

# UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ENTGIFTUNGSPROZESSE DES AMMONIAKS BEI REISPFLANZEN

(Das physiologische Studium der Reispflanze III.)

Von

F. ZSOLDOS

Pflanzenphysiologisches Institut der Universität, Szeged  
(Eingegangen am 20. Mai, 1958)

## Einleitung

Das Problem der Ammoniakentgiftungsprozesse hat die Forscher seit langem beschäftigt. Schon BOUSINGOULT (3) fiel es auf, dass in keimenden Samen beträchtliche Mengen Asparagins angereichert sind. Nach seinen Angaben ist das Asparagin in Pflanzen analog dem amid, nämlich dem Carbamid, im Organismus der Säugetiere, d. h. eine Bindungsform des Ammoniums, die für den lebenden Organismus giftig ist. Bis in die letzte Zeit hat man den Säureamiden, sowohl dem Asparagin als auch dem Glutamin, in der Entgiftung des Ammoniaks eine ausschliessliche Rolle zugesprochen (1, 9, 3), einzig MOTHES und Mitarbeiter (6, 10, 14) erwähnen die Möglichkeit, dass eventuell auch andere Aminosäuren oder stickstoffhaltige Verbindungen an diesem Mechanismus beteiligt sein können. MOTHES (7) erachtet sowohl funktionell als auch biosynthetisch einerseits auch das Citrullin und andererseits das Allantoin oder die Allantoinensäure, die in Pflanzen verhältnismässig reichlich vorhanden sind, dem bei Säugetieren anzutreffenden entgiftenden Carbamid als gleichwertig.

Besonders interessant erschien die Untersuchung der Frage im Falle typisch ammophiler Pflanzen, z. B. des Reises, und zwar vor allem deshalb, weil dieser Pflanze infolge ihrer speziellen Lebensbedingungen (Bodenüberschwemmung) während eines grossen Teiles der Vegetationszeit lediglich reduzierte Stickstoffformen (Ammoniak) zur Verfügung stehen (8) und sie andererseits sehr hohe Stickstoffmengen ohne jegliche schädliche Folgen toleriert (11, 12). Die Frage der Ammoniakentgiftung beim Reis hat als erster MALAVOLTA (5) untersucht. Er machte auf die äusserst interessante Tatsache aufmerksam, dass bei den Reiskeimpflanzen der Entgiftungsprozess durch Amidbildung fehlt. Nach seiner Meinung wird diese Rolle teilweise von der Reoxydation des Ammoniaks zu Nitrat übernommen. In Anbetracht dessen, dass der ganze Entgiftungsprozess nicht allein mit einer Oxydation des Ammoniaks zu Nitrat zu erklären ist, haben sich weitere eingehende Untersuchungen der

Frage als nötig erwiesen. Ausgehend von der Vermutung, dass die ersten Produkte der Ammoniakentgiftung wahrscheinlich den alkohollöslichen Stickstoffformen zugehören, haben wir unsere Untersuchungen in erster Linie mit Bezug auf diese Frage angestellt.

### Material und Methoden

Die Versuche wurden an 14 Tage alten, in Sandkulturen gezogenen Reis-pflanzen vorgenommen, die nach dem Auskeimen bis zu 0,5 cm Höhe unter Wasser gesetzt wurden. Die Nährstoffe waren (nach Mitscherlich) vor dem Aussäen dem Sande untermengt worden. Als N-Quelle wurde lediglich Ammoniak-N — in den Versuchszwecken entsprechenden Mengen — benutzt; so haben sich die Pflanzen während der Vorkultur bei Anwesenheit von verschiedenen  $\text{NH}_3$ -N-Mengen entwickelt. Die  $\text{NH}_3$ -N-Werte sind in mg pro Pflanze angegeben. Die freien Aminosäuren wurden mit Aethanol aus den Objekten extrahiert und die 20 ctg Frischgewicht entsprechenden Extrakte auf Sch. & Sch. 2043 B-Papier gegeben. Die viergliedrigen Rundfilterchromatogramme wurden mit einem Solvens aus Phenol: Wasser: Butanol: Eisessig (16:16:128:40) laufen gelassen. Als Entwickler diente eine 0,2% ige Ninhydrin-Acetonlösung. Entwicklungsdauer: 20 Minuten bei 80 °C. Die einzelnen Flecken wurden auf Grund der  $R_f$ -Werte und durch Vergleich mit Standard-Aminosäurelösungen identifiziert. Die quantitative Auswertung geschah mit der modifizierten photometrischen Methode von Fischer (4). Die Untersuchungen wurden in drei Parallelserien an je 100—150 gleichmässig entwickelten Reispflanzen wiederholt. Der Versuchsfehler betrug — auf Grund von Serienbestimmungen — nicht mehr als  $\pm 2,5\%$ .

### Versuchsergebnisse

Der in verschiedenen Mengen zugegebene Ammoniak-N übt — wie aus *Tabelle 1* hervorgeht — einen bedeutenden Einfluss auf die Zunahme des Frisch- und Trockengewichtes aus (*Tabelle 1*). Die ungünstige Wirkung

*Tabelle 1.* Die Wirkung äusserlich verabreichter, verschieden grosser  $\text{NH}_3$ -N-Mengen auf die Vermehrung des Frisch- und Trockengewichtes von Reispflanzen

Nr.	$\text{NH}_3$ -N mg/ Pflanze	Frischgewicht g/100 Pflanzen		Trockengewicht g/50 Pflanzen		Gesamt- gewicht
		Wurzeln	Triebe	Wurzeln	Triebe	
1	0 (kontrolle)	3,35	7,20	0,1537	0,1373	0,2910
2	0,80	3,20	7,40	0,1895	0,1954	0,3849
3	2,40	3,10	7,50	0,1798	0,2267	0,4065
4	7,20	2,70	7,45	0,1560	0,2151	0,3801
5	21,80	2,00	7,25	0,1070	0,1870	0,2940

steigender Ammoniak-N-Dosen macht sich in erster Linie an den Wurzeln bemerkbar, während sie an der Trieben weniger zum Ausdruck kommt. Auch die Ergebnisse der Wachstumsmessungen zeigen deutlich die an den Wurzeln zustandegekommene Wachstumsreduktion (*Abb. 1* und *2*).

In Abhängigkeit von der Höhe der Ammoniakgaben sind auch die quantitativen Veränderungen der einzelnen freien Aminosäuren sehr verschieden (*Tabelle 2*). Die Menge der verschiedenen Aminosäuren erfährt im grossen

und ganzen entlang der Sättigungskurve eine Aenderung; eine Ausnahme bilden vor allem das Alanin und die mit X bezeichnete Substanz, wahrscheinlich ein Peptid. Die Werte des letzteren sind — in Ermangelung einer Standardkurve — nicht mitgeteilt.

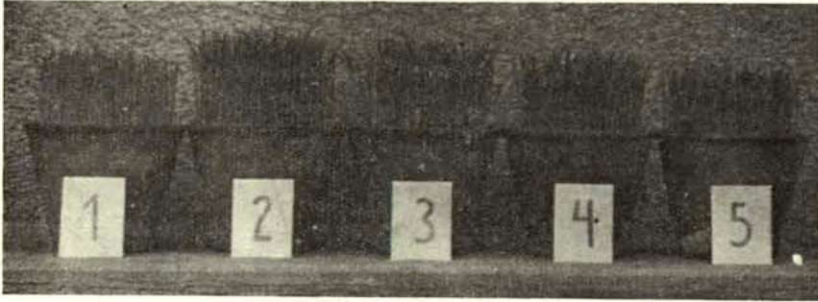


Abb. 1. Die Wirkung verschiedener NH<sub>3</sub>-N-Mengen auf das Wachstum von Reispflanzen

1 = Kontrolle. 2 = 0,80 mg NH<sub>3</sub>-N pro Pflanze. 3 = 2,40 mg NH<sub>3</sub>-N pro Pflanze. 4 = 7,20 mg NH<sub>3</sub>-N pro Pflanze. 5 = 21,80 mg NH<sub>3</sub>-N pro Pflanze.

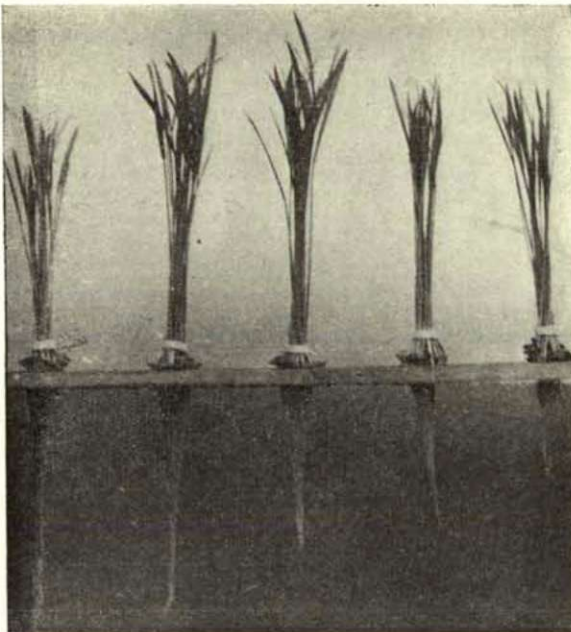


Abb. 2. Die Wirkung verschiedener NH<sub>3</sub>-N-Mengen auf das Wachstum von Reispflanzen

### Auswertung der Ergebnisse

Die auf die Wirkung von äusserlich verabreichten hohen Ammoniakmengen in Erscheinung tretende Veränderungen des Alanins haben unsere Aufmerksamkeit auf einen bisher kaum bekannten Weg der Ammoniakentgiftung gerichtet. Nach den angeführten experimentellen Angaben wird es wahrscheinlich, dass beim Reis — ausser der üblichen Entgiftung in Amidform — auch das Alanin in diesem Prozesse spielt. Es können bemerkenswerte Vergleiche zwischen der Trockengewichtsvermehrung der einzelnen Organe (Tabelle 1) einerseits und der quantitativen Veränderung der Aminosäuren andererseits (Tabelle 2) angestellt werden. Wie ersichtlich, rufen äusserlich zur Anwendung gebrachte, hohe Ammoniakdosen beträchtliche Wachstumsstörungen hervor (Abb. 1 und 2). Diese Erscheinung macht sich vor allem an

Tabelle 2. Veränderung des Gehaltes an freien Aminosäuren in Reisswurzeln auf die Wirkung verschieden hoher  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gaben

Nr.	$\text{NH}_3\text{-N}$ mg/ Pflanze	Alanin	Aspara- gin	Glut- -amin- -säure	Histidin	Leucin	Thyrosin	Valin
1	0 (kontrolle)	95	190	160	170	70	105	60
2	0,80	190	190	190	175	81	125	65
3	2,40	306	215	200	225	80	165	70
4	7,20	510	228	290	240	100	170	85
5	21,80	502	220	150	240	120	180	86

den Wurzeln bemerkbar und kommt besonders dann stark zum Ausdruck, wenn die Synthese der Aminosäuren, in erster Linie die des Alanins — wahrscheinlich wegen der Anreicherung des  $\text{NH}_3$  in den Wurzeln — gehemmt ist. Bei dem sehr hohen äusseren Ammoniakniveau (21,8 mg  $\text{NH}_3\text{-N}$  pro Pflanze) ist ein weiterer Anstieg der erwähnten Aminosäuren nicht festzustellen, woraus wir schliessen, dass hier der Entgiftungsmechanismus schon nicht mehr aktiv ist und die Pflanze bereits unter ernststen Stoffwechselstörungen leidet, die wahrscheinlich als Ergebnis der  $\text{NH}_3$ -Anreicherung in Erscheinung treten.

Mit Recht ist — gestützt auf unsere früheren, hier nicht erörterten Untersuchungen — anzunehmen, dass den Zusammenhang zwischen der quantitativen Alaninveränderung und dem in der Pflanze vorzufindenden  $\text{NH}_3$  ein reziproker ist. Unsere experimentellen Daten lassen also vermuten, dass in der Wurzel der Reispflanze in der sogenannten Ammoniakentgiftung ausser dem allgemein akzeptierten, mit der Amidbildung gekoppelten Mechanismus, auch das Alanin beteiligt ist.

Das Alanin ist ein vorzügliches Atmungssubstrat, wie auch die Untersuchungen von TANG und Mitarbeiter (13) erwiesen haben, und die Pflanzen vermögen es schnell zu verwerten, während sie ihren N-Gehalt — vermutlich mit Hilfe der Transamination zu übergeben vermögen. Der Detoxikationsmechanismus ist aber — über ein bestimmtes Ammoniak-N-Niveau hinaus — nicht weiter zur Entgiftung fähig. Infolgedessen kann es zur Anhäufung schädlicher  $\text{NH}_3$ -Mengen kommen, die — allgemeine Stoffwechselstörung und Wachstumsreduktion hervorrufend — besonders in den späteren Wachs-

tumsstadien — mittelbare Auslösungsursache verschiedener Krankheiten sein können.

Diese ammoniakentgiftende Rolle des Alanins ist vorwiegend in den Wurzeln nachweisbar, während in den Trieben die Amidbildung dominiert (15).

Auch aus dem Gesagten erhellt, dass bei verschiedenen agrotechnischen Verfahren, so z. B. bei der Ausarbeitung eines künstlichen Düngesystems, physiologische Gesichtspunkte weitgehend berücksichtigt werden müssen. Ob die beobachteten Erscheinungen für die amrophilen Pflanzen im allgemeinen charakteristisch, oder aber als Artspezifitäten zu betrachten sind, ist noch nicht entschieden und allgemeine Schlussfolgerungen werden erst weitere Untersuchungen zulassen.

### Schrifttum

- (1) Bonner J.: (1950) Plant Biochemistry. Ac. Press Inc. Publ. New York.
- (2) Bousingoult M.: De la végétation dans l'obscurité. Compt. rend. Paris 58, 881—917 (1864).
- (3) Chibnall, A. C.: (1939). Protein Metabolism in the Plant. Yale Univ. Press.
- (4) Dévay, M.: (1958). A rizóbiumos fertőzhetőségek kialakulása és a nem pillangósokra történő áttelepítésük lehetőségének kérdése. Disszertáció. Budapest.
- (5) Malavolta, E.: Studies on the nitrogenous nutrition of rice. Plant Physiol. 29, 98—99 (1954).
- (6) Mothes, K.: Zur Biosynthese der Säureamide Asparagin und Glutamin. Planta, 30, 726—756 (1940).
- (7) Mothes, K.: Dargestellt am Problem der Ammoniakentgiftung. Forschungen und Fortschritte. 31, 70—76 (1957).
- (8) Patrick, W. H., Sturgis, M. B.: Concentration and movement of oxygen as related to absorption of ammonium and nitrate nitrogen by rice. Soil Sci. Am. Proc. 19, 59—62 (1954).
- (9) Prjanyisnyikov, D.: (1952). Der Stickstoff im Leben der Pflanzen. Berlin.
- (10) Reuter, G., Wolfgang, H.: Vergleichende Untersuchungen über den Charakter der Stickstoff-Verbindungen von Baumblutungssäften bei Betulaceen und andere Holzarten. Flora 142, 146—155 (1954).
- (11) Saeki, H., Izawa, G.: Studies on the ammoniumloving character of rice plants. I. Oxidation-reduction potentials. J. Sci. Soil Tokyo. 22, 246—268 (1952).
- (12) Shibuya, K., Saeki H., Katagi, D.: Utilization of nitrate and ammonia nitrogen by plants. II. Dry land rice (*Oryza sativa* Linn.). J. Soc. Trop. Agric. Taiwan 7, 277—288 (1935).
- (13) Tang, P. S., Tai, Y. L., Lee, C. K.: Studies on plant respiration. Sci. Sinica 5, 509—533 (1956).
- (14) Wolfgang, H., Mothes, K.: Papierchromatographische Untersuchungen an Pflanzlichen Blutungssäften. Naturw. 40, 605 (1953).
- (15) Zsoldos, F.: Stickstoffumsatz der amrophilen Pflanzen. Naturw. 44, 566—567 (1957).