

Der Einfluß von L-Äthionin auf Blutungsrate und Ionentransport im Blutungssaft

The Influence of L-Ethionine on Bleeding Rate and Ion Transport within the Bleeding Sap

H. Lorenz

Institut für Pflanzenernährung der Technischen Universität Hannover

(Z. Naturforsch. **28 c**, 292–295 [1973]; eingegangen am 25. Januar/6. März 1973)

Ethionine, bleeding rate, ion transport

The bleeding rate as well as transport of K^+ , NO_3^- and PO_4^{3-} within the bleeding sap of corn plants (*Zea mays*) has been studied in intervals after raising the nitrate concentration of the nutrient solution from 5 to 10 meq/l.

Acceleration of the exudation process in response to increased nitrate supply is accomplished after a lag phase. During this lag phase L-ethionine causes a marked stimulation of bleeding sap exudation.

A very close correlation (coefficient of correlation $r=0,996$) was found between bleeding rate and phosphate transport within the bleeding sap, whereas transport of K^+ ($r=0,868$) and NO_3^- ($r=0,773$) is not that closely correlated. Because phosphate is translocated to the Xylem after it has been metabolized in a series of organic phosphorous compounds it is concluded that the exudation process is primarily linked to oxidative phosphorylation in the root, which is apparently stimulated by ethionine after a lag period. Acceleration of respiratory chain phosphorylation may be brought about by increasing the amount of phosphate acceptors.

Die Blutungsrate abgeschnittener Pflanzen oder Pflanzenteile (in der Regel Wurzeln) wird durch den aus der Ionenaufnahme resultierenden elektrochemischen Gradienten zwischen Xylemsaft und Medium bestimmt^{1–8}.

Demzufolge ist die Blutungsrate als Indikator für die Ionenaufnahme anzusehen. Durch Zugabe von Stoffen, die auf bestimmte metabolische Prozesse wirken, kann deren Einfluß auf die Ionenaufnahme untersucht werden. Die Veränderung der Blutungsrate verschiedener Varietäten oder Pflanzenarten unter der Einwirkung entsprechender Inhibitoren oder Wirkstoffe könnte darüber hinaus Anhaltspunkte für die Ausprägung der betroffenen Stoffwechselforgänge in den untersuchten Pflanzen liefern.

Atkinson und Polya^{9,10} verwendeten L-Äthionin (strukturell analog Methionin) als „ATP-Falle“ und konnten zeigen, daß der ATP-Spiegel weniger Einfluß auf die Ionenaufnahme von Rübenscheiben hatte als die Blockierung der Atmungskette unter anaeroben Bedingungen. Das ließ den Elektronentransport erneut als Motor der Ionenaufnahme erscheinen, wie Lundegård¹¹ bereits angenommen hatte.

Der Einsatz von L-Äthionin zur Senkung des ATP-Spiegels in den Wurzeln kann Information über mögliche Beziehungen zwischen ATP-Haushalt und der durch Ionentransport in das Xylem bedingten Blutungsrate erschließen. Entkoppler der oxidativen Phosphorylierung reduzieren die Blutungsrate⁷, wobei unklar bleibt, ob eine vergleichsweise niedrige ATP-Konzentration die Ursache ist.

Material und Methode

Um den Effekt des L-Äthionins auf die Blutungsrate zu prüfen, wurden Maispflanzen (3-Blattstadium, Hybride 0118b × 156, erhalten von Prof. S. Rajki, Martonvasari, Ungarn) in 2l-Gefäßen mit Blähton als Substrat (0–3 mm ϕ , Hansa Bau-Union Bückeburg), die $1/10$ des Gesamtvolumens Nährlösung enthielten (5 mval Nitrat/l, einmal wöchentlich gewechselt) im Klimaraum angezogen (10 000 Lux 18-Stdn.-Tag, 24 °C) bis sie 6 Blätter entwickelt hatten. Die Hälfte der Gefäße erhielt sodann eine Nährlösung mit doppelter Nitratkonzentration, die andere Hälfte weiterhin 5 mval NO_3/l . Die beiden Versuchs-Gruppen wurden in Versuchsglieder (je Versuchsglied 3 Pflanzen) mit und ohne Äthionin eingeteilt. Eine Stunde bzw. 5 Stdn. nach der Umstellung und Applikation von Äthionin wurden die Pflanzen unterhalb des bereits sichtbaren ersten Halmknotens dekapitiert und – nachdem der

Sonderdruckanforderungen an Dr. H. Lorenz, Institut für Pflanzenernährung der T.U. Hannover, D-3000 Hannover-Herrenhausen, Herrenhäuser-Str. 2.

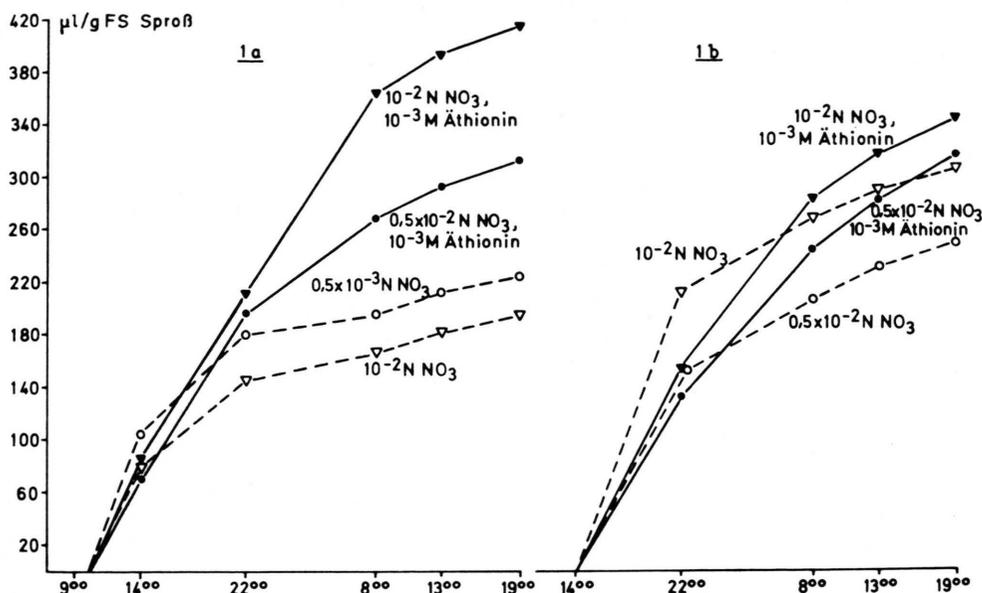


Abb. 1. Der Einfluß von L-Äthionin und unterschiedlicher Nitratkonzentration auf die Blutungsaftproduktion abgeschnittener Maispflanzen bei einer Einwirkungsdauer von 1 Stde. (1 a) und 5 Stdn. (1 b).

erste austretende Tropfen mit einem Wattebausch entfernt worden war – der Blutungssaft über eine Kunststoffkapillare, die mit Hilfe eines Silikon-schlauchs an dem Pflanzenstumpf angebracht war, in graduierte Plastikgefäße geleitet, die mit einem Tropfen Trichloressigsäure (20-proz.) und einem Tropfen Toluol/Xylol (1 : 1) vergiftet worden waren.

Ergebnisse

Wie aus Abb. 1 a und 1 b zu ersehen ist, führt L-Äthionin (10^{-3} M) insbesondere bei einer Einwir-

kungsdauer auf die intakte Pflanze von einer Stunde zu einer deutlichen Steigerung der Blutungsrate nach der ersten Probenahme. Die Erhöhung der Nitratkonzentration von 5 (unteroptimal) auf 10 mval/l (Optimalbereich, Ionenkonzentration konstant, Cl^- durch NO_3^- ersetzt) sollte zu einer Stimulierung des gesamten Stoffwechsels führen, um so die Äthinoninwirkung transparenter zu machen. Eine Stunde nach der Umstellung der Nährlösung ist die Blutungsrate der auf 10 mval Nitrat/l wachsenden Pflanzen niedriger als die der mit 5 mval/l versorgten Pflanzen. Offensichtlich kommt die Steigerung

Tab. I. Konzentration von K^+ , NO_3^- und PO_4^{---} , Blutungsrate ($\mu\text{l/g}$ Frischgewicht Sproß) und Transportrate (Blutungsrate \times Konzentration). Einwirkungsdauer von Äthionin und 10^{-2} N NO_3^- vor dem Decapitieren der Pflanzen eine Stunde.

	[nMol/ml]			14–22 Uhr [$\mu\text{l/gFG}$]			[nMol/gFG]			22–8 Uhr [$\mu\text{l/gFG}$]			[nMol/gFG]		
	K^+	NO_3^-	PO_4^{---}	K^+	NO_3^-	PO_4^{---}	K^+	NO_3^-	PO_4^{---}	K^+	NO_3^-	PO_4^{---}	K^+	NO_3^-	PO_4^{---}
$0,5 \cdot 10^{-2}$ N NO_3^-	15380	10900	1440	76	1170	830	110	15860	5700	990	14	220	80	14	
10^{-2} N NO_3^-	19220	13780	1335	66	1270	910	89	6510	2000	550	20	130	40	11	
$0,5 \cdot 10^{-2}$ N NO_3^-	14600	10800	1635	126	1840	1360	206	6660	4020	1440	72	480	290	104	
10^{-2} N NO_3^-	15300	9430	1500	124	1900	1170	186	9410	4770	1420	153	1440	730	228	

K^+ wurde flammenphotometrisch, Nitrat colorimetrisch (Phenoldisulfonsäuremethode in Anlehnung an Frear¹²), Phosphat colorimetrisch (Molybdänblaumethode modifiziert nach Scheffer *et al.*¹³) bestimmt. Da Blutungsrate und Transportrate von Kalium, Nitrat und Phosphat auf 1 g Frischgewicht (FG) Sproß bezogen wurden (Gewicht der Sprosse 20–25 g) sind Konzentrationen und Transportraten in nMol angegeben.

der Blutungsrate im Gefolge der Nährlösungsumstellung erst nach einer lag-Phase zustande. Während dieser lag-Phase beschleunigt die Zugabe von L-Äthionin besonders auffallend (Abb. 1 a 14.00 – 22.00, 22.00 – 8.00 Uhr). Die in diesem Versuchsabschnitt gemessenen Gehalte der mengenmäßig bedeutsamsten Ionen (K^+ , NO_3^-) und von Phosphat im Blutungssaft, die Blutungsrate ($\mu\text{l/g}$ Frischgewicht Sproß) und die Transportrate (Konzentration \times Blutungsrate) sind in Tab. I zusammengefaßt.

In Abb. 2 ist die Blutungsrate als Funktion der Transportrate von K^+ , NO_3^- und PO_4^{---} dargestellt. Wie daraus zu entnehmen ist, besteht zwischen der Blutungsrate und der Transportrate von PO_4^{---}

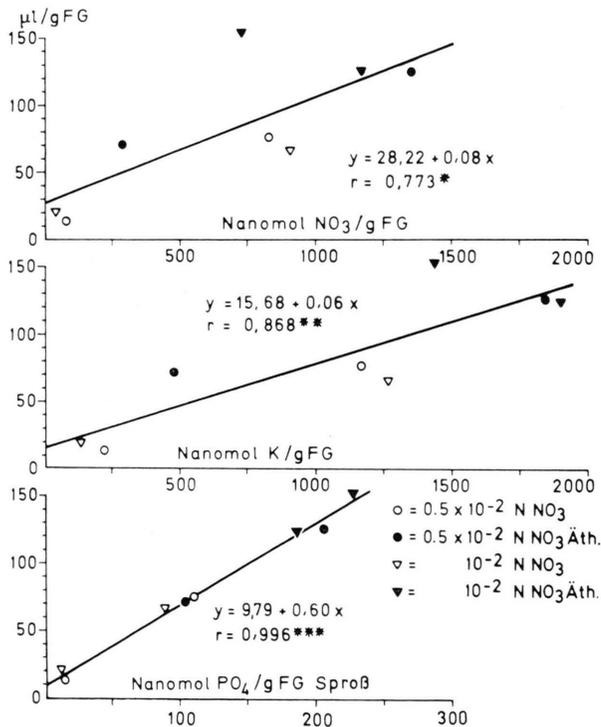


Abb. 2. Die Blutungsrate als Funktion der Transportrate von Phosphat, Nitrat und Kalium.

eine sehr enge Korrelation (Korrelationskoeffizient $r = 0,996$). Dagegen ist die Abhängigkeit des Blutungsvorganges vom Kalium- und Nitrattransport in das Xylem weniger ausgeprägt (Korrelationskoeffizient 0,868 bzw. 0,773). Man muß daher annehmen, daß der Phosphatstoffwechsel einen bestimmten Einfluß auf die Blutungsrate ausübt. Aufgenommenes Phosphat wird nach Untersuchungen von Loughman¹⁴ in einer Sequenz organischer Verbindungen metabolisiert, bevor es in das Xylem ge-

langt. Verstärkte Bildung organischer Phosphatbindungen setzt eine Intensivierung der oxidativen Phosphorylierung voraus, was offenbar durch Äthionin bewirkt wurde.

Diskussion

Die stoffwechselphysiologische Wirkung des Äthionins als Antimetabolit des Methionins beruht überwiegend auf der Bildung von S-Adenosyläthionin unter Verbrauch von ATP durch S-Adenosyl-L-Methionintransferase (EC 2.4.2.13). Verzögerte Transalkylierung durch die gleichen Transferasen, die Transmethylierungen mit S-Adosylmethionin als Donator katalysieren, führt zum Absinken des ATP-Spiegels¹⁵, s. dort weitere Literatur). Dadurch werden Prozesse, in denen ATP umgesetzt wird, wie die Protein- und RNS-Synthese¹⁶ und die Synthese von Nicotinadeninucleotidphosphat¹⁷ inhibiert.

In Speichergewebe von *Brassica rapa* (Stoppelrübe) wird angebotenes Methionin mit ATP in S-Adosylmethionin überführt und in die Vakuole verlagert¹⁸. Dadurch wird die Atmung (Mangel an Adenosin) und die Aufnahme von Ionen gehemmt¹⁹. Durch Zugabe von Adenosin kann die Methioninwirkung aufgehoben werden.

Wurde Maispflanzen L-Methionin anstelle von L-Äthionin verabreicht, so war die Blutungsrate nicht von der der Kontrollpflanzen verschieden. Offensichtlich wird Methionin in Maiswurzeln nicht in der gleichen Weise festgelegt wie in *Brassica rapa*-Speichergewebe.

Die anfänglich geringfügige Drosselung (Probenahme 14.00 Uhr Abb. 1 a, Probenahme 22.00 Uhr Abb. 1 b) und spätere Beschleunigung der Blutungsrate durch Äthionin, die mit einem verstärkten Phosphatumsatz gekoppelt ist, macht es sehr wahrscheinlich, daß Äthionin ATP bindet. Das zunächst in S-Adenosyläthionin festgelegte Adenosin wird anscheinend nach einer lag-Phase erneut in den Phosphatstoffwechsel einbezogen. Mangel an Phosphatacceptoren in der Atmungskette wird so aufgehoben und bei ständigem ATP-Verbrauch wird eine relativ hohe Konzentration von Phosphatacceptoren aufrechterhalten, wodurch der Elektronentransport in der Atmungskette beschleunigt wird.

Da bei relativ hoher Äthioninkonzentration in der Nährlösung ständig ATP gespalten wurde, muß angenommen werden, daß die unter seinem Einfluß

verstärkte Ionenaufnahme nicht durch Hydrolyse von ATP bewirkt wurde. Vielmehr kommt die Beschleunigung der an die Phosphorylierung gekoppelten Atmungskette als Ursache für die Intensivierung der Ionenaufnahme in Betracht.

Ein stöchiometrischer Zusammenhang des an die Phosphorylierung gekoppelten Elektronentransports und des Transports von Wasserstoffionen, wie ihn die chemiosmotische Hypothese nach Mitchell²⁰ po-

stuliert, wurde durch eine Reihe von Untersuchungen angedeutet (^{21, 22}, siehe dort weitere Literatur). Zum Ladungsausgleich müssen andere Ionen (z. B. K⁺) durch die Membran verlagert werden.

Bisher wurde noch nicht geprüft, ob der Äthionineffekt durch Methionin aufgehoben werden kann, wie das bei tierischen Objekten^{15, 17} und an *Avena-Koleoptilen* (Streckungswachstum, geotropische Krümmung²³) beobachtet wurde.

- ¹ R. van Nie, R. J. Helder u. W. H. Arisz, Proc. Kon. nederl. Akad. Wetensch. **53**, 567 [1950].
- ² W. H. Arisz, R. J. Helder u. R. van Nie, J. exp. Bot. **3**, 257 [1951].
- ³ O. M. van Andel, Acta bot. neerl. **2**, 445 [1953].
- ⁴ W. P. Anderson, D. P. Aikman u. A. Meiri, Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B **174**, 445 [1970].
- ⁵ W. P. Anderson u. J. C. Collins, J. exp. Bot. **20**, 80 [1969].
- ⁶ R. F. Davies u. N. Higinbotham, Plant Physiol. **44**, 1383 [1969].
- ⁷ K. Mengel u. R. Pflüger, Physiol. Plantarum [Copenhagen] **22**, 840 [1969].
- ⁸ M. H. van Raalte u. R. J. Helder, Endeavour **28**, 35 [1969].
- ⁹ M. R. Atkinson u. G. M. Polya, Austral. J. biol. Sci. **21**, 409 [1968].
- ¹⁰ G. M. Polya u. M. R. Atkinson, Austral. J. biol. Sci. **22**, 573 [1969].
- ¹¹ H. Lundeghard, Annu. Rev. Plant Physiol. **6**, 1 [1955].
- ¹² D. E. Frear, Plant Physiol. **5**, 351 [1930].
- ¹³ F. Scheffer, B. Ulrich u. J. H. Benzler, Landwirtschaft. Forsch. **13**, 191 [1960].
- ¹⁴ B. C. Loughman, New Phytologist **65**, 388 [1966].
- ¹⁵ J. A. Stekol, Advances Enzymol. **25**, 369 [1963].
- ¹⁶ S. Villa-Treviso, K. H. Shull u. E. Farber, J. biol. Chemistry **238**, 1757 [1963].
- ¹⁷ J. A. Stekol, E. Bedrak, U. Mody u. Ch. Sommerville, J. biol. Chemistry **238**, 469 [1963].
- ¹⁸ D. D. Davies, J. exp. Bot. **17**, 320 [1966].
- ¹⁹ D. D. Davies, J. exp. Bot. **15**, 538 [1964].
- ²⁰ P. Mitchell, Nature [London] **191**, 144 [1961].
- ²¹ M. Schwartz, Annu. Rev. Plant Physiol. **22**, 469 [1971].
- ²² L. Packer, S. Murakami u. C. W. Mehard, Annu. Rev. Plant Physiol. **21**, 271 [1971].
- ²³ A. R. Schrank, Arch. Biochem. Biophysics **61**, 348 [1956].