

**Kohlenstoffexport bei erhöhter CO<sub>2</sub>-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 Lindenhartd

Bayreuth, im Juni 2002

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>9</b>
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
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>14</b>
2.1	<b>Bezugsquellen .....</b>	<b>14</b>
2.1.1	Saatgut .....	14
2.1.2	Enzyme und Chemikalien .....	14
2.2	<b>Anzucht und Ernte der Pflanzen.....</b>	<b>14</b>
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	<b>Messung der Wachstumsparameter .....</b>	<b>17</b>
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	<b>Probennahme.....</b>	<b>20</b>
2.4.1	Blatt- und Wurzelgewebe.....	20
2.4.2	Siebröhrenexsudat.....	21
2.4.3	Xylemwurzeldruckexsudat .....	21
2.5	<b>Analytische Methoden.....</b>	<b>22</b>
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
<b>2.6</b>	<b>Gaswechsellmessungen .....</b>	<b>30</b>
<b>2.7</b>	<b>Mikroskopische Methode zur Bestimmung der Phloemfläche .....</b>	<b>31</b>
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>32</b>
<b>3.1</b>	<b>Wachstumsverhalten der Pflanzen bei 350 und 700 ppm [CO<sub>2</sub>] .....</b>	<b>32</b>
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
<b>3.2</b>	<b>Kohlenstoffexport in Form von Assimilaten aus dem <i>source</i>-Gewebe der untersuchten Blätter bei 350 und 700 ppm [CO<sub>2</sub>] .....</b>	<b>56</b>
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 <i>source</i> -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 <i>source</i> -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
<b>3.3</b>	<b>Transport der exportierten Assimilate bei 350 und 700 ppm [CO<sub>2</sub>]</b> .....	<b>71</b>
3.3.1	Saccharosekonzentration im Transportgewebe von <i>source</i> -Blättern bei 350 und 700 ppm [CO <sub>2</sub> ] .....	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 <sub>2</sub> ].....	75
<b>3.4</b>	<b>Stickstoffgehalt und Nitratassimilation der untersuchten Pflanzen</b> .....	<b>77</b>
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
<b>3.5</b>	<b>Gehalt an weiteren Hauptnährelementen im Gewebe des source-Blattes # 2</b> .....	<b>94</b>
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
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>100</b>
<b>4.1</b>	<b>Gesteigerte und beschleunigte Biomasseproduktion der Pflanzen bei erhöhter CO<sub>2</sub>-Konzentration</b> .....	<b>100</b>
4.1.1	Einfluss der Topfgröße .....	100
4.1.2	Abhängigkeit von der Ammoniumnitratkonzentration.....	103
<b>4.2</b>	<b>Veränderte <i>sink-source</i>-Beziehungen der Pflanzen bei erhöhter CO<sub>2</sub>-Konzentration</b> .....	<b>105</b>

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 <sub>2</sub> -Konzentration ..	106
<b>4.3</b>	<b>Erhöhter Kohlenstoffexport in Form von Assimilaten und Fluss dieser Assimilate bei 700 ppm [CO<sub>2</sub>] .....</b>	<b>108</b>
<b>4.4</b>	<b>Besonders enge Verknüpfung des Kohlenstoff- und des Stickstoffstoffwechsels bei 700 ppm [CO<sub>2</sub>] .....</b>	<b>111</b>
4.4.1	C/N-Verhältnis und der Einfluss auf die Photosyntheseleistung .....	111
4.4.2	Verminderte Photorespiration bei erhöhter CO <sub>2</sub> -Konzentration .....	112
4.4.3	Unterschiedlicher Einfluss von erhöhter CO <sub>2</sub> -Konzentration auf die Nitratreduktaseaktivität in Blättern und Wurzeln .....	113
4.4.4	Einfluss von erhöhter CO <sub>2</sub> -Konzentration auf die Bildung und den Transport von Aminosäuren .....	115
<b>4.5</b>	<b>Abhängigkeit des Gehalts an Hauptnährelementen im <i>source</i>-Gewebe von erhöhter CO<sub>2</sub>-Konzentration und Stickstoffversorgung.....</b>	<b>118</b>
<b>4.6</b>	<b>Ausblick.....</b>	<b>120</b>
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>122</b>
<b>6</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>124</b>
<b>7</b>	<b>LITERATUR .....</b>	<b>126</b>
<b>8</b>	<b>ANHANG.....</b>	<b>134</b>
<b>8.1</b>	<b>Gehalte aller gemessenen Aminosäuren im <i>source</i>-Blattgewebe.....</b>	<b>134</b>
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 <sub>2</sub> ].....	134
8.1.1.2	4 l Topf – 700 ppm [CO <sub>2</sub> ].....	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 <sub>2</sub> ].....	136
8.1.2.2	10 l Topf – 700 ppm [CO <sub>2</sub> ].....	137
<b>8.2</b>	<b>Konzentrationen aller gemessenen Aminosäuren im Siebröhrenexsudat .....</b>	<b>138</b>
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 <sub>2</sub> ]	138
8.2.1.2	4 l Topf – 700 ppm [CO <sub>2</sub> ]	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 <sub>2</sub> ]	140
8.2.2.2	10 l Topf – 700 ppm [CO <sub>2</sub> ]	141
<b>9</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>143</b>

# 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  $\text{CO}_2$  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  $\text{CO}_2$ -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  $\text{CO}_2$ -Konzentration und guter Stickstoffverfügbarkeit erreicht werden (Lawlor & Mitchell 1991, Lawlor 2002). Ein weiterer Faktor, der die Reaktion von Pflanzen auf erhöhte  $\text{CO}_2$ -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 CO<sub>2</sub>-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 CO<sub>2</sub>-Konzentrationen noch forciert werden kann. Je größer die Diversität der Pflanzengesellschaft ist, desto stärker wirkt sich eine erhöhte Stickstoff- und CO<sub>2</sub>-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 CO<sub>2</sub>-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 CO<sub>2</sub>-Konzentration ausgesetzt waren. Das Ausmaß der Akklimation hängt von der Stickstoffernährung ab, da man u.a. davon ausgeht, dass die beim Wachstum unter erhöhter CO<sub>2</sub>-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 CO<sub>2</sub>-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 CO<sub>2</sub>-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 CO<sub>2</sub>-Konzentration zu erwarten.

### 1.3 Fragestellungen und Zielsetzung dieser Arbeit

In dem DFG-Schwerpunktprogramm „Stoffwechsel und Wachstum der Pflanze unter erhöhter CO<sub>2</sub>-Konzentration“ stand v.a. die individuelle Reaktion der Pflanze auf das gesteigerte Angebot an Kohlendioxid in der Atmosphäre im Mittelpunkt. Pflanzen bilden bei erhöhter CO<sub>2</sub>-Konzentration zumeist mehr Biomasse als bei ambienter CO<sub>2</sub>-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 [CO<sub>2</sub>] bezüglich des Exports von Kohlenstoff in Form von Assimilaten resultierte eine gesteigerte Exportrate bei erhöhter CO<sub>2</sub>-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 [CO<sub>2</sub>] gewachsen waren (Grimmer 1999).

Da jedoch das Ausmaß der gesteigerten Biomasseproduktion von Pflanzen bei erhöhter CO<sub>2</sub>-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 [CO<sub>2</sub>] 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 CO<sub>2</sub>-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 [CO<sub>2</sub>] stark beeinflusst und zwar dahingehend, dass die Unterschiede in den

Kohlenstoffexportraten - bei gleicher Stickstoffernährung - zwischen ambierter und erhöhter CO<sub>2</sub>-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 CO<sub>2</sub>-Konzentration beeinträchtigt.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte untersucht werden, in welchem Zusammenhang das veränderte Wachstum von *Ricinus communis* L. bei erhöhter CO<sub>2</sub>-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 CO<sub>2</sub>-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 CO<sub>2</sub>-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).

## 5 Zusammenfassung

Im Hinblick auf die ständig zunehmende CO<sub>2</sub>-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 CO<sub>2</sub>-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 CO<sub>2</sub>-Konzentration“ durchgeführt wurde, der Klärung des Zusammenhangs des verstärkten und beschleunigten Wachstums von Pflanzen bei erhöhter [CO<sub>2</sub>] mit dem Kohlenstoffexport in Form von Assimilaten aus *source*-Blättern bei unterschiedlichen Anzuchtbedingungen 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 [CO<sub>2</sub>] 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 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) in der Nährlösung die erhöhte CO<sub>2</sub>-Konzentration bei den gegebenen Bedingungen besser für Wachstum, Entwicklung und Biomasseproduktion nutzen als Pflanzen, die bei niedrigerer Stickstoffversorgung (1-3 mM NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) 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 CO<sub>2</sub>-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 CO<sub>2</sub>-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 [CO<sub>2</sub>] im Vergleich zu 350 ppm [CO<sub>2</sub>] 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 [CO<sub>2</sub>]. Für Pflanzen, die bei 700 ppm [CO<sub>2</sub>] 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 CO<sub>2</sub>-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 CO<sub>2</sub>-Konzentration schließen. Die niedrigere Konzentration an Aminosäuren im Siebröhrenexsudat (bei vergleichbaren Exsudationsraten) unterstützt die Hypothese der erhöhten Flussgeschwindigkeit in den Siebröhren bei 700 ppm [CO<sub>2</sub>].
  5. Rizinuspflanzen verfügten bei erhöhter CO<sub>2</sub>-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 CO<sub>2</sub> 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 CO<sub>2</sub> 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 CO<sub>2</sub>-Konzentration" (Metabolism and Growth of Plants at Elevated CO<sub>2</sub> Concentrations), the central term of interest was the connection between the accelerated and increased growth of plants at elevated [CO<sub>2</sub>] 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 [CO<sub>2</sub>] 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 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> in the nutrition solution (6-12 mM) could use the elevated CO<sub>2</sub> 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.