

**Kohlenstoffexport bei erhöhter CO₂-Konzentration:
Einfluss von
Ammoniumnitratkonzentration und Wurzelraum
auf Wachstum und Stoffwechsel
bei *Ricinus communis* L.**

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
an der Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften
der Universität Bayreuth

vorgelegt von
Frank Keller
aus Lindenhart

Bayreuth, im Juni 2002

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften der Universität Bayreuth zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Naturwissenschaften genehmigten Dissertation.

Tag der Einreichung:

06. Juni 2002

Tag des wissenschaftlichen Kolloquiums:

29. November 2002

Prüfungsausschuss:

Prof. Dr. E. Komor

1. Gutachter

Prof. Dr. C. Engels

2. Gutachter

Prof. Dr. E. Beck

PD Dr. G. Gebauer

Prof. Dr. D. Kleiner

Vorsitzender

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG.....	9
1.1	Die Bedeutung von Kohlendioxid und Stickstoff für Pflanzen	9
1.2	Die besondere Eignung von <i>Ricinus communis</i> L. zur Erforschung von Phloemtransportprozessen.....	11
1.3	Fragestellungen und Zielsetzung dieser Arbeit	12
2	MATERIAL UND METHODEN.....	14
2.1	Bezugsquellen	14
2.1.1	Saatgut	14
2.1.2	Enzyme und Chemikalien	14
2.2	Anzucht und Ernte der Pflanzen.....	14
2.2.1	Anzucht der Keimlinge	14
2.2.2	Umsetzen der Pflanzen in die Klimakammern und Klimakammerbedingungen	15
2.2.3	Zusammensetzung der Nährlösungen	15
2.2.4	Gießschemata	16
2.2.5	Ernte der Pflanzen	17
2.3	Messung der Wachstumsparameter	17
2.3.1	Nummerierung der Blattfolge	17
2.3.2	Bestimmung von Sprosshöhe, Blattalter und Blattfläche	19
2.3.3	Bestimmung der Relativen Wachsrate (RGR)	20
2.4	Probennahme.....	20
2.4.1	Blatt- und Wurzelgewebe.....	20
2.4.2	Siebröhrenexsudat.....	21
2.4.3	Xylemwurzeldruckexsudat	21
2.5	Analytische Methoden.....	22
2.5.1	Extraktion und Bestimmung der Kohlenhydrate Glukose, Fruktose, Saccharose und Stärke	22
2.5.2	C/N-Analyse.....	25
2.5.3	Extraktion und Bestimmung von Chlorophyll	25
2.5.4	Bestimmung der Nitratreduktaseaktivität	26

2.5.5	Extraktion und Bestimmung von Nitrat.....	27
2.5.6	Extraktion und Bestimmung der Aminosäuren.....	28
2.5.7	Extraktion und Bestimmung der Konzentration an löslichen Proteinen...	29
2.5.8	Elementanalyse	30
2.6	Gaswechsellmessungen	30
2.7	Mikroskopische Methode zur Bestimmung der Phloemfläche	31
3	ERGEBNISSE.....	32
3.1	Wachstumsverhalten der Pflanzen bei 350 und 700 ppm [CO₂]	32
3.1.1	Entwicklung der Zunahme an Biomasse während der Wachstumsperiode	33
3.1.1.1	<i>Wurzel-Trockengewicht.....</i>	34
3.1.1.2	<i>Spross-Trockengewicht.....</i>	36
3.1.1.3	<i>Wurzel-Spross-Verhältnis</i>	37
3.1.1.4	<i>Biomasse der Blätter und des Stängels zum Erntezeitpunkt.....</i>	39
3.1.1.5	<i>Relative Wuchsraten (RGR).....</i>	41
3.1.2	Anteil der Biomasse von Pflanzenorganen an der Gesamtbiomasse zum Erntezeitpunkt.....	45
3.1.2.1	<i>Anteil der Wurzelbiomasse.....</i>	45
3.1.2.2	<i>Anteil der Sprossbiomasse.....</i>	46
3.1.3	Nicht-invasive Wachstumsparameter	48
3.1.3.1	<i>Entwicklung der Sprosshöhe.....</i>	48
3.1.3.2	<i>Blattfolge</i>	50
3.1.3.3	<i>Blattflächenentwicklung von Blatt # 2.....</i>	51
3.1.3.4	<i>Gesamte Blattfläche zum Erntezeitpunkt</i>	53
3.1.3.5	<i>Spezifisches Blattgewicht.....</i>	53
3.2	Kohlenstoffexport in Form von Assimilaten aus dem source-Gewebe der untersuchten Blätter bei 350 und 700 ppm [CO₂]	56
3.2.1	Fixierung und Freisetzung von Kohlendioxid im untersuchten Gewebe .	56
3.2.1.1	<i>Chlorophyllgehalt im Blattgewebe</i>	56
3.2.1.2	<i>Nettophotosynthese</i>	57
3.2.1.3	<i>Dunkelatmung</i>	58
3.2.1.4	<i>Transpiration</i>	58
3.2.1.5	<i>Kohlenstoffanteil des Blattgewebes</i>	59
3.2.2	Zunahme des im Blattgewebe fixierten Kohlenstoffs während der Lichtphase	60
3.2.3	Diurnale Rhythmik der Gehalte von Glukose, Fruktose, Saccharose und Stärke im Gewebe des source-Blattes # 2.....	61
3.2.3.1	<i>Glukose.....</i>	61
3.2.3.2	<i>Fruktose.....</i>	62
3.2.3.3	<i>Saccharose</i>	63
3.2.3.4	<i>Stärke.....</i>	64
3.2.4	Mobilisierung von Kohlenstoff in Form von Assimilaten während der Dunkelphase.....	65
3.2.5	Kohlenstoffexport aus dem source-Gewebe der untersuchten Pflanzen	66

3.2.5.1	<i>Kohlenstoffexportraten in der Licht- und Dunkelphase</i>	66
3.2.5.2	<i>Anteil des Kohlenstoffexports im Licht an dem durch Nettophotosynthese fixierten Kohlenstoff im Blattgewebe</i>	69
3.3	Transport der exportierten Assimilate bei 350 und 700 ppm [CO₂]	71
3.3.1	Saccharosekonzentration im Transportgewebe von <i>source</i> -Blättern bei 350 und 700 ppm [CO ₂]	71
3.3.1.1	<i>Saccharosekonzentration und Exsudationsraten des Siebröhrenexsudats von Blatt # 2 in der Lichtphase</i>	71
3.3.1.2	<i>Saccharosekonzentration im Xylemsaft</i>	73
3.3.2	Fläche des Phloemgewebes im Querschnitt der Blattpetiolen	73
3.3.3	Fluss des in Form von Assimilaten exportierten Kohlenstoffs im Phloemgewebe bei 350 und 700 ppm [CO ₂].....	75
3.4	Stickstoffgehalt und Nitratassimilation der untersuchten Pflanzen	77
3.4.1	Stickstoffgehalt im <i>source</i> -Gewebe	77
3.4.1.1	<i>Stickstoffanteil des Blattgewebes</i>	77
3.4.1.2	<i>Stickstoffgehalt im source-Blatt # 2</i>	78
3.4.1.3	<i>C/N-Verhältnis</i>	79
3.4.2	Stickstoffnutzungseffizienz (NUE) der Photosynthese.....	79
3.4.3	Nitratgehalt in Blatt- und Wurzelgewebe.....	81
3.4.3.1	<i>Nitratgehalt des source-Blattes # 2</i>	81
3.4.3.2	<i>Nitratgehalt der Wurzel</i>	82
3.4.3.3	<i>Nitratkonzentration im Xylemsaft</i>	83
3.4.3.4	<i>Nitratkonzentration im Siebröhrenexsudat von Blatt # 2</i>	84
3.4.4	Nitratreduktaseaktivität in Blatt- und Wurzelgewebe.....	85
3.4.4.1	<i>Nitratreduktaseaktivität im Gewebe des source-Blattes # 2</i>	85
3.4.4.2	<i>Nitratreduktaseaktivität im Wurzelgewebe</i>	86
3.4.5	Aminosäuregehalt in Blatt # 2.....	87
3.4.5.1	<i>Aminosäuregehalt im Gewebe des source-Blattes # 2</i>	87
3.4.5.2	<i>Aminosäurekonzentration im Siebröhrenexsudat</i>	91
3.4.6	Proteingehalt in Blatt # 2.....	92
3.5	Gehalt an weiteren Hauptnährelementen im Gewebe des source-Blattes # 2	94
3.5.1	Kalzium	94
3.5.2	Kalium.....	95
3.5.3	Magnesium	96
3.5.4	Phosphor	97
3.5.5	Schwefel	98
4	DISKUSSION	100
4.1	Gesteigerte und beschleunigte Biomasseproduktion der Pflanzen bei erhöhter CO₂-Konzentration	100
4.1.1	Einfluss der Topfgröße	100
4.1.2	Abhängigkeit von der Ammoniumnitratkonzentration.....	103
4.2	Veränderte <i>sink-source</i>-Beziehungen der Pflanzen bei erhöhter CO₂-Konzentration	105

4.2.1	Besondere Bedeutung des Spross- <i>sinks</i> bei <i>Ricinus communis</i> L.	105
4.2.2	Beschleunigter <i>sink-source</i> -Übergang des Blattes # 2 mit zunehmender Stickstoffversorgung und erhöhter CO ₂ -Konzentration ..	106
4.3	Erhöhter Kohlenstoffexport in Form von Assimilaten und Fluss dieser Assimilate bei 700 ppm [CO₂]	108
4.4	Besonders enge Verknüpfung des Kohlenstoff- und des Stickstoffstoffwechsels bei 700 ppm [CO₂]	111
4.4.1	C/N-Verhältnis und der Einfluss auf die Photosyntheseleistung	111
4.4.2	Verminderte Photorespiration bei erhöhter CO ₂ -Konzentration	112
4.4.3	Unterschiedlicher Einfluss von erhöhter CO ₂ -Konzentration auf die Nitratreduktaseaktivität in Blättern und Wurzeln	113
4.4.4	Einfluss von erhöhter CO ₂ -Konzentration auf die Bildung und den Transport von Aminosäuren	115
4.5	Abhängigkeit des Gehalts an Hauptnährelementen im <i>source</i>-Gewebe von erhöhter CO₂-Konzentration und Stickstoffversorgung.....	118
4.6	Ausblick.....	120
5	ZUSAMMENFASSUNG	122
6	SUMMARY	124
7	LITERATUR	126
8	ANHANG.....	134
8.1	Gehalte aller gemessenen Aminosäuren im <i>source</i>-Blattgewebe.....	134
8.1.1	Aminosäuregehalt [$\mu\text{mol g TG}^{-1}$] im <i>source</i> -Blattgewebe von Pflanzen in 4 l Töpfen	134
8.1.1.1	4 l Topf – 350 ppm [CO ₂].....	134
8.1.1.2	4 l Topf – 700 ppm [CO ₂].....	135
8.1.2	Aminosäuregehalt [$\mu\text{mol g TG}^{-1}$] im <i>source</i> -Blattgewebe von Pflanzen in 10 l Töpfen	136
8.1.2.1	10 l Topf – 350 ppm [CO ₂].....	136
8.1.2.2	10 l Topf – 700 ppm [CO ₂].....	137
8.2	Konzentrationen aller gemessenen Aminosäuren im Siebröhrenexsudat	138
8.2.1	Aminosäurekonzentration [mM] im Siebröhrenexsudat 17 Tage alter Blätter von Pflanzen in 4 l Töpfen	138

8.2.1.1	4 l Topf – 350 ppm [CO ₂]	138
8.2.1.2	4 l Topf – 700 ppm [CO ₂]	139
8.2.2	Aminosäurekonzentration [mM] im Siebröhrenexsudat 17 Tage alter Blätter von Pflanzen in 10 l Töpfen	140
8.2.2.1	10 l Topf – 350 ppm [CO ₂]	140
8.2.2.2	10 l Topf – 700 ppm [CO ₂]	141
9	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	143

1 Einleitung

1.1 Die Bedeutung von Kohlendioxid und Stickstoff für Pflanzen

Autotrophe Pflanzen nehmen aus der sie umgebenden Atmosphäre Kohlendioxid auf und reduzieren dieses durch den Vorgang der Photosynthese. Dadurch produzieren sie Kohlenhydrate. Diese Kohlenhydrate werden ihrerseits zum Aufbau von Biomasse eingesetzt und tragen somit zum Wachstum der Pflanzen bei. Die Produktivität der Pflanze ist sehr stark abhängig von ihrem Standort und dadurch von Parametern wie Licht, Temperatur und Feuchtigkeit, aber auch vom Vorhandensein von Nährstoffen und CO_2 in ausreichender Form. Nährstoffe nimmt die Pflanze zum großen Teil als gelöste Salze durch die Wurzel auf. Spurenelemente werden von der Pflanze in geringeren Mengen benötigt, wohingegen Hauptnährelemente in größeren Konzentrationen für die Pflanze verfügbar sein müssen. Der Gehalt an Hauptnährelementen im Boden und deren Zugänglichkeit korreliert mit dem Wachstum der Pflanzen, was durch die Versuche von Justus von Liebig nachgewiesen wurde und seit dem praktische Anwendung in der Mineraldüngung findet. Das Hauptnährelement Stickstoff, welches die Pflanze selbst in Form der anorganischen Ionen Nitrat bzw. Ammonium dem Boden entnehmen kann, gilt als unerlässlich für das Wachstum und die Entwicklung von Pflanzen (Brouwer 1962). Man geht davon aus, dass das Gleichgewicht zwischen Kohlenstoff und Stickstoff in der Pflanze deren Photosynthese maßgeblich beeinflusst (Paul & Foyer 2001).

Die Kohlendioxidkonzentration in der Atmosphäre hat seit Beginn der Industrialisierung aufgrund anthropogener Einflüsse stetig zugenommen und es wird angenommen, dass sich etwa in der Mitte dieses Jahrhunderts die derzeitige Konzentration von etwa 360 ppm verdoppelt (Hodge & Millard 1998). Mit einer höheren CO_2 -Konzentration ist somit auch - bei ausreichender Stickstoffversorgung - eine gesteigerte Photosyntheseleistung und dadurch eine verstärkte Biomasseproduktion der Pflanzen zu erwarten, was vor allem für die landwirtschaftliche Nutzung von Pflanzen von Bedeutung ist. So konnten in Freilandexperimenten z.T. beträchtliche Ertragssteigerungen bei erhöhter CO_2 -Konzentration und guter Stickstoffverfügbarkeit erreicht werden (Lawlor & Mitchell 1991, Lawlor 2002). Ein weiterer Faktor, der die Reaktion von Pflanzen auf erhöhte CO_2 -Konzentrationen entscheidend prägt, ist deren Habitat. Pflanzengesellschaften, die in stickstoffarmen Gebieten leben, reagieren kaum auf das verstärkte Angebot von Kohlendioxid. Es setzen

sich hier v.a. Pflanzenarten gegenüber anderen durch, die die geringen Stickstoffkonzentrationen im Boden besser nutzen können. In der Folge kommt es jedoch schneller zu einer Abnahme der Biomasseproduktion, da der verfügbare Stickstoff bei erhöhter CO₂-Konzentration umso schneller aufgebraucht ist. Ausreichende bis sehr gute Stickstoffversorgung führt somit zu einer gesteigerten Produktion von Biomasse innerhalb der gesamten Gesellschaft. Es können hier auch Pflanzenarten mit einer geringeren Nutzungseffizienz zur Ertragssteigerung beitragen, was durch erhöhte CO₂-Konzentrationen noch forciert werden kann. Je größer die Diversität der Pflanzengesellschaft ist, desto stärker wirkt sich eine erhöhte Stickstoff- und CO₂-Konzentration auf die Produktivität der Pflanzen pro Areal aus (Reich et al. 2001).

Die besondere Bedeutung des Hauptnährelements Stickstoff liegt darin, dass es an Stoffwechselreaktionen maßgeblich beteiligt ist, da diese Reaktionen durch Enzyme katalysiert werden. Enzyme sind Proteine und somit aus Aminosäuren aufgebaut, wobei in jeder Aminosäure mindestens ein Stickstoffatom vorhanden ist. Des Weiteren ist Stickstoff ein wichtiger Baustein der DNA und damit des Erbguts von Lebewesen. Grundlegende Bedeutung für Pflanzen hat Stickstoff außerdem als Bestandteil von Sekundärmetaboliten (Marschner 1995). Für die Integration von Stickstoff in organische Verbindungen muss dieses Element reduziert, d.h. in Form von Ammoniumionen, vorliegen, die dann in Glutamat eingebaut werden. Auf diese Weise entsteht Glutamin, welches dann als Substrat für weitere Stoffwechselreaktionen zur Verfügung steht. Wird Stickstoff von der Pflanze nicht in Form von Ammonium sondern von Nitrat aufgenommen, muss dieses zu Ammonium reduziert werden. Der erste und zugleich geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Nitratassimilation wird durch das Enzym Nitratreduktase katalysiert, welches Nitrat in Nitrit überführt, woraus dann durch weitere Reduktion Ammonium entsteht (Heldt 1996). Die Messung der Nitratreduktaseaktivität kann somit wichtige Einblicke in den Stickstoffmetabolismus von mit Nitrat versorgten Pflanzen liefern.

Ein spezieller Zusammenhang zwischen dem Stickstoffmetabolismus und dem Wachstum von Pflanzen bei erhöhter CO₂-Konzentration besteht in dem Phänomen der Akklimation der Photosynthese (Stitt & Krapp 1999). Unter Akklimation versteht man hier die Abnahme der Photosyntheseleistung von Pflanzen, die längere Zeit erhöhter CO₂-Konzentration ausgesetzt waren. Das Ausmaß der Akklimation hängt von der Stickstoffernährung ab, da man u.a. davon ausgeht, dass die beim Wachstum unter erhöhter CO₂-Konzentration in verstärktem Maß benötigten Mengen an Stickstoff ab einem gewissen Zeitpunkt nicht mehr dem Boden entnommen werden können, und so die Remobilisierung von Stickstoff durch den Abbau des in grünem Blattgewebe redundant vorkommenden Proteins RubisCO stattfindet. Dieser Stickstoff wird dann anderen Pflanzenorganen zur Verfügung gestellt (Makino & Mae 1999). Da RubisCO die CO₂-Fixierung und somit den ersten Schritt der

Photosynthese katalysiert, führt ein Abbau von RubisCO zu einer Abnahme der Photosyntheseleistung.

Dem beschleunigten und verstärkten Wachstum von Pflanzen bei einem gesteigerten Angebot von Kohlendioxid in der Atmosphäre liegt eine erhöhte Produktion von Kohlenhydraten zu Grunde. Diese Kohlenhydrate werden dem heterotrophen, d.h. dem wachsenden und speichernden, Gewebe (*sink*-Gewebe) der Pflanze von dem Gewebe, welches seine vollständige Photosynthesekapazität bereits erreicht hat und mehr Kohlenhydrate produziert als für das eigene Wachstum und die Erhaltung des Stoffwechsels benötigt wird (*source*-Gewebe), bereitgestellt (Turgeon 1989). Die Translokation dieser Kohlenhydrate innerhalb der Pflanze erfolgt im Phloemgewebe. Die Bestimmung des Inhalts der Siebröhren, d.h. der Leitungsbahnen des Phloems, in denen die Assimilate den *sink*-Geweben zugeführt werden, unter qualitativen und quantitativen Aspekten stellt somit einen wesentlichen Punkt für die Erforschung von Assimilattransportprozessen dar.

1.2 Die besondere Eignung von *Ricinus communis* L. zur Erforschung von Phloemtransportprozessen

Ricinus communis L. (Wunderbaum, Palma Christi) gehört zur Familie der *Euphorbiaceae*, der Wolfsmilchgewächse. Die mehrjährige Pflanze, die bereits in der ägyptischen Hochkultur bekannt war, wird bevorzugt in den Tropen und Subtropen angebaut. Sie kommt auch in den gemäßigten Breiten vor, hier jedoch nur annuell, da sie frostempfindlich ist. Die wirtschaftliche Bedeutung von *Ricinus communis* liegt in der Produktion von Rizinusöl, das aus den Samen gewonnen wird. Die besondere Eigenschaft dieses Öls besteht in der weitgehend von der Temperatur unabhängigen und gleichbleibenden Viskosität und in der starken Adhäsionskraft. Es wird dadurch bevorzugt als Schmieröl für Motoren eingesetzt. (Franke 1992).

Aus wissenschaftlicher Sicht ist *Ricinus communis* v.a. deswegen interessant, da leicht der Inhalt der Siebröhren in Form von Exsudat gewonnen werden kann (Milburn 1970). Das Siebröhrenexsudat enthält in erster Linie Saccharose als Haupttranslokationsform der Assimilate, Aminosäuren (hier v.a. Glutamin), Peptide und Proteine, organische Säuren, Hauptnährelemente, Phytohormone, sowie auch Polyamine (Hall & Baker 1972, Smith & Milburn, 1980, Allen & Smith 1986, Allen & Raven 1987, Antognoni et al. 1998). Je nach Art bzw. Konzentration der Stickstoffernährung konnte auch Nitrat im Siebröhrenexsudat nachgewiesen werden (Peuke & Jeschke 1993, Peuke et al. 1994).

Durch die Eigenschaft der leichten Zugänglichkeit des Siebröhrenexsudats eignet sich *Ricinus communis* daher in besonderer Weise zur Erforschung von Transportprozessen,

sowohl bei Keimlingen (Komor 1994), als auch bei *source*-Blättern adulter Pflanzen (Grimmer 1999). Dies gilt v.a. für Pflanzen, die unter erhöhter CO₂-Konzentration wachsen, denn die im *source*-Gewebe in verstärktem Maß gebildeten Kohlenhydrate müssen den Verbrauchsorten in der Pflanze auch in höherer Konzentration oder schneller zugeführt werden, damit diese zum Aufbau von Biomasse genützt werden können. An dem Export von Kohlenstoff in Form von Assimilaten und an deren Transport ist das Phloem wesentlich beteiligt, und somit sind auch Veränderungen in diesem Gewebe bei erhöhter CO₂-Konzentration zu erwarten.

1.3 Fragestellungen und Zielsetzung dieser Arbeit

In dem DFG-Schwerpunktprogramm „Stoffwechsel und Wachstum der Pflanze unter erhöhter CO₂-Konzentration“ stand v.a. die individuelle Reaktion der Pflanze auf das gesteigerte Angebot an Kohlendioxid in der Atmosphäre im Mittelpunkt. Pflanzen bilden bei erhöhter CO₂-Konzentration zumeist mehr Biomasse als bei ambienster CO₂-Konzentration. Dieser Tatsache liegt eine verstärkte Synthese von Kohlenhydraten zu Grunde, welche den *sink*-Organen vom *source*-Gewebe zur Verfügung gestellt werden. Untersuchungen zur Bildung, zum Export und Transport dieser Kohlenhydrate liefern somit wesentliche Erkenntnisse über den Zusammenhang zwischen Kohlenstoffstoffwechsel und Wachstum der Pflanze.

Aus den bisher bei *Ricinus communis* durchgeführten Versuchen bei 350 und 700 ppm [CO₂] bezüglich des Exports von Kohlenstoff in Form von Assimilaten resultierte eine gesteigerte Exportrate bei erhöhter CO₂-Konzentration, was v.a. auf einen verstärkten Dunkelexport zurückzuführen ist (Grimmer & Komor 1999). Die Messung der Transportgeschwindigkeit des Siebröhreninhalts ergab keinen Unterschied zwischen Pflanzen, die bei 350 und 700 ppm [CO₂] gewachsen waren (Grimmer 1999).

Da jedoch das Ausmaß der gesteigerten Biomasseproduktion von Pflanzen bei erhöhter CO₂-Konzentration sehr stark von der Höhe der Stickstoffernährung abhängt (Wong 1990), ist anzunehmen, dass auch mit zunehmender Stickstoffkonzentration in der Nährlösung deutlichere Unterschiede zwischen 350 und 700 ppm [CO₂] bezüglich der Bildung von Kohlenhydraten im *source*-Gewebe, sowie dem Export und Transport von Kohlenstoff in Form von Assimilaten auftreten. Ein wichtiger Punkt hierbei ist, wie gut der angebotene Stickstoff bei der jeweiligen CO₂-Konzentration von der Pflanze assimiliert werden kann.

Aus Vorversuchen hatte sich ergeben, dass die Größe der Töpfe, in denen die Pflanzen wachsen, das Kohlenstoffexportverhalten von *source*-Blättern bei 350 und 700 ppm [CO₂] stark beeinflusst und zwar dahingehend, dass die Unterschiede in den

Kohlenstoffexportraten - bei gleicher Stickstoffernährung - zwischen ambierter und erhöhter CO₂-Konzentration mit abnehmendem Volumen der Töpfe ebenfalls geringer wurden. Es war somit der Frage nachzugehen, inwiefern eine Limitierung des Wurzelraums den Kohlenstoffexport aus *source*-Blättern von Rizinuspflanzen bei verschieden hoher Stickstoffernährung und unterschiedlicher CO₂-Konzentration beeinträchtigt.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte untersucht werden, in welchem Zusammenhang das veränderte Wachstum von *Ricinus communis* L. bei erhöhter CO₂-Konzentration und verschiedener Ernährung der Pflanzen mit Ammoniumnitrat mit der Bildung, dem Export und Transport von Kohlenhydraten steht. Es sollten Ergebnisse zu folgenden Punkten gewonnen werden:

1. Durch Wachstumsanalysen und die Bestimmung von Wachstumsparametern sollte der Einfluss von erhöhter CO₂-Konzentration und verschieden hoher Konzentration von Ammoniumnitrat in der Nährlösung auf die Entwicklung und Produktion von Biomasse von Pflanzen in 4 l und 10 l Töpfen festgestellt werden.
2. Die Berechnung der Kohlenstoffexportraten bei den verschiedenen Bedingungen und die Bestimmung der dazu nötigen physiologischen Parameter sollte zum Erkennen grundlegender Charakteristika des Kohlenstoffexports aus *source*-Gewebe von Rizinuspflanzen führen.
3. Aus der Bestimmung der Saccharosekonzentration des Siebröhrenexsudats vom *source*-Blatt # 2 und der Kohlenstoffexportraten, sowie mikroskopischen Messungen der Phloemfläche sollten Rückschlüsse zum Langstreckentransport der Kohlenhydrate im Phloem gezogen werden. In diesem Zusammenhang sollte auch geklärt werden, ob eine Rezirkulation von Kohlenhydraten innerhalb der Pflanze über den Xylemstrom stattfindet.
4. Die Analyse wesentlicher Parameter des Stickstoffmetabolismus sollte Einblick über den engen Zusammenhang des Stickstoff- und Kohlenstoffstoffwechsels - besonders bei verschiedener Ammoniumnitraternährung und CO₂-Konzentration - geben.
5. Ein möglicher Zusammenhang des Kohlenstoffexports mit dem Gehalt an verschiedenen Hauptnährelementen sollte durch Elementanalysen des *source*-Gewebes untersucht werden. Hierbei war Kalium besonders von Interesse, da dieses Element den Assimilattransport in den Siebröhren beeinflussen kann (Mengel & Haeder 1977).

2 Material und Methoden

2.1 Bezugsquellen

2.1.1 Saatgut

Die Samen von *Ricinus communis* L. var. *Sanguineus* wurden von den Firmen Jelitto (29685 Schwarmstedt) und Benary (34331 Hann. Münden) bezogen.

2.1.2 Enzyme und Chemikalien

Die Enzyme Hexokinase, Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase, Phosphoglukoseisomerase, Amyloglukosidase und α -Amylase wurden von der Firma Roche (68305 Mannheim), das Enzym Invertase von der Firma Sigma-Aldrich (82039 Deisenhofen) bezogen.

Für die Präparation der Nährlösungen, sowie für die physiologischen Experimente wurden Chemikalien der Firmen Merck (Merck-Eurolab, 90451 Nürnberg), Sigma-Aldrich, Biomol (22769 Hamburg) und Roth (76185 Karlsruhe) verwendet.

Wurde Methanol als mobile Phase bei der HPLC eingesetzt, wurde es von der Firma Roth in Form von *Methanol ROTISOLV[®] HPLC Gradient Grade* bezogen.

Für die Herstellung von Puffern wurde stets *Millipore-Wasser* (Millipore, 65760 Eschborn) eingesetzt.

Kohlendioxid wurde von der Firma Rießner (96203 Lichtenfels) bezogen.

2.2 Anzucht und Ernte der Pflanzen

2.2.1 Anzucht der Keimlinge

Die Samen von *Ricinus communis* L. var. *Sangiuneus* wurden ÜN bei 27 °C gewässert und anschließend 10 min mit einer 0,3 % (w / v) 8-Hydroxychinolinsulfat-Lösung zur Sterilisierung der Oberfläche behandelt. Die Samen wurden daraufhin mind. 3 h mit VE-Wasser unter

Schütteln gewaschen, wobei das Wasser anfänglich alle 10 min, nach einer Stunde alle 20 min gewechselt wurde. Die gewaschenen Samen wurden auf angefeuchtetem Vermiculit in Pflanzschalen ausgelegt und in eine Kammer mit 98 % Luftfeuchte und einer Temperatur von ca. 30 °C überführt. Dort wurden sie zur Keimung für 4 bis 6 Tage belassen. Danach wurden die Keimlinge bis zum Alter von 12 Tagen im Gewächshaus mit 80 % Luftfeuchte bei ca. 25 °C belassen.

2.2.2 Umsetzen der Pflanzen in die Klimakammern und Klimakammerbedingungen

Die Keimlinge wurden im Alter von 12 Tagen in mit Quarzsand (Nr. 5, 0,7-1,2 mm, Zapf, Bayreuth) gefüllte Töpfe gepflanzt. Der Sand wurde zuvor mehrmals mit VE-Wasser gewaschen. Das Volumen der Töpfe betrug 4 l bzw. 10 l. Danach wurden die Pflanzen in die Klimakammern – in der Mitte der Lichtphase – überführt und mit Nährlösung gegossen. Dieser Tag wurde als Tag 0 festgesetzt.

Die beiden begehbaren Klimakammern (York international) der Fachgruppe Biologie der Universität Bayreuth verfügen über einen Rauminhalt von 11,43 m³. Eine der beiden wurde mit Außenluft (100 cm³ h⁻¹) versorgt, die andere wurde mit CO₂ begast, so dass kontinuierlich eine Konzentration von 700 ppm vorlag. Die Kontrolle der erhöhten CO₂-Konzentration erfolgte durch ein Gaswechselanalysegerät (BINOS, Leybold-Heraeus). Auf die Lichtphase von 13,5 h folgte eine Übergangsphase von 30 min, in der die Lichtzufuhr in 3 Stufen gedrosselt wurde. Die Dunkelphase dauerte 9,5 h, worauf wiederum eine Dämmerungsphase von 30 min folgte, in der die Lampen (EYE Iwasaki Typ MT 400 DL / BH, Japan) in 3 Stufen eingeschaltet wurden. Während der Lichtphase betrug der Lichtfluss durchschnittlich 800 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, die Temperatur 26 °C und der Taupunkt 19 °C. In der Dunkelphase herrschte eine Temperatur von 20 °C, die Luftfeuchte wurde auf den Taupunkt von 16 °C eingestellt.

2.2.3 Zusammensetzung der Nährlösungen

Mit Beginn der Klimakammerperiode wurden die Pflanzen mit Nährlösung versorgt. Diese Nährlösung unterschied sich je nach Versuchsansatz nur in der Konzentration von NH₄NO₃ als Stickstoffquelle, von dem entweder 1 mM, 3 mM, 6 mM oder 12 mM zugegeben wurde. Es handelte sich um eine modifizierte Hoagland-Nährlösung, die Spurenelemente wurden nach Epstein (1972) zugesetzt (Tab. 2.1).

Tab. 2.1: Zusammensetzung der modifizierten Hoagland-Nährlösung / Spurenelemente nach Epstein (1972). NH_4NO_3 wurde je nach Versuchsansatz in der Endkonzentration 1 mM, 3 mM, 6 mM oder 12 mM zugegeben.

Hauptnährelemente	
4 mM	CaSO_4
2 mM	MgSO_4
3 mM	K_2HPO_4
1, 3, 6, 12 mM	NH_4NO_3
0,09 mM	Fe-EDTA
Spurenelemente	
50 μM	KCl
20 μM	H_3BO_3
2 μM	MnSO_4
2 μM	ZnSO_4
0,5 μM	CuSO_4
0,5 μM	MoO_3
pH 6,0 mit 7 % (v / v) H_2SO_4	

2.2.4 Gießschemata

Ab dem Umsetzen der Pflanzen in die Klimakammern wurden diese mit Nährlösung versorgt. Pflanzen, die bei 350 ppm $[\text{CO}_2]$ und bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ kultiviert wurden, erhielten stets das gleiche Volumen an Nährlösung, welches mit zunehmender Dauer der Wachstumsperiode gesteigert wurde. Die Pflanzen wurden einmal pro Tag ca. in der Mitte der Lichtphase mit Nährlösung gegossen. Das Nährlösungsvolumen war der Topfgröße angepasst (Tab. 2.2).

Tab. 2.2: Gießschemata der Pflanzen in 4 l bzw. 10 l Töpfen. Das Nährlösungsvolumen (NLV) wurde der Topfgröße angepasst. Pflanzen bei ambienter und erhöhter CO₂-Konzentration erhielten stets das gleiche Volumen.

Klimakammerperiode	NLV für 4 l Töpfe	NLV für 10 l Töpfe
0. – 12. Tag	500 ml	1300 ml
13. – 20. Tag	750 ml	1900 ml
21. – 25. Tag	1000 ml	2500 ml

2.2.5 Ernte der Pflanzen

Im Alter von 37 Tagen erfolgte die Ernte der Pflanzen, welche sich im vegetativen Zustand befanden, d.h. die Blüte war noch nicht entwickelt. Dieser Zeitpunkt für die Totalernte der Pflanzen richtete sich nach dem Alter des Blattes # 2, da für die physiologischen Versuche ein Blattalter von 17 Tagen nötig war. Nach dem gründlichen Abwaschen des Sandes aus dem Wurzelraum wurden die Pflanzenorgane bei 70 °C für ca. 5 Tage getrocknet, bevor die Bestimmung des Trockengewichts vorgenommen wurde.

2.3 Messung der Wachstumsparameter

2.3.1 Nummerierung der Blattfolge

Die Blätter der Rizinuspflanzen wurden nach der zeitlichen Abfolge ihres Erscheinens nummeriert. Es wurde das System nach Grimmer (1999) verwendet. Auf die Keimblätter folgten die paarig angelegten Primärblätter (Blatt # 1). Das daraufhin gebildete Blatt wurde als Blatt # 2 bezeichnet. Ausschließlich an diesem Blatt wurden bei einem Alter von 17 Tagen sämtliche physiologischen Untersuchungen durchgeführt. Diesem Blatt folgte Blatt # 3, Blatt # 4 usw. (Abb. 2.1). Eine Rizinuspflanze zum Erntezeitpunkt im Alter von 37 Tagen ist in Abb. 2.2 wiedergegeben.

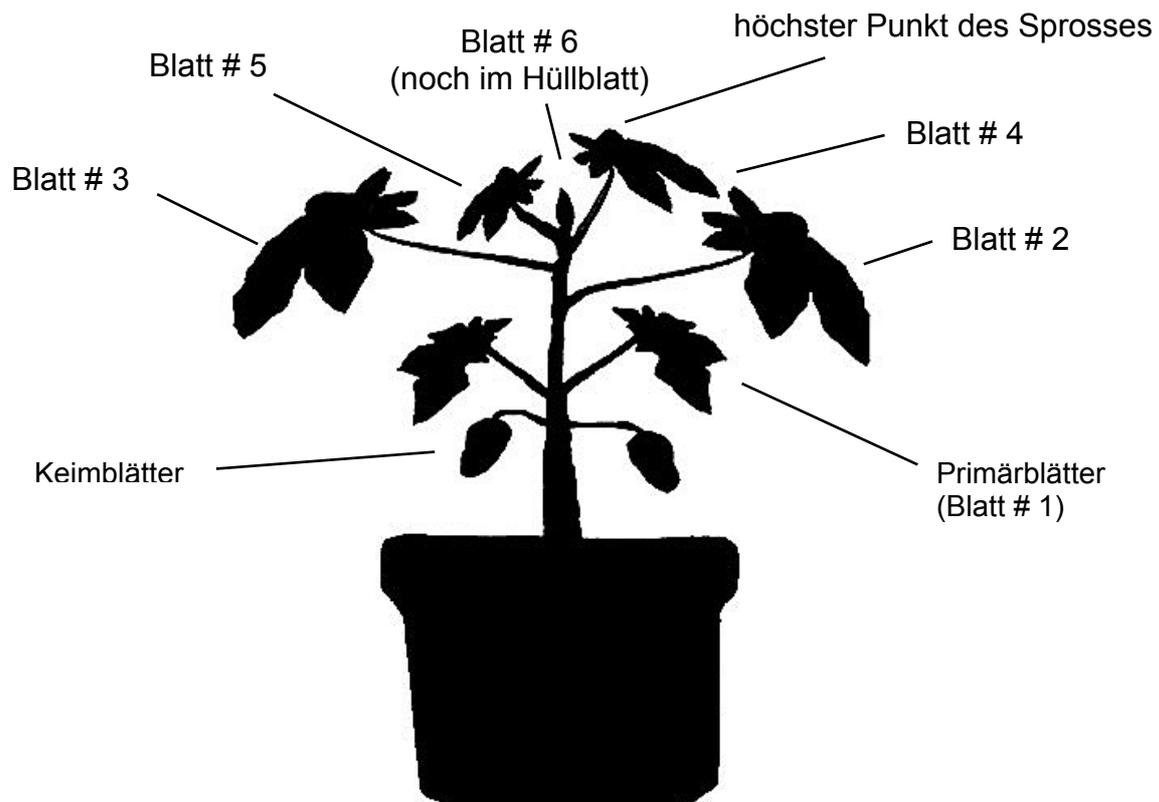


Abb. 2.1: Schematische Darstellung einer Rizinuspflanze mit Nummerierung der Blätter und dem höchsten Punkt des Sprosses.



Abb. 2.2: *Ricinus communis* L. im Alter von 37 Tagen mit Nummerierung der Blätter. Die Pflanze wurde in einem 4 l Topf mit einer Konzentration von 1 mM NH_4NO_3 in der Nährlösung bei 350 ppm $[\text{CO}_2]$ kultiviert.

2.3.2 Bestimmung von Sprosshöhe, Blattalter und Blattfläche

Sprosshöhe

Die Sprosshöhe wurde zwischen der ersten sichtbaren Wurzel und dem höchsten Punkt des Sprosses gemessen. Da der Spross von *Ricinus communis* L. Übergipfelungswachstum zeigt (Franke 1992), wurde der höchste Punkt meist durch ein Blatt markiert (Abb. 2.1).

Blattalter

Grundlegend für die Bestimmung des Blattalters war die Aufzeichnung des Erscheinungstages des Blattes. Dieser wurde auf den Zeitpunkt festgelegt, an welchem die Mittelrippe, d.h. die Hauptleitungsbahn des Mittellappens, des entstehenden Blattes komplett messbar war. Dieser Tag galt als Tag 0.

Blattfläche

Die Fläche der Blätter von *Ricinus communis* steht in engem Zusammenhang mit deren Entwicklungszustand. So ist aufgrund seiner Fläche eine Charakterisierung des Blattes als *sink*-, *sink-source*-Übergangs- bzw. *source*-Blatt möglich (Grimmer 1999). Da diese Information für die Bestimmung des Kohlenstoffexports unerlässlich ist, kam der Entwicklung der Blattfläche eine große Bedeutung zu. Die Blattfläche korreliert mit der Länge der Mittelrippe nach Gleichung 2.1. Die Mittelrippe, die als die Hauptleitungsbahn des mittleren und gleichzeitig größten Blattlappens definiert ist, wurde vom Ansatz der Petiole bis zur Spitze des Blattlappens gemessen.

$$A = 1,18 \times (MR)^2$$

Gl. 2.1: Korrelation der Blattfläche (A) mit der Länge der Mittelrippe (MR).

2.3.3 Bestimmung der Relativen Wachsrates (RGR)

Die Relative Wachsrates (*relative growth rate* – RGR) gilt als ein Maß für die pflanzliche Biomasseproduktion. Sie wird definiert als Zuwachs an Biomasse (dW) während eines Zeitraums (dt) bezogen auf das gesamte Trockengewicht (W) der Pflanze bzw. eines Organs (Gl. 2.2). Bei den hier durchgeführten Versuchen wurde zunächst die RGR der Keimlinge während der Gewächshausperiode ermittelt. Im Folgenden erfolgte während der Wachstumsperiode in der Klimakammer zu festgelegten Zeitpunkten die Totalernte der Pflanzen, und es wurde sowohl die gesamte Biomasse als auch das Trockengewicht von Wurzel und Spross bestimmt. Den Berechnungen der RGR wurden die Mittelwerte der Trockengewichtsanalysen zu Grunde gelegt.

$$RGR = \frac{1}{W} \times \frac{dW}{dt} = \frac{d(\ln W)}{dt}$$

Gl. 2.2: Berechnung der Relativen Wachsrates (RGR) aus Biomassezuwachs (dW) pro Zeitraum (dt) bezogen auf das Gesamttrockengewicht (W).

2.4 Probennahme

2.4.1 Blatt- und Wurzelgewebe

Das für die physiologischen Experimente nötige Blattgewebe wurde mit einem Korkbohrer definierten Umfangs dem Blatt # 2, welches ein Alter von 17 Tagen hatte, entnommen und sofort in flüssigen Stickstoff überführt. Dabei wurde darauf geachtet, dass dieses an vergleichbaren Stellen der Blätter untereinander geschah, und dass das entnommene Gewebe keine Leitungsbahnen erster, zweiter oder dritter Ordnung enthielt. Damit sollte sicher gestellt werden, dass ausschließlich *source*-Gewebe, welches Kohlenhydrate exportiert, für die Experimente eingesetzt wurde.

Für die Bestimmung des Nitratgehalts bzw. der Nitratreduktaseaktivität wurden Wurzelproben genommen, welche aus der Spitze der Wurzeln bis zum Beginn der Wurzelhaarzone stammten.

2.4.2 Siebröhrenexsudat

Das Siebröhrenexsudat von *Ricinus communis* L. ist leicht zugänglich (Milburn 1970), was an einer Verzögerung des Wundverschlusses nach dem Einritzen der äußeren Gewebeschichten des Stängels bzw. der Blattpetiole liegt. Im Rahmen der hier durchgeführten Versuche wurde ausschließlich Exsudat eingesetzt, welches aus Petiolen gewonnen wurde. Da von Interesse war, welchen Inhalt das Exsudat hatte, das die Blätter verließ, wurde in ca. 2 cm Entfernung vom Stängel ein sog. „Sperrschnitt“ gesetzt. Damit sollte verhindert werden, dass Siebröhrensaft, welcher in das Blatt transportiert wird, analysiert wird. Für die Schnitte wurden Rasierklingen verwendet, wobei vorsichtig die äußeren Gewebeschichten angeritzt wurden bis Exsudat austrat. Im Abstand von etwa 1-1,5 cm von dem Sperrschnitt wurde in Richtung der Lamina erneut geschnitten. Der erste Tropfen dieses Exsudats (ca. 5-10 µl) wurden verworfen. Das austretende Exsudat wurde mit einer Glaskapillare gesammelt und auf Eis aufbewahrt. Die Lagerung des Exsudats erfolgte bei -20 °C. Wegen der z.T. sehr geringen Exsudation bei einigen Anzuchtbedingungen wurden die Exsudate aller Pflanzen eines Anzuchtsschemas vereinigt.

2.4.3 Xylemwurzeldruckexsudat

Zur Gewinnung des Xyleminhalts wurde in Grundzügen nach der Methode von Schurr und Schulze (1995) vorgegangen. Dabei wurden die Pflanzen im Alter von 37 Tagen in einen Drucktopf überführt, an welchen ein Druck von 5 bar angelegt wurde. Nachdem der Spross unterhalb des ersten Nodiums durchtrennt worden war, wurden die ersten 50 µl des austretenden Exsudats verworfen, das nachfolgende Exsudat wurde mit Hilfe einer Glaskapillare gesammelt und auf Eis aufbewahrt. Die Proben wurden bei -20 °C gelagert.

2.5 Analytische Methoden

2.5.1 Extraktion und Bestimmung der Kohlenhydrate Glukose, Fruktose, Saccharose und Stärke

Extraktion der Kohlenhydrate

Die in flüssigem Stickstoff gelagerten Blattproben mit einem Durchmesser von 1,05 cm wurden lyophilisiert (Alpha 2-4, Christ, Osterode), und es wurde im Anschluss das Trockengewicht der Blattscheiben bestimmt. Die Blattscheiben wurden in einem 2 ml Reaktionsgefäß zu einem feinen Pulver gemahlen und mit 500 µl Extraktionspuffer (80 % Ethanol, 1 mM HEPES, pH 7,5) versetzt. Die Extraktion der löslichen Kohlenhydrate erfolgte 75 min im Dunkeln bei 70 °C und wurde in einem Thermomixer (Eppendorf, Hamburg) durchgeführt. Daraufhin wurde der Extraktionsansatz in einer Tischzentrifuge 15 min bei 17000 x g und RT zentrifugiert. Der Überstand wurde abgenommen und im Dunkeln bei -20 °C bis zur Analyse der Kohlenhydrate aufbewahrt.

Die Extraktion der Stärke wurde modifiziert nach Stitt et al. (1978) durchgeführt. Dazu wurde das Pellet mit 800 µl Ethanol gewaschen und zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen. Der gleiche Vorgang wurde zwei weitere Male mit je 1000 µl *Millipore*-Wasser wiederholt. Danach wurde das Reaktionsgefäß mit Pellet gewogen und dieses mit 1000 µl *Millipore*-Wasser versetzt. Die Reaktionsgefäße wurden gut verschlossen für 2-4 h in einen Trockenschrank mit 110 °C überführt. Durch diesen Vorgang fand eine Quellung der Stärkekörner statt. Die anschließende Hydrolyse der Stärke wurde 2 h bei 37 °C unter Schütteln im Thermomixer durchgeführt. Dazu wurden dem Reaktionsansatz 500 µl Natriumacetatpuffer pH 4,8, 10 µl Amyloglukosidase (100 mg / 10 ml) und 10 µl α -Amylase (50 mg / 5 ml) zugesetzt. Im Anschluss daran wurde wiederum das Gewicht der Ansätze in den Reaktionsgefäßen bestimmt. Aus der Differenz zu dem Gewicht der Ansätze vor der Quellung ließ sich das für die Berechnung des Stärkegehalts nötige Extraktionsvolumen ermitteln. Die Analyse des Stärkegehalts in Hexoseeinheiten erfolgte analog der Bestimmung der löslichen Kohlenhydrate. Es wurden hier ein Probenvolumen von 20 µl eingesetzt.

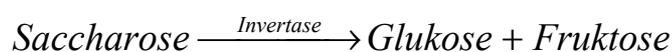
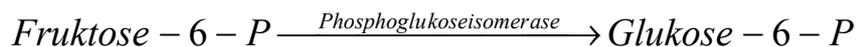
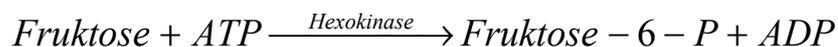
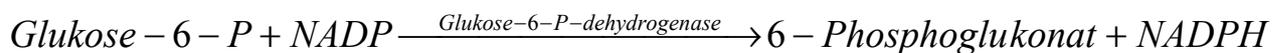
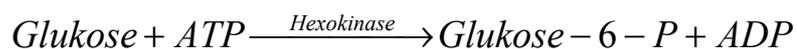
Bestimmung der löslichen Kohlenhydrate

Die Analyse des Gehaltes bzw. der Konzentration von Glukose, Fruktose, Saccharose und Stärke erfolgte enzymatisch nach einem gekoppelten optischen Test (Bergmeyer & Bernt 1974). Dabei wurde pro Mol Glukose ein Mol NADPH gebildet. Die Konzentration an NADPH wurde durch die Extinktionsänderung in der Küvette, welche bei 340 nm mit einem Spektralphotometer (Lambda 2, Perkin-Elmer, München-Neuried) gemessen wurde, bestimmt. Dieser photometrischen Bestimmung liegt das Lambert-Beer'sche Gesetz zu Grunde (Gl. 2.3), wobei die Schichtdicke $d=1$ [cm] und der Extinktionsfaktor bei 340 nm $\varepsilon=6,3$ [cm² μmol^{-1}] betrug.

$$E = \varepsilon \times c \times d$$

Gl. 2.3: Lambert-Beer'sches Gesetz zur Berechnung der Extinktion (E) aus dem Extinktionsfaktor (ε), der Konzentration (c) und der Schichtdicke (d).

Die im Reaktionsansatz ablaufenden chemischen Vorgänge sind durch die folgenden Reaktionsgleichungen dargestellt:



Es wurde der in Tabelle 2.3 dargestellte Reaktionsansatz zur Bestimmung von Glukose und Fruktose in einem Endvolumen von 1 ml in Halbmikroküvetten pipettiert. Nach Zugabe der Hexokinase wurde die Extinktion E_0 gemessen, welche das sich bereits im Extrakt befindliche NADPH wiedergibt. Zur Bestimmung der Glukose wurde Glukose-6-P-dehydrogenase zugegeben und 10 min im Dunkeln inkubiert. Danach wurde die Extinktion E_1 gemessen. Im Anschluss wurde das Enzym Phosphoglukoseisomerase dem Reaktionsansatz zugesetzt und es wurde 30 min im Dunkeln inkubiert. Schließlich wurde die Extinktion E_2 bestimmt. Aus der Differenz zwischen E_2 und E_1 ergibt sich die Extinktion, die der Fruktosekonzentration im Reaktionsansatz proportional ist, $E_1 - E_0$ liefert die Extinktion, aus der sich die Glukosekonzentration berechnen lässt.

Tab. 2.3: Reaktionsansatz zur Bestimmung der löslichen Kohlenhydrate. Das Endvolumen betrug 1 ml.

50 mM	Tricin-NaOH-Puffer, pH 8,0
5 mM	MgCl ₂
1 mM	ATP
0,5 mM	NADP
10 µl	Probe
0,7 U	Hexokinase
0,35 U	Glukose-6-P-dehydrogenase
17,5 U	Phosphoglukoseisomerase

Die Messung der Saccharosekonzentration setzte die enzymatische Spaltung von Saccharose in Glukose und Fruktose durch das Enzym Invertase voraus. Dazu wurde in Halbmikroküvetten der in Tabelle 2.4 dargestellte Reaktionsansatz in einem Endvolumen von 120 µl pipettiert. Der Ansatz wurde 30 min im Dunkeln inkubiert. Danach wurden Glukose und Fruktose nach dem Reaktionsansatz von Tabelle 2.3 bestimmt. Dabei war zu beachten, dass die Extinktionen von Glukose und Fruktose, die sich ursprünglich im Extrakt befanden, von den Extinktionen der Hexosen, die nach der Spaltung der Saccharose gemessen wurden, subtrahiert werden mussten.

Zur Messung der Konzentration von löslichen Kohlenhydraten in den Siebröhrenexsudaten wurden diese 1:50 verdünnt, und es wurden 10 µl als Probe eingesetzt.

Proben aus Xylemwurzeldruckexsudate wurden unverdünnt zur Messung eingesetzt. Das Probenvolumen betrug ebenfalls 10 µl.

Tab. 2.4: Reaktionsansatz zur Spaltung der Saccharose in Glukose und Fruktose. Das Endvolumen betrug 120 µl.

2 mM	MES-KOH-Puffer, pH 5,5
10 µl	Probe
5 U	Invertase

2.5.2 C/N-Analyse

Die C/N-Analyse von lyophilisierten Blattproben wurde im BITÖK in einem C/N-Analysator (CHN-O-Rapid, Elementar) durchgeführt. Dazu wurden die Proben fein gemahlen, in Zinnschiffchen eingewogen und im Analysator bei 950 °C in O₂-Atmosphäre verbrannt. Das entstandene Gasgemisch wurde anschließend bei 600 °C reduziert und durch Silicagelsäulen in CO₂, H₂O und N₂ getrennt. Die Konzentration der Gase wird durch einen Wärmeleitfähigkeitsdetektor bestimmt und das empfangene Signal mit dem entsprechenden Datensystem ausgewertet (Nachweisgrenzen: C: 28 µg, N: 10 µg). Als Kalibrierstandard wurde Acetanilid eingesetzt mit einem C-Gehalt von 71,09 % und einem N-Gehalt von 10,36 %.

2.5.3 Extraktion und Bestimmung von Chlorophyll

Die Bestimmung von Chlorophyll *a* und *b* wurde nach Porra et al. (1989) durchgeführt. Dazu wurden in flüssigem Stickstoff gelagerte Blattscheiben von 1,05 cm Durchmesser mit 995 µl *N,N*-Dimethylformamid versetzt. Die Extraktion des Chlorophylls erfolgte ÜN bei 4 °C (Moran & Porath 1980). Danach wurden die Proben 10 min bei 17000 x g und RT zentrifugiert und aus dem Überstand wurde die Extinktion (E) des Chlorophylls bei 646,8 nm, 663,8 nm und 750,0 nm in einem Spektralphotometer (Lambda 2, Perkin-Elmer, München-Neuried) bestimmt. Die Chlorophyllkonzentration in den Proben wurde nach folgenden Gleichungen berechnet (Porra et al. 1989), wobei die durch Lichtstreuung bedingte Extinktion bei 750,0 nm jeweils subtrahiert wurde:

$$\text{Chl } a = 12,00 \times (E_{663,8} - E_{750,0}) - 3,11 \times (E_{646,8} - E_{750,0})$$

$$\text{Chl } b = 20,78 \times (E_{646,8} - E_{750,0}) - 4,88 \times (E_{663,8} - E_{750,0})$$

$$\text{Chl } a+b = 17,67 \times (E_{646,8} - E_{750,0}) + 7,12 \times (E_{663,8} - E_{750,0})$$

2.5.4 Bestimmung der Nitratreduktaseaktivität

Die Messung der Aktivität des Enzyms Nitratreduktase (NRA) erfolgte *in vivo* nach Gebauer et al. (1984) und Gebauer (1990). Nitratreduktase reduziert Nitrat zu Nitrit, welches durch die Bildung eines roten Azofarbstoffs quantifiziert werden kann. Dazu wurden Proben von Blatt- und Wurzelgewebe in der Mitte der Licht- und Dunkelphase genommen. Die Proben wurden für 2 h in Probenpuffer inkubiert, welcher sich in dunklen Glasgefäßen in einer evakuierbaren Apparatur befand. Dem Reaktionsansatz war Luftsauerstoff zu entziehen (Hageman et al. 1980), da die sauerstoffabhängige Nitritreduktase das Nitrit sofort zu Ammonium weiter reduzieren würde. Der Probenpuffer muss auf die zu untersuchende Pflanzenart angepasst werden (Gebauer et al. 1984). Für *Ricinus communis* L. wurde Probenpuffer mit der in Tabelle 2.5 wiedergegebenen Zusammensetzung verwendet.

Tab. 2.5: Zusammensetzung des für *Ricinus communis* L. verwendeten Probenpuffers, in welchem die Proben zur Messung der NRA *in vivo* inkubiert wurden.

0,25 M	KH ₂ PO ₄
0,08 M	KNO ₃
1,5 % (v / v)	1-Propanol
pH 7,5 mit KOH	

Es wurden 3 Blattscheiben mit je 0,75 cm Durchmesser bzw. eine Wurzelprobe mit ca. 5 cm Länge in je 3 ml Probenpuffer überführt. Die Apparatur wurde evakuiert und mit Stickstoff belüftet. Dieser Vorgang wurde wiederholt und die Apparatur wurde im Dunkeln 2 h im Wasserbad bei 30 °C unter Schütteln inkubiert. Danach erfolgte die Analyse des gebildeten Nitrits durch Reaktion mit *N*-(1-Naphthyl)-ethylendiamin-dihydrochlorid und *N*-Sulfanilamid zu einem roten Azofarbstoff und die Messung der Extinktion des Farbstoffs bei 540 nm.

Es wurden dazu in Halbmikroküvetten 150 µl *N*-(1-Naphthyl)-ethylendiamin-dihydrochlorid-Lösung (0,1% in H₂O), 150 µl *N*-Sulfanilamid-Lösung (5% in 3 M HCl), 100 µl Probe (Blattprobenpuffer) bzw. 500 µl Probe (Wurzelprobenpuffer) und ad 1000 µl *Millipore*-Wasser gegeben. Die Bestimmung des Hintergrunds erfolgte in der Zusammensetzung des Testansatzes ohne *N*-(1-Naphthyl)-ethylendiamin-dihydrochlorid-Lösung. Hier wurde das entsprechende Volumen an *Millipore*-Wasser zugesetzt. Die Messung des quantitativ gebildeten Azofarbstoffes wurde nach einer Inkubationszeit von 30 min bei RT an einem Spektralphotometer (Ultraspec III, Pharmacia, Freiburg) bei 540 nm durchgeführt.

Die Gewebeproben wurden im Anschluss bei 70 °C getrocknet und es wurde das Trockengewicht bestimmt.

2.5.5 Extraktion und Bestimmung von Nitrat

Die Extraktion von Nitrat aus Blatt- und Wurzelgewebeproben (Blattscheibe mit 1,05 cm Durchmesser, Wurzelprobe von ca. 3 cm Länge) erfolgte nach Gebauer et al. (1984). Dazu wurden die Proben bei 70 °C getrocknet und es wurde das Trockengewicht bestimmt. Die Proben wurden in 2 ml Reaktionsgefäßen zu einem feinen Pulver gemahlen und mit 500 µl *Millipore*-Wasser versetzt. Das Nitrat wurde aus den Proben bei 95 °C für 10 min im Thermomixer (Eppendorf, Hamburg) unter Schütteln extrahiert. Danach wurden die Proben 15 min bei 17000 x g und RT zentrifugiert und der Überstand abgenommen. Die gesamte Extraktion wurde nochmals wiederholt. Die Überstände wurden vereinigt und bei -20 °C aufbewahrt.

Die Bestimmung der Konzentration an Nitrat in den Blatt- und Wurzelgewebeproben, sowie in den Siebröhren- und Xylemwurzeldruckexsudaten erfolgte in geeigneter Verdünnung nach Thayer und Huffaker (1980) durch Anionenaustausch-HPLC. Als flüssige Phase wurde 45 mM KH₂PO₄ (pH 2,7 mit 7 % (v / v) H₂SO₄) mit einer Fließgeschwindigkeit von 2 ml min⁻¹ verwendet. Die stationäre Phase basierte auf Kieselgel (Trennsäule Typ 302.J.C., Vydag, USA). Die Detektion erfolgte bei 210 nm mittels UV-Detektor (HPLC-Detektor 432, Biotek, Neufahrn). Das empfangene Signal wurde mit dem Datensystem D450 (Biotek, Neufahrn) ausgewertet.

2.5.6 Extraktion und Bestimmung der Aminosäuren

Die Blattgewebeprobe (Durchmesser 1,05 cm) wurde nach der Bestimmung des Frischgewichts in 400 µl 80 % (v / v) Aceton in einem Mörser fein zerrieben. Der gesamte Reaktionsansatz wurde in ein Reaktionsgefäß überführt. Der Rückstand im Mörser wurde mit weiteren 400 µl Aceton versetzt. Diese Suspension wurde mit dem Reaktionsansatz vereinigt und die Reaktionsansätze wurden für 30 min auf Eis belassen. Danach wurden die Reaktionsansätze für 15 min bei 17000 x g und 4 °C zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein neues Reaktionsgefäß überführt. Mit dem Rückstand wurde eine nochmalige Extraktion mit 400 µl Aceton durchgeführt. Die beiden Überstände wurden vereinigt und mittels eines Luftstroms auf ca. 10 % des Volumens eingeeengt.

Zur Bestimmung der Aminosäurekonzentration mittels HPLC nach Schurr und Gebauer (1989) wurden die eingeeengten Gewebeextrakte bzw. die Siebröhrenexsudate in geeigneter Verdünnung eingesetzt. Dazu wurden die Aminosäuren in den Proben mit *o*-Phthaldialdehyd (OPA) versetzt, was zur Bildung eines fluoreszierenden Amids mit der primären Aminogruppe der Aminosäure führte. Mit einem Fluorometer (SFM 25, Biotek, Neufahrn) konnte das Signal des Derivats bei einer Excitationswellenlänge von 340 nm und der Emissionswellenlänge von 455 nm detektiert werden. Zur Derivatisierung wurden die folgenden Lösungen im Verhältnis A:B = 50:3 eingesetzt:

A: 99 g Borsäure, 52 g KOH in 1 l H₂O pH 10,5 + 2 ml Brij 35

B: 800 mg *o*-Phthaldialdehyd in 10 ml Ethanol + 2 ml Mercaptoethanol

Es wurden je 40 µl der Probe mit 80 µl Derivatisierungsreagenz versetzt und 2 min bei RT inkubiert. Durch einen automatischen Probengeber (Autosampler 460, Biotek, Neufahrn) wurden 40 µl der derivatisierten Probe auf die Trennsäule (Sperisorb ODS II, 5 µm, 250*4,6 mm, Muder und Wochele, Berlin) aufgetragen und die empfangenen Signale mit dem Datensystem D450 (Biotek, Neufahrn) ausgewertet (Nachweisgrenze: 0,5-1 µM).

Als flüssige Phase wurde bei einem Fluss von 1 ml min⁻¹ ein Gradient der Lösungen C und D eingesetzt, dessen Zusammensetzung Tabelle 2.6 wiedergibt.

C: 50 mM NaOAc (pH 6,8 mit H₃PO₄), 1,5% (v / v) Tetrahydrofuran (THF)

D: 97 % (v / v) MeOH, 3 % (v / v) THF

Tab. 2.6: Zusammensetzung des Gradienten, der zur Analyse der Aminosäurekonzentration eingesetzt wurde.

Zeitlicher Verlauf	Anteil an Lösung D
0 – 12,5 min	0 auf 15 % D (linear)
12,5 – 65 min	15 % auf 50 % D (linear)
65 – 67 min	100 % D
67 – 69 min	100 % auf 10 % D (linear)
69 – 70 min	10 % D

2.5.7 Extraktion und Bestimmung der Konzentration an löslichen Proteinen

Nach der Bestimmung des Frischgewichts wurde eine Blattscheibe mit dem Durchmesser von 1,05 cm zur Extraktion der löslichen Proteine mit 200 µl Extraktionspuffer (Tab. 2.7 und 2.8) in einem mit flüssigem Stickstoff gekühlten Mörser versetzt und zu einem feinen Pulver zerrieben. Die Proben wurden in Reaktionsgefäße überführt und auf Eis aufbewahrt. Im Anschluss wurden die Proben ca. 1 min im Vortex geschüttelt und danach 5 min bei 17000 x g und 4 °C zentrifugiert.

Aus dem Überstand wurde die Konzentration an löslichen Proteinen mittels des Assays von Biorad (München) nach Bradford (1976) durchgeführt. Dazu wurden die Proben geeignet in 800 µl *Millipore*-Wasser verdünnt und in Halbmikroküvetten mit 200 µl *Biorad*-Reagenz versetzt. Nach einer Inkubationszeit von 15 min bei RT wurde die Proteinkonzentration in einem Spektralphotometer (Ultraspec III, Pharmacia, Freiburg) bei 595 nm gemessen.

Tab. 2.7: SDS-Kathodenpuffer als Grundlage des Proteinextraktionspuffers (Tab. 2.8).

100 mM	Tris
100 mM	Tricin
0,1 % (w / v)	SDS
pH 8,25 mit 100 mM HCl	

Tab. 2.8: Puffer zur Extraktion löslicher Proteine aus Blattgewebe.

10 ml	SDS-Kathodenpuffer (Tab. 2.7)
6,5 mM	DTT
0,5 mM	6-Amino-capronsäure
0,6 mM	PMSF
0,6 mM	Benzamidin
0,5 mM	EDTA
0,5 mM	EGTA
ad 20 ml	Aqua bidest.

2.5.8 Elementanalyse

Die Analyse der Elemente Ca, K, Mg, P und S im lyophilisierten Blattgewebe wurde im BITÖK durchgeführt. Dazu wurden die fein gemahlene Proben mit verd. HNO₃ im Hochdruckverascher (HPA-S, Paar) aufgeschlossen und der Gehalt an Elementen im Aufschluss durch das ICP-AES-Verfahren (XMP, GBC) bestimmt. (Nachweisgrenzen: Ca: 0,21 mg ml⁻¹, K: 0,69 mg ml⁻¹, Mg: 0,31 mg ml⁻¹, P: 0,67 mg ml⁻¹, S: 0,14 mg ml⁻¹).

2.6 Gaswechselfmessungen

Die Messung der Nettophotosyntheserate (NP-Rate), der Respirationsrate und der Transpirationsrate wurden mit dem tragbaren Photosynthese-System HCM-1000 (Walz, Effeltrich) an intakten Blättern durchgeführt. Die NP- und die Transpirationsrate wurden in der Lichtperiode, die Respirationsrate in der Dunkelperiode gemessen. Dazu wurde ein offenes Gas-Austausch-System verwendet.

Die Blätter wurden in eine Küvette mit definierter Fläche eingespannt. In dieser Küvette wurden die ein- und austretenden Luftströme bestimmt und die darin enthaltenen Anteile von Wasserdampf bzw. Kohlendioxid gemessen.

Die Gleichungen, nach denen die NP- und die Respirationsrate bzw. die Transpirationsrate berechnet wurden (von Caemmerer & Farquhar 1981), sind in Gl. 2.4 und 2.5

wiedergegeben. Dabei bezeichnet E die Transpirationsrate, A die NP-Rate, u_e den Luftfluss in die Küvette, w den Anteil an Wasserdampf in der Luft (e = in die Küvette, o = aus der Küvette), c den Anteil an CO_2 in der Luft (e = in die Küvette, o = aus der Küvette) und s die Blattfläche.

$$E = \frac{u_e}{s} \times \frac{(w_o - w_e)}{(1 - w_o)}$$

Gl. 2.4: Berechnung der Transpirationsrate (E) [$\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$].

$$A = \frac{u_e}{s} \times \left(\frac{1 - w_e}{1 - w_o} \right) \times (c_e - c_o) - E \times c_e$$

Gl. 2.5: Berechnung der NP-Rate (A) im Licht, bzw. Respirationsrate im Dunkel [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$].

2.7 Mikroskopische Methode zur Bestimmung der Phloemfläche

Um die Fläche des Phloemgewebes der Petiole von Blatt # 2 zu bestimmen wurden aus der Mitte der Petiole mit einem Gefriermikrotom (2800 Frigocut N, Reichert-Jung, Nussloch) mikroskopische Schnitte angefertigt. Diese wurden durch das Lichtmikroskop (BH-2, Olympus, Hamburg) visualisiert und durch das Videodokumentationssystem (RS-Photometrics, Visitron-Systems) dokumentiert und mit einer Bildbearbeitungssoftware (Image-Pro-Plus, Pharmacia, Freiburg) ausgewertet. Es wurden weiterhin Schnitte angefertigt, die mit Anilinblau gefärbt wurden (Milde 1996), um die Fläche der Siebplatten in den Siebröhren zu bestimmen. Diese Schnitte wurden durch ein Fluoreszenzmikroskop (Zeiss, Oberkochen) visualisiert und ebenfalls dokumentiert und analysiert. Die Fläche des Phloems der gesamten Petiole wurde nach der Vermessung der Fläche des Phloemgewebes eines Leitbündels berechnet.

3 Ergebnisse

Dieses Projekt wurde durchgeführt im Rahmen des DFG-Schwerpunktprogramms „Stoffwechsel und Wachstum der Pflanzen unter erhöhter CO₂-Konzentration“. Dabei lag eine besondere Betonung auf der Fragestellung, wie die Pflanzen individuell auf das erhöhte Angebot von Kohlendioxid in der umgebenden Atmosphäre unter verschiedenen Wachstumsbedingungen reagieren. Seit Längerem ist bekannt, dass Pflanzen, welche höheren CO₂-Konzentrationen ausgesetzt sind, eine gesteigerte und beschleunigte Produktion von Kohlenhydraten und somit von Gesamtbiomasse aufweisen (Wong 1990, Lawlor & Mitchell 1991, Stitt 1991, Grimmer et al. 1999) als Pflanzen, die unter „normalen“ CO₂-Konzentrationen (350 bis 370 ppm [CO₂]) wachsen. Außerdem hatte sich während der Durchführung des Schwerpunktprogramms herausgestellt, dass der Stickstoffversorgung der Pflanzen bei erhöhten CO₂-Konzentrationen eine besondere Bedeutung beizumessen ist (Stitt & Krapp 1999). So resultieren die Ansätze dieser Arbeit aus den o.g. Erkenntnissen. Die Pflanzen wurden sowohl in 4 l als auch in 10 l Töpfen angezogen und mit Nährlösung gegossen, die entweder 1, 3, 6, oder 12 mM Ammoniumnitrat enthielt. Es wurden Ansätze bei 350 und bei 700 ppm [CO₂] in der die Pflanzen umgebenden Atmosphäre durchgeführt. Die im Folgenden dargestellten Ergebnisse beziehen sich zum einen auf das Wachstum und zum anderen auf den Kohlenstoff- und Stickstoffstoffwechsel der Pflanzen bei normalen und erhöhten CO₂-Konzentrationen.

3.1 Wachstumsverhalten der Pflanzen bei 350 und 700 ppm [CO₂]

Die Entwicklung der Pflanzen verlief bis zum Alter von 12 Tagen im Gewächshaus. Danach wurden sie in Töpfe gepflanzt, in die Klimakammern gebracht und von diesem Zeitpunkt an mit Nährlösung gewässert. Alle Aufzeichnungen von Wachstumsparametern erfolgten ab diesem Datum.

3.1.1 Entwicklung der Zunahme an Biomasse während der Wachstumsperiode

Die Dauer der Wachstumsperiode umfasste 37 Tage und begann mit der Keimung von Samen. Sie endete mit Totalernte zu dem Zeitpunkt, als Blatt #2 ein Alter von 17 Tagen aufwies.

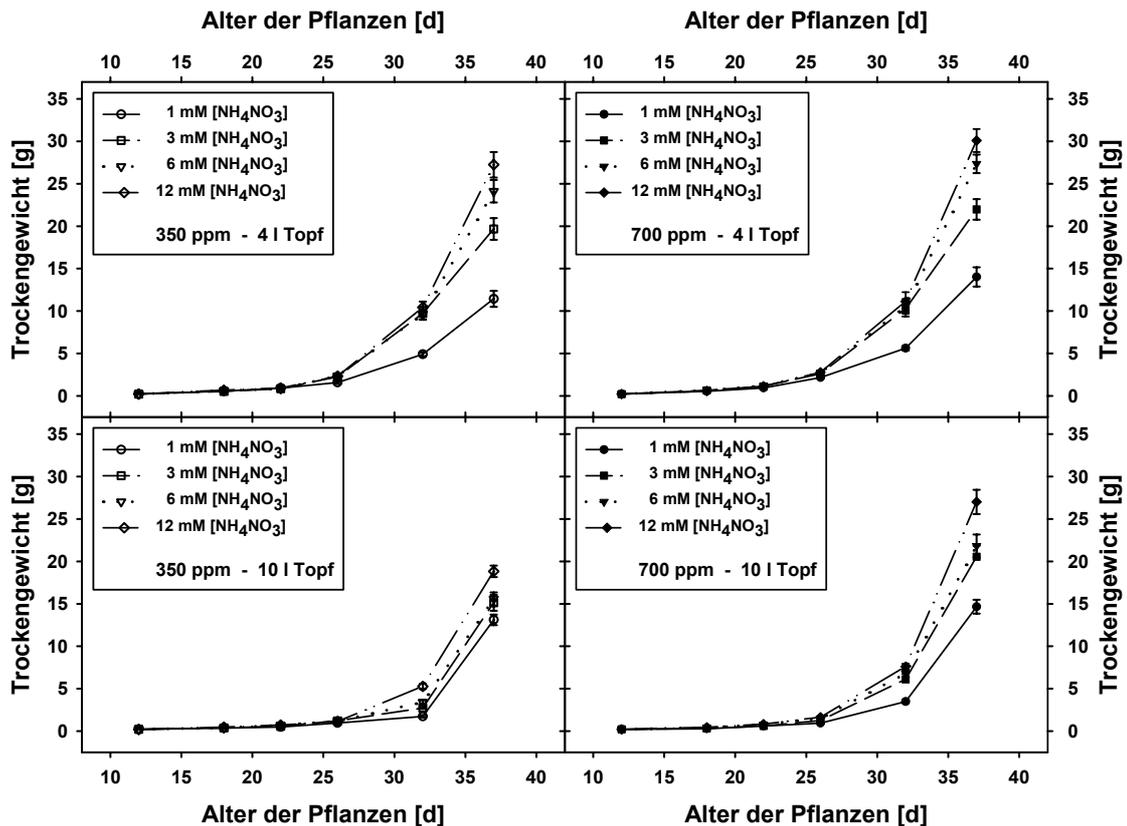


Abb. 3.1: Entwicklung der Gesamtbiomasse von 37 Tage alten Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=4±STABW

Aus Abbildung 3.1 geht hervor, dass bei erhöhter CO₂-Konzentration in der Atmosphäre mehr Biomasse gebildet wurde als bei normaler CO₂-Konzentration. Die Unterschiede waren zu Beginn und in der Mitte der Wachstumsperiode nicht sehr ausgeprägt, wurden aber zum Ende hin besonders deutlich, vor allem bei Pflanzen, die in 10 l Töpfen angezogen wurden. Generell war bei allen Wachstumsbedingungen festzustellen, dass Pflanzen, welchen eine höhere Stickstoffkonzentration in der Nährlösung zur Verfügung stand, auch mehr Biomasse entwickelten (Wong 1990). Pflanzen, die in 4 l Töpfen gewachsen waren, bildeten im letzten Drittel der Wachstumsperiode mehr Biomasse als solche, die einen größeren Wurzelraum

zur Verfügung hatten. Mit zunehmender Ammoniumnitratkonzentration in der Nährlösung wurde im Alter von 37 Tagen bei Pflanzen in 4 l Töpfen ein geringerer Unterschied in der Biomasseproduktion zwischen beiden CO₂-Konzentrationen festgestellt als bei Pflanzen in 10 l Töpfen (Tab 3.1).

Tab. 3.1: Gesamtbiomasse [g] und Differenz der Biomassen zwischen 350 und 700 ppm [CO₂] [%] von 37 Tage alten Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=4±STABW

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l			Topfvolumen 10 l		
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	Differenz [%]	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	Differenz [%]
1 mM	11,44 ± 0,94	14,02 ± 1,14	23	13,11 ± 0,62	14,66 ± 0,81	12
3 mM	19,67 ± 1,28	21,97 ± 1,21	12	15,13 ± 0,94	20,55 ± 1,29	36
6 mM	24,12 ± 1,32	27,34 ± 1,09	13	15,57 ± 0,78	21,82 ± 1,35	40
12 mM	27,24 ± 1,51	30,69 ± 1,35	10	18,83 ± 0,68	27,01 ± 1,43	43

3.1.1.1 Wurzel-Trockengewicht

Die Entwicklung der Wurzelbiomasse ist sehr stark abhängig von der Topfgröße und somit dem den Wurzeln zur Verfügung stehenden Raum. Es war jedoch festzustellen, dass Pflanzen in kleineren Töpfen v.a. bei normaler CO₂-Konzentration eine größere Wurzelbiomasse entwickelten als Pflanzen in 10 l Töpfen. Die Werte des Wurzeltrockengewichts von 37 Tage alten Pflanzen lagen bei 700 ppm [CO₂] bei beiden Topfgrößen zumeist über den Werten von Pflanzen, die bei normaler CO₂-Konzentration gewachsen waren (Abb. 3.2 und Tab. 3.2).

Eine Abhängigkeit von der Stickstoffernährung auf die Entwicklung der Wurzelbiomasse von Pflanzen bei 350 und 700 ppm [CO₂] war nur bei Pflanzen zu erkennen, die in 4 l Töpfen kultiviert wurden. Hier nahm die Differenz im Trockengewicht zwischen beiden CO₂-Konzentrationen mit zunehmender Ammoniumnitratkonzentration in der Nährlösung ab. Bei Pflanzen, die in 10 l Töpfen gewachsen waren, war keinerlei Tendenz festzustellen (Tab. 3.2).

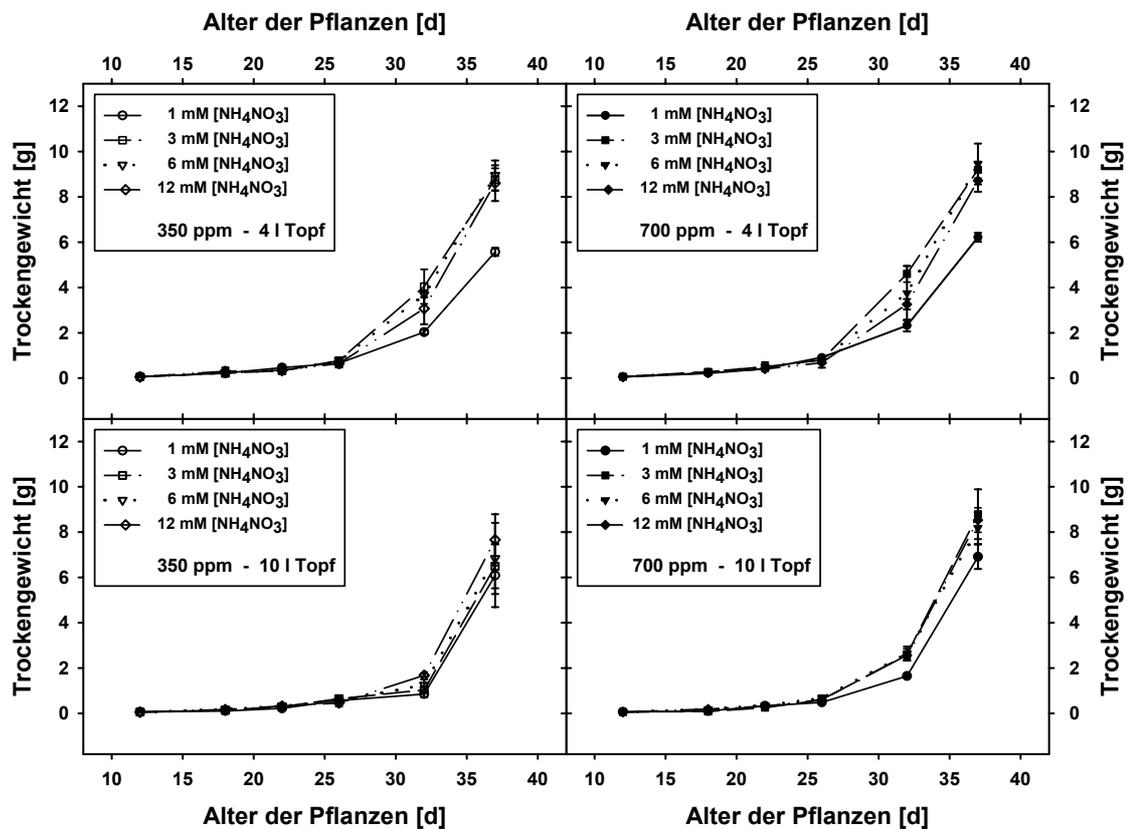


Abb. 3.2: Entwicklung der Wurzelbiomasse von 37 Tage alten Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=4±STABW

Tab. 3.2: Wurzelbiomasse [g] und Differenz der Biomassen zwischen 350 und 700 ppm [CO₂] [%] von 37 Tage alten Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=4±STABW

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l			Topfvolumen 10 l		
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	Differenz [%]	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	Differenz [%]
1 mM	5,57 ± 0,18	6,22 ± 0,20	12	6,09 ± 1,40	6,91 ± 0,54	13
3 mM	8,76 ± 0,50	9,20 ± 0,37	5	6,69 ± 0,97	8,79 ± 1,10	31
6 mM	8,95 ± 0,66	9,45 ± 0,90	6	6,84 ± 1,57	8,18 ± 0,70	20
12 mM	8,61 ± 0,79	8,72 ± 0,49	2	7,66 ± 1,13	8,53 ± 0,54	11

3.1.1.2 Spross-Trockengewicht

Das Sprosswachstum zeigte bei allen Anzuchtbedingungen eine deutliche Abhängigkeit von der Stickstoffkonzentration in der Nährlösung (Abb. 3.3).

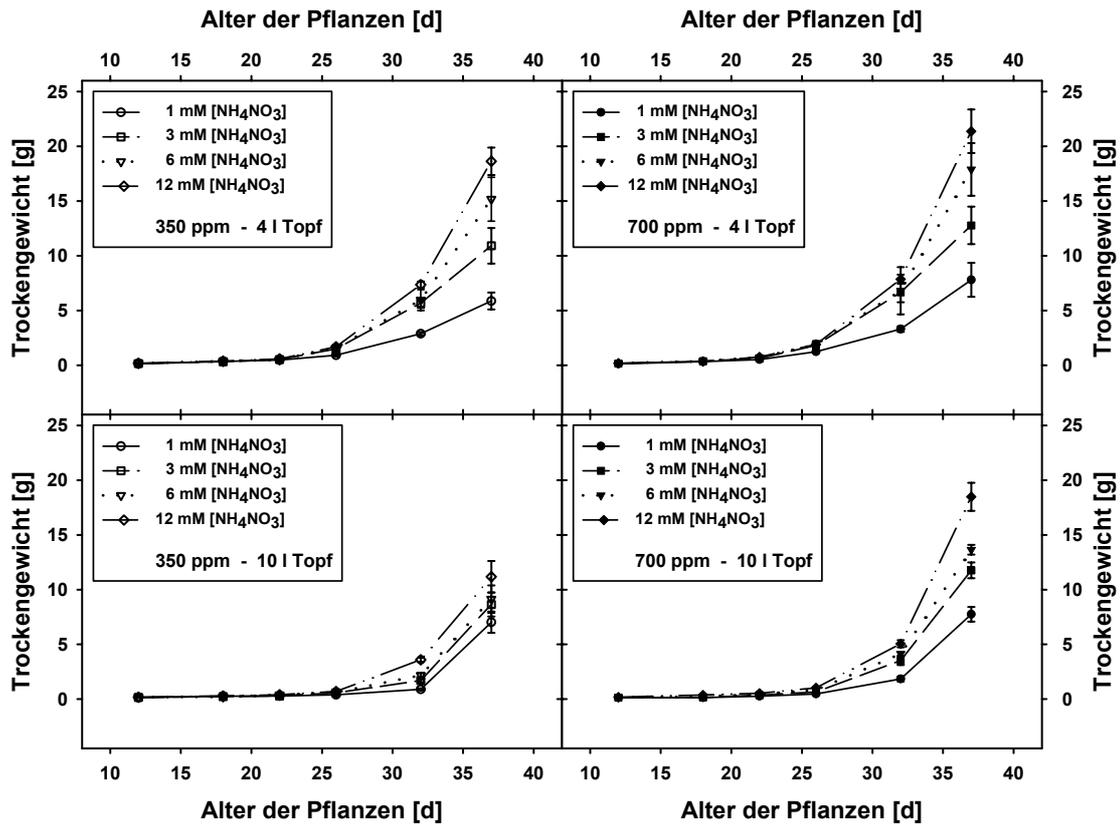


Abb. 3.3: Entwicklung der Sprossbiomasse von 37 Tage alten Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=4±STABW

Die Pflanzen entwickelten mit zunehmender Stickstoffkonzentration ein höheres Maß an Sprossbiomasse. Die Unterschiede waren innerhalb eines Anzuchtsschemas (Topfgröße, CO₂-Konzentration) bei Pflanzen in 4 l Töpfen deutlicher ausgeprägt als bei Pflanzen, welche in 10 l Töpfen gewachsen waren. Ferner gilt, dass Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] mehr Sprossbiomasse bildeten als Pflanzen bei 350 ppm [CO₂] (Tab. 3.3).

Die Differenz in der Biomasseproduktion des Sprosses zwischen 37 Tage alten Pflanzen, die bei normaler und erhöhter CO₂-Konzentration gewachsen waren, zeigte wiederum eine Abhängigkeit von der Stickstoffernährung und von der Topfgröße. Bei Pflanzen in kleineren Töpfen wurden die Unterschiede im Biomassezuwachs bei 700 ppm [CO₂] mit steigender Ammoniumnitratkonzentration in der Nährlösung geringer, bei Pflanzen in 10 l Töpfen größer (Tab. 3.3).

Tab. 3.3: Sprossbiomasse [g] und Differenz der Biomassen zwischen 350 und 700 ppm [CO₂] [%] von 37 Tage alten Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=4±STABW

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l			Topfvolumen 10 l		
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	Differenz [%]	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	Differenz [%]
1 mM	5,87 ± 0,77	7,80 ± 1,55	33	7,02 ± 0,97	7,75 ± 0,67	10
3 mM	10,91 ± 1,63	12,77 ± 1,71	17	8,64 ± 1,10	11,76 ± 0,72	36
6 mM	15,17 ± 2,01	17,89 ± 2,41	18	9,13 ± 1,25	13,64 ± 0,44	38
12 mM	18,63 ± 1,25	21,37 ± 1,99	15	11,17 ± 1,44	18,48 ± 1,28	65

3.1.1.3 Wurzel-Spross-Verhältnis

Das Wurzel-Spross-Verhältnis der untersuchten Pflanzen zeigte eine deutliche Abhängigkeit von der Stickstoffversorgung (Abb. 3.4). Pflanzen mit geringerer Stickstoffversorgung entwickelten mehr Wurzelbiomasse im Vergleich zur Sprossbiomasse, wiesen demnach ein höheres Wurzel-Spross-Verhältnis auf (Brouwer 1962, Rufty et al. 1990, Fetene et al. 1993, Peuke et al. 1994). Das bedeutet für die hier dargestellten Anzuchten, dass der Wert für das Wurzel-Spross-Verhältnis von 1 mM NH₄NO₃ bis hin zu 12 mM NH₄NO₃ abnahm. Die Entwicklung des Wurzel-Spross-Verhältnisses zeigt jedoch, dass die Tendenz zu einem höheren Wurzel-Spross-Verhältnis bei niedrigerer Stickstoffernährung frühestens ab einem Pflanzenalter von 22 Tagen erkennbar war (Abb. 3.4). Während dieser Entwicklung konnte keine klare Abhängigkeit des Wurzel-Spross-Verhältnisses von der CO₂-Konzentration festgestellt werden.

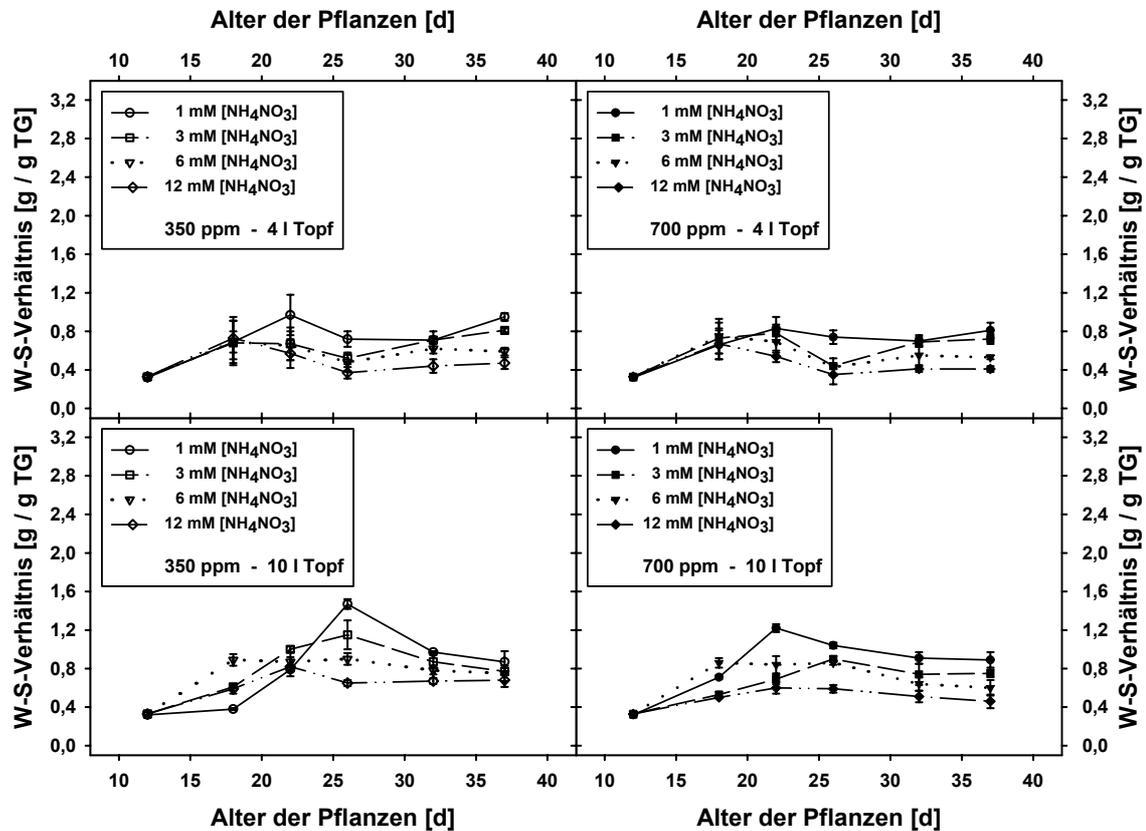


Abb. 3.4: Entwicklung des Wurzel-Spross-Verhältnisses (W-S-Verhältnis) [g / g TG] von 37 Tage alten Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=4±STABW

In Tabelle 3.4 sind die Wurzel-Spross-Verhältnisse von 37 Tage alten Pflanzen der verschiedenen Anzuchtsschemata zusammengefasst. Hier wird deutlich, dass das Wurzel-Spross-Verhältnis von Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] signifikant unter dem von Pflanzen bei 350 ppm [CO₂] lag. Bei niedrigeren Stickstoffkonzentrationen waren die Unterschiede zwischen Pflanzen, die in den größeren bzw. kleineren Töpfen kultiviert wurden, nicht sehr deutlich. Bei 6 mM und 12 mM NH₄NO₃ in der Nährlösung bildeten jedoch die Pflanzen in den 4 l Töpfen mehr Sprossbiomasse als Pflanzen in 10 l Töpfen, wodurch – bei etwa vergleichbarer Wurzelbiomasse – das niedrigere Wurzel-Spross-Verhältnis resultierte.

Tab. 3.4: Wurzel-Spross-Verhältnis [g / g TG] von 37 Tage alten Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. Zur Verdeutlichung der Unterschiede zwischen 350 und 700 ppm [CO₂] sind die P-Werte der t-Tests angegeben. n=4±STABW

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l			Topfvolumen 10 l		
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	P	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	P
1 mM	0,95 ± 0,04	0,80 ± 0,03	0,004	0,87 ± 0,03	0,89 ± 0,08	0,073
3 mM	0,80 ± 0,02	0,72 ± 0,02	0,006	0,77 ± 0,03	0,75 ± 0,02	0,050
6 mM	0,59 ± 0,04	0,53 ± 0,02	0,007	0,75 ± 0,02	0,60 ± 0,03	0,002
12 mM	0,46 ± 0,03	0,41 ± 0,01	0,017	0,68 ± 0,03	0,46 ± 0,05	0,006

3.1.1.4 Biomasse der Blätter und des Stängels zum Erntezeitpunkt

In Abbildung 3.5 ist ein genauer Überblick über die Biomassen der Blätter ## 2 bis 4 und des Stängels der Pflanzen bei den verschiedenen Anzuchtbedingungen gegeben. Zum Trockengewicht des Stängels wurden die Biomassen der Primärblätter bzw. des Blattes # 5 hinzugerechnet.

Es ist ersichtlich, dass mit zunehmender Stickstoffversorgung auch mehr Biomasse in den einzelnen Sprossorganen gebildet wurde. Dabei fällt auf, dass das Trockengewicht der Blätter und des Stängels von Pflanzen in den 4 l Töpfen v.a. ab einer Konzentration von 3 mM NH₄NO₃ höher war als das der Pflanzen in den 10 l Töpfen. Bei den Blättern von Pflanzen in 4 l Töpfen waren die Unterschiede zwischen den beiden CO₂-Konzentrationen nicht so stark ausgeprägt wie bei Pflanzen in 10 l Töpfen. Bei den Letzteren ist festzustellen, dass im Besonderen bei 6 und 12 mM Ammoniumnitrat in der Nährlösung die Biomasseentwicklung bei 700 ppm [CO₂] zumeist die bei 350 ppm [CO₂] überstieg. Sehr deutlich sind die Unterschiede im Stängeltrockengewicht zwischen normaler und erhöhter CO₂-Konzentration v.a. bei höherer Stickstoffernährung zu erkennen. Hier zeigte sich, dass speziell bei Pflanzen, die in 10 l Töpfen kultiviert wurden, der Stängel bei 700 ppm [CO₂]

wesentlich mehr Biomasse aufwies als bei Pflanzen, die bei 350 ppm [CO₂] gewachsen waren.

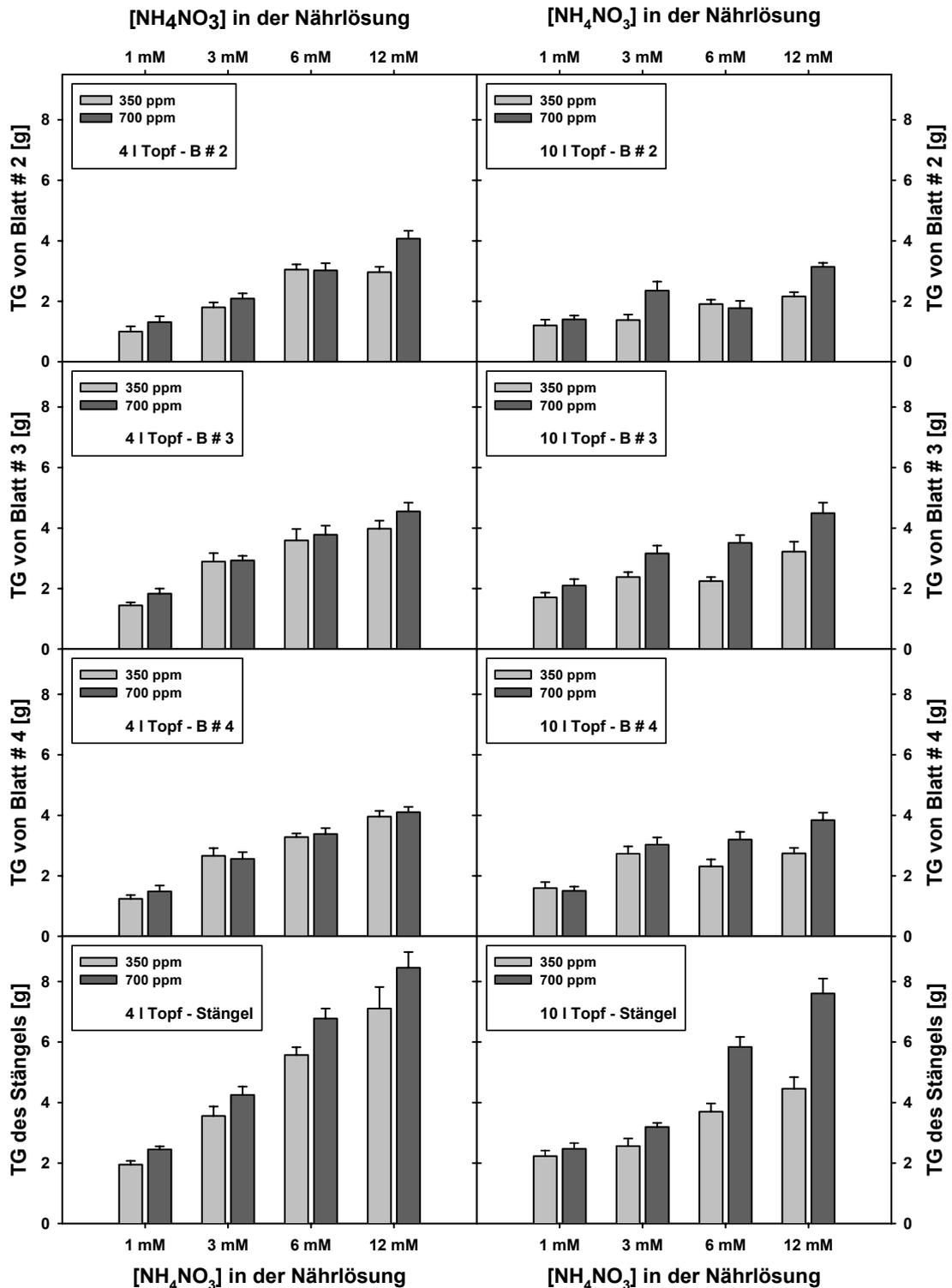


Abb. 3.5: Trockengewicht [g] von Blatt # 2 (B # 2), Blatt # 3 (B # 3), Blatt # 4 (B # 4) und des Stängels von 37 Tage alten Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=4±STABW

3.1.1.5 Relative Wuchsraten (RGR)

Relative Wuchsraten (*relative growth rates* – RGR) sind ein Maß für die Geschwindigkeit der Biomasseproduktion von Pflanzen. Sie berechnen sich aus dem Zuwachs an Biomasse während eines Zeitraums bezogen auf das gesamte Trockengewicht. In Abbildung 3.6 sind die relativen Wuchsraten der gesamten Pflanzen dargestellt. Die Werte beginnen mit der Klimakammerphase, d.h. mit der unterschiedlichen Behandlung der Pflanzen bezüglich Nährlösung, Topfgröße und CO₂-Konzentration. Der erste Wert repräsentiert somit die RGR von der Keimung der Samen bis zum Eintopfen der Keimlinge.

Beim Vergleich der RGR aller Wachstumsbedingungen ergab sich, dass die Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] im ersten Drittel der Klimakammerphase eine höhere Wachstumsrate aufwiesen als Pflanzen bei 350 ppm [CO₂] (Grimmer 1999). Pflanzen in 10 l Töpfen zeigten bei einem Alter von 18 Tagen stets eine niedrigere RGR als Pflanzen in 4 l Töpfen, zum Ende der Wachstumsperiode hin kehrte sich diese Beziehung jedoch um. Bei den Anzuchten mit 1 mM NH₄NO₃ in der Nährlösung war festzustellen, dass der Verlauf der RGR zwischen 350 und 700 ppm [CO₂] annähernd gleich war, wobei eine zeitliche Verschiebung zu Gunsten der Pflanzen bei erhöhter CO₂-Konzentration auftrat. Innerhalb einer Topfgröße variierte das Muster der RGR zwischen 3 und 12 mM NH₄NO₃ nicht wesentlich, zu 1 mM NH₄NO₃ waren jedoch v.a. bei Pflanzen in 4 l Töpfen deutliche Unterschiede zu bemerken, dahingehend, dass mit abnehmender Stickstoffversorgung zeitliche Verzögerungen in der Entwicklung der RGR erkannt werden konnten.

RGR der Gesamtbiomasse

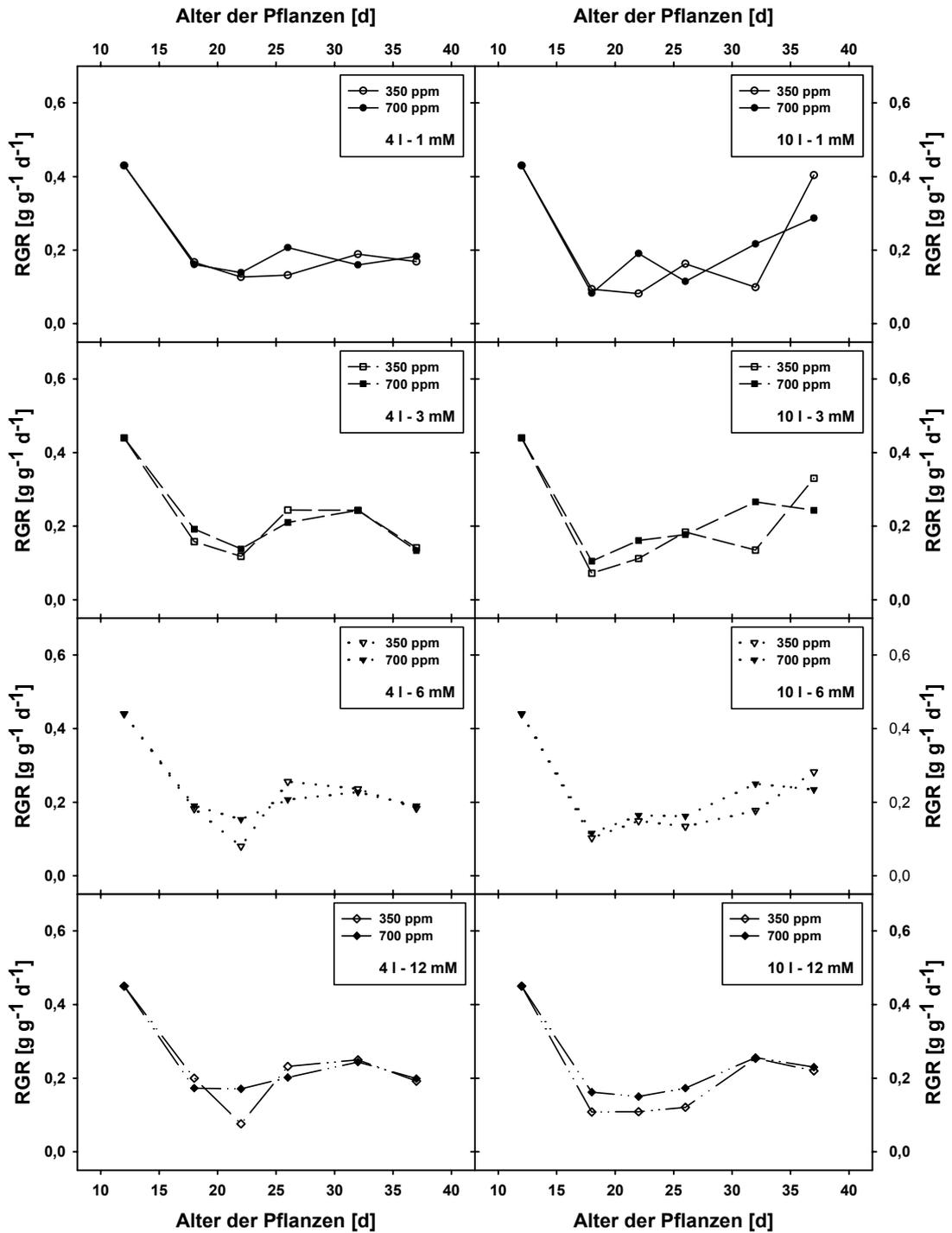


Abb. 3.6: RGR [g g⁻¹ d⁻¹] der Gesamtbiomasse von Rizinuspflanzen während der Anzucht in Klimakammern bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die angegebenen Konzentrationen repräsentieren die jeweilige Konzentration von NH₄NO₃ in der Nährlösung. Der erste Wert gibt die RGR von der Keimung der Samen bis zum Eintopfen und somit zum Beginn der Klimakammerphase wieder. Zur Berechnung wurden die Mittelwerte von n=4 verwendet.

RGR der Wurzelbiomasse

Abbildung 3.7 gibt die relativen Wuchsraten der Wurzeln bei den verschiedenen Anzuchtbedingungen wieder. Zur Verdeutlichung der Werte für die RGR der einzelnen Bedingungen wurde der Wert zum Beginn der Klimakammerphase nicht aufgeführt.

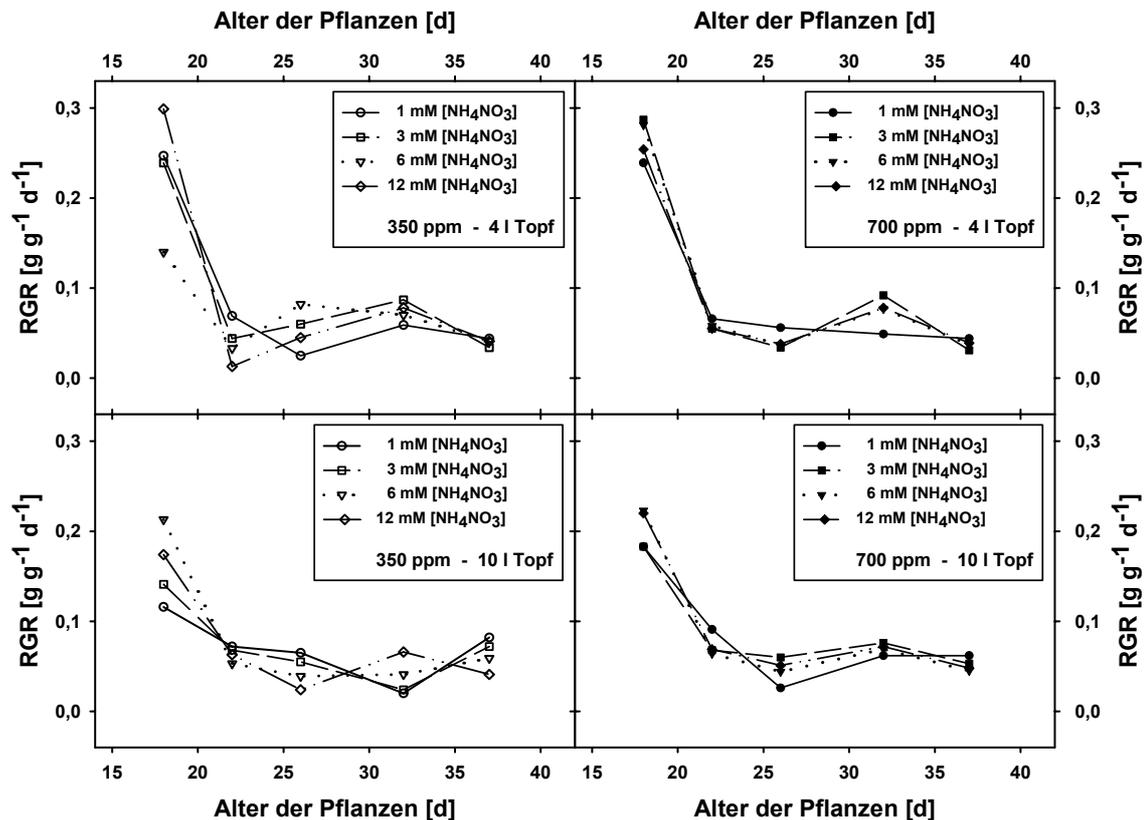


Abb. 3.7: RGR [$\text{g g}^{-1} \text{d}^{-1}$] der Wurzelbiomasse von Rizinuspflanzen während der Anzucht in Klimakammern bei 350 ppm und 700 ppm $[\text{CO}_2]$ in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . Zur Berechnung wurden die Mittelwerte von $n=4$ verwendet.

Während der Wachstumsperiode traten innerhalb der RGR der Wurzelbiomasse keine signifikanten Unterschiede auf, weder zwischen den beiden CO_2 -Konzentrationen noch innerhalb der Versorgung mit verschiedenen Stickstoffkonzentrationen in der Nährlösung. Die RGR von Pflanzen in 4 l Töpfen übertraf jedoch in der ersten Hälfte der Klimakammerperiode die RGR von Pflanzen, welche in 10 l Töpfen angezogen wurden. Weiterhin war festzustellen, dass die Werte der RGR für die Wurzelbiomasse bei 18 Tagen sehr hoch waren und die für die RGR der Sprossbiomasse (Abb. 3.8) deutlich überstiegen.

RGR der Sprossbiomasse

Ähnlich wie bei den Werten für die RGR der Wurzelbiomasse traten auch bei der Betrachtung der Werte für die RGR der Sprossbiomasse (Abb. 3.8) keine deutlichen Unterschiede auf. Ebenfalls hier lagen die Werte für Pflanzen in 4 l Töpfen anfänglich unter denen für Pflanzen in 10 l Töpfen, welche aber mit zunehmender Wachstumsdauer die der Pflanzen in kleineren Töpfen überstiegen.

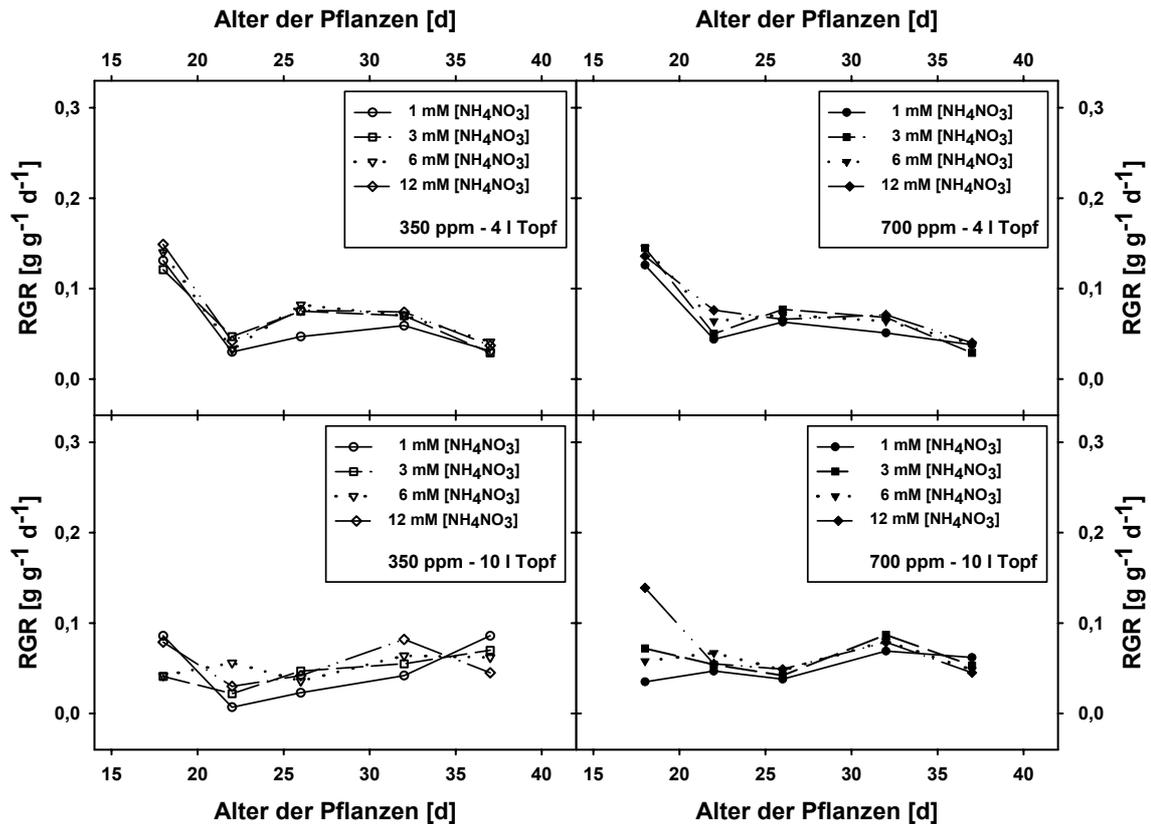


Abb. 3.8: RGR [$\text{g g}^{-1} \text{d}^{-1}$] der Sprosse von Rizinuspflanzen während der Anzucht in Klimakammern bei 350 ppm und 700 ppm [CO_2] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . Zur Berechnung wurden die Mittelwerte von $n=4$ verwendet.

Die RGR war bei 700 ppm [CO_2] vor allem in der ersten Hälfte der Wachstumsperiode höher als bei 350 ppm [CO_2]. Zu bemerken ist ferner, dass die Werte für die RGR der Sprossbiomasse von Pflanzen mit 1 mM NH_4NO_3 in der Nährlösung bei 350 ppm und 700 ppm [CO_2] und in 4 l und 10 l Töpfen bei einem Alter von 22 bis 32 Tagen unter den Werten der Pflanzen mit höherer Stickstoffversorgung lag.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass bei einer Konzentration von 1 mM NH_4NO_3 in der Nährlösung die zeitliche Verschiebung in der RGR der Gesamtbiomasse zu Gunsten der Pflanzen bei 700 ppm [CO_2] in erster Linie von der RGR der Wurzelbiomasse abhing. Bei

höheren Stickstoffkonzentrationen war davon auszugehen, dass die RGR des Sprosses diese zeitliche Verschiebung bei 700 ppm [CO₂] bedingt.

3.1.2 Anteil der Biomasse von Pflanzenorganen an der Gesamtbio- masse zum Erntezeitpunkt

Der Vergleich der Anteile der Biomassen der einzelnen Pflanzenorgane an der Gesamtbio-
masse der Pflanzen zum Erntezeitpunkt soll Aufschluss über die Allokation des
photosynthetisch gebundenen Kohlenstoffs und somit über die differenzierten
Wachstumserscheinungen bei den verschiedenen Bedingungen liefern.

3.1.2.1 Anteil der Wurzelbiomasse

Aus Abbildung 3.9 geht hervor, dass mit zunehmender Konzentration an NH₄NO₃ in der
Nährlösung der Anteil der Wurzelbiomasse an der Gesamtbio-
masse abnahm. Dies war
sowohl bei beiden Topfgrößen als auch bei beiden CO₂-Konzentrationen zu erkennen.

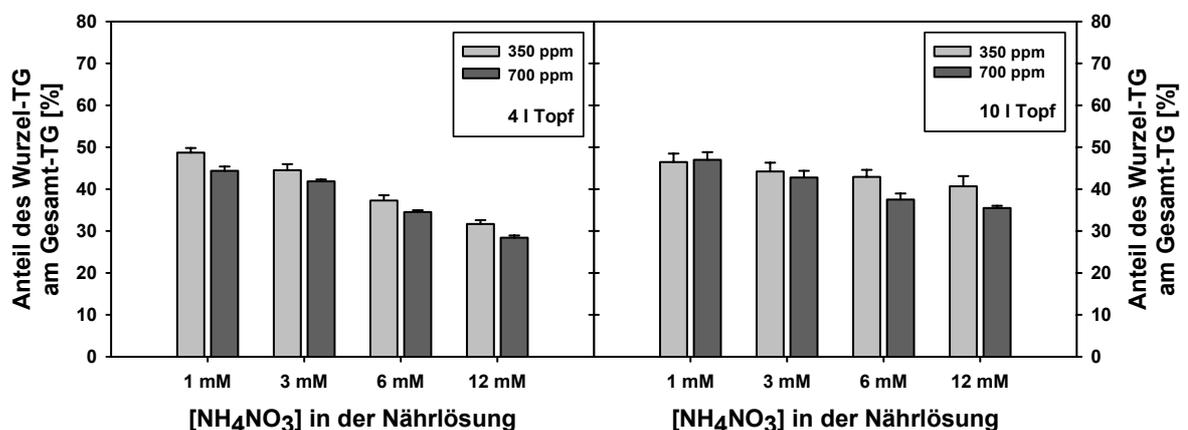


Abb. 3.9: Anteil des Wurzeltrockengewichts [%] am Gesamttrockengewicht von 37 Tage alten Ricinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=4±STABW

Die Unterschiede zwischen den beiden und CO_2 -Konzentrationen bei den einzelnen Stickstoffkonzentrationen fielen kaum ins Gewicht. Es war bei jeder Stickstoffversorgung die leichte Tendenz zu erkennen, dass bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ der Anteil der Wurzelbiomasse an der Gesamtbio­masse etwas geringer war.

3.1.2.2 Anteil der Sprossbiomasse

Der zum Anteil der Wurzelbiomasse komplementäre Anteil der Sprossbiomasse an der Gesamtbio­masse ist in Abbildung 3.10 wiedergegeben.

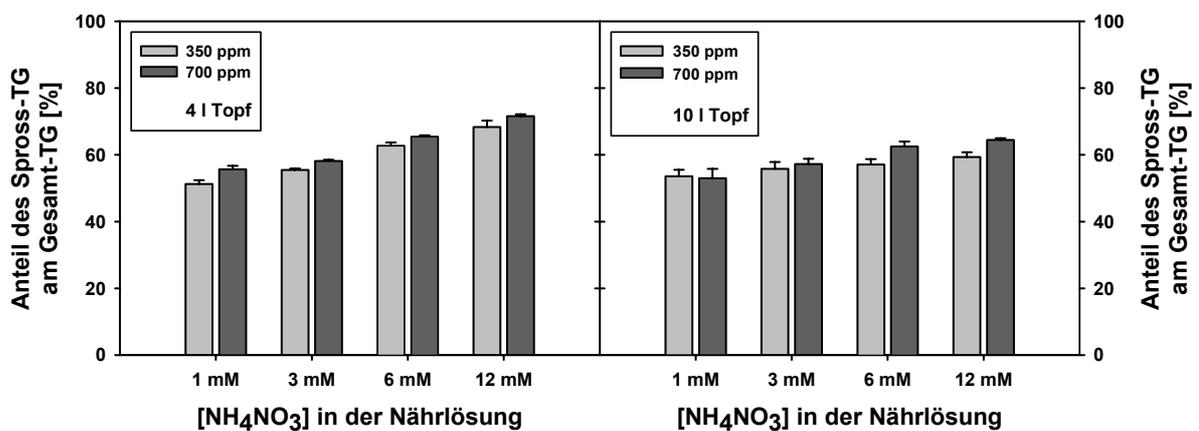


Abb. 3.10: Anteil des Sprosstrockengewichts [%] am Gesamt­tro­ckengewicht von 37 Tage alten Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm $[\text{CO}_2]$ in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . $n=4\pm\text{STABW}$

Die Anteile der Blätter sowie des Stängels sollen im folgenden detailliert in Abbildung 3.11 dargestellt werden. Dabei wurden die Trockengewichte der Primärblätter und des Blattes # 5 zu der Biomasse des Stängels hinzugerechnet, da diese Organe bei manchen Anzuchtbedingungen zum Erntezeitpunkt entweder noch nicht oder nicht mehr vorhanden waren. Die Übersicht über die Anteile des Trockengewichtes von Sprossorganen am gesamten Trockengewicht der Pflanzen umfasst demnach Blatt # 2, Blatt # 3, Blatt # 4 und den Stängel.

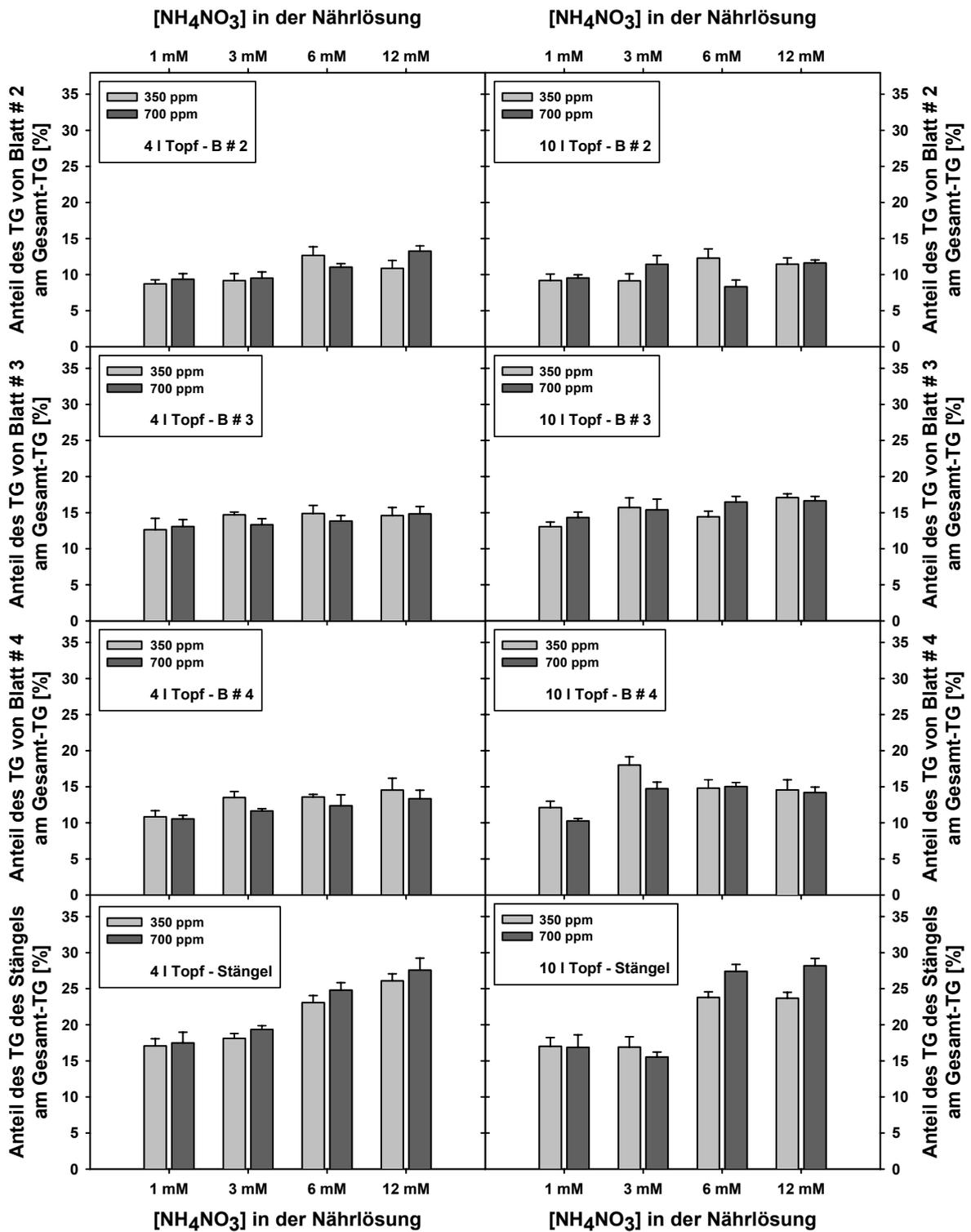


Abb. 3.11: Anteil des Trockengewichts [%] von Blatt # 2 (B # 2), Blatt # 3 (B # 3), Blatt # 4 (B # 4) und des Stängels am Gesamttrockengewicht von 37 Tage alten Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=4±STABW

Abbildung 3.11 ist zu entnehmen, dass sowohl zwischen 350 ppm und 700 ppm [CO₂] als auch zwischen den beiden verwendeten Topfgrößen keine nennenswerten Unterschiede bezüglich der Anteile der Trockengewichte der einzelnen Sprossorgane am Gesamttrockengewicht bestanden. Beim Vergleich der Organe untereinander ist festzustellen, dass Blatt # 2 den niedrigsten Anteil aufwies, gefolgt von Blatt # 4 und Blatt # 3. Den größten Anteil an der Gesamtbiomasse machte unter den Sprossorganen bei allen Anzuchtsbedingungen die Biomasse des Stängels aus. Auch innerhalb der verschiedenen Stickstoffbedingungen war ein deutlich höherer Anteil des Stängel-trockengewichts am Gesamttrockengewicht mit zunehmender Konzentration von NH₄NO₃ (v.a. bei 6 mM und 12 mM) in der Nährlösung zu erkennen, der hier bei 700 ppm [CO₂] tendenziell über dem bei 350 ppm [CO₂] lag.

3.1.3 Nicht-invasive Wachstumsparameter

Während für die oben dargestellten Ergebnisse bezüglich der Entwicklung und Verteilung der Biomasse die Totalernte und das Trocknen der Pflanzen bzw. deren Organe eine notwendige Voraussetzung war, sollen im Folgenden Daten im Vordergrund stehen, welche während der Wachstumsperiode in den Klimakammern an intakten Pflanzen erhoben wurden. Hierbei handelt es sich um Werte zur Blattfolge und zur Entwicklung von Sprosshöhe und Blattfläche. Ferner wird dargelegt, welchen Anteil die Flächen der einzelnen Blätter an der gesamten Blattfläche der Pflanze zum Erntezeitpunkt ausmachten.

3.1.3.1 Entwicklung der Sprosshöhe

Durch Abbildung 3.12 wird die Entwicklung der Sprosshöhe während der Klimakammerphase wiedergegeben. Für die ermittelten Werten eines Anzuchtsschemas wurden Trendlinien bestimmt. Dadurch lässt sich der Verlauf des Höhenwachstums des Sprosses anschaulicher verfolgen. Es war festzustellen, dass bei allen Anzuchtschemata die Pflanzen ein stärkeres Höhenwachstum zeigten, je höher die Konzentration an NH₄NO₃ in der Nährlösung war. Ferner gilt, dass Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] schneller größer wurden als bei 350 ppm [CO₂]. Weiterhin bestand ein Unterschied im Höhenwachstum zwischen in 4 l und 10 l Töpfen gezogenen Pflanzen.

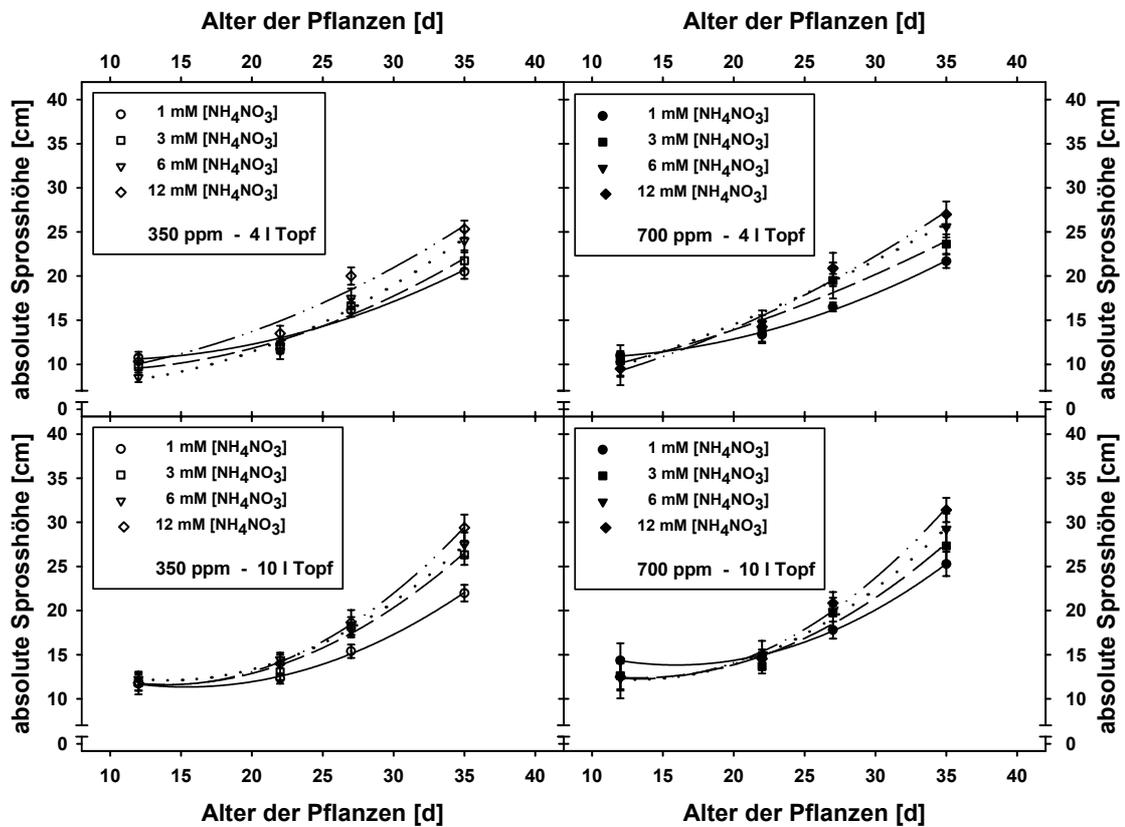


Abb. 3.12: Entwicklung der Sprosshöhe von Rizinuspflanzen [cm] in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] bei verschiedenen Konzentrationen von NH₄NO₃ in der Nährlösung. Für die ermittelten Werte wurden Trendlinien bestimmt, 1 mM NH₄NO₃ (—), 3 mM NH₄NO₃ (---), 6 mM NH₄NO₃ (·····), 12 mM NH₄NO₃ (- · · -). n=8±STABW.

Die Pflanzen in den kleineren Töpfen zeigten annähernd lineares Wachstumsverhalten bezüglich ihrer Sprosshöhe während der gesamten Klimakammerperiode. Die Zunahme an Höhe erfolgte gleichmäßiger als bei Pflanzen in 10 l Töpfen. Deren Höhenwachstum war in der ersten Hälfte der Klimakammerperiode nicht sehr ausgeprägt, nahm jedoch ab Tag 27 stärker zu als bei den Vergleichspflanzen in den 4 l Töpfen.

3.1.3.2 Blattfolge

Unter Blattfolge soll hier zu verstehen sein, wie schnell die Pflanzen die aufeinander folgenden Blätter, beginnend mit den Primärblättern (PB) bis hin zu Blatt # 6, bilden. Abbildung 3.13 ist zu entnehmen, dass sich dieser Prozess beschleunigte, je höher die Stickstoffkonzentration in der Nährlösung war. Die Regressionsgeraden, welche durch die Punkte der ermittelten Werte gelegt wurden, sollen dies veranschaulichen. Des Weiteren neigten Pflanzen, die in 10 l Töpfen kultiviert wurden, dazu, die Blätter schneller zu bilden als die Vergleichspflanzen in den kleineren Töpfen.

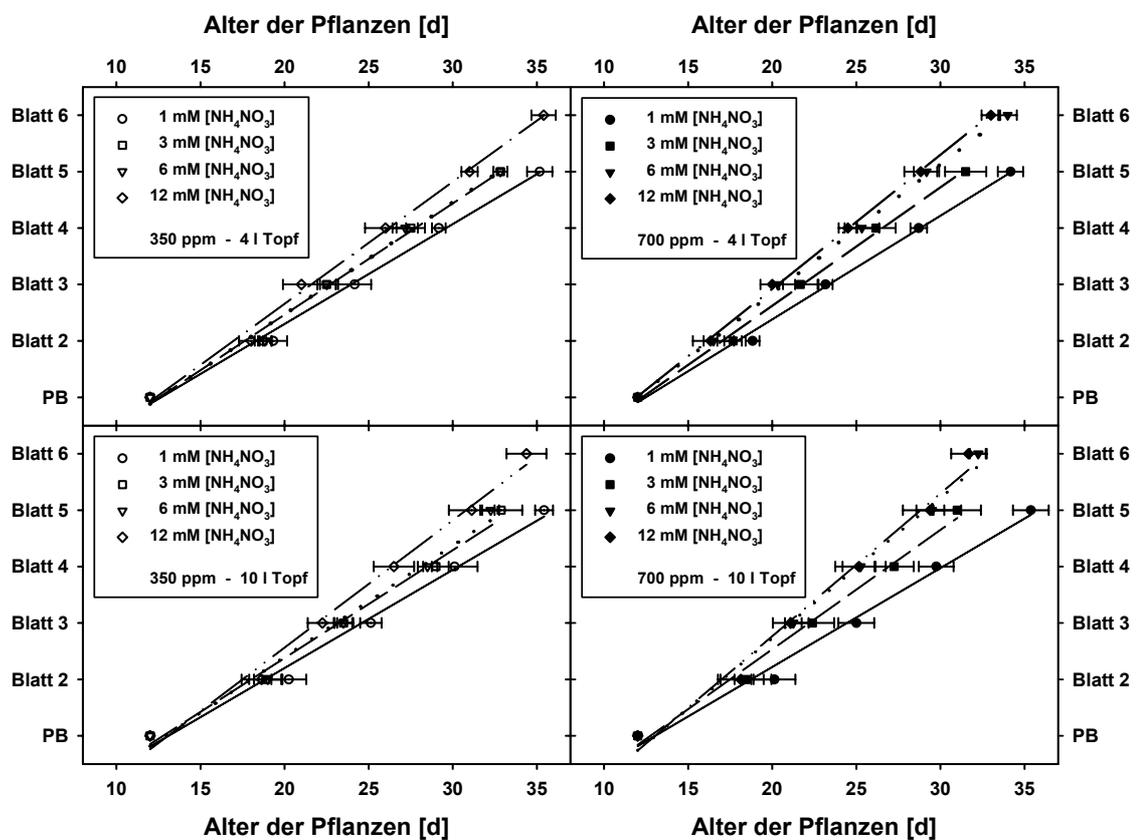


Abb. 3.13: Zeitlicher Ablauf der Blattfolge von Rizinuspflanzen, angezogen in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 ppm und 700 ppm $[\text{CO}_2]$ bei verschiedenen Konzentrationen von NH_4NO_3 in der Nährlösung. Die Regressionsgeraden repräsentieren folgende Stickstoffkonzentrationen: 1 mM NH_4NO_3 (—), 3 mM NH_4NO_3 (— —), 6 mM NH_4NO_3 (• • • • •), 12 mM NH_4NO_3 (— • • —). PB: Primärblätter, $n=8\pm\text{STABW}$.

Die Unterschiede zwischen beiden CO_2 -Konzentrationen kommen in Abbildung 3.13 nicht sehr deutlich zum Vorschein, werden jedoch klarer, wenn man betrachtet, wie viele Tage durchschnittlich bis zur Bildung des nächsten Blattes vergehen. Dies gibt Tabelle 3.5 wieder. In ihr ist dargelegt, wie groß die mittleren Zeitintervalle zwischen der Bildung zweier Blätter

bei den verschiedenen Bedingungen sind. Je kleiner demnach der Wert ist, desto schneller wird das nächste Blatt gebildet. Neben den zum Teil geringen Unterschieden zwischen 350 ppm und 700 ppm [CO₂] ist hier ebenfalls festzustellen, dass Pflanzen, die bei höheren Stickstoffkonzentrationen gewachsen waren, schneller ihre Blätter bildeten als solche mit geringer Stickstoffkonzentration in der Nährlösung. Außerdem ist zu bemerken, dass bei der Versorgung mit 1 mM NH₄NO₃ bei allen Topfgrößen und CO₂-Konzentrationen die weitestgehend gleichen Zeitintervalle auftraten. Mit zunehmender Stickstoffkonzentration wurden diese Intervallunterschiede größer, so dass bei der Versorgung mit 12 mM NH₄NO₃ ein Unterschied von etwa einem Tag deutlich wird. Pflanzen in 10 l Töpfen bei 700 ppm [CO₂] bildeten demnach jedes Blatt ca. einen Tag schneller als Pflanzen in 4 l Töpfen bei 350 ppm [CO₂].

Tab. 3.5: Mittlere Zeitintervalle [d] zwischen der Bildung der einzelnen Blätter (Blatt # 2 bis Blatt # 5) von Rizinuspflanzen während der Klimakammerperiode. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=8±STABW

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]
1 mM	5,28 ± 0,33	5,11 ± 0,37	5,08 ± 0,28	5,06 ± 0,23
3 mM	4,71 ± 0,11	4,61 ± 0,23	4,67 ± 0,51	4,19 ± 0,40
6 mM	4,67 ± 0,53	4,38 ± 0,51	4,42 ± 0,33	3,75 ± 0,46
12 mM	4,40 ± 0,42	4,12 ± 0,34	3,94 ± 0,32	3,39 ± 0,49

3.1.3.3 Blattflächenentwicklung von Blatt # 2

Exemplarisch für alle Blätter der untersuchten Pflanzen soll hier die Entwicklung der Fläche von Blatt # 2 behandelt werden. An diesem *source*-Blatt wurden sämtliche Exportexperimente durchgeführt und von ihm wurden weiterhin alle Proben genommen, die ökophysiologischen Experimenten zu Grunde lagen. Die Blattfläche konnte nicht-invasiv bestimmt werden anhand der Länge der Mittelrippe des Blattes. Der Tag des Erscheinens der gesamten Mittelrippe des Blattes wurde als Tag 0 festgesetzt. Die Entwicklung der Blattfläche von Rizinusblättern zeigte einen typischen sigmoiden Verlauf (Grimmer 1999), wie in Abbildung 3.13 dargestellt ist. Bezüglich der Blattflächenentwicklung traten bei allen Topfgrößen und CO₂-Konzentrationen deutliche Unterschiede innerhalb der Versorgung der Pflanzen mit zunehmender Konzentration an Ammoniumnitrat in der Nährlösung auf. Je

mehr NH_4NO_3 sich in der Nährlösung befand, desto größer wurde die Blattfläche, aber auch desto stärker war die Zunahme an Fläche zwischen einem Blattalter von 4 bis 10 Tagen. Pflanzen, welche in 10 l Töpfen kultiviert wurden, entwickelten bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ eine sehr viel größere Blattfläche als die Vergleichspflanzen bei 350 ppm $[\text{CO}_2]$, bei Pflanzen in 4 l Töpfen waren diese Unterschiede geringer. Es ist die Tendenz erkennbar, dass das Blatt # 2 von Pflanzen in größeren Töpfen gegenüber dem von Pflanzen in kleineren Töpfen eine größere Fläche aufwies. Aus Abbildung 3.14 ist jedoch auch zu entnehmen, dass die erwähnten Unterschiede zwischen den Anzuchtbedingungen hauptsächlich für Pflanzen galten, die mit mindestens 3 mM NH_4NO_3 versorgt wurden, da bei Pflanzen mit 1 mM NH_4NO_3 in der Nährlösung die Blattfläche unabhängig von Topfgröße und CO_2 -Konzentration weitestgehend konstant blieb.

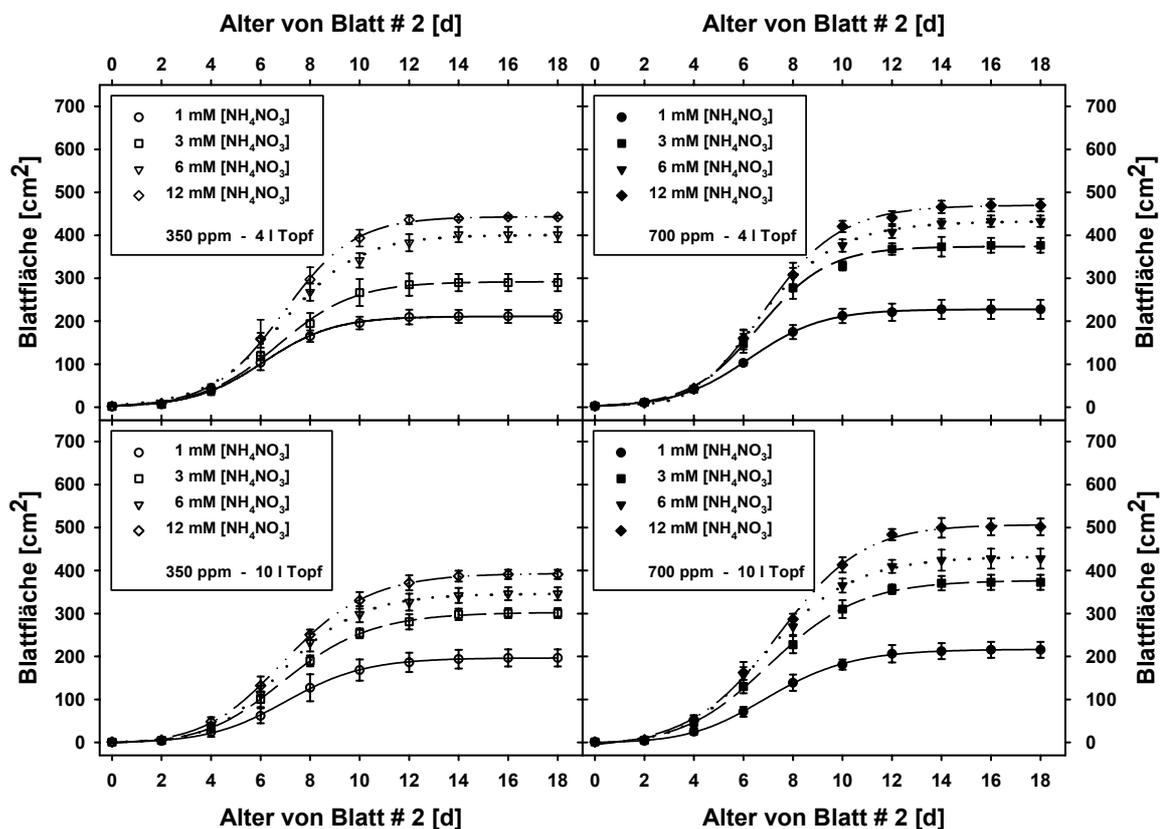


Abb. 3.14: Entwicklung der Fläche des Blattes # 2 von Rizinuspflanzen, angezogen in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 ppm und 700 ppm $[\text{CO}_2]$ bei verschiedenen Konzentrationen von NH_4NO_3 in der Nährlösung. Die Graphen repräsentieren folgende Stickstoffkonzentrationen: 1 mM NH_4NO_3 (—●—), 3 mM NH_4NO_3 (—■—), 6 mM NH_4NO_3 (·····), 12 mM NH_4NO_3 (—••—). $n=4\pm\text{STABW}$.

3.1.3.4 Gesamte Blattfläche zum Erntezeitpunkt

Bei der Betrachtung der gesamten Blattfläche der Pflanzen zum Erntezeitpunkt (Abb. 3.15) konnte festgestellt werden, dass mit steigender Stickstoffkonzentration in der Nährlösung die gebildete Blattfläche zunahm. Die Unterschiede in der Blattfläche zwischen Pflanzen, die bei 350 ppm [CO₂] und solchen, die bei 700 ppm [CO₂] gewachsen waren, waren bei der Anzucht mit 1 mM [NH₄NO₃] kaum vorhanden, wurden aber bis hin zur Anzucht mit 12 mM [NH₄NO₃] in der Nährlösung immer deutlicher. Hier bildeten Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] etwa 30 % mehr Blattfläche als die Kontrollpflanzen – bei beiden Topfgrößen. Es lässt sich außerdem erkennen, dass Pflanzen in 10 l Töpfen eine größere Gesamtblattfläche zum Erntezeitpunkt aufwiesen als Pflanzen, die in 4 l Töpfen bei den gleichen Bedingungen gewachsen waren.

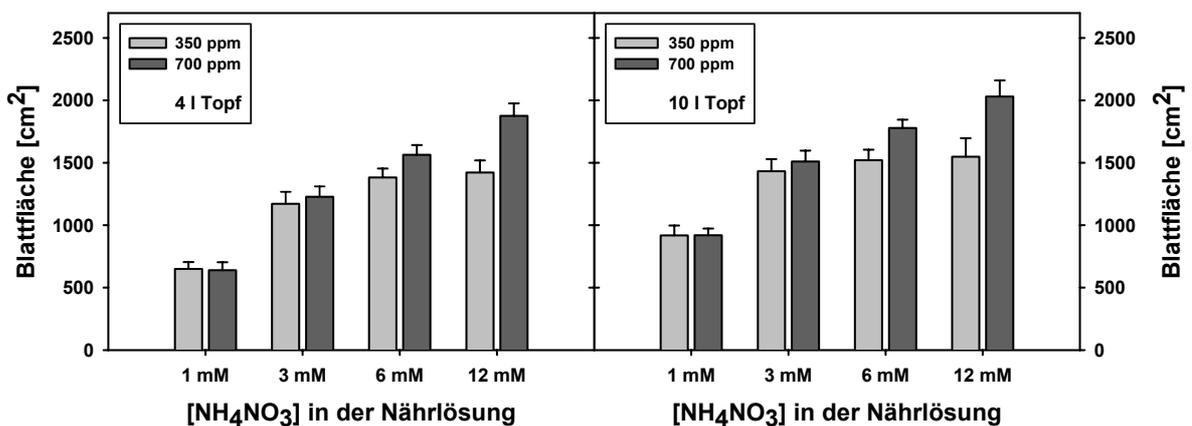


Abb. 3.15: Gesamte Blattfläche von 37 Tage alten Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=4±STABW

3.1.3.5 Spezifisches Blattgewicht

Aus der Relation der Blattfläche der einzelnen Blätter zu ihrem Trockengewicht lässt sich das spezifische Blattgewicht bestimmen. Das zu Grunde liegende Trockengewicht des Blattes beinhaltet das gesamte Blatt, also einschließlich der Petiole, welche ca. 20 % des Trockengewichts ausmachte. Zu der mit Hilfe der Mittelrippenlänge berechneten Blattfläche wurde die Oberfläche der Petiole addiert. Diese beläuft sich auf etwa 5 % der ermittelten Blattfläche. Aus Abbildung 3.16 geht hervor, dass das spezifische Blattgewicht der Blätter ## 2, 3 und 4 bei Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] gewachsen waren, gegenüber

denjenigen der Kontrollpflanzen leicht erhöht war. Diese Tendenz nahm mit abnehmendem Blattalter ab, so dass die Unterschiede bei Blatt # 4 geringer waren als bei dem älteren Blatt # 2. Pflanzen in kleineren Töpfen wiesen durchschnittlich ein höheres spezifisches Blattgewicht auf als Pflanzen in größeren Töpfen. Bezüglich der Versorgung mit NH_4NO_3 in der Nährlösung war kein eindeutiger Trend festzustellen.

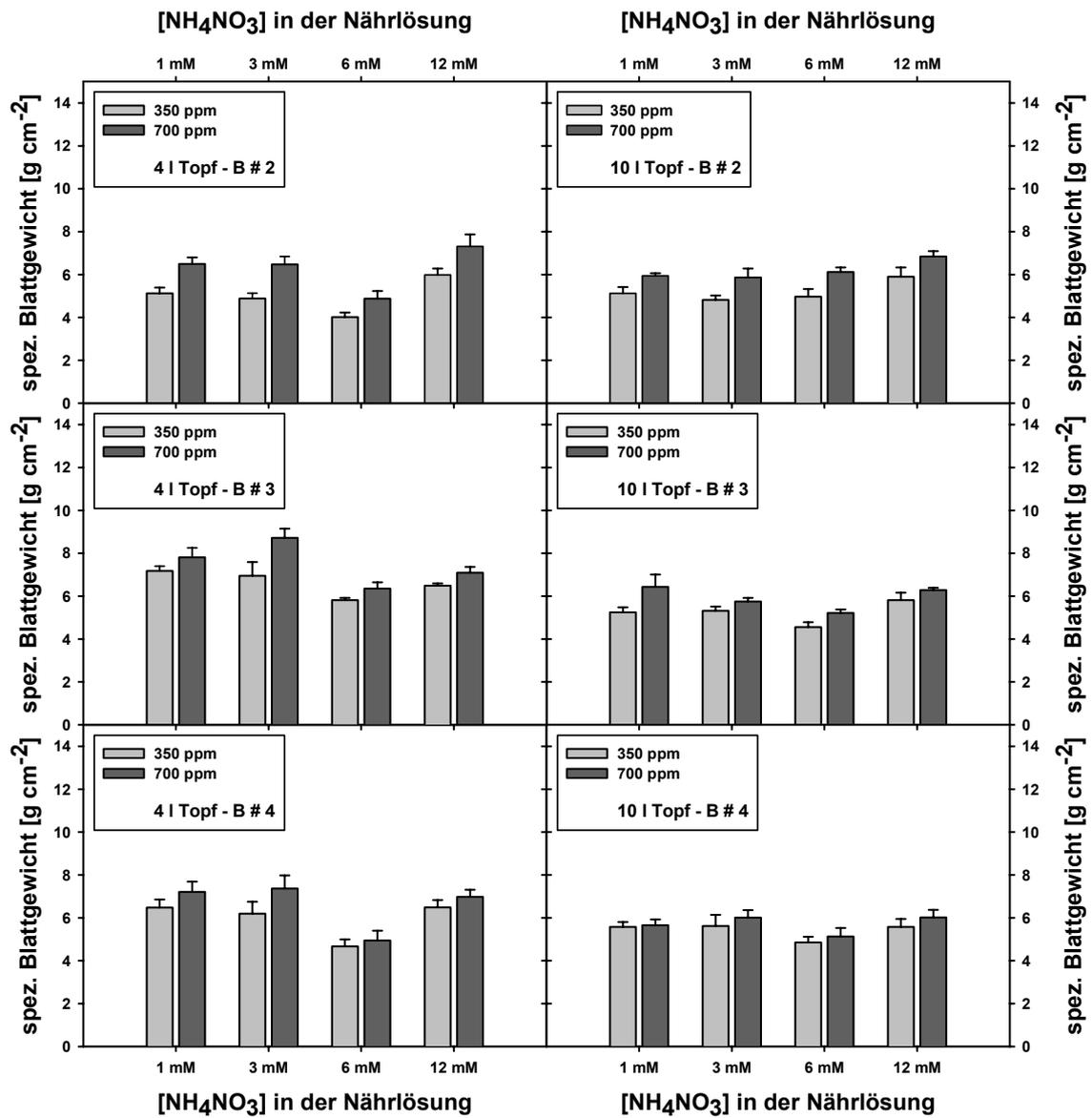


Abb. 3.16: Spezifisches Blattgewicht [g cm^{-2}] von Blatt # 2 (B # 2), Blatt # 3 (B # 3) und Blatt # 4 (B # 4) von 37 Tage alten Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm $[\text{CO}_2]$ in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . $n=4\pm\text{STABW}$

Zusammenfassung der Ergebnisse zum Wachstumsverhalten der Pflanzen bei 350 und 700 ppm [CO₂]

Rizinuspflanzen bei 700 ppm [CO₂] zeigten gegenüber Rizinuspflanzen bei 350 ppm [CO₂]

- eine größere Entwicklung von Wurzel- und Sprossbiomasse,
- ein höheres Trockengewicht der Blätter bei höherer Stickstoffernährung,
- eine deutlich größere Biomasse des Stängels, v.a. bei Pflanzen in 10 l Töpfen und einer Ernährung von 6 mM und 12 mM NH₄NO₃,
- eine gesteigerte relative Wuchsrate (RGR) der Gesamtbiomasse im ersten Drittel der Klimakammerperiode und eine daraus resultierende zeitliche Verschiebung des Musters der RGR,
- keine Unterschiede in den Anteilen der einzelnen Pflanzenorgane an der Gesamtbiomasse,
- ein schnelleres Höhenwachstum des Sprosses,
- kürzere Zeitintervalle bei der Bildung neuer Blätter mit zunehmender Stickstoffkonzentration in der Nährlösung, besonders deutlich bei Pflanzen in 10 l Töpfen,
- eine schnellere Entwicklung der Blattfläche,
- eine größere gesamte Blattfläche mit zunehmender Stickstoffkonzentration in der Nährlösung,
- v.a. bei älteren Blättern ein höheres spezifisches Blattgewicht.

Rizinuspflanzen konnten bei höherer Stickstoffkonzentration (6-12 mM NH₄NO₃) in der Nährlösung die erhöhte CO₂-Konzentration bei den gegebenen Bedingungen besser für Wachstum, Entwicklung und Biomasseproduktion nutzen als Pflanzen, die bei niedrigerer Stickstoffversorgung (1-3 mM NH₄NO₃) kultiviert wurden. Dabei waren Pflanzen in kleineren Töpfen zunächst im Vorteil, wurden aber darin von den Pflanzen in größeren Töpfen in der zweiten Hälfte der Klimakammerperiode (ca. ab Tag 28-30) übertroffen.

3.2 Kohlenstoffexport in Form von Assimilaten aus dem *source*-Gewebe der untersuchten Blätter bei 350 und 700 ppm [CO₂]

Die im Folgenden angewandte Berechnung des Kohlenstoffexports in Form von Assimilaten aus dem *source*-Gewebe wurde nach Grimmer & Komor (1999) durchgeführt. Die Modifikation der Methode von Terry & Mortimer (1972) setzt die Bestimmung wesentlicher Parameter von *source*-Blättern voraus. Dazu gehören Werte zur Fixierung und Freisetzung von Kohlendioxid im Blattgewebe. D.h. aus der Differenz zwischen dem durch Nettophotosynthese im Gewebe verbleibenden und dem durch Gewichtszunahme des Blattes tatsächlich eingebauten Kohlenstoff während der 14,5 Stunden andauernden Lichtphase lässt sich die Kohlenstoffexportrate im Licht berechnen. Die Differenz zwischen Werten für Kohlenstoff, welcher v.a. nach dem Abbau von transitorischer Stärke das Blattgewebe verlässt, und Werten für Kohlenstoff, der während der Dunkelphase von 9,5 Stunden durch Respiration verbraucht wird, liefert die Kohlenstoffexportrate für die Dunkelphase des Tages. Es sind demnach Informationen über den Kohlenhydratgehalt im Blattgewebe während des Tages unerlässlich. Des Weiteren ist für den Zusammenhang zwischen Kohlenstoffexport aus *source*-Gewebe und dem Wachstum der gesamten Pflanze maßgeblich, wie groß die Konzentration und der Fluss der Kohlenhydrate im Phloem, und hier in den Siebröhren, ist. Den im Folgenden dargestellten Ergebnissen liegen Werte zu Grunde, die aus Proben ermittelt wurden, welche ausschließlich von Blatt # 2 im Alter von 17 Tagen stammen. Dieses Blatt befindet in diesem Alter im *source*-Zustand (Grimmer 1999). Die Pflanzen hatten zum Untersuchungszeitpunkt noch keine Blüten entwickelt.

3.2.1 Fixierung und Freisetzung von Kohlendioxid im untersuchten Gewebe

3.2.1.1 Chlorophyllgehalt im Blattgewebe

Der Gehalt von Chlorophyll a+b im Gewebe des 17 Tage alten Blattes # 2 war bei Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] gewachsen waren, leicht, aber nicht signifikant, höher als bei den Kontrollpflanzen bei 350 ppm [CO₂] (Tab. 3.6). Auch bei dem Vergleich zwischen den beiden Topfgrößen ließen sich keine deutlichen Unterschiede feststellen. Mit zunehmender

Konzentration an Ammoniumnitrat in der Nährlösung allerdings stieg auch der Chlorophyllgehalt im Blattgewebe bei allen Anzuchtsbedingungen merklich an.

Tab. 3.6: Gehalt von Chlorophyll a+b [$\mu\text{g cm}^{-2}$] im 17 Tage alten Blatt # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO_2]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . $n=3\pm\text{MA}$

[NH_4NO_3]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO_2]	700 ppm [CO_2]	350 ppm [CO_2]	700 ppm [CO_2]
1 mM	24,90 \pm 1,55	25,69 \pm 1,27	25,64 \pm 1,23	26,39 \pm 1,66
3 mM	29,11 \pm 1,40	30,24 \pm 1,00	28,16 \pm 1,46	29,47 \pm 1,61
6 mM	29,33 \pm 0,26	30,52 \pm 0,80	29,64 \pm 0,39	30,86 \pm 1,19
12 mM	33,44 \pm 2,24	35,63 \pm 0,51	32,52 \pm 0,51	33,61 \pm 1,25

3.2.1.2 Nettophotosynthese

Die Werte für die gemessenen Raten der Nettophotosynthese blieben während der gesamten Lichtphase bis auf die lineare Zu- bzw. Abnahme in den Dämmerungsphasen weitestgehend konstant. Die Nettophotosyntheseraten stiegen mit zunehmender Stickstoffkonzentration in der Nährlösung an. Dies galt, wie Tabelle 3.7 zu entnehmen ist, für alle Anzuchtschemata bezüglich Topfgröße und CO_2 -Konzentration. Bei Pflanzen, die bei 700 ppm [CO_2] kultiviert wurden, konnte stets eine höhere Nettophotosyntheserate gemessen werden als bei den Kontrollpflanzen bei 350 ppm [CO_2]. Zwischen Pflanzen in 4 l Töpfen und Pflanzen in 10 l Töpfen traten bei vergleichbaren Bedingungen keine deutlichen Unterschiede in der Nettophotosyntheserate auf.

Tab. 3.7: Nettophotosyntheseraten [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$] des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO_2]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . $n=3\pm\text{MA}$

[NH_4NO_3]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO_2]	700 ppm [CO_2]	350 ppm [CO_2]	700 ppm [CO_2]
1 mM	15,88 \pm 1,41	18,62 \pm 0,23	16,68 \pm 0,80	17,84 \pm 0,73
3 mM	20,81 \pm 0,62	25,61 \pm 0,75	20,30 \pm 0,87	23,00 \pm 0,46
6 mM	22,70 \pm 0,64	27,28 \pm 0,78	21,42 \pm 0,59	26,70 \pm 0,88
12 mM	28,45 \pm 1,25	29,83 \pm 0,52	23,87 \pm 0,32	30,39 \pm 1,01

3.2.1.3 Dunkelatmung

In Tabelle 3.8 sind die am intakten Blatt # 2 gemessenen Raten der Dunkelatmung wiedergegeben.

Tab. 3.8: Dunkelatemungsraten [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$] des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm $[\text{CO}_2]$. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . $n=3\pm\text{MA}$

[NH_4NO_3]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm $[\text{CO}_2]$	700 ppm $[\text{CO}_2]$	350 ppm $[\text{CO}_2]$	700 ppm $[\text{CO}_2]$
1 mM	0,37 ± 0,03	0,46 ± 0,02	0,35 ± 0,04	0,40 ± 0,02
3 mM	0,48 ± 0,02	0,67 ± 0,06	0,48 ± 0,08	0,59 ± 0,10
6 mM	0,56 ± 0,01	1,11 ± 0,08	0,69 ± 0,09	1,19 ± 0,10
12 mM	0,69 ± 0,09	1,44 ± 0,12	0,83 ± 0,05	1,26 ± 0,05

Vergleichbar mit den Nettophotosyntheseraten nahmen auch die Respirationsraten im Dunkeln mit steigender Stickstoffversorgung zu. Ebenfalls lagen die Werte von Pflanzen bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ immer über den Werten von Pflanzen, die bei 350 ppm $[\text{CO}_2]$ gewachsen waren, wobei sich die Differenz zwischen den beiden Werten von 1 mM NH_4NO_3 bis hin zu 12 mM NH_4NO_3 in der Nährlösung vergrößerte. Dies war bei beiden Topfgrößen zu registrieren, wohingegen sich die Werte für die Dunkelatmung für Pflanzen in 4 l Töpfen nicht wesentlich von den Werten für Pflanzen, die in 10 l Töpfen gewachsen waren, bei vergleichbaren Anzuchtbedingungen unterschieden.

3.2.1.4 Transpiration

Die Transpirationsraten im Licht wurden stets gemeinsam mit den NP-Raten etwa in der Mitte der Lichtphase gemessen. Dabei wurde beachtet, dass kein Messartefakt auf Grund unzureichender Wasserversorgung auftrat. Bezüglich der Transpirationsraten von Blatt # 2 war kein Unterschied zwischen Pflanzen zu erkennen, die zum Einen mit verschieden hoher Stickstoffkonzentration ernährt wurden, und zum Andern in 4 l bzw. 10 l Töpfen gewachsen waren (Tab. 3.9). Es bestand jedoch die Tendenz, dass bei erhöhter CO_2 -Konzentration die Transpirationsrate von Blatt # 2 niedriger war als bei normaler CO_2 -Konzentration.

Tab. 3.9: Transpirationsraten [$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$] des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm $[\text{CO}_2]$. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . $n=3\pm\text{MA}$

[NH_4NO_3]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO_2]	700 ppm [CO_2]	350 ppm [CO_2]	700 ppm [CO_2]
1 mM	2,64 ± 0,24	2,61 ± 0,21	3,27 ± 0,21	2,63 ± 0,03
3 mM	3,05 ± 0,19	2,04 ± 0,18	2,63 ± 0,02	1,80 ± 0,13
6 mM	3,11 ± 0,43	2,53 ± 0,26	2,64 ± 0,24	2,04 ± 0,15
12 mM	3,01 ± 0,28	2,81 ± 0,08	2,77 ± 0,17	1,68 ± 0,09

3.2.1.5 Kohlenstoffanteil des Blattgewebes

Die Werte für den Kohlenstoffanteil am Trockengewicht des Blattgewebes sind unabhängig von der CO_2 -Konzentration in der die Pflanzen umgebenden Atmosphäre (Grimmer 1999). Tabelle 3.10 ist zu entnehmen, dass dies auch für Rizinuspflanzen galt, die in verschieden großen Töpfen und mit unterschiedlicher Stickstoffkonzentration in der Nährlösung kultiviert wurden. Die Werte zeigen keine diurnale Rhythmik und nehmen mit steigendem Blattalter ab (Grimmer 1999). Bei dem 17 Tage alten Blatt # 2 betrug der Kohlenstoffanteil am Trockengewicht des Blattgewebes durchschnittlich 41 %.

Tab. 3.10: Kohlenstoffanteil [%] am Trockengewicht des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm $[\text{CO}_2]$. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . $n=3\pm\text{MA}$

[NH_4NO_3]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO_2]	700 ppm [CO_2]	350 ppm [CO_2]	700 ppm [CO_2]
1 mM	41,33 ± 0,57	41,30 ± 0,10	41,97 ± 0,68	42,37 ± 1,56
3 mM	41,37 ± 0,46	40,50 ± 1,11	41,36 ± 0,47	40,60 ± 0,60
6 mM	42,00 ± 0,14	41,55 ± 0,49	40,73 ± 0,49	40,50 ± 0,66
12 mM	42,27 ± 0,31	40,97 ± 0,50	41,60 ± 0,46	42,03 ± 0,47

3.2.2 Zunahme des im Blattgewebe fixierten Kohlenstoffs während der Lichtphase

Die Zunahme des im Blattgewebe fixierten Kohlenstoffs (Tab.3.11) lässt sich aus der Differenz des Trockengewichts von Blattscheiben, die zum Beginn und am Ende der Lichtperiode genommen werden, berechnen. Dazu ist der Wert für den Kohlenstoffanteil am Trockengewicht nötig. Die Zunahme an Kohlenstoff kann in mmol C pro m² Blattfläche und Lichtperiode ausgedrückt werden. Die Differenz zwischen dem durch Nettophotosynthese fixierten und dem tatsächlich im Blattgewebe durch Zunahme an Trockengewicht verbleibenden Kohlenstoff liefert den Wert für den Kohlenstoffexport aus dem *source*-Blatt während der Lichtphase.

Tab. 3.11: Kohlenstoffzunahme im Blattgewebe während der Lichtphase [mmol C m⁻² Lichtperiode⁻¹] des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]
1 mM	385± 19	462 ± 31	401 ± 28	430 ± 29
3 mM	425± 23	544 ± 45	482 ± 19	553 ± 19
6 mM	477± 46	567 ± 39	513 ± 29	584 ± 49
12 mM	539± 19	603 ± 48	527 ± 21	641 ± 56

Aus Tabelle 3.11 geht hervor, dass umso mehr Kohlenstoff während der Lichtperiode im Gewebe von Blatt # 2 deponiert wurde, je höher die Stickstoffkonzentration in der Nährlösung war. Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] gewachsen waren, lagerten stets mehr Kohlenstoff im Blattgewebe ein als die Kontrollpflanzen, die bei 350 ppm [CO₂] unter den gleichen Bedingungen kultiviert wurden. Zwischen Pflanzen in 4 l Töpfen und Pflanzen in 10 l Töpfen waren bezüglich der Kohlenstoffzunahme im Gewebe von Blatt # 2 während der Lichtphase keine deutlichen Unterschiede zu registrieren.

3.2.3 Diurnale Rhythmik der Gehalte von Glukose, Fruktose, Saccharose und Stärke im Gewebe des *source*-Blattes # 2

3.2.3.1 Glukose

In Abbildung 3.17 ist der Verlauf des Glukosegehaltes im Gewebe von Blatt # 2 während des Tages bei einem Blattalter von 17 Tagen wiedergegeben.

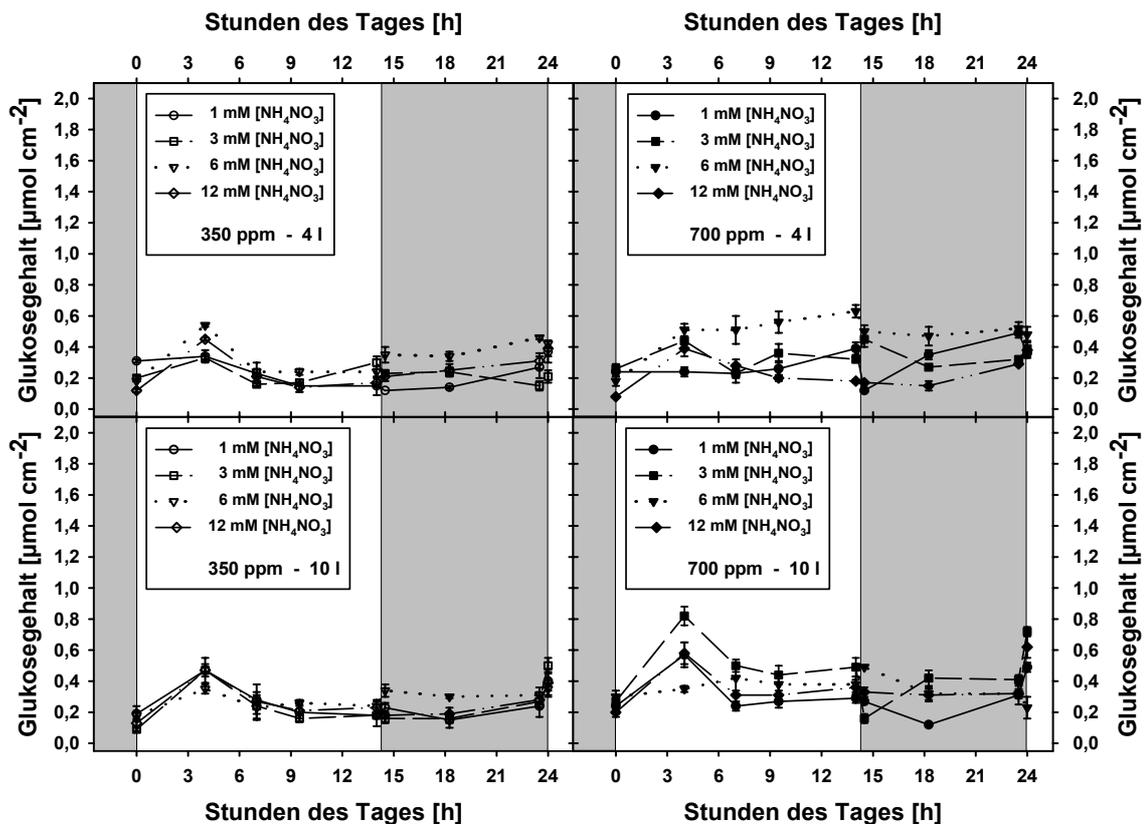


Abb. 3.17: Glukosegehalt [$\mu\text{mol cm}^{-2}$] des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO_2] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . $n=3\pm\text{MA}$

Der Glukosegehalt im Blattgewebe war unabhängig von der Stickstoffkonzentration in der Nährlösung. Es zeigten sich keine Unterschiede zwischen Pflanzen in 4 l Töpfen und solchen, die in 10 l Töpfen gewachsen waren. Pflanzen, die bei 700 ppm [CO_2] angezogen wurden, wiesen leicht aber nicht deutlich erhöhte Glukosegehalte im Blattgewebe, besonders bei Pflanzen in 10 l Töpfen, auf. Es ließ sich kein eindeutiges diurnales Muster erkennen.

3.2.3.2 Fruktose

Ähnlich der Glukosewerte zeigten auch die Werte für den Fruktosegehalt im Blattgewebe keine Abhängigkeit von Topfgröße und Konzentration an NH_4NO_3 in der Nährlösung (Abb. 3.18). Bei Pflanzen, die in 10 l Töpfen kultiviert worden waren, ist zu erkennen, dass die Werte des Fruktosegehalts bei 700 ppm [CO_2] leicht über den Werten der Kontrollpflanzen bei 350 ppm [CO_2] lag. Es konnte ebenfalls kein eindeutiges diurnales Muster bezüglich des Fruktosegehalts im Blattgewebe ausgemacht werden.

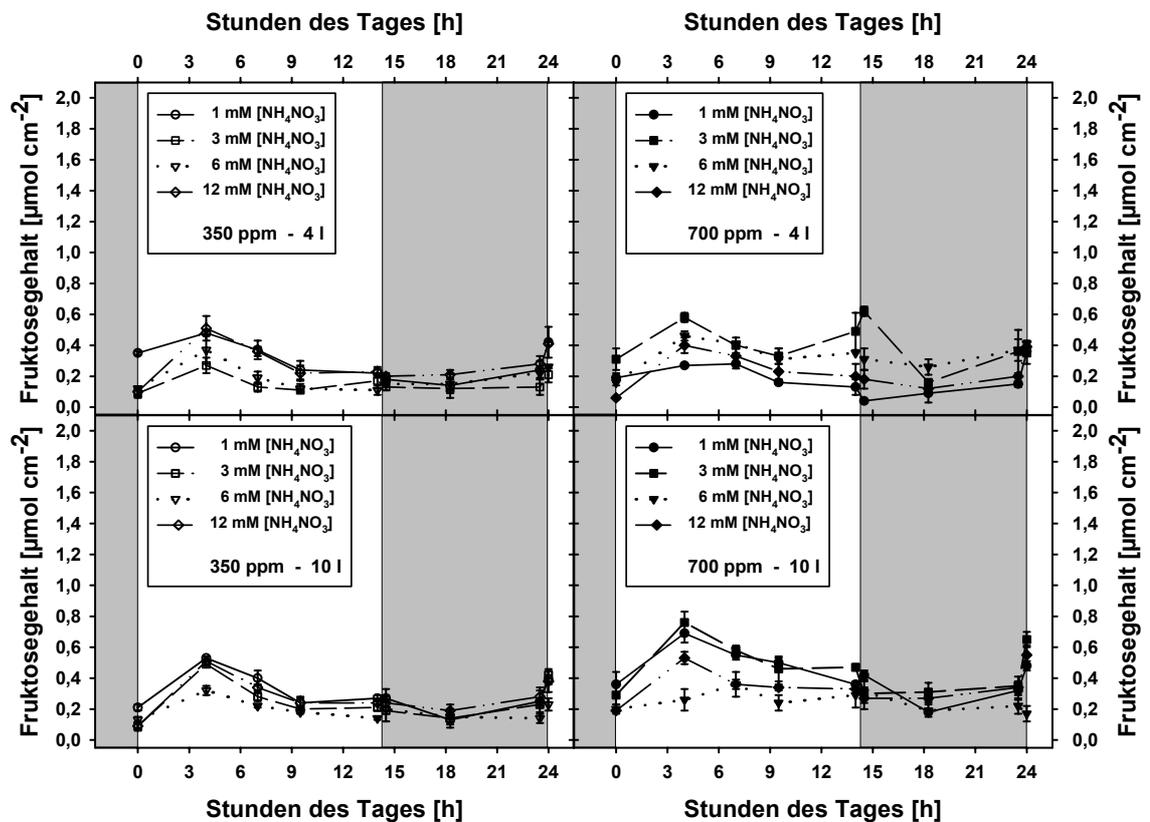


Abb. 3.18: Fruktosegehalt [$\mu\text{mol cm}^{-2}$] des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO_2] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . $n=3\pm\text{MA}$

Die Werte des Glukose- und die des Fruktosegehalts lagen etwa in der gleichen Höhe. Im Durchschnitt betrug das Glukose zu Fruktose Verhältnis den Wert $1,17 \pm 0,21$.

3.2.3.3 Saccharose

Der Saccharosegehalt im Blattgewebe stieg während der Lichtphase leicht an und nahm während der Dunkelperiode wieder leicht ab. Diese Rhythmik war bei höheren Stickstoffkonzentrationen in der Nährlösung deutlicher zu beobachten (Abb. 3.19). Bei Pflanzen, die in 4 l Töpfen gewachsen waren, war kein Unterschied zwischen den beiden CO₂-Konzentrationen zu erkennen. Bei Pflanzen in 10 l Töpfen überstiegen die Werte für den Saccharosegehalt bei 700 ppm [CO₂] die Werte der Kontrollpflanzen bei 350 ppm [CO₂]. Während bei 350 ppm [CO₂] der Saccharosegehalt im Blattgewebe offensichtlich unabhängig von der Topfgröße war, wiesen bei 700 ppm [CO₂] Pflanzen in 10 l Töpfen besonders am Ende der Lichtphase höhere Werte auf als Pflanzen, die in 4l Töpfen kultiviert wurden.

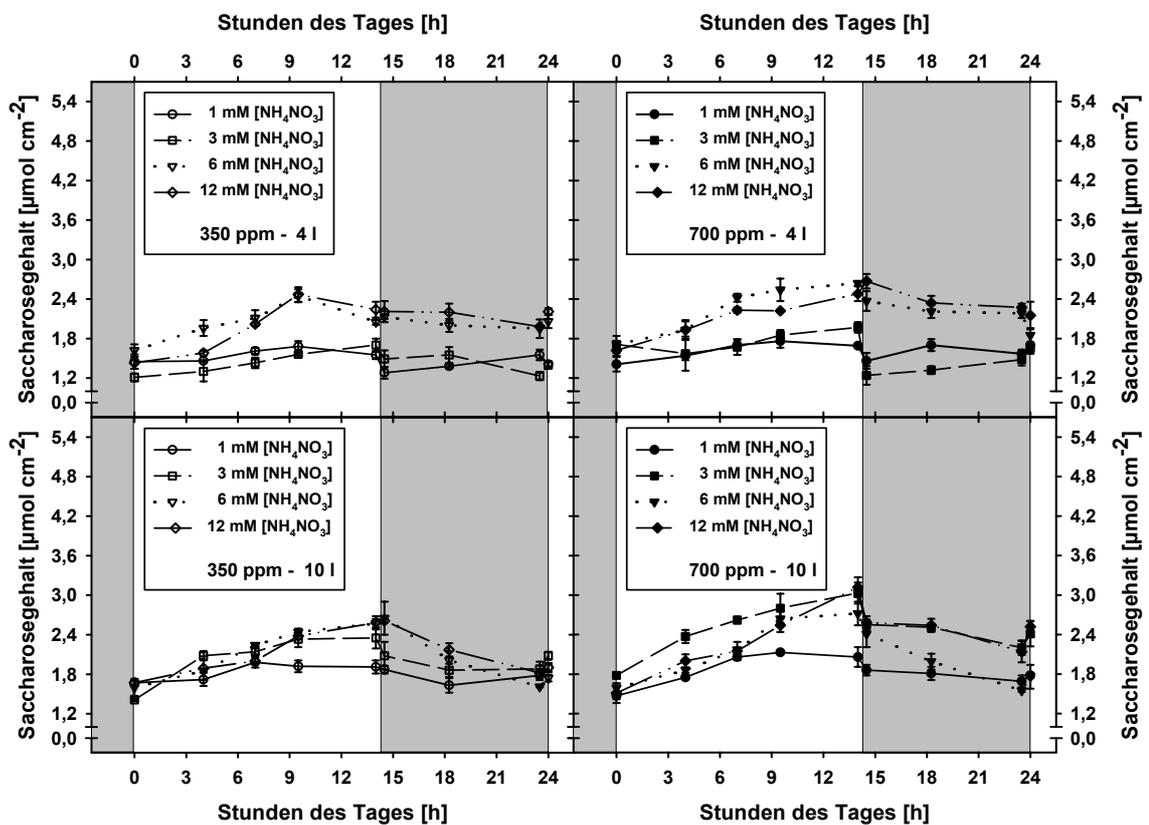


Abb. 3.19: Saccharosegehalt [$\mu\text{mol cm}^{-2}$] des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA

3.2.3.4 Stärke

Der Stärkegehalt im Gewebe des *source*-Blattes # 2 zeigte eine deutliche diurnale Rhythmik. Abbildung 3.20 (Stärkegehalt in Hexoseeinheiten) ist zu entnehmen, dass der Gehalt während der Lichtphase stieg und im Dunkeln linear abnahm. Je niedriger die Stickstoffversorgung war, desto höher war der Stärkepool zu Beginn der Lichtphase, d.h. die im Licht aufgebaute Stärke konnte während der Dunkelphase nicht vollständig abgebaut werden. Auch bei 350 ppm [CO₂] akkumulierte somit Stärke im Blattgewebe. Bei allen Anzuchtschemata überstiegen die Werte von Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] gewachsen waren, die Werte der Kontrollpflanzen bei 350 ppm [CO₂]. Sehr große Unterschiede zwischen den beiden CO₂-Konzentrationen bezüglich des Stärkegehalts traten bei Pflanzen in 10 l Töpfen auf, und hier besonders bei Pflanzen mit geringer Stickstoffversorgung.

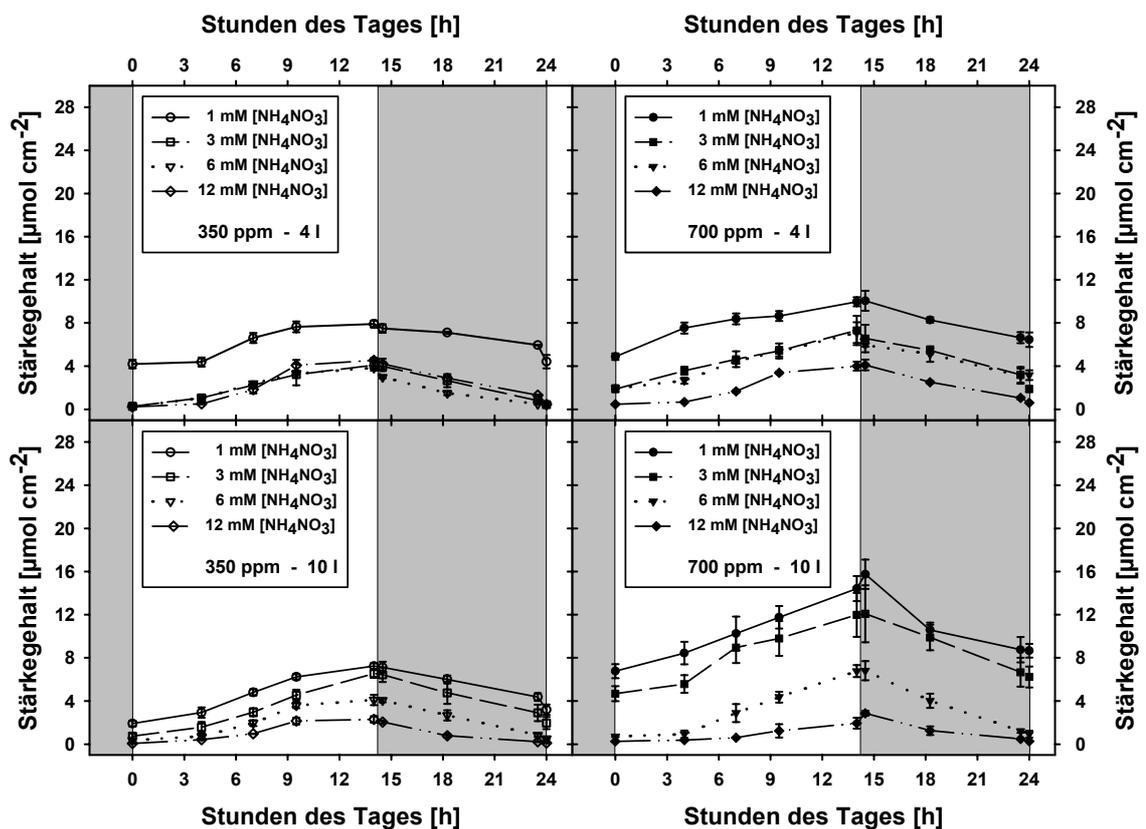


Abb. 3.20: Stärkegehalt [$\mu\text{mol cm}^{-2}$] in Hexoseeinheiten des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA

3.2.4 Mobilisierung von Kohlenstoff in Form von Assimilaten während der Dunkelphase

Die Mobilisierung von Kohlenstoff in Form von Assimilaten im Blattgewebe während der Dunkelphase lässt sich berechnen aus der Differenz des Kohlenstoffgehalts im Blatt zu Beginn und am Ende der Dunkelphase. Diese Differenz wird wesentlich beeinflusst durch den Abbau von transitorischer Stärke. Es ist jedoch die Differenz der Gehalte aller Kohlenhydrate zur Berechnung maßgeblich. In Tabelle 3.12 sind die Raten für die Kohlenstoffabnahme im Blattgewebe während der Dunkelphase wiedergegeben. Bei großem Stärkepool (Abb. 3.20) stieg der Wert für die Kohlenstoffabnahme im Gewebe mit zunehmender Stickstoffkonzentration in der Nährlösung an (1 mM und 3 mM NH_4NO_3). Bei der Versorgung mit 6 mM und 12 mM NH_4NO_3 konnten aufgrund des kleinen bzw. nicht vorhandenen Stärkepools auch geringere Werte für die Kohlenstoffabnahme im Blattgewebe während der Dunkelphase registriert werden. Die Werte für Pflanzen bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ lagen meist über den Werten der Kontrollpflanzen bei 350 ppm $[\text{CO}_2]$. Es war keine eindeutige Abhängigkeit von der Topfgröße zu erkennen.

Tab. 3.12: Kohlenstoffabnahme im Blattgewebe während der Dunkelphase $[\text{mmol C m}^{-2} \text{Dunkelperiode}^{-1}]$ des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm $[\text{CO}_2]$. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . $n=3 \pm \text{MA}$

$[\text{NH}_4\text{NO}_3]$	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm $[\text{CO}_2]$	700 ppm $[\text{CO}_2]$	350 ppm $[\text{CO}_2]$	700 ppm $[\text{CO}_2]$
1 mM	144 ± 12	164 ± 14	168 ± 16	247 ± 11
3 mM	329 ± 39	423 ± 42	279 ± 19	246 ± 18
6 mM	231 ± 12	244 ± 6	175 ± 14	264 ± 24
12 mM	198 ± 8	211 ± 20	248 ± 16	311 ± 29

Die Differenz aus den Daten für die Mobilisierung von Kohlenstoff während der Dunkelphase und den Daten für den Kohlenstoffverlust durch Dunkelrespiration liefert die Werte für den Kohlenstoffexport im Dunkeln.

3.2.5 Kohlenstoffexport aus dem *source*-Gewebe der untersuchten Pflanzen

Der Kohlenstoffexport aus dem *source*-Gewebe wird beinahe ausschließlich durch den Export von Assimilaten bestritten. Bisherige Untersuchungen zeigten unterschiedliche Exportraten bei verschiedenen äußeren CO₂-Konzentrationen (Grimmer & Komor 1999). Im Folgenden sind die Kohlenstoffexportraten im Licht und im Dunkeln bei Pflanzen aufgeführt, die bei 1, 3, 6 und 12 mM NH₄NO₃ in der Nährlösung, in 4 l und in 10 l Töpfen und bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] gewachsen waren.

3.2.5.1 Kohlenstoffexportraten in der Licht- und Dunkelphase

Um den Einfluss der Blattfläche auf den Kohlenstoffexport deutlich zu machen, sind die ermittelten Exportraten auf Quadratmeter, auf die Fläche von Blatt # 2 und auf die gesamte *source*-Blattfläche bezogen dargestellt. Es soll dadurch verdeutlicht werden, dass das *source*-Blatt als Gesamtes als Exportorgan betrachtet werden muss, und dass der Kohlenstoffexport somit wesentlich von den Eigenschaften des Blattes, wie z.B. der Größe, bei den verschiedenen Wachstumsbedingungen abhängt. Die Darstellung des Kohlenstoffexports pro gesamter *source*-Blattfläche soll zeigen, dass der Kohlenstoffexport nicht ausschließlich durch Blatt # 2 bedingt ist. Je nach Anzuchtbedingung wird ein unterschiedliches Maß an Gesamtblattfläche gebildet. Je größer diese gesamte Blattfläche ist, desto höher ist auch der Anteil der *source*-Blattfläche, d.h. es wird mehr Kohlenstoff exportiert. Somit ist ein direkter Zusammenhang zu Wachstum und Biomasseproduktion gegeben.

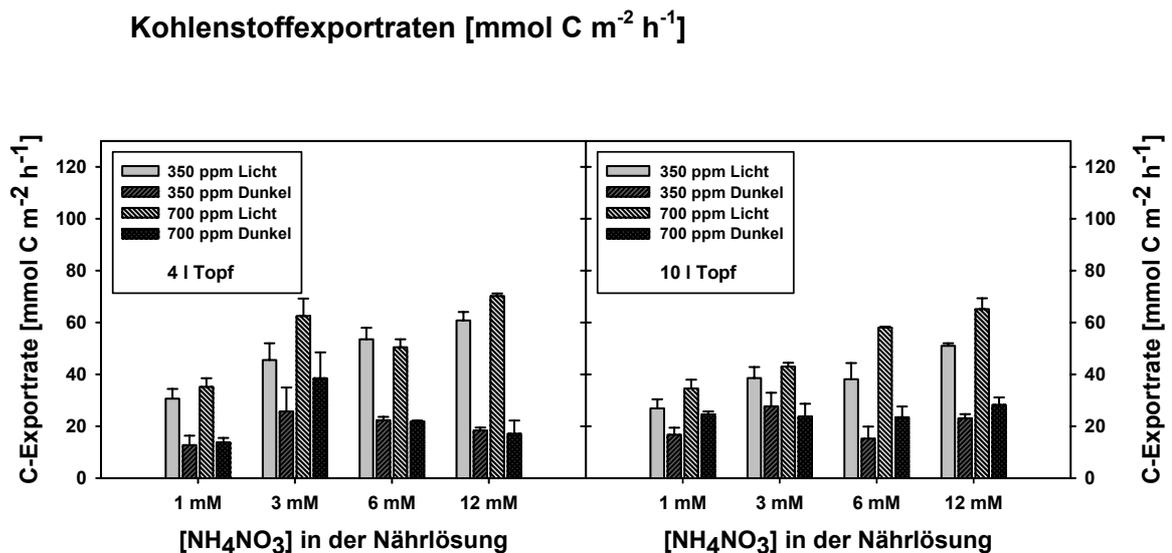


Abb. 3.21: Kohlenstoffexportrate [mmol C m⁻² h⁻¹] des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA

Bei der Betrachtung aller Darstellungen der Kohlenstoffexportraten ist festzustellen, dass die Werte im Licht stets über den Werten im Dunkeln lagen. Werden die Raten auf Quadratmeter bezogen (Abb. 3.21), sind die Unterschiede zwischen den einzelnen Stickstoffversorgungen noch nicht sehr deutlich, eine Tendenz zu höheren Exportraten bei größerer Konzentration von Ammoniumnitrat in der Nährlösung ist jedoch erkennbar. Die Werte für den Kohlenstoffexport bei 700 ppm [CO₂] lagen tags wie nachts meist über den Werten bei 350 ppm [CO₂].

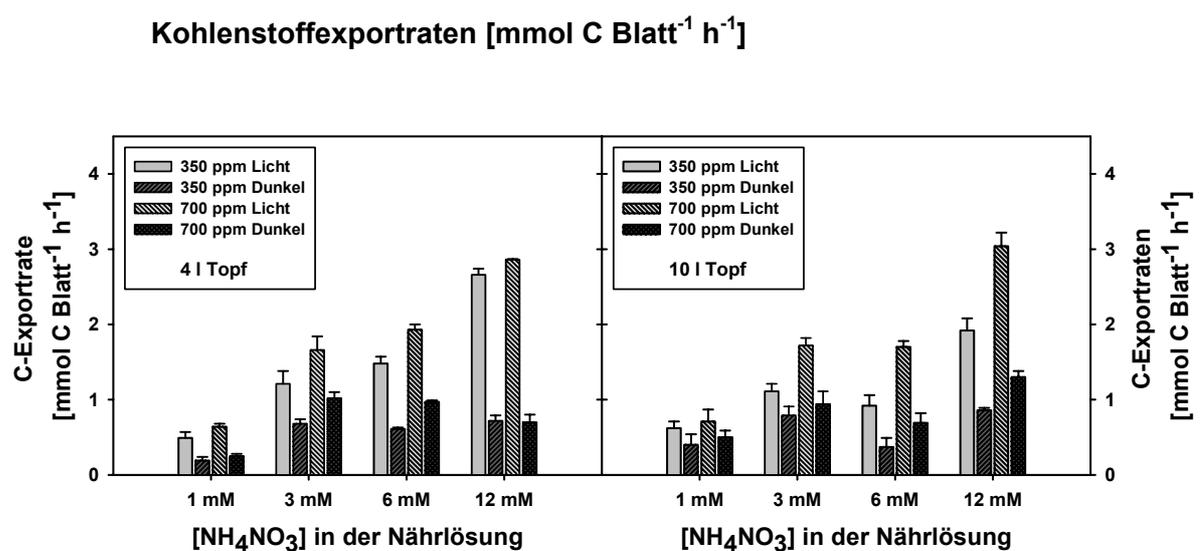


Abb. 3.22: Kohlenstoffexportrate pro Blatt [mmol C Blatt⁻¹ h⁻¹] des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA

Bei der Darstellung der Kohlenstoffexportraten pro Blatt war eine Zunahme der Werte mit steigender Stickstoffversorgung, v.a. bei Pflanzen in 4 l Töpfen, festzustellen (Abb. 3.22). Des Weiteren waren die höheren Exportraten bei Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] gewachsen waren, gegenüber den Pflanzen bei 350 ppm [CO₂] deutlicher zu erkennen.

Kohlenstoffexportraten [mmol C gesamter *source*-Blattfläche⁻¹ h⁻¹]

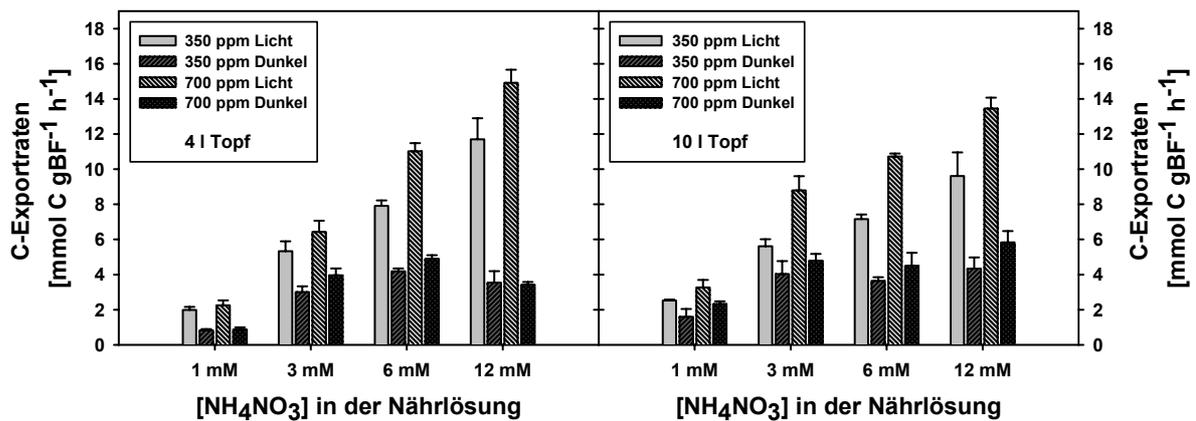


Abb. 3.23: Kohlenstoffexportrate pro gesamter *source*-Blattfläche (gBF) [mmol C gBF⁻¹ h⁻¹] von 37 Tage alten Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA

Die in Abbildung 3.23 dargestellten Kohlenstoffexportraten pro gesamter *source*-Blattfläche zeigen am deutlichsten die Unterschiede in den Werten zwischen Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] und den Werten der Kontrollpflanzen bei 350 ppm [CO₂]. Der Kohlenstoffexport war tags als auch nachts bei 700 ppm [CO₂] immer höher als bei 350 ppm [CO₂]. Die Raten für den Lichtexport stiegen mit zunehmender Stickstoffversorgung an. Die Werte der Exportraten im Dunkeln blieben ab einer Konzentration von 3 mM NH₄NO₃ in der Nährlösung weitestgehend konstant und lagen über den Werten, die für Pflanzen mit einer Stickstoffversorgung von 1 mM NH₄NO₃ kultiviert worden waren. Zwischen Pflanzen in 4 l Töpfen und Pflanzen in 10 l Töpfen sind bezüglich der Kohlenstoffexportraten pro gesamter *source*-Blattfläche keine nennenswerten Unterschiede festzustellen.

3.2.5.2 Anteil des Kohlenstoffexports im Licht an dem durch Nettophotosynthese fixierten Kohlenstoff im Blattgewebe

Aus Abbildung 3.23 geht hervor, dass der größte Anteil am Gesamtkohlenstoffexport des Tages im Licht erfolgte. In Tabelle 3.13 ist der prozentuale Anteil des im Licht exportierten Kohlenstoffs an dem durch Nettophotosynthese fixierten Kohlenstoff zusammengefasst. Die Werte liegen zwischen 53 und 64 % und nehmen mit steigender Stickstoffkonzentration in der Nährlösung bei Pflanzen in 4 l Töpfen schneller zu als bei Pflanzen, die in 10 l Töpfen gewachsen waren. Zwischen beiden CO₂-Konzentrationen waren keine nennenswerten Unterschiede festzustellen.

Tab. 3.13: Anteil des Kohlenstoffexports im Licht [%] an dem durch Nettophotosynthese fixierten Kohlenstoff des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]
1 mM	53 ± 2	53 ± 5	54 ± 3	54 ± 4
3 mM	61 ± 1	59 ± 2	55 ± 4	54 ± 1
6 mM	60 ± 4	60 ± 2	54 ± 2	58 ± 1
12 mM	64 ± 2	61 ± 1	58 ± 2	60 ± 3

Zusammenfassung der Ergebnisse zum Kohlenstoffexport in Form von Assimilaten aus dem source-Gewebe der untersuchten Blätter bei 350 und 700 ppm [CO₂]

Rizinuspflanzen bei 700 ppm [CO₂] zeigten gegenüber Rizinuspflanzen bei 350 ppm [CO₂]

- eine höhere Rate der Nettophotosynthese und Dunkelrespiration,
- eine tendenziell niedrigere Transpirationsrate
- keine Unterschiede im Kohlenstoffanteil des Blattgewebes (ca. 41 %),
- eine höhere Rate der Zunahme von Kohlenstoff im Blattgewebe während der Lichtperiode,
- einen leicht erhöhten Gehalt an Glukose und Fruktose im Blattgewebe,
- keinen Unterschied im Saccharosegehalt im Blattgewebe bei Pflanzen in 4 l Töpfen,
- einen leicht erhöhten Saccharosegehalt im Blattgewebe bei Pflanzen in 10 l Töpfen,
- stets einen höheren Stärkegehalt im Blattgewebe, besonders deutlich bei Pflanzen in 10 l Töpfen
- eine leicht erhöhte Rate der Mobilisierung von Kohlenstoff in der Dunkelphase,
- mit steigender Stickstoffversorgung besonders in der Lichtphase eine deutlich erhöhte Kohlenstoffexportrate aus dem *source*-Blattgewebe,
- keine Unterschiede im Anteil des Kohlenstoffexports im Licht an dem durch Nettophotosynthese fixierten Kohlenstoff im Blattgewebe.

Rizinuspflanzen wiesen mit zunehmender Stickstoffkonzentration in der Nährlösung bei erhöhter CO₂-Konzentration deutlich höhere Kohlenstoffexportraten pro *source*-Blattfläche auf. Diese waren v.a. auf die Exportraten im Licht zurückzuführen, welche maßgeblich durch die Nettophotosyntheseleistung bestimmt werden. Der Kohlenstoffexport in der Dunkelphase wird wesentlich durch den Abbau der transitorischen Stärke beeinflusst. Mit abnehmender Stickstoffversorgung wurde zunehmend Stärke im Blattgewebe angehäuft. Die Fähigkeit zur Mobilisierung dieses Stärkepools und damit zur Steigerung der Exportrate im Dunkeln stieg jedoch nur zwischen 1 mM und 3 mM NH₄NO₃ merklich an und bleibt dann bis 12 mM NH₄NO₃ in der Nährlösung weitestgehend konstant. Bei Pflanzen in 4 l Töpfen waren gesteigerte Kohlenstoffexportraten bei 700 ppm [CO₂] und erhöhter Stickstoffernährung erst bei der Betrachtung des Exports pro gesamter *source*-Blattfläche festzustellen, während bei Pflanzen in 10 l Töpfen erhöhter Kohlenstoffexport bei 700 ppm [CO₂] ab 3 mM [NH₄NO₃] schon auf der Ebene des Blattes # 2 erkennbar war.

3.3 Transport der exportierten Assimilate bei 350 und 700 ppm [CO₂]

Der Transport von Kohlenhydraten in der Pflanze erfolgt im Phloemgewebe. Unter dem Begriff Transport soll in diesem Zusammenhang nicht die aktive Be- und Entladung der Leitungsbahnen sondern die Translokation über längere Strecken in den Siebröhren verstanden werden. Um den Langstreckentransport von Assimilaten zu charakterisieren, ist Kenntnis über deren Konzentration im Siebröhrensaft und deren Fluss in den Siebröhren nötig.

3.3.1 Saccharosekonzentration im Transportgewebe von *source*-Blättern bei 350 und 700 ppm [CO₂]

Saccharose ist bei *Ricinus communis* L. wie bei vielen anderen höheren Pflanzen die Haupttranslokationsform von Kohlenstoff in der Pflanze (Hall & Baker 1972, Smith & Milburn 1980). Dieses Kohlenhydrat wird in den Siebröhren des Phloemgewebes über längere Strecken innerhalb der gesamten Pflanze transportiert. Die Analyse der Saccharosekonzentration des Siebröhrenexsudats von *source*-Blättern liefert demnach Informationen über den Transport des exportierten Kohlenstoffs. Um die Frage der Rezirkulation von Saccharose im Xylemgewebe zu beantworten (Grimmer & Komor 1999), wurde die Saccharosekonzentration des Xylemsafts analysiert.

3.3.1.1 Saccharosekonzentration und Exsudationsraten des Siebröhrenexsudats von Blatt # 2 in der Lichtphase

Im Siebröhrenexsudat von *Ricinus communis* L. ist Saccharose das Kohlenhydrat, welches in der höchsten Konzentration vorkommt. Die ebenfalls analysierten Kohlenhydrate Glukose und Fruktose traten konstant bei allen Anzuchtbedingungen in sehr geringen Konzentrationen zwischen 0,79 und 4,76 mM auf. Die in Abbildung 3.24 dargestellten Saccharosekonzentrationen in der Lichtphase im Siebröhrenexsudat des Blattes # 2 lagen zwischen 420 und 600 mM.

Die Werte für die Saccharosekonzentrationen in den Siebröhrenexsudaten von Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] unterschieden sich nicht von den Werten von Pflanzen, die bei 350 ppm [CO₂] gewachsen waren. Es war bei Pflanzen in 4 l Töpfen eine minimale, bei Pflanzen in 10 l Töpfen eine sehr starke Abnahme der Saccharosekonzentration mit steigender Stickstoffversorgung zu erkennen.

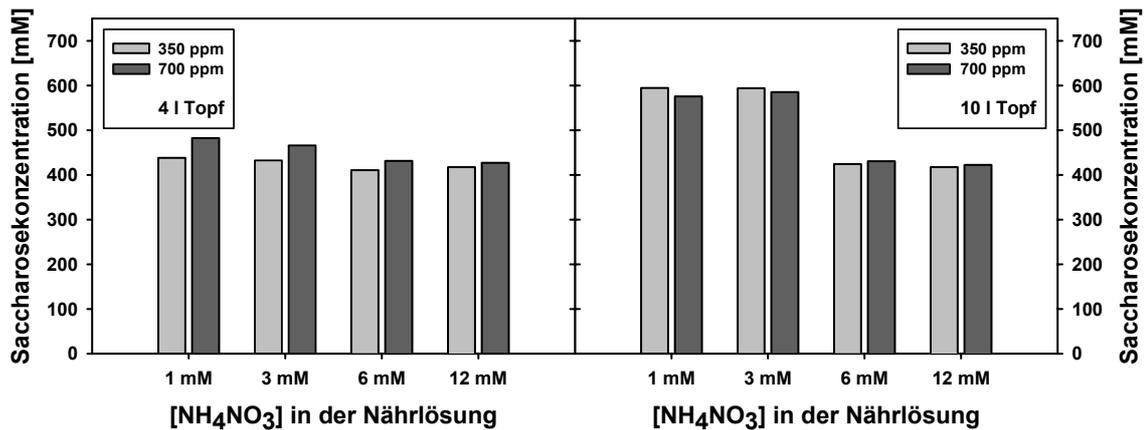


Abb. 3.24: Saccharosekonzentration [mM] in der Lichtphase im Siebröhrenexsudat des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. Damit eine Analyse von Inhaltsstoffen des Siebröhrenexsudats möglich war, wurden die Exsudate aller Pflanzen einer Anzuchtsbedingung vereinigt.

Die Werte für die gemessenen Exsudationsraten von Blatt # 2 waren bei allen Anzuchtsbedingungen nicht einheitlich und wiesen große Schwankungen auf. Es konnten keine Unterschiede bezüglich CO₂-Konzentration und Topfgröße festgestellt werden. Bei Pflanzen, die mit einer höheren Konzentration an NH₄NO₃ in der Nährlösung kultiviert wurden, ließ sich ebenfalls keine höhere Exsudationsrate bestimmen. Der Wert für die durchschnittliche Exsudationsrate des Blattes # 2 lag bei $1,35 \pm 1,12$ [μl min⁻¹].

Die Exsudatnahme in der Dunkelphase stellte sich als sehr schwierig heraus und war nur bei einer Anzuchtsbedingung erfolgreich. Von Pflanzen, die in 4 l Töpfen mit 6 mM NH₄NO₃ gewachsen waren, konnte Siebröhrenexsudat gewonnen werden. Die Saccharosekonzentration betrug darin bei 350 ppm [CO₂] 308 mM, bei 700 ppm [CO₂] 342 mM.

3.3.1.2 Saccharosekonzentration im Xylemsaft

Zur Gewinnung von Xylemsaft wurde nach der Methode von Schurr und Schulze (1995) vorgegangen. Der Xylemsaft wurde mit Hilfe des Drucktopfs aus dem Bereich des Stängels unterhalb des ersten Nodiums gewonnen. Aus Tabelle 3.14 ist ersichtlich, dass die Saccharosekonzentration im Xylemsaft bei allen untersuchten Bedingungen äußerst gering war. Der gemessene Wert ist wahrscheinlich auf Verunreinigung des Xylemsafts mit Siebröhrenexsudat zurückzuführen. Es ist davon auszugehen, dass in den Gefäßen keine Saccharose transportiert wurde.

Tab. 3.14: Saccharosekonzentration [mM] im Xylemsaft von 37 Tage alten Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=6±STABW

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]
1 mM	0,82 ± 0,51	0,99 ± 0,14	1,44 ± 1,21	0,67 ± 0,19
3 mM	1,10 ± 0,32	0,71 ± 0,09	0,85 ± 0,29	0,52 ± 0,08
6 mM	0,42 ± 0,12	0,59 ± 0,32	1,33 ± 0,41	0,73 ± 0,27
12 mM	1,97 ± 0,73	1,02 ± 0,58	2,20 ± 1,66	0,33 ± 0,01

3.3.2 Fläche des Phloemgewebes im Querschnitt der Blattpetiolen

Die Fläche des Phloemgewebes im Querschnitt der Blattpetiolen nahm mit steigender Stickstoffversorgung zu (Tab. 3.15). Der prozentuale Anteil der Phloemfläche an der Gesamtfläche des Petiolenquerschnitts blieb bei allen Anzuchtbedingungen konstant und lag bei 6,62 ± 0,24 %.

Tab. 3.15: Fläche des Phloemgewebes [mm^2] im Querschnitt der Petiolen des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO_2]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . $n=6 \pm \text{STABW}$

[NH_4NO_3]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO_2]	700 ppm [CO_2]	350 ppm [CO_2]	700 ppm [CO_2]
1 mM	0,97 \pm 0,13	1,15 \pm 0,11	1,41 \pm 0,11	1,55 \pm 0,15
3 mM	1,69 \pm 0,18	1,90 \pm 0,15	1,51 \pm 0,15	1,90 \pm 0,16
6 mM	2,53 \pm 0,15	2,76 \pm 0,18	1,93 \pm 0,16	2,31 \pm 0,19
12 mM	3,13 \pm 0,22	3,69 \pm 0,33	2,27 \pm 0,18	2,86 \pm 0,28

Die Unterschiede zwischen Pflanzen bei 350 ppm und Pflanzen, die bei 700 ppm [CO_2] gewachsen waren, stiegen mit zunehmender Konzentration von Ammoniumnitrat in der Nährlösung. Die Fläche des Phloemgewebes von Blatt # 2 war bei Pflanzen, die in 4 l Töpfen kultiviert wurden, bei 6 mM NH_4NO_3 und 12 mM NH_4NO_3 deutlich größer als bei Pflanzen in 10 l Töpfen, bei 3 mM NH_4NO_3 etwa gleich groß und bei 1 mM NH_4NO_3 deutlich geringer. Eine morphologische Änderung des Phloemgewebes bei 700 ppm [CO_2] konnte nicht erkannt werden. So war z.B. nicht festzustellen, ob das Lumen der Siebröhren oder der Geleitzellen bzw. das des Phloemparenchyms bei erhöhter CO_2 -Konzentration zunimmt. Eine repräsentative Zunahme der Zellzahl im Phloemgewebe bei 700 ppm [CO_2] war ebenfalls nicht eindeutig nachweisbar.

3.3.3 Fluss des in Form von Assimilaten exportierten Kohlenstoffs im Phloemgewebe bei 350 und 700 ppm [CO₂]

Aus den Kohlenstoffexportraten pro Blatt und der Querschnittsfläche des Phloemgewebes lassen sich die Flussraten des exportierten Kohlenstoffs berechnen (Tab. 3.16).

Tab. 3.16: Flussraten des im Licht exportierten Kohlenstoffs [mmol C mm⁻² h⁻¹] in den Petiolen des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen, sowie die Differenz der Flussraten [%]. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃.

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l			Topfvolumen 10 l		
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	Differenz ₍₇₀₀₋₃₅₀₎ [%]	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	Differenz ₍₇₀₀₋₃₅₀₎ [%]
1 mM	0,51	0,56	9,80	0,44	0,46	4,55
3 mM	0,71	0,87	22,53	0,74	0,91	22,97
6 mM	0,58	0,70	20,69	0,48	0,74	54,17
12 mM	0,75	0,78	4,00	0,85	1,06	24,71

Aus Tabelle 3.16 geht hervor, dass die Flussraten des im Licht exportierten Kohlenstoffs bei Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] gewachsen waren, bei jeder Stickstoffversorgung und Topfgröße über den Flussraten von Pflanzen bei 350 ppm [CO₂] lagen. Dies zeigen die Werte für die Differenz der Flussraten. Die deutlichsten Unterschiede waren bei Pflanzen in 4 l Töpfen bei einer Versorgung von 3 mM und 6 mM NH₄NO₃ zu beobachten, während bei einer Konzentration von 12 mM NH₄NO₃ fast keine und bei 1 mM NH₄NO₃ auch nur eine geringe Differenz in den Flussraten zu bestimmen war. Bei der Betrachtung von Pflanzen, die in 10 l Töpfen kultiviert worden waren, ist zu erkennen, dass der Unterschied in den Flussraten bei 350 und 700 ppm [CO₂] bei Pflanzen mit höherer Stickstoffversorgung größer war als bei Pflanzen, die mit 1 mM NH₄NO₃ gewachsen waren. Der mit Abstand größte Wert für die Differenz in den Flussraten zwischen 350 und 700 ppm [CO₂] wurde für Pflanzen bei 6 mM NH₄NO₃ berechnet.

Zusammenfassung der Ergebnisse zum Transport der exportierten Assimilate bei 350 und 700 ppm [CO₂]

Rizinuspflanzen bei 700 ppm [CO₂] zeigten gegenüber Rizinuspflanzen bei 350 ppm [CO₂]

- eine nicht oder nur sehr geringfügig erhöhte Saccharosekonzentration im Siebröhrenexsudat,
- in beiden Fällen kein Vorkommen von Saccharose im Xylemsaft,
- eine größere Fläche des Phloemgewebes im Querschnitt der Petiolen von Blatt # 2,
- erhöhte Flussraten des im Licht exportierten Kohlenstoffs

Rizinuspflanzen wiesen unabhängig von der Stickstoffkonzentration in der Nährlösung bei erhöhter CO₂-Konzentration eine nicht oder nur sehr leicht erhöhte Saccharosekonzentration im Siebröhrenexsudat auf. Es fand keine Rezirkulation von Saccharose durch das Xylem statt. Aufgrund der größeren Blätter bei 700 ppm [CO₂] im Vergleich zu 350 ppm [CO₂] war auch der Querschnitt der Petiolen vergrößert. Der prozentuale Anteil der Phloemfläche an der Fläche des Querschnitts blieb nahezu konstant (ca. 6,5 %) und somit ergab sich eine größere totale Fläche des Phloemgewebes bei 700 ppm [CO₂]. Für Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] kultiviert wurden, konnte bei allen Bedingungen eine erhöhte Flussrate des exportierten Kohlenstoffs in der Lichtphase berechnet werden. Da die Saccharosekonzentration im Siebröhrenexsudat jedoch nicht deutlich erhöht war, muss von einer höheren Flussgeschwindigkeit ausgegangen werden.

3.4 Stickstoffgehalt und Nitratassimilation der untersuchten Pflanzen

Stickstoff gilt als das wichtigste der Hauptnährelemente und kommt nach Kohlenstoff, Sauerstoff und Wasserstoff als vierthäufigstes Element in der pflanzlichen Biomasse vor (Larcher 1994). Durch die Verfügbarkeit von Stickstoff in Form von Nitrat- und / oder Ammoniumionen werden die Pflanzen entscheidend in ihrem Stoffwechsel und somit in ihrer gesamten Entwicklung beeinflusst. Eine besondere Bedeutung kommt der Stickstoffversorgung von Pflanzen bei erhöhten atmosphärischen CO₂-Konzentrationen zu (Stitt & Krapp 1999). Im Folgenden sollen wiederum unter dem Aspekt des Einflusses von erhöhter äußerer CO₂-Konzentration, von verschiedener Topfgröße und von verschieden hoher Stickstoffversorgung Ergebnisse zum Gesamtstickstoffgehalt im Blattgewebe, zur Stickstoffnutzungseffizienz der Photosynthese, zum Nitratgehalt in verschiedenen Geweben, zur Nitratreduktaseaktivität im Blatt- und Wurzelgewebe, zum Aminosäuregehalt in verschiedenen Teilen der Pflanze und zum Proteingehalt in *source*-Blättern gezeigt werden.

3.4.1 Stickstoffgehalt im *source*-Gewebe

3.4.1.1 Stickstoffanteil des Blattgewebes

Der Stickstoffanteil im Blattgewebe nahm mit steigender Ammoniumnitratkonzentration in der Nährlösung zu (Tab 3.17).

Tab. 3.17: Stickstoffanteil [%] am Trockengewicht des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]
1 mM	4,02 ± 0,14	3,25 ± 0,21	4,87 ± 0,14	3,88 ± 0,10
3 mM	4,76 ± 0,34	3,78 ± 0,32	5,57 ± 0,13	4,34 ± 0,40
6 mM	5,90 ± 0,16	4,88 ± 0,68	6,17 ± 0,13	5,35 ± 0,20
12 mM	6,85 ± 0,37	6,57 ± 0,16	6,31 ± 0,18	6,25 ± 0,14

Blätter von Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] gewachsen waren, wiesen stets einen niedrigeren Stickstoffanteil am Trockengewicht des Blattgewebes auf als die Kontrollpflanzen bei 350 ppm [CO₂]. Dies wurde auch für Rizinuspflanzen bei anderen Anzuchtbedingungen gefunden (Grimmer 1999). Bei 1, 3, und 6 mM NH₄NO₃ in der Nährlösung waren die Werte für den Stickstoffanteil im Blattgewebe bei Pflanzen in 10 l Töpfen höher als bei Pflanzen in 4 l Töpfen, bei einer Stickstoffversorgung von 12 mM NH₄NO₃ waren kaum noch Unterschiede zu erkennen.

3.4.1.2 Stickstoffgehalt im *source*-Blatt # 2

Bei der Betrachtung des Stickstoffgehalts pro Blatt stellte sich jedoch heraus, dass aufgrund der größeren Fläche das Blatt # 2 von Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] einen höheren Stickstoffgehalt aufwies als das von Pflanzen bei 350 ppm [CO₂] (Tab. 3.18). Je mehr Ammoniumnitrat sich in der Nährlösung befand, desto höher war der Stickstoffgehalt im Blatt. Bei sehr geringer und sehr hoher Stickstoffversorgung ließen sich kaum Unterschiede in den Werten zwischen 350 und 700 ppm [CO₂] feststellen. Die deutlichsten Differenzen traten bei einer Konzentration von 3 und 6 mM NH₄NO₃ in der Nährlösung auf. Hier lag der Wert des Stickstoffgehalts pro Blatt # 2 von Pflanzen, die bei der höheren CO₂-Konzentration gewachsen waren, stets über dem Wert, der für das Blatt # 2 von Pflanzen, die bei 350 ppm [CO₂] ermittelt wurde.

Tab. 3.18: Stickstoffgehalt [mmol Blatt⁻¹] des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]
1 mM	2,33 ± 0,27	2,43 ± 0,67	3,79 ± 0,23	3,76 ± 0,38
3 mM	3,86 ± 0,15	4,21 ± 0,05	4,95 ± 0,28	6,02 ± 0,19
6 mM	6,59 ± 0,06	8,04 ± 0,79	5,73 ± 0,39	6,46 ± 0,11
12 mM	10,15 ± 1,09	10,47 ± 1,55	9,18 ± 0,62	12,75 ± 1,95

3.4.1.3 C/N-Verhältnis

Aus den in Kap. 3.2.1.5 und den in Kap. 3.4.1.1 dargestellten Werten des Kohlenstoffanteils bzw. Stickstoffanteils im Gewebe des Blattes # 2 lässt sich das C/N-Verhältnis im *source*-Gewebe bestimmen (Tab. 3.19).

Tab. 3.19: C/N-Verhältnis des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]
1 mM	10,30 ± 0,49	12,76 ± 0,86	8,61 ± 0,11	11,02 ± 0,44
3 mM	8,72 ± 0,70	10,75 ± 0,86	7,52 ± 0,11	9,40 ± 0,58
6 mM	7,12 ± 0,16	8,59 ± 0,69	6,60 ± 0,33	7,58 ± 0,33
12 mM	6,18 ± 0,32	6,24 ± 0,17	6,62 ± 0,25	6,74 ± 0,36

Da der Kohlenstoffanteil des Trockengewichts im Blattgewebe weitestgehend konstant blieb, wurde das C/N-Verhältnis stark durch den Stickstoffanteil des Trockengewichts bestimmt. Demzufolge lag der Wert für das C/N-Verhältnis im Gewebe des Blattes # 2 bei Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] gewachsen waren, immer über den Werten von Pflanzen bei 350 ppm [CO₂]. Mit zunehmender Stickstoffversorgung nahm das C/N-Verhältnis im Blattgewebe ab. Bei Pflanzen, die mit 1, 3, und 6 mM NH₄NO₃ in der Nährlösung kultiviert wurden, waren deutliche Unterschiede in den Werten des C/N-Verhältnisses zu erkennen, v.a. bei der Betrachtung verschiedener Topfgrößen: Das C/N-Verhältnis von Pflanzen in 4 l Töpfen war stets größer als das von Pflanzen in 10 l Töpfen. Pflanzen mit 12 mM Ammoniumnitrat in der Nährlösung zeigten ein nahezu konstantes C/N-Verhältnis im *source*-Blattgewebe.

3.4.2 Stickstoffnutzungseffizienz (NUE) der Photosynthese

Unter dem Koeffizienten der Stickstoffnutzungseffizienz (*nitrogen use efficiency*, NUE) der Photosynthese versteht man das Verhältnis der Photosyntheseleistung zu dem Gehalt an Stickstoff pro Flächeneinheit (Hirose & Werger 1987). Diese Relationen sind für Pflanzen bei den untersuchten Bedingungen in Abbildung 3.25 wiedergegeben.

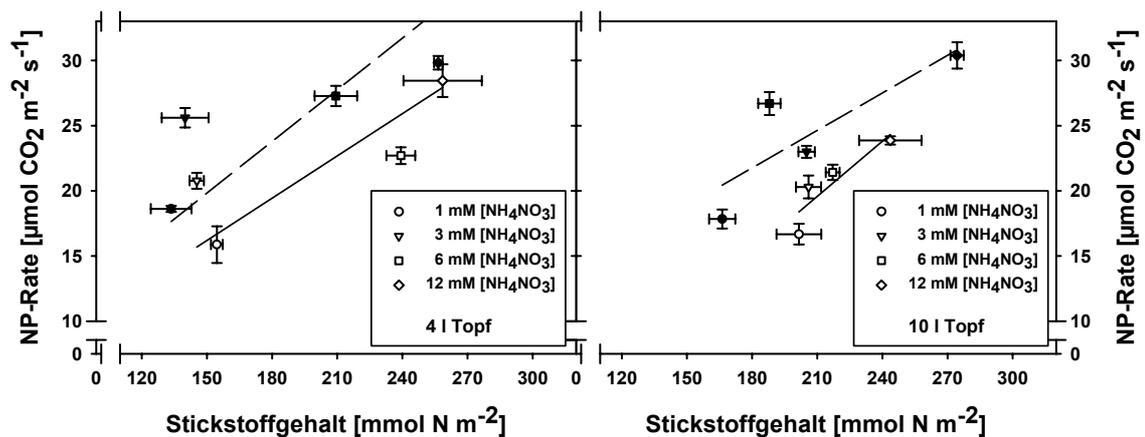


Abb. 3.25: Relation der Nettophotosyntheserate (NP-Rate) zum Stickstoffgehalt bei dem 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm (offene Symbole) und 700 ppm [CO₂] (ausgefüllte Symbole) in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA. Die durchgezogene Ausgleichsgerade repräsentiert die Werte für 350 ppm, die gestrichelte die Werte für 700 ppm [CO₂].

Durch die Ausgleichsgeraden (durchgezogen für Pflanzen bei 350 ppm [CO₂], gestrichelt für Pflanzen bei 700 ppm [CO₂]) kommt in Abbildung 3.25 zum Ausdruck, dass Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] eine wesentlich höhere Photosyntheseleistung pro Stickstoffgehalt aufwiesen, als die Kontrollpflanzen bei 350 ppm [CO₂]. Dies repräsentieren auch die Werte für die Koeffizienten der Stickstoffnutzungseffizienz, die in Tabelle 3.20 wiedergegeben sind.

Tab. 3.20: NUE [µmol CO₂ m⁻² s⁻¹ / mmol N m⁻²] des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. Zur Verdeutlichung der Unterschiede zwischen 350 und 700 ppm [CO₂] sind die P-Werte der t-Tests angegeben. n=3±MA

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l			Topfvolumen 10 l		
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	P	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	P
1 mM	0,106 ± 0,012	0,141 ± 0,010	0,05	0,083 ± 0,003	0,109 ± 0,006	0,02
3 mM	0,144 ± 0,009	0,185 ± 0,018	0,04	0,099 ± 0,002	0,113 ± 0,005	0,05
6 mM	0,095 ± 0,005	0,132 ± 0,009	0,02	0,099 ± 0,006	0,143 ± 0,010	0,01
12 mM	0,111 ± 0,004	0,117 ± 0,003	0,64	0,099 ± 0,006	0,111 ± 0,004	0,24

Der Wert für den Koeffizient der Stickstoffnutzungseffizienz (NUE) der Photosynthese von Blatt # 2 lag bei Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] immer über dem Wert für Pflanzen bei 350 ppm [CO₂] (Tab. 3.16). Die Unterschiede zwischen beiden CO₂-Konzentrationen waren bei 1, 3 und 6 mM NH₄NO₃ im Gegensatz zu 12 mM NH₄NO₃ signifikant. Es ist deshalb davon auszugehen, dass sich die Werte für den Koeffizient der NUE bei 12 mM NH₄NO₃ zwischen den beiden CO₂-Konzentrationen nicht unterschieden. Blatt # 2 von Pflanzen in 4 l Töpfen wies eine höhere Stickstoffnutzungseffizienz der Photosynthese bei niedrigerer Stickstoffversorgung (1 mM und 3 mM NH₄NO₃) auf als Blatt # 2 von Pflanzen in 10 l Töpfen. Ab einer Konzentration von 6 mM NH₄NO₃ relativierten sich diese Unterschiede. Mit steigender Stickstoffkonzentration in der Nährlösung war keine tendenzielle Entwicklung der Werte festzustellen.

3.4.3 Nitratgehalt in Blatt- und Wurzelgewebe

Der Nitratgehalt wurde von Gewebe des *source*-Blattes # 2 und im Wurzelgewebe im Licht und im Dunkeln gemessen. Aus den Exsudaten der Xylemgefäße und der Siebröhren wurde die Nitratkonzentration bestimmt.

3.4.3.1 Nitratgehalt des *source*-Blattes # 2

Der Nitratgehalt im *source*-Blattgewebe stieg mit zunehmender Konzentration von Ammoniumnitrat in der Nährlösung an (Abb. 3.26).

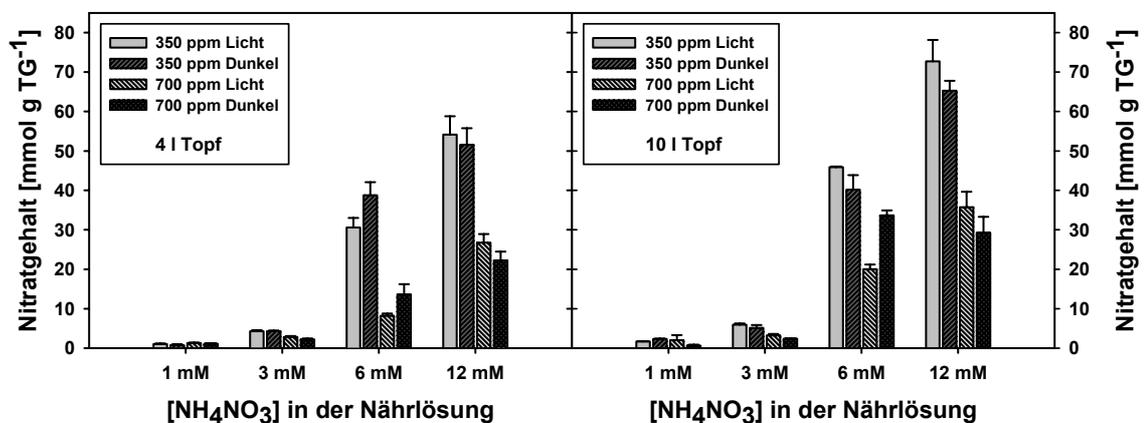


Abb. 3.26: Nitratgehalt [mmol g Blatt-TG⁻¹] in der Mitte der Licht- bzw. Dunkelphase des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=4±STABW.

Bei Pflanzen, die mit 1 mM NH_4NO_3 versorgt worden waren, ließen sich keine Unterschiede im Nitratgehalt von Blatt # 2 weder zwischen den beiden CO_2 -Konzentrationen noch zwischen den beiden Topfgrößen feststellen. Dies galt noch bedingt für Pflanzen mit 3 mM NH_4NO_3 in der Nährlösung, wobei hier bereits zu erkennen war, dass der Nitratgehalt im Blattgewebe von Pflanzen bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ leicht unter dem der Kontrollpflanzen bei 350 ppm $[\text{CO}_2]$ lag. Dieser Unterschied zeigte sich sehr deutlich bei Pflanzen, die mit 6 mM und mit 12 mM NH_4NO_3 sowohl in 4 l als auch in 10 l Töpfen kultiviert worden waren. Bei diesen Pflanzen ist ebenfalls zu sehen, dass die Werte des Nitratgehaltes von Pflanzen in 10 l Töpfen höher waren als die Werte von Pflanzen, die in 4 l Töpfen gewachsen waren. Bezüglich der Höhe des Nitratgehalts im Blattgewebe im Licht und im Dunkel läßt sich keine klare Tendenz erkennen. So kann nicht davon ausgegangen werden, dass der Nitratgehalt im Licht generell höher war als während der Dunkelphase.

3.4.3.2 Nitratgehalt der Wurzel

Gleich den Werten für den Nitratgehalt in *source*-Blattgewebe nahmen auch die Werte des Nitratgehalts im Wurzelgewebe mit steigender Konzentration an NH_4NO_3 in der Nährlösung zu (Abb. 3.27). Wiederum war der Unterschied zwischen Pflanzen mit einer Versorgung von 3 mM und 6 mM NH_4NO_3 sowohl bei Pflanzen in 4 l Töpfen als auch bei Pflanzen in 10 l Töpfen am deutlichsten. Das Wurzelgewebe von Pflanzen mit größerem Wurzelraum enthielt bei 6 mM und 12 mM NH_4NO_3 mehr Nitrat als das von Pflanzen, deren Wurzeln einen kleineren Raum zur Verfügung hatten, bei 1 mM und 3 mM NH_4NO_3 waren diese Unterschiede nicht signifikant. Pflanzen, die bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ gewachsen waren, wiesen stets einen niedrigeren Nitratgehalt im Wurzelgewebe auf als Pflanzen bei 350 ppm $[\text{CO}_2]$. Im Licht wurde immer ein höherer Nitratgehalt gemessen als im Dunkel.

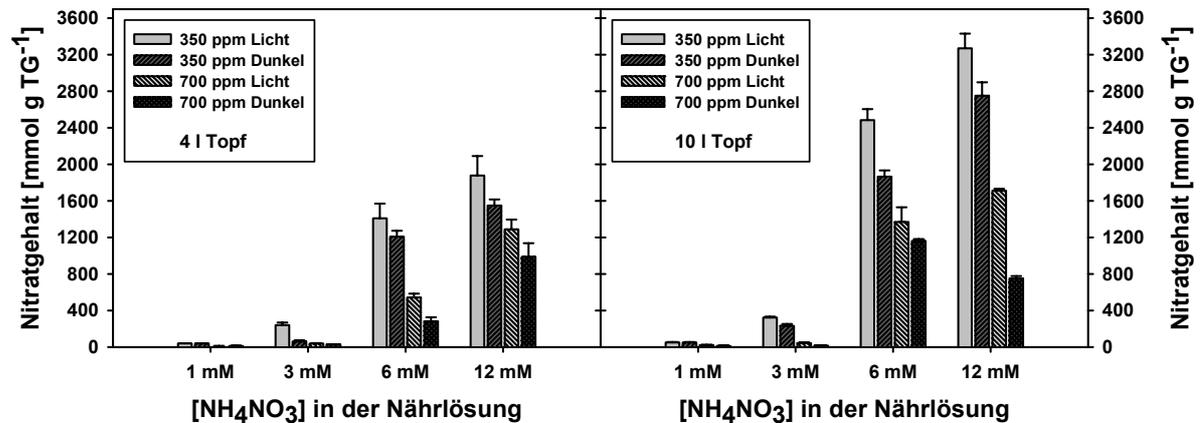


Abb. 3.27: Nitratgehalt [$\text{mmol g Wurzel-TG}^{-1}$] in der Mitte der Licht- bzw. Dunkelphase im Wurzelgewebe von 37 Tage alten Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm $[\text{CO}_2]$ in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . $n=4\pm\text{STABW}$.

3.4.3.3 Nitratkonzentration im Xylemsaft

Tabelle 3.21 ist zu entnehmen, dass die gemessene Nitratkonzentration im Xylemsaft mit steigender Stickstoffversorgung zunahm. Bei Pflanzen, die bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ gewachsen waren, wurde eine höhere Konzentration ermittelt als bei den Kontrollpflanzen bei 350 ppm $[\text{CO}_2]$. Es konnten bei keiner CO_2 -Konzentration maßgebliche Unterschiede in der Nitratkonzentration zwischen Pflanzen in 4 l Töpfen und Pflanzen in 10 l Töpfen festgestellt werden. Die Differenz der Werte für die Nitratkonzentration im Xylemsaft zwischen Pflanzen, die bei 350 ppm und Pflanzen, die bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ gewachsen waren vergrößerte sich mit zunehmender Ammoniumnitratkonzentration in der Nährlösung. Während bei 1 mM NH_4NO_3 kein Unterschied festzustellen war, lag die Differenz bei 3 mM NH_4NO_3 durchschnittlich bei rund 50 %, bei 6 mM NH_4NO_3 etwa bei 80 % und bei 12 mM NH_4NO_3 bei ca. 100 %.

Tab. 3.21: Nitratkonzentration [mM] im Xylemsaft von 37 Tage alten Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]
1 mM	1,11 ± 0,12	1,18 ± 0,23	1,27 ± 0,33	1,35 ± 0,50
3 mM	1,95 ± 0,16	2,54 ± 0,53	1,64 ± 0,40	2,73 ± 0,52
6 mM	2,98 ± 0,38	4,95 ± 0,23	2,71 ± 0,37	5,37 ± 0,18
12 mM	4,71 ± 0,62	9,98 ± 0,34	5,12 ± 0,16	10,07 ± 1,57

3.4.3.4 Nitratkonzentration im Siebröhrenexsudat von Blatt # 2

Im Siebröhrenexsudat des Stängels von Rizinuspflanzen konnte eine Nitratkonzentration von 3 mM gemessen werden (Smith & Milburn 1980). Die Nitratkonzentration im Siebröhrenexsudat des *source*-Blattes # 2 ist in Tabelle 3.22 dargestellt. Hier war der Wert für Pflanzen in 4 l und 10 l Töpfen bei 700 ppm [CO₂] und einer Stickstoffversorgung von 12 mM NH₄NO₃ besonders bemerkenswert, da dieser Wert von ca. 7 mM alle anderen deutlich überstieg. Es waren bei den anderen kaum Unterschiede zwischen den CO₂-Konzentrationen oder Topfgrößen festzustellen, und obwohl die Nitratkonzentration mit zunehmender Ammoniumnitratkonzentration in der Nährlösung leicht anstieg, waren die absoluten Werte sehr gering.

Tab. 3.22: Nitratkonzentration [mM] im Siebröhrenexsudat des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. Damit eine Analyse von Inhaltsstoffen des Siebröhrenexsudats möglich war, wurden die Exsudate aller Pflanzen einer Anzuchsbedingung vereinigt.

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]
1 mM	0,03	0,02	0,03	0,02
3 mM	0,21	0,12	0,20	0,09
6 mM	1,22	1,41	0,76	1,73
12 mM	1,69	7,54	1,18	6,80

3.4.4 Nitratreduktaseaktivität in Blatt- und Wurzelgewebe

Die Nitratreduktaseaktivität (NRA) wurde im *source*-Blatt- und im Wurzelgewebe *in vivo* gemessen (Gebauer et al. 1984, Gebauer 1990), wobei die Probennahme in der Mitte der Licht- bzw. Dunkelphase erfolgte.

3.4.4.1 Nitratreduktaseaktivität im Gewebe des *source*-Blattes # 2

Die Nitratreduktaseaktivität im *source*-Blattgewebe stieg mit zunehmender Konzentration von Ammoniumnitrat in der Nährlösung (Abb. 3.28). Es waren keine deutlichen Unterschiede in den Werten für die NRA von Pflanzen in 4 l Töpfen und Pflanzen in 10 l Töpfen zu erkennen. Bei Pflanzen, die mit 1 mM NH_4NO_3 versorgt wurden, war die NRA unabhängig von Topfgröße, CO_2 -Konzentration und Tageszeit etwa gleich hoch.

Dies galt weitestgehend auch für Pflanzen mit 3 mM NH_4NO_3 in der Nährlösung. Bei Pflanzen in 4 l Töpfen, die bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ gewachsen waren, war bei dieser Stickstoffkonzentration jedoch bereits ein Absinken der NRA im Dunkeln zu erkennen.

Wurden die Pflanzen mit 6 mM NH_4NO_3 kultiviert, konnten im Licht deutlich höhere Werte für die NRA bestimmt werden als im Dunkel. Pflanzen, die bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ gewachsen waren, zeigten im Licht eine höhere NRA als Pflanzen bei 350 ppm $[\text{CO}_2]$.

Bei einer Versorgung mit 12 mM NH_4NO_3 in der Nährlösung war im *source*-Blattgewebe von Pflanzen bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ zu jeder Tageszeit eine höhere NRA festzustellen als bei den Kontrollpflanzen bei 350 ppm $[\text{CO}_2]$. Auch hier überstiegen die Werte im Licht die Werte im Dunkel.

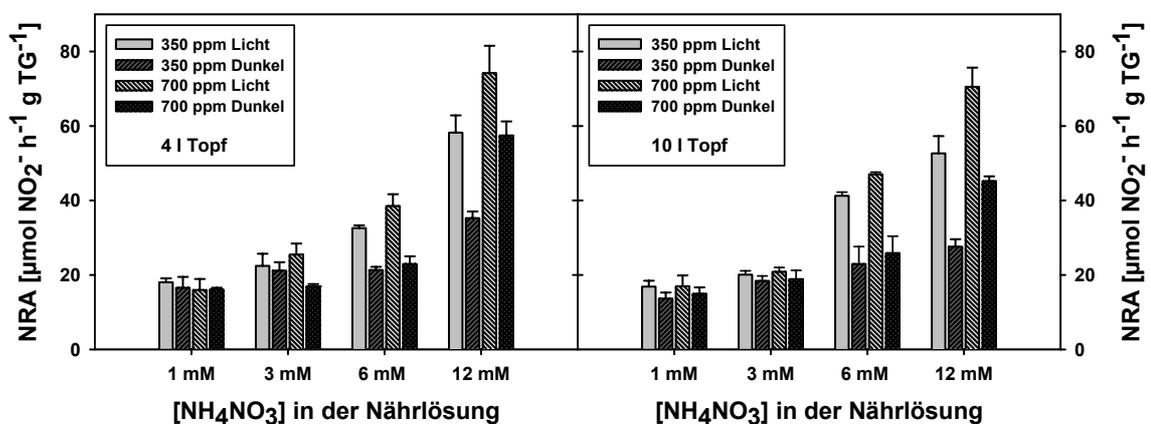


Abb. 3.28: Nitratreduktaseaktivität (NRA) [$\mu\text{mol NO}_2^- \text{h}^{-1} \text{g TG}^{-1}$] in der Mitte der Licht- bzw. Dunkelphase im Gewebe des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm $[\text{CO}_2]$ in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . $n=3\pm\text{MA}$.

3.4.4.2 Nitratreduktaseaktivität im Wurzelgewebe

Abbildung 3.29 ist zu entnehmen, dass, gleich der Werte im *source*-Blattgewebe, die Werte der NRA im Wurzelgewebe mit zunehmender Stickstoffversorgung anstiegen. Der deutlichste Unterschied zwischen der NRA in den beiden Organen bestand jedoch darin, dass im Wurzelgewebe die Werte für Pflanzen, die bei 350 ppm [CO₂] gewachsen waren, stets die für Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] überstiegen.

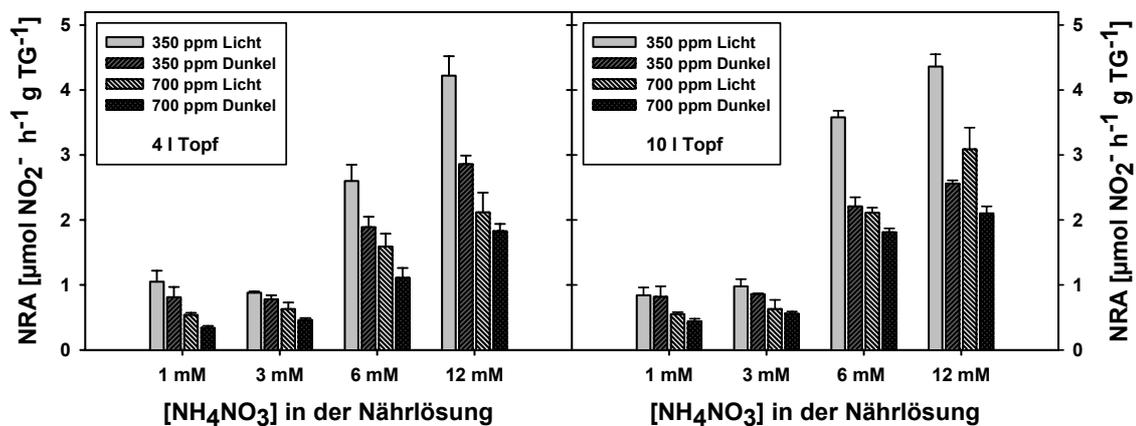


Abb. 3.29: Nitratreduktaseaktivität (NRA) [$\mu\text{mol NO}_2^- \text{h}^{-1} \text{g TG}^{-1}$] in der Mitte der Licht- bzw. Dunkelphase im Wurzelgewebe von 37 Tage alten Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA.

Dies galt sowohl für die Licht- als auch für die Dunkelwerte. Die Nitratreduktaseaktivität im Wurzelgewebe war bei Pflanzen mit einer Versorgung von 6 und 12 mM NH₄NO₃ im Dunkel deutlich niedriger als im Licht. Bei Pflanzen, die mit 1 und 3 mM NH₄NO₃ in der Nährlösung kultiviert wurden, war diese markante Differenz nicht feststellbar; hier unterschieden sich auch die Werte der NRA von Pflanzen in 4 l Töpfen und Pflanzen in 10 l Töpfen nicht wesentlich. War die Stickstoffkonzentration größer (6 bzw. 12 mM NH₄NO₃), konnten bei Pflanzen, die einen größeren Wurzelraum zum Wachstum zur Verfügung hatten, tendenziell höhere Werte der NRA im Wurzelgewebe bestimmt werden.

3.4.5 Aminosäuregehalt in Blatt # 2

Der Aminosäuregehalt im *source*-Blattgewebe und die Aminosäurekonzentration im Siebröhrenexsudat wurde aus Proben bzw. Exsudaten bestimmt, die in der Mitte der Lichtphase genommen wurden. Zur näheren Betrachtung sind im Folgenden die Aminosäuren Glutamin, Glutamat, Asparagin, Aspartat, Serin und Glycin ausgewählt. Im Anhang sind die Gehalte bzw. Konzentrationen aller gemessenen Aminosäuren aufgeführt. Glutamin, Glutamat, Asparagin und Aspartat sind die wichtigsten Substrate für Transaminasen, die beim Einbau von Stickstoff in organische Verbindungen unerlässlich sind. Die Verhältnisse von Glutamin zu Glutamat bzw. Asparagin zu Aspartat sollen Aufschluss darüber geben, wie gut der assimilierte Stickstoff eingebaut wird. Das Verhältnis von Serin zu Glycin gilt als ein Maß für die Höhe der Photorespiration.

3.4.5.1 Aminosäuregehalt im Gewebe des *source*-Blattes # 2

Die Aminosäuregehalte im Gewebe von Blatt # 2 sind in Abbildung 3.30 zusammengefasst.

Glutamin und Glutamat

Während bei der Versorgung mit 1 und 3 mM NH_4NO_3 bei beiden CO_2 -Konzentrationen und Topfgrößen ein höherer Gehalt an Glutamat gegenüber Glutamin im Gewebe gemessen wurde, kehrte sich dieses Verhältnis bei einer Konzentration von 6 bzw. 12 mM NH_4NO_3 in der Nährlösung um.

Tab. 3.23: Glutamin zu Glutamat Verhältnis [$\mu\text{mol g TG}^{-1}$ / $\mu\text{mol g TG}^{-1}$] im Gewebe des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm $[\text{CO}_2]$. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 .

[NH_4NO_3]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm $[\text{CO}_2]$	700 ppm $[\text{CO}_2]$	350 ppm $[\text{CO}_2]$	700 ppm $[\text{CO}_2]$
1 mM	0,20	0,13	0,09	0,07
3 mM	0,58	0,63	0,40	0,09
6 mM	1,82	1,84	2,15	1,32
12 mM	4,60	3,78	2,90	12,89

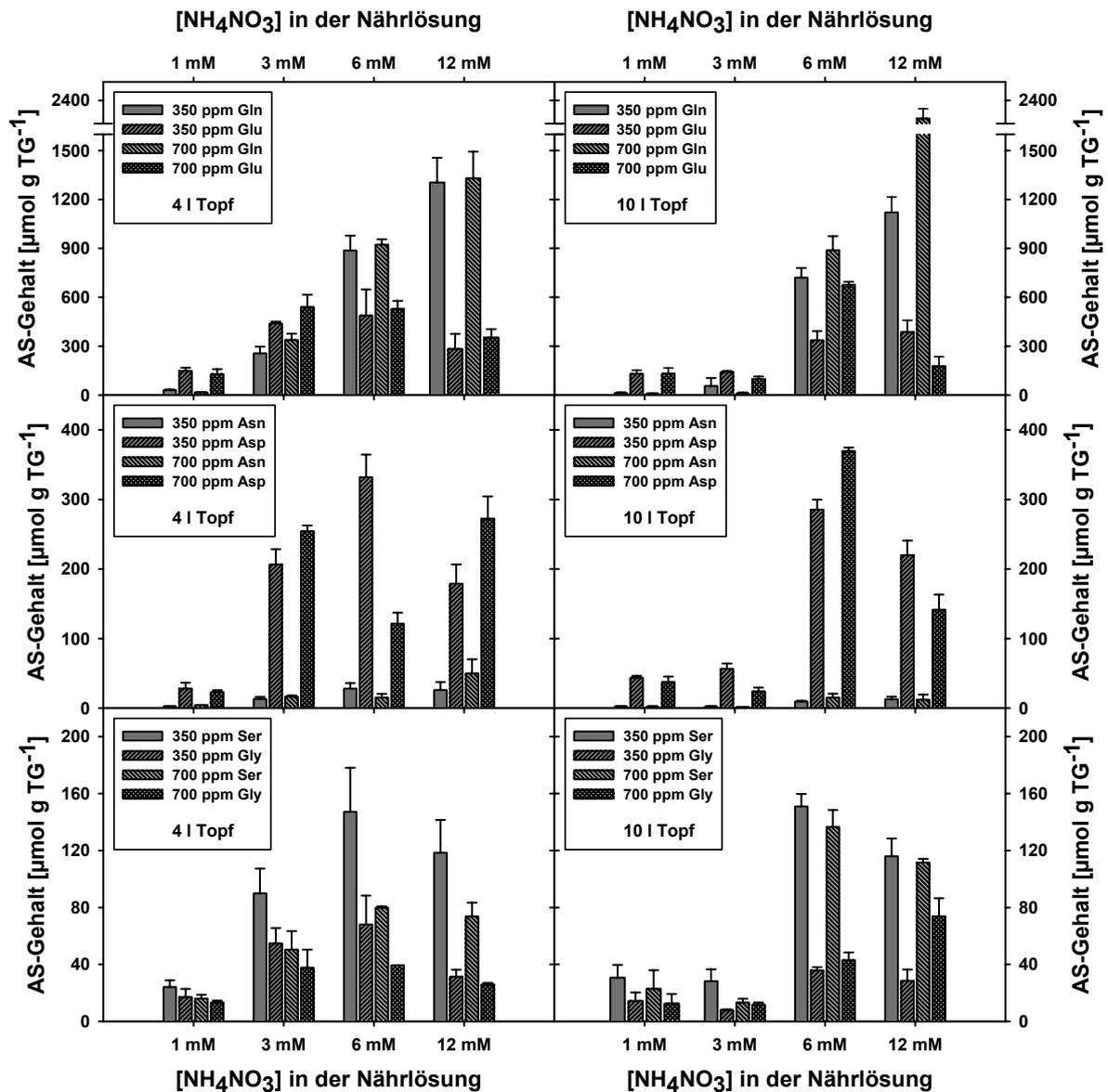


Abb. 3.30: Gehalt der Aminosäuren (AS) Glutamin (Gln), Glutamat (Glu), Asparagin (Asn), Aspartat (Asp), Serin (Ser) und Glycin (Gly) [$\mu\text{mol g TG}^{-1}$] in der Mitte der Lichtphase im Gewebe des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm $[\text{CO}_2]$ in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . $n=3 \pm \text{MA}$.

Die dominierende Aminosäure im Blattgewebe war Glutamin, sowohl bei 350 als auch bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$. Dies äußerte sich ebenfalls im Glutamin zu Glutamat Verhältnis (Tab. 3.23). Der Wert für das Verhältnis stieg mit zunehmender Stickstoffversorgung, lag jedoch bei 1 und 3 mM NH_4NO_3 unter 1, erst bei höherer Ammoniumnitratkonzentration (6 und 12 mM NH_4NO_3) wurden Werte über 1 erreicht. Bemerkenswert ist der hohe Glutamingehalt im Blattgewebe von Pflanzen, die bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ mit 12 mM NH_4NO_3 in 10 l Töpfen gewachsen waren.

Asparagin und Aspartat

Bei allen untersuchten Bedingungen wurde ein höherer Gehalt von Aspartat im Vergleich zu Asparagin festgestellt (Abb. 3.30). Die Werte des Asparagingehaltes stiegen mit zunehmender Konzentration von Ammoniumnitrat in der Nährlösung leicht an, für die Werte des Aspartatgehalts war keine eindeutige Tendenz erkennbar. Das Verhältnis von Asparagin zu Aspartat lag im *source*-Blattgewebe von Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] gewachsen waren, über dem von Pflanzen bei 350 ppm [CO₂] (Tab. 3.24).

Tab. 3.24: Asparagin zu Aspartat Verhältnis [$\mu\text{mol g TG}^{-1} / \mu\text{mol g TG}^{-1}$] im Gewebe des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃.

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]
1 mM	0,092	0,194	0,054	0,057
3 mM	0,064	0,065	0,037	0,068
6 mM	0,085	0,126	0,033	0,042
12 mM	0,146	0,184	0,059	0,086

Serin und Glycin

In Tabelle 3.25 ist das Serin zu Glycin Verhältnis im Blattgewebe zusammengefasst.

Tab. 3.25: Serin zu Glycin Verhältnis [$\mu\text{mol g TG}^{-1} / \mu\text{mol g TG}^{-1}$] im Gewebe des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃.

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]
1 mM	1,42	1,22	2,14	1,84
3 mM	1,64	1,34	3,58	1,12
6 mM	2,16	2,03	4,22	3,18
12 mM	3,78	2,84	4,08	1,51

Der Wert des Seringehalts im Blattgewebe lag bei allen untersuchten Bedingungen über dem des Glycingehalts (Abb. 3.30). Pflanzen bei 350 ppm [CO₂] wiesen einen deutlich höheren Seringehalt auf als Pflanzen bei 700 ppm [CO₂]. Bei Pflanzen in 4 l Töpfen war bei 700 ppm [CO₂] ein niedrigerer Glycingehalt im Vergleich zu 350 ppm [CO₂] zu erkennen, wohingegen bei Pflanzen, die in 10 l Töpfen gewachsen waren, die Werte bei 350 und 700 ppm [CO₂] gleich hoch waren bzw. bei 12 mM NH₄NO₃ und 700 ppm [CO₂] ein höherer Wert des Glycingehalts als bei den Kontrollpflanzen messbar war. Die Werte des Serin zu Glycin Verhältnisses, welches als ein Maß für die Photorespiration zu sehen ist, im Blattgewebe lagen für Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] kultiviert worden waren, stets unter den Werten für Pflanzen bei 350 ppm [CO₂] (Tab. 3.25).

Gesamtgehalt der Aminosäuren im Gewebe des *source*-Blattes # 2

Der Gehalt an Aminosäuren im Blattgewebe stieg mit zunehmender Stickstoffversorgung an (Tab. 3.26). Bei Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] gewachsen waren, wurde weitestgehend ein höherer Aminosäuregehalt gemessen als bei den Kontrollpflanzen bei 350 ppm [CO₂]. Betrug die Ammoniumnitratkonzentration in der Nährlösung 1 mM, konnten keine herausragenden Unterschiede im Aminosäuregehalt bei den verschiedenen Bedingungen (CO₂-Konzentration, Topfgröße) festgestellt werden. Bei einer Versorgung mit 3 mM NH₄NO₃ war im Blattgewebe von Pflanzen in 4 l Töpfen bei beiden CO₂-Konzentrationen ein deutlich höherer Gehalt zu erkennen als bei Pflanzen in 10 l Töpfen. Während die Werte für den Aminosäuregehalt bei 6 mM NH₄NO₃ für Pflanzen in 4 l und 10 l Töpfen bei 700 ppm [CO₂] gleich hoch waren, übertrafen die Werte für Pflanzen in den kleineren Töpfen bei 350 ppm [CO₂] diejenigen für Pflanzen in 10 l Töpfen um 44 %. Befanden sich 12 mM NH₄NO₃ in der Nährlösung, bildeten Pflanzen in 4 l Töpfen im Gewebe des *source*-Blattes # 2 bei 350 ppm [CO₂] 80 % mehr Aminosäuren, bei 700 ppm [CO₂] 31 %.

Tab. 3.26: Gesamtgehalt der Aminosäuren [mmol Blatt⁻¹] im Gewebe des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂]. Die Nährlösung enthielt jeweils 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]
1 mM	0,50 ± 0,05	0,50 ± 0,06	0,71 ± 0,08	0,60 ± 0,04
3 mM	2,98 ± 0,48	5,08 ± 0,67	0,58 ± 0,08	0,56 ± 0,04
6 mM	6,01 ± 0,30	6,27 ± 0,17	4,16 ± 0,32	6,06 ± 0,29
12 mM	8,34 ± 0,43	11,93 ± 0,57	4,64 ± 0,31	9,08 ± 0,70

3.4.5.2 Aminosäurekonzentration im Siebröhrenexsudat

Da die Gesamtkonzentration der Aminosäuren im Siebröhrenexsudat von der Glutaminkonzentration dominiert wird (Peuke et al. 1994), wird diese im Folgenden gesondert betrachtet (Abb. 3.31). Bei allen untersuchten Bedingungen wurde eine höhere Glutaminkonzentration im Siebröhrenexsudat bei Pflanzen, die bei 350 ppm [CO₂] gewachsen waren, gefunden. Je höher die Stickstoffversorgung war, desto höher war auch die Konzentration von Glutamin. Bei Pflanzen in 4 l Töpfen lagen die Werte bei allen Stickstoff- und CO₂-Konzentrationen über den Werten für Pflanzen in 10 l Töpfen.

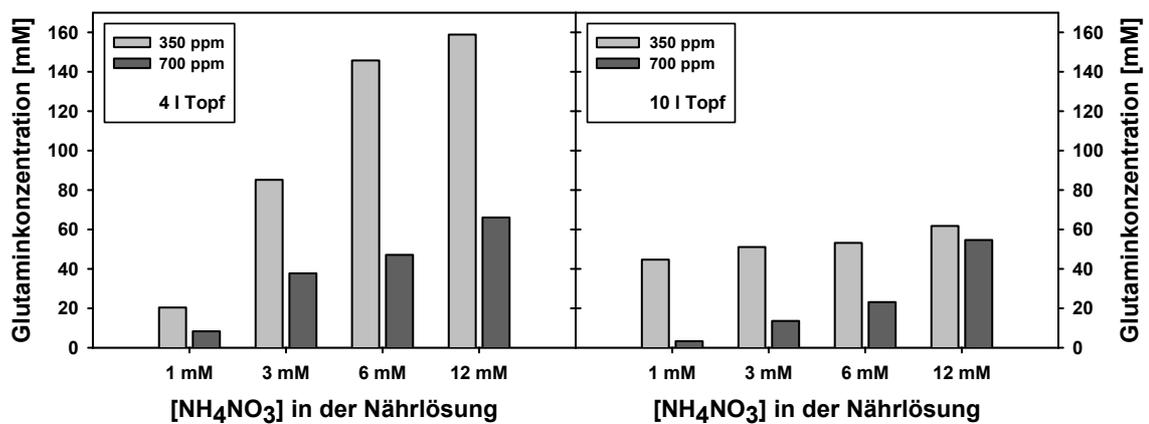


Abb. 3.31: Glutaminkonzentration [mM] im Siebröhrenexsudat des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. Damit eine Analyse von Inhaltsstoffen des Siebröhrenexsudats möglich war, wurden die Exsudate aller Pflanzen einer Anzuchtsbedingung vereinigt.

Tabelle 3.27 gibt die Gesamtkonzentration der Aminosäuren im Siebröhrenexsudat wieder.

Tab. 3.27: Gesamtkonzentration der Aminosäuren [mM] im Siebröhrenexsudat des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. Damit eine Analyse von Inhaltsstoffen des Siebröhrenexsudats möglich war, wurden die Exsudate aller Pflanzen einer Anzuchtsbedingung vereinigt.

[NH ₄ NO ₃]	Topfvolumen 4 l		Topfvolumen 10 l	
	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]	350 ppm [CO ₂]	700 ppm [CO ₂]
1 mM	57,66	24,97	62,38	15,46
3 mM	120,96	63,36	68,87	30,50
6 mM	179,39	86,64	73,72	43,40
12 mM	190,06	116,28	85,19	75,31

Auch bei der Betrachtung der Gesamtkonzentration an Aminosäuren im Siebröhrenexsudat ist zu erkennen, dass die Werte für Pflanzen, die bei 350 ppm [CO₂] gewachsen waren, die Werte für Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] übertrafen. Die Aminosäurekonzentration im Siebröhrenexsudat, die mit steigender Stickstoffversorgung zunahm, war bei Pflanzen in kleineren Töpfen höher als bei Pflanzen in größeren Töpfen.

3.4.6 Proteingehalt in Blatt # 2

Der Gehalt an löslichen Proteinen im Gewebe des *source*-Blattes # 2 war umso größer je höher die Konzentration von Ammoniumnitrat in der Nährlösung war (Abb. 3.32). Dies galt sowohl für Pflanzen bei 350 ppm [CO₂] als auch für Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] gewachsen waren. Wurden die Pflanzen mit 1 mM NH₄NO₃ versorgt, konnte kein Unterschied im Proteingehalt pro Blatt zwischen den beiden CO₂-Konzentrationen festgestellt werden. Die Werte für Pflanzen in 4 l Töpfen lagen hier unter denen für Pflanzen in 10 l Töpfen. Bei 3 mM NH₄NO₃ in der Nährlösung wiesen Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] einen höheren Proteingehalt im Blattgewebe auf als die Vergleichspflanzen bei 350 ppm [CO₂]. Auch hier enthielten die Blätter von Pflanzen, die in 4 l Töpfen kultiviert wurden, weniger Protein als die Blätter von Pflanzen in 10 l Töpfen. Lag die Versorgung mit Ammoniumnitrat bei 6 bzw. 12 mM, war der Proteingehalt pro Blatt von Pflanzen, die in kleineren Töpfen gewachsen waren, jedoch höher als der von Pflanzen in größeren Töpfen. Bei diesen Stickstoffbedingungen wurde ebenfalls ein höherer Proteingehalt pro Blatt bei 700 ppm Pflanzen im Vergleich zu Pflanzen bei 350 ppm [CO₂] gemessen.

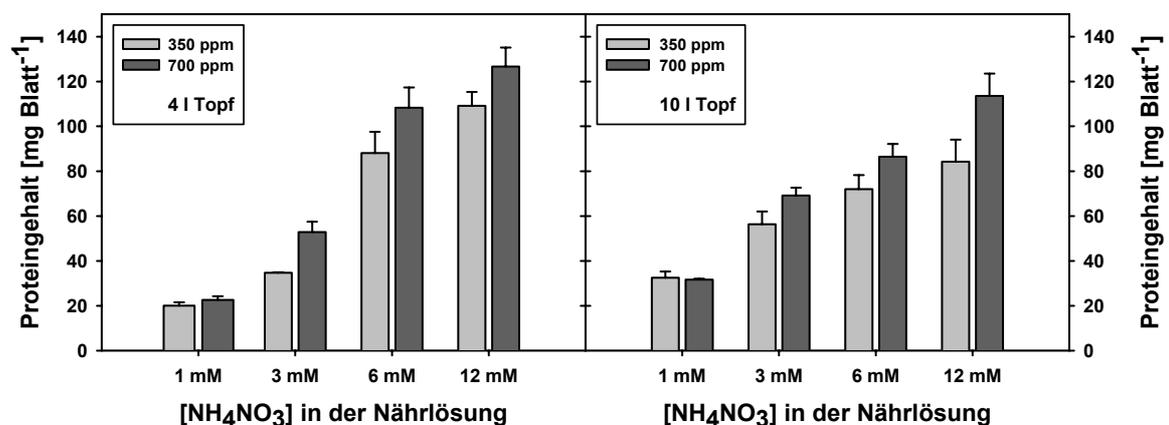


Abb. 3.32: Gehalt der löslichen Proteine [mg Blatt⁻¹] in der Mitte der Lichtphase im Gewebe des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA.

Zusammenfassung der Ergebnisse zu Stickstoffgehalt und Nitratassimilation bei 350 und 700 ppm [CO₂]

Rizinuspflanzen bei 700 ppm [CO₂] zeigten gegenüber Rizinuspflanzen bei 350 ppm [CO₂]

- einen niedrigeren Stickstoffanteil am Trockengewicht,
- einen höheren Stickstoffgehalt pro Blatt,
- ein höheres C/N-Verhältnis,
- eine höhere Stickstoffnutzungseffizienz der Photosynthese,
- mit zunehmender Stickstoffversorgung sowohl tags als auch nachts einen niedrigeren Nitratgehalt in Blatt- und Wurzelgewebe,
- eine höhere Nitratkonzentration im Xylemsaft,
- mit zunehmender Stickstoffversorgung eine höhere Nitratkonzentration im Siebröhrenexsudat,
- mit zunehmender Stickstoffversorgung eine höhere Nitratreduktaseaktivität im Licht und im Dunkel im *source*-Blattgewebe,
- mit zunehmender Stickstoffversorgung eine niedrigere Nitratreduktaseaktivität im Licht und im Dunkel im Wurzelgewebe,
- mit zunehmender Stickstoffversorgung einen höheren Aminosäuregehalt im Blattgewebe,
- ein niedrigeres Serin zu Glycin Verhältnis im Blattgewebe,
- eine niedrigere Konzentration an Aminosäuren (insbesondere Glutamin) im Siebröhrenexsudat,
- einen höheren Gehalt an löslichen Proteinen im Blattgewebe.

Rizinuspflanzen konnten mit zunehmender Stickstoffversorgung das erhöhte CO₂-Angebot in der Atmosphäre besser nützen. Es resultierten eine bessere Stickstoffnutzungseffizienz der Photosynthese sowie gesteigerte Raten der Nitratassimilation, wodurch deren Produkte, Aminosäuren und Proteine, in erhöhtem Maß im Blattgewebe zu finden waren. Die niedrigeren Serin- und Glycingehalte lassen auf verminderte Photorespiration bei erhöhter CO₂-Konzentration schließen. Die niedrigere Konzentration an Aminosäuren im Siebröhrenexsudat (bei vergleichbaren Exsudationsraten) unterstützt die Hypothese der erhöhten Flussgeschwindigkeit in den Siebröhren bei 700 ppm [CO₂].

3.5 Gehalt an weiteren Hauptnährelementen im Gewebe des *source*-Blattes # 2

Nachdem bereits in Kap. 3.4 näher auf das Hauptnährelement Stickstoff eingegangen wurde, sollen hier die Gehalte der weiteren wichtigsten Nährelemente im Blattgewebe betrachtet werden. Es handelt sich um Kalzium, Kalium, Magnesium, Phosphor und Schwefel. Die Konzentration dieser Elemente in der Nährlösung blieb bei allen unterschiedlichen Stickstoffkonzentrationen gleich.

3.5.1 Kalzium

Kalzium wird dem Blattgewebe durch den Transpirationsstrom zugeführt und gilt als nicht phloemmobil (Marschner 1995). Dieses Element ist v.a. im Apoplast (Mittellamelle der Zellwand, äußere Oberfläche der Plasmamembran), im Endoplasmatischen Reticulum und in der Vakuole lokalisiert, in Form von Phosphat, Pectat und Oxalat (Marschner 1995). Im Zytoplasma ist die Konzentration an Kalzium mit $0,1 - 0,2 \mu\text{M}$ sehr gering (Felle 1988, Evans et al. 1991).

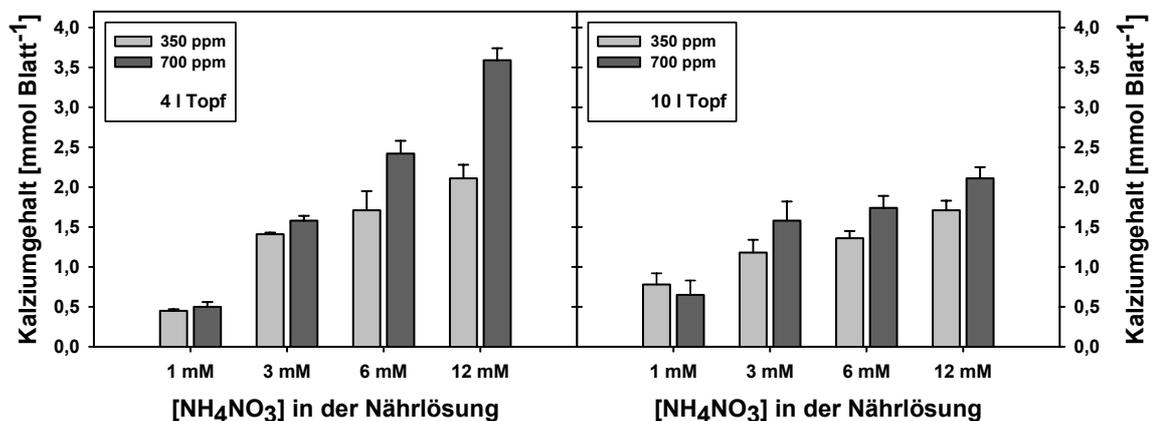


Abb. 3.33: Kalziumgehalt [mmol Blatt⁻¹] in der Mitte der Lichtphase im Gewebe des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA.

Bei den hier untersuchten Pflanzen stieg der Kalziumgehalt pro Blatt mit zunehmender Stickstoffkonzentration in der Nährlösung (Abb. 3.33). Bei Pflanzen mit einer Versorgung von 1 mM NH₄NO₃ war kaum ein Unterschied in den Werten zwischen den beiden Topfgrößen bzw. CO₂-Konzentrationen zu erkennen. Wurden die Pflanzen mit 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃

kultiviert, war der Kalziumgehalt in Blatt # 2 von Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] höher als der der Kontrollpflanzen bei 350 ppm [CO₂]. Besonders bei 6 und 12 mM NH₄NO₃ lagen die Werte für Pflanzen in 4 l Töpfen (v.a. bei 700 ppm [CO₂]) weit über den Werten für Pflanzen in 10 l Töpfen.

3.5.2 Kalium

Kalium ist in allen Geweben, demnach auch in den Siebröhren, sehr mobil. Es tritt stets ungebunden auf und gilt als das häufigste Kation im Zytoplasma. In diesem Kompartiment und in den Chloroplasten trägt es wesentlich zur Stabilisierung des pH-Wertes zwischen 7 und 8 bei. Kalium gilt als sehr wichtiges Kation bei weiteren zellulären Prozessen wie z.B. der Enzymaktivierung, Translation, Osmoregulation (hier v.a. der Bewegung der Stomata) und Phloembeladung (Marschner 1995).

Der Gehalt an Kalium pro Blatt stieg mit zunehmender Stickstoffkonzentration in der Nährlösung (Abb. 3.34). Bei Pflanzen in 10 l Töpfen enthielt jedoch Blatt # 2 bei der Versorgung mit 1, 3, und 6 mM NH₄NO₃ annähernd gleiche Mengen an Kalium, erst bei 12 mM NH₄NO₃ lagen die Werte deutlich höher. Es ließen sich hier kaum Unterschiede zwischen beiden CO₂-Konzentrationen ausmachen, denn der Wert für Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] lag bei 3, 6 und 12 mM NH₄NO₃ nur geringfügig über dem der Kontrollpflanzen. Betrachtet man die Pflanzen in 4 l Töpfen, lässt sich erkennen, dass erst bei höherer Ammoniumnitratkonzentration in der Nährlösung (6 und 12 mM) der Kaliumgehalt im Gewebe des Blattes # 2 bei 700 ppm [CO₂] höher war als bei Pflanzen, die bei 350 ppm [CO₂] gewachsen waren.

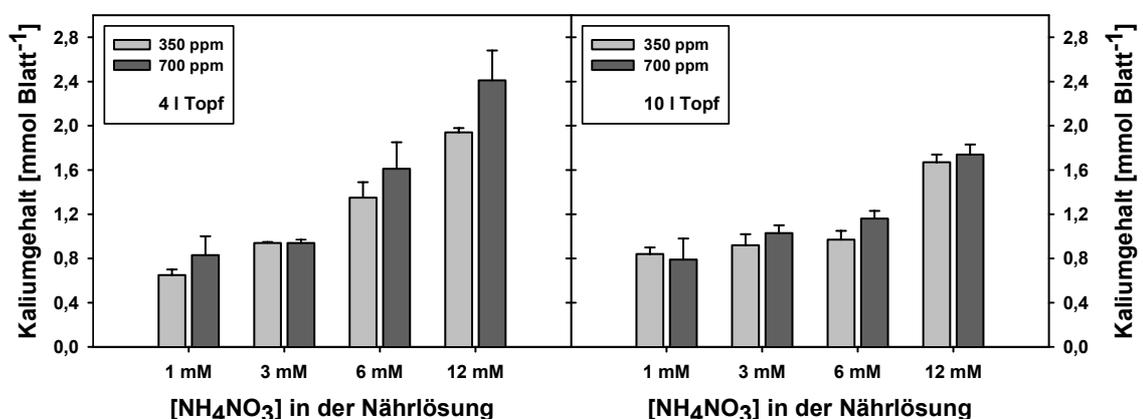


Abb. 3.34: Kaliumgehalt [mmol Blatt⁻¹] in der Mitte der Lichtphase im Gewebe des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA.

3.5.3 Magnesium

Das phloemmobile Hauptnährelement Magnesium, dessen Aufnahme durch andere Kationen wie z.B. Kalium, Ammonium, Kalzium oder Mangan z.T. stark beeinträchtigt werden kann, ist in den pflanzlichen Zellen neben der Zellwand und der Vakuole hauptsächlich im 'Stoffwechsel-pool', dem Zytoplasma und dem Chloroplast, vertreten. Die Hauptfunktion von Magnesium liegt in der Bindung zu starken Nucleophilen. Diese Bindung kann ionischer (Phosphate) aber auch kovalenter Natur sein (Chlorophyll). So hat dieses Element essentielle Bedeutung bei der Enzymaktivierung, Chlorophyll- und Proteinsynthese aber auch bei der Partitionierung von Kohlenhydraten (Marschner 1995).

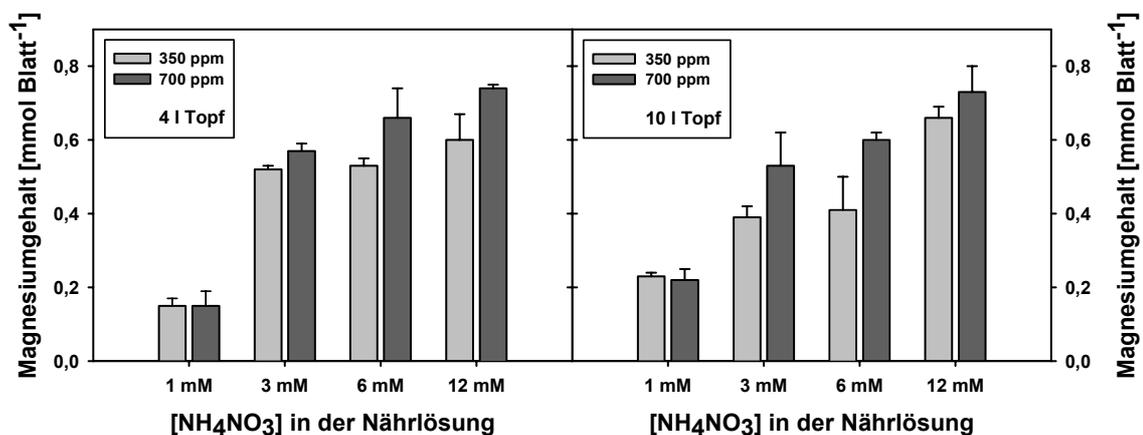


Abb. 3.35: Magnesiumgehalt [mmol Blatt^{-1}] in der Mitte der Lichtphase im Gewebe des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm $[\text{CO}_2]$ in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . $n=3 \pm \text{MA}$.

In Abbildung 3.35 ist der Magnesiumgehalt des *source*-Blattes # 2 dargestellt. Je höher die Stickstoffversorgung war, desto höher war auch der Gehalt an Magnesium pro Blatt. Höhere Werte bei Pflanzen, die bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ gewachsen waren, waren erst ab einer Konzentration von 3 mM NH_4NO_3 in der Nährlösung zu erkennen. Pflanzen in 4 l Töpfen wiesen nur bei einer Konzentration von 3 und 6 mM NH_4NO_3 einen leicht höheren Magnesiumgehalt pro Blatt gegenüber Pflanzen, die in 10 l Töpfen kultiviert wurden, auf.

3.5.4 Phosphor

Phosphor wird von der Pflanze bei physiologischem pH vorwiegend als Dihydrogenphosphat aufgenommen und ändert seine Oxidationsstufe nicht, d.h. er wird nicht reduziert und bleibt als Phosphat erhalten. Das Element gilt als phloemmobil und erfüllt in veresterter Form wichtige Funktionen als Strukturelement z.B. in Nucleinsäuren und beim Energietransfer bei biochemischen Reaktionen (z.B. ATP). Es ist in allen Kompartimenten vertreten (Marschner 1995).

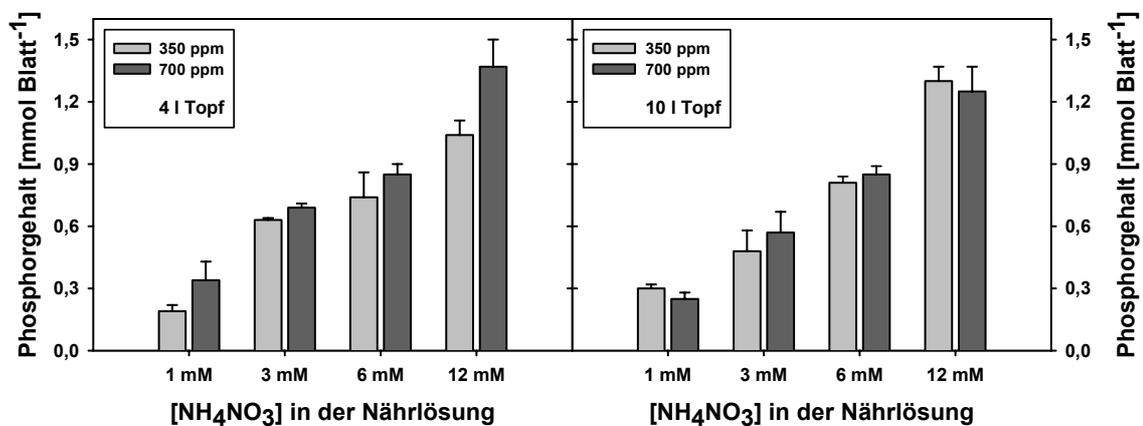


Abb. 3.36: Phosphorgehalt [mmol Blatt^{-1}] in der Mitte der Lichtphase im Gewebe des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm $[\text{CO}_2]$ in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH_4NO_3 . $n=3 \pm \text{MA}$.

Abbildung 3.36 zeigt, dass der Gehalt an Phosphor im Gewebe von Blatt # 2 umso höher war, je besser die Pflanzen mit Stickstoff versorgt wurden. Dabei ließen sich kaum Unterschiede zwischen Pflanzen feststellen, die bei 350 bzw. 700 ppm $[\text{CO}_2]$ kultiviert wurden. Lediglich bei Pflanzen in 4 l Töpfen mit 12 mM NH_4NO_3 in der Nährlösung überstieg der Wert bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ deutlich den Wert von 350 ppm Blättern. Der Phosphorgehalt pro Blatt # 2 von Pflanzen in 4 l Töpfen war etwa genauso hoch wie der Gehalt pro Blatt # 2 von Pflanzen, die bei vergleichbaren Bedingungen in 10 l Töpfen gewachsen waren.

3.5.5 Schwefel

Schwefel wird hauptsächlich als Sulfat aufgenommen. Für den Einbau in Aminosäuren, Peptide, Proteine und Coenzyme ist die Reduktion des Schwefels unerlässlich. Das phloemmobile Element kommt jedoch auch als Sulfat in Molekülen wie z.B. Sulfolipiden (z.B. Sulfochinovosyldiglycerid) oder Glucosinolaten vor. Schwefel kann – im Gegensatz zu Stickstoff – reoxidiert und so in seine Speicherform überführt werden. Es ist Bestandteil von Sekundärmetaboliten wie z.B. Isothiocyanaten oder Alliinen. Schwefel kommt somit in allen Kompartimenten vor (Marschner 1995).

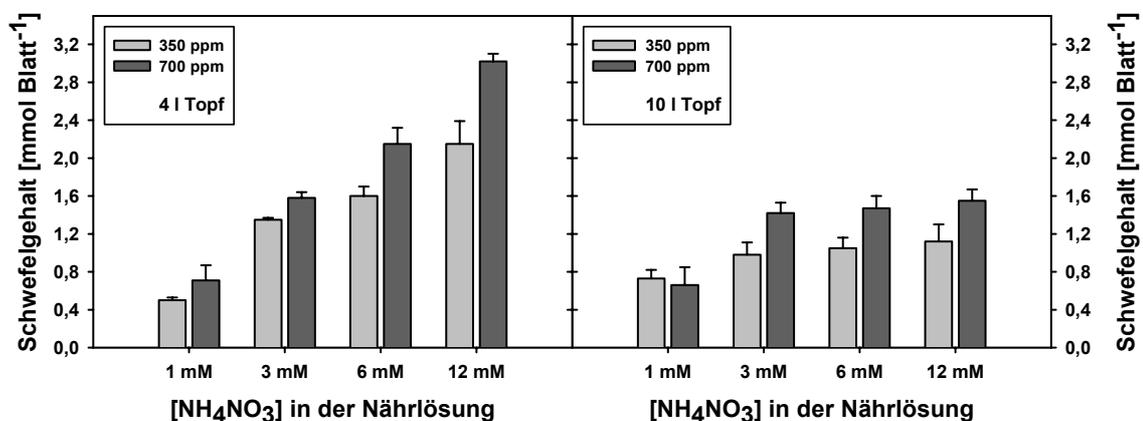


Abb. 3.37: Schwefelgehalt [mmol Blatt⁻¹] in der Mitte der Lichtphase im Gewebe des 17 Tage alten Blattes # 2 von Rizinuspflanzen bei 350 ppm und 700 ppm [CO₂] in 4 l und 10 l Töpfen. Die Nährlösung enthielt 1, 3, 6 oder 12 mM NH₄NO₃. n=3±MA.

In Abbildung 3.37 ist der Schwefelgehalt des *source*-Blattes # 2 dargestellt. Bei einer Konzentration von 1 mM NH₄NO₃ in der Nährlösung waren die Werte gering und sowohl bei 350 als auch bei 700 ppm [CO₂] annähernd gleich hoch. Blätter von Pflanzen in 4 l Töpfen wiesen etwa denselben Schwefelgehalt auf wie Blätter von Pflanzen in 10 l Töpfen. Ab einer Stickstoffversorgung von 3 mM NH₄NO₃ lag der Wert von Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] bei beiden Topfgrößen über dem Wert von Pflanzen, die bei 350 ppm [CO₂] gewachsen waren. Während die Werte von Pflanzen in großen Töpfen bei einer Ammoniumnitratkonzentration von 3, 6 und 12 mM nahezu konstant blieben, nahm der Schwefelgehalt des Blattes # 2 von Pflanzen in 4 l Töpfen mit steigender Stickstoffversorgung zu. Bei diesen Konzentrationen konnten für Pflanzen in kleineren Töpfen höhere Werte des Schwefelgehalts pro Blatt ermittelt werden als für Pflanzen, die in 10 l Töpfen kultiviert worden waren.

Zusammenfassung der Ergebnisse zum Gehalt an weiteren
Hauptnährelementen im Gewebe des *source*-Blattes # 2
bei 350 und 700 ppm [CO₂]

Rizinuspflanzen bei 700 ppm [CO₂] zeigten gegenüber Rizinuspflanzen bei 350 ppm [CO₂]

- mit zunehmender Stickstoffversorgung einen höheren Kalziumgehalt pro Blatt,
- mit zunehmender Stickstoffversorgung einen höheren Kaliumgehalt pro Blatt bei Pflanzen in 4 l Töpfen, bei Pflanzen in 10 l Töpfen ist nahezu kein Unterschied im Kaliumgehalt bei beiden CO₂-Konzentrationen festzustellen,
- mit zunehmender Stickstoffversorgung einen höheren Magnesiumgehalt pro Blatt,
- nahezu keine Unterschiede im Phosphorgehalt pro Blatt,
- mit zunehmender Stickstoffversorgung einen höheren Schwefelgehalt pro Blatt, der bei Pflanzen in 10 l Töpfen etwa konstant bleibt, bei Pflanzen in 4 l Töpfen jedoch noch weiter zunimmt.

Rizinuspflanzen verfügten bei erhöhter CO₂-Konzentration über höhere Gehalte an Hauptnährelementen pro *source*-Blatt. Dabei waren die Gehalte von Kalzium, Kalium, Magnesium, Phosphor und Schwefel stark von der Stickstoffversorgung der Pflanzen abhängig. Bei den Elementen Kalzium, Kalium und Schwefel war ferner noch festzustellen, dass bei hoher Stickstoffversorgung die Werte von Pflanzen mit geringerem Wurzelraum deutlich die Werte von Pflanzen mit ausreichendem Wurzelraum überschritten.

4 Diskussion

Im Mittelpunkt dieses Projekts, welches innerhalb des Schwerpunktprogramms der DFG „Stoffwechsel und Wachstum der Pflanzen unter erhöhter CO₂-Konzentration“ durchgeführt wurde, stand die Frage nach dem Zusammenhang des veränderten Wachstumsverhaltens von Pflanzen bei erhöhter CO₂-Konzentration mit dem Kohlenstoffexport in Form von Assimilaten aus *source*-Gewebe. Bei der Modellpflanze *Ricinus communis* L. werden diese Assimilate in Form von Saccharose über längere Strecken innerhalb der Pflanze in den Siebröhren des Phloems transportiert (Hall & Baker 1972, Smith & Milburn 1980). Der Inhalt der Siebröhren kann bei *Ricinus communis* L. in Form von Siebröhrenexsudat gewonnen werden (Milburn 1970) und bildet somit – bei vergleichbaren Exsudationsraten – eine wichtige Grundlage für Informationen über den Transport der exportierten Assimilate.

Die Biomasseproduktion von Pflanzen und die Verteilung der Assimilate ist stark abhängig von der Verfügbarkeit von Nährelementen, insbesondere des Hauptnährelements Stickstoff (Brouwer 1962, Sattelmacher et al. 1990, Fetene et al. 1993). Bei erhöhten äußeren CO₂-Konzentrationen übt somit auch der Stickstoffgehalt bzw. die Stickstoffkonzentration des Substrats einen entscheidenden Einfluss auf das Wachstum der Pflanzen aus, denn nur mit höherer Stickstoffzufuhr ist das erhöhte CO₂-Angebot nutzbar (Wong 1990, Stitt & Krapp 1999). Um den anorganischen Stickstoff z.B. in Form von Nitrat zu nützen, muss dieser assimiliert werden. Der erste Schritt der Nitratassimilation, die Reduktion von Nitrat zu Nitrit, wird katalysiert durch das Enzym Nitratreduktase. Diese Reaktion ist wesentlich für den weiteren Verlauf der Nitratassimilation, da sie mit einer Enthalpie von -143 kJ / mol irreversibel abläuft (Campbell 1999). Die Aktivität der Nitratreduktase stellt somit einen entscheidenden Punkt für den Stoffwechsel und das Wachstum der Pflanzen, im Besonderen bei erhöhten CO₂-Konzentrationen, dar.

4.1 Gesteigerte und beschleunigte Biomasseproduktion der Pflanzen bei erhöhter CO₂-Konzentration

4.1.1 Einfluss der Topfgröße

Pflanzen reagieren auf eine Beschränkung ihres Wurzelraums, d.h. Kultivierung in kleinen Töpfen, mit verringertem Wachstum von Wurzel und Spross (Robbins & Pharr 1988).

Werden Pflanzen erhöhten äußeren CO_2 -Konzentrationen ausgesetzt, erfolgt eine gesteigerte Produktion von Biomasse (Wong 1990, Lawlor & Mitchell 1991, Van der Kooij et al. 1999, Grimmer 1999). Diese gesteigerte Produktion umfasst sowohl Spross- als auch Wurzelbiomasse. Demnach reagieren Pflanzen in kleinen Töpfen bei erhöhter $[\text{CO}_2]$ früher auf eine Limitierung des Wurzelraums als Pflanzen bei normaler $[\text{CO}_2]$, da dieses Limit schneller erreicht wird. In diesem Projekt wurden Rizinuspflanzen in 4 l und in 10 l Töpfen kultiviert. Die Nährlösung wurde dem Topfvolumen angepasst und während der Wachstumsperiode sukzessiv erhöht. Die Nährlösung unterschied sich nur in der Konzentration an Ammoniumnitrat, wobei mit zunehmender Stickstoffversorgung auch eine erhöhte Biomasseproduktion zu erwarten war (Brouwer 1962). Bei Pflanzen in beiden Topfgrößen wird bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ ein größeres Maß an Biomasse gebildet als bei den Kontrollpflanzen bei 350 ppm $[\text{CO}_2]$. Betrachtet man die Pflanzen in den 4 l Töpfen, ist der Unterschied zwischen den beiden CO_2 -Konzentrationen (bei vergleichbarer Stickstoffernährung) bezüglich der Biomasse zum Erntezeitpunkt umso kleiner je höher die Stickstoffkonzentration ist, je schneller demnach die örtliche Begrenzung des Wurzelraumes anscheinend erreicht war. Im Gegensatz dazu steigt die Differenz in der Biomasse zwischen 350 und 700 ppm $[\text{CO}_2]$ bei Pflanzen in 10 l Töpfen mit zunehmender Stickstoffkonzentration in der Nährlösung an, da diese Pflanzen noch keine mögliche Limitierung des Wurzelraumes erfuhren (Abb. 3.1). Dies wird umso deutlicher, wenn man die Wurzel- und Sprossbiomasse der Pflanzen im Einzelnen betrachtet. Die Wurzelbiomasse von Pflanzen in 4 l Töpfen ist bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ nur geringfügig höher als die der Vergleichspflanzen bei 350 ppm $[\text{CO}_2]$, was für Pflanzen in 10 l Töpfen nicht zutrifft, da hier sehr deutliche Unterschiede im Trockengewicht der Wurzeln v.a. bei sehr guter Stickstoffversorgung festzustellen sind (Abb. 3.2). Für Pflanzen in 4 l Töpfen ist zu erkennen, dass mit zunehmender Ammoniumnitratkonzentration die prozentuale Differenz in der Sprossbiomasse zwischen 350 und 700 ppm $[\text{CO}_2]$ abnimmt. Für Pflanzen in 10 l Töpfen ist das Gegenteil der Fall (Abb. 3.3).

Auch bezüglich der Wachstumsgeschwindigkeit lassen sich Unterschiede zwischen den beiden Topfgrößen erkennen. Pflanzen in 10 l Töpfen wachsen im ersten Drittel der Klimakammerperiode langsamer als Pflanzen in 4 l Töpfen. Das zeigen die Werte der relativen Wuchsraten (RGR) in Abbildung 3.6. Gegen Ende der Anzuchtperiode übertreffen die Pflanzen in 10 l Töpfen die Pflanzen in 4 l Töpfen in den Werten der RGR von Wurzel und Spross bei beiden CO_2 -Konzentrationen. Zu diesem Zeitpunkt weisen die Pflanzen in den 10 l Töpfen auch eine größere Sprosshöhe und Gesamtblattfläche auf (Abb. 3.12 und 3.15). Bei den Pflanzen in den großen Töpfen kommen die Unterschiede zwischen dem Wachstum bei 350 und bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ sehr klar zum Ausdruck. Dies gilt sowohl für das Höhenwachstum des Sprosses als auch für die mittleren Zeitintervalle zwischen der Bildung

der einzelnen Blätter (Tab. 3.5) und für die Blattflächenentwicklung von Blatt # 2 (Abb. 3.14), wobei bei diesen Parametern der Einfluss der Stickstoffversorgung besonders deutlich wird.

Pflanzen, die längere Zeit unter höheren CO₂-Konzentrationen wachsen, zeigen das Phänomen der Akklimation (Stitt, 1991, Sage 1994). Das bedeutet, aus einer anfänglichen Stimulierung des Wachstums durch beschleunigte Produktion von RubisCO, erhöhte Akquisition von CO₂, höhere Photosyntheseraten und dadurch vermehrte Bildung von Kohlenhydraten nimmt die mRNA der kleinen Untereinheit von RubisCO ab, und es kommt somit auch zur Abnahme der Photosyntheseaktivität. Dieses wird durch eine negative *feedback*-Regulierung durch den Anstau an gebildeten Kohlenhydraten im Blattgewebe verursacht (Moore et al. 1999). Bei Pflanzen, die in kleinen Töpfen in Klimakammern kultiviert werden, tritt die Akklimation der Photosynthese bei erhöhter [CO₂] früher ein als bei Freilandpflanzen, bei denen keine Akklimation zu beobachten ist (Arp 1991, Arp & Drake 1991). Dies wird darauf zurückgeführt, dass die Beschränkung des Wurzelraums früher erreicht wird, was zu einer Akkumulation von Kohlenhydraten, insbesondere von Stärke, im Blattgewebe führt. Eine weitere Ursache für die Akklimation der Photosynthese durch Beschränkung des Wurzelraums kann auch eine ungenügende Versorgung der Pflanze mit Wasser und somit eine reduzierte Transpiration darstellen (Will & Teskey 1997). Eine dritte mögliche Grundlage für die Akklimation der Photosynthese bei erhöhter CO₂-Konzentration liegt darin, dass der im Substrat verfügbare Nährstoffpool (insbesondere der von Stickstoff) früher aufgebraucht wird, dadurch ein Mangel entsteht und Stickstoff durch den Abbau von Proteinen, vorrangig von RubisCO, mobilisiert wird (Stitt & Krapp 1999).

Bei den im Rahmen dieses Projekts untersuchten Pflanzen konnte weder Akklimation der Photosynthese (Tab. 3.7) noch Abnahme des Gehalts an löslichen Proteinen im Blattgewebe (Abb. 3.32) festgestellt werden, was u.U. daran liegen könnte, dass die Pflanzen mit einem Alter von 37 Tagen geerntet wurden, bevor sich eine Akklimation bei *Ricinus communis* durch erhöhte Kohlenhydratgehalte im Gewebe des 17 Tage alten Blattes # 2 bemerkbar macht. Andererseits ist bei der Betrachtung der Kohlenhydratgehalte feststellbar, dass vorrangig eine Abhängigkeit der Akkumulation bzw. des vollständigen Abbaus insbesondere von Stärke von der Stickstoffversorgung gegeben ist (Abb. 3.17 bis 3.20). Eine Abnahme der Photosyntheseaktivität durch Rückgang der Transpiration während des Tages kann bei Pflanzen, die nur einmal am Tag mit Nährlösung gewässert werden und in Klimakammern mit gleichbleibender Lichtversorgung während der Lichtphase wachsen, auftreten (Kang et al. 2002), doch würde diese bei Pflanzen, die bei 350 und bei 700 ppm [CO₂] kultiviert werden, gleichermaßen zu messen sein. Über einen längeren Zeitraum wurde keine Abnahme der Photosyntheserate bei Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] beobachtet. Auch die Differenz zwischen den Photosyntheseraten des Blattes # 2 von Pflanzen bei 700 ppm und

bei 350 ppm [CO₂] änderte sich bezogen auf das Blattalter nicht wesentlich, sondern blieb weitestgehend konstant. Wenn der Unterschied in der Photosyntheseleistung und im Wachstum zwischen Pflanzen in 4 l und in 10 l Töpfen bei 350 und 700 ppm [CO₂] nicht durch Akklimation beeinflusst wird, so ist dieser folglich ausschließlich durch die Applikation von Nährlösung und somit auch durch die Verfügbarkeit von Nährstoffen und Flüssigkeit gegeben. McConnaughay et al. (1993) wiesen nach, dass eine Verringerung der Topfgröße nicht unbedingt die Akklimation von Photosynthese und Wachstum bei erhöhter CO₂-Konzentration bewirkt, solange die Verfügbarkeit von genügend Nährstoffen gegeben ist. Diese Verfügbarkeit ist somit für den geringen Unterschied in der Biomasseproduktion zwischen Pflanzen bei 350 und 700 ppm [CO₂] in 4 l Töpfen in den hier durchgeführten Experimenten verantwortlich. Die spätere Entwicklung der Pflanzen in den 10 l Töpfen und die deutliche Differenz im Trockengewicht von Pflanzen, die bei 350 und 700 ppm [CO₂] gewachsen waren, ist dadurch ebenfalls zu erklären.

Der Unterschied in der Gesamt- und in der Sprossbiomasse zwischen Pflanzen in 4 l Töpfen bei 350 und bei 700 ppm [CO₂] nimmt mit zunehmender Stickstoffkonzentration ab (Abb. 3.1 und 3.3, Tab. 3.1 und 3.3). Der Grund dafür könnte, wenn Akklimation auszuschließen ist, in einer früheren oder erhöhten Produktion von Abscisinsäure (ABA) von Pflanzen bei erhöhter CO₂-Konzentration liegen. Diese bewirkt eine prozentuale Verringerung des Sprosswachstums bei wurzelraumlimitierten Pflanzen (Carmi 1995, Hurley & Rowarth 1999). Auch der Einfluss anderer Phytohormone ist wahrscheinlich (Carmi & Heuer 1981).

4.1.2 Abhängigkeit von der Ammoniumnitratkonzentration

Pflanzen sind in ihrer Entwicklung stark von der Verfügbarkeit von Nährstoffen abhängig (Brouwer 1962). Sie reagieren darauf in Wachstum und Biomasseproduktion, sowie in der Verteilung von Assimilaten. Als besonders wichtig hat sich das Element Stickstoff erwiesen (Rufty et al. 1984, Fetene et al. 1993), das von der Pflanze durch die Wurzel in Form von Ammonium- und Nitrationen aufgenommen werden kann. In den im Rahmen dieses Projekts durchgeführten Versuchen wurden die Pflanzen mit Nährlösung versorgt, die 1 mM, 3 mM, 6 mM oder 12 mM Ammoniumnitrat als Stickstoffquelle enthielt. Die Zusammensetzung der anderen Nährelemente wurde nicht verändert. Pflanzen, die mit einer sehr geringen Menge an Stickstoff auskommen müssen, bilden ein größeres Maß an Wurzelbiomasse relativ zur Sprossbiomasse, d.h. das Wurzel-Spross-Verhältnis steigt (Abb. 3.4, Tab. 3.4). Dabei ist zu bemerken, dass das absolute Trockengewicht der Wurzel mit zunehmender Stickstoffkonzentration in der Nährlösung bei normaler [CO₂] bei Pflanzen in kleinen Töpfen, also bei besserer Verfügbarkeit der Nährstoffe, deutlicher ansteigt als bei Pflanzen in großen

Töpfen. Generell ist festzustellen, dass Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] mit höherer Stickstoffversorgung mehr Biomasse bilden als die Vergleichspflanzen bei 350 ppm [CO₂] (Abb. 3.1 bis Abb. 3.3). Bei einer Konzentration von 1 mM NH₄NO₃ treten fast keine Unterschiede im Trockengewicht auf. Je höher demnach die Stickstoffversorgung ist, desto besser können Pflanzen bei erhöhter CO₂-Konzentration das Nährstoffangebot zur Biomasseproduktion nützen (Wong 1990, Lutze & Gifford 1998), auch über längere Zeiträume (Maroco et al. 2002). Die hier untersuchten Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] weisen im ersten Drittel der Klimakammerperiode eine erhöhte RGR der Gesamtbiomasse auf (Abb. 3.6). Diese wird von Pflanzen bei 1 mM NH₄NO₃ bestimmt durch die RGR der Wurzelbiomasse (Abb. 3.7), bei Pflanzen, die mit 3, 6, und 12 mM NH₄NO₃ gewachsen waren, jedoch durch die RGR der Sprossbiomasse (Abb. 3.8). Es besteht eine klare Abhängigkeit des Anteils des Wurzeltrockengewichts am Gesamttrockengewicht von der Stickstoffversorgung. Je niedriger diese ist, desto höher ist der Anteil der Wurzelbiomasse an der Gesamtbiomasse (Abb. 3.9) bzw. desto niedriger ist der Anteil der Sprossbiomasse (Abb. 3.10). Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] gewachsen waren, zeigen bei beiden Topfgrößen tendenziell einen höheren Anteil der Sprossbiomasse an der Gesamtbiomasse. Bei dem Anteil der Blätter # 2, 3, und 4 an der Gesamtbiomasse (Abb. 3.11) sind bei beiden Topfgrößen bzw. CO₂-Konzentrationen keine herausragenden Unterschiede festzustellen, wohingegen der Anteil des Stängels mit steigender Ammoniumnitratkonzentration zunimmt. Das bedeutet, mit höherer Stickstoffversorgung werden die Assimilate bei *Ricinus communis* L. hauptsächlich in den Spross-*sink* verlagert, wo sie entweder deponiert oder für ein höheres bzw. schnelleres Sprosswachstum (Abb. 3.12) verwendet werden. Dieses verläuft bei Pflanzen, die 700 ppm [CO₂] zur Verfügung haben, in gesteigertem Maß. Je mehr Ammoniumnitrat und Kohlendioxid Rizinuspflanzen zur Verfügung hatten, desto schneller erfolgte die Bildung der einzelnen Blätter (Abb. 3.13 und Tab. 3.5, Steer & Hocking 1983), desto schneller wuchs Blatt # 2 und desto größer war die gebildete Blattfläche – sowohl von Blatt # 2 als auch die der gesamten Pflanze (Abb. 3.14 und 3.15, Radin & Boyer 1982).

Die gesteigerte und beschleunigte Biomasseproduktion von Rizinuspflanzen bei 700 ppm [CO₂] hängt in erster Linie von der Verfügbarkeit von Nährstoffen und hier im Besonderen von der Ammoniumnitratkonzentration ab. Je höher die Stickstoffversorgung und externe CO₂-Konzentration ist, desto schneller läuft die Entwicklung der Pflanzen ab (Penuelas et al. 1995). Somit muss auch von einer veränderten *source-sink*-Beziehung bei Pflanzen, die a) besser mit Stickstoff versorgt wurden, und b) bei erhöhter CO₂-Konzentration gewachsen waren, ausgegangen werden.

4.2 Veränderte *sink-source*-Beziehungen der Pflanzen bei erhöhter CO₂-Konzentration

4.2.1 Besondere Bedeutung des Spross-*sinks* bei *Ricinus communis* L.

Die Steigerung von Wachstum und Biomasseproduktion von Pflanzen bei erhöhten atmosphärischen CO₂-Konzentrationen ist stark abhängig von der Versorgung mit Nährstoffen, insbesondere Stickstoff (Abb. 3.1 bis 3.3). Mit zunehmender Ammoniumnitratkonzentration in der Nährlösung wird ein höherer Anteil der Sprossbiomasse an der Gesamtbiomasse gebildet, das Wurzel-Spross-Verhältnis sinkt (Abb. 3.4 und 3.9). Der Spross wächst schneller, die Blätter werden in kürzeren Zeitintervallen gebildet und die Blätter entwickeln schneller eine größere Blattfläche (Abb. 3.12 bis 3.15, Tab. 3.5). Diese Prozesse laufen bei erhöhter Stickstoffversorgung bei Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] im Vergleich zu den Kontrollpflanzen bei 350 ppm [CO₂] in beschleunigtem Maß ab. Da die Unterschiede bei Pflanzen, die mit einer Konzentration von 1 mM NH₄NO₃ in der Nährlösung gewachsen waren, nicht oder nicht deutlich auftreten, liegt die Vermutung nahe, dass bei Rizinuspflanzen ähnlich wie bei *Lolium perenne* oder manchen Arten von *Brassica* mit zunehmender Stickstoffversorgung die Limitierung des Spross-*sinks* zurückgeht, und so die erhöhte CO₂-Konzentration effizienter genutzt werden kann (Reekie et al. 1998, Daepf et al. 2001). Während bei Pflanzen mit bikollateralen Leitbündeln, wie z.B. Tabak, die Wurzel als primäres *sink*-Organ fungiert, in welches die Assimilate aus den *source*-Organen zunächst transportiert, und von dem aus die Weiterverteilung in die Spross-*sink*-Organe erfolgt (U. Schaz, pers. Mitteilung), belegen Applikationsversuche mit ¹⁴CO₂, dass bei *Ricinus communis* zunächst die *sink*-Organe des Sprosses mit Assimilaten versorgt werden (Grimmer 1999). Die Größe und Anzahl der *sink*-Organe bestimmt auch die Reaktion der Pflanze auf erhöhte CO₂-Konzentrationen (Reekie et al. 1998). Bei Pflanzen mit niedrigem *source* zu *sink* Verhältnis konnte ein stärkerer Einfluss von erhöhter CO₂-Konzentration auf das Wachstum festgestellt werden als bei Pflanzen, bei denen z.B. *sink*-Organe entfernt wurden (Clough et al. 1981, Peet 1984). Das Ausmaß der *sink*-Organe wird durch regulative Substanzen in der Pflanze beeinflusst. Dies kann zum einen Nitrat selbst sein (Stitt 1999), wodurch das Wurzelwachstum behindert, das Wurzel-Spross-Verhältnis erniedrigt und die Bildung von Seitenwurzeln eingeschränkt werden kann (Marschner 1995, Brouwer 1962). Auch der regulative Einfluss von Nitrat auf die Gen-Expression von Enzymen des Stickstoff- und Kohlenstoffstoffwechsels spielt eine wesentliche Rolle (Stitt 1999). Zum anderen bewirkt

reduzierte Stickstoffversorgung einen Anstieg der Konzentration von ABA, im Besonderen im Wurzelgewebe und im Xylemexsudat (Marschner 1995), was zu vermindertem Sprosswachstum führt.

Bei *Ricinus communis* nimmt mit steigender Stickstoffversorgung die Limitierung des Spross-*sinks* ab und somit auch die Stärke des Spross-*sinks* zu. Dieser Prozess tritt bei erhöhter äußerer CO₂-Konzentration früher ein als bei 350 ppm [CO₂]. Die höhere Stärke des *sink*-Sprosses bzw. der *sink*-Sprossorgane hat demnach auch eine gesteigerte Entladung der Assimilate aus dem Phloem (Heldt 1996) zur Folge, was in engem Zusammenhang mit dem Export und Transport von Kohlenstoff in Form von Assimilaten aus dem *source*-Gewebe steht.

4.2.2 Beschleunigter *sink-source*-Übergang des Blattes # 2 mit zunehmender Stickstoffversorgung und erhöhter CO₂-Konzentration

Alle untersuchten Blätter befanden sich zum Zeitpunkt der Probennahme im *source*-Zustand. Dies lässt sich zum einen durch die Blattfläche begründen, da bei Rizinuspflanzen Blätter als *source*-Blätter gelten, wenn sie eine Fläche von 200 cm² bei einer Ernährung mit 6 mM Ammoniumnitrat erreicht hatten (Grimmer 1999). Als ein weiteres Kriterium lässt sich anführen, dass die Blätter seit etwa 4 Tagen nicht mehr gewachsen waren (Abb. 3.14), wodurch auch davon ausgegangen werden muss, dass es sich bei Blatt # 2 von Pflanzen, die mit 1 mM NH₄NO₃ kultiviert worden waren, um ein *source*-Organ handelte.

Der Übergang vom *sink*-Zustand eines Blattes, also der Situation, in der mehr Kohlenhydrate in das Blatt importiert als exportiert werden, in den *source*-Zustand, d.h. der Zustand, in dem eine positive Kohlenstoffexportbilanz vorliegt, ist abhängig vom Entwicklungszustand des Blattes (Turgeon 1984), kann folglich auch durch äußere Faktoren beeinflusst werden (Schurr et al. 2000). Je schneller sich demnach die Blätter entwickeln, desto früher gelangen sie in den *source*-Zustand (Turgeon 1989). Das Blatt # 2 der hier untersuchten Pflanzen entwickelt sich umso schneller, je höher die Ammoniumnitratkonzentration in der Nährlösung ist, und, bei vergleichbarer Stickstoffversorgung, je höher die atmosphärische CO₂-Konzentration ist. Dies gilt sowohl für die Blattfolge, d.h. frühere Bildung von Blatt # 2 (Abb. 3.13 und Tab. 3.5), als auch für die Blattflächenentwicklung (Abb. 3.14). Die Unterschiede zwischen Pflanzen bei 350 und 700 ppm [CO₂] sind bei geringer Stickstoffversorgung nicht sehr ausgeprägt und werden mit steigender Konzentration von NH₄NO₃ in der Nährlösung deutlicher. Es kann deshalb davon ausgegangen werden, dass mit zunehmender Verfügbarkeit von Stickstoff und erhöhten CO₂-Konzentrationen sich eine

schnellere Entwicklung der Pflanze vollzieht, und somit auch der *sink-source* Übergang eines Blattes dieser Pflanze mit beschleunigter Geschwindigkeit abläuft.

In einem *sink*-Blatt wird der Kohlenstoff für die Proteinsynthese hauptsächlich durch die sich entwickelnde Photosyntheseleistung bereitgestellt, der Kohlenstoff zum Aufbau der strukturellen Kohlenhydrate wird importiert (Joy 1967, Turgeon 1989). Mit zunehmender Entwicklung verschiebt sich dieses Verhältnis zu Gunsten der eigenen Photosyntheseleistung des Blattes, so dass der Import von Kohlenhydraten immer weiter zurückgedrängt wird (Dickson & Larson 1975). Über die gesamte Wachstumsperiode hin gesehen werden somit mehr Kohlenhydrate durch die Photosynthese gebildet als importiert (Turgeon 1989). Die Photosyntheseleistung des Blattes steht dadurch in engem Zusammenhang mit dem *sink-source*-Übergang. Wenn das Blatt früher eine Photosyntheseleistung erreicht, die es ermöglicht, Kohlenstoff für den Aufbau struktureller Kohlenhydrate weitestgehend selbst bereitzustellen, wird es schneller wachsen und somit schneller reifen, wodurch der *source*-Zustand früher erreicht wird (Turgeon 1989). Es ist deswegen wahrscheinlich, dass bei Blättern mit höherer Photosyntheseleistung der *sink-source*-Übergang früher stattfindet. Bei den im Rahmen dieses Projekts untersuchten Pflanzen weisen die Blätter mit zunehmender Stickstoffversorgung höhere Raten der Nettophotosynthese auf (Tab. 3.7). Außerdem wurden bei Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] höhere Werte gemessen als bei den Kontrollpflanzen bei 350 ppm [CO₂]. Es konnte ferner festgestellt werden, dass bei Pflanzen, die unter erhöhter CO₂-Konzentration gewachsen waren, eine wesentlich bessere Stickstoffnutzungseffizienz der Photosynthese auftritt (Abb. 3.25 und Tab. 3.20). Es liegt somit der Schluss nahe, dass Blätter von Pflanzen, die mit höherer Konzentration an Ammoniumnitrat und / oder mit erhöhter CO₂-Konzentration versorgt wurden, aufgrund der höheren Photosyntheseraten und der besseren Stickstoffnutzungseffizienz schneller in den *source*-Zustand übergingen als die Vergleichspflanzen.

Der *source*-Zustand eines Blattes ist dadurch charakterisiert, dass das Blatt mehr Kohlenstoff in Form von Photosyntheseprodukten exportiert als importiert. Beides geschieht im Phloemgewebe der Leitbündel, wobei diese der Größe nach in bis zu fünf Klassen unterteilt werden können (Ding et al. 1988). Während die Kohlenhydrate in die *sink*-Blätter durch die größeren Leitbündel der Klassen eins bis drei importiert werden, um dort symplastisch entladen zu werden (Ding et al. 1988), werden die kleineren Leitbündel ausschließlich für den Export benützt. Der Übergang von *sink* nach *source*, d.h. die Differenzierung der größeren Leitbündel von Import nach Export, ist entwicklungsbedingt und nicht von dem Vermögen des Blattes abhängig, eine gewisse Menge an Kohlenstoff aus der Atmosphäre fixieren zu können (Turgeon 1984, 1989). Nach der Beendigung des Imports, die durch ein langsames Abebben der Phloementladung bedingt ist, erfolgt der Export erst

nach einer Übergangszeit in den größeren Leitbündeln. Die Umkehrung des Flusses von Assimilaten im Phloemgewebe dieser Leitbündel ist irreversibel. Durch die Polarität der Beladung wird weiterhin verhindert, dass ein übermäßiger Rücktransport von Assimilaten in *source*-Blätter stattfindet, wenn z.B. diese Blätter verdunkelt werden (Turgeon 1989).

4.3 Erhöhter Kohlenstoffexport in Form von Assimilaten und Fluss dieser Assimilate bei 700 ppm [CO₂]

Die Kohlendioxidfixierung bei erhöhten CO₂-Konzentrationen muss von der Pflanze mit dem Kohlenhydratmetabolismus einerseits und dem Export der Assimilate aus den *source*-Blättern andererseits in Einklang gebracht werden (Farrar & Williams 1991). Aufgrund individueller Stoffwechselcharakteristika, aber auch durch äußere Faktoren, wie z.B. Nährstoffangebot, beeinflusst, reagieren Pflanzen im Besonderen im Assimilatexport aus *source*-Blättern unterschiedlich auf erhöhte äußere CO₂-Konzentrationen. So konnte sowohl eine Abnahme der Exportrate bei erhöhter CO₂-Konzentration bei *Glycine max* (Huber et al. 1984), *Phaseolus vulgaris* (Hoddinott & Jolliffe 1988) und *Poa alpina* (Baxter & Farrar 1999), als auch eine Zunahme der Exportrate bei *Lycopersicon esculentum* (Ho 1977 in Farrar & Williams 1991) und *Ricinus communis* (Grimmer & Komor 1999) gemessen werden. Bei den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Pflanzen ist eine mindestens gleiche, in den meisten Fällen jedoch höhere Exportrate von Kohlenstoff bei erhöhter CO₂-Konzentration festzustellen (Abb. 3.21 bis 3.23). Die Kohlenstoffexportraten steigen mit zunehmender Stickstoffversorgung an. Die Gesamtexportrate wird dominiert von dem Lichtexport, welcher bei allen Bedingungen den Dunkelexport übertrifft. Die Kohlenstoffexportrate im Licht wird ihrerseits wesentlich geprägt von der Photosyntheseleistung, da mit höherer Stickstoffkonzentration in der Nährlösung auch der prozentuale Anteil des exportierten Kohlenstoffs am gesamten während der Lichtphase fixierten Kohlenstoff auf bis zu 64 % zunimmt (Tab. 3.13). Somit übt die Stickstoffversorgung einen entscheidenden Einfluss auf den Lichtexport aus, da mit steigender Ammoniumnitratkonzentration höhere Nettphotosyntheseraten resultieren (Tab. 3.7). Die höheren Exportraten bei 700 ppm [CO₂] sind dadurch auf die bessere Verfügbarkeit von Stickstoff bei zunehmender Konzentration von NH₄NO₃ zurückzuführen und auf die erhöhte Stickstoffnutzungseffizienz der Photosynthese (Abb. 3.25 und Tab. 3.20). Der Kohlenstoffexport im Dunkeln wird jedoch auch von der Stickstoffernährung geprägt. Bei 1 mM NH₄NO₃ häuft sich bei beiden CO₂-Konzentrationen ein *Stärkepool* im Blatt an, der nicht abgebaut werden kann. Die Dunkelexportraten sind somit sehr niedrig. Erst ab einer

Konzentration von 3 mM NH_4NO_3 ist die angestaute Stärke besser verfügbar, es kommt zu einer höheren Rate der Kohlenstoffabnahme im Blattgewebe (Tab. 3.12) und dadurch zu einer höheren Exportrate (Abb. 3.21 bis 3.23). Bei höheren Stickstoffkonzentrationen wird bei beiden CO_2 -Konzentrationen kein ausgeprägter *Stärkepool* gebildet, es wird die tags synthetisierte transitorische Stärke nachts abgebaut (Abb. 3.20) und die Kohlenhydrate werden exportiert. Die Unterschiede im Dunkelexport zwischen 350 und 700 ppm $[\text{CO}_2]$ sind trotz der höheren Respirationsraten bei 700 ppm (Tab. 3.8) nicht so deutlich wie die im Lichtexport. Dennoch wird hier der regulative Einfluss der Stickstoffversorgung auf den Kohlenhydrathaushalt des *source*-Blattes besonders bei den Kohlenhydrat Stärke (Abb. 3.20) offensichtlich. Bei den anderen Kohlenhydraten Glukose, Fruktose und Saccharose ist keine eindeutige Abhängigkeit von der Konzentration an Ammoniumnitrat in der Nährlösung erkennbar (Abb. 3.17 bis 3.19), gleichwohl wurden bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ leicht erhöhte Werte gemessen. Die Tatsache, dass bei *Ricinus communis* bei erhöhter CO_2 -Konzentration nur geringfügig höhere Werte für nicht strukturelle Kohlenhydrate ermittelt wurden, liegt in der Beladungsart des Phloems im *source*-Gewebe. Bei *Ricinus communis* wird das Phloem hauptsächlich apoplastisch beladen (Orlich & Komor 1992). Werden krautige Pflanzen, in deren *source*-Blätter das Phloem vorwiegend apoplastisch beladen wird, erhöhten CO_2 -Konzentrationen ausgesetzt, so steigen die nicht strukturellen Kohlenhydrate nur leicht an, im Gegensatz zu Pflanzen, die das Phloem in erster Linie symplastisch beladen. Hier ist ein starker Anstieg dieser Kohlenhydrate messbar (Körner et al. 1995). Begründet wird dies durch die anscheinend höhere Abhängigkeit der apoplastischen Belader von der *sink*-Aktivität und dadurch auch von der Stickstoffversorgung. Ist, so wie bei den hier untersuchten Pflanzen mit einer Ernährung von 1 mM NH_4NO_3 , die Stickstoffkonzentration niedrig, häufen sich die nicht strukturellen Kohlenhydrate, allen voran Stärke, an und es findet eine Rückkopplungshemmung und damit eine Zurückregulierung der Photosyntheseleistung statt. Deswegen unterscheiden sich auch bei dieser Ammoniumnitratkonzentration die Exportraten zwischen 350 und 700 ppm $[\text{CO}_2]$ nicht. Pflanzen, die vorwiegend symplastisch beladen und dadurch a priori höhere Gehalte an nicht strukturellen Kohlenhydraten im *source*-Gewebe aufweisen, sind auf diese Weise bei erhöhten CO_2 -Konzentrationen früher einer Akklimation ausgesetzt, was letzten Endes auch niedrigere Kohlenstoffexportraten zur Folge hat (Farrar & Williams 1991, Körner et al. 1995).

In engem Zusammenhang mit der Beladung und dem Export von Assimilaten steht auch deren Transport über längere Strecken in den Siebröhren des Phloems. Dabei ist es maßgeblich, wie schnell bzw. in welchem Umfang die Assimilate aus dem *source*-Gewebe abtransportiert werden können, wie schnell demnach das *sink*-Gewebe darüber verfügen kann. Die Haupttranslokationsform der Assimilate bei *Ricinus communis* L. ist Saccharose

(Hall & Baker 1972, Smith & Milburn 1980). Des Weiteren ist das Translokationsmedium in den Siebröhren bei Rizinuspflanzen gut zugänglich (Milburn 1970). Die Messung von Exsudationsraten sollte demnach Auskunft über die Geschwindigkeit des Transports geben, die Analyse der Saccharosekonzentration des Siebröhrenexsudats sollte Rückschlüsse darüber liefern, in welchem mengenmäßigen Umfang die Assimilate transportiert werden. Die Messung von Exsudationsraten zur Bestimmung der Flussgeschwindigkeit eignet sich sehr gut für Rizinuspflanzen, wenn diese sich im Entwicklungszustand des Keimlings befinden (Kallarackal et al. 1989, Orlich & Komor 1992). Bei den Petiolen von *source*-Blättern war dies nicht möglich, da die Exsudatnahme stark von äußeren Einflüssen abhängig war. Es resultierte für die Blätter aller untersuchten Pflanzen eine durchschnittliche Exsudationsrate von $1,35 \pm 1,12$ [$\mu\text{l min}^{-1}$], ohne Abhängigkeit von Stickstoffernährung und CO_2 -Konzentration. Die Analyse der Saccharosekonzentration im Siebröhrenexsudat ergab, dass sowohl bei 350 ppm als auch bei 700 ppm [CO_2] die annähernd gleiche Konzentration an Saccharose vorlag (Abb. 3.24). Da nun die Flussraten der exportierten Assimilate im Phloemgewebe der Petiole des Blattes # 2 von Pflanzen bei 700 ppm [CO_2] größer waren als die von Pflanzen bei 350 ppm [CO_2] (Tab. 3.16), muss davon ausgegangen werden, dass die Assimilate mit einer höheren Geschwindigkeit in Pflanzen bei 700 ppm [CO_2] transportiert wurden.

Diese höhere Flussgeschwindigkeit der Assimilate ist jedoch nur möglich, wenn in den *sink*-Gewebe ebenfalls eine gesteigerte Entladung des Phloems stattfindet. Der Fluss in den Siebröhren wird getrieben von einem Gradienten des Turgordrucks zwischen *source* und *sink* (Patrick 1997). Das bedeutet, Vorgänge an dem einen Ende üben einen direkten Einfluss auf das andere Ende aus. Während bei *Solanum tuberosum* (Sweetlove & Hill 2000) und bei Rizinuskeimlingen (Orlich 1998) der Export von Saccharose und der Fluss in den Siebröhren vom *source*-Gewebe dominiert wird, wirkt bei adulten Rizinuspflanzen offensichtlich das *sink*-Gewebe, und hier im Besonderen das des Sprosses für den Kohlenstoffexport in Form von Assimilaten und den Fluss dieser Assimilate in den Siebröhren bestimmend. Mit zunehmender Stickstoffversorgung findet ein gesteigertes Sprosswachstum statt (Abb. 3.3), ferner steigen die Kohlenstoffexportraten, v.a. im Licht, stark an (Abb. 3.21 bis 3.23). Je höher die Stickstoffkonzentration in der Nährlösung ist, desto niedriger ist aber auch der Stärkegehalt im *source*-Blatt (Abb. 3.20), d.h. desto mehr Kohlenstoff kann aus dem *source*-Gewebe exportiert werden. Wäre die Wurzel als *sink*-Organ bestimmend für den Kohlenstoffexport bei *Ricinus communis*, würde sich bei niedriger Stickstoffversorgung kein *Stärkepool* im Blattgewebe anhäufen, sondern diese Stärke würde abgebaut und die Assimilate in die Wurzel transportiert werden. Die Frage nach einer Limitierung des Wurzelraums, weswegen die Stärke im Blatt akkumulieren würde, stellt sich nicht, da die totale Biomasse der Wurzel mit steigender Konzentration an Ammoniumnitrat in

der Nährlösung bei Pflanzen in 4 l Töpfen sogar noch zunimmt (Abb. 3.2). Applikationsversuche mit $^{14}\text{CO}_2$ belegen weiterhin eindeutig, dass in den Spross-*sinks* bevorzugt exportiert wird (Grimmer 1999). Es ist demnach die Entwicklung des Spross-*sinks* bei Rizinuspflanzen entscheidend für den Kohlenstoffexport in Form von Assimilaten aus dem *source*-Gewebe und deren Fluss in den Siebröhren. Mit steigender Stickstoffernährung macht sich auch der Einfluss von erhöhter CO_2 -Konzentration stärker bemerkbar, woraus das gesteigerte Wachstum resultiert.

Die Frage nach der Limitierung des Wachstums von *Ricinus communis* L. kann somit eindeutig beantwortet werden (Grimmer & Komor 1999). Im Wachstum verminderte Pflanzen unterliegen einer Limitierung des Spross-*sinks*, welche durch unzureichende Nährstoffversorgung, insbesondere von Stickstoff, verursacht wird. Eine Rezirkulation von Kohlenhydraten durch das Xylem ist auszuschließen (Tab. 3.14).

4.4 Besonders enge Verknüpfung des Kohlenstoff- und des Stickstoffstoffwechsels bei 700 ppm [CO_2]

4.4.1 C/N-Verhältnis und der Einfluss auf die Photosyntheseleistung

Die enge Verknüpfung des Kohlenstoff- und des Stickstoffstoffwechsels (Lawlor 2002) zeigt sich in besonderer Weise durch das C/N-Verhältnis, welches die Photosynthese reguliert (Paul & Foyer 2001). Bei Pflanzen, die unter erhöhter CO_2 -Konzentration wachsen, steigt das C/N-Verhältnis im Blatt an (Tab. 3.19, Riviere-Rolland et al. 1996, Grimmer 1999), was auf einen niedrigeren Stickstoffanteil im Blattgewebe zurückzuführen ist (Tab. 3.17, Makino & Mae 1999). Der Stickstoffgehalt eines Blattes wird wesentlich durch das Enzym RubisCO geprägt, welches 30 % des gesamten Stickstoffs in einem Blatt einer C_3 -Pflanze ausmachen kann (Bainbridge et al. 1995). Somit wird der niedrigere Anteil an Stickstoff im Blattgewebe bei erhöhter CO_2 -Konzentration einem niedrigeren Gehalt an RubisCO zugeschrieben (Bowes 1991). Der Stickstoffanteil im Blattgewebe, und somit der RubisCO-Gehalt, ist jedoch nicht generell niedriger bei erhöhten CO_2 -Konzentrationen, sondern zeigt Abhängigkeit von der Stickstoffernährung. Bei hoher Stickstoffversorgung konnte kein niedrigerer RubisCO-Gehalt im Blattgewebe in Blättern von Pflanzen, die erhöhter CO_2 -Konzentration ausgesetzt waren, festgestellt werden (Tab. 3.17, Habash et al. 1995, Geiger et al. 1999). Bei niedriger Stickstoffernährung dagegen ist ein deutlicher Unterschied im Stickstoffanteil des Blattgewebes zu erkennen (Tab. 3.17), dahingehend, dass die Werte für

Pflanzen, bei 700 ppm [CO₂] klar unter denen der Vergleichspflanzen bei 350 ppm [CO₂] liegen. Dies ist nicht etwa auf einen „Verdünnungseffekt“ (Makino & Mae 1999) zurückzuführen, der durch verstärktes Wachstum des Blattes auftritt, sondern liegt daran, dass eine Veränderung der Stickstoffallokation aus den Blättern hin zur Wurzel stattfindet (Makino et al. 1997, Makino & Mae 1999, Walch-Liu et al. 2001).

Es konnten jedoch bei jeder Stickstoffversorgung höhere Raten der Photosynthese und der Dunkelatmung bei Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] gewachsen waren, gemessen werden (Tab. 3.7 und 3.8). Das bedeutet, die Photosynthesekapazität von Blättern bei erhöhter CO₂-Konzentration lag auch noch bei u. U. niedrigerem Stickstoffanteil des Blattgewebes über der von Blättern, die bei momentanen atmosphärischen CO₂-Konzentrationen gewachsen waren. Diese Leistungsfähigkeit kommt durch die Stickstoffnutzungseffizienz der Photosynthese zum Ausdruck (Abb. 3.25 und Tab. 3.20). Blätter von Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] zeigten bei niedrigerem oder vergleichbarem Stickstoffgehalt eine höhere Nettophotosyntheserate. Auch der Koeffizient der Stickstoffnutzungseffizienz für Blätter von Pflanzen bei 700 ppm [CO₂] war bei allen Bedingungen höher als der der Blätter von Vergleichspflanzen. Als möglicher Grund dafür könnte angesehen werden, dass noch genügend RubisCO im Blattgewebe verbleibt, um das gesteigerte CO₂-Angebot zu nutzen, auch im Hinblick auf eine verringerte Rate der Photorespiration.

4.4.2 Verminderte Photorespiration bei erhöhter CO₂-Konzentration

Das Enzym RubisCO katalysiert zwei Reaktionen: Zum einen ist dies die Carboxylierung von Ribulose-1,5-bisphosphat, und somit die Fixierung von CO₂ (Photosynthese), und zum anderen die Oxigenierung von Ribulose-1,5-bisphosphat, d.h. der Einbau von Sauerstoff (Photorespiration). Die letztere Reaktion bedeutet eine Einschränkung der Produktivität einer Pflanze, die bis zu 50 % betragen kann (Bainbridge et al. 1995). Die Aktivität von RubisCO, welches eine geringe Wechselzahl besitzt, ausgedrückt durch einen *Turnover* von lediglich 3 s⁻¹ bei 25 °C (Bainbridge et al. 1995), ist abhängig von Licht, Temperatur und CO₂-Konzentration in der Atmosphäre (Leegood et al. 1995). So liegt z.B. das Verhältnis von Photorespiration zu Photosynthese bei 350 ppm [CO₂] und 21 % [O₂] bei 10 °C bei 0,1, bei 40 °C jedoch bei 0,3 (Leegood et al. 1995). Wenn das Verhältnis von CO₂ zu O₂ verändert wird, reagiert folglich auch RubisCO auf diese Änderung und es wird der Stoffwechselweg stärker betont, dessen Substrat in erhöhter Konzentration vorliegt. Wenn also die CO₂-Konzentration in der Atmosphäre erhöht wird, kommt es folglich zu einem Rückgang der Photorespiration, u.U. bis um 50 % (Bowes 1991, Stitt 1991). Der Hintergrund dieses Stoffwechselwegs, der große Mengen an ATP und Reduktionsäquivalenten verbraucht, ist

die Regeneration des durch die Oxigenierungsreaktion verbrauchten Ribulose-1,5-bisphosphats. Der wesentliche Schritt hierbei ist die Bildung von einem Serinmolekül aus zwei Glycinmolekülen, was durch den Glycin-Decarboxylase-Enzymkomplex in den Mitochondrien katalysiert wird (Leegood et al. 1995). Das Maß der Photorespiration bei 350 und bei 700 ppm [CO₂] lässt sich folglich durch den Gehalt der Aminosäuren Glycin und Serin im Blattgewebe bestimmen (Geiger et al. 1998). Die Folge des Rückgangs der Photorespiration bei erhöhter CO₂-Konzentration ist somit die Abnahme des Gehalts an Glycin und Serin (Abb. 3.30, Geiger et al. 1998). Die Unterschiede zwischen 350 und 700 ppm [CO₂] nehmen mit steigender Stickstoffversorgung zu und sind dann besonders ausgeprägt bei Pflanzen in 4 l Töpfen, was die Abhängigkeit von Wachstum und Stoffwechsel der Pflanzen von der Anzuchtbedingung unterstreicht. Ein weiterer Grund für die geringe Differenz in den Gehalten von Serin und Glycin zwischen 350 und 700 ppm [CO₂] bei Pflanzen in 10 l Töpfen könnte auch sein, dass als Aminodonor für die Bildung von Glycin in den Peroxisomen bevorzugt Glutamat eingesetzt wird, wodurch der höhere Glycingehalt und der sehr niedrige Glutamatgehalt bei 12 mM NH₄NO₃ und 700 ppm [CO₂] im Blattgewebe erklärt werden könnte. Der Glycingehalt ist in *source*-Blättern von Tabak sowohl bei 350 als auch bei 700 ppm [CO₂] wesentlich höher als der Seringehalt. Bei erhöhten CO₂-Konzentrationen geht der Glycingehalt im Verhältnis stärker zurück als der Seringehalt, was zu einem Anstieg des Serin-Glycin-Verhältnisses bei 700 ppm [CO₂] in der Mitte der Lichtphase führt (Geiger et al. 1998). Bei *Ricinus communis* wurde jedoch stets ein höherer Serin- als Glycingehalt gemessen (Abb. 3.30) und es erfolgte bei erhöhter CO₂-Konzentration bevorzugt eine Abnahme von Serin gegenüber Glycin. Aus diesem Grund wurde im Blattgewebe von Rizinuspflanzen bei 700 ppm [CO₂] bei allen Bedingungen ein niedrigeres Serin-Glycin-Verhältnis ermittelt (Tab. 3.25). Das würde bedeuten, dass ein höheres Maß an Photorespiration resultiert. Es ist aber dennoch davon auszugehen, dass bei erhöhter CO₂-Konzentration die Photorespiration bei *Ricinus communis* erniedrigt ist, da bei fast allen Bedingungen ein niedrigerer Gehalt von Serin und Glycin im Blattgewebe gemessen wurde (Abb. 3.30).

4.4.3 Unterschiedlicher Einfluss von erhöhter CO₂-Konzentration auf die Nitratreduktaseaktivität in Blättern und Wurzeln

Das Enzym Nitratreduktase (NR) katalysiert im Zytoplasma die Reduktion von Nitrat zu Nitrit. Die Regulation der NR ist sehr komplex und kann sowohl auf Transkriptionsebene als auch posttranslational erfolgen (Solomonson & Barber 1990). Positiv auf die Expression der *nia*

Gene wirken sich Nitrat, Licht, Hexosephosphate und ein möglicher plastidärer Faktor aus, negativ hingegen Ammoniumionen sowie Glutamin bzw. andere Aminosäuren (Solomonson & Barber 1990, Heldt 1996). NR wird durch Phosphorylierung aktiviert und erlangt seine volle Aktivität nur durch das Vorhandensein des Mo-Pterin-Cofaktors (Solomonson & Barber 1990, Heldt 1996, Campbell 1999). Die Funktion der NR kann beeinträchtigt werden durch ein Inhibitorprotein, durch Hydroxylamin, Cyanide, Peroxide, Ocadainsäure oder durch die Degradation durch Proteasen (Solomonson & Barber 1990, Heldt 1996).

Bei den im Rahmen dieses Projekts untersuchten Pflanzen steigt der Nitratgehalt im Blatt- und Wurzelgewebe mit steigender Ammoniumnitratkonzentration in der Nährlösung an (Abb. 3.26 und 3.27). Bei einer Konzentration von 1 und 3 mM NH_4NO_3 sind keine Unterschiede zwischen Pflanzen, die bei 350 und 700 ppm $[\text{CO}_2]$ gewachsen waren, weder im Licht noch im Dunkeln zu erkennen. Bei höherer Stickstoffversorgung enthalten Pflanzen bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ weniger Nitrat in Blättern und Wurzeln, wobei bei letzteren Organen eine deutlichere diurnale Abhängigkeit festzustellen ist. Betrachtet man die Nitratreduktaseaktivität (NRA) in den beiden Organen (Abb. 3.28 und 3.29), lässt sich ebenfalls eine Zunahme mit steigender Stickstoffernährung erkennen. Bei 1 und 3 mM NH_4NO_3 sind keine Unterschiede der NRA im Licht und Im Dunkel offensichtlich, erst bei höheren Ammoniumnitratkonzentrationen in der Nährlösung ist ein Einfluss sowohl von der Tageszeit als auch von der CO_2 -Konzentration auszumachen. Es sind nachts stets niedrigere Werte der NRA als tags gemessen worden, was auf die Lichtregulation der NRA zurückzuführen ist (Solomonson & Barber 1990). Das Einwirken erhöhter CO_2 -Konzentration auf die NRA von *Ricinus communis* ist jedoch ambivalent, denn die NRA in *source*-Blättern wird – trotz geringerem Nitratgehalt – erhöht, in Wurzeln jedoch erniedrigt. Ein Rückgang der NRA in Tabakblättern bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ in der Mitte der Lichtphase (Geiger et al. 1998, Geiger et al. 1999) trifft somit für Blätter von Rizinuspflanzen nicht zu. Auch die NRA im Wurzelgewebe differiert zwischen Tabak und *Ricinus communis* bei höherer Stickstoffversorgung. Während bei Tabak in der Lichtphase die Werte der NRA bei erhöhter CO_2 -Konzentration höher sind und erst gegen Ende der Dunkelphase unter die Werte der NRA bei 350 ppm $[\text{CO}_2]$ fallen (Geiger et al. 1998), liegen bei Rizinuspflanzen sowohl im Licht als auch im Dunkel die Werte der NRA bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ unter denen bei 350 ppm $[\text{CO}_2]$. Der Grund für die erhöhte NRA im Blattgewebe bei 700 ppm $[\text{CO}_2]$ könnte in der verstärkten Anlieferung von Nitrat durch das Xylem liegen (Tab. 3.21), welches sofort reduziert wird, so dass eine Lagerung von Nitrat in den Vakuolen (Solomonson & Barber 1990) zurückgedrängt wird, wodurch sich ein niedrigerer Nitratgehalt im Blattgewebe erklären ließe. Des Weiteren ist ebenfalls denkbar, dass überschüssiges Nitrat, welches nicht verwertet werden kann, durch das Phloemsystem anderen Teilen des

Sprosses zur Verfügung gestellt wird (Tab. 3.22). Die geringere NRA in den Wurzeln von *Ricinus communis* bei 700 ppm [CO₂] könnte zum einen am verstärkten Transport von Nitrat im Xylem liegen (Tab. 3.21), zum anderen ist auch denkbar, dass durch die veränderte *sink-source*-Beziehung in Rizinuspflanzen bei erhöhten CO₂-Konzentrationen relativ weniger Assimilate in die Wurzeln transportiert werden, was sich auch auf die Nitratassimilation auswirken könnte (Morcuende et al. 1998).

Bei Tabak konnte ferner festgestellt werden, dass die NRA bei geringen Stickstoffkonzentrationen in *source*-Blättern und Wurzeln von der Form des Stickstoffs – Nitrat oder Ammoniumnitrat – abhängt (Matt et al. 2001), wobei über den gesamten Tag gesehen die NRA bei Pflanzen, die mit Nitrat versorgt wurden, bei erhöhter [CO₂] über der von Pflanzen bei normaler [CO₂] lag bzw. unverändert blieb. Bei der Ernährung mit Ammoniumnitrat nahm hingegen die NRA bei erhöhter [CO₂] stärker ab als bei normaler [CO₂]. Dies konnte in vorläufigen Resultaten auch für Rizinuspflanzen ermittelt werden (Daten nicht gezeigt).

4.4.4 Einfluss von erhöhter CO₂-Konzentration auf die Bildung und den Transport von Aminosäuren

Mit zunehmender Stickstoffversorgung steigt der Gehalt an Aminosäuren im *source*-Blattgewebe von Tabak bei erhöhter CO₂-Konzentration stärker an als bei normaler [CO₂] (Geiger et al. 1998, 1999). Auch im Gewebe des untersuchten *source*-Blattes # 2 von *Ricinus communis* konnte dies festgestellt werden (Tab. 3.26). Ein möglicher Hintergrund dafür könnte in dem höheren Gehalt an Saccharose im Blattgewebe liegen (Abb. 3.19), da bei gesteigertem Saccharosegehalt auch eine verstärkte Bildung von Aminosäuren beobachtet wurde (Morcuende et al. 1998).

Zur näheren Betrachtung wurden die Gehalte der Aminosäuren Glutamin (Gln), Glutamat (Glu), Asparagin (Asn), Aspartat (Asp), Serin (Ser) und Glycin (Gly) ausgewählt (Abb. 3.30), da diese an wesentlichen Stoffwechselreaktionen, welche die enge Verknüpfung des Stickstoff- und Kohlenstoffstoffwechsels verdeutlichen, beteiligt sind. So sind Gln, Glu, Asn und Asp Substrate für Transaminasen, durch die Stickstoff in Kohlenstoffverbindungen eingebaut wird (Heldt 1996), Ser und Gly gelten als Marker der Photorespiration (Geiger et al. 1998).

Bei allen untersuchten Bedingungen wurde ein höherer Gehalt an Aspartat gegenüber Asparagin im Blattgewebe festgestellt (Abb. 3.30). Dies könnte entweder daran liegen, dass die Bildung von Asparagin im Gegensatz zur Synthese von Glutamin einen höheren Energieaufwand erfordert (Heldt 1996), oder bei Rizinuspflanzen für Transaminierungen

verstärkt Asn eingesetzt wird. Das Asparagin zu Aspartat Verhältnis lag bei 700 ppm [CO₂], genauso wie bei Tabak (Geiger et al. 1999), über dem bei 350 ppm [CO₂] (Tab. 3.24). Deutlich höhere Gehalte wurden für Glutamin und Glutamat ermittelt (Abb. 3.30), wobei das Verhältnis der beiden Aminosäuren zueinander von der Stickstoffversorgung abhing (Tab. 3.23). Während bei 1 mM und 3 mM NH₄NO₃ ein höherer Glutamatgehalt vorlag, wurde bei 6 mM und 12 mM NH₄NO₃ im Blattgewebe ein höherer Glutamingehalt bestimmt. Das Verhältnis der beiden Aminosäuren zueinander zeigte keine klare Abhängigkeit von der CO₂-Konzentration (Tab. 3.23). Das durch die Photorespiration freigesetzte und das durch die Wurzeln aufgenommene Ammonium wird im Chloroplasten wieder in Glutamat eingebaut und es wird so durch die Glutamin-Synthetase Glutamin gebildet (Leegood et al. 1995). Bei ausreichender Verfügbarkeit von α -Ketoglutarat (α -KG) wird dann aus Gln und α -KG durch Fd-GOGAT Glutamat synthetisiert (Ferrario-Mery et al. 2000). Ist nun, wie bei erhöhter CO₂-Konzentration, die Photorespiration vermindert, resultieren höhere Gehalte an Glutamat und auch an Glutamin, wenn genügend anorganisches Ammonium vorhanden ist. Für Pflanzen, die mit 1 mM bzw. mit 3 mM NH₄NO₃ gewachsen waren, war anscheinend die Versorgung mit Ammonium bzw. Nitrat, welches reduziert wurde, nicht ausreichend, damit Gln in verstärktem Maß gebildet wurde, was bei einer Ammoniumnitratkonzentration von 6 mM und 12 mM in der Nährlösung zu beobachten war. Da bei erhöhter CO₂-Konzentration die Photorespiration zurückgedrängt wird, somit auch weniger Ammonium freigesetzt wird, welches zur Glutaminsynthese zur Verfügung steht, aber dennoch höhere Gehalte an Gln im Blattgewebe von Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] gewachsen waren, gemessen wurden, liegt die Vermutung nahe, dass bei erhöhter CO₂-Konzentration mehr Glutamin-Synthetasmoleküle im Gewebe vorliegen, was durch einen höheren Proteingehalt pro Blatt bei 700 ppm [CO₂] belegt werden könnte (Abb. 3.32). Ein anderer möglicher Grund für den gesteigerten Glutamingehalt könnte in einer forcierten Glutamin-Synthetaseaktivität bei erhöhter CO₂-Konzentration liegen, da aufgrund des äußeren Angebots von 6 mM bzw. 12 mM NH₄NO₃ in der Nährlösung bzw. einer verstärkten Nitratreduktaseaktivität (Abb. 3.28) ein höherer Gehalt an Ammoniumionen im Blattgewebe zu erwarten ist. Ob der gesteigerte Glutamingehalt auch auf eine niedrigere Aktivität der Fd-GOGAT zurückzuführen ist (Ferrario-Mery et al. 2000), müsste jedoch durch die Bestimmung des Gehaltes an α -KG im Blattgewebe belegt werden. Bemerkenswert ist ferner, dass trotz eines gesteigerten Glutamingehaltes die NRA bei 700 ppm [CO₂] nicht zurückgedrängt wird, da sich Glutamin hemmend auf die Expression der *nia* Gene auswirkt (Solomonson & Barber 1990). Eine mögliche Erklärung dafür könnte in der kompartimentellen Trennung von Glutaminspeicherung in den Chloroplasten und Nitratreduktase im Cytosol liegen. Des Weiteren ist bei *Ricinus communis* Glutamin unter allen Bedingungen die Haupttranslokationsform von Stickstoff im Phloem (Abb. 3.31 und Tab. 3.27,

Allen & Smith 1986, Allen & Raven 1987, Peuke et al. 1994). Wenn demnach die Pflanze für ein besseres Wachstum gesteigerte Mengen an Stickstoff benötigt, ist von den *source*-Blättern ein erhöhtes Maß an Glutamin zu synthetisieren und zu exportieren, damit dem verstärkten Bedürfnis an Stickstoff nachgekommen werden kann.

Die Glutaminkonzentration im Siebröhrenexsudat der Petiolen von *source*-Blättern ist aber wie die der gesamten Aminosäuren bei 700 ppm [CO₂] stets niedriger als bei 350 ppm [CO₂] (Abb. 3.31 und Tab. 3.27). Für das gesteigerte Wachstum bei erhöhter CO₂-Konzentration, v.a. mit zunehmender Ammoniumkonzentration in der Nährlösung, müssen jedoch die *sink*-Gewebe mit einem verstärktem Maß an Stickstoff versorgt werden. Dies könnte zum Beispiel durch das Xylem ausgeführt werden, da bei 700 ppm [CO₂] auch eine erhöhte Konzentration an Nitrat im Xylemsaft gefunden wurde (Tab. 3.21). Auf der anderen Seite wurde in den Wurzeln bei 700 ppm [CO₂] aber eine niedrigere NRA gemessen (Abb. 3.29), wodurch sich weniger Aminosäuren im Xylemsaft befinden dürften. Demnach ist das *sink*-Gewebe auf die Stickstoffverbindungen, die aus den *source*-Blättern transportiert werden, in besonderer Weise angewiesen. Wenn folglich die Aminosäuren, allen voran Glutamin, bei 700 ppm [CO₂] in höheren Gehalten im Blattgewebe vorliegen und auch in verstärktem Maß den *sink*-Gewebe zur Verfügung gestellt, d.h. exportiert werden, und dennoch in niedrigerer Konzentration im Siebröhrenexsudat gemessen wurden, liegt der Schluss nahe, dass der Transport mit erhöhter Geschwindigkeit erfolgte. Dies ist somit ein weiteres Indiz dafür, dass die Flussgeschwindigkeit in den Siebröhren bei 700 ppm [CO₂] höher ist als bei 350 ppm [CO₂].

Mit zunehmender Stickstoffversorgung steigt die Konzentration an Aminosäuren im Siebröhrenexsudat an (Abb. 3.31 und Tab. 3.27), wobei die bemerkenswerten Differenzen zwischen Pflanzen in 4 l Töpfen und Pflanzen in 10 l Töpfen entweder auf verschiedene Entwicklungszustände der *source*-Blätter oder auf unterschiedliche Transportgeschwindigkeiten des Siebröhrenexsudats zurückzuführen sind. Die Aminosäurekonzentration im Phloem wird somit wesentlich von der Verfügbarkeit von Stickstoff beeinflusst, wobei aber eine Signalwirkung der Aminosäuren auf die Aufnahme insbesondere von Stickstoff in Form von Nitrat (Imsande & Touraine 1994) sich bislang bei *Ricinus communis* nicht bestätigt hat (Tillard et al. 1998).

4.5 Abhängigkeit des Gehalts an Hauptnährelementen im *source*-Gewebe von erhöhter CO₂-Konzentration und Stickstoffversorgung

Die Hauptnährelemente Stickstoff, Kalzium, Kalium, Magnesium, Phosphor und Schwefel werden von der Pflanze zumeist in Form von anorganischen Ionen über die Wurzel aufgenommen. Dort erfolgt entweder der Einbau in den Stoffwechsel, z.B. Nitratassimilation, oder sie werden weiter transportiert. Durch das Xylemsystem gelangen die Nährelemente in den Spross. Werden sie von dort über das Phloem wieder in die Wurzel verlagert und erfolgen diese Prozesse kontinuierlich, d.h. unabhängig von Jahreszeit und Entwicklungszustand der Pflanze, spricht man von *cycling* bzw. *recycling* der Nährelemente (Marschner et al. 1997).

Bei Rizinuspflanzen ist die Aufnahme bzw. der Fluss von Nährstoffen abhängig von der Art der Stickstoffernährung (Peuke & Jeschke 1993) bzw. von der Stickstoffkonzentration in der Nährlösung (Peuke et al. 1994). Mit zunehmender Stickstoffversorgung kommt es zu einer gesteigerten Aufnahme von Nährelementen, welche dann auch verstärkt im Spross deponiert werden, wie z.B. Kalzium, oder in höherem Maß zurück in die Wurzel fließen, was für Kalium zutrifft. Die Reaktion der Pflanzen auf erhöhte CO₂-Konzentration bezüglich der Aufnahme von Nährstoffen durch die Wurzeln ist uneinheitlich und differiert von Art zu Art (BassiriRad et al. 2001).

Den Element Kalzium kommt eine sehr untergeordnete Rolle bei *cycling*- bzw. *recycling*-Prozessen zu, da es als phloemimmobil gilt (Peuke & Jeschke 1993, Peuke et al. 1994) und somit im Blattgewebe akkumuliert (Abb. 3.33). Der Kalziumgehalt im *source*-Blatt nimmt mit steigender Stickstoffversorgung zu. Je höher die Ammoniumnitratkonzentration in der Nährlösung ist, desto deutlicher sind, v.a. bei Pflanzen in 4 l Töpfen, die Unterschiede zwischen den beiden CO₂-Konzentrationen. Es wird somit bei 700 ppm [CO₂] von den Pflanzen mehr Kalzium aufgenommen, welches dann in den Blättern deponiert wird. Der höhere Kalziumgehalt bei Pflanzen in 4 l Töpfen ist möglicherweise auf ein günstigeres Verhältnis von Topfgröße und Wurzelraum zurückzuführen. Dadurch konnten die Pflanzen zu einem früheren Entwicklungszeitpunkt über relativ mehr Nährstoffe verfügen als die Vergleichspflanzen in den 10 l Töpfen, was auch die höhere RGR der Pflanzen in den 4 l Töpfen im ersten Drittel der Klimakammerperiode erklären würde (Abb. 3.6).

Die Werte des Schwefelgehalts im Gewebe des *source*-Blattes # 2 zeigen bezüglich Topfgröße, CO₂-Konzentration und Stickstoffversorgung der Pflanzen das gleiche Muster wie die des Kalziumgehaltes, wenn auch die Höhe der Werte etwas geringer ist (Abb. 3.37). Eine mögliche Erklärung dafür wäre, dass ein Teil des Schwefels als Kalziumsulfat im Gewebe

deponiert wird, wohingegen der Rest z.B. in Form von Glutathion dem *recycling*-Prozess zukommt (Marschner et al. 1997).

Weitaus wichtiger für *cycling*- und *recycling*-Prozesse in der Pflanze hingegen sind die Elemente Kalium, Magnesium und Phosphor, da sie zum Einen phloemmobil sind und zum Anderen wesentlichen Anteil an regulatorischen Vorgängen, wie z.B. der Aufrechterhaltung des Kationen-Anionen-Gleichgewichts der Pflanze, der Phloembeladung, der Verteilung von Assimilaten, oder der Regulierung des pH-Wertes besitzen (Cakmak et al. 1994a, Cakmak et al. 1994b, Marschner et al. 1996).

Für die apoplastische Beladung des Phloems ist eine ATPase in der Plasmamembran nötig, die Protonen vom Inneren des Zytoplasmas in den Apoplast pumpt, da die Beladung mit einem Molekül Saccharose im Cotransport mit einem Proton erfolgt (Marschner et al. 1997, Morsomme & Boutry 2000). Um den pH-Gradient aufrecht zu erhalten, werden im Lumen der Siebröhren hohe Konzentrationen an Kalium benötigt. Für die Aktivität der ATPase und deren Regeneration ist Magnesium und Phosphat unerlässlich, welche sich ebenfalls im Symplast befinden. Es kommt somit neben dem Export von Saccharose auch zu einem Export der Elemente Kalium, Magnesium und Phosphor, die dadurch einem *cycling*-Prozess unterliegen (Marschner et al. 1997). Durch dieses *Cycling* lässt sich ebenfalls erklären, warum die Gehalte der Elemente im Gewebe des *source*-Blattes # 2 zwar mit zunehmender Stickstoffversorgung ansteigen, aber sich z.T. kaum zwischen den beiden CO₂-Konzentrationen unterscheiden (Abb. 3.34 bis 3.36), denn da ein höheres Maß an Kohlenstoff in Form von Saccharose bei 700 ppm [CO₂] exportiert wird (Abb. 3.22), ist davon auszugehen, dass auch K, Mg und P in größeren Konzentrationen als bei 350 ppm [CO₂] das Blatt verlassen.

Das Element Kalium übt auch bei der Nitratassimilation eine sehr wichtige Funktion aus. Es ist durch das *Cycling* an der Aufrechterhaltung des Kationen-Anionen-Gleichgewichts der Pflanze wesentlich beteiligt. Pro Mol Nitrat, das im Blatt reduziert wird, entsteht ein Mol Hydroxid, welches in Form von Hydrogencarbonat zu einem kontinuierlichen Anstieg des pH-Wertes in der Zelle führen würde. Um dies zu vermeiden wird Malat synthetisiert, welches zusammen mit Kalium durch den sog. Kalium-Malat-*Shuttle* über das Phloem wieder in die Wurzel transportiert wird. Dort entsteht aus Malat wieder Pyruvat und Hydrogencarbonat, welches die Wurzel verlassen kann. Kalium steht dann für den Transport zusammen mit Nitrat aus der Wurzel in den Spross zur Verfügung (Ben Zioni et al. 1971, Kirkby & Knight 1977, Imsande & Touraine 1994, Marschner et al 1996, Marschner et al. 1997). Deshalb ist anzunehmen, dass v.a. bei gesteigerter Nitratreduktion (Abb. 3.28) und bei höherer Konzentration an Nitrat im Xylemsaft (Tab. 3.21), was in besonderer Weise für Pflanzen zutrifft, die bei erhöhter CO₂-Konzentration gewachsen waren, Kalium in verstärktem Maß in der Pflanze zirkuliert, wodurch auch erklärbar ist, warum kein deutlich höherer Gehalt an

Kalium in den Blättern von Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] kultiviert wurden, zu finden ist (Abb. 3.34). Wenn sich somit bei 700 ppm [CO₂] höhere Konzentrationen an Kalium im Phloem befinden, ist dies ein weiteres Indiz dafür, dass ein gesteigerter Fluss in den Siebröhren stattfindet, da bei *Ricinus communis* eine erhöhte Kaliumkonzentration auch eine Steigerung der Flussrate bewirkt (Mengel & Haeder 1977).

Abschließend lässt sich feststellen, dass die Ammoniumnitratkonzentration in der Nährlösung die Aufnahme der anderen Hauptnährelemente wesentlich beeinflusst, da sich deren Konzentration in der Nährlösung bei allen Anzuchtbedingungen nicht unterschied. Auch die erhöhte CO₂-Konzentration übte einen Einfluss auf die Aufnahme dieser Elemente dahingehend aus, dass bei 700 ppm [CO₂] die Elemente in höheren Konzentrationen aufgenommen wurden als bei 350 ppm [CO₂]. Dieser Effekt macht sich jedoch v.a. erst mit zunehmender Stickstoffversorgung der Pflanzen bemerkbar.

4.6 Ausblick

Die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse beruhen auf Versuchen in Klimakammern, d.h. die Pflanzen wuchsen bei gleichbleibenden, standardisierten Bedingungen. Zur Beantwortung der Frage, wie Pflanzen in natürlicher Umgebung auf ein erhöhtes Angebot an Kohlendioxid bezüglich des Kohlenstoffexports reagieren, sollten die FACE (free air carbon dioxide enrichment) Experimente (Grimmer 1999) erweitert werden. Hier sollten komplette Tagesgänge der NP-Rate (bzw. Respirationrate) in Verbindung mit der Transpirationsrate gemessen werden. Gleichzeitig sollten die Gehalte an Kohlenhydraten bestimmt werden.

Um weiteren und detaillierteren Einblick in den Transport der exportierten Kohlenhydrate zu gewinnen, die sollten Transportgeschwindigkeit im Phloem durch Applikation von ¹¹CO₂ an *source*-Blättern gemessen werden. Damit könnten die berechneten Ergebnisse der Pflanzen bei den verschiedenen Anzuchtbedingungen verifiziert werden.

Die enge Verknüpfung des Stickstoff- mit dem Kohlenstoffstoffwechsel v.a. bei erhöhter CO₂-Konzentration könnte durch die Messung der Glutamin-Synthetase-Aktivität und durch die Bestimmung der Konzentrationen von wichtigen Metaboliten (α -Ketoglutarat, Oxalacetat, Pyruvat, PEP) eingehender demonstriert bzw. vervollständigt werden.

Die Messung der Fließgeschwindigkeit des Xylemsafts und die Konzentrationsbestimmung von darin enthaltenen Substanzen (allen voran von Aminosäuren und Nitrat) würde zu weiteren Erkenntnissen über die Flussrate und somit über den Transport von Stickstoff innerhalb der Pflanze führen.

Eine Analyse des Siebröhrenexsudats und des Wurzelgewebes bezüglich des C/N-Gehalts und der Konzentration der Hauptnährelemente könnte dann in Verbindung mit den gemessenen Transportgeschwindigkeiten in Phloem und Xylem tiefere Einblicke in *cycling*- bzw. *recycling*-Prozesse liefern, was zur weiteren Klärung der Hintergründe des beschleunigten und gesteigerten Wachstums von Pflanzen bei erhöhter CO₂-Konzentration beitragen würde.

5 Zusammenfassung

Im Hinblick auf die ständig zunehmende CO₂-Konzentration in der Atmosphäre seit der Industrialisierung und vor dem Hintergrund der essentiellen Bedeutung, welche Kohlendioxid durch die Photosynthese für Pflanzen hat, ist es von besonderem Interesse, wie Pflanzen auf die erhöhte CO₂-Konzentration, die in 30 Jahren etwa das Doppelte der heutigen betragen soll, bei verschiedenen Wachstumsbedingungen reagieren. Deswegen sollte in diesem Projekt, das innerhalb des DFG-Schwerpunktprogramms „Stoffwechsel und Wachstum der Pflanzen unter erhöhter CO₂-Konzentration“ durchgeführt wurde, der Klärung des Zusammenhangs des verstärkten und beschleunigten Wachstums von Pflanzen bei erhöhter [CO₂] mit dem Kohlenstoffexport in Form von Assimilaten aus *source*-Blättern bei unterschiedlichen Anzuchtsbedingungen nachgegangen werden. Als Modellpflanze für die Experimente wurde *Ricinus communis* L. ausgewählt, weil bei dieser Pflanze der Inhalt der Siebröhren, in denen die Translokation der Assimilate innerhalb der Pflanze stattfindet, leicht gewonnen werden kann und so auch Aussagen über den Transport der exportierten Assimilate möglich sind.

Die Verfügbarkeit des Hauptnährelements Stickstoff ist für das Wachstum und die Biomasseentwicklung der Pflanze maßgeblich. Auf Grund der engen Verknüpfung des Kohlenstoff- mit dem Stickstoffstoffwechsel wurden die Experimente mit vier verschiedenen Ammoniumnitratkonzentrationen (1, 3, 6 und 12 mM) bei 350 und 700 ppm [CO₂] in Klimakammern, in die die Pflanzen im Alter von 12 Tagen überführt wurden, durchgeführt. Aus Vorversuchen hatte sich ergeben, dass auch die Größe des verfügbaren Wurzelraums entscheidenden Einfluss auf das Kohlenstoffexportverhalten von Rizinuspflanzen ausübt. Deswegen wurden für die Experimente Pflanzen, die in 4 l bzw. 10 l Töpfen in Sand kultiviert wurden, eingesetzt. Die Pflanzen waren zum Erntezeitpunkt 37 Tage alt, die physiologischen Versuche wurden an 17 Tage alten *source*-Blättern vorgenommen. Es wurden Wachstumsanalysen durchgeführt und Versuche zum Kohlenstoffexport und Transport der Assimilate, ferner Untersuchungen von verschiedenen Parametern des Stickstoffstoffwechsels und die Analyse der Gehalte an Hauptnährelementen im *source*-Gewebe. Aus den Experimenten ergaben sich folgende Resultate:

1. Rizinuspflanzen konnten bei höherer Stickstoffkonzentration (6-12 mM NH₄NO₃) in der Nährlösung die erhöhte CO₂-Konzentration bei den gegebenen Bedingungen besser für Wachstum, Entwicklung und Biomasseproduktion nützen als Pflanzen, die bei niedrigerer Stickstoffversorgung (1-3 mM NH₄NO₃) kultiviert wurden. Dabei waren Pflanzen in kleineren Töpfen zunächst im Vorteil, wurden aber darin von den Pflanzen in größeren Töpfen in der zweiten Hälfte der Klimakammerperiode (ca. ab Tag 28-30) übertroffen.

2. Bei Rizinuspflanzen waren mit zunehmender Stickstoffkonzentration in der Nährlösung bei erhöhter CO₂-Konzentration deutlich höhere Kohlenstoffexportraten pro *source*-Blattfläche zu finden. Diese waren v.a. auf die Exportraten im Licht zurückzuführen, welche maßgeblich durch die Nettophotosyntheseleistung bestimmt werden. Der Kohlenstoffexport in der Dunkelphase wird wesentlich durch den Abbau der transitorischen Stärke beeinflusst. Mit abnehmender Stickstoffversorgung wurde zunehmend Stärke im Blattgewebe angehäuft.
3. Rizinuspflanzen wiesen unabhängig von der Stickstoffkonzentration in der Nährlösung bei erhöhter CO₂-Konzentration eine nicht oder nur sehr leicht erhöhte Saccharosekonzentration im Siebröhrenexsudat auf. Es fand keine Rezirkulation von Saccharose durch das Xylem statt. Aufgrund der größeren Blätter bei 700 ppm [CO₂] im Vergleich zu 350 ppm [CO₂] war auch der Querschnitt der Petiolen vergrößert. Der prozentuale Anteil der Phloemfläche an der Fläche des Querschnitts blieb nahezu konstant (ca. 6,5 %) und somit ergab sich eine größere totale Fläche des Phloemgewebes bei 700 ppm [CO₂]. Für Pflanzen, die bei 700 ppm [CO₂] kultiviert wurden, konnte bei allen Bedingungen eine erhöhte Flussrate des exportierten Kohlenstoffs in der Lichtphase berechnet werden. Da die Saccharosekonzentration im Siebröhrenexsudat jedoch nicht deutlich erhöht war, muss von einer höheren Flussgeschwindigkeit ausgegangen werden.
4. Rizinuspflanzen konnten mit zunehmender Stickstoffversorgung das erhöhte CO₂-Angebot in der Atmosphäre besser nützen. Es resultierten eine bessere Stickstoffnutzungseffizienz der Photosynthese sowie gesteigerte Raten der Nitratassimilation, wodurch deren Produkte, Aminosäuren und Proteine, in erhöhtem Maß im Blattgewebe zu finden waren. Die niedrigeren Serin- und Glycingehalte lassen auf verminderte Photorespiration bei erhöhter CO₂-Konzentration schließen. Die niedrigere Konzentration an Aminosäuren im Siebröhrenexsudat (bei vergleichbaren Exsudationsraten) unterstützt die Hypothese der erhöhten Flussgeschwindigkeit in den Siebröhren bei 700 ppm [CO₂].
5. Rizinuspflanzen verfügten bei erhöhter CO₂-Konzentration über höhere Gehalte an Hauptnährelementen pro *source*-Blatt. Dabei waren die Gehalte von Kalzium, Kalium, Magnesium, Phosphor und Schwefel stark von der Stickstoffversorgung der Pflanzen abhängig. Bei den Elementen Kalzium, Kalium und Schwefel war ferner noch festzustellen, dass bei hoher Stickstoffversorgung die Werte von Pflanzen mit geringerem Wurzelraum deutlich die Werte von Pflanzen mit ausreichendem Wurzelraum überschritten.

6 Summary

In the post-industrial age the CO₂ concentration in the atmosphere has been rising continuously and within the next 30 years this concentration is said to double from nowadays 350 up to 700 ppm. Carbon dioxide is the source of inorganic carbon for plants, which reduce the CO₂ and form carbohydrates and thus biomass by the process of photosynthesis, and therefore the question arose how the plants individually react on this additional supply at different conditions. In this project, which was carried out within the DFG-Schwerpunktprogramm "Stoffwechsel und Wachstum der Pflanzen unter erhöhter CO₂-Konzentration" (Metabolism and Growth of Plants at Elevated CO₂ Concentrations), the central term of interest was the connection between the accelerated and increased growth of plants at elevated [CO₂] and the carbon export of source leaves at different growth conditions. The plant to be chosen for the experiments was *Ricinus communis* L. because the phloem sap of the castor bean plant is accessible quite easily and thus also the transport of the exported assimilates in the sieve tubes might be regarded as well.

The importance of the availability of nitrogen for plant growth and biomass development is known very well by far. Because of the close touch between the carbon and the nitrogen metabolism the experiments were carried out at four different levels of ammonium nitrate supply in the nutrition solution (1, 3, 6 and 12 mM) at 350 and 700 ppm [CO₂] in climate controlled chambers. At the age of 12 days, the plants were potted in sand in 4 l and 10 l pots, transferred into the chambers and watered with the nutrition solutions according to a strict irrigation scheme. The plants were finally harvested at the age of 37 days, the physiological investigations were done with 17 days old source leaves.

In this work growth analyses were carried out as well as experiments on the carbon export out of source leaves and the transport of assimilates in the phloem. Moreover, several parameters of the nitrogen metabolism were investigated. Eventually, an analysis of the contents of other macronutrients in the source tissue was done. Out of these experiments the following results could be gained:

1. Castor bean plants grown at higher supply of NH₄NO₃ in the nutrition solution (6-12 mM) could use the elevated CO₂ concentration very much better for growth, development and biomass production than plants which were cultivated at lower levels of ammonium nitrate (1-3 mM). In the beginning of the climate chamber period the plants in the smaller pots were advantaged, but in the second half of the growth period the plants in the 10 l pots came up closer and finally overtook the plants in the 4 l pots in the velocity of biomass production which can be determined by the measurement of RGR.

-
2. With increasing nitrogen supply castor bean plants exhibited higher carbon export rates per source leaf area at elevated $[\text{CO}_2]$ than at normal $[\text{CO}_2]$. This was mainly due to higher export rates in the light period which are predominantly influenced by the rates of net photosynthesis. The carbon export in the dark period above all is driven by the degradation of transitory starch. With declining nitrogen supply an increasing starch pool in the leaf tissue could be detected.
 3. Within the phloem exudate the sucrose concentration was neither remarkably higher at elevated $[\text{CO}_2]$ nor at increased nitrogen supply. In addition to this, there is no recirculation of sucrose in the xylem. Out of the export rates and the by pass area in the phloem tissue in the leaf petioles the transport rates of the exported carbon could be calculated. Due to larger leaves an enlarged by pass area of the phloem tissue resulted at elevated $[\text{CO}_2]$. Nevertheless, the carbon transport rates at elevated $[\text{CO}_2]$ exceeded the transport rates of plants grown at ambient $[\text{CO}_2]$ in the light period. As the sucrose concentrations in the phloem sap remained more or less the same, a higher velocity of carbon flow resulted at 700 ppm $[\text{CO}_2]$.
 4. Elevated $[\text{CO}_2]$ had a larger influence on castor bean plants with increasing levels of nitrogen supply. Thus a better nitrogen use efficiency of photosynthesis and enhanced rates of nitrate assimilation were resulting. As a consequence, the total contents of amino acids and proteins increased in the leaf tissue. At 700 ppm $[\text{CO}_2]$, nevertheless lower levels of glycine and serine were measured. This indicates a decreased rate of photorespiration. The lower concentration of amino acids in the phloem exudate (at more or less the same exudation rates) supports the hypothesis of an enhanced velocity of flow in the sieve tubes at elevated $[\text{CO}_2]$.
 5. At 700 ppm $[\text{CO}_2]$, increased contents of the macronutrients calcium, potassium, magnesium, phosphorus and sulfur could be detected per source leaf. The amount of the macronutrients was strongly dependent on the nitrogen supply of the plants, i.e. with a higher concentration of ammonium nitrate in the nutrition solution the levels of the other macronutrients in the leaf tissue increased as well.

7 Literatur

- Allen, S. und Raven, J.A. (1987) Intracellular pH Regulation in *Ricinus communis* Grown with Ammonium or Nitrate as N Source: The Role of Long Distance Transport. *Journal of Experimental Botany* **38 (189)**, 580-596.
- Allen, S. und 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. *Journal of Experimental Botany* **37 (184)**, 1599-1610.
- Antognoni, F., Fornale, S., Grimmer, C., Komor, E., Bagni, N. (1998) Long-distance translocation of polyamines in phloem and xylem of *Ricinus communis* L. plants. *Planta* **204**, 520-527.
- Arp, W.J. (1991) Effects of source-sink relations on photosynthetic acclimation to elevated CO₂. *Plant, Cell and Environment* **14**, 869-875.
- Arp, W.J. und Drake, B.G. (1991) Increased photosynthetic capacity of *Scirpus olneyi* after 4 years of exposure to elevated CO₂. *Plant, Cell and Environment* **14**, 1003-1006.
- Bainbridge, G., Madgwick, P., Parmar, S., Mitchell, R., Paul, M., Pitts, J., Keys, A.J., Martin, A.J.P. (1995) Engineering Rubisco to change its catalytic properties. *Journal of Experimental Botany* **46**, 1269-1276.
- BassiriRad, H., Gutschick, V.P., Lussenhop, J. (2001) Root system adjustments: regulation of plant nutrient uptake and growth responses to elevated CO₂. *Oecologia* **126**, 305-320.
- Baxter, R. und Farrar, J.F. (1999) Export of carbon from leaf blades of *Poa alpina* L. at elevated CO₂ and two nutrient regimes. *Journal of Experimental Botany* **50 (336)**, 1215-1221.
- Ben Zioni, A., Vaadia, Y., Lips, H. (1971) Nitrate Uptake by Roots as Regulated by Nitrate Reduction Products of the Shoot. *Physiologia Plantarum* **24**, 288-290.
- Bergmeyer, H.U. und Bernt, E. (1974) Sucrose. In: *Methods of Enzymatic Analysis II* (3) (ed. Bergmeyer, H.U.), Verlag Chemie, Weinheim, Academic Press, New York.
- Bowes, G. (1991) Growth at elevated CO₂: photosynthetic responses mediated through Rubisco. *Plant, Cell and Environment* **14**, 795-806.
- Bradford, M.M (1976) A rapid and sensitive Method for the Quantification of microgram Quantities of Protein utilizing the Principle of Protein-Dye binding. *Analytical Biochemistry* **72**, 248.
- Brouwer, R. (1962) Nutritive influences on the distribution of dry matter in the plant. *Netherlands Journal of Agricultural Science* **10**, 399-408.

- Cakmak, I., Hengeler, C., Marschner, H. (1994a) Partitioning of shoot and root dry matter and carbohydrates in bean plants suffering from phosphorus, potassium and magnesium deficiency. *Journal of Experimental Botany* **45** (278), 1245-1250.
- Cakmak, I., Hengeler, C., Marschner, H. (1994b) Changes in phloem export of sucrose in leaves in response to phosphorus, potassium and magnesium deficiency in bean plants. *Journal of Experimental Botany* **45** (278), 1251-1257.
- Campbell, W.H. (1999) Nitrate Reductase Structure, Function and Regulation: Bridging the Gap between Biochemistry and Physiology. *Annual Reviews in Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **50**, 277-303.
- Carmi, A. (1995) Growth, water transport and transpiration in root-restricted plants of bean, and their relation to abscisic acid accumulation. *Plant Science* **107**, 69-76.
- Carmi, A. und Heuer, B. (1981) The role of roots in control of bean shoot growth. *Annals of Botany* **48**, 519-527.
- Clough, J.M., Peet, M.M., Kramer, P.J. (1981) Effects of high atmospheric CO₂ and sink size on rates of photosynthesis of a soybean cultivar. *Plant Physiology* **67**, 1007-1010.
- Daepf, M., Nösberger, J., Lüscher, A. (2001) Nitrogen fertilization and developmental stage alter the response of *Lolium perenne* to elevated CO₂. *New Phytologist* **150**, 347-358.
- Dickson, R.E und Larson, P.R. (1975) Incorporation of ¹⁴C-photosynthate into major chemical fractions of source and sink leaves of cottonwood. *Plant Physiology* **56**, 185-193.
- Ding, B., Parthasarathy, M.V., Niklas, K., Turgeon, R. (1988) A morphometric analysis of the phloem-unloading pathway in developing tobacco leaves. *Planta* **176**, 307-318.
- Epstein, E. (1972) Mineral nutrition of plants: principles and perspectives, Wiley, New York.
- Evans, D.E., Briars, S.A., Williams, L.E. (1991) Active Calcium Transport by Plant Cell Membranes. *Journal of Experimental Botany* **42** (236), 285-303.
- Farrar, J.F. und Williams, M.L. (1991) The effects of increased atmospheric carbon dioxide and temperature on carbon partitioning, source-sink relations and respiration. *Plant, Cell and Environment* **14**, 819-830.
- Felle, H. (1988) Cytoplasmic free calcium in *Riccia fluitans* L. and *Zea mays* L.: Interaction of Ca²⁺ and pH? *Planta* **176**, 248-255.
- Ferrario-Mery, S., Suzuki, A., Kunz, C., Valadier, M.H., Roux, Y., Hirel, B., Foyer, C.H. (2000) Modulation of amino acid metabolism in transformed tobacco plants deficient in Fd-GOGAT. *Plant and Soil* **221**, 67-79.
- Fetene, M., Müller, I., Beck, E. (1993) The effect of nitrogen supply to *Urtica dioica* L. plants on the distribution of assimilate between shoots and roots. *Botanica Acta* **106**, 228-234.
- Franke, W. (1992) Nutzpflanzenkunde, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.

- Gebauer, G. (1990) Diurnal changes of nitrate content and nitrate reductase activity in different organs of *Atriplex hortensis* (C₃ plant) and *Amaranthus retroflexus* (C₄ plant). *Plant nutrition – physiology and applications*, 93-99.
- Gebauer, G., Melzer, A., Rehder, H. (1984) Nitrate content and nitrate reductase activity in *Rumex obtusifolius* L. *Oecologia* **63**, 136-142.
- Geiger, M., Haake, V., Ludewig, F., Sonnewald, U., Stitt, M. (1999) The nitrate and ammonium nitrate supply have a major influence on the response of photosynthesis, carbon metabolism, nitrogen metabolism and growth to elevated carbon dioxide in tobacco. *Plant, Cell and Environment* **22**, 1177-1199.
- Geiger, M., Walch-Liu, P., Engels, C., Harnecker, J., Schulze, E.-D., Ludewig, F., Sonnewald, U., Scheible, W.-R., Stitt, M. (1998) Enhanced carbon dioxide leads to a modified diurnal rhythm of nitrate reductase activity in older plants, and a large stimulation of nitrate reductase activity and higher levels of amino acids in younger tobacco plants. *Plant, Cell and Environment* **21**, 253-268.
- Grimmer, C. (1999) Der Einfluss von erhöhten CO₂-Konzentrationen auf den Export eines source-Blattes bei *Ricinus communis* L. Dissertation, Universität Bayreuth.
- Grimmer, C. und Komor, E. (1999) Assimilate export by leaves of *Ricinus communis* L. growing under normal and elevated carbon dioxide concentrations: the same rate during the day, a different rate at night. *Planta* **209**, 275-281.
- Grimmer, C., Bachfischer, T., Komor, E. (1999) Carbohydrate partitioning into starch in leaves of *Ricinus communis* L. grown under elevated CO₂ is controlled by sucrose. *Plant, Cell and Environment* **22**, 1275-1280.
- Habash, D.Z., Paul, M.J., Parry, M.A.J., Keys, A.J., Lawlor, D.W. (1995) Increased capacity for photosynthesis in wheat grown at elevated carbon dioxide: the relationship between electron transport and carbon metabolism. *Planta* **197**, 482-489.
- Hageman, R.H., Reed, A.J., Femmer, R.A., Sherrard, J.H., Dalling, M.J. (1980) Some New Aspects of the *in Vivo* Assay for Nitrate Reductase in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Leaves. *Plant Physiology* **65**, 27-32.
- Hall, S.M. und Baker, D.A. (1972) The Chemical Composition of *Ricinus* Phloem Exudate. *Planta* **106**, 131-140.
- Heldt, H.W. (1996) Pflanzenbiochemie, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford.
- Ho, L.C. (1977) Effects of CO₂ enrichment on the rates of photosynthesis and translocation of tomato leaves. *Annals of Applied Biology* **87**, 191-200.
- Hoddinott, J. und Jolliffe, P. (1988) The influence of elevated carbon dioxide concentrations on the partitioning of carbon in source leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Canadian Journal of Botany* **66**, 2396-2401.

- Hodge, A. und Millard, P. (1998) Effect of elevated CO₂ on carbon partitioning and exudate release from *Plantago lanceolata* seedlings. *Physiologia Plantarum* **103**, 280-286.
- Huber, S.C., Rogers, H., Israel, D.W. (1984) Effects of CO₂ enrichment on photosynthesis and photosynthate partitioning in soybean (*Glycine max*) leaves. *Physiologia Plantarum* **62**, 95-101.
- Hurley, M.B. und Rowarth, J.S. (1999) Resistance to root growth and changes in the concentrations of ABA within the root and xylem sap during root-restriction stress. *Journal of Experimental Botany* **50 (335)**, 799-804.
- Imsande, J., und Touraine, B. (1994) N Demand and the Regulation of Nitrate Uptake. *Plant Physiology* **105**, 3-7.
- Joy, K.W. (1967) Carbon and nitrogen sources for protein synthesis and growth in sugar beet leaves. *Journal of Experimental Botany* **18**, 140-150.
- Kallarackal, J., Orlich, G., Schobert, C., Komor, E. (1989) Sucrose transport into the phloem of *Ricinus communis* L. seedlings as measured by the analysis of sieve-tube sap. *Planta* **177**, 327-335.
- Kang, S., Zhang, F., Hu, X., Zhang, J. (2002) Benefits of CO₂ enrichment on crop plants are modified by soil water status. *Plant and Soil* **238**, 69-77.
- Kirkby, E.A. und Knight, A.H. (1977) Influence of the level of nitrate nutrition on ion uptake and assimilation, organic acid accumulation, and cation-anion balance in whole tomato plants. *Plant Physiology* **60**, 349-353.
- Komor, E. (1994) Regulation by futile cycles: The transport of carbon and nitrogen in plants. In: Flux control in biological systems: from enzymes to populations and ecosystems (ed. E.-D. Schulze), pp. 153-201, Academic Press, San Diego.
- Körner, C., Pelaez-Riedl, S., van Bel, A.J.E. (1995) CO₂ responsiveness of plants: a possible link to phloem loading. *Plant, Cell and Environment* **18**, 595-600.
- Larcher, W. (1994) Ökophysiologie der Pflanzen, Eugen Ulmer, Stuttgart.
- Lawlor, D.W. (2002) Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems. *Journal of Experimental Botany* **53 (370)**, 773-787.
- Lawlor, D.W. und Mitchell, A.R.C. (1991) The effects of increasing CO₂ on crop photosynthesis and productivity: a review of field studies. *Plant, Cell and Environment* **14**, 807-818.
- Leegood, R.C., Lea, P.J., Adcock, M.D., Häusler, R.E. (1995) The regulation and control of photorespiration. *Journal of Experimental Botany* **46**, 1397-1414.
- Lutze, J.L. und Gifford, R.M. (1998) Acquisition of carbon and nitrogen by *Danthonia richardsonii* in response to restricted nitrogen supply and CO₂ enrichment. *Plant, Cell and Environment* **21**, 1133-1141.

- Makino, A. und Mae, T. (1999) Photosynthesis and Plant Growth at Elevated Levels of CO₂. *Plant and Cell Physiology* **40** (10), 999-1006.
- Makino, A., Harada, M., Sato, T., Nakano, H., Mae, T. (1997) Growth and N Allocation in Rice Plants under CO₂ Enrichment. *Plant Physiology* **115**, 199-203.
- Maroco, J.P., Breia, E., Faria, T., Pereira, J.S., Chaves, M.M. (2002) Effects of long-term exposure to elevated CO₂ and N fertilization on the development of photosynthetic capacity and biomass accumulation in *Quercus suber* L. *Plant, Cell and Environment* **25**, 105-113.
- Marschner, H. (1995) Mineral Nutrition of Higher Plants, Academic Press, London, San Diego, New York, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto.
- Marschner, H., Kirkby, E.A., Cakmak, I. (1996) Effect of mineral nutrition status on shoot-root partitioning of photoassimilates and cycling of mineral nutrients. *Journal of Experimental Botany* **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. *Botanica Acta* **110**, 265-273.
- Matt, P., Geiger, M., Walch-Liu, P., Engels, C., Krapp, A., Stitt, M. (2001) Elevated carbon dioxide increases nitrate uptake and nitrate reductase activity when tobacco is growing on nitrate, but increases ammonium uptake and inhibits nitrate reductase activity when tobacco is growing on ammonium nitrate. *Plant, Cell and Environment* **24**, 1119-1137.
- McConnaughay, K.D.M., Berntson, G.M., Bazzaz, F.A. (1993) Limitations to CO₂-induced growth enhancement in pot studies. *Oecologia* **94**, 550-557.
- Mengel, K. und Haeder, H.E. (1977) Effect of Potassium Supply on the Rate of Phloem Sap Exudation and the Composition of Phloem Sap of *Ricinus communis*. *Plant Physiology* **59**, 282-284.
- Milburn, J.A. (1970) Phloem Exudation from Castor Bean: Induction by Massage. *Planta* **95**, 272-276.
- Milde, A. (1996) Die Quantifizierung und Regulation der Siebröhrenkallose im Rizinuskeimling. Diplomarbeit, Universität Bayreuth.
- Moore, B.D., Cheng, S.H., Sims, D, Seemann, J.R. (1999) The biochemical and molecular basis for photosynthetic acclimation to elevated atmospheric CO₂. *Plant, Cell and Environment* **22**, 567-582.
- Moran, R. und Porath, D. (1980) Chlorophyll Determination in Intact Tissues Using *N,N*-Dimethylformamide. *Plant Physiology* **65**, 478-479.
- Morcuende, R., Krapp, A., Vaughan, H., Stitt, M. (1998) Sucrose-feeding leads to increased rates of nitrate assimilation, increased rates of α -oxoglutarate synthesis, and increased synthesis of a wide spectrum of amino acids in tobacco leaves. *Planta* **206**, 394-409.
- Morsomme, P. und Boutry, M. (2000) The plant plasma membrane H⁺-ATPase: structure, function and regulation. *Biochimica et Biophysica Acta* **1465**, 1-16.

- Orlich, G. (1998) Analysis of the driving forces of phloem transport in *Ricinus* seedlings: sucrose export and volume flow are determined by the source. *Planta* **206**, 266-271.
- Orlich, G. und Komor, E. (1992) Phloem loading in *Ricinus* cotyledons: sucrose pathways via the mesophyll and the apoplasm. *Planta* **187**, 460-474.
- Patrick, J.W. (1997) Phloem unloading: Sieve element unloading and post-sieve element transport. *Annual Reviews in Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **48**, 191-222.
- Paul, M.J. und Foyer, C.H. (2001) Sink regulation of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* **52 (360)**, 1383-1400.
- Peet, M.M. (1984) CO₂ enrichment of soybeans. Effect of leaf/pod ratio. *Physiologia Plantarum* **60**, 38-42.
- Penuelas, J., Biel, C., Estiarte, M. (1995) Growth, biomass allocation, and phenology responses of pepper to elevated CO₂ concentrations and different water and nitrogen supply. *Photosynthetica* **31 (1)**, 91-99.
- 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. *Journal of Experimental Botany* **45 (275)**, 733-740.
- Peuke, A.D. und 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. *Journal of Experimental Botany* **44 (264)**, 1167-1176.
- Porra, R.J., Thompson, W.A., Kriedemann, P.E. (1989) Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta* **975**, 384-394.
- Radin, J.W. und Boyer, J.S. (1982) Control of Leaf Expansion by Nitrogen Nutrition in Sunflower Plants. *Plant Physiology* **69**, 771-775.
- Reekie, E.G., MacDougall, G., Wong, I., Hicklenton, P.R. (1998) Effect of sink size on growth response to elevated atmospheric CO₂ within the genus *Brassica*. *Canadian Journal of Botany* **76**, 829-835.
- Reich, P.B., Knops, J., Tilman, D., Craine, J., Ellsworth, D., Tjoelker, M., Lee, T., Wedin, D., Naeem, S., Bahaeddin, D., Hendrey, G., Jose, S., Wrage, K., Goth, J., Bengston, W. (2001) Plant diversity enhances ecosystem responses to elevated CO₂ and nitrogen deposition. *Nature* **410**, 809-812.
- Riviere-Rolland, H., Contard, P., Betsche, T. (1996) Adaption of pea to elevated atmospheric CO₂: Rubisco, phosphoenolpyruvate carboxylase and chloroplast phosphate translocator at different levels of nitrogen and phosphorus nutrition. *Plant, Cell and Environment* **19**, 109-117.

- Robbins, N.S. und Pharr, D.A. (1988) Effect of Restricted Root Growth on Carbohydrate Metabolism and Whole Plant Growth of *Cucumis sativus* L. *Plant Physiology* **87**, 409-413.
- Ruffy, T.W., MacKown, C.T., Volk, R.C. (1990) Alterations in nitrogen assimilation and partitioning in nitrogen stressed plants. *Physiologia Plantarum* **79**, 85-95.
- Ruffy, T.W., Raper, C.D., Huber, S.C. (1984) Alterations in internal partitioning of carbon in soybean plants in response to nitrogen stress. *Canadian Journal of Botany* **62**, 501-508.
- Sage, R.F. (1994) Acclimation of photosynthesis to increasing atmospheric CO₂: the gas exchange perspective. *Photosynthesis Research* **39**, 351-368.
- Sattelmacher, B., Klotz, F., Marschner, H. (1990) Influence of the nitrogen level on root growth and morphology of two potato varieties differing in nitrogen acquisition. *Plant and Soil* **123**, 131-137.
- Schurr, U. und Gebauer, G. (1989) Aminosäureanalyse mit OPA-Vorsäulenderivatisierung. In: Kontron (Biotek) Instruments (Hrsg.) Applikation, Information, Kommunikation.
- Schurr, U. und Schulze, E.-D. (1995) The concentration of xylem sap constituents in root exudate, and in sap from intact, transpiring castor bean plants (*Ricinus communis* L.). *Plant, Cell and Environment* **18**, 409-420.
- Schurr, U., Heckenberger, U., Herdel, K., Walter, A., Feil, R. (2000) Leaf development in *Ricinus communis* during drought stress: dynamics of growth processes, of cellular structure and of sink-source transition. *Journal of Experimental Botany* **51 (350)**, 1515-1529.
- Smith, J.A.C. und Milburn, J.A. (1980) Osmoregulation and the Control of Phloem-Sap Composition in *Ricinus communis* L. *Planta* **148**, 28-34.
- Solomonson, L.P. und Barber, M.J. (1990) Assimilatory nitrate reductase: functional properties and regulation. *Annual Reviews in Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **41**, 225-253.
- Steer, B.T. und Hocking, P.J. (1983) Leaf and Floret Production in Sunflower (*Helianthus annuus* L.) as Affected by Nitrogen Supply. *Annals of Botany* **52**, 267-277.
- Stitt, M. (1991) Rising CO₂ levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. *Plant, Cell and Environment* **14**, 741-762.
- Stitt, M. (1999) Nitrate regulation of metabolism and growth. *Current Opinion in Plant Biology* **2 (3)**, 178-186.
- Stitt, M. und Krapp, A. (1999) The interaction between elevated carbon dioxide and nitrogen nutrition: the physiological and molecular background. *Plant, Cell and Environment* **22**, 583-621.
- Stitt, M., Bulpin, P.V., Ap Rees, T. (1978) Pathway of starch breakdown in photosynthetic tissues of *Pisum sativum*. *Biochimica et Biophysica Acta* **544**, 200-214.

- Sweetlove, L.J. und Hill, S.A. (2000) Source metabolism dominates the control of source to sink carbon flux in tuberizing potato plants throughout the diurnal cycle and under a range of environmental conditions. *Plant, Cell and Environment* **23**, 523-529.
- Terry, N. und Mortimer, D.C. (1972) Estimation of the rates of mass carbon transfer by leaves of sugar beet. *Canadian Journal of Botany* **50**, 1049-1054.
- Thayer, J.R. und Huffaker, R.C. (1980) Determination of Nitrate and Nitrite by High-Pressure Liquid Chromatography: Comparison with other Methods for Nitrate Determination. *Analytical Biochemistry* **102**, 110-119.
- Tillard, P., Passama, L., Gojon, A. (1998) Are phloem amino acids involved in the shoot to root control of NO_3^- uptake in *Ricinus communis* plants? *Journal of Experimental Botany* **49 (325)**, 1371-1379.
- Turgeon, R. (1984) Termination of Nutrient Import and Development of Vein Loading Capacity in Albino Tobacco Leaves. *Plant Physiology* **76**, 45-48.
- Turgeon, R. (1989) The sink-source transition in leaves. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **40**, 119-138.
- Van der Kooij, T.A.W., De Kok, L.J., Stulen, I. (1999) Biomass Production and Carbohydrate Content of *Arabidopsis thaliana* at Atmospheric CO_2 Concentrations from 390 to 1680 $\mu\text{l l}^{-1}$. *Plant Biology* **1**, 482-486.
- Von Caemmerer, S. und Farquhar, G.D. (1981) Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* **153**, 376-387.
- Walch-Liu, P., Neumann, G., Engels, C. (2001) Elevated atmospheric CO_2 concentration favors nitrogen partitioning into roots of tobacco plants under nitrogen deficiency by decreasing nitrogen demand of the shoot. *Journal of Plant Nutrition* **24 (6)**, 835-854.
- Will, R.E. und Teskey, R.O. (1997) Effect of elevated carbon dioxide concentration and root restriction on net photosynthesis, water relations and foliar carbohydrate status of loblolly pine seedlings. *Tree Physiology* **17**, 655-661.
- Wong, S.C. (1990) Elevated atmospheric partial pressure of CO_2 and plant growth. *Photosynthesis Research* **23**, 171-180.

8 Anhang

8.1 Gehalte aller gemessenen Aminosäuren im *source*-Blattgewebe

Alle Proben wurden von 17 Tage alten *source*-Blättern in der Mitte der Lichtphase genommen. Für die Gewebeproben gilt $n=3 \pm MA$.

8.1.1 Aminosäuregehalt [$\mu\text{mol g TG}^{-1}$] im *source*-Blattgewebe von Pflanzen in 4 l Töpfen

8.1.1.1 4 l Topf – 350 ppm [CO_2]

Aminosäure bzw. Peptid	1 mM NH_4NO_3	3 mM NH_4NO_3	6 mM NH_4NO_3	12 mM NH_4NO_3
gsh	21,33 ± 5,77	53,31 ± 4,65	70,47 ± 19,98	23,36 ± 3,54
asp	28,15 ± 8,42	206,59 ± 21,93	332,19 ± 32,41	179,09 ± 27,41
glu	147,77 ± 19,91	438,63 ± 12,27	488,07 ± 159,92	283,53 ± 91,66
asn	2,59 ± 0,53	13,26 ± 2,82	28,12 ± 7,87	26,12 ± 11,32
ser	24,19 ± 4,65	89,90 ± 17,44	147,16 ± 30,94	118,47 ± 23,00
gln	30,01 ± 4,07	255,29 ± 41,42	886,43 ± 91,15	1304,13 ± 151,53
gly	17,05 ± 5,71	54,80 ± 10,78	68,04 ± 20,38	31,33 ± 4,97
thr	24,85 ± 5,15	73,22 ± 8,5	72,45 ± 14,73	42,20 ± 9,15
arg	0,00	0,00	9,89 ± 1,70	68,17 ± 5,91
ala	41,20 ± 24,78	104,97 ± 27,46	123,67 ± 18,69	98,95 ± 28,79
gaba	51,10 ± 17,85	342,56 ± 67,15	333,69 ± 12,57	176,85 ± 8,11
tyr	0,00	0,00	0,00	0,00
met/trp	30,04 ± 7,45	86,51 ± 14,90	97,04 ± 19,97	43,39 ± 5,56
phe	19,74 ± 5,07	47,62 ± 12,14	51,77 ± 11,69	20,84 ± 6,72
val	19,58 ± 3,07	41,14 ± 17,20	24,12 ± 7,24	8,56 ± 3,54
ile	18,17 ± 4,98	42,64 ± 16,57	35,39 ± 11,51	2,27 ± 2,43
leu	20,65 ± 5,38	36,01 ± 22,87	26,12 ± 6,14	3,74 ± 3,65
lys	1,02 ± 0,2	33,15 ± 9,91	26,13 ± 6,76	0,00

8.1.1.2 4 l Topf – 700 ppm [CO₂]

Aminosäure bzw. Peptid	1 mM NH ₄ NO ₃	3 mM NH ₄ NO ₃	6 mM NH ₄ NO ₃	12 mM NH ₄ NO ₃
gsh	17,05 ± 8,67	107,13 ± 11,27	38,66 ± 1,33	28,34 ± 10,46
asp	23,21 ± 2,66	254,23 ± 8,49	121,44 ± 15,65	272,56 ± 31,88
glu	128,34 ± 30,03	540,90 ± 75,21	528,69 ± 48,75	351,90 ± 52,03
asn	4,50 ± 0,16	16,42 ± 1,91	15,36 ± 5,34	50,14 ± 20,07
ser	15,99 ± 2,69	50,29 ± 13,13	79,87 ± 0,93	73,64 ± 9,75
gln	16,18 ± 2,16	338,69 ± 38,01	923,06 ± 33,31	1329,78 ± 163,17
gly	13,14 ± 1,44	37,63 ± 12,76	39,40 ± 0,01	25,93 ± 1,14
thr	22,25 ± 2,52	101,51 ± 28,38	28,67 ± 3,91	66,99 ± 14,57
arg	1,78 ± 0,78	3,49 ± 0,97	5,98 ± 1,75	218,82 ± 3,83
ala	26,91 ± 1,73	133,39 ± 4,82	75,08 ± 17,88	227,65 ± 65,72
gaba	39,25 ± 6,80	313,25 ± 5,39	376,83 ± 4,89	166,63 ± 90,60
tyr	0,00	0,00	0,00	0,00
met/trp	29,96 ± 2,64	188,19 ± 43,21	78,50 ± 9,30	51,89 ± 15,73
phe	17,92 ± 2,04	71,56 ± 12,08	38,41 ± 8,88	33,99 ± 7,12
val	17,39 ± 2,41	37,94 ± 8,25	13,85 ± 0,36	9,32 ± 5,25
ile	17,68 ± 3,05	52,82 ± 12,59	25,07 ± 1,47	9,34 ± 3,74
leu	19,74 ± 4,25	51,01 ± 11,46	24,61 ± 1,25	8,36 ± 2,36
lys	3,30 ± 0,53	31,06 ± 13,79	26,23 ± 10,79	0,00

8.1.2 Aminosäuregehalt [$\mu\text{mol g TG}^{-1}$] im *source*-Blattgewebe von Pflanzen in 10 l Töpfen

8.1.2.1 10 l Topf – 350 ppm [CO_2]

Aminosäure bzw. Peptid	1 mM NH_4NO_3	3 mM NH_4NO_3	6 mM NH_4NO_3	12 mM NH_4NO_3
gsh	6,86 ± 2,11	9,51 ± 7,40	4,32 ± 1,31	42,25 ± 10,40
asp	43,68 ± 2,82	56,59 ± 7,55	285,39 ± 14,37	220,08 ± 20,90
glu	130,17 ± 22,08	140,11 ± 7,17	335,78 ± 56,24	386,68 ± 71,93
asn	2,47 ± 0,12	2,08 ± 1,26	9,35 ± 1,32	13,02 ± 3,54
ser	30,69 ± 8,96	28,16 ± 8,33	150,95 ± 8,78	115,92 ± 12,56
gln	11,91 ± 5,34	56,24 ± 48,05	720,96 ± 58,32	1120,98 ± 93,63
gly	14,31 ± 5,99	7,87 ± 0,50	35,80 ± 2,24	28,44 ± 8,00
thr	17,39 ± 3,85	14,37 ± 2,88	61,24 ± 8,96	49,93 ± 11,51
arg	0,00	0,00	38,26 ± 4,74	76,33 ± 11,20
ala	256,20 ± 47,11	22,40 ± 5,90	92,65 ± 37,03	82,29 ± 6,75
gaba	10,58 ± 1,43	30,85 ± 5,03	61,90 ± 23,53	107,06 ± 1,09
tyr	0,00	0,00	0,00	5,50 ± 4,76
met/trp	17,56 ± 2,41	9,34 ± 1,70	40,36 ± 8,15	35,20 ± 0,36
phe	20,74 ± 3,02	12,55 ± 2,00	30,50 ± 0,41	27,41 ± 1,04
val	15,20 ± 1,12	8,35 ± 1,67	14,80 ± 1,54	11,36 ± 4,91
ile	13,00 ± 2,90	7,10 ± 1,16	7,08 ± 5,47	3,65 ± 1,47
leu	17,50 ± 3,22	6,41 ± 2,42	6,71 ± 2,55	6,29 ± 2,82
lys	0,00	0,00	0,00	0,00

8.1.2.2 10 l Topf – 700 ppm [CO₂]

Aminosäure bzw. Peptid	1 mM NH ₄ NO ₃	3 mM NH ₄ NO ₃	6 mM NH ₄ NO ₃	12 mM NH ₄ NO ₃
gsh	9,62 ± 8,82	7,81 ± 3,90	18,10 ± 1,40	8,52 ± 4,42
asp	37,65 ± 7,84	24,10 ± 5,42	369,59 ± 5,13	141,78 ± 21,63
glu	131,70 ± 33,60	98,50 ± 15,96	674,81 ± 19,88	178,05 ± 58,26
asn	2,03 ± 0,91	1,65 ± 0,16	15,41 ± 5,54	12,14 ± 7,44
ser	22,91 ± 12,98	13,15 ± 2,73	136,58 ± 11,84	111,63 ± 2,55
gln	8,52 ± 2,93	8,88 ± 3,65	888,85 ± 85,79	2295,38 ± 105,07
gly	12,47 ± 6,80	11,72 ± 1,49	42,97 ± 5,48	73,80 ± 12,75
thr	13,37 ± 4,90	11,66 ± 0,50	67,38 ± 0,60	29,46 ± 13,06
arg	0,00	0,00	34,22 ± 5,73	71,58 ± 8,55
ala	63,12 ± 26,38	5,33 ± 1,55	137,53 ± 7,47	53,04 ± 3,08
gaba	22,25 ± 5,01	23,03 ± 12,11	102,70 ± 14,43	75,87 ± 15,44
tyr	0,00	0,00	0,00	11,84 ± 5,09
met/trp	14,63 ± 2,77	8,75 ± 1,12	48,68 ± 4,27	13,85 ± 1,27
phe	24,47 ± 2,79	13,06 ± 1,69	55,04 ± 23,54	13,37 ± 1,66
val	20,09 ± 3,08	10,33 ± 2,11	26,32 ± 20,65	3,15 ± 1,03
ile	17,95 ± 6,31	10,08 ± 0,64	27,84 ± 7,88	1,45 ± 0,24
leu	22,12 ± 513	12,11 ± 1,27	18,84 ± 7,31	2,20 ± 0,73
lys	0,00	0,00	0,00	0,00

8.2 Konzentrationen aller gemessenen Aminosäuren im Siebröhrenexsudat

8.2.1 Aminosäurekonzentration [mM] im Siebröhrenexsudat 17 Tage alter Blätter von Pflanzen in 4 l Töpfen

8.2.1.1 4 l Topf – 350 ppm [CO₂]

Aminosäure bzw. Peptid	1 mM NH ₄ NO ₃	3 mM NH ₄ NO ₃	6 mM NH ₄ NO ₃	12 mM NH ₄ NO ₃
gsh	3,94	4,43	4,00	2,08
asp	4,90	4,78	4,85	4,71
glu	6,44	6,67	5,93	5,05
asn	1,40	0,86	1,34	1,62
ser	2,05	3,44	3,69	6,52
gln	20,41	85,23	145,72	158,86
gly	1,03	1,03	0,67	0,67
thr	3,08	2,95	2,67	1,97
arg	1,61	1,87	2,01	1,27
ala	0,30	0,57	1,08	1,33
gaba	0,52	1,33	1,36	1,75
tyr	0,00	0,00	0,00	0,00
met/trp	5,33	4,25	3,87	3,11
phe	0,07	0,10	0,09	0,08
val	1,42	0,55	0,27	0,15
ile	2,79	1,50	0,79	0,36
leu	1,88	0,82	0,60	0,38
lys	0,48	0,59	0,46	0,15

8.2.1.2 4 l Topf – 700 ppm [CO₂]

Aminosäure bzw. Peptid	1 mM NH ₄ NO ₃	3 mM NH ₄ NO ₃	6 mM NH ₄ NO ₃	12 mM NH ₄ NO ₃
gsh	3,15	4,92	5,06	6,48
asp	1,49	2,32	3,43	4,31
glu	2,50	2,73	4,71	5,07
asn	0,21	0,90	1,15	1,35
ser	0,84	1,51	2,56	3,13
gln	8,31	37,74	47,13	66,04
gly	0,23	0,31	0,39	0,61
thr	1,25	2,32	2,74	4,63
arg	0,60	1,26	2,43	2,74
ala	0,20	0,55	0,88	1,72
gaba	0,09	0,32	0,75	1,03
tyr	0,00	0,00	0,00	0,00
met/trp	2,44	3,10	5,68	8,39
phe	0,07	0,17	0,18	0,32
val	0,75	1,93	2,37	2,77
ile	1,38	1,45	2,30	4,11
leu	0,83	1,14	2,06	2,19
lys	0,62	0,70	0,79	1,40

8.2.2 Aminosäurekonzentration [mM] im Siebröhrenexsudat 17 Tage alter Blätter von Pflanzen in 10 l Töpfen

8.2.2.1 10 l Topf – 350 ppm [CO₂]

Aminosäure bzw. Peptid	1 mM NH ₄ NO ₃	3 mM NH ₄ NO ₃	6 mM NH ₄ NO ₃	12 mM NH ₄ NO ₃
gsh	1,81	1,82	0,87	0,76
asp	2,16	3,34	3,42	5,21
glu	3,93	3,47	5,34	5,64
asn	0,04	0,18	0,19	0,36
ser	1,18	1,69	4,80	5,04
gln	44,64	51,10	53,21	61,79
gly	0,81	0,56	0,78	0,35
thr	1,21	1,21	1,11	1,04
arg	0,00	0,25	0,41	1,31
ala	0,68	1,52	1,62	2,33
gaba	0,58	0,44	0,26	0,03
tyr	0,00	0,23	0,23	0,29
met/trp	0,00	0,00	0,01	0,03
phe	1,48	1,04	0,83	0,63
val	0,97	0,41	0,12	0,11
ile	1,31	0,73	0,20	0,08
leu	1,12	0,42	0,17	0,07
lys	0,46	0,45	0,15	0,12

8.2.2.2 10 l Topf – 700 ppm [CO₂]

Aminosäure bzw. Peptid	1 mM NH ₄ NO ₃	3 mM NH ₄ NO ₃	6 mM NH ₄ NO ₃	12 mM NH ₄ NO ₃
gsh	1,07	1,62	1,56	1,31
asp	1,51	2,28	2,60	3,45
glu	3,43	3,03	3,92	5,23
asn	0,04	0,11	0,20	0,37
ser	0,38	1,07	2,16	2,60
gln	3,33	13,56	23,18	54,64
gly	0,07	0,23	0,37	0,27
thr	0,58	1,23	1,16	1,16
arg	0,00	0,00	0,22	0,54
ala	1,79	2,46	2,55	2,46
gaba	0,09	0,06	0,08	0,80
tyr	0,02	0,09	0,19	0,63
met/trp	0,02	0,03	0,03	0,03
phe	0,84	1,27	1,55	0,88
val	0,49	0,72	0,91	0,16
ile	0,69	1,13	1,43	0,25
leu	0,42	0,86	0,77	0,20
lys	0,69	0,76	0,53	0,31

9 Abkürzungsverzeichnis

μE	mikro Einstein
ADP	Adenosin-5'-diphosphat
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
C/N-Verhältnis	Kohlenstoff-zu-Stickstoff-Verhältnis
Chl	Chlorophyll
CO_2	Kohlendioxid
DTT	1,4-Dithiothreitol
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EGTA	Ethylenglycol-bis(2-aminoehylether)-N,N,N',N'-tetraacetat
HEPES	4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinmethansulfonsäure
MES	2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure
MR	Mittelrippe
mRNA	<i>messenger</i> RNA, Botenribonucleinsäure
MW	Mittelabweichung
n	Anzahl
NADP	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat in oxidierter Form
NADPH	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat in reduzierter Form
NP-Rate	Nettophotosyntheserate
NR	Nitratreduktase
NRA	Nitratreduktaseaktivität
NUE	<i>nitrogen use efficiency</i> , Stickstoffnutzungseffizienz
PMSF	Phenylmethylsulfonylfluorid
ppm	parts per million
RGR	<i>relative growth rate</i> , Relative Wachstumsrate
RubisCO	Ribulose-1,5-bisphosphat Carboxylase / Oxygenase
SDS	Natriumdodecylsulfat
STABW	Standardabweichung
TG	Trockengewicht
THF	Tetrahydrofuran
U	<i>unit</i> , Enzymaktivität, 1 U entspricht 1 μmol Substratumsatz min^{-1}
VE-Wasser	voll entsalztes Wasser
W	Biomasse

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. E. Komor für die Vergabe des Themas, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes, für die ständige Diskussionsbereitschaft und die wissenschaftliche Betreuung der Arbeit.

Bei Herrn Prof. Dr. C. Engels bedanke ich mich herzlich für die freundliche Bereitstellung des Photosynthesemessgerätes.

Herrn PD Dr. G. Gebauer und Frau Marga Wartinger danke ich für die Unterstützung bei der Einarbeitung in den NRA-Test und die Hilfe bei den HPLC-Messungen.

Ich danke herzlich Frau PD Dr. G. Orlich, Frau Dr. C. Reinbothe und Herrn Dr. S. Fettig für die Anregungen und die moralische Unterstützung und Herrn Dr. A. Weig darüber hinaus für die kompetente Hilfe bei Computerproblemen aller Art.

Bei Frau Heike Bauer-Ruckdeschel bedanke ich mich für die Einarbeitung. Im Besonderen danke ich Herrn Udo Jongebloed für die überaus gute Zusammenarbeit und die Unterstützung bei HPLC-Fragen.

Frau Ulrike Schaz danke ich für die problemlose Zusammenarbeit in den Klimakammern.

Bei Frau Petra Dietrich und Frau Bettina Popp (BITÖK) bedanke ich mich für die Durchführung der C/N- und Elementanalysen.

Des Weiteren danke ich Frau Heike Bauerschmitt und Frau Katja Urbanski für die Hilfe bei der Gewinnung von Daten.

Ich bedanke mich bei der gesamten AG Komor für das hervorragende Arbeitsklima während der gesamten Zeit.

Bei Herrn Prof. Dr. E. Beck und allen anderen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Lehrstuhls Pflanzenphysiologie der Universität Bayreuth möchte ich mich herzlich für die Kollegialität und die Hilfsbereitschaft sowie für die stets freundliche Atmosphäre am Lehrstuhl bedanken.

Hiermit erkläre ich, dass ich diese Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Ich erkläre weiterhin, dass ich weder an der Universität Bayreuth noch an einer anderen Hochschule versucht habe, diese oder eine gleichartige Dissertation einzureichen oder mich einer Doktorprüfung zu unterziehen.

Bayreuth, den 04. Juni 2002

Frank Keller