

# DIE ROL VAN STIKSTOF IN DIE PLANT\*

K L J BLOMMAERT, Navorsingsinstituut vir Vrugte en Vrugtetegnologie, Stellenbosch

## Inleiding

Met die uitsondering van koolstof, waterstof en suurstof, is stikstof die mees algemene element wat in die lewende plant voorkom. Ongeveer 1,5–2 persent van die plant se droë massa is stikstof. Op 'n wêreldbasis is daar bereken dat 200 biljoen ton koolstof jaarliks deur die proses van fotosintese deur plante gebind word. Dit verteenwoordig 'n opname van 10 biljoen ton stikstof. Behalwe daardie plantspesies, veral die peulplante, wat in staat is om stikstof uit die lug in simbiose met bakterieë te bind, word N uit die grond opgeneem as gevolg van nitraatreduksie deur mikro-organismes. Daar word jaarliks net in die VSA alleen, ongeveer 6 miljoen ton N in die vorm van kunsmis aan die grond toegedien. Ten spyte van die belangrike rol wat N by die struktuur en metabolisme van die plant speel, het ons tog hier met 'n paradoksale toestand in die natuur te doen. Hoewel 80 persent van die aarde se atmosfeer uit stikstof bestaan en die planteryk dus letterlik in 'n see van N gedompel is, kan die meeste plante nie N in hierdie vorm verbruik nie. Die grootste hoeveelheid N word in werklikheid in die grond deur mikro-organismes gebind en dit word dan vir die plant as nitraat, ammoniak en organiese N beskikbaar gestel.

## Stikstofvoeding

### Nitraat en ammoniak

Die meeste hoër plante neem N deur hul wortels in die vorm van nitraat op. Die plant kan dit egter nie direk in hierdie vorm gebruik nie en moet dit eers na ammoniak reduceer voordat dit in stikstofbevattende stowwe geïnkorporeer kan word. Verskeie ensiemomsettinge is hierby betrokke en as eerste stap word nitraat na nitriet deur die ensiem nitraatreduktase gekataliseer. Die volgende stap is waarskynlik die oorplasing van twee elektrone met die vorming van 'n hiponitriet wat egter nog nie in plante geïdentifiseer is nie omdat dit baie onstabiel is. Hierop volg die vorming van hidroksielamien waarop die finale stap na ammoniak volg deur die werking van die ensiem hidroksielamienreduktase.

### Organiese stikstof

Die meeste plante kan beide organiese en anorganiese N benut. In die grond kom die meeste stikstof in 'n gebonde vorm as proteïene voor. Die afbreking van proteïene lei tot die vorming van aminosure en vervolgens ammoniak en nitraat of die aminosure kan ook as sulks direk deur die plant opgeneem word. Die oksidasie van ammoniak na nitraat word deur die reeds lank bekende groepe bakterieë,

*Nitrosomonas* en *Nitrobakter* bewerkstellig. 'n Bekende voorbeeld van organiese stikstofvoeding is blaarbespuitings met ureum. Dit is 'n baie effektiewe metode om 'n stikstoftekort by die plant tydelik aan te vul. Daar is byvoorbeeld vroeër beweer dat die perskeboom nie op ureumbespuitings reageer nie. In proewe wat by ons Instituut oor die opname van radio-aktiewe  $^{14}\text{C}$ -gemarkte ureum deur perskeblare gedoen is, kon aangetoon word dat dit gereedlik opgeneem en hoofsaaklik in aminosure geïnkorporeer word.

## Molekulêre stikstof

Die oorgrote meerderheid van die hoër plante kan nie molekulêre stikstof direk uit die lug assimileer nie maar dit is tog vir die plant indirek beskikbaar deur die tussenwerking van asimbiotiese mikro-organismes in die grond. Die belangrikste stikstofbindende bakterieë is die *Clostridium* en *Azotobakter*-groepe. 'n Relatief groot groep plante, die *Leguminosae* of peulplante is in staat om atmosferiese  $\text{N}_2$  simbioties met bakterieë van die genus, *Rhizobium*, te bind. Die bindingsplek is die knoppies wat in die wortels as gevolg van *Rhizobium*-penetrasie gevorm word. Die meganisme van hierdie simbiotiese  $\text{N}_2$ -binding was tot onlangs nie bekend nie maar sedert 1971 is daarin geslaag om 'n ensiem, nitrogenase te isoleer en te karakteriseer wat groten-deels vir die  $\text{N}_2$ -binding verantwoordelik is. Daar word tans aanvaar dat die simbioties gebonde stikstof in die wortelknoppe van die gasheerplant vir die plant beskikbaar kom as gevolg van afbreking van die bakterieselle of deur die loslating van oplosbare stikstofverbindinge in die sitoplasma van die wortelselle. Die belangrikheid van simbiotiese stikstofbinding word geïllustreer deur 'n skatting wat in die VSA gemaak is, naamlik dat peulgewasse aldaar ongeveer 5,5 miljoen ton  $\text{N}_2$  per jaar bind.

## Funksie van stikstof

As komponent van noodsaaklike verbindinge soos proteïene, nukleiënsure en groeireguleerders is stikstof by die meeste indien nie alle biochemiese omsettinge in die plant betrokke. Stikstof is 'n bestanddeel van belangrike molekules soos porfirien en die purien- en pirimidienbasse sowel as die ko-ensieme. Die porfirienstruktuur word in metabolismes belangrike verbindinge soos chlorofil en die sitochroomensieme gevind en speel 'n belangrike rol by fotosintese en respirasie. Puriene en pirimidien is bestanddele van die nukleiënsure RNS en DNS wat by die sintese van proteïene betrokke is. Sekere ko-ensieme is noodsaaklik by die normale funksionering van baie ensieme terwyl groeireguleerders of hormone by die beheer van groei en ontwikkeling betrokke is.

\* Referaat gelewer tydens MVSA simposium oor Stikstof in die Landbou, 28 Augustus 1974, Goodwood.

## Ensieme

Die belangrikste rol wat N in die plant speel is waarskynlik as komponent van die proteïen molekule en in besonder dié van ensieme. Daar word tans algemeen aanvaar dat die aminosure die eerste produkte van N assimilasië in die plant is. Studies waarin van isotoopgemerkte N ( $^{15}\text{N}$ ) gebruik gemaak is, het getoon dat N eerstens in die 2-ketosure van die selsitoplasma geïnkorporeer word. Deur bemiddeling van die ensiem glutamiendehidrogenase word N as die aminogroep in die aminosuur, glutamiensuur opgeneem. Hierop volg die belangrikste reaksie by die sintese van aminosure naamlik transaminasië waardeur die oorpasing van 'n aminogroep na die karsboksielgroep van 'n ketosuur plaasvind. Dit stel die plant in staat om die agtien aminosure en twee amides wat die boustone van alle proteïene is, te sintetiseer.

'n Ensiem is basies 'n spesiale proteïen-molekule met 'n hoë molekule massa en wat die eienskap besit om 'n biochemiese reaksie te kataliseer en is oor die algemeen spesifiek vir 'n bepaalde reaksie. Om te kan vasstel hoe 'n individuele ensiem funksioneer moet dit uit die heterogene mengsel komponente van die sel, verwyder word. Dit is belangrik dat die meganisme van elke ensiem-reaksie ondersoek word om sellulêre prosesse te kan verklar.

Die meeste ensieme wat by sellulêre metabolisme betrokke is, is nou verbonde by die sellulêre submikroskopiese deeltjies van die sitoplasma. Al die ensieme wat by die Krebskikus betrokke is, word in die mitochondria aangetref. Net so is al die ensieme wat by die donker reaksie van fotosintese betrokke is, in die chloroplaste teenwoordig. Die ribosome is sitoplasmatiese deeltjies wat hoofsaaklik by die proses van proteïensintese betrokke is.

Die isolasië, reiniging en karakterisering van ensieme uit plante het veral die laaste dekade besonder uitgebrei. Dit is veral te danke aan die ontwikkeling van nuwe tegnieke om proteïene te skei en te suiwer, tegnieke soos dialise, fraksionele presipitasië, molekule-resiwwe, kolomchromatografie, elektroforese en ultrasentrifugasië. Hierdie tegnieke stel die biochemikus in staat om ensieme feitlik suiwer te isoleer en hul werking en eienskappe te bepaal sonder dat kontaminante daarby ingryp.

## Nukleïensure

Hoe word ensieme gesintetiseer? Die probleem is deur 'n groot aantal genetici, fisioloë, mikrobioloë en biochemici gedurende die laaste dekade aangepak en hierdie navorsingsgebied is tans as die molekule biologie bekend. Dit is reeds vir baie jare bekend dat die oorerflikke eienskappe van 'n plantsel deur die gene in die chromosome van die nukleus gedra word: Die sleutel tot hierdie oordragingsproses was die identifisering van die nukleïensuur ribonukleïensuur (RNS) en de-oksieribonukleïensuur (DNS).

Die tipiese plantsel bevat 'n nukleus, chloroplaste, mitochondria, ribosome, ensieme en metaboliete. Die molekule bioloog stel dit hom ten doel om vas te stel wat die bydrae van elk van hierdie seldeeltjies tot lewe in die sel is. Een van die betreklik onlangse prestasies van plant-biochemici was om hierdie subcellulêre deeltjies te skei en te suiwer en te bepaal waaruit hulle bestaan. So kon daar vasgestel word dat elke ribosoom die vermoë besit om 'n bepaalde ensiem-molekule te sintetiseer.

Hoe verrig die ribosome hulle taak? Klaarblyklik is daar 'n resept nodig wat aandui hoe die twintig aminosuurboustone in 'n bepaalde volgorde saamgevoeg word om 'n ensiem-molekule te vorm. Die ribosome gebruik vir hierdie doel 'n inligtingsband of matrys wat uit RNS bestaan en die boodskap oordra vir die sintese van 'n bepaalde ensiem. RNS het op sy beurt weer sy oorsprong in die chromosoom-gene wat uit die nukleïensuur DNS opgebou is. Hoewel dit nog nie met sekerheid bewys is nie, glo botanici vandag dat die genetiese inligting vervat is in die volgorde waarop die boustone van DNS mekaar opvolg. DNS kan dus as die fundamentele lewensstof beskou word. Dit is vergelykbaar met 'n doen-dit-self-boek wat al die inligting bevat hoe om 'n plantsel op te bou en dit te dupliseer en te vermenigvuldig. Die plantsel verdeel dus om meer selle te vorm sodat dit kan groei en die spesies in getalle kan toeneem.

Maar daar is nog baie geheime op sellulêre vlak wat op oplossing wag. Die plant het sy ontstaan as 'n enkele bevrugte eiersel wat al die genetiese inligting bevat om 'n bepaalde plant met sy kenmerkende eienskappe op te bou. Ons weet reeds baie oor die differensiasie van selle op embriologiese, anatomiese en histologiese vlak maar die basiese meganisme wat tot sel spesialisasië lei, sal nog lank "terra incognita" bly. Hierin lê die grootste uitdaging vir die molekule biologie.

## Plantgroeireguleerders (hormone)

Daar word vandag aanvaar dat die meeste fisiologiese prosesse in plante deur die tussenwerking van groeireguleerders en stremstowwe beheer word. Die eerste groeireguleerder wat uit die plant geïsoleer en geïdentifiseer was, was indool-3-asynsuur (IAS) waarvan die indoolring een atoom stikstof bevat. Sedert die eerste oksine (IAS) in 1935 ontdek is, het 'n geweldige hoeveelheid navorsing gevolg en is 'n hele aantal natuurlike sowel as sintetiese groeireguleerders ontdek wat dikwels soortgelyke eienskappe as die oksine besit. Bekende voorbeelde is indool-3-bottersuur, 1-naftaleen-asynsuur en die fenoksie-asynsuur-groep waarvan 2, 4-D die bekendste is. Die belangrikste rol wat die oksine in die plant speel, is die beheer van selverlenging, stimulasie van wortelvorming, kontrole van saad- en vrugontwikkeling en beheer van blaar- en vrugval.

Sedert die vroeëre ontdekking van oksiene, is 'n tweede groep groeireguleerders, die gibberelliëne geïsoleer. Gibberelliënsuur ( $\text{GS}_3$ ) is eerste geïdentifiseer en uit 'n swam wat op rys voorkom, geïsoleer. Daarna is die teenwoordigheid

van gibberelliene in talle plantsoorte aangetoon en is daar tot op hede byna 40 reeds geïsoleer en geïdentifiseer. Die gibberelliene speel 'n rol by groeistimulasie veral selvergroting, die verbreking van rus by sade en knoppe en blominduksie.

Onlangs is 'n derde groep groeireguleerders, die sitokiniene geïdentifiseer wat almal die basiese purinering met vier N atome bevat. Die sitokiniene stimuleer veral seldeling en speel byvoorbeeld 'n belangrike rol by die ontwikkeling van die vrug. Dit besit ook 'n anti-verouderingseffek soos die stremming van chlorofil, nukleiënsuur- en proteïenafbreking in blare.

Met al die kennis wat ons vandag oor die werking van groeireguleerders besit blyk dit baie duidelik dat die groei en ontwikkeling van die plant grotendeels deur die tussenwerking van groeireguleerders beheer word. Uit hierdie kennis het talle praktiese toepassings van groeireguleerders in die tuinbou gevolg en is dit tans moontlik om verskeie groeifases te manipuleer om 'n bepaalde voordelige effek te kry. Ter illustrasie volg enkele voorbeelde. Stimulasie van wortelvorming by steggies; verbetering van vrugset; selektiewe onkruidbeheer; vervoeging van vrugrypwording en verbetering van kleur; beheer van vrugval; uitdun van vrugte.

### Slot

Daar is onlangs berig dat die ensiem nitraatreduktase wat by die eerste stap van nitraatreduksie in die plant betrokke is, onder genetiese beheer staan. Dit skep die moontlikheid om hoër ensiemaktiwiteit met gepaardgaande hoër pro-

teïenproduksie as basis vir toekomstige teelprogramme te gebruik. Sulke biochemies verbeterde cultivars sal toegediende N met groter doeltreffendheid kan benut.

Die voeding van 'n toenemende wêreldpopulasie hang baie nou saam met  $N_2$ -binding en die produksie van proteïene. Trouens,  $N_2$ -binding is net so belangrik as fotosintese veral omdat wêreldreserwes aan brandstowwe vinnig afneem en gevolglik indirek die chemiese produksie van N bepaal. Dit is nie onmoontlik nie dat die verwagte toekomstige tekort aan proteïene hoofsaaklik deur N-bindende peulplante aangevul sal moet word nie. Dit is ook belangrik dat die moontlikhede vir  $N_2$ -binding deur nie- $N_2$  bindende angiosperme, ondersoek word. Daar is reeds baie oor die eienskappe van nitrogenase in die wortelknoppies van peulplante bekend en die moontlike genetiese oorspraking van nitrogenase na ander hoër plante kan nie meer as wetenskaplike fiksie beskou word nie.

Ons huidige bemestingspraktyke is hoofsaaklik op veldproewe en die resultate van grond- en blaaranalises gebaseer. Die bekende prinsiep van beperkende faktore naamlik dat die groei van 'n plant deur die element wat in die minimum hoeveelheid teenwoordig is, bepaal word, bly nog altyd geldig. Toename in groei en produksie volg wanneer die toediening van 'n bepaalde element verhoog word, maar dit geld slegs totdat 'n kritiese peil bereik word. Op hierdie gebied is ons kennis oor die bemestingsbehoefte van plante nog baie beperk. Die maksimumproduksiepotensiaal van landboukundig belangrike plantspesies moet individueel bepaal word en hiervoor is gekontroleerde proewe met voedingsoplossings wat ook die invloed van faktore soos temperatuur en ligintensiteit insluit, baie nodig.