

## 6. Zusammenfassung

In Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedenen PPDK-überexprimierende Tabaklinien untersucht. Für die Überexpression wurden vier unterschiedliche Konstrukte verwendet. Die PPDK wurde entweder unter der Kontrolle des 35S-Promotors bzw. des wurzelspezifischer B33-Promotors im Cytosol oder alternativ in den Plastiden überexprimiert (Sheriff, 1994; Stenzel, 1997).

In ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss unterschiedener Stickstoffquelle auf das Wachstum und Produktivität der transgenen Tabaklinien und des Wildtyps untersucht. Stickstoff wurde als eine Kombination von Nitrat und Ammonium (20% des gesamten Stickstoff als Ammonium); Nitrat (einzige N-Form) oder Ammonium (einzige N-Form) gegeben. Außerdem wurde eine N-defizitäre Lösung (3 mM  $\text{NO}_3^-$ ) als Kontrolle genommen. Untersucht wurden die Sprosslänge, Frischgewicht und Blattfläche als Parameter des Wachstums, die Konzentrationen verschiedener Metabolite (Chlorophyll, lösliches Protein und freien Aminosäuren), sowie immunologische Quantifizierung der Enzyme der  $\text{CO}_2$ -Fixierung (RUBISCO und PEPC) als Parameter des Stoffwechsels und die Kapselproduktion und der Samenertrag als Parameter der Produktivität.

Die Mutanten zeigten im Vergleich zum Wildtyp ein signifikant höheres Wachstum bei Stickstoffangebot und eine Reduktion des Wachstums. Die transgenen Pflanzen zeigten eine erhöhte Toleranz für Ammonium als einzige Stickstoffquelle. Das Wachstum in den Mutanten stand in direkter Weise mit den Konzentrationen von Protein und Aminosäuren in Zusammenhang. Ammonium als einzige Stickstoffquelle reduzierte nur die Wachstumsparameter des Wildtyps. In den Mutanten gab es unter Stressbedingungen (Ammonium als einzige Stickstoffquelle und N-defizitäre Lösung) eine Erhöhung in der PEPC-Menge. Der Samenertrag war in den transgenen Tabakpflanzen höher als beim Wildtyp. Es ist anzunehmen, dass die Steigerung von Wachstum und Samenertrag in den PPDK-Transformanden durch eine verbesserte Bereitstellung von C-Skeletten für die Aminosäuresynthese bewirkt wird. Die reversible PPDK-Reaktion wird in den Plastiden durch die hohe Pyrophosphatase-Aktivität in Richtung Phosphoenolpyruvat (PEP) gezogen. PEP

dient als Substrat zur Bildung von Oxalacetat (OAA) durch die PEP-Carboxylase. OAA kann in einer anaplerotischen Reaktion den Zitrat-Zyklus auffüllen oder direkt zu Malat reduziert werden. Die Ergebnisse der die PPDK im Cytosol überexprimierenden Linien zeigten, dass die PPDK-Reaktion im Cytosol auch in die Richtung der PEP-Synthese läuft.

In zweiten Teil der Arbeit wurde die Al-Toleranz der transgenen Tabakpflanzen in Vergleich zum Wildtyp untersucht. Als Indikatoren der Al-Toleranz wurde die Proteinkonzentration in den Wurzeln, die Inhibition des Wurzelwachstums, die Ausscheidung von organischen Säuren aus den Wurzeln und die Akkumulierung des Aluminiums im Wurzelgewebe gemessen.

Bei Al-Behandlung wurde die Proteinkonzentration in den Mutanten erhöht, während sie im Wildtyp drastisch reduziert wurde. Keine signifikante Reduktion in der Wurzelelongation wurde in den transgenen Pflanzen mit Al-Behandlung beobachtet. Al-Akkumulation im Wurzelgewebe wurde nur im Wildtyp detektiert. Bei Al-Behandlung wurde eine signifikante Erhöhung in der Ausscheidung von organischen Säuren, besonders Äpfelsäure, in den transgenen Linien beobachtet.

Die Daten deuten darauf hin, dass die Aluminium-Toleranz der Transformanden durch erhöhte Abgabe von organischen Säuren aus der Wurzel verursacht wird. Diese bilden einen Komplex mit dem Metallkation und vermindern so die Aufnahme in die Wurzel. Die PPDK erhöht die Säureextrusion durch die Bereitstellung von Phosphoenolpyruvat (PEP), das durch PEP-Carboxylase katalysierte Carboxylierung Oxalacetat als Vorstufe der organischen Säuren liefert. Unsere Ergebnisse lassen darauf schließen, dass beim Wildtyp zumindest unter Aluminium-Stress ein Engpass bei der Bereitstellung von PEP besteht, der in den PPDK-Transformanden verringert oder aufgehoben wird.

Da die Transformation mit PPDK ansonsten keinen nachteiligen Phänotyp verursacht, sondern im Gegenteil noch Wachstum und Samenertrag bei Stickstoffdüngung verbessert, scheint sie eine gute Möglichkeit darzustellen, die Aluminium-Toleranz von Pflanzen zu verbessern.