Zeitschrift: Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse

Herausgeber: Schweizerische Botanische Gesellschaft

Band: 86 (1976)

Heft: 3-4

Artikel: Einfluss der Aminosäuren Ornithin, Citrullin und Arginin auf das Wachstum von Lemna minor bei gleichzeitigem Angebot von Ammonium oder Nitrat

Autor: Feller, U. / Erismann, K.H.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-60937

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 16.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Ber. Schweiz. Bot. Ges. *86* (3/4), 129–135 (1976)

Einfluss der Aminosäuren Ornithin, Citrullin und Arginin auf das Wachstum von *Lemna minor* bei gleichzeitigem Angebot von Ammonium oder Nitrat

U. Feller und *K.H. Erismann*

Pflanzenphysiologisches Institut der Universität Bern

Manuskript eingegangen am 23. Juli 1976

JOY 1969 fand bei *Lemna,* dass bei Zusatz verschiedener Aminosäuren zu einem kompletten nitrathaltigen Nährmedium mit Saccharose das Arginin eine Sonderstellung einnehme. Durch Arginin und etwas geringer auch durch Citrullin wurde eine grössere Frischgewichtszunahme als auf reiner Nitratnährlösung beobachtet. Die Aktivität der Nitratreduktase war bei Zugabe von Arginin im Gegensatz zu anderen Aminosäuren nicht tiefer als bei der Kontrolle.

Arginin und Citrullin sind Aminosäuren des Harnstoff-Zyklus. Die Frage, ob dieser Zyklus in Pflanzen in der bekannten Form ablaufe, ist noch nicht restlos geklärt. HATTORI 1957 und BAKER und THOMPSON 1962 fanden Anhaltspunkte, dass Arginin in *Chlorella* nicht über die Arginase-Reaktion zu Ornithin, sondern über eine Desimidase zu Citrullin abgebaut wird. Citrullin kann seinerseits wieder in Ornithin übergeführt werden. Ornithin steht an einer zentralen Stelle des Aminosäurenstoffwechsels (EID et al. 1974, SPENCER und TITUS 1974) und hat möglicherweise auch wichtige regulatorische Funktionen (ABRAMS 1973). Für die Biosynthese von Citrullin wird Ornithin und Carbamoylphosphat gebraucht. Inwieweit Aspartat (Pyrimidinbiosynthese) und Ornithin (Argininbiosynthese) bei höheren Pflanzen um das gebildete Carbamoylphosphat in Konkurrenz stehen oder inwieweit die beiden Biosynthesewege sonst in regulatorischer Wechselwirkung stehen, ist noch fraglich (OAKS und BIDWELL 1970).

In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, wie die Aminosäuren Ornithin, Citrullin oder Arginin einer vollständigen Nitrat-, bzw. Ammoniumnährlösung zugesetzt das Wachstum und die Inhaltsstoffe von *Lemna* beeinflussen. Die Wechselwirkung mit gleichzeitig angebotener Glucose wird ebenfalls überprüft.

Material und Methoden

Anzucht des Pflanzenmaterials: Die Anzucht der Wasserlinsen (*Lemna minor L.*, Stamm 11'02 des Pflanzenphysiologischen Institutes Bern) erfolgte wie früher beschrieben (KOPP et al. 1974) bei 25°C und 4'500 Lux im Dauerlicht. Die fertigen Nährlösungen wurden vor der Beimpfung, in den Kulturgefässen während 20 Minuten bei 120°C im Autoklaven sterilisiert. Bei Zugabe von Asparagin oder Glutamin wurden die Nährlösungen ohne Aminosäure autoklaviert und nach Abkühlung wurden entsprechende Mengen einer 100 mM Stammlösung, die in vorher autoklaviertem Wasser hergestellt und mit Chloroform ausgeschüttelt wurde, mit sterilen Pipetten zugesetzt. Die Organismen wurden während mehrerer Generationen auf der Versuchsnährlösung gezogen und nach Überimpfung auf neue Nährlösung der gleichen Zusammensetzung erfolgte die Bestimmung der Wachstumsrate und die anschliessende Analyse der Inhaltsstoffe.

Die Aminosäuren wurden jeweils einer kompletten Nährlösung mit anorganischer Stickstoffquelle zugesetzt, wobei die Konzentration des Ammoniums, bzw. des Nitrates 3.33 mM betrug.

Analyse des Wachstums: Die Gliederzahl wurde täglich ermittelt und halblogarithmisch als Funktion der Zeit aufgetragen. Aus der Steigung der Geraden im halblogarithmischen Diagramm wurden die ρ_{100}-Werte berechnet, wobei ρ_{100} der Anzahl Verdoppelungen in 100 Stunden entspricht.

Ernte und Extraktion: Die Ernte erfolgte während der logarithmischen Wachstumsphase. Die Wasserlinsen wurden während 30 Minuten bei 0–4°C im Kühlraum mit vorgekühltem Ionenaustauscherwasser ausgewaschen, tiefgefroren (–20°C) und gefriergetrocknet. Vom Trockenmaterial wurden 10 mg in einem Glashomogenisator mit 2 ml 0.1 N HCl aufgebrochen und extrahiert. Der Rohextrakt wurde zentrifugiert und aus dem Überstand erfolgten die Poolgrössenbestimmungen.

Nitratbestimmung: Vom Überstand wurden 0.05 ml mit 2 Tropfen 10% NH_3 alkalisch gemacht, bei 100°C eingetrocknet und nach Abkühlung analysiert nach FELLER et al. 1971, wobei die Menge des Nitratreagens auf 0.2 ml und die des Aethanols auf 2 ml reduziert wurden.

Ammoniumbestimmung: Die Farbreaktion nach BOHLEY 1967 wurde ohne vorherige Veraschung ausgeführt. Amino-N und Amid-N wurden so nicht erfasst. Überstand (0.2 ml) + 0.3 ml H_2O wurden mit 0.05 ml Veraschungsschwefelsäure versetzt und anschliessend direkt analysiert.

Bestimmung der freien Aminosäuren: Vom Überstand wurden 0.05 ml mit 1 ml Ninhydrinreagens nach CRAMER 1958 versetzt, 20 Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt und nach Zugabe von 1 ml Propanol 50% bei 570 nm photometriert. Der bei diesem Test ebenfalls erfasste Ammoniumstickstoff wurde subtrahiert.

Argininbestimmung: Mit H_2O wurde 0.1 ml Überstand auf 2 ml ergänzt und nach PAECH und TRACEY 1955 analysiert.

Resultate und Diskussion

Die Auswirkungen der in der Nährlösung angebotenen Aminosäuren Ornithin, Citrullin oder Arginin sind sehr unterschiedlich und werden durch die Form des gleichzeitig angebotenen anorganischen Stickstoffes (Ammonium oder Nitrat) stark beeinflusst (Tabelle I). Die Wachstumshemmungen sind auf Nitratnährlösung

Tabelle I:

Wachstumsraten (ρ_{100}) und Poolgrössen von Nitrat, Ammonium, freien Aminosäuren und freiem Arginin in μMol/mg Trockengewicht bei *Lemna minor L.* Die Organismen wurden auf Nitrat-, bzw. Ammoniumnährlösung unter Zusatz von Ornithin, Citrullin, Arginin oder Arginin + Glutaminsäure in den angegebenen Endkonzentrationen gezogen. Teilweise wurden der Nährlösung 2% Glucose zugesetzt.

	Nitratnährlösung					Ammoniumnährlösung			
Zusätze	ρ_{100}	Nitrat	Ammonium	Aminosäuren	Arginin	ρ_{100}	Ammonium	Aminosäuren	Arginin
Kontrolle	3.24	0.101	0.081	0.05	<0.1	3.24	0.091	0.14	<0.1
Kontrolle + Glucose	3.62	0.037	0.054	0.14	<0.1	3.68	0.089	0.30	<0.1
Ornithin 0.5 mM	1.51	0.021	0.056	0.35	<0.1	2.59	0.080	0.23	0.20
Ornithin 1 mM	†	†	†	†	†	†	†	†	†
Ornithin 1 mM + Glucose	1.41	Spur	0.034	0.30	<0.1	2.11	0.069	0.30	0.12
Ornithin 2 mM	†	†	†	†	†	†	†	†	†
Citrullin 0.5 mM	1.35	0.113	0.061	0.34	<0.1	3.08	0.094	0.27	0.19
Citrullin 1 mM	1.46	Spur	0.034	0.53	0.29	2.81	0.094	0.39	0.21
Citrullin 1 mM + Glucose	2.35	Spur	0.076	0.39	<0.1	2.59	0.094	0.47	<0.1
Citrullin 2 mM	1.46	Spur	0.037	0.56	0.18	2.49	0.095	0.47	0.22
Arginin 0.5 mM	3.19	0.054	0.074	0.29	<0.1	3.30	0.092	0.34	0.18
Arginin 1 mM	†	†	†	†	†	2.70	0.135	0.73	0.65
Arginin 1 mM + Glucose	3.03	0.015	0.063	0.30	<0.1	3.51	0.080	0.31	0.23
Arginin 2 mM	†	†	†	†	†	†	†	†	†
Arginin + Glutaminsäure je 1 mM	†	†	†	†	†	2.49	0.150	0.72	0.71
Arginin + Glutaminsäure je 1 mM + Glucose	2.20	Spur	0.047	0.22	0.16	3.46	0.079	0.28	0.23

† = absterbende Kultur (kein exponentielles Wachstum).

deutlich stärker als auf der entsprechenden Ammoniumnährlösung. Wird neben der Aminosäure dem Kulturmedium auch Glucose zugesetzt, so ist das Wachstum wiederum weniger gehemmt. Während auf beiden Nährlösungen bei Ornithinzugabe in einer Konzentration von 1 mM bereits kein exponentielles Wachstum mehr möglich ist, wachsen die Organismen bei 2 mM Citrullin noch mit einer konstanten Verdoppelungszeit. Beim Zusatz von 2% Glucose ist bei 1 mM Ornithin eine konstante Verdoppelungszeit möglich. Beim Zusatz von 1 mM Arginin ist auf Nitratnährlösung kein reguläres Wachstum mehr feststellbar, während auf Ammoniumnährlösung das Wachstum zwar gehemmt, aber immer noch exponentiell verläuft. Bei gleichzeitiger Zugabe von je 1 mM Arginin und Glutamat verhalten sich die Kulturen ähnlich wie bei der Zugabe von 1 mM Arginin. Gleichzeitig angebotene Glucose macht die Wachstumshemmung durch Arginin teilweise rückgängig.

Bei Zugabe anderer Aminosäuren (Tabelle II) sind die Auswirkungen der anorganischen Stickstoffquelle und zugesetzter Glucose geringer. Die Aminosäuren der Argininbiosynthese nehmen eine Sonderstellung ein. Ornithin und Arginin werden schlechter vertragen als die in der Biosynthese dazwischenliegende Aminosäure Citrullin. Die Produktion neuer Glieder ist unmittelbar nach dem Übertragen auf ornithin-, bzw. argininhaltige Nährlösung (1 mM in Nitratmedium) vermindert, aber anfänglich noch exponentiell (Abbildung 1). Nach 5 Tagen werden keine neuen Glieder mehr gebildet. Das Absterben nach 5 Tagen setzt auch bei Erneuerung der Nährlösung ein, so dass nicht eine Alterungserscheinung des Nährmediums vorliegt. Die Glieder, die nach dem Übertragen auf die ornithin- oder argininhaltige Nitratnährlösung noch sichtbar werden, sind bereits vorher unsichtbar angelegt und werden durch Grössenwachstum sichtbar. Die unmittelbar nach dem Übertragen eintretende Hemmung der Gliederproduktion dürfte auf ein vermindertes Differenzierungswachstum bereits angelegter Glieder zurückzuführen sein. Die Wachstumseinstellung nach 5 Tagen beruht möglicherweise auf einer gestörten Meristemtätigkeit.

Tabelle II:

Wachstumsraten (ρ_{100}) von *Lemna minor L.* auf Nitrat-, bzw. Ammoniumnährlösung mit Zusatz verschiedener Aminosäuren in der angegebenen Endkonzentration. Dem Nährmedium wurden teilweise 2% Glucose zugesetzt.

Zusatz	Nitratnährlösung		Ammoniumnährlösung	
	ohne Glucose	mit 2% Glucose	ohne Glucose	mit 2% Glucose
Kontrolle	3.24	3.62	3.24	3.68
Alanin 0.5 mM	1.35	1.30	1.68	1.84
Glycin 0.5 mM	1.73	1.57	2.11	1.84
Asparaginsäure 1 mM	2.27	2.38	2.32	3.14
Glutaminsäure 1 mM	2.00	1.95	2.22	2.92
Asparagin 1 mM	2.16	2.38	2.32	2.54
Glutamin 1 mM	2.38	2.11	2.86	2.65
Caseinhydrolysat 2 g/l	1.89	2.59	2.76	3.08

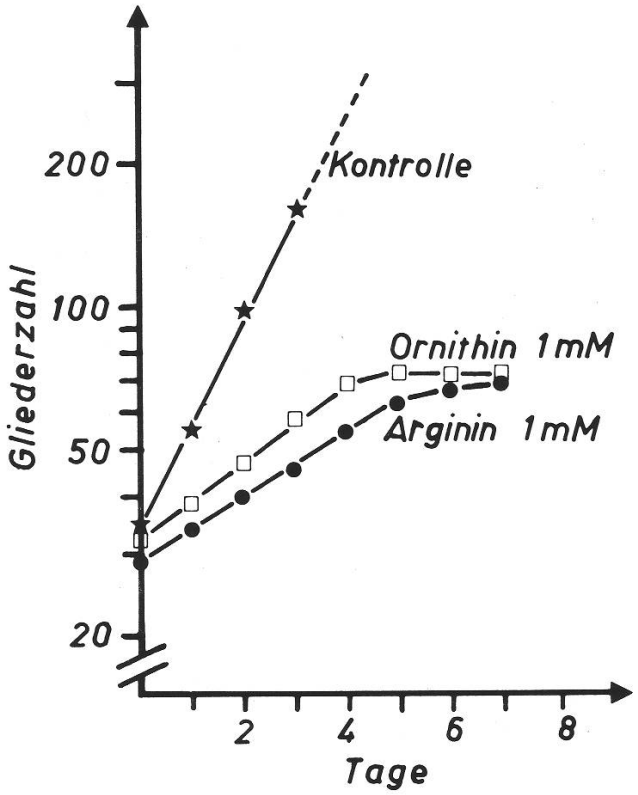

Abbildung 1:

Wachstum von *Lemna minor L.* bei Zugabe von Ornithin oder Arginin zu einer nitrathaltigen Nährlösung. Die Konzentration der Aminosäuren im Nährmedium betrug 1 mM. Die Ordinate ist logarithmisch eingeteilt. Zum Zeitpunkt 0 Tage wurden Organismen von Nitratnährlösung ohne Zusatz auf die Versuchsnährlösungen überimpft.

Aus Tabelle I geht hervor, dass der Ammoniumpool in den Pflanzen bei Nitraternährung deutlich tiefer liegt. Speziell in schlecht wachsenden Kulturen liegen tiefe Ammoniumgehalte vor. Da auch der Nitratpool stark verkleinert wird durch zugegebene Aminosäuren, liegt bereits eine verschlechterte Nitrataufnahme vor und möglicherweise als Folge davon eine erniedrigte Reduktion. Der Pool der gesamten freien Aminosäuren wird durch die Zuführung von Aminosäuren von aussen stark erhöht. Besonders bei gehemmtem Wachstum sind stark erhöhte Aminosäurengehalte feststellbar. Gefüttertes Ornithin und Citrullin werden teilweise in Arginin übergeführt. Es ist möglich, dass die wachstumshemmende Wirkung des Citrullins auf dem erhöhten Argininingehalt beruht. Auf Ammoniumnährlösung wird deutlich mehr Ornithin in Arginin übergeführt als auf Nitratnährlösung, d.h. die Verfügbarkeit von reduziertem Stickstoff scheint diese Umwandlung zu begünstigen. Bei Ammoniumernährung werden auch grössere Argininingehalte in der Zelle ertragen.

Für das unterschiedliche Verhalten auf Ammonium- und Nitratnährlösung dürften einerseits Einflüsse auf die Aufnahme und/oder Reduktion des Nitrates und andererseits das veränderte Ammoniumangebot bei den primären Fixierungsreaktionen verantwortlich sein. Da die Wirkung der Glucose sowohl bei Nitrat-, als auch bei Ammoniumernährung auftritt, muss deren Wirkung mindestens teilweise nach der Nitratreduktion, d.h. bei der primären Fixierung oder im darauf folgenden Stoffwechsel erfolgen. Ob durch die Glucose bessere energetische Verhältnisse für die Assimilation des anorganischen Stickstoffes oder die C-Skelette für einen ausgeglichenen Stoffwechsel bereitgestellt werden, ist noch offen. Da Arginin (Endprodukt eines Biosyntheseweges) und Ornithin (Substrat einer Carbamoylphosphat verbrauchenden Reaktion) sich stärker auswirken als das in der Biosynthese dazwischenliegende Citrullin, muss eine wichtige Regulationsstelle beim Carbamoylphosphat vermutet werden.

Bei Argininfütterung traten stark vergrösserte Glieder auf, die bei nicht mehr exponentiell wachsenden Kulturen unförmig waren und lange über eine fädige Struktur mit dem Mutterglied verbunden blieben. In solchen absterbenden Kulturen waren keine neuangelegten Tochterglieder mehr erkennbar. Bei Ornithinfütterung blieben auch bei absterbenden Kulturen diese morphologischen Veränderungen aus. Es liegt somit nahe, dass Ornithin und Arginin mindestens teilweise über unterschiedliche Mechanismen wirken.

Zusammenfassung

Werden die Aminosäuren Ornithin, Citrullin oder Arginin einer kompletten Nährlösung mit Nitrat oder Ammonium als anorganischer Stickstoffquelle zugesetzt, so rufen diese unterschiedliche Reaktionen bei *Lemna* hervor. Ornithin und Arginin wirken sich ungünstiger auf das Wachstum aus als Citrullin. Die Wachstumshemmungen sind auf Nitratnährlösung stärker als auf Ammoniumnährmedium. Gleichzeitig angebotene Glucose macht bei beiden anorganischen Stickstoffquellen die Wachstumshemmungen teilweise rückgängig.

Die Auswirkungen von Ornithin und Arginin dürften mindestens teilweise auf unterschiedlichen Mechanismen beruhen, da die entsprechenden Kulturen morphologische Unterschiede aufweisen. Bei Argininfütterung wurden stark vergrösserte Glieder gebildet. Nicht mehr exponentiell wachsende Kulturen mit Arginin zeigten grosse unförmige Glieder, die lange über eine fädige Struktur mit dem Mutterglied verbunden blieben und keine neuangelegten Glieder mehr erkennen liessen.

Summary

Influence of Ornithin, Citrullin and Arginin on Growth of *Lemna minor* in the Presence of Ammonium or Nitrate.

Addition of the amino acids ornithine, citrulline or arginine to a complete nutrient solution with nitrate or ammonium as inorganic nitrogen source caused different reactions in *Lemna*. Growth was more inhibited by ornithine and arginine than by citrulline. Growth in presence of nitrate was more reduced than with ammonium. The addition of glucose reduced the growth inhibition on both inorganic nitrogen sources.

The effect of ornithine and arginine seems to be due, at least partially, to different mechanisms, because comparable cultures showed morphological differencies. The fronds were bigger in the cultures with arginine. When these cultures did no longer grow exponentially, big misshapen fronds were formed. These fronds remained connected with the maternal frond for a long time by means of a threadlike structure and it was no longer possible to observe the typical formation of daughter fronds.

Literatur

Abrams von G.J. 1974. An effect of ornithine on degradation of chlorophyll and protein in excised leaf tissue. Z. Pflanzenphysiol. *72:* 410–421.

Baker E.J. und J.F. Thompson. 1962. Metabolism of urea and ornithine cycle intermediates by nitrogen-starved cells of *Chlorella vulgaris.* Plant Physiol. *37:* 618–624.

Bohley P. 1967. Reihenbestimmungen von Stickstoff im Ultramikromassstab. Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. *348:* 100–110.

Cramer F. 1958. Papierchromatographie. Verlag Chemie, Weinheim, p. 102.

Eid S., Y. Waly und A.T. Abdelal. 1974. Separation and properties of two ornithine carbamoyltransferases from *Pisum sativum* seddlings. Phytochemistry *13:* 99–102.

Feller U., A. Bauer und K.H. Erismann. 1971. Spektrophotometrische Nitratbestimmung im Ultratmikrobereich. Schweiz. Landw. Forsch. *10:* 249–257.

Hattori A. 1957. Studies on the metabolism of urea and other nitrogenous compounds in *Chlorella ellipsoidea.* I. Assimilation of urea and other nitrogenous compounds by nitrogen starved cells. J. Biochem. *44:* 253–273.

Joy K.W. 1969. Nitrogen metabolism of *Lemna minor.* I. Growth, nitrogen sources and amino acid inhibition. Plant Physiol. *44:* 845–848.

Kopp A., U. Feller und K.H. Erismann. 1974. Untersuchungen zur Regulation der Stickstoffassimilation von *Lemna minor* im Übergang von Ammonium- auf Nitrat-, bzw. von Nitrat- auf Ammoniumnährlösung unter Photosynthesebedingungen. Z. Pflanzenphysiol. *73:* 456–460.

Oaks A. und R.G.S. Bidwell. 1970. Compartmentation of intermediary metabolites. Ann. Rev. Plant Physiol. *21:* 43–66.

Paech K. und M.V. Tracey. 1955. Moderne Methoden der Pflanzenanalyse IV, Berlin, Göttingen, Heidelberg, p. 132.

Spencer P.W. und J.S. Titus. 1974. The occurence and nature of ornithine carbamoyltransferase in senescing apple leaf tissue. Plant Physiol. *54:* 382–385.

Dr. U. Feller und Prof. K.H. Erismann
Pflanzenphysiologisches Institut
Altenbergrain 21
CH-3013 Bern