

# Evolution der Gärungskapazität in den flut- und anoxiatoleranten Rhizomen von *Phalaris arundinacea*, *Phragmites communis*, *Schoenoplectus lacustris* und *Typha latifolia*

Autor(en): **Brändle, Roland**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Botanica Helvetica**

Band (Jahr): **93 (1983)**

Heft 1

PDF erstellt am: **24.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-65232>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# Evolution der Gärungskapazität in den flut- und anoxiatoleranten Rhizomen von *Phalaris arundinacea*, *Phragmites communis*, *Schoenoplectus lacustris* und *Typha latifolia*<sup>\*)</sup>

von Roland Brändle

Pflanzenphysiologisches Institut der Universität Bern

Manuskript eingegangen am 4. Januar 1983

## Abstract

Evolution of fermentation capacity in flooding and anoxia tolerant rhizomes of *Phalaris arundinacea*, *Phragmites communis*, *Schoenoplectus lacustris* and *Typha latifolia*.

Rhizomes of some flooding and anoxia tolerant helophytes (*Phalaris arundinacea*, *Phragmites communis*, *Schoenoplectus lacustris* and *Typha latifolia*) show an increased fermentation capacity following a 4 d treatment with N<sub>2</sub> compared to the aerated controls. This increase is much smaller in comparison to dry land plants susceptible to an O<sub>2</sub> deficit stress. The significance of this finding is discussed with respect to the current metabolic theory of flooding tolerance.

## Einleitung

In Abwesenheit von molekularem O<sub>2</sub> müssen Pflanzenorgane ihren Energiebedarf über Gärungsprozesse decken. In der überwiegenden Mehrzahl der untersuchten Organe ist die alkoholische Gärung der Hauptenergielieferant. Die Gewebe der meisten Pflanzen sind nur kurzfristig in der Lage, in absolut O<sub>2</sub>-freiem Milieu zu existieren. Als Ursache des Absterbens wird ein Aushungern infolge übermäßigen Reservestoffverbrauchs und/oder eine Vergiftung der Zellen durch die Produktion von toxischen Stoffwechselendprodukten angenommen (vgl. Hook and Crawford 1978). Selbst bei den überflutungstoleranten Sumpf- und Röhrichtpflanzen gibt es Beispiele, die schon nach einer Woche Anoxia abgetötet werden (Barclay and Crawford 1982). Diese sind offensichtlich am natürlichen Standort auf einen ausreichenden O<sub>2</sub>-Transport vom Sproß her angewiesen (Armstrong 1979). Andererseits gibt es Arten, die auch unter Anoxia nicht nur

<sup>\*)</sup>Zum sechzigsten Geburtstag von Herrn Prof. Dr. K.H. Erismann, Direktor des Pflanzenphysiologischen Instituts der Universität Bern.

überleben, sondern sogar neue Sprosse ausbilden (Barclay and Crawford 1982), d.h. über Gärungsprozesse ausreichend Energie für Homöostase und Wachstum bereitstellen. Diese Beobachtung steht in einem gewissen Widerspruch zur Ansicht einer stoffwechselphysiologischen Anpassung an die Überflutungstoleranz (Mc Manmon and Crawford 1971). Hier werden überflutungstolerante von nichttoleranten Arten unterschieden durch den Nachweis, daß bei den toleranten unter Anoxia die Alkoholbildung durch Herabsetzung der Alkoholdehydrogenaseaktivität praktisch unterbunden werden kann. Anstelle des toxischen Alkohols soll als Glykolyseendprodukt wiederverwertbare, ungiftige Äpfelsäure treten. Letzteres wurde kürzlich eindeutig widerlegt (Keeley 1978, Smith and ap Rees 1979). Es bleibt somit zu überprüfen, wie sich die Gärungskapazitäten, gemessen als Alkoholdehydrogenase- (ADH-)aktivität und Laktatdehydrogenase- (LDH-)aktivität unter Anoxia entwickeln. Als Versuchsorganismen wurden speziell Gattungen gewählt, die nach Barclay und Crawford (1982) entweder Anoxia überleben oder überleben und Sproßwachstum aufweisen.

## Material und Methoden

Für die 4-tägige Begasung mit Luft oder N<sub>2</sub> wurden gereinigte, wurzellose Rhizomstücke von klonisierten Pflanzen folgender Arten gewählt: *Phalaris arundinacea*, *Phragmites communis*, *Schoenoplectus lacustris* und *Typha latifolia*. Die Begasung erfolgte in Feuchtkammern bei 22-25 °C, wobei zur Verbesserung der Gaswegigkeit bei Versuchsbeginn die Rhizomstücke frisch angeschnitten wurden. Nach der Begasung wurden die Rhizomstücke während 1 min in 0,1 %-iger HgCl<sub>2</sub>-Lösung oberflächensterilisiert und mehrfach in H<sub>2</sub>O<sub>dest.</sub> gespült. Vor der Extraktion wurden zusätzlich die äußersten Gewebepartien entfernt. Die Extraktion wurde wie früher beschrieben durchgeführt (Monk and Brändle 1982), mit der Ausnahme, daß bei *T. latifolia* 4% lösliches Polyvinylpyrrolidon als Phenolfänger verwendet werden mußte. Zudem wurden die Extrakte auf Sephadexsäulen (G 25/300) entsalzt. Die Messungen der ADH- und LDH-Aktivitäten wurden spektrophotometrisch bei 25 °C durchgeführt.

ADH-Ansatz: 900 µl Puffer, pH 8,7 (75 mM Pyrophosphat, 75 mM Semicarbazid, 21 mM Glycin), 100 µl NAD (16 mM), 100 µl Extrakt und 100 µl Aethanol. LDH-Ansatz: 700 µl MES-Puffer, pH 6,5 (50 mM), 100 µl NADH<sub>2</sub> (2,5 mM) in MES, 100 µl Pyruvat (20 mM) in MES und 100 µl Extrakt. Bestimmt wurden die Extinktionszu- resp. abnahmen bei 365 nm. Als Bezugsgröße diente der Proteingehalt der Extrakte (bestimmt mit BIO-RAD, Richmond, Calif. USA). Die ADH-Isoenzyme wurden mittels Isoelektrofokussierung in den pH-Bereichen von 3,5-9,5 und 4-6,5 mittels ampholinhaltigen Polyacrylamidgelen aufgetrennt (LKB, Bromma, Schweden). Die aufgetragenen Proteinmengen richteten sich nach den ADH-Aktivitäten der Rhizomextrakte und betragen 10-20 µg/Probe bei *P. arundinacea*, *P. communis* und *S. lacustris* bzw. 40-60 µg/Probe bei *T. latifolia*. Der wassergekühlte Fokussiervorgang dauerte insgesamt 90 min bei einer auf 30 µA begrenzten Stromstärke (30 min 60V/cm, 60 min 100V/cm). Anschließend wurde die ADH lokalisiert durch Einfärben der Gele mit 0,1 m TRIS-HCl-Puffer, pH 8,5, welcher folgende Komponenten enthielt: 5µl/ml Aethanol, 750 µg/ML NAD, 300 µg/ml Nitro BT und 20 µg/ml PMS (vgl. Colowick and Kaplan 1963, modifiziert).

## Resultate und Diskussion

Die extrahierbaren ADH- und LDH-Aktivitäten aller N<sub>2</sub>-begasten Rhizome sind höher als jene der luftbegasten Kontrollrhizome (Abb. 1). Sie verhalten sich damit

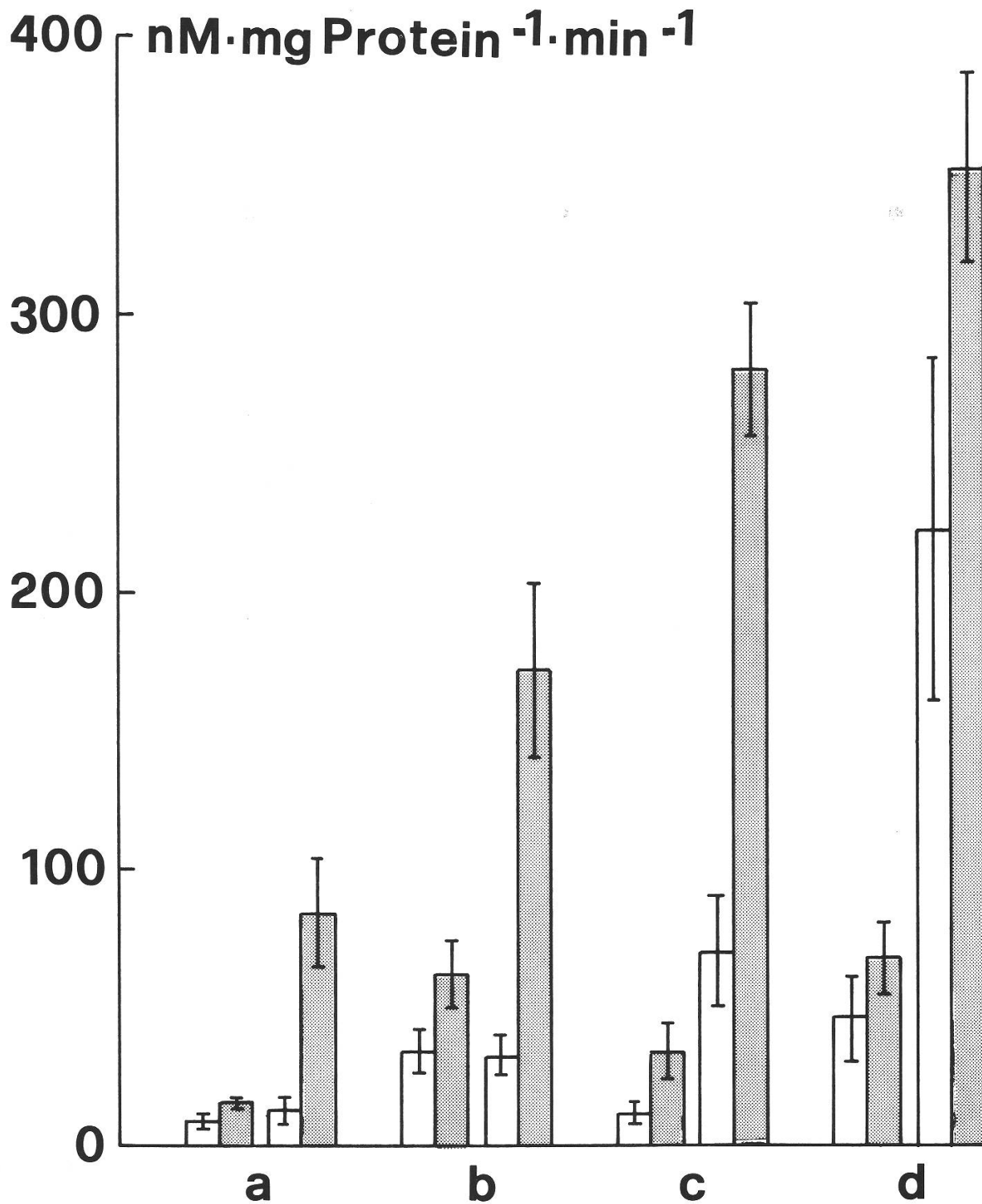
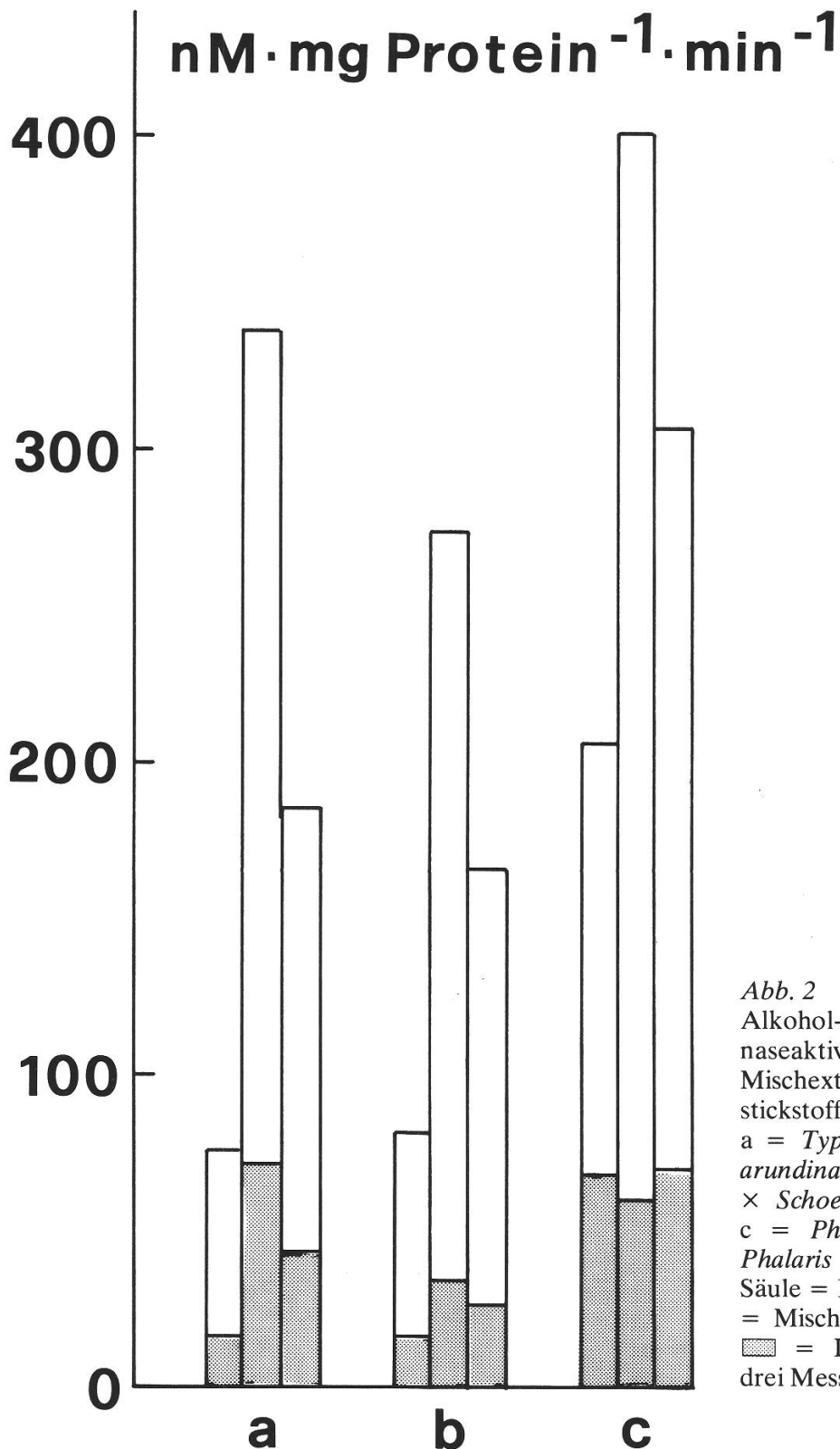


Abb. 1

Alkohol- und Laktatdehydrogenaseaktivität in belüfteten und in stickstoffbegasten Rhizomen von a = *Typha latifolia*, b = *Phragmites communis*, c = *Schoenoplectus lacustris* und d = *Phalaris arundinacea*. LDH = Säulenpaar links, ADH = Säulenpaar rechts. □ = Kontrolle, 4 d belüftet, ■ = 4 d N<sub>2</sub>-begast, n = 6 ± S.D., 25 °C.



*Abb. 2*  
 Alkohol- und Laktatdehydrogenaseaktivität in Einzel- und in Mischextrakten (FG = 1:1) stickstoffbegaster Rhizome von a = *Typha latifolia* × *Phalaris arundinacea*, b = *Typha latifolia* × *Schoenoplectus lacustris* und c = *Phragmites communis* × *Phalaris arundinacea*. 1.+2. Säule = Einzelextrakte, 3. Säule = Mischextrakte. □ = ADH, ▨ = LDH (Mittelwerte aus drei Messungen, 25 °C).

qualitativ in dieser Beziehung wie flutintolerante Pflanzenorgane. Dies steht im Widerspruch zu den Befunden von Mc Manmon und Crawford (1971). Wir vermuten, daß die Abweichungen auf die Extraktion ohne Phenolfänger zurückzuführen sind. Phenolische Verbindungen sind in anaeroben Helophytenrhizomen besonders reichlich vorhanden

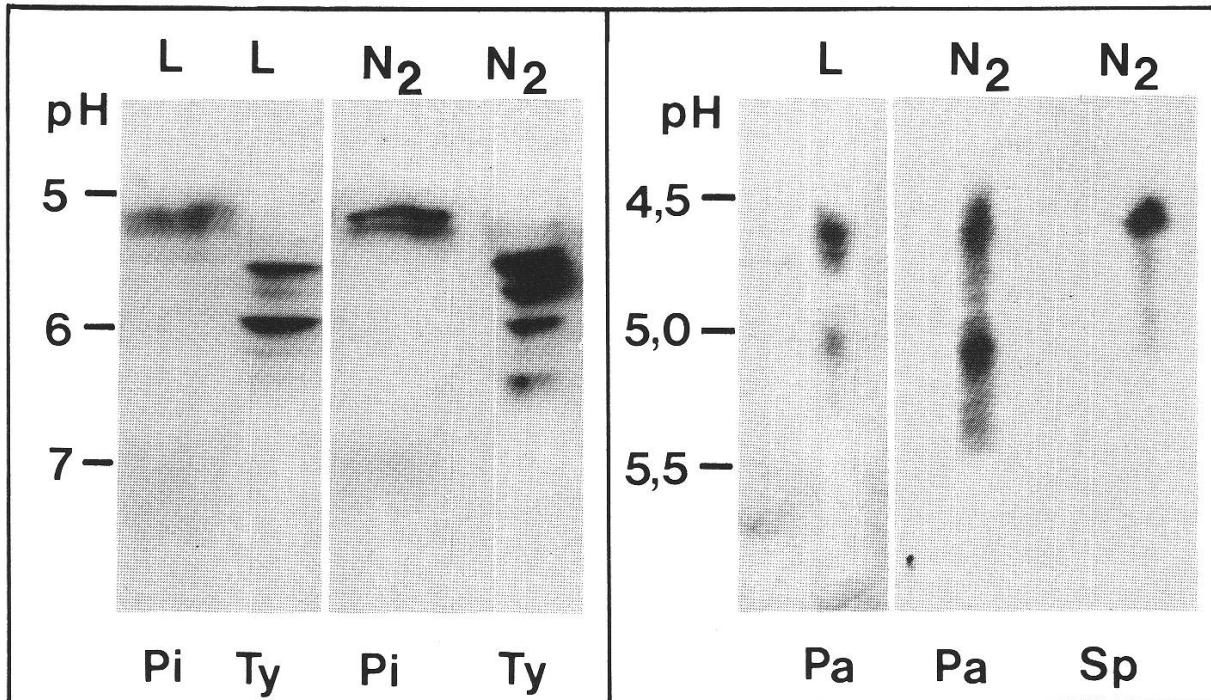


Abb. 3

Isoenzyme der Alkoholdehydrogenase in Rhizomextrakten von Pi = *Phragmites communis*, Ty = *Typha latifolia*, Pa = *Phalaris arundinacea* und Sp = *Schoenoplectus lacustris*. L = 4 d belüftet, N<sub>2</sub> = 4 d stickstoffbegast.

und hemmen u. a. die ADH praktisch vollständig, was verglichen mit aeroben Rhizomen zu einem falschen Bild bezüglich der ADH-Aktivität führt (Resultate nicht aufgeführt).

In quantitativer Hinsicht bestehen hingegen Unterschiede zwischen fluttoleranten und intoleranten Pflanzenorganen. Alle von uns untersuchten flut- und anoxiatoleranten Arten, sowie das sich gleichartig verhaltende *Echinochloa crus-galli* (Rumpho and Kennedy, 1981), zeichnen sich unter Anoxia durch extrem niedrige ADH-Aktivitäten aus; dies im Vergleich mit intoleranten Landpflanzen wie z. B. *Helianthus annuus* und *Pisum sativum* (Rumpho and Kennedy, 1981; Torres and Diedenhofen, 1981). Es ist denkbar, daß die Gruppe der Helophyten allgemein eine Auslese höherer Pflanzen umfaßt, die auch bei Anoxia eine niedrige ADH-Aktivität aufweisen. Sie wären damit im Sinne von Mc Manmon und Crawford (1971), wenn auch evolutionsbedingt, an die Naßstandorte angepaßt.

Auffällig niedrig sind die ADH- und LDH-Aktivitäten bei *T. latifolia* in Abwesenheit von O<sub>2</sub>. Messungen dieser Aktivitäten in Mischextrakten, bei gleichzeitiger Extraktion von Rhizommaterial zweier verschiedener Arten, bestätigen diese Feststellung (Abb. 2). Durch die Verwendung von Mischextrakten kann ausgeschlossen werden, daß ein bei *T. latifolia* allfällig mitextrahierter Hemmstoff eine niedrige Aktivität vortäuscht. Die Aktivitäten der Mischextrakte liegen in der Nähe des arithmetischen Mittels der Einzelnextrakte. Die in Abb. 3 dargestellten Zymogramme der ADH zeigen, daß in keinem der untersuchten Rhizome bei O<sub>2</sub>-Mangel zusätzliche Isoenzyme gebildet werden, wie es z. B. von einigen *Zea mays*-Varietäten bekannt ist (Kohl et al., 1978). Bei *P. arundinacea* und *T. latifolia* wird unter diesen Bedingungen die Aktivität von nur

je einem der Isoenzyme merkbar verstärkt. Bei *Hordeum vulgare*, als Vertreter einer mäßig fluttoleranten Art, wird die Aktivität aller drei vorhandenen gesteigert (Mayne et al., 1982). Offensichtlich ist die Anzahl der ADH-Isoenzyme bezüglich der Überflutungstoleranz unerheblich. Es ist aber anzunehmen, daß alle anoxiatoleranten Gewebe mindestens eine aktive ADH benötigen. Ein Hinweis darauf ist, daß imbibierte Karyopsen aus ADH-freien Mutanten von *Hordeum vulgare* nicht in der Lage sind, auszukeimen (Harbered and Edwards 1982).

Die Unterschiede zwischen fluttoleranten und flutintoleranten Organen bezüglich der Evolution der Gärungskapazität unter Anoxia scheinen somit graduell und nicht prinzipiell zu sein.

### Zusammenfassung

Rhizome einiger flut- und anoxiatoleranter Helophyten (*Phalaris arundinacea*, *Phragmites communis*, *Schoenoplectus lacustris*, *Typha latifolia*) zeigen nach 4-tägiger N<sub>2</sub>-Begasung, verglichen mit belüfteten Kontrollen, gesteigerte Gärungskapazitäten. Diese erreichen allerdings nicht die Niveaux von Landpflanzen, die empfindlich auf einen O<sub>2</sub>-Mangelstreß reagieren. Die Resultate werden im Hinblick auf die gängige stoffwechselphysiologische Theorie bezüglich der Überflutungstoleranz diskutiert.

### Literatur

- Armstrong, W. (1979): Aeration in higher plants. *Adv. Bot. Res.*, 7: 226-331.
- Barclay, A.M. and Crawford, R.M.M. (1982): Plant growth and survival under strict anaerobiosis. *J. Exp. Bot.* 33: 541-549.
- Colowick, S.P. and Kaplan, N.O. (1963): *Methods in Enzymology*, VI, 968-969, Academic Press, New York & London
- Harbered, N.P. and Edwards, K.J.R. (1982): The effect of a mutation causing alcohol dehydrogenase deficiency on flooding tolerance in barley. *New Phytol.*, 90: 631-644.
- Hook, D.D. and Crawford R.M.M. (1978): Plant life in anaerobic environments, pp. 564. Ann Arbor, Mich., USA).
- Keeley, J.E. (1978): Malic acid accumulation in roots in response to flooding: Evidence contrary to its role as an alternative to ethanol. *J. Exp. Bot.*, 29: 1345-1349.
- Kohl, J., Baierova, J., Radke, G. and Ramshorn, K. (1978): Regulative interaction between anaerobic catabolism and nitrogen assimilation as related to oxygen deficiency in maize roots. In: Hook, D.D. and Crawford (eds): *Plant life in anaerobic environments*, 473-496. Ann Arbor Science, Ann Arbor, Mich., USA.
- Mayne, R.G., Lea, P.J. and Miflin, B.J. (1982): Expression and properties of alcohol dehydrogenase in *Hordeum vulgare*. *Plant. Physiol.*, 69: 166 (Suppl.).
- Mc Manmon, M. and Crawford, R.M.M. (1971): A metabolic theory of flooding tolerance: The significance of enzyme distribution and behaviour. *New Phytol.*, 70: 299-306.
- Monk, L.S. and Brändle, R. (1982): Adaptation of respiration and fermentation and changing levels of oxygen in rhizomes of *Schoenoplectus lacustris* and its significance to flooding tolerance. *Z. Pflanzenphysiol.*, 105: 369-374.

- Rumpho, M.E. and Kennedy, R.A. (1981): Anaerobic metabolism in germinating seeds of *Echinochloa crus-galli* (Barnyard grass). *Plant Physiol.*, 68: 165-168.
- Smith, A.M. and ap Rees, T. (1979): Pathways of carbohydrate fermentation in the roots of marsh plants. *Planta*, 146: 327-334.
- Torres, A.M. and Diedenhofen, U. (1981): Sunflower alcohol dehydrogenase genotypes: Germination rates and response to flooding. *Environ. Exp. Bot.*, 21: 35-44.

Dr. Roland Brändle  
Pflanzenphysiologisches Institut der Universität Bern  
Altenbergrain 21  
CH-3013 Bern