

# Charakterisierung der Stickstoff-Toleranz an ausgewählten Pflanzen der Krautschicht in Kiefernforsten mit Hilfe von Biomarkern

Horst SCHULZ

3 Abbildungen und 3 Tabellen

## Abstract

SCHULZ, H.: Characterization of nitrogen tolerance in selected plants of herb layer in Scots pine forest using biomarkers. - *Hercynia N. F. 53/2 (2020): 323 – 335.*

Mechanisms of structural changes in plant communities of Scots pine forests have not been adequately examined on physiological level yet. Therefore, a pot experiment with <sup>15</sup>N-labelled ammonium nitrate fertilizer was carried out with different forest floor plants of Scots pine forests under controlled conditions in greenhouse. The nitrogen tolerance of the plants was tested using biomarkers in order to characterize species specific differences in uptake rates of ammonium and nitrate, turnover rates of amino acids and protein. In addition, increment rates of *Pleurozium schreberi*, *Scleropodium purum*, *Avenella flexuosa*, *Calamagrostis epigejos*, *Brachypodium sylvaticum*, *Vaccinium myrtillus*, *Rubus idaeus* and *Rubus fruticosus* were examined. The results show that the nitrogen sensitive moss species *Pleurozium schreberi* and *Scleropodium purum* as well as the shrub *Vaccinium myrtillus* responded with preferred ammonium uptake and high turnover rates of arginine, while the nitrophile plant species *Calamagrostis epigejos*, *Rubus idaeus* and *Rubus fruticosus* exhibited moderate turnover rates of arginine as well as preferred uptake of ammonium and nitrate. Subsequently, the results of pot experiments were validated with investigations of forest floor plants in Scots pine forests with high nitrogen deposition. It can be concluded that arginine is a suitable biomarker to characterize nitrogen tolerance of ground plants in Scots pine forests.

**Key words:** Nitrogen tolerance, plants of herb layer, fertilizer experiment, nitrogen uptake rates, arginine turnover rates

## 1 Einleitung

Atmosphärische Stoffeinträge können Pflanzengesellschaften in terrestrischen Ökosystemen nachhaltig beeinflussen (ELLENBERG 1985). Das gilt insbesondere für Stickstoff (N) mit seinen Bindungsformen Ammonium und Nitrat, die über den Niederschlag zum Beispiel in Kiefernökosysteme eingetragen werden. Hier werden noch heute Veränderungen in der Artenanzahl und Mengenfaltung der Bodenvegetation beobachtet. Der Vegetationswandel vollzog sich bereits in den zurückliegenden Jahren, aber weniger in N-belasteten Kiefernforsten, sondern vielmehr auf stickstoffarmen Standorten in Kiefernwäldern, wo es zur Einengung der Biodiversität durch die Verdrängung der ursprünglich dort angesiedelten Arten durch Einwanderung N-hungriger, nitrophiler Arten kam (HOFMANN 1995, 1996).

Das führte letztlich zum weitgehenden Strukturverlust natürlicher Flechten-Kiefernwälder und Hagermoos-Kiefernwälder durch eine Mengenerhaltung des Laubmooses Grünstengelmoos (*Scleropodium purum*), der Gräser Drahtschmiele (*Avenella flexuosa*), Sandrohr (*Calamagrostis epigejos*) und Waldzwenke (*Brachypodium sylvaticum*) sowie der Kleinsträucher Himbeere (*Rubus idaeus* agg.) und Brombeere (*Rubus fruticosus* agg.) mit Ausbildung von Drahtschmielen Kiefernforsten, Sandrohr Kiefernforsten und Himbeer-Drahtschmielen Kiefernforsten. Auf nachlassende N-Belastungen reagieren die ehemals entstandenen Forstgesellschaften aber auch wieder mit einer rückläufigen Entwicklung (JENSSEN & HOFMANN 1999). Die N-Einträge bewirkten erhöhte Stickstoffgehalte in den Blättern der Pflanzen der Krautschicht. Dadurch sind an stickstoffarme Standorte angepasste Pflanzenarten zumeist N-überernährt und werden durch nitrophile Arten verdrängt, die an eine erhöhte N-Aufnahme und N-Verwertung in Wurzeln und Blättern besser angepasst sind. Allerdings ist bis heute noch wenig bekannt, worin die erhöhte N-Toleranz der nitrophilen Pflanzen der Krautschicht tatsächlich besteht. In experimentellen Voruntersuchungen konnte von SCHULZ & HÄRTLING (2003) bereits gezeigt werden, dass die Aufnahmeraten von Ammonium-N ( $\text{NH}_4\text{-N}$ ) und Nitrat-N ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ) in Wurzeln ausgewählter Pflanzen der Krautschicht aus Kiefernforsten signifikant unterschiedlich und eng mit den Gehalten einiger Aminosäuren korreliert sind. Wahrscheinlich sind diese art-spezifischen Unterschiede in den N-Aufnahmeraten sowie den Gehalten bestimmter Aminosäuren im Aminosäure- und Protein-Pool im Zusammenhang mit der beobachteten Toleranz nitrophiler Arten gegenüber N-Belastungen zu sehen. Ziel dieser Arbeit war es daher, in Weiterführung der Untersuchungsergebnisse von SCHULZ & HÄRTLING (2003), nun auch die Aufnahmeraten für  $\text{NH}_4\text{-N}$  und  $\text{NO}_3\text{-N}$ , die Umsatzraten von Glutaminsäure (Glu), Glutamin (Gln), Arginin (Arg) und Protein-N (PROTN) sowie die Zuwachsraten von Trockenmasse (TM) in Wurzeln und Blättern an ausgewählter Arten der Bodenvegetation wie Rotstengelmoos, Grünstengelmoos, Drahtschmiele, Sandrohr, Waldzwenke, Heidelbeere, Himbeere und Brombeere zu untersuchen und auf ihren Indikationswert als Biomarker zur Charakterisierung der Stickstoff-Toleranz zu prüfen.

Im Einzelnen sollten folgende Fragen beantwortet werden:

1. Bestehen zwischen den ausgewählten Pflanzen der Krautschicht art-spezifische Unterschiede in den Zuwachs- und Umsatzraten? und
2. Welche Biomarker eignen sich zur Charakterisierung der Stickstoff-Toleranz?

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Anzucht der Versuchspflanzen

Für den experimentellen Düngungsversuch unter kontrollierten Bedingungen im Kaltgewächshaus wurden aus dem Freiland Polster ( $0,038 \text{ m}^2$ ) von zwei Laubmoosen Rotstengelmoos (*Pleurozium schreberi*) und Grünstengelmoos (*Scleropodium purum*) sowie Stecklinge der drei Gräser Drahtschmiele (*Avenella flexuosa*), Sandrohr (*Calamagrostis epigejos*) und Waldzwenke (*Brachypodium sylvaticum*) einschließlich der drei Klein- und Zwergsträucherarten Heidelbeere (*Vaccinium myrtillus*), Himbeere (*Rubus idaeus*) und Brombeere (*Rubus fruticosus*) auf Quarzsand in Kick-Brauckmann Gefäßen ( $9,5 \text{ kg}$  pro Gefäß) bei  $12,5 \%$  Wassergehalt kultiviert (Abb. 1a, b). In jedes Gefäß wurden 5 Stecklinge eingesetzt. Die Moospolster wurden auf die Oberfläche der mit Quarzsand befüllten Kick-Brauckmann Gefäße gesetzt. Zur Kultivierung der Pflanzen wurden als Grunddüngung  $200 \text{ mg}$  Ammoniumnitrat

( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) mit 9500 g Quarzsand vermischt und 3 ml A-Z-Lösung nach Hoagland (HOGLAND & SNYDER 1934) gegeben. Der Wassergehalt in den Gefäßen wurde durch Differenzwägung kontrolliert. Die Moose wurden in 7-tägigen Abständen mit destilliertem Wasser besprüht. Nach Überwinterung und Anwuchs erfolgte im Frühjahr bei Vollentwicklung der Pflanzen die Applikation von Ammoniumnitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) mit jeweils 10 Atom-%  $^{15}\text{N}$  im Ammonium oder im Nitrat in drei Dünger-Varianten: 249.4, 502.3 und 755.2 mg Gesamtstickstoff ( $\text{N}_t$ ). Der Dünger wurde in 50 ml destilliertem Wasser unter Verwendung einer Spritze in den Quarzsand injiziert. Die Moospolster wurden mit 50 ml Düngerlösung jeweiliger Konzentration besprüht. Bei 10 at%  $^{15}\text{N}$  waren im applizierten Dünger pro Variante 13.15, 26.48 und 39.81 mg  $^{15}\text{N}$  enthalten. Geerntet wurden die Pflanzen je nach Wachstum zwischen 14 bis 50 Tagen nach der Dünger-Gabe getrennt nach Wurzeln, Ausläufer, Stielen und Blättern.

## 2.2 Freilanduntersuchungen

Zur Überprüfung der experimentell erzielten Ergebnisse erfolgten Untersuchungen an den Pflanzen der Krautschicht in Kiefernaltbeständen ( $n=5$ ) der Testgebiete Neuglobsow (Stechlin See, Land Brandenburg), Taura (Dahleener Heide, Land Sachsen) und Rösa (Dübener Heide, Land Sachsen-Anhalt). Die Testgebiete unterscheiden sich in der vorgenannten Reihenfolge hinsichtlich langjähriger atmosphärischen N-Einträge mit 15,2; 27,8 und 29,2 kg  $\text{NH}_4\text{N}+\text{NO}_3\text{N}$  pro ha \* a) und auch in den N-Nettomineralisationsraten mit 67,3; 98.7 und 113.5  $\mu\text{g N}_{\text{min}}$ . pro g TG \* 21 Tage in den Humusauflagen (SCHULZ et al. 2019). Die Deckungsgrade der Pflanzen der Krautschicht wurden nach einer prozentualen Deckungsgradskala in Stufen von 0-5, 6-20, 21-40, 41-75 und 76-100% auf einer Fläche von 100 m<sup>2</sup> geschätzt.

## 2.3 Analytik

Für die Aufarbeitung des Pflanzenfrischmaterials wurde ein Teil der Proben entsprechend der verschiedenen durchzuführenden chemischen und biochemischen Analysen entweder bei 60 °C getrocknet, z.B. für die Analyse von Gesamtstickstoff ( $\text{N}_t$ ), Tracer-Stickstoff ( $^{15}\text{N}$ -Häufigkeit) und Nicht-Protein-N (NPN) zur Bestimmung von Protein-N oder es wurden die frischen Pflanzenteile sofort nach der Ernte in Flüssig-Stickstoff für die Analyse der Aminosäuren Glutamat (Glu), Glutamin (Gln), Asparagin (Asn) und Arginin (Arg) eingefroren. Die Bestimmung von  $\text{N}_t$  und NPN erfolgte nach HUHN & SCHULZ (1996) und der  $^{15}\text{N}$ -Häufigkeit mit dem Elementaranalysator (Vario EL), gekoppelt mit einem Massenspektrometer (RUSSOW & GOETZ 1998). Die Aminosäuren wurden nach Aufarbeitung des eingefrorenen Frischmaterials mit der Hochleistungs-Flüssig-Chromatographie (HPLC System, Merck) nach HUHN & SCHULZ (1996) bestimmt. Die Trockenmassen (TM) der einzelnen Pflanzenorgane wurden als Summe aus den Trockengewichten (TG) der verschiedenen aufgearbeiteten Teilproben bestimmt.



Abb. 1 Pflanzen der Krautschicht in Kick-Brauckmann Gefäßen vor Dünger-Applikation. Oben: von links nach rechts Brombeere (*Rubus fruticosus*), Himbeere (*Rubus idaeus*), Heidelbeere (*Vaccinium myrtillus*), Drahtschmiele (*Avenella flexuosa*) und Sandrohr (*Calamagrostis epigejos*). Unten: Grünstengelmoos (*Scleropodium purum*).

Fig. 1 Plants of herb layer in Kick-Brauckmann containers before fertilizer application. Above: from the left to right-hand side blackberry (*Rubus fruticosus*), raspberry (*Rubus idaeus*), blueberry (*Vaccinium myrtillus*), hair grass (*Avenella flexuosa*) and bush grass (*Calamagrostis epigejos*). Below: green-stemmed feather moss (*Scleropodium purum*).

Tab.1 Ergebnisse der Prüfung auf signifikante Unterschiede zwischen N-Aufnahme- und Umsatzraten (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung) von Biomarkern in Blättern/Sprosse. Unterschiedliche große Buchstaben (A, B, C) stehen für signifikante Unterschiede zwischen den Dünger-Varianten unterschiedliche kleine Buchstaben (a, b, c, d, e, f, g, h) stehen für signifikante Unterschiede zwischen den Pflanzenarten (Mann-Whitney U-Test,  $n=3$ ,  $p=0,05$ ).

Tab.1 Results of significance tests between N-uptake and turnover rates (Mean  $\pm$  standard deviation) of biomarkers in leaves/shoots of plants. Different upper case letters represent significant differences between the fertilizer variants, different lower case letters represent significant differences between the plant species (Mann-Whitney U-Test,  $n=3$ ,  $p=0,05$ ).

Art	$^{15}\text{NH}_4$ ( $\mu\text{g N} \cdot \text{g}^{-1} \text{ TM} \cdot \text{d}^{-1}$ )			$^{15}\text{NO}_3$ ( $\mu\text{g N} \cdot \text{g}^{-1} \text{ TM} \cdot \text{d}^{-1}$ )			Glu ( $\mu\text{g N} \cdot \text{g}^{-1} \text{ TG} \cdot \text{d}^{-1}$ )			Gln ( $\mu\text{g N} \cdot \text{g}^{-1} \text{ TG} \cdot \text{d}^{-1}$ )		
	Dünger-Varianten (mg N pro 9500 g Quarzsand)											
	249	502	755	249	502	755	249	502	755	249	502	755
Sandrohr	A, a	B, a	C, a	A, a	B, a	C, a	A, a	B, a	C, a	A, a	B, a	C, a
Drahtschmiele	A, b	B, b	C, b	A, b	B, b	C, b	A, a, d, e, g	B, b	C, b	A, b	B, b	C, b
Waldzwenke	A, c	B, c	C, c, d	A, c	B, c	C, c	A, c	B, c	C, c	A, c	B, c	C, c
Himbeere	A, d	B, d	C, d	A, d	B, d	C, d	A, d	B, d	C, d	A, d, e	B, d	C, d
Brombeere	A, e	B, e	C, e	A, e	B, e	C, a	A, e	B, e	C, e	A, e	B, e	C, a
Heidelbeere	A, f	B, f	C, f	A, f	B, f	C, a	A, f	B, f	C, f	A, f	B, f	C, a
Rotstengelmoos	A, g, h	B, g	C, a	A, g	B, g	C, g	A, g	B, g	C, g	A, g, h	B, g	C, g
Grünstengelmoos	A, h	B, h	C, a	A, h	B, h	C, h	A, h	B, h	C, h	A, h	B, h	C, h
	Asn ( $\mu\text{g N} \cdot \text{g}^{-1} \text{ TG} \cdot \text{d}^{-1}$ )			Arg ( $\mu\text{g N} \cdot \text{g}^{-1} \text{ TG} \cdot \text{d}^{-1}$ )			Prot ( $\mu\text{g N} \cdot \text{g}^{-1} \text{ TG} \cdot \text{d}^{-1}$ )			TM ( $\mu\text{g TM} \cdot \text{d}^{-1}$ )		
Sandrohr	A, a	B, a	C, a	A, a	B, a	C, a	A, a	B, a	C, a	A, a	B, a	C, a
Drahtschmiele	A, b	B, b	C, b	A, b	B, b	C, b	A, b, c, f	B, b	C, b, c, f	A, b	B, C, b, h	C, a
Waldzwenke	A, c, h	B, c	C, c	A, c	B, c	C, c	A, a, d, e	B, c	C, c	A, c, g	B, c	C, c
Himbeere	A, d	B, d	C, d, h	A, d, e	B, d	C, d	A, a, e	B, d	C, a, e	A, d, e	B, d, e, h	C, d
Brombeere	A, a	B, e	C, a	A, e	B, e	C, e	A, a	B, e	C, e	A, a, h	B, e, h	C, a
Heidelbeere	A, f	B, f	C, a	A, f	B, f	C, f	A, f, h	B, f	C, f	A, a, h	B, f	C, f, h
Rotstengelmoos	A, g	B, g	C, g	A, g, h	B, g	C, g	A, g, h	B, g	C, g	A, g	B, C, g	C, g
Grünstengelmoos	A, h	B, h	C, h	A, h	B, h	C, h	A, h	B, h	C, h	A, a	B, h	C, h

## 2.4 Berechnungen der Dünger-Aufnahmeraten und Biomarker-Umsatzraten

Für die Berechnung der Dünger-Aufnahmeraten für  $\text{NH}_4\text{-N}$  und  $\text{NO}_3\text{-N}$  wurde eine modifizierte Formel nach FAUST et al. (1981) verwendet:

$$\text{Dünger-Aufnahmerate (mg N pro g TM und Tag)} = (((15 \cdot (a - a_0) \cdot \text{N\%} \cdot \text{TM}) / (1400 + a)) \cdot 10 \cdot 9,54) / (\text{TM} \cdot \text{d}).$$

$a$  -  $^{15}\text{N}$ -Häufigkeit (Atom-%);  $a_0$  - natürliche  $^{15}\text{N}$ -Häufigkeit (0,366 Atom-%);  $d$  - Tage nach Dünger-Applikation bis Pflanzenernte;  $\text{N\%}$  - N-Gehalt in Prozent;  $\text{TM}$  - Trockenmasse (g)

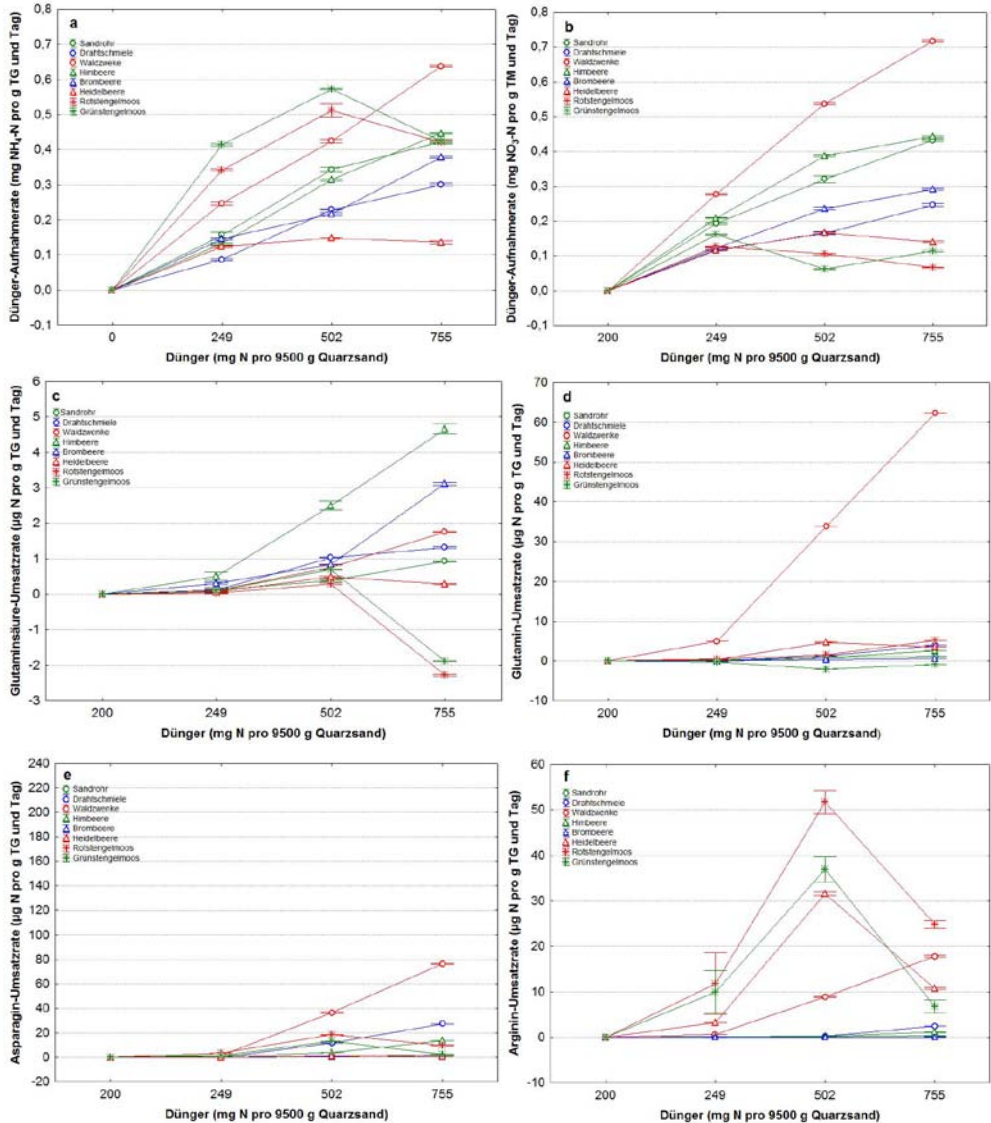
Die Berechnung der Biomarker-Umsatzraten und Neutriebszuwachsrate (mg bzw.  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{ TG}$  oder  $\text{mg TM} \cdot \text{Tag}^{-1}$ ) an Blatt- und Wurzelmassen erfolgte nach RODENKIRCHEN (1982) wie folgt:

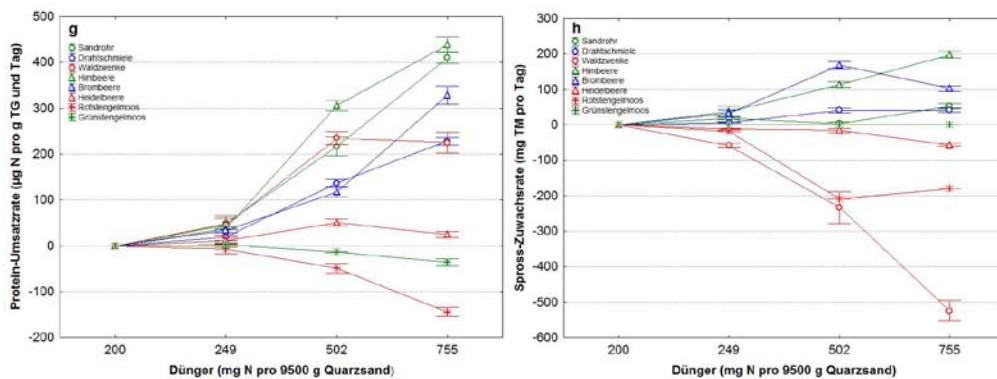
$$\text{Biomarker-UR oder Neutriebs-ZR} = (\text{GB vor DA} - \text{GB bei PE}) / d.$$

UR - Umsatzrate (mg bzw.  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{ TG}$ ); ZR - Zuwachsrate ( $\text{mg TM} \cdot \text{Tag}^{-1}$ ); TG - Trockengewicht (g); TM - Trockenmasse (g); DA - Dünger-Applikation; PE - Pflanzenernte;  $d$  - Tage zwischen DA und PE

Abb. 2 N-Aufnahme und Umsatzraten Plots (Mittelwert, Min-Max) von Biomarkern in Blättern/Sprosse und in Abhängigkeit von Dünger-Varianten. Prüfung auf signifikante Veränderungen zwischen den Dünger-Varianten und Pflanzenarten siehe Tab.1.

Fig. 2 Plots of N-uptake and turnover rates (Mean, Min-Max) of biomarkers in leaves/shoots dependent on fertilizer variants. Tests of significance between fertilizer variants and plant species are represented in Tab.1.





## 2.5 Statistik

Die Prüfung signifikanter Unterschiede zwischen den Dünger-Aufnahmeraten und Biomarker-Umsatzraten sowie den Dünger-Varianten erfolgte mittels parameterfreien Mann-Whitney U-Test (Statistica, Vers. 8.0, StatSoft, Hamburg).

## 3 Ergebnisse

### 3.1 N-Aufnahme- und Umsatzraten der Biomarker in Blättern

Die Umsatzraten der Biomarker in Blättern verschiedener Pflanzenarten und Dünger-Varianten unter Kaltgewächshausbedingungen werden in Abbildung 2 gezeigt. Die Ergebnisse der Prüfung auf signifikante Veränderungen der Biomarker zwischen den Dünger-Varianten und Pflanzenarten sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Mit zunehmender Dünger-Variante steigen die N-Aufnahmeraten und Umsatz-Raten der Biomarker stetig an, nicht aber bei Rotstengel- und Grünstengelmoos sowie Heidelbeere, bei denen sowohl N-Aufnahme als auch die Umsätze der Aminosäuren einschließlich von Protein-N und Trockenmasse bei der höchsten Dünger-Variante sich wieder signifikant verringern (Abb. 2). Himbeere kann den Zuwachs von Biomasse bzw. Trockenmasse mit zunehmender Dünger-Variante erhöhen, während die anderen Arten geringen bis keinen Zuwachs mehr indizieren oder im Vergleich zur Grunddüngung bei Rotstengelmoos und Waldzwenke sogar deutlich darunter liegen (Abb. 2h). In den meisten Fällen sind die Messwerte zwischen den Dünger-Varianten signifikant verschieden, nicht aber zwischen den Pflanzenarten. Nicht signifikante Unterschiede bestehen besonders zwischen den Arten bei der geringsten Düngervariante (Tab. 1).

### 3.2 N-Aufnahme- und Umsatzraten der Biomarker in Wurzeln

Die Umsatzraten der Biomarker zwischen den Dünger-Varianten und Pflanzenarten in Wurzeln und die Ergebnisse der Signifikanz-Prüfung sind in Abbildung 3 und Tabelle 3 abgebildet bzw. zusammengestellt. Im Vergleich zu den Blättern nehmen die N-Aufnahmeraten und die Umsatzraten der

Biomarker in Wurzeln deutlich geringere Werte ein. Die Biomarker reagieren aber in vergleichbarer Rangfolge. Sandrohr, Himbeere und Brombeere indizieren bei der höchsten Dünger-Variante zumeist mit den höchsten Raten bzw. Umsätzen, während die Werte der Laubmoose und von Heidelbeere zumeist auf unterem Niveau liegen, nicht aber bei Arginin (Abb. 3f). Das Gras Sandrohr indiziert in den unterirdischen Ausläufern mit durchschnittlich 4,02 µg Glutamin-N pro g TG und Tag höhere Umsatzraten als in Wurzeln (Daten nicht gezeigt). Himbeere kann auch in Wurzeln den Zuwachs an Biomasse mit zunehmender Dünger-Gabe steigern, während die anderen Arten unterhalb der Grunddüngung liegen (Abb. 3h). Am deutlichsten ist das bei der Waldzwenke der Fall, wo im Vergleich zur Grunddüngung die Protein-Umsatzraten bereits negative Werte indizieren (Abb. 3g). In nahezu allen Fällen sind die Raten der Biomarker zwischen den Dünger-Varianten und zwischen den Pflanzenarten signifikant unterschiedlich (Tab. 2).

Tab. 2 Ergebnisse der Prüfung auf signifikante Änderungen zwischen N-Aufnahme und Umsatzraten (Mittelwert ± Standardabweichung) von Biomarkern in Wurzeln. Unterschiedlich große Buchstaben (A, B, C) stehen für signifikante Unterschiede zwischen den Dünger-Varianten und unterschiedlich kleine Buchstaben (a, b, c, d, e, f, g, h) stehen für signifikante Unterschiede zwischen den Pflanzenarten (Mann-Whitney U-Test, n= 3, p= 0,05).

Tab. 2 Results of significance tests between N-uptake and turnover rates (Mean ± standard deviation) of biomarkers in roots of plants of herb layer. Different upper case letters (A, B, C) represent significant differences between the fertilizer variants, different lower case (a, b, c, d, e, f, g, h) letters represent significant differences between the plant species (Mann-Whitney U-Test, n= 3, p= 0.05).

Art	<sup>15</sup> NH <sub>4</sub> (µg N * g <sup>-1</sup> TM * d <sup>-1</sup> )			<sup>15</sup> NO <sub>3</sub> (µg N * g <sup>-1</sup> TM * d <sup>-1</sup> )			Glu (µg N * g <sup>-1</sup> TG * d <sup>-1</sup> )			Gln (µg N * g <sup>-1</sup> TG * d <sup>-1</sup> )		
	Dünger-Varianten (mg N pro 9500 g Quarzsand)											
	249	502	755	249	502	755	249	502	755	249	502	755
Sandrohr	A, a	B, a	C, a	A, a	B, a	C, a	A, a	B, a	C, a	A, a	B, a	C, a
Drahtschmiele	A, a	B, b	C, b	A, b, f	B, b	C, b	A, b, d	B, b	C, b	A, b	B, b, f	C, b
Waldzwenke	A, c	B, a	C, c	A, c	B, c	C, c	A, c	B, c	C, c	A, c	B, c, f	C, c
Himbeere	A, d	B, d	C, d	A, d	B, d	C, d	A, d	B, d	C, d	A, d, f	B, d	C, d
Brombeere	A, e	B, a	C, e	A, e	B, e	C, e	A, e	B, e	C, e	A, e	B, e	C, a
Heidelbeere	A, f	B, f	C, f	A, f	B, f	C, f	A, f	B, C, f	C, f	A, f	B, C, f	C, a
	Asn (µg N * g <sup>-1</sup> TG * d <sup>-1</sup> )			Arg (µg N * g <sup>-1</sup> TG * d <sup>-1</sup> )			Prot (mg N * g <sup>-1</sup> TG * d <sup>-1</sup> )			TM (µg TM * d <sup>-1</sup> )		
Sandrohr	A, a	B, a	C, a	A, a	B, a	C, a	A, a	B, a	C, a	A, a	B, a	C, a
Drahtschmiele	A, b	B, b	C, b	A, b	B, b	C, b	A, a	B, b	C, b	A, a, f	B, b	C, b, f
Waldzwenke	A, c	B, c	C, c	A, c	B, c	C, c	A, c	B, c	C, c	A, c	B, c	C, c
Himbeere	A, d	B, d	C, d	A, d	B, d	C, d	A, d	B, d	C, d	A, d	B, d	C, d
Brombeere	A, a	B, e	C, a	A, e	B, e	C, e	A, a	B, a	C, e	A, e	B, e	C, e
Heidelbeere	A, f	B, f	C, a	A, f	B, f	C, f	A, f, h	B, f	C, f	A, a	B, f	C, f

### 3.3 Vegetationsaufnahmen im Freiland und Arginin-Blattspiegelwerte

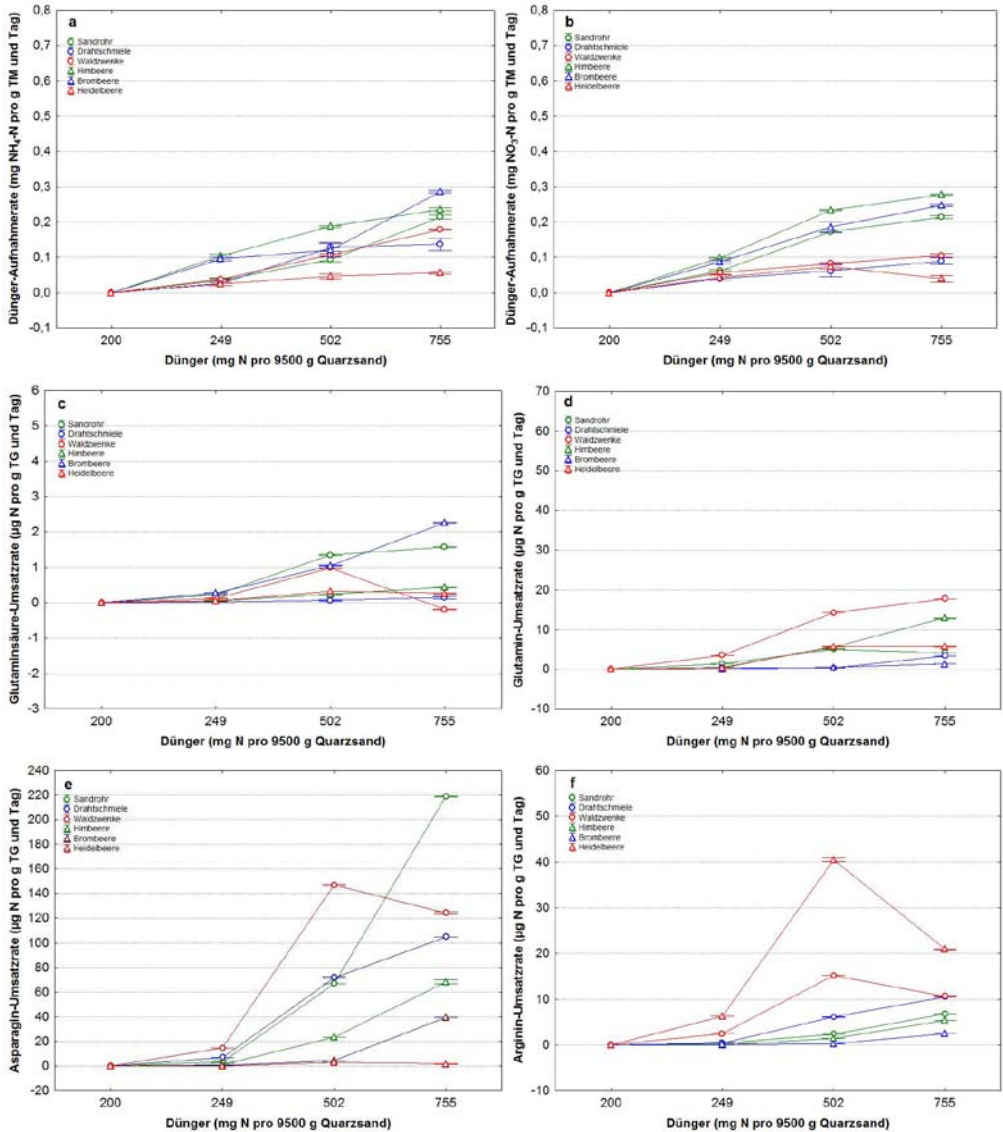
Die in Kiefernforsten von drei Testgebieten mit unterschiedlichen atmogenen N-Einträgen und N-Nettomineralisationsraten durchgeführten Vegetationsaufnahmen und Arginin-Gehalts Bestimmungen in Blättern sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Mit steigenden N-Einträgen und Nitrifikationsraten in den Humusaufgaben nehmen Deckungsgrad der nitrophilen Arten Sandrohr und Brombeere bei geringen Arginin-Blattspiegelwerten zu. Die Arten sind erst in den Testflächen von Taura und Rösa erst nachzuweisen, während die Laubmoose bei hoher N-Versorgung mit erhöhten Arginin-Blattspiegelwerten und verringerten Deckungsgraden reagieren (Tab. 3). Vergleichbare Reaktionen zeigen in der Rangfolge Heidelbeere, Himbeere und Draht-Schmiele. In Rösa waren in den Testflächen

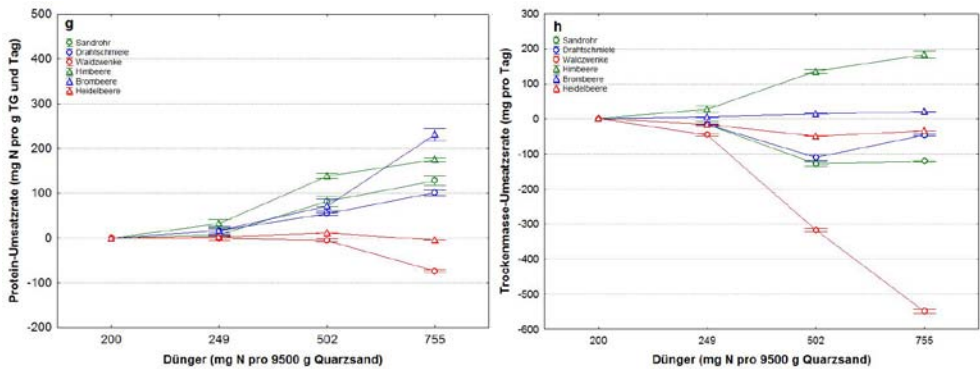


nur einzelne Exemplare der Waldzwenke nachzuweisen. Die gebietsbezogenen Veränderungen in den Arginin-Blattspiegelwerten unterschieden sich signifikant.

Abb. 3 N-Aufnahme und Umsatzraten Plots (Mittelwert, Min-Max) von Biomarkern in Wurzeln und in Abhängigkeit von Dünger-Varianten. Prüfung auf signifikante Veränderungen zwischen den Dünger-Varianten und Pflanzenarten siehe Tab. 2.

Fig. 3 Plots of N-uptake and turnover rates (Mean, Min-Max) of biomarkers in roots dependent on fertilizer variants. Tests of significance between fertilizer variants and plant species are represented in Tab. 2.





## 4 Diskussion

Die Untersuchungsergebnisse des Düngungsversuches zeigen, dass zwischen den hier untersuchten Pflanzen der Krautschicht spezifische Unterschiede in der Reaktion der Biomarker auf N-Belastungen nachzuweisen sind. Wurzeln indizieren im Vergleich zu Blättern vergleichbare Biomarker Reaktionen, allerdings von geringerer Intensität (Abb. 2, Abb. 3). Am empfindlichsten reagieren auf eine hohe N-Versorgung die beiden Laubmoose und Heidelbeere. Die Protein-Umsatzraten der Arten sind gering bis negativ im Vergleich zur Grunddüngung (Abb. 2g). Eine Erklärung dafür wären die rückläufigen N-Aufnahmeraten unter hohem N-Einfluss (Abb. 2a, b). Stickstoff- und Kohlenstoff-Metabolismus sind eng miteinander verknüpft. Bis zu 55 Prozent vom photosynthetisch fixierten Kohlenstoff wird bei der Stickstoffassimilation benötigt (HUPPE & TURPIN, 1994). Eine wichtige Rolle spielen hierbei Glutamin und Arginin. Von Glutamin ist bekannt, dass die Aminosäure die Aufnahme von Nitrat regulieren kann (PALOVE-BELANG & MISTRIK 2002), was auch hier bei den Pflanzen der Krautschicht nachzuweisen war, aber scheinbar nicht für die Waldzwenke gilt (Abb. 2d). Von SCHULZ et al. (2019) wurde nachgewiesen, dass Waldkiefern bei bevorzugter  $\text{NH}_4$ -Aufnahme Ammonium nicht effizient zur Protein-Synthese verwerten, weil der dazu benötigte Kohlenstoff fehlt. In solchen Fällen erfüllt Arginin eine  $\text{NH}_4$ -detoxifizierende Wirkung aufgrund seines engen C/N-Verhältnisses (EDFAST et al. 1990). Offensichtlich nutzen auch die beiden Laubmoose und Heidelbeere diese biochemischen Mechanismen zur Regulierung der N-Aufnahme und  $\text{NH}_4$ -Entgiftung. Die Arten setzen wenig  $\text{NH}_4$ -Stickstoff in Protein um und reagieren mit signifikanten Biomassezuwachsverlusten (Abb. 2h). Das gilt auch für die Waldzwenke, aber im Vergleich zu den Umsatzraten in Blättern scheint diese Art Mineralstickstoff bevorzugt in den Wurzeln zu assimilieren und erhöht den Asparagin-Pool (Abb. 3e). Im Gegensatz dazu reagieren die nitrophilen Arten Brombeere, Himbeere, Sandrohr und Drahtschmiele auf ein steigendes N-Angebot bei hohen Aufnahmeraten von Ammonium und Nitrat mit signifikant höheren Protein-Umsatzraten und Wuchsleistungen (Abb. 2a, b, g, h). Entsprechend bleiben die Umsatzraten von Arginin und Asparagin dieser Arten auf einem geringen Niveau (Abb. 2e, f). Bemerkenswert sind auch die in den unterirdischen Ausläufern von Sandrohr nachgewiesenen hohen Asparagin-Umsatzraten (Kap. 3.2). Der Transport bzw. die Speicherung von Amid-N in Form von Asparagin scheint für die Fortpflanzung der Art vorteilhaft zu sein, wodurch sich trotz annähernd gleich hoher Asparagin-Umsatzraten in den Wurzeln die höhere Mengentfaltung des nach BOLTE (2002) nährstoffarmen Sandrohrs gegenüber der nährstoffreichen Waldzwenke erklären ließe (Abb. 3e). Abschließend ist

festzuhalten, dass dem Biomarker Arginin bei der Charakterisierung der N-Toleranz der hier untersuchten Pflanzen der Krautschicht eine bedeutende Rolle zugesprochen werden kann. Das hohe  $\text{NH}_4$ -Entgiftungspotenzial der Laubmoose einschließlich von Heidelbeere lässt auf eine unzureichende Verwertung von Ammonium für die Aminosäuresynthese schließen. Wahrscheinlich steht hierfür, wie bei *Picea abies* gezeigt, Kohlenstoff nicht in ausreichender Menge zur Verfügung (TIETZ & WILD 1991). Somit liegt die Vermutung nahe, dass N-intolerante Pflanzen der Krautschicht unter N-Einfluss auch geringe Glucose-Gehalte in den Blattorganen enthalten, da der für die Aminosäuresynthese benötigte Kohlenstoff dem Kohlenhydrat-Stoffwechsel entzogen wird. Grundsätzlich decken sich die unter Freilandbedingungen in N-belasteten Kiefernbeständen erzielten Ergebnisse an Pflanzen der Krautschicht mit den Ergebnissen des Düngungsversuches im Kaltgewächshaus. Hohe atmosphärische N-Einträge und N-Nettomineralisationsraten in den Humusauflagen führen im Testgebiet Taura und Rösa zu hohen Arginin-Gehalten in den Blattorganen der beiden Laubmoose sowie zum Rückgang der Deckungsgrade von Grünstengelmoos und Heidelbeere oder zum totalen Ausfall von Rotstengelmoos (Tab. 3). Im Gegensatz dazu können sich insbesondere das Gras Sandrohr und die Zwergsträucher Himbeere und Brombeere bei moderaten Arginin-Gehalten in den Blattorganen flächig ausbreiten. Warum die Waldzwenke im Testgebiet nicht im gering mit Stickstoff belasteten Testgebiet Neuglobsow nachweisbar war, dafür aber in einzelnen Exemplaren in Taura und Rösa, konnte hier nicht geklärt werden. Dazu wären weitere Düngungsversuche zum Kohlenhydrathaushalt unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus wie auch Freilanduntersuchungen in vergleichbaren Testgebieten erforderlich.

Tab. 3 Arginin-Gehalte in Blättern (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung) und Deckungsgrade von Pflanzen der Krautschicht in Testgebieten (Neuglobsow, Taura, Rösa) mit unterschiedlichen atmosphärischen N-Einträgen ( $\text{kg NH}_4\text{N} + \text{NO}_3\text{N pro ha * a}$ ) und N-Mineralisationsraten ( $\text{N}_{\text{min. pro g TG * 21 d}}$ ) in den Humusauflagen (SCHULZ et. al. 2019). Unterschiedlich große Buchstaben (A, B, C) stehen für signifikante Unterschiede zwischen den Testgebieten (Mann-Whitney U-Test,  $p = 0,05$ ,  $n = 5$ ).

Tab. 3 Arginine contents in leaves (Mean  $\pm$  standard deviation) and cover ratios of plants of herb layer in the test areas (Neuglobsow, Taura, Rösa) with different atmospheric N depositions ( $\text{kg NH}_4\text{N} + \text{NO}_3\text{N pro ha * a}$ ) and net N-mineralization rates ( $\text{N}_{\text{min. pro g TG * 21 d}}$ ) in the humus layers (SCHULZ et. al. 2019). Different upper case letters (A, B, C) represent significant differences between the test areas (Mann-Whitney U test,  $p < 0,05$ ,  $n = 5$ ).

Arten	Neuglobsow		Taura		Rösa	
	Arginin ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TG)	Deckungsgrad (%)	Arginin ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TG)	Deckungsgrad (%)	Arginin ( $\mu\text{g g}^{-1}$ TG)	Deckungsgrad (%)
	(15,2 $\text{kg NH}_4\text{N} + \text{NO}_3\text{N pro ha * a}$ ) (67,3 $\mu\text{g N}_{\text{min. pro g TG * 21 d}}$ )		(27,8 $\text{kg NH}_4\text{N} + \text{NO}_3\text{N pro ha * a}$ ) (98,7 $\mu\text{g N}_{\text{min. pro g TG * 21 d}}$ )		(29,2 $\text{kg NH}_4\text{N} + \text{NO}_3\text{N pro ha * a}$ ) (113,5 $\mu\text{g N}_{\text{min. pro g TG * 21 d}}$ )	
Rotstengelmoos	2625,3 $\pm$ 390 (A)	31	3125,0 $\pm$ 343 (B)	2	-	0
Grünstengelmoos	467,8 $\pm$ 198 (A)	29	5426,3 $\pm$ 583 (B)	21	3919,2 $\pm$ 440 (C)	25
Waldzwenke	-	0	146,8 $\pm$ 14 (A)	1	445,9 $\pm$ 91 (B)	1
Sandrohr	-	0	67,2 $\pm$ 10 (A)	22	143,6 $\pm$ 56 (B)	23
Drahtschmiele	74,5 $\pm$ 14 (A)	27	89,0 $\pm$ 11 (A)	23	324,4 $\pm$ 76 (C)	12
Heidelbeere	20,9 $\pm$ 5 (A)	13	44,3 $\pm$ 2 (B)	12	2204,2 $\pm$ 502 (C)	4
Himbeere	0,9 $\pm$ 0,06 (A)	0	39,7 $\pm$ 8 (B)	3	309,6 $\pm$ 88 (C)	13
Brombeere	-	0	11,1 $\pm$ 2 (A)	1	165,7 $\pm$ 44 (B)	26

## 6 Zusammenfassung

SCHULZ, H.: Charakterisierung der Stickstoff-Toleranz an ausgewählten Pflanzen der Krautschicht in Kiefernforsten mit Hilfe von Biomarkern. - *Hercynia N. F.* 53/2 (2020): 323 – 335.

Unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus wurde an kultivierten Pflanzen der Krautschicht aus Kiefernforsten die Stickstoff-Toleranz unter dem Einfluss von Ammoniumnitrat-Dünger mit Hilfe von Biomarkern untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass an stickstoffarme Standorte angepasste Pflanzen, wie die Laubmoose Rotstengel- und Grünstengelmoos bevorzugt Ammonium aufnehmen und den Stickstoff in die Aminosäure Arginin umsetzen. Die Reaktion ist als Entgiftung-Mechanismus für nicht verwertetes Ammonium zur Proteinsynthese zu werten. Im Gegensatz dazu, reagierten die nitrophilen Arten Sandrohr, Himbeere und Brombeere mit hohen Aufnahmeleistungen von Ammonium und Nitrat bei moderaten Arginin-Gehalten in Blättern und Wurzeln. Der Aminosäure Arginin wird eine Indikatorfunktion zur Charakterisierung von N-Toleranz bei Pflanzen der Krautschicht in Kiefernforsten zu gesprochen.

## 7 Danksagung

Für die Betreuung der Pflanzen im Gewächshaus und Unterstützung bei der Probenaufarbeitung sei Frau Dr. Ines Merbach und ihren Mitarbeitern von der Versuchsstation in Bad Lauchstädt des Zentrums für Umweltforschung Leipzig (UFZ) gedankt. Mein Dank gilt auch Herrn Dr. Rolf Russow und Frau Heidemarie Odrich für die Durchführung der <sup>15</sup>N-Analytik (Department Bodenphysik, UFZ) sowie Sigrid Härtling und Renate Rudloff (Department Bodenökologie, UFZ). Herrn Prof. A. Bolte vom Thünen-Institut für Waldökosysteme in Eberswalde möchte ich danken für seine hilfreichen Korrekturvorschläge, die zur Verbesserung der Manuskriptfassung beigetragen haben.

## 8 Literatur

- BOLTE, A. (2002): Beziehung zwischen Struktur und Stoffhaushalt der Bodenvegetation. In: Anders, S. (Hrsg.): Ökologie und Vegetation der Wälder Nordostdeutschlands. - Verlag Dr. Kessel, Oberwinter.
- EDFAST, A. B., NÄSHOLM, T., ERICSON, A. (1990): Free amino acids concentrations in needles of Norway and Scots pine trees on different sites in areas with two levels of nitrogen deposition. - *Can. J. of Forest Res.* 20: 1132 – 1136.
- ELLENBERG, H. (1985): Veränderungen der Flora Mitteleuropas unter dem Einfluss von Düngung und Immissionen. - *Schweiz. Z. Forstwesen* 136: 19 – 39.
- FAUST, H. (1981): <sup>15</sup>N-Anwendung in der Biochemie, Landwirtschaft und Medizin. In: Schriftenreihe Anwendung von Isotopen und Kernstrahlungen in Wissenschaft und Technik. - Isocommerz Berlin.
- HOFMANN, G. (1995): Zur Wirkung von Stickstoffeinträgen auf die Vegetation norddeutscher Kiefernwaldungen. - In: IMA-Querschnittseminar Umweltbundesamt 21./22. Nov. 1994, Texte Umweltbundesamt (UBA) 28/1995. S. 131 – 140.
- HOFMANN, G. (1996): Vegetationswandel in den Wäldern des nordostdeutschen Tieflandes. - In: Wald im Wandel. 9. Hamburger Forst- und Holztagung, 06.-09. Mai 1996. Hamburg: Max Wiedebusch Kommiss. Verl. - Mitt. Bundesforschungsanstalt Forst-Holzwirtschaft 185: 45 – 72.
- HOAGLAND, D. R., SNYDER, W. C. (1934): Nutrition of strawberry plants under controlled conditions. (a) Effects of

- deficiencies of boron and certain other elements, (b) susceptibility injury from sodium salts. - Proceedings Am. Society of Horticultural Sci. 30: 288 – 293.
- HUHN, G., SCHULZ, H. (1996): Contents of free amino acids in Scots pine needles from field sites with different levels of nitrogen deposition. - New Phytol. 134: 95 – 101.
- HUPPE, H. C., TURPIN, D. H. (1994): Integration of carbon and nitrogen metabolism in plant and algae cells. - Ann. Rev. Plant Physiology and Plant Molecular Biol. 45: 577 – 607.
- JENSSEN, M., HOFMANN, G. (1999): Ökosystemare Umweltbeobachtung in bewaldeten Schutzgebieten. - In: Chaos Natur? Prozeßschutz in Großschutzgebieten. - Tagungsber. Fachtagung v. 7.-9. Oktober 1998 in Kröchlendorf. - Hrsg. Umweltstiftung WWF Deutschland. Potsdam. S. 79 – 95.
- PALOVE-BELANG, P., MISTRIK, I. (2002): Differential effect of amino acids on nitrate uptake by intact maize roots. - Biologica Bratislava 57: 119 – 124.
- RUSSOW, R., GOETZ, A. (1998): Elementaranalysator-MS-Kopplung für die <sup>13</sup>C- und <sup>15</sup>N-Bestimmung in Boden- und Pflanzenproben. - Arch. Agron. Soil Sci. 42: 349 – 359.
- SCHULZ, H., HÄRTLING, S. (2004): Experimentelle Untersuchungen zur Aufnahme und zum Stoffwechsel von Stickstoff in Wurzeln ausgewählter Pflanzen der Krautschicht aus naturnahen Ökosystemen. - In: Merbach, W., Egle, K., Augustin, J. (Hrsg.): Wurzelinduzierte Bodenvorgänge. 14. - Borkheider Seminar zur Ökophysiologie des Wurzelraumes. S. 113 – 118.
- SCHULZ, H., SCHÄFER, T., STORBECK, V., HÄRTLING, S., RUDLOFF, R., KÖCK, M., BUSCOT, F. (2012): Effect of raw humus under two adult Scots pine stands on ectomycorrhization, nutritional status, N uptake, P uptake and growth of *P. sylvestris* seedlings. - Tree Physiol. 32: 36 – 48.
- TIETZ, S., WILD, A. (1991): Investigations on the Phosphoenolpyruvate Carboxylase Activity of spruce needle relative to the occurrence of novel forest decline. - J. Plant Physiol. 137: 327 – 331.

*Manuskript angenommen am: 2. September 2020*

Anschrift des Autors:

Dr. Horst Schulz

Department Bodenökologie, Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung (UFZ), Theodor-Lieser-Strasse 4, 06120 Halle (Saale)

E-Mail: dr.horst.schulz@t-online.de