Wang *et al.*, 1994). Beperking van waterverlies ging bovendien gepaard met een toenemende variabiliteit in de  $\psi_s$ -metingen in het tweede deel van deze gesegmenteerde tijd-stress curve (metingen aangeduid met ‘\*’ in Figuur 4.2 (d)). Een mogelijke verklaring hiervoor is de herverdeling van water in de plant. Door bladeren selectief af te sluiten van de waterstroom waarna ze worden afgestoten van de tak, kan het waterverlies worden beperkt (Epila *et al.*, 2017). Hoewel alle onderzochte lianensoorten bladverliezend zijn gedurende het droogseizoen, werd bladverlies tijdens het uitdrogen van de tak enkel bij *Cissus* waargenomen. De  $E_r$  vastgesteld bij *Cissus* ( $15.2 \pm 4$  MPa, Tabel 4.2) is vergelijkbaar met de  $E_r$  vastgesteld bij *Maesopsis eminii*, een Afrikaanse boomsoort die ook gebruik maakt van herverdeling van water

om uitdroging te voorkomen (Epila *et al.*, 2017). De grotere elasticiteit en kleinere afname van  $\psi_s$  met toenemende uitdrogingstijd ( $d\psi_s/dt$ ) bij *Cissus* in vergelijking met de overige lianensoorten (Tabel 4.2), is een bevestiging van de visueel vastgestelde grote interne waterreserves, en is in overeenstemming met de relatief hoge  $\psi_{s,max}$  en  $\psi_{s,min}$  gemeten bij deze soort.

De laagste elasticiteiten werden gemeten in *Cydista* ( $E_r = 369 \pm 398$  MPa), *Acacia* ( $E_r = 343$  MPa) en *Banisteriopsis* ( $E_r = 527.5 \pm 226$  MPa na het buigpunt), en geven beperkte interne waterreserves bij deze soorten aan (Tabel 4.2). Grote variabiliteit in  $E_r$ -waarden werd echter waargenomen tussen de *Cydista* takken. Eliminatie van de tak met de uiterste  $E_r$ -waarde (1058 MPa) verhoogt de gemiddelde elasticiteit van deze soort sterk ( $E_r = 197 \pm 117$  MPa). De beperkte interne waterreserves bij *Acacia* en *Banisteriopsis* vertalen zich in een grote  $d\psi_s/dt$ , en dit voornamelijk bij *Banisteriopsis* ( $-0.58$  MPa  $u^{-1}$ , Tabel 4.2). Vergelijking van  $\psi_{s,min}$ -waarden gemeten in de droge periode (31 augustus- 1 september, Figuur 4.1 (b)) bevestigt het water-afhankelijke karakter van de soorten *Banisteriopsis*, *Acacia* en *Cydista*. De relatief hoge  $\psi_{s,max}$  gemeten na 24 droge dagen (13 september, Figuur 4.1 (a)) bij *Banisteriopsis* toont echter het grote recuperatievermogen van deze soort. Dit zou mogelijk het gevolg kunnen zijn van een extensief en/of diep wortelstelsel, een eigenschap die, hoewel niet kenmerkend (De Deurwaerder *et al.*, 2018), evenwel lijkt voor te komen bij sommige lianensoorten (Restom en Nepstad, 2004; Andrade *et al.*, 2005).

De elasticiteit van *Serjania* is vergelijkbaar met *Banisteriopsis* voor het buigpunt, maar het buigpunt valt voor *Serjania* pas na sterke relatieve krimp (Figuur 4.2, Tabel 4.2). Dit impliceert dat *Serjania* meer interne waterreserves kan vrijgeven zonder  $\psi_s$  sterk te laten dalen. Deze vaststelling, in combinatie met waarden voor  $d\psi_s/dt$ ,  $\psi_{s,max}$  en  $\psi_{s,min}$  gelegen tussen eerder besproken extremen, doet een eerder gemiddelde beschikbaarheid van interne waterreserves en hydraulische capaciteit vermoeden.

## 5.2 Hydraulische veiligheid

### 5.2.1 Hydraulische veiligheid op takniveau

#### 5.2.1.1 Vergelijking tussen PLC en AE-methode

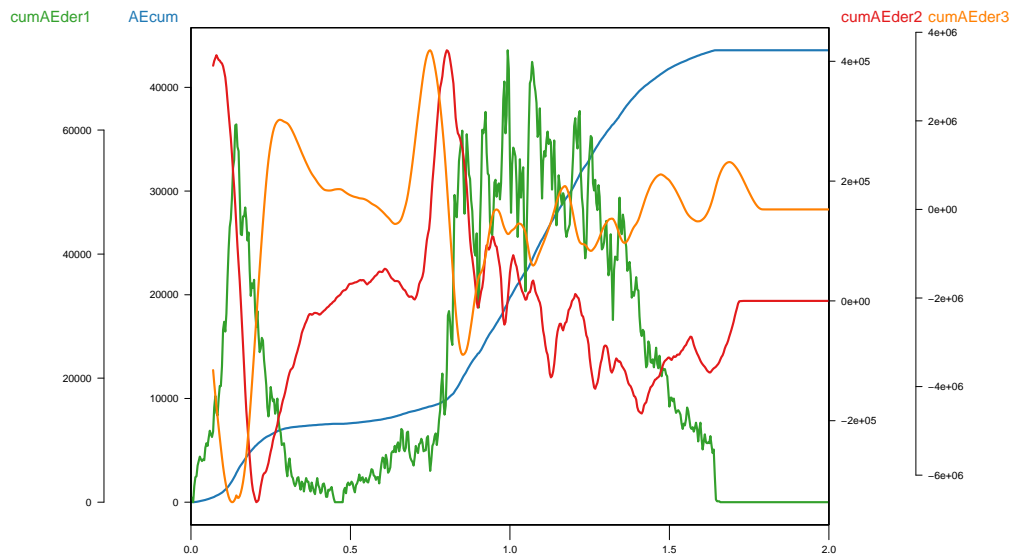
Vergelijking van de hydraulische veiligheid bepaald met de akoestische emissie (AE) en de reductie aan hydraulische geleidbaarheid (PLC) methode leert dat de hydraulische veiligheid bij alle soorten groter is indien deze akoestisch wordt bepaald (Tabel 4.3). Indien bepaald met cumulatieve AE vindt zowel het begin (12%,  $\psi_{s,AE12}$ ), midden (50%,  $\psi_{s,AE50}$ ) als eindpunt (88%,  $\psi_{s,AE88}$ ) van embolisme steeds plaats bij een meer negatieve  $\psi_s$  dan wanneer deze parameters worden bepaald aan de hand van PLC (respectievelijk  $\psi_{s,12}$ ,  $\psi_{s,50}$  en  $\psi_{s,88}$ ). De grootste verschillen tussen beide methoden werden gemeten bij *Banisteriopsis*, *Serjania* en *Cydista*, waar  $\psi_{s,AE50}$  tot meer dan dubbel zo negatief was in vergelijking met  $\psi_{s,50}$  (Tabel 4.3). Het grote verschil tussen de

resultaten van beide meettechnieken is waarschijnlijk het gevolg van een combinatie aan factoren, die hieronder worden beschreven.

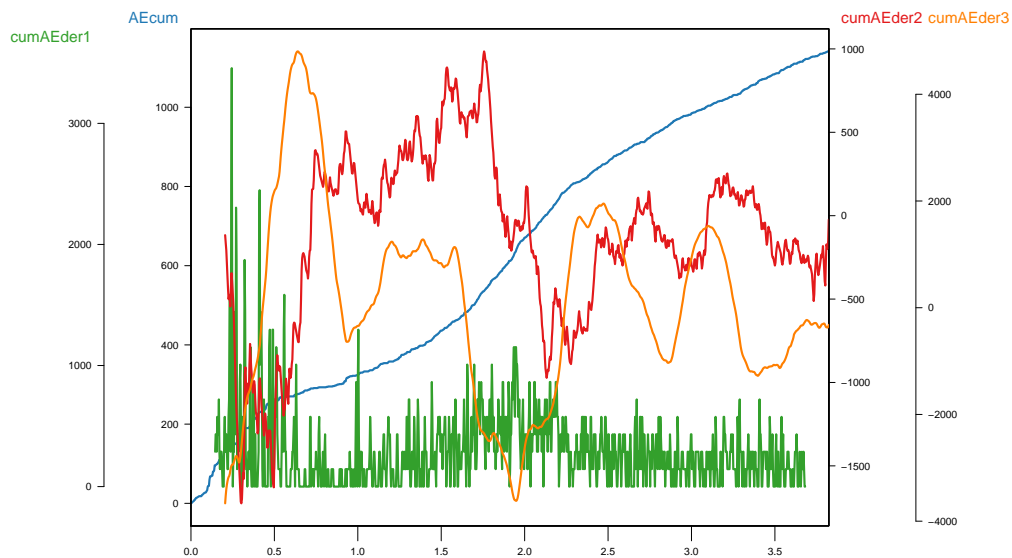
Een belangrijk verschil tussen de AE en PLC-methode is het onderwerp van registratie. Waar de PLC-methode het eigenlijke K-verlies meet (PLC), geeft de AE-methode slechts informatie over het plaatsvinden van embolismegebeurtenissen (Nolf *et al.*, 2015a). Bij de registratie van deze gebeurtenissen wordt echter geen rekening gehouden met de grootte van het emboliserend vat. Dit kan van groot belang zijn bij lianen, aangezien zij gekenmerkt worden door vatdimorfisme (Carlquist, 1984). Het vroegtijdig embolisme van een beperkt aantal wijde vaten zou K in belangrijke mate verlagen, maar nauwelijks invloed uitoefenen op het verloop van de akoestische vatbaarheidscurve ( $VC_{AE}$ ). De verhoogde vatbaarheid van grote vaten voor embolismevorming kan worden verklaard door hun grote aantal stippels, wat de kans op aanwezigheid van een falende porie doet toenemen (d.i. de *rare-pit* hypothese) (Cai en Tyree, 2010). De  $VC_{AE}$  wordt daarentegen in belangrijke mate bepaald door de meer talrijk aanwezige kleine vaten, die slechts een beperkte bijdrage leveren aan K, maar wel gekenmerkt worden door een lagere vatbaarheid voor embolismevorming (De Guzman *et al.*, 2017; Zhu *et al.*, 2017). De  $VC_{AE}$  zou daarom een onderschatting kunnen geven van het werkelijke PLC-verloop. Een meer negatieve  $\psi_{s,AE50}$  in vergelijking met  $\psi_{s,50}$  werd eerder ook vastgesteld door Nolf *et al.* (2015a) bij angiospermen, en werd toegeschreven aan het heterogene xyleemweefsel met variabele vatgrootte (Nolf *et al.*, 2015a). Het verband tussen vatgrootte en vatbaarheid voor embolismevorming wordt echter niet voor alle soorten waargenomen (Lens *et al.*, 2011). Bij het opstellen van een  $VC_{AE}$  voor de liaan *Vitis vinifera* werd in Vergeynst *et al.* (2015) met behulp van microtomografie geen verband waargenomen tussen vatdiameter en hydraulische veiligheid. Hierdoor kon een correcte weergave van het PLC-verloop door de  $VC_{AE}$  worden verondersteld.

Indien lianen door vatdimorfisme een grote K (onder invloed van enkele grote en lange vaten) met hoge hydraulische veiligheid (door aanwezigheid van talrijke kleine en korte vaten) zouden kunnen combineren, moet dit ook weerspiegeld worden in het AE-verloop. Dit lijkt ook het geval te zijn bij *Banisteriopsis* en *Cissus*, waar het verloop van de AE-activiteit (d.i. de eerste afgeleide van de cumulatieve AE-signalen) wordt gekenmerkt door een eerste kleinere piek bij minder negatieve  $\psi_s$ , waarna AE-activiteit afneemt om vervolgens opnieuw toe te nemen in een verder uitdrogingsstadium (Figuur 5.1). Dit eerste maximum in AE-activiteit kan ook worden waargenomen op de uiteindelijke  $VC_{AE}$  van *Banisteriopsis*, waar de curve reeds een eerste stijging vertoont vanaf -4.5 MPa (Figuur 4.4). Echter, indien deze eerste AE-activiteitspiek het resultaat is van het embolisme van wijde vaten, geeft de  $VC_{AE}$  een onderschatting van de PLC, aangezien de start van embolisme ( $\psi_{s,AE12}$ ) pas werd vastgesteld bij -6.17 MPa (Tabel 4.3). AE-activiteit kende bij *Serjania* een eerder geleidelijk oplopend patroon. Bij *Cydista* volgde na een abrupte toename van de AE-activiteit steeds een breed uitgespannen ( $\pm 2$  dagen) piek (data niet getoond). Indien er een trend bestaat tussen de vatgrootte en hydraulische veiligheid, zal de  $VC_{AE}$  ook bij deze soorten geen correcte weergave geven van de PLC.

Om de vatbaarheid voor embolismevorming bij deze soorten zo volledig mogelijk in beeld te



(a)



(b)

**Figuur 5.1:** Verloop van de cumulatieve AE-signalen (blauw) en de AE-activiteit (groen) bij (a) een tak van *Banisteriopsis* en (b) een tak van *Cissus*. De oranje en rode lijn geven respectievelijk de tweede en derde afgeleide van de cumulatieve AE-signalen weer.

brengen, werd ook de  $\psi_s$  overeenkomstig met de eerste duidelijk waarneembare stijging in AE-activiteit ( $\psi_{s,AEa}$ ) bepaald (Tabel 4.4). Bij de soorten *Serjania*, *Cydista* en *Banisteriopsis* bestaat er een groot verschil tussen  $\psi_{s,AEa}$  en  $\psi_{s,AE12}$ . Dit doet vermoeden dat, in het geval dat  $\psi_{s,AEa}$  correspondeert met het embolisme van wijde vaten, PLC voor deze soorten sterk wordt onderschat. AE-activiteit bij hoge  $\psi_s$  kan echter niet exclusief worden verklaard door embolismevorming en kan ook het gevolg zijn van krimprocessen (Vergeynst *et al.*, 2015), waardoor  $\psi_{s,AEa}$  niet noodzakelijk overeenkomt met de eerste geëmboliseerde vaten. Bij *Banisteriopsis* en *Cissus* lijken niet-embolisme processen echter niet aan de basis te liggen van de

toename in AE-activiteit, aangezien een duidelijke piek kon worden waargenomen bij alle takken (N=2 voor *Banisteriopsis*, N=5 voor *Cissus*). Bij *Acacia* piekte AE-activiteit slechts eenmaal relatief kortstondig (data niet getoond). Dit doet een minimale invloed van eventueel vatdimorfisme vermoeden en vertaalt zich ook in een relatief klein verschil tussen VC en  $VC_{AE}$  ( $\psi_{s,50} - \psi_{s,AE50} = 1.34$  MPa).

De grote verschillen tussen AE en PLC-methode kunnen echter niet volledig worden verklaard door de eventuele invloed van het vatdimorfisme bij lianen. Hoewel de PLC van lianen theoretisch niet zou mogen toenemen voor er een toename van AE-activiteit wordt gemeten, is  $\psi_{s,50}$  minder negatief dan  $\psi_{s,AEa}$  bij *Banisteriopsis* en *Cissus* (Tabel 4.3). Dit impliceert een overschatting van de werkelijke PLC volgens de PLC-methode bij deze soorten. Gezien de grote variabiliteit van de PLC-metingen (Figuur 4.3), is het ook aannemelijk dat de vastgestelde VC's (d.i. vatbaarheidscurves volgens de PLC-methode) geen volledig correcte weergave zijn van het eigenlijke PLC-verloop. Ondanks het feit dat de PLC-methode gezien wordt als de standaardmethode voor de bepaling van de hydraulische veiligheid van planten, is ze ook gevoelig aan artefacten ten gevolge van de destructieve aard van deze methode (Wheeler *et al.*, 2013; Trifilo *et al.*, 2014; De Baerdemaeker *et al.*, 2019).

Wheeler *et al.* (2013) en Cochard en Delzon (2013) beschreven de aanwezigheid van artificiële embolismevorming bij het knippen van takken onder spanning, zelfs indien dit knippen onder water gebeurde. Dit leidde tot overschatting en grote variatie van de PLC. Microtomografie bevestigde reeds visueel de mogelijkheid op artificiële embolismevorming door knippen, zowel bij het knippen van takken van intacte individuen, als bij het knippen van reeds geogoste takken Torres-Ruiz *et al.* (2015). Om artificiële embolismevorming te vermijden, werden takken in deze studie steeds geogost bij een minimale xyleemspanning voor zonsopgang. Het is echter mogelijk dat embolismevorming heeft plaatsgevonden bij het stapsgewijs inkorten van sterk uitgedroogde takken onder water, of bij het afknippen van bladeren voor  $\psi_s$ -meting. Er is echter verdeeldheid over de impact van dit knippen onder spanning, aangezien hier geen impact van werd ondervonden in andere studies (Trifilo *et al.*, 2014; Venturas *et al.*, 2015).

Een alternatieve of aanvullende verklaring voor de overschatting van de PLC zou een toename van de radiale stroming in het taksegment bij toenemende uitdroging van takken kunnen zijn (De Baerdemaeker *et al.*, 2019). Grote radiale stroming leidt tot overschatting van de PLC, aangezien zij de uitstroom van water uit het taksegment (het debiet) vermindert. K-metingen werden in deze masterthesis steeds onmiddellijk na installatie van het taksegment uitgevoerd. Dit, omdat (i) wachten op stationaire stroming (d.i. bij afwezigheid van radiale stroming) gepaard gaat met hervulling van geëmboliseerde vaten en dus geen goed criterium is bij de het meten van PLC, en (ii) omdat radiale stroming het kleinst is bij de start van de meting (De Baerdemaeker *et al.*, 2019). Desondanks kan een eventuele invloed van radiale stroming bij dehydratatie van takken op overschatting van de PLC niet worden uitgesloten.

Hoewel het effect van knippen of radiale stroming een overschatting van de PLC bij sterk

negatieve  $\psi_s$  zou kunnen verklaren, is dit niet het geval voor de grote variabiliteit van de PLC-metingen bij lage  $\psi_s$  (*Banisteriopsis* en *Serjania*, (Figuur 4.3 (b) en (d)) en de negatieve PLC-waarden (*Cydista*, Figuur 4.3 (e)). Deze waarnemingen kaarten een tweede belangrijk nadeel aan van de PLC-methode. Bij deze methode zijn namelijk meerdere takken nodig om een enkele VC te bekomen. De PLC van elk van deze takken, geoogst van verschillende individuen, wordt steeds berekend op basis van een goed bewaterde referentietak. Idealiter wordt bij het opstellen van een VC plantmateriaal van een gelijke ouderdom, grootte en populatie gebruikt (Jansen *et al.*, 2015). Dit kon echter niet voldoende worden gecontroleerd in deze studie. De grote variabiliteit bij lage  $\psi_s$  zou daarom een gevolg kunnen zijn van intra-species variabiliteit, verschillen in ouderdom van geoogste takken, en het gebruik van takken van individuen die in het verleden in verschillende mate werden blootgesteld aan embolismevorming. De curves van de soorten waarbij de kleinste variabiliteit van de PLC-waarden werd vastgesteld (*Cissus* en *Acacia*), werden opgesteld met takken die volledig binnen dezelfde populatie konden worden geoogst. Een groot voordeel van de AE-methode is dat een volledige  $VC_{AE}$  kan worden verkregen op basis van een enkele tak. Intra-species variabiliteit kan hier worden waargenomen door de vergelijking van  $VC_{AE}$ 's van de individuele takken, en toont een grote variabiliteit bij *Serjania* en *Cydista*, maar niet bij *Banisteriopsis*.

Een laatste mogelijke verklaring voor de grote variatie in PLC tussen de verschillende takken kan eruit bestaan dat enkele afwijkend hoge PLC-waarden hun oorsprong hebben in artificiële embolismevorming ten gevolge van het transport (snel kraken van takken van *Serjania*) en losmaken (*Banisteriopsis* was steeds sterk verstrengeld) van lianen.

### 5.2.1.2 Vergelijking van de hydraulische veiligheid in de tak tussen lianen

Gezien de grote verschillen in de vastgestelde hydraulische veiligheid tussen de AE en de PLC-methode, is het moeilijk de werkelijke vatbaarheid voor embolismevorming bij de onderzochte lianen te karakteriseren. Toch tonen beide methoden duidelijke verschillen in de hydraulische veiligheid tussen de soorten (Tabel 4.3). De lage hydraulische veiligheid gemeten bij *Cissus* ( $\psi_{s,50} = -0.56$  MPa,  $\psi_{s,AE50} = -1.15 \pm 0.03$  MPa) staat in groot contrast met de hoge embolisme-resistentie vastgesteld bij *Serjania* ( $\psi_{s,50} = -4.23$  MPa,  $\psi_{s,AE50} = -8.82 \pm 0.90$  MPa), *Banisteriopsis* ( $\psi_{s,50} = -3.54$  MPa,  $\psi_{s,AE50} = -9.48 \pm 0.13$  MPa) en *Cydista* ( $\psi_{s,50} = -3.92$  MPa,  $\psi_{s,AE50} = -9.17 \pm 1.19$  MPa). *Acacia* ( $\psi_{s,50} = -3.38$  MPa,  $\psi_{s,AE50} = -4.72 \pm 0.08$  MPa) positioneert zich tussen de hydraulisch kwetsbare (*Cissus*) en meer embolisme-resistente soorten (*Serjania*, *Cydista* en *Banisteriopsis*).

Hoewel de  $VC_{AE}$ 's van *Serjania*, *Cydista* en *Banisteriopsis* mogelijk geen volledig correcte weergave zijn van het werkelijke geleidingsverlies (sectie 5.2.1.1), duiden deze wel op de aanwezigheid van talrijke embolisme-resistente vaten bij deze soorten. Dit leidt tot een groot  $\psi_s$ -verschil tussen  $\psi_{s,AE12}$  en  $\psi_{s,AE88}$  ( $\psi_{s,AE12-88}$ , Tabel 4.3). Een grote  $\psi_{s,AE12-88}$  maakt het mogelijk om een bepaalde hoeveelheid embolismevorming zonder grote risico's te verdragen, en het vrijgekomen water in te schakelen in de transpiratiestroom (Hölttä *et al.*, 2012). Een geleidelijke

toename van PLC met dalende  $\psi_s$  kan ook worden vastgesteld op basis van de VC bij *Cydista*, maar niet bij *Serjania* en *Banisteriopsis*. De steilere opgang van PLC bij *Banisteriopsis* en *Serjania* met dalende  $\psi_s$  zou echter een gevolg kunnen zijn van artificiële embolismevorming ten gevolge van het knippen van takken onder spanning (Torres-Ruiz *et al.*, 2015).

Vastgestelde  $\psi_{s,50}$ -waarden zijn, met uitzondering van *Cissus*, steeds negatiever dan de  $\psi_{s,50}$  van tropische lianen uit eerdere studies. Bij metingen met de PLC-methode uitgevoerd op de hoofdstam van 24 zaailingen werden  $\psi_{s,50}$ -waarden tussen -0.29 en -2.60 MPa gevonden (Van Der Sande *et al.*, 2013, 2019). Grote verschillen in de hydraulische architectuur van lianen tussen de hoofdstam en de takken lijken echter te bestaan (Carvalho *et al.*, 2015). Een grotere K en geassocieerde verhoogde vatbaarheid voor embolismevorming werd reeds vastgesteld in de stam van *Hedera helix*, een liaan die van oorsprong voorkomt in gematigde bossen (Ganthaler *et al.*, 2019). Eerder onderzoek naar de hydraulische veiligheid van de takken van volwassen, tropische lianen uit de kroon toonde aan dat  $\psi_{s,50}$  varieerde tussen -0.26 en -0.66 MPa (De Guzman *et al.*, 2017) en -1.88 en -2.99 MPa (Zhang *et al.*, 2019). Met  $\psi_{s,50}$ -waarden tussen -0.56 en -4.23 MPa en een gemiddelde van -3.13 MPa, vertonen de takken van de lianensoorten in deze studie dus een hoge en bovendien onderling sterk variabele hydraulische veiligheid. Metingen aan de hand van AE-signalen versterken deze vaststelling, aangezien op akoestische wijze zelfs een nog hogere hydraulische veiligheid werd vastgesteld. Echter, in weinig studies werd de hydraulische veiligheid van tropische lianen beoordeeld aan de hand van AE-signalen. In Tack (2019) werd  $\psi_{s,AE50}$  van de takken van de tropische liaan *Jungia coarctata* vastgesteld op -8.00 MPa. Deze  $\psi_{s,AE50}$ -waarde is gelijkaardig aan de  $\psi_{s,AE50}$  gevonden in deze studie voor de lianen *Serjania*, *Cydista* en *Banisteriopsis*.

Een belangrijk verschil met eerdere studies die de hydraulische veiligheid van lianen met de PLC-methode onderzochten (e.g. Van Der Sande *et al.* (2013), De Guzman *et al.* (2017), Van Der Sande *et al.* (2019) en Zhang *et al.* (2019)), is dat het taksegment in deze studie niet werd gespoeld vóór meting van de PLC. Het effect van dit spoelen is voorlopig echter onduidelijk. Door spoeling van het taksegment, zullen geëmboliseerde vaten hervuld worden met water, waardoor de intrinsieke hydraulische geleidbaarheid ( $K_{s,pot}$ ) en veiligheid zou kunnen worden gemeten. Dit zou de lagere hydraulische veiligheid vastgesteld in de eerder vernoemde studies gedeeltelijk kunnen verklaren, aangezien het mee in rekening brengen van kwetsbare en in het veld reeds geëmboliseerde vaten  $\psi_{s,50}$  zal doen stijgen. Studies toonden echter aan dat het spoelen van taksegmenten kan leiden tot een foutieve weergave van  $K_{s,pot}$ . Hierbij werd zowel een overschatting, als gevolg van het doorspoelen van vaten die gedurende de ontwikkeling hun functionaliteit verloren hebben (Jacobsen en Pratt, 2012), als onderschatting, mogelijk ten gevolge van verstopping van vaten of het aantasten van pitmembraan structuren (De Baerdemaeker *et al.*, 2019), van  $K_{s,pot}$  reeds aangegeven. In deze studie werd er daarom voor geopteerd om de PLC te bepalen ten opzichte van een goed bewaterde referentietak (zoals in De Baerdemaeker *et al.* (2019)), wat een juiste weergave zou moeten zijn van de K en hydraulische veiligheid van de lianen in het veld. Afwezigheid van spoeling verklaart de steeds



sigmoïdale vorm van de VC's en VC<sub>AE</sub>'s waargenomen in deze studie (respectievelijk Figuur 4.3 en 4.4), aangezien embolismevorming, bij afwezigheid van dagelijkse embolisme-herstelmechanismen, slechts zal toenemen indien  $\psi_s$  negatiever wordt dan de  $\psi_s$  ondervonden in het veld (Jacobsen, 2011b).

## 5.2.2 De verhouding van de hydraulische veiligheid op tak- en bladniveau

De hoge hydraulische veiligheid in het blad bij *Serjania*, *Cydista* en *Banisteriopsis*, en de lage hydraulische veiligheid op bladniveau bij *Cissus*, ligt in het verlengde van de verhoudingen op takniveau (Tabel 4.3). Vergelijking van de vastgestelde  $\psi_{1,A50}$  (d.i. de bladwaterpotentiaal waarbij 50% van de vat-oppervlakte in het blad is geëmboliseerd) met eerdere metingen van  $\psi_{1,50}$  (d.i. de bladwaterpotentiaal waarbij 50% PLC in de bladeren optreedt) uit Bucci *et al.* (2016) benadrukt de hoge hydraulische veiligheid bij *Serjania*, *Cydista* en *Banisteriopsis*. Bucci *et al.* (2016) verzamelden  $\psi_{1,50}$ -waarden voor 26 tropische en subtropische boomsoorten uit verschillende studies, en vonden zowel voor bladverliezende als immergroene soorten  $\psi_{1,50}$  ongeveer gelijk aan -1.25 MPa (geen exacte waarde gegeven). De waarde aangehaald door Bucci *et al.* (2016) zou echter een onderschatting zijn van de werkelijke hydraulische veiligheid op bladniveau, een gevolg van de hydraulische meettechnieken (e.g. evaporatieve flux methode (Sack en Holbrook, 2006) en blad dehydratatie methode (Brodribb en Holbrook, 2003)) waarmee  $\psi_{1,50}$ -waarden werden vastgesteld (Li *et al.*, 2020). Bij deze technieken worden ook weefsels buiten het xyleem, die reeds aan K verliezen voor embolismevorming optreedt, in rekening gebracht. Dit is echter niet zo bij de recentere optische vatbaarheid (OV) methode, die werd toegepast in deze studie. De OV-methode wordt gezien als een betrouwbare techniek (Skelton en Diaz, 2020) waarbij de geregistreerde geëmboliseerde vat-oppervlakte goed overeenkomt met de werkelijke PLC in de bladeren (Brodribb *et al.*, 2016).

Distale en structureel 'goedkope' organen, zoals de bladeren, worden verondersteld vatbaarder te zijn voor droogte-geïnduceerde embolismevorming dan structureel kostbare organen waaronder de stam of de tak (d.i. de vatbaarheid-segmentatie hypothese geïntroduceerd door Tyree en Ewers (1991)). Door het opgeven van bladeren tijdens droogteperiodes, kan verder waterverlies door bladtranspiratie worden vermeden. Eventuele verschillen in vatbaarheid-segmentatie tussen lianensoorten kunnen daarom een aanwijzing zijn voor een verschillende overlevingsstrategie onder droogte (Smith-Martin *et al.*, 2020). Deze vatbaarheid-segmentatie werd reeds frequent waargenomen bij zowel bladverliezende als immergroene soorten, maar lijkt evenwel niet bij alle soorten aanwezig te zijn (Klepsch *et al.*, 2018). Recente studies (Skelton *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2020; Smith-Martin *et al.*, 2020) die net als deze studie gebruik maakten van non-invasieve beeldtechnieken, toonden dat de vatbaarheid-segmentatie voornamelijk afwezig was bij zowel bladverliezende als immergroene bomen.

Vergelijking van  $\psi_{s,50}$  en  $\psi_{1,A50}$  (Tabel 4.3) toont enkel voor *Serjania* een (iets) lagere hydraulische veiligheid in het blad in vergelijking met de tak (Figuur 4.6). Embolismevorming start bij *Serjania*

bovendien vroeger op in het blad ( $\psi_{l,A12} = -2.67 \pm 0.40$  MPa) dan in de tak ( $\psi_{s,12} = -3.1$  MPa). De hogere hydraulische veiligheid gemeten in het blad bij *Banisteriopsis* en *Cissus* in vergelijking met de tak, is echter het omgekeerde van wat verwacht wordt door de vatbaarheid-segmentatie hypothese.

Het is echter aannemelijk, zeker in het geval van *Cissus* en *Banisteriopsis*, dat de hydraulische veiligheid gemeten met de PLC-methode een onderschatting is van de werkelijke hydraulische veiligheid op takniveau (sectie 5.2.1.1). Bij vergelijking van de hydraulische veiligheid vastgesteld met de AE-methode ( $\psi_{s,AE50}$ ) met  $\psi_{l,A50}$ , lijkt er niet alleen sprake van vatbaarheid-segmentatie bij *Serjania*, maar ook bij *Cydista* en *Banisteriopsis* (Figuur 4.6). Het verschil tussen de hydraulische veiligheid op tak- en bladniveau ( $\psi_{l,A50} - \psi_{s,AE50}$ ) blijkt voor *Serjania*, *Cydista* en *Banisteriopsis* bovendien vrij gelijklopend, waardoor een gelijkaardige overlevingsstrategie onder droogte kan worden vermoed bij deze soorten. De minder negatieve  $\psi_{l,A12}$  ten opzichte van  $\psi_{s,AE12}$  suggereert bovendien dat de start van embolisme in het blad voorafgaat aan de start van embolisme in de tak bij deze lianen. Toch moet vatbaarheid-segmentatie bij *Cydista* en *Banisteriopsis* worden genuanceerd, aangezien de mogelijkheid bestaat dat het cumulatieve AE-verloop niet de juiste weergave is van de werkelijke PLC in de tak. Indien  $\psi_{s,AEa}$  wordt vergeleken met de  $\psi_l$  overeenkomstig met het eerste gevisualiseerde embolisme in het blad ( $\psi_{l,A1}$ ), blijkt het eerste embolisme in het blad enkel bij *Serjania* met zekerheid vroeger (bij hogere  $\psi$ ) voor te komen dan het begin van embolisme in de tak (Tabel 4.3). Grote variabiliteit in  $\psi_{l,A1}$  werd bij alle soorten vastgesteld, maar was bij *Serjania* steeds lager dan  $-2.72$  MPa.

Naast het voorkomen van eventuele vatbaarheid-segmentatie bij lianen, wordt de optische VC ( $VC_{opt}$ ) steeds gekenmerkt door een steiler verloop (kleiner verschil tussen  $\psi_{l,A12}$  en  $\psi_{l,A88}$ , d.i.  $\psi_{l,A12-88}$ ) in vergelijking met de  $VC_{AE}$  en VC (met uitzondering van de VC van *Banisteriopsis*, Tabel 4.3). Dit betekent dat embolismevorming in de tak meer gradueel toeneemt dan in het blad, en lianen op deze manier de meer kostbare tak beschermen. Dit kan mede mogelijk worden gemaakt door het vatdimorfisme in de tak van lianen.

### 5.3 Effectieve droogtestress: veiligheidsmarge en embolisme in het veld

De grote verschillen tussen hydraulische veiligheid vastgesteld met de PLC en AE-methode maakt het inschatten van de veiligheidsmarge (VM) en in-situ embolismevorming van lianen moeilijk (Tabel 4.4). Combinatie van de hydraulische veiligheidwaarden uit de VC (volgens de PLC-methode) en de meest negatieve gemeten  $\psi_{s,min}$  toont dat lianen in het veld dicht bij hun hydraulische limiet functioneren (kleine  $VM_{PLC}$ ), en embolismevorming een dagelijks fenomeen is (grote  $PLC_v$ ). Deze vaststelling bevestigt resultaten uit eerdere studies, waarbij wordt aangegeven dat lianen, ook tijdens het nat- of vroeg in het droogseizoen, dagelijks geconfronteerd

worden met embolismevorming (Johnson *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2017).

$PLC_v$  is echter mogelijk een overschatting ten gevolge van radiale stroming of artificiële embolismevorming bij het knippen van takken onder spanning bij de PLC-methode (sectie 5.2.1.1). Zowel de OV als de AE-methode geven aan dat embolismevorming respectievelijk in het blad ( $A_v$ ) en in de tak ( $AE_v$ ) zich niet voordoen tijdens de maanden augustus en september. De vergelijking van  $\psi_{s,AEa}$  en  $\psi_{l,A1}$  met respectievelijk de meest negatieve gemeten  $\psi_{s,min}$  en  $\psi_{l,min}$  (d.i. de bladwaterpotentiaal bij maximale lichtinstraling) bevestigt de afwezigheid van embolismevorming in blad en tak. Enkel bij *Serjania* werd een  $\psi_{l,min}$  gelijk aan  $\psi_{l,A1}$  gemeten, waardoor een mogelijkheid op beperkte embolismevorming in het blad in augustus en september zich voordoet bij deze soort. Afwezigheid van embolismevorming in augustus en september kan ook worden verwacht, aangezien de droogtestress van lianen, overeenkomstig met het neerslagverloop (Figuur 3.2), nog veel groter zal zijn in het droogseizoen.

Hoewel in augustus en september geen embolismevorming optrad bij de onderzochte lianen in het veld (op basis van de AE en OV-methode), werden in deze periode grote verschillen in VM (veiligheidsmarge) vastgesteld tussen de lianensoorten. Zowel de PLC en AE-methode geven een relatief kleine VM aan bij *Cissus* en *Acacia* (Tabel 4.4). De kleine VM bij *Cissus* op tak- en bladniveau is het gevolg van een lage hydraulische veiligheid in de tak en het blad. De kleine VM op takniveau bij *Acacia* vindt zijn oorsprong in een beperkte hydraulische veiligheid in combinatie met een lage  $\psi_{s,min}$ , overeenkomstig met de kleine elasticiteit en het snelle uitdrogingspatroon vastgesteld bij deze soort.

Grote VM's in de tak werden echter vastgesteld bij *Serjania*, *Banisteriopsis* en *Cydista* (Tabel 4.4). Deze soorten functioneerden ver weg van hun hydraulische limieten in augustus en september. De VM in het blad ( $VM_A$ ) is evenwel beperkt voor *Serjania*. Het versneld opgeven van bladeren onder droogtestress lijkt voor deze soort belangrijk te zijn om verder waterverlies te voorkomen.

## 5.4 Hydraulische geleidbaarheid en veiligheid

Er werd geen verband gevonden tussen hydraulische veiligheid ( $\psi_{s,50}$ , Figuur 4.7 (a) of  $\psi_{s,AE50}$ , Figuur 4.7 (b)) en K (hier  $K_{c,max}$ , d.i. de hydraulische geleidbaarheid van de referentietak bij de PLC-methode). Ook in eerdere studies van Zhang *et al.* (2019) en Van Der Sande *et al.* (2019) werd geen afweging gevonden tussen  $\psi_{s,50}$  en K (gedefinieerd als  $\psi_{s,pot}$ ) bij respectievelijk jonge en volwassen lianen. Een ontkoppeling van K en hydraulische veiligheid zou de toename van lianen in neotropische droogbossen mee kunnen helpen verklaren. Een groot verschil met de eerder uitgevoerde studies is echter dat de weerstand van eindwandstructuren in deze studie niet in rekening werd gebracht.  $K_{c,max}$  is dus een overschatting van de werkelijke stam-specifieke hydraulische geleidbaarheid ( $K_s$ ), en eventuele verschillen in deze weerstand tussen soorten kunnen de vastgestelde verhoudingen wijzigen. Een tweede verschil met de reeds eerder uitgevoerde studies bestaat erin dat reeds geëmboliseerde vaten in deze studie niet werden

doorspoeld met water vóór meting van  $K$ . Dit heeft als gevolg dat  $K_{c,max}$  geen weergave is van het intrinsieke geleidingsvermogen van de lianen. Spoeling van vaten zou het geleidingsvermogen echter ook artificieel kunnen verlagen (Jacobsen en Pratt, 2012) of verhogen (De Baerdemaeker *et al.*, 2019) (sectie 5.2.1.2).

$K_{c,max}$  geeft echter wel een aanwijzing voor de in het veld functionele geleidende oppervlakte, en meer specifiek voor het aantal functionele vaten en hun diameter. Dit, omdat  $K$  evenredig is aan de vatdiameter tot de vierde macht. De grote  $K_{c,max}$  gemeten bij *Cissus* wijst daarom op het vermogen om vaten met grote diameter functioneel te houden in het veld, ondanks de lage hydraulische veiligheid bij deze soort. Dankzij grote interne waterreserves en geassocieerd traag uitdrogingspatroon (5.1.2), een grote  $K$ , en een mogelijke herverdeling van water bij droogte, kan deze soort  $\psi_s$  hoog houden (sectie 5.1.1) en hydraulisch falen voorkomen. Fisher *et al.* (1997) nam bovendien een positieve worteldruk (42 kPa) waar bij deze soort. Gezien de beperkte hoogtegroeï van *Cissus* lianen uit de populatie waaruit werd geoogst (lianen groeiden in kleine bomen van 1-3 meter hoogte), en de veronderstelde beperkte hydraulische weerstand ( $R$ ) in *Cissus*' lange (Tabel 4.1) en (visueel waarneembare) wijde vaten, zou het hervullen van geëmboliseerde vaten met water onder invloed van deze positieve worteldruk mogelijk kunnen zijn. Bij het meten van de PLC werden veelvuldig luchtballen in het buizensysteem waargenomen bij deze soort (reeds bij een drukverschil van 1.85 kPa bij  $\psi_s = -1.23$  MPa) (Figuur 4.3 (c)), wat wijst op het hervullen met water van geëmboliseerde vaten. Hervulling van geëmboliseerde vaten in het veld onder een positieve worteldruk zou op deze manier de grote  $K_{c,max}$  mee helpen verklaren.

Deze grote  $K_{c,max}$  bij *Cissus* staat in contrast met de lage  $K_{c,max}$  gemeten bij *Acacia*. Embolismevorming in het droogseizoen en afwezigheid van herstelmechanismen in het regenseizoen, zouden, rekening houdend met het snelle uitdrogingspatroon en de kleine VM vastgesteld in augustus en september, een mogelijke verklaring kunnen bieden voor deze lage  $K_{c,max}$  bij *Acacia*.

Voor de soorten met de grootste hydraulische veiligheid (*Serjania*, *Cydista* en *Banisteriopsis*, Tabel 4.3) werd de hoogste  $K_{c,max}$  gemeten bij *Serjania*. Deze soort slaagt erin om een hoge hydraulische veiligheid te koppelen aan een grote  $K$ . In combinatie met een grotere elasticiteit en overeenkomstige interne waterreserves in vergelijking met *Cydista*, *Banisteriopsis* en *Acacia* verklaart dit de tussenliggende  $\psi_{s,min}$  gemeten bij deze soort (Figuur 4.1 (b)). De grote  $K_{c,max}$  kan zowel het resultaat zijn van een intrinsiek groot geleidend oppervlak met grote vaten, van beperkte embolismevorming in het droogseizoen, of van eventuele embolisme-herstelmechanismen.

Metingen van de hydraulische geleidbaarheid van de taksegmenten ( $K_c$ ) werden echter gekenmerkt door een grote variabiliteit. Zowel bij *Cissus* (1), *Serjania* (10) en *Cydista* (6) werden grotere  $K_c$ -waarden gemeten dan  $K_{c,max}$  (Figuur 4.3 (c), (d) en (e)). Mogelijke verklaringen zouden een verschil in leeftijd of levensgeschiedenis (d.i. eerdere blootstelling aan droogte) tussen takken, of grote intra-species variabiliteit kunnen zijn.

## 5.5 Uitdagingen en knelpunten in deze studie

Met het oog op verder onderzoek wil deze studie de ervaren moeilijkheden en uitdagingen in verband met het veldwerk ter plaatse graag delen.

PLC-metingen vormden een belangrijke *bottleneck* in dit onderzoek omwille van de grote vastgestelde variabiliteit tussen meetpunten onderling. Om variabiliteit tussen geoogste takken in de toekomst beter te kunnen nagaan, zou de herkomst van de bemonsterde takken nauwkeurig moeten worden opgevolgd. De oorsprong van takken zou vervolgens mee in rekening kunnen worden gebracht bij de evaluatie van de VC. Ook artificiële embolismevorming heeft vermoedelijk bijgedragen aan de inconsistentie van de metingen. Geoogste taklengte zou daarom steeds moeten worden bijgehouden, zodat inconsistente meetpunten ten gevolge van embolismevorming bij het oogsten, kunnen worden opgespoord. Een andere mogelijke bron van artificiële embolismevorming is het afknippen van bladeren tijdens de uitdroging van takken. Bladeren gebruikt voor  $\psi_s$ -metingen zouden daarom steeds stroomopwaarts van het taksegment (gebruikt voor PLC-meting) moeten worden afgeknipt. Hervulling van geëmboliseerde vaten tijdens het meten van PLC bleek bovendien een reël probleem. Aangezien zelfs bij zeer lage drukverschillen luchtbellens in het buizensysteem werden waargenomen (ook bij De Baerdemaeker *et al.* (2019)), lijkt hervulling van geëmboliseerde vaten echter moeilijk te vermijden.

# Hoofdstuk 6

## Conclusie

Deze studie toont grote variabiliteit in de hydraulische veiligheid en overlevingsstrategieën tussen lianensoorten onderling. Zowel hoge (*Banisteriopsis*, *Cydista*, *Serjania*), gemiddelde (*Acacia*), als lage (*Cissus*) hydraulische veiligheid werd gemeten, en vatbaarheid-segmentatie werd waargenomen in het blad van *Serjania*. Grote verschillen in hydraulische veiligheid beschreven aan de hand van reductie in geleidingsvermogen (PLC) en detectie van akoestische emissie (AE) signalen werden vastgesteld.  $\psi_{s,50}$  (i.e. de stamwaterpotentiaal met 50% geleidingsverlies) varieerde van -0.56 (*Cissus*) tot -4.23 (*Serjania*) MPa, terwijl  $\psi_{s,AE50}$  (i.e. de stamwaterpotentiaal met 50% AE) verschilde van -1.15 (*Cissus*) tot -9.48 MPa (*Banisteriopsis*). PLC en AE-metingen uitgevoerd op tropische lianen in eerdere studies lijken de trend van hoge hydraulische veiligheid zoals vastgesteld met AE, en lage veiligheid aan de hand van PLC, te bevestigen.

Hoewel eindwandstructuren niet in rekening werden gebracht, werd geen verband vastgesteld tussen hydraulische veiligheid en hydraulische geleidbaarheid. Een ont koppeling tussen hydraulische veiligheid en geleidbaarheid zou de hoge lianenabundantie in tropische droogbossen mee kunnen verklaren. Optische (OV) en AE-metingen gaven aan dat geen enkele liaan met embolismevorming te kampen kreeg in de maanden augustus en september 2019. Niettemin verschilden veiligheidsmarges (VM) sterk tussen soorten, en kleinere marges werden gemeten bij de hydraulisch kwetsbare soorten: *Cissus* en *Acacia* (respectievelijk -0.043 en -0.88 MPa volgens PLC en -0.63 en -2.22 MPa volgens AE-methode).

Metingen van de elasticiteit en het uitdrogingspatroon van lianen geven echter aan dat vatbaarheidscurves (VC) en geassocieerde droogte-indicatoren, waaronder  $\psi_{s,50}$  en VM, niet volstaan om de werkelijke vatbaarheid voor hydraulisch falen van lianen te kunnen beoordelen. Zo behoudt *Cissus* gedurende lange tijd de functionaliteit in erg wijde en lange vaten en een hoge stamwaterpotentiaal door de aanwezigheid van grote interne waterreserves en een traag uitdrogingspatroon. Dit in tegenstelling tot de kleine interne waterreserves en snelle uitdroging bij *Acacia*, waardoor deze soort, ondanks een gemiddelde hydraulische veiligheid, kwetsbaar lijkt voor hydraulisch falen. Een breed spectrum aan plant-karakteristieken dient dus in rekening te worden gebracht bij de beoordeling van de hydraulische veiligheid van lianen.

## Verder onderzoek

Deze masterthesis toont de grote heterogeniteit van de hydraulische eigenschappen van de lianengroeivorm aan. Het is daarom essentieel lianen niet langer te beschouwen als een enkelvoudig functioneel type, en deze heterogeniteit mee in rekening te brengen bij de integratie van lianen in ecosysteemmodellen. Verdere verwerving van inzicht in de variabiliteit van de hydraulische eigenschappen van lianen is cruciaal om verschuivingen in de lianenpopulatie onder antropogene klimaatverandering te kunnen verklaren en voorspellen.

Deze studie roept daarom op tot meer onderzoek naar de hydraulische eigenschappen van lianen, en toont de noodzakelijkheid van de verderzetting van het lianen-onderzoek in neotropische droogbossen. Het opstellen van VC's en het afleiden van VM's voor een groter aantal soorten zou waardevolle data opleveren voor de verdere ontplooiing van ecosysteemmodellen. Een accurate weergave van het PLC-verloop is hierbij cruciaal. De onderliggende oorzaken van de grote verschillen in hydraulische veiligheid aangegeven door AE en PLC-methode moeten daarom verder worden onderzocht. De niet-destructieve aard van de AE-methode in combinatie met de continue registratie van embolismevorming op een enkele tak, maakt de AE-methode tot een veelbelovende techniek om de hydraulische veiligheid van lianen verder in kaart te brengen. Rekening houdend met het vatdimorfisme bij lianen is extra onderzoek naar de relatie tussen vatdiameter en -lengte, en hydraulische veiligheid echter noodzakelijk om de representativiteit van cumulatieve AE-signalen voor het PLC-verloop verder te verduidelijken. Non-invasieve beeldtechnieken zoals microtomografie kunnen dit eventuele verband kunnen verhelderen.

Meetcampagnes gedurende het droogseizoen zijn onontbeerlijk om de overlevingsstrategieën van lianen onder droogte te kunnen bestuderen, en VM's te kunnen bepalen. Stamwaterpotentiaalmetingen, uitgevoerd op het einde van het droogseizoen, kunnen relatief eenvoudig op een groot aantal soorten worden uitgevoerd, en zouden daarom als een leidraad kunnen dienen om de gehanteerde hydraulische strategieën verder te exploreren. Identificatie van soort-specifieke plant-karakteristieken, zoals de omvang en diepte van het wortelstelsel, de hydraulische capaciteit, een eventuele herverdeling van water, vatbaarheid-segmentatie en de evolutie van de waterpotentiaal gedurende een droogteperiode, is noodzakelijk om de hydraulische veiligheid van lianen te ontleden.

# Referenties

- J. L. Andrade, F. C. Meinzer, G. Goldstein en S. A. Schnitzer (2005). Water uptake and transport in lianas and co-occurring trees of a seasonally dry tropical forest. *Trees*, 19(3):282–289.
- G. Angeles en C. Leon-Gomez (1997). Bark anatomy of four tropical vitaceae from veracruz, mexico. *IAWA journal*, 18(3):215–228.
- V. Angyalossy, G. Angeles, M. R. Pace, A. C. Lima, C. L. Dias-Leme, L. G. Lohmann en C. Madero-Vega (2012). An overview of the anatomy, development and evolution of the vascular system of lianas. *Plant Ecology & Diversity*, 5(2):167–182.
- G. P. Asner en R. E. Martin (2012). Contrasting leaf chemical traits in tropical lianas and trees: implications for future forest composition. *Ecology Letters*, 15(9):1001–1007.
- A. Augusto, J. Tabanez en V. M. Viana (2000). Patch structure within brazilian atlantic forest fragments and implications for conservation 1. *Biotropica*, 32(4b):925–933.
- M. Barker en D. Pérez-Salicrup (2000). Effect of liana cutting on water potential and growth of adult senna multijuga (caesalpinioideae) trees in a bolivian tropical forest. *Oecologia*, 124(4):469–475.
- F.-W. Bentrup (2017). Water ascent in trees and lianas: the cohesion-tension theory revisited in the wake of otto renner. *Protoplasma*, 254(2):627–633.
- F. Bongers, C. E. Ewango, M. T. Van Der Sande en L. Poorter (2020). Liana species decline in congo basin contrasts with global patterns. *Ecology*.
- C. Brodersen en A. McElrone (2013). Maintenance of xylem network transport capacity: a review of embolism repair in vascular plants. *Frontiers in plant science*, 4:108.
- C. R. Brodersen, A. J. McElrone, B. Choat, M. A. Matthews en K. A. Shackel (2010). The dynamics of embolism repair in xylem: in vivo visualizations using high-resolution computed tomography. *Plant physiology*, 154(3):1088–1095.
- T. Brodribb en T. Feild (2000). Stem hydraulic supply is linked to leaf photosynthetic capacity: evidence from new caledonian and tasmanian rainforests. *Plant, Cell & Environment*, 23(12):1381–1388.



- T. J. Brodribb, T. S. Feild en G. J. Jordan (2007). Leaf maximum photosynthetic rate and venation are linked by hydraulics. *Plant physiology*, 144(4):1890–1898.
- T. J. Brodribb en N. M. Holbrook (2003). Stomatal closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits. *Plant Physiology*, 132(4):2166–2173.
- T. J. Brodribb, R. P. Skelton, S. A. McAdam, D. Bienaimé, C. J. Lucani en P. Marmottant (2016). Visual quantification of embolism reveals leaf vulnerability to hydraulic failure. *New Phytologist*, 209(4):1403–1409.
- S. J. Bucci, G. Goldstein, F. G. Scholz en F. C. Meinzer (2016). Physiological significance of hydraulic segmentation, nocturnal transpiration and capacitance in tropical trees: Paradigms revisited. In *Tropical tree physiology*, pp. 205–225. Springer.
- J. Cai en M. T. Tyree (2010). The impact of vessel size on vulnerability curves: data and models for within-species variability in saplings of aspen, populus tremuloides michx. *Plant, Cell & Environment*, 33(7):1059–1069.
- Z.-Q. Cai, S. A. Schnitzer en F. Bongers (2009). Seasonal differences in leaf-level physiology give lianas a competitive advantage over trees in a tropical seasonal forest. *Oecologia*, 161(1):25–33.
- P. I. Campanello, E. Manzané, M. Villagra, Y.-J. Zhang, A. M. Panizza, D. di Francescantonio, S. A. Rodriguez, Y.-J. Chen, L. S. Santiago en G. Goldstein (2016). Carbon allocation and water relations of lianas versus trees. In *Tropical tree physiology*, pp. 103–124. Springer.
- S. Carlquist (1984). Vessel grouping in dicotyledon wood. *Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany*, 10(4):505–525.
- S. Carlquist (2009). Xylem heterochrony: an unappreciated key to angiosperm origin and diversifications. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(1):26–65.
- E. C. D. Carvalho, F. R. Martins, A. A. Soares, R. S. Oliveira, C. R. Muniz en F. S. Araújo (2015). Hydraulic architecture of lianas in a semiarid climate: efficiency or safety? *Acta Botanica Brasilica*, 29(2):198–206.
- G. Charrier, J. M. Torres-Ruiz, E. Badel, R. Burlett, B. Choat, H. Cochard, C. E. Delmas, J.-C. Domec, S. Jansen, A. King *et al.* (2016). Evidence for hydraulic vulnerability segmentation and lack of xylem refilling under tension. *Plant Physiology*, 172(3):1657–1668.
- Y.-J. Chen, F. Bongers, K. Tomlinson, Z.-X. Fan, H. Lin, S.-B. Zhang, Y.-L. Zheng, Y.-P. Li, K.-F. Cao en J.-L. Zhang (2016). Time lags between crown and basal sap flows in tropical lianas and co-occurring trees. *Tree physiology*, 36(6):736–747.
- Y.-J. Chen, K.-F. Cao, S. A. Schnitzer, Z.-X. Fan, J.-L. Zhang en F. Bongers (2015). Water-use advantage for lianas over trees in tropical seasonal forests. *New Phytologist*, 205(1):128–136.

- Y.-J. Chen, S. A. Schnitzer, Y.-J. Zhang, Z.-X. Fan, G. Goldstein, K. W. Tomlinson, H. Lin, J.-L. Zhang en K.-F. Cao (2017). Physiological regulation and efficient xylem water transport regulate diurnal water and carbon balances of tropical lianas. *Functional Ecology*, 31(2):306–317.
- W. Chitarra, R. Balestrini, M. Vitali, C. Pagliarani, I. Perrone, A. Schubert en C. Lovisolo (2014). Gene expression in vessel-associated cells upon xylem embolism repair in *vitis vinifera* L. petioles. *Planta*, 239(4):887–899.
- B. Choat, M. C. Ball, J. G. Luly en J. A. Holtum (2005). Hydraulic architecture of deciduous and evergreen dry rainforest tree species from north-eastern australia. *Trees*, 19(3):305–311.
- B. Choat, A. R. Cobb en S. Jansen (2008). Structure and function of bordered pits: new discoveries and impacts on whole-plant hydraulic function. *New phytologist*, 177(3):608–626.
- B. Choat, D. Creek, M. Gullo, A. Nardini, E. Oddo, F. Raimondo, J. M. Torres-Ruiz, P. Trifilo en A. Vilagrosa (2015). Prometheuswiki - quantification of vulnerability to xylem embolism - bench dehydration. *PrometheusWiki*.
- B. Choat, S. Jansen, T. J. Brodribb, H. Cochard, S. Delzon, R. Bhaskar, S. J. Bucci, T. S. Feild, S. M. Gleason, U. G. Hacke *et al.* (2012). Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature*, 491(7426):752–755.
- H. Cochard (2006). Cavitation in trees. *Comptes Rendus Physique*, 7(9-10):1018–1026.
- H. Cochard, E. Badel, S. Herbette, S. Delzon, B. Choat en S. Jansen (2013). Methods for measuring plant vulnerability to cavitation: a critical review. *Journal of Experimental Botany*, 64(15):4779–4791.
- H. Cochard, P. Cruiziat en M. T. Tyree (1992). Use of positive pressures to establish vulnerability curves: further support for the air-seeding hypothesis and implications for pressure-volume analysis. *Plant Physiology*, 100(1):205–209.
- H. Cochard en S. Delzon (2013). Hydraulic failure and repair are not routine in trees. *Annals of Forest Science*, 70(7):659–661.
- N. De Baerdemaeker (2018). *From hydraulics to acoustics in drought-induced cavitation in plants*. Ph.D. thesis, Ghent University.
- N. J. De Baerdemaeker, K. N. R. Arachchige, J. Zinkernagel, J. Van den Bulcke, J. Van Acker, H. J. Schenk en K. Steppe (2019). The stability enigma of hydraulic vulnerability curves: addressing the link between hydraulic conductivity and drought-induced embolism. *Tree physiology*, 39(10):1646–1664.
- H. De Deurwaerder, P. Hervé-Fernández, C. Stahl, B. Burban, P. Petronelli, B. Hoffman, D. Bonal, P. Boeckx en H. Verbeeck (2018). Liana and tree below-ground water competition—evidence for water resource partitioning during the dry season. *Tree physiology*, 38(7):1071–1083.

- 
- M. E. De Guzman, L. S. Santiago, S. A. Schnitzer en L. Álvarez-Cansino (2017). Trade-offs between water transport capacity and drought resistance in neotropical canopy liana and tree species. *Tree Physiology*, 37(10):1404–1414.
- S. J. DeWalt, S. A. Schnitzer, J. Chave, F. Bongers, R. J. Burnham, Z. Cai, G. Chuyong, D. B. Clark, C. E. Ewango, J. J. Gerwing *et al.* (2010). Annual rainfall and seasonality predict pan-tropical patterns of liana density and basal area. *Biotropica*, 42(3):309–317.
- M. Di Porcia E Brugnera, F. Meunier, M. Longo, S. M. Krishna Moorthy, H. De Deurwaerder, S. A. Schnitzer, D. Bonal, B. Faybishenko en H. Verbeeck (2019). Modeling the impact of liana infestation on the demography and carbon cycle of tropical forests. *Global change biology*, 25(11):3767–3780.
- A. S. Dias, R. S. Oliveira, F. R. Martins, F. Bongers, N. P. Anten en F. Sterck (2019). How do lianas and trees change their vascular strategy in seasonal versus rain forest? *Perspectives in plant ecology, evolution and systematics*, 40:125465.
- H. H. Dixon en J. Joly (1895). Xii. on the ascent of sap. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London.(B.)*, (186):563–576.
- L. Donovan, D. Grise, J. West, R. Pappert, N. Alder en J. Richards (1999). Predawn disequilibrium between plant and soil water potentials in two cold-desert shrubs. *Oecologia*, 120(2):209–217.
- J. Epila, N. J. De Baerdemaeker, L. L. Vergeynst, W. H. Maes, H. Beeckman en K. Steppe (2017). Capacitive water release and internal leaf water relocation delay drought-induced cavitation in african maesopsis eminii. *Tree physiology*, 37(4):481–490.
- F. W. Ewers, H. Cochard en M. T. Tyree (1997). A survey of root pressures in vines of a tropical lowland forest. *Oecologia*, 110(2):191–196.
- F. W. Ewers, J. A. Rosell en M. E. Olson (2015). Lianas as structural parasites. In *Functional and ecological xylem anatomy*, pp. 163–188. Springer.
- J. B. Fisher, A. Guillermo Angeles, F. W. Ewers en J. Lopez-Portillo (1997). Survey of root pressure in tropical vines and woody species. *International journal of plant sciences*, 158(1):44–50.
- A. Ganthaler, K. Marx, B. Beikircher en S. Mayr (2019). Are hydraulic patterns of lianas different from trees? new insights from heder helix. *Journal of experimental botany*, 70(10):2811–2822.
- A. H. Gentry en R. Vasquez (1993). A field guide to the families and genera of woody plants of northwest south america (colombia, ecuador, peru): with supplementary notes on herbaceous taxa.
- J. J. Gerwing en D. L. Farias (2000). Integrating liana abundance and forest stature into an estimate of total aboveground biomass for an eastern amazonian forest. *Journal of tropical ecology*, 16(3):327–335.
-

- C. Gimenez, M. Gallardo en R. Thompson (2013). Plant–water relations.
- S. M. Gleason, D. W. Butler, K. Ziemińska, P. Waryszak en M. Westoby (2012). Stem xylem conductivity is key to plant water balance across australian angiosperm species. *Functional Ecology*, 26(2):343–352.
- S. M. Gleason, M. Westoby, S. Jansen, B. Choat, U. G. Hacke, R. B. Pratt, R. Bhaskar, T. J. Brodribb, S. J. Bucci, K.-F. Cao *et al.* (2016). Weak tradeoff between xylem safety and xylem-specific hydraulic efficiency across the world’s woody plant species. *New Phytologist*, 209(1):123–136.
- U. G. Hacke, J. S. Sperry, J. K. Wheeler en L. Castro (2006). Scaling of angiosperm xylem structure with safety and efficiency. *Tree physiology*, 26(6):689–701.
- K. Hargrave, K. Kolb, F. Ewers en S. Davis (1994). Conduit diameter and drought-induced embolism in *salvia mellifera* greene (labiatae). *New Phytologist*, 126(4):695–705.
- S. Herbette en H. Cochard (2010). Calcium is a major determinant of xylem vulnerability to cavitation. *Plant Physiology*, 153(4):1932–1939.
- N. Holbrook (1995). Stem water storage. plant stems: physiology and functional morphology. *Ed. BL Gartner*, pp. 151–174.
- T. Hölttä, H. Cochard, E. Nikinmaa en M. Mencuccini (2009). Capacitive effect of cavitation in xylem conduits: results from a dynamic model. *Plant, Cell & Environment*, 32(1):10–21.
- T. Hölttä, E. Juurola, L. Lindfors en A. Porcar-Castell (2012). Cavitation induced by a surfactant leads to a transient release of water stress and subsequent ‘run away’ embolism in scots pine (*pinus sylvestris*) seedlings. *Journal of experimental botany*, 63(2):1057–1067.
- L. L. Ingwell, S. Joseph Wright, K. K. Becklund, S. P. Hubbell en S. A. Schnitzer (2010). The impact of lianas on 10 years of tree growth and mortality on barro colorado island, panama. *Journal of Ecology*, 98(4):879–887.
- A. Jacobsen (2011a). *Flushing plant samples in order to determine maximum hydraulic conductivity.*
- A. Jacobsen (2011b). Measuring the hydraulic conductivity of plant samples.
- A. L. Jacobsen en R. B. Pratt (2012). No evidence for an open vessel effect in centrifuge-based vulnerability curves of a long-vesselled liana (*vitis vinifera*). *New Phytologist*, 194(4):982–990.
- A. L. Jacobsen, R. B. Pratt, M. F. Tobin, U. G. Hacke en F. W. Ewers (2012). A global analysis of xylem vessel length in woody plants. *American journal of botany*, 99(10):1583–1591.
- S. Jansen, B. Choat en A. Pletsers (2009). Morphological variation of intervessel pit membranes and implications to xylem function in angiosperms. *American journal of botany*, 96(2):409–419.

- 
- S. Jansen en H. J. Schenk (2015). On the ascent of sap in the presence of bubbles. *American Journal of Botany*, 102(10):1561–1563.
- S. Jansen, B. Schuldt en B. Choat (2015). Current controversies and challenges in applying plant hydraulic techniques. *New Phytologist*, 205(3):961–964.
- M. Jiménez-Castillo en C. H. Lusk (2013). Vascular performance of woody plants in a temperate rain forest: lianas suffer higher levels of freeze–thaw embolism than associated trees. *Functional Ecology*, 27(2):403–412.
- D. M. Johnson, J.-C. Domec, D. R. Woodruff, K. A. McCulloh en F. C. Meinzer (2013). Contrasting hydraulic strategies in two tropical lianas and their host trees. *American journal of botany*, 100(2):374–383.
- S. Kikuta, M. Lo Gullo, A. Nardini, H. Richter en S. Salleo (1997). Ultrasound acoustic emissions from dehydrating leaves of deciduous and evergreen trees. *Plant, Cell & Environment*, 20(11):1381–1390.
- S. Kikuta en H. Richter (2003). Ultrasound acoustic emissions from freezing xylem. *Plant, Cell & Environment*, 26(3):383–388.
- T. Klein, M. J. Zeppel, W. R. Anderegg, J. Bloemen, M. G. De Kauwe, P. Hudson, N. K. Ruehr, T. L. Powell, G. von Arx en A. Nardini (2018). Xylem embolism refilling and resilience against drought-induced mortality in woody plants: processes and trade-offs. *Ecological research*, 33(5):839–855.
- M. Klepsch, Y. Zhang, M. M. Kotowska, L. J. Lamarque, M. Nolf, B. Schuldt, J. M. Torres-Ruiz, D.-W. Qin, B. Choat, S. Delzon *et al.* (2018). Is xylem of angiosperm leaves less resistant to embolism than branches? insights from microct, hydraulics, and anatomy. *Journal of Experimental Botany*, 69(22):5611–5623.
- T. Kozłowski en P. Kramer (1991). Pallardy, the physiological ecology of woody plants.
- H. Lambers, F. S. Chapin III en T. L. Pons (2008). *Plant physiological ecology*. Springer Science & Business Media.
- F. Lens, J. S. Sperry, M. A. Christman, B. Choat, D. Rabaey en S. Jansen (2011). Testing hypotheses that link wood anatomy to cavitation resistance and hydraulic conductivity in the genus acer. *New phytologist*, 190(3):709–723.
- X. Li, S. Delzon, J. Torres-Ruiz, E. Badel, R. Burlett, H. Cochard, S. Jansen, A. King, L. Lamarque, N. Lenoir *et al.* (2020). Lack of vulnerability segmentation in four angiosperm tree species: evidence from direct x-ray microtomography observation. *Annals of Forest Science*, 77(2):1–12.
-

- L. Loepfe, J. Martinez-Vilalta, J. Pinol en M. Mencuccini (2007). The relevance of xylem network structure for plant hydraulic efficiency and safety. *Journal of Theoretical Biology*, 247(4):788–803.
- K. A. McCulloh en J. S. Sperry (2005). Patterns in hydraulic architecture and their implications for transport efficiency. *Tree Physiology*, 25(3):257–267.
- N. McDowell, W. T. Pockman, C. D. Allen, D. D. Breshears, N. Cobb, T. Kolb, J. Plaut, J. Sperry, A. West, D. G. Williams *et al.* (2008). Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New phytologist*, 178(4):719–739.
- F. C. Meinzer, M. J. Clearwater en G. Goldstein (2001). Water transport in trees: current perspectives, new insights and some controversies. *Environmental and Experimental Botany*, 45(3):239–262.
- P. J. Melcher, N. Michele Holbrook, M. J. Burns, M. A. Zwieniecki, A. R. Cobb, T. J. Brodribb, B. Choat en L. Sack (2012). Measurements of stem xylem hydraulic conductivity in the laboratory and field. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(4):685–694.
- F. Meunier, S. M. Krishna Moorthy, H. De Deurwaerder, R. Kreuz, J. Van den Bulcke, R. Lehnebach en H. Verbeeck (2020). Within-site variability of liana wood anatomical traits: A case study in laussat, french guiana. *Forests*, 11(5):523.
- J. Nabe-Nielsen, J. Kollmann en M. Peña-Claros (2009). Effects of liana load, tree diameter and distances between conspecifics on seed production in tropical timber trees. *Forest Ecology and Management*, 257(3):987–993.
- A. Nardini, M. A. L. Gullo en S. Salleo (2011). Refilling embolized xylem conduits: is it a matter of phloem unloading? *Plant Science*, 180(4):604–611.
- M. Nolf, B. Beikircher, S. Rosner, A. Nolf en S. Mayr (2015a). Xylem cavitation resistance can be estimated based on time-dependent rate of acoustic emissions. *New Phytologist*, 208(2):625–632.
- M. Nolf, D. Creek, R. Duursma, J. Holtum, S. Mayr en B. Choat (2015b). Stem and leaf hydraulic properties are finely coordinated in three tropical rain forest tree species. *Plant, Cell & Environment*, 38(12):2652–2661.
- M. E. Olson, T. Anfodillo, J. A. Rosell, G. Petit, A. Crivellaro, S. Isnard, C. León-Gómez, L. O. Alvarado-Cárdenas en M. Castorena (2014). Universal hydraulics of the flowering plants: vessel diameter scales with stem length across angiosperm lineages, habits and climates. *Ecology Letters*, 17(8):988–997.
- D. Or en M. Tuller (2002). Cavitation during desaturation of porous media under tension. *Water Resources Research*, 38(5):19–1.

- 
- G. S. Paul en J. B. Yavitt (2011). Tropical vine growth and the effects on forest succession: a review of the ecology and management of tropical climbing plants. *The Botanical Review*, 77(1):11–30.
- G. J. Peirce (1936). Are living cells involved in the ascent of sap? *American Journal of Botany*, pp. 159–162.
- O. L. Phillips, R. V. Martínez, L. Arroyo, T. R. Baker, T. Killeen, S. L. Lewis, Y. Malhi, A. M. Mendoza, D. Neill, P. N. Vargas *et al.* (2002). Increasing dominance of large lianas in amazonian forests. *Nature*, 418(6899):770–774.
- O. L. Phillips, R. Vásquez Martínez, A. Monteagudo Mendoza, T. R. Baker en P. Núñez Vargas (2005). Large lianas as hyperdynamic elements of the tropical forest canopy. *Ecology*, 86(5):1250–1258.
- J. S. Powers, G. Vargas G, T. J. Brodribb, N. B. Schwartz, D. Pérez-Aviles, C. M. Smith-Martin, J. M. Becknell, F. Aureli, R. Blanco, E. Calderón-Morales *et al.* (2020). A catastrophic tropical drought kills hydraulically vulnerable tree species. *Global change biology*, 26(5):3122–3133.
- P. B. Reich (2014). The world-wide ‘fast–slow’ plant economics spectrum: a traits manifesto. *Journal of Ecology*, 102(2):275–301.
- J. Reid, S. Schnitzer en J. Powers (2015). Soil moisture variation after liana removal in a seasonally moist, lowland tropical forest. *PLoS ONE*, 10:e0141891.
- T. G. Restom en D. C. Nepstad (2004). Seedling growth dynamics of a deeply rooting liana in a secondary forest in eastern amazonia. *Forest Ecology and Management*, 190(1):109–118.
- F. E. Rockwell, J. K. Wheeler en N. M. Holbrook (2014). Cavitation and its discontents: opportunities for resolving current controversies. *Plant physiology*, 164(4):1649–1660.
- M. E. Rodríguez-Ronderos, G. Bohrer, A. Sanchez-Azofeifa, J. S. Powers en S. A. Schnitzer (2016). Contribution of lianas to plant area index and canopy structure in a panamanian forest. *Ecology*, 97(12):3271–3277.
- L. Sack en N. M. Holbrook (2006). Leaf hydraulics. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 57:361–381.
- S. Salleo, A. Nardini, F. Pitt en M. A. L. Gullo (2000). Xylem cavitation and hydraulic control of stomatal conductance in laurel (*laurus nobilis* L.). *Plant, Cell & Environment*, 23(1):71–79.
- L. S. Santiago, G. Goldstein, F. C. Meinzer, J. B. Fisher, K. Machado, D. Woodruff en T. Jones (2004). Leaf photosynthetic traits scale with hydraulic conductivity and wood density in panamanian forest canopy trees. *Oecologia*, 140(4):543–550.
- L. S. Santiago en S. J. Wright (2007). Leaf functional traits of tropical forest plants in relation to growth form. *Functional Ecology*, 21(1):19–27.
-

- H. J. Schenk, S. Espino, D. M. Romo, N. Nima, A. Y. Do, J. M. Michaud, B. Papahadjopoulos-Sternberg, J. Yang, Y. Y. Zuo, K. Steppe *et al.* (2017). Xylem surfactants introduce a new element to the cohesion-tension theory. *Plant Physiology*, 173(2):1177–1196.
- H. J. Schenk, K. Steppe en S. Jansen (2015). Nanobubbles: a new paradigm for air-seeding in xylem. *Trends in plant science*, 20(4):199–205.
- F. Schnitzer, Stefan A en Bongers (2002). The ecology of lianas and their role in forests. *Trends in Ecology & Evolution*, 17(5):223–230.
- S. A. Schnitzer (2005). A mechanistic explanation for global patterns of liana abundance and distribution. *The American Naturalist*, 166(2):262–276.
- S. A. Schnitzer (2018). Testing ecological theory with lianas. *New Phytologist*, 220(2):366–380.
- S. A. Schnitzer en F. Bongers (2011). Increasing liana abundance and biomass in tropical forests: emerging patterns and putative mechanisms. *Ecology letters*, 14(4):397–406.
- S. A. Schnitzer en G. M. Van Der Heijden (2019). Lianas have a seasonal growth advantage over co-occurring trees. *Ecology*, 100(5):e02655.
- W. P. Schnitzer, Stefan A en Carson (2001). Treefall gaps and the maintenance of species diversity in a tropical forest. *Ecology*, 82(4):913–919.
- P. F. Scholander, E. D. Bradstreet, E. Hemmingsen en H. Hammel (1965). Sap pressure in vascular plants: negative hydrostatic pressure can be measured in plants. *Science*, 148(3668):339–346.
- C. Scoffoni, A. D. McKown, M. Rawls en L. Sack (2012). Dynamics of leaf hydraulic conductance with water status: quantification and analysis of species differences under steady state. *Journal of Experimental Botany*, 63(2):643–658.
- F. Secchi, C. Pagliarani en M. A. Zwieniecki (2017). The functional role of xylem parenchyma cells and aquaporins during recovery from severe water stress. *Plant, cell & environment*, 40(6):858–871.
- F. Secchi en M. A. Zwieniecki (2011). Sensing embolism in xylem vessels: the role of sucrose as a trigger for refilling. *Plant, cell & environment*, 34(3):514–524.
- R. Skelton en J. Diaz (2020). Quantifying losses of plant hydraulic function: seeing the forest, the trees and the xylem. *Tree Physiology*, 40(3):285–289.
- R. P. Skelton, T. E. Dawson, S. E. Thompson, Y. Shen, A. P. Weitz en D. Ackerly (2018). Low vulnerability to xylem embolism in leaves and stems of north american oaks. *Plant physiology*, 177(3):1066–1077.
- A. M. Smith (1994). Xylem transport and the negative pressures sustainable by water. *Annals of Botany*, 74(6):647–651.



- C. M. Smith-Martin, C. L. Bastos, O. R. Lopez, J. S. Powers en S. A. Schnitzer (2019a). Effects of dry-season irrigation on leaf physiology and biomass allocation in tropical lianas and trees. *Ecology*, 100(11):e02827.
- C. M. Smith-Martin, R. P. Skelton, K. M. Johnson, C. Lucani en T. J. Brodribb (2020). Lack of vulnerability segmentation among woody species in a diverse dry sclerophyll woodland community. *Functional Ecology*.
- C. M. Smith-Martin, X. Xu, D. Medvigy, S. A. Schnitzer en J. S. Powers (2019b). Allometric scaling laws linking biomass and rooting depth vary across ontogeny and functional groups in tropical dry forest lianas and trees. *New Phytologist*.
- J. Sperry, J. Donnelly en M. Tyree (1988). A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant, Cell & Environment*, 11(1):35–40.
- J. S. Sperry, N. M. Holbrook, M. H. Zimmermann en M. T. Tyree (1987). Spring filling of xylem vessels in wild grapevine. *Plant physiology*, 83(2):414–417.
- K. Steppe (2018). *Cursus ecofysiologie deel 1: Waterhuishouding*.
- K. Steppe, F. Sterck en A. Deslauriers (2015). Diel growth dynamics in tree stems: linking anatomy and ecophysiology. *Trends in plant science*, 20(6):335–343.
- G. C. Stevens (1987). Lianas as structural parasites: the bursera simaruba example. *Ecology*, 68(1):77–81.
- L. Tack (2019). Hydraulic traits of tropical trees and lianas in the high andean forest in the azuay province, ecuador.
- F. Tardieu en T. Simonneau (1998). Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours. *Journal of experimental botany*, pp. 419–432.
- M. Tomasella, K.-H. Häberle, A. Nardini, B. Hesse, A. Machlet en R. Matyssek (2017). Post-drought hydraulic recovery is accompanied by non-structural carbohydrate depletion in the stem wood of norway spruce saplings. *Scientific reports*, 7(1):1–13.
- J. M. Torres-Ruiz, S. Jansen, B. Choat, A. J. McElrone, H. Cochard, T. J. Brodribb, E. Badel, R. Burlett, P. S. Bouche, C. R. Brodersen *et al.* (2015). Direct x-ray microtomography observation confirms the induction of embolism upon xylem cutting under tension. *Plant Physiology*, 167(1):40–43.
- P. Trifilò, N. Kiorapostolou, F. Petruzzellis, S. Vitti, G. Petit, M. A. L. Gullo, A. Nardini en V. Casolo (2019). Hydraulic recovery from xylem embolism in excised branches of twelve woody species: Relationships with parenchyma cells and non-structural carbohydrates. *Plant Physiology and Biochemistry*, 139:513–520.

- P. Trifilo, F. Raimondo, M. A. Lo Gullo, P. M. Barbera, S. Salleo en A. Nardini (2014). Relax and refill: xylem rehydration prior to hydraulic measurements favours embolism repair in stems and generates artificially low plc values. *Plant, Cell & Environment*, 37(11):2491–2499.
- M. T. Tyree (1997). The cohesion-tension theory of sap ascent: current controversies. *Journal of Experimental Botany*, 48(10):1753–1765.
- M. T. Tyree, S. D. Davis en H. Cochard (1994). Biophysical perspectives of xylem evolution: is there a tradeoff of hydraulic efficiency for vulnerability to dysfunction? *IAWA journal*, 15(4):335–360.
- M. T. Tyree en M. A. Dixon (1986). Water stress induced cavitation and embolism in some woody plants. *Physiologia Plantarum*, 66(3):397–405.
- M. T. Tyree en F. W. Ewers (1991). The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist*, 119(3):345–360.
- M. T. Tyree en J. S. Sperry (1988). Do woody plants operate near the point of catastrophic xylem dysfunction caused by dynamic water stress?: answers from a model. *Plant physiology*, 88(3):574–580.
- M. T. Tyree en J. S. Sperry (1989). Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual review of plant biology*, 40(1):19–36.
- M. T. Tyree, V. Velez en J. W. Dalling (1998). Growth dynamics of root and shoot hydraulic conductance in seedlings of five neotropical tree species: scaling to show possible adaptation to differing light regimes. *Oecologia*, 114(3):293–298.
- T. Van Den Honert (1948). Water transport in plants as a catenary process. *Discussions of the Faraday Society*, 3:146–153.
- G. Van Der Heijden en O. Phillips (2009). Liana infestation impacts tree growth in a lowland tropical moist forest. *Biogeosciences*, 6(10).
- G. M. Van Der Heijden en O. L. Phillips (2008). What controls liana success in neotropical forests? *Global Ecology and Biogeography*, 17(3):372–383.
- G. M. Van Der Heijden, J. S. Powers en S. A. Schnitzer (2015). Lianas reduce carbon accumulation and storage in tropical forests. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(43):13267–13271.
- M. T. Van Der Sande, L. Poorter, S. A. Schnitzer, B. M. Engelbrecht en L. Markesteijn (2019). The hydraulic efficiency–safety trade-off differs between lianas and trees. *Ecology*, 100(5):e02666.
- M. T. Van Der Sande, L. Poorter, S. A. Schnitzer en L. Markesteijn (2013). Are lianas more drought-tolerant than trees? a test for the role of hydraulic architecture and other stem and leaf traits. *Oecologia*, 172(4):961–972.

- M. D. Venturas, E. D. MacKinnon, A. L. Jacobsen en R. B. Pratt (2015). Excising stem samples underwater at native tension does not induce xylem cavitation. *Plant, Cell & Environment*, 38(6):1060–1068.
- H. Verbeeck en E. Kearsley (2016). The importance of including lianas in global vegetation models. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(1):E4–E4.
- L. Vergeynst, M. G. Sause en K. Steppe (2014). Acoustic emission signal detection in drought-stressed trees: beyond counting hits. In *31st conference of the European Working Group on Acoustic Emission (EWGAE)*.
- L. L. Vergeynst, M. Dierick, J. A. Bogaerts, V. Cnudde en K. Steppe (2015). Cavitation: a blessing in disguise? new method to establish vulnerability curves and assess hydraulic capacitance of woody tissues. *Tree Physiology*, 35(4):400–409.
- L. L. Vergeynst, M. G. Sause, N. J. De Baerdemaeker, L. De Roo en K. Steppe (2016). Clustering reveals cavitation-related acoustic emission signals from dehydrating branches. *Tree physiology*, 36(6):786–796.
- A. Vilagrosa, E. Chirino, J.-J. Peguero-Pina, T. S. Barigah, H. Cochard en E. Gil-Pelegrin (2012). Xylem cavitation and embolism in plants living in water-limited ecosystems. In *Plant responses to drought stress*, pp. 63–109. Springer.
- Z.-Y. Wang, K. S. Gould en K. J. Patterson (1994). Structure and development of mucilage-crystal idioblasts in the roots of five actinidia species. *International journal of plant sciences*, 155(3):342–349.
- B. G. Waring, D. Pérez-Aviles, J. G. Murray en J. S. Powers (2019). Plant community responses to stand-level nutrient fertilization in a secondary tropical dry forest. *Ecology*, 100(6):e02691.
- L. K. Werden, B. G. Waring, C. M. Smith-Martin en J. S. Powers (2018). Tropical dry forest trees and lianas differ in leaf economic spectrum traits but have overlapping water-use strategies. *Tree physiology*, 38(4):517–530.
- J. K. Wheeler, B. A. Huggett, A. N. Tofte, F. E. Rockwell en N. M. Holbrook (2013). Cutting xylem under tension or supersaturated with gas can generate plc and the appearance of rapid recovery from embolism. *Plant, Cell & Environment*, 36(11):1938–1949.
- J. K. Wheeler, J. S. Sperry, U. G. Hacke en N. Hoang (2005). Inter-vessel pitting and cavitation in woody rosaceae and other vesselled plants: a basis for a safety versus efficiency trade-off in xylem transport. *Plant, Cell & Environment*, 28(6):800–812.
- T. Whitmore (1984). *Tropical rain forests of the Par East*. Oxford University Press, Oxford.
- I. J. Wright, P. B. Reich, M. Westoby, D. D. Ackerly, Z. Baruch, F. Bongers, J. Cavender-Bares, T. Chapin, J. H. Cornelissen, M. Diemer *et al.* (2004). The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, 428(6985):821–827.

- S. J. Wright, I.-F. Sun, M. Pickering, C. D. Fletcher en Y.-Y. Chen (2015). Long-term changes in liana loads and tree dynamics in a malaysian forest. *Ecology*, 96(10):2748–2757.
- T. P. Wyka, J. Oleksyn, P. Karolewski en S. A. Schnitzer (2013). Phenotypic correlates of the lianescent growth form: a review. *Annals of Botany*, 112(9):1667–1681.
- A. E. Zanne, M. Westoby, D. S. Falster, D. D. Ackerly, S. R. Loarie, S. E. Arnold en D. A. Coomes (2010). Angiosperm wood structure: global patterns in vessel anatomy and their relation to wood density and potential conductivity. *American Journal of Botany*, 97(2):207–215.
- L. Zhang, Y. Chen, K. Ma, F. Bongers en F. J. Sterck (2019). Fully exposed canopy tree and liana branches in a tropical forest differ in mechanical traits but are similar in hydraulic traits. *Tree Physiology*, 39(10):1713–1724.
- K.-F. Zhu, Shi-Dan Cao (2009). Hydraulic properties and photosynthetic rates in co-occurring lianas and trees in a seasonal tropical rainforest in southwestern china. *Plant Ecology*, 204(2):295–304.
- S.-D. Zhu en K.-F. Cao (2010). Contrasting cost–benefit strategy between lianas and trees in a tropical seasonal rain forest in southwestern china. *Oecologia*, 163(3):591–599.
- S.-D. Zhu, Y.-J. Chen, P.-L. Fu en K.-F. Cao (2017). Different hydraulic traits of woody plants from tropical forests with contrasting soil water availability. *Tree Physiology*, 37(11):1469–1477.
- M. H. Zimmermann (1978). Hydraulic architecture of some diffuse-porous trees. *Canadian Journal of Botany*, 56(18):2286–2295.
- M. H. Zimmermann (2013). *Xylem structure and the ascent of sap*. Springer Science & Business Media.
- U. Zimmermann, H. Schneider, L. H. Wegner en A. Haase (2004). Water ascent in tall trees: does evolution of land plants rely on a highly metastable state? *New Phytologist*, 162(3):575–615.
- V. Zufferey, H. Cochard, T. Ameglio, J.-L. Spring en O. Viret (2011). Diurnal cycles of embolism formation and repair in petioles of grapevine (*vitis vinifera* cv. chasselas). *Journal of experimental botany*, 62(11):3885–3894.

# Appendix

**Tabel 1:**  $R^2$  van de stress-strain en stress-tijd relatie voor de individuele takken van de lianen *Acacia*, *Cydista*, *Cissus*, *Banisteriopsis* en *Serjania*. Voor het gesegmenteerde verband van de stress-strain relatie bij *Banisteriopsis* en *Serjania* en de stress-tijd relatie bij *Cissus* zijn twee waarden gegeven, één voor en één na het buigpunt.

Soort	$R^2$ stress-strain	$R^2$ stress-tijd
Acacia 1	0.87	0.96
Acacia 2		0.98
Cydista 1	0.73	0.86
Cydista 2	0.87	0.98
Cydista 3	0.87	0.96
Cydista 4	0.93	0.95
Cydista 5	0.88	0.95
Cissus 1	0.63	0.27 0.41
Cissus 2	0.77	0.75 0.12
Cissus 3	0.89	0.91 0.01
Cissus 4	0.55	0.60 0.29
Banisteriopsis 1	0.99 0.91	0.90
Banisteriopsis 2	0.65 0.87	0.90
Serjania 1	0.93 0.96	0.96
Serjania 2	0.94	0.94