

## Die Wirkung der N-Ernährung auf die C- und N-Versorgung des Blattwachstums von Deutsch Weidelgras

M. Wild, F.A. Lattanzi, C. A. Lehmeier, R. Schäufele, H. Schnyder

Lehrstuhl für Grünlandlehre, Technische Universität München, Am Hochanger 1,  
D-85350 Freising-Weihenstephan; Email: mwild@wzw.tum.de

### Einleitung

Die Wachstumszone eines Grasblattes ist vollständig abhängig von der Assimilatversorgung durch andere Pflanzenteile. Die Assimilatversorgung erfolgt über das Phloem in Form von Saccharose und Aminosäuren (FISHER und MACNICOL, 1986; HAYASHI und CHINO, 1990). Die beiden Assimilate können sowohl durch die aktuelle Photosynthese und N-Aufnahme als auch durch die Mobilisierung von Speichern (Kohlehydrate oder Proteine) bereit gestellt werden (Abb. 1, siehe auch LATTANZI *et al.*, 2005).

Es ist bekannt, dass N-Mangel die Konzentration von Reservekohlehydraten (v.a. Fruktan) im Spross erhöht und die Proteinkonzentration senkt. Es ist aber unbekannt, welchen Einfluss diese Effekte auf den tatsächlichen Beitrag von Kohlehydratreserven und mobilisierten Proteinen zum Blattwachstum haben.

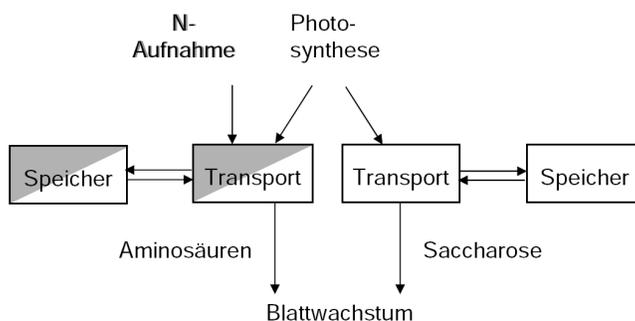


Abbildung 1: Hypothetisches Minimalmodell des Assimilatversorgungssystems der Blattwachstumszone. An der C-Versorgung sind 4 Pools beteiligt, an der N-Versorgung 2 Pools, wobei bei Saccharose (C und N) und Aminosäuren (N) die Transportformen sind. Direkt translozierte Assimilate durchfließen auf dem Weg zur Wachstumszone nur den Transportpool, speicherbürtige passieren zusätzlich den Speicher.

Ziel dieser Studie war es deshalb, den Einfluss der N-Ernährung auf den Beitrag von Reserven bezüglich der C- und N-Versorgung des Blattwachstums zu quantifizieren. Darüber hinaus haben wir untersucht, wie die N-Ernährung funktionelle Eigenschaften der verschiedenen Kompartimente (Pools) des Saccharose- und Aminosäure-Versorgungssystems (Größe und Halbwertszeit) beeinflusst. Diese Untersuchungen erfolgten mithilfe von  $^{13}\text{C}$ - und  $^{15}\text{N}$ -Markierung und kompartimenteller Modellierung des Zeitverlaufs der  $^{13}\text{C}$ - und  $^{15}\text{N}$ -Markierung im Importsubstrat der Wachstumszone. Ein vorläufiger Bericht zu dieser Thematik wurde bereits früher gegeben (WILD *et al.*, 2006).

## Material und Methoden

Deutsch Weidelgras Pflanzen (*Lolium perenne*, Sorte Acento) wurden in vier Wachstumskammern bei kontinuierlichem Licht mit einer Photonenflussdichte von  $275 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , einer Temperatur von  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  und einer relativen Luftfeuchte von 85 % angezogen. Die Pflanzenbestände wurden acht Mal pro Tag mit einer Nährlösung gewässert. Es wurden zwei N-Stufen differenziert: die Niedrig-N-Variante erhielt  $1,0 \text{ mM NO}_3^-$ , die Hoch-N-Variante  $7,5 \text{ mM NO}_3^-$ . Die Wachstumskammern waren Teil eines  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  Gasaustausch- und Markierungssystems (SCHNYDER *et al.*, 2003). Pflanzen der beiden N-Stufen wurden in jeweils zwei Kammern angezogen, wobei eine Kammer  $\text{CO}_2$  mit  $\delta^{13}\text{C}$  von  $-28,8 \text{ ‰}$  und  $\text{NO}_3^-$  mit 1 Atom %  $^{15}\text{N}$  erhielt, und die andere  $\text{CO}_2$  mit  $\delta^{13}\text{C}$  von  $-1,7 \text{ ‰}$  und  $\text{NO}_3^-$  mit 0,37 Atom %  $^{15}\text{N}$ . Zum Zweck der Markierung wurden Pflanzen innerhalb der N-Stufe zwischen den Kammern ausgetauscht und nach unterschiedlich langer Expositionsdauer (2 Stunden bis zu 39 Tage) aus den Kammern entnommen, und die Wachstumszone und ein angrenzendes Gewebestück, wie bei LATTANZI *et al.* (2005) beschrieben, geerntet. Die isotopische Zusammensetzung dieser Gewebe wurde in einem Massenspektrometer analysiert, und der Anteil an unmarkiertem C und N berechnet (SCHNYDER und DE VISSER, 1999). Die Markierungskinetik von C und N im Importfluss in die Wachstumszone wurde nach LATTANZI *et al.* (2005) ermittelt. Ebenso erfolgte die Modellierung der Poolkinetiken ähnlich wie von LATTANZI *et al.* (2005) beschrieben.

## Ergebnisse und Diskussion

Die N-Ernährung hatte einen starken Einfluss auf das Blattwachstum: Niedrig-N verlangsamte die Blattwachstumsrate um 47 %, verkleinerte die Blattwachstumszone um 44 %, und verringerte den Importfluss von Aminosäuren und Saccharose um 77 % bzw. 30 %.

### Markierungskinetik des Importflusses

Hoch-N beschleunigte den Einbau von markiertem C und N in das Substrat welches in die Wachstumszone importiert wird (Abb. 2). Die Markierungskinetik des importierten C zeigte in beiden N-Stufen drei markante Phasen: eine erste Phase mit sehr schneller Zunahme der Markierung (erste 4 bis 8 Stunden), eine zweite Phase mit langsamerer Markierung (bis ca. 48 Stunden) und eine dritte Phase mit sehr stark verlangsamter Markierung (Abb. 2). Bei Hoch-N war die Hälfte des Importflusses nach knapp 3 Stunden markiert, bei Niedrig-N erst nach 5 Stunden. Die Markierungskinetik des N zeigte ebenso drei Phasen, wobei die erste einer Lag-Phase mit verzögert einsetzender Markierung entsprach (ca. 1 Stunde bei Hoch-N und 2 Stunden bei Niedrig-N). Darauf folgte jeweils eine Phase mit schneller Markierung, welche bei Hoch-N ca. 4 Stunden und bei Niedrig-N 24 Stunden dauerte. Danach stieg die Markierung im Importfluss nur noch langsam an. Selbst nach 24 Tagen (Hoch-N) bzw. 39 Tagen (Niedrig-N) verblieb noch ein unmarkierter Rest von 5% im Importfluss des N.

### Das C- und N-Versorgungssystem des Blattwachstums

Die  $^{13}\text{C}$ - und  $^{15}\text{N}$ -Markierungskinetiken des Importflusses geben Aufschluss über die Struktur (Anzahl, Größe und Anordnung der Pools) und die kinetischen Eigenschaften (Turnover bzw. Halbwertszeit) des Versorgungssystems, welches die Wachstumszone mit Substrat (Saccharose und Aminosäuren) belie-

fert. Wir haben verschiedene Modellvarianten des Versorgungssystems (inklusive des hypothetischen 2-Pool-N- und 4-Pool-C-Minimalmodells, Abb. 1) in Form von Differentialgleichungssystemen entworfen, und ihre Fähigkeit die Markierungsdaten zu simulieren, geprüft. Der statistische Vergleich der Modellvarianten identifizierte sodann eine Variante welche einerseits möglichst einfach war und trotzdem als sehr wirklichkeitsnah angesehen werden konnte.

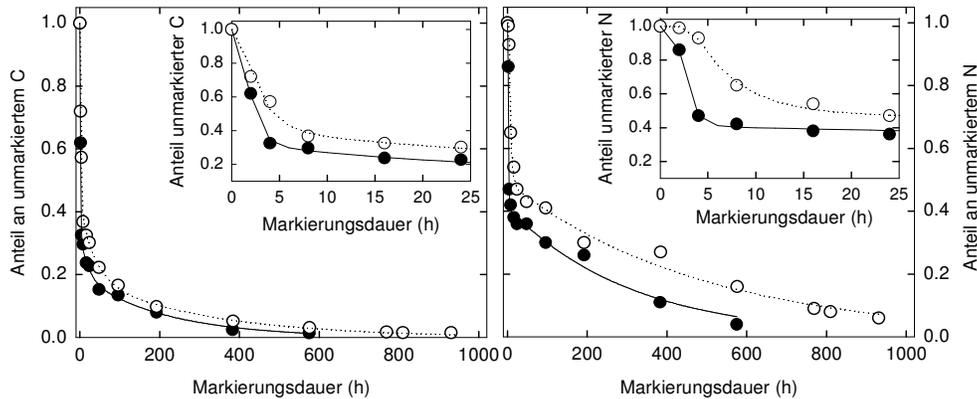


Abbildung 2: Markierungskinetik des C- und N-Flusses in die Wachstumszone. Anteil an unmarkiertem C und N in Hoch-N (●) und Niedrig-N (○) Pflanzen. Die Linien zeigen die entsprechenden Modellanpassungen.

#### Stickstoff

Tests ergaben, dass das N-Versorgungssystem der Wachstumszone in beiden N-Varianten am besten durch ein 2-Pool-Modell (wie in Abb. 1 angenommen) zu beschreiben war. Unter Hoch-N-Bedingungen zeigte der Transport-Pool (der aus der aktuellen N-Aufnahme gespeist wurde) eine Halbwertszeit von 0,6 Stunden, während die Halbwertszeit bei Niedrig-N ca. 6 mal größer war (Tab. 1). Der Langezeitspeicher zeigte unter Hoch-N eine Halbwertszeit von ca. 130 Stunden, die sich unter Niedrig-N auf ca. 170 Stunden erhöhte. Der Transportpool vergrößerte sich unter Niedrig-N absolut und relativ um das 2- bis 3-fache. Die N-Versorgung der Wachstumszone wurde unter Hoch-N zu 59 % direkt von der aktuellen N-Aufnahme und zu 41 % von zuvor (langzeitig) gespeicherten Substraten gespeist. Unter N-Mangel stammte tendenziell mehr N aus dem Langzeitspeicher (48 %). Während unter Hoch-N das erste markierte Substrat die Wachstumszone bereits nach einer Lag-Phase von ca. 1 Stunde erreichte, dauerte dieser Lag unter Niedrig-N ca. 2 Stunden. Da Aminosäuren die Hauptquelle der N-Versorgung der Wachstumszone sind, und diese in direkter Verbindung zum Proteinauf- und -abbau stehen, ist zu vermuten, dass der N-Transportpool hauptsächlich die Kinetik cytosolischer Aminosäuren reflektiert, während die Halbwertszeit des Speicherpools auf dem Turnover von Blattproteinen (insbesondere RubisCO) beruht, was durch ein durchschnittliches Blatterscheinungsintervall von 127 Stunden (Hoch-N) und 199 Stunden (Niedrig-N) unterstützt wird. Unter N-Mangel bedienen die Pflanzen den N-Bedarf des Blattwachstums offenbar vermehrt aus der seneszenzbedingten Mobilisierung von Blattproteinen.

#### Kohlenstoff

Die Modelltests zeigten, dass die  $^{13}\text{C}$ -Kinetik – anders als vorhergesagt (Abb. 1) – am besten durch ein 3-Pool-Modell zu beschreiben war. Das 4-Pool Modell

ließ sich nicht beweisen. Dies war der Tatsache zuzuschreiben, dass die beiden prognostizierten Transportpools sehr ähnliche Halbwertszeiten aufwiesen, und damit anhand ihrer kinetischen Eigenschaften nicht separierbar waren. Das C-Versorgungssystem wurde deshalb als 3-Pool-Model abgebildet, mit einem zentralen Transportpool, der direkt von der Photosynthese gespeist wurde, und zwei Speicherpools mit unterschiedlicher Kinetik. Unter Niedrig-N wurden alle Pools langsamer umgewälzt (Tab. 1). Unter Hoch-N leistete die aktuelle Assimilation 69 % der C-Versorgung der Wachstumszone, während die beiden Speicher jeweils ca. 16 % beitrugen. Unter N-Mangel war der Beitrag der aktuellen Assimilation sowie des C-Langzeitspeichers geringfügig kleiner (61 %), während die Bedeutung des Kurzzeitspeichers deutlich anstieg (26 %).

Die sehr ähnlichen Halbwertszeiten des Transport-C- und Transport-N-Pools bzw. des Langzeit-C- und Langzeit-N-Speichers unterstützen die Vermutung, dass diese Pools Aminverbindungen enthalten (Aminosäuren bzw. Proteine). Das C:N- Verhältnis der Transportpools von 18 (Hoch-N) und 13 (Niedrig-N) deutet jedoch darauf hin, dass der größte Teil dieses Pools aus Saccharose bestehen muss. Der C-Kurzzeitspeicher enthielt keinen N, bestand also höchstwahrscheinlich aus Speicherkohlenhydraten (vakuoläre Saccharose oder Fruktan).

**Tab. 1:** Eigenschaften des C- und N-Versorgungssystems der Blattwachstumszone unter Hoch-N (7,5 mM N) und Niedrig-N (1 mM N): Größe und Halbwertszeit ( $t_{0.5}$ ) der verschiedenen Pools, Dauer der Lag-Phase vom Beginn der Markierung bis zur Ankunft des Tracers in der Blattwachstumszone, sowie Beitrag der aktuellen Assimilation (% direkt) und Speicherpools (% Langzeitspeicher und % Kurzzeitspeicher) zur C- und N-Versorgung (Mittelwert  $\pm$  Fehler des Mittelwerts).

	Stickstoff		Kohlenstoff	
	7,5m M N	1,0m M N	7,5 mM N	1,0m M N
Transportpool ( $\mu\text{g}$ )	6,5 $\pm$ 1,4	13,7 $\pm$ 2,7	119 $\pm$ 12	183 $\pm$ 22
Langzeitspeicher ( $\mu\text{g}$ )	566 $\pm$ 150	352 $\pm$ 74	3198 $\pm$ 1578	3037 $\pm$ 2267
Kurzzeitspeicher ( $\mu\text{g}$ )	-	-	293 $\pm$ 231	644 $\pm$ 488
$t_{0.5}$ Transportpool (h)	0,59 $\pm$ 0,05	3,24 $\pm$ 0,29	0,69 $\pm$ 0,07	1,4 $\pm$ 0,2
$t_{0.5}$ Langzeitspeicher (h)	127 $\pm$ 13	174 $\pm$ 16	119 $\pm$ 43	173 $\pm$ 84
$t_{0.5}$ Kurzzeitspeicher (h)	-	-	11 $\pm$ 8	19 $\pm$ 12
Lag-Phase (h)	0,9	2,2		
% direkt	59 $\pm$ 4	52 $\pm$ 4	69 $\pm$ 5	61 $\pm$ 7
% Langzeitspeicher	41 $\pm$ 4	48 $\pm$ 4	16 $\pm$ 5	13 $\pm$ 7
% Kurzzeitspeicher	-	-	15 $\pm$ 5	26 $\pm$ 7

## Literatur

- FISHER D.B. und MACNICOL P.K. (1986) *Plant Physiology* 82, 1019-1023.  
 HAYASHI H. und CHINO M. (1990) *Plant and Cell Physiology* 31, 247-251.  
 LATTANZI F. A., SCHNYDER H. und THORNTON B. (2005) *Plant Physiology* 137, 383-395.  
 SCHNYDER H. und DE VISSER R. (1999) *Plant Physiology* 119, 1423-1435.  
 SCHNYDER H., SCHÄUFELE R., LÖTSCHER M., GEBBING T. (2003) *Plant Cell and Environment* 26, 1863-1874.  
 WILD M., LATTANZI F. A., LEHMEIER C. A., SCHÄUFELE R. und SCHNYDER H. (2006) *Schriftenreihe Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft* 17, 80-83.