

Untersuchungen zur Dynamik des Nährstofftransports im  
Xylem von Pappeln unter besonderer Berücksichtigung  
der Stickstoffversorgung des Sprosses

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultäten  
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von  
Sylke Siebrecht  
aus Höxter

Göttingen 2000

D 7

Referent: Prof. Dr. R. Tischner

Korreferent: Prof. Dr. H.-W. Heldt

Tag der mündlichen Prüfung: 30. Oktober 2000

# INHALTSVERZEICHNIS

1	<a href="#">Einleitung</a>	1
2	<a href="#">Material und Methoden</a>	5
2.1	<a href="#">Pflanzenmaterial und Anzucht</a>	5
2.1.1	<a href="#">Pflanzenvermehrung</a>	5
2.1.2	<a href="#">Pflanzenanzucht</a>	7
2.1.2.1	<a href="#">Anzucht in Hydrokultur</a>	7
2.1.2.2	<a href="#">Anzucht auf festem Substrat</a>	9
2.2	<a href="#">Experimentelle Wachstumsbedingungen bei verändertem Nährstoffangebot</a>	10
2.3	<a href="#">Bestimmung von Wachstumsparametern</a>	12
2.4	<a href="#">Xylemsaftgewinnung</a>	13
2.4.1	<a href="#">Wurzeldruckexsudat</a>	13
2.4.2	<a href="#">Xylemexsudat</a>	14
2.5	<a href="#">Gewinnung von Apoplastenflüssigkeit aus Blättern</a>	15
2.6	<a href="#">Nährstoff- und Amino-N-Gehalte im Pflanzengewebe</a>	16
2.6.1	<a href="#">Ernte von Blatt- und Wurzelmaterial</a>	16
2.6.2	<a href="#">MeOH / Chloroform-Extraktion</a>	17
2.7	<a href="#">Aktivität der Nitratreduktase</a>	18
2.7.1	<a href="#">in vitro-Assay</a>	18
2.7.2	<a href="#">in vivo-Assay</a>	19
2.8	<a href="#">Proteinbestimmung</a>	20
2.9	<a href="#">Chlorophyllbestimmung</a>	20
2.10	<a href="#">Bestimmung von Ionen und Aminosäuren</a>	20
2.10.1	<a href="#">Nitrat (HPLC)</a>	20
2.10.2	<a href="#">Anorganische Ionen (Ionenchromatographie)</a>	20
2.10.3	<a href="#">Freie Aminosäuren (RP-HPLC)</a>	21
2.11	<a href="#">Nettonitrataufnahme</a>	23
2.12	<a href="#">Saftflußmessungen</a>	24
2.12.1	<a href="#">stem heat balance-Methode</a>	25
2.12.2	<a href="#">gravimetrische Methode</a>	29
2.13	<a href="#">Gaswechselfmessungen</a>	29
2.14	<a href="#">Berechnungen und Auswertung der Experimente</a>	31
3	<a href="#">Ergebnisse</a>	34
3.1	<a href="#">Pflanzenwachstum</a>	34
3.2	<a href="#">Validierung verschiedener Methoden</a>	38
3.2.1	<a href="#">Gewinnung von Apoplastenflüssigkeit</a>	38
3.2.2	<a href="#">Gewinnung von Xylemsaft durch Wurzeldruckexsudation</a>	40
3.2.2.1	<a href="#">Exsudationsraten</a>	40
3.2.2.2	<a href="#">Einfluß fehlender Transpiration auf die Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats</a>	43

3.2.3	<a href="#">Saftflußmessung durch die stem heat balance-Methode</a>	46
3.2.3.1	<a href="#">Vergleich mit der gravimetrischen Methode</a>	46
3.2.3.2	<a href="#">Saftflußbestimmung in verschiedenen Sproßbereichen</a>	47
3.2.3.3	<a href="#">Bezugsgrößen für Saftflußraten</a>	48
3.2.4	<a href="#">Gaswechsellmessung an Blättern</a>	49
3.2.5	<a href="#">Vergleich zwischen in vivo und in vitro NR-Aktivität</a>	50
3.3	<a href="#">Nährstofftransport von der Wurzel in den Sproß in Abhängigkeit vom Tagesgang</a>	51
3.3.1	<a href="#">Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats</a>	51
3.3.2	<a href="#">in situ Saftfluß von der Wurzel in den Sproß</a>	54
3.3.3	<a href="#">Nährstofftranslokationsraten</a>	55
3.3.4	<a href="#">Gaswechselraten einzelner Blätter</a>	57
3.3.5	<a href="#">NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Aufnahme</a>	58
3.4	<a href="#">Nährstofftransport in verschiedene Sproßbereiche</a>	58
3.4.1	<a href="#">Zusammensetzung des Xylemexsudats</a>	59
3.4.2	<a href="#">Quantifizierung der Saftflußraten entlang der Sproßachse</a>	61
3.4.3	<a href="#">NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Assimilation und -Speicherung in Abhängigkeit vom Blattalter</a>	63
3.4.4	<a href="#">NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Translokation in verschiedene Blattalterstadien</a>	68
3.5	<a href="#">NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Assimilation und Nährstoffgehalte in Blättern und Feinwurzeln</a>	69
3.6	<a href="#">Zeitabhängige Veränderungen im Nährstofftransport von der Wurzel in den Sproß nach Wechsel der N- und K<sup>+</sup>-Versorgung</a>	71
3.6.1	<a href="#">NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Mangel</a>	72
3.6.1.1	<a href="#">Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats bei NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Mangel</a>	72
3.6.1.2	<a href="#">in situ Saftflußraten bei NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Mangel</a>	75
3.6.2	<a href="#">Vermindertes NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot</a>	76
3.6.2.1	<a href="#">Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats bei vermindertem NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot</a>	76
3.6.2.2	<a href="#">in situ Saftflußraten bei vermindertem NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot</a>	77
3.6.3	<a href="#">Erhöhtes NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot</a>	78
3.6.3.1	<a href="#">Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats bei erhöhtem NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot</a>	78
3.6.3.2	<a href="#">in situ Saftflußraten bei erhöhtem NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot</a>	80
3.6.3.3	<a href="#">NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Aufnahme bei erhöhtem NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot</a>	81
3.6.3.4	<a href="#">Nährstoffgehalte in Blättern und Feinwurzeln bei erhöhtem NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot</a>	82
3.6.4	<a href="#">Wechsel der N-Quelle</a>	83
3.6.4.1	<a href="#">Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats nach Wechsel der N-Quelle</a>	84
3.6.4.2	<a href="#">in situ Saftflußraten nach Wechsel der N-Quelle</a>	87
3.6.5	<a href="#">K<sup>+</sup>-Mangel</a>	88
3.6.5.1	<a href="#">Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats bei K<sup>+</sup>-Mangel</a>	88
3.6.5.2	<a href="#">in situ Saftflußraten bei K<sup>+</sup>-Mangel</a>	90
3.7	<a href="#">Einfluß des N-Angebots während der Anzucht auf die Xylemsaftzusammensetzung</a>	91
3.7.1	<a href="#">Anzucht mit erhöhtem NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot</a>	91
3.7.1.1	<a href="#">Pflanzenwachstum bei Anzucht mit erhöhtem NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot</a>	91
3.7.1.2	<a href="#">NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Aufnahme bei Anzucht mit erhöhtem NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot</a>	92

3.7.1.3	<a href="#"><u>Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats bei Anzucht mit erhöhtem <math>\text{NO}_3^-</math>-Angebot</u></a>	93
3.7.2	<a href="#"><u>Anzucht mit verschiedenen N-Quellen</u></a>	94
3.7.2.1	<a href="#"><u>Pflanzenwachstum bei Anzucht mit verschiedenen N-Quellen</u></a>	94
3.7.2.2	<a href="#"><u>Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats bei Anzucht mit verschiedenen N-Quellen</u></a>	95
3.8	<a href="#"><u>Einfluß einer lokal begrenzten Nährstoffversorgung im Wurzelraum auf die Xylemsaftzusammensetzung (split-root-Experimente)</u></a>	97
3.8.1	<a href="#"><u><math>\text{NO}_3^-</math>-Mangel in einem Wurzelbereich</u></a>	97
3.8.2	<a href="#"><u><math>\text{K}^+</math>-Mangel in einem Wurzelbereich</u></a>	99
3.8.3	<a href="#"><u>Angebot von <math>\text{NH}_4^+</math> und <math>\text{NO}_3^-</math> in verschiedenen Wurzelzonen</u></a>	100
4	<a href="#"><u>Diskussion</u></a>	101
4.1	<a href="#"><u>Methodische Aspekte</u></a>	101
4.1.1	<a href="#"><u>Gewinnung von Apoplastenflüssigkeit an Pappelblättern</u></a>	101
4.1.2	<a href="#"><u>Zuverlässigkeit der Methoden zur Bestimmung von Nährstofftranslokationsraten</u></a>	102
4.1.2.1	<a href="#"><u>Messung der Flußraten im Xylem</u></a>	102
4.1.2.2	<a href="#"><u>Bezugsparameter für die Berechnung von Nährstofftranslokationsraten</u></a>	106
4.1.2.3	<a href="#"><u>Analyse der Xylemsaftzusammensetzung durch Verwendung von Wurzeldruckexsudaten</u></a>	107
4.2	<a href="#"><u>Stickstofftransport im Xylem nitraternährter Pappeln</u></a>	110
4.2.1	<a href="#"><u>Ort der <math>\text{NO}_3^-</math>-Assimilation</u></a>	110
4.2.2	<a href="#"><u>N-Transportformen im Xylem</u></a>	114
4.3	<a href="#"><u>Einfluß des Tagesgangs auf den Nährstofftransport von der Wurzel in den Sproß</u></a>	116
4.3.1	<a href="#"><u>Xylemsaftzusammensetzung im Tagesgang</u></a>	116
4.3.2	<a href="#"><u>Saftflußrate im Tagesgang</u></a>	117
4.3.3	<a href="#"><u>Nährstofftranslokation und Xylembeladung</u></a>	119
4.4	<a href="#"><u><math>\text{NO}_3^-</math>-Bedarf und <math>\text{NO}_3^-</math>-Translokation entlang der Sproßachse</u></a>	123
4.4.1	<a href="#"><u><math>\text{NO}_3^-</math>-Bedarf unterschiedlich alter Blätter</u></a>	123
4.4.2	<a href="#"><u>Relation zwischen <math>\text{NO}_3^-</math>-Bedarf und <math>\text{NO}_3^-</math>-Zufuhr durch das Xylem</u></a>	128
4.5	<a href="#"><u>Einfluß des N- und <math>\text{K}^+</math>-Angebots auf den Nährstofftransport von der Wurzel in den Sproß</u></a>	131
4.5.1	<a href="#"><u>Einfluß des externen <math>\text{NO}_3^-</math>-Angebots auf die Nährstofftranslokation im Xylem</u></a>	132
4.5.2	<a href="#"><u>Einfluß der N-Quelle (<math>\text{NO}_3^-</math> oder <math>\text{NH}_4^+</math>) auf den Transport von N-Verbindungen und anderen Nährstoffen im Xylem</u></a>	136
4.5.3	<a href="#"><u><math>\text{NO}_3^-</math> / <math>\text{K}^+</math>-Interaktion beim Langstreckentransport</u></a>	140
5	<a href="#"><u>Zusammenfassung</u></a>	144
6	<a href="#"><u>Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen</u></a>	147
7	<a href="#"><u>Abkürzungsverzeichnis</u></a>	150
8	<a href="#"><u>Literaturverzeichnis</u></a>	152

## 1 Einleitung

Der Ferntransport von Wasser, Nährstoffen und organischen Verbindungen von der Wurzel in den Sproß erfolgt in den differenzierten Gefäßen des Xylems. Im differenzierten Zustand sind die Xylemgefäße frei von Cytoplasma und damit tot. Der Xylemtransport ist unidirektional aufwärts gerichtet. Der Saftfluß im Xylem wird angetrieben über den „Wurzeldruck“ und die Transpiration, also dem Gradienten im Wasserpotential zwischen der Atmosphäre, der Pflanze und der Bodenlösung (Marschner 1995). Der „Wurzeldruck“ ist ein Resultat der Xylembeladung mit Ionen und anderen osmotisch wirksamen Substanzen. Dadurch steigt die Konzentration in den Xylemgefäßen gegenüber dem Apoplasten im Zentralzylinder an, was wiederum einen osmotisch getriebenen Wassereinstrom in die Xylemgefäße bewirkt. Durch den Wassereinstrom wird der hydrostatische Druck in den Gefäßen über Atmosphärendruck angehoben und bewirkt einen aufwärtsgerichteten Volumenfluß im Xylem (Schurr 1998). Der Wurzeldruck als treibende Kraft für den Saftfluß im Xylem ist jedoch nur unter Bedingungen mit geringer oder ohne Transpiration von Bedeutung: bei Keimlingen, in der Nacht und bei extrem hoher Luftfeuchte. Unter normalen Bedingungen ist die Transpiration die entscheidende Größe für den Saftfluß im Xylem und der hydrostatische Druck in den Gefäßen liegt unterhalb des Atmosphärendrucks (Zimmermann et al. 1994).

Der Mechanismus der Nährstoffbeladung des Xylems ist bislang noch nicht aufgeklärt. Ob bei der Xylembeladung energieabhängige Prozesse beteiligt sind (Pitman 1977) oder die Xylembeladung passiv entlang des elektrochemischen Gradienten zwischen dem Symplasten des Zentralzylinders und dem Xylem erfolgt (Bowling 1981), wird kontrovers diskutiert. Vor kurzem wurde mit der „patch clamp“-Technik die Aktivität von  $K^+$ - und Anionenkanälen in der Plasmamembran von Xylemparenchymzellen nachgewiesen, durch die eine passive Xylembeladung ermöglicht wird (Wegner und Raschke 1994, Köhler 1998). Obwohl der genaue Mechanismus noch unklar ist, gilt es als gesichert, daß die Xylembeladung mit Nährstoffen prinzipiell unabhängig vom Wassertransport in die Gefäße erfolgen kann (Smith 1991). So hatte eine im Experiment um 50 % reduzierte Saftflußrate im Xylem (erhöhte Luftfeuchte) keinen Einfluß auf die  $NO_3^-$ -Translokation in den Sproß von Mais- (Shaner und Boyer 1976b) und Sojapflanzen (Delhon et al. 1995b). Auch eine direkte Kopplung der Xylembeladung an die Nährstoffaufnahme in die Wurzel wird ausgeschlossen. Die Xylembeladung mit Ionen kann selektiv durch Inhibitoren der Proteinsynthese gehemmt werden (Läuchli et al. 1973, Pitman et al. 1977). Bei einer Arabidopsis-Mutante, deren Phosphattranslokation in den Sproß gehemmt war, blieb die Phosphataufnahme im Vergleich zum Wildtyp konstant (Poirier et al. 1991). In Tabak

(Ruffy et al. 1989) und Soja (Delhon et al. 1995b) war die  $^{15}\text{N}$ -Translokation in den Sproß unabhängig von der  $^{15}\text{NO}_3^-$ -Aufnahme.

Die Nährstofftranslokation in den Sproß wird also unabhängig von der Aufnahme und der Wasserleitung reguliert. Dies gibt der Pflanze die Möglichkeit, die Nährstoffversorgung des Sprosses dem Bedarf anzupassen (Engels und Marschner 1992, Marschner 1995). Untersuchungen zum Langstreckentransport von Nährstoffen im Xylem sind daher von grundlegender Bedeutung für das Verständnis des Nährstoffhaushalts der Pflanze.

Beim Nährstofftransport im Xylem muß die Interaktion zwischen Xylem und Phloem, dem zweiten Ferntransportsystem höherer Pflanzen, berücksichtigt werden. Im Gegensatz zum Xylem erfolgt der Phloemtransport in lebenden Zellen, den Siebröhren, sowohl aufwärts- als auch abwärtsgerichtet. Die Flußrichtung und die Flußrate wird durch die Aktivität der Phloementladung in den „Sink“-Gewebe, den jungen wachsenden Blättern, dem Apikalmeristem und der Wurzel, bestimmt (Humphreys 1988, Marschner 1995). Über das Phloem wird die Wurzel mit Kohlehydraten und Assimilationsprodukten aus dem N- und S-Stoffwechsel des Sprosses versorgt (Marschner et al. 1997). Durch das Phloem werden jedoch auch anorganische Nährstoffe aus dem Sproß wieder in die Wurzel transportiert, wo sie z.T. zurück ins Xylem geladen werden. Durch diesen Mechanismus können Nährstoffe zwischen Wurzel und Sproß zirkulieren. Dies gilt für alle Makronährstoffe inklusive reduzierter N- und vermutlich auch S-Verbindungen (Armstrong und Kirkby 1979, Simpson et al. 1982, Jeschke et al. 1985, Cooper und Clarkson 1989, Jeschke und Pate 1991c, Schupp et al. 1991) mit Ausnahme von  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{NO}_3^-$ , die nur eine geringe Phloemmobilität besitzen (Jeschke und Pate 1991c, Peuke et al. 1996). Die Nährstoffzusammensetzung des Xylems wird daher auch über den Phloemrücktransport in die Wurzel beeinflusst. Bei Weizen und Reis entsprachen über 60 % der Amino-N- und 26 % bzw. 36 % der  $\text{K}^+$ -Fraktion im Xylemsaft Phloemimporten aus dem Sproß (Cooper und Clarkson 1989). In Rizinus lag der phloemimportierte  $\text{K}^+$ -Anteil im Xylem bei 46 % (Jeschke und Pate 1991c).

Nährstoffzirkulation zwischen Wurzel und Sproß ermöglicht es der Pflanze, räumliche oder zeitliche Fluktuationen des Nährstoffangebots im Wurzelraum auszugleichen, die wachsenden apikalen Wurzelbereiche mit einem zusätzlichen Nährstoffimport aus dem Sproß zu versorgen und den Nährstoffbedarf des Sprosses der Wurzel zu übermitteln. Außerdem hat sie eine wichtige Funktion bei der Aufrechterhaltung der Kationen/Anionen-Balance in der Pflanze (Marschner et al. 1996, 1997).

Auch beim Langstreckentransport im Xylem muß die Kationen/Anionen-Balance ausgeglichen sein. Der Ladungsausgleich erfolgt vorwiegend über anorganische Ionen (Breteler

et al. 1978). Beim Nährstofftransport im Xylem müssen daher Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen Nährstoffen berücksichtigt werden.

Bei vielen Pflanzen ist  $\text{NO}_3^-$  das dominante Anion im Xylemsaft (Kirkby und Armstrong 1980, Arnozis und Findenegg 1986).  $\text{NO}_3^-$  hat damit eine besondere Bedeutung beim Ladungsausgleich. N-Transport im Xylem erfolgt jedoch auch in reduzierter Form vorwiegend durch ungeladene Amide (Engels und Marschner 1993). Das Verhältnis zwischen den beiden Transportformen wird durch das externe  $\text{NO}_3^-$ -Angebot und die N-Quelle stark beeinflusst. Generell steigt das  $\text{NO}_3^-$ /Amino-N-Verhältnis mit zunehmendem externen  $\text{NO}_3^-$ -Angebot an, da die  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation mit steigendem Angebot verstärkt im Sproß erfolgt (Rufty et al. 1990, Gojon et al. 1991, Peuke et al. 1994, Agrell et al. 1997). Bei  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung erfolgt die N-Assimilation dagegen fast ausschließlich in der Wurzel, und Stickstoff wird vollständig in reduzierter Form in den Sproß transportiert (Van Beusichem et al. 1988). Änderungen der  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft können wiederum Konzentrationsänderungen anderer Ladungsträger, d.h. der anderen Nährstoffe, bewirken. Das N-Angebot hat daher einen entscheidenden Einfluß auf den Transport aller Nährstoffe in den Sproß. Umgekehrt kann jedoch auch die Verfügbarkeit der anderen Nährstoffe über den Ladungsausgleich Einfluß auf den  $\text{NO}_3^-$  bzw. N-Transport im Xylemsaft nehmen. Von besonderer Bedeutung ist dabei die  $\text{K}^+$ -Verfügbarkeit, da  $\text{K}^+$  das dominante Kation im Xylemsaft ist und eine enge Korrelation zwischen dem Langstreckentransport von  $\text{K}^+$  und  $\text{NO}_3^-$  postuliert wird (Ben-Zioni et al. 1971). Zum Einfluß des externen  $\text{NO}_3^-$ -Angebots (Triplett et al. 1980, MacKown et al. 1981, 1983, Gojon et al. 1991, Peuke et al. 1994, 96), der N-Quelle (Van Beusichem et al. 1988, Allen et al. 1988, Peuke und Jeschke 1993, Engels und Marschner 1993) und der  $\text{K}^+$ -Verfügbarkeit (Kirkby et al. 1981, Rufty et al. 1981, Förster und Jeschke 1993) auf den Nährstofftransport in den Sproß liegen bereits Untersuchungen, meist jedoch an krautigen Arten, vor. Nährstofftranslokationsraten wurden dabei teilweise anhand der Xylemsaftzusammensetzung und der Flußrate nach Dekapitieren des Sprosses ermittelt und entsprechen daher nicht denen in intakten Pflanzen. Außerdem liegen bislang keine Daten zur kurzfristigen (min-d) Anpassung der Nährstofftranslokation intakter Pflanzen nach Änderungen im Nährstoffangebot vor.

Neben dem externen Nährstoffangebot können auch endogene Faktoren Einfluß auf den Nährstofftransport im Xylem nehmen. Sowohl die  $\text{NO}_3^-$ - als auch die  $\text{SO}_4^{2-}$ -Assimilation im Sproß ist diurnal reguliert (Lillo 1994, Kopriva et al. 1999). Die  $\text{NO}_3^-$ - und  $\text{K}^+$ -Aufnahme ändert sich ebenfalls im Tagesverlauf (Le Bot und Kirkby 1992, Delhon et al. 1995a,b). Dies zeigt, daß der Nährstoffbedarf diurnal variiert. Inwieweit dies Einfluß auf die Nährstofftranslokation im Xylem nimmt, wurde kaum untersucht. Daten zur Nährstofftranslokation im Tagesgang liegen für  $\text{NO}_3^-$  bzw. Gesamt-N vor, jedoch nur mit einer geringen

Zeitauflösung (Mattsson et al. 1988, Rufty et al. 1989, Oji et al. 1989, Delhon et al. 1995a).

Aufgrund des erhöhten Nährstoffbedarfs für Wachstumsprozesse im oberen Sproßbereich ist davon auszugehen, daß der Nährstoffbedarf entlang der Sproßachse variiert. Untersuchungen zur räumlichen Auflösung der Nährstofftranslokation im Xylem existieren nur für wenige Arten (Wolf et al. 1990b, Jeschke und Pate 1991a-c).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Nährstofftranslokation im Xylem von intakten Pappeln zu charakterisieren. Der Stickstofftransport stand dabei im Vordergrund, aber auch Interaktionen mit allen anderen Nährstoffen sollten berücksichtigt werden. Um ein umfassendes Bild zu erhalten, sollte die Nährstofftranslokation sowohl in Abhängigkeit von endogenen Faktoren (Tageszeit,  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf entlang der Sproßachse) als auch exogenen Faktoren (Nährstoffangebot) charakterisiert werden. Hierzu war es zunächst notwendig zu ermitteln, ob die  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation bei Pappeln in der Wurzel oder im Sproß erfolgt bzw. in welcher Form Stickstoff in den Sproß transportiert wird. Im Anschluß wurden folgende Themenkomplexe bearbeitet:

- (a) Ändert sich der  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf entlang der Sproßachse und ist dies mit der  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr durch das Xylem korreliert?  
Werden Änderungen der  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr über einen erhöhten Volumenfluß oder eine erhöhte  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft erreicht?
- (b) Treten tageszeitabhängige Variationen der Nährstofftranslokation im Xylem auf und ist dies von der Flußrate abhängig ?
- (c) Welchen Einfluß hat das N- und  $\text{K}^+$ -Angebot auf die Translokation aller Nährstoffe im Xylem?  
Wie erfolgt die Anpassung der Nährstofftranslokation nach kurzfristigen Änderungen im Angebot?

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Pflanzenmaterial und Anzucht

Alle Untersuchungen wurden an Pappelhybriden (*Populus tremula* x *Populus alba*) durchgeführt. Verwendet wurde ein Pappelklon (Klon INRA 717 - 1B4). Die ersten Pflanzen für die Vermehrung wurden uns freundlicherweise vom INRA-Orleans, Station d'Amelioration des Arbres Forestiers zur Verfügung gestellt.



**Abb. 2.1**

Kreuzung zwischen *Populus tremula* und *Populus alba*. Das Alter der abgebildeten Pflanze betrug ca. 2,5 Monate.

#### 2.1.1 Pflanzenvermehrung

Die Vermehrung der Pappeln erfolgte aus Gewebematerial des Sprosses unter sterilen Bedingungen auf einem mit Nährstoffen, C-Quellen, Vitaminen und Pflanzenhormonen angereichertem Agar. Als Ausgangsmaterial wurden steril angezogene Pappeln mit einer Sproßlänge von ca. 10 cm verwendet. Die Wurzel, das Hypocotyl, das Apikalmeristem und die Blattspreiten wurden entfernt und der Sproß in 1 - 2 cm lange Abschnitte mit je einer Seitenknospe zerschnitten („microcuttings“). Von einer Pflanze konnten ca. 5 „microcuttings“ gewonnen werden. Die „microcuttings“ wurde einzeln in spezielle Kulturröhrchen mit Deckel („Culture tubes“ 25 x 150 mm, Fa. Sigma) überführt, die mit je 20 ml sterilem Nährmedium (s.u.) gefüllt waren. Die „Microcuttings“ wurden so plaziert, daß das basal orientierte Ende des Sproßabschnittes im Agar-Nährmedium steckte, die Sproßknospe aber oberhalb der Agaroberfläche lag. Alle beschriebenen Arbeitsschritte wurden unter sterilen Bedingungen durchgeführt. Um den Zerfall lichtempfindlicher Pflanzenhormone im Nährmedium zu verhindern, wurden die Kulturröhren mit den Microcuttings für ca. 24 h bei 20°C im Dunkeln inkubiert. Das Wachstum erfolgte dann in einem Licht / Dunkel-Rhythmus von 16 h / 8 h und einer Temperatur von 22°C / 20°C. Die Licht-

intensität in der Beleuchtungsphase betrug  $220 \mu\text{E m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (Lampen: Osram L18W/21). Die Entwicklung von bewurzelten Stecklingen mit einer Sproßlänge von ca. 3 cm dauerte 4 - 6 Wochen. In diesem Entwicklungsstadium wurden die Keimlinge an Hydrokultur adaptiert (s.u.) um Pflanzenmaterial für die Experimente anzuziehen. Ein Teil der Stecklinge blieb für ca. 3 Monate auf dem Agar-Nährmedium, bis eine Sproßlänge von ca. 10 cm erreicht war und diente als Material für die weitere Vermehrung.

Nährmedium für die Pappelvermehrung:

MAKRONÄHRSTOFFE	KONZENTRATION (mM)
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	10,35
$\text{KNO}_3$	9,40
$\text{CaCl}_2$	1,50
$\text{MgSO}_4$	0,75
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0,63
MIKRONÄHRSTOFFE	KONZENTRATION ( $\mu\text{M}$ )
$\text{H}_3\text{BO}_3$	100
$\text{MnSO}_4$	100
$\text{FeSO}_4 \times \text{Na-EDTA}$	100
$\text{ZnSO}_4$	36
KI	5
$\text{Na}_2\text{MoO}_4$	1
$\text{CuSO}_4$	0,1
$\text{CoCl}_2$	0,1
VITAMINE & HORMONE	KONZENTRATION ( $\mu\text{M}$ )
Nicotinsäure	8,1
L-Cystein-Hydrochlorid	5,7
Pyridoxin-Hydrochlorid	4,9
Indol-3-Buttersäure $\text{K}^+$ -Salz	4,9
Ca-D-Pantothenat	4,2
Thiamin-Hydrochlorid	3,0
Biotin	$41 \cdot 10^{-3}$
ANDERE SUBSTANZEN	KONZENTRATION (mM)
Saccharose	58,4
L-Glutamin	1,37
Myo-Inosit	0,56
Agar oder Gelrite	7 g / l bzw. 3 g / l
pH	5,8 (1 N KOH)

Es wurde eine Lösung mit allen Makro- und Mikronährstoffen sowie Saccharose angesetzt, der pH Wert eingestellt und darin Agar bzw. Gelrite unter Erwärmen gelöst. Die Lösung wurde auf die Kulturröhrchen verteilt (20 ml/Röhrchen) und naß autoklaviert. Die

Vitamine, Hormone, L-Glutamin und Myo-Inosit wurden in der oben beschriebenen Nährstofflösung (ohne Zusatz von Agar oder Gelrite) gelöst, steril filtriert (Cellulose-Acetat-Filter  $\varnothing$  0,2  $\mu\text{m}$ , Fa. Sartorius) und nachträglich der abgekühlten, aber noch flüssigen agarhaltigen Nährlösung unter sterilen Bedingungen zugesetzt (0,2 ml einer 100fach konzentrierten Stammlösung).

Alle verwendeten Chemikalien waren für die Anwendung in der Gewebekultur empfohlen (Fa. Sigma).

### 2.1.2 Pflanzenanzucht

Aufgrund der experimentellen Fragestellung mußte die Anzucht der Pappeln in Hydrokultur oder auf festem Substrat erfolgen. Bevor die Pappelkeimlinge auf die verschiedenen Substrate überführt werden konnten, mußten die zarten Stecklinge, die in Sterilanzucht sehr feuchten Bedingungen ausgesetzt waren, an eine geringere Luftfeuchte adaptiert werden. Hierzu wurden die Pflanzen in Hydrokultur überführt und in einer Klimakammer angezogen (RH: ca. 65 %, Licht / Dunkel-Rhythmus: 16 h / 8 h, Temperatur: 22°C / 18°C, Lichtintensität an den obersten Blättern: 100  $\mu\text{E m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , Lampen: Osram L58 W/25). Je 6 Keimlinge wurden dazu in eine perforierte PVC-Scheibe eingehängt, die über 1,2 l einer belüfteten Nährlösung (Kontroll-NL s.u.) angebracht wurde. Als Anzuchtgefäße dienten Glastöpfe, die durch einen Glasdeckel abgedichtet werden konnten. Um das Wachstum von Algen zu vermeiden, wurden die Glasgefäße in schwarze Kunststoffbehälter gestellt, so daß nur der Sproß dem Licht ausgesetzt war. Während der ersten Woche in Hydrokultur blieben die Glastöpfe geschlossen. Danach wurden die Deckel über einen Zeitraum von 7 Tagen immer stärker gelüftet, bis die Keimlinge vollständig an die Klimabedingungen adaptiert waren.

#### 2.1.2.1 Anzucht in Hydrokultur

Alle im experimentellen Teil nicht gesondert gekennzeichneten Experimente wurden mit hydroponisch angezogenen Pflanzen durchgeführt. Als Nährlösung diente eine modifizierte Long-Ashton-Nährlösung (in Anlehnung an Langheinrich 1991) mit 1 mM  $\text{NO}_3^-$  als N-Quelle (s.u. Kontroll-NL). Die verwendete Nährlösung zeichnet sich durch eine relativ geringe Ionenstärke aus, um Freilandbedingungen nahe zu kommen.

Zusammensetzung der Nährlösung (Kontroll-NL):

MAKRONÄHRSTOFFE	KONZENTRATION ( $\mu\text{M}$ )
$\text{KNO}_3$	400
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	300
$\text{MgSO}_4$	300
$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	300
KCl	50
$\text{CaCl}_2$	25

MIKRONÄHRSTOFFE	KONZENTRATION ( $\mu\text{M}$ )
$\text{FeCl}_3$	20
EDTA	12,5
$\text{H}_3\text{BO}_3$	10
$\text{MnSO}_4$	2
$\text{ZnSO}_4$	0,2
$\text{CuSO}_4$	0,2
$\text{Na}_2\text{MoO}_4$	0,2
$\text{CoSO}_4$	0,04

pH-Wert	6,5 (1 N NaOH)
---------	----------------

Da für die Anzucht bis zu 600 l NL pro Woche benötigt wurde, wurde eine 10fach konzentrierte Stammlösung (pH 5,7) verwendet. Nach 10facher Verdünnung mit demineralisiertem Wasser lag der pH-Wert bei 6,5. Das Volumen der NL wurde der zunehmenden Pflanzengröße angepasst. Bis zu einer Sproßlänge von ca. 7 cm verblieben die Pflanzen in den 1,2 l-Glasanzuchtgefäßen (6 Pflanzen / 1,2 l NL). Danach wurden je 4 Pflanzen in 3,5 l NL kultiviert und ab einer Sproßlänge von ca. 15 cm dienten 8 l fassende Kunststoffbehälter als Anzuchtgefäße (3 Pflanzen / 8 l NL). Bis zu diesem Entwicklungsstadium erfolgte die Anzucht in einer Klimakammer (ohne Feuchteregulation) unter folgenden Bedingungen: RH: ca. 65 %, Licht/Dunkel-Rhythmus: 16 h / 8 h, Temperatur: 22°C / 18°C, Lichtintensität an den obersten Blättern:  $180 \mu\text{E m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , Lampen: Osram L58 W/25. Bei einer Sproßhöhe von ca. 35 cm wurden die Pappeln vereinzelt (4 l NL/Pflanze) und in einen Klimaschrank mit regulierter Luftfeuchte überführt (Heraphyt, Fa. Heraeus: RH: 65 - 70 %, Licht/Dunkel-Rhythmus: 16 h / 8 h, Temperatur: 22°C / 18°C, Lichtintensität an den obersten Blättern:  $170 \mu\text{E m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , Lampen: Osram L58 W/77, /31 und /25). Die NL wurde belüftet und alle 2-3 Tage vollständig erneuert. Abhängig von der Pflanzengröße stieg der pH-Wert in diesem Zeitraum um 0,1 bis maximal 0,6 an. Als Indikator für die Nährstoffversorgung wurde die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration in der Nährlösung getestet. Unter den angegebenen Bedingungen sank die externe  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration nicht unter 0,4 mM ab

(in Ausnahmefällen 0,2 mM). Es ist daher davon auszugehen, daß über den gesamten Entwicklungszeitraum in Hydrokultur keine Wachstumslimitierung durch Nährstoffmangel auftrat. Nach 2,5 -4 Monaten in Hydrokultur hatten die Pappeln die Größe erreicht mit der sie in den Versuchen verwendet wurden. Die Sproßlänge betrug etwa 70 cm, das Gesamtfrischgewicht lag bei ca. 85 g und die Pflanzen hatten durchschnittlich 37 voll entfaltete Blätter.

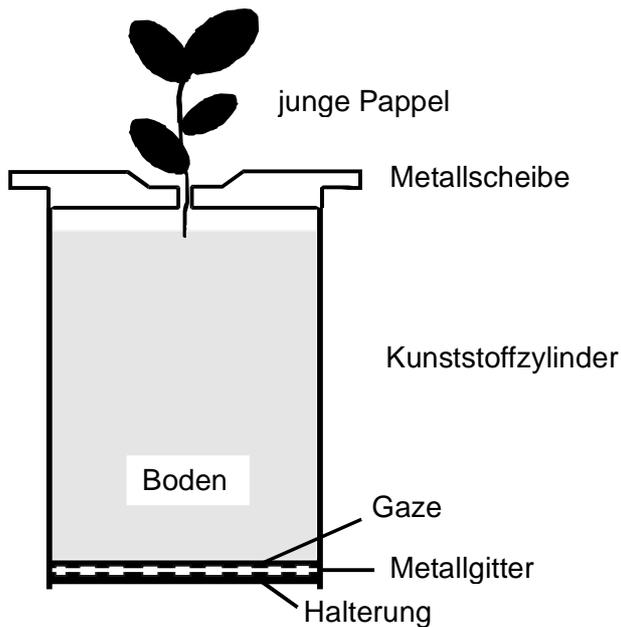
#### „split root“-Anzucht

Der Einfluß eines lokal begrenzten Nährstoffangebots auf den Nährstofftransport wurden an Pappeln mit geteiltem Wurzelsystem untersucht (s. [3.8](#) „split root“-Experimente). Das „Splitten“ des Wurzelsystem mußte bereits in einer frühen Entwicklungsphase während der Anzucht erfolgen, da es bei älteren Pflanzen nicht mehr möglich war. Hierzu wurde das Wurzelsystem nach ca. 1 Monat in Hydrokultur in zwei annähernd gleiche Hälften geteilt und die Pflanzen in 4 l-Anzuchtgefäße mit eingezogener Trennwand überführt (je 2 l NL pro Wurzelhälfte). Die weiteren Wachstumsbedingungen entsprechen den zuvor angegebenen.

#### 2.1.2.2 Anzucht auf festem Substrat

Untersuchungen zur Xylemsaftzusammensetzung an verschiedenen Positionen der Sproßachse mußten mit Pappeln in festem Substrat durchgeführt werden, da die Gewinnung von Xylemexsudat an Blättern nur durch Applikation von pneumatischem Druck auf den Wurzelraum erfolgen kann. Bei Pflanzen in Hydrokultur kann die Druckapplikation eine Infiltration der Wurzel mit Nährlösung bewirken und damit die Nährstoffgehalte im Xylemsaft beeinflussen. Diese Gefahr besteht nicht auf festem Substrat, da hier ein komprimierbares Gasvolumen im Wurzelraum vorliegt.

Die Anzucht auf festem Substrat erfolgte in speziellen Anzuchtgefäßen ([Abb. 2.2](#)), die von der Arbeitsgruppe Dr. Schurr, Botanisches Institut, Heidelberg zur Verfügung gestellt wurden. Die Gefäße bestanden aus einem unten offenen Kunststoffzylinder, der oben mit einer Metallscheibe abgedichtet war. Die Metallscheibe wurde im Experiment auf einer Druckkammer befestigt, so daß der Wurzelraum luftdicht abgeschlossen werden konnte. In der Mitte der Metallscheibe befand sich eine Bohrung mit einem Durchmesser von ca. 3 mm.



**Abb. 2.2** Anzuchtgefäß für die Verwendung in der Druckkammer.

Zum Bepflanzen wurde das Wurzelsystem feuchteadaptierter Pappeln (s. [2.1.2](#)) durch die Bohrung geführt und der Kunststoffzylinder mit befeuchteter Erde gefüllt. Von Bedeutung war dabei die Packungsdichte der Erde. Sie durfte weder zu locker noch zu fest sein, um zum einen ein Absacken des Substrates, zum anderen Staunässe durch Bodenverdichtung zu verhindern. Nachdem der Zylinder vollständig gefüllt war, wurde die

untere Öffnung mit einer Gaze und einem Metallgitter luft- und wasserdurchlässig abgedichtet. Als Substrat wurde eine sehr nährstoffarme Erde (Fruhstorfer Erde) verwendet. Um ein vergleichbares Nährstoffangebot in Hydrokultur und in Erdanzucht zu erreichen, erfolgte die Nährstoffzufuhr ausschließlich durch Gießen mit 10fach konzentrierter Kontroll-NL (s. [2.1.2.1](#)), die über eine Bohrung im oberen Bereich des Kunststoffzylinders zugeführt wurde. Gegossen wurde alle 2-3 Tage, wobei das NL-Volumen der zunehmenden Pflanzengröße angepaßt wurde. Die Anzucht erfolgte im Gewächshaus mit Zusatzbeleuchtung (Licht/Dunkel-Rhythmus: 15 h/9 h, Lichtperiode: 6.00 - 21.00 Uhr, Temperatur: 20°C/16°C, Lichtintensität an den obersten Blättern:  $1100 \mu\text{E m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , Lampen mit Tageslichtspektrum: Osram HQI-T 250 Watt/D). Zum Schutz vor Austrocknung wurde in der ersten Woche nach Bepflanzen ein Glasgefäß über den Sproß gestülpt. Das Gefäß wurde im Laufe einer weiteren Woche immer stärker gelüftet, bis die Pflanzen vollständig an die Luftfeuchte im Gewächshaus adaptiert waren. Unter diesen Bedingungen dauerte es 3-4 Monate bis die Pflanzen die richtige Größe für die Experimente erreicht hatten. Von besonderer Bedeutung war, daß dann die Sproßbasis die Bohrung im Deckel vollständig ausfüllte und dadurch der Wurzelraum bei der Druckapplikation während des Versuchs druckdicht abgeschlossen war.

## 2.2 Experimentelle Wachstumsbedingungen bei verändertem Nährstoffangebot

Alle Experimente zum Einfluß des Nährstoffangebots auf den Nährstofftransport wurden mit hydroponisch angezogenen Pappeln durchgeführt. Hierzu wurden Pflanzen, die in Kontroll-NL angezogen waren, für einen definierten Zeitraum in Nährlösung mit verändertem N- oder  $\text{K}^+$ -Angebot überführt (Tab. [2.1](#), [2.2](#)). Die NL wurde alle 2-3 Tage voll-

ständig ausgetauscht. Um eine definierte und konstante Nährstoffversorgung während des Experiments sicherzustellen, wurden die Pflanzen jeweils 12 h und 1-2 h vor der Beprobung in frische NL überführt. Als Kontrollen dienten identisch behandelte Pflanzen in Kontroll-NL. Die genauen Versuchsbedingungen sind im experimentellen Teil angegeben. Alle Untersuchungen wurden unter regulierten Klimabedingungen durchgeführt (RH: 60 - 70 %, Licht/Dunkel-Rhythmus: 16 h/8 h, Temperatur: 22°C/18°C, Lichtintensität an den obersten Blättern:  $170 \mu\text{E m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , Lampen: Osram L58 W/77, /31 und /25).

**Tab. 2.1** Salzkonzentrationen der verschiedenen Nährlösungen. Die Konzentration der Spurenelemente war in allen Nährlösungen identisch (s. 2.1.2.1: Kontroll-NL). Der pH-Wert wurde mit NaOH bzw. HCl auf 6,5 eingestellt. Um eine starke Ansäuerung der Nährlösung während längerer Anzucht in  $\text{NH}_4^+$ -NL zu vermeiden, wurde  $\text{CaCO}_3$  zugesetzt (ca. 0,05 g/l). Zugabe von  $\text{CaCO}_3$  erfolgte auch bei den jeweiligen Kontrollen. Um ein definiertes  $\text{Ca}^{2+}$ -Angebot während des Experiments sicherzustellen, wurde die Pflanzen 1-2 h vor der Beprobung in NL ohne  $\text{CaCO}_3$ -Zusatz umgesetzt.

NL	Konzentration (mM)									
	$\text{KNO}_3$	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	$\text{NaNO}_3$	$\text{NH}_4\text{HCO}_3$	KCl	$\text{CaCl}_2$	NaCl	$\text{MgSO}_4$	$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	$\text{KH}_2\text{PO}_4$
<b>Kontrolle</b>	<b>0,4</b>	<b>0,3</b>	-	-	<b>0,05</b>	<b>0,025</b>	-	<b>0,3</b>	<b>0,3</b>	-
N-frei	-	-	-	-	0,45	0,325	-	0,3	0,3	-
0,5 mM $\text{NO}_3^-$	-	0,25	-	-	0,15	0,075	0,05	0,3	-	0,3
0,25 mM $\text{NO}_3^-$	-	0,125	-	-	0,15	0,2	0,05	0,3	-	0,3
8 mM $\text{NO}_3^-$	0,4	0,3	7,0	-	0,05	0,025	-	0,3	0,3	-
1mM $\text{NH}_4^+$	-	-	-	1,0	0,15	0,325	-	0,3	-	0,3
0,5 mM $\text{NO}_3^-$ / 0,5 mM $\text{NH}_4^+$	-	0,25	-	0,5	0,15	0,075	-	0,3	-	0,3
$\text{K}^+$ -frei	-	0,3	0,4	-	-	0,025	0,05	0,3	0,3	-
8 mM $\text{NO}_3^-$ / 8 mM $\text{K}^+$	7,4	0,3	-	-	0,6	0,025	-	0,3	0,3	-
1 mM $\text{NO}_3^-$ / 8 mM $\text{K}^+$	0,4	0,3	-	-	7,6	0,025	-	0,3	0,3	-
0,9 mM Cl <sup>-</sup>	0,4	0,3	-	-	0,05	0,025	0,8	0,3	0,3	-

**Tab. 2.2** Ionenkonzentrationen der verschiedenen Nährlösungen. Die Abweichungen im Vergleich zur Kontroll-NL sind unterlegt. Die Konzentration der Spurenelemente war in allen Nährlösungen identisch (s. [2.1.2.1](#): Kontroll-NL) und ist deshalb nicht aufgeführt. Änderungen der  $\text{Cl}^-$  oder  $\text{Na}^+$ -Konzentration durch Einstellen des pH-Wertes mit HCl oder NaOH waren geringfügig ( $\leq 60 \mu\text{M}$ ) und sind nicht berücksichtigt.

NL	Konzentration (mM)								
	$\text{NO}_3^-$	$\text{H}_2\text{PO}_4^-$	$\text{SO}_4^{2-}$	$\text{Cl}^-$	$\text{K}^+$	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{NH}_4^+$	$\text{Na}^+$
<b>Kontrolle</b>	<b>1,00</b>	<b>0,3</b>	<b>0,3</b>	<b>0,16</b>	<b>0,45</b>	<b>0,3</b>	<b>0,325</b>	-	<b>0,30</b>
N-frei	-	0,3	0,3	1,16	0,45	0,3	0,325	-	0,30
0,5 mM $\text{NO}_3^-$	0,50	0,3	0,3	0,41	0,45	0,3	0,325	-	0,05
0,25 mM $\text{NO}_3^-$	0,25	0,3	0,3	0,71	0,45	0,3	0,325	-	0,05
8 mM $\text{NO}_3^-$	8,00	0,3	0,3	0,16	0,45	0,3	0,325	-	7,30
1 mM $\text{NH}_4^+$	-	0,3	0,3	0,86	0,45	0,3	0,325	1,0	$4 \cdot 10^{-4}$
0,5 mM $\text{NO}_3^-$ / 0,5 mM $\text{NH}_4^+$	0,50	0,3	0,3	0,36	0,45	0,3	0,325	0,5	$4 \cdot 10^{-4}$
$\text{K}^+$ -frei	1,00	0,3	0,3	0,16	-	0,3	0,325	-	0,75
8 mM $\text{NO}_3^-$ / 8 mM $\text{K}^+$	8,00	0,3	0,3	0,71	8,0	0,3	0,325	-	0,30
1 mM $\text{NO}_3^-$ / 8 mM $\text{K}^+$	1,00	0,3	0,3	7,71	8,0	0,3	0,325	-	0,3
0,9 mM $\text{Cl}^-$	1,00	0,3	0,3	0,96	0,45	0,3	0,325	-	1,1

### 2.3 Bestimmung von Wachstumsparametern

Zur Charakterisierung des Pflanzenwachstums während der Anzucht in Hydrokultur (Kontroll-NL, s. [2.1.2.1](#)) wurden Wachstumsparameter bestimmt. Ermittelt wurde die Sproßlänge, die Blattanzahl und das Gesamtfrischgewicht. Die Aufnahme dieser Parameter erfolgte über einen Zeitraum von maximal 3 Monaten in Intervallen von 2-7 Tagen. Zeitgleich wurden jeweils 5-10 Pflanzen untersucht.

Desweiteren wurden bei Experimenten mit verändertem N-Angebot Wachstumsparameter bestimmt:

(a) bei erhöhter externer  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration (8 mM)

Ermittelt wurde die Sproßlänge, die Blattanzahl und das Gesamtfrischgewicht über einen Zeitraum von 28 Tagen in Intervallen von 3-4 Tagen. Zeitgleich wurden 12 Pflanzen in 8 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL und 6 Kontrollpflanzen (1 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL) vermessen.

(b) bei verschiedenen N-Quellen ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$  oder  $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$ )

Die Sproßlänge, die Blattanzahl und das Gesamtfrischgewicht von jeweils 6 Pflanzen wurde alle 7 Tage über einen Zeitraum von 3 Monaten bestimmt.

## 2.4 Xylemsaftgewinnung

Nach Dekapitieren des Sprosses an der verholzten Sproßbasis trat bei Pappeln spontan Xylemsaft aus der Schnittstelle aus. Dieser, als Exsudation bezeichnete Vorgang, wird allein durch den „Wurzeldruck“ angetrieben. Der mit dieser Methode gewonnene Xylemsaft wird deshalb im Folgenden als Wurzeldruckexsudat bezeichnet. Im Gegensatz dazu konnte nach Entfernen einzelner Blätter oder Dekapitieren von apikalen Sproßbereichen an diesen Schnittstellen keine Exsudation beobachtet werden. Auch durch Herabsetzen der Transpiration (Befeuchten der Blätter, Probenahme unter nahezu gesättigter Luftfeuchte) konnte keine Exsudation an einzelnen Blattstielen oder apikalen Sproßbereichen erzielt werden. Erst nachdem alle Blätter (d.h. das transpirierende Gewebe) entfernt wurden, trat Xylemsaft aus allen Schnittstellen aus. Bei intakten transpirierenden Pflanzen liegt der Druck im Xylem unter Atmosphärendruck (Zimmermann et al. 1994). Unter transpirierenden Bedingungen ist der „Wurzeldruck“ zu gering um eine Exsudation zu bewirken. Die Gewinnung von Xylemsaft entlang der Architektur der Pappel erfolgte deshalb durch Applikation von pneumatischem Druck auf den Wurzelraum. Der so gewonnene Xylemsaft wird im Folgenden als Xylemexsudat bezeichnet.

### 2.4.1 Wurzeldruckexsudat

Das Abschneiden des Sprosses, d.h. die fehlende Transpiration hat Einfluß auf die Saftflußraten und damit auch auf die Xylemsaftzusammensetzung. Um vergleichbare Proben zu erhalten, mußte die Gewinnung von Wurzeldruckexsudat nach exakt gleichem zeitlichen Ablauf erfolgen. Zuerst wurden hydroponisch angezogene Pappeln an der verholzten Sproßbasis, ca. 5 cm über dem Hypocotyl, dekapitiert. Um Kontaminationen durch Phloembestandteile zu vermeiden, wurde die Rinde bis 2 cm unterhalb der Schnittstelle abgeschält, der freipräparierte Holzzylinder mit  $\text{H}_2\text{O}_{\text{bidest}}$  gespült und die angeschnittenen Rindenzellschichten mit Parafilm abgedichtet. Nach einem weiteren Schnitt durch den Holzzylinder (ca. 0,5 cm unterhalb des ersten Schnittes) wurde der Zylinder nochmals gespült. Anschließend wurde ein elastischer Kunststoffschlauch über den Holzzylinder gezogen, der als Reservoir für den austretenden Xylemsaft diente. Um Verdunstungsverluste zu vermeiden, wurde das Reservoir oben abgedichtet. Besonders geeignet waren dazu Spitzen von 1 ml-Pipetten, die mit feuchtem Filterpapier gefüllt waren. Exakt 2 bzw. 5 min nach Dekapitieren wurden die ersten Tropfen des austretenden Wurzeldruckexsudats mit einer Pipette abgenommen. Danach erfolgte die

Sammlung von Wurzeldruckexsudat in Intervallen von 2, 5 oder 10 min. Genaue Angaben hierzu sind bei den einzelnen Experimenten aufgeführt. Nach Bestimmung des Volumens durch Wiegen wurden die Proben in flüssigem N<sub>2</sub> eingefroren und bis zur Analyse bei -80°C gelagert. Die jeweils erste Probe wurde verworfen, da hier die Gefahr einer Kontamination durch angeschnittene parenchymatische Zellen bestand. Als Bezugsgrößen für spätere Berechnungen wurde folgende Pflanzenparameter ermittelt: (a) Sproßlänge, (b) Anzahl und Frischgewicht der Blätter, (c) Frischgewicht der Wurzel, getrennt nach Fein- und Grobwurzeln, (d) Gesamtfrischgewicht und (e) Sproßdurchmesser an der Sproßbasis.

#### 2.4.2 Xylemexsudat

Die Gewinnung von Xylemexsudat an verschiedenen alten Blättern entlang des Sprosses erfolgte durch Druckapplikation im Wurzelraum. Aus methodischen Gründen mußte die Anzucht in speziellen Gefäßen in festem Substrat erfolgen (s. [2.1.2.2](#)).

Die Druckapplikation im Wurzelraum erfolgte mit einer Druckkammer nach Passioura (Passioura 1987) durch Verwendung von Preßluft. Mit steigendem Druck würde die O<sub>2</sub>-Menge im Wurzelbereich zunehmen. Um dies zu verhindern wurde der Preßluft abhängig vom angelegten Druck eine entsprechende Menge N<sub>2</sub> zudosiert um die O<sub>2</sub>-Menge konstant zu halten. Xylemexsudat wurde an der Mittelrippe der Blätter gewonnen. Hierzu wurden die Blätter in der Mitte der Blattspreite quer und längs zur Mittelrippe eingeschnitten, ein elastischer Kunststoffschlauch über die frei präparierte Mittelrippe gezogen und das austretende Xylemexsudat über definierte Zeitintervalle gesammelt. Nach Bestimmung des Volumens durch Wiegen wurden die Proben in flüssigem N<sub>2</sub> eingefroren und bis zur Analyse bei -80°C gelagert.

Um den Einfluß des applizierten Druckes auf den natürlichen Volumenfluß im Xylem so gering wie möglich zu halten, wurde der Druck so reguliert, daß die Exsudationsrate gering blieb (maximal 10 µl min<sup>-1</sup>). Abhängig von der Transpirationsrate lag der applizierte Druck bei 2,8-5,3 bar. Durch Druckapplikation konnte entlang der gesamten Achse, an mehreren Blattalterstadien gleichzeitig, Xylemexsudat isoliert werden. An einzelnen Blättern war es möglich, über 2 Tage kontinuierlich Xylemexsudat zu gewinnen. Am Versuchsende wurden als Bezugsgrößen für spätere Berechnungen folgende Pflanzenparameter ermittelt: (a) Sproßlänge, (b) Anzahl und Frischgewicht der Blätter, (c) Frischgewicht der Wurzel, getrennt nach Fein- und Grobwurzeln, (d) Gesamtfrischgewicht und (e) Sproßdurchmesser an der Sproßbasis. Der Versuch wurde unter kontrollierten Klimabedingungen durchgeführt (s. [2.1.2.1](#)).

## 2.5 Gewinnung von Apoplastenflüssigkeit aus Blättern

Zur Isolierung von Flüssigkeit aus dem Blattapoplasten wurden zwei verschiedene Methoden verglichen:

### (a) Zentrifugation ohne vorhergehende Infiltration der Blätter

(in Anlehnung an DANDEL et al. 1995)

Bei dieser Methode wurde die Mittelrippe frisch geernteter und gewaschener Blätter entfernt, die Blätter zur Stabilisierung in feste Folie eingerollt und in Zentrifugenröhrchen überführt. Die Röhrchen waren am Boden perforiert und mit einem Auffangbehälter für die austretende Flüssigkeit versehen. Die so präparierten Blatthälften wurden für jeweils 10 min mit sukzessiv ansteigender Zentrifugalbeschleunigung (40 -2600 g) im Swing-out-Rotor bei 4°C zentrifugiert. Zwischen den Zentrifugationsschritten wurde die austretende Flüssigkeit entnommen und die Menge durch Wiegen bestimmt.

### (b) "Infiltrations-Zentrifugations-Technik"

(in Anlehnung an HUSTED und SCHJOERRING 1995)

Auch bei dieser Methode wurden Blatthälften wie zuvor beschrieben präpariert, für jeweils 10 min mit sukzessiv ansteigender Zentrifugalbeschleunigung (160 -4080 g) im Swing-out-Rotor bei 4°C zentrifugiert und das Volumen der austretenden Flüssigkeit zwischen den Zentrifugationsschritten bestimmt. Vor der Zentrifugation wurden die Blatthälften jedoch mit eisgekühltem und entgastem MDH-Extraktionspuffer (s.u.) oder  $H_2O_{bidest}$  infiltriert. Die Infiltration erfolgte in einer 50 ml-Spritze durch wechselndes Anlegen von Druck und Unterdruck.

Die Anwendung der "Infiltrations-Zentrifugations-Technik" hat eine Verdünnung der Apoplastenflüssigkeit zur Folge. Die gewonnene Flüssigkeit wird deshalb als „Apoplastenwaschflüssigkeit“ (AWF) bezeichnet. Bei der Berechnung von Stoffkonzentrationen im Blattapoplasten muß dies berücksichtigt werden. Geht man davon aus, daß durch die Infiltration das gesamte Gasvolumen des Apoplasten mit Flüssigkeit gefüllt wird, kann der Verdünnungsfaktor über das Verhältnis zwischen gasgefülltem und flüssigkeitsgefülltem Volumen berechnet werden. Das gasgefüllte Volumen im Blattapoplasten wurde an voll turgeszenten Blättern (4stündige Inkubation in  $H_2O$ ) über die Gewichtsdifferenz vor und nach Infiltration bestimmt. Für den flüssigkeitsgefüllten Anteil wurde auf Literaturdaten zurückgegriffen.

Als Indikator für eine mögliche Kontamination durch cytoplasmatische Inhaltsstoffe diente die Aktivität der NAD-abhängigen Malat-Dehydrogenase (NAD-MDH) in der „Apoplastenflüssigkeit“. Als Vergleichswert wurde die MDH-Aktivität im Überstand des Blatthohextraktes herangezogen.

Extraktion des Blattmaterials:

Blattmaterial wurde im Verhältnis 1 : 20 mit MDH-Extraktionspuffer versetzt und bei 4°C homogenisiert. Nach Zentrifugation (10 min bei 14000 Upm, Eppendorf Tischzentrifuge) wurde die MDH-Aktivität im Überstand bestimmt.

MDH-Extraktionspuffer:	50,0 mM HEPES
	5,0 mM MgCl <sub>2</sub>
	5,0 mM DTT
	1,0 mM EGTA
	1,0 mM EDTA
	0,5 mM PMSF
	pH-Wert 7,4 (1N KOH)

Aktivität der NAD-MDH (EC 1.1.1.37, L-Malat: NAD Oxidoreduktase)

(modifiziert nach Tetlow und Farrar 1993)

Die NAD-MDH katalysiert die Umsetzung von Oxalacetat zu Malat:



Testansatz:	1000 µl	0,10 M MOPS-Puffer, pH 7,5
	25 µl	0,02 M NADH
	100 µl	0,02 M Oxalacetat, gelöst in MOPS-Puffer
	50 µl	1 : 5 verdünnter Extraktüberstand bzw. unverdünnte „Apoplastenflüssigkeit“

Der Test wurde durch Zugabe der Probe gestartet. Als Blindwert diente ein Testansatz ohne Substrate. Die MDH-Aktivität wurde über die Extinktionsabnahme (Oxidation von NADH) bei 366 nm und 25°C bestimmt (Photometer: Shimadzu UV-160). Die Berechnung erfolgte nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz mit  $\epsilon(\text{NADH}) = 3,4 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

## 2.6 Nährstoff- und Amino-N-Gehalte im Pflanzengewebe

### 2.6.1 Ernte von Blatt- und Wurzelmaterial

Da der Nährstoff- und Amino-N-Gehalt im Pflanzengewebe diurnal variiert, erfolgte die Ernte von Blatt- und Wurzelmaterial in der Mitte der Lichtphase. Jeweils 24 h und 2 h vor der Ernte wurden die Pflanzen in frische NL überführt. Geerntet wurden ganze Blätter und repräsentative Proben der Feinwurzelmasse. Um Kontaminationen durch Salze auf der Oberfläche zu vermeiden, wurde das Pflanzenmaterial sorgfältig gewaschen (3 x 2 min mit demineralisiertem H<sub>2</sub>O) und abgetrocknet. Nach Entfernen der Mittelrippe wurden die Blatthälften einzeln in Stücke zerschnitten, das Frischgewicht bestimmt und in flüssigem

N<sub>2</sub> eingefroren. Auch die Feinwurzelproben wurde vor dem Schockgefrieren zerkleinert. Die Proben wurden bis zur Aufarbeitung bei -80°C gelagert.

### 2.6.2 MeOH / Chloroform-Extraktion

Um Proteine und lipophile Substanzen, die bei der Analyse von Ionen und löslichen Amino-N-Verbindungen mittels HPLC interferieren, abzutrennen, erfolgte die Extraktion hydrophiler Substanzen mit MeOH/Chloroform modifiziert nach Stitt et al. 1983. Das gefrorene Pflanzenmaterial wurde dazu mit flüssigem N<sub>2</sub> homogenisiert und im Anschluß mit einem MeOH/Chloroform-Gemisch (3,5:1,5) extrahiert (ca. 8 ml/g Fwt.) Nach Inkubation bei 4°C (Blätter: 30 min, Wurzeln: 60 min) wurde der Extrakt mit 3 ml HPLC-H<sub>2</sub>O versetzt, 2 min geschüttelt und zur Phasentrennung zentrifugiert (5 min bei 5000 Upm, Hettich EBA 3S). Die obere, hydrophile Phase wurde abgenommen und die unteren Phasen nochmals mit 3 ml HPLC-H<sub>2</sub>O versetzt, gemischt und zentrifugiert. Die oberen Phasen wurden vereinigt und am Rotationsverdampfer bei 34°C eingengt. Der trockene Rückstand wurde in 1 -2 ml HPLC-H<sub>2</sub>O resuspendiert, filtriert (Cellulose-Acetat-Filter Ø 0,45 µm, Fa. Sartorius) und bei -80°C gelagert.

Diese Methode wurde hinsichtlich der Stabilität der Amino-N-Verbindungen, der „Wiederfindungsrate“ und einer möglichen Kontamination durch Salze überprüft:

Die oben beschriebene Extraktionsmethode erfolgte ohne Zugabe von Extraktionspuffer zum Pflanzenmaterial um einen Eintrag von Salzen zu vermeiden. Dies hatte keinen negativen Einfluß auf die Stabilität der löslichen Amino-N-Verbindungen. Der ermittelte Gehalt von 20 Amino-N-Verbindungen im Blattmaterial nach Extraktion mit oder ohne Extraktionspuffer (20 mM HEPES, 20 mM NaF, pH 7) war im Rahmen der Meßgenauigkeit gleich. Die prozentuale Abweichung entsprach im Mittel  $-2 \pm 25 \%$  (Konzentration nach Pufferextraktion = 100 %, n=6).

Nach Zusatz eines AS-Standards (asp, glu, asn, gln, ala) vor der Extraktion des Pflanzenmaterials lag die „Wiederfindungsrate“ bei  $110 \pm 13 \%$  (n=6). Verluste durch Abbau bzw. die Extraktionsprozedur konnten daher ausgeschlossen werden.

Um eine mögliche Kontamination durch Salze zu testen, erfolgte die Extraktionen ohne Pflanzenmaterial. Eine Eintrag von NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> und K<sup>+</sup> war nicht zu beobachten. Während die Kontamination durch Cl<sup>-</sup>, Ca<sup>2+</sup>- und Mg<sup>2+</sup>-Ionen zu vernachlässigen war (0,1 % bis maximal 10 % der ermittelten Konzentration im Pflanzenextrakt), lag der Eintrag von Na<sup>+</sup> aufgrund der geringen Na<sup>+</sup>-Gehalte im Pflanzengewebe bei 7 - 100 % der gemessenen Na<sup>+</sup>-Konzentrationen im Pflanzenextrakt.

## 2.7 Aktivität der Nitratreduktase (NR, EC 1.6.6.1)

### 2.7.1 in vitro-Assay

Um diurnale Variationen auszuschließen, mußte die Bestimmung der NR-Aktivität in der Mitte der Lichtphase, zeitgleich an verschiedenen Blattalterstadien erfolgen. Vorversuche zeigten, daß die NR-Aktivität im Rohextrakt über ca.1,5 h annähernd stabil blieb (3 % Abnahme in Vergleich zur Ausgangswert), danach aber abnahm. Die Aktivitätsbestimmung mußte daher direkt im Anschluß an die Extraktion erfolgen. Deshalb wurde das Pflanzenmaterial nach der Ernte (s. [2.6.1](#)) in flüssigem N<sub>2</sub> eingefroren und bis zur Extraktion bei -80°C gelagert. Das Einfrieren des Pflanzenmaterials hatte keinen Aktivitätsverlust der NR zur Folge.

#### Extraktion des Pflanzenmaterials:

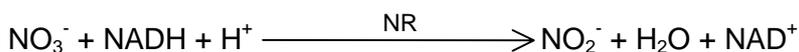
Gefrorenes Blatt- und Wurzelmaterial wurde mit einer definierten Menge Extraktionspuffer (5-7 ml/g Fwt.) auf Eis homogenisiert. Nach Zentrifugation (2 x 8 min bei 4°C und 14000 Upm, Tischzentrifuge Eppendorf) wurde die NR-Aktivität im Überstand bestimmt.

Extraktionsmedium:	50 mM KPP
	5 mM Ascorbat
	1 mM EDTA
	1 mM DTT
	10 µM Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>
	10 µM FAD
	10 µM Leupeptin
	10 µM Chymostatin
	10 µM Pepstatin
	pH 7,5
	5 % (w / v) PVPP

#### Bestimmung der "in vitro" NR-Aktivität

(modifiziert nach PEUKE 1987)

Die NR katalysiert die Reduktion von NO<sub>3</sub><sup>-</sup> zu NO<sub>2</sub><sup>-</sup>:



Testansatz:	350 µl	50 mM KPP, pH 7,5
	50 µl	40 mM KNO <sub>3</sub> (gelöst in KPP s.o.)
	50 µl	10 mM NADH (gelöst in KPP s.o.)
	50 µl	Extraktüberstand

Die Reaktion wurde durch Zugabe von zellfreiem Extrakt gestartet und der Testansatz bei 30°C im Dunkeln inkubiert. Nach 30 oder 60 min wurde die Reaktion durch Zugabe von 500 µl „MIX“ abgestoppt und das gebildete  $\text{NO}_2^-$  in einen Azofarbstoff überführt. Die Proben wurden zentrifugiert (5 min bei 14000 Upm, Tischzentrifuge Eppendorf) und die Extinktion im Überstand bei 540 nm gemessen (Photometer: Shimadzu UV-160). Als Referenz diente ein vor der Inkubation abgestopptes Aliquot des Ansatzes. Die Quantifizierung erfolgte anhand einer Eichkurve (1 -20 nmole  $\text{NO}_2^-$ ).

"MIX":                    2,5% Sulfanilamid in 3,75 N HCl  
                              0,5% N-(1-Naphthyl)-ethylen-diammonium-dichlorid  
                              im Verhältnis 1:1 (v / v)

### 2.7.2 in vivo-Assay

Die Bestimmung der „in vivo“ NR-Aktivität erfolgte modifiziert nach Jaworski (1971). Der Enzymtest wurde mit frischem Pflanzenmaterial, direkt im Anschluß an die Ernte durchgeführt (s. [2.6.1](#)). Nach Entfernen der Blattmittelrippen wurden die gewaschenen Blatthälften und das Feinwurzelmaterial in Segmente zerschnitten und in eisgekühltem Puffer aufbewahrt (0,5 - 1,0 g Fwt./6 ml KPP). Die Ansätze wurden 15 min im Dunkeln vakuumfiltriert und dann die Enzymreaktion durch Zugabe von 2 ml detergentzhaltigem KPP mit bzw. ohne  $\text{NO}_3^-$  gestartet.

Testansatz für die Reaktion mit externem  $\text{NO}_3^-$ :

6 ml 50 mM KPP, pH 7,5

2 ml 40 mM  $\text{KNO}_3$  (gelöst in KPP s.o.), 0,5 % (v/v) Triton X 100

Testansatz für die Reaktion ohne externes  $\text{NO}_3^-$ :

6 ml 50 mM KPP, pH 7,5

2 ml 50 mM KPP, pH 7,5, 0,5 % (v/v) Triton X 100

Die Enzymreaktion lief bei 30°C im Dunkeln ab. Zu vorgegebenen Zeiten wurde ein Aliquot aus dem Testansatz entnommen und die  $\text{NO}_2^-$ -Konzentration colorimetrisch bestimmt (s. [2.7.1](#)). Als Referenz diente ein Testansatz ohne Pflanzenmaterial. Die Aktivität der NR wurde über die  $\text{NO}_2^-$ -Zunahme zwischen 15 -60 min nach Reaktionsstart berechnet. Die Zunahme des Verhältnisses zwischen Frischgewicht und Testvolumen durch Entnahme von Proben wurde dabei berücksichtigt. Unter den gegebenen Bedingungen blieb die Aktivität der NR über einen Inkubationszeitraum von 1,5 -2 h stabil (Mäck 1988).



Anionen oder Kationen wurden durch Ionenaustauschersäulen (s.u.) nach Ladung und Größe von anderen Probenbestandteilen isokratisch getrennt und über Leitfähigkeitsdetektoren nachgewiesen. Die Quantifizierung erfolgte anhand von 2-Punkt-Eichungen mit Ionenkonzentrationen zwischen 2 - 800  $\mu\text{M}$ . Die Eichung wurde so angepaßt, daß die Konzentrationen aller Anionen bzw. Kationen während eines Probenlaufs quantifiziert werden konnten. Die Linearität jeder Eichung wurde überprüft. Die Eluenten (s.u.) wurden in HPLC- $\text{H}_2\text{O}$  angesetzt und vor Verwendung entgast und filtriert (Anioneneluent: Filter aus regenerierter Cellulose  $\varnothing$  0,2  $\mu\text{m}$ , Fa. Sartorius / Kationeneluent: Cellulose-Acetat-Filter  $\varnothing$  0,2  $\mu\text{m}$ , Fa. Sartorius).

	Anionenchromatographie	Kationenchromatographie
Trennung von	$\text{Cl}^-$ , $\text{NO}_2^-$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , $\text{SO}_4^{2-}$	$\text{Na}^+$ , $\text{NH}_4^+$ , $\text{K}^+$ , $\text{Mg}^{2+}$ , $\text{Ca}^{2+}$
Säule	IC-Pak A HR - Fa. Waters	IC-Pak C M/D - Fa. Waters
Eluent	1,5 mM Gluconsäure 11,0 mM $\text{H}_3\text{BO}_3$ 4,1 mM LiOH 58,0 mM Glycerin 2 % (v / v) n-Butanol 12 % (v / v) $\text{CH}_3\text{CN}$ pH 8 - 8,5	0,1 mM EDTA (freie Säure) 3,0 mM $\text{HNO}_3$ pH 2 - 2,5
Flußrate	1 ml $\text{min}^{-1}$	1 ml $\text{min}^{-1}$

### 2.10.3 Freie Aminosäuren (RP-HPLC)

(Nachweis nach Riens et al. 1991)

Die Analyse der Aminosäuren (AS) im Xylemsaft und in den Pflanzenextrakten (s. [2.6.2](#)) erfolgte durch RP-HPLC, nach Vorsäulen-Derivatisierung mit ortho-Phthaldialdehyd (OPA). OPA reagiert bei alkalischem pH-Wert und in Anwesenheit von Mercaptoethanol mit der primären Aminogruppe der AS und setzt diese zu fluophoren apolaren Indolderivaten um. Mit dieser Methode konnten alle proteinogenen AS mit Ausnahme von Prolin, Cystein und Cystin qualitativ und quantitativ bestimmt werden.

Derivatisierungsreagenzien

OPA-Stammlösung:	16 mM	OPA
	88 % (v/v)	Methanol
	0,1 M	K-Borat, pH 10,4
	1,1 % (v/v)	Mercaptoethanol
Arbeitslösung:	0,5 ml	OPA-Stammlösung
	1,0 ml	K-Borat, pH 10,4

Die Derivatisierungsreaktion verläuft sehr schnell und einige der gebildeten Indolderivate sind instabil. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, erfolgte die Derivatisierung und Auftragung der Proben auf die temperierte Trennsäule (35°C, Säulenofen 2155, Fa. Pharmacia LKB) mit einem automatisch gesteuertem Probengeber (Autosampler 2157, Fa. Pharmacia LKB). Je 20 µl Probe und Arbeitslösung wurden gemischt und nach 1minütiger Derivatisierung bei 15°C wurden 20 µl des Gemisches auf die Trennsäule aufgetragen. Als Säulenmaterial wurde Octadecylsilicat verwendet (Superspher 100 RP-18 endcapped, 4 µm, 4 x 125 mm, Fa. Pharmacia LKB). Die Gesamtaminosäurekonzentration im Derivatisierungsansatz betrug maximal 0,5 mM. Die Elution der derivatisierten AS vom apolaren Säulenmaterial erfolgte über einen Gradienten aus Phosphatpuffer und Acetonitril mit steigender Hydrophobizität. Der Gradient wurde durch einen Gradientenmischer (Low Pressure Mixer, Ternaty, Fa. Pharmacia LKB) und einer Pumpe (HPLC-Pumpe 2248, Fa. Pharmacia LKB) erzeugt.

Elutionslösungen

Phosphatpuffer:	18 mM	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>
	1,71 mM	EDTA (freie Säure)
	pH 7,1	eingestellt mit 30 % (w/v) NaOH
Lösung A:	95 % (v/v)	Phosphatpuffer
	5 % (v/v)	CH <sub>3</sub> CN
Lösung B:	50 % (v/v)	Phosphatpuffer
	50 % (v/v)	CH <sub>3</sub> CN
Lösung C:	70 % (v/v)	CH <sub>3</sub> CN in HPLC-H <sub>2</sub> O

Verlauf des Gradienten

min	% A	% B	% C	Flußrate (ml min <sup>-1</sup> )
0	100	0	0	0,9
12	81	19	0	0,9
20	81	19	0	0,9
38	52	48	0	0,9
41	52	48	0	0,9
48	32	68	0	0,9
51	0	0	100	1,2
66	0	0	100	1,2
68	100	0	0	0,9
78	100	0	0	0,9

Die Fluoreszenzdetektion der AS-Derivate erfolgte bei einer Anregungswellenlänge von 330 nm und einer Emissionswellenlänge von 408 nm (Fluoreszenzdetektor 2144, Fa. Pharmacia LKB). Als Blindwert diente HPLC-Wasser. Zur Quantifizierung wurde vor jeder Meßsequenz (max. 28 Läufe) eine 3-Punkt-Eichung durchgeführt (4, 10 und 20 µM AS). Als Eichlösung diente ein AS-Standardgemisch (Amino Acid Standard Solution A-2161, Fa. Sigma), dem Glutamin, Asparagin, Tryptophan und  $\gamma$ -Aminobuttersäure in entsprechenden Konzentrationen zugesetzt wurden. Die Eichung war im angegebenen Konzentrationsbereich linear. Um Geräteungenauigkeiten der Pumpe oder des automatischen Probengebers korrigieren zu können, wurde allen Eichlösungen und Proben 16 µM  $\alpha$ -Aminobuttersäure als interner Standard zugesetzt. Die Pumpe, der Autosampler und die Meßsequenz wurden durch ein Computerprogramm gesteuert (HPLC-Manager, Fa. Pharmacia LKB). Die Auswertung der Chromatogramme erfolgte mit einer speziellen Integrationssoftware der Fa. Dionex.

Vor der Analyse wurden die Proben filtriert (Cellulose-Acetat-Filter  $\varnothing$  0,45 µm, Fa. Sartorius) und, wie auch die Eichlösungen, mit 5 % (v/v) K-Borat (1 M, pH 10,4) gepuffert. Alle verwendeten Chemikalien entsprachen dem höchsten erhältlichen Reinheitsgrad.

### 2.11 Nettonitrataufnahme

Die  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme intakter Pflanzen wurde anhand der Abnahme der  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration in der Nährlösung ermittelt. Da  $\text{NO}_3^-$ -Influx und  $\text{NO}_3^-$ -Efflux in bzw. aus den Wurzelsymplasten gleichzeitig ablaufen, liefert diese Methode Daten über die Nettomenge des aufgenommenen  $\text{NO}_3^-$  (Nettonitrataufnahme). Alle Aufnahmemessungen erfolgten unter kontrollierten Klimabedingungen (RH: 60 - 70 %, Licht/Dunkel-Rhythmus: 16 h/8 h, Temperatur: 22°C/18°C). Untersucht wurden (a) kurzfristige Variationen der  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme

in der Lichtphase und (b) langfristige Veränderungen der Aufnahme­rate (über max. 29 d) nach Erhöhung des externen  $\text{NO}_3^-$ -Angebots ( $1 \text{ mM} \rightarrow 8 \text{ mM NO}_3^-$ ). Der durch Probeentnahme, Evaporation und Transpiration bedingte Volumenverlust der NL im jeweiligen Untersuchungszeitraum wurde bei der Berechnung der Aufnahme­raten berücksichtigt.

(a) Für kurzfristige Untersuchungen zur  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme wurden nitratinduzierte Pflanzen (Anzucht in Kontroll-NL mit  $1 \text{ mM NO}_3^-$ , s. [2.1.2.1](#)) in belüftete Kontroll-NL überführt (1 l/Pflanze). Nach einer 30minütigen Äquilibrierungsphase wurden stündlich Proben aus der Aufnahmelösung gezogen und die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration mit HPLC (s. [2.10.1](#)) bestimmt. Im Untersuchungszeitraum von maximal 7 h sank die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Medium nicht unter  $0,6 \text{ mM}$ . Da die Aufnahme­rate nitratinduzierter Pappeln im Bereich zwischen ca.  $0,2$ - $1,0 \text{ mM}$  nahezu unabhängig von der externen  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration ist (Langheinrich 1991), war ein Wechsel der NL im Untersuchungszeitraum nicht notwendig. Am Versuchsende wurde als Bezugsgröße für die Berechnung der Aufnahme­raten das Gesamtfrischgewicht der Pflanzen ermittelt. Die berechneten Raten sind jeweils für den mittleren Zeitpunkt des Aufnahmeintervalls angegeben.

(b) Für Untersuchungen zum Einfluß eines erhöhten  $\text{NO}_3^-$ -Angebots auf die  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme wurden Pflanzen, angezogen in Kontroll-NL mit  $1 \text{ mM NO}_3^-$ , in  $8 \text{ mM NO}_3^-$ -NL überführt (Zusammensetzung der NL s. [Tab. 2.2](#)). Die Aufnahme wurde über Intervalle von 2 bis 4 d, für einen Gesamtzeitraum von max. 17 d ermittelt. Jeweils am Beginn jedes Aufnahmeintervalls wurde die Pflanzen in frisches, belüftetes Aufnahme­medium überführt (7 l/3 Pflanzen, ab einem Gesamtfrischgewicht von ca.  $65 \text{ g}$   $3,5 \text{ l}$ /1 Pflanze). Zur Berechnung der Aufnahme­raten wurde zu Beginn und Ende jedes Intervalls das Volumen, die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration (s. [2.10.1](#)) des Aufnahme­mediums und das Gesamtfrischgewicht der Pflanzen bestimmt. Als Bezugsgröße diente das mittlere Gesamtfrischgewicht im Aufnahmeintervall (Mittelwert:  $\text{Fwt.}_{\text{Beginn Aufnahmeintervall}}$  und  $\text{Fwt.}_{\text{Erde Aufnahmeintervall}}$ ). Als Kontrollen wurden identisch behandelte Pflanzen in Kontroll-NL mit  $1 \text{ mM NO}_3^-$  verwendet.

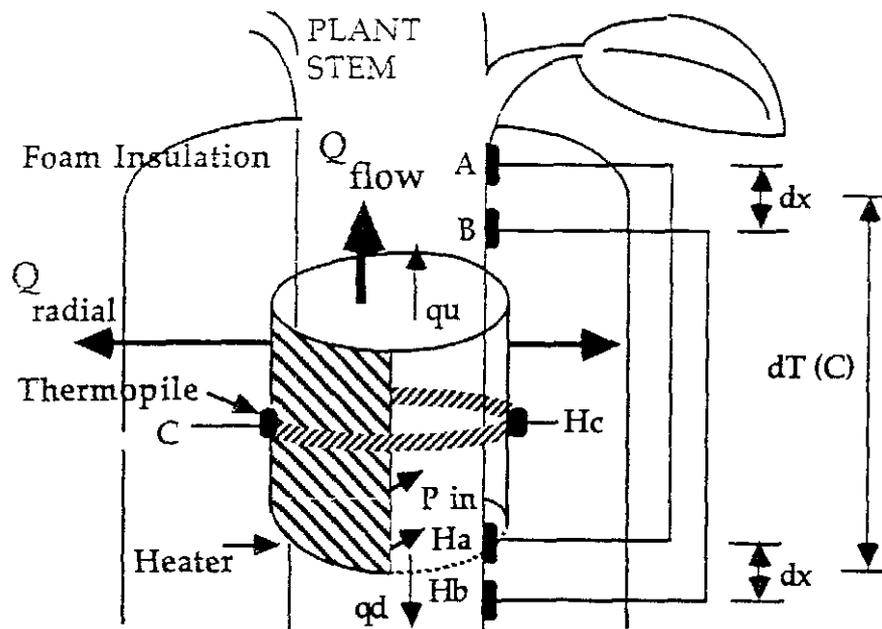
## 2.12 Saftflußmessungen

Zur Berechnung von Translokationsraten für einzelne Nährstoffe mußte neben der Xylemsaftzusammensetzung auch der Xylemsaftfluß unter transpirierenden Bedingungen ermittelt werden. Dies erfolgte an hydroponisch angezogenen Pappeln durch Verwendung der „stem heat balance-Methode“. Zur Validierung dieser Methode wurde der Saftfluß zeitgleich durch die „gravimetrische Methode“ bestimmt. Alle Messungen erfolgten unter kontrollierten Klimabedingungen (RH: 65 - 70 %, Licht/Dunkel-Rhythmus: 16 h/8 h, Temperatur:  $22^\circ\text{C}/18^\circ\text{C}$ , Lichtintensität an den obersten Blättern:  $170 \mu\text{E m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ).

## 2.12.1 stem heat balance-Methode

Meßprinzip der „stem heat balance-Methode“

Bei dieser Methode wird einem ca. 2 cm langem Sproßbereich eine konstante Wärmemenge zugeführt und anhand der „Wärmeverteilung“ die Saftflußrate kalkuliert. Am Sproß wird dazu eine Manschette mit einem sproßumschließenden Heizband und Temperatursensoren oberhalb, unterhalb und radial zum Heizband angebracht ([Abb. 2.3](#)).



**Abb. 2.3** Schematische Darstellung der Meßmanschette bei der Saftflußmessung mit der „stem heat balance-Methode“. Die verwendeten Bezeichnungen sind im fortlaufenden Text genauer erläutert.

$P_{in}$  = zugeführte Wärmemenge

$Q_{flow}$  = vertikal aufwärts transportierte Wärmemenge

$Q_{radial}$  = radiale Wärmediffusion

$q_u / q_d$  = vertikale Wärmediffusion, aufwärts (u) oder abwärts (d) gerichtet

A, B, Ha, Hb, C, Hc = Temperatursensoren

$dx$  = Abstand zwischen den Sensoren

$dT$  = Temperaturzunahme des Saftes

Über das Heizband wird dem Sproßbereich eine konstante Wärmeleistung ( $P_{in}$ ) zugeführt. Ein Teil der zugeführten Wärmemenge geht durch radiale und vertikale Wärmediffusion verloren, der andere Teil wird durch den Xylemsaftfluß vertikal aufwärts transportiert:

$$(1) \quad P_{in} = Q_r + Q_v + Q_f \quad (W)$$

$P_{in}$  = zugeführte Wärme (W)

$Q_v$  = vertikale Wärmediffusion (W)

$Q_r$  = radiale Wärmediffusion (W)

$Q_f$  = vertikal aufwärts transportierte Wärmemenge (W)

Die zugeführte Wärmemenge ist bekannt und kann durch Variation der angelegten Spannung eingestellt werden. Nach dem Ohm'schen Gesetz gilt:

$$P_{in} = V^2 \cdot R^{-1} \text{ (W)}$$

V = angelegte Spannung (V)  
R = Widerstand der Manschette ( $\Omega$ )

Bei der vertikale Wärmediffusion kann zwischen aufwärts- und abwärtsgerichteter Wärmediffusion unterschieden werden. Beide Größen können über Temperatursensoren oberhalb und unterhalb des Heizbandes bestimmt werden ([Abb. 2.3](#): A/B bzw. Ha/Hb).

$$Q_v = Q_u + Q_d \text{ (W)}$$

Q<sub>u</sub> = vertikale Wärmediffusion aufwärts gerichtet (W)  
Q<sub>d</sub> = vertikale Wärmediffusion abwärts gerichtet (W)  
Kst = Wärmeleitfähigkeit des Sprosses ( $W m^{-1} \text{ } ^\circ C^{-1}$ )  
empirisch ermittelte Konstante für krautige, holzige oder hohle Sprosse

nach Fouriers Gesetz gilt:

$$Q_u = (Kst \cdot A \cdot dTu) dx^{-1} \text{ (W)}$$

$$Q_d = (Kst \cdot A \cdot dTd) dx^{-1} \text{ (W)}$$

A = Sproßfläche ( $m^2$ )  
dT(u/d) = Temperaturgradient zwischen den Sensoren oberhalb (u) und unterhalb (d) des Heizbandes ( $^\circ C$ )  
dx = Abstand zwischen den Sensoren (m)

Problematisch ist die Berechnung der radialen Wärmediffusion ( $Q_r$ ). Abhängig von der Art der Anbringung der Manschette ändert sich die radiale Wärmeleitfähigkeit (Ksh). Deshalb muß vor jeder Messung die aktuelle radiale Wärmeleitfähigkeit bestimmt werden. Dies muß unter Bedingungen erfolgen, bei denen der Safffluß = 0 ist:

$$Q_r = Ksh \cdot CHc \text{ (W)}$$

Ksh = radiale Wärmeleitfähigkeit ( $W mV^{-1}$ )  
CHc = Gradient zwischen den radialen Sensoren (mV)

bei Safffluß = 0; Q<sub>f</sub> = 0 gilt nach (1)

$$Ksh = (P_{in} - Q_v) CHc^{-1} \text{ (W mV}^{-1}\text{)}$$

Die mit den Xylemsaft aufwärts transportierte Wärmemenge ( $Q_f$ ) kann dann über die Differenz zwischen zugeführter Wärmemenge und der Wärmeverluste durch Diffusion berechnet werden:

nach (1) gilt:

$$(2) \quad Q_f = P_{in} - Q_r - Q_v \text{ (W)}$$

Über die spezifische Wärmekapazität von Wasser und die durch Wärmezufuhr bedingte Temperaturzunahme des Xylemsaftes kann die Saffflußrate (Menge/Zeiteinheit) kalkuliert werden (Sakuratani 1981, Baker und Van Bavel 1987):

$$(3) \quad F = Q_f (C_p \cdot dT)^{-1} \text{ (g s}^{-1}\text{)}$$

$$dT = (A_{Ha} + B_{Hb}) / 2$$

$F$  = Saftfluß (g s<sup>-1</sup>)

$C_p$  = spez. Wärmekapazität von H<sub>2</sub>O (J g<sup>-1</sup> °C<sup>-1</sup>)

$dT$  = Temperaturzunahme des Saftes (°C)

$A_{Ha}$  = Gradient zwischen Sensor A und  $H_a$  (°C)

$B_{Hb}$  = Gradient zwischen Sensor B und  $H_b$  (°C)

( $W = J \text{ s}^{-1}$ )

### Durchführung der Messungen

Die Bestimmung der Saftflußraten erfolgte mit dem Saftflußmeßgerät der Fa. Dynamax, Houston Texas (FLOW2 System). Mit dem verwendeten System konnten zeitgleich zwei unabhängige Messungen durchgeführt werden. Die Messungen wurden über einen Datalogger gesteuert, der auch die Meßdaten speicherte. Die Konfiguration der Messung erfolgte über eine spezielle PC-Software. Da der Sproßdurchmesser der Versuchspflanzen etwa 5 mm betrug, wurden Manschetten vom Typ SGA 5-WS, Ø 5-7 mm) verwendet.

Für die Messung ist ein enger Kontakt zwischen Rinde und Heizband bzw. Temperatursensoren entscheidend. Deshalb wurde die Manschette an einem möglichst geraden Sproßabschnitt mit glatter Rinde angebracht. Unebenheiten oder einzelne Blätter wurden vorher entfernt und die Oberfläche geglättet. Damit mögliche Verletzungen abheilen konnten, erfolgte dies mindestens 3 d vor der Messung. Das Entfernen einzelner Blätter war aufgrund der geringen Internodienlänge der Versuchspflanzen notwendig. Um einen optimalen Wärmeübergang trotz geringer Unebenheiten sicherzustellen, wurde außerdem Silikonfett auf das Heizband, die Thermosensoren und die Rinde aufgetragen. Potentiell auftretende Hohlräume wurden so ausgefüllt. Nach Anbringen der Manschette wurde sie durch spezielle Zylinder aus wärmeisolierendem Material und durch Umhüllen mit Alufolie gegen Temperaturschwankungen der Umgebung isoliert.

Bei der Berechnung der Saftflußraten geht die Fläche des Sproßquerschnittes ein. Vor Anlegen der Manschette wurde deshalb der Sproßdurchmesser an der Meßstelle mit einem Meßschieber ermittelt und die Fläche berechnet. Als weiterer Parameter geht die Wärmeleitfähigkeit des Sprosses (Kst-Wert) in die Berechnung der Saftflußraten ein. Da der untersuchte Sproßabschnitt der Versuchspflanzen vollständig verholzt war, wurde der vorgegebene Kst-Wert für verholzte Sprosse gewählt. Die Messung wurde so konfiguriert, daß die gemessenen Daten über jeweils 10 min gemittelt und dann gespeichert wurden. Entscheidend für eine optimale Saftflußmessung ist die Temperaturzunahme des Saftes ( $dT$ ). Der Wert für  $dT$  sollte zwischen 2 - 6°C liegen. Aufgrund des Hintergrundrauschens kann ein geringerer Gradient zu Fehlern bei der Berechnung führen. Bei einem Wert > 6°C besteht die Gefahr, daß das Pflanzengewebe zu stark aufgehetzt wird. Die Größe des aufgebauten Temperaturgradienten ist abhängig von der zugeführten Wärmemenge

( $P_{in}$ ) bzw. der angelegten Spannung. Vorversuche haben gezeigt, daß unter den gegebenen Bedingungen der optimale Wert der angelegten Spannung bei ca. 4,5 V lag ( $\cong 0,1 W$  je nach Widerstand der verwendeten Manschetten). Abhängig vom aktuellen Saftfluß lag der aufgebaute Temperaturgradient bei dieser Spannung zwischen 2 - 4°C. Bevor die Saftflußmessung erfolgen konnte, mußte die aktuelle radiale Wärmeleitfähigkeit (ksh-Wert) ermittelt werden. Dies erfolgte jeweils am Ende der Dunkelperiode (zwischen 4<sup>00</sup> - 6<sup>00</sup> Uhr bei nahezu gesättigter Luftfeuchte (Umhüllen der Pflanze mit Kunststoffolie), da unter diesen Bedingungen kein bzw. ein minimaler Saftfluß herrscht.

Zur Ermittlung des Eintransportes von Xylemsaft vom Wurzelsystem in den Sproß erfolgte die Saftflußmessung an der Sproßbasis unterhalb der Blätter. Um Saftflußraten in verschiedenen Sproßbereichen zu bestimmen, wurde der Saftfluß zeitgleich an 2 verschiedenen Sproßpositionen gemessen. Die Messung erfolgte über einen Zeitraum von max. 2 Wochen. Während dieser Zeit wurden die Pflanzen weiterhin alle 2 - 3 d in frische Nährlösung überführt und die Messung dazu kurzzeitig unterbrochen. Da die Meßmethode sensibel auf diese Manipulationen reagierte, wurden alle Störungen notiert um sie bei der Auswertung berücksichtigen zu können. Zur Charakterisierung des Pflanzenmaterials wurden folgende Pflanzenparameter ermittelt:

- am Versuchsbeginn:
- Sproßlänge
  - Blattanzahl
  - Gesamtfrischgewicht
  - Sproßdurchmesser an der Meßstelle
- am Versuchsende:
- Sproßlänge
  - Anzahl und Fwt. der Blätter
  - Gesamtfrischgewicht (unterteilt nach Fwt.<sub>Sproß</sub> und Fwt.<sub>Wurzel</sub>)
  - Sproßdurchmesser an der Meßstelle, 1 cm unterhalb und 1 cm oberhalb der Meßstelle

Der Sproßdurchmesser an der Meßstelle nahm im Untersuchungszeitraum nicht oder nur geringfügig zu. Eine fehlerhafte Saftflußberechnung aufgrund zunehmender Sproßfläche ist daher auszuschließen. Als Bezugsgröße für die Saftflußraten diente das Gesamtfrischgewicht oder das Frischgewicht der über der Meßstelle liegenden Blätter. Da im Untersuchungszeitraum eine deutliche Zunahme dieser Größen erfolgte, diente das potentielle Fwt. am jeweiligen Versuchstag als Bezugsgröße. Das potentielle Fwt. wurde anhand der Frischgewichte zu Beginn und Ende des jeweiligen Versuchs durch lineare Regression interpoliert. Das Blattfrischgewicht zu Versuchsbeginn konnte nicht gemessen werden und wurde daher über das Verhältnis zwischen Fwt.<sub>Blatt</sub> : Fwt.<sub>gesamt</sub> abgeschätzt (Annahme: Verhältnis Fwt.<sub>Blatt</sub> : Fwt.<sub>gesamt</sub> ist über den Versuchszeitraum konstant). Die genauen Bedingungen sind bei den einzelnen Versuchen im Ergebnisteil angegeben.

### 2.12.2 gravimetrische Methode

Bei dieser Methode wird der Nettofluß von H<sub>2</sub>O über die transpirationsbedingte Abnahme des NL-Volumens bestimmt. Dazu wurden Pflanzen in 4 l belüfteter NL inkubiert und stündlich das Gewicht bestimmt. Um Wasserverlust durch Evaporation zu verhindern wurden die NL-Gefäße mit Folie abgedichtet. Die Abnahme des NL-Volumens im jeweiligen Zeitintervall wurde über die Gewichtsänderung ermittelt (1 ml = 1 g). Aufgrund der kurzen Meßintervalle kann die Gewichtszunahme durch das Pflanzenwachstum vernachlässigt werden.

Die „gravimetrische“ Saftflußbestimmung wurde zur Validierung der „stem heat balance-Methode“ herangezogen. Um vergleichbare Saftflußraten zu erhalten, erfolgte die Messung mit beiden Methoden, zeitgleich an derselben Pflanze (Untersuchungszeitraum: max. 7 d.). Für Routinemessungen ist die „gravimetrische Methode“ nur eingeschränkt geeignet, da (a) nur der Nettofluß von Wasser bestimmt werden kann, (b) die zeitliche Auflösung relativ gering ist (Stundenbereich) und (c) keine Flußuntersuchungen entlang der Sproßachse möglich sind. Demgegenüber kann mit der „stem heat balance-Methode“ zeitgleich an 2 Pflanzen oder 2 Sproßpositionen derselben Pflanze der Saftfluß mit einer Zeitaufklärung im Minutenbereich ermittelt werden. Diese hohe Zeitaufklärung war besonders bei den sehr schnellen Saftflußänderungen nach Licht / Dunkel-Wechsel erforderlich.

### 2.13 Gaswechsellmessungen

Gaswechsellmessungen (H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> bzw. O<sub>2</sub>) erfolgten an belichteten Blättern intakter Pflanzen durch Verwendung einer Blattküvette (transportables Gaswechsellmeßgerät: Zentraleinheit HCM-1000, Küvette 1010-M, Fa. Walz). Während der Einzelblattemessung wurde die gesamte Pflanze unter klimatisierten Bedingungen kultiviert (RH: 65 - 70 %, Licht/Dunkel-Rhythmus: 16 h/8 h, Temperatur: 22°C/18°C, Lichtintensität an den obersten Blättern: 170 µE m<sup>-2</sup> • s<sup>-1</sup>).

#### Meßprinzip

In der Küvette, die eine Blattfläche von 5 cm<sup>2</sup> einschloß, wurde ein kontinuierlicher Gasstrom über die Blattoberfläche geleitet (800 ml min<sup>-1</sup>). Die Klimabedingungen (RH, T) in der Küvette konnten eingestellt werden und die aktuellen Werte wurden kontinuierlich gemessen. Die aktuelle Blattemperatur wurde durch einen berührungslosen Infrarot-Sensor bestimmt. Durch eine CO<sub>2</sub>-Dosierungseinrichtung (Typ 1030-D, Fa. Walz) wurde der CO<sub>2</sub>-Partialdruck eingestellt. Hierzu wurde die Umgebungsluft über Natronkalk (CO<sub>2</sub>-Absorption) geleitet und der dann CO<sub>2</sub>-freien Luft die entsprechende CO<sub>2</sub>-Menge zudosiert. Die Lichtintensität konnte durch Verwendung eines Beleuchtungsaufsatzes (Typ 1050-H, Fa. Walz) variiert werden.

Der Gaswechsel wurde anhand der  $\text{CO}_2$ - bzw.  $\text{H}_2\text{O}$ -Partialdruckdifferenz zwischen Küvetteneingang und Küvettenausgang bestimmt. Die Messung erfolgte im kontinuierlichen Luftstrom mittels Infrarot-Gasanalytoren, Typ Binos-100/4PS (offenes, differentielles Meßsystem). Da die Empfindlichkeit der  $\text{CO}_2$ - bzw.  $\text{H}_2\text{O}$ -Differenzmessung abhängig von der  $\text{CO}_2$ - bzw.  $\text{H}_2\text{O}$ -Absolutkonzentration ( $\text{CO}_2_{\text{abs}}$  bzw.  $\text{H}_2\text{O}_{\text{abs}}$ ) ist, wurden zur Kalibrierung die Absolutkonzentrationen bestimmt. Die  $\text{CO}_2_{\text{abs}}$ -Messung erfolgte durch einen Infrarot-Gasanalysator (s.o.), mit  $\text{CO}_2$ -freier Luft in der Referenzküvette.  $\text{H}_2\text{O}_{\text{abs}}$  wurde anhand der RH und der Meßküvettemperatur berechnet. Die Meßküvette war so konstruiert, daß die Kalibrierung auch bei eingespanntem Blatt erfolgen konnte. Unter Einbeziehung weiterer Parameter (Blattemperatur, Gasstrom, barometrischer Luftdruck, untersuchte Blattfläche) wurde die Transpirationsrate und die Photosyntheserate nach Modellen von v. Caemmerer und Farquhar (1981) berechnet. Die Steuerung der Messung, Speicherung und Berechnung der Daten erfolgte durch einen Palmtop Computer (HP-200/H) mit Hilfe eine spezielle Software (Software DA-1000, Fa. Walz).

#### Durchführung von Gaswechselfmessungen

Um die Gaswechselfmessungen an einzelnen Blättern unter annähernd gleichen Klimabedingungen wie für den „Rest“ der Pflanze (s.o.) durchzuführen, wurde die Meßküvette temperiert ( $22^\circ\text{C}$  in der Lichtphase,  $18^\circ\text{C}$  in der Dunkelphase). Die RH in der Küvette entsprach der aktuellen Feuchte in der Klimakammer. Der  $\text{CO}_2$ -Partialdruck in der Klimakammer lag bei ca. 380 ppm. Diese Konzentration wurde daher auch in der Küvette eingestellt. Beim Einspannen der Blätter wurde darauf geachtet, daß die beprobte Blattfläche die Küvette vollständig ausfüllte und ein ähnlicher Blattausschnitt bei allen Messungen ausgewählt wurde (Blattsegment an der Blattbasis, zwischen 2 größeren Blattadern). Die Gaswechselfmessungen wurde in Abhängigkeit (a) vom Blattalter, (b) vom Tagesgang und (c) von der Lichtintensität durchgeführt.

(a) Untersucht wurden bis zu 17 verschiedene Blattalterstadien einer Pflanze (jedes zweite Blatt). Das jüngste untersuchte Blatt entsprach dem 5. vollständig entfaltetem Blatt. Die jüngeren Blätter waren zu klein um die Meßküvette vollständig auszufüllen. Um den Einfluß diurnaler Änderungen möglichst gering zu halten, erfolgten die Messungen zwischen  $10^{00}$  -  $16^{00}$  Uhr, nacheinander an allen untersuchten Blättern einer Pflanze. Ein Teil der Pflanzen wurde im angegebenen Zeitraum vom jüngsten zum ältesten Blatt beprobt, der andere Teil in entgegengesetzter Richtung. Um eine Beschattung durch andere Blätter zu vermeiden, wurde bei der Messung ein Beleuchtungsaufsatz verwendet. Die Messung erfolgte bei einer Lichtintensität, bei der die Photosyntheserate gesättigt war ( $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Vor jeder Messung wurde das Gerät kalibriert.

(b) Der Einfluß des Tagesganges auf Transpiration und Photosynthese wurde am 14. und 24. voll entfaltetes Blatt bestimmt (Klimabedingungen in der Anzuchtammer s.o.). Die Messung erfolgte in Intervallen von 15 min, über einen Gesamtzeitraum von max. 45 h. Da der eingestellte  $\text{CO}_2$ -Partialdruck konstant war, erfolgte die  $\text{CO}_2$ -Kalibrierung nur am Beginn des Gesamtmeßzeitraumes. Die  $\text{H}_2\text{O}$ -Kalibrierung wurde vor jeder Einzelmessung durchgeführt. Die Lichtintensität in der Küvette lag während der Lichtphase der Klimakammer bei  $170 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Das automatische Meßprotokoll wurde so konfiguriert, daß Änderungen der Lichtintensität und der Temperatur bei den Tag / Nacht-Übergängen in der Klimakammer und in der Meßküvette zeitgleich erfolgten.

(c) Gaswechselfmessungen in Abhängigkeit von der Lichtintensität erfolgten an verschiedenen Blattalterstadien durch Verwendung eines Beleuchtungsaufsatzes. Vor Meßbeginn wurde das untersuchte Blatt für 30 min bei der höchsten Lichtintensität adaptiert ( $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Danach wurde die Intensität stufenweise verringert (jeweils um  $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  zwischen  $2000 - 200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  und um jeweils  $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  zwischen  $200 - 0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) und die Gaswechselraten bei jeder Intensitätsstufe gemessen. Die Kalibrierung der Messung erfolgte alle 20 min, nach jedem 4. Meßpunkt.

Am Versuchsende wurden als Bezugsgrößen für spätere Berechnungen verschiedene Pflanzenparameter ermittelt (Sproßlänge, Anzahl und Frischgewicht der Blätter, Wurzelfrischgewicht und Gesamtfrischgewicht). Um die Gaswechseldaten mit anderen Daten vergleichen zu können, mußten die flächenbezogenen Raten auf das Blattfrischgewicht umgerechnet werden. Deshalb wurde im untersuchten Blattabschnitt ein Blattsegment definierter Größe ausgestanzt, das Fwt. bestimmt und die Gaswechselraten über die Relation zwischen Blattfläche und FW auf das Blattfrischgewicht umgerechnet.

## 2.14 Berechnungen und Auswertung der Experimente

### Berechnung der Nährstofftranslokationsraten im Tagesgang

Geht man davon aus, daß alle Ionen und Wasser mit der gleichen Geschwindigkeit im Xylemsaft transportiert werden, können Nährstofftranslokationsraten über die Nährstoffkonzentration im Xylemsaft und die Saftflußrate berechnet werden:

$$(1) \quad \text{Translokationsrate } (\mu\text{mol h}^{-1}) = \text{Konzentration } (\mu\text{mol ml}^{-1}) \cdot \text{Flußrate } (\text{ml h}^{-1})$$

Da die Nährstoffkonzentration und die Flußrate nicht gleichzeitig an derselben Pflanze bestimmt werden konnten, mußten die Daten über das Frischgewicht angeglichen werden. Die Konzentration im Xylemsaft ist unabhängig von der Pflanzengröße. Im Gegensatz dazu besteht zwischen der Saftflußrate und dem Gesamtfrischgewicht eine enge Korrelation ([Tab. 3.4](#)) und die ermittelten Daten konnten deshalb auf das Frisch-

gewicht bezogen werden. Anhand der gemessenen frischgewichtsbezogenen Saftflußdaten und dem aktuellen Frischgewicht der Pflanzen an denen die Nährstoffkonzentration im Xylem ermittelt wurde, wurde die potentielle Saftflußrate für diese Pflanzen berechnet:

$$(2) \quad \text{potentielle Saftflußrate von Pflanze X (ml h}^{-1}\text{)} \\ = \text{Saftflußrate (ml h}^{-1}\text{ g}^{-1}\text{Fwt.)} \cdot \text{Fwt. Pflanze X (g)}$$

Anhand der gemessenen Nährstoffkonzentration im Xylem und der berechneten potentiellen Saftflußrate (2) wurde dann die Nährstofftranslokationsrate für jede Pflanze berechnet (1).

Die Nährstoffkonzentration wurde zu verschiedenen Tageszeiten bestimmt. Entsprechend wurde zur Berechnung der potentiellen Saftflußraten auch die gemessenen frischgewichtsbezogenen Saftflußraten herangezogen, die zur gleichen Tageszeit ermittelt wurden.

Um die für verschiedene Tageszeiten berechneten Translokationsraten trotz variierender Pflanzengröße untereinander vergleichen zu können, wurde die Translokationsrate am Schluß auf das Frischgewicht der Pflanzen bezogen:

$$(3) \quad \text{Translokationsrate pro Frischgewicht von Pflanze X (}\mu\text{mol h}^{-1}\text{ g}^{-1}\text{Fwt)} \\ = \text{Translokationsrate Pflanze X (}\mu\text{mol h}^{-1}\text{)} / \text{Fwt. Pflanze X (g)}$$

#### Berechnung der Ladungsbilanz im Xylemsaft

In dieser Arbeit erfolgte die Berechnung der Ladungsbilanz ausschließlich auf Basis der anorganischen Ionen im Xylemsaft. Alle quantitativ bedeutsamen anorganischen Ionen wurden dabei berücksichtigt.

anorganisch Anionen:  $\text{Cl}^-$   $\text{NO}_3^-$   $\text{H}_2\text{PO}_4^-$   $\text{SO}_4^{2-}$

anorganische Kationen:  $\text{Na}^+$   $\text{NH}_4^+$   $\text{K}^+$   $\text{Mg}^{2+}$   $\text{Ca}^{2+}$

Mit Ausnahme von Phosphat liegen alle Ionen im Xylemsaft vollständig dissoziiert vor. Da der Xylemsaft der Pappeln einen pH-Wert von 5,8 hatte und der pKs-Wert für die Dissoziation von  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  bei 7,12 liegt, ist davon auszugehen, daß Phosphat im Xylemsaft fast ausschließlich einfach negativ geladen ist. Die Ladungsbilanz im Xylemsaft wurde wie folgt berechnet:

$$\text{Ladungsbilanz} = \frac{\sum (\text{Konzentration} \cdot \text{Partiellladung der anorganischen Anionen})}{\sum (\text{Konzentration} \cdot \text{Partiellladung der anorganischen Kationen})}$$

#### Auswertung der Experimente

Angegeben sind Ergebnisse, die den typischen Verlauf aller durchgeführten Experimente wiedergeben oder aber zusammengefaßte Daten. Im letzteren Fall werden der arithme-

tische Mittelwert und die Standardabweichung (SD) als mittlerer Fehler der Einzelmessungen angegeben. Die Anzahl der durchgeführten Experimente (n) ist jeweils aufgeführt.

$$\text{Mittelwert} = \frac{\sum \text{Einzelmessungen}}{\text{Anzahl der Einzelmessungen}}$$

$$\text{Standardabweichung (SD)} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Die Signifikanz der Versuchsergebnisse wurde durch das Prüfverfahren des t-Tests nach Student ermittelt. Hierbei werden die Mittelwerte  $\bar{x}_1$  und  $\bar{x}_2$  zweier Versuchsergebnisse mit der Stichprobengröße  $n_1$  und  $n_2$  unter Berücksichtigung der Varianz der Meßergebnisse (Varianz =  $SD^2$ ) miteinander verglichen. Dabei wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha = 0,05$  angenommen und die errechneten t-Werte mit den Werten aus der Tabelle für die t-Verteilung verglichen. Waren die berechneten t-Werte kleiner als die Werte aus der Tabelle, dann waren die Unterschiede zwischen den Meßergebnissen zufällig. Waren die berechneten t-Werte größer als die Tabellenwerte, dann waren die Unterschiede zwischen den Meßergebnissen signifikant.

$$t - \text{Wert} = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{S_d} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}}$$

wobei

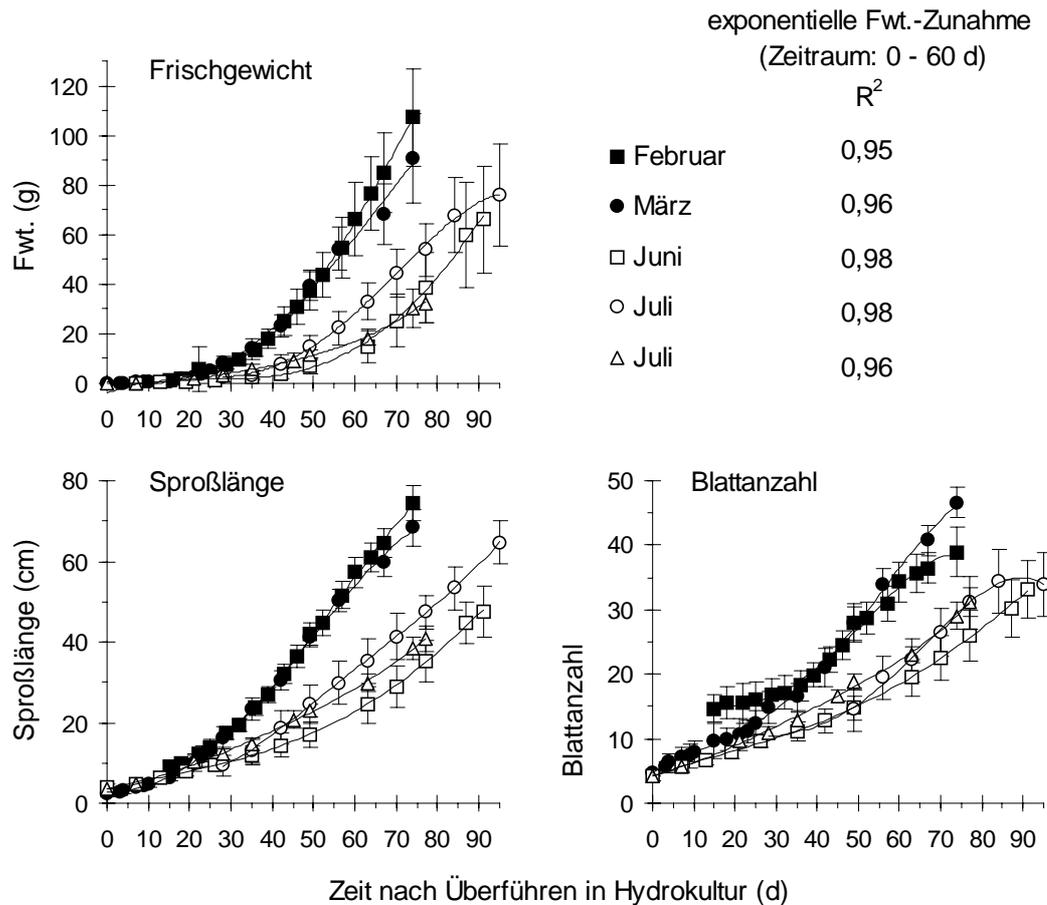
$$S_d^2 = \frac{S_1^2 \cdot (n_1 - 1) + s_2^2 \cdot (n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}$$

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Pflanzenwachstum

#### Pflanzenentwicklung in Hydrokultur

Grundlage für vergleichbare und reproduzierbare Ergebnisse ist die Verwendung von möglichst einheitlichem Pflanzenmaterial. Es wurde daher nur Pflanzenmaterial eines Pappelklons verwendet und die Anzucht erfolgte in Hydrokultur unter klimatisierten Bedingungen (Ausnahmen davon sind im Folgenden gesondert gekennzeichnet). Als N-Quelle diente  $\text{NO}_3^-$ . Unter normalen Bedingungen liegt die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration in Böden typischerweise zwischen 0,1 - 1 mM (Beevers 1976, Novoa und Loomis 1981). Um Freilandbedingungen möglichst nahe zu kommen, wurde in Hydrokultur eine  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration von 1 mM angeboten. Aufgrund des schnellen Wachstums von Pappeln besteht bei dieser  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration die Gefahr, daß selbst bei häufigem Wechsel der NL die Pflanzen kurzzeitig einem  $\text{NO}_3^-$ -Mangel ausgesetzt sind. Diese Gefahr ist bei anderen Nährstoffen nicht gegeben, da diese in der NL im Überschuß vorlagen. Zur Charakterisierung des Pappelwachstums unter diesen Anzuchtbedingungen wurde die Zunahme des Frischgewichtes, der Sproßlänge, und der Blattanzahl bestimmt ([Abb. 3.1](#)). Bis zu einem Alter von ca. 2 Monaten nahm das Frischgewicht bei allen untersuchten Pflanzen exponentiell zu (Korrelationskoeffizient ( $R^2$ ) = 0,95 - 0,98). Der exponentielle Wachstumsverlauf zeigt, daß unter den gegebenen Bedingungen keine Wachstumslimitierung durch Nährstoffmangel oder andere Faktoren vorlag. Das geringere relative Wachstum älterer Entwicklungsstadien kann z.B. durch Selbstbeschattung bedingt sein. Eine Limitierung durch  $\text{NO}_3^-$ -Mangel ist unwahrscheinlich, da das NL-Volumen der zunehmenden Pflanzengröße angepaßt wurde (s. [2.1.2.1](#)) und die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration in der NL auch in 3 Tagen nicht unter 0,2 mM sank. Spätestens nach 3 Tagen wurde die NL erneuert. Langheinrich (1991) zeigte, daß das  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahmesystem von Balsampappeln eine hohe Affinität zu  $\text{NO}_3^-$  besitzt ( $K_m$ -Wert = 31  $\mu\text{M}$ ) und die Aufnahmerate bei einer externen  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration zwischen 0,1 und 1,2 mM annähernd konstant blieb. Bei Balsampappeln wurden schon bei einer externen  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration von 0,1 mM maximale Wachstumsraten erzielt.



**Abb. 3.1** Zunahme des Frischgewichtes der Sproßlänge und der Blattanzahl in Abhängigkeit vom Pflanzenalter. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in Kontroll-NL unter kontrollierten Klimabedingungen. Die angegebenen Werte entsprechen Mittelwerten  $\pm$  SD ( $n = 5 - 10$ ) von 5 Pflanzenpopulationen, die zu verschiedenen Jahreszeiten in Hydrokultur angezogen wurden. Zwischen 0 - 60 d kann die Fwt.-Zunahme durch eine einfache Exponentialgleichung ( $f(t) = a \cdot e^{b \cdot t}$ ,  $a, b = \text{Konstanten}$ ) beschrieben werden. Der jeweilige Korrelationskoeffizient ( $R^2$ ) ist in der Abbildung angegeben.

Trotz identischer Nährstoffversorgung und Anzucht unter gleichbleibenden Klimabedingungen traten jahresperiodische Variationen im Wachstum auf ([Abb. 3.1](#)). Die Zunahme des Fwt., der Sproßlänge und der Blattanzahl erfolgte im Vorfrühling (Februar - März) deutlich schneller als im Sommer (Juni - Juli). Das Verhältnis zwischen den untersuchten Pflanzenparametern blieb jedoch annähernd gleich. Unabhängig von der Jahreszeit betrug z.B. die Sproßlänge von Pflanzen mit einem Fwt. von 60 g ca. 55 cm und die Pflanzen hatten ca. 35 voll entfaltete Blätter. Die Auswahl geeigneten Versuchsmaterials mußte daher anhand des Entwicklungsstadiums der Pflanzen und nicht nach dem Alter erfolgen. Für die Versuche wurden Pflanzen mit einem mittleren Fwt. von 85 g, einer Sproßlänge von ca. 70 cm und etwa 37 Blättern eingesetzt. Diese Pflanzengröße wurde, abhängig von der Jahreszeit, nach 2,5 bis 4monatiger Anzucht erreicht.

Auch bei Pflanzen, die zur selben Zeit angezogen wurden, war das Wachstum nicht identisch. Gegenüber den jahreszeitlich bedingten Änderungen im Pflanzenwachstum, war die

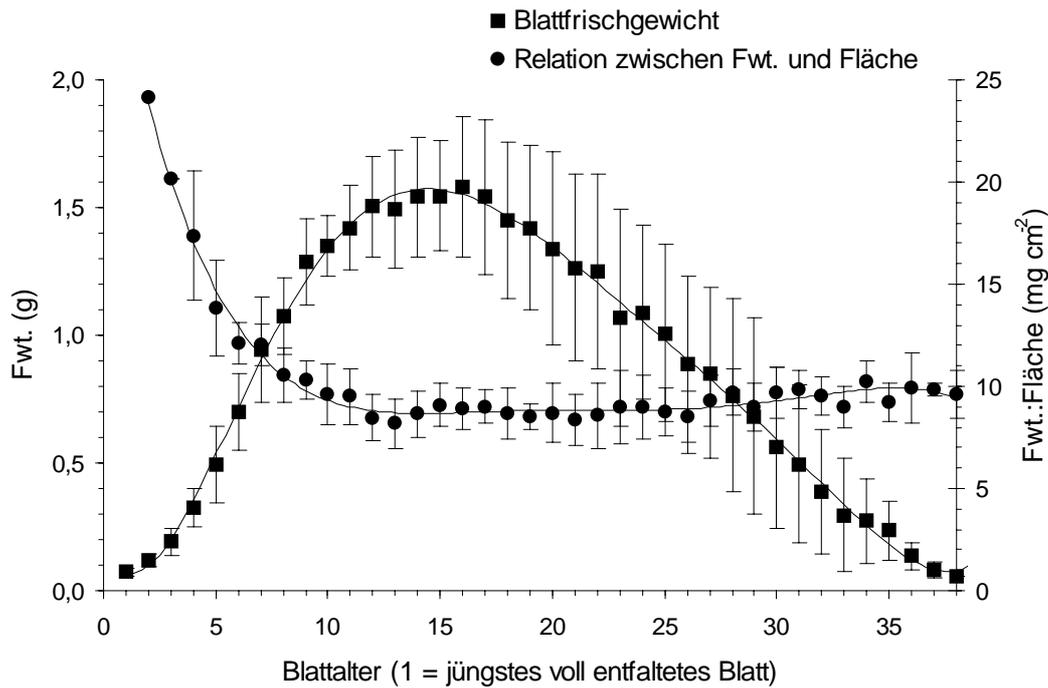
Variation jedoch gering (s. Standardabweichungen in [Abb. 3.1](#)). Für die einzelnen Versuche wurden daher Pflanzen mit einheitlicher Größe ausgewählt. War dies aufgrund der begrenzten Anzuchtkapazität nicht möglich, erfolgte die Pflanzenauswahl so, daß zumindest die behandelte Pflanze und die jeweilige Kontrollpflanze eine identische Größe hatten.

#### Blattentwicklung entlang der Sproßachse

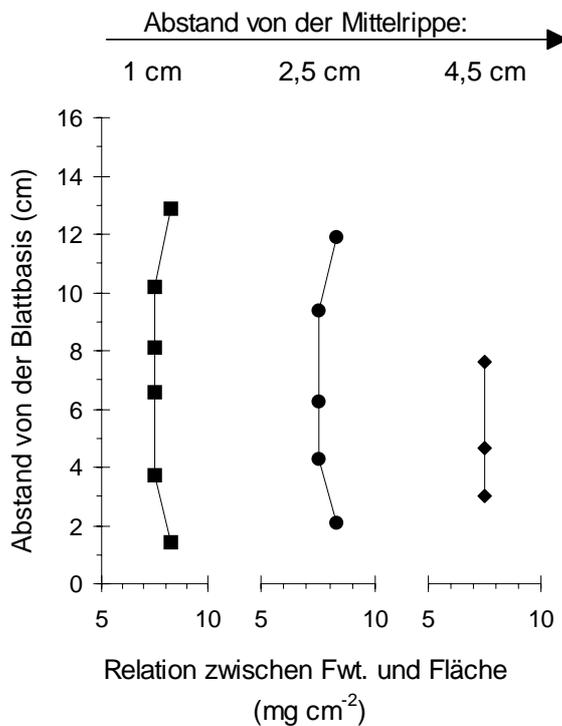
In dieser Arbeit werden Untersuchungen zum  $\text{NO}_3^-$ -Transport und zur  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation entlang der Sproßachse präsentiert. Verglichen wurden dabei die verschiedenen Blattentwicklungsstadien des Sprosses. Die Gesamtblattanzahl der untersuchten Pflanzen variierte bei den verschiedenen Experimenten. Um vergleichbare Daten zu erhalten, erfolgte die Einteilung der Blattentwicklungsstadien anhand des physiologischen Alters. Die Blätter wurden dazu von der Sproßspitze zur Sproßbasis aufsteigend nummeriert. Blattalter 1 entsprach jeweils dem jüngsten voll entfaltetem Blatt.

Im untersuchten Entwicklungsstadium der Pappeln stieg das Frischgewicht der Blätter mit zunehmendem Alter bis Blatt 12 kontinuierlich an, blieb dann bis Blatt 17 mit 1,5 g pro Blatt konstant und nahm zur Sproßbasis wieder ab ([Abb. 3.2](#)). Mit Ausnahme der jüngsten 7 Blätter war das Verhältnis zwischen Fwt. und Blattfläche entlang der Sproßachse konstant (ca.  $9 \text{ mg cm}^{-2}$ ). Ab Blatt 8 sind die Unterschiede im Blattfrischgewicht daher auch direkt proportional zur aktuellen Blattfläche. Das Verhältnis zwischen Fwt. und Blattfläche blieb auch über die gesamte Blattspreite nahezu konstant. Untersuchungen hierzu wurden an allen Blattalterstadien zwischen dem 5. und 32. Blatt durchgeführt. In [Abb. 3.3](#) ist dies exemplarisch für eine Blatthälfte von Blatt 14 dargestellt. Das Frischgewicht pro Fläche betrug hier in allen untersuchten Bereichen der Blattspreite ca.  $7,5 \text{ mg cm}^{-2}$ . Der Proportionalitätsfaktor zwischen Fwt. und Fläche ist daher in allen Bereichen der Blattspreite gleich.

Dieser Befund war aus methodischen Gründen von besonderer Bedeutung, da die flächenbezogenen Gaswechselraten über den jeweils bestimmten Proportionalitätsfaktor im untersuchten Blattbereich und dem Gesamtfrischgewicht des Blattes für das ganze Blatt hochgerechnet werden konnten. Da das Verhältnis zwischen Blattfläche und Frischgewicht innerhalb eines Blattes konstant war, kann als Bezugsgröße für die Gaswechselraten auch das Fwt. herangezogen werden. Die gemessenen Gaswechselraten können so direkt mit den frischgewichtsbezogenen Daten (z.B. NR-Aktivität, Nährstoffgehalte usw.) aus anderen Experimenten verglichen werden.



**Abb. 3.2** Blattfrischgewicht und Relation zwischen Fwt. und Blattfläche in Abhängigkeit von Blattalter. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in Hydrokultur unter kontrollierten Klimabedingungen. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$ SD (Fwt.:  $n=17$ , Relation Fwt./Fläche:  $n=5$ ). Die untersuchten Pflanzen hatten 32 bis 38 Blätter.



**Abb. 3.3** Relation zwischen Fwt. und Blattfläche in verschiedenen Bereichen der Blattspreite von Blatt 14. Dargestellt sind die ermittelten Daten für eine Blatthälfte. Die Länge der untersuchten Blatthälfte betrug 16 cm, die Breite an der Blattbasis lag bei 5,5 cm. Das Verhältnis wurde bestimmt, indem in verschiedenen Bereichen der Blattspreite Blattsegmente mit einer Größe von 1,33 cm<sup>2</sup> ausgestanzt und gewogen wurden. Die angegebene Position entspricht jeweils dem Mittelpunkt des ausgestanzten Blattsegments.

## 3.2 Validierung verschiedener Methoden

### 3.2.1 Gewinnung von Apoplastenflüssigkeit

Zur Isolierung von Flüssigkeit aus dem Blattapoplasten sind verschiedene Methoden bekannt (Canny 1995). Um eine geeignete Methode für Pappelblätter zu etablieren, wurden 2 Methoden getestet:

- ⇒ Zentrifugation ohne vorhergehende Infiltration der Blätter
- ⇒ "Infiltrations-Zentrifugations-Technik"

Die "trockene" Zentrifugation (ohne vorhergehende Infiltration der Blätter) hat den Vorteil, daß weitgehend unbeeinflusste und unverdünnte „Apoplastenflüssigkeit“ gewonnen werden kann (DANNEL et al. 1995). Die Anwendung der "Infiltrations-Zentrifugations-Technik" hat eine Verdünnung der „Apoplastenflüssigkeit“ zur Folge, die bei der Berechnung von Metabolitgehalten oder Enzymaktivitäten im Blattapoplasten berücksichtigt werden muß. Die so gewonnene „Apoplastenflüssigkeit“ wird daher auch als Apoplastenwaschflüssigkeit (AWF) bezeichnet.

Durch die Anwendung der Methode des „trockenen“ Zentrifugierens (Zentrifugalkraft: variiert von 40 - 2600 g) konnte bei Pappelblättern kein Austritt von Flüssigkeit erreicht werden. Erst nach vorhergehender Infiltration der Blätter war es möglich AWF zu isolieren. Bei der Infiltration und Zentrifugation besteht die Gefahr, daß die Zellen verletzt werden. Diese Methode wurde daher hinsichtlich der gewinnbaren Menge und der möglichen Kontamination der AWF durch cytoplasmatische Inhaltsstoffe getestet ([Tab. 3.1](#)). Als Indikator für eine Kontamination diente die Aktivität der cytosolischen Malat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.37) in der AWF (Husted und Schjoerring 1995). Durch Zentrifugation infiltrierter Pappelblätter bei 1000 - 1500 g ( Fraktion 4 und 5) konnte eine mittlere Ausbeute von 55 - 83 µl AWF g<sup>-1</sup>Fwt. (Σ Fraktion 1 - 4 bzw. 1 - 5) erreicht werden, ohne das die cytoplasmatische Kontamination signifikant zunahm. Bei größerer Zentrifugalbeschleunigung stieg die Kontamination sprunghaft an (Fraktion 6 und 7).

**Tab. 3.1** Kontamination mit cytoplasmatischen Bestandteilen und Volumen der gewonnenen AWF in Abhängigkeit von der Zentrifugalbeschleunigung. Infiltrierte Blattstücke wurden für jeweils 10 min mit schrittweise ansteigenden g-Werten zentrifugiert. Zwischen den Zentrifugationsschritten wurde das Volumen und die MDH-Aktivität in der austretenden AWF bestimmt. Die MDH diente als Indikator für eine cytoplasmatische Kontamination. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD von 6 - 8 Präparationen.

Fraktion	Zentrifugalbeschleunigung (g)	Volumen ( $\mu\text{l g}^{-1}$ Fwt.)	MDH-Aktivität ( $\mu\text{mol NADH min}^{-1} \text{ml}^{-1}$ AWF)
1	160	$0,3 \pm 0,0$	-
2	370	$11,9 \pm 6,9$	$0,73 \pm 0,28$
3	650	$17,8 \pm 9,2$	$0,81 \pm 0,65$
4	1020	$25,0 \pm 14,4$	$0,83 \pm 0,59$
5	1470	$28,2 \pm 13,1$	$1,29 \pm 0,74$
6	2610	$22,8 \pm 5,9$	$3,75 \pm 1,02$
7	4080	$19,7 \pm 17,5$	$3,77 \pm 0,08$

Das Ausmaß der Verletzung der Blätter während der Präparation der AWF kann anhand des Vergleiches der MDH-Aktivität in der AWF und im Blattextrakt abgeschätzt werden. Um die tatsächliche MDH-Aktivität in der „Apoplastenflüssigkeit“ zu ermitteln, müssen die in der AWF gemessenen Aktivitäten mit dem Verdünnungsfaktor korrigiert werden. Geht man davon aus, daß bei der Infiltration das gesamte Gasvolumen im Blattapoplasten gefüllt wird, kann der Verdünnungsfaktor über das Verhältnis zwischen gasgefülltem und flüssigkeitsgefülltem Anteil berechnet werden. Bei Pappelblättern betrug das gasgefüllte Volumen im Apoplasten  $310 \pm 40 \mu\text{l g}^{-1}$  Fwt. ( $n = 30$ ). Der Anteil des flüssigkeitsgefüllten Raumes im Blattapoplasten kann mit 10 - 20 % angegeben werden (Speer und Kaiser 1991, Aked und Hall 1993, Winter et al. 1993, Husted und Schjoerring 1995). Bis zu einer Zentrifugalbeschleunigung von 1500 g war die Kontamination der gewonnenen „Apoplastenflüssigkeit“ gering. Die relative MDH-Aktivität in Fraktion 1 - 5 lag bei  $< 0,25\%$  im Vergleich zum Blattextrakt ([Tab. 3.2](#)).

Die „Infiltrations-Zentrifugations-Technik“ mit einer Zentrifugalbeschleunigung von 1000 - 1500 g ist demnach die geeignete Methode zur Isolierung von Apoplastenflüssigkeit aus Pappelblättern. Unter diesen Präparationsbedingungen kann eine gute Ausbeute an AWF bei minimaler cytoplasmatischer Kontamination erzielt werden.

**Tab. 3.2** Kontamination der „Apoplastenflüssigkeit“ durch cytoplasmatische Inhaltsstoffe in Abhängigkeit von der Zentrifugalbeschleunigung. Als Indikator für die Kontamination diene die Aktivität der cytosolischen MDH. Bei der Berechnung gehen folgende Größen ein:

- Anteil des flüssigkeitsgefüllten Raumes des Blattapoplasten = 20 %
  - Gasvolumen des Blattapoplasten von Pappeln:  $310 \pm 40 \mu\text{l g}^{-1}$  Fwt.
  - MDH-Aktivität im Blattextrakt von Pappeln:  $183 \pm 23 \mu\text{mol NADH min}^{-1} \text{g}^{-1}$  Fwt.
- Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD von 6-8 Präparationen.

Fraktion	Zentrifugalbeschl. (g)	MDH-Aktivität ( $\mu\text{mol NADH min}^{-1} \text{g}^{-1}$ Fwt.)	relative MDH-Aktivität (% vom Blattextrakt)
2	370	$0,25 \pm 0,07$	0,135 %
3	650	$0,27 \pm 0,21$	0,147 %
4	1020	$0,28 \pm 0,19$	0,150 %
5	1470	$0,43 \pm 0,23$	0,237 %
6	2610	$1,17 \pm 0,30$	0,639 %
7	4080	$1,22 \pm 0,07$	0,667 %

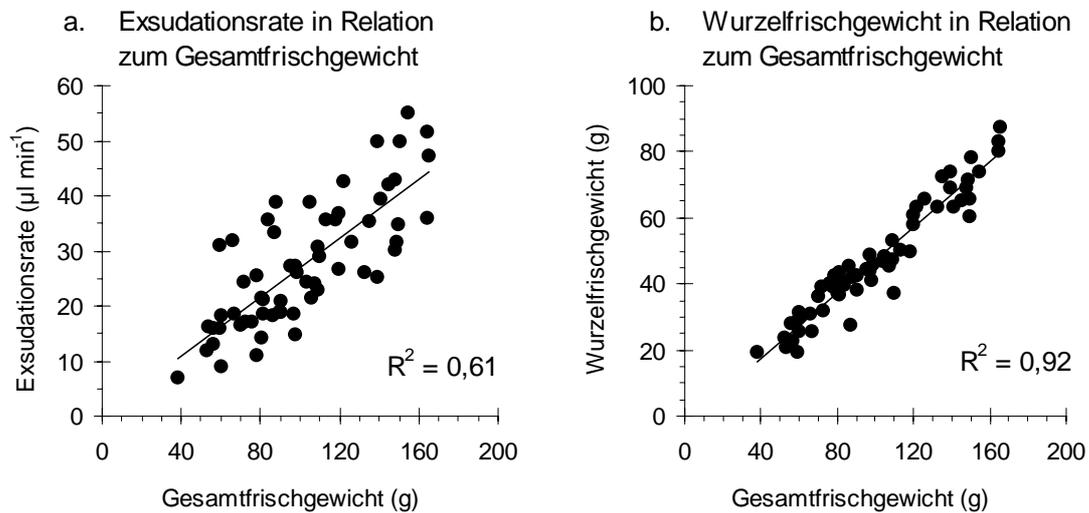
### 3.2.2 Gewinnung von Xylemsaft durch Wurzeldruckexsudation

Die meisten Methoden zur Xylemsaftgewinnung, bei denen ein pneumatischer Druck auf den Wurzelraum ausgeübt wird, eignen sich nicht für Pflanzen in Hydrokultur, da unter diesen Bedingungen die Gefahr der Infiltration der Wurzel besteht. Diese ist bei der Isolierung von Xylemexsudat unter Wurzeldruck nicht gegeben. Bei allen Methoden, die manipulierend in die natürlichen Druckverhältnisse im Xylem eingreifen (dazu gehört auch das Sammeln von Wurzeldruckexsudat nach Dekapitieren), kann durch Veränderung der Volumenflußrate im Xylem Einfluß auf die Zusammensetzung des Xylemsaftes ausgeübt werden (FISCUS 1975). Im Vorfeld der geplanten Experimente wurde daher die Gewinnung von Wurzeldruckexsudat getestet und die Qualität der isolierten Flüssigkeit charakterisiert.

#### 3.2.2.1 Exsudationsraten

Nach Dekapitieren des Sprosses konnte bei hydroponisch angezogenen Pappeln über mehrere Stunden Wurzeldruckexsudat gesammelt werden. Die Exsudation war abhängig vom Gesamt- bzw. Wurzelfrischgewicht der Pflanzen ([Abb. 3.4](#)). In der Abbildung wurde zur besseren Vergleichbarkeit mit den im Folgenden präsentierten Daten das Gesamtfrischgewicht als Bezugsgröße gewählt ([Abb. 3.4 a](#)). Dies war jedoch proportional zum Wurzelfrischgewicht ([Abb. 3.4 b](#)). Obwohl eine relativ starke Streuung zwischen einzelnen Pflanzen bestand ( $R^2 = 0,61$ ), stieg die Exsudationsrate mit zunehmender Pflanzengröße an. Bei den Experimenten wurden Pflanzen mit einem mittleren Frisch-

gewicht von 85 g eingesetzt. Bei dieser Größe lag die Exsudationsrate zwischen 10 und 35  $\mu\text{l min}^{-1}$ . Eine ausreichende Probenmenge für die verschiedenen Analysen (50 - 100  $\mu\text{l}$ ) konnte daher bei Pappeln schon nach 5-10minütiger Sammlung von Wurzeldruckexsudat erhalten werden.



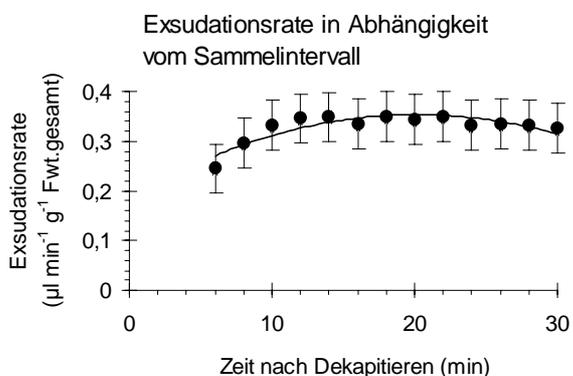
**Abb. 3.4** Exsudationsraten in Abhängigkeit von der Pflanzengröße.

(a) Exsudationsrate in Relation zum Gesamtfrischgewicht

(b) Wurzelfrischgewicht in Relation zum Gesamtfrischgewicht

Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in Kontroll-NL unter kontrollierten Klimabedingungen. Die Exsudationsrate wurde zwischen 20-30 min nach Dekapitieren des Sprosses bestimmt. Jeder Datenpunkt entspricht einer untersuchten Pflanze.  $R^2$  = Korrelationskoeffizient nach linearer Regression.

Untersuchungen zur Xylemsaftzusammensetzung erfolgten nur an Proben, die bis maximal 20 min nach Dekapitieren des Sprosses gewonnen wurden. Über diesen Zeitraum blieb die Exsudationsrate konstant, nur zu Beginn der Sammlung war die Rate etwas geringer ([Abb. 3.5](#)).

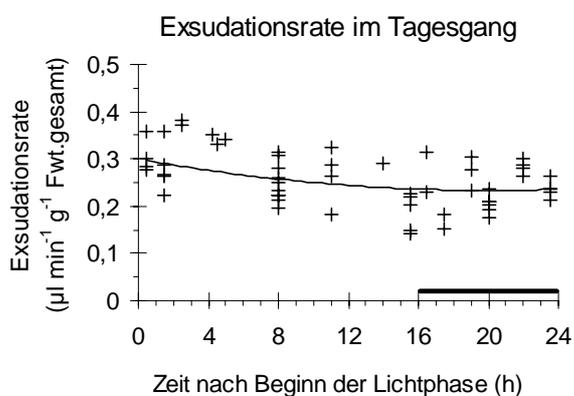


**Abb. 3.5** Exsudationsrate in Abhängigkeit vom Sammelintervall. Wurzeldruckexsudat wurde in 2 min-Intervallen über 30 min gesammelt. Die Raten sind jeweils für das Ende des Intervalls angegeben (Mittelwerte  $\pm$  SD,  $n=20$ ). Die ersten Proben konnten erst zwischen 4-6 min nach Dekapitieren gesammelt werden, da das Präparieren der Sproßbasis ca. 2 min dauerte und das Exsudat aus dem ersten Intervall (2-4 min) verworfen wurde um Kontaminationen zu vermeiden.

Die Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats wurde in Abhängigkeit von der Tageszeit und dem Nährstoffangebot untersucht. Im Vorfeld zu diesen Untersuchungen mußte

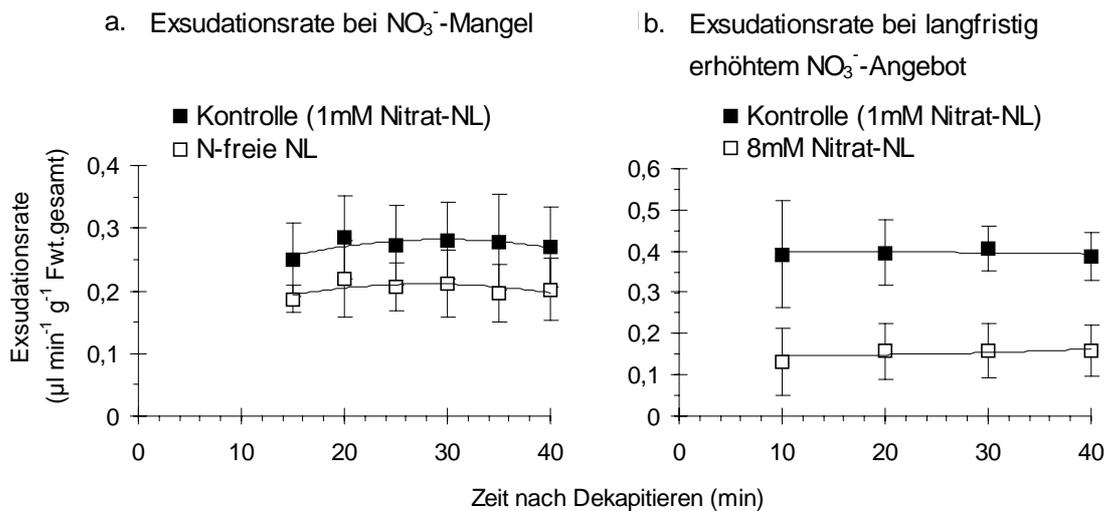
daher geklärt werden, ob die Tageszeit und das Nährstoffangebot einen Einfluß auf die Exsudationsraten ausüben.

In [Abb. 3.6](#) sind die Exsudationsraten von Pflanzen dargestellt, die zu verschiedenen Tageszeiten geerntet wurden. Wie schon oben beschrieben, war eine relativ starke Streuung zwischen den einzelnen Individuen zu beobachten. Ein deutlicher Einfluß der Tageszeit auf die Exsudation konnte nicht festgestellt werden. Methodische Artefakte bei der Bestimmung der Xylemsaftzusammensetzung im Tagesgang aufgrund einer veränderten Exsudationsrate im Tagesverlauf können daher ausgeschlossen werden.



**Abb. 3.6** Exsudationsrate in Abhängigkeit von der Tageszeit. Die Exsudationsrate wurde zwischen 20-30 min nach Dekapitieren des Sprosses bestimmt. Jeder Datenpunkt entspricht einer Pflanze. Die Anzucht erfolgte in Kontroll-NL unter kontrollierten Klimabedingungen mit einem Licht/Dunkel-Zyklus von 16 h/8 h. Die Dunkelphase ist durch einen Balken markiert.

Eine signifikante Veränderung der Exsudationsrate bei verändertem Nährstoffangebot (s. [2.2](#)) konnte nur beobachtet werden, wenn das gesamte Wurzelsystem in N-freier NL inkubiert wurde bzw. nach 2 monatigem Wachstum in 8 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL. In beiden Fällen nahm die Exsudationsrate im Vergleich zu den gleichzeitig geernteten Kontrollpflanzen (1 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL) ab ([Abb. 3.7](#)). Bei  $\text{NO}_3^-$ -Mangel war die Exsudationsrate um  $25 \pm 17\%$  geringer als bei den Kontrollen. Die 8fache Erhöhung der externen  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration für 2 Monate führte zu einer Abnahme der Exsudation um  $62 \pm 18\%$ . Alle anderen, im Folgenden beschriebenen Variationen des Nährstoffangebots, hatten keinen signifikanten Einfluß auf die Exsudationsraten.



**Abb. 3.7** Einfluß des  $\text{NO}_3^-$ -Angebots auf die Exsudationsraten.

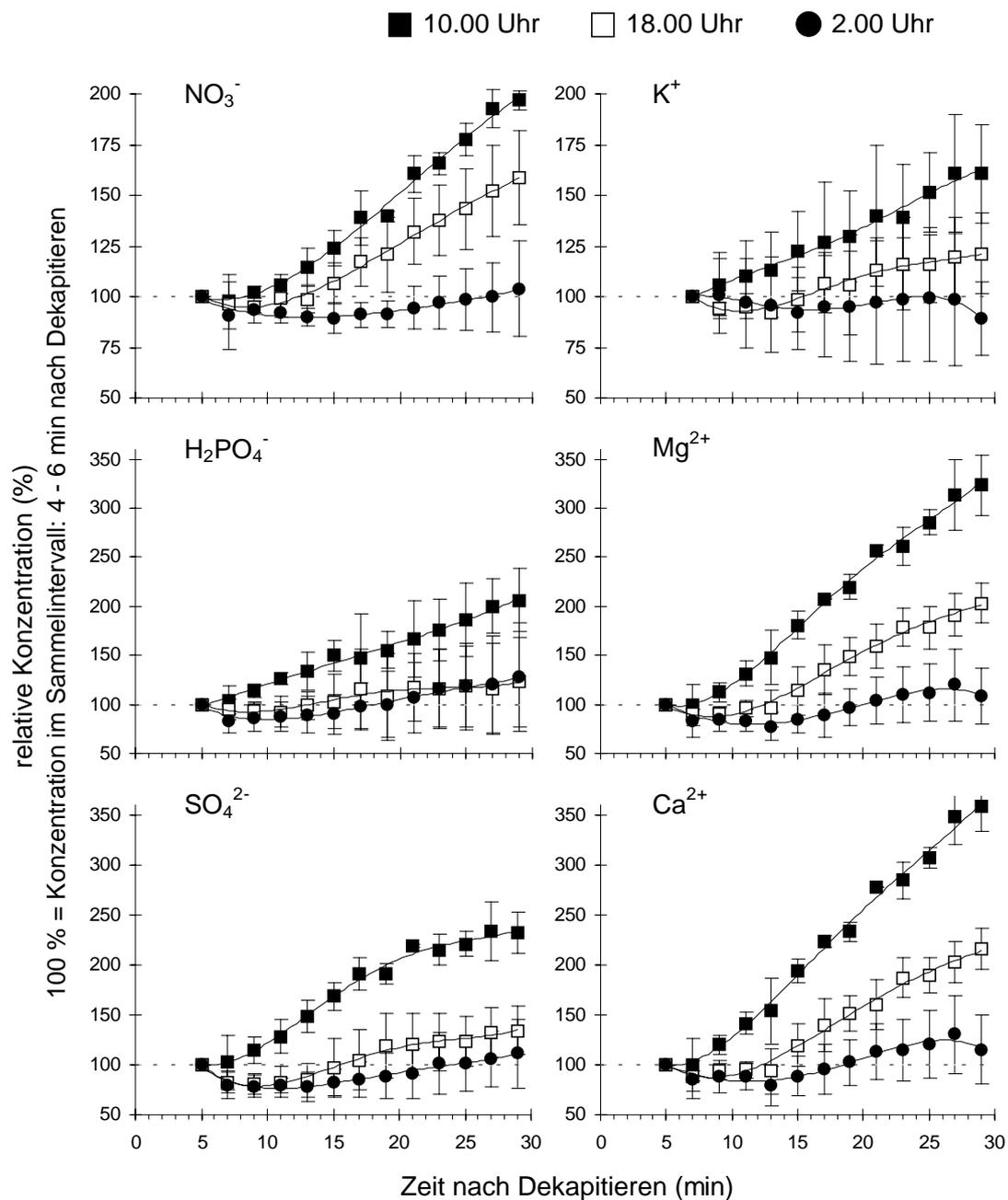
(a) Exsudationsrate bei  $\text{NO}_3^-$ -Mangel. Die Exsudationsrate wurde nach 0,25 - 72 h in N-freier NL in 5 min-Intervallen bestimmt. Die Inkubationsdauer hatte keinen Einfluß auf die Exsudation, die Raten wurden daher gemittelt (Mittelwerte  $\pm$  SD, n = 16). Als Kontrolle dienten gleichzeitig geerntete Pflanzen in 1 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL (Mittelwerte  $\pm$  SD, n = 13).

(b) Exsudationsrate nach 2monatigem Wachstum in 8 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL im Vergleich zu identisch behandelten Kontrollen in 1 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD, Kontrolle: n = 6 - 8 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL: n = 12. Die Exsudationsraten wurden in 10 min-Intervallen über einen Zeitraum von 40 min bestimmt.

Die Exsudationsraten sind in beiden Grafiken jeweils für das Ende des Sammelzeitraums angegeben.

### 3.2.2.2 Einfluß fehlender Transpiration auf die Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats

Das Entfernen transpirierenden Gewebes kann Einfluß auf die Xylemsaftzusammensetzung nehmen (FISCUS 1975). Um das Ausmaß dieser Veränderung abzuschätzen, wurde die Ionenzusammensetzung des Wurzeldruckexsudats zu verschiedenen Zeiten nach Dekapitieren des Sprosses bestimmt. Außerdem wurde die Ernte zu verschiedenen Tageszeiten durchgeführt. In [Abb. 3.8](#) ist die prozentuale Veränderung der Konzentration verschiedener Ionen in Abhängigkeit vom Sammelintervall dargestellt. Als Referenz diente jeweils die Ionenkonzentration im ersten Sammelintervall. Bis 10 min nach Dekapitieren konnten keine signifikanten Veränderungen der Ionenkonzentrationen beobachtet werden. Die Zusammensetzung von Wurzeldruckexsudat, welches bis 10 min nach Dekapitieren gewonnen wird, entspricht daher annähernd der Xylemsaftzusammensetzung unter transpirierenden Bedingungen.



**Abb. 3.8** Relative Ionenkonzentration im Wurzeldruckexsudat in Abhängigkeit vom Sammelzeitpunkt nach Dekapitieren und von der Tageszeit. Wurzeldruckexsudat wurde in 2 min-Intervallen über 30 min gesammelt. Als Vergleichswert diente bei allen Ionen außer  $\text{K}^+$  die Konzentration im ersten Sammelintervall (s. Y-Achse). <sup>1</sup>Die Daten für Kalium wurden aus technischen Gründen auf die Konzentration im Sammelintervall 6 - 8 min bezogen. Die Daten entsprechen Mittelwerten  $\pm$  SD ( $n = 3$ ). Die Konzentration ist jeweils für den Mittelpunkt des Sammelintervalls angegeben. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in Kontroll-NL unter kontrollierten Klimabedingungen (Lichtphase: 6.00 - 22.00 Uhr).

Nach 10 min stieg die Ionenkonzentration im Wurzeldruckexsudat mit zunehmender Zeit nach Dekapitieren an. Das Ausmaß diese „Aufkonzentrierung“ variierte zwischen den verschiedenen Ionen und war abhängig von der Tageszeit. Der Konzentrierungsfaktor nach 30 min ist in [Tab.3.3](#) angegeben. Die Konzentrationszunahme war am Vormittag

(10.00 Uhr) am höchsten. Zu dieser Tageszeit nahm die  $K^+$ -Konzentration innerhalb von 30 min nach Dekapitieren um das 1,6fache zu. Die  $NO_3^-$ -,  $H_2PO_4^-$ - und  $SO_4^{2-}$ -Konzentration verdoppelte sich in diesem Zeitraum und  $Mg^{2+}$  und  $Ca^{2+}$  stieg sogar um das 3-4fache an. Später (18.00 Uhr) nahm der Konzentrierungsfaktor ab. In der Mitte der Dunkelphase (2.00 Uhr) blieb die Konzentration der Ionen konstant oder nahm nur geringfügig zu.

**Tab. 3.3** Tageszeitabhängige Zunahme der Ionenkonzentration im Wurzeldruckexsudat innerhalb von 30 min nach Dekapitieren des Sprosses. Der Konzentrierungsfaktor wurde durch Division der Konzentration im Sammelintervall 28 - 30 min nach Dekapitieren mit der Konzentration im Intervall 4 - 6min berechnet. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD ( $n=3$ ). Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in Kontroll-NL unter kontrollierten Klimabedingungen (Lichtphase: 6.00 - 22.00 Uhr).

Tageszeit	Konzentrierungsfaktor					
	$NO_3^-$	$H_2PO_4^-$	$SO_4^{2-}$	$^1K^+$	$Mg^{2+}$	$Ca^{2+}$
10.00 Uhr	$2,0 \pm 0,1$	$2,0 \pm 0,3$	$2,3 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,2$	$3,2 \pm 0,3$	$3,6 \pm 0,3$
18.00 Uhr	$1,6 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,5$	$1,3 \pm 0,3$	$1,2 \pm 0,2$	$2,0 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,2$
2.00 Uhr	$1,0 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,6$	$1,1 \pm 0,3$	$0,9 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,3$	$1,2 \pm 0,4$

<sup>1</sup> Aus technischen Gründen diente bei der Berechnung des Konzentrierungsfaktors für  $K^+$  die Konzentration im Sammelintervall 6 - 8 min nach Dekapitieren als Bezugsgröße.

Die oben aufgeführten Ergebnisse zeigen, daß die Veränderung der Volumenflußrate im Xylem durch Entfernen des transpirierenden Gewebes (Gewinnung von Wurzeldruckexsudat durch Dekapitieren des Sprosses) einen deutlichen Einfluß auf die Xylemsaftzusammensetzung hatte. Entsprechend dazu konnte in der Dunkelphase, d.h. bei minimaler Transpiration, keine oder nur eine geringfügige Veränderung der Ionenkonzentration im Exsudat beobachtet werden. Innerhalb der ersten 10 min nach Dekapitieren war dieser Einfluß jedoch minimal. Um Aussagen über die tatsächliche Xylemsaftzusammensetzung treffen zu können, sollte die Gewinnung von Wurzeldruckexsudat daher entweder in der Dunkelphase oder innerhalb der ersten 10 min nach Dekapitieren erfolgen. Eine Analyse der Xylemsaftzusammensetzung nur in der Dunkelphase war nicht mit der Versuchsfragestellung vereinbar, da z.B. der Einfluß der Tageszeit untersucht wurde. Die Gewinnung von Wurzeldruckexsudat erfolgte daher, soweit möglich, innerhalb der ersten 10 min nach Dekapitieren. Bei Proben, die zu einem späteren Zeitpunkt gesammelt wurden (maximal 20 min nach Dekapitieren), diente als Referenz die Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats einer gleichzeitig geernteten Kontrollpflanze.

### 3.2.3 Saftflußmessung durch die stem heat balance-Methode

Zur Berechnung von Translokationsraten für einzelne Nährstoffe mußte neben der Xylemsaftzusammensetzung auch der Xylemsaftfluß unter transpirierenden Bedingungen ermittelt werden. Deshalb wurde die Messung des Saftflusses mit der „stem heat balance-Methode“ (Steinberg et al. 1989) an jungen Pappeln etabliert. Die Methode ist unter [2.12](#) ausführlich erläutert.

#### 3.2.3.1 Vergleich mit der gravimetrischen Methode

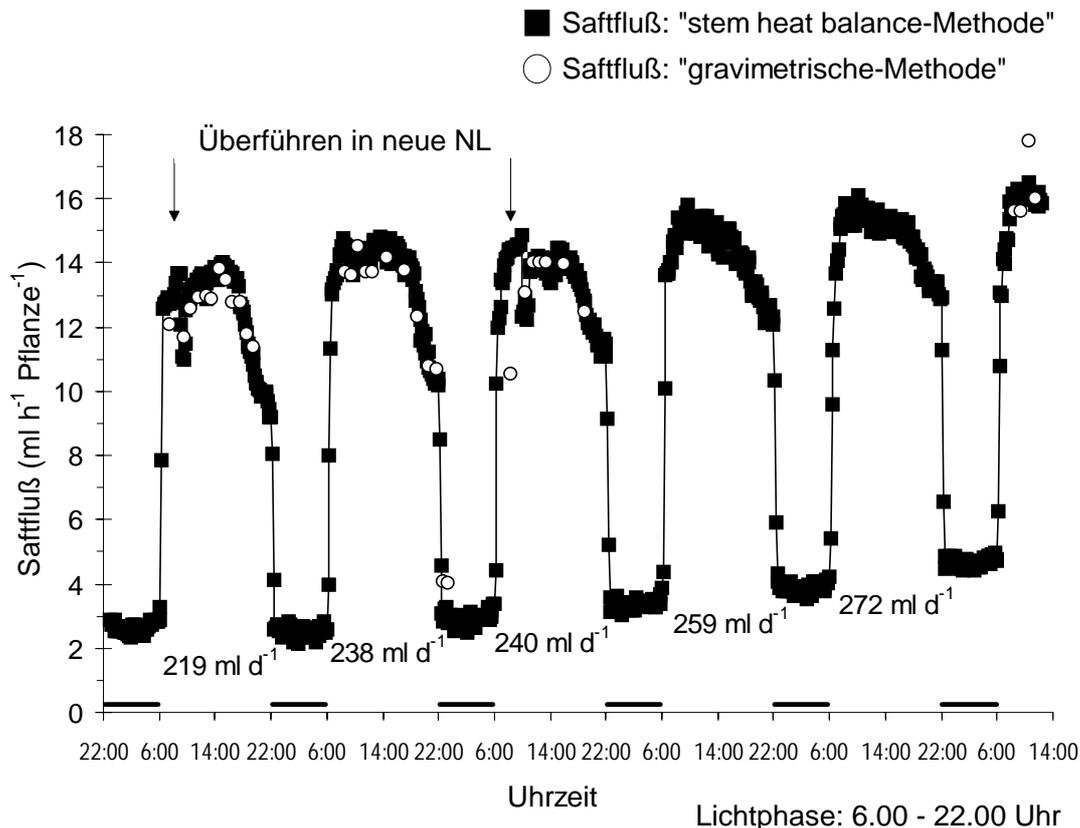
Durch Auswahl geeigneter Bedingungen bei der Bestimmung der aktuellen radialen Wärmeleitfähigkeit (s. [2.12](#)) und weiteren Schritten zur Minimierung von möglichen Fehlerquellen (z.B. sorgfältige Wärmeisolierung der Meßmanschetten, Maßnahmen zur Verbesserung des Kontaktes zwischen Thermosensoren und Rinde usw.) konnte eine gute Meßgenauigkeit erreicht werden. Vergleichsmessungen zwischen der „stem heat balance-Methode“ und der „gravimetrischen Saftflußbestimmung“ (ermittelt über die transpirationsbedingte Abnahme des Nährlösungsvolumens) zeigten eine gute Übereinstimmung. Eine Beispielmessung ist in [Abb. 3.9](#) dargestellt. Bei der aufgeführten Messung lag die Abweichung zwischen den beiden Methoden nur bei  $+1 \pm 8\%$  (Saftflußraten der „gravimetrischen Methode“ = 100 %). Weitere Messungen zeigten, daß die Abweichung maximal bei +16 % liegt („gravimetrischen Methode“ = 100 %). Generell wurden mit der „stem heat balance-Methode“ im Mittel geringfügig höhere Saftflußraten gemessen.

Die gravimetrische Saftflußbestimmung wurde nur für die Validierung der „stem heat balance-Methode“ herangezogen. Für Routinemessungen war sie nicht geeignet, da nur der Nettofluß von Wasser für jeweils eine Pflanze bestimmt werden konnte und die zeitliche Auflösung gering war (1 h). Demgegenüber konnte mit der „stem heat balance-Methode“ zeitgleich an 2 Pflanzen der Saftfluß mit einer Zeitauflösung im Minutenbereich ermittelt werden. Diese hohe Zeitauflösung war besonders bei den schnellen Saftflußänderungen bei den Licht / Dunkel-Übergängen erforderlich ([Abb. 3.9](#)).

Generell mußte die Messung unter möglichst ungestörten Bedingungen erfolgen, da der Saftfluß sehr sensibel auf Manipulationen reagierte. Beispielsweise führte der Wechsel der NL zu einer kurzfristigen Abnahme der Saftflußraten ([Abb. 3.9](#)). Auf den Wechsel der NL konnte bei den typischerweise mehrtägigen Messungen jedoch nicht verzichtet werden, um eine konstante Nährstoffzufuhr zu gewährleisten. Alle Manipulationen während der Messung wurden daher notiert und bei der Auswertung berücksichtigt.

Das relativ schnelle Wachstum von Pappeln führte schon nach einem Tag zu einer deutlichen Steigerung der Saftflußraten. Im angegebenen Beispiel ([Abb. 3.9](#)) nahm die Saft-

flußrate an ungestörten Tagen um ca.  $10 \text{ ml d}^{-1}$  zu. Da die Messung unter möglichst ungestörten Bedingungen erfolgen mußte, wurde nur am Beginn und am Ende der Messung das Fwt. bestimmt und das Fwt. für die einzelnen Meßtage durch lineare Regression interpoliert.

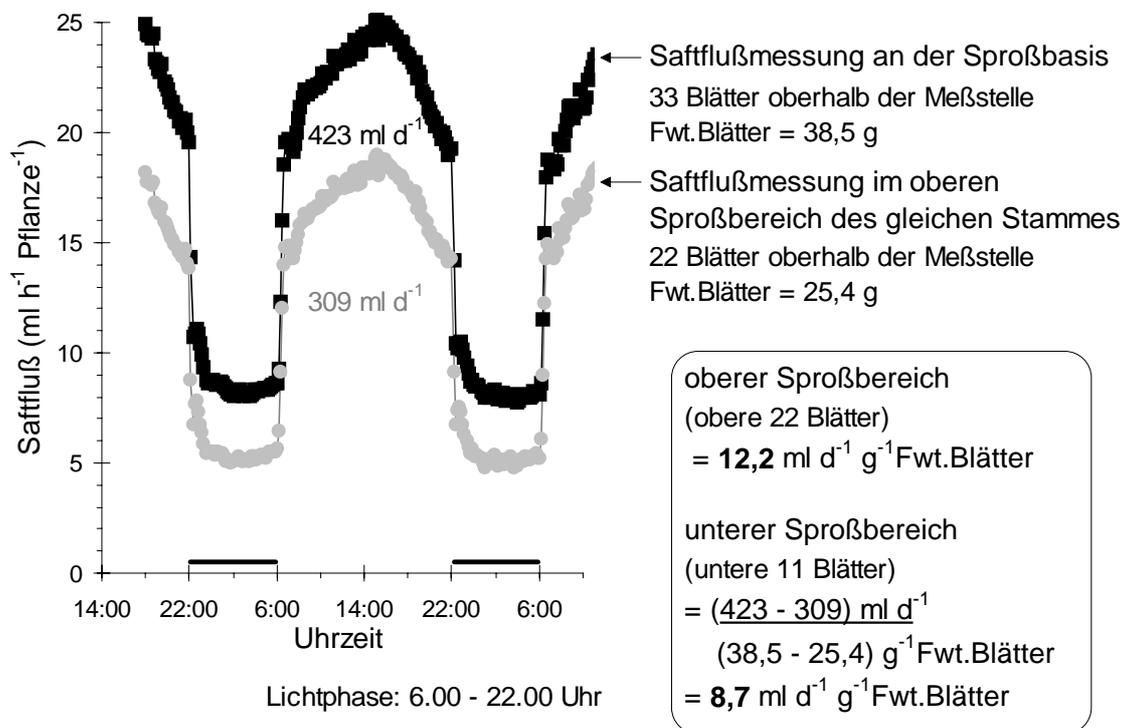


**Abb. 3.9** Vergleichende Saffflußmessung mit der „stem heat balance-Methode“ und der „gravimetrischen Methode“. Der Safffluß wurde zeitgleich über die „stem heat balance-Methode“ (zeitliche Auflösung: 10 min) und über die „gravimetrischen Methode“ (zeitliche Auflösung: 1 h) bestimmt. Die Messung erfolgte in einer Klimakammer mit einem Licht/Dunkel-Wechsel von 16 h/8 h. Die Dunkelphase ist durch einen Balken markiert. Die untersuchte Pflanze wuchs in Kontroll-NL.

### 3.2.3.2 Saffflußbestimmung in verschiedenen Sproßbereichen

Ein weiterer Vorteil der „stem heat balance-Methode“ bestand darin, daß Saffflußbestimmungen entlang der Sproßachse erfolgen konnten. Durch die Anbringung von 2 Manschetten an unterschiedlichen Positionen derselben Sproßachse konnte der Eintransport von Xylemsaft in die verschiedenen Sproßbereiche berechnet werden ([Abb. 3.10](#)). Im dargestellten Beispiel wurden pro Tag 423 ml Xylemsaft von der Wurzel in dem Sproß transportiert (Saffflußmessung an der Sproßbasis unterhalb der ersten Blätter). Davon erreichten 309  $\text{ml d}^{-1}$  die Meßposition im oberen Sproßbereich. Entsprechend wurde die Differenz von 114  $\text{ml d}^{-1}$  in die Blätter zwischen der Sproßbasis und der oberen Meßposition transportiert. Bezieht man die Saffflußraten auf das Fwt. der jeweils versorg-

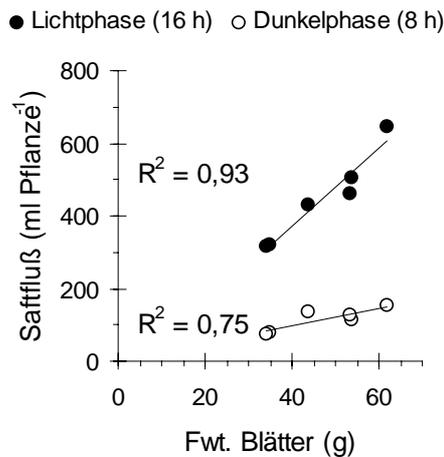
ten Blätter, ergibt sich für den unteren Sproßbereich (untere 11 Blätter) eine mittlere Rate von  $8,7 \text{ ml d}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ Fwt.Blatt}$ . Die mittlere Rate für die oberen 22 Blätter liegt bei  $12,2 \text{ ml d}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ Fwt.Blatt}$ . An diesem Beispiel wird deutlich, daß ein Saftflußgradient entlang der Sproßachse besteht.



**Abb. 3.10** Saftflußmessung in verschiedenen Sproßbereichen. Der Saftfluß wurde zeitgleich an 2 verschiedenen Positionen derselben Sproßachse mit der „stem heat balance-Methode“ bestimmt. Die zeitliche Auflösung lag bei 10 min. Die Messung erfolgte in einer Klimakammer mit einem Licht/Dunkel-Wechsel von 16 h / 8 h. Die Dunkelphase ist durch einen Balken markiert. Die untersuchte Pflanze wuchs in Kontroll-NL.

### 3.2.3.3 Bezugsgrößen für Saftflußraten

Die Saftflußbestimmung und die Analyse der Xylemsaftzusammensetzung (Gewinnung von Wurzeldruckexsudaten) konnten nicht zeitgleich am gleichen Pflanzenmaterial erfolgen. Trotz identischer Versuchsbedingungen und Verwendung möglichst einheitlichen Pflanzenmaterials können Unterschiede in der Pflanzengröße die Vergleichbarkeit der Saftflußdaten und der Daten zur Xylemsaftzusammensetzung erschweren. Deshalb mußten die Daten aus den verschiedenen Experimenten über einfache pflanzeninterne Parameter angeglichen werden. Vorversuche haben gezeigt, daß eine enge Korrelation zwischen dem Saftfluß und dem Gesamtfrischgewicht, dem Sproßfrischgewicht und dem Blattfrischgewicht bestand ([Abb. 3.11](#), [Tab. 3.4](#)). Die Sproßhöhe oder der Sproßdurchmesser waren dagegen keine geeigneten Bezugsparameter. Als Bezugsgröße für die Saftflußraten wurde daher das Blatt- oder das Gesamtfrischgewicht gewählt.



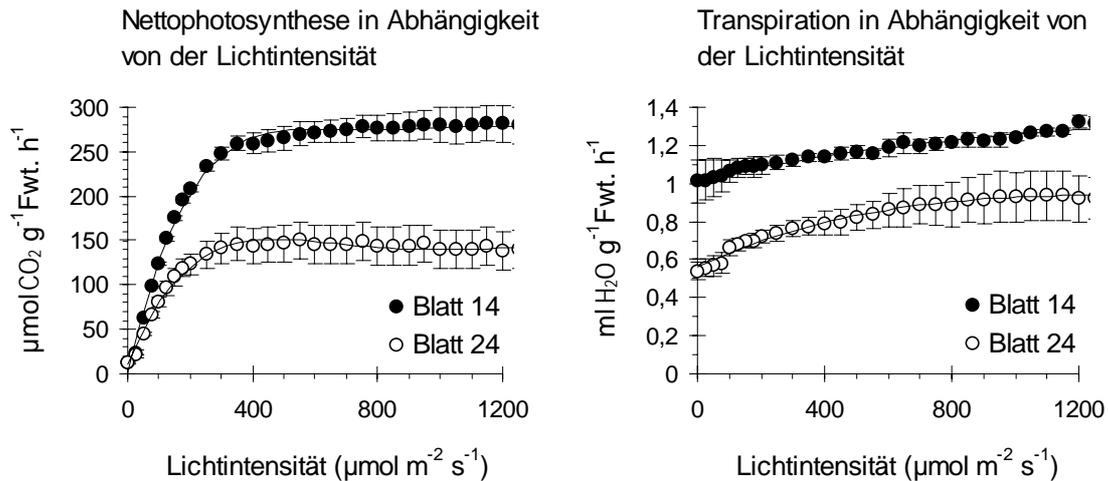
**Abb. 3.11** Korrelation zwischen Sapftfluß und Blattfrischgewicht in der Licht- und Dunkelphase. Der Sapftfluß wurde mit der „stem heat balance-Methode“ bestimmt.

**Tab. 3.4** Korrelation zwischen Sapftfluß und verschiedenen Pflanzenparametern.

Pflanzenparameter	Korrelationskoeffizient ( $R^2$ ); n = 6	
	Lichtphase	Dunkelphase
Fwt. Blätter	0,93	0,75
Fwt. Sproß	0,92	0,67
Fwt. gesamt	0,93	0,62
Sproßhöhe	0,73	0,46
Sproßdurchmesser an der Sproßbasis	0,37	0,46

### 3.2.4 Gaswechsellmessung an Blättern

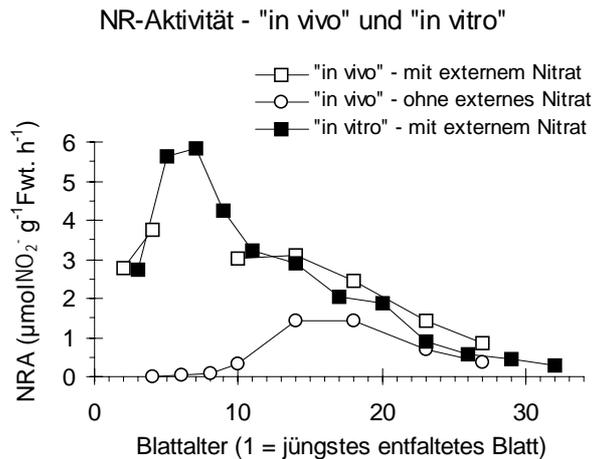
Durch die „stem heat balance-Methode“ konnte der Sapftfluß in jeweils 2 Sproßbereichen quantifiziert werden. Durch Variation der oberen Meßposition an der Sproßachse war es möglich, verschiedene Sproßabschnitte zu untersuchen. Eine höhere räumliche Auflösung, z.B. auf Ebene einzelner Blätter, konnte durch diese Methode jedoch nicht erreicht werden. Daher wurde, neben den direkten Sapftflußmessungen entlang der Sproßachse, auch die Transpirationsrate an unterschiedlich alten Blättern ermittelt. Zusätzlich zur Transpiration wurde die Nettophotosynthese in Abhängigkeit vom Entwicklungszustand der Blätter untersucht. Die hohe Blattanzahl (ca. 37) und die Ausrichtung der Blätter führte bei den untersuchten Pappeln jedoch zu einer starken Selbstbeschattung. Um diesen Einfluß auszuschließen, wurde bei den Gaswechsellmessungen ein Lichtaufsatz verwendet mit dem die Lichtintensität konstant gehalten wurde. Vorversuche zeigten, daß die Photosyntheserate der untersuchten Pappelblätter ab ca.  $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  in den Sättigungsbereich übergeht ([Abb. 3.12](#)). Dies galt unabhängig vom Blattalter (untersucht wurden Blatt 14 und 24), wobei die maximal erreichte Rate bei den jüngeren untersuchten Blättern etwa doppelt so hoch war. Im Gegensatz zur Photosynthese blieb die Transpiration unabhängig von der Lichtintensität annähernd konstant ([Abb. 3.12](#)), wobei die Transpirationsrate der jüngeren Blätter jedoch höher war. Der leichte Anstieg mit zunehmender Lichtintensität lag im Rahmen der Meßgenauigkeit der Einzelmessungen. Die Gaswechsellraten der verschiedenen Blattalterstadien wurden daher bei einer Lichtintensität im Sättigungsbereich der Photosynthese ( $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) ermittelt ([Abb. 3.24](#)).



**Abb. 3.12** Einfluß der Lichtintensität auf die Nettophotosynthese und die Transpiration. Die Gaswechselraten wurden an 2 Blattalterstadien gemessen. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD (Blatt 14:  $n = 2$ , Blatt 24:  $n = 3$ ). Die untersuchten Pflanzen wuchsen in Kontroll-NL unter kontrollierten Klimabedingungen. Die genauen Meßparameter sind unter [2.13](#) aufgeführt.

### 3.2.5 Vergleich zwischen in vivo und in vitro NR-Aktivität

Die Kapazität der  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation entlang der Sproßachse wurde durch Messung der NR-Aktivität in 12 verschiedenen Blattalterstadien ermittelt. Um Unterschiede zwischen verschiedenen Pflanzen und diurnale Variationen auszuschließen, mußte die Aktivitätsbestimmung bzw. die Ernte des Blattmaterials an allen Blättern einer Pflanze gleichzeitig erfolgen. Dies konnte nur beim „in vitro“-Test gewährleistet werden, da hierbei auch eingefrorenes Pflanzenmaterial verwendet werden konnte (s. [2.7.1](#)). Beim „in vitro“-Test wird das Enzym aus dem Gewebeverband gelöst und die Substrate in sättigenden Konzentrationen zugegeben. Daher besteht bei diesem Test die Gefahr die aktuelle Enzymaktivität zu überschätzen. Die „in vitro“ erhaltenden Daten wurden daher mit „in vivo“ ermittelten Aktivitäten verglichen ([Abb. 3.13](#)). Der „in vivo“-Test wurde entweder mit oder ohne Zugabe von  $\text{NO}_3^-$  durchgeführt. Reduktionsäquivalente wurden bei beiden Testansätzen in sättigender Konzentration zugesetzt. Bei allen untersuchten Blattalterstadien war die „in vivo“-Aktivität mit zugesetztem  $\text{NO}_3^-$  mit der in „in vitro“ ermittelten Aktivität gleich. Bei der „in vivo“-Aktivität ohne externes  $\text{NO}_3^-$  wurden nur in älteren Blättern ähnliche Aktivitäten wie mit  $\text{NO}_3^-$ -Zusatz gemessen (Blatt 18-27). Bis Blatt 8 lag die Aktivität unter  $0,1 \mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ Fwt. h}^{-1}$ , stieg dann bis Blatt 14 an und nahm darauf mit zunehmendem Blattalter ab. Der NR-Test ohne  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr ist daher nicht geeignet die NRA-Kapazität in Blättern intakter Pflanzen, d.h. bei kontinuierlicher  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr durch das Xylem, zu ermitteln.



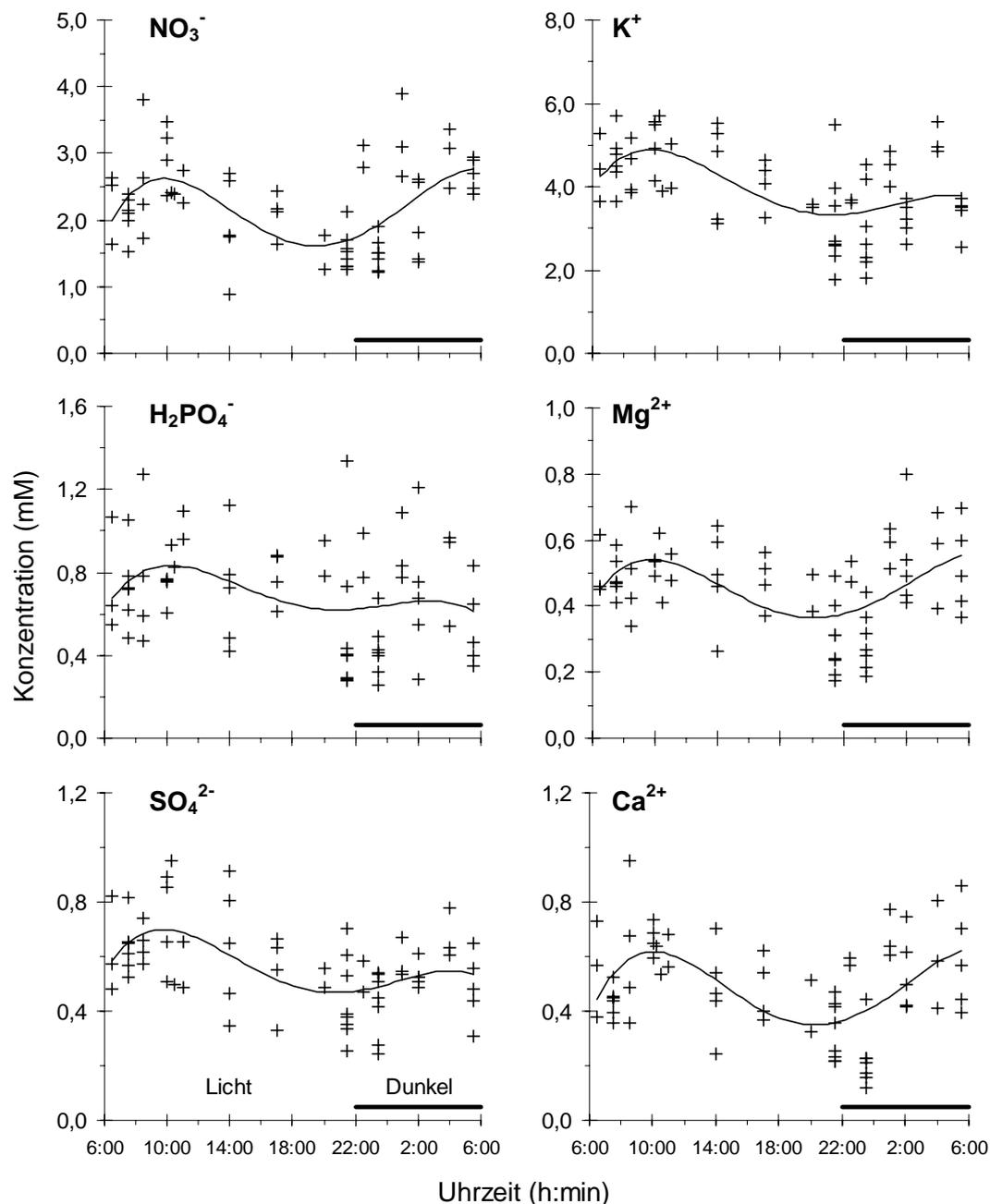
**Abb. 3.13** Vergleich zwischen „in vivo“ und „in vitro“ NR-Aktivität. Die „in vivo“-Aktivitäten (mit und ohne NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Zusatz) wurden an verschiedenen Blattalterstadien einer Pflanze bestimmt. Für die beiden Tests wurde je eine Blatthälfte verwendet. Die angegebenen „in vitro“-Aktivitäten entsprechen Mittelwerten von 3 Pflanzen. Die Pflanzenanzucht erfolgte in Kontroll-NL unter kontrollierten Klimabedingungen.

### 3.3 Nährstofftransport von der Wurzel in den Sproß in Abhängigkeit vom Tagesgang

In diesem Kapitel werden Untersuchungen zum Einfluß des Tagesgangs auf den Nährstofftransport im Xylemsaft präsentiert. Zur Berechnung von Nährstofftranslokationsraten von der Wurzel in den Sproß wurde die Nährstoffkonzentration im Wurzeldruckexsudat und die Saftflußraten an der Sproßbasis ermittelt. Bei diesen Untersuchungen wurde das Wurzeldruckexsudat zwischen 5 - 10 min nach Dekapitieren des Sprosses gesammelt. Die Zusammensetzung entsprach daher annähernd den aktuellen Nährstoffkonzentrationen im Xylemsaft unter transpirierenden Bedingungen (s. [3.2.2.2](#)). Die Untersuchungen wurden ergänzt durch Nitrataufnahmemessungen und Gaswechselformen an Blättern.

#### 3.3.1 Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats

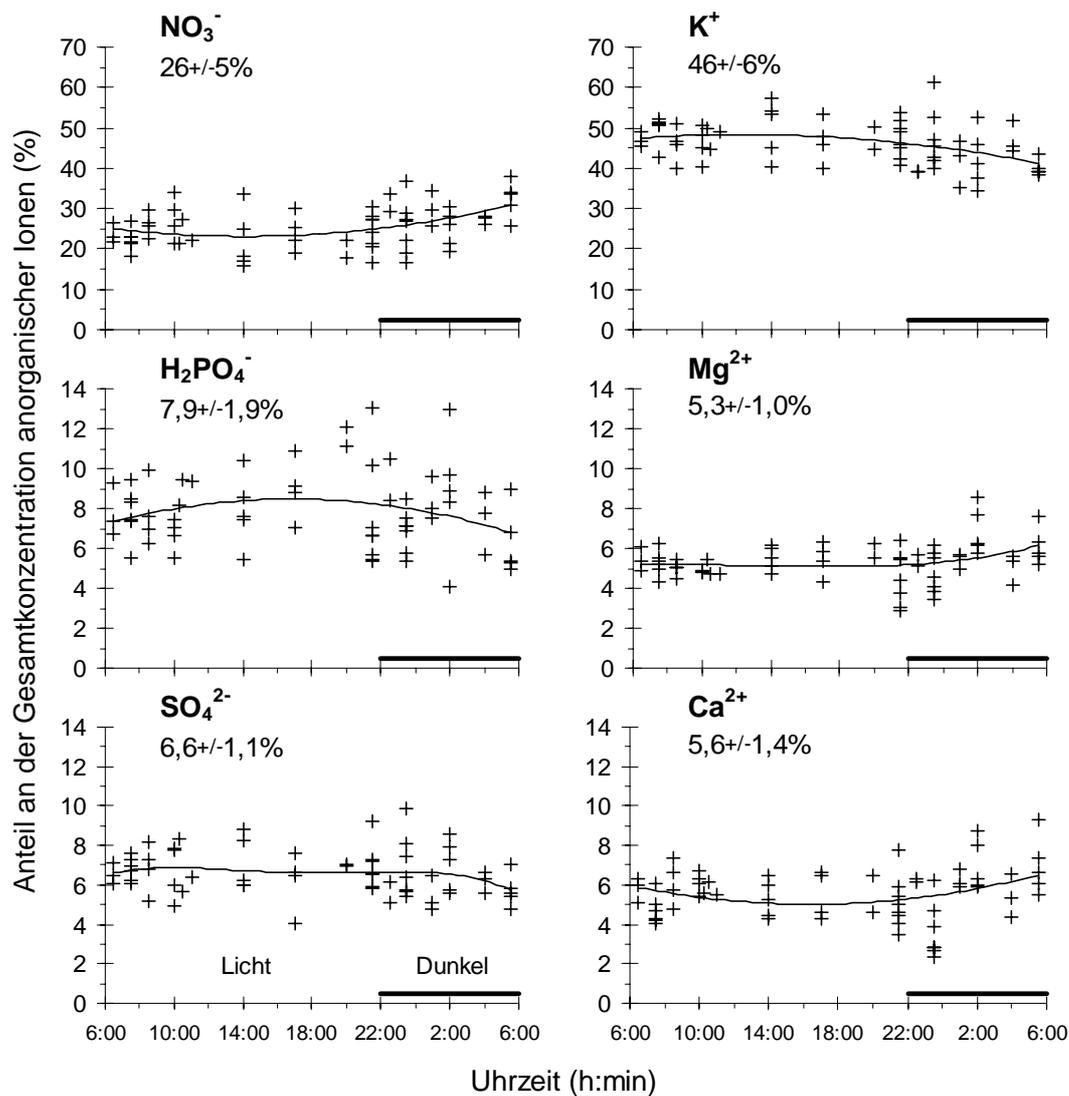
Die Konzentration anorganischer Ionen im Wurzeldruckexsudat ist in [Abb. 3.14](#) in Abhängigkeit vom Tagesgang dargestellt. Zwischen den einzelnen Pflanzenindividuen trat eine starke Streuung auf. Besonders ausgeprägt war dies bei H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>, hier konnte daher keine Aussage zu Änderungen im Tagesverlauf getroffen werden. Die Konzentration der anderen gezeigten Ionen war tendenziell Vormittags am höchsten (um ca. 10.00 Uhr) und sank dann im Verlauf der Lichtperiode ab. Mit Beginn der Dunkelperiode stieg die Konzentration wieder an und erreichte ähnliche Werte wie zu Beginn der Lichtphase. Die Konzentration von NO<sub>3</sub><sup>-</sup> und K<sup>+</sup> war deutlich höher als die Konzentration der anderen Makronährstoffe (< 1 mM). Um 10.00 Uhr lag die NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Konzentration im Mittel bei 3,5 mM, die mittlere K<sup>+</sup>-Konzentration betrug 5 mM.



**Abb. 3.14** Einfluß des Tagesganges auf die Konzentration von Makronährstoffen im Wurzeldruckexsudat. Wurzeldruckexsudat wurde zwischen 5-10 min nach Dekapitieren gewonnen. Jeder Meßpunkt repräsentiert eine Pflanze. Das Pflanzenwachstum erfolgte in Kontroll-NL (N-Quelle: 1 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) mit einer Lichtperiode von 6.00-22.00 Uhr und einer Temperatur von 22°C im Licht und 18°C im Dunkeln. Die Dunkelphase ist durch einen Balken markiert.

Anders als bei den Makronährstoffen blieb die Konzentration von Cl<sup>-</sup> im Tagesgang konstant ( $0,17 \pm 0,06$  mM, n = 58). Na<sup>+</sup> und NH<sub>4</sub><sup>+</sup> konnten nur in sehr geringen Mengen im Wurzeldruckexsudat nachgewiesen werden ( $0,09 \pm 0,05$  mM und  $0,03 \pm 0,02$  mM, n = 62). Auch hier war keine Änderung im Tagesverlauf zu beobachten.

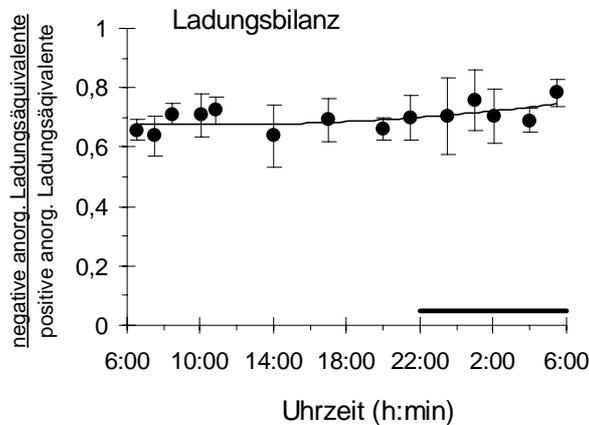
Daß die Variation aller Makronährstoffe im Wurzeldruckexsudat einer ähnlichen Tagesperiodik unterlagen, zeigte sich auch daran, daß das Verhältnis zueinander im Tagesgang nahezu konstant blieb ([Abb. 3.15](#)). Den höchsten Anteil hatten  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{K}^+$  mit 26 % bzw. 46 %, der Anteil der anderen Makronährstoffe lag zwischen 5 - 8 % und  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  und  $\text{NH}_4^+$  machten zusammen 2,4 % der Gesamtionenkonzentration aus.



**Abb. 3.15** Prozentualer Anteil der einzelnen Ionenarten an der Gesamtkonzentration anorganischer Ionen im Wurzeldruckexsudat in Abhängigkeit von der Tageszeit. Als Berechnungsgrundlage dienten die in [Abb. 3.14](#) dargestellten Konzentrationen im Wurzeldruckexsudat der einzelnen Pflanzen. Die Gesamtkonzentration entsprach der Summe der Konzentration von  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  und  $\text{NH}_4^+$  der einzelnen Pflanzen. Die in der Grafik angegebenen Mittelwerte  $\pm$  SD entsprechen dem mittleren prozentualen Anteil im Tagesverlauf ( $n = 65$ ).

Berechnet anhand der gemessenen Konzentrationen der anorganischen Ionen im Wurzeldruckexsudat, lag der Quotient von negativen Ladungsäquivalenten und positiven

Ladungsäquivalenten bei  $0,70 \pm 0,09$  ( $n = 65$ ). Dieser Wert war im Rahmen der Meßgenauigkeit im Tagesgang konstant ([Abb. 3.16](#)).

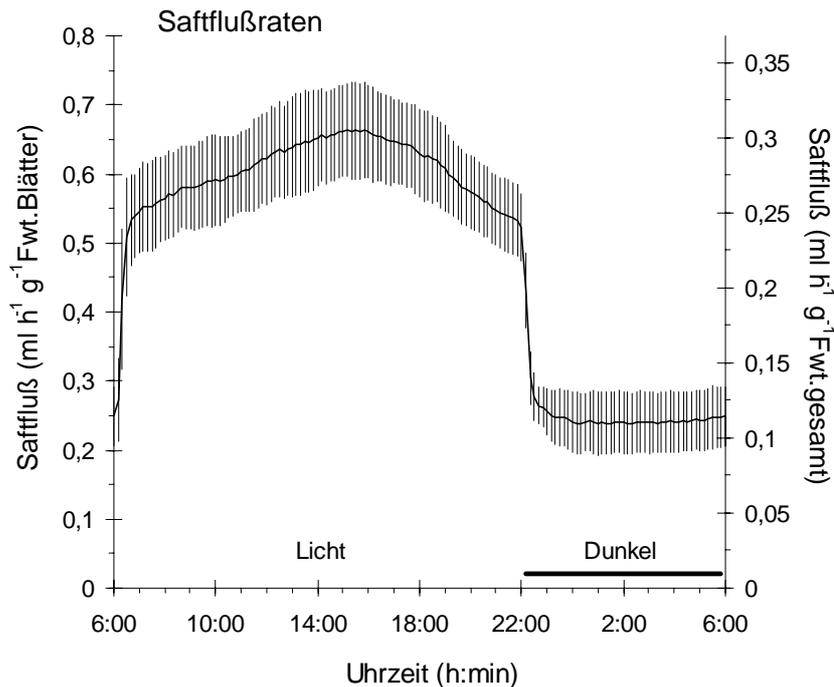


**Abb. 3.16** Einfluß der Tageszeit auf die Ladungsbilanz im Wurzeldruckexsudat. Datenbasis zur Berechnung der Ladungsbilanz waren die Konzentrationen der anorganischen Ionen im Wurzeldruckexsudat. Die Berechnung erfolgte wie unter [2.14](#) beschrieben. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD ( $n = 3 - 10$ ). Die Dunkelphase ist in der Grafik durch einen Balken markiert.

Zum vollständigen Ladungsausgleich (Quotient = 1) fehlen ca. 30 % negative Ladungsäquivalente. Neben den anorganischen Anionen befinden sich im Xylemsaft auch organische Anionen, vorwiegend Malat (Triplett et al. 1980). Möglich ist auch, daß ein Teil der positiven Ladungsäquivalente durch saure Aminosäuren kompensiert wird, da diese beim pH-Milieu im Xylemsaft (pH 5 - 7) negativ geladen sind. Den größten Anteil am Ausgleich positiver Ladungsäquivalente im Xylemsaft hat bei nitraternährten Pappeln jedoch  $\text{NO}_3^-$  ( $38 \pm 10 \%$ ,  $n = 65$ ).

### 3.3.2 in situ Safffluß von der Wurzel in den Sproß

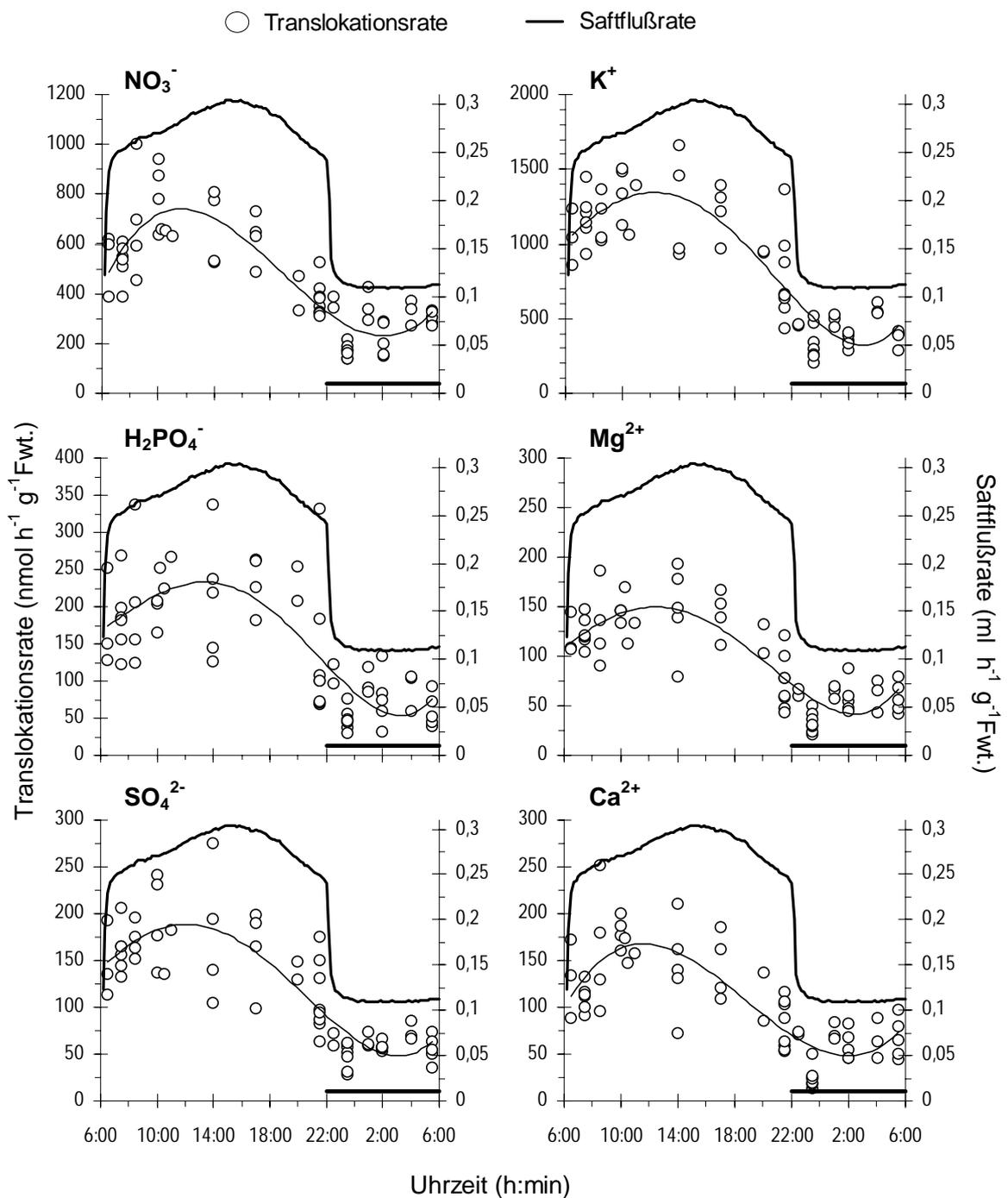
Der Safffluß im Xylem reagierte sehr schnell auf den Licht-Dunkel-Wechsel. Innerhalb von 10 - 20 min verdoppelte sich die Rate mit einsetzender Belichtung bzw. halbierte sich mit Beginn der Dunkelphase ([Abb. 3.17](#), Zeitauflösung: s. [Abb. 3.9](#)). Trotz gleichbleibender Klimabedingungen stieg der Safffluß mit zunehmender Belichtungszeit an, erreichte um ca. 16.00 Uhr die höchste Rate und fiel dann zum Ende der Lichtphase ab. Dies zeigt, daß der Xylemsaftfluß nicht ausschließlich über exogene Faktoren reguliert wird. In der Nacht waren die Saffflußraten konstant. Da der Safffluß eng mit dem Blattfrischgewicht und dem Gesamtfrischgewicht korreliert ([3.2.3.3](#)), diente das Frischgewicht als Bezugsgröße für die ermittelten Raten. Die Streuung zwischen den so berechneten Raten betrug im Mittel 11 % im Licht und 18 % im Dunkeln. Im Maximum der Lichtphase wurden pro h und g Blattfrischgewicht 0,66 ml Xylemsaft von der Wurzel in den Sproß transportiert, im Dunkeln lag die Rate bei  $0,24 \text{ ml h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ Fwt. Blätter}$ . Bezogen auf das Gesamtfrischgewicht waren die Transportraten entsprechend geringer.

**Abb. 3.17**

Saftflußraten im Tagesgang. Der Saftfluß wurde mit der „stem heat balance-Methode“ bestimmt. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD ( $n = 16$ ). Die Messung erfolgte an Pappeln in Kontroll-NL unter kontrollierten Klimabedingungen: Licht: 6.00 - 22.00 Uhr,  $T = 22^\circ\text{C}$  Dunkel: 22.00 - 6.00 Uhr,  $T = 18^\circ\text{C}$  Die Dunkelphase ist durch einen Balken markiert.

### 3.3.3 Nährstofftranslokationsraten

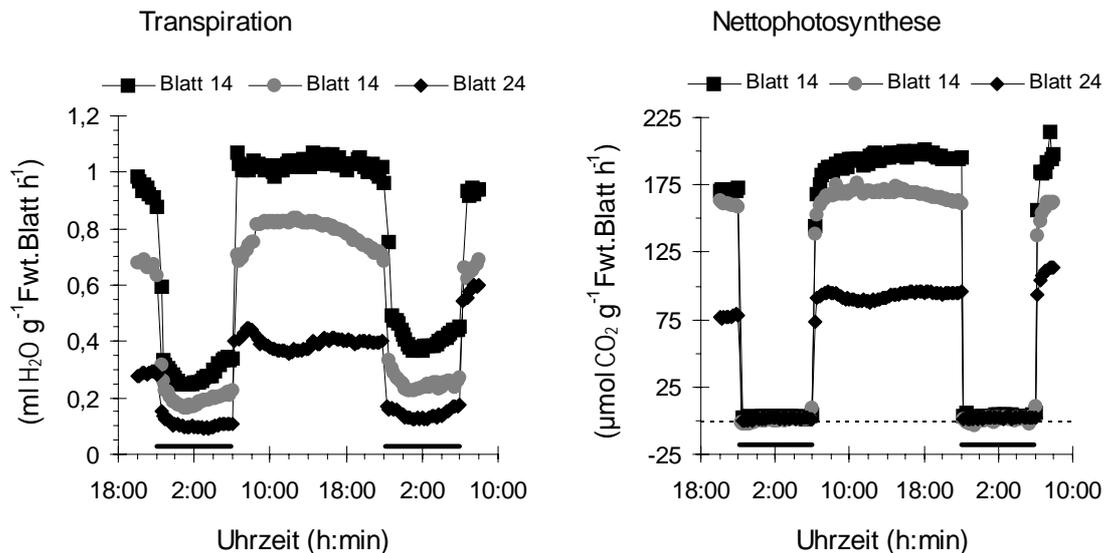
Die Berechnung der Translokationsraten der verschiedenen Makronährstoffe von der Wurzel in den Sproß in Abhängigkeit vom Tagesgang erfolgte anhand der gemessenen Konzentrationen im Wurzeldruckexsudat ([Abb. 3.14](#)) und den in [Abb. 3.17](#) angegebenen Saftflußraten (zur Berechnung s. [2.14](#)). Die Translokationsraten sind in [Abb. 3.18](#) angegeben. Zum Vergleich ist auch die mittlere Saftflußrate dargestellt. Im Gegensatz zum Saftfluß wurden die höchsten Nährstofftranslokationsraten bei allen Ionen zwischen 10.00 und 14.00 Uhr erreicht. Bis zum Ende der Lichtphase nahm der Nährstofftransport in den Sproß deutlich ab, obwohl die Flußrate im Xylem genauso hoch wie zu Tagesbeginn war. Auch in der Nacht wurden Nährstoffe in den Sproß transportiert, die mittleren Transportraten sind jedoch 60 - 70 % geringer als im Tagesmaximum. Der unterschiedliche Tagesgang von Saftflußraten und Nährstofftranslokationsraten zeigt, daß der Nährstofftransport im Xylem nicht allein über den Saftfluß moduliert wird.



**Abb. 3.18** Tagesgang des Safflusses (obere Kurve) und der Nährstofftranslokation von der Wurzel in den Sproß. Die Translokationsraten wurden über die Konzentration im Wurzeldruckexsudat (Sammelintervall: 5 - 10 min nach Dekapitieren) und die mit der „stem heat balance-Methode“ ermittelten Safflußraten berechnet (s. 2.14). Beide Größen wurden unter identischen Klimabedingungen ermittelt: Lichtphase: 6.00 - 22.00 Uhr; T = 22°C - Dunkelphase: 22.00 - 6.00 Uhr; T = 18°C. Die Luftfeuchte lag bei ca. 65 %. Die Dunkelphase ist durch einen Balken markiert. Die Safflußraten entsprechen Mittelwerten (n = 16). Jeder Meßpunkt für die Translokationsrate repräsentiert eine Pflanze.

### 3.3.4 Gaswechselraten einzelner Blätter

Der Safffluß im Xylem wird, zumindest in der Lichtphase, vorwiegend durch die Transpiration der Blätter angetrieben. Die direkten Saffflußmessungen wurden daher durch Gaswechselformen an Blättern ergänzt ([Abb. 3.19](#)).



**Abb. 3.19** Transpiration und Nettophotosynthese verschiedener Blattalterstadien in Abhängigkeit vom Tagesgang. Die Gaswechselformen erfolgten an zwei Blattalterstadien von Pappeln in Kontroll-NL unter kontrollierten Klimabedingungen (Lichtphase: 6.00 - 22.00 Uhr;  $T = 22^{\circ}\text{C}$  - Dunkelphase: 22.00 - 6.00 Uhr). Die Dunkelphase ist durch einen Balken markiert. Dargestellt sind die Daten von 3 ausgewählten Messungen. Die Raten von 4 Parallelmessungen zeigten den gleichen Verlauf im Tagesgang. Die Messungen erfolgten mit einer Zeitauflösung von 15 min. Die genauen Meßparameter sind unter [2.13](#) ausführlich erläutert.

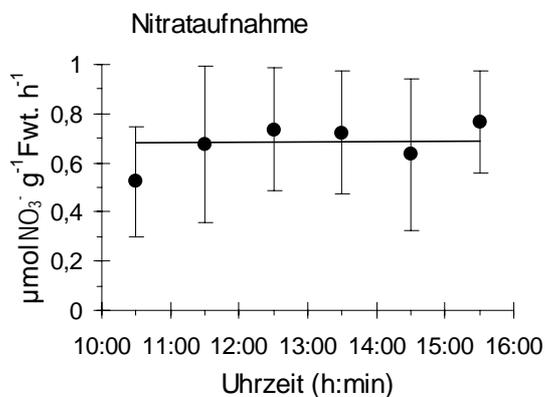
Die Zeitauflösung der Gaswechselformen betrug 15 min. Innerhalb dieses Meßintervalls reagierte das Blatt auf den Beleuchtungswechsel mit einem Anstieg bzw. Abfall der Transpirationsrate. Auch beim Safffluß traten beleuchtungsabhängige Änderungen innerhalb von ca. 20 min auf. Der ähnliche Zeitverlauf zeigt, daß die schnellen Änderungen der Saffflußraten auf die Transpiration der Blätter zurückzuführen sind. Im Gegensatz zum Safffluß blieb die Transpirationsrate der Blätter in der Lichtphase annähernd konstant. Abhängig vom Blattalter lag die Transpirationsrate in der Lichtphase zwischen 0,4 und 1,1 ml g<sup>-1</sup>Fwt.Blatt h<sup>-1</sup>, in der Dunkelphase betrug die Rate 0,1 bis 0,4 ml g<sup>-1</sup>Fwt.Blatt h<sup>-1</sup>. Dies entsprach den ermittelten Saffflußraten von ca. 0,6 (Lichtphase) bzw. 0,25 ml g<sup>-1</sup> Fwt.Blatt h<sup>-1</sup> (Dunkelphase). Die Saffflußrate lag zwischen den Werten der Transpiration der beiden untersuchten Blattalterstadien, da der Safffluß von der Transpirationsleistung aller Blattalterstadien abhängig ist.

Auch die Nettophotosyntheseraten stiegen unmittelbar nach Beleuchtungsbeginn an bzw. sanken sobald die Beleuchtung ausgeschaltet wurde ([Abb. 3.19](#)). Genauso wie die

Transpirationsrate blieb die Photosyntheserate in der Lichtphase konstant und war abhängig vom Blattalter.

### 3.3.5 $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme

$\text{NO}_3^-$ -Aufnahme und der Transport in den Sproß beeinflussen sich gegenseitig. Da  $\text{NO}_3^-$  nahezu phloemimmobil ist (Jeschke und Pate 1991b, Peuke et al. 1996), steht für die Xylembeladung nur das  $\text{NO}_3^-$  zur Verfügung, das durch die Wurzel aufgenommen wird (direkt oder nach Speicherung im Wurzelgewebe). Zum Vergleich mit den ermittelten Translokationsraten wurde deshalb auch die  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahmerate bestimmt ([Abb. 3.20](#)).



**Abb. 3.20**  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme in der Lichtphase. Die Aufnahmerate wurde anhand der  $\text{NO}_3^-$ -Abnahme in der NL (Kontroll-NL, N-Quelle: 1 mM  $\text{NO}_3^-$ ) ermittelt. Das Meßintervall betrug 1 h. Die Aufnahmeraten sind jeweils für den Mittelpunkt des Meßintervalls angegeben. Die Daten entsprechen Mittelwerten  $\pm$  SD ( $n=6$ ). Die Messungen erfolgten unter kontrollierten Klimabedingungen mit einer Lichtperiode zwischen 6.00 - 22.00 Uhr.

Im Rahmen der Meßgenauigkeit blieb die Aufnahmerate zwischen 10.00 - 16.00 Uhr konstant. Die mittlere Rate zwischen 10.00 - 14.00 Uhr lag bei  $0,66 \pm 0,08 \mu\text{molNO}_3^- \text{ g}^{-1}\text{Fwt. h}^{-1}$ . Die Rate entsprach der mittleren  $\text{NO}_3^-$ -Translokationsrate zu dieser Tageszeit ([Abb. 3.18](#):  $0,71 \pm 0,13 \mu\text{molNO}_3^- \text{ g}^{-1}\text{Fwt. h}^{-1}$ ). Zu der Tageszeit, bei der die höchsten Translokationsraten im Xylemsaft ermittelt wurden, war die transportierte  $\text{NO}_3^-$ -Menge daher äquivalent zur aufgenommenen  $\text{NO}_3^-$ -Menge.

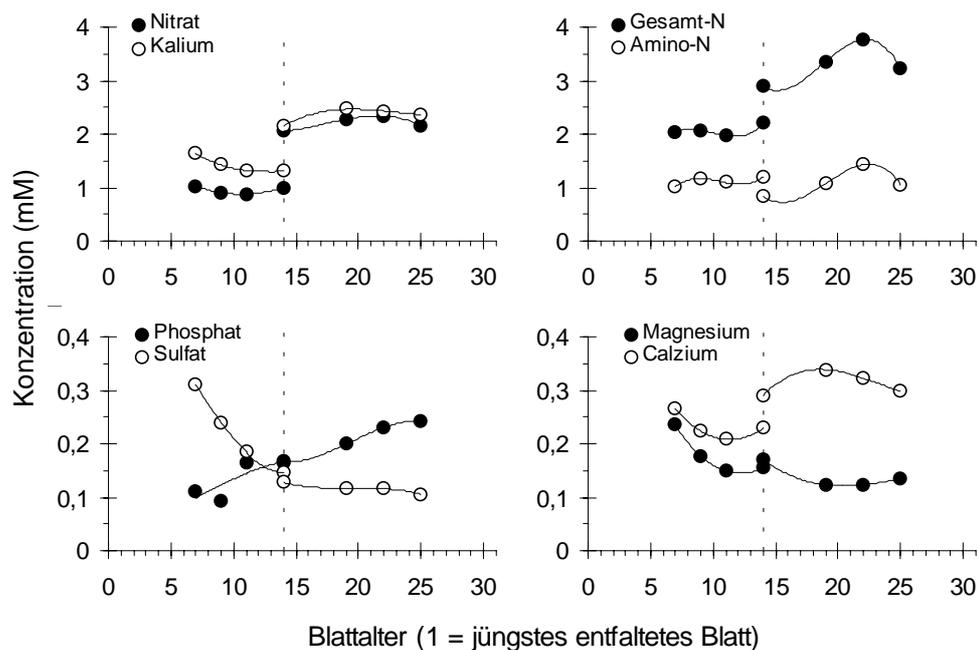
### 3.4 Nährstofftransport in verschiedene Sproßbereiche

Es ist davon auszugehen, daß sich der Nährstoffbedarf, z.B. aufgrund unterschiedlicher Wachstumsraten der Blätter, entlang der Sproßachse unterscheidet. Um den  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf entlang der Sproßachse zu charakterisieren, wurde der  $\text{NO}_3^-$ -, der Amino-N- und der Proteingehalt sowie die NR-Aktivität abhängig vom Blattalter untersucht. Durch die Bestimmung der NR-Aktivität kann die Kapazität der  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation abgeschätzt werden. Parallel dazu wurden die Transportraten von  $\text{NO}_3^-$  im Xylem entlang der Sproßachse anhand der Xylemsaftzusammensetzung und der Saftflußraten berechnet.

### 3.4.1 Zusammensetzung des Xylemexsudats

Die Untersuchungen zur Xylemsaftzusammensetzung entlang der Sproßachse wurden in Zusammenarbeit mit der AG Dr. Schurr, Universität Heidelberg durchgeführt.

Die Xylemsaftgewinnung an verschiedenen Blattalterstadien kann nur nach Druckapplikation im Wurzelraum erfolgen (2.4). Aus methodischen Gründen mußten hierzu Pappeln in festem Substrat verwendet werden (2.1.2.2). Die Probenahme wurde in zwei aufeinander folgenden Sammelintervallen (max. 24 h) durchgeführt. Im ersten Sammelintervall wurde Xylemexsudat an Blatt 7 - 14, im zweiten Sammelintervall an Blatt 14 - 25 gewonnen (in Abb. 3.21 durch eine Linie markiert). Zwischen den beiden Intervallen wurde die Pflanze mit Nährlösung gegossen. Dadurch wurde die Xylemsaftzusammensetzung beeinflusst. Als interner Standard kann jedoch Blatt 14 herangezogen werden, das in beiden Sammelintervallen beprobt wurde. Um tageszeitbedingte Variationen auszuschließen, wurde die Xylemsaftzusammensetzung zur gleichen Tageszeit bestimmt.

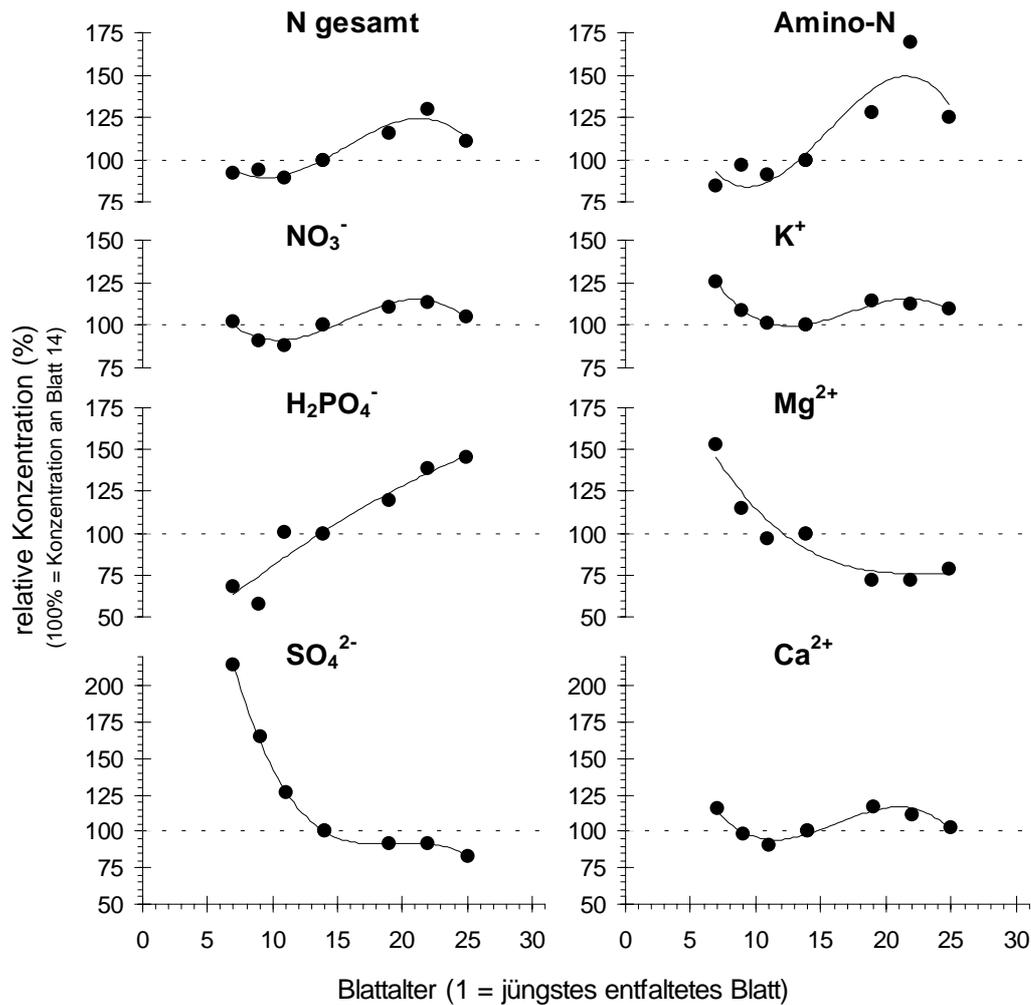


**Abb. 3.21** Zusammensetzung des Xylemexsudats gewonnen an unterschiedlich alten Blättern. Die Gewinnung des Exsudats erfolgte über einen Zeitraum von 2 h (9.00 - 11.00 Uhr) an 7 Blattalterstadien einer Pflanze in zwei aufeinander folgenden Sammelintervallen. Zwischen den Beprobungen wurde die Pflanze mit Kontroll-NL gegossen (unterbrochene Linie). Als interner Standard diente Blatt 14. Die Pflanzenanzucht erfolgte in Erde im Gewächshaus (s. 2.1.2.2), das Experiment wurde jedoch unter kontrollierten Klimabedingungen durchgeführt (s. 2.4.2). Die Pflanze wurde dazu 5 d an die veränderten Bedingungen adaptiert und mit Kontroll-NL (N-Quelle: 1 mM  $\text{NO}_3^-$ ) gegossen.

Die Zufuhr von Nährstoffen führte zu einem deutlichen Anstieg der  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Exsudat (Abb. 3.21: Blatt 14). Parallel dazu nahm auch die Konzentration von  $\text{K}^+$  und  $\text{Ca}^{2+}$  zu. Vermutlich war dies eine Folge der  $\text{NO}_3^-$ -Zunahme und diente dem Ladungsausgleich.

Offensichtlich war die  $\text{NO}_3^-$ -Verfügbarkeit in Erde zu gering, um den hohen  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf der Pflanze zu decken. Interessanterweise sank die Amino-N-Konzentration im Exsudat nach  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr sogar ab. Dies deutet darauf hin, daß für den Langstreckentransport bei Pappeln  $\text{NO}_3^-$  die bevorzugte N-Transportform ist. Im Gegensatz zu  $\text{NO}_3^-$  führte eine Zufuhr von  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  und  $\text{Mg}^{2+}$  nicht zu einer Konzentrationszunahme im Exsudat. Die beschriebenen Ergebnisse zeigen deutlich, daß das  $\text{NO}_3^-$ -Angebot in Erdkultur nicht optimal war. Die ermittelte Konzentration im Exsudat ist geringer als bei optimal  $\text{NO}_3^-$ -versorgten Pappeln in Hydrokultur und eignet sich daher nicht zur Berechnung von Translokationsraten.

Die ermittelten Daten lassen jedoch eine Aussage zu relativen Veränderungen der Xylemsaftzusammensetzung entlang der Sproßachse zu. Zur besseren Vergleichbarkeit ist in [Abb. 3.22](#) die prozentuale Veränderung in Relation zur Konzentration an Blatt 14 dargestellt. Die Konzentration von  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{K}^+$  und  $\text{Ca}^{2+}$  im Xylemexsudat blieb entlang der Sproßachse annähernd konstant. Die  $\text{SO}_4^{2-}$ - und  $\text{Mg}^{2+}$ -Konzentration war im oberen Sproßbereich bzw. in den jüngeren Blättern höher, dagegen stieg die  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ -Konzentration mit zunehmendem Blattalter an. Auch die AS-Konzentration war im Exsudat, das an jüngeren Blättern gewonnen wurde, geringer als bei älteren Blättern. Dies führte dazu, daß trotz konstanter  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration entlang der Sproßachse die Gesamt-N-Konzentration an der Sproßbasis bzw. im Exsudat älterer Blätter geringfügig höher war, als an der Sproßspitze. Auffällig ist, daß bei den Substanzen ( $\text{NO}_3^-$  und  $\text{Ca}^{2+}$ ), die nahezu phloemimmobil sind und für die daher prinzipiell kein Austausch zwischen den Kompartimenten entlang des Transportweges möglich ist, die Konzentration im Xylemsaft konstant blieb. Dies galt zwar auch für das phloemmobile  $\text{K}^+$ , könnte hier jedoch eine Folge der konstanten  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration sein (Ladungsausgleich). Festzuhalten bleibt, daß die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft entlang der Sproßachse konstant war. Ein erhöhter  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf jüngerer, noch wachsender Blätter müßte daher durch einen gesteigerten Xylemfluß in diese „sink“-Gewebe kompensiert werden. Diese Hypothese wurde durch direkte Saftflußmessungen entlang der Sproßachse und durch Untersuchungen zur Transpirationsleistung unterschiedlich alter Blättern überprüft.



**Abb. 3.22** Relative Ionenkonzentration im Xylemexsudat in Abhängigkeit von Blattalter. Als Bezugsgröße diente die Konzentration im Exsudat, welches an Blatt 14 gewonnen wurde (Konzentration = 100 %). Die experimentellen Bedingungen sind in der Legende von [Abb. 3.21](#) erläutert.

### 3.4.2 Quantifizierung der Saftflußraten entlang der Sproßachse

Die Quantifizierung der Saftflußraten entlang der Sproßachse erfolgte durch direkte Saftflußmessungen an verschiedenen Positionen der Sproßachse wie unter [3.2.3.2](#) beschrieben. Um eine höhere räumliche Auflösung zu erreichen, wurden auch die Transpirationsleistungen der verschiedenen Blattalterstadien ermittelt. Da die Transpiration die treibende Kraft für den Saftfluß ist, kann die Saftflußrate auch indirekt über die Transpirationsrate der Blätter bestimmt werden.

#### in situ Saftfluß in verschiedenen Sproßbereichen

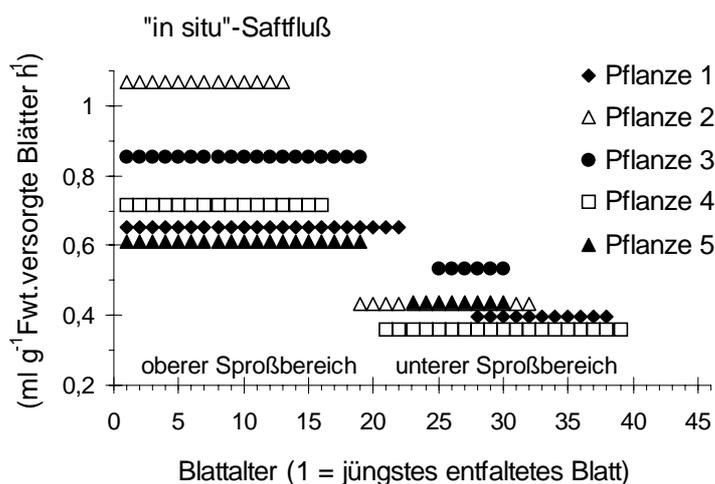
Durch Saftflußmessungen mit der „stem heat balance-Methode“ an 2 Positionen der Sproßachse war es möglich, den Saftfluß „in situ“ für jeweils 2 Sproßbereiche einer Pflanze zu quantifizieren. Zur Vergleichbarkeit wurden die ermittelten Saftflußraten auf das Frischgewicht der versorgten Blätter im jeweils untersuchten Sproßbereich bezogen.

Bei allen untersuchten Pflanzen wurde Xylemsaft mit einer deutlich höheren Rate in den oberen Sproßbereich, d.h. in das jüngere Blattgewebe transportiert. ([Abb. 3.23](#)). Je mehr ältere Blätter in den oberen untersuchten Sproßabschnitt einbezogen wurden, desto geringer war die Saffflußrate ([Abb. 3.23](#): Vergleich zwischen Pflanze 2, 3 und 1).

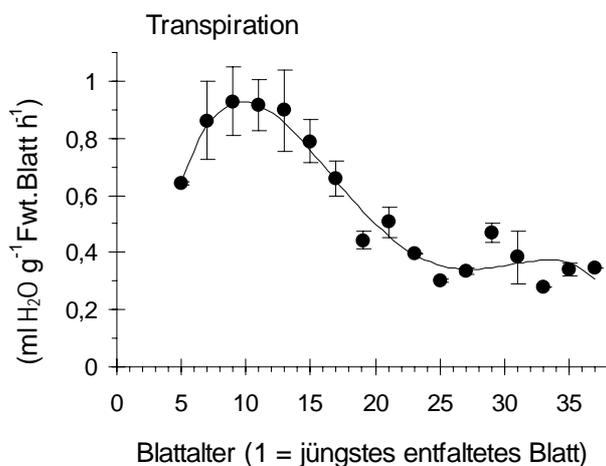
### Transpirationsraten in Abhängigkeit vom Blattalter

Auch durch die Transpirationmessung konnte indirekt ein deutlich höherer Safffluß in das jüngere Blattgewebe, d.h. in den oberen Sproßbereich nachgewiesen werden ([Abb. 3.24](#)). Die Transpirationsrate stieg bis Blatt 9 an, nahm dann bis Blatt 20 kontinuierlich ab und blieb danach mit zunehmendem Blattalter konstant.

Die Hypothese, daß in jüngere Blätter ein erhöhter Eintransport von Xylemsaft erfolgt, wurde daher durch zwei unabhängige Meßmethoden bestätigt.



**Abb. 3.23** „In situ“ Safffluß in 2 Sproßbereiche der Pappel. Der Safffluß wurde mit der „stem heat balance-Methode“ bestimmt. Dargestellt sind 5 Einzelmessungen. Die Berechnung der Raten erfolgte wie unter [3.2.3.2](#) beschrieben. Angegeben ist die mittlere Rate während der Lichtphase. Als Bezugsgröße diente das Fwt. der Blätter im jeweils untersuchten Sproßbereich.



**Abb. 3.24** Transpirationsraten in Abhängigkeit vom Blattalter. Die Transpirationsraten wurden in der Lichtphase zwischen 10.00 - 16.00 Uhr wie unter [2.13](#) beschrieben bestimmt. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD ( $n=3$ ). Die untersuchten Pflanzen hatten 32 - 38 voll entfaltete Blätter.

### Vergleich von Safffluß- und Transpirationsraten

Bei der Bestimmung der Saffflußrate durch Transpirationmessungen an einzelnen Blättern mit Blattküvetten besteht die Gefahr, die reale Saffflußrate, z.B. aufgrund des

starken Gasaustausches in der Kuvette, zu überschätzen. Um die Raten vergleichen zu können, wurden für die verschiedenen Sproßbereiche von den Pflanzen 1 - 5 ([Abb. 3.23](#)) die potentiellen Transpirationsraten berechnet. Unter den gegebenen Versuchsbedingungen war die Abweichung zwischen den beiden Meßmethoden überraschend gering ([Tab. 3.5](#)). Die Abweichung der berechneten Transpirationsraten von den „in situ“ gemessenen Saftflußraten im jeweiligen Sproßbereich lag maximal zwischen -31 und +29 %. Die aktuelle Saftflußrate kann daher durch Transpirationsmessungen abgeschätzt werden. Das bedeutet, daß die Eintransportrate von Xylemsaft auch für einzelne Blätter quantifiziert werden kann. Dies war die Voraussetzung für die Berechnung der  $\text{NO}_3^-$ -Translokationsraten in einzelne Blätter (s. [3.4.4](#)).

**Tab. 3.5** Saftflußbestimmung durch Transpirationsmessung an einzelnen Blättern im Vergleich zur „in situ“ Saftflußmessung in verschiedenen Sproßbereichen durch die „stem heat balance-Methode“. Für die „stem heat balance-Methode“ („SHB-Methode“) ist die mittlere gemessene Saftflußrate zwischen 10.00 - 16.00 Uhr von 5 Einzelexperimenten für jeweils 2 Sproßbereiche angegeben (siehe Legende [Abb. 3.23](#)). Über das Frischgewicht der unterschiedlich alten Blätter der verwendeten Pflanzen (Pflanze 1 - 5) und den in unabhängigen Experimenten gemessenen Transpirationsraten der verschiedenen Blattalterstadien ([Abb. 3.24](#)) wurde die potentielle Transpirationsrate in den jeweils untersuchten Sproßabschnitten berechnet. Die Transpirationsrate wurde nur für jedes zweite Blatt bestimmt, die Rate der dazwischenliegenden Blätter wurde interpoliert.

Methode	Oberer Sproßbereich ( $\text{ml h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{Fwt. Blätter}$ )			Unterer Sproßbereich ( $\text{ml h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{Fwt. Blätter}$ )		
	Saftfluß („SHB- Methode“)	berechnete Transpiration	Abweichung <sup>1</sup>	Saftfluß („SHB- Methode“)	berechnete Transpiration	Abweichung <sup>1</sup>
Pflanze 1	0,711	0,705	-1 %	0,425	0,319	-25 %
Pflanze 2	1,157	0,851	-26 %	0,461	0,411	-9 %
Pflanze 3	0,898	0,797	-11 %	0,567	0,385	-31 %
Pflanze 4	0,776	0,842	+9 %	0,381	0,359	-6 %
Pflanze 5	0,605	0,778	+29 %	0,404	0,386	-4 %

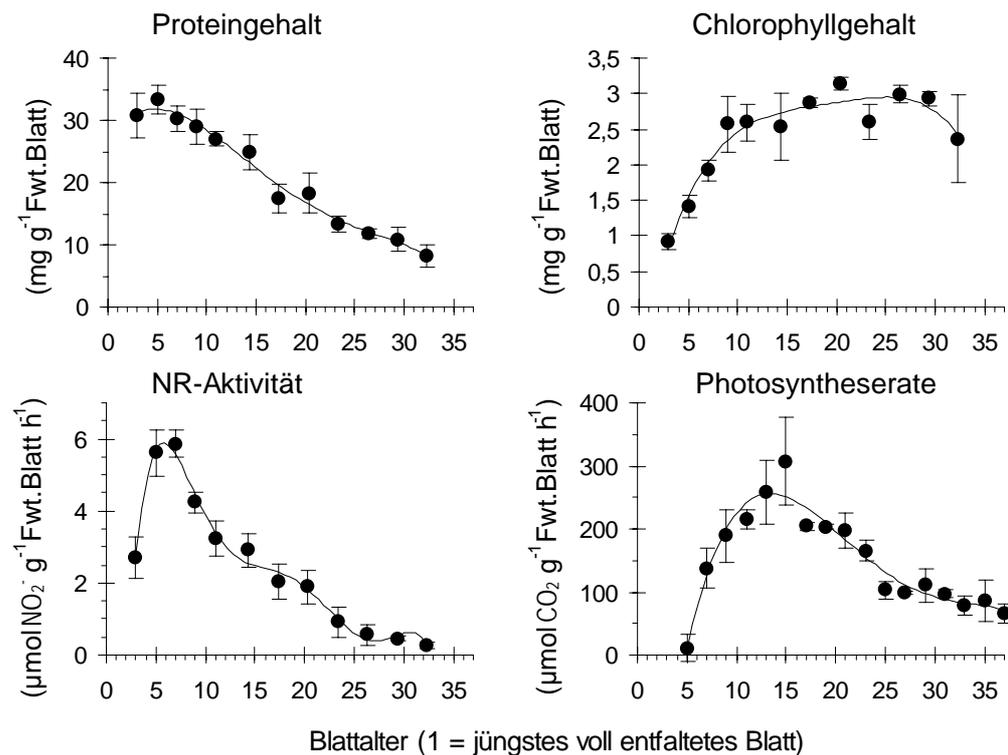
<sup>1</sup> Die angegebenen Werte entsprechen der prozentualen Abweichung der berechneten Transpirationsrate von der tatsächlich gemessenen Saftflußrate.

### 3.4.3 $\text{NO}_3^-$ -Assimilation und -Speicherung in Abhängigkeit vom Blattalter

Als Maß für die Kapazität der  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation wurde die NR-Aktivität herangezogen und der Gehalt an Assimilationsprodukten (Aminosäuren) in den Blättern bestimmt. Als Maß für die  $\text{NO}_3^-$ -Speicherkapazität diente der  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt im Pflanzengewebe. Neben diesen Größen wurde auch der Gehalt der anderen Makronährstoffe, der Chlorophyll- und Proteingehalt und die Nettophotosyntheserate in Abhängigkeit vom Blattalter ermittelt.

Der Gehalt an löslichem Protein war, wie erwartet, in den jüngsten noch wachsenden Blättern am höchsten und sank mit zunehmendem Blattalter kontinuierlich ab ([Abb. 3.25](#)).

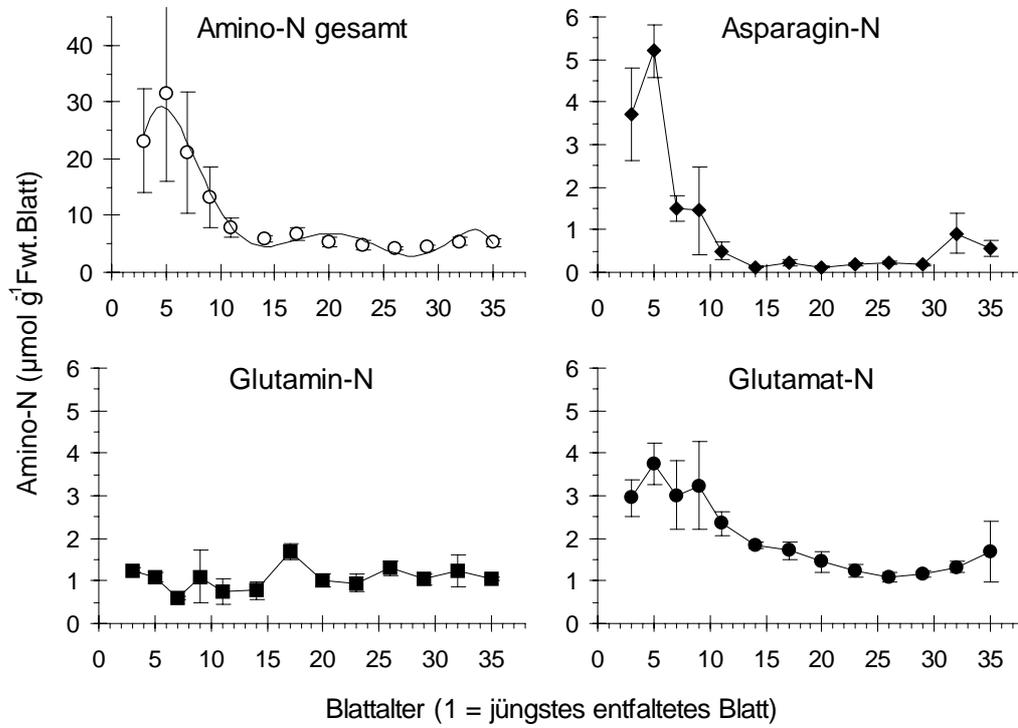
Der Chlorophyllgehalt stieg bis Blatt 11 an und blieb dann mit zunehmendem Blattalter relativ konstant. Parallel zum Chlorophyllgehalt stieg auch die Photosyntheserate an. Die höchsten Photosyntheseleistungen wurden zwischen Blatt 13 und Blatt 15 ermittelt. Trotz gleichbleibender Chlorophyllgehalte nahm die Photosyntheserate dann mit zunehmendem Blattalter ab. Bei Blatt 13 - 15 handelt es sich daher eindeutig um „source-Blätter“, die Kohlenhydrate für jüngere wachsende Blätter zur Verfügung stellen, selbst jedoch ausgewachsen sind ([Abb. 3.2](#)).



**Abb. 3.25** NR-Aktivität, Protein-, Chlorophyllgehalt und Nettophotosynthese in Abhängigkeit vom Blattalter. Die Daten wurden unter identischen Bedingungen, zwischen 9.00 - 14.00 Uhr bestimmt. Die NR-Aktivität wurde „in vitro“ bestimmt. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD ( $n = 3$ ).

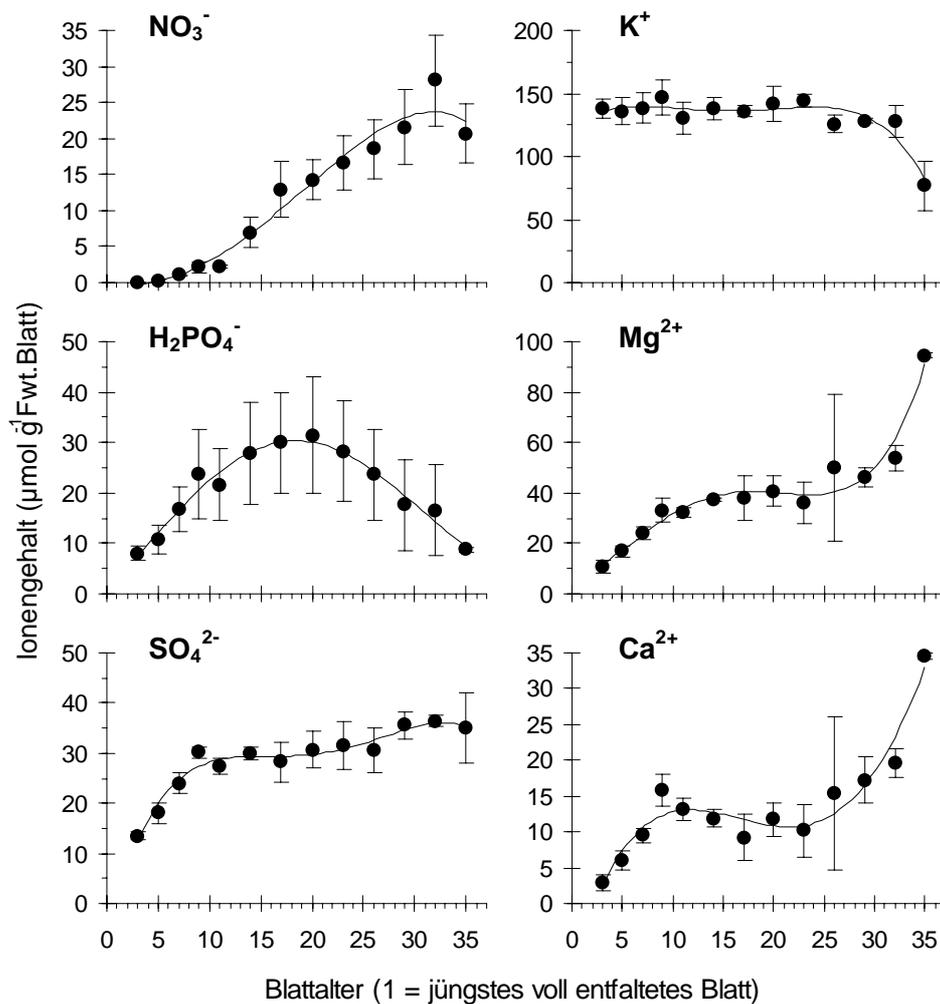
Die höchste NR-Aktivität wurde dagegen in den jüngeren, noch nicht vollständig ausgewachsenen Blättern gemessen (Blatt 5-7, [Abb. 3.2](#) und [Abb. 3.25](#)). Aufgrund der geringen Photosyntheseleistung war Blatt 5 teilweise oder vollständig auf einen Import von C-Skeletten und Reduktionsäquivalenten zur NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Reduktion und Proteinsynthese aus den „source-Blättern“ angewiesen. Entsprechend der hohen NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Assimilationsrate war auch der Gehalt an freien Amino-N-Verbindungen in den jüngsten Blättern am höchsten ([Abb. 3.26](#)). Im Blattgewebe lag vorwiegend Glutamat, Asparagin und Glutamin vor, der mittlere prozentuale Anteil am Gesamt-Amino-N entsprach 19 %, 14 % und 13 %. Während der Gehalt der meisten AS (als Beispiel sind Asparagin und Glutamat

angegeben) in den jüngeren Blättern höher war, blieb der Glutamingehalt unabhängig vom Blattalter konstant.



**Abb. 3.26** Amino-N-Gehalte in Abhängigkeit vom Blattalter. Die Gehalte wurden in der Mitte der Lichtphase, zwischen 10.00 - 16.00 Uhr bestimmt. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD ( $n = 3$ ).

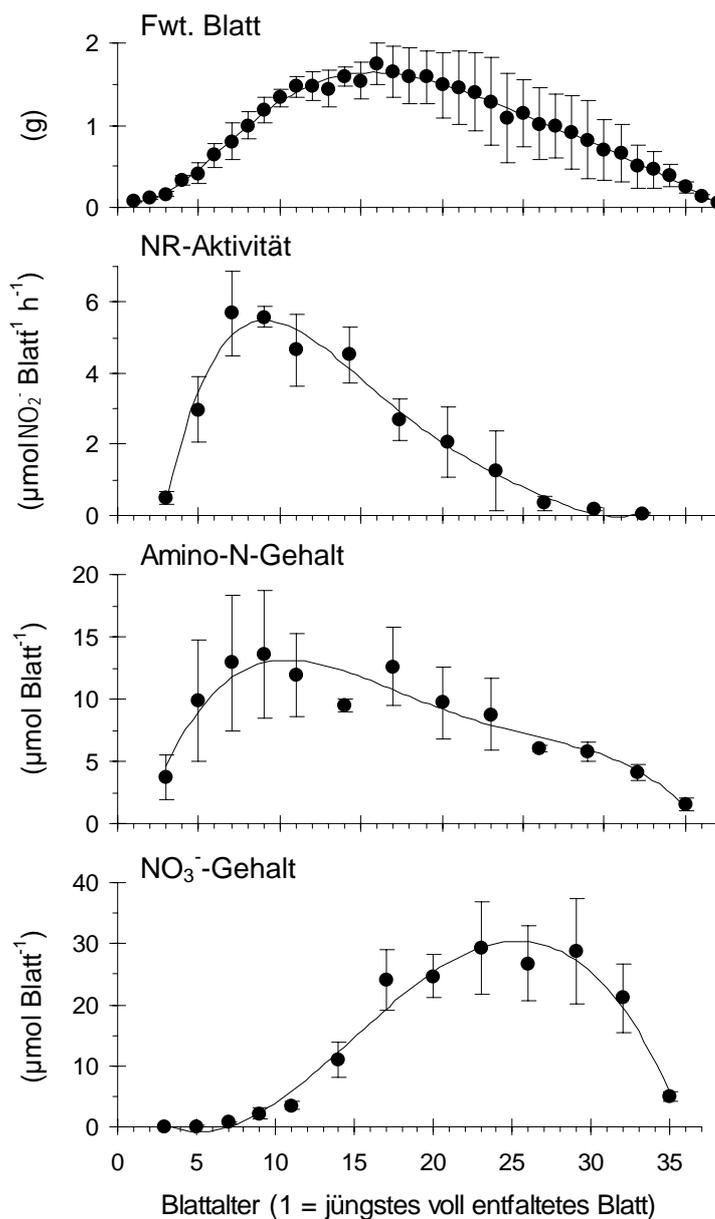
Im Gegensatz zur Assimilationsrate und den Amino-N-Gehalten stieg der  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt mit zunehmendem Blattalter kontinuierlich an ([Abb. 3.27](#)). In Blatt 3 konnte kein  $\text{NO}_3^-$  im Blattgewebe nachgewiesen werden, bis Blatt 11 stieg der Gehalt nur auf ca.  $2 \mu\text{mol g}^{-1}$  Fwt.Blatt an. Genau in diesen Blattalterstadien lag jedoch der  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf für die Assimilation schon pro Stunde bei  $3 - 6 \mu\text{mol g}^{-1}$  Fwt.Blatt ([Abb. 3.25](#)). Die NR-Aktivität wurde „in vitro“ und bei gesättigten Substratkonzentrationen bestimmt. Die „in vitro“-Aktivität entsprach hier jedoch der „in vivo“-Aktivität ohne Substratlimitierung ([Abb. 3.13](#)) und kann daher als Maß für den maximal erreichbaren  $\text{NO}_3^-$ -Umsatz (ohne Substratlimitierung) unter lebenden Bedingungen herangezogen werden. Die jüngeren Blätter sind daher auf eine kontinuierliche  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr über das Xylem angewiesen, um die maximal mögliche Assimilationsrate zu erreichen. Diese Hypothese wurde dadurch bestätigt, daß die „in vivo“-Aktivität ohne  $\text{NO}_3^-$ -Zusatz in diesen jungen Blättern unter  $0,4 \mu\text{mol g}^{-1}$  Fwt.Blatt blieb ([Abb. 3.13](#)) und erst mit zunehmendem Blattalter bzw. zunehmendem  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt ([Abb. 3.27](#)) anstieg. In den älteren Blättern (ab Blatt 18) waren die NR-Aktivitäten, gemessen mit und ohne  $\text{NO}_3^-$ -Zusatz, gleich. Der „in vivo“-Test ohne  $\text{NO}_3^-$ -Zusatz reflektiert daher den  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt der verschiedenen Blattalterstadien.



**Abb. 3.27** Ionengehalte in Abhängigkeit vom Blattalter. Die Gehalte wurden in der Mitte der Lichtphase, zwischen 10.00 - 16.00 Uhr bestimmt. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD ( $n = 3$ ).

Der  $\text{SO}_4^{2-}$ -,  $\text{Mg}^{2+}$ - und  $\text{Ca}^{2+}$ -Gehalt stieg mit zunehmendem Blattalter an und blieb dann relativ konstant, sobald die Blätter vollständig ausgewachsen waren ([Abb. 3.27](#)). Erst bei älteren Blättern (etwa ab Blatt 27) stieg der Gehalt wieder an. Vermutlich ist dies auf die Remobilisierung von Nährstoffen im Zuge beginnender Seneszenz zurückzuführen. Der  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ -Gehalt nahm bis Blatt 14 kontinuierlich zu und fiel ab Blatt 23 wieder ab. Im Gegensatz dazu blieb der  $\text{K}^+$ -Gehalt unabhängig vom Blattalter relativ konstant (mit Ausnahme von Blatt 35). Im Vergleich zu den anderen Nährstoffen war der  $\text{K}^+$ -Gehalt im Blattgewebe generell etwa 4fach höher.

Um Aussagen zu quantitativen Veränderungen der  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation bzw. der  $\text{NO}_3^-$ -Speicherung entlang der Sproßachse treffen zu können, muß die unterschiedliche Blattgröße berücksichtigt werden ([Abb. 3.28](#)). Zwischen Blatt 5 und Blatt 15 halbierte sich die NR-Aktivität zwar ([Abb. 3.25](#)), gleichzeitig nahm aber das Fwt. um das 3fache zu ([Abb. 3.28](#)).



**Abb. 3.28** Frischgewicht, NR-Aktivität, Amino-N- und  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt unterschiedlich alter Blätter. Alle Daten sind auf die jeweils untersuchten Blätter bezogen. Die Daten wurden in der Mitte der Lichtphase, zwischen 10.00 - 16.00 Uhr bestimmt. Mittelwerte  $\pm$  SD (Fwt.:  $n = 6$ , andere Daten:  $n = 3$ ).

Die so erhaltenen Daten zur NR-Aktivität und zum Amino-N-Gehalt zeigen deutlich, daß die jüngeren Blätter (Blatt 7 - 9), obwohl sie noch nicht vollständig ausgewachsen waren, die höchste Kapazität für die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion entlang der Sproßachse hatten ([Abb. 3.28](#)). Ab Blatt 11 nahm die NR-Aktivität und der Amino-N-Gehalt mit zunehmenden Blattalter entlang der Sproßachse kontinuierlich ab. Die  $\text{NO}_3^-$ -Speicherung erfolgte dagegen fast ausschließlich in den älteren Blättern im unteren Sproßbereich. Obwohl das Blattfrischgewicht zwischen Blatt 17 und Blatt 32 abnahm, war der absolute  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt dieser Blätter annähernd gleich ([Abb. 3.28](#)).

Zusammenfassend läßt sich festhalten, daß der  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf für die  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation im oberen Sproßbereich bzw. in den jüngeren Blättern der Pappel entlang der Sproßachse am höchsten ist und vermutlich durch einen erhöhten Eintransport von  $\text{NO}_3^-$  durch das

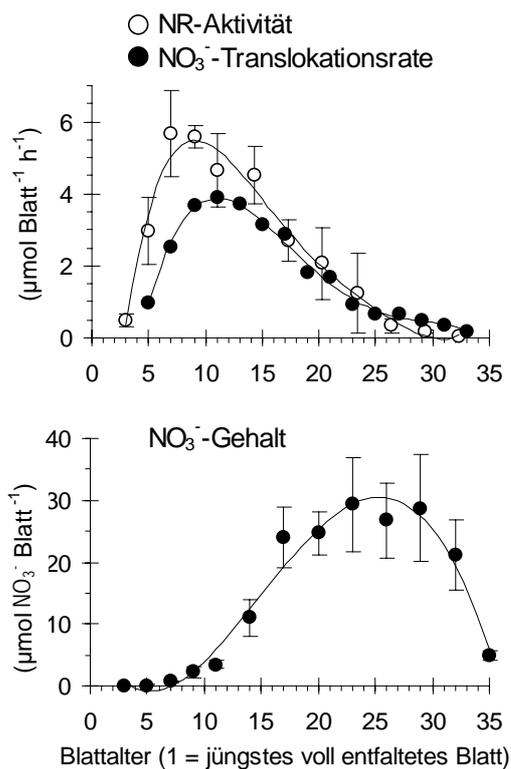
Xylem gedeckt wird. Um diese Hypothese zu überprüfen, wurden die  $\text{NO}_3^-$ -Eintransportraten durch das Xylem (Translokationsrate) für die unterschiedlichen Blattalterstadien berechnet und mit den maximalen  $\text{NO}_3^-$ -Umsatzraten (NR-Aktivität) verglichen (s. [3.4.4](#)).

#### 3.4.4 $\text{NO}_3^-$ -Translokation in verschiedene Blattalterstadien

Da die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft entlang der Sproßachse annähernd konstant blieb ([Abb. 3.21](#)), konnten die Translokationsraten in die einzelnen Blätter anhand der mittleren  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat um 10.00 Uhr ([Abb. 3.14](#):  $3 \pm 0,3 \text{ mM}$ ,  $n=5$ ) und der Transpirationsrate der verschieden alten Blätter ([Abb. 3.24](#)) berechnet werden. Zur direkten Vergleichbarkeit mit der NR-Aktivität wurden die Translokationsraten auf die Blattmasse der im NR-Test untersuchten Blätter bezogen.

→ Translokationsrate ( $\mu\text{mol h}^{-1}$ )  
= Transpirationsrate ( $\text{l h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ Fwt}$ ) • Konzentration im Xylemsaft ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) • Fwt.Blatt (g)

Die Übereinstimmung zwischen dem berechneten  $\text{NO}_3^-$ -Eintransport und der durch die NR maximal umsetzbaren  $\text{NO}_3^-$ -Menge war erstaunlich gut ([Abb. 3.29](#)), wenn man berücksichtigt, daß die Daten mit verschiedenen Methoden an verschiedenen Pflanzenindividuen ermittelt wurden. Die höchsten Eintransportraten wurden für die Blätter ermittelt, die auch den höchsten  $\text{NO}_3^-$ -Umsatz hatten. Dies zeigt, daß der erhöhte Bedarf tatsächlich über einen gesteigerten Eintransport durch das Xylem gedeckt wird. Entsprechend dazu sank die  $\text{NO}_3^-$ -Translokationsrate in die Blätter, wenn der  $\text{NO}_3^-$ -Umsatz (NR-Aktivität) abnahm. Bei den noch wachsenden Blättern (Blatt 5 - 9) lag die Eintransportrate niedriger als die maximal mögliche Umsatzrate. Scheinbar wird die  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation in den jüngeren Blättern durch die  $\text{NO}_3^-$ -Verfügbarkeit limitiert. Dafür spricht auch der sehr geringe  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt in diesen Blättern. Bei den ausgewachsenen Blättern war die eintransportierte Menge äquivalent zur maximal erreichbaren Umsatzrate.



**Abb. 3.29** NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Translokation im Xylem entlang der Sproßachse von Pappeln. Zum Vergleich mit den berechneten NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Eintransport durch das Xylem in die unterschiedlich alten Blätter ist noch einmal die NR-Aktivität und der NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Gehalt der verschiedenen Blattalterstadien dargestellt (vergl. Abb. 3.28). Die Daten wurden in der Mitte der Lichtphase, zwischen 9.00 - 16.00 Uhr bestimmt. Angegeben sind Mittelwerte ± SD (n = 3). Die Berechnung der Translokationsraten ist im Text erläutert.

### 3.5 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Assimilation und Nährstoffgehalte in Blättern und Feinwurzeln

Die Verteilung der NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Assimilation zwischen Wurzel und Sproß ist artspezifisch und abhängig vom Pflanzenalter und dem externen NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot (Andrews 1986, Andrews et al. 1992, Wallace 1975). Bei adulten Bäumen erfolgt die NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Assimilation vorwiegend in der Wurzel (Pate 1973).

Die hohe NR-Aktivität und der hohe NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Gehalt in den Blättern ([Abb. 3.29](#)) und der hohe Anteil von NO<sub>3</sub><sup>-</sup> im Xylemsaft (50 - 60% der Gesamt-N-Konzentration) deuteten jedoch darauf hin, daß in den hier untersuchten Pappeln die Assimilation vorwiegend im Sproß erfolgte. Um das Verhältnis zwischen NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Assimilation in der Wurzel und im Sproß zu ermitteln, wurde die NR-Aktivität in Blättern und Feinwurzeln bestimmt. Das Verhältnis zwischen NO<sub>3</sub><sup>-</sup> und Amino-N im Xylemsaft entspricht nicht der Verteilung der NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Assimilation zwischen Wurzel und Sproß, da AS im Gegensatz zu NO<sub>3</sub><sup>-</sup> phloemmobil sind und zwischen Wurzel und Sproß zirkulieren (Cooper und Clarkson 1989). Zusätzlich wurde die Speicherkapazität für Nährstoffe und Amino-N in Feinwurzeln und Blättern ermittelt ([Tab. 3.6](#)).

**Tab. 3.6** Verteilung der NR-Aktivität, von Nährstoffen und von Amino-N zwischen Blättern und Feinwurzeln. Die NR-Aktivität (NRA) in den Blättern wurde „in vitro“ zwischen 9.00 - 12.00 Uhr gemessen. Die NR-Aktivität in Feinwurzeln war im „in vitro“-Test (mit Zusatz von  $\text{NO}_3^-$  und NADH oder NADPH) zu gering, um sicher quantifiziert zu werden. Angegeben ist daher die „in vivo“-Aktivität mit Zusatz von  $\text{NO}_3^-$  und Reduktionsäquivalenten. Die Nährstoff- und Amino-N-Gehalte wurden zwischen 10.00 - 16.00 Uhr bestimmt. Die Werte entsprechen Mittelwerten  $\pm$  SD ( $n = 3$ ). Um die Daten direkt vergleichen zu können wurde die Gehalte auf die Blatt- bzw. Feinwurzelmasse der im NR-Test verwendeten Pflanzen bezogen.

	Blätter			Feinwurzeln		
	$\mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1}\text{Fwt.}$	$\mu\text{mol h}^{-1} \text{gesamte Blattmasse}^{-1}$	Anteil <sup>1</sup>	$\mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1}\text{Fwt.}$	$\mu\text{mol h}^{-1} \text{gesamte Feinwurzelmasse}^{-1}$	Anteil <sup>1</sup>
NR-Aktivität	$2,6 \pm 0,2$	$71 \pm 8$	92 %	0,5	7	8 %

	Blätter			Feinwurzeln		
	$\mu\text{mol g}^{-1}\text{Fwt.}$	$\mu\text{mol gesamte Blattmasse}^{-1}$	Anteil <sup>1</sup> (%)	$\mu\text{mol g}^{-1}\text{Fwt.}$	$\mu\text{mol gesamte Feinwurzelmasse}^{-1}$	Anteil <sup>1</sup> (%)
Amino-N	$9,3 \pm 1,1$	$255 \pm 27$	75 %	$6,6 \pm 0,93$	$85 \pm 14$	25 %
$\text{NO}_3^-$	$13,1 \pm 1,5$	$361 \pm 56$	78 %	$8,1 \pm 0,9$	$103 \pm 12$	22 %
$\text{H}_2\text{PO}_4^-$	$20,7 \pm 6,7$	$569 \pm 188$	93 %	$3,2 \pm 0,2$	$41 \pm 3$	7 %
$\text{SO}_4^{2-}$	$28,4 \pm 2,1$	$781 \pm 37$	91 %	$5,8 \pm 0,4$	$74 \pm 6$	9 %
$\text{K}^+$	$132,2 \pm 9,3$	$3637 \pm 263$	91 %	$30,0 \pm 7,6$	$381 \pm 88$	9 %
$\text{Mg}^{2+}$	$38,0 \pm 2,5$	$1044 \pm 64$	97 %	$2,6 \pm 0,6$	$33 \pm 6$	3 %
$\text{Ca}^{2+}$	$13,6 \pm 1,5$	$373 \pm 29$	99 %	$0,4 \pm 0,2$	$4 \pm 2$	1 %

<sup>1</sup> Gehalt bzw. NRA in Blättern oder Feinwurzeln  $\cdot 100 / \sum$  Gehalt bzw. NRA in Blättern und Feinwurzeln

Die Daten zeigen deutlich, daß die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion fast ausschließlich im Sproß erfolgte (zu 92 %). Auch bei der Nährstoffspeicherung hatte der Sproß den größten Anteil.  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  und  $\text{Ca}^{2+}$  wurden zu über 90 % im Blatt gespeichert. Nur bei  $\text{NO}_3^-$  erfolgte die Speicherung zu einem höheren Anteil (22 %) in den Feinwurzeln. Eine ähnliche Verteilung zwischen Wurzel und Sproß wurde auch für reduzierten Stickstoff beobachtet (75% in den Blättern, 25% in den Feinwurzeln). Die Amino-N-Zusammensetzung zwischen Feinwurzeln und Blättern unterschied sich jedoch ([Tab. 3.7](#)). In den Blättern hatte Glutamat den Hauptanteil am Gesamt-N-Gehalt. Der Anteil von Glutamin-N und Asparagin-N betrug 13 % bzw. 14 %. Im Gegensatz dazu lag der Anteil der Amide in den Feinwurzeln bei 77 % (46% Glutamin-N, 31 % Asparagin-N).

	Anteil am Gesamt-Amino-N-Gehalt (%)			
	GLN	ASN	GLU	andere AS
Blätter	13 %	14 %	19 %	46 %
Feinwurzeln	46 %	31 %	5 %	18 %

**Tab. 3.7**

Amino-N-Zusammensetzung von Blättern und Feinwurzeln. Die Amino-N-Gehalte wurden zwischen 10.00 - 16.00 Uhr bestimmt. Angegeben sind Mittelwerte (n = 3).

### 3.6 Zeitabhängige Veränderungen im Nährstofftransport von der Wurzel in den Sproß nach Wechsel der N- und K<sup>+</sup>-Versorgung

Bei nitraternährten Pappeln (1 mM) erfolgte NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Assimilation vorwiegend im Sproß ([Tab. 3.6](#)). Entsprechend dazu lag NO<sub>3</sub><sup>-</sup> in hohen Konzentrationen im Xylemsaft vor ([Abb. 3.14](#)). Hohe NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Konzentrationen im Xylemsaft bedeuten gleichzeitig einen hohen Anteil negativer Ladungsäquivalente im Xylemsaft, der durch andere Ladungsträger (z.B. andere Nährstoffe) ausgeglichen werden muß. Variationen im NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot können daher nicht nur die NO<sub>3</sub><sup>-</sup>- und Gesamt-N-Konzentration im Xylemsaft beeinflussen, sondern auch zu Konzentrationsänderungen der anderen Nährstoffe führen. Umgekehrt kann die Verfügbarkeit der anderen Nährstoffe über den Ladungsausgleich einen Einfluß auf die NO<sub>3</sub><sup>-</sup>- und damit die Gesamt-N-Konzentration ausüben. Der wichtigste Träger positiver Ladung im Xylemsaft ist K<sup>+</sup>. Bei Pappeln machte K<sup>+</sup> 67 ± 6 % (berechnet anhand der Daten aus [Abb. 3.14](#)) der positiven Ladungsäquivalente im Xylemsaft aus. Neben dem Einfluß des NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebots wurde deshalb auch der Einfluß von K<sup>+</sup>-Mangel auf den Langstreckentransport von Nährstoffen untersucht. Einen Überblick über die vorgenommenen Veränderungen im Nährstoffangebot gibt [Tab. 3.8](#). Der Einfluß auf die Nährstoff- und Gesamt-N-Konzentration im Xylemsaft (gewonnen als Wurzeldruckexsudat) wurde in Abhängigkeit von der Zeit untersucht. Als Kontrollen dienten identisch behandelte Pflanzen in Kontroll-NL ([Tab. 3.8](#)). Um qualitative Aussagen zum Nährstofftransport treffen zu können, wurde neben der Nährstoffkonzentration auch die Flußrate im Xylem in Abhängigkeit vom Nährstoffangebot bestimmt. Die Veränderung des Nährstoffangebots erfolgte dabei während einer kontinuierlichen Saftflußmessung. Als Referenz dienten die Meßdaten vor Veränderung des Nährstoffangebots. Die Veränderung der Saftflußraten aufgrund der zunehmenden Pflanzengröße während der Messung wurde bei der Berechnung der Raten berücksichtigt ([3.2.3.1](#)). Alle Versuche wurden unter identischen Klimabedingungen, mit einer Lichtperiode zwischen 6.00 - 22.00 Uhr durchgeführt (s. [2.2](#)).

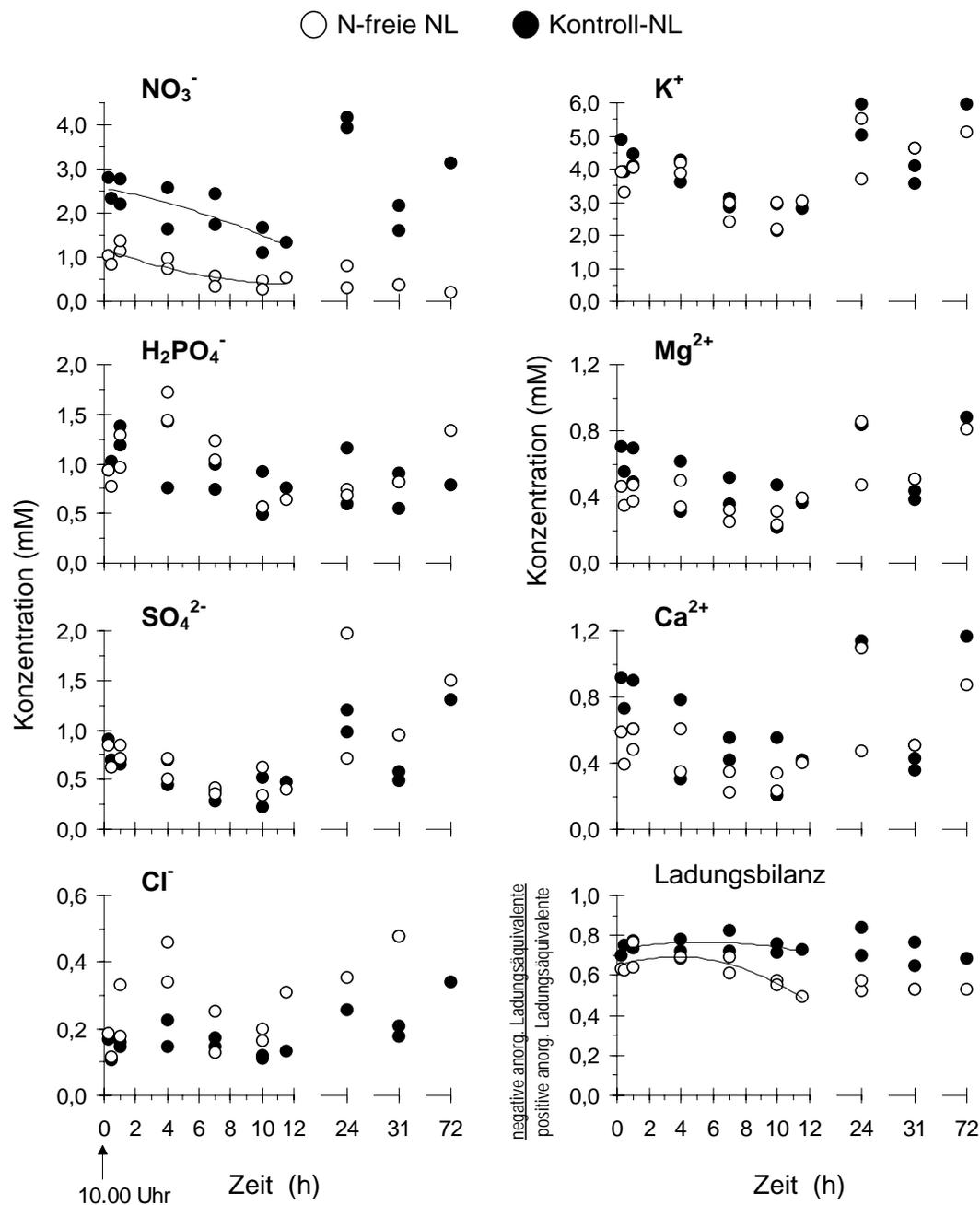
**Tab. 3.8** Vorgenommene Änderungen im Nährstoffangebot und Untersuchungszeitraum bei den Experimenten zu „zeitabhängigen Veränderungen im Nährstofftransport von der Wurzel in den Sproß nach Wechsel der Nährstoffversorgung“. Aufgelistet ist nur die jeweils relevante veränderte Nährstoffkomponente. Mit Ausnahme von  $\text{Cl}^-$  und / oder  $\text{Na}^+$  blieb die Konzentration der anderen Nährstoffe unverändert ([Tab. 2.2](#)).

Experiment	Anzucht der Pappeln in Kontroll-NL	Überführen in NL mit verändertem Nährstoffangebot	Untersuchungszeitraum nach Veränderung des Nährstoffangebots
N-Mangel	N-Quelle: 1 mM $\text{NO}_3^-$	ohne N-Quelle	0,25 h bis 3 d
vermindertes $\text{NO}_3^-$ -Angebot	N-Quelle: 1 mM $\text{NO}_3^-$ N-Quelle: 1 mM $\text{NO}_3^-$	N-Quelle: 0,50 mM $\text{NO}_3^-$ N-Quelle: 0,25 mM $\text{NO}_3^-$	6 d
erhöhtes $\text{NO}_3^-$ -Angebot	N-Quelle: 1 mM $\text{NO}_3^-$	N-Quelle: 8 mM $\text{NO}_3^-$	0,25 h bis 7 d
Wechsel der Quelle	N-Quelle: 1 mM $\text{NO}_3^-$	N-Quelle: 1 mM $\text{NH}_4^+$	0,25 h bis 7 d
$\text{K}^+$ -Mangel	0,45 mM $\text{K}^+$ N-Quelle: 1 mM $\text{NO}_3^-$	0 mM $\text{K}^+$ N-Quelle: 1 mM $\text{NO}_3^-$	1 h bis 11 d

### 3.6.1 $\text{NO}_3^-$ -Mangel

#### 3.6.1.1 Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats bei $\text{NO}_3^-$ -Mangel

Trotz gespeicherter  $\text{NO}_3^-$ -Reserven in den Feinwurzeln (22 % vom Gesamt- $\text{NO}_3^-$  in Blättern und Feinwurzeln, [Tab. 3.6](#)), führte das Entfernen der N-Quelle in Wurzelraum unmittelbar zur Abnahme der  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat (um Faktor 2,5 nach 15 min im Vergleich zu den Kontrollpflanzen, [Abb. 3.30](#)). Die Beladung des Xylems scheint daher eng mit einer kontinuierlichen  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme aus der Nährlösung korreliert zu sein. Mit zunehmender Zeit in N-freier Nährlösung sank die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat weiter ab. Die Abnahme innerhalb der ersten 12 h  $\text{NO}_3^-$ -Mangel ist auf die Oszillation im Tagesgang zurückzuführen ([Abb. 3.14](#)), da parallel dazu auch die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration bei den Kontrollpflanzen sank. Die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration bei N-Mangel-Pflanzen blieb kontinuierlich um Faktor 2,5 unter der  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration der Kontrollpflanzen. Dies bedeutet, daß die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration während der ersten 12 h auf einem geringeren Niveau konstant gehalten wurde. Da die Pflanzen kein  $\text{NO}_3^-$  aufnehmen konnten, mußte dies durch gespeicherte  $\text{NO}_3^-$ -Reserven erfolgen. Auch nach mehreren Tagen in N-freier Nährlösung konnte noch  $\text{NO}_3^-$  im Wurzeldruckexsudat nachgewiesen werden. Der  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt nahm jedoch im Vergleich zu den Kontrollpflanzen kontinuierlich ab. Nach 3 Tagen in N-freiem Medium lag die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration bei 0,1 mM. Dies entsprach einer über 30fachen Verringerung gegenüber der Kontrollpflanze und reflektiert vermutlich die Erschöpfung der  $\text{NO}_3^-$ -Speicher im Wurzelgewebe.

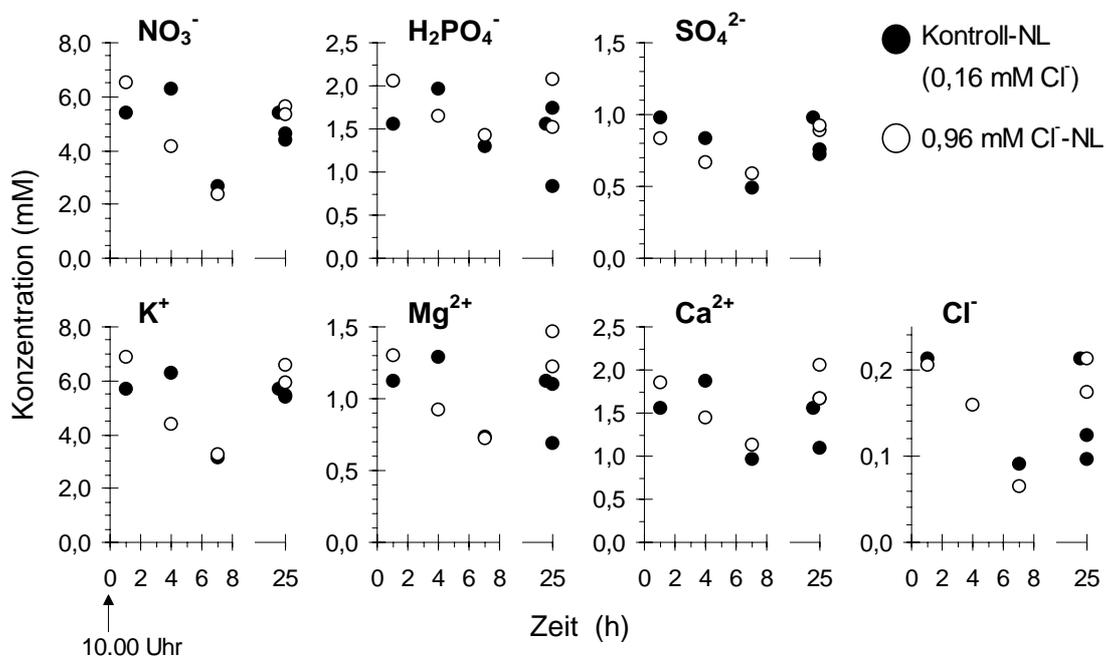


**Abb. 3.30** Einfluß von N-Mangel auf die Konzentration anorganischer Ionen und die Ladungsbilanz im Wurzeldruckexsudat in Abhängigkeit von der Zeit. Die Pflanzen wurden um 10.00 Uhr in N-freie NL überführt und die Ionenkonzentration im Wurzeldruckexsudat zu den angegebenen Zeiten ermittelt. Die Gewinnung von Wurzeldruckexsudat erfolgte zwischen 10 - 20 min nach Dekapitieren, die einzelnen Meßpunkte entsprechen daher einzelnen Pflanzen. Die Ladungsbilanz wurde anhand der ermittelten Konzentrationen der anorganischen Ionen, wie unter [2.14](#) beschrieben, berechnet. Als Referenz wurde zeitgleich die Xylemsaftzusammensetzung von Pflanzen in Kontroll-NL (N-Quelle: 1 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) bestimmt.

Durch das Sinken der NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Konzentration nahm der Anteil negativer Ladungsäquivalente im Xylemsaft ab. Dies wurde jedoch nicht durch Veränderungen der Konzentration anderer anorganischer Ladungsträger kompensiert. N-Mangel hatte keinen signifikanten Einfluß auf die Konzentration der Makronährstoffe im Wurzeldruckexsudat ([Abb. 3.30](#)).

Nur die  $\text{Cl}^-$ -Konzentration stieg an (im Mittel auf 0,28 mM gegenüber 0,18 mM bei den Kontrollen). Die Zunahme der  $\text{Cl}^-$ -Konzentration war jedoch zu gering, um die Funktion von  $\text{NO}_3^-$  als Träger negativer Ladungen vollständig zu übernehmen ([Abb. 3.30](#): Ladungsbilanz). Die Abnahme der  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration wurde nur zu 10 % durch den Anstieg der  $\text{Cl}^-$ -Konzentration kompensiert.

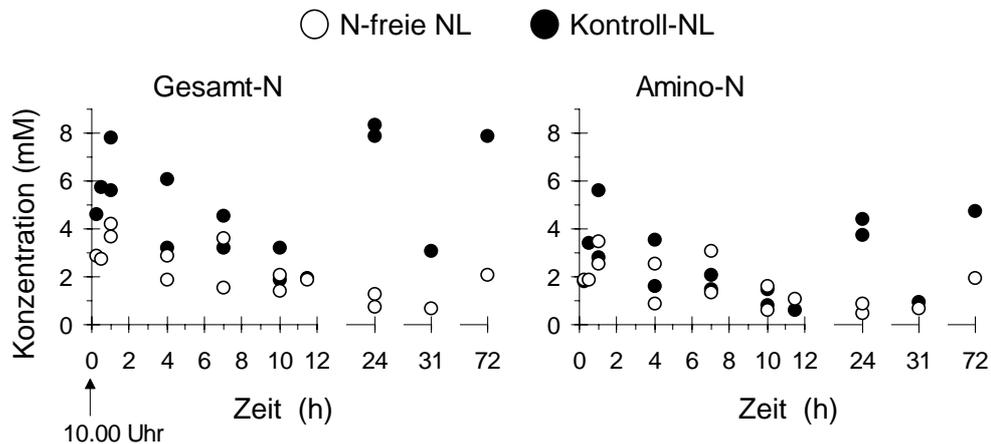
Aus methodischen Gründen war die  $\text{Cl}^-$ -Konzentration in der N-freien NL höher als in der Kontroll-NL (1,16 mM gegenüber 0,16 mM). Trotzdem war der  $\text{Cl}^-$ -Anstieg keine automatische Folge der erhöhten externen Konzentration, sondern diente zum Ausgleich von  $\text{NO}_3^-$ . Dies konnte dadurch gezeigt werden, daß eine Erhöhung der externen  $\text{Cl}^-$ -Konzentration bei unverändertem  $\text{NO}_3^-$ -Angebot keinen Einfluß auf die  $\text{Cl}^-$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat hatte ([Abb. 3.31](#)).



**Abb. 3.31** Einfluß eines erhöhten  $\text{Cl}^-$ -Angebots auf die Konzentration anorganischer Ionen im Wurzeldruckexsudat in Abhängigkeit von der Zeit. Die Pflanzen wurde um 10.00 Uhr in NL mit 0,96 mM  $\text{Cl}^-$  und 1 mM  $\text{NO}_3^-$  überführt und die Ionenkonzentration im Wurzeldruckexsudat zu den angegebenen Zeiten ermittelt. Die Gewinnung von Wurzeldruckexsudat erfolgte zwischen 10 - 20min nach Dekapitieren, die einzelnen Daten entsprechen daher einzelnen Pflanzen. Als Referenz wurde zeitgleich die Xylemsaftzusammensetzung von Pflanzen in Kontroll-NL (0,16 mM  $\text{Cl}^-$ , 1 mM  $\text{NO}_3^-$ ) bestimmt.

N-Mangel führte innerhalb von Minuten zur Abnahme der Gesamt-N-Konzentration ([Abb. 3.32](#)). Innerhalb der ersten 12 h war dies vorwiegend auf die verminderte  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration zurückzuführen ([Abb. 3.31](#)), die Amino-N-Konzentration blieb im Vergleich zu den Kontrollen annähernd konstant ([Abb. 3.32](#)). Nach 24 h wurde auch weniger Amino-N im Xylem transportiert. Betroffen davon waren alle AS, wobei N-Mangel am stärksten die Glutamin-Konzentration herabsetzte. Entsprechend änderte sich die AS-

Zusammensetzung im Wurzeldruckexsudat. Der prozentuale Anteil von Glutamin-N an der Gesamt-Amino-N-Konzentration der Mangel-Pflanzen lag bei  $42 \pm 8 \%$  im Vergleich zu  $51 \pm 8 \%$  bei den Kontrollpflanzen. Die Befunde zeigen deutlich, daß N-Mangel sich unmittelbar auf den N-Status im Xylemsaft auswirkte.

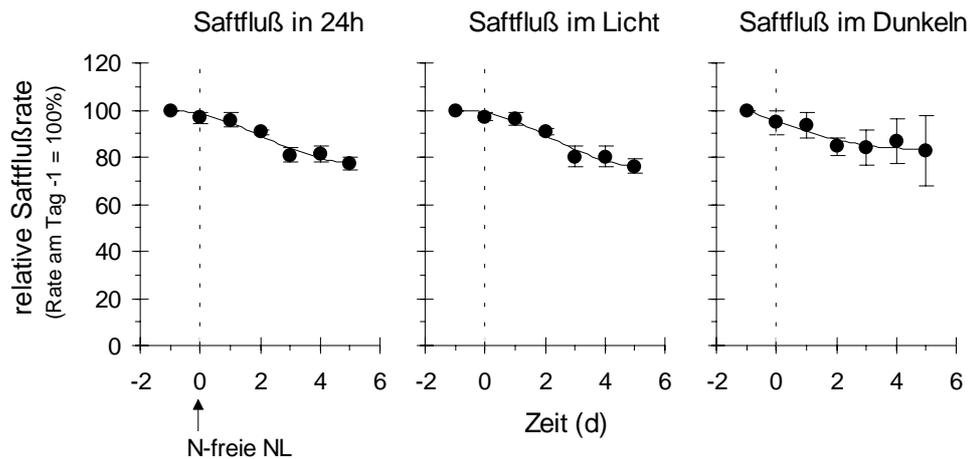


**Abb. 3.32** Einfluß von N-Mangel auf die Konzentration von Amino-N und Gesamtstickstoff im Wurzeldruckexsudat in Abhängigkeit von der Zeit. Die Pflanzen wurde um 10.00 Uhr in N-freie NL überführt und die Konzentration im Wurzeldruckexsudat zu den angegebenen Zeiten ermittelt. Die Gewinnung von Wurzeldruckexsudat erfolgte zwischen 10 - 20 min nach Dekapitieren, die einzelnen Daten entsprechen daher einzelnen Pflanzen. Als Referenz wurde zeitgleich die Xylemsaftzusammensetzung von Pflanzen in Kontroll-NL (N-Quelle:  $1 \text{ mM NO}_3^-$ ) bestimmt.

### 3.6.1.2 in situ Saftflußraten bei $\text{NO}_3^-$ -Mangel

In [Abb. 3.33](#) ist der Einfluß von N-Mangel auf die Saftflußraten im Xylem dargestellt. Angegeben ist die prozentuale Veränderung der Saftflußrate im Vergleich zur Rate in Kontroll-NL mit  $1 \text{ mM NO}_3^-$  (Tag -1: gemessene Saftflußrate = 100 %). N-Mangel führte zur Abnahme des Saftflusses im Xylem. Die Saftflußrate sank mit zunehmender Behandlungsdauer kontinuierlich ab. Schon am ersten Tag war der Saftfluß 3 % geringer als mit N-Versorgung ([Abb. 3.33](#): Saftfluß in 24 h, Saftfluß im Licht). Nach 72 h betrug die Abnahme 19 % am Tag bzw. 20 % in der Lichtphase. Die angegebenen Unterschiede waren signifikant. In der Dunkelphase nahm der Saftfluß innerhalb von 72 h im Mittel um 13 % ab. Aufgrund der stärkeren Streuung zwischen den Einzelmessung war der Unterschied jedoch nicht signifikant.

N-Mangel führt daher auf 2 Wegen zu einem verminderten N-Transport in den Sproß, und zwar (a) über eine geringere Xylembeladung und (b) über eine verminderte Flußrate im Xylem. Gleichzeitig wird auch der Transport anderer Nährstoffe in den Sproß herabgesetzt, da trotz gleichbleibender Konzentration die geringere Saftflußrate zu einer verminderten Transportrate führt.

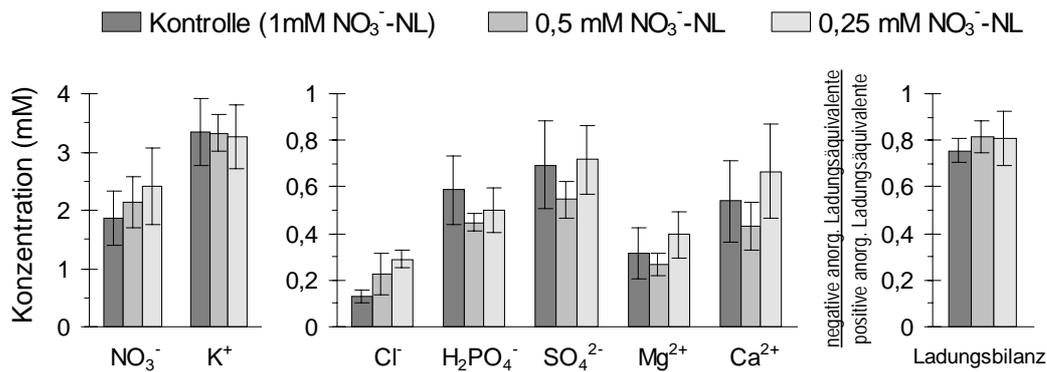


**Abb. 3.33** Einfluß von N-Mangel auf die Saffflußrate im Xylem in Abhängigkeit von der Zeit. Die Saffflußmessung erfolgte mit der „stem heat balance-Methode“. Während der Messung wurden die Pflanzen in N-freie NL überführt (Tag 0) und die mittlere Rate am Tag, in der Lichtphase und in der Dunkelphase berechnet. Die zunehmende Pflanzengröße wurde dabei berücksichtigt (3.2.3.1). Angegeben ist die relative Saffflußrate im Vergleich zur ermittelten Rate in 1 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL (Tag -1: Rate = 100 %). Die Daten entsprechen Mittelwerten  $\pm$  SD (n = 6).

### 3.6.2 Vermindertertes $\text{NO}_3^-$ -Angebot

#### 3.6.2.1 Zusammensetzung des Wurzeldrucksudats bei vermindertem $\text{NO}_3^-$ -Angebot

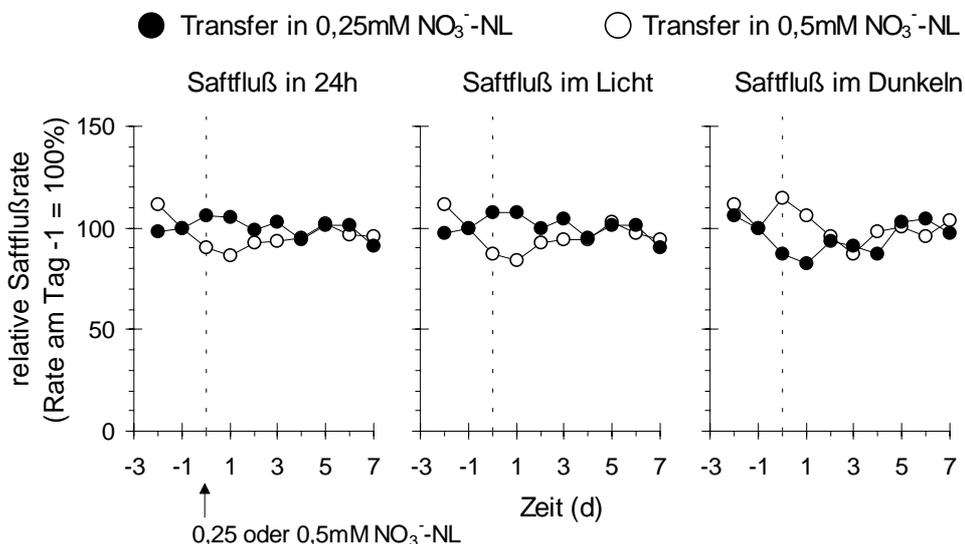
Im Gegensatz zu N-Mangel führte eine Reduzierung des  $\text{NO}_3^-$ -Angebots (von 1 mM auf 0,5 mM bzw. 0,25 mM für 6 d) nicht zur Abnahme der  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Wurzeldrucksudat (Abb. 3.34). Im Gegenteil, die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration stieg sogar tendenziell an (Unterschiede waren jedoch nicht signifikant). Das geringere  $\text{NO}_3^-$ -Angebot hatte auch auf die Konzentration der andern Makronährstoffe keinen signifikanten Einfluß. Entsprechen blieb die Ladungsbilanz im Vergleich zur Kontrolle konstant.



**Abb. 3.34** Einfluß eines verminderten  $\text{NO}_3^-$ -Angebots auf die Konzentration anorganischer Ionen und die Ladungsbilanz im Wurzeldruckexsudat. Die Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats (Sammelintervall: 5 - 10 min nach Dekapitieren) wurde nach 6tägiger Behandlungsdauer um 10.00 und um 15.00 Uhr bestimmt. Die Ladungsbilanz wurde anhand der ermittelten Konzentrationen anorganischer Ionen, wie unter [2.14](#) beschrieben, berechnet. Als Referenz wurde zeitgleich die Xylemsaftzusammensetzung von Pflanzen in Kontroll-NL (N-Quelle: 1 mM  $\text{NO}_3^-$ ) bestimmt. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD (Kontrolle:  $n = 4$ , sonst:  $n = 6$ ).

### 3.6.2.2 in situ Saftflußraten bei vermindertem $\text{NO}_3^-$ -Angebot

Parallel zur Nährstoffkonzentration im Xylemsaft blieb auch die Flußrate im Xylem annähernd konstant ([Abb. 3.35](#)).



**Abb. 3.35** Einfluß eines verminderten  $\text{NO}_3^-$ -Angebots auf die Saftflußrate im Xylem in Abhängigkeit von der Zeit. Die Saftflußmessung erfolgte mit der „stem heat balance-Methode“. Während der Messung wurden die Pflanzen in NL mit 0,5 mM bzw. 0,25 mM  $\text{NO}_3^-$  überführt (Tag 0) und die mittlere Rate am Tag, in der Lichtphase und in der Dunkelpphase berechnet. Die zunehmende Pflanzengröße wurde dabei berücksichtigt ([3.2.3.1](#)). Angegeben ist die relative Saftflußrate im Vergleich zur ermittelten Rate in 1 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL (Tag -1: Rate = 100 %). Jede Datenreihe entspricht einer Einzelmessung.

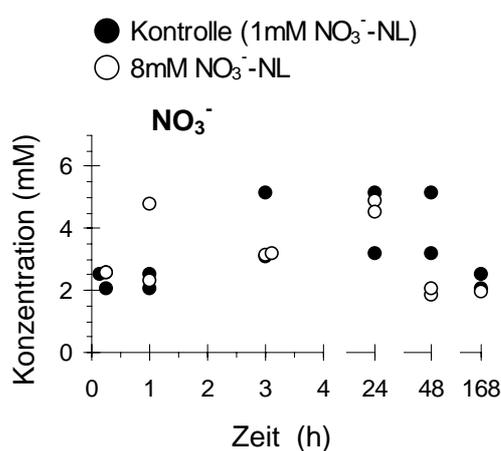
Zu Beginn der Behandlung traten zwar Schwankungen auf, nach 6 d (Behandlungsdauer bei dem Experiment zur Xylemsaftzusammensetzung) entsprach die Flußrate jedoch genau der Rate in 1 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL (Tag -1). Das verminderte  $\text{NO}_3^-$ -Angebot hatte weder Auswirkungen auf die Zusammensetzung noch auf die Flußrate des Xylemsaftes und führte daher nicht zu Veränderungen im Nährstofftransport in den Sproß. Offensichtlich kann schon bei einer externen  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration von 0,25 mM der N-Bedarf der Pappeeln vollständig gedeckt werden.

### 3.6.3 Erhöhtes $\text{NO}_3^-$ -Angebot

Eine 50%ige bzw. 25%ige Verminderung des externen  $\text{NO}_3^-$ -Angebots von 1 mM hatte keinen Einfluß auf die Nährstofftransportraten im Xylem. Zur Gegenprobe wurde der Versuch bei 8facher Erhöhung des  $\text{NO}_3^-$ -Angebots wiederholt.

#### 3.6.3.1 Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats bei erhöhtem $\text{NO}_3^-$ -Angebot

Die Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats wurde in Abhängigkeit von der Behandlungsdauer bestimmt. Um tageszeitabhängige Variationen auszuschließen, erfolgte die Probenahme immer um 15.00 Uhr. Im Vergleich zu den Kontrollen blieb die Nährstoffkonzentration unabhängig von der Behandlungsdauer konstant (am Beispiel von  $\text{NO}_3^-$  in [Abb. 3.36](#) gezeigt).

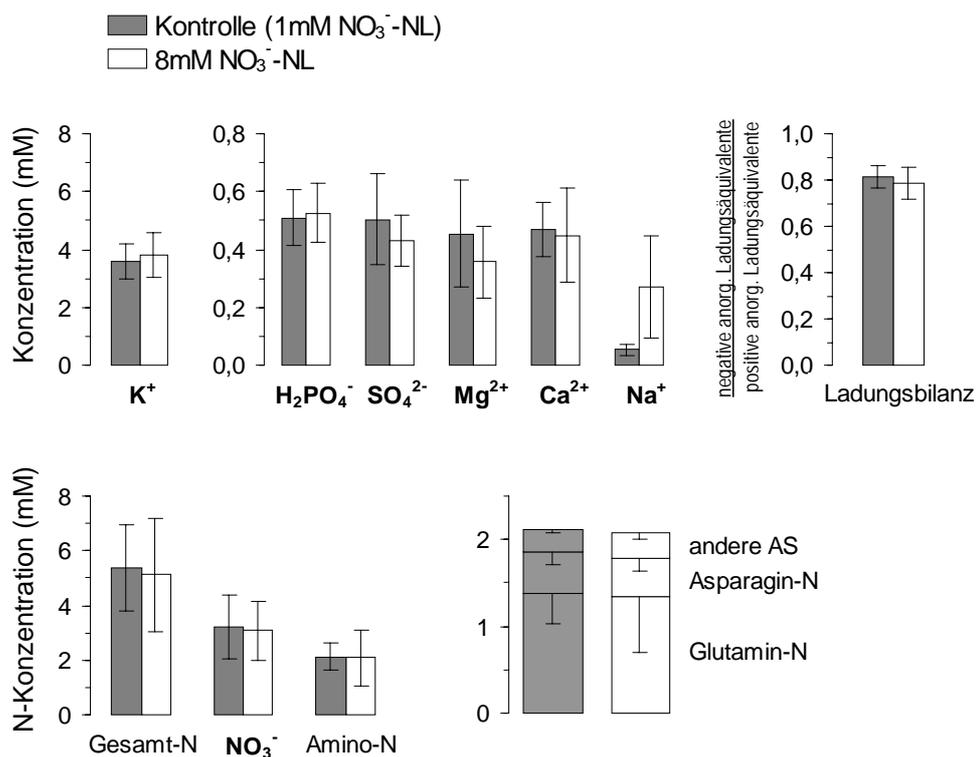


**Abb. 3.36**  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat nach 8facher Erhöhung des  $\text{NO}_3^-$ -Angebots in Abhängigkeit von der Zeit. Die Gewinnung des Wurzeldruckexsudats erfolgte immer um 15.00 Uhr, nach angegebener Behandlungsdauer (Sammelintervall: 10 - 15 min nach Dekapitieren). Die einzelnen Datenpunkte entsprechen einzelnen Pflanzen. Als Kontrolle dienten identisch behandelte Pflanzen in Kontroll-NL mit 1 mM  $\text{NO}_3^-$ .

Die gemessenen Konzentrationen wurden daher über die gesamte Behandlungsdauer gemittelt ([Abb. 3.37](#)). Die 8fache Erhöhung des  $\text{NO}_3^-$ -Angebots im Wurzelraum hatte weder kurz- noch langfristig signifikante Auswirkungen auf die Konzentration von  $\text{NO}_3^-$  und anderen Makronährstoffen im Wurzeldruckexsudat (Meßzeitraum: 0,25 - 168 h). Aus methodischen Gründen war die  $\text{Na}^+$ -Konzentration in der 8 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL höher als bei den Kontrollen (7,3 mM gegenüber 0,3 mM). Dies führte zu einer signifikanten Zunahme der

$\text{Na}^+$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat ([Abb. 3.37](#)). Gegenüber den Konzentrationen der anderen Ionen war die  $\text{Na}^+$ -Konzentration jedoch gering, so daß die Ladungsbilanz unverändert blieb.

Bei einer externen  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration von 1 mM erfolgte die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion zu 92 % in den Blättern (Tab. 3.6). Denkbar wäre, daß ein erhöhtes Angebot zu einer gesteigerten  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion in der Wurzel führt und daß Stickstoff dann verstärkt in reduzierter Form in den Sproß transportiert wird. Diese Möglichkeit konnte jedoch ausgeschlossen werden, da die Amino-N-Konzentration und damit die Gesamt-N-Konzentration im Wurzeldruckexsudat nach 8facher Erhöhung des  $\text{NO}_3^-$ -Angebots konstant blieb ([Abb. 3.37](#)). Auch die AS-Zusammensetzung im Xylemsaft blieb unverändert (Kontrolle:  $64 \pm 4\%$  GLN,  $23 \pm 5\%$  ASN,  $13 \pm 2\%$  andere AS - 8 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL:  $63 \pm 7\%$  GLN,  $22 \pm 4\%$  ASN,  $15 \pm 4\%$  andere AS).



**Abb. 3.37** Einfluß eines erhöhten  $\text{NO}_3^-$ -Angebots auf die Konzentration anorganischer Ionen, AS und die Ladungsbilanz im Wurzeldruckexsudat. Die Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats (Sammelintervall: 10 - 15 min nach Dekapitieren) wurde immer um 15.00 Uhr nach einer Behandlungsdauer zwischen 0,25-168h bestimmt. Die Ladungsbilanz wurde anhand der ermittelten Konzentrationen der anorganischen Ionen, wie unter [2.14](#) beschrieben, berechnet. Als Referenz wurde zeitgleich die Xylemsaftzusammensetzung von Pflanzen in Kontroll-NL (N-Quelle: 1 mM  $\text{NO}_3^-$ ) bestimmt. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD (Kontrolle: n = 4, 8 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL n = 12).

Die Xylemsaftzusammensetzung in [Abb. 3.37](#) wurde um 15.00 Uhr ermittelt. Die höchsten Ionenkonzentrationen im Xylemsaft werden jedoch am Vormittag (ca. 10.00 Uhr) erreicht (vergl. [Abb. 3.14](#)). Es wäre deshalb möglich, daß bei erhöhtem  $\text{NO}_3^-$ -Angebot nur zu Beginn der Lichtphase ein verstärkter  $\text{NO}_3^-$ -Transport in den Sproß erfolgt. Diese Hypothese konnte jedoch ausgeschlossen werden, da auch um 10.00 Uhr keine Veränderung der Ionenkonzentrationen im Wurzeldruckexsudat nach Erhöhung des  $\text{NO}_3^-$ -Angebots zu beobachten war (die Daten entsprechen denen in [Abb. 3.37](#) und werden daher nicht gezeigt).

Außerdem wäre es denkbar, daß eine höhere  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft nicht eingestellt werden kann, da positive Ladungsäquivalente zum Ladungsausgleich fehlen. Um dies zu prüfen, wurde gleichzeitig das  $\text{NO}_3^-$ - und das  $\text{K}^+$ -Angebot auf 8 mM erhöht ([Tab. 3.9](#)). Die  $\text{K}^+$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat stieg dabei um 58 % an, die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration blieb jedoch im Vergleich zur Kontrolle (1 mM  $\text{NO}_3^-$ , 0,45 mM  $\text{K}^+$ -NL) konstant. Auch wenn nur das  $\text{K}^+$ -Angebot auf 8 mM erhöht wurde, führte dies zu einer ähnlichen Zunahme der  $\text{K}^+$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat (um 41 %), die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration blieb jedoch wieder unverändert. Die konstante  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration bei erhöhtem  $\text{NO}_3^-$ -Angebot ist daher keine Folge einer zu geringen Verfügbarkeit positiver Ladungsäquivalente. Dieser Versuch zeigt aber auch, daß die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration nicht automatisch mit Zunahme positiver Ladungsäquivalente im Xylemsaft ansteigt. Offensichtlich wird der  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt im Xylem reguliert.

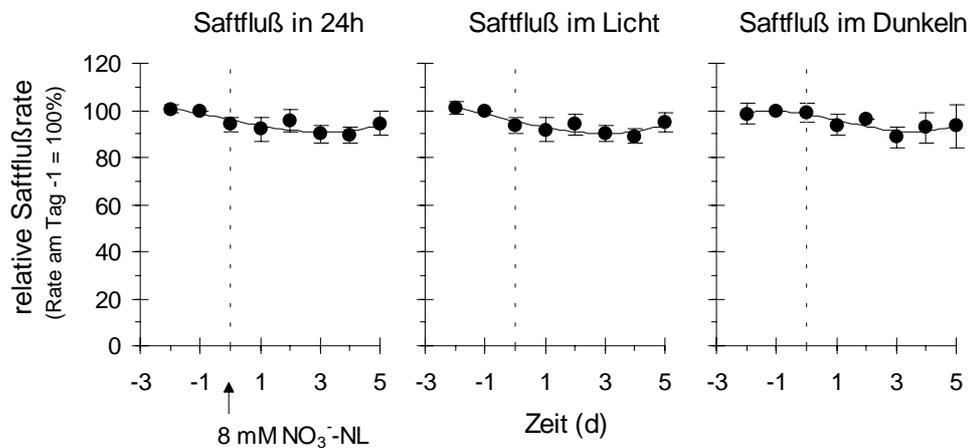
**Tab. 3.9**  $\text{NO}_3^-$ - und  $\text{K}^+$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat bei unterschiedlichem Angebot. Die  $\text{K}^+$  und  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat (Sammelintervall: 5 - 10 min nach Dekapitieren) wurde nach 7tägiger Behandlungsdauer jeweils um 16.30 Uhr bestimmt. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD (n = 4).

$\text{NO}_3^-$ / $\text{K}^+$ -Angebot in der NL	Konzentration im Wurzeldruckexsudat (mM)	
	$\text{NO}_3^-$	$\text{K}^+$
Kontrolle (1 mM $\text{NO}_3^-$ / 0,45 mM $\text{K}^+$ )	3,29 $\pm$ 0,40	4,18 $\pm$ 0,39
1 mM $\text{NO}_3^-$ / 8 mM $\text{K}^+$	3,26 $\pm$ 0,31	5,89 $\pm$ 0,52
8 mM $\text{NO}_3^-$ / 8 mM $\text{K}^+$	3,29 $\pm$ 0,68	6,62 $\pm$ 0,57

### 3.6.3.2 in situ Saftflußraten bei erhöhtem $\text{NO}_3^-$ -Angebot

Ein erhöhtes  $\text{NO}_3^-$ -Angebot könnte trotz gleichbleibender N-Konzentration in Xylemsaft zu einem gesteigertem N-Transport in den Sproß führen, wenn die Flußrate im Xylem ansteigt. Dies war jedoch nicht der Fall ([Abb. 3.38](#)). Die Saftflußrate blieb im Vergleich zur Rate in 1 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL konstant (Behandlungsdauer: 5 d). Ein erhöhtes Angebot bewirkt

daher keinen gesteigerten N-Transport in den Sproß. Auch die Transportraten der anderen Makronährstoffe blieben davon unbeeinflusst.

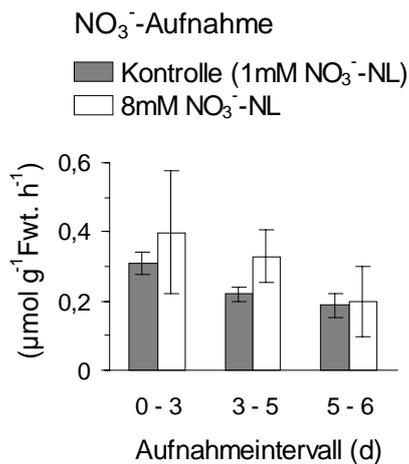


**Abb. 3.38** Einfluß eines erhöhten  $\text{NO}_3^-$ -Angebots auf die Safflußrate im Xylem in Abhängigkeit von der Zeit. Die Safflußmessung erfolgte mit der „stem heat balance-Methode“. Während der Messung wurden die Pflanzen in 8 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL überführt (Tag 0) und die mittlere Rate am Tag, in der Lichtphase und in der Dunkelphase berechnet. Die zunehmende Pflanzengröße wurde dabei berücksichtigt (3.2.3.1). Angegeben ist die relative Safflußrate im Vergleich zur ermittelten Rate in 1 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL (Tag -1: Rate = 100 %). Die Daten entsprechen Mittelwerten  $\pm$  SD (n = 4).

Aufgrund der Daten ist davon auszugehen, daß bei einer externen  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration von 1 mM und darunter (0,25 mM s. 3.6.2) der  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf für optimales Pflanzenwachstum vollständig gedeckt war und ein darüber hinaus erhöhtes  $\text{NO}_3^-$ -Angebot deshalb nicht zu einem gesteigerten N-Transport in den Sproß führte. Dies setzt voraus, daß der N-Transport im Xylem bedarfsreguliert ist (auf Ebene der Xylembeladung und/oder über die Aufnahme). Um die Daten abzusichern, wurden die Nährstoffgehalte im Sproß und in der Wurzel sowie die Aufnahmerate bei erhöhtem  $\text{NO}_3^-$ -Angebot bestimmt.

### 3.6.3.3 $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme bei erhöhtem $\text{NO}_3^-$ -Angebot

Nach 8facher Erhöhung des  $\text{NO}_3^-$ -Angebots konnten keine signifikanten Änderungen der Aufnahmeraten gegenüber Kontrollpflanzen in 1 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL beobachtet werden (Abb. 3.39). Dies entspricht den Ergebnissen zum N-Transport im Xylem. Da die Aufnahmerate und die Transportrate bei erhöhten  $\text{NO}_3^-$ -Angebot konstant blieb, müßte auch der  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt in der Wurzel und im Sproß unverändert sein.

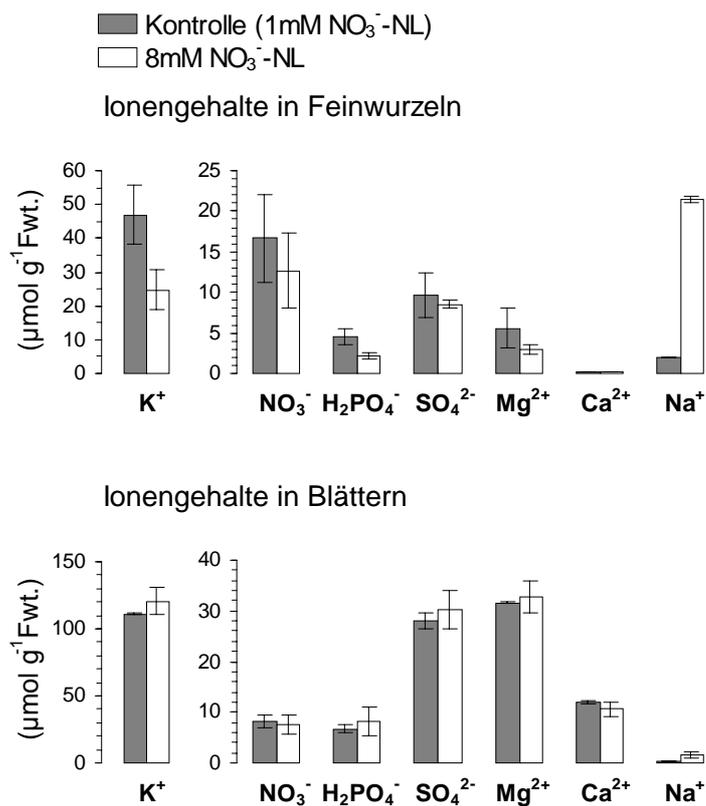


**Abb. 3.39** NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Aufnahme nach Erhöhung des NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebots in Abhängigkeit von der Zeit. Am Tag 0 wurden die Pflanzen von 1 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup> in 8 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-NL überführt und die Aufnahme in den angegebenen Meßintervallen über 6 d ermittelt. Als Kontrolle dienten identisch behandelte Pflanzen in 1 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-NL. Angegeben sind Mittelwerte ± SD (Kontrolle: n = 2, 8 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-NL n = 5).

### 3.6.3.4 Nährstoffgehalte in Blättern und Feinwurzeln bei erhöhtem NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot

Der Befund, daß ein erhöhtes NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot keinen Einfluß auf die Nährstofftransportraten von der Wurzel in den Sproß hat, wurde durch die ermittelten Nährstoffgehalte im Sproß bestätigt. Der NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Gehalt und die Gehalte der anderen Makronährstoffe blieben in den Blättern unabhängig von NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot konstant ([Abb. 3.40](#)). Bei erhöhtem NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot stieg die Na<sup>+</sup>-Konzentration im Xylemsaft an ([Abb. 3.37](#)), entsprechend nahm der Na<sup>+</sup>-Gehalt in den Blättern zu (von 0,4 auf 1,6 µmol g<sup>-1</sup> Fwt.Blätter).

Auch in den Feinwurzeln konnte nach erhöhtem NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot keine signifikante Änderung des NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Gehalts beobachtet werden ([Abb. 3.40](#)). Dieser Befund korreliert mit den Daten zur NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Aufnahme und zum NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Transport in den Sproß. Mit Ausnahme von K<sup>+</sup> und Na<sup>+</sup> blieb auch der Gehalt anderer Makronährstoffe in den Feinwurzeln annähernd konstant. Ursache für die Abnahme des K<sup>+</sup>-Gehalts in den Feinwurzeln könnte der Anstieg des Na<sup>+</sup>-Gehalts sein. Die Na<sup>+</sup>-Konzentration in der 8 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-NL war aus methodischen Gründen 24fach höher als in der Kontroll-NL (7,3 mM gegenüber 0,3 mM). Die externe Na<sup>+</sup>-Konzentration war in der 8 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-NL damit 16 mal höher als die externe K<sup>+</sup>-Konzentration (7,3 mM gegenüber 0,45 mM) und könnte durch Konkurrenz am Aufnahmesystem zu einer verminderten K<sup>+</sup>-Aufnahme geführt haben. Ein Indiz dafür ist, daß die K<sup>+</sup>-Abnahme und die Na<sup>+</sup>-Zunahme in den Feinwurzeln äquimolar waren (K<sup>+</sup>-Abnahme: 22 µmol g<sup>-1</sup> Fwt.Feinwurzeln - Na<sup>+</sup>-Zunahme: 20 µmol g<sup>-1</sup> Fwt.Feinwurzeln). Die möglicherweise reduzierte K<sup>+</sup>-Aufnahme hatte im Untersuchungszeitraum (0,25 h - 7 d) jedoch keine Auswirkungen auf die K<sup>+</sup>-Konzentration im Xylemsaft ([Abb. 3.37](#)).



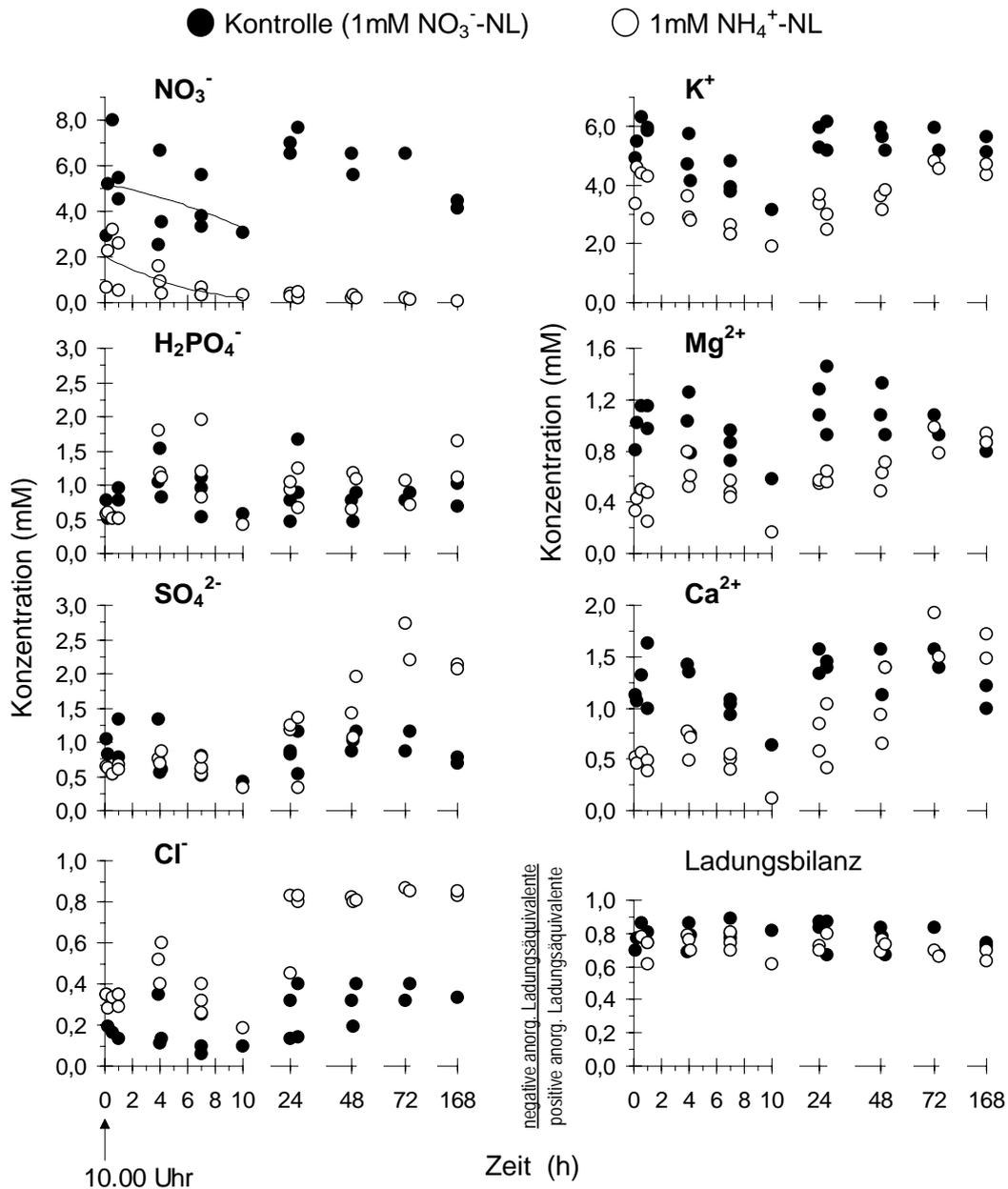
**Abb. 3.40** Einfluß des erhöhten NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebots auf die Nährstoffgehalte im Blatt und in den Feinwurzeln. Die Gehalte wurden nach 7tägiger Inkubation in 8 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-NL bestimmt. Für die Blätter ist der mittlere Gehalt in verschiedenen Blattalterstadien angegeben (untersucht wurde jedes 5. Blatt). Als Kontrolle dienten identisch behandelte Pflanzen in 1 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-NL. Mittelwerten ± SD (n = 2).

### 3.6.4 Wechsel der N-Quelle

Bei nitraternährten Pappeln wurde Stickstoff überwiegend in Form von NO<sub>3</sub><sup>-</sup> in den Sproß transportiert (zu 50-60%) und die N-Assimilation erfolgte zu 92% in den Blättern ([Tab. 3.6](#)). Bei Ammoniumernährung muß die N-Assimilation dagegen ausschließlich in den Wurzeln erfolgen, da NH<sub>4</sub><sup>+</sup> nicht bzw. nur in zu vernachlässigender Menge im Xylem in den Sproß transportiert wird (Geßler et al. 1998, Zornoza et al. 1996, van Beusichem et al. 1988). Der N-Transport in den Sproß erfolgt dann in Form von reduzierten N-Verbindungen (AS). Bei den meisten Pflanzen hauptsächlich in Form von Amidien (Glutamin und Asparagin), die beim pH-Milieu im Xylemsaft ungeladen sind. Auch bei nitraternährten Pappeln lag der Anteil der Amide an der Gesamt-Amino-N-Konzentration im Xylemsaft bei 87% (64% GLN, 23% ASN, s. 3.6.3.1). Eine Umstellung der N-Quelle führt daher zu einer Imbalance zwischen negativen und positiven Ladungsäquivalenten im Xylemsaft und sollte deshalb auch einen starken Einfluß auf die Nährstoffkonzentrationen haben. Gleichzeitig können deutliche Verschiebungen beim N-Transport erwartet werden. Diese Aspekte wurden in Abhängigkeit von der Zeit nach Wechsel der N-Quelle (von 1 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup> zu 1 mM NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) untersucht.

## 3.6.4.1 Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats nach Wechsel der N-Quelle

Genauso wie bei N-Mangel nahm die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat unmittelbar nach Überföhren in  $\text{NH}_4^+$ -Nährlösung ab ([Abb. 3.41](#)).



**Abb. 3.41** Konzentration anorganischer Ionen und Ladungsbilanz im Wurzeldruckexsudat in Abhängigkeit von der Zeit nach Wechsel der N-Quelle von  $\text{NO}_3^-$  zu  $\text{NH}_4^+$ . Die Pflanzen wurden um 10.00 Uhr in 1 mM  $\text{NH}_4^+$ -NL überföhrt und die Ionenkonzentration im Wurzeldruckexsudat zu den angegebenen Zeiten ermittelt. Die Gewinnung von Wurzeldruckexsudat erfolgte zwischen 10 - 20 min nach Dekapitieren, die einzelnen Datenpunkte entsprechen daher einzelnen Pflanzen. Die Ladungsbilanz wurde anhand der ermittelten Konzentrationen der anorganischen Ionen, wie unter [2.14](#) beschrieben, berechnet. Als Referenz wurde zeitgleich die Xylemsaftzusammensetzung von Pflanzen in Kontroll-NL (N-Quelle: 1 mM  $\text{NO}_3^-$ ) bestimmt.

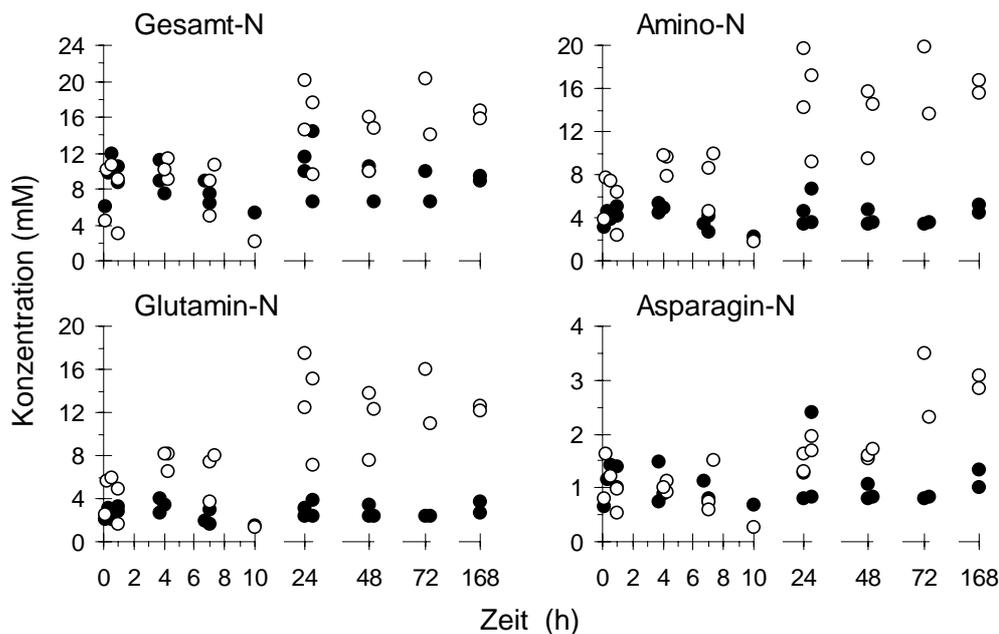
Mit der Abnahme der  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration sank auch die Konzentration der anorganischen Kationen ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) im Vergleich zu den Kontrollen über einen Zeitraum von 0,25 - 10 h (Die Konzentrationsabnahme bei den Kontrollen reflektiert tageszeitbedingte Variationen s. Legende Abb. 3.41). Über einen längeren Meßzeitraum (bis 168 h) zeigte sich jedoch, daß die Konzentration der Kationen im Wurzeldruckexsudat mit zunehmender Zeit in  $\text{NH}_4^+$ -Nährlösung wieder anstieg und nach 3 Tagen ähnliche Werte wie bei den Kontrollpflanzen in  $\text{NO}_3^-$ -Nährlösung erreicht wurden. Während die Umstellung auf  $\text{NH}_4^+$  keinen Einfluß auf die  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ -Konzentration hatte, konnte nach 24 h ein Anstieg der  $\text{SO}_4^{2-}$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat beobachtet werden. Auch die  $\text{Cl}^-$ -Konzentration stieg bei  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung an. Beide Effekte (Abnahme der Konzentration positiver anorganischer Ladungsträger, Zunahme der Konzentration negativer anorganischer Ladungsträger) trugen zur vollständigen Ladungskompensation der geringeren  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration bei (Abb. 3.41: Ladungsbilanz). Dies wird deutlicher, wenn man den prozentualen Anteil der anorganischen Anionen am Ausgleich positiver Ladungsäquivalente (anorganischer Kationen) im Xylemsaft berechnet (Tab. 3.10). Der Anteil war unabhängig von der N-Quelle gleich und über den gesamten Versuchszeitraum konstant. Anders als bei N-Mangel wird die geringere  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration bzw. der geringere Anteil negativer Ladungsäquivalente im Xylemsaft bei  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung ausschließlich über anorganische Ionen kompensiert. Kurzfristig vorwiegend durch die Abnahme der Kationenkonzentration, langfristig wurde die Funktion von  $\text{NO}_3^-$  als Träger negativer Ladung im Xylemsaft hauptsächlich durch  $\text{SO}_4^{2-}$  übernommen (Tab. 3.10).

**Tab. 3.10** Prozentualer Anteil der anorganischen Anionen am Ausgleich positiver Ladungsäquivalente im Wurzeldruckexsudat abhängig von der N-Quelle. Die Berechnung (s. Fußnote<sup>1</sup>) erfolgte anhand der in Abb. 3.41 gezeigten Konzentration anorganischer Ionen im Wurzeldruckexsudat bei  $\text{NH}_4^+$ - und  $\text{NO}_3^-$ -Ernährung. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD (Kontrolle:  $n = 23$ , 1 mM  $\text{NH}_4^+$  für 0,25 - 168 h:  $n = 23$ , 1 mM  $\text{NH}_4^+$  für 48 - 168 h:  $n = 7$ ). Signifikante Unterschiede in Vergleich zur Kontrolle sind markiert (\*).

	N-Quelle und Untersuchungszeitraum		
	Kontrolle (1 mM $\text{NO}_3^-$ )	1 mM $\text{NH}_4^+$ (0,25 - 168 h)	1 mM $\text{NH}_4^+$ (48 - 168 h)
	<sup>1</sup> Anteil am Ausgleich positiver Ladungsäquivalente		
$\text{NO}_3^-$	53 $\pm$ 11 %	*12 $\pm$ 13 %	*2 $\pm$ 2 %
$\text{H}_2\text{PO}_4^-$	9 $\pm$ 3 %	16 $\pm$ 8 %	13 $\pm$ 4 %
$\text{SO}_4^{2-}$	17 $\pm$ 5 %	*33 $\pm$ 11 %	*45 $\pm$ 4 %
$\text{Cl}^-$	2 $\pm$ 1 %	*9 $\pm$ 3 %	*10 $\pm$ 2 %
$\Sigma$ negative anorg. Ladungsäquivalente	80 $\pm$ 6 %	72 $\pm$ 6 %	70 $\pm$ 4 %

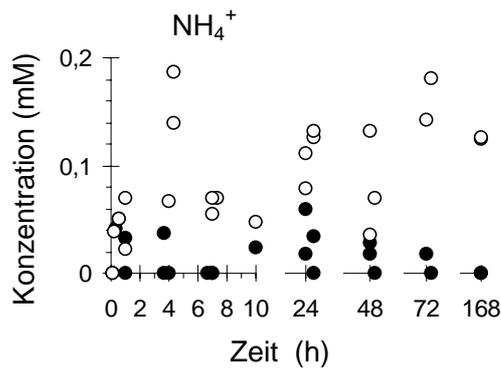
<sup>1</sup> %-Anteil am Ausgleich positiver Ladungsäquivalente  
= Ladung der anorganischen Anionen /  $\Sigma$  Ladung aller anorganischen Kationen • 100

Trotz sinkender  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration nach Umstellung auf  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung wurde der Gesamt-N-Gehalt (anorganischer N + Amino-N) im Wurzeldrucksudat aufrechterhalten ([Abb. 3.42](#): 0,25 - 10 h). Die schnelle Abnahme von  $\text{NO}_3^-$ -N wurde durch einen äquimolaren Anstieg von Glutamin-N ausgeglichen ([Abb. 3.42](#)). Eine Zunahme der Konzentration anderer AS (in [Abb. 3.42](#) am Beispiel von ASN-N gezeigt) konnte erst 24 h nach Wechsel der N-Quelle beobachtet werden. Die Gesamt-N-Konzentration  $\text{NH}_4^+$ -ernährter Pflanzen lag dann höher als bei  $\text{NO}_3^-$ -ernährten Kontrollpflanzen.



**Abb. 3.42** Konzentration von N-Verbindungen im Wurzeldrucksudat in Abhängigkeit von der Zeit nach Wechsel der N-Quelle von  $\text{NO}_3^-$  zu  $\text{NH}_4^+$ . Die Pflanzen wurde um 10.00 Uhr in 1 mM  $\text{NH}_4^+$ -NL überführt und die Konzentration im Wurzeldrucksudat zu den angegebenen Zeiten ermittelt. Die Gewinnung von Wurzeldrucksudat erfolgte zwischen 10 - 20 min nach Dekapitieren, die einzelnen Datenpunkte entsprechen daher einzelnen Pflanzen. Als Referenz wurde zeitgleich die Xylemsaftzusammensetzung von Pflanzen in Kontroll-NL (N-Quelle: 1 mM  $\text{NO}_3^-$ ) bestimmt.

$\text{NH}_4^+$  hatte bei Pappeln keine Funktion als N-Transportform im Xylemsaft. Die  $\text{NH}_4^+$ -Konzentration im Wurzeldrucksudat stieg bei  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung zwar an ([Abb. 3.43](#)), der Anteil an der Gesamt N-Konzentration blieb jedoch < 1 % ([Tab. 3.11](#)).



**Abb. 3.43**  $\text{NH}_4^+$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat in Abhängigkeit von der Zeit nach Wechsel der N-Quelle von  $\text{NO}_3^-$  zu  $\text{NH}_4^+$ . Die Pflanzen wurden um 10.00 Uhr in 1 mM  $\text{NH}_4^+$ -NL überführt und die Konzentration im Wurzeldruckexsudat zu den angegebenen Zeiten ermittelt. Die Gewinnung von Wurzeldruckexsudat erfolgte zwischen 10 - 20 min nach Dekapitieren, die einzelnen Datenpunkte entsprechen daher einzelnen Pflanzen. Als Referenz wurde zeitgleich die Xylemsaftzusammensetzung von Pflanzen in Kontroll-NL (N-Quelle: 1 mM  $\text{NO}_3^-$ ) bestimmt.

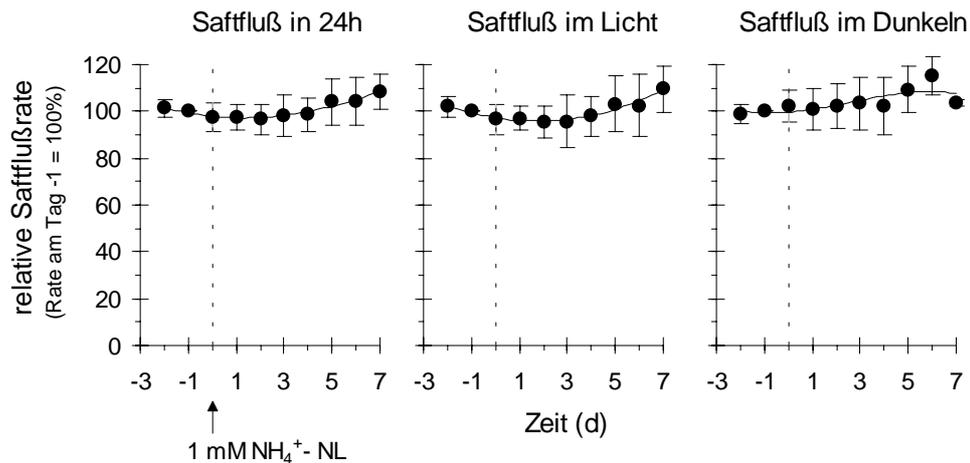
**Tab. 3.11** Vergleich der N-Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats bei  $\text{NO}_3^-$ - und  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung. Angegeben ist die prozentuale N-Zusammensetzung nach 72 - 168 h in 1 mM  $\text{NH}_4^+$ -NL. Als Kontrolle dienen identisch behandelte Pflanzen in 1 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL. Die Werte entsprechen Mittelwerte  $\pm$  SD ( $n = 4$ ). Zum Versuchsablauf s. [Abb. 3.41](#).

N-Verbindung	Kontrolle		1 mM $\text{NH}_4^+$ (Behandlungsdauer: 72 - 168 h)	
	% von Gesamt-N	% von Amino-N	% von Gesamt-N	% von Amino-N
$\text{NO}_3^-$	51,6 $\pm$ 8,3		0,5 $\pm$ 0,5	
$\text{NH}_4^+$	0,2 $\pm$ 0,2		0,9 $\pm$ 0,2	
Amino-N	48,2 $\pm$ 8,4		98,6 $\pm$ 0,7	
GLN-N	32,7 $\pm$ 6,1	67,8 $\pm$ 1,3	77,3 $\pm$ 1,5	78,4 $\pm$ 1,9
ASN-N	11,6 $\pm$ 2,6	24,1 $\pm$ 4,1	17,5 $\pm$ 0,7	17,8 $\pm$ 0,6
andere AS	3,9 $\pm$ 1,1	8,1 $\pm$ 1,0	3,8 $\pm$ 1,4	3,8 $\pm$ 1,4

Nach 72 h in  $\text{NH}_4^+$ -NL waren die Pflanzen an die veränderte N-Versorgung adaptiert, die Konzentrationen der verschiedenen Nährstoffe und Amino-N-Verbindungen blieben ab diesem Zeitpunkt annähernd konstant. Wie erwartet, erfolgte der N-Transport in den Sproß ausschließlich (zu 99 %) in Form von Amino-N ([Tab. 3.11](#)). Bei  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung erfolgt die N-Assimilation ausschließlich in der Wurzel. Entsprechend dazu stieg der relative Anteil von Glutamin (primäres Produkt der N-Assimilation) an der Gesamt-Amino-N-Konzentration im Wurzeldruckexsudat signifikant an (78 % bei  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung in Vergleich zu 68 % bei  $\text{NO}_3^-$ -Ernährung).

#### 3.6.4.2 in situ Saftflußraten nach Wechsel der N-Quelle

$\text{NH}_4^+$ -Ernährung führte innerhalb von 72 h zu einer Verdopplung der N-Konzentration im Xylemsaft (16,7  $\pm$  2,3 mM gegenüber 8,7  $\pm$  1,3 mM bei  $\text{NO}_3^-$ -Ernährung). Ob dies tatsächlich zu einer verdoppelten Translokationsrate in den Sproß führte, wurde durch Saftflußmessungen überprüft ([Abb. 3.44](#)).



**Abb. 3.44** Saffflußrate im Xylem nach Wechsel der N-Quelle von  $\text{NO}_3^-$  zu  $\text{NH}_4^+$  in Abhängigkeit von der Zeit. Die Saffflußmessung erfolgte mit der „stem heat balance-Methode“. Während der Messung wurden die Pflanzen in  $1 \text{ mM NH}_4^+$ -NL überführt (Tag 0) und die mittlere Rate am Tag, in der Lichtphase und in der Dunkelphase berechnet. Die zunehmende Pflanzengröße wurde dabei berücksichtigt (3.2.3.1). Angegeben ist die relative Saffflußrate im Vergleich zur ermittelten Rate in  $1 \text{ mM NO}_3^-$ -NL (Tag -1: Rate = 100 %). Die Daten entsprechen Mittelwerten  $\pm$  SD ( $n = 9$ ).

Der Wechsel der N-Quelle von  $1 \text{ mM NO}_3^-$  zu  $1 \text{ mM NH}_4^+$  hatte im Meßzeitraum (7 d) keinen signifikanten Einfluß auf die Flußraten im Xylem. Entsprechend verdoppelt sich bei  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung die N-Translokationsrate in den Sproß. Gleichzeitig kommt es vorübergehend (über 2 d) zu einem geringeren Transport von Kationen und langfristig (ab dem 2. Tag) zu einem erhöhten  $\text{SO}_4^{2-}$ - und  $\text{Cl}^-$ -Transport in den Sproß (vergl. Abb. 3.41).

### 3.6.5 $\text{K}^+$ -Mangel

#### 3.6.5.1 Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats bei $\text{K}^+$ -Mangel

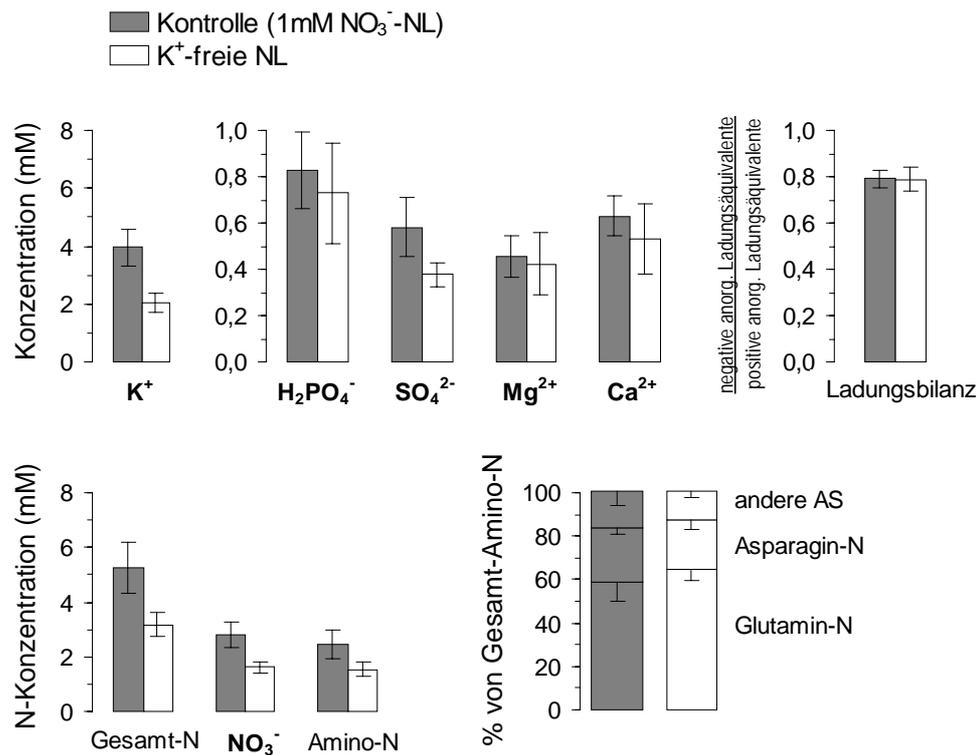
Anders als  $\text{NO}_3^-$  zirkuliert  $\text{K}^+$  zwischen der Wurzel und dem Sproß über das Xylem und das Phloem (Cooper und Clarkson 1989). Verglichen mit den anderen Nährstoffen war der  $\text{K}^+$ -Gehalt im Pflanzengewebe der Pappeln sehr hoch und wurde zu 94 % im Sproß bzw. in den Blättern gespeichert (Tab. 3.6). Aufgrund des Austausches zwischen Sproß und Wurzel muß  $\text{K}^+$ -Mangel daher nicht unmittelbar zur Abnahme der  $\text{K}^+$ -Konzentration im Xylemsaft führen. Im Vorfeld zum eigentlichen Experiment wurde daher geprüft, wie schnell sich  $\text{K}^+$ -Mangel im Wurzelraum auf die  $\text{K}^+$ -Konzentration im Xylemsaft auswirkt (Tab. 3.12). Schon innerhalb 1 h führte  $\text{K}^+$ -Mangel zu einer 31%igen Abnahme der  $\text{K}^+$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat. Innerhalb von 7 d verstärkte sich dieser Effekt noch (45%ige Abnahme gegenüber den Kontrollen).

**Tab. 3.12**  $\text{NO}_3^-$ - und  $\text{K}^+$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat bei  $\text{K}^+$ -Mangel in Abhängigkeit von der Behandlungsdauer. Die  $\text{K}^+$  und  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat (Sammelintervall: 5 - 10 min nach Dekapitieren) wurde nach 1 h und 7 d in  $\text{K}^+$ -freier NL jeweils um 16.30 Uhr bestimmt. Als Referenz wurde zeitgleich die Xylemsaftzusammensetzung von Pflanzen in Kontroll-NL ( $1 \text{ mM NO}_3^- / 0,45 \text{ mM K}^+$ ) bestimmt. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD ( $n = 2$ ).

Behandlung	Kalium		Nitrat	
	Konz. (mM)	% von Kontrolle	Konz. (mM)	% von Kontrolle
Kontrolle ( $1 \text{ mM NO}_3^- / 0,45 \text{ mM K}^+$ )	$4,23 \pm 0,43$		$3,29 \pm 0,4$	
$1 \text{ mM NO}_3^- / 0 \text{ mM K}^+$ , Behandlungsdauer: 1 h	$2,93 \pm 0,01$	$69 \pm 0,3$	$2,10 \pm 0,23$	$64 \pm 6,9$
$1 \text{ mM NO}_3^- / 0 \text{ mM K}^+$ , Behandlungsdauer: 7 d	$2,34 \pm 0,13$	$55 \pm 3,1$	$2,21 \pm 0,17$	$67 \pm 5,3$

Um eine möglichst starke Abnahme der  $\text{K}^+$ -Konzentration und damit der positiven Ladungsäquivalente in Xylemsaft zu bewirken, wurde der Versuch nach 11tägigem  $\text{K}^+$ -Mangel durchgeführt ([Abb. 3.45](#)). Nach 11 d war die  $\text{K}^+$ -Konzentration gegenüber den Kontrollen um 49 % reduziert.  $\text{K}^+$ -Mangel hatte keine signifikante Wirkung auf die Konzentration von  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , führte jedoch trotz unverändertem  $\text{NO}_3^-$ - und  $\text{SO}_4^{2-}$ -Angebot zur Abnahme der  $\text{NO}_3^-$ - (um 43 %) und  $\text{SO}_4^{2-}$ -Konzentration (um 35 %) im Wurzeldruckexsudat. Die Konzentration dieser Anionen nahm äquivalent zur  $\text{K}^+$ -Konzentration ab, so daß die Ladungsbilanz unverändert blieb. Dies weist darauf hin, daß beim Langstreckentransport von  $\text{NO}_3^-$  (und  $\text{SO}_4^{2-}$ )  $\text{K}^+$  das bevorzugte Gegenion ist, dessen Funktion als Träger positiver Ladungen nicht von anderen Kationen ( $\text{Mg}^{2+}$  und  $\text{Ca}^{2+}$ ) übernommen werden kann. Unterstützt wird diese Hypothese dadurch, daß der Effekt auf die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration unmittelbar nach Entfernen von  $\text{K}^+$  im Wurzelraum deutlich sichtbar war (Tab. 3.12: 36%ige Reduktion der  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration nach 1 h  $\text{K}^+$ -Mangel).

Durch  $\text{K}^+$ -Mangel wurde auch die Konzentration reduzierter N-Verbindungen vermindert (um 38 %) und daher die Gesamt-N-Konzentration im Wurzeldruckexsudat um 40 % herabgesetzt ([Abb. 3.45](#)). Alle AS waren im gleichen Ausmaß von  $\text{K}^+$ -Mangel betroffen, die AS-Zusammensetzung im Wurzeldruckexsudat blieb daher unverändert ([Abb. 3.45](#): % von Gesamt-Amino-N).

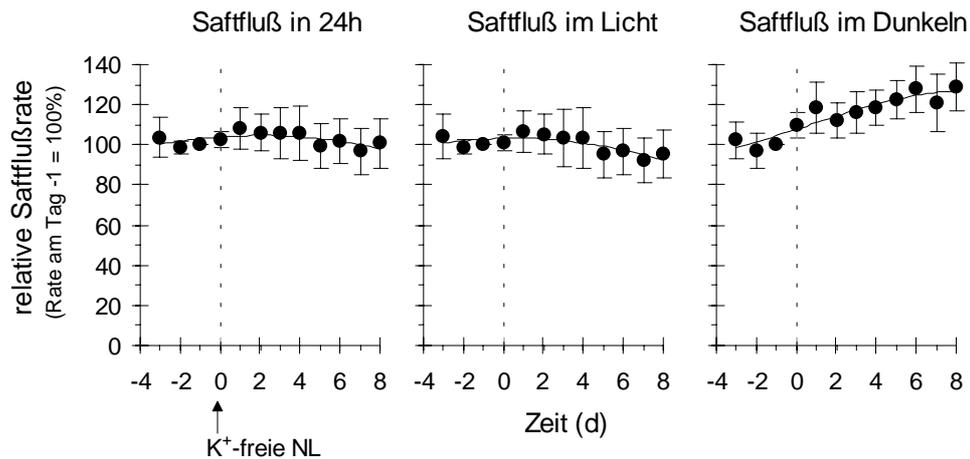


**Abb. 3.45** Einfluß von K<sup>+</sup>-Mangel auf die Konzentration anorganischer Ionen, AS und die Ladungsbilanz im Wurzeldrucksudat. Die Zusammensetzung des Wurzeldrucksudats (Sammelintervall: 5 - 10 min nach Dekapitieren) wurde um 16.30 Uhr, nach 11tägiger Inkubation in K<sup>+</sup>-freier NL, bestimmt. Die Ladungsbilanz wurde anhand der ermittelten Konzentrationen der anorganischen Ionen, wie unter 2.14 beschrieben, berechnet. Als Referenz wurde zeitgleich die Xylemsaftzusammensetzung von Pflanzen in Kontroll-NL (0,45 mM K<sup>+</sup>) bestimmt. Mittelwerte ± SD (Kontrolle: n = 4, K<sup>+</sup>-freie-NL n = 8).

### 3.6.5.2 in situ Saffflußraten bei K<sup>+</sup>-Mangel

Im Gegensatz zur Xylemsaftzusammensetzung hatte K<sup>+</sup>-Mangel keinen signifikanten Einfluß auf die Flußrate von Xylemsaft in den Sproß innerhalb der Lichtphase oder berechnet für einen Tag/Nachtzyklus ([Abb. 3.46](#)). Im Dunkeln stieg die Flußrate mit zunehmender Behandlungsdauer zwar signifikant an, dies führte jedoch aufgrund der geringeren absoluten Werte und der kürzeren Nachtphase von 8 h (vergl. [Abb. 3.17](#)) zu keiner deutlichen Zunahme des Saffflusses pro Tag.

Aufgrund der Daten ist davon auszugehen, daß K<sup>+</sup>-Mangel zu einer deutlichen Reduzierung des SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>- und N-Transportes in den Sproß führt. Betroffen davon sind sowohl NO<sub>3</sub><sup>-</sup> als auch reduzierte N-Verbindungen.



**Abb. 3.46** Einfluß von  $K^+$ -Mangel auf die Saffflußrate im Xylem in Abhängigkeit von der Zeit. Die Saffflußmessung erfolgte mit der „stem heat balance-Methode“. Während der Messung wurden die Pflanzen in  $K^+$ -freie NL überführt (Tag 0) und die mittlere Rate am Tag, in der Lichtphase und in der Dunkelphase berechnet. Die zunehmende Pflanzengröße wurde dabei einkalkuliert (3.2.3.1). Angegeben ist die relative Saffflußrate im Vergleich zur ermittelten Rate in 0,45 mM  $K^+$ -NL (Tag -1: Rate = 100 %). Die Daten entsprechen Mittelwerten  $\pm$  SD ( $n = 7$ ).

### 3.7 Einfluß des N-Angebots während der Anzucht auf die Xylemsaftzusammensetzung

In Kapitel 3.6 wurden Daten zum kurz- bis mittelfristigem Einfluß (0,25 h bis maximal 7 d) eines veränderten N-Angebots auf den Nährstofftransport im Xylemsaft präsentiert. Ob die ermittelten Änderungen der Xylemsaftzusammensetzung auch langfristig (über Monate) bestehen, wurde für das Wachstum bei erhöhtem  $NO_3^-$ -Angebot und das Wachstum mit verschiedenen N-Quellen überprüft.

Die Anzucht und die Versuche erfolgten unter identischen Klimabedingungen wie in Kapitel 3.6 (s. 2.2).

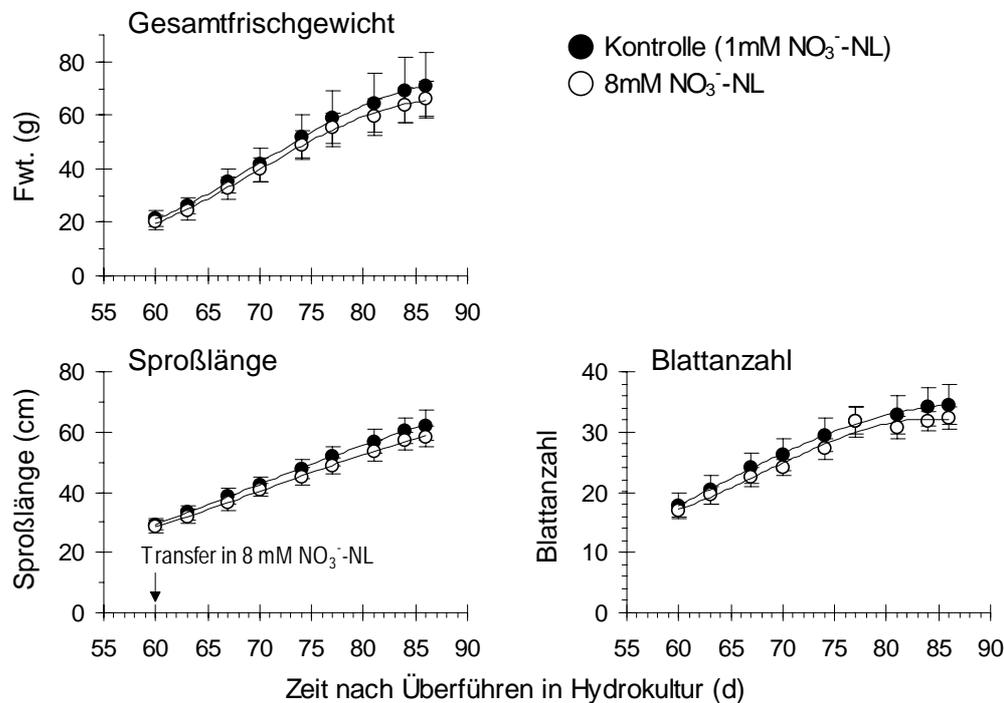
#### 3.7.1 Anzucht mit erhöhtem $NO_3^-$ -Angebot

Junge Pappeln (Gesamtfrischgewicht: ca. 20 g), gewachsen in Kontroll-NL (N-Quelle: 1 mM  $NO_3^-$ ), wurden für 1 Monat bei 8fach erhöhtem  $NO_3^-$ -Angebot angezogen und anschließend die Xylemsaftzusammensetzung ermittelt. Während des Anzuchtzeitraumes wurde das Wachstum und die  $NO_3^-$ -Aufnahme bestimmt. Als Kontrollen dienten identisch behandelte Pappeln mit einer  $NO_3^-$ -Versorgung von 1 mM (Kontroll-NL).

##### 3.7.1.1 Pflanzenwachstum bei Anzucht mit erhöhtem $NO_3^-$ -Angebot

Bei allen untersuchten Pflanzenparametern (Gesamtfrischgewicht, Sproßlänge, Blattanzahl) waren die Zuwachsraten bei einer  $NO_3^-$ -Versorgung von 8 mM und 1 mM identisch (Abb. 3.47). Unter den gegebenen Bedingungen war eine externe  $NO_3^-$ -Konzentration von

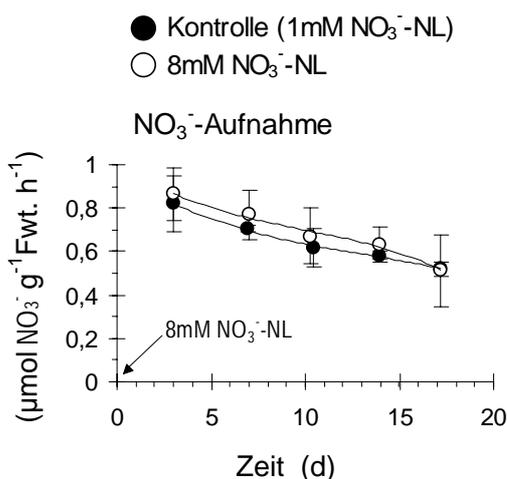
1 mM daher völlig ausreichend den  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf für optimales Pflanzenwachstum zu decken.



**Abb. 3.47** Einfluß eines erhöhten  $\text{NO}_3^-$ -Angebots auf das Wachstum von Pappeln. Gezeigt ist die Zunahme des Frischgewichtes, der Sproßlänge und der Blattanzahl während 1monatiger Anzucht in 8 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL. Als Kontrolle dienen identisch behandelte Pflanzen mit einem  $\text{NO}_3^-$ -Angebot von 1 mM. Die Daten entsprechen Mittelwerten  $\pm$  SD (Kontrolle: n = 6, 8 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL: n = 12).

### 3.7.1.2 $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme bei Anzucht mit erhöhtem $\text{NO}_3^-$ -Angebot

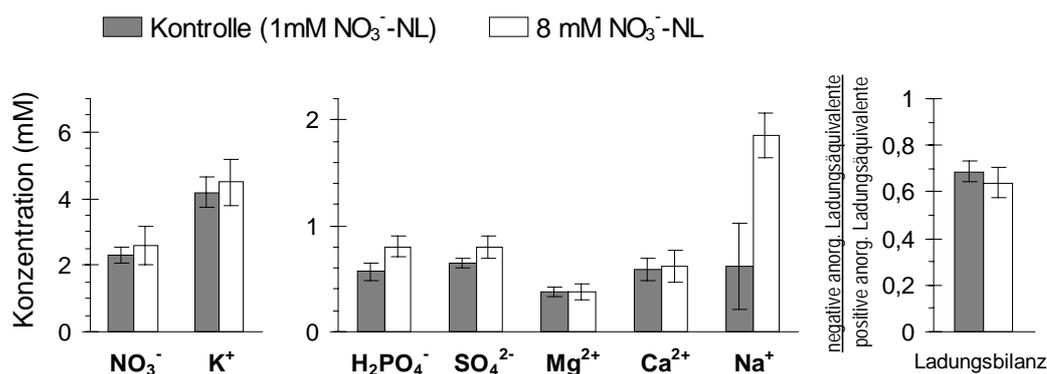
Möglich wäre, daß ein erhöhtes Angebot zwar keinen Einfluß auf das Wachstum hat aber langfristig zu einer verstärkten  $\text{NO}_3^-$ -Speicherung führt (innerhalb von 7 d blieben die  $\text{NO}_3^-$ -Gehalte im Pflanzengewebe unverändert, [Abb. 3.40](#)). Dies setzt jedoch voraus, daß auch mehr  $\text{NO}_3^-$ -aufgenommen wird. Diese Möglichkeit konnte ausgeschlossen werden, da die Aufnahmeraten bei 1 mM und 8 mM  $\text{NO}_3^-$ -Versorgung identisch waren ([Abb. 3.48](#)). Die Aufnahmeraten wurden kontinuierlich über einen Zeitraum von 0 - 17 d nach Überführen der Pflanzen in 8 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL bestimmt.



**Abb. 3.48** NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Aufnahme nach Erhöhung des NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebots über einen Zeitraum von 17 d. Am Tag 0 wurden die Pflanzen von 1 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup> in 8 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-NL überführt und die Aufnahmerate kontinuierlich über 17 d, in Intervallen von 3 - 4 d ermittelt. Die Raten sind jeweils für das Ende des Meßintervalls angegeben. Als Kontrolle dienten identisch behandelte Pflanzen in 1 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-NL. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD (Kontrolle: n = 6, 8 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-NL n = 9).

### 3.7.1.3 Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats bei Anzucht mit erhöhtem NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebot

Entsprechend den Befunden zur NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Aufnahme und zum Pflanzenwachstum hatte eine 1monatige Erhöhung des NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebots keinen signifikanten Einfluß auf die NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Konzentration im Wurzeldruckexsudat ([Abb. 3.49](#)). Auch bei den anderen Makronährstoffen konnten keine signifikanten Änderungen beobachtet werden. Nur die Na<sup>+</sup>-Konzentration stieg signifikant an. Der Grund dafür war die methodisch bedingte höhere Na<sup>+</sup>-Konzentration in der 8 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-NL (7,3 mM gegenüber 0,3 mM in der Kontroll-NL). Dieser Effekt trat bereits nach 7 d auf, verstärkte sich aber mit zunehmender Behandlungsdauer (vergl. [Abb. 3.37](#) und [Abb. 3.49](#)).



**Abb. 3.49** Einfluß eines erhöhten NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Angebots für 1 Monat auf die Konzentration anorganischer Ionen und die Ladungsbilanz im Wurzeldruckexsudat. Die Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats (Sammelintervall: 5 - 10 min nach Dekapitieren) wurde um 15.30 Uhr, nach 1monatigem Wachstum in 8 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-NL bestimmt. Die Ladungsbilanz wurde anhand der ermittelten Konzentrationen der anorganischen Ionen, wie unter [2.14](#) beschrieben, berechnet. Als Referenz wurde zeitgleich die Xylemsaftzusammensetzung von Pflanzen in Kontroll-NL (N-Quelle: 1 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) gemessen. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD (n = 5).

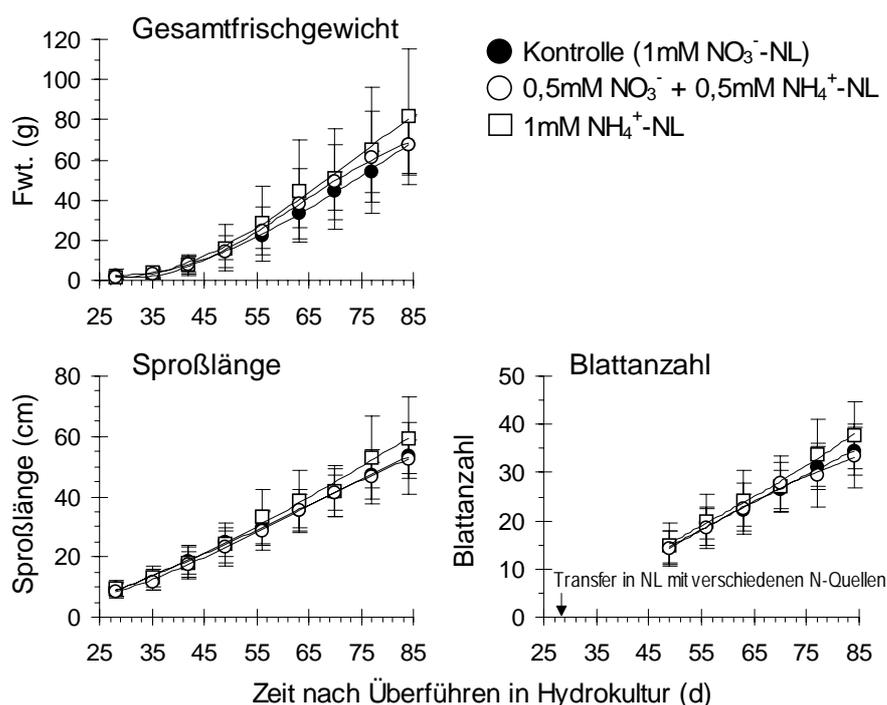
Zusammenfassend läßt sich festhalten, daß auch bei langfristig erhöhtem  $\text{NO}_3^-$ -Angebot die Nährstoffkonzentration im Xylemsaft unverändert bleibt. Die Bestimmung der Saftflußraten über einen Zeitraum von 1 Monat war aus methodischen Gründen nicht möglich. Da erhöhtes  $\text{NO}_3^-$ -Angebot aber keinen Einfluß auf das Wachstum und die  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme hatte, kann davon ausgegangen werden, daß auch die Nährstofftransportraten in den Sproß unverändert blieben. Entsprechend sollte auch die Saftflußrate im Xylem konstant bleiben.

### 3.7.2 Anzucht mit verschiedenen N-Quellen

Um langfristige Effekte der N-Quelle auf die Xylemsaftzusammensetzung zu untersuchen wurden Pappeln direkt nach Adaption an Hydrokultur (s. [2.1.2](#), N-Versorgung: 1 mM  $\text{NO}_3^-$ ) mit einem Frischgewicht von 2 g für 2 Monate in (a) 1 mM  $\text{NO}_3^-$ , (b) 0,5 mM  $\text{NO}_3^-$  + 0,5 mM  $\text{NH}_4^+$  oder (c) 1 mM  $\text{NH}_4^+$  angezogen und danach die Xylemsaftzusammensetzung ermittelt. Während der 2monatigen Wachstumsphase wurden wöchentlich verschiedene Pflanzenparameter aufgenommen.

#### 3.7.2.1 Pflanzenwachstum bei Anzucht mit verschiedenen N-Quellen

Bei allen untersuchten Pflanzenparameter (Gesamtfrischgewicht, Sproßlänge, Blattanzahl) waren die Zuwachsraten über 2 Monate im Rahmen der Meßgenauigkeit unabhängig von der N-Quelle gleich ([Abb. 3.50](#)). Pappeln scheinen demnach keine N-Form für das Wachstum zu bevorzugen.



**Abb. 3.50** Einfluß der N-Quelle auf das Wachstum von Pappeln. Gezeigt ist die Zunahme des Frischgewichtes, der Sproßlänge und der Blattanzahl während 2monatiger Anzucht mit unterschiedlicher N-Versorgung. Die Daten entsprechen Mittelwerten  $\pm$  SD (n = 6).

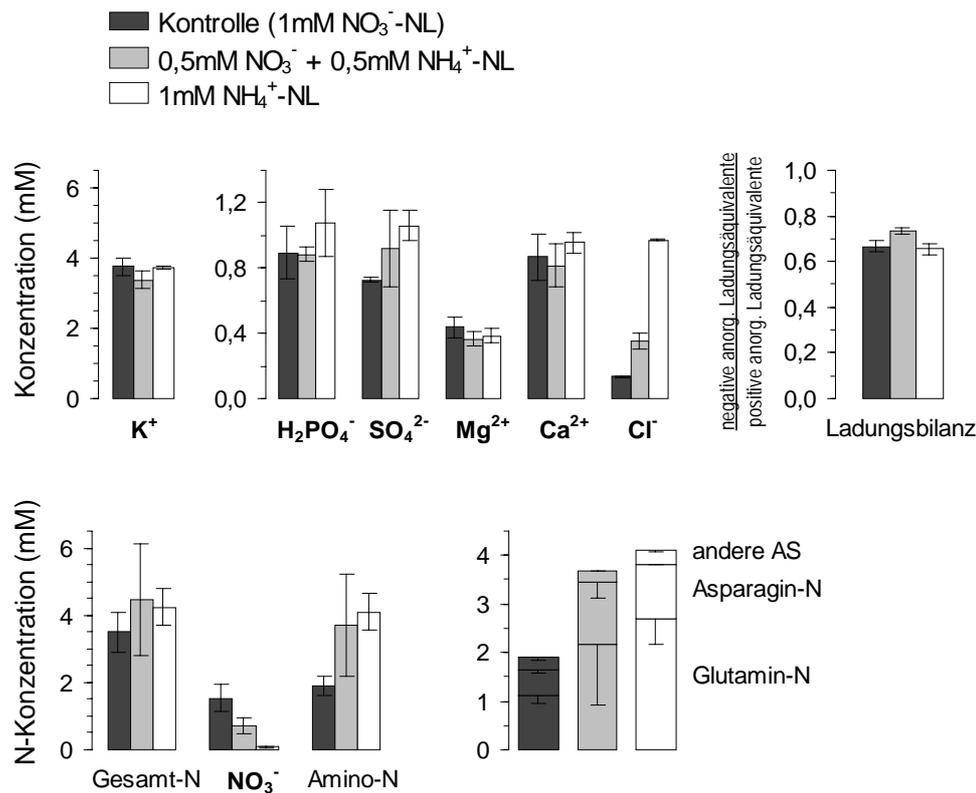
### 3.7.2.2 Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats bei Anzucht mit verschiedenen N-Quellen

#### Einfluß reiner $\text{NH}_4^+$ -Ernährung auf die Xylemsaftzusammensetzung

Kurzfristige Änderungen der Xylemsaftzusammensetzung nach Umstellung von  $\text{NO}_3^-$ - auf  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung für 0,25 h bis 7 d wurden bereits in Kapitel [3.6.4](#) erläutert. Die in diesem Kapitel aufgeführten Ergebnisse zur Xylemsaftzusammensetzung nach 2monatigem Wachstum mit  $\text{NH}_4^+$  als einzige N-Quelle, geben darüber Aufschluß ob die in Kapitel 3.6.4 beschriebenen kurzfristig Änderungen auch langfristig bestehen bleiben. Zur besseren Vergleichbarkeit werden die in Kapitel 3.6.4 ausführlich beschriebenen Ergebnisse zusammenfassend erläutert und den Befunden nach 2monatigem Wachstum in  $\text{NH}_4^+$ -NL gegenübergestellt.

Nach 2monatiger Anzucht mit  $\text{NH}_4^+$  als einziger N-Quelle wurde Stickstoff nahezu vollständig (zu 97 %, [Tab. 3.13](#)) in Form von Amino-N in den Sproß transportiert ([Abb. 3.51](#)). Dies entsprach den Befunden 3 d nach Wechsel der N-Quelle von  $\text{NO}_3^-$  auf  $\text{NH}_4^+$  ([Tab. 3.10](#)). 3 d nach Wechsel der N-Quelle verdoppelte sich die Gesamt-N-Konzentration in Xylemsaft ([Abb. 3.42](#)). Nach 2monatigem Wachstum in  $\text{NH}_4^+$  war die Gesamt-N-Konzentration zwar tendenziell höher (um 21 %), die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant ([Abb. 3.51](#)).  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung führt daher nur vorübergehend zu einer Verdopplung des N-Transports in den Sproß.

Wie in Kapitel 3.6.4 beschrieben, konnte nach Wechsel der N-Quelle von  $\text{NO}_3^-$  auf  $\text{NH}_4^+$  nur vorübergehend eine Reduzierung der Kationenkonzentration im Xylemsaft beobachtet werden. Nach 2-3 d in  $\text{NH}_4^+$ -NL stieg die Konzentration der Kationen wieder auf den Kontrollwert von  $\text{NO}_3^-$ -Pflanzen an und die Abnahme negativer Ladungsäquivalente (sinkende  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration) wurde über die Zunahme der  $\text{SO}_4^{2-}$  und der  $\text{Cl}^-$ -Konzentration kompensiert, wobei  $\text{SO}_4^{2-}$  den Hauptanteil hatte ([Tab. 3.10](#): 45 % der positiven Ladungsäquivalente wurde durch  $\text{SO}_4^{2-}$  ausgeglichen, 10 % durch  $\text{Cl}^-$ ). Korrespondierende Befunde wurden auch nach 2monatigem Wachstum in  $\text{NH}_4^+$ -NL erhalten. Die N-Quelle ( $\text{NO}_3^-$  oder  $\text{NH}_4^+$ ) hatte keinen Einfluß auf die Konzentration der Kationen im Xylemsaft, die  $\text{SO}_4^{2-}$ - und  $\text{Cl}^-$ -Konzentration stieg bei  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung jedoch signifikant an ([Abb. 3.51](#)). Bei den  $\text{NH}_4^+$ -ernährten Pflanzen trug  $\text{SO}_4^{2-}$  zu 33 % und  $\text{Cl}^-$  zu 15 % zum Ausgleich der positiven Ladungsäquivalente im Wurzeldruckexsudat bei. Bei den  $\text{NO}_3^-$ -ernährten Pflanzen lag der Beitrag von  $\text{SO}_4^{2-}$  nur bei 22 % und der von  $\text{Cl}^-$  nur bei 2 %. Bei  $\text{NH}_4^+$ -ernährten Pflanzen wird die Funktion von  $\text{NO}_3^-$  am Ausgleich positiver Ladungsäquivalente daher auch langfristig von  $\text{SO}_4^{2-}$  und  $\text{Cl}^-$  übernommen.



**Abb. 3.51** Einfluß der N-Quelle bei der Anzucht auf die Konzentration von anorganischen Ionen, N-Verbindungen und die Ladungsbilanz in Wurzeldruckexsudat. Die Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats (Sammelintervall: 5 - 10 min nach Dekapitieren) wurde um 10.00 Uhr, nach 2monatigem Wachstum in (a) 1 mM  $\text{NO}_3^-$ , (b) 0,5 mM  $\text{NO}_3^- + 0,5 \text{ mM NH}_4^+$  oder (c) 1 mM  $\text{NH}_4^+$  bestimmt. Die Ladungsbilanz wurde anhand der ermittelten Konzentrationen der anorganischen Ionen, wie unter [2.14](#) beschrieben, berechnet. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD (n = 3).

**Tab. 3.13** Vergleich der N-Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats nach Wachstum mit verschiedenen N-Quellen. Angegeben ist die prozentuale N-Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats nach 2monatiger Anzucht in (a) 1 mM  $\text{NO}_3^-$ , (b) 0,5 mM  $\text{NO}_3^- + 0,5 \text{ mM NH}_4^+$  oder (c) 1 mM  $\text{NH}_4^+$ . Die Daten entsprechen Mittelwerten  $\pm$  SD (n = 3). Zum Versuchsablauf s. [Abb. 3.51](#).

N-Verbindung	externes N-Angebot für 2 Monate					
	1 mM $\text{NO}_3^-$		0,5 mM $\text{NO}_3^- + 0,5 \text{ mM NH}_4^+$		1 mM $\text{NH}_4^+$	
	% von Gesamt-N	% von Amino-N	% von Gesamt-N	% von Amino-N	% von Gesamt-N	% von Amino-N
$\text{NO}_3^-$	44,1		16,2		2,0	
$\text{NH}_4^+$	1,7		1,0		1,5	
Amino-N	54,2		82,8		96,5	
GLN-N	31,7	59	49,0	59	63,0	65
ASN-N	15,7	29	28,5	35	26,9	28
andere AS	6,8	12	5,3	6	6,6	7

### Einfluß gemischter N-Ernährung ( $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$ ) auf die Xylemsaftzusammensetzung

Eine externe  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration von 0,5 mM ist nach den in [Abb. 3.34](#) gezeigten Messungen völlig ausreichend eine  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft wie mit einer externen  $\text{NO}_3^-$ -Versorgung von 1 mM aufrechtzuerhalten. Trotzdem war die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft in 0,5 mM  $\text{NO}_3^- + 0,5 \text{ mM NH}_4^+$ -NL um 53 % geringer als in 1 mM  $\text{NO}_3^-$ -NL ([Abb. 3.51](#)). Die 53%ige Abnahme der  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat läßt vermuten, daß auch die  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme um die Hälfte reduziert war. Gleichzeitig stieg jedoch die Amino-N-Konzentration an, so daß die Gesamt-N-Konzentration ausgeglichen war. Dies zeigt, daß ein Teil des externen Stickstoffangebots in Form von  $\text{NH}_4^+$  aufgenommen wurde.

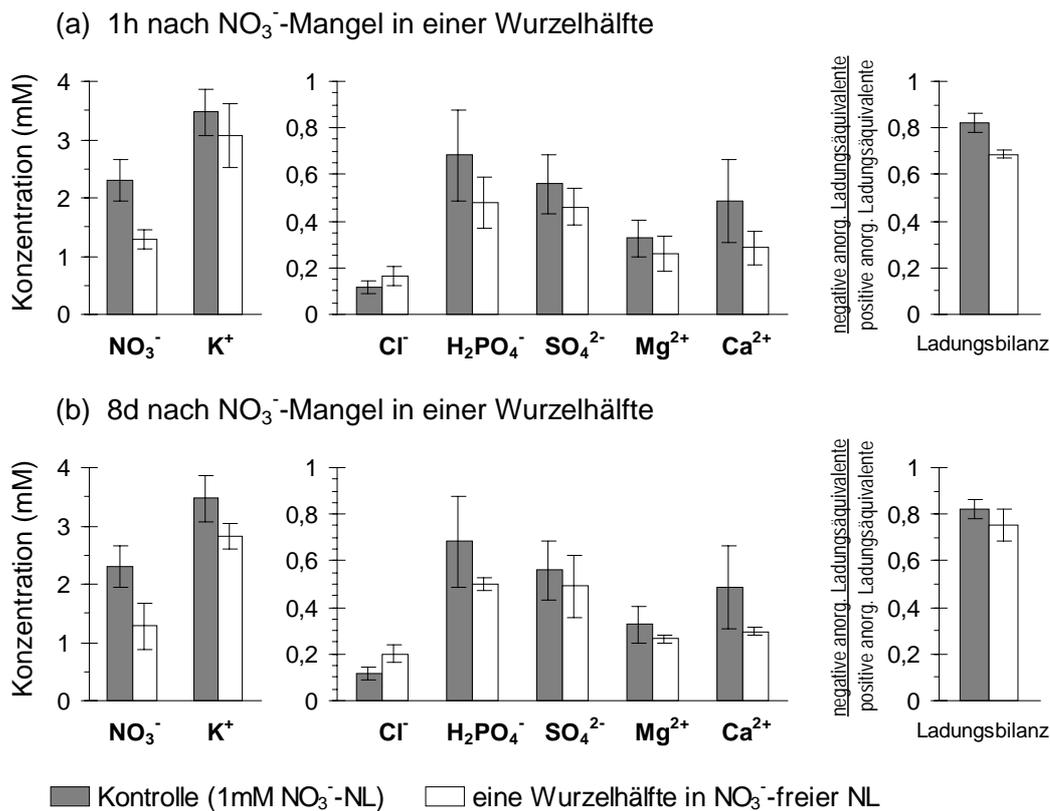
Bei gemischter N-Versorgung sank die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat und daher auch der Anteil negativer Ladungsäquivalente. Genau wie bei reiner  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung wurde dies durch einen Anstieg der  $\text{SO}_4^{2-}$  und  $\text{Cl}^-$ -Konzentration ausgeglichen ([Abb. 3.51](#)).

### 3.8 Einfluß einer lokal begrenzten Nährstoffversorgung im Wurzelraum auf die Xylemsaftzusammensetzung (split-root-Experimente)

Im Boden liegen die Nährstoffe nicht homogen verteilt vor. Um dies in Hydrokultur zu simulieren, wurden Pflanzen mit geteiltem Wurzelsystem angezogen. Die eine Wurzelhälfte der Pflanze wurde mit Kontroll-NL (1 mM  $\text{NO}_3^- / 0,45 \text{ mM K}^+$ ), die andere Hälfte mit NL mit verändertem N- oder  $\text{K}^+$ -Angebot versorgt und die Xylemsaftzusammensetzung bestimmt. Untersucht wurde der Einfluß von (a) partiellem N-Mangel, (b) partiellem  $\text{K}^+$ -Mangel und (c) verschiedene N-Quellen in unterschiedlichen Wurzelbereichen.

#### 3.8.1 $\text{NO}_3^-$ -Mangel in einem Wurzelbereich

Durch das Entfernen der N-Quelle in einer Wurzelhälfte wurde die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat sofort (nach 1 h) um 44 % vermindert ([Abb. 3.52a](#)). Der gleiche Befund (44%ige Reduktion gegenüber den Kontrollen) wurde auch 8 d nach Behandlungsbeginn erhalten ([Abb. 3.52b](#)).  $\text{NO}_3^-$ -Mangel in lokal begrenzten Wurzelbereichen scheint demnach einen anhaltenden Effekt auf die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft auszuüben. Offensichtlich sind Pappeln auch nach mehreren Tagen nicht in der Lage partiellen N-Mangel durch eine gesteigerte  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme bzw. Xylembeladung in  $\text{NO}_3^-$ -versorgten Wurzelbereichen auszugleichen.



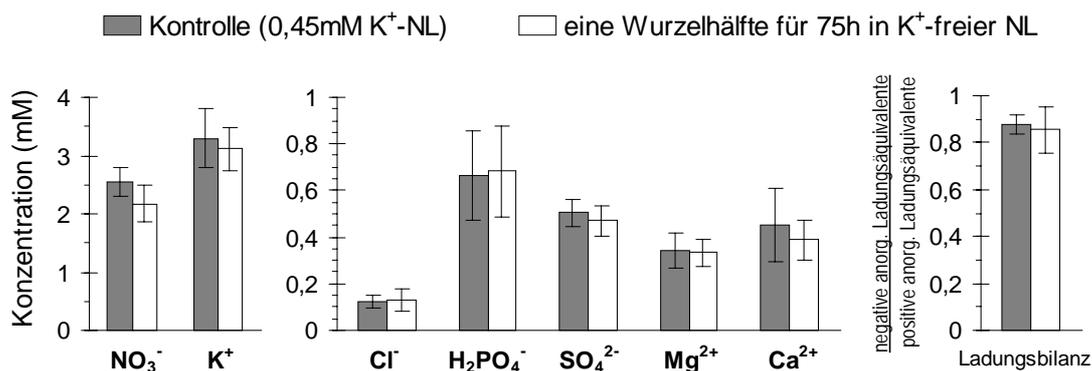
**Abb. 3.52** Einfluß von N-Mangel in einem Wurzelbereich auf die Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats. Eine Wurzelhälfte wurde in N-freier NL, die andere Wurzelhälfte in Kontroll-NL mit 1 mM  $\text{NO}_3^-$  inkubiert. Die Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats (Sammelintervall: 5 - 10 min nach Dekapitieren) wurde jeweils um 15.00 Uhr nach 1 h und 8 d bestimmt. Als Kontrolle dienten Pflanzen, bei denen das gesamte Wurzelsystem in Kontroll-NL mit 1 mM  $\text{NO}_3^-$  inkubiert wurde. Die Berechnung der Ladungsbilanz erfolgte anhand der ermittelten Konzentrationen der anorganischen Ionen, wie unter 2.14 beschrieben. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD (Kontrolle: n = 8, partieller N-Mangel: n = 3-4).

Ähnlich wie bei N-Mangel im gesamten Wurzelbereich (vergl. 3.6.1.1) wurde die Abnahme der negativen Ladungsäquivalente (durch die verminderte  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration) 1 h nach Behandlungsbeginn nicht über Konzentrationsveränderungen der anderen anorganischen Ionen ausgeglichen. Ein Ausgleich könnte durch eine Konzentrationszunahme anorganischer Anionen und/oder eine Konzentrationsabnahme anorganischer Kationen erfolgen. Insgesamt betrachtet nahm die positive Ladung im Wurzeldruckexsudat zwar ab (um 0,95 mM gegenüber den Kontrollen), die Abnahme der negativen anorganischen Ladung war jedoch höher (um 1,36 mM gegenüber den Kontrollen). Entsprechend war der Anteil der anorganischen Ionen beim Ausgleich positiver Ladungsäquivalente nach 1 h deutlich geringer als bei den Kontrollen (Abb. 3.52a: Ladungsbilanz). Nach 8tägiger Behandlungsdauer war der Unterschied zu den Kontrollen geringer (Abb. 3.52b: Ladungsbilanz). Dies war vorwiegend auf ein weiteres Absinken der  $\text{K}^+$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat zurückzuführen. Bei partiellem N-Mangel wird daher, zumindest

kurzfristig, vermutlich ein größerer Anteil der positiven Ladung über organische Anionen kompensiert.

### 3.8.2 $K^+$ -Mangel in einem Wurzelbereich

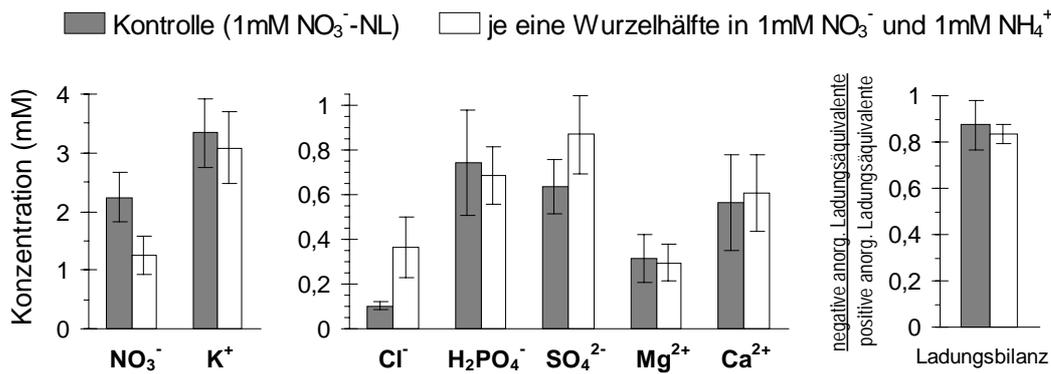
$K^+$ -Mangel im gesamten Wurzelbereich führte schon innerhalb 1 h zu verminderten  $K^+$  und  $NO_3^-$ -Konzentrationen im Xylemsaft ([Tab. 3.12](#)). Dieser Effekt wurde nicht beobachtet, wenn nur die Hälfte des Wurzelsystems  $K^+$ -Mangel ausgesetzt war. Nach 3tägiger Behandlungsdauer hatte partieller  $K^+$ -Mangel keinen Einfluß auf die  $K^+$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat ([Abb. 3.53](#)). Bei den Konzentrationen der anderen Makronährstoffe traten ebenfalls keine signifikanten Änderungen gegenüber den Kontrollen auf. Entsprechend dazu blieb auch die Ladungsbilanz im Wurzeldruckexsudat unverändert. Anders als bei  $NO_3^-$ , kann daher bei lokal begrenztem  $K^+$ -Mangel die  $K^+$ -Konzentration im Xylemsaft aufrechterhalten werden.



**Abb. 3.53** Einfluß von  $K^+$ -Mangel in einem Wurzelbereich auf die Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats. Eine Wurzelhälfte wurde in  $K^+$ -freier NL, die andere Wurzelhälfte in Kontroll-NL mit 0,45 mM  $K^+$  inkubiert. Die Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats (Sammelintervall: 5 - 10 min nach Dekapitieren) wurde um 15.00 Uhr nach 75 h bestimmt. Als Kontrolle dienen Pflanzen, bei denen das gesamte Wurzelsystem in Kontroll-NL mit 0,45 mM  $K^+$  inkubiert wurde. Die Berechnung der Ladungsbilanz erfolgte anhand der ermittelten Konzentrationen der anorganischen Ionen, wie unter [2.14](#) beschrieben. Angegeben sind Mittelwerte  $\pm$  SD (Kontrolle: n = 4, partieller  $K^+$ -Mangel: n = 8).

### 3.8.3 Angebot von $NH_4^+$ und $NO_3^-$ in verschiedenen Wurzelzonen

Wenn  $NO_3^-$  und  $NH_4^+$  gleichzeitig, aber räumlich getrennt angeboten wurden, sank die  $NO_3^-$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat im Vergleich zu rein  $NO_3^-$ -ernährten Kontrollpflanzen innerhalb von 7 d um 44 % ab ([Abb. 3.54](#)). Die geringere  $NO_3^-$ -Konzentration führte jedoch nicht zu einer Veränderung der Ladungsbilanz gegenüber den Kontrollen, da die  $SO_4^{2-}$ - und  $Cl^-$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat äquivalent anstieg ([Abb. 3.54](#)). Auch die Konzentration der anderen Nährstoffe blieb unbeeinflusst.



**Abb. 3.54** Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats bei N-Versorgung durch NO<sub>3</sub><sup>-</sup> und NH<sub>4</sub><sup>+</sup> in je einer Wurzelhälfte. Eine Wurzelhälfte wurde in 1 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-NL, die andere Wurzelhälfte in 1 mM NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-NL inkubiert. Die Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats (Sammelintervall: 5 - 10 min nach Dekapitieren) wurde um 15.00 Uhr nach 7 d bestimmt. Als Kontrolle dienten identisch behandelte Pflanzen, bei denen das gesamte Wurzelsystem in Kontroll-NL mit 1 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup> inkubiert wurde. Die Berechnung der Ladungsbilanz erfolgte anhand der ermittelten Konzentrationen der anorganischen Ionen, wie unter [2.14](#) beschrieben. Angegeben sind Mittelwerte ± SD (Kontrolle: n = 4, gemischte N-Versorgung: n = 6).

Die ermittelten Befunde entsprachen den Ergebnissen bei Anzucht mit 0,5 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup> und 0,5 mM NH<sub>4</sub><sup>+</sup> im gesamten Wurzelbereich ([Abb. 3.51](#)). Auch hier nahm die NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Konzentration im Wurzeldruckexsudat um die Hälfte ab und die Ladung wurde durch einen äquivalenten Anstieg der SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>- und Cl<sup>-</sup>-Konzentration ausgeglichen. Gleichzeitig stieg bei diesem Versuchsansatz die Amino-N-Konzentration an, wodurch die Gesamt-N-Konzentrationen im Vergleich zu rein NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-ernährten Pflanzen ausgeglichen war ([Abb. 3.51](#)). Die AS-Konzentration im Wurzeldruckexsudat wurde bei dem in [Abb. 3.54](#) gezeigten Versuch nicht bestimmt. Es ist jedoch aufgrund der Ergebnisse aus dem Anzuchtversuch davon auszugehen, daß bei gemischter aber räumlich getrennter N-Versorgung die NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Konzentration im Xylemsaft auch langfristig um 50 % reduziert bleibt, die N-Konzentration insgesamt jedoch nicht vermindert wird.

## 4 Diskussion

### 4.1 Methodische Aspekte

#### 4.1.1 Gewinnung von Apoplastenflüssigkeit an Pappelblättern

Der Nährstofftransport in höheren Pflanzen erfolgt über weite Strecken im Apoplasten. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Langstreckentransport von Nährstoffen im Xylem zu charakterisieren. Neben den Xylemgefäßen gehören auch die Poren der Zellwände und die Interzellularen zum Apoplasten (Canny 1995). Für zukünftige weiterführende Untersuchungen zum Nährstofftransport in Pappeln wurde im Rahmen dieser Arbeit eine Methode zur Gewinnung von Apoplastenflüssigkeit aus Pappelblättern etabliert (s. [3.2.1](#)).

Apoplastenflüssigkeit kann durch verschiedene Methoden gewonnen werden, z.B. nach Druckapplikation durch Verwendung einer modifizierten Scholanderbombe (Jachetta et al. 1986, Hartung et al. 1988), durch die Perfusions- (Bernstein 1971) und Elutionsmethode (Long und Widders 1990) oder durch Zentrifugation des Blattgewebes. Die Zentrifugation erfolgt dabei entweder ohne (Meinzer und Moore 1988) oder mit vorangehender Infiltration der Blätter (Klement 1965, Terry und Bonner 1980, Speer und Kaiser 1991).

Die „trockene“ Zentrifugation hat gegenüber der „Infiltrations-Zentrifugations-Methode“ den Vorteil unverdünnte Apoplastenflüssigkeit zu erhalten. Bei Blättern von *Helianthus annuus* konnte mit dieser Methode schon bei 1000 g Apoplastenflüssigkeit gewonnen werden und die gewinnbare Menge stieg bis 2500 g noch an (Dannel et al. 1995). Bei den hier untersuchten Pappelblättern hatte die von Dannel et al. (1995) beschriebene Methode jedoch keinen Erfolg. Erst nach vorangehender Infiltration konnte bei Pappelblättern Apoplastenwaschflüssigkeit (AWF) gewonnen werden (s. [3.2.1](#)). Der gleiche Befund wurde auch für Blätter von *Vicia faba* erhalten (Mühling und Sattelmacher 1995). Offensichtlich kann die Methode der „trockenen Zentrifugation“ nicht bei alle Pflanzenarten angewendet werden.

Nach Infiltration und Zentrifugation bei 2610 g lag die Ausbeute an AWF bei Pappelblättern bei  $106 \mu\text{l g}^{-1}\text{Fwt.}$  ([Tab. 3.1](#)). Dies entsprach in etwa der gewinnbaren Menge in Blätter von *Brassica napus* ( $170 \mu\text{l g}^{-1}\text{Fwt.}$  bei 2000 g, Husted und Schjoerring 1995), war jedoch deutlich geringer als bei *Vicia faba*, wo schon ab 150 g eine Ausbeute von ca.  $420 \mu\text{l g}^{-1}\text{Fwt.}$  erreicht werden konnte (Mühling und Sattelmacher 1995). Dies ist vermutlich auf die unterschiedliche Größe des gasgefüllten Volumens im Blattapoplasten der drei Spezies zurückzuführen (Pappel:  $310 \mu\text{l g}^{-1}\text{Fwt.}$ , s. [Tab. 3.2](#), *Brassica*:  $150 - 270 \mu\text{l g}^{-1}\text{Fwt.}$ , *Vicia*:  $460 \mu\text{l g}^{-1}\text{Fwt.}$ ). Bei der Infiltration wird der Gasraum des Blattapoplasten mit dem

Infiltrationsmedium gefüllt. Je größer der Gasraum im Blatt ist, desto mehr Flüssigkeit kann infiltriert werden und desto höher ist daher die Ausbeute an AWF.

Die gewinnbare Menge an AWF steigt zwar mit zunehmender Zentrifugalbeschleunigung an, gleichzeitig nimmt jedoch die Gefahr der Kontamination durch verletzte Zellen zu. In dieser Arbeit wurde als Indikator für cytoplasmatische Kontaminationen die MDH-Aktivität herangezogen, da dieses Enzym im Vergleich zu anderen Markerenzymen (HPI für das Cytosol, GAP-DH für das Chloroplastenstroma) vergleichsweise stabil ist. Bei Pappelblättern blieb die Kontaminationsrate mit cytoplasmatischen Zellinhaltsstoffen bei einer Zentrifugalbeschleunigung von 370 g - 1470 g im Rahmen der Meßgenauigkeit konstant (<0,25% MDH-Aktivität in der AWF im Vergleich zum Blattrohextrakt) und stieg erst bei höherer Zentrifugalbeschleunigung signifikant an. Ähnliche geringe Kontaminationsraten werden auch für *Hordeum vulgare* (0,01 %, Tetlow und Farrar 1993), *Vicia* (<0,2%, Mühling und Sattelmacher 1995) und *Brassica* (<1%, Husted und Schjoerring 1995) beschrieben. Lösliche MDH wurde bei Getreidearten jedoch auch im Blattapoplasten nachgewiesen (Li et al. 1989). Es ist daher anzunehmen, daß die tatsächliche Kontaminationsrate der AWF aus Pappelblättern noch geringer ist, als die durch die MDH-Aktivität ermittelte.

Die „Infiltrations-Zentrifugations-Technik“ mit einer Zentrifugalbeschleunigung von 1470 g ist demnach die geeignete Methode zur Isolierung von AWF aus Pappelblättern. Unter diesen Präparationsbedingungen kann eine gute Ausbeute ( $83 \mu\text{g}^{-1}\text{Fwt.}$ ) bei minimaler cytoplasmatischer Kontamination (<0,25%) erzielt werden.

#### 4.1.2 Zuverlässigkeit der Methoden zur Bestimmung von Nährstofftranslokationsraten

Aussagen zum Nährstoffexport von der Wurzel in den Sproß können nur anhand von Translokationsraten getroffen werden (Else et al. 1995). Die Berechnung der Nährstofftranslokationsraten erfolgte in dieser Arbeit anhand der Nährstoffkonzentration im Wurzeldruckexsudat und der Saftflußrate unter transpirierenden Bedingungen.

##### 4.1.2.1 Messung der Flußraten im Xylem

Der Saftfluß im Xylem wird angetrieben über (a) den osmotischen Gradienten zwischen Wurzelapoplasten und den Xylemgefäßen, dem sog. Wurzeldruck und (b) dem Gradienten im Wasserpotential zwischen der Atmosphäre, der Pflanze und der Bodenlösung, d.h. der Transpiration (Marschner 1995). Die Transpiration trägt dabei, zumindest in der Lichtphase, sehr viel stärker zum Saftfluß im Xylem bei. Der Vergleich der Saftflußraten im Xylem von Tomaten vor und nach Dekapitieren des Sprosses zeigte, daß der Saftfluß nur zu 9 % durch den Wurzeldruck angetrieben wurde (Else et al. 1995). Die

Exsudationsrate nach Dekapitieren des Sprosses ist daher keine geeignete Größe zur Berechnung von Nährstofftranslokationsraten im Xylem. Die Saftflußmessungen an Pappeln mußten daher unter transpirierenden Bedingungen erfolgen (s.u. Meßgenauigkeit). Besonders für die Berechnung der diurnalen Translokationsraten war es wichtig, schnelle Änderungen der Saftflußrate, z.B. nach Licht-Dunkel-Wechsel, sicher quantifizieren zu können. Die Saftflußmessung mußte deshalb mit einer hohen Zeitauflösung erfolgen (s.u. Zeitauflösung). Zur Berechnung der Nährstofftransportraten entlang der Sproßachse mußte außerdem der Eintransport von Xylemsaft getrennt für verschiedene Sproßbereiche ermittelt werden (s.u. Saftflußmessung entlang der Sproßachse). Um diese drei Voraussetzungen zu erfüllen, wurde die Saftflußmessung mit der „stem heat balance-Methode“ an Pappeln etabliert.

### Meßgenauigkeit

Bei der „stem heat balance-Methode“ wird der Saftfluß anhand der Wärmeverteilung in einem Sproßabschnitt nach Zufuhr einer definierten Wärmemenge bestimmt (s. [2.12.1](#)). Die Wärmeverteilung wird durch Temperatursensoren an der Stammoberfläche ermittelt. Die Methode hat keine Verletzung der Pflanze zur Folge, so daß die Saftflußrate unter ungestörten Bedingungen gemessen werden konnte.

Für eine korrekte Bestimmung der Saftflußraten müssen verschiedene Maßnahmen getroffen werden, um potentielle Fehlerquellen zu vermeiden (Smith und Allen 1996):

(1) Die Qualität der Meßdaten hängt maßgeblich von einer korrekten Bestimmung der radialen Wärmeleitfähigkeit (Ksh-Wert, s. [2.12.1](#)) ab (Baker und Nieber 1989). Der Ksh-Wert muß unter Bedingungen bestimmt werden, bei denen kein Saftfluß herrscht und wird deshalb typischerweise am Ende der Dunkelperiode durchgeführt (Steinberg et al. 1989, Dugas et al. 1994). Green et al. (1989) zeigten jedoch, daß auch im Dunkeln Saftfluß im Xylem erfolgen kann. Korrespondierend zu diesem Ergebnis wurde bei den hier untersuchten Pappeln während der Dunkelphase eine geringe Transpiration der Blätter beobachtet ([Abb. 3.19](#)). Dunkelheit allein ist daher nicht ausreichend, den Saftfluß im Xylem zu stoppen. Zur Bestimmung des Ksh-Wertes wurden die Pappeln daher mehrere Stunden vor der Messung im Dunkeln mit Kunststoffolie umhüllt, um eine gesättigte Luftfeuchte zu erreichen und so Transpiration zu verhindern. Diese Strategie wurde auch von Steinberg et al. (1989) und Grime et al. (1995) angewendet.

(2) Änderungen der Wärmespeicherung im Sproßsegment können zu Fehlern bei der Saftflußbestimmung führen (Groot und King 1992, Shackel et al. 1992). Diese Gefahr steigt mit abnehmender Saftflußrate an, ist jedoch bei einem geringen Sproßdurchmesser minimal (Grime et al. 1995). Zusätzlich können Temperaturgradienten an der Stammoberfläche fehlerhafte Messungen bewirken. Der Sproßdurchmesser der hier untersuch-

ten Pappeln betrug maximal 6 mm. Unterschiede in der Wärmespeicherung, insbesondere bei den hohen Saftflußraten am Tage, können daher vernachlässigt werden (Grime et al. 1995). Fehlerhafte Messungen aufgrund von Temperaturgradienten an der Sproßoberfläche wurden durch eine sorgfältige Wärmeisolation der Meßmanschetten vermieden (Gutierrez et al. 1994).

(3) Ein weiteres wichtiges Kriterium für eine fehlerfreie Messung ist ein optimaler Kontakt zwischen den Thermosensoren und der Rinde (Weibel und DeVos 1994). Zur Verbesserung des Kontaktes wurde bei allen Messungen an Pappeln die unter [2.12.1](#) beschriebenen Maßnahmen durchgeführt.

Vergleichende Saftflußmessungen mit der „stem heat balance-Methode“ und der „gravimetrischen Saftflußmessung“ (transpirationsbedingte Abnahme der Nährlösung), zeigten, daß die oben beschriebenen Maßnahmen zur Minimierung potentiellen Fehlerquellen erfolgreich waren. Die Abweichung zwischen den Methoden lag bei 1 % bis maximal 16 % (s. [3.2.3.1](#)). Ähnliche Abweichungen zwischen den beiden Methoden wurden von Heilmann und Ham (1990) an *Ligustrum japonicum* (10 %) und von Hussein und McFarland (1994) an jungen Apfelbäumen beschrieben. Durch die „stem heat balance-Methode“ konnte daher der Saftfluß in intakten jungen Pappeln mit einer hohen Meßgenauigkeit quantifiziert werden.

#### Zeitauflösung

Da die „stem heat balance-Methode“ auf der Wärmeverteilung im Sproß beruht, reagiert die Meßmethode nicht unmittelbar auf plötzliche Änderungen der Flußgeschwindigkeit im Xylemsaft (Baker et al. 1987). Die Zeitauflösung ist jedoch um so besser je höher die Flußrate ist. Für Flußraten, wie sie in der Lichtphase typisch sind, liegt die Zeitauflösung für eine korrekte Saftflußmessung bei 5 min (Baker et al. 1987). In dieser Arbeit wurde die Saftflußmessung in 10 min-Intervallen durchgeführt, um auch die geringeren Saftflußraten in der Nacht sicher quantifizieren zu können. Diese Zeitauflösung war ausreichend, die schnellen Saftflußänderungen beim Licht/Dunkel-Wechsel zu erfassen, die bei Pappeln innerhalb von ca. 20 min auftraten (als Beispiel s. [Abb. 3.9](#)). Bestätigt wurde dieser Befund durch die ähnliche Zeitabhängigkeit der Transpirationsrate der Blätter (belichtungsabhängige Änderungen traten innerhalb von 15 min auf, [Abb. 3.19](#)). Da die Transpiration die treibende Kraft für den Saftfluß im Xylem ist, muß das Blatt in der gleichen Zeit oder schneller auf Änderungen der Beleuchtung reagieren.

Im Gegensatz zur „gravimetrischen Saftflußmessung“ (Zeitauflösung: ca. 1 h) war die „stem heat balance-Methode“ daher optimal geeignet schnelle Änderungen der Saftflußrate bei Licht-Dunkel-Wechsel zu erfassen.

### Saftflußmessungen entlang der Sproßachse

Saftflußraten im Xylem werden oft indirekt über den Wasserverlust im Wurzelraum oder über die Wasserabgabe des Sprosses (Transpirationsmessung mit Sproßküvetten) bestimmt. Diese Methoden geben Aufschluß über den Wassertransport von der Wurzel in den Sproß, eine räumliche Auflösung für einzelne Sproßbereiche ist jedoch nicht möglich. Im Gegensatz dazu erfolgt die Saftflußmessung mit der „stem heat balance-Methode“ direkt am Stamm. Durch simultane Saftflußmessung an zwei Sproßpositionen derselben Pflanze konnte im Rahmen dieser Arbeit der Eintransport von Xylemsaft für verschiedene Sproßbereiche der Pappel quantifiziert werden (Abb. [3.10](#) und [3.23](#)). Da die Meßmethode keinen Einfluß auf das Mikroklima der Pflanze ausübt, entsprechen die so ermittelten Daten dem „in situ“ Saftfluß unter ungestörten Bedingungen.

Um temperaturbedingte Artefakte bei der Saftflußmessung mit der „stem heat balance-Methode“ zu vermeiden, wurde ein Mindestabstand von ca. 20 cm zwischen den beiden Meßpositionen eingehalten. Die Internodienlänge zwischen den voll entfaltenen Blättern der Pappeln betrug jedoch nur ca. 3 cm. Eine räumliche Auflösung auf Ebene einzelner Blätter konnte daher bei der Saftflußmessung mit der „stem heat balance-Methode“ nicht erreicht werden. Die Saftflußmessungen wurden deshalb durch Transpirationsmessungen an unterschiedlichen Blattalterstadien durch Verwendung von Blattküvetten ergänzt ([Abb. 3.24](#)). Dies diente dazu, den Eintransport von Xylemsaft in die verschiedenen Blattalterstadien indirekt über die Wasserabgabe dieser Blätter zu ermitteln.

Die Verwendung von Blattküvetten kann das Mikroklima der Blätter verändern (Smith und Allen 1996, Schurr 1998). Voraussetzung für vergleichbare Daten ist jedoch, daß die Transpirationsmessung unter den gleichen Klimabedingungen wie die Saftflußmessung durchgeführt werden. Um dies zu gewährleisten, wurde die Temperatur, die Feuchte und der CO<sub>2</sub>-Partialdruck in der Meßküvette so reguliert, daß sie den Bedingungen bei den Saftflußmessungen entsprachen (s. [2.13](#)). Die Lichtintensität war bei den Transpirationsmessungen aus methodischen Gründen (s. [3.2.4](#)) zwar höher ( $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) als unter ungestörten Bedingungen ( $170 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  an den oberen Blättern, variable Lichtintensität an den älteren Blättern aufgrund starker Selbstbeschattung und ständiger Blattbewegung), dies hatte jedoch keinen Einfluß auf die Transpirationsrate ([Abb. 3.12](#)). Die Transpirationsmessung erfolgte daher bei vergleichbaren Temperatur-, Feuchte-, CO<sub>2</sub>- und Beleuchtungsbedingungen wie die Saftflußmessungen. Trotzdem besteht bei Transpirationsmessungen mit Blattküvetten die Gefahr, den tatsächlichen Eintransport von Xylemsaft zu überschätzen, da der Gasstrom über die Blattoberfläche in der Küvette meist höher ist als unter ungestörten Bedingungen (Schurr 1998). Der Vergleich zwischen den in situ ermittelten Saftflußraten und den Transpirationsraten, zeigte jedoch, daß dies unter den gegebenen Bedingungen nicht zutraf ([Tab. 3.5](#): Abweichung -1 % bis max.

$\pm 30\%$ ). Vermutlich ist dies darauf zurückzuführen, daß die Pflanzen auch unter ungestörten Bedingungen einer starken Luftzirkulation in der Klimakammer ausgesetzt waren. Der Eintransport von Xylemsaft in einzelne Blätter kann daher anhand der Transpirationsrate abgeschätzt werden. Diese Daten wurden zur Berechnung der Nährstofftranslokationsraten in einzelne Blätter herangezogen (s. [3.4.4](#)).

Mit Ausnahme der NMR-Imaging-Technik (Köckenberg et al. 1997) kann bei allen Methoden zur Flußbestimmung im Xylem nicht zwischen aufwärtsgerichtetem Xylemtransport und abwärtsgerichtetem Phloemtransport unterschieden werden. Dies gilt auch für die „stem heat balance-Methode“. Die gemessenen Daten entsprechen daher dem Nettofluß von Flüssigkeit im untersuchten Sproßbereich. Im Vergleich zur Flußrate im Xylem ist die Flußrate im Phloem transpirierender Pflanzen gering. In *Rizinus* betrug der Phloemrücktransport von  $H_2O$  in die Wurzel nur 2 % des Xylemtransportes in den Sproß (Jeschke und Pate 1991a). Der aus dem abwärtsgerichteten Phloemfluß resultierende Fehler bei der Bestimmung der Flußraten im Xylem des Sprosses kann daher vernachlässigt werden (Percy et al. 1989).

#### 4.1.2.2 Bezugsparameter für die Berechnung von Nährstofftranslokationsraten

Die Zusammensetzung des Xylemsaftes und die Saftflußrate im Xylem konnten nicht gleichzeitig an denselben Pflanzen bestimmt werden. Zur Berechnung der Translokationsraten im Xylem mußten die Daten daher über pflanzeninterne Parameter (Frischgewicht) angeglichen werden.

Die Stoffkonzentrationen im Xylemsaft sind unabhängig von der Pflanzengröße. Im Gegensatz dazu ist die Flußrate im Xylem abhängig von der Transpiration der Blätter und sollte daher, unter identischen Klimabedingungen, eng mit der Blattmasse korreliert sein. In der Lichtphase ist die Transpiration die entscheidende Größe für den Xylemfluß. Das Absinken der Saftflußraten nach Beginn der Dunkelphase wird dagegen auf den Wechsel von transpirationsgetriebenem Saftfluß zu osmotisch getriebenem Saftfluß zurückgeführt (Crossett 1968). Bei den hier untersuchten Pappeln konnte jedoch auch in der Dunkelphase Transpiration der Blätter beobachtet werden ([Abb. 3.9](#)). Dies deutete darauf hin, daß auch in der Nacht der Saftfluß zu einem gewissen Anteil über die Transpiration angetrieben wird. Die Exsudationsrate nach Dekapitieren des Sprosses kann als Maß für den osmotisch angetriebenen Anteil des Saftflusses herangezogen werden (Else et al. 1995). Vergleicht man die Exsudationsraten mit den tatsächlichen Saftflußraten ([Tab. 4.1](#)), wird deutlich, daß bei den hier untersuchten Pappeln der Saftfluß auch in der Nacht vorwiegend (zu 88 %) über die Transpiration angetrieben wurde. Entsprechend bestand sowohl in der Lichtphase als auch in der Dunkelphase eine klare Korrelation

zwischen Saftflußrate und Blattfrischgewicht ([Abb. 3.11](#)). Da der Saftfluß in der Lichtphase zu einem größeren Anteil über die Transpiration angetrieben wurde (Tab. 4.1), war die Korrelation in der Lichtphase enger ([Abb. 3.11](#)).

**Tab. 4.1** Osmotisch angetriebener Anteil des Saftflusses im Xylem in der Licht- und in der Dunkelphase. Als Maß für den osmotisch angetriebenen Anteil des Saftflusses diente die Exsudationsrate nach Dekapitieren des Sprosses in der Licht- und Dunkelphase (s. [Abb. 3.6](#)). Die Saftflußraten entsprechen den in [Abb. 3.17](#) angegebenen Werten. Dargestellt ist jeweils die mittlere Rate in der Licht- und Dunkelphase  $\pm$  SD ( $n = 23-96$ ).

	in situ-Saftfluß (stem heat balance-Methode) (ml g <sup>-1</sup> Fwt. h <sup>-1</sup> )	osmotisch angetriebener Saftfluß (Exsudationsrate) (ml g <sup>-1</sup> Fwt. h <sup>-1</sup> )	Anteil am Saftfluß
Lichtphase	0,275 $\pm$ 0,026	0,016 $\pm$ 0,004	6 %
Dunkelphase	0,117 $\pm$ 0,014	0,014 $\pm$ 0,003	12 %

Die Ergebnisse zeigen, daß das Blattfrischgewicht im Licht und im Dunkeln als Bezugsgröße für den Saftfluß herangezogen werden kann. Das gleiche gilt auch für das Sproßfrischgewicht und das Gesamtfrischgewicht ([Tab. 3.4](#)), da die Frischgewichtsverteilung zwischen den verschiedenen Pflanzenorganen bei allen untersuchten Pappeln annähernd konstant war. Zur Berechnung der Nährstofftranslokationsraten wurden die an unterschiedlichen Pflanzen ermittelten Daten zum Xylemsaftzusammensetzung und zum Saftfluß daher über das Frischgewicht angeglichen (s. [2.14](#)).

#### 4.1.2.3 Analyse der Xylemsaftzusammensetzung durch Verwendung von Wurzel-druckexsudaten

Das Hauptproblem bei der Gewinnung von Xylemsaft besteht darin, daß der Druck im Xylem intakter transpirierender Pflanzen unterhalb des Atmosphärendrucks liegt (Zimmermann et al. 1994). Um einen Austritt von Xylemsaft (Exsudation) zu erreichen, muß der Druck im Xylemsaft künstlich über den Atmosphärendruck angehoben werden. Dies kann entweder durch Applikation von pneumatischem Druck im Wurzelraum erfolgen oder, wie in dieser Arbeit, durch Dekapitieren des Sprosses. Durch Abschneiden des Sprosses, d.h. des transpirierenden Gewebes fällt die negative Druckkomponente im Xylemsaft weg. Aufgrund des positiven Wurzeldrucks kann unter diesen Bedingungen bei vielen Pflanzen eine Exsudation von Xylemsaft aus der Schnittstelle beobachtet werden. Der „Wurzeldruck“ ist ein Resultat der Xylembeladung mit Ionen und anderen osmotisch wirksamen Substanzen. Dies führt zu einer erhöhten Konzentration im Xylem gegenüber dem Apoplasten im Zentralzylinder und bewirkt einen osmotisch getriebenen Wassereinstrom in die Xylemgefäße (Schurr 1998).

Ob durch Analyse von Wurzeldruckexsudat die tatsächliche Xylemsaftzusammensetzung intakter Pflanzen erfaßt werden kann, wird von vielen Autoren kritisch diskutiert (Schurr und Schulze 1995, Schurr 1998, Guzman et al. 1995, Else et al. 1994, Else et al. 1995). Folgende Faktoren können dabei zu Fehlern führen:

(1) Durch das Abschneiden werden Pflanzenzellen verletzt. Dies löst Wundreaktionen der Pflanze aus und kann zu einer Kontamination des Wurzeldruckexsudats führen. Besonders kritisch ist dabei die Verletzung der Rinde bzw. der Phloemgefäße, da die Stoffkonzentrationen im Phloem sehr viel höher sind als im Cytoplasma und im Xylem (Marschner 1995). Um die Kontaminationsgefahr so gering wie möglich zu halten, wird deshalb typischerweise die Schnittstelle gespült, getrocknet und/oder das direkt nach Abschneiden austretende Exsudat verworfen (Ferguson 1980, Anderson und Brodbeck 1989, Wolf et al. 1990a). Else et al. (1994) zeigte, daß bei Tomaten die erste Probe nach Dekapitieren tatsächlich kontaminiert war, die darauffolgenden Proben jedoch nicht mehr. Beide Maßnahmen zur Minimierung der Kontaminationsgefahr wurden bei der Gewinnung von Wurzeldruckexsudat an Pappeln durchgeführt (s. [2.4.1](#)). Eine Kontamination durch Phloembestandteile kann bei Pappeln vollkommen ausgeschlossen werden, da es aufgrund der verholzten Sproßbasis möglich war, die Rinde vollständig abzuschälen.

(2) Nach Abschneiden des Sprosses ist der Phloemimport in die Wurzel unterbrochen. Dies kann zu einem Mangel an Kohlehydraten für Stoffwechselfvorgänge (Energiegewinnung, Nährstoffassimilation, Xylembeladung etc.) führen. Auch ein direkter Effekt auf die Nährstoffkonzentration im Xylemsaft ist denkbar, da z.B. ein hoher Anteil der AS und von  $K^+$  im Xylem aus dem Phloemimport in die Wurzel stammt (Jeschke et al. 1985, Cooper und Clarkson 1989). Zusätzlich kann eine veränderte Nährstoffaufnahme die Nährstoffverfügbarkeit für die Xylembeladung herabsetzen. Das Dekapitieren kann die Nährstoffaufnahme z.B. über den Wegfall von Regulationssignalen aus dem Sproß (Marschner et al. 1996), einem limitiertem Energieangebot (Bloom und Caldwell 1988) oder über direkte Effekte auf das Membranpotential der Cortexzellen (Graham und Bowling 1977) beeinflussen. Bloom und Caldwell (1988) beobachteten, daß die Nettoaufnahmeraten für  $NO_3^-$ ,  $NH_4^+$  und  $K^+$ , die Wurzelrespiration sowie die Glucose- und Saccarosegehalte in Tomatenwurzeln erst 2 h nach Dekapitieren vermindert waren. In dieser Arbeit wurde Wurzeldruckexsudat bis maximal 20 min nach Dekapitieren gesammelt. Ein Einfluß auf die Xylemsaftzusammensetzung durch eine veränderte Nährstoffaufnahme oder Energielimitierung ist daher auszuschließen.

(3) Die Hauptfehlerquelle bei der Analyse von Wurzeldruckexsudaten besteht darin, daß das Abschneiden des Sprosses die Flußrate im Xylem stark herabsetzt. Die Stoffkonzentrationen im Xylem sind jedoch abhängig von der Flußrate, wobei die Konzentration mit steigender Flußrate zunehmend verdünnt wird (Fiscus 1975 und 1977,

Munns 1985). Entsprechend führt die verminderte Flußrate nach Dekapitieren zu einer Konzentrationszunahme im Wurzeldruckexsudat, so daß Wurzeldruckexsudate nicht die Xylemsaftzusammensetzung intakter Pflanzen reflektieren (Schurr und Schulze 1995, Schurr 1998). Diese Konzentrationszunahme wurde auch bei den hier untersuchten Pappeln beobachtet. Sie trat jedoch erst mit einer Zeitverzögerung von ca. 10 min auf ([Abb. 3.8](#)), was vermutlich auf ein hohes Gesamtvolumen in den Xylemgefäßen von Pappeln zurückzuführen ist. Im Vergleich zu jungen krautigen Pflanzen hatten die untersuchten Pappeln ein großes Wurzelsystem (ca. 40 g). Daher war das Volumen in den Xylemgefäßen vergleichsweise hoch, besonders in den Grobwurzeln mit sekundärem Dickenwachstum. Das apoplastische Volumen entspricht etwa 5 % des Gesamtvolumens der Wurzel (Grignon und Sentenac 1991). Unter der Annahme, daß das Wurzelgewebe eine Dichte von 1 hat, würde das apoplastische Volumen einer 40 g schweren Wurzel 2 ml betragen. Auch unter Berücksichtigung, daß nicht alle Xylemgefäße dem Nährstofftransport dienen und das Volumen in den Zellwänden einen gewissen Anteil am Wurzelapoplasten hat, kann das Volumen leitender Xylemgefäße höher eingeschätzt werden, als das über 10 min gewonnene Volumen an Wurzeldruckexsudat. Dies lag bei einer 40 g schweren Wurzel bei ca. 0,2 ml ([Abb. 3.4](#)) und entspricht damit nur 10 % des kalkulierten apoplastischen Gesamtvolumens.

Wurzeldruckexsudat, das innerhalb von 10 min nach Dekapitieren gewonnen wird, entspricht daher dem Xylemsaft in intakten Pflanzen. Bei den Versuchen zum Einfluß des Tagesgangs auf die Nährstoffkonzentration in Xylemsaft wurden alle Proben bis 10 min nach Dekapitieren gewonnen ([Abb. 3.14](#)). Die auf dieser Basis berechneten Nährstofftranslokationsraten entsprechen deshalb denen von intakten Pflanzen ([Abb. 3.18](#)). Bei den Versuchen zum Einfluß des Nährstoffangebots auf die Xylemsaftzusammensetzung wurde Wurzeldruckexsudat teilweise zwischen 10 - 20 min nach Dekapitieren gewonnen (das Sammelintervall ist bei den einzelnen Experimenten angegeben). Da bei diesen Proben methodisch bedingte Artefakte nicht vollständig ausgeschlossen werden können, dienten identisch behandelte Kontrollpflanzen als Referenz.

Die in [Abb. 3.8](#) gezeigten Daten zur zeitabhängigen Konzentrationszunahme im Wurzeldruckexsudat dienten dazu, die Qualität des Wurzeldruckexsudats zu charakterisieren (s.o.). Die tageszeitbedingten Variationen geben jedoch auch Aufschluß über mögliche diurnale Änderungen bei der Xylembeladung mit Nährstoffen.

Um 10.00 Uhr und 18.00 Uhr war die Saffflußrate und auch die Transpirationsrate intakter Pappeln gleich ([Abb. 3.17](#) und [Abb. 3.19](#)). Auch die Exsudationsrate nach Dekapitieren der Pflanzen blieb annähernd konstant ([Abb. 3.6](#)). Das Abschneiden des Sprosses führte daher zu beiden Tageszeiten zu einer identischen Abnahme der Flußrate im Xylem. Bei gleicher Xylembeladung wäre unter diesen Bedingungen zu beiden Tageszeiten eine

identische Konzentrationszunahme im Wurzeldruckexsudat zu erwarten gewesen. Dies war aber nicht der Fall. Die Zunahme der Nährstoffkonzentration bis 30 min nach Dekapitieren war um 18.00 Uhr deutlich geringer als um 10.00 Uhr ([Tab. 3.3](#)). Dieser Befund deutet darauf hin, daß die Nährstoffbeladung des Xylems im Verlauf der Lichtphase abnimmt. Bei den untersuchten Pappeln wurde der Saftfluß auch in der Nacht zu einem hohen Anteil über die Transpiration angetrieben ([Tab. 4.1](#)). Entsprechend dazu wäre auch in der Nacht ein Konzentrationsanstieg im Wurzeldruckexsudat nach Dekapitieren zu erwarten gewesen. Die Nährstoffkonzentrationen im Wurzeldruckexsudat blieb jedoch über 30 min konstant oder stieg nur geringfügig an ([Tab. 3.3](#): 2.00 Uhr). Auch dies könnte auf eine verminderte Xylembeladung in der Nacht zurückzuführen sein. Die beschriebenen Daten können als ein Indiz für eine tageszeitabhängige Regulation der Xylembeladung mit Nährstoffen herangezogen werden. Dieser Aspekt wird in Kapitel [4.3.3](#) ausführlich diskutiert.

## 4.2 Stickstofftransport im Xylem nitraternährter Pappeln

### 4.2.1 Ort der $\text{NO}_3^-$ -Assimilation

In welcher Form Stickstoff bei nitraternährten Pflanzen in den Sproß transportiert wird hängt maßgeblich davon ab, in welchem Pflanzenorgan (Wurzel oder Blatt) die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion erfolgt. Bei  $\text{NH}_4^+$  als N-Quelle im Wurzelraum wird Stickstoff dagegen ausschließlich in der Wurzel assimiliert (Lee und Ratcliff 1991).

Bei der Verteilung der  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation zwischen Wurzel und Sproß bestehen artspezifische Unterschiede (Pate 1973, Smirnov und Stewart 1985, Andrews 1986, Andrews et al. 1992). Bei krautigen Pflanzen gemäßiger Klimate kann das Verhältnis zwischen  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation sehr unterschiedlich sein. Bei einem  $\text{NO}_3^-$ -Angebot von 1 mM erfolgt die  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation beispielsweise bei *Lupinus* und *Vicia* überwiegend in der Wurzel, bei *Xanthium* und *Stellaria* dagegen vorwiegend im Sproß (Pate 1973, Andrews 1986). Im Gegensatz dazu ist bei mehrjährigen holzigen Arten gemäßiger Klimate die Wurzel der bevorzugte Ort der  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion (Pate 1973, Andrews 1986). Beispiele für Bäumen geben die Untersuchungen von Scheromm und Plassard (1988) an *Pinus* und von Gojon et al. (1991) an *Prunus persica*. Bei beiden Baumarten wurde  $\text{NO}_3^-$  bei einem externem Angebot von ca. 1 mM vorwiegend in der Wurzel reduziert. Andererseits fanden Glavac und Jochheim (1993) hohe  $\text{NO}_3^-$ -Konzentrationen im Xylemsaft des unteren Sproßbereichs von Buchen (ca. 35 % der Gesamt-N-Konzentration), was auf einen deutlichen Anteil des Sprosses bei der  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation schließen läßt. Dies zeigt, daß auch bei Bäumen der Sproß eine wichtige Funktion bei der  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion haben kann. Die Befunde der vorliegenden Arbeit bestätigen dies. Ähnlich wie bei Buchen (Glavac und

Jochheim 1993) wurde bei dem hier untersuchtem Pappelklon (*Populus tremula* x *Populus alba*) ein hoher  $\text{NO}_3^-$ -Anteil im Xylemsaft ermittelt (52 %, s. [Tab. 3.11](#): Kontrolle). Diese Daten entsprechen den Befunden an ähnlich alten Balsampappeln (*Populus trichocarpa*), die unter gleichen Bedingungen angezogen wurden (Langheinrich 1991). Das Verhältnis zwischen  $\text{NO}_3^-$  und Amino-N im Xylemsaft reflektiert jedoch nicht das Verhältnis zwischen N-Assimilation in Wurzel und Sproß, da Amino-N zwischen Wurzel und Sproß zirkuliert (Simpson et al. 1982, Larson et al. 1991, Marschner et al. 1997). Ein Teil der reduzierten N-Verbindungen im Xylemsaft entspricht daher Amino-N aus dem Sproß (Cooper und Clarkson 1989). Das Verhältnis von  $\text{NO}_3^-$  zu Amino-N im Xylemsaft führt deshalb zu einer Überschätzung der tatsächlichen  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion in der Wurzel (van Beusichem et al. 1988). Dies wird deutlich, wenn man die Verteilung der NR-Aktivität als Maß für die  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation in Wurzel und Sproß heranzieht (s. [3.5](#)). Berechnet anhand der NR-Aktivität, erfolgte die  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation im untersuchten Pappelklon zu 92 % in den Blättern und nur zu 8 % in den Feinwurzeln ([Tab. 3.6](#)). Die NR-Aktivität in den Blättern wurde dabei „in vitro“ bestimmt, wogegen die NR-Aktivität in den Feinwurzeln „in vivo“ ermittelt wurde. Vorversuche zeigten jedoch, daß die NR-Aktivität in Blättern im „in vivo“- und im „in vitro“-Test identisch war (s. [3.2.5](#)). Die in [Tab. 3.6](#) angegebene NR-Aktivität in Blättern und Feinwurzeln sind daher direkt vergleichbar und reflektieren die „in vivo“-Situation.

Aber auch mit der NR-Aktivität als Indikator für die  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation kann keine exakte quantitative Aussage zur Verteilung der  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation zwischen Sproß und Wurzel getroffen werden. Da die  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation in den jüngeren Pappelblättern auf eine kontinuierliche  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr durch das Xylem angewiesen war (s. [3.4.3](#)), mußte die NR-Aktivität mit Zusatz von  $\text{NO}_3^-$ , d.h. ohne Substratlimitierung, bestimmt werden. Die ermittelten Daten geben daher die maximal erreichbaren Aktivitäten in der Wurzel und im Sproß wieder. Ob die  $\text{NO}_3^-$ -Anlieferung durch das Xylem unter lebenden Bedingungen („in situ“) ausreichend war, maximale  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation im Sproß zu ermöglichen, ist jedoch fraglich. Aufschluß gibt der Vergleich zwischen der NR-Aktivität und den tatsächlichen  $\text{NO}_3^-$ -Eintransportraten in die Blätter ([Abb. 3.29](#)). Die Daten zeigen, daß die  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation der jüngsten Blätter durch die  $\text{NO}_3^-$ -Verfügbarkeit limitiert war, wogegen die  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr in älteren Blättern der maximal möglichen Umsatzrate entsprach. Eine Substratlimitierung der NR-Aktivität in der Wurzel ist dagegen unwahrscheinlich, da die  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahmerate in die Wurzel 12fach höher war als die maximal mögliche Umsatzrate in den Feinwurzeln (NRA:  $0,5 \mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1}\text{Fwt. Feinwurzeln}$ , [Tab. 3.6](#) -  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme:  $6 \mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1}\text{Fwt. Feinwurzeln}$  bzw.  $0,7 \mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1}\text{Fwt.gesamt}$ , [Abb. 3.20](#)). Die Verwendung der NR-Aktivität als Maß für die Verteilung der  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation zwischen Wurzel und Sproß könnte daher zu einer Überschätzung der tatsächlichen  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation im Sproß geführt haben.

Andererseits konnten in der Wurzel maximal 8 % vom aufgenommenem  $\text{NO}_3^-$  auch umgesetzt werden (s.o.: NRA im Vergleich zur  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahmerate). Dies entsprach genau der durch die NR-Aktivität ermittelten Verteilung der  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation zwischen Wurzel und Sproß ([Tab. 3.6](#): 92 % in den Blättern, 8 % in den Feinwurzeln).

Berücksichtigt man alle hier vorgelegten Daten, wird deutlich, daß  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation beim untersuchten Pappelklon fast ausschließlich (vermutlich zu über 90 %) im Sproß erfolgte. Diese Schlußfolgerung wird dadurch bestätigt, daß die Aufnahmerate in die Wurzel der berechneten Transportrate im Xylem entsprach (s. [3.3.5](#)). Der Vergleich der zur Interpretation herangezogenen Befunde ist zulässig, da alle Daten zu einer ähnlichen Tageszeit ermittelt wurden.

Wie ist dieser für Bäume ungewöhnlich hohe Anteil des Sprosses bei der  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion der untersuchten Pappeln zu erklären?

Bei der Interpretation der Daten müssen die Anzuchtbedingungen und das Alter der Pappeln berücksichtigt werden, da beide Faktoren einen starken Einfluß auf die Verteilung der  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion zwischen Sproß und Wurzel ausüben (Lexa und Cheeseman 1997). Beispielsweise steigt der Anteil der  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion in Sojawurzeln mit zunehmendem Alter an (Hunter et al. 1982). Auch eine geringere Temperatur im Wurzelraum als in der Luft führt zu einer gesteigerten  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation in der Wurzel (Deane-Drummond et al. 1980). Am besten beschrieben ist der Einfluß des  $\text{NO}_3^-$ -Angebots. Bei vielen krautigen Pflanzen (Wallace und Pate 1965, Oscarson und Larson 1986, Andrews et al. 1992, Peuke et al. 1994, 1996, Agrell et al. 1997) und auch in Bäumen (Gojon et al. 1991) nimmt die Funktion des Sprosses bei der  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion mit steigendem  $\text{NO}_3^-$ -Angebot zu. Aber nicht nur das  $\text{NO}_3^-$ -Angebot, sondern auch die Verfügbarkeit anderer Ionen beeinflussen das Verhältnis der  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion zwischen Wurzel und Sproß. Das wichtigste Beispiel hierfür ist die Verfügbarkeit von  $\text{K}^+$  als Gegenkation für den  $\text{NO}_3^-$ -Transport im Xylemsaft.  $\text{K}^+$ -Mangel führt zu einem verminderten  $\text{NO}_3^-$ -Transport in den Sproß und bewirkt eine erhöhte  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation in der Wurzel (Rufty et al. 1981, Förster und Jeschke 1993). In einem ähnlichen Zusammenhang kann auch der stimulierende Effekt von Salzstreß auf die  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation in der Wurzel interpretiert werden. Ein verminderter  $\text{NO}_3^-$ -Transport im Xylem aufgrund erhöhten  $\text{Cl}^-$ -Transports im Xylem (Peuke et al. 1996) oder Inhibierung der  $\text{K}^+$ -Aufnahme (Cramer und Lips 1995, Cramer et al. 1995) durch hohe externe NaCl-Konzentrationen führt zu einer verstärkten  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation in der Wurzel. Hohe externe Salzkonzentrationen haben jedoch aufgrund einer verminderten  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme und einer reduzierten Transpiration der Blätter auch einen direkten Effekt auf den  $\text{NO}_3^-$ -Fluß ins Xylem und den Transport in den Sproß wodurch die  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation in der Wurzel stimuliert wird (Cramer und Lips 1995, Cramer et al. 1995).

Die hier untersuchten jungen Pappeln (Alter: 3-4 Monate) wurden hydroponisch (N-Quelle: 1 mM  $\text{NO}_3^-$ ) unter kontrollierten Klimabedingungen (22°C am Tag, 18°C in der Nacht) angezogen. Das  $\text{K}^+$ -Angebot in der verwendeten Nährlösung war ausreichend, um einen maximalen  $\text{NO}_3^-$ -Transport in den Sproß zu ermöglichen. Dies wurde daran deutlich, daß die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft trotz erhöhtem  $\text{K}^+$ -Angebot konstant blieb ([Tab. 3.9](#)). Alle diese Faktoren begünstigen die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion im Sproß. Der deutlich höhere Anteil der  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation im Sproß kann daher auf das geringe Alter der untersuchten Pappeln (Hunter et al. 1982), die hohe Temperatur im Wurzelraum (Deane-Drummond et al. 1980), eine hohe  $\text{NO}_3^-$ -Verfügbarkeit (Peuke et al. 1994, Gojon et al. 1991) und eine optimale  $\text{K}^+$ -Versorgung (Rufty et al. 1981, Förster und Jeschke 1993) zurückzuführen sein. Die erhaltenen Befunde sind daher nicht mit denen an adulten Bäumen im Freiland zu vergleichen. Unter Freilandbedingungen kann eine geringe  $\text{NO}_3^-$ -Verfügbarkeit in Böden und eine geringe Bodentemperatur zu einer verminderten  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme führen (Geßler et al. 1998a und 1998b) und damit auch die Verteilung der  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation beeinflussen.

Das Alter und die Anzuchtbedingungen haben zwar einen erheblichen Einfluß, sie sind jedoch nicht allein bestimmend für die Verteilung der  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion zwischen Sproß und Wurzel. Dies wird deutlich, wenn man die Befunde der hier untersuchten Pappelart mit den Ergebnissen von Gojon et al. (1991) an 2 Monate alten Pfirsichbäumen (*Prunus persica*) vergleicht. Die Verteilung der  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion zwischen Wurzel und Sproß in *Prunus* wurde durch  $^{15}\text{N}$ -Markierung unter vergleichbaren Bedingungen wie in Pappeln ermittelt (hohe Temperatur im Wurzelraum,  $\text{NO}_3^-$ -Angebot in der NL: 0,5, 1,5 oder 10 mM, hohe  $\text{K}^+$ -Versorgung). Die Funktion des Sprosses bei der  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation stieg mit zunehmenden  $\text{NO}_3^-$ -Angebot zwar an, aber selbst bei 10 mM externem  $\text{NO}_3^-$  erfolgte  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion nur zu 42 % im Sproß. Bei 1,5 mM  $\text{NO}_3^-$  wurden nur 23 % vom aufgenommenen  $\text{NO}_3^-$  im Sproß reduziert (Gojon et al. 1991). Bei Pappeln dagegen erfolgte  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation schon bei 1 mM externem  $\text{NO}_3^-$  fast vollständig im Sproß (s.o.). Trotz vergleichbaren Alters und ähnlicher Wachstumsbedingungen unterscheiden sich die beiden Baumarten daher deutlich bei der Verteilung der  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion zwischen Wurzel und Sproß. Der Grund dafür ist vermutlich der unterschiedliche  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf bzw. die unterschiedliche Wachstumsrate der beiden Arten. Nach Gojon et al. (1991) ist die hohe  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion in der Wurzel von *Prunus* nicht auf eine artspezifisch höhere Kapazität für  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion in diesem Pflanzenorgan zurückzuführen, sondern ist vielmehr ein Ergebnis der geringen  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahmerate aufgrund des geringen  $\text{NO}_3^-$ -Bedarfs in *Prunus*. Eine verminderte  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme führt zu einem verminderten  $\text{NO}_3^-$ -Fluß in den Zentralzylinder was wiederum eine verstärkte Konkurrenz zwischen  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion im Wurzelgewebe und  $\text{NO}_3^-$ -Transport in den Sproß zur Folge hat. Entsprechend der Hypo-

these von Gojon et al. (1991) ist daher der  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf bzw. die Wachstumsrate ausschlaggebend für die Verteilung der  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion zwischen Wurzel und Sproß. Im Vergleich zu anderen Bäumen sind Pappeln extrem schnellwüchsig. Entsprechend dazu wird  $\text{NO}_3^-$  mit einer ähnlich hohen Rate wie bei schnellwüchsigen krautigen Arten aufgenommen. Bei den hier untersuchten Pappeln lag die Aufnahmerate in der Lichtphase bei ca.  $6 \mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1}$  Fwt. Feinwurzeln. Bei Gerste und Zuckerrüben wurden unter vergleichbaren experimentellen Bedingungen Aufnahmeraten von  $8 \mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1}$  Fwt. Wurzel (Siebrecht et al. 1995) bzw.  $5 \mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1}$  Fwt. Wurzel (Mäck und Tischner 1990) ermittelt. In *Prunus* lag die maximale  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahmerate dagegen nur bei  $1,6 \mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1}$  Fwt. Feinwurzeln (Gojon et al. 1991).

Daß die untersuchten junge Pappeln  $\text{NO}_3^-$  vorwiegend im Sproß reduzieren, ist durch den hohen  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf für schnelles Wachstum begründet, wobei die gewählten Wachstumsbedingungen (hohe  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{K}^+$ -Verfügbarkeit, hohe Wurzeltemperatur) begünstigend auf die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion im Sproß wirken.

#### 4.2.2 N-Transportformen im Xylem

Da in nitraternährten Pappeln der Sproß der Hauptort der  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion ist (s. [4.2.1](#)), wurde Stickstoff überwiegend in Form von  $\text{NO}_3^-$  in den Sproß transportiert ([Tab. 3.11](#): 52 %  $\text{NO}_3^-$  von Gesamt-N).

$\text{NH}_4^+$  konnte entweder nicht oder nur in sehr geringen Konzentrationen im Xylemsaft nachgewiesen werden (0,2 % der Gesamt-N-Konzentration, [Tab. 3.11](#)). Dies entspricht den Befunden an fast allen anderen krautigen und holzigen Arten (Geßler et al. 1998a, Peuke und Jeschke 1993). Es wird daher als gesichert angesehen, daß  $\text{NH}_4^+$  keine Funktion als N-Transportform für den Langstreckentransport hat (Sechley et al. 1992, Oaks 1994, Glass und Siddiqui 1995, Marschner 1995, Lam et al. 1996). Dies gilt sowohl bei  $\text{NH}_4^+$ -Aufnahme aus dem Medium ( $\text{NH}_4^+$ -Ernährung) als auch für freigesetztes  $\text{NH}_4^+$  aus der  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation in der Wurzel ( $\text{NO}_3^-$ -Ernährung). Bei der  $\text{NH}_4^+$ -Assimilation werden etwa äquimolare Mengen an Protonen freigesetzt (Raven 1986). Um den pH-Wert im Cytosol aufrechtzuerhalten, müssen diese entfernt werden. In der Wurzel kann dies durch  $\text{H}^+$ -Abgabe ins Medium erfolgen (Raven und Smith 1976, Marschner et al. 1991). Der Sproß dagegen besitzt nur eine eingeschränkte Kapazität überschüssige Protonen zu neutralisieren (Raven 1986). Für Pflanzen ist es daher günstiger  $\text{NH}_4^+$  in der Wurzel zu assimilieren und dann in Form reduzierter N-Verbindungen in den Sproß zu transportieren. Eine Ausnahme davon scheint *Brassica napus* zu sein, wo bei hoher externer  $\text{NH}_4^+$ -Konzentrationen (12 mM) bis zu 8 mM  $\text{NH}_4^+$  im Xylemsaft nachgewiesen wurde. Dies entsprach einem Anteil von 11 % der Gesamt-N-Konzentration (Finnemann und Schjoerring 1999).

**Reduzierte N-Verbindungen** als Transportform im Xylem haben meist ein hohes N:C-Verhältnis ( $\geq 0,4$ ) um einen effektiven N-Transport bei minimaler Festlegung von C-Skeletten zu ermöglichen (Pate 1972). Entsprechend der bevorzugt transportierten N-Verbindung im Xylemsaft werden Bäume in drei Typen eingeteilt (Reuter und Wolfgang 1954, Reuter 1957). (1) Citrullin-Typ: Transport von Citrullin, N:C = 0,5; (2) Allantoin-Typ: Transport von Allantoin bzw. Allantoinsäure, N:C = jeweils 1; (3) Amid-Typ: Transport von Glutamin und Asparagin, N:C = 0,4 bzw. 0,5.

In *Populus deltoides* liegt der Glutaminanteil im Xylemsaft bei 60 - 70 % vom Gesamt-Amino-N, den zweithöchsten Anteil hat Asparagin (Dickson 1979). Auch in *Populus trichocarpa* ist Glutamin die bevorzugte Transportform für reduzierten Stickstoff (Vogl und Börtz 1963) und entspricht 80 % der Gesamt-Amino-N-Konzentration (Langheinrich 1991). Pappeln sind daher dem Amid-Typ zuzuordnen. Dies wird durch die Befunde der vorliegenden Arbeit bestätigt. Bei der hier untersuchten Pappelart (*Populus tremula* x *Populus alba*) wurde reduzierter Stickstoff zu 92 % in Form von Glutamin (68 %) und Asparagin (24 %) in den Sproß transportiert ([Tab. 3.11](#): Kontrolle).

Die dominante Rolle der Amide, insbesondere Glutamin, beim Langstreckentransport im Xylem zeigt sich auch bei vielen krautigen Pflanzen (Peuke und Jeschke 1993) und anderen Baumarten, wie *Fagus sylvatica*, *Picea abies* (Schneider et al. 1996, Weber et al. 1998, Geßler et al. 1998a) und *Salix* (Sauter 1981). Die Amino-N-Zusammensetzung im Xylemsaft variiert jedoch im Freiland in Abhängigkeit von der Jahreszeit. Beispielsweise treten bei *Salix* jahresperiodische Schwankungen des Glutaminanteils im Xylemsaft zwischen 1 - 77 % auf, wobei die höchsten Anteile ( $> 65$  %) während des Blattaustriebs ermittelt werden (Sauter 1981). Glutamintransport scheint daher mit gesteigertem N-Bedarf für Wachstumsprozesse zu korrelieren.

Insgesamt lag der Anteil reduzierter N-Verbindungen im Xylemsaft nitraternährter Pappeln bei 48 % der Gesamt-N-Konzentration. Die restlichen 52 % entsprachen  $\text{NO}_3^-$  ([Tab. 3.11](#)). Im Gegensatz zu  $\text{NO}_3^-$  können reduzierte N-Verbindungen via Phloem und Xylem zwischen Wurzel und Sproß zirkulieren (Simpson et al. 1982, Larson et al. 1991, Marschner et al. 1997). Ein Teil der reduzierten N-Verbindungen im Xylemsaft entspricht daher Amino-N aus dem Sproß. Untersuchungen an Weizen und Reis zeigen, daß dieser Anteil über 60 % der Amino-N-Konzentration im Xylemsaft ausmachen können (Cooper und Clarkson 1989). Wie unter [4.2.1](#) erläutert, erfolgte die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion und damit die Synthese von Amino-N-Verbindungen bei den hier untersuchten Pappeln fast ausschließlich im Sproß. Es ist daher davon auszugehen, daß der Hauptanteil der Amino-N-Fraktion im Xylemsaft der Pappeln im Sproß synthetisiert, über das Phloem in die Wurzel transportiert und dann ins Xylem geladen wurde.

#### 4.3 Einfluß des Tagesgangs auf den Nährstofftransport von der Wurzel in den Sproß

Der Einfluß des Tagesgangs auf die Nährstoffaufnahme und -assimilation ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Die  $\text{NO}_3^-$  (Pearson und Steer 1977, Clement et al. 1978, Delhon et al. 1995ab und 1996ab, Ourry et al. 1996) und  $\text{K}^+$ -Aufnahme (Le Bot und Kirkby 1992) zeigen eine deutliche Abhängigkeit vom Tagesgang. Das gleiche gilt für die  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation (Hagemann et al. 1961, Lillo 1994). Auch zum Einfluß der Tageszeit auf den N-Transport in den Sproß liegen Daten vor. Die N-Translokationsrate in den Sproß wurde meist über die Akkumulation von  $^{15}\text{N}$  im Sproß ermittelt (Ruffy et al. 1984, Delhon et al. 1995a). Bei dieser Methode kann allerdings nicht zwischen den beiden bestimmenden Prozessen (Nährstoffbeladung und Wasserfluß) für den Transport in den Sproß unterschieden werden. Außerdem ist die Zeitauflösung relativ gering, so daß nur Veränderungen zwischen Tag und Nacht ermittelt werden. In dieser Arbeit wurde die Konzentration aller Makronährstoffe im Xylemsaft und die Saftflußrate getrennt untersucht und daraus die Translokationsrate im Xylem berechnet. Dadurch ist es möglich, Aussagen zur diurnalen Regulation der Xylembeladung zu treffen. Beide Größen wurden mit hoher Zeitauflösung ermittelt, so daß auch Variationen während der Licht- und Dunkelphase erfaßt wurden.

Der Einfluß des Tagesgangs wird im Folgenden zuerst getrennt für die Xylemsaftzusammensetzung und den Saftfluß und danach in Relation zueinander, im Hinblick auf die Regulation der Xylembeladung und die Nährstofftranslokation in den Sproß, diskutiert.

##### 4.3.1 Xylemsaftzusammensetzung im Tagesgang

Der Einfluß der Tageszeit auf die Nährstoffaufnahme, -assimilation und -translokation in den Sproß ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen (s.o.). Daten zur Xylemsaftzusammensetzung im Tagesgang sind jedoch selten (Mattson et al. 1988, Andersen und Brodbeck 1989, Masuda und Shimada 1993, Schurr und Schulze 1995) und wurden z.T. an isolierten Wurzelsystemen ermittelt, was zu methodischen Artefakten führen kann (Schurr 1998). Auch in dieser Arbeit wurde der Xylemsaft nach Abschneiden des Sprosses gewonnen, jedoch nur über ein Intervall von 10 min. Die Daten entsprechen daher der Xylemsaftzusammensetzung intakter Pappeln (s. [4.1.2.3](#)).

Quantitativ gesehen ist Stickstoff der wichtigste bodenbürtige Nährstoff für Pflanzen und wird bei nitraternährten Pappeln vorwiegend in Form von  $\text{NO}_3^-$  in den Sproß transportiert (s. [4.2.1](#)). Dem entsprechend war  $\text{NO}_3^-$  das dominante Anion im Xylemsaft ([Abb. 3.15](#): 26 % der Gesamtnährstoffkonzentration), höhere Konzentrationen wurden nur für  $\text{K}^+$  gemessen (46 % der Gesamtnährstoffkonzentration). Anders als  $\text{NO}_3^-$  dient  $\text{K}^+$  nicht dem Aufbau von Zellkomponenten sondern hat eine wichtige Funktion als Osmotikum und

beim Ladungsausgleich. Die hohe  $K^+$ -Konzentration im Xylemsaft ist auf dessen Funktion zum Ausgleich negativer Ladungsäquivalente, insbesondere der hohen  $NO_3^-$ -Konzentration, zurückzuführen (Frost et al. 1978, Ruffy et al. 1981, Casadesus et al. 1995). Entsprechend ihrer quantitativ geringeren Bedeutung, lag der Anteil der anderen Makronährstoffe im Xylemsaft zwischen 5 - 8 % ([Abb. 3.15](#)).

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, daß die Konzentration aller Makronährstoffe im Wurzeldruckexsudat einer ähnlichen Tagesperiodik unterliegen ([Abb. 3.14](#)). Entsprechend dazu blieb das Verhältnis zueinander über die Licht/Dunkelphase konstant ([Abb. 3.15](#)).

Die Konzentration der verschiedenen Ionen war Vormittags am höchsten und sank dann trotz gleichbleibender Klimabedingungen bis zum Ende der Lichtphase ab ([Abb. 3.14](#)). Für  $NO_3^-$  wurde auch im Wurzeldruckexsudat von 2 Jahre alten Weinstöcken eine ähnliche Abhängigkeit in der Lichtphase beobachtet (Andersen und Brodbeck 1989). Auch in intakten Rizinuspflanzen sanken die  $NO_3^-$  und  $K^+$ -Konzentrationen trotz gleichbleibender Klimabedingungen während der Belichtungsphase ab, bei der Konzentration anderer Makronährstoffe ergab sich jedoch kein homogenes Bild (Schurr und Schulze 1995). Die Konzentration von  $Ca^{2+}$  und  $Mg^{2+}$  blieb in der Lichtphase annähernd konstant, die Konzentration von  $H_2PO_4^-$  und  $SO_4^{2-}$  variierte hingegen von Tag zu Tag.

Bei den hier untersuchten Pappeln stieg mit Beginn der Dunkelphase die Konzentration aller Nährstoffe im Wurzeldruckexsudat an und erreichte ähnlich hohe Werte wie im Tagesmaximum ([Abb. 3.14](#)). Dies korreliert mit Untersuchungen an hydroponisch angezogenen Gerstenkeimlingen, wonach die  $NO_3^-$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat in der Mitte der Lichtphase und in der Dunkelphase identisch ist (Mattsson et al. 1988). Davon abweichende Befunde wurden jedoch von Schurr und Schulze (1995) an Rizinus ermittelt. Im Xylemsaft intakter Rizinuspflanzen war die  $H_2PO_4^-$ -,  $SO_4^{2-}$ -,  $Mg^{2+}$ - und  $Ca^{2+}$ -Konzentration in der Nacht generell höher und die  $NO_3^-$ - und  $K^+$ -Konzentration deutlich geringer als am Tag. Diese offensichtliche Diskrepanz zwischen den Daten an Rizinus und den hier untersuchten Pappeln kann neben artspezifischen Unterschieden auch auf eine unterschiedliche Nährstoffverfügbarkeit zwischen Hydrokultur (Pappel) und festem Substrat mit wiederholtem Gießen mit NL (Rizinus) zurückzuführen sein.

#### 4.3.2 Saffflußrate im Tagesgang

Der Safffluß in Pappeln wird sowohl am Tag als auch in der Nacht fast ausschließlich über die Transpiration der Blätter angetrieben (vergl. Tab. 4.1). Änderungen der Saffflußrate bei Licht/Dunkelwechsel sollten daher den Einfluß des Lichtes auf die Transpiration bzw. die stomatare Leitfähigkeit reflektieren. Dies wurde durch vergleichende Messungen

zwischen Saftfluß im Xylem und Transpiration der Blätter bestätigt. Der Saftfluß reagierte ähnlich schnell ([Abb. 3.17](#): im Bereich von 20 min) wie die Transpiration der Blätter ([Abb. 3.19](#):  $\leq 15$  min) auf Änderungen der Beleuchtung. Belichtung führte zwar zu einem deutlichem Anstieg der Flußrate im Xylem, die Saftflußrate in der Nacht war jedoch nur 60 % geringer als am Tag. Dieser relativ geringe Unterschied kann folgendermaßen erklärt werden: Neben der stomatären Transpiration kann Wasserabgabe auch über die Cuticula der Blattepidermis erfolgen. Die Anteil der cuticulären Transpiration ist normalerweise gering (5 - 10 %, Nulsch 1986). Die hier untersuchten Pappeln wurden jedoch in Hydrokultur bei einer hohen Luftfeuchte von 60 - 70 % angezogen. Die Cuticula war daher vermutlich wenig stark ausgebildet, so daß von einer relativ hohen cuticulären Transpiration ausgegangen werden muß. Anders als die stomatäre Transpiration ist die cuticuläre Transpiration nicht lichtreguliert und erfolgt daher im gleichen Maße am Tag und in der Nacht. Die hohen Saftflußraten in der Nacht sind daher vermutlich auf eine hohe cuticuläre Transpiration der Pappeln zurückzuführen. Für diese Hypothese spricht, daß die Unterschiede in der Transpirationsrate zwischen verschiedenen alten Blättern mit unterschiedlicher Photosyntheseleistung (Stomataöffnung im Licht) in der Nacht weniger stark ausgeprägt waren als am Tag ([Abb. 3.19](#)). Ähnlich hohe Saftflußraten in der Nacht, wie bei den hier untersuchten Pappeln, wurden auch bei Soja (Delhon et al. 1995b) und *Lolium perenne* (Ourry et al. 1996) unter vergleichbaren Klimabedingungen in Hydrokultur ermittelt.

Trotz gleichbleibender Klimabedingungen stieg die Saftflußrate von Pappeln in der Lichtphase bis ca. 16.00 Uhr um 20 % an und sank dann bis zum Ende der Lichtphase wieder auf den Ausgangswert ab ([Abb. 3.17](#)). Dies entspricht den Befunden an Soja (Delhon et al. 1995b). Die Transpirationsrate der Pappelblätter blieb jedoch in der Lichtphase annähernd konstant ([Abb. 3.19](#)). Wie ist diese Diskrepanz zu erklären? Die Transpirationsraten wurden nur für 2 Blattalterstadien bestimmt. Es ist daher möglich, daß die so ermittelten Daten nicht die Gesamttranspiration aller Blattalterstadien widerspiegeln. Möglich wäre auch, daß die hohen Saftflußraten in der zweiten Hälfte der Lichtphase auf einen verminderten Phloemrücktransport in die Wurzel zurückzuführen sind (bei der Saftflußmessung kann nicht zwischen aufwärtsgerichtetem Xylemtransport und abwärtsgerichtetem Phloemtransport unterschieden werden, s. [4.1.2.1](#)). Dies ist jedoch unwahrscheinlich, da der Volumenfluß im Phloem sehr viel geringer als im Xylem ist. Unter transpirierenden Bedingungen liegt der Anteil des Phloemrücktransports in die Wurzel zwischen 2 - 3 % (Münch 1927, Jeschke und Pate 1991a) und 9 % (Tanner und Beevers 1990) der Wasseraufnahme der Wurzel. Entsprechend diesen Angaben, kann verminderter Phloemrückfluß nicht zu einer 20 %igen Zunahme des Nettoflusses von Wasser in den Sproß führen. Wasser wird jedoch nicht nur für die Transpiration benötigt,

sondern auch z.B. für die Photosynthese und das Streckungswachstum der Zellen. Die Photosyntheserate der Pappelblätter blieb in der Lichtphase konstant ([Abb. 3.19](#)), ein veränderter Wasserbedarf für Photosynthese kann daher ausgeschlossen werden. Ourry et al. (1996) zeigte, daß die Streckungsrate der Blätter von *Lolium perenne* mit Beginn der Lichtphase anstieg und nachmittags wieder abnahm. Ein ähnlicher Verlauf wurde auch beim Saftfluß in *Lolium* beobachtet. Korrespondierend zu den Befunden an *Lolium* könnte der Anstieg der Saftflußrate bei gleichbleibender Blatttranspiration in Pappeln auf einen erhöhten Wasserbedarf für Zellstreckungswachstum zurückzuführen sein.

#### 4.3.3 Nährstofftranslokation und Xylembeladung

##### Nährstofftranslokation im Tagesverlauf

Die Untersuchungen an Pappeln zeigten, daß der Transport von allen untersuchten Nährstoffen in den Sproß in der Nacht stark herabgesetzt war. Die anhand der Saftflußrate und der Nährstoffkonzentration im Xylemsaft berechnete mittlere Translokationsrate in der Nacht war bei  $\text{NO}_3^-$  um 65 % und bei den anderen Nährstoffen zwischen 63 - 69 % geringer als im Tagesmaximum ([Abb. 3.18](#)). Eine stark verminderte  $\text{NO}_3^-$ - bzw. N-Translokation in der Nacht wurde auch bei Gerste (Mattsson et al. 1988, Oji et al. 1989), Soja (Delhon et al. 1995a) bzw. Tabak (Rufty et al. 1989) beobachtet. Korrespondierend zu den Befunden an Pappeln war die in der Nacht ermittelte  $\text{NO}_3^-$ -Translokationsrate bei Gerste um 60 - 80 % (Mattsson et al. 1988) und bei Soja um 60 % (Delhon et al. 1995a) geringer als am Tag. Die Translokationsrate wurde dabei entweder über die Akkumulation von  $^{15}\text{N}$  im Sproß bestimmt (Oji et al. 1989, Delhon et al. 1995a, Rufty et al. 1989) oder, wie bei den hier untersuchten Pappeln, anhand der Konzentration und der Flußrate im Xylem berechnet (Mattsson et al. 1988).

Bei den oben zitierten Untersuchungen wurde nur die mittlere  $\text{NO}_3^-$ -Translokationsrate in der Licht- bzw. Dunkelphase bestimmt (Mattsson et al. 1988, Oji et al. 1989, Delhon et al. 1995a). Mögliche Änderungen während der Licht bzw. Dunkelphase wurden daher nicht erfaßt. Die Nährstofftranslokation in Pappeln wurde dagegen mit einer Zeitauflösung zwischen 0,25 - 3 h in der Licht- und Dunkelphase ermittelt. Im Rahmen dieser Arbeit konnte so gezeigt werden, daß der Nährstofftransport in den Pappelsproß trotz identischer Wachstumsbedingungen in der Lichtphase variiert, in der Dunkelphase dagegen annähernd konstant bleibt ([Abb. 3.18](#)). Die Translokationsrate aller Nährstoffe stieg mit einsetzender Belichtung um 100 - 150 % an, erreichte dann nach ca. 4 h ein Maximum und nahm danach bis zum Ende der Lichtphase kontinuierlich ab. Die am Ende der Lichtphase (21.30 Uhr) erreichte Translokationsrate war bei  $\text{NO}_3^-$  um 49 % und bei den anderen Nährstoffen zwischen 40 - 53 % geringer als im Tagesmaximum und nahmen in der Dunkelphase um weitere 15 - 28 % ab (Translokationsrate im Tagesmaximum =

100 %). Dies zeigt, daß der Nährstofftransport in den Pappelsproß vorwiegend in der ersten Hälfte der Lichtperiode erfolgt und die Xylembeladung mit Nährstoffen danach herunterreguliert wird (s. auch Kapitel [4.1.2.3](#)).

#### Nährstofftranslokation und Saftfluß

Der Nährstofftransport in die Xylemgefäße kann passiv mit dem Wassereinstrom in die Gefäße oder über aktive (hier im Sinne von transpirationsunabhängig) Transportprozesse erfolgen. Der passive Eintransport gelöster Substanzen ist dabei von untergeordneter Bedeutung (Passioura 1988, 1991). Dies wird deutlich, wenn der Wassertransport in die Xylemgefäße künstlich verändert wird. In Untersuchungen bei denen die Saftflußrate durch eine erhöhte Luftfeuchte um 50 % reduziert wurde, blieb die  $\text{NO}_3^-$ -Translokationsrate in den Sproß konstant (Shaner und Boyer 1976b, Delhon et al. 1995b) indem die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft anstieg (Shaner und Boyer 1976b). Korrespondierende Daten liegen auch für  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  und  $\text{Ca}^{2+}$  vor. Unabhängig von der Luftfeuchte während der Anzucht (50 % bzw. 95 %) blieb der Kationengehalt im Sproß konstant (Tanner und Beevers 1990). Der Nährstofftransport in den Sproß ist daher prinzipiell unabhängig von der Saftflußrate und kann über die aktive Nährstoffbeladung des Xylems reguliert werden (Smith 1991).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß dies auch für die Regulation des Nährstofftransports am Tag zutrifft: (1) Die im Xylemsaft eingestellte Nährstoffkonzentration ([Abb. 3.14](#)) veränderte sich im Verlauf der Lichtphase unabhängig von der Saftflußrate ([Abb. 3.17](#)). Die Xylembeladung ist daher in der Lichtphase unabhängig vom Wassertransport in die Gefäße. (2) Die Saftflußrate war um 10.00 Uhr und um 20.00 Uhr identisch ( $0,27 \text{ ml h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ Fwt.} \pm 11 \%$ , [Abb. 3.17](#)). Die Nährstoffkonzentration und damit die Nährstofftranslokation im Xylem nahm zwischen 10.00 und 20.00 Uhr demgegenüber jedoch signifikant ab ([Abb. 3.14](#), [Abb. 3.18](#)), für  $\text{NO}_3^-$  beispielsweise um 45 %. Dies zeigt, daß der verminderte Nährstofftransport in der zweiten Hälfte der Lichtphase ausschließlich über eine reduzierte aktive Xylembeladung reguliert wird.

In der Nacht nahm der Nährstofftransport dagegen annähernd proportional zum Saftfluß ab. Die Saftflußrate in der Nacht war  $59 \pm 7 \%$  geringer als um 10.00 Uhr, parallel dazu nahm die Translokationsrate je nach Nährstoff zwischen 63 - 69 % ab. Vergleichbare Ergebnisse wurden auch von Mattson et al. (1988) an Gerste, Delhon et al. (1995a) an Soja und von Ruffy et al. (1989) in Tabak ermittelt. In Gerste und Soja nahm die  $\text{NO}_3^-$ -Translokationsrate in der Nacht proportional zur Saftflußrate um ca. 60 - 80 % ab. Versuche an Tabak zeigten, daß zwischen der  $^{15}\text{N}$ -Translokation in den Sproß und dem stomatären Widerstand während einer normalen 12stündigen Dunkelperiode eine lineare reziproke Beziehung besteht. Offensichtlich ist der Nährstofftransport in der Nacht stärker

als am Tag abhängig vom Saftfluß, entweder direkt über den passiven Transport gelöster Teilchen in die Xylemgefäße oder indirekt über Regulationsmechanismen in der Wurzel, die abhängig vom Wasserfluß sind und ihrerseits Einfluß auf die Xylembeladung nehmen (Ruffy et al. 1989). Bei fortgesetzter Dunkelheit für 24 - 42 h wurde die in den ersten 12 h der Dunkelphase beobachtete lineare reziproke Korrelation zwischen dem stomatären Widerstand und der  $^{15}\text{N}$ -Translokation jedoch aufgehoben (Ruffy et al. 1989). Der Nährstofftransport in den Sproß ist daher auch in der Nacht nicht zwangsläufig abhängig von der Saftflußrate.

Zusammenfassend läßt sich festhalten, daß der Nährstofftransport in den Pappelsproß, zumindest in der Lichtphase, unabhängig von der Flußrate im Xylem durch tageszeitbedingte Änderungen der Xylembeladung reguliert wird. Dies stellt vermutlich eine Anpassung an den veränderten Nährstoffbedarf des Sprosses im Tagesgang dar, wie es auch für wachstumsinduzierte Änderungen im Nährstoffbedarf postuliert wird (Engels und Marschner 1992).

#### Bedarfsregulation?

Daß sich der Nährstoffbedarf abhängig von der Tageszeit ändert, wird am Beispiel von  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{SO}_4^{2-}$  deutlich. Im Gegensatz zu den anderen Nährstoffen müssen diese Ionen vor dem Einbau in Proteine reduziert werden, und sowohl die  $\text{NO}_3^-$  (Lillo 1994) als auch die  $\text{SO}_4^{2-}$ -Reduktion (Kopriva et al. 1999) im Sproß wird diurnal reguliert.

Zahlreiche Untersuchungen zeigen, daß die Aktivität der NR in Blättern bei Licht/Dunkelwechsel innerhalb von Minuten um 50 - 85 % vermindert ist (Huber et al. 1992a, Huber et al. 1992b, Kaiser et al. 1992, MacKintosh 1992, Riens und Heldt 1992, De Cires et al. 1993). Diese schnelle Inaktivierung der NR im Dunkeln erfolgt durch eine reversible posttranslationale Modifikation, wobei das NR-Protein zuerst phosphoryliert wird und dann, in Anwesenheit von  $\text{Mg}^{2+}$ , ein Inhibitorprotein bindet (Huber et al. 1996, MacKintosh et al. 1995, Kaiser und Huber 1997). Zusätzlich zur schnellen Inaktivierung wird die NRA im Dunkeln auch auf Ebene der Transkription und Proteinsynthese herunterreguliert (Deng et al. 1990, Scheible et al. 1997). Daß die Inaktivierung der NRA im Dunkeln tatsächlich zu einer verminderten  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion in der Nacht führt, zeigen Untersuchungen an intakten Pflanzen bei denen die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion direkt, entweder über die Akkumulation von  $^{15}\text{N}$ -Assimilationsprodukten (Ruffy et al. 1984 und 1989, Delhon et al. 1995a) oder anhand der Differenz zwischen  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme und  $\text{NO}_3^-$ -Akkumulation (Scaife und Schloemer 1994), bestimmt wurde. Auch die so ermittelten Raten für die tatsächliche  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion in der gesamten Pflanze sind in der Nacht 54 - 85 % geringer als am Tag. Dies betrifft vorwiegend die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion im Sproß. Die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion in der Wurzel ist Nachts nur in einem geringen Umfang reduziert (Ruffy et al. 1984, Delhon et al. 1995a)

oder steigt sogar an (Mattson et al. 1988). Die  $\text{NO}_3^-$ -Speicherrate im Sproß bleibt dagegen konstant (Delhon et al. 1995a) bzw. nimmt in der Nacht leicht zu (Rufty et al. 1984), so daß der  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt im Sproß bzw. in den Blättern in der Nacht kontinuierlich ansteigt (Scaife und Schloemer 1994, Riens und Heldt 1992). Die beschriebenen Befunde zeigen, daß der  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf des Sprosses in der Nacht deutlich geringer ist als am Tag und zwar vermutlich zwischen 50 - 85% (s.o.). Dies korreliert mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit, wonach die  $\text{NO}_3^-$ -Translokationsrate in den Pappelsproß in der Nacht 65 % geringer ist als am Tag.

Der Nährstoffbedarf des Sprosses sinkt jedoch nicht nur in der Nacht, sondern nimmt auch innerhalb der Lichtphase ab. Zahlreiche Untersuchungen an unterschiedlichen Pflanzenarten belegen, daß die Aktivität der NR im Blatt am Tagesbeginn bzw. in der ersten Hälfte der Lichtphase am höchsten ist und danach kontinuierlich abnimmt (Lillo 1984, Galangau et al. 1988, Deng et al. 1990, Huber et al. 1992c, Scheible et al. 1997). Die NRA wird dabei sowohl auf Ebene der Transkription bzw. Translation als auch durch posttranslationale Modifikation (s.o.) und über Proteindegradation in der Lichtphase herunterreguliert (Scheible et al. 1997). In Spinat- (Huber et al. 1992c) und Tabakblättern (Scheible et al. 1997) stieg die Aktivität der in aktiver, d.h. nicht phosphorylierter Form vorliegenden NR beispielsweise zu Beginn der Lichtphase um 85 - 95 % an, erreichte nach 2 - 4 h ein Maximum und sank dann bis zum Ende der Lichtperiode um 60 - 70 % ab. Eine ähnliche Abhängigkeit von der Tageszeit wird auch für die Aktivität des Schlüsselenzyms der  $\text{SO}_4^{2-}$ -Reduktion beobachtet (Kopriva et al. 1999). Da der  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt im Sproß (Scaife und Schloemer 1994) bzw. im Blatt (Riens und Heldt 1992, Scheible et al. 1997) in der Lichtperiode auch abnimmt, ist davon auszugehen, daß der Bedarf für  $\text{NO}_3^-$  (und vermutlich auch für  $\text{SO}_4^{2-}$ ) im Sproß in der ersten Hälfte der Lichtperiode am größten ist und dann zum Ende der Lichtperiode kontinuierlich abnimmt. Dies entspricht den Daten zur  $\text{NO}_3^-$ - bzw.  $\text{SO}_4^{2-}$ -Translokation in den Sproß der hier untersuchten Pappeln (Maximum 4 h nach Beginn der Lichtphase, Abnahme zum Ende der Lichtphase um 49 bzw. 40 %). Die verminderte Xylembeladung mit Nährstoffen in der zweiten Hälfte der Lichtperiode stellt daher eine Anpassung an den Nährstoffbedarf des Sprosses dar.

#### Regulation der Nährstofftranslokation über die Aufnahme?

Es gilt als gesichert, daß die  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme diurnal reguliert wird (Deane-Drummond 1990). Die ermittelten Aufnahmeraten in der Nacht sind meist deutlich geringer als am Tag (Pearson und Steer 1977, Aslam et al. 1979, Clement et al. 1978, Rufty et al. 1989, Le Bot und Kirkby 1992, Delhon et al. 1995ab, 1996ab), können jedoch auch genauso hoch bzw. höher als am Tag sein (Rufty et al. 1984, Ourry et al. 1996, Peuke und Jeschke 1998). Die  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme ist abhängig von N-Bedarf im Sproß, wobei Signale

aus dem Sproß, die über das Phloem in die Wurzel transportiert werden, an der Regulation der Aufnahme beteiligt sind (Marschner et al. 1997). Dies können Kohlenhydrate (Rideout et al. 1993, Delhon 1996b), reduzierte N-Verbindungen (Cooper und Clarkson 1989, Muller und Touraine 1992) und/oder Malat aus der  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation im Sproß sein (Touraine et al. 1990, 1992). Die Anpassung der  $\text{NO}_3^-$ -Translokation im Xylem an den Nährstoffbedarf im Tagesgang könnte daher indirekt über die Aufnahme reguliert werden.

Die  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme in Pappeln wurde in dieser Arbeit nur über eine relativ kleine Zeitspanne in der Lichtphase (zwischen 10.00 - 16.00 Uhr) ermittelt. In dieser Zeitspanne blieb die Aufnahmerate im Rahmen der Meßgenauigkeit konstant ([Abb. 3.20](#)). Untersuchungen an Spinat (Scaife und Schloemer 1994) und Gerste (Peuke und Jeschke 1998) zeigten, daß die  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahmerate in der gesamten Lichtphase nur geringfügig variiert. Bei Soja stieg die Aufnahmerate innerhalb der ersten 4 h an, blieb dann aber bis zum Ende der Photoperiode konstant (Delhon et al. 1995a). Es ist daher wahrscheinlich, daß die  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme in Pappeln nicht nur zwischen 10.00 - 16.00 Uhr, sondern auch bis zum Ende der Lichtperiode konstant bleibt. Im Gegensatz zur Aufnahmerate nahm die  $\text{NO}_3^-$ -Translokationsrate in Pappeln zwischen 10.00 und 16.00 Uhr tendenziell und bis zum Ende der Photoperiode deutlich ab ([Abb. 3.18](#)). Die N-Translokation in der Lichtphase scheint daher unabhängig von der Aufnahme reguliert zu werden, wie es auch von Ruffy et al. (1989) und Delhon et al. (1995b) für die Dunkelphase gezeigt wurde.

#### 4.4 $\text{NO}_3^-$ -Bedarf und $\text{NO}_3^-$ -Translokation entlang der Sproßachse

##### 4.4.1 $\text{NO}_3^-$ -Bedarf unterschiedlich alter Blätter

Wachsende, noch nicht vollständig entfaltete Blätter haben den höchsten N-Bedarf. Die N-Verteilung entlang der Sproßachse muß daher gerichtet, in den oberen Sproßbereich erfolgen. Bei den hier untersuchten Pappeln erfolgt die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion vorwiegend im Sproß (s. 4.2.1). Ein erhöhter N-Transport in den oberen Sproßbereich könnte daher auf zwei Arten erreicht werden. (1) Das aufgenommene  $\text{NO}_3^-$  wird über das Xylem vorwiegend in die jungen Blätter transportiert, wo es dann reduziert und zum Wachstum genutzt wird. (2)  $\text{NO}_3^-$  wird über das Xylem vorwiegend in ältere Blätter transportiert, dort reduziert und dann in Form von Amino-N in die jüngeren Blätter transportiert. Dies kann entweder direkt durch aufwärtsgerichteten Phloemtransport erfolgen, und/oder Amino-N wird im Phloem in die Wurzel transportiert wo es ins Xylem geladen wird und dann im Xylem in die jungen Blätter gelangt (Jeschke und Pate 1991a, 1991b). Der  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf entlang der Sproßachse muß daher nicht direkt mit dem N-Bedarf, d.h. der Wachstumsrate der Blätter korreliert sein. Der  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf entlang der Sproßachse hängt davon ab,

in welchen Blattalterstadien die  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation hauptsächlich erfolgt.  $\text{NO}_3^-$  wird jedoch auch im Blattgewebe gespeichert und dient dann als Osmotikum (Marschner 1995) und als N-Reserve bei Mangelsituationen. Um Aufschluß über den  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf entlang der Sproßachse der Pappel zu erhalten, wurden die verschiedenen Blattalterstadien hinsichtlich ihrer Funktion bei der  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion und der  $\text{NO}_3^-$ -Speicherung charakterisiert. Parallel dazu wurde die Nettphotosyntheserate bestimmt, um den Beitrag der unterschiedlichen Blattalterstadien bei der C-Fixierung zu ermitteln.

Die Kapazität der  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion in den verschiedenen Pappelblättern wurde anhand der NR-Aktivität ermittelt, da die NRA als limitierender Schritt der  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion angesehen wird (Campbell und Smarelli 1986). In neueren Untersuchungen wurde die dominante Rolle der NR bei der  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion in Frage gestellt, da weder bei Überexpression der NR (Quillere et al. 1994, Ferrario et al. 1995) noch in Defektmutanten mit einer verminderten NRA (Warner und Kleinhofs 1981, Vaucheret et al. 1990, Wilkinson und Crawford 1993) Änderungen im Pflanzenwachstum beobachtet werden. Diese Befunde suggerieren, daß die NR im Pflanzengewebe im Überschuß vorliegt und daher nicht den limitierende Schritt der  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation darstellt. Auch in Tabakmutanten mit 1-2 anstatt 4 funktionellen nia-Genen und einer 60 % geringeren NRA im Blatt war die Wachstumsrate identisch zum Wildtyp (Scheible et al. 1997). Während die NR im Wildtyp nur für eine kurze Zeitspanne am Beginn der Lichtphase eine hohe Aktivität zeigte und dann vorwiegend durch eine verminderte Expression herunterreguliert wurde, blieb die NRA in der Tabakmutante über der gesamten Lichtphase maximal und war in der Nacht sogar höher als beim Wildtyp. Die  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation wird daher zwar nicht über eine genetisch fixierte NRA-Kapazität limitiert, sie ist jedoch abhängig von der aktuellen NRA, die entsprechend dem N-Bedarf der Pflanze reguliert wird (Scheible et al. 1997). Es ist daher zulässig die NRA hier als Maß für die Kapazität der  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation heranzuziehen.

Bei den im Folgenden diskutierten Experimenten wurde die NRA aus methodischen Gründen in vitro ohne Substratlimitierung ermittelt (s. [3.2.5](#)). Außerdem enthielt der Extraktionspuffer EDTA (Komplexierung von  $\text{Mg}^{2+}$ ), so daß die funktionelle NR zu 100 % aktiv vorlag (Kaiser und Huber 1997). Die „in vitro“-Aktivität entsprach der „in vivo“-Aktivität und kann daher als Maß für den maximal erreichbaren  $\text{NO}_3^-$ -Umsatz (ohne Substratlimitierung) herangezogen werden (s. [3.2.5](#)). Die gute Übereinstimmung zwischen „in vitro“ und „in vivo“-Aktivität ist vermutlich darauf zurückzuführen, daß das NR-Protein in der Lichtphase fast vollständig in aktiver Form vorliegt. Bei Tabakblättern beispielsweise zu 90 % (Scheible et al. 1997), in Spinatblättern zu ca. 75 % (Kaiser et al. 1992).

Die Photosyntheserate wurde durch Verwendung von Blattküvetten und bei sättigender Lichtintensität ( $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) bestimmt, um die maximale Kapazität der Photosynthese in den verschiedenen Blattalterstadien zu ermitteln. Die Photosynthesemessung erfolgte dabei nur über maximal 10 min um strukturelle Änderungen aufgrund der erhöhten Lichtintensität zu vermeiden, so daß die erhaltenen Werte der aktuellen maximalen Photosynthesekapazität entsprechen sollten. Unter ungestörten Bedingungen lag die Lichtintensität an den jüngsten voll expandierten Blättern bei ca.  $170 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  und nahm zur Sproßbasis ab. Außerdem wurden die älteren voll expandierten Blätter durch die darüberliegenden Blätter beschattet, wobei sich die aktuelle Lichtintensität aufgrund der ständigen Blattbewegung (Luftzirkulation) fortwährend änderte. Die ermittelten Photosyntheseraten geben daher relative Unterschieden zwischen den verschiedenen Blattalterstadien an, entsprechen jedoch nicht den aktuellen Raten für die C-Fixierung unter ungestörten Bedingungen.

Die untersuchten Pappeln hatten ca. 37 voll entfaltete Blätter, die anhand der Frischgewichtverteilung und ihrer physiologischen Aktivität grob in 3 Entwicklungsstadien eingeteilt werden können. Mit Ausnahme der jüngsten 7 Blätter reflektiert das Frischgewicht die Blattfläche (s. [3.1](#)):

(a) Zwischen Blatt 1 - 10 nahm das Frischgewicht kontinuierlich zu ([Abb. 3.28](#)). Die jüngsten 10 Blätter befanden sich daher noch im Wachstum, was auch durch den hohen Gehalt löslicher Proteine deutlich wurde ([Abb. 3.25](#)). Die NRA in Blatt 5 - 7 war 2 - 3fach höher als in den größten vollständig expandierten Blättern ([Abb. 3.25](#): Blatt 11 - 19). Selbst wenn man die unterschiedliche Blattgröße berücksichtigt, war die NRA-Kapazität in den noch wachsenden Blättern 7 - 9 von allen Blättern am höchsten ([Abb. 3.28](#)). Dies läßt vermuten, daß Blatt 7 - 9 den höchsten Beitrag am  $\text{NO}_3^-$ -Umsatz entlang der Sproßachse leisteten. Korrespondierend zu dieser Hypothese war der Gehalt löslicher Amino-N-Verbindungen in diesen Blättern am höchsten ([Abb. 3.26](#): Bezugsgröße Fwt. bzw. [Abb. 3.28](#): Bezugsgröße Blatt). Da der  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt der noch wachsenden Blätter minimal war ([Abb. 3.27](#)), waren sie auf eine kontinuierliche Anlieferung durch das Xylem angewiesen um die maximal mögliche  $\text{NO}_3^-$ -Umsatzrate zu erreichen. Eine Limitierung der NRA in Blatt 7 - 9 durch eine ungenügende Verfügbarkeit von Reduktionsäquivalenten und C-Skeletten ist dagegen unwahrscheinlich, da die Photosyntheserate dieser Blätter relativ hoch war ([Abb. 3.25](#)). Höhere Photosyntheseraten wurden nur bei den jüngsten voll expandierten Blättern beobachtet (s.u.).

(b) Blatt 11 - 15 waren vollständig ausgewachsen. Die NR-Aktivität und der  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt in diesen Blättern lag zwischen den Absolutwerten (Bezugsgröße: Blatt) der jüngeren und älteren Blätter ([Abb. 3.28](#)). In diesem Blattalter wurden die höchsten Nettophotosyntheseraten gemessen ([Abb. 3.25](#)). Die Hauptfunktion dieser Blätter scheint demnach die Bereit-

stellung von Kohlehydraten zu sein. Die in Abb. 3.25 gezeigten Daten sind zwar auf das Frischgewicht bezogen, da Blatt 11 - 15 jedoch zu den größten Blättern gehören und unter ungestörten Bedingungen hohen Lichtintensitäten ausgesetzt waren (s.o.) sollten sie auch absolut betrachtet den höchsten Beitrag zur C-Fixierung entlang der Sproßachse leisten.

(c) Die  $\text{NO}_3^-$ -Speicherung im Sproß erfolgte dagegen vorwiegend in Blatt 17 - 32. Obwohl die Blattmasse mit zunehmendem Blattalter sank, war der Beitrag zur  $\text{NO}_3^-$ -Speicherung entlang der Sproßachse in diesen Blättern konstant (Abb. 3.28). Dies war darauf zurückzuführen, daß der relative  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt (Bezugsgröße: Fwt.) mit zunehmendem Alter kontinuierlich anstieg (Abb. 3.27). Im Gegensatz dazu nahm die NRA und der Amino-N-Gehalt stetig ab (Abb. 3.25). Dies zeigt, daß die Kapazität für die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion mit zunehmendem Alter sank und erklärt den höheren  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt der älteren Blätter. Mit zunehmendem Blattalter nahm auch die Kapazität der C-Fixierung ab (Abb. 3.25).

Die Aufgabenverteilung zwischen den verschiedenen Blattalterstadien entlang der Sproßachse der Pappel ist natürlich nicht so klar getrennt, wie beschrieben. Zwischen den verschiedenen Altersstadien gibt es Übergangstypen.

Die unterschiedliche Photosyntheseleistung der Pappelblätter reflektiert den Übergang von „sink-“ zu „source-Blättern“, wie er detailliert für verschiedene Blattalterstadien entlang der Sproßachse von Rizinus (Jeschke und Pate 1991a) oder für verschiedene Entwicklungsstadien eines Rizinusblattes (Jeschke und Pate 1992) modelliert wurde:

In sehr jungen Rizinusblättern war die C-Fixierung minimal, so daß diese Blätter fast vollständig auf C-Importe aus älteren Blättern angewiesen waren. Dieses Entwicklungsstadium entspricht bei den hier untersuchten Pappeln dem Blatt 5, dessen Photosyntheseleistung minimal war (Abb. 3.25). In älteren, aber noch nicht vollständig ausgewachsenen Rizinusblättern stieg die C-Fixierung stark an, wobei der fixierte Kohlenstoff zum Teil für das Blattwachstum, zum Teil für den Export genutzt wurde. Bei Pappeln entspricht dieses Entwicklungsstadium den noch wachsenden Blättern 7 - 9, deren Photosyntheseleistung deutlich anstieg (Abb. 3.25). Den höchsten Anteil an der C-Fixierung im Sproß hatten die jungen vollständig expandierten Rizinusblätter. In diesem Blattentwicklungsstadium wurde der fixierte Kohlenstoff fast vollständig in die Wurzel bzw. in jüngere Blätter exportiert. Auch bei den hier untersuchten Pappeln leisteten die jungen ausgewachsenen Blätter (Blatt 11 - 15, s.o.) den höchsten Beitrag zur C-Fixierung entlang der Sproßachse. In Rizinus nahm die C-Fixierung dann mit zunehmendem Blattalter ab. Die Abnahme des Chlorophyllgehaltes und die Remobilisierung von Kohlenstoff aus dem Gewebe älterer Rizinusblätter (Jeschke und Pate 1992) läßt vermuten, daß dies auf beginnende Seneszenz zurückzuführen ist. Im Gegensatz dazu nahm die Photo-

syntheseleistung bei Pappeln trotz konstanter Chlorophyllgehalte mit zunehmendem Blattalter ab ([Abb. 3.25](#)). Der Grund dafür ist vermutlich die zunehmende Selbstbeschattung entlang der Sproßachse (s.o.) und nicht beginnende Blattseneszenz.

Im Gegensatz zur C-Fixierung war die Kapazität für die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion (NRA) in den jungen noch wachsenden Pappelblättern am höchsten und nahm mit zunehmendem Blattalter kontinuierlich ab ([Abb. 3.28](#)). Identische Befunde zur Verteilung der NRA pro Fwt. zwischen verschiedenen Blattalterstadien wurden für Soja (Santoro und Magalhaes 1983) und Spinat (Huber et al. 1992c) ermittelt. Maisblätter erreichen die höchste NRA dagegen erst, wenn sie voll expandiert sind (Srivastava 1980).

Die Daten zur Verteilung der NRA zwischen den verschiedenen Blattalterstadien zeigen deutlich, daß der  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf für die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion in der Sproßspitze der Pappeln am höchsten war und zur Sproßbasis kontinuierlich abnahm. Besonders die jungen wachsenden Blätter mit der höchsten NRA waren dabei auf eine kontinuierliche  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr durch das Xylem angewiesen, da sie keine Speicherreserven besaßen (s. [3.4.3](#)).

$\text{NO}_3^-$ -Speicherung erfolgte dagegen fast ausschließlich in den älteren Pappelblättern in der unteren Sproßhälfte. Es ist daher möglich, daß die untere Sproßhälfte einen erhöhten  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf für die Speicherung hat. In dieser Arbeit wurde der  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt nur zu einer Tageszeit ermittelt (nach ca. 7 h Belichtung). Da der Gehalt zu Tagesbeginn nicht bekannt ist, können anhand dieser Daten keine Aussagen zur aktuellen Speicherrate in der Lichtphase getroffen werden. Unter der Annahme, daß zu Tagesbeginn kein  $\text{NO}_3^-$  im Blattgewebe vorliegt, würde die Speicherrate der älteren Blätter im Licht nur ca.  $3,6 \mu\text{mol NO}_3^- \text{ h}^{-1} \text{ Blatt}^{-1}$  betragen ([Abb. 3.28](#),  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt:  $25 \mu\text{mol Blatt}^{-1} / 7 \text{ h}$  Belichtung). Der  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf an der Sproßbasis ( $3,6 \mu\text{mol h}^{-1} \text{ Blatt}^{-1}$  in Blatt 29 - 32: ausschließlich Speicherung) wäre selbst in diesem extremen Fall deutlich niedriger als in der Sproßspitze ( $5,5 \mu\text{mol h}^{-1} \text{ Blatt}^{-1}$  in Blatt 7 - 9: ausschließlich Reduktion, [Abb. 3.28](#)). Untersuchungen an Soja zeigen, daß das in den Sproß transportierte  $\text{NO}_3^-$  am Tag zu ca. 70 % zur Reduktion und nur zu 30 % zur Speicherung genutzt wird, wobei sich das Verhältnis in der Nacht umkehrt (Delhon et al. 1995a). Im Sproß von Spinatpflanzen nimmt der  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt während der Lichtphase kontinuierlich ab, steigt aber in der Nacht stetig an (Scaife und Schloemer 1994). Dies zeigt, daß  $\text{NO}_3^-$ -Speicherung im Sproß vorwiegend in der Nacht erfolgt und das angelieferte  $\text{NO}_3^-$  am Tag überwiegend (Delhon et al. 1995a) oder ausschließlich (Scaife und Schloemer 1994) zur Reduktion genutzt wird. Dies läßt vermuten, daß der  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt der älteren Pappelblätter schon zu Tagesbeginn hoch war und sich die oben berechnete Speicherrate entsprechend vermindern würde. Denkbar wäre sogar, daß während der Lichtphase keine  $\text{NO}_3^-$ -Speicherung erfolgte. Es ist daher davon auszugehen, daß der  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf für die Speicherung gegenüber dem Bedarf für die Reduk-

tion in der Lichtphase vernachlässigt werden kann. Diese Hypothese kann anhand der im nächsten Kapitel diskutierten Daten bestätigt werden.

Zusammenfassend läßt sich festhalten, daß der  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf in Pappeln von der Sproßspitze zur Sproßbasis abnimmt. Ob dies dazu führt, daß der  $\text{NO}_3^-$ -Transport im Xylem gerichtet in den oberen Sproßbereich erfolgt, wird im nächsten Kapitel diskutiert.

#### 4.4.2 Relation zwischen $\text{NO}_3^-$ -Bedarf und $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr durch das Xylem

Da  $\text{NO}_3^-$  nahezu phloemimmobil ist (Jeschke und Pate 1991b), kann der  $\text{NO}_3^-$ -Transport in die Blätter nur im Xylem erfolgen. Eine erhöhte  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr in den oberen Sproßbereich kann auf zwei Wegen erreicht werden. Entweder durch einen erhöhten Saftfluß in die jüngeren Blätter oder durch eine erhöhte  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylem des oberen Sproßbereichs. Eine Konzentrationszunahme von der Sproßbasis zur Sproßspitze könnte theoretisch durch eine verstärkten Remobilisierung aus Speichergewebe im oberen Sproßbereich resultieren und/oder durch Xylem-Xylem-Transfer in den Nodien älterer Blätter, wie es für Amino-N-Verbindungen postuliert wird (Jeschke und Pate 1991a, Jeschke et al. 1996). Dieser Mechanismus beruht darauf, daß Amino-N aus Xylemsträngen, die in ältere Blätter führen, in Gefäße transferiert wird, die den darüberliegenden Sproßbereich versorgen und deren Konzentration daher zunimmt.

Daß die Konzentration von  $\text{NO}_3^-$  und anderen Nährstoffen inklusive Amino-N im Xylem entlang der Sproßachse variieren kann, zeigen Untersuchungen an Bäumen im Freiland (Stark und Spitzner 1985, Glavac et al. 1989, Glavac und Jochheim 1993, Schill et al. 1996) und krautigen Pflanzen (Jeschke und Pate 1991a,b,c). Bei Buchen nahm die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylem im Frühjahr von der Sproßbasis zur Sproßspitze ab und im Winter zu (Glavac und Jochheim 1993), wogegen die Konzentration anderer Ionen ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) im Frühjahr in der Sproßspitze am höchsten war (Glavac et al. 1989). Eine erhöhte Kationenkonzentration in der Sproßspitze wurde auch für  $\text{K}^+$  bei *Acer platanoides* und für  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{Mg}^{2+}$  in *Rizinus* (Jeschke und Pate 1991c) gemessen. Der gleiche Befund wurde für Gesamt-N im Xylemsaft von *Rizinus* erhalten, wobei die Konzentration von der Basis zur Spitze 4fach anstieg (Jeschke und Pate 1991a). In einer korrespondierenden Veröffentlichung wurde gezeigt, daß dies ausschließlich auf die Zunahme der Amino-N-Konzentration zurückzuführen war. Die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft blieb entlang der Sproßachse von *Rizinus* konstant (Jeschke und Pate 1991b). Identische Befunde wurden für  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  und  $\text{Ca}^{2+}$  in Gerstenkeimlingen ermittelt, was die Autoren auf das geringe Alter der Pflanzen zurückführen (Wolf et al. 1990b). Offensichtlich ändert sich die entlang der Sproßachse im Xylemsaft eingestellte Nährstoffkonzentration dynamisch, abhängig vom Alter und exogenen Faktoren.

Eigene, in Zusammenarbeit mit der AG Dr. Schurr (Heidelberg) durchgeführte Untersuchungen an Pappeln zeigten, daß die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft entlang der Sproßachse konstant blieb ([Abb. 3.22](#)). Das gleiche galt für  $\text{K}^+$  und  $\text{Ca}^{2+}$  und bestätigt damit die enge Korrelation zwischen  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{K}^+$  beim Langstreckentransport (Ruffy et al. 1981). Die  $\text{Mg}^{2+}$  und  $\text{SO}_4^{2-}$ -Konzentration war dagegen an der Sproßspitze und die  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ - und Amino-N-Konzentration an der Sproßbasis am höchsten ([Abb. 3.22](#)). Die an Pappeln erhaltenen Daten sind daher am ehesten mit denen von Rizinus (s.o.) zu vergleichen. Bei beiden Pflanzen blieb die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration entlang der Sproßachse konstant. Allerdings konnte die bei Rizinus beobachtete Konzentrationszunahme der Amino-N-Verbindungen in der Sproßspitze für Pappeln nicht bestätigt werden, was gegen einen Xylem-Xylem-Transfer in Pappeln spricht.

Durch zwei unabhängige Meßmethoden ([Abb. 3.23](#): Saftflußbestimmung „in situ“, [Abb. 3.24](#): Messung der Blatttranspiration) konnte im Rahmen dieser Arbeit bewiesen werden, daß Xylemsaft verstärkt in die jungen Pappelblätter im oberen Sproßbereich transportiert wurde. Die relative Transpirationsrate (Bezugsgröße Fwt.) war in den noch wachsenden (Blatt 7 - 9) und jungen voll expandierten Blättern 11 - 13 am höchsten und nahm mit zunehmenden Blattalter um ca. 60 % ab ([Abb. 3.24](#)). Da Blatt 7 deutlich kleiner war, lag der Absolutwert in Blatt 9 - 13 jedoch höher. Dies entspricht Untersuchungen an Rizinus, wonach die relative Transpirationsrate mit zunehmendem Blattalter abnimmt (Jeschke und Pate 1991a).

Der erhöhte  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf in der oberen Sproßhälfte der Pappeln ist daher tatsächlich mit einer erhöhten  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr durch das Xylem korreliert. Dies wird durch eine gesteigerte Saftflußrate erreicht während die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration entlang der Sproßachse konstant bleibt.

Der direkte Vergleich zwischen  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr rate und maximaler Umsatzrate (NRA) zeigte, daß der  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf voll expandierter Pappelblätter vollständig gedeckt war. Zwischen Blatt 11 - 23 entsprach die Zufuhr rate, im Rahmen der Standardabweichung, der maximal möglichen NRA ([Abb. 3.29](#)). Anhand der Daten ist davon auszugehen, daß das im Xylem angelieferte  $\text{NO}_3^-$  vollständig reduziert wurde. Der  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt dieser Blätter ([Abb. 3.29](#)) reflektiert daher  $\text{NO}_3^-$ , was während der Nacht gespeichert wurde (vergl. [4.4.1](#):  $\text{NO}_3^-$ -Speicherung). Dies gilt in jedem Fall für die jüngeren Blätter dieses Sproßabschnitts (hohe Lichtintensität), bei den älteren Blättern kann jedoch eine Energielimitierung der NRA aufgrund der starken Selbstbeschattung nicht ausgeschlossen werden.

Das 1:1-Verhältnis zwischen  $\text{NO}_3^-$ -Influx und NRA in diesem Sproßabschnitt (Blatt 11 - 23) wirft die Frage auf, ob die NRA im Blatt über die  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr reguliert wird (Shaner und Boyer 1976a,b, Sueyoshi et al. 1995). Dies würde bedeuten, daß die NRA-Verteilung entlang der Sproßachse der Pappel nicht den gewebespezifischen  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf reflektiert,

sondern eine Folge der unterschiedlichen  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr durch das Xylem wäre. Daß dies nicht der Fall ist, wird daran deutlich, daß das 1:1-Verhältnis in den jüngsten und ältesten Pappelblättern aufgehoben war ([Abb. 3.29](#)).

In den ältesten untersuchten Blättern (Blatt 26 - 33) war die  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr rate (0,66 - 0,18  $\mu\text{mol Blatt}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) 2-3fach höher als die maximale NRA (0,34 - 0,06  $\mu\text{mol Blatt}^{-1} \text{h}^{-1}$ ). In diesen Blättern erfolgte  $\text{NO}_3^-$ -Speicherung daher auch während der Lichtphase. Absolut betrachtet war die Speicherrate ( $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr - max. NRA = 0,32 - 0,12  $\mu\text{mol Blatt}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) jedoch sehr gering. Der  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf für Speicherung kann daher gegenüber dem Bedarf für die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion (ca. 4  $\mu\text{mol Blatt}^{-1} \text{h}^{-1}$  im oberen Sproßbereich, [Abb. 3.29](#)) in der Lichtphase vernachlässigt werden (vergl. [4.4.1](#):  $\text{NO}_3^-$ -Speicherung).

In den jungen wachsenden Blättern war die  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr rate dagegen deutlich geringer als die maximale NRA und zwar um 67 % (Blatt 5), 56 % (Blatt 7) oder 33 % (Blatt 9). In den wachsenden Blättern lag die NR daher im Überschuß vor. Vermutlich stellt dies einen Mechanismus dar,  $\text{NO}_3^-$  effektiv zu assimilieren um N-Verbindungen für das Wachstum bereitzustellen. Die sehr geringen  $\text{NO}_3^-$ -Gehalte in den wachsenden Blättern ([Abb. 3.29](#)) unterstützen diese Hypothese.

Insgesamt betrachtet ist davon auszugehen, daß die jungen fast (Blatt 9) oder vollständig ausgewachsenen Blätter (Blatt 11 - 13) den höchsten Beitrag zur „in situ“  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion entlang der Sproßachse der Pappel leisteten ([Abb. 3.29](#): höchste  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr rate, hohe NRA, [Abb. 3.25](#): höchste Photosynthesekapazität) und der Beitrag mit zunehmendem Blattalter kontinuierlich abnahm. Vergleichbare Befunde wurden von Jeschke und Pate (1991b, 1992) für verschiedene Blattalterstadien von Rizinus ermittelt.

Die sehr jungen stark wachsenden Pappelblätter hatten zwar die höchste NRA-Kapazität entlang der Sproßachse, maximale  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion konnte jedoch aufgrund einer limitierten  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr nicht erreicht werden. Die  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr nahm mit zunehmender Sproßhöhe stark ab (um 73% zwischen Blatt 9 - 5, [Abb. 3.29](#)). Je jünger die Blätter sind, desto stärker sollten sie daher von zusätzlichem Amino-N-Import abhängig sein um, ihren N-Bedarf für Wachstum zu decken, wie es für Rizinus gezeigt wurde (Jeschke und Pate 1991a, 1992). In Rizinus stieg die Amino-N-Konzentration im Xylem mit zunehmender Sproßhöhe an (Xylem-Xylem-Transfer im Sproß), so daß der Amino-N-Import in die wachsenden Blätter vorwiegend im Xylem erfolgte (Jeschke und Pate 1991b). Eine Zunahme der Amino-N-Konzentration im Xylem konnte für die hier untersuchten Pappeln nicht bestätigt werden ([Abb. 3.22](#)). Es ist daher davon auszugehen, daß der Amino-N-Import in die wachsenden Pappelblätter vorwiegend im Phloem erfolgte.

Zusammenfassend läßt sich festhalten, daß der  $\text{NO}_3^-$ -Transport im Xylem zwar gerichtet in den oberen Sproßbereich der Pappeln erfolgte, jedoch nicht direkt in die jungen wach-

senden Blätter. Die anhand der NRA-Verteilung entlang der Sproßachse vermutete dominante Rolle der wachsenden Blätter (Blatt 7 - 9) bei der  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion konnte durch den Vergleich mit den tatsächlichen  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhrdaten nur für Blatt 9 bestätigt werden. Neben Blatt 9 hatten die jungen voll expandierten Blätter, die auch den höchsten Beitrag zur C-Fixierung leisteten, den höchsten Anteil an der „in situ“  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion entlang der Sproßachse. Die jungen expandierten Blätter haben daher sowohl für den C- als auch für den N-Stoffwechsel eine dominante Rolle bei der Bereitstellung von Assimilationsprodukten für Wachstumsprozesse.

#### 4.5 Einfluß des N- und $\text{K}^+$ -Angebots auf den Nährstofftransport von der Wurzel in den Sproß

Bei Pflanzen, die  $\text{NO}_3^-$  bevorzugt im Sproß assimilieren, wozu auch die hier untersuchten Pappeln gehören (s. [4.2.1](#)) sind  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{K}^+$  die dominanten Ladungsträger im Xylemsaft (*Ricinus*: Kirkby und Armstrong 1980, *Zea mays*: Engels und Marschner 1993, *Beta vulgaris* und *Sorghum*: Arnozis und Findenegg 1986, *Populus*: eigene Untersuchungen s. [Abb. 3.15](#)).

N-Transport in den Sproß erfolgt in Form von  $\text{NO}_3^-$  und Amino-N-Verbindungen. Das Verhältnis zwischen den beiden Transportformen wird durch das externe  $\text{NO}_3^-$ -Angebot und die N-Quelle stark beeinflusst. Generell steigt der Anteil der Wurzel bei der  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation mit abnehmender externer  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration an (Rufty et al. 1990, Gojon et al. 1991, Peuke et al. 1994, Agrell et al. 1997), was dazu führt, daß die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylem abnimmt und die Konzentration von Amino-N-Verbindungen zunimmt. Bei reiner  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung wird Stickstoff fast ausschließlich in organischer Form in den Sproß transportiert (Van Beusichem et al. 1988). Bei vielen Arten sind Glutamin und Asparagin die dominanten Amino-N-Verbindungen im Xylemsaft (Arnozis und Findenegg 1986, Van Beusichem et al. 1988). Dies gilt auch für die hier untersuchten Pappeln (s. 4.2.2). Da der Xylemsaft typischerweise einen pH-Wert zwischen 5 - 6 hat (*Ricinus*: 5,2 - 6,0, Gerendas und Schurr 1999; *Zea mays*: 5,0 - 5,5, Engels und Marschner 1993, *Beta vulgaris*: 5,6 - 6,0 und *Sorghum*: 5,2 - 5,4, Arnozis und Findenegg 1986; *Populus*: 5,8, eigene Untersuchungen) und damit nahe dem Isoelektrischen Punkt der Amide liegt (Glutamin = pH 5,65, Asparagin = 5,41, Engels und Marschner 1993), sind sie im Xylemsaft ungeladen. Eine verminderte  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft führt daher zur Abnahme der negativen Ladungsäquivalente, was wiederum Konzentrationsveränderungen anderer Ladungsträger, d.h. der anderen Nährstoffe, bewirken kann. Das N-Angebot hat daher einen entscheidenden Einfluß auf den Transport aller Nährstoffe in den Sproß.

Umgekehrt kann jedoch auch die Verfügbarkeit der anderen Nährstoffe über den Ladungsausgleich Einfluß auf den  $\text{NO}_3^-$  bzw. N-Transport im Xylemsaft nehmen. Von besonderer Bedeutung ist dabei die  $\text{K}^+$ -Verfügbarkeit, da  $\text{K}^+$  das dominante Kation im Xylemsaft ist und eine enge Korrelation zwischen dem Langstreckentransport von  $\text{K}^+$  und  $\text{NO}_3^-$  postuliert wird (Ben-Zioni et al. 1971).

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Einfluß (a) des externen  $\text{NO}_3^-$ -Angebots, (b) der N-Quelle und (c) von  $\text{K}^+$ -Mangel auf den Nährstofftransport in Pappeln charakterisiert. Zu den einzelnen Themenkomplexen liegen bereits Untersuchungen an anderen, jedoch meist krautigen Pflanzenarten vor ( $\text{NO}_3^-$ -Angebot: Triplett et al. 1980, MacKown et al. 1981, 1983, Peuke et al. 1994, 96; N-Quelle: Van Beusichem et al. 1988, Allen et al. 1988, Peuke und Jeschke 1993, Engels und Marschner 1993,  $\text{K}^+$ -Limitierung: Kirkby et al. 1981, Ruffy et al. 1981, Förster und Jeschke 1993). Unterschiedliche Pflanzenarten, Entwicklungsstadien und Anzuchtbedingungen erschweren die Vergleichbarkeit der vorliegenden Befunde.

In dieser Arbeit wurden alle oben aufgeführten Untersuchungen im gleichen Entwicklungsstadium der Pappel unter identischen Klimabedingungen durchgeführt. Mit Ausnahme der jeweils veränderten Nährstoffkomponente und der  $\text{Cl}^-$ - bzw.  $\text{Na}^+$ -Konzentration war das Nährstoffangebot bei allen Behandlungen identisch (s. [Tab. 2.2](#)), so daß unerwünschte Einflußfaktoren weitgehend ausgeschlossen wurden. Die Daten der einzelnen Experimente sind daher direkt vergleichbar und geben ein umfassendes Bild zum Einfluß des N- und  $\text{K}^+$ -Angebots auf den Nährstofftransport in Pappeln.

Neben langfristigen Effekten (mehrwöchige Anzucht bei verändertem N-Angebot) und dem Einfluß lokal begrenzten N- und  $\text{K}^+$ -Angebot („split-root-Experimente“) wurde die Xylemsaftzusammensetzung auch in Abhängigkeit von der Zeit nach Umstellung der N- und  $\text{K}^+$ -Versorgung (Minuten - Tage) untersucht und durch „in situ“-Saftflußmessungen ergänzt. Die so erhaltenen Daten geben darüber Aufschluß wie schnell und in welchem Umfang ein verändertes externes Angebot die Nährstofftranslokation im Xylem beeinflusst. Zur kurzfristigen (Minuten - Stunden) Anpassung der Nährstofftranslokation im Xylem nach Änderungen im Angebot liegen bislang kaum Daten vor.

#### 4.5.1 Einfluß des externen $\text{NO}_3^-$ -Angebots auf die Nährstofftranslokation im Xylem

##### Einfluß von N-Mangel

N-Mangel führte unmittelbar zur Abnahme der  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft. Schon nach 15 min war die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration 60 % geringer als bei  $\text{NO}_3^-$ -versorgten Pflanzen ([Abb. 3.30](#)). Die  $\text{NO}_3^-$ -Beladung des Xylems erfolgt bei Pappeln daher überwiegend durch aktuell aufgenommenes  $\text{NO}_3^-$  und nur in einem geringeren Umfang durch gespeicherte

$\text{NO}_3^-$ -Reserven. Vergleichbare Ergebnisse wurden an Mais ermittelt (MacKown et al. 1981). Nach 2stündiger Inkubation isolierter Maiswurzeln in  $0,5 \text{ mM } ^{15}\text{NO}_3^-$  lag  $\text{NO}_3^-$  im Exsudat zu 62 % in Form von  $^{15}\text{NO}_3^-$  (= aufgenommenes  $\text{NO}_3^-$ ) und zu 38 % in Form von  $^{14}\text{NO}_3^-$  (= gespeichertes  $\text{NO}_3^-$ ) vor. Die Xylembeladung in Gerstenkeimlingen ist sogar noch stärker von einer kontinuierlichen  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme abhängig, da die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft schon nach 1stündigem N-Mangel um mehr als 90 % abnahm (Sueyoshi et al. 1995).

Trotz N-Mangel wurde die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft der untersuchten Pappeln in den ersten 12 h durch Xylembeladung mit gespeicherten  $\text{NO}_3^-$ -Reserven auf einem geringeren Niveau konstant gehalten (60 % geringer als bei den Kontrollpflanzen, [Abb. 3.30](#)). Daß gespeicherte  $\text{NO}_3^-$ -Reserven bei kurzfristigem N-Mangel für die Xylembeladung zugänglich sind, wurde auch für Mais bestätigt (MacKown et al. 1983). Dies zeigt, daß unter kurzfristigen Mangelsituationen die  $\text{NO}_3^-$ -Reserven der Wurzel zugunsten der Versorgung des Sprosses remobilisiert werden. Denkbar wäre auch, daß eine gewisse  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft aufrechterhalten wird, um den Xylemtransport positiv geladener Nährstoffe unter N-Mangel zu erleichtern (Peuke et al. 1994). Bei langfristig N-limitierten Pflanzen wird der verfügbare Stickstoff jedoch bevorzugt für ein gesteigertes Wurzelwachstum genutzt, was einen stark verminderten N-Export im Xylem und einem erhöhten N-Import aus dem Sproß bewirkt (Peuke et al. 1994).

Im Gegensatz zur  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration sank die Amino-N-Konzentration im Xylemsaft erst nach 24 h N-Mangel. Während der ersten 12 h blieb die Amino-N-Konzentration im Vergleich zu den Kontrollen konstant ([Abb. 3.32](#)). Dies ist darauf zurückzuführen, daß die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion bei Pappeln fast ausschließlich im Sproß erfolgt (s. [4.2.1](#)). Deshalb entspricht die Amino-N-Fraktion im Xylemsaft hauptsächlich Phloemimporten aus dem Sproß und ist daher nicht unmittelbar von N-Mangel im Wurzelraum betroffen. Außerdem wird bei N-Mangel gespeichertes  $\text{NO}_3^-$  in der Wurzel verstärkt reduziert und in Form von Amino-N ins Xylem geladen (MacKown et al. 1983).

Berücksichtigt man beide N-Formen ( $\text{NO}_3^- + \text{Amino-N}$ ), dann führte N-Mangel bei Pappeln sofort zu einer verminderten N-Konzentration im Xylemsaft und dieser Effekt verstärkt sich mit zunehmender Zeit in N-freier NL ([Abb. 3.32](#)). Aussagen zum Einfluß von N-Mangel auf die N-Translokation in den Sproß sind jedoch nur möglich, wenn auch die Saftflußrate berücksichtigt wird. Generell bewirkt Nährstoffmangel eine verminderte hydraulische Leitfähigkeit der Wurzel und setzt auch die stomatäre Leitfähigkeit herab. Daten hierzu liegen an verschiedenen krautigen Arten für S- (Karmoker et al. 1991), P- (Radin und Eidenbock 1984, Radin und Matthews 1989) und auch für N-Mangel (Radin und Boyer 1982, Chapin et al. 1988, Radin und Matthews 1989) vor. In Tomaten führte N-Mangel schon nach 2 d zu einer deutlich verminderten hydraulischen und stomatären

Leitfähigkeit, auch die H<sub>2</sub>O-Aufnahme in die Wurzel war stark reduziert (um ca. 40 %), während die stomatäre Leitfähigkeit bei Gerste erst nach 5 d abnahm (Chapin et al. 1988). Diese Untersuchungen geben jedoch nur indirekt Aufschluß auf die Einfluß von N-Mangel auf die Flußrate im Xylem. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte durch direkte Saftflußmessungen gezeigt werden, daß N-Mangel eine verminderte Flußrate im Xylem bewirkt ([Abb. 3.33](#)). Die Saftflußrate nahm dabei mit der Zeit in N-freier NL kontinuierlich ab (um 3 % am ersten Tag bis ca. 20 % nach 3 d).

Zusammenfassend läßt sich festhalten, daß N-Mangel unmittelbar eine verminderte N-Translokation in den Sproß zur Folge hat. Während der ersten Stunden vorwiegend durch eine verminderte NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Beladung des Xylems, während der nächsten Tage zusätzlich auch durch reduzierte Amino-N-Beladung und eine verminderte Flußrate im Xylem.

Bei nitratversorgten Pappeln (1 mM) wurde die kationische Ladung im Xylemsaft zu 70 - 80 % über anorganische Anionen ausgeglichen, wobei NO<sub>3</sub><sup>-</sup> mit 40 - 50 % den Hauptanteil hatte. Ähnliche Befunde werden auch für andere Arten beschrieben (Triplett et al. 1980, Arnozis und Findenegg 1986, Van Beusichem et al. 1988, Engels und Marschner 1993). Der Beitrag organischer N-Verbindungen war bei Pappeln zu vernachlässigen, da negativ geladene Aminosäuren im Xylemsaft (Glutamat und Aspartat) nur in Spuren vorkamen (zusammen < 0,05 mM gegenüber > 3 mM anorganische Anionen). Die fehlenden 20 - 30 % am Ausgleich der positiven Ladungsäquivalente wurden daher über organische Anionen gedeckt.

N-Mangel (verminderte NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Konzentration) führte daher zu einer ausgeprägten Ladungsimbalance im Xylemsaft. Im Untersuchungszeitraum von 3 d hatte dies jedoch keinen signifikanten Einfluß auf die Konzentration der anderen Makronährstoffe ([Abb. 3.30](#)). Der gleiche Befund wurde auch bei lokal begrenztem N-Mangel (nur 50% der Wurzel für 1 h in N-freier NL) erhalten ([Abb. 3.52a](#)). Die Cl<sup>-</sup>-Konzentration stieg bei N-Mangel zwar an, trug jedoch nur zu 10 % zum Ausgleich der verminderten NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Konzentration bei (s. [3.6.1.1](#)). Auch ein Ausgleich über negativ geladene Aminosäuren ist auszuschließen, da die Glutamat- und Aspartat-Konzentration im Xylemsaft konstant blieb (zusammen 39 ± 22 µM gegenüber 33 ± 13 µM in nitratversorgten Kontrollen). Es ist daher davon auszugehen, daß bei N-Mangel kurzfristig verstärkt organische Anionen ins Xylem geladen werden und so die Kationenkonzentration im Xylemsaft konstant gehalten werden kann. Eine starke Zunahme organischer Anionen in der Wurzel wurde bei N-Mangel beobachtet (Rideout et al. 1994). Diese Hypothese wird durch Untersuchungen von Triplett et al. (1980) an Weizen bestätigt, die zeigten, daß 3tägiger N-Mangel keinen Einfluß auf die Kationenkonzentration im Xylemsaft hatte, da die Konzentration organischer Anionen anstieg. Vergleichbare Befunde liegen an Rizinus vor, bei dem nur eine

Wurzelhälfte für 20 d N-Mangel ausgesetzt war (Förster und Jeschke 1993). Auch hier blieb die Kationenkonzentration im Xylemsaft der N-frei angezogenen Wurzelhälfte im Vergleich zur versorgten Wurzelhälfte konstant und die verminderte  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration wurde vorwiegend durch Malat ausgeglichen. Eigene Untersuchungen mit lokalem N-Mangel zeigten jedoch, daß der Ladungsausgleich im Xylemsaft der Pappeln nur kurzfristig über eine verstärkte Xylembeladung mit organischen Anionen erfolgte ([Abb. 3.52a](#)). Langfristig (nach 8 d) wurde die reduzierte  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration vorwiegend durch eine verminderte Xylembeladung mit  $\text{K}^+$  ausgeglichen ([Abb. 3.52b](#)). Dies war zu erwarten, da  $\text{K}^+$  das dominante Gegenkation für den  $\text{NO}_3^-$ -Transport im Xylemsaft der Pappeln ist (s. [4.5.3](#)).

N-Mangel hat also kurzfristig keinen direkten Einfluß auf die Konzentration anderer Nährstoffe im Xylem, führt aber trotzdem, aufgrund der verminderten Saftflußrate, zu einer reduzierten Nährstofftranslokation in den Pappelsproß. Dieser Effekt ist am ersten Tag sehr gering (Abnahme um 3 %) und nimmt dann kontinuierlich zu. Schon nach 3 d in N-freier NL ist die Nährstofftranslokation in den Sproß um 20 % reduziert.

#### Einfluß der externen $\text{NO}_3^-$ -Konzentration

Wird das  $\text{NO}_3^-$ -Angebot erhöht, wurde in verschiedenen Untersuchungen ein Anstieg der  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft (Kirkby und Armstrong 1980, Schobert und Komor 1992, Selvaraj et al. 1993) und auch der  $\text{NO}_3^-$ -Translokation in den Sproß (Agrell et al. 1997) beobachtet. Bei jungen Pflanzbäumen, die für 4 d in eine NL mit 0,5, 1,5 oder 10 mM  $\text{NO}_3^-$  überführt wurden, nahmen beide Parameter und die  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahmerate mit dem Angebot zu (zwischen 1,5 mM und 10 mM um 170 % bzw. 45%) (Gojon et al. 1991). Ein Anstieg dieser drei Größen mit dem externen Angebot wurde auch bei Rizinus, nach mehrwöchiger Anzucht bei 0,2, 1,0 oder 4 mM  $\text{NO}_3^-$  in Quarzsand, beobachtet (Peuke et al. 1994, 1996).

Bei den hier untersuchten Pappeln hatten Änderungen im  $\text{NO}_3^-$ -Angebot (0,25 - 8 mM) jedoch keinen Einfluß auf die  $\text{NO}_3^-$ -Translokation in den Sproß. Sowohl die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft ([Abb. 3.34](#), [Abb. 3.36](#), [Abb. 3.37](#)) als auch die Saftflußrate ([Abb. 3.35](#), [Abb. 3.38](#)) blieben im Untersuchungszeitraum von 0,25 h - 7 d konstant. Dies galt auch für die Amino-N-Konzentration ([Abb. 3.37](#)). Die N-Versorgung des Sprosses ist daher im gegebenen Konzentrationsbereich unabhängig vom externem Angebot.

Eine Limitierung des  $\text{NO}_3^-$ -Transports bei erhöhtem  $\text{NO}_3^-$ -Angebot durch die  $\text{K}^+$ -Verfügbarkeit als Gegenkation (s. [4.5.3](#)) kann ausgeschlossen werden, da die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft auch bei gleichzeitig erhöhtem  $\text{NO}_3^-$ - und  $\text{K}^+$ -Angebot (auf je 8 mM) konstant blieb, obwohl die  $\text{K}^+$ -Konzentration zunahm ([Tab. 3.9](#)). Auch die Möglichkeit, daß ein erhöhtes Angebot erst langfristig genutzt werden kann, wurde widerlegt, denn auch

nach 1monatigem Wachstum in 1 mM bzw. 8 mM  $\text{NO}_3^-$  war die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft gleich ([Abb. 3.49](#)).

Ergänzende Untersuchungen zeigten, daß auch die  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahmerate ([Abb. 3.39](#), [Abb. 3.48](#)), der  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt in Blättern und Feinwurzeln ([Abb. 3.40](#)) und die Wachstumsrate ([Abb. 3.47](#)) bei einem externen Angebot zwischen 1 mM und 8 mM konstant blieb. Der  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf für optimales Pflanzenwachstum unter den gegebenen Klimabedingungen ist also bei 1 mM externem  $\text{NO}_3^-$  vollständig gedeckt. Korrespondierend zu Untersuchungen an gleich alten Balsampappeln, die unter identischen Klimabedingungen angezogen wurden, ist davon auszugehen, das auch eine externe  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration von 0,25 mM ausreichend war, optimales Wachstum zu gewährleisten (Langheinrich 1991).

Anders als bei Rizinus (Peuke et al. 1994,1996) und Pfirsichbäumen (Gojon et al. 1991), war das Wachstum der Pappeln zwischen 0,25 - 8 mM  $\text{NO}_3^-$  daher nicht limitiert, so daß auch die  $\text{NO}_3^-$ -Translokation in den Sproß konstant blieb. Bei den Untersuchungen an Pfirsichbäumen wurden N-verarmte Pflanzen für die Experimente eingesetzt. Bei Rizinus erfolgte die Nährstoffapplikation in Quarzsand, so daß das Pflanzenwachstum bei 0,2 mM und 1,0 mM  $\text{NO}_3^-$  aufgrund der geringen  $\text{NO}_3^-$ -Verfügbarkeit (geringes Porenvolumen des Mediums) stark reduziert war (Peuke et al. 1994,1996).

#### 4.5.2 Einfluß der N-Quelle ( $\text{NO}_3^-$ oder $\text{NH}_4^+$ ) auf den Transport von N-Verbindungen und anderen Nährstoffen im Xylem

Im Vergleich zu nitraternährten Pflanzen führt reine  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung bei vielen Arten zu einem verminderten Pflanzenwachstum (Tomate: Kirkby und Mengel 1967, Smart und Bloom 1993; Weizen: Lips et al. 1987, Cramer und Lewis 1993; Mais: Cramer und Lewis 1993, Rizinus: Van Beusichem et al. 1988, Allen und Raven 1987, Peuke und Jeschke 1993). Für Rizinus liegen jedoch auch gegensätzliche Befunde vor (Allen und Smith 1986). Bei gemischter N-Ernährung ( $\text{NO}_3^-$  und  $\text{NH}_4^+$ ) ist das Pflanzenwachstum dagegen gleich (Smart und Bloom 1993, Ali et al. 1998) oder sogar höher (Zornoza et al. 1996, Sarro et al. 1998) als bei reiner  $\text{NO}_3^-$ -Ernährung. Die N-Quelle nimmt nicht nur Einfluß auf das absolute Wachstum, sondern kann auch das Wurzel/Sproß-Verhältnis verändern (Engels und Marschner 1993, Peuke und Jeschke 1993, Cramer und Lewis 1993).

Das verminderte Wachstum bei reiner  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung wird nicht direkt durch eine geringere N-Verfügbarkeit verursacht, was daran deutlich wird, daß wachstumslimitierte  $\text{NH}_4^+$ -Pflanzen sogar höhere N-Gehalte (pro Frisch- bzw. Trockengewicht) als  $\text{NO}_3^-$ -ernährte Pflanzen aufweisen (Kirkby und Mengel 1967, Van Beusichem et al. 1988, Cramer und Lewis 1993). Neben anderen Ursachen (pH-Effekte, Kohlenhydratverfügbarkeit; Marschner 1995, Cramer und Lewis 1993) kann das verminderte Wachstum bei

reiner  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung auf ein Kationendefizit im Sproß zurückzuführen sein (Peuke und Jeschke 1993). Der Grund dafür ist ein verminderter Kationentransport im Xylem, da negative Ladungsäquivalente ( $\text{NO}_3^-$ ) fehlen und/oder Hemmung der Kationenaufnahme durch  $\text{NH}_4^+$  (Scherer et al. 1984). Eine reduzierte Transpirationsrate (Cramer und Lewis 1993, Peuke et al. 1994), eine geringere Kationenkonzentration im Xylemsaft (Arnozis und Findenegg 1986, Allen und Raven 1987) und/oder ein verminderter Kationengehalt im Sproß (Kirkby und Mengel 1967, Arnozis und Findenegg 1986, Allen und Raven 1987, Van Beusichem et al. 1988) wurde bei wachstumslimitierten Pflanzen in  $\text{NH}_4^+$ -NL beobachtet.

Eigene Untersuchungen zeigten, daß Pappel bei reiner  $\text{NO}_3^-$ - bzw.  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung (je 1 mM) und bei gemischter N-Versorgung (0,5 mM  $\text{NO}_3^-$  + 0,5 mM  $\text{NH}_4^+$ ) gleich gut wachsen ([Abb. 3.50](#)). Auch das Wurzel/Sproß-Verhältnis war bei allen drei Behandlungen im Rahmen der Meßgenauigkeit konstant ( $0,67 \pm 0,08$ ,  $0,64 \pm 0,08$ ,  $0,68 \pm 0,07$  bei  $\text{NO}_3^-$ -,  $\text{NH}_4^+$ - oder gemischter N-Versorgung). Offensichtlich sind Pappeln in der Lage, die Kationenversorgung des Sprosses bei  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung aufrechtzuerhalten. Dies konnte anhand der Nährstofftranslokation im Xylem bewiesen werden.

Genauso wie bei N-Mangel, sank die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylem unmittelbar nach Wechsel der N-Quelle von  $\text{NO}_3^-$  auf  $\text{NH}_4^+$  um ca. 60 % und nahm mit der Zeit in  $\text{NH}_4^+$ -NL weiter ab ([Abb. 3.41](#)). Kurzfristig erfolgte der Ladungsausgleich über eine verminderte Kationenkonzentration, aber schon nach 3 d war die Konzentration aller Kationen bei  $\text{NO}_3^-$ - und  $\text{NH}_4^+$ -ernährten Pappeln identisch. Dies wurde durch eine erhöhte Xylembeladung mit  $\text{Cl}^-$  und  $\text{SO}_4^{2-}$  ermöglicht, so daß die verminderte  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration in Bezug auf die Ladung vollständig kompensiert wurde ([Abb. 3.41](#): Ladungsbilanz). Quantitativ betrachtet, wurde die Funktion von  $\text{NO}_3^-$  als negativer Ladungsträger hauptsächlich von  $\text{SO}_4^{2-}$  übernommen ([Tab. 3.10](#)). Weitere Experimente bestätigten diesen Befund. Auch nach (a) 2monatiger Anzucht mit  $\text{NH}_4^+$  bzw. (b) gemischter N-Versorgung ([Abb. 3.51](#)) und in (c) „split-root-Experimenten“ mit räumlich getrenntem gemischtem N-Angebot ([Abb. 3.54](#)) blieb die Kationenkonzentration im Xylem gegenüber nitratversorgten Pflanzen konstant und die verminderte  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration wurde über  $\text{SO}_4^{2-}$  und zu einem geringeren Anteil über  $\text{Cl}^-$  kompensiert.

Vergleichbare Ergebnisse wurden von Engels und Marschner (1993) an Mais bei geringer Sproßtemperatur ermittelt, dessen Sproßwachstum bei  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung konstant war. Auch hier hatte  $\text{NH}_4^+$  keinen Einfluß auf die Kationenkonzentration im Xylem, was durch eine erhöhte Xylembeladung mit  $\text{SO}_4^{2-}$ , z.T. jedoch auch durch organische Anionen ermöglicht wurde. Parallel dazu blieb die Akkumulationsrate im Sproß konstant ( $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) oder nahm bei  $\text{NH}_4^+$ -Versorgung sogar zu ( $\text{K}^+$ ) obwohl die Translokationsrate im Xylem vermindert war. Die Autoren führen dies auf einen reduzierten

Phloemexport in die Wurzel zurück (Engels und Marschner 1993). Die Translokationsraten wurden in der Arbeit von Engels und Marschner 1993 anhand der Xylemkonzentration und der Exsudationsrate dekapitierter Maispflanzen berechnet und reflektieren daher nicht die Nährstofftranslokation in intakten Pflanzen.

Eigene Untersuchungen zeigten, daß der Wechsel der N-Quelle keinen Einfluß auf die „in vivo“ Saftflußrate von Pappeln hatte ([Abb. 3.44](#)). Die Kationentranslokation in den Sproß war nach Umstellung auf  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung daher nur kurzfristig reduziert und entsprach schon nach 3 d der Translokationsrate nitratversorgter Pappeln. Gleichzeitig bewirkte  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung eine erhöhte  $\text{Cl}^-$  und  $\text{SO}_4^{2-}$ -Translokation in den Pappelsproß. Obwohl beide Ionen phloemmobil sind und daher zwischen Sproß und Wurzel zirkulieren können, ist davon auszugehen, daß  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung langfristig eine gesteigerte  $\text{Cl}^-$ - und  $\text{SO}_4^{2-}$ -Aufnahme und einen erhöhten Gehalt im Sproß bewirkt. Dies wurde in dieser Arbeit nicht untersucht. Eine erhöhte  $\text{SO}_4^{2-}$ -Aufnahmerate bei  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung wurde jedoch für junge Buchen gezeigt (Kreuzwieser et al. 1996). Auch erhöhte  $\text{Cl}^-$ - und  $\text{SO}_4^{2-}$ -Gehalte im Sproß  $\text{NH}_4^+$ -versorgter Pflanzen werden beschrieben (Arnozis und Findenegg 1986, Van Beusichem et al. 1988).

Daß Pappeln mit beiden N-Quellen gleich gut wachsen können ist daher auf ihre Fähigkeit zurückzuführen, die Kationenversorgung des Sprosses bei  $\text{NH}_4^+$  als N-Quelle innerhalb kürzester Zeit wiederherzustellen indem  $\text{SO}_4^{2-}$  und  $\text{Cl}^-$  das  $\text{NO}_3^-$  beim Ladungsausgleich ersetzen. Dies ist besonders für das nahezu phloemimmobiler  $\text{Ca}^{2+}$  von entscheidender Bedeutung, da die  $\text{Ca}^{2+}$ -Versorgung des Sprosses direkt vom Xylemimport abhängig ist. Ein verminderter  $\text{K}^+$  und  $\text{Mg}^{2+}$ -Import in den Sproß könnte dagegen durch einen reduzierten Export in die Wurzel kompensiert werden (Marschner et al. 1997). Der Grund für die vorübergehend reduzierte Kationentranslokation ist vermutlich eine direkte Konkurrenz mit  $\text{NH}_4^+$  bei der Aufnahme. Dies wird daran deutlich, daß N-Mangel keinen Effekt auf die Kationenkonzentration im Xylemsaft hatte, obwohl auch hier die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration unmittelbar abnahm ([Abb. 3.30](#)). Langfristig ist jedoch von einer Konkurrenz zwischen  $\text{NH}_4^+$  und Kationen bei der Aufnahme nicht auszugehen (Engels und Marschner 1993).

Im Hinblick auf die N-Translokation erfolgte die Anpassung nach Wechsel der N-Quelle sogar noch schneller. Unmittelbar (nach 15 min) nach Überführen in  $\text{NH}_4^+$ -NL wurde die verminderte  $\text{NO}_3^-$ -Translokation ([Abb. 3.41](#)) durch eine erhöhte Translokation von Glutamin ([Abb. 3.42](#)) vollständig kompensiert (Konzentrationsänderungen im Xylem entsprechen dabei direkt Translokationsänderungen, da die Saftflußrate mit beiden N-Quellen konstant war, [Abb. 3.44](#)). Dies bedeutet, daß  $\text{NH}_4^+$  ohne Zeitverzögerung aufgenommen, effektiv assimiliert und dann in Form von Glutamin, als primäres Assimilationsprodukt, ins Xylem geladen wird. Der Vergleich der Aufnahmerate und der NRA in den

Feinwurzeln nitratversorgter Pflanzen zeigte, daß nur ca. 8% des aufgenommenen  $\text{NO}_3^-$  in der Wurzel assimiliert wurden (s. [4.2.1](#)). Die Aktivität der GS in den Feinwurzeln war jedoch 24fach höher als die der NR und nahm auch bei langfristiger  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung nicht zu (eigene, nicht gezeigte Ergebnisse). Eine effektive  $\text{NH}_4^+$ -Assimilation in den Feinwurzeln ist daher unmittelbar, d.h. vermutlich ohne Neusynthese der GS, nach Wechsel der N-Quelle möglich. Dieser Mechanismus ermöglicht es der Pflanze, die N-Versorgung des Sprosses auch kurzfristig nach Umstellung der N-Quelle aufrechtzuerhalten.

Nach 24 h stieg neben Glutamin auch die Translokationsrate der anderen Amino-N-Verbindungen an, so daß die Gesamt-N-Translokation im Xylem bei  $\text{NH}_4^+$ -ernährten Pappeln im Meßzeitraum von 7 d sogar doppelt so hoch wie bei  $\text{NO}_3^-$ -Ernährung war ([Abb. 3.42](#)). Auch die Amino-N-Zusammensetzung im Xylemsaft änderte sich bei  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung. Im Vergleich zu  $\text{NO}_3^-$ -ernährten Pappeln nahm der prozentuale Glutaminanteil zu und der aller anderen Amino-N-Verbindungen ab ([Tab. 3.11](#)). Nach Umstellung der N-Quelle von  $\text{NO}_3^-$  auf  $\text{NH}_4^+$  erfolgt die Xylembeladung daher (vorübergehend s.u.) verstärkt mit dem primären Assimilationsprodukt Glutamin.

Eine Zunahme der Gesamt-N-Konzentrationen im Xylemsaft bei  $\text{NH}_4^+$ - im Vergleich zu  $\text{NO}_3^-$ -Ernährung wird für *Beta vulgaris* (um 41 %, Arnozis und Findenegg 1986) und *Phaseolus* (um 68 %, Allen et al. 1988) beschrieben. Bei *Zea mays* (Cramer und Lewis 1993) blieb die Gesamt-N-Konzentration hingegen konstant und nahm bei *Sorghum* (Arnozis und Findenegg 1986) und *Triticum* (Cramer und Lewis 1993) sogar ab. Auch für die gleiche Art liegen unterschiedliche Befunde vor (*Ricinus*: Allen und Raven 1987, Allen und Smith 1986).

Eigene Untersuchungen zeigten, daß der verdoppelte N-Transport in den Pappelsproß nach Umstellung der N-Quelle nur ein vorübergehender Effekt war. Langfristig, nach 2monatiger Anzucht mit  $\text{NO}_3^-$  oder  $\text{NH}_4^+$ , war die Gesamt-N-Konzentration im Xylemsaft bei beiden N-Quellen im Rahmen der Meßgenauigkeit gleich ([Abb. 3.51](#)). Das gleiche galt für die prozentuale Amino-N-Zusammensetzung ([Tab. 3.13](#)), wie es auch für *Ricinus* beschrieben wurde (Peuke und Jeschke 1993). Dies zeigt, daß der N-Transport in den Sproß bei  $\text{NH}_4^+$ -ernährten Pappeln langfristig entsprechend des N-Bedarfs im Sproß reguliert wird. Der N-Bedarf des Sprosses war bei beiden N-Quellen gleich, was aus den identischen Wachstumsraten ([Abb. 3.50](#)) gefolgert werden kann.

Bei den meisten krautigen Arten und bei Bäumen wird  $\text{NH}_4^+$  nahezu ausschließlich in der Wurzel assimiliert, was anhand des geringen  $\text{NH}_4^+$ -Anteils an der Gesamt-N-Konzentration im Xylemsaft deutlich wird. ( $\leq 5\%$  bei *Ricinus*, Van Beusichem et al. 1988, Allen und Smith 1986; *Triticum* und *Zea mays*, Cramer und Lewis 1993; *Phaseolus*, Allen et al. 1988; *Cucumis sativus*, Zornoza et al. 1996; *Fagus sylvatica* und *Picea abies*, Gessler et

al. 1998a). Ausnahmen scheinen *Brassica napus* (Finnemann und Schoerring 1999) und *Sorghum* (Arnozis und Findenegg 1986) zu sein, bei denen  $\text{NH}_4^+$ -Konzentrationen von bis zu 8 mM (bzw. 11 %) und 5,5 mM (bzw. 13 %) im Xylemsaft ermittelt wurden. Dies ist vermutlich nicht nur auf die hohen externen  $\text{NH}_4^+$ -Konzentrationen zurückzuführen (12 mM bei *Brassica*, 3 mM bei *Sorghum*), da die  $\text{NH}_4^+$ -Konzentration im Xylemsaft von *Ricinus* mit einem vergleichbaren Angebot von 8 mM nur bei 1,3 mM (bzw. 3 %) lag (Allen und Smith 1986).

Eigene Untersuchungen zeigten, daß die  $\text{NH}_4^+$ -Assimilation bei Pappeln ausschließlich in der Wurzel erfolgt.  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung bewirkte zwar einen Anstieg der  $\text{NH}_4^+$ -Konzentration im Xylemsaft ([Abb. 3.43](#)), die Konzentration blieb jedoch  $< 0,2$  mM, was einem Anteil von  $\leq 1,5\%$  an der Gesamt-N-Konzentration entsprach. Identische Befunde wurden bei langfristiger  $\text{NH}_4^+$ -Versorgung (2monatige Anzucht mit  $\text{NH}_4^+$  oder gemischtem N-Angebot, Tab. 3.13) und auch kurzfristig (15 min - 7 d) nach Wechsel der N-Quelle erhalten (Tab. 3.11). Daß dieser Effekt schon nach 15 min auftrat, bestätigt, daß  $\text{NH}_4^+$  ohne Zeitverzögerung effektiv in der Wurzel assimiliert werden kann (s.o.).

#### 4.5.3 $\text{NO}_3^- / \text{K}^+$ -Interaktion beim Langstreckentransport

Um Aufschluß über die Interaktion zwischen  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{K}^+$  beim Langstreckentransport zu erhalten, wurde das externe  $\text{NO}_3^-/\text{K}^+$ -Angebot variiert und der Einfluß auf die Xylemsaftzusammensetzung untersucht. Im Vordergrund stand dabei der Einfluß von  $\text{K}^+$ -Mangel (für 1 h - 11 d), da hier die stärksten Effekte zu erwarten waren. Durch Saftflußmessungen an intakten Pappeln konnte gezeigt werden, daß  $\text{K}^+$ -Mangel im Untersuchungszeitraum von 8 d keinerlei Einfluß auf die Flußrate im Xylemsaft hatte ([Abb. 3.46](#)). Deutliche Änderungen der Flußrate sind daher auch nach 11 d  $\text{K}^+$ -Mangel nicht zu erwarten. Da die Flußrate konstant blieb, reflektieren die im Folgenden beschriebenen Konzentrationsänderungen im Xylemsaft direkt Änderungen der Nährstofftranslokation in den Sproß.

$\text{K}^+$ -Mangel führte unmittelbar (nach 1 h) zu einer verminderten  $\text{K}^+$ -Konzentration im Xylemsaft der Pappeln ([Tab. 3.12](#): um 31 % im Vergleich zu  $\text{K}^+$ -versorgten Pflanzen). Im Gegensatz zum N-Mangel, wo  $\text{NO}_3^-$  schon nach 24 h nur noch in Spuren im Xylemsaft vorlag ([Abb. 3.30](#)), war die  $\text{K}^+$ -Konzentration im Xylemsaft selbst nach 11 d ohne  $\text{K}^+$ -Angebot nur 49 % geringer als bei  $\text{K}^+$ -versorgten Pflanzen ([Abb. 3.45](#)). Dies könnte zwei Gründe haben. Die Xylembeladung erfolgt entweder durch  $\text{K}^+$ -Reserven der Wurzel (der  $\text{K}^+$ -Gehalt in den Feinwurzeln war 4fach höher als der  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt, Tab. 3.6) und/oder durch  $\text{K}^+$ -Importe aus dem Sproß. Dies ist bei  $\text{NO}_3^-$  aufgrund der geringen Phloemmobilität nicht möglich. Aufschluß über die relative Bedeutung dieser beiden  $\text{K}^+$ -Quellen

für die Xylembeladung gibt der Vergleich zwischen  $K^+$ -Reserven in der Wurzel und der  $K^+$ -Translokationsrate in den Sproß:

Bei  $K^+$ -versorgten Pappeln lag die mittlere  $K^+$ -Translokationsrate während eines Tag/Nacht-Zyklus bei  $0,87 \mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{Fwt}_{\text{gesamt}}$  (Abb. 3.18). Die Wurzelmasse betrug etwa 40 % des Gesamtfrischgewichts (Abb. 3.4b). Bezogen auf die Wurzelmasse wurden ca.  $2,2 \mu\text{mol K}^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{Fwt}_{\text{Wurzel}}$  in den Sproß transportiert. Bei  $K^+$ -Mangel war die  $K^+$ -Translokation nach 1 h 31 % geringer als bei  $K^+$ -versorgten Pflanzen (s.o.), also wurden nur  $1,5 \mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{Fwt}_{\text{Wurzel}}$  in den Sproß transportiert. Der  $K^+$ -Gehalt der Feinwurzeln betrug  $30 \mu\text{mol g}^{-1} \text{Fwt}_{\text{Feinwurzel}}$  (Tab. 3.6). Geht man davon aus, daß die Grobwurzeln einen ähnlichen  $K^+$ -Gehalt haben, könnte der  $K^+$ -Transport bei  $K^+$ -Mangel nur ca. 20 h allein durch gespeicherte  $K^+$ -Reserven aufrechterhalten werden ( $K^+$ -Gehalt /  $K^+$ -Translokationsrate =  $30 \mu\text{mol g}^{-1} \text{Fwt}_{\text{Wurzel}} / 1,5 \mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{Fwt}_{\text{Wurzel}} = 20 \text{ h}$ ).

Diese grobe Abschätzung verdeutlicht, daß hohe  $K^+$ -Konzentrationen im Xylemsaft bei  $K^+$ -Mangel langfristig nur durch Phloemimporte aus den Sproß aufrechterhalten werden können. Die nach 11 d  $K^+$ -Mangel gemessene  $K^+$ -Konzentration im Xylemsaft ist daher ausschließlich auf Phloemimport aus dem Sproß zurückzuführen. Bei  $K^+$ -versorgten Pflanzen entspricht 26 - 46 % der  $K^+$ -Konzentration im Xylemsaft Phloemimporten aus dem Sproß (26 % bei Weizen, 36 % bei Reis, Cooper und Clarkson 1989; 40 % bei weißen Lupinen, Jeschke et al. 1985; 46 % bei Rizinus, Jeschke und Pate 1991c). Korrespondierend zu diesen Untersuchungen dürfte der phloemimportierte  $K^+$ -Anteil bei  $K^+$ -versorgten Pappeln maximal bei 46 % liegen. Nach 11 d  $K^+$ -Mangel war die  $K^+$ -Konzentration im Xylemsaft nur 49 % geringer als bei  $K^+$ -versorgten Pappeln, was dem maximalen Anteil phloemimportierten  $K^+$  bei  $K^+$ -versorgten Pflanzen entspricht. Dieser Befund läßt vermuten, daß der  $K^+$ -Import aus dem Sproß bei  $K^+$ -Limitierung unverändert bleibt oder möglicherweise sogar erhöht ist, wie unveröffentlichte Ergebnisse von Wolf und Jeschke (in Peuke und Jeschke 1993) zeigen. Die Bedeutung dieses Effekts wird klar, wenn der Einfluß von  $K^+$ -Mangel auf den Xylemtransport anderer Nährstoffe berücksichtigt wird.

Nach dem Ben Zioni-Dijkhoorn-Modell (Ben-Zioni et al. 1971) erfolgt der  $\text{NO}_3^-$ -Transport in den Sproß gekoppelt an  $K^+$ . Korrespondierend hierzu wurde eine enge Korrelation bei der Xylembeladung von  $\text{NO}_3^-$  und  $K^+$  beobachtet (Touraine et al. 1988, Casadesus et al. 1995).  $K^+$ -Mangel sollte daher einen direkten Effekt auf den  $\text{NO}_3^-$ -Transport im Xylem haben.

Eigene Untersuchungen zeigten, daß  $K^+$ -Mangel nicht nur die  $K^+$ -Konzentration im Xylemsaft verminderte sondern auch die  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{SO}_4^{2-}$ -Konzentration reduzierte. Dieser Effekt trat unmittelbar auf und nahm mit zunehmender Behandlungsdauer nur geringfügig zu. Nach 1 h  $K^+$ -Mangel war die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft 36 % geringer als bei  $K^+$ -

versorgten Pflanzen ([Tab. 3.12](#)), nach 11 d betrug die Abnahme für  $\text{NO}_3^-$  43 % und für  $\text{SO}_4^{2-}$  35 % ([Abb. 3.45](#)). Das unmittelbare Auftreten dieses Effekts schließt aus, daß dies indirekt durch einen verminderten Nährstoffbedarf durch  $\text{K}^+$ -limitiertes Sproßwachstum (Cakmak et al. 1994) bewirkt wird. Denkbar wäre, daß  $\text{K}^+$ -Mangel die  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{SO}_4^{2-}$ -Aufnahme und als Folge davon die Xylembeladung inhibiert. Zahlreiche Untersuchungen an verschiedenen Pflanzenarten belegen jedoch, daß die  $\text{K}^+$ - und  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme nicht direkt gekoppelt sind. Beispielsweise bewirkte eine höhere Lichtintensität bei Sonnenblumen einen Anstieg der  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahmerate ohne Einfluß auf die  $\text{K}^+$ -Aufnahme zu nehmen (Casadesus et al. 1995). Bei *Lolium* wurde nach  $\text{NO}_3^-$ -Zugabe zu N-verarmten Pflanzen eine Oszillation der  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme beobachtet (Jarvis und MacDuff 1989), ohne daß die  $\text{K}^+$ -Aufnahme dem folgte (Jarvis et al. 1990). Bei Rizinus nahm die  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahmerate mit steigendem Angebot zu und auch hier hatte dies keinen Einfluß auf die  $\text{K}^+$ -Aufnahme (Kirkby und Armstrong 1980). Eine verminderte  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{SO}_4^{2-}$ -Beladung aufgrund verminderter Aufnahmeraten bei  $\text{K}^+$ -Mangel ist daher unwahrscheinlich. Der Grund für die verminderte  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{SO}_4^{2-}$ -Konzentration ist vielmehr der Ladungsausgleich im Xylemsaft. Dies wird daran deutlich, daß die  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{SO}_4^{2-}$ -Konzentration äquivalent zur  $\text{K}^+$ -Konzentration abnahm, so daß die Ladungsbalance im Vergleich zu  $\text{K}^+$ -versorgten Pappeln vollständig ausgeglichen war ([Abb. 3.45](#)). Die externe  $\text{Mg}^{2+}$  und  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration bei  $\text{K}^+$ -Mangel entsprach der externen  $\text{K}^+$ -Konzentration bei  $\text{K}^+$ -versorgten Pflanzen (je 0,3 mM  $\text{Mg}^{2+}$  bzw.  $\text{Ca}^{2+}$  gegenüber 0,45 mM  $\text{K}^+$ , [Tab. 2.2](#)). Theoretisch wäre der Ladungsausgleich bei  $\text{K}^+$ -Mangel daher durch eine verstärkte Xylembeladung mit  $\text{Mg}^{2+}$  und/oder  $\text{Ca}^{2+}$  möglich um so die  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{SO}_4^{2-}$ -Konzentration aufrecht zu erhalten. Daß dies nicht erfolgte zeigt, daß  $\text{K}^+$  eine dominante Funktion als Gegenkation für den  $\text{NO}_3^-$ - und  $\text{SO}_4^{2-}$ -Transport in den Pappelsproß hat, die nicht durch andere Kationen ersetzt werden kann. Vergleichbare Befunde liegen an dekapitierten Maiskeimlingen vor, die entweder in  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  oder  $\text{KNO}_3$  angezogen wurden (Rufty et al. 1981). Die  $\text{NO}_3^-$ -Translokation im Exsudat war bei  $\text{K}^+$ -behandelten Maiskeimlingen 61 % bzw. 72 % höher als bei  $\text{Na}^+$  bzw.  $\text{Ca}^{2+}$ -Behandlung. Die dominante Rolle von  $\text{K}^+$  als Gegenkation für  $\text{NO}_3^-$  im Xylem, konnte im Rahmen der vorliegenden Arbeit auch durch den umgekehrten Versuchsansatz (N-Mangel anstatt  $\text{K}^+$ -Mangel) gezeigt werden. Bei lokalem N-Mangel sank die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft, was langfristig (nach 8 d) durch eine verminderte Xylembeladung mit  $\text{K}^+$  kompensiert wurde ([Abb. 3.52b](#)).

Ein limitiertes  $\text{K}^+$ -Angebot führt daher über den Ladungsausgleich im Xylemsaft zu einer reduzierten Translokation von  $\text{NO}_3^-$  (und  $\text{SO}_4^{2-}$ ) in den Sproß. Eine direkte Kopplung bei der Xylembeladung, d.h.  $\text{NO}_3^-/\text{K}^+$ -Cotransport ist jedoch unwahrscheinlich (Touraine und Grignon 1982a,b). Dies wird durch eigene Untersuchungen bestätigt, da (a) N-Mangel bzw. eine geringere Xylembeladung mit  $\text{NO}_3^-$  kurzfristig (über 3 d) keinen Einfluß auf die

$K^+$ -Beladung hatte ([Abb. 3.30](#)) und (b) ein erhöhtes  $K^+$ -Angebot bzw. eine verstärkte Xylembeladung mit  $K^+$  umgekehrt auch keinen Einfluß auf die  $NO_3^-$ -Beladung nahm ([Tab. 3.12](#)).

Wie eingangs erläutert, ist davon auszugehen, daß selbst nach 11 d  $K^+$ -Mangel der  $K^+$ -Import aus dem Sproß in die Wurzel genauso hoch oder möglicherweise sogar höher war als bei  $K^+$ -versorgten Pflanzen. Dies stellt einen Mechanismus dar, die  $NO_3^-$ -Translokation in den Sproß bei limitiertem  $K^+$ -Angebot zu erleichtern (Kirkby et al. 1981). Diese konnte durch eigene Experimente bestätigt werden. Bei lokal begrenztem  $K^+$ -Mangel für 3 d (nur 50 % des Wurzelsystems in K-freier NL) waren die Pflanzen in der Lage die  $K^+$ -Konzentration im Xylemsaft, gewonnen an der Sproßbasis, auf den Wert von vollständig  $K^+$ -versorgten Pflanzen aufrechtzuerhalten. Parallel dazu blieb auch die  $NO_3^-$ - und  $SO_4^{2-}$ -Konzentration konstant ([Abb. 3.53](#)). Eine konstante  $NO_3^-$ -Konzentration im Xylemsaft der Sproßbasis kann im Untersuchungszeitraum von 3 d nur erreicht werden, wenn beide Wurzelhälften zu etwa gleichen Anteilen an der Xylembeladung beteiligt sind, wie anhand von split-root-Experimenten, bei denen nur 50 % der Wurzel mit  $NO_3^-$  versorgt wurde, deutlich wurde ([Abb. 3.52](#)). Korrespondierend hierzu ist davon auszugehen, daß die Xylembeladung mit  $NO_3^-$  und vermutlich auch mit  $SO_4^{2-}$  in beiden Wurzelhälften annähernd gleich war und damit keine  $K^+$ -Limitierung in der  $K^+$ -Mangelzone vorlag. Die gespeicherten  $K^+$ -Vorräte in der Wurzel waren zu gering, dies über einen Zeitraum von 3 d zu ermöglichen (s.o.). Eine konstante  $NO_3^-$  und  $SO_4^{2-}$ -Translokation im Xylem kann daher nur durch einen erhöhten  $K^+$ -Import aus dem Sproß in die  $K^+$ -Mangelzone erreicht werden.

## 5 Zusammenfassung

### A Methodische Aspekte

1. Die „Infiltrations-Zentrifugations-Technik“ mit einer Zentrifugalbeschleunigung von 1470 g liefert eine gute Ausbeute an Blatt-Apoplastenflüssigkeit bei minimaler Kontamination durch cytoplasmatische Inhaltsstoffe.

2. Die Nährstofftranslokationsrate im Xylem wurde anhand (a) der Nährstoffkonzentration im Wurzeldruckexsudat nach Dekapitieren des Sprosses und (b) der Flußrate im Xylem mit einer hohen zeitlichen Auflösung in Abhängigkeit von der Tageszeit und mit einer hohen räumlichen Auflösung entlang der Sproßachse ermittelt. Die berechneten Translokationsraten entsprechen denen von intakten Pflanzen:

(a) Während der ersten 10 min nach Dekapitieren blieb die Nährstoffkonzentration im Wurzeldruckexsudat konstant und reflektiert die Xylemsaftzusammensetzung intakter Pflanzen.

(b) Mit der „stem heat balance Methode“ war es möglich, die „in situ“ Flußrate im Xylem mit einer guten Meßgenauigkeit, einer hohen Zeitauflösung (10 min) und für verschiedene Sproßbereiche, jedoch nicht für einzelne Blätter, zu quantifizieren. Der Eintransport von Xylemsaft in einzelne Blätter wurde indirekt anhand der Transpirationsrate durch Verwendung von Blattküvetten ermittelt. Durch den Vergleich mit den „in situ“ Saftflußraten verschiedener Sproßbereiche, wurde sichergestellt, daß die Transpirationsraten mit den tatsächlichen Eintransportraten intakter Pflanzen übereinstimmen.

### B N-Transportformen im Xylemsaft $\text{NO}_3^-$ -ernährter Pappeln

1. Anhand der Verteilung der NR-Aktivität zwischen Wurzel und Sproß und durch den Vergleich zwischen  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahmerate und -Exportate in den Pappelsproß wurde gezeigt, daß die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion fast ausschließlich im Sproß erfolgt.

2. Bei nitraternährten Pappeln wird Stickstoff zu 50 - 60 % in Form von  $\text{NO}_3^-$  in den Sproß transportiert, 40 - 50 % entsprechen organischen N-Verbindungen. Glutamin und Asparagin haben dabei den Hauptanteil (zusammen ca. 90 % der Gesamt-Amino-N-Konzentration). Da die  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion vorwiegend im Sproß erfolgt, ist davon auszugehen, daß die Amino-N-Fraktion im Xylemsaft hauptsächlich Phloemimporten aus dem Sproß entspricht.

### **C $\text{NO}_3^-$ -Bedarf und $\text{NO}_3^-$ -Translokation entlang der Sproßachse**

1. Die NR-Aktivität ist in den jungen wachsenden Blättern am höchsten und nimmt mit zunehmendem Blattalter kontinuierlich ab.  $\text{NO}_3^-$ -Speicherung erfolgt überwiegend in den älteren Blättern der unteren Sproßhälfte. In der Lichtphase wird das im Xylem angelieferte  $\text{NO}_3^-$  fast ausschließlich für die  $\text{NO}_3^-$ -Assimilation genutzt. Änderungen der NR-Aktivität reflektieren daher direkt Änderungen im  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf entlang der Sproßachse, was bedeutet, daß der  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf von der Sproßspitze zur Sproßbasis abnimmt.

2. Der erhöhte  $\text{NO}_3^-$ -Bedarf im oberen Sproßbereich der Pappeln ist mit einer erhöhten  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr durch das Xylem korreliert. Dies wird durch einen gesteigerten Volumenfluß in die jungen Blätter erreicht, während die  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration entlang der Sproßachse konstant bleibt.

3. Der  $\text{NO}_3^-$ -Transport im Xylem erfolgt gerichtet in den oberen Sproßbereich, jedoch nicht direkt in die wachsenden Blätter. Die wachsenden Blätter haben zwar die höchste NRA, maximale  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion kann jedoch aufgrund einer limitierten  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr nicht erreicht werden. Den höchsten Beitrag zur „in situ“  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion entlang der Sproßachse leisten die jungen fast und vollständig expandierten Blätter, was der Vergleich zwischen  $\text{NO}_3^-$ -Zufuhr rate und maximaler Umsatzrate zeigte.

### **D Nährstofftranslokation in Abhängigkeit von der Tageszeit**

Die Nährstofftranslokation in den Sproß erfolgt vorwiegend in der ersten Hälfte der Lichtperiode und nimmt zum Ende der Lichtperiode je nach Nährstoff um 40 - 53 % ab. Mit einsetzender Dunkelheit sinkt die Nährstofftranslokation um weitere 15 - 28 %.

Die Änderungen der Xylembeladung in der Lichtphase sind unabhängig von der Flußrate im Xylem, was auf eine diurnale Regulation der Xylembeladung hinweist. Vermutlich stellt dies eine Anpassung an den verminderten Nährstoffbedarf des Sprosses in der zweiten Hälfte der Lichtphase dar.

### **E Nährstofftranslokation in Abhängigkeit vom N- und $\text{K}^+$ -Angebot**

1. Die  $\text{NO}_3^-$ -Beladung des Xylems erfolgt vorwiegend durch aktuell aufgenommenes  $\text{NO}_3^-$ . N-Mangel führt daher unmittelbar zu einer verminderten  $\text{NO}_3^-$ - und damit N-Translokation in den Sproß. Nach 1 - 3 d wird dies zusätzlich durch eine reduzierte Amino-N-Beladung und eine verminderte Flußrate im Xylem verstärkt.

N-Mangel hat kurzfristig (über 3 d) keinen direkten Einfluß auf die Konzentration anderer Nährstoffe im Xylem, da der Ladungsausgleich durch eine verstärkte Xylembeladung mit

organischen Anionen erreicht wird. Langfristig erfolgt der Ladungsausgleich über eine verminderte  $K^+$ -Beladung des Xylems.

2. Änderungen im externen  $NO_3^-$ -Angebot (0,25 mM - 8 mM) haben keinen Einfluß auf die Translokation von N-Verbindungen und anderen Makronährstoffen, da der N-Bedarf für das Wachstum schon bei einem externen Angebot von 0,25 mM gedeckt wird.

3. Im Gegensatz zu anderen Arten wachsen Pappeln mit  $NO_3^-$  oder  $NH_4^+$  als N-Quelle gleich gut. Die Kationerversorgung des Sprosses nach Umstellung auf  $NH_4^+$ -Ernährung wird innerhalb kurzer Zeit (nach 3 d) wiederhergestellt, indem  $SO_4^{2-}$  und  $Cl^-$  das  $NO_3^-$  beim Ladungsausgleich ersetzen. Die N-Versorgung des Sprosses wird unmittelbar nach Umstellung (nach 15 min) durch eine erhöhte Xylembeladung mit Glutamin aufrechterhalten.

4. Die  $NO_3^-$ - und  $SO_4^{2-}$ -Translokation im Xylem ist abhängig von der  $K^+$ -Verfügbarkeit.  $K^+$  ist das dominante Gegenkation für  $NO_3^-$  und  $SO_4^{2-}$  und kann nicht durch andere Kationen ersetzt werden. Bei limitiertem  $K^+$ -Angebot wird  $K^+$  verstärkt über das Phloem in die Wurzel importiert um den  $NO_3^-$  und  $SO_4^{2-}$ -Transport in den Sproß zu erleichtern.

## 6 Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

- [Abb. 2.1](#) Kreuzung zwischen *Populus tremula* und *Populus alba*.
- [Abb. 2.2](#) Anzuchtgefäß für die Verwendung in der Druckkammer.
- [Abb. 2.3](#) Schematische Darstellung der Meßmanschette bei der Saftflußmessung mit der „stem heat balance-Methode“.
- [Abb. 3.1](#) Zunahme des Frischgewichtes der Sproßlänge und der Blattanzahl in Abhängigkeit vom Pflanzenalter.
- [Abb. 3.2](#) Blattfrischgewicht und Relation zwischen Fwt. und Blattfläche in Abhängigkeit von Blattalter.
- [Abb. 3.3](#) Relation zwischen Fwt. und Blattfläche in verschiedenen Bereichen der Blattspreite von Blatt 14.
- [Abb. 3.4](#) Exsudationsraten in Abhängigkeit von der Pflanzengröße.
- [Abb. 3.5](#) Exsudationsrate in Abhängigkeit vom Sammelintervall.
- [Abb. 3.6](#) Exsudationsrate in Abhängigkeit von der Tageszeit.
- [Abb. 3.7](#) Einfluß des  $\text{NO}_3^-$ -Angebots auf die Exsudationsraten.
- [Abb. 3.8](#) Relative Ionenkonzentration im Wurzeldruckexsudat in Abhängigkeit vom Sammelzeitpunkt nach Dekapitieren und von der Tageszeit.
- [Abb. 3.9](#) Vergleichende Saftflußmessung mit der „stem heat balance-Methode“ und der „gravimetrischen Methode“.
- [Abb. 3.10](#) Saftflußmessung in verschiedenen Sproßbereichen.
- [Abb. 3.11](#) Korrelation zwischen Saftfluß und Blattfrischgewicht.
- [Abb. 3.12](#) Einfluß der Lichtintensität auf die Nettophotosynthese und die Transpiration.
- [Abb. 3.13](#) Vergleich zwischen „in vivo“ und „in vitro“ NR-Aktivität.
- [Abb. 3.14](#) Einfluß des Tagesganges auf die Konzentration von Makronährstoffen im Wurzeldruckexsudat.
- [Abb. 3.15](#) Prozentualer Anteil der einzelnen Ionenarten an der Gesamtkonzentration anorganischer Ionen im Wurzeldruckexsudat in Abhängigkeit von der Tageszeit.
- [Abb. 3.16](#) Einfluß der Tageszeit auf die Ladungsbilanz im Wurzeldruckexsudat.
- [Abb. 3.17](#) Saftflußraten im Tagesgang.
- [Abb. 3.18](#) Tagesgang des Saftflusses und der Nährstofftranslokation von der Wurzel in den Sproß.
- [Abb. 3.19](#) Transpiration und Nettophotosynthese verschiedener Blattalterstadien in Abhängigkeit vom Tagesgang.
- [Abb. 3.20](#)  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme in der Lichtphase.
- [Abb. 3.21](#) Zusammensetzung des Xylemexsudats gewonnen an unterschiedlich alten Blättern.
- [Abb. 3.22](#) Relative Ionenkonzentration im Xylemexsudats in Abhängigkeit von Blattalter.
- [Abb. 3.23](#) „In situ“ Saftfluß in 2 Sproßbereiche der Pappel.
- [Abb. 3.24](#) Transpirationsraten in Abhängigkeit vom Blattalter.

- [Abb. 3.25](#) NR-Aktivität, Protein-, Chlorophyllgehalt und Nettophotosynthese in Abhängigkeit vom Blattalter.
- [Abb. 3.26](#) Amino-N-Gehalte in Abhängigkeit vom Blattalter.
- [Abb. 3.27](#) Ionengehalte in Abhängigkeit vom Blattalter.
- [Abb. 3.28](#) Frischgewicht, NR-Aktivität, Transpiration, Amino-N- und  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt unterschiedlich alter Blätter.
- [Abb. 3.29](#) NR-Aktivität,  $\text{NO}_3^-$ -Gehalt und berechneter  $\text{NO}_3^-$ -Eintransport durch das Xylem in Abhängigkeit vom Blattalter.
- [Abb. 3.30](#) Einfluß von N-Mangel auf die Konzentration anorganischer Ionen und die Ladungsbilanz im Wurzeldruckexsudat in Abhängigkeit von der Zeit.
- [Abb. 3.31](#) Einfluß eines erhöhten  $\text{Cl}^-$ -Angebots auf die Konzentration anorganischer Ionen im Wurzeldruckexsudat in Abhängigkeit von der Zeit.
- [Abb. 3.32](#) Einfluß von N-Mangel auf die Konzentration von Amino-N und Gesamtstickstoff im Wurzeldruckexsudat in Abhängigkeit von der Zeit.
- [Abb. 3.33](#) Einfluß von N-Mangel auf die Saftflußrate im Xylem in Abhängigkeit von der Zeit.
- [Abb. 3.34](#) Einfluß eines verminderten  $\text{NO}_3^-$ -Angebots auf die Konzentration anorganischer Ionen und die Ladungsbilanz im Wurzeldruckexsudat.
- [Abb. 3.35](#) Einfluß eines verminderten  $\text{NO}_3^-$ -Angebots auf die Saftflußrate im Xylem in Abhängigkeit von der Zeit.
- [Abb. 3.36](#)  $\text{NO}_3^-$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat nach 8facher Erhöhung des  $\text{NO}_3^-$ -Angebots in Abhängigkeit von der Zeit.
- [Abb. 3.37](#) Einfluß eines erhöhten  $\text{NO}_3^-$ -Angebots auf die Konzentration anorganischer Ionen, AS und die Ladungsbilanz im Wurzeldruckexsudat.
- [Abb. 3.38](#) Einfluß eines erhöhten  $\text{NO}_3^-$ -Angebots auf die Saftflußrate im Xylem in Abhängigkeit von der Zeit.
- [Abb. 3.39](#)  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme nach Erhöhung des  $\text{NO}_3^-$ -Angebots in Abhängigkeit von der Zeit.
- [Abb. 3.40](#) Einfluß des erhöhten  $\text{NO}_3^-$ -Angebots auf die Nährstoffgehalte im Blatt und in den Feinwurzeln.
- [Abb. 3.41](#) Konzentration anorganischer Ionen und Ladungsbilanz im Wurzeldruckexsudat in Abhängigkeit von der Zeit nach Wechsel der N-Quelle von  $\text{NO}_3^-$  zu  $\text{NH}_4^+$ .
- [Abb. 3.42](#) Konzentration von N-Verbindungen im Wurzeldruckexsudat in Abhängigkeit von der Zeit nach Wechsel der N-Quelle von  $\text{NO}_3^-$  zu  $\text{NH}_4^+$ .
- [Abb. 3.43](#)  $\text{NH}_4^+$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat in Abhängigkeit von der Zeit nach Wechsel der N-Quelle von  $\text{NO}_3^-$  zu  $\text{NH}_4^+$ .
- [Abb. 3.44](#) Saftflußrate im Xylem nach Wechsel der N-Quelle von  $\text{NO}_3^-$  zu  $\text{NH}_4^+$  in Abhängigkeit von der Zeit.
- [Abb. 3.45](#) Einfluß von  $\text{K}^+$ -Mangel auf die Konzentration anorganischer Ionen, AS und die Ladungsbilanz im Wurzeldruckexsudat.
- [Abb. 3.46](#) Einfluß von  $\text{K}^+$ -Mangel auf die Saftflußrate im Xylem in Abhängigkeit von der Zeit.
- [Abb. 3.47](#) Einfluß eines erhöhten  $\text{NO}_3^-$ -Angebots auf das Wachstum von Pappeln.

- Abb. 3.48**  $\text{NO}_3^-$ -Aufnahme nach Erhöhung des  $\text{NO}_3^-$ -Angebots über einen Zeitraum von 17 d.
- Abb. 3.49** Einfluß eines erhöhten  $\text{NO}_3^-$ -Angebots für 1 Monat auf die Konzentration anorganischer Ionen und die Ladungsbilanz im Wurzeldruckexsudat.
- Abb. 3.50** Einfluß der N-Quelle auf das Wachstum von Pappeln.
- Abb. 3.51** Einfluß der N-Quelle bei der Anzucht auf die Konzentration von anorganischen Ionen, N-Verbindungen und die Ladungsbilanz im Wurzeldruckexsudat.
- Abb. 3.52** Einfluß von N-Mangel in einem Wurzelbereich auf die Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats.
- Abb. 3.53** Einfluß von  $\text{K}^+$ -Mangel in einem Wurzelbereich auf die Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats.
- Abb. 3.54** Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats bei N-Versorgung durch  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{NH}_4^+$  in je einer Wurzelhälfte.
- Tab. 2.1** Salzkonzentrationen der verschiedenen Nährlösungen.
- Tab. 2.2** Ionenkonzentrationen der verschiedenen Nährlösungen.
- Tab. 3.1** Kontamination mit cytoplasmatischen Bestandteilen und Volumen der gewonnenen AWF in Abhängigkeit von der Zentrifugalbeschleunigung.
- Tab. 3.2** Kontamination der „Apoplastenflüssigkeit“ durch cytoplasmatische Inhaltsstoffe in Abhängigkeit von der Zentrifugalbeschleunigung.
- Tab. 3.3** Tageszeitabhängige Zunahme der Ionenkonzentration im Wurzeldruckexsudat innerhalb von 30 min nach Dekapitieren des Sprosses.
- Tab. 3.4** Korrelation zwischen Saftfluß und verschiedenen Pflanzenparametern.
- Tab. 3.5** Saftflußbestimmung durch Transpirationssmessung an einzelnen Blättern im Vergleich zur „in situ“ Saftflußmessung in verschiedenen Sproßbereichen durch die „stem heat balance-Methode“.
- Tab. 3.6** Verteilung der NR-Aktivität, von Nährstoffen und von Amino-N zwischen Blättern und Feinwurzeln.
- Tab. 3.7** Amino-N-Zusammensetzung von Blättern und Feinwurzel.
- Tab. 3.8** Vorgenommene Änderungen im Nährstoffangebot und Untersuchungszeitraum bei den Experimenten zu „zeitabhängigen Veränderungen im Nährstofftransport von der Wurzel in den Sproß nach Wechsel der Nährstoffversorgung“.
- Tab. 3.9**  $\text{NO}_3^-$ - und  $\text{K}^+$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat bei unterschiedlichem Angebot.
- Tab. 3.10** Prozentualer Anteil der anorganischen Anionen am Ausgleich positiver Ladungsäquivalente im Wurzeldruckexsudat abhängig von der N-Quelle.
- Tab. 3.11** Vergleich der N-Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats bei  $\text{NO}_3^-$ - und  $\text{NH}_4^+$ -Ernährung.
- Tab. 3.12**  $\text{NO}_3^-$ - und  $\text{K}^+$ -Konzentration im Wurzeldruckexsudat bei  $\text{K}^+$ -Mangel in Abhängigkeit von der Behandlungsdauer.
- Tab. 3.13** Vergleich der N-Zusammensetzung des Wurzeldruckexsudats nach Wachstum mit verschiedenen N-Quellen.
- Tab. 4.1** Osmotisch angetriebener Anteil des Saftflusses im Xylem in der Licht- und in der Dunkelphase.

## 7 Abkürzungsverzeichnis

% (v/v)	Volumenprozent
% (w/v)	Gewichtsprozent
$\epsilon$	Extinktionskoeffizient
°C	Grad Celsius
$\mu$	mikro- ( $1 \cdot 10^{-6}$ )
Abb.	Abbildung
AS	Aminosäuren
ASN	Asparagin
AWF	Apoplastenwaschflüssigkeit
bar	Druckeinheit, 1 bar entspricht 0,1 Pascal
BSA	Rinderserumalbumin
Chl.	Chlorophyll
DTT	Dithiothreitol
EDTA	Etylendiamintetraacetat
EGTA	Etylenglycol-bis( $\beta$ -aminoethyether)-N,N,N',N'-tetraacetat
Fa.	Firma
FAD	Flavinadenindinucleotid
Fwt.	Frischgewicht
g	Erdbeschleunigung ( $9,81 \text{ m s}^{-2}$ )
GAP-DH	Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase
GLN	Glutamin
GLU	Glutamat
h	Stunde
HEPES	N-[2-Hydroxyethyl]piperazin-N'-[2-ethansulfonsäure]
HPI	Hexosephosphat-Isomerase
HPLC	„high performance liquid chromatography“
HPLC-H <sub>2</sub> O	Reinstwasser mit HPLC-Reinheitsgrad
K <sub>m</sub>	Michaelis-Menten Konstante
KPP	Kaliumphosphatpuffer
l	Liter
M	Konzentrationsangabe: Molar ( $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ )
m	Meter, milli- ( $1 \cdot 10^{-3}$ )
MDH	Malat-Dehydrogenase
min	Minute
MOPS	3-[N-Morpholin]propansulfonsäure
M <sub>r</sub>	Molekulargewicht

---

n	nano- ( $1 \cdot 10^{-9}$ )
NAD(P)H	$\beta$ -Nicotinamid-adenin-dinucleotid(phosphat)
NL	Nährlösung
NR	Nitratreduktase
OPA	ortho-Phthaldialdehyd
PEG	Polyethylenglykol
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Protonenkonzentration
PMSF	Phenylmethansulfonylfluorid
PVPP	Polyvinylpolypyrrolidon
R <sup>2</sup>	Korrelationskoeffizient
RH	relative Luftfeuchtigkeit (%)
RP-HPLC	„reversed-phase high performance liquid chromatography“
s	Sekunde
SD	Standardabweichung
$\Sigma$	Summe
T	Temperatur (°C)
Tab.	Tabelle
Upm	Umdrehungen pro Minute
UV	ultraviolettes Licht
V	Volt
W	Watt

## 8 Literaturverzeichnis

- AGRELL D., LARSSON C.M., LARSSON M., MACKOWN C.T., RUFTY T.W. (1997) Initial kinetics of <sup>15</sup>N-nitrate labelling of root and shoot N fractions of barley cultured at different relative addition rates of nitrate-N. *Plant Physiol. Biochem.* 35: 923-931
- AKED J., HALL J.L. (1993) Effect of powdery mildew infection on concentrations of apoplastic sugar in pea leaves. *New Phytol.* 123: 283-288
- ALI I.E.A., KAFKAFI U., YAMAGUCHI I., SUGIMOTO Y., INANAGA S. (1998) Response of oilseed rape plant to low root temperature and nitrate:ammonium ratios. *J. Plant Nutrition* 21: 1463-1481
- ALLEN S., SMITH J.A.C. (1986) Ammonium nutrition in *Ricinus communis*: Its effect on plant growth and the chemical composition of the whole plant, xylem and phloem saps. *J. Exp. Bot.* 37: 1599-1610
- ALLEN S., RAVEN J.A. (1987) Intracellular pH regulation in *Ricinus communis* grown with ammonium or nitrate as N source: The role of long distance transport. *J. Exp. Bot.* 38: 580-596
- ALLEN S., RAVEN J.A., SRENT J.I. (1988) The role of long distance transport in intracellular pH regulation in *Phaseolus vulgaris* grown with ammonium or nitrate as nitrogen source, or nodulated. *J. Exp. Bot.* 39: 513-528
- ANDERSON P.C., BRODBECK B.V. (1989) Diurnal and temporal changes in the chemical profile of xylem exudate from *Vitis rotundifolia*. *Physiol. Plant.* 75: 63-70
- ANDREWS M. (1986) The partitioning of nitrate assimilation between root and shoot of higher plants. *Plant, Cell and Environment* 9: 511-519
- ANDREWS M., MORTON J.D, LIEFFERING M. BISSET L. (1992) The partitioning of nitrate assimilation between root and shoot of a range of temperate cereals and pasture grasses. *Annals of Botany* 70: 271-276
- ARMSTRONG M.J., KIRKBY E.A. (1979) Estimation of potassium recirculation in tomato plants by comparison of the rates of potassium and calcium accumulation in the top with their fluxes in the xylem stream. *Plant Physiol.* 63: 1143-1148
- ARNON D.I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts, Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24: 1-15
- ARNOZIS P.A., FINDENEGG G.R. (1986) Electrical charge balance in the xylem sap of beet and *Sorghum* plants grown with either NO<sub>3</sub> or NH<sub>4</sub> nitrogen. *J. Plant Physiol.* 125: 441-449

- ASLAM M., HUFFAKER R.C., RAINS D.W., RAO K.P. (1979) Influence of light and ambient carbon dioxide concentration on nitrate assimilation by intact barley seedlings. *Plant Physiol.* 63: 1205-1209
- BAKER J.M., VAN BAVEL C.H.M. (1987) Measurement of mass flow of water in stems of herbaceous plants. *Plant Cell and Environment* 10: 777-782
- BAKER J.M., NIEBER J.L. (1989) An analysis of the steady-state heat balance method for measuring sap flow in plants. *Agricultural and Forest Meteorology* 48: 93-109
- BEEVERS L. (1976) Nitrogen metabolism in plants. *Contemporary Biology Series*. Edward Arnold Ltd., London
- BEN ZIONI A., VAADIA Y., LIPS S.H. (1971) Nitrate uptake by roots as regulated by nitrate reduction products in the shoot. *Physiol. Plant.* 24: 288-290
- BERNSTEIN L. (1971) Method for determining solutes in the cell walls of leaves. *Plant Physiol.* 47: 361-365
- BLOOM A.J., CALDWELL R.M. (1988) Root excision decreases nutrient absorption and gas fluxes. *Plant Physiol.* 87: 794-796
- BOWLING D.J.F. (1981) Release of ions to the xylem in roots. *Physiol. Plant.* 53: 392-397
- BRADFORD M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254
- BRETELER H., HANISH C.H., CATE T.E.N. (1978) Ionic balance of root-shoot transfer in dwarf bean. *Physiol. Plant.* 42: 53-56
- CAKMAK I., HENGELER C., MARSCHNER H. (1994) Partitioning of shoot and root dry matter and carbohydrates in bean plants suffering from phosphorus, potassium and magnesium deficiency. *J. Exp. Bot.* 45: 1245-1250
- CAMPBELL W.H., SMARELLI J. (1986) Nitrate reductase: Biochemistry and regulation. In: *Biochemical basis of plant breeding*. NEYRA, C. A., eds. CRC Press, Boca Raton, 1 - 39
- CANNY M.J. (1995) Apoplastic water and solute movement: New rules for an old space. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 46: 215-236
- CASADESUS J., TAPIA L., LAMBERS H. (1995) Regulation of  $K^+$  and  $NO_3^-$  fluxes in roots of sunflower (*Helianthus annuus*) after changes in light intensity. *Physiol. Plant.* 93: 279-285
- CHAPIN F.S., WALTER C.H.S., CLARKSON D.T. (1988) Growth response of barley and tomato to nitrogen stress and its control by abscisic acid, water relations and photosynthesis. *Planta* 173: 352-366

- CLEMENT C.R., HOPPER M.J., JONES L.H., LEAFE E.L. (1978) The uptake of nitrate by *Lolium perenne* from flowing nutrient solution II. Effect of light, defoliation, and relationship to CO<sub>2</sub> flux. J. Exp. Bot. 29: 1173-1183
- COOPER H.D., CLARKSON D.T. (1989) Cycling of amino-nitrogen and other nutrients between shoots and roots in cereals - a possible mechanism integrating shoot and root in the regulation of nutrient uptake. J. Exp. Bot. 40: 753-762
- CRAMER M.D., LEWIS O.A.M. (1993) The influence of nitrate and ammonium nutrition on the growth of wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) plants. Annals of Botany 72: 359-365
- CRAMER M.D., LIPS S.H. (1995) Enriched rhizosphere CO<sub>2</sub> concentrations can ameliorate the influence of salinity on hydroponically grown tomato plants. Physiol. Plant. 94: 425-432
- CRAMER M.D., SCHIERHOLT A., WANG Y.Z., LIPS S.H. (1995) The influence of salinity on the utilization of root anaplerotic carbon and nitrogen metabolism in tomato seedlings. J. Exp. Bot. 46: 1569-1577
- CROSSETT R.N. (1968) Effect of light upon the translocation of phosphorus by seedlings of *Hordeum vulgare* (L.). Aust. J. Biol. Sci. 21: 225-233
- DANNEL F., PFEFFER H., MARSCHNER H. (1995) Isolation of apoplasmic fluid from sunflower leaves and its use for studies on influence of nitrogen supply on apoplasmic pH. J. Plant Physiol. 146: 273-278
- De CIRES A., De la TORRE A., DELGADO B., LARA C. (1993) Role of light and CO<sub>2</sub> fixation in the control of nitrate reductase activity in barley leaves. Planta 190: 227-283
- DEANE-DRUMMOND C.E., CLARKSON D.T., JOHNSON C.B. (1980) The effect of differential root and shoot temperature on the nitrate reductase activity, assayed *in vivo* and *in vitro* in roots of *Hordeum vulgare* (barley). Relationship with diurnal changes in endogenous malate and sugar. Planta 148: 455-461
- DEANE-DRUMMOND C.E. (1990) Biochemical and biophysical aspects of nitrate uptake and its regulation. In: ABROL Y.P. (EDS.) Nitrogen in higher plants. Research Studies Press., England, 1-37
- DELHON P., GOJON A., TILLARD P., PASSAMA L. (1995a) Diurnal regulation of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> uptake in soybean plants I. Changes in NO<sub>3</sub><sup>-</sup> influx, efflux, and N utilization in the plant during the day/night cycle. J. Exp. Bot. 46: 1585-1594
- DELHON P., GOJON A., TILLARD P., PASSAMA L. (1995b) Diurnal regulation of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> uptake in soybean plants II. Relationship with accumulation of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and asparagine in the roots. J. Exp. Bot. 46: 1595-1602

- DELHON P., GOJON A., TILLARD P., PASSAMA L. (1996a) Diurnal regulation of  $\text{NO}_3^-$  uptake in soybean plants III. Implication of the Dijkshoorn-Ben Zioni model in relation with the diurnal changes in  $\text{NO}_3^-$  assimilation. *J. Exp. Bot.* 47: 885-892
- DELHON P., GOJON A., TILLARD P., PASSAMA L. (1996b) Diurnal regulation of  $\text{NO}_3^-$  uptake in soybean plants IV. Dependence on current photosynthesis and sugar availability to the roots. *J. Exp. Bot.* 47: 893-900
- DENG M.D., MOUREAUX T., LEYDECKER M.T., CABOCHE M. (1990) Nitrate-reductase expression is under the control of a circadian rhythm and is light inducible in *Nicotiana tabacum* leaves. *Planta* 180: 257-261
- DICKSON R.E. (1979) Xylem translocation of amino acids from roots to shoots in cottonwood plants. *Can. J. For. Res.* 9: 374-378
- DUGAS W.A, HEUER M.L., HUNSAKER D., KIMBALL B.A., LEWIN K.F., NAGY J., JOHNSON M. (1994) Sap flow measurements of transpiration from cotton grown under ambient and enriched  $\text{CO}_2$  concentrations. *Agricultural and Forest Meteorology* 70: 231-245
- ELSE M.A, DAVIS W.J., WHITFORD P.N., HALL K.C., JACKSON M.B. (1994) Concentrations of abscisic acid and other solutes in xylem sap from root systems of tomato and castor-oil plants are distorted by wounding and variable sap flow rates. *J. Exp. Bot.* 45: 317-323
- ELSE M.A, HALL K.C, ARNOLD G.M., DAVIS W.J., JACKSON M.B. (1995) Export of abscisic acid, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, phosphate, and nitrate from roots to shoots of flooded tomato plants. Accounting for effects of xylem sap flow rate on concentration and delivery. *Plant Physiol.* 107: 377-384
- ENGELS C., MARSCHNER H. (1992) Adaptation of potassium translocation into the shoot of maize (*Zea mays*) to shoot demand: evidence for xylem loading as a regulating step. *Physiol. Plant.* 86: 263-268
- ENGELS C., MARSCHNER H. (1993) Influence of the form of nitrogen supply on root uptake and translocation of cations in the xylem exudate of maize (*Zea mays* L.). *J. Exp. Bot.* 44: 1695-1701
- FERGUSON A.R. (1980) Xylem sap from *Actinidia chinensis*: Apparent differences in sap composition arising from the method of collection. *Annals of Botany* 46: 791-801
- FERRARIO S., VALADIER M.H., MOROT-GAUDRY J.F., FOYER C.H. (1995) Effects of constitutive expression of nitrate reductase in transgenic *Nicotiana plumbaginifolia* L. in response to varying nitrogen supply. *Planta* 196: 288-294
- FINNEMANN J., SCHJOERRING J.K. (1999) Translocation of  $\text{NH}_4^+$  in oilseed rape plants in regulation to glutamine synthetase isogen expression and activity. *Physiol. Plant.* 105: 469-477

- FISCUS E.L. (1975) The interaction between osmotic- and pressure-induced water flow in plant roots. *Plant Physiol.* 55: 917 - 922
- FISCUS E.L. (1977) Determination of hydraulic and osmotic properties of soybean root systems. *Plant Physiol.* 59: 1013-1020
- FÖRSTER J.C., JESCHKE W.D. (1993) Effects of potassium withdrawal on nitrate transport and on the contribution of the root to nitrate reduction in the whole plant. *J. Plant Physiol.* 141: 322-328
- FROST W.B., BLEVINS D.G., BARNETT N.M. (1978) Cation pretreatment effects on nitrate uptake, xylem exudate, and malate levels in wheat seedlings. *Plant Physiol.* 61: 323-326
- GALANGAU F., DANIEL-VEDELE F., MOREAUX T., DORBE M.F., LEYDECKER M.T, CABOCHE M. (1988) Expression of leaf nitrate reductase genes from tomato and tobacco in relation to light-dark regimes and nitrate supply. *Plant Physiol.* 88: 383-388
- GERENDAS J., SCHURR U. (1999) Physicochemical aspects of ion relations and pH regulation in plants - a quantitative approach. *J. Exp. Bot.* 50: 1101-1114
- GEßLER A., SCHNEIDER S., WEBER P., HANEMANN U., RENNENBERG H. (1998a) Soluble N compounds in trees exposed to high loads of N: a comparison between the roots of Norway spruce (*Picea abies*) and beech (*Fagus sylvatica*) trees grown under field conditions. *New Phytol.* 138: 385-399
- GEßLER A., SCHNEIDER S., WEBER P., VON SENGBUSCH D., WEBER P., HANEMANN U., HUBER C., ROTHE A., KREUZER K. RENNENBERG H. (1998b) Field and laboratory experiments on the net uptake of nitrate and ammonium by the roots of spruce (*Picea abies*) and beech (*Fagus sylvatica*) trees. *New Phytol.* 138: 275-285
- GLASS A.D.M., SIDDIQUI M.Y. (1995) Nitrogen absorption by plants roots. In: SRIVASTAVA H.S., SINGH R.P. (EDS.) Nitrogen nutrition in higher plants. Associated Publishing Co., New Delhi, 21-56
- GLAVAC V., KOENIES H., JOCHHEIM H., EBBEN U. (1989) Minerals in the xylem sap of beech and their seasonal changes in concentration along the height of the stem. *Angewandte Botanik* 63: 471-486
- GLAVAC V., JOCHHEIM H. (1993) A contribution to understanding the internal budget of beech (*Fagus sylvatica* L.). *Trees* 7: 237-241
- GOJON A., BUSSI C., GRIGNON C., SALSAC L. (1991) Distribution of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> reduction between roots and shoots of peach-tree seedlings as affected by NO<sub>3</sub><sup>-</sup> uptake rate. *Physiol. Plant* 82: 505-512

- GRAHAM R.D., BOWLING D.F.J. (1977) Effect of the shoot on the transmembrane potential of the root cortical cells of sunflower. *J. Exp. Bot.* 28: 886-893
- GREEN S.R., McNAUGHTON K.G., CLOTHIER B.E. (1989) Observations of night-time water use in kiwifruit vines and apple trees. *Agricultural and Forest Meteorology* 48: 251-261
- GRIGNON C., SENTENAC H. (1991) pH and ionic conditions in the apoplast. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42: 103-128
- GRIME V.L., MORISON J.I.L., SIMMONDS L.P. (1995) Including the heat storage term in sap flow measurements with the stem heat balance method. *Agricultural and Forest Meteorology* 74: 1-25
- GROOT A., KING K.M. (1992) Measurement of sap flow by the heat balance method: numerical analysis and application to coniferous seedlings. *Agricultural and Forest Meteorology* 59: 289-308
- GUTIERREZ M.V., HARRINGTON R.A., MEINZER F.C., FOWNES J.H. (1994) The effect of environmentally induced stem temperature gradients on transpiration estimates from the heat balance method in two tropical woody species. *Tree Physiology* 14: 179-190
- GUZMAN M., LORENTE F.A., SANCHEZ A., URRESTARAZU M., ROMERO-GASCO M.V., FERNANDEZ-MUNOZ R. (EDS.), CUARTERO J. (EDS.), GOMEZ-GUILLAMON M.L. (1995) Ionic variations in xylem stream of tomato plants in relation to time of exudation. In: First International Symposium on Solanacea for fresh market, Malaga, Spain. *Acta-Horticulturae* 412: 425-433
- HAGEMANN R.H., FLESHER D., GITTER A. (1961) Diurnal variation and other light effects influencing the activity of nitrate reductase and nitrogen metabolism in corn. *Crop. Sci.* 1: 201-204
- HARTUNG W., RADIN J.W., HENDRIX D.L. (1988) Abscisic acid movement into the apoplastic solution of water-stressed cotton leaves. *Plant Physiol.* 86: 908-913
- HEILMAN J.L., HAM J.M. (1990) Measurement of mass flow rate of sap in *Ligustrum japonicum*. *HortScience* 25: 465-467
- HUBER J.L., HUBER S.C., CAMPBELL W.H., REDINBAUGH M.G. (1992a) Reversible light/dark modulation of spinach leaf nitrate reductase activity involves protein phosphorylation. *Arch. Biochem. Biophys.* 296: 58-65
- HUBER J.L., HUBER S.C., CAMPBELL W.H., REDINBAUGH M.G. (1992b) Apparent dependence of the light activation of nitrate reductase and sucrose-phosphate synthase activities in spinach leaves on protein synthesis. *Plant Cell Physiol.* 33: 639-646

- HUBER S.C., HUBER J.L., CAMPELL W.H., REDINBAUGH M.G. (1992c) Comparative studies of the light modulation of nitrate reductase and sucrose-phosphate synthase activities in spinach leaves. *Plant Physiol.* 100: 706-712
- HUBER S.C., BACHMANN M., HUBER J.L. (1996) Post translational regulation of nitrate reductase activity: a role for  $\text{Ca}^{2+}$  and 14-3-3 proteins. *Trends Plant Sci.* 1: 432-438
- HUMPHREYS T.E. (1988) Phloem-transport with emphasis on loading and unloading. In: BAKER D.A., HALL J.C. (EDS.) *Solute transport in plant cells and tissues.* Wiley & Sons Inc., New York, 305-345
- HUNTER W.J., FAHRING C.J., OLSON S.R., PORTER L.K. (1982) Location of nitrate reduction in different soybean cultivars. *Crop Sci.* 22: 944-948
- HUSSEIN I.A., McFARLAND M.J. (1994) Rootstock-induced differences in sap flow of `Granny Smith` apple. *HortScience* 29: 1120-1123
- HUSTED S. and SCHJOERRING J.K. (1995) Apoplastic pH and ammonium concentration in leaves of *Brassica napus* L. *Plant Physiol.* 109: 1453-1460
- JACHETTA J.J., APPLEBY A.P., BOERSMA L. (1986) Use of the pressure vessel to measure concentrations of solutes in apoplastic and membrane-filtered symplastic sap in sunflower leaves. *Plant Physiol.* 82: 995-999
- JARVIS S.C., MacDUFF J.H. (1989) Nitrate nutrition of grasses from steady-state supplies in flowing solution culture following nitrate deprivation and/or defoliation. *J. Exp. Bot.* 40: 965-975
- JARVIS S.C., MacDUFF J.H., WEBB J., MOSQUERA A. (1990) Effects of Nitrate supply and deprivation and/or defoliation on potassium absorption and distribution in ryegrass. *J. Exp. Bot.* 41: 1-10
- JAWORSKI E.G. (1971) Nitrate reductase assay in intact plant tissues. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 43:1274-1279
- JESCHKE W.D., ATKINS C.A., PATE J.S. (1985) Ion circulation via phloem and xylem between root and shoot of nodulated white lupin. *J. Plant Physiol.* 117: 319-330
- JESCHKE W.D., PATE J.S. (1991a) Modelling of water uptake, flow and utilization of C, N and  $\text{H}_2\text{O}$  within whole plants of *Ricinus communis* L. Based on empirical data. *J. Plant Physiol.* 137: 488-498
- JESCHKE W.D., PATE J.S. (1991b) Modelling of the partitioning, assimilation and storage of nitrate within root and shoot organs of castor bean (*Ricinus communis* L.). *J. Exp. Bot.* 42:1091-1103
- JESCHKE W.D., PATE J.S. (1991c) Cation and chloride partitioning through xylem and phloem within the whole plant of *Ricinus communis* L. under conditions of salt stress. *J. Exp. Bot.* 42:1105-1116

- JESCHKE W.D., PATE J.S. (1992) Temporal patterns of uptake, flow and utilization of nitrate, reduced nitrogen and carbon in a leaf of salt-treated castor bean (*Ricinus communis* L.). J. Exp. Bot. 43: 393-402
- JESCHKE W.D., PEUKE A., KIRKBY A., PATE J.S., HARTUNG W. (1996) Effects of P deficiency on the uptake, flow and utilization of C, N and H<sub>2</sub>O within intact plants of *Ricinus communis* L.. J. Exp. Bot. 47: 1737-1754
- KAISER W.M., SPILL D., BRENDLE-BEHNISCH E. (1992) adenine nucleotides are apparently involved in the light-dark modulation of spinach-leaf nitrate reductase. Planta 186: 236-240
- KAISER W.M., HUBER S.C. (1997) Correlation between apparent activation state of nitrate reductase (NR), NR hysteresis and degradation of NR. J. Exp. Bot. 48: 1367-1374
- KARMOKER J.L., CLARKSON D.T., SAKER L.R., ROONEY J.M., PURVES J.V. (1991) Sulphate deprivation depresses the transport of nitrogen to the xylem and the hydraulic conductivity of barley (*Hordeum vulgare* L.) roots. Planta 185: 269-278
- KIRKBY E.A., MENGEL K. (1967) Ionic balance in different tissues of the tomato plant in relation to nitrate, urea, or ammonium nutrition. Plant Physiol. 42: 6-14
- KIRKBY E.A., ARMSTRONG M.J. (1980) Nitrate uptake by roots as regulated by nitrate assimilation in the shoot of castor oil plants. Plant Physiol. 65: 286-290
- KIRKBY E.A., ARMSTRONG M.J., LEGGETT J.E. (1981) Potassium recirculation in tomato plants in relation to potassium supply. J. Plant Nutrition 3: 955-966
- KLEMENT Z. (1965) Method of obtaining fluid from the intercellular spaces of foliage and the fluid's merit as substrate for phyto-bacterial pathogens. Phytopathology 55: 1033-1034
- KÖCKENBERG W., POPE J.M., XIA Y., JEFFREY K.R., KOMOR E., CALLAGHAM P.T. (1997) A non-invasive measurement of phloem and xylem water flow in castor bean seedlings by nuclear magnetic resonance microimaging. Plant 201: 53-63
- KÖHLER B. (1998) Zur Steuerung und Spannungsabhängigkeit der schnell aktivierenden Anionenleitfähigkeit aus Xylemparenchymzellen von Gerstenwurzeln im Hinblick auf die Beladung des Xylems mit Cl<sup>-</sup> und NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Dissertation, Universität Göttingen
- KOPRIVA S., MUHEIM R., KOPRIVOVA A., TRACHSEL N., CATALANO C., SUTER M., BRUNOLD C. (1999) Light regulation of assimilatory sulphate reduction in *Arabidopsis thaliana*. Plant Journal 20: 37-44
- KREUZWIESER J., HERSCHBACH C., RENNENBERG H. (1996) Sulfate uptake and xylem loading of non-mycorrhizal excised roots of young *Fagus sylvatica* trees. Plant. Physiol. Biochem. 34: 409-416

- LAM H.M., COSCHIGANO K.T., OLIVEIRA I.C., MELO-OLIVEIRA R., CORUZZI G.M. (1996) The molecular genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 569-593
- LANGHEINRICH U. (1991) Untersuchungen zum Stickstoffmetabolismus in *Populus trichocarpa* T. & G.. Ein Beitrag zur Nitratlimitierung und Biochemie der vegetativen Speicherproteine. Dissertation, Universität Göttingen
- LARSSON C.M., LARSSON M., PURVES J.V., CLARKSON D.T. (1991) Translocation and cycling through roots of recently absorbed nitrogen and sulphur in wheat (*Triticum aestivum*) during vegetative and generative growth. *Physiol. Plant.* 82: 345-352
- LÄUCHLI A., LÜTTGE U., PITMAN M.G. (1973) Ion uptake and transport through barley seedlings: differential effect of cycloheximide. *Z. Naturforsch.* 28: 431-434
- LE BOT J., KIRKBY E.A. (1992) Diurnal uptake of nitrate and potassium during the vegetative growth of tomato plants. *J. Plant Nutr.* 15: 247-264
- LEE R.B., RATCLIFF R.G. (1991) Observations on the subcellular distribution of ammonium ion in maize root tissue using in-vivo <sup>14</sup>N-nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Planta* 138: 359-367
- LEXA M., CHEESEMAN J.M. (1997) Growth and nitrogen relations in reciprocal grafts of wild-type and nitrate reductase-deficient mutants of pea (*Pisum sativum* L. var. Juneau). *J. Exp. Bot.* 48: 1241-1250
- LI Z.C., McCLURE J.W., HAGERMAN E. (1989) Soluble and bound apoplastic activity for Peroxidase,  $\beta$ -D-Glucosidase, Malat Dehydrogenase, and nonspecific Arylesterase, in barley (*Hordeum vulgare* L.) and oat (*Avena sativa* L.) primary leaves. *Plant Physiol.* 90: 185-190
- LILLO C., HENRIKSON A. (1984) Comparative studies of diurnal variations of nitrate reductase activity in wheat, oat and barley. *Physiol. Plant.* 62: 89-94
- LILLO C. (1994) Light regulation of nitrate reductase in green leaves of higher plants *Physiol. Plant.* 90: 616-620
- LIPS S.H., SOARES M.I.M., KAISER J.J., LEWIS O.A.M. (1987) K<sup>+</sup> modulation of nitrogen uptake and assimilation in plants. In: *Inorganic nitrogen metabolism*. ULLRICH W.R., APARICIO P.J., SYRETT P.J., CASTILLO F., eds. Springer, Berlin, 232-239
- LONG J.M., WIDDERS I.E. (1990) Quantification of apoplastic potassium content by elution analysis of leaf lamina tissue from pea (*Pisum sativum* L. cv. Argenteum). *Plant Physiol.* 94: 1040-1047
- MÄCK G. (1988) Untersuchungen zum Stickstoffmetabolismus in Zuckerrübenpflanzen unterschiedlicher Entwicklungsstadien. Dissertation, Universität Göttingen

- MÄCK G., TISCHNER R. (1990) The effect of endogenous and externally supplied nitrate on nitrate uptake and reduction in sugarbeet seedlings. *Planta* 182: 169-173
- MackINTOSH C. (1992) Regulation of nitrate reductase in spinach leaves by reversible phosphorylation and dephosphorylation. *Biochim. Biophys. Acta* 1137: 121-126
- MackINTOSH C. DOUGLAS P., LILLO C. (1995) Identification of a protein that inhibits the phosphorylated form of nitrate reductase from spinach (*Spinacia oleracea*) leaves. *Plant Physiol.* 107: 451-457
- MackOWN C.T., VOLK R.J., JACKSON W.A. (1981) Nitrate accumulation, assimilation, and transport by decapitated corn roots. Effects of prior nitrate nutrition. *Plant Physiol.* 68: 133-138
- MackOWN C.T., JACKSON W.A., VOLK R.J. (1983) Partitioning of previously-accumulated nitrate to translocation, reduction, and efflux in corn roots. *Planta* 157: 8-14
- MARSCHNER H. (1991) Mechanism of adaptation of plants to acid soils. *Plant Soil* 134: 1-20
- MARSCHNER H. (1995) Mineral nutrition of higher plants. Second edition, Academic Press London
- MARSCHNER H., KIRKBY E.A., CAKMAK I. (1996) Effect of mineral nutritional status on shoot-root partitioning of photoassimilates and cycling of mineral nutrients. *J. Exp. Bot.* 47: 1255-1263
- MARSCHNER H., KIRKBY E.A., ENGELS C. (1997) Importance of cycling and recycling of mineral nutrients within plants for growth and development. *Bot. Acta* 110: 265-273
- MASUDA M., SHIMADA Y. (1993) Diurnal changes in mineral concentrations of xylem exudate in tomato plants and their concentrations as affected by sunlight intensity and plant age. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 61: 839-845
- MATTSON M., LUNDBORG T., LARRSON C. (1988) Nitrate utilization in barley: Relations to nitrate supply and light/dark cycles. *Physiol. Plant.* 73: 380-386
- MEINZER F.C, MOORE P.H. (1988) Effect of apoplastic solutes on water potential in elongating sugarcane leaves. *Plant Physiol.* 86: 873-879
- MEXAL J., FISHER J.T., OSTERYOUNG J., PATRICK REID C.P. (1975) Oxygen Availability in Polyethylene Glycol Solutions and Its Implication in Plant-Water Relations. *Plant Physiol.* 55: 20-24
- MÜHLING K.H. AND SATTELMACHER B. (1995) Apoplastic ion concentration of intact leaves of field bean (*Vicia faba*) as influenced by ammonium and nitrate nutrition. *J. Plant Physiol.* 147: 81-86

- MULLER B., TOURAINÉ B. (1992) Inhibition of  $\text{NO}_3^-$  uptake by various phloem-translocated amino acids in soybean seedlings. J. Exp. Bot. 43: 617-623
- MÜNCH E. (1927) Versuche über den Saftkreislauf. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 45: 340-356
- MUNNS R. (1985)  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  in xylem sap flowing to shoots of NaCl treated barley. J. Exp. Bot. 36: 1032-1042
- NOVOA R., LOOMIS R.S. (1981) Nitrogen and plant production. Plant Soil 58: 177-204
- NULSCH W. (1986) Allgemeine Botanik. Kurzes Lehrbuch für Mediziner und Naturwissenschaftler. 8. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York Seite 233ff.
- OAKS A. (1994) Primary nitrogen assimilation in higher plants and its regulation. Can. J. Bot. 72: 739-750
- OJI Y., OTANI Y., HOSOMI Y., WAKIUCHI N., SHIGA H. (1989) Nitrate reduction in root and shoot and exchange of reduced nitrogen between organs in two-row barley seedlings under light-dark cycles. Planta 179: 359-366
- OSCARSON P., LARSSON C.M. (1986) Relations between uptake and utilization of  $\text{NO}_3^-$  in *Pisum* growing exponentially under nitrogen limitation. Physiol. Plant. 67: 109-117
- OURRY A., MACDUFF J.H., PRUDHOMME M.P., BOUCAUD J. (1996) Diurnal variation in the simultaneous uptake and `sink` allocation of  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$  by *Lolium perenne* in flowing solution culture. J. Exp. Bot. 47: 1853-1863
- PASSIOURA J.B. (1987) The use of the pressure chamber for continuously monitoring and controlling the pressure in the xylem sap of the shoot of intact transpiring plants. In: Proceedings of the International Conference on Measurement of Soil and Plant Water Status. LOGAN U.T., eds. Utah State University, 31-34
- PASSIOURA J.B. (1988) Water transport in and to roots. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 39: 245-265
- PASSIOURA J.B. (1991) An impasse in plant water relations? Bot. Acta 104: 405-411
- PATE J.S. (1973) Uptake, assimilation and transport of nitrogen compounds by plants. Soil Biol. Biochem. 5: 109-119
- PEARCY R.W., SCHULZE E.D., ZIMMERMANN R. (1989) Measurement of transpiration and leaf conductance. In: Plant physiological ecology, field methods and instrumentation, PEARCY R.W., EHLERINGER J.R., MOONEY H.A., RUNDEL P.W. (EDS.). Chapman and Hall, London, New York, 137-160
- PEARSON C.J., STEER B.T. (1977) Daily changes in nitrate uptake and metabolism in *Capsicum annuum*. Planta 137: 107-112

- PEUKE A.D. (1987) Der Effekt von Schwefeldioxid-, Ozon-, und Stickstoffoxid-Begasung auf den Stickstoffmetabolismus steril kultivierter Fichtenkeimlinge (*Picea abies* (L.) KARST.). Dissertation, Universität Göttingen
- PEUKE A.D., JESCHKE W.D. (1993) The uptake and flow of C, N and ions between roots and shoots in *Ricinus communis* L. I. Grown with ammonium or nitrate as nitrogen source. *J. Exp. Bot.* 44: 1167-1176
- PEUKE A.D., HARTUNG W., JESCHKE W.D. (1994) The uptake and flow of C, N and ions between roots and shoots in *Ricinus communis* L. II. Grown with low or high nitrate supply. *J. Exp. Bot.* 45: 733-740
- PEUKE A.D., GLAAB J., KAISER W.M., JESCHKE W.D. (1996) The uptake and flow of C, N and ions between roots and shoots in *Ricinus communis* L. IV. Flow and metabolism of inorganic nitrogen and malate depending on nitrogen nutrition and salt treatment. *J. Exp. Bot.* 47:377-385
- PEUKE A.D., JESCHKE W.D. (1998) The effects of light on induction, time courses, and kinetic patterns of net nitrate uptake in barley. *Plant Cell Environment* 21: 765-774
- PITMAN M.G. (1977) Ion transport into the xylem. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 28: 71-88
- PITMAN M.G., WILDES R.A., SCHAEFER N., WELLFARE D. (1977) Effect of azetidine 2-carboxylic acid on ion uptake and ion release to the xylem of excised barley roots. *Plant Physiol.* 60: 240-246
- POIRIER Y., THOMA S., SOMMERVILLE C., SCHIEFELBEIN J. (1991) A mutant of *Arabidopsis* deficient in xylem loading of phosphate. *Plant Physiol.* 97: 1087-1093
- QUILLERE I., DUFOSSE C., ROUX Y., FOYER C.H., CABOCHE M., MOROT-GAUDRY J.F. (1994) The effects of deregulation of NR gene expression on growth and nitrogen metabolism of *Nicotiana plumbaginifolia* plants. *J. Exp. Bot.* 45: 1205-1211
- RADIN J.W., EIDENBOCK M.P. (1982) Control of leaf expansion by nitrogen nutrition in sunflower plants. Role of hydraulic conductivity and turgor. *Plant Physiol.* 69: 771-775
- RADIN J.W., EIDENBOCK M.P. (1984) Hydraulic conductance as a factor limiting leaf expansion of phosphorus-deficient cotton plants. *Plant Physiol.* 75: 372-377
- RADIN J.W., MATTHEWS M.A. (1989) Water transport properties of cortical cells in roots of nitrogen- and phosphorus-deficient cotton seedlings. *Plant Physiol.* 89: 264-268
- RAVEN J.A., SMITH F.A. (1976) Nitrogen assimilation and transport in vascular land plants in relation to intracellular pH regulation. *New Phytol.* 76: 415-431

- RAVEN J.A. (1986) Biochemical disposal of excess  $H^+$  in growing plants? *New Phytol.* 104: 175-206
- REUTER G., WOLFFGANG H. (1954) Vergleichende Untersuchungen über den Charakter der Stickstoff-Verbindungen von Baumblutungssäften bei *Betulaceen* und anderen Holzarten. *Flora* 146: 146-155
- REUTER G. (1957) Über den Stickstoffhaushalt der *Betulaceen* und anderer Laub- und Nadelhölzer. *Flora* 144: 420-446
- RIDEOUT J.W., RAPER C.D. (1993) Diurnal changes in net uptake rate of nitrate are associated with changes in estimated export of carbohydrates to roots. *International Journal of Plant Science* 155: 173-179
- RIDEOUT J.W., CHAILLOU S., RAPER C.D., MOROT-GAUDRY J.F. (1994) Ammonium and nitrate uptake by soybean during recovery from nitrogen deprivation. *J. Exp. Bot.* 45: 23-33
- RIENS B., LOHAUS G., HEINEKE D., HELDT H.W. (1991) Amino acid and sucrose content determined in the cytosolic, chloroplastic and vacuolar compartments and in the phloem sap of spinach leaves. *Plant Physiol.* 97: 227-223
- RIENS B., HELDT H.W. (1992) Decrease of nitrate reductase activity in spinach leaves during a light-dark transition. *Plant Physiol.* 98: 573-577
- RUFTY T.W. JR., JACKSON W.A., RAPER C.D. JR. (1981) Nitrate reduction in roots as affected by presence of potassium and by flux of nitrate through the roots. *Plant Physiol.* 68: 605-609
- RUFTY T.W. JR., ISRAEL D. W., VOLK R.J. (1984) Assimilation of  $^{15}NO_3^-$  taken up by plants in the light and in the dark. *Plant Physiol.* 76: 769-775
- RUFTY T.W. JR., MacKOWN C.T., VOLK R.J. (1989) Effects of altered carbohydrate availability on whole-plant assimilation of  $^{15}NO_3^-$ . *Plant Physiol.* 89: 457-463
- RUFTY T.W. JR., MacKOWN C.T., VOLK R.J. (1990) Alterations in nitrogen assimilation and partitioning in nitrogen stressed plants. *Physiol. Plant.* 79: 85-95
- SAKURATANI T. (1981) A heat balance method for measuring water flux in the stem of intact plants. *J. Agric. Met. (Japan)*. 37: 9-17
- SANTORO L.G., MAGALHAES A.C.N. (1983) Changes in nitrate reductase activity during development of soybean leaf. *J. Plant Physiol.* 112: 113-121
- SARRO M.J., SANCHEZ J.M., PENALOSA J.M. (1998) Influence of ammonium uptake on bean nutrition. *J. Plant Nutrition* 21: 1913-1920
- SAUTER J.J. (1981) Seasonal variations of amino acids and amides in the xylem sap of *Salix*. *J. Plant Physiol.* 101: 399-411
- SCAIFE A., SCHLOEMER S. (1994) The diurnal pattern of nitrate uptake and reduction by spinach (*Spinacia oleracea* L.) *Annals of Botany* 73: 337-343

- SCHEIBLE W.R., GONZALEZ- FONTES A., MORCUENDE R., LAUERER M., GEIGER M., GLAAB J., GOJON A., SCHULZE E.D., STITT M. (1997) Tobacco mutants with a decreased number of functional *nia* genes compensate by modifying the diurnal regulation of transcription, post-translational modification and turnover of nitrate reductase. *Planta* 203: 304-319
- SCHERER H.W., MACKOWN C.T., LEGETT J.E. (1984) Potassium-ammonium uptake interactions in tobacco seedlings. *J. Exp. Bot.* 35: 1060-1070
- SCHEROMM P., PLASSARD C. (1988) Nitrogen nutrition of non-mycorrhized pine (*Pinus pinaster*) grown on nitrate or ammonium. *Plant Physiol. Biochem.* 26: 261-269
- SCHILL V., HARTUNG W., ORTHEN B., WEISENSEEL M.H. (1996) The xylem sap of maple (*Acer platanoides*) trees - sap obtained by a novel method shows changes with season and height. *J. Exp. Bot.* 47: 123-133
- SCHNEIDER S., GEßLER A., WEBER P., VON SENGBUSCH D., HANEMANN U., RENNENBERG H. (1996) Soluble N compounds in trees exposed to high loads of N: A comparison of spruce (*Picea abies*) and beech (*Fagus sylvatica*) grown under field conditions. *New Phytol.* 134: 103-114
- SCHOBERT C., KOMOR E. (1992) Transport of nitrate and ammonium into the phloem and the xylem of *Ricinus communis* seedlings. *J. Plant Physiol.* 140: 306-309
- SCHUPP R., GLAVAC V., RENNENBERG (1991) Thiol composition of xylem sap of beech trees. *Phytochemistry* 30: 1415-1418
- SCHURR U., SCHULZE (1995) The concentration of xylem sap constituents in root exudate, and in sap from intact, transpiring castor bean plants (*Ricinus communis* L.). *Plant Cell Environment* 18: 409-420
- SCHURR U. (1998) Xylem sap sampling - new approaches to an old topic. *Trends Plant Sci.* 3: 293-298
- SECHLEY K.A., YAMAYA T., OAKS, A. (1992) Compartmentation of nitrogen assimilation in higher plants. *Int. Rev. Cyt.* 134: 85-163
- SELVARAJ K., BALASUBRAMANIAN P., IBRAHIM H.S.S. (1993) Transport of nitrogenous solutes in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) at different growth stages in response to supplied nitrate. *Indian Journal of Experimental Biology* 31: 620-622
- SHACKEL K.A., JOHNSON R.S., MEDAWAR C.K., PHENE C.J. (1992) Substantial errors in estimates of sap flow using the heat balance technique on woody stems under field conditions. *Journal of the American Society For Horticultural Science* 117: 351-356
- SHANER D.L., BOYER J.S. (1976a) Nitrate reductase activity in maize (*Zea mays* L.) leaves. I Regulation by nitrate flux. *Plant Physiol.* 58: 499-504

- SHANER D.L., BOYER J.S. (1976b) Nitrate reductase activity in maize (*Zea mays* L.) leaves. II Regulation by nitrate flux at low leaf water potential. *Plant Physiol.* 58: 505-509
- SIEBRECHT S., MÄCK G., TISCHNER R. (1995) Function and contribution of the root tip in the induction of  $\text{NO}_3^-$  uptake along the barley root axis. *J. Exp. Bot.* 46: 1669-1676.
- SIMPSON R.J., LAMBERS H., DALLINGER M.J. (1982) Translocation of nitrogen in a vegetative wheat plant (*Triticum aestivum*). *Physiol. Plant.* 69: 187-190
- SMART D.R., BLOOM A.J. (1993) Relationships between the kinetics of  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$  absorption and growth in the cultivated tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv T-5). *Plant, Cell Environment* 16: 259-267
- SMIRNOFF N., STEWART G.R. (1985) Nitrate assimilation and translocation by higher plants: comparative physiology and ecological consequences. *Physiol. Plant.* 64:133-140
- SMITH D.M., ALLEN S.J. (1996) Measurement of sap flow in plant stems. *J. Exp. Bot.* 47: 1833-1844
- SMITH J.A.C. (1991) Ion transport and the transpiration stream. *Bot. Acta* 104: 416-421
- SPEER M., KAISER W.M. (1991) Ion relation of symplastic and apoplastic spaces in leaves from *Spinacia oleracea* L. and *Pisum sativum* L. under salinity. *Plant Physiol.* 97: 990-997
- SRIVASTAVA H.S. (1980) Regulation of nitrate reductase activity in higher plants. *Phytochemistry* 19: 728-733
- STARK N., SPITZER C. (1985) Xylem sap analysis for determining the nutrient status and growth of *Pinus ponderosa*. *Canadian Journal of Forest Research* 15: 783-790
- STEINBERG S.L., VAN BAVEL C.H.M., McFARLAND M.J. (1989) A gauge to measure mass flow rate of sap in stems and trunks of woody plants. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 114: 466-472
- STITT M., GERHARD R., KÜRZEL B., HELDT H. W. (1983) A role for fructose 2,6-bisphosphate in the regulation of sucrose synthesis in spinach leaves. *Plant Physiol.* 72: 1139-1141
- SUEYOSHI K., KLEINHOF S. A., WARNER R.L. (1995) Expression of NADH-specific and NAD(P)H-bispecific nitrate reductase genes in response to nitrate in barley. *Plant Physiol.* 107: 1303-1311
- TANNER W., BEEVERS H. (1990) Does transpiration have an essential function in long-distance ion transport in plants? *Plant Cell Environment* 13: 745-750

- TERRY M.E., BONNER B.A. (1980) An examination of centrifugation as a method of extracting an extracellular solution from peas, and its use for the study of indoleacetic acid-induced growth. *Plant Physiol.* 321-325
- TETLOW I.J. and FARRAR J.F. (1993) Apoplastic sugar concentration and pH in barley leaves infected with brown rust. *J. Exp. Bot.* 44: 929-936
- THAYER J.R. and HUFFAKER R.C. (1980) Determination of nitrate and nitrite by high-pressure liquid chromatography: Comparison with other methods for nitrate determination. *Analyt. Biochem.* 102: 110-119
- TOURAINÉ B., GRIGNON N. (1982a) Potassium effects on nitrate secretion into the xylem of corn roots. *Physiol. Veg.* 20: 23-31
- TOURAINÉ B., GRIGNON N. (1982b) Energetic coupling of nitrate secretion into the xylem of corn roots. *Physiol. Veg.* 20: 33-39
- TOURAINÉ B., GRIGNON N., GRIGNON C. (1988) Charge balance in  $\text{NO}_3^-$ -fed soybean. Estimation of  $\text{K}^+$  and carboxylate recirculation. *Plant Physiol.* 88: 605-612
- TOURAINÉ B., GRIGNON N., GRIGNON C. (1990) Interaction between nitrate assimilation in shoots and nitrate uptake by roots of soybean (*Glycine max*) plants: Role of carboxylate. *Plant and Soil* 124: 169-174
- TOURAINÉ B., MULLER B., GRIGNON C. (1992) Effect of phloem-translocated malate on  $\text{NO}_3^-$  uptake by roots of intact soybean plants. *Plant Physiol.* 99: 1118-1123
- TRIPLETT E.W., BARNETT N.M., BLEVINS D.G. (1980) Organic acids and ion balance in xylem exudate of wheat during nitrate and sulfate absorption. *Plant Physiol.* 65: 610-613
- VAN BEUSICHEM M.L., KIRBY E.A., BAAS R. (1988) Influence of nitrate and ammonium nutrition on the uptake, assimilation and distribution of nutrients in *Ricinus communis*. *Plant Physiol.* 86: 914-912
- VAUCHERET H., CHABAUD M., KRONENBERGER J., CABOCHE M. (1990) Functional complementation of tobacco and *Nicotiana plumbaginifolia* nitrate reductase deficient mutants by transformation with the wild-type alleles of the tobacco structural genes. *Mol. Gen. Genet.* 220: 468-474
- VOGL M., BÖRITZ S. (1963) Beobachtungen beim Bluten von Pappeln. *Biol. Zentralbl.* 82: 209-216
- VON CAEMMERER S. AND FARQUHAR G.D. (1981) Some relationship between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153: 376-387
- WALLACE W., PATE J.S. (1965) Nitrate reductase in the field pea (*Pisum arvense* L.). *Ann. Bot. (London)* 29: 655-671

- WALLACE W. (1975) A re-evaluation of the nitrate reductase content of maize roots. *Plant Physiol.* 55:774-777
- WARNER R.L., KLEINHOF S. A. (1981) Nitrate utilization by nitrate reductase-deficient barley mutants. *Plant Physiol.* 67: 740-743
- WEBER P., STÖRMER H, GEßLER A., SCHNEIDER S., VON SENGBUSCH D., HANEMANN U., RENNENBERG H. (1998) Metabolic responses of Norway spruce (*Picea abies*) trees to long-term forest management practices and acute  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  fertilization: Transport of soluble non-protein nitrogen compounds in xylem and phloem. *New Phytol.* 140: 461-475
- WEGNER L.H., RASCHKE K. (1994) Ion channels in the xylem parenchyma of barley roots: a procedure to isolate protoplasts from this tissue and a patch-clamp exploration of salt passageways into xylem vessels. *Plant Physiol.* 105: 799-813
- WEIBEL F.P., DeVOS J.A. (1994) Transpiration measurements on apple trees with an improved stem heat balance method. *Plant and Soil* 166: 203-219
- WILKINSON J.Q., CRAWFORD N.M. (1993) Identification and characterization of a chlorate-resistant mutant of *Arabidopsis thaliana* with mutations in both nitrate reductase structural genes NIA1 and NIA2. *Mol. Gen. Genet.* 239: 289-297
- WINTER H., ROBINSON D.G., HELDT H.W. (1993) Subcellular volumes and metabolic concentrations in barley leaves. *Planta* 191: 180-190
- WOLF D., JESCHKE W.D., HARTUNG W. (1990a) Long distance transport of abscisic acid in NaCl-treated intact plants of *Lupinus albus*. *J. Exp. Bot.* 41: 593-600
- WOLF D., MUNNS R., TONNET M.L., JESCHKE W.D. (1990b) Concentrations and transport of solutes in xylem and phloem along the leaf axis of NaCl-treated *Hordeum vulgare*. *J. Exp. Bot.* 41: 1133-1141
- ZIMMERMANN I., MEINZER F.C., BENKERT R., ZHU J.J., SCHNEIDER H., GOLDSTEIN G., KUCHENBROD E., HAASE A. (1994) Xylem water transport: Is the available evidence consistent with the cohesion theory? *Plant, Cell and Environment* 17: 1169-1181
- ZORNOZA P., GONZALEZ M., SERRANO S., CARPENA O. (1996) Inter-varietal differences in xylem exudate composition and growth under contrasting forms of N supply in cucumber. *Plant and Soil* 178: 311-317

## Eigene Publikationen:

Teile der vorliegenden Dissertation wurden bereits veröffentlicht:

SIEBRECHT S., TISCHNER R. (1999) Changes in the xylem exudate composition of poplar (*Populus tremula* x *P. alba*) - dependent on the nitrogen and potassium supply. J. Exp. Bot. 50: 1797-1806

Weitere Publikationen:

SIEBRECHT S., MÄCK G., TISCHNER R. (1995) Function and contribution of the root tip in the induction of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> uptake along the barley root axis. J. Exp. Bot. 46: 1669-1676

## **Ich danke**

Herrn Professor Dr. Rudolf Tischner für die interessante Themenstellung und die engagierte Betreuung dieser Arbeit, seine große Geduld insbesondere beim 'Zusammenschreiben' der Arbeit, die vielen konstruktiven Diskussionen sowie für die Durchsicht des Manuskripts.

Herrn Professor Dr. H.-W. Heldt, für die Übernahme des Korreferats, sein Interesse am Fortgang dieser Arbeit und die Möglichkeit, die Aminosäureanalyse in seiner Arbeitsgruppe durchführen zu können. Für die Einarbeitung und Hilfestellung bei der AS-Analyse herzlichen Dank an Melanie Hußmann.

Frau Professor Dr. Polle, Forstbotanisches Institut der Universität Göttingen, und den Mitarbeitern ihrer Arbeitsgruppe für die Einweisung in die Methode der Pappelvermehrung und dafür, die Einrichtungen ihres Labors für die Pappelvermehrung nutzen zu dürfen.

Herrn Dr. Ulrich Schurr, Klaus Herdel und Frank Gilmer, Botanisches Institut der Universität Heidelberg, für die sehr gute Zusammenarbeit bei den 'Experimenten zur Xylemsaftzusammensetzung entlang der Sproßachse' und die vielen hilfreichen Diskussionen. Herzlichen Dank an Klaus (48 Stunden 'unter Druck' zu experimentieren ist nicht alleine möglich).

der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Herrn Mader und Herrn Reimann für die unerschöpfliche Hilfe bei allen nur denkbaren technischen Problemen. Den Mitarbeitern der Werkstatt für die Anfertigung zahlreicher Sonderwünsche. Herrn Wedemeyer der mir stets mit großer Hilfsbereitschaft und seinem Fachwissen bei der Pappelanzucht mit Rat und Tat zur Seite stand.

Gunda Jansen für viele kleinen und großen Hilfen in allen Lebenslagen und die außerordentlich gute und freundschaftliche Zusammenarbeit.

allen 'Azubiern', Diana Goldmann, Nelli Schwabauer und Andrea Franz für Ihre praktische Hilfestellung.

allen jetzigen und früheren Mitgliedern der Arbeitsgruppe Tischner für die angenehme Arbeitsatmosphäre, die praktische und moralische Unterstützung und den Spaß auch außerhalb des Labors. Vielen Dank an Julia für die vielen gemeinsamen Tag- und Nachtschichten.

meinen Eltern und meiner Schwester Antje für die Unterstützung während des Studiums und der Doktorarbeit.

Ganz besonders danke ich Andreas Schlepegrell dessen Unterstützung und Liebe ich stets sicher sein durfte.

## Lebenslauf

Name:	Sylke Siebrecht
Geburtsdatum:	28 Dezember 1967
Geburtsort:	Höxter
Staatsangehörigkeit:	deutsch
1974 - 1978	Grundschule Lauenförde
1978 - 1987	Gymnasium Beverungen
Mai 1987	Allgemeine Hochschulreife
Oktober 1987 - April 1994	Biologiestudium (Diplom) an der Georg-August-Universität in Göttingen
Oktober 1989	Diplomvorprüfung in den Fächern Botanik, Mikrobiologie, Anorganische Chemie und Physikalische Chemie
Oktober 1993	mündliche Diplomhauptprüfung in den Fächern Botanik, Phytomedizin und Bodenkunde
Oktober 1993 - April 1994	Diplomarbeit am Albrecht-von-Haller-Institut für Pflanzenwissenschaften der Universität Göttingen mit dem Thema "Untersuchungen zur Längsverteilung von Nitrataufnahme und Reduktion in Gerstenwurzeln" in der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. R. Tischner
Juni 1994 - Juni 1995	Weiterbildung zur "Fachkraft im technischen Umweltschutz" bei dem Ingenieure und Fortbildungsinstitut für Umweltplanung (IUP), Braunschweig
März 1995 - Dezember 1995	Anstellung bei der Ingenieurgesellschaft Witzenhausen Projektbetreuung und Öffentlichkeitsarbeit im Bereich Abfallwirtschaft
seit Januar 1996	Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Albrecht-von-Haller-Institut für Pflanzenwissenschaften der Universität Göttingen in der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. R. Tischner; Beginn der experimentellen Arbeiten zur vorliegenden Dissertation