

CHEMISCHE PHYSIOLOGIE DER PFLANZEN

BIOLOGISCHE EINFÜHRUNGSÜBUNGEN SOMMERSEMESTER 2003

Stickstoff-Kreislauf

Der Stickstoff-Kreislauf ist, neben dem Kohlenstoff-Zyklus, der bedeutendste Stoffkreislauf in terrestrischen Ökosystemen. Pflanzen nehmen Stickstoff meist in anorganischer Form (als Nitrat oder Ammonium) auf und wandeln ihn in reduzierte organische Verbindungen (Aminosäuren, Proteine, Nukleinsäuren) um. Diese Umwandlung nennt man Stickstoff-Assimilierung. Tierische Organismen können anorganischen Stickstoff nicht assimilieren und sind daher auf die Aufnahme organischer Stickstoffverbindungen angewiesen. Nach dem Absterben von Pflanzen und Tieren kommt organischer Stickstoff in den Boden und wird dort von Mikroorganismen wieder zu Ammonium und Nitrat mineralisiert.

Nitratreduktion

Nitrat stellt die wichtigste pflanzenverfügbare Stickstoff-Form im Boden dar. Nitrat wird vom Wurzelsystem aus der Bodenlösung aufgenommen und muß danach in der Pflanze zu Ammonium reduziert werden, bevor es in organische Verbindungen eingebaut werden kann. Diesen Vorgang nennt man Nitratreduktion. Er besteht aus zwei Teilschritten: zuerst wird Nitrat zu Nitrit reduziert (Enzym: Nitratreduktase), dann Nitrit zu Ammonium (Enzym: Nitritreduktase). Pflanzen können Nitrat sowohl in den Wurzeln als auch im Sproß reduzieren. Wird Nitrat in der Wurzel reduziert, dann werden im Xylem Aminosäuren in den Sproß transportiert. Hingegen wird bei der Reduktion in den Blättern Nitrat im Xylem transportiert und der Bedarf der Wurzeln an Aminosäuren durch Phloemtransport aus dem Sproß gedeckt.

Messung der Nitratreduktase-Aktivität

Durch die Messung der Nitratreduktase-Aktivität erfasst man den Nitratumsatzes in der Pflanze pro Zeiteinheit. Dazu werden Blattstücke mit gepufferter Nitratlösung infiltriert. Nitrat wird im lebenden Gewebe durch Nitratreduktase zu Nitrit umgesetzt. Das Enzym Nitritreduktase ist Licht- bzw. Sauerstoff-abhängig; durch Abdunkelung und Entgasung wird Nitrit daher unter Versuchsbedingungen nicht weiter reduziert. Nitrit diffundiert aus dem Gewebe in die Außenlösung, in der es durch eine Farbreaktion nachgewiesen werden kann.

Arbeitsanleitung

- Kleingeschnittene Blattstücke (je 0,5 g) werden in Spritzen eingewogen.
- Danach wird jeweils 5 mL Inkubationslösung in die Spritze aufgezogen, Luftblasen entfernt, die Spritze verschlossen und dreimal belüftet.
- Nach 20 min Inkubation im Dunkeln wird die Lösung in ein Plastikgefäß überführt.
- Mit einer Pasteurpipette wird 1 mL dieser Lösung in ein frisches Gefäß pipettiert und mit je 1 mL Farbreagens A und B versetzt.
- Die Gefäße werden verschlossen, geschüttelt und 10 min inkubiert.
ACHTUNG: Reagens A ist ÄTZEND!
- Danach wird die Farbintensität bei einer Wellenlänge von 540 nm mit einem Photometer vermessen. Mit Hilfe einer Kalibrierung kann nun der Umsatz an Nitrat pro Stunde und g Frischmaterial errechnet werden.