

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Bedeutung der symbiotischen N <sub>2</sub> -Fixierung	1
1.2	Entwicklung und Aufbau des Knöllchens	2
1.2.1	Morphologie determinierter und indeterminierter Leguminosenknöllchen	3
1.2.2	Das indeterminierte Wurzelknöllchen von <i>Vicia faba</i>	4
1.3	Stoffwechselprozesse im Leguminosenknöllchen	6
1.3.1	Stickstoffmetabolismus im Leguminosenknöllchen	6
1.3.2	Kohlenstoffmetabolismus im Leguminosenknöllchen	9
1.4	Kurzstreckentransport von Metaboliten im Leguminosenknöllchen	12
1.4.1	Stickstofftransport	13
1.4.2	Kohlenstofftransport	14
1.5	Import und Export von Metaboliten im Leguminosenknöllchen	15
1.5.1	Assimilatimport	15
1.5.2	Metabolitenexport	16
1.6	Bedeutung von Transportprozessen für die O <sub>2</sub> -Versorgung im Leguminosenknöllchen	17
1.7	Bedeutung von Transportprozessen für die Einbindung der Knöllchenaktivität in den pflanzlichen Stoffwechsel	19
1.8	Ziele dieser Arbeit	22
<b>2</b>	<b>Bakterienkultivierung und Pflanzenanzuchten</b>	<b>24</b>
2.1	<i>Rhizobium</i> -Kulturen	24
2.1.1	Chemikalien	24
2.1.2	Stammhaltung und Flüssigkulturen	24
2.2	Pflanzenanzuchten	25
2.2.1	Chemikalien	25

---

2.2.2	Anzucht von <i>Vicia faba</i> in Bodenkultur	25
2.2.3	Anzucht von <i>Vicia faba</i> in Nährlösungskultur	26
2.2.4	Anzucht von <i>Glycine max</i> in Nährlösungskultur	28

### **3 Anatomische Rahmenbedingungen des Metabolitentransports** **30**

3.1	Zielsetzung	30
3.2	Material und Methoden	31
3.2.1	Chemikalien	31
3.2.2	Cryomikrotomie	31
3.2.3	Licht- und Fluoreszenzmikroskopie	32
3.2.4	Transmissionselektronenmikroskopie	33
3.3	Ergebnisse	33
3.3.1	Entwicklung apoplastischer Barrieren der Wurzel	34
3.3.2	Entwicklung der vasculären Endodermis des Knöllchens	34
3.3.3	Entwicklung der Knöllchenendodermis	39
3.3.4	Ultrastruktur von Zellwänden im Cortex des Knöllchens	40
3.3.4	Symplastische Kontinuitäten im Knöllchen	42
3.4	Diskussion	43
3.4.1	Die vasculäre Endodermis des Knöllchens	43
3.4.2	Die Knöllchenendodermis	46
3.4.3	Symplastische Kontinuitäten im Knöllchen	50
3.4.5	Die Rolle des äußeren Cortex	52

### **4 Isolation von Protoplasten aus dem Zentralgewebe des Knöllchens** **54**

4.1	Zielsetzung	54
4.2	Material und Methoden	55
4.2.1	Chemikalien	55

---

4.2.2	Erste Ansätze zur Isolation infizierter Protoplasten	56
4.2.3	Methode zur Isolation und Separation sphärischer infizierter und nicht-infizierter Protoplasten aus dem Knöllchen-Zentralgewebe	57
4.2.4	Quantifizierung der Protoplastenausbeute	63
4.2.5	Färbemethoden für Vitalitätstests und Stärkenachweis	63
4.2.6	Untersuchung der Struktur isolierter Protoplasten mittels Transmissionselektronenmikroskopie	64
4.2.7	Isolation von Protoplasten aus dem Zentralgewebe von <i>Glycine max</i> -Knöllchen	66
4.3	Ergebnisse	66
4.3.1	Erste Ansätze zur Isolation infizierter Protoplasten	66
4.3.2	Schritte zu einem neuen Protokoll zur Isolation und Separation sphärischer Protoplasten aus dem Knöllchen-Zentralgewebe	67
4.3.3	Einfluss des physiologischen Gewebeaters auf Isolation und Struktur infizierter Protoplasten	74
4.3.4	Vitalitätstests und Stärkenachweis	74
4.3.5	Separation verschiedener Protoplastentypen	79
4.3.6	Adhäsion und Agglutination von Protoplasten	82
4.3.7	Ultrastruktur infizierter <i>V. faba</i> -Protoplasten	83
4.3.8	Isolation von Protoplasten aus dem Zentralgewebe von <i>Glycine max</i> -Knöllchen	87
4.4	Diskussion	88
4.4.1	Ansätze zur Isolation infizierter Protoplasten aus dem Knöllchen-Zentralgewebe	88
4.4.2	Eine neue Methode zur Isolation und Separation von Protoplasten aus dem Knöllchen-Zentralgewebe	89
4.4.3	Eignung verschiedener Vitalitätstests zur Feststellung der Intaktheit infizierter Protoplasten	92
4.4.4	Ultrastrukturelle Besonderheiten infizierter Protoplasten aus dem Knöllchen-Zentralgewebe	94

---

<b>5</b>	<b>Membrantransport von Zuckern und Aminosäuren im Knöllchen</b>	<b>98</b>
5.1	Zielsetzung	98
5.2	Material und Methoden	99
5.2.1	Chemikalien	99
5.2.2	Inkubationsstudien mit Zentralgewebe	100
5.2.3	Protonenabgabe und Zuckeraufnahme durch nicht-sphärische infizierte „Protoplasten“	101
5.2.4	Protonenabgabe durch sphärische infizierte und nicht-infizierte Protoplasten	102
5.2.5	Aufnahme <sup>14</sup> C-markierter Metabolite durch sphärische infizierte und nicht-infizierte Protoplasten	103
5.2.6	Saccharosespaltung in Suspensionen infizierter und nicht-infizierter Protoplasten	107
5.3	Ergebnisse	107
5.3.1	Transportstudien mit Knöllchen-Zentralgewebe	107
5.3.2	Transportstudien mit Protoplasten	112
5.4	Diskussion	135
5.4.1	Membranintegrität der Protoplastenfraktionen	136
5.4.2	Nettoprotonenabgabe von Zentralgewebe und daraus isolierten infizierten und nicht-infizierten Protoplasten	136
5.4.3	Apoplastische Aminosäurebewegung im Knöllchen?	139
5.4.4	Apoplastische Zuckerbewegung im Knöllchen?	144
<b>6</b>	<b>Implikationen der Transportwege - Abschließende Bemerkungen</b>	<b>154</b>
6.1	Transportwege für Metabolite im Knöllchen	154
6.2	Metabolitentransport und Metabolismus	156
6.3	Metabolitentransport und Regulation der Knöllchenaktivität	159
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>163</b>

---

<b>8</b>	<b>Anhang</b>	<b>167</b>
8.1	Bezugsquellen für Chemikalien	167
8.2	Aus dieser Arbeit entstandene Veröffentlichungen	168
8.2.1	Artikel in begutachteten Zeitschriften	168
8.2.2	Artikel in Kongressbänden	168
8.2.3	Posterpräsentationen	169
8.2.4	Vorträge bei Kolloquien und Konferenzen	171
<b>9</b>	<b>Literatur</b>	<b>173</b>