

Cu-, Zn- und Cd-Aneignungsvermögen von zwei Spinatgenotypen in Abhängigkeit von der P-Versorgung und Wurzelexsudation

Holger Keller¹ und Wilhelm Römer^{1*}

¹Institut für Agrikulturchemie, Georg-August-Universität, Von-Siebold-Str. 6, D-37075 Göttingen, Germany
Herrn Prof. Dr. *Gerhard Michael* zum 90. Geburtstag gewidmet

Angenommen: 7. Februar 2001

Zusammenfassung – Summary

Unterschiede in den Sprossgehalten an Cu, Zn und Cd bei 11 Spinatsorten veranlassten die nähere Untersuchung der zwei Sorten Tabu und Monnopa auf Kenngrößen des Cu-, Zn- und Cd-Aneignungsvermögens in Abhängigkeit von der P-Ernährung. Die Anzucht der Pflanzen hierzu erfolgte in einer P-armen Parabraunerde (pH: 6,3; Gesamtgehalte Cu: 89, Zn: 297, Cd: 2,4 mg kg⁻¹) mit zwei P-Niveaus in Gefäßen unter Freilandbedingungen.

Zur Ermittlung der Nettoaufnahmeraten, Wurzellängen/Sprossmasse-Verhältnisse und der Cu-, Zn- sowie Cd-Konzentrationen in den Bodenlösungen erfolgte die Ernte 26 bzw. 40 Tage nach der Saat. In einem separaten Experiment wurde die Wurzelexsudation organischer Säuren beider Sorten nach Anzucht in Quarzsand mit variiertem P-Angebot geprüft.

Beide Sorten reagierten auf die P-Düngung mit Verdoppelung der Sprossmasse. Beide Sorten zeigten bei +P (0,68–0,77% P in der TM) ähnliche SM-Gehalte der Sprosse, ähnliche Wurzellängen/Sprossmasse-Verhältnisse (WSV) und Elementaufnahmeraten der Wurzeln sowie gleiche Elementkonzentrationen in den Bodenlösungen. Bei P-Mangel zeigte Sorte Tabu (0,52% P in der TM) im Vergleich zur Sorte Monnopa (0,48% P in der TM) erhöhte Cu- und signifikant erhöhte Zn- und Cd-Gehalte in den Sprossen, sowie bei kleineren WSV aber auch erhöhte Nettoaufnahmeraten der Wurzeln. Letztere korrespondierten mit den unter der Sorte Tabu gemessenen höheren Elementkonzentrationen in der Bodenlösung des wurzelnahen Bodens sowie der höheren Exsudationsrate dieser Sorte an Oxalat, Citrat und Malat (3,9; 1,0; 0,7 nmol cm⁻¹ h⁻¹). Die entsprechenden Werte für Monnopa betragen: 1,7; 0,3; 0,4 nmol cm⁻¹ h⁻¹. Die höhere Cu-, Zn- und Cd-Löslichkeit, die durch die exsudierten organischen Säuren verursacht wurden, scheint für die höhere Nettoaufnahmerate der Sorte Tabu verantwortlich zu sein.

Cu, Zn, and Cd acquisition by two spinach cultivars depending on P nutrition and root exudation

Within a spectrum of 11 spinach cultivars (cvs) differences in the Cu, Zn, and Cd contents of shoots had been noticed. The aim of this study was therefore to analyze in more detail the acquisition of Cu, Zn, and Cd by the most differing cultivars (Tabu and Monnopa) in dependence on P nutrition. The plants were grown in a low phosphorus Luvisol (pH 6.3; total contents Cu: 89, Zn: 297, Cd: 2.4 mg kg⁻¹) with two phosphorus levels in pots under natural conditions. For the determination of inflow, root length/shoot weight ratio and of the Cu, Zn, and Cd concentration in the soil solution (rhizosphere) plants were harvested 26 and 40 days after sowing. Root exudation of organic acids of the two cvs was measured 35 days after growing in quartz sand with different P supply.

Both cultivars responded to P fertilizer by doubling their shoot weight. With increased P supply (0.68–0.77% P in shoot-DM) both cultivars showed similar heavy metal contents in the shoot resulting from similar root length/shoot weight ratios (RSR) and net uptake rates of the three elements as well as the same element concentrations in the rhizosphere soil solution. Under P deficiency, however, cv. Tabu (0.52% P in shoot-DM) showed in comparison with cv. Monnopa (0.48% P) higher Cu, Zn, and Cd contents of shoots although its RSR was smaller than that of cv. Monnopa. However, the inflow for Cu was higher and for Zn and Cd significantly higher compared with cv. Monnopa. This result of cv. Tabu corresponded with higher concentrations of Cu, Zn, and Cd of its rhizosphere soil solution, and its higher exudation rates of oxalate, citrate, and malate (3.9; 1.0; 0.7 nmol cm⁻¹ h⁻¹). The corresponding values for cv. Monnopa were: 1.7; 0.3; 0.4 nmol cm⁻¹ h⁻¹. The mobilization of Cu, Zn, and Cd by the excreted organic acids seems to be responsible for the higher Cu, Zn, and Cd inflow of cv. Tabu.

Key words: spinach cultivars / heavy metal acquisition / net uptake rate of Cu, Zn, Cd / root length-shoot weight ratio / exudation of organic acids

1 Einleitung

Vor 60–70 Jahren beschäftigte sich die Agrikulturchemie u.a. mit P-haltigen Inhaltsstoffen in der Spinatpflanze, die durch die Düngung mit dem Makronährstoff Phosphat beeinflusst wurden (*Michael*, 1939). Heute sind es bestimmte Mikronährstoffe und Schadstoffe mit Schwerm-

talcharakter, die bei Spinat aus ernährungsphysiologischer Sicht des Menschen wichtig geworden sind. Dabei ist interessant, dass offenbar die Schwermetallgehalte in den Sprossen relativ eng mit der P-Ernährung verbunden sind und wissenschaftlicher Klärung bedürfen. In früheren Untersuchungen hatte sich eine beträchtliche Variabilität in den Schwermetallgehalten von Spinatsprossen herausgestellt (*Fisahn et al.*, 1995; *Römer et al.*, 1998; *Keller*, 2000). Sie könnte z.B. genutzt werden, Sorten mit niedrigen Cd-

* Correspondence: Prof. Dr. W. Römer; E-mail: uaac@gwdg.de

Gehalten anzubauen bzw. weiter zu selektieren, denn der Anbau solcher Gemüsesorten wird als gangbarer Weg angesehen, die tägliche Cd-Aufnahme mit der Nahrung deutlich zu reduzieren (Metz und Kloke, 1998). Wären die Ursachen bzw. die geeigneten Selektionsparameter für geringe Schwermetall (SM)-Gehalte in den Pflanzenteilen, die dem Verzehr unterliegen, bekannt, wäre die Selektion zielgerichteter möglich. Die in die Pflanzen aufgenommene Menge eines Nährstoffes bzw. auch eines Schadstoffes wie Cd hängt neben der chemischen und räumlichen Verfügbarkeit im Boden vom Aneignungsvermögen der Pflanzenarten und -sorten ab (Jungk und Claassen, 1989; Claassen, 1990). Letzteres umfasst neben dem Wurzellängen / Sprossmasse-Verhältnis (WSV), der Nettoaufnahme rate je Wurzellängeneinheit (= Inflow nach Tinker und Nye, 2000) und der Aufnahmedauer auch die Verlagerungsrate in den Spross. Bei Makronährstoffen wie N, P und K wird der Inflow sowohl für eine kurze Zeit (Stunden) als auch für eine längere Dauer (Tage, Wochen) auf der Basis der Nährstoffmengen allein in den Sprossen berechnet, die man zu den entsprechenden Erntezeitpunkten messen kann. Das ist deshalb möglich, weil diese Nährstoffe aufgenommen und schnell in die Sprosse verlagert werden (Michael et al., 1965; Römer, 1985), wobei häufig weniger als 10% der in der Gesamtpflanze befindlichen Elemente in den Wurzeln verbleiben. Bei Berechnung der N-, P- oder K-Aufnahmeraten der Wurzeln wird somit durch den Verzicht auf die Berücksichtigung der Nährstoffmengen in den Wurzeln nur ein kleiner Fehler gemacht. Für die Elemente Cu, Zn und Cd trifft das nicht zu. So waren bei 11 Spinatsorten die Cu-Gehalte der Wurzelmassen bis 23mal, bei Zn 1,5mal und bei Cd 3mal höher als in der Sprossmasse (Keller, 2000). Padeken (1998) fand für eine Spinatsorte noch größere Differenzen bei Cu und Zn, d.h., von den drei SM verbleiben beträchtliche Mengen in der Wurzelmasse. Deshalb erscheint es sinnvoll, für diese Schwermetalle (SM) den Inflow in zweifacher Weise zu berechnen: erstens als Gesamtinflow, bei dem die SM sowohl im Spross als auch in der Wurzel berücksichtigt werden und zweitens als Sprossinflow. Dieser Wert beinhaltet die SM-Menge, die im fraglichen Zeitraum von der Wurzel aufgenommen und in den Spross verlagert wurde.

Es war das Ziel der Arbeit, mehrere Kenngrößen des Aneignungsvermögens für Cu, Zn und Cd für zwei Sorten (Tabu, Monnopa) aus dem Spektrum von 11 niederländischen und deutschen Spinatsorten, die in mehreren Untersuchungen (Keller, 2000; Römer et al., 1998) deutliche Unterschiede in den SM-Gehalten gezeigt hatten, näher zu bestimmen. Die Untersuchungen wurden bei einem variierten Phosphatangebot durchgeführt, da aus Arbeiten von Gerke et al. (1994) und Neumann et al. (1995) bekannt war, dass die Löslichkeit von einigen SM und Al in der Rhizosphäre von Weißblupinen infolge der Exsudation organischer Säuren bei P-Mangelpflanzen erhöht war. Außerdem ist diese Exsudation bei variiertem P-Angebot genotypisch unterschiedlich (Egle et al., 1999). Es war somit für die zwei Spinatsorten zu erwarten, dass bei P-Unterversorgung eventuell deutlichere Sortenunterschiede in der Schwermetallaufnahme auftreten als bei optimaler P-Ernäh-

rung. Deshalb wurde auch die Exsudation organischer Säuren der zwei Sorten nach Anzucht bei gestaffeltem P-Angebot in einem getrennten Experiment untersucht.

2 Material und Methoden

2.1 Experiment zur Charakterisierung des Cu-, Zn- und Cd-Aneignungsvermögens

2.1.1 Anzuchtbedingungen und Aufarbeitung des Erntegutes

Die Anzucht der Spinatsorten Monnopa und Tabu erfolgte in 3-Liter-Gefäßen unter freilandähnlichen Bedingungen in einer Vegetationshalle. Der verwendete Lößlehm Boden (Ap-Horizont, Parzelle 15 Jahre ohne P) aus Börry (Süd-niedersachsen, Tab. 1) wurde vorher mit Schwermetallen (Cu als Kupfersulfat, Zn als Zinksulfat und Cd als Cadmiumnitrat) so versetzt, dass der Boden für jedes Element die Grenzwerte der Klärschlammverordnung (Anonym, 1992) um den Faktor 1,5 überschritt. Anschließend wurde er für 4 Monate in feuchtem Zustand (ca. 20 Gewichtsprozent Wasser) zur Einstellung eines Gleichgewichts in der Vegetationshalle gelagert und mehrmals durchmischt. Eine Analyse der Schwermetallgehalte in einzelnen Fraktionen zeigt Tab. 2. Zur Befüllung der Gefäße wurde eine Mischung aus 2,5 kg Boden und 800 g Quarzsand hergestellt und mit 400 mg Stickstoff als NH_4NO_3 und 400 mg Kalium als K_2SO_4 aufgedüngt. Außerdem wurde eine gestaffelte P-Düngung durchgeführt, indem bei der -P-Variante kein und bei der +P-Variante 200 mg P je Gefäß als CaHPO_4 zur Anwendung kamen. Die Einstellung des Wassergehaltes erfolgte auf 70% der maximalen Wasserkapazität mit entmineralisiertem Wasser. Nach 7 Tagen wurden jeweils 12 Samen pro Gefäß der Spinatsorten Monnopa und Tabu gesät und nach Aufgang auf 4 Pflanzen pro Gefäß vereinzelt. Zur Berechnung des Elementinflows erfolgten 2 Ernten: 26 Tage und 40 Tage nach der Aussaat.

Zur Ernte wurden die Sprosse abgeschnitten, getrocknet (105°C), gewogen, gemahlen und der Analyse zugeführt. Die Wurzeln wurden nach dem Auskippen des Bodens aus den Gefäßen vorsichtig dem Boden entnommen und mit dem anhaftenden Boden (= Rhizosphärenboden) in 250 ml Plastik-Messzylinder überführt und durch leichtes Aufstauchen so gelagert, dass sich keine größeren Hohlräume in den „Bodensäulen“ bildeten. Anschließend wurde Wasser auf diese „Bodensäulen“ getropft, um das Bodenwasser aus dem Rhizosphärenboden herauszudrängen. Es wird als sogenannte Verdrängungsbodenlösung aus dem Messzylinder, der am Boden eine Öffnung enthält, die mit Filterpapier abgedeckt ist, aufgefangen. Die Methode ist bei Adams (1974) beschrieben. Parallel wurde solche Bodenlösung auch aus Boden von Gefäßen ohne Pflanzen (Kontrollgefäßen) gewonnen. Anschließend sind die Wurzeln insgesamt ausgewaschen und die Längen mit der Linienschnittmethode nach Newman (1966) bestimmt worden. Aliquote Anteile wurden getrocknet und die Wurzelmasse sowie deren SM-Gehalte ermittelt.

2.1.2 Analysenmethoden und berechnete Pflanzenkenngrößen

Die Elementbestimmung erfolgte durch nasse Veraschung der getrockneten Spross- und Wurzelmasse (0,2 g TS, 4 ml 65%ige HNO_3 , 175°C, 12 h, Druckaufschluss in Teflongefäßen). Die Aufnahme der Aschelösung erfolgte in 10 ml und die Messung der drei Elemente mit der Flammen-AAS bzw. GF-AAS. Die Schwermetalle in den Bodenlösungen wurden nach Filtration (0,45 µm) ebenfalls direkt mittels Flammen- bzw. GF-AAS gemessen. P-Gehalte wurden spektralphotometrisch in Anlehnung an Scheffer und Pajenkamp (1952) bestimmt. Die Wurzellängen / Spross-

Tabelle 1: Kenngrößen des verwendeten Bodens (Luvisol)**Table 1:** Characteristics of the experimental soil (Luvisol)

Horizont	Ton	Schluff	Sand	C _{org}	pH	CAL-P
	%	%	%	%	CaCl ₂	mg P kg ⁻¹
Ap	20	75	5	1,1	6,4	24

CAL = Calciumlactatacetate-Extraktion (Schüller, 1969)

masse-Verhältnisse (WSV) ergaben sich aus den Wurzellängen und Sprossmassen je Gefäß. Die Inflow-Werte werden berechnet nach Williams (1948) bzw. Claassen (1990) als mittlere Nettoaufnahme je cm Wurzellänge für den Zeitraum zwischen den zwei Ernteterminen, also zwischen dem 26. und dem 40. Tag. Bei dem Gesamtinflow wird die Differenz der SM-Mengen der Gesamtpflanze (Wurzel plus Spross) zwischen den zwei Ernteterminen berücksichtigt, beim Sprossinflow nur die Differenz in den SM-Mengen der Sprosse.

2.2 Experiment zur Exsudation

2.2.1 Anzucht der Pflanzen

Die zwei Spinatsorten Tabu und Monnopa wuchsen 35 Tage in 2,5 l Gefäßen in der Klimakammer (Tag/Nacht-Rhythmus: 12/12 h; Temperatur: 20/15°C; rel. Luftfeuchte: 70%, photosynthetisch aktive Strahlung: 240 µE m⁻²s⁻¹). Das Substrat war Quarzsand. Die Nährstoffzufuhr erfolgte nach Hoagland und Snyder (Schropp, 1951). P war gestaffelt: -P = 6 mg kg⁻¹, +P = 12 mg kg⁻¹. Es gab 4 Wiederholungen mit 6 Pflanzen pro Gefäß. Gegossen wurde auf 70% der max. Wasserkapazität.

2.2.2 Gewinnung der Exsudate und deren Analyse

Die Gewinnung und Analyse der Exsudate folgte in Anlehnung an Gerke (1995). Die Wurzeln wurden vorsichtig aus den Gefäßen ausgewaschen und in Erlenmeyer-Kolben mit entmineralisiertem Wasser transferiert und mit einem Luftstrom belüftet. Die Kolben waren mit Aluminiumfolie umhüllt, um eine Belichtung der Wurzeln zu vermeiden. Eine Stunde nach dem Transfer wurde die Lösung gewechselt und die erste Lösung verworfen (Artefakte durch eventuell beschädigte Wurzeln). Danach blieben die Wurzeln für weitere 2 Stunden in den Erlenmeyer-Kolben für die Exsudation. Anschließend wurde die Lösung filtriert (Faltenfilter Nr. 602 h 1/2, Fa. Schleicher und Schüll), aufkonzentriert (Festphasenextraktion) und mittels HPLC analysiert. Die Trennung beruht auf dem Prinzip der Anionenausschlusschromatographie (Details siehe Keller, 2000). Die Sprosse der Pflanzen wurden auf ihre Trockenmasse und P-Gehalte analysiert (Scheffer und Pajenkamp, 1952) und die Wurzellänge nach der „line intersect method“ bestimmt (Newman, 1966). Die Exsudationsrate wurde in nmol cm⁻¹ h⁻¹ berechnet.

3 Ergebnisse

3.1 Trockenmassebildung, P-Gehalte der Sprosse und Wurzelmorphologie

Durch die unterschiedlich hohe P-Düngung (+P bzw. -P) zeigten sich in allen Varianten, unabhängig von der Kultivierungsdauer, signifikante Ertragsunterschiede zwischen den P-Stufen für beide Sorten (Tab. 3). Die P-Düngung führte hierbei zu einer Verdoppelung des Trockenmasseertrages. Die Ertragsniveaus der Sorten innerhalb der P-Stufen unterschieden sich jedoch nicht signifikant. Vergleicht man

Tabelle 2: Gesamtschwermetallgehalte und die mobilen und leicht nachlieferbaren Fraktionen nach Zeien (1995) des Boden-Sandgemisches Börry.**Table 2:** The total, NH₄NO₃- and NH₄ acetate-soluble element contents of the soil / sand mixture (after Zeien, 1995).

	Cu	Zn	Cd
	[mg kg ⁻¹]		
Gesamtgehalte	89	297	2,4
1. Fraktion (mobil) ¹	1,6	11	0,25
2. Fraktion (leicht nachlieferbar) ²	9	84	0,75

¹ = 1M NH₄NO₃-Extrakt

² = 1M NH₄OAc-Extrakt

Tabelle 3: Sprosstrockenmassen (TM), Wurzellängen (WL), Wurzel/Spross-Verhältnisse (WSV) und P-Gehalte in den Sprossen der Spinatsorten Monnopa und Tabu bei unterschiedlicher P-Ernährung (+P = hoch; -P = niedrig) für 26 Tage (1. Ernte) bzw. 40 Tage (2. Ernte) (signifikante Unterschiede der untersuchten Parameter innerhalb der Varianten sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet, Tukey_{0,05}).**Table 3:** Shoot DM (TM), root length (WL), root length / shoot weight-ratio (WSV) and P content of shoot DM of two spinach cvs at two P levels. First harvest 26 days, second harvest 40 days after sowing; different letters show significant differences with Tukey test at p = 0.05.

			TM	WL	WSV	P-Gehalt
			[g]	[m]	[m g ⁻¹]	Sprosse [%]
1. Ernte	+P	Monnopa	0,89 ^b	51 ^a	59 ^a	0,70 ^b
		Tabu	0,91 ^b	60 ^b	66 ^{ab}	0,70 ^b
	-P	Monnopa	0,56 ^a	46 ^a	82 ^b	0,37 ^a
		Tabu	0,56 ^a	45 ^a	83 ^b	0,39 ^a
2. Ernte	+P	Monnopa	6,23 ^b	278 ^a	45 ^a	0,68 ^b
		Tabu	6,99 ^b	373 ^b	54 ^{ab}	0,77 ^b
	-P	Monnopa	3,46 ^a	268 ^a	77 ^c	0,48 ^a
		Tabu	3,78 ^a	240 ^a	63 ^b	0,52 ^a

die P-Gehalte der Sprosse mit und ohne P-Düngung, so finden sich in allen Varianten signifikante Unterschiede bei beiden Sorten. Damit war das Versuchsziel, Pflanzen mit unterschiedlichem P-Ernährungszustand zu erzeugen, erfüllt.

Durch die Staffelung der P-Düngung wurde auch das Wurzelwachstum beeinflusst. Der P-Mangel führte zu einer Verringerung des Wurzelwachstums (Wurzellänge), die allerdings nur für die Sorte Tabu in allen Varianten signifikant war. Auch das WSV stieg bei beiden Sorten unter P-Mangelbedingungen an. Für die Sorte Monnopa ergaben sich hierbei signifikante Unterschiede in allen Varianten während für Sorte Tabu der Trend nicht statistisch absicherbar war. Weiterhin wies Sorte Monnopa bei vergleichbarem Trockenmasseertrag nach 40 Tagen (2. Ernte) in der P-Mangelvariante ein signifikant höheres WSV auf als Tabu.

3.2 Schwermetallgehalte in den Sprossen

Sowohl nach 26 Tagen (1. Ernte, Tab. 4) als auch nach 40 Tagen (2. Ernte, Abb. 1) zeigten sich bei hoher P-Versorgung zwischen den Sorten Monnopa und Tabu keine

Tabelle 4: Schwermetallgehalte in den Sprosstrockenmassen der Spinatsorten Monnopa und Tabu bei Anzucht für 26 Tage (1. Ernte) (signifikante Unterschiede innerhalb der Varianten sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet, Tukey_{0,05}).

Table 4: Heavy metal content of shoot DM of the two spinach cv. for 26 days old plants (first harvest); different letters show significant differences with the Tukey test at $p = 0.05$.

			Cu	Zn	Cd
			[mg kg ⁻¹]		
1. Ernte	+P	Monnopa	24,2 ^a	349 ^a	7,4 ^{ab}
		Tabu	22,5 ^a	349 ^a	6,6 ^a
	-P	Monnopa	28,5 ^b	466 ^b	9,0 ^c
		Tabu	29,5 ^b	526 ^c	9,4 ^c

signifikanten Unterschiede in den SM-Gehalten der Sprosse. Bei niedriger P-Versorgung fanden sich in der Sorte Tabu zu beiden Ernteterminen höhere Schwermetallgehalte als in der Sorte Monnopa. Hierbei unterschieden sich die Zn-Gehalte zur 1. Ernte signifikant voneinander (Tab. 4), und zur 2. Ernte waren neben den Zn-Gehalten auch die Cd-Gehalte der Sorte Tabu signifikant höher als bei der Sorte Monnopa (Abb. 1).

3.3 Schwermetallinflow in Abhängigkeit von der P-Ernährung

In Abb. 2 sind die Werte des Gesamtinflows und des Sprossinflows der drei Schwermetalle zwischen dem 26. und dem 40. Vegetationstag in Abhängigkeit von der P-Ernährung dargestellt. Aus diesen Werten ergeben sich die relativen Anteile des Sprossinflows am Gesamtinflow und damit Aussagen über den Anteil der Schwermetalle, der von den Wurzeln aufgenommen und in den Spross verlagert wurde. Während dies bei P 97%–98% waren (nicht dargestellt), lagen die Werte bei Cu zwischen 31% und 35%, bei Zn zwischen 82% und 86%, sowie bei Cd zwischen 63% und 79%. Das bedeutet, dass bei den Schwermetallen tatsächlich wesentlich größere Anteile in den Wurzeln zurückblieben als bei P. Der Einfluss der P-Ernährung auf die Verteilung der Schwermetalle innerhalb der Pflanzen war relativ gering. Vergleicht man die 2 Sorten bezüglich ihres Gesamt- bzw. Sprossinflows, so zeigt sich, dass bei ausreichender P-Er-

nährung weder für Cu noch für Zn oder Cd signifikante Differenzen auftraten. Bei niedriger P-Versorgung jedoch waren die Cu-, Zn- und Cd-Inflow-Werte bei der Sorte Tabu immer höher als bei der Sorte Monnopa, wobei sie sich sowohl beim Gesamt- als auch beim Sprossinflow für Zn und Cd signifikant voneinander unterscheiden.

Betrachtet man die Änderung des Schwermetallinflows bei den Sorten infolge der unterschiedlichen P-Ernährung, so zeigten sich deutlich Sortenunterschiede. Bei Monnopa lagen die Inflow-Werte in der P-Mangelvariante für alle 3 Elemente signifikant unter denen der +P-Variante. Die Cu- und Cd-Inflow-Werte lagen zwar auch bei der Sorte Tabu in der Mangelvariante etwas niedriger als in der mit P gedüngten Variante, unterschieden sich davon aber nicht signifikant.

Insgesamt zeigt sich also, dass die Sorte Monnopa bei reduziertem P-Angebot sowohl den Gesamtinflow als auch den Sprossinflow für alle drei Schwermetalle signifikant reduzierte. Dagegen realisierte die Sorte Tabu offenbar unabhängig von der P-Ernährung nahezu gleich hohe Gesamt- und Spross-Inflow-Werte für alle drei Elemente.

3.4 pH-Werte und Cu-, Zn- sowie Cd-Konzentrationen in den Rhizosphärenbodenlösungen

Im wurzelnahen Boden stiegen die pH-Werte gegenüber den pH-Werten im Boden ohne Pflanzen (pH 7,2) um wenige Zehntel an. Dies gilt für beide Düngevarianten, wobei zwischen den Spinatsorten keine Unterschiede festzustellen waren (nicht dargestellt). In den Rhizosphärenbodenlösungen der Sorten Monnopa und Tabu waren unabhängig von der P-Versorgung gegenüber der Kontrolle signifikant höhere Cu-Konzentrationen zu finden (Abb. 3). Die Konzentration der Rhizosphärenbodenlösung bei Sorte Tabu lag jedoch signifikant über der von Sorte Monnopa.

Auch bei Zn konnten in der mit P gedüngten Variante keine signifikanten Unterschiede zwischen den Rhizosphärenbodenlösungen der beiden Sorten gefunden werden. Gegenüber der Kontrolle lagen die Werte aber im Gegensatz zum Cu signifikant niedriger. In der P-Mangelvariante lag die Zn-Konzentration der Rhizosphärenbodenlösung von Sorte Tabu dagegen signifikant höher als bei Sorte Monnopa und unterschied sich auch signifikant von der Kontrolle. Die

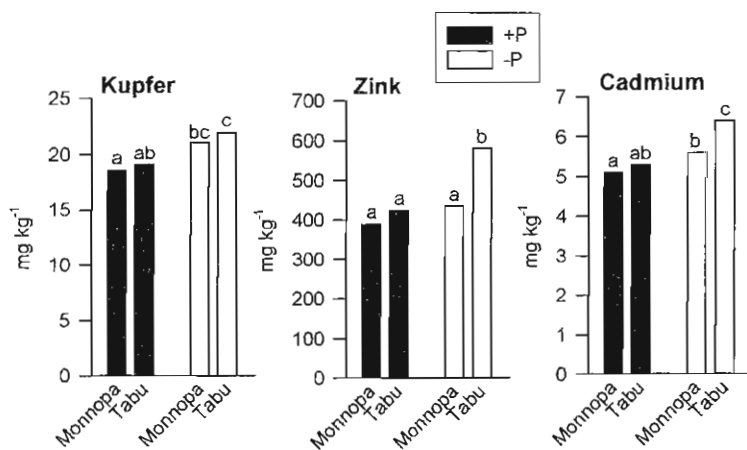


Abbildung 1: Cu-, Zn- und Cd-Gehalte in den Sprossen der Spinatsorten Monnopa und Tabu nach Anzucht für 40 Tage (2. Ernte) unter Freilandbedingungen (signifikante Unterschiede in den Gehalten sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet, Tukey-Test bei $p = 0,05$).

Figure 1: Cu, Zn, and Cd content of shoots of two spinach cvs. 40 days after sowing (second harvest). Different letters show significant differences with the Tukey test at $p = 0.05$.

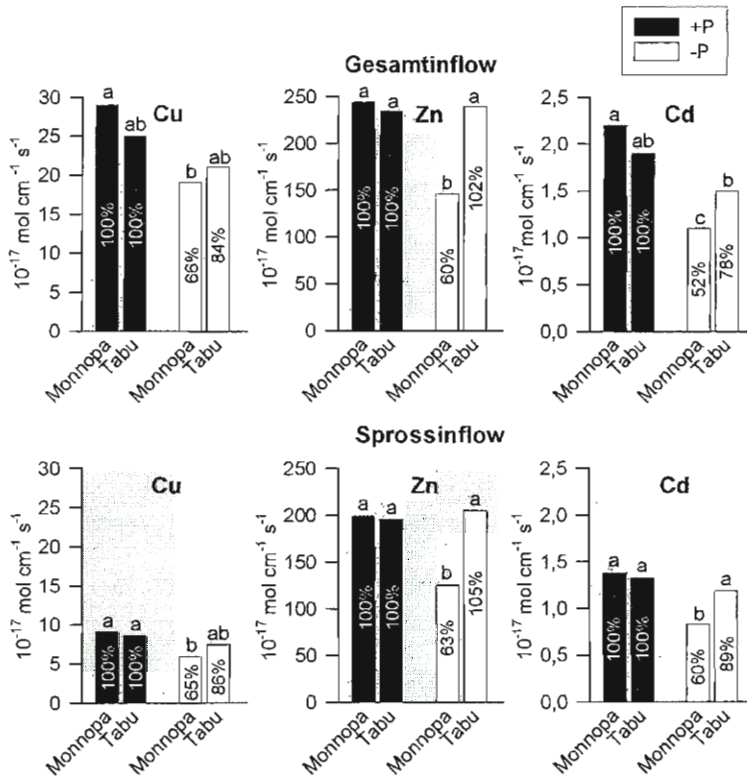


Abbildung 2: Gesamt- und Sprossnettoaufnahmeraten für Cu, Zn und Cd zwischen dem 26. und 40. Tag der Wachstumsperiode bei unterschiedlichem P-Ernährungszustand (signifikante Unterschiede sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet, Tukey-Test bei $p = 0,05$).

Figure 2: Total net uptake rate and shoot uptake rate of Cu, Zn, and Cd between day 26 and day 40 at two P levels. Different letters show significant difference with Tukey test at $p = 0.05$.

Sorte Monnopa und die Kontrolle unterschieden sich jedoch nicht voneinander.

Beim Cd konnten bei den Bodenlösungskonzentrationen in der +P-Variante keine signifikanten Unterschiede zwischen den Sorten oder zur Kontrolle gefunden werden. Unter P-Mangel verhielten sich die Cd-Konzentrationen ähnlich denen von Zn. Die Cd-Konzentration in der Rhizosphärenbodenlösung von Sorte Monnopa unterschied sich nicht von der Kontrolle, während diese bei Sorte Tabu fast doppelt so hoch war.

Insgesamt ergibt sich, dass sich die Schwermetallkonzentrationen in den Rhizosphärenbodenlösungen der Spinatsorten Monnopa und Tabu bei ausreichender P-Versorgung nicht wesentlich voneinander unterschieden. Unter P-Mangel waren die Konzentrationen in der Rhizosphärenbodenlösung von Sorte Tabu allerdings für Cu, Zn und Cd signifikant höher als bei Sorte Monnopa.

3.5 Exsudation der zwei Sorten bei variiertem P-Ernährung

Die mit 12 mg P kg^{-1} angezogenen Pflanzen hatten ca. 7 g Sprossmasse pro Gefäß bei 0,35 bis 0,40% P in der Trockenmasse und ein Wurzellängen/Sprossmasse-Verhältnis (WSV) von ca. 20 m g^{-1} gebildet. Die mit nur 6 mg P kg^{-1} kultivierten Pflanzen bildeten nur 1 g Sprossmasse pro Gefäß mit 0,14% P und einem WSV von ca. 53 m g^{-1} . Diese Pflanzen zeigten eine deutliche P-Unterversorgung.

Tab. 5 zeigt, dass das Spektrum der exsudierten Säuren bei beiden Sorten sehr ähnlich war, dass es aber quantitative Differenzen gab. Das dominierende Anion war Oxalat, gefolgt von der Gruppe Citrat, Malat, Lactat und Succinat.

Die restlichen Anionen lagen in sehr geringen Mengen vor, bzw. waren nicht nachweisbar. Bemerkenswert ist aber, dass Sorte Tabu signifikant mehr Oxalat, Citrat und Malat exsudierte als Sorte Monnopa. Außerdem war bei beiden Sorten in den Pflanzen mit eindeutiger P-Unterversorgung die Exsudation an Oxalat und Citrat signifikant erhöht.

4 Diskussion

Die eingangs gestellte Frage, ob sich morphologische oder physiologische Pflanzenparameter finden lassen, die für eine gezielte züchterische Bearbeitung in Richtung auf niedrige Schwermetallgehalte, insbesondere Cd, in den Sprossen geeignet sind, kann auch mit den hier vorgelegten Resultaten nicht klar beantwortet werden. Zwar gibt es beträchtliche Sortendifferenzen in den SM-Gehalten von Spinat und anderen Gemüsearten (Isermann et al., 1984; Lübben, 1991; Fisahn et al., 1995; Römer et al., 1998; Keller, 2000), die das Auffinden solcher Parameter erwarten lassen, aber offenbar gibt es Umwelteinflüsse, die die Ausprägung der Eigenschaften „SM-Gehalt des Sprosses“ stark modifizieren. So beklagten Yuran und Harrison (1986) die ungenügende Reproduzierbarkeit von Rangfolgen der Sorten beim Anbau in aufeinanderfolgenden Jahren. Bei Anzucht unter Klimakammerbedingungen waren die Sortenunterschiede von 10 Sorten allerdings gut reproduzierbar (Römer et al., 1998). Keller (2000) baute dieselben Sorten wie Römer et al. (1998) unter Freilandbedingungen an, beobachtete aber, dass z. B. die Sorte Spicer in der Rangfolge der Cd-Gehalte eine viel ungünstigere Position einnahm als bei Römer et al. (1998). Unterschiedliche Temperatur und Feuchteregime (Transpirationsintensität) bei der Anzucht der Pflanzen könnten

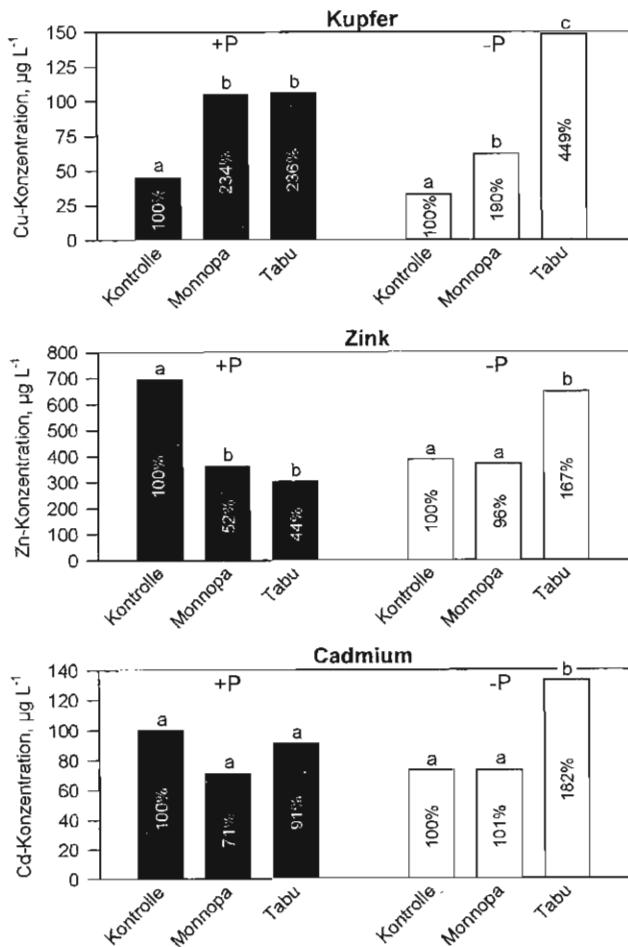


Abbildung 3: Cu-, Zn- und Cd-Konzentrationen in den Rhizosphärenbodenlösungen nach Anzucht der Spinatpflanzen für 40 Tage im Vergleich zur Bodenlösung aus der unbepflanzten Kontrolle (signifikante Unterschiede sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet, Tukey-Test bei $p = 0,05$; +P und -P-Varianten sind getrennt berechnet). **Figure 3:** Cu, Zn, and Cd concentration of rhizospheric soil solution and from soil without plants (Kontrolle) at two P levels 40 days after sowing. Different letters show significant difference with Tukey test at $p = 0,05$.

Aufnahme und Verlagerung von Cd im Spross sortenbedingt modifizieren und so die Reproduzierbarkeit beeinträchtigen. Solche Wirkungen sind u. a. für Kationen wie Ca (Michael und Marschner, 1962) und für Cd (Hardiman und Banin, 1982) belegt. Ein hier zu diskutierender weiterer Einfluss resultiert aus der P-Ernährung. Bleiben die P-Gehalte in den Sprossen bei Sorte Monnopa unter 0,48% und bei Tabu unter 0,52%, so sind die Zn- und Cd-Gehalte bei Sorte Tabu stets signifikant höher als bei Sorte Monnopa. Nach Bergmann (1993) liegt bei diesen P-Gehalten etwa der kritische Ertragsgrenzwert. Erreichen die P-Gehalte aber von beiden Sorten Werte von $\geq 0,70\%$, so zeigt die Sorte Tabu im hiesigen Experiment nur noch tendenziell höhere Cu-, Zn- und Cd-Gehalte. Daraus ergibt sich der Schluss, dass eine ausreichend hohe P-Versorgung der Pflanzen eine vielleicht generelle Voraussetzung für relativ niedrige SM-Gehalte der Sprosse ist und dies in Screeningexperimenten mit Sorten zu beachten ist. Auf alle Fälle müssen Resultate aus Klimakammerexperimenten im Freiland überprüft werden.

Tabelle 5: Ausscheidungsrate organischer Säuren bei den Spinatsorten Monnopa und Tabu in Abhängigkeit von der P-Versorgung (-P = 6 mg P kg^{-1} und +P = 12 mg P kg^{-1} Quarzsand). Werte mit unterschiedlichen Buchstaben im horizontalen Vergleich unterscheiden sich signifikant im Tukey-Test bei $p = 0,05$.

Table 5: Exudation rate of organic acids of two cv. Monnopa and Tabu depending on P supply (quartz sand: -P treatment = 6 mg P kg^{-1} , +P treatment = 12 mg P kg^{-1}). Comparing the values of the same acid the different letters show significant differences at $p = 0,05$, Tukey test.

Organische Säuren	Organic acid	Monnopa		Tabu	
		+P	-P	+P	-P
		[nmol $\text{cm}^{-1} \text{h}^{-1}$]			
Oxalsäure	oxalic	1,08 ^a	1,70 ^b	2,76 ^c	3,91 ^d
Citronensäure	citric	0,22 ^a	0,31 ^b	0,69 ^c	0,95 ^d
Weinsäure	tartaric	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
2-Oxoglutarinsäure	2-oxoglutaric	0,01 ^a	0,01 ^a	0,01 ^{ab}	0,02 ^b
Äpfelsäure	malic	0,31 ^a	0,36 ^a	0,63 ^b	0,68 ^b
Brenztraubensäure	pyruvic	0,03 ^a	0,06 ^{ab}	0,06 ^{ab}	0,08 ^b
Malonsäure	malonic	0,05 ^a	0,26 ^b	0,08 ^a	0,25 ^b
t-Aconitsäure	t-aconic	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Bernsteinsäure	succinic	0,12 ^a	0,17 ^{ab}	0,22 ^b	0,29 ^b
Milchsäure	lactic	0,27 ^a	0,53 ^b	0,45 ^b	0,48 ^b
Ameisensäure	formic	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Glutarsäure	glutaric	n.n.	n.n.	0,07 ^a	0,10 ^a
Essigsäure	acetic	0,07 ^a	0,03 ^a	0,11 ^b	0,13 ^b
Fumarsäure	fumaric	0,01 ^a	0,02 ^a	0,02 ^a	0,02 ^a

n.n. = nicht nachweisbar

Trotz dieser Probleme bezüglich der Reproduzierbarkeit der SM-Gehalte bleibt bemerkenswert, dass hier und bei Keller (2000) unter P-Mangelbedingungen die Sorte Tabu tendenziell höhere Cu- und signifikant höhere Zn- und Cd-Sprossgehalte aufwies (Abb. 1). Als Ursache scheiden ein größeres W/S-Verhältnis und eine erhöhte Verlagerung aus (Tab. 3, Abb. 2). Aber Tabu zeigte unter P-Mangel höhere Gesamtinflow- und Sprossinflow-Werte als Monnopa (Abb. 2). Parallel dazu waren auch die Cu-, Zn- und Cd-Konzentrationen in den Bodenlösungen im wurzelnahen Boden unter der Sorte Tabu signifikant erhöht (Abb. 3). Offenbar steht diese höhere SM-Löslichkeit mit der Exsudation organischer Anionen der Wurzeln in Zusammenhang. Die entsprechenden Messungen an den zwei Sorten ergaben, dass bei P-Mangel Sorte Tabu eine sehr hohe Exsudationsrate von Oxalat, Citrat und Malat zeigte (Tab. 5). Die höheren Cu-, Zn- und Cd-Gehalte der Sorte Tabu korrespondieren also mit deren höheren SM-Konzentrationen in der Bodenlösung, die offenbar eine Folge der erhöhten Säureexsudation ist. Geht man davon aus, dass das Oxalat, das auch von der mit Spinat botanisch verwandten Zuckerrübe in hohen Raten exsudiert wird (Beißner und Römer, 1998), in dem hier benutzten Boden weitgehend von Ca-Ionen gefällt wird, so bleiben aus dem Spektrum der gemessenen organischen Säuren (Tab. 5) als wesentliche Anionen für die Komplexbildung der verbliebenen Ca-, aber auch der zweiwertigen Cu-, Zn- und Cd-Ionen das Citrat und Malat übrig. Naidu und Harter (1998) haben die wirksame Komplexbildung von Cd durch Citrat im Boden mit pH-Werten über 7 belegt. Sie dürfte also auch im vorliegenden Boden stattgefunden haben. Gerke et al. (1999) haben in

Wurzelnähe von Lupinen Citratkonzentrationen in der Bodenlösung eines humosen Sandbodens bis zu 1 mM gefunden. Solche Konzentrationen lassen auf der Basis von Stabilitätskonstanten nach *Martell* und *Smith* (1989) zumindest in Nährlösungen (wo keine Huminsäuren vorliegen) einen Anteil von komplexiertem Cu zu 99,9%, Zn zu 98,9% und Cd zu 84,9% in der Nährlösung erwarten. Ob aber eine Pflanze unter diesen komplexierenden Bedingungen die SM erleichtert aufnehmen kann oder nicht, bleibt eine offene Frage. *Mench* und *Martin* (1991) postulierten einen Zusammenhang zwischen der höheren Cd-Aufnahme von *Nicotiana tabacum* und einer höheren Cd-Löslichkeit in dessen Rhizosphäre im Vergleich zu anderen Arten. Aber *Barber* und *Lee* (1974) beobachteten bei Gerste in Nährlösungen, dass Zn aus Zn-EDTA-Komplexen weniger rasch aufgenommen wurde als aus ZnSO₄-Lösungen. Für Bohnen beobachtete *Wallace* (1980a) ähnliches, wenn DTPA (Diethylen-triamin-pentaacetat) als Chelator benutzt wurde. Aus dem Verhalten von Pflanzen in Nährlösungen auf das im Boden zu schließen, ist schwierig. In belüfteten Nährlösungen spielen Diffusionsprozesse wie sie für Cu und Zn im Boden zutreffen (*Barber*, 1995) keine Rolle. Wenn eine direkte Aufnahme der Metalle aus Citratkomplexen z. B. erschwert sein sollte (z. B. bei Cu und Zn für Lupinen nachgewiesen, *Egle*, pers. Mitteilung), so ist aber zumindest an eine erleichterte Diffusion der komplexierten Metalle zur Wurzel zu denken (*Elgawhary* et al., 1970). Wurde z. B. DTPA dem Boden zugegeben, so war tatsächlich die Aufnahme von Zn, Cu, Fe und Ni bei Bohnen erhöht (*Wallace*, 1980b). Eine Aufklärung der sich in der Rhizosphäre bildenden Metallspezies und ihre Relevanz für die Pflanze müsste erfolgen.

Schlussfolgerung

Eine ausreichend hohe P-Versorgung der Spinatsorten ermöglicht insbesondere durch hohe Sprossmassebildung (Verdünnungseffekt) und enge WSV geringere Schwermetall-, also auch Cd-Gehalte in der Sprossmasse. Morphologische Wurzelkenngrößen für eine Selektion auf SM-Armut konnten in den hier beschriebenen Untersuchungen nicht identifiziert werden.

Es gibt Genotypen, die insbesondere bei P-Mangel deutlich höhere Nettoaufnahmeraten für Schwermetalle besitzen als andere. Diese werden möglicherweise über genotypisch bestimmte Mechanismen (Exsudation organischer Komplexbildner, Elementmobilisierung im Boden) realisiert. Ob eine Selektion von Genotypen nach ihrem Gehalt bzw. ihrer Exsudation an organischen Säuren erfolgen kann, bleibt vorerst offen.

Danksagung

Die Arbeit wurde gefördert durch das Graduiertenkolleg „Landwirtschaft und Umwelt“ der DFG. Das Saatgut stellten die Firmen *Carl Sperling & Co.*, *Enza Zaden B.V.*, *Rijk Zwaan*, *Bejo Samen-Vertriebs GmbH* und *S & G Seeds B. V.* zur Verfügung.

Literatur

- Adams, F.* (1974): Soil solution. In E. W. Carson (ed.): The plant root and its environment. University Press of Virginia, Charlottesville, p. 441–481.
- Anonym* (1992): KJärschlammverordnung (AbfKlärV) vom 15. April 1992. Bundesgesetzblatt Z 5702 A, Teil I, 1450–1490.
- Barber, S. A. and Lee, R. B.* (1974): Zit. Von Marschner H. (1986): Mineral Nutrition of Higher Plants, Academic Press, London, p. 12.
- Barber, S. A.* (1995): Soil nutrient bio availability. John Wiley & sons, Inc., New York.
- Beißner, L. and Römer, W.* (1998): Mobilization of phosphorus by root exudates of sugar beet. 16th World Congress of Soil Science, Montpellier, France; Poster, Symposium n° 43, CD-ROM.
- Bergmann, W.* (1993): Ernährungsstörungen bei Kulturpflanzen. Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, 3. Auflage.
- Claassen, N.* (1990): Nährstoffaufnahme höherer Pflanzen aus dem Boden – Ergebnis von Verfügbarkeit und Aneignungsvermögen. Severin Verlag, Göttingen.
- Egle, K., Römer, W., Gerke, J., and Keller, H.* (1999): The Influence of phosphor nutrition on the organic acid exudation of the roots of three lupin species. 9th Intern. Lupin Conference, Klink/Müritz, Germany, Procd., 249–251.
- Elgawhary, S. M., Lindsay, W. L., and Kemper, W. D.* (1970): Effect of complexing agents and acids on the diffusion of zinc to a simulated root. Soil Sci. Soc. Am. Proc 34, 211–214.
- Fisahn, J., Simons, M. und Höfner, W.* (1995): Schwermetallaufnahme von Spinat (*Spinacea oleracea* L.) in Abhängigkeit vom Genotyp. VDLUFA-Schriftenreihe, Kongressband 40, 537–540.
- Gerke, J.* (1995): Chemische Prozesse der Nährstoffmobilisierung in der Rhizosphäre und ihre Bedeutung für den Übergang vom Boden in die Pflanze. Habilitationsschrift, Universität Göttingen, Germany.
- Gerke, J., Römer, W., and Jungk, A.* (1994): The excretion of citric and malic acid by proteoid roots of *Lupinus albus* L.; effect on soil solution concentrations of phosphate, iron, and aluminium in the proteoid rhizosphere in samples of an oxisol and a luvisol. Z. Pflanzenernähr. Bodenkd. 157, 289–294.
- Gerke, J., Wessel, E., Egle, K., and Römer, W.* (1999): Heavy metal acquisition by white lupin and yellow lupin. 9th Intern. Lupin Conference, Klink/Müritz, Germany, Procd., 254–257.
- Hardiman, R. T. and Banin, A.* (1982): Cadmium absorption and translocation by bush beans at low external concentrations. In A. Saife (ed.): Procd. of 9th Intern. Plant Nutrition Coll., Warwick, England, 209–214.
- Isermann, K., Karch, P. und Schmidt, J. A.* (1984): Cadmiumgehalt des Erntegutes verschiedener Sorten mehrerer Kulturpflanzen beim Anbau auf stark mit Cadmium belastetem, neutralen Lehmboden. Landw. Forschung 40, 283–294.
- Jungk, A. and Claassen, N.* (1989): Availability in soil and acquisition by plants as the basis for phosphorus and potassium supply to plants. Z. Pflanzenernähr. Bodenkd. 152, 151–157.
- Keller, H.* (2000): Einfluss wurzelbürtiger organischer Säuren auf das Cu-, Zn- und Cd-Aneignungsvermögen von Spinatgenotypen. Dissertation Fachbereich Chemie, Universität Kaiserslautern, Germany.
- Lübbers, S.* (1991): Sortenbedingte Unterschiede bei der Aufnahme von Schwermetallen durch verschiedene Gemüsepflanzen. VDLUFA-Schriftenreihe, Kongressband 33, 605–612.
- Martell, A. E. and Smith, R. M.* (1989): Critical stability constants. Plenum Press, New York.

- Mench, M. and Martin, E.* (1991): Mobilization of cadmium and other metals from two soils by root exudates of *Zea mays L.*, *Nicotiana tabacum L.* and *Nicotiana rustica L.* Plant and Soil 132, 187–196.
- Metz, R. and Kloke, A.* (1998): Einfluß der Sortenwahl auf den Cadmiumtransfer Boden-Pflanze. VDLUFA-Schriftenreihe, Kongressband 49, 139–142.
- Michael, G.* (1939): Phosphorsäurefraktionen in Haferkorn und Spinatblättern in Abhängigkeit von verschiedener Phosphordüngung. Bodenkd. Pflanzenernähr. 14 (59), 148–171.
- Michael, G. und Marschner, H.* (1962): Einfluß unterschiedlicher Luftfeuchtigkeit und Transpiration auf Mineralstoffaufnahme und -verteilung. Z. Pflanzenernähr., Düngung, Bodenk. 96 (141), 200–212.
- Michael G., Schuhmacher, H. und Marschner, H.* (1965): Aufnahme von Ammonium- und Nitratstickstoff aus markiertem Ammoniumnitrat und deren Verteilung in der Pflanze. Z. Pflanzenernähr., Düngung, Bodenk. 110, 225–238.
- Naidu, R. and Harter, R. D.* (1998): Effect of Different Organic Ligands on Cadmium Sorption by and Extractability from Soils. Soil Sci. Soc. Am. J. 62, 644–650.
- Neumann, G., Dinkelaker, B. und Marschner, H.* (1995): Kurzzeitige Abgabe organischer Säuren aus Proteoidwurzeln von *Hakea undulata* (Proteaceae). In W. Merbach (Hrsg.): Pflanzliche Stoffaufnahme und mikrobielle Wechselwirkungen in der Rhizosphäre. B. G. Teubner Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 129–136.
- Newman, E.* (1966): A method of estimating the total length of root in a sample. J. Appl. Ecol. 3, 133–145.
- Padeken, K.* (1998): Schwermetallaufnahme verschiedener Pflanzenarten unter besonderer Berücksichtigung der N- und P-Ernährung. Landbauforschung Völkenrode, Sonderheft 182, Dissertation.
- Römer, W.* (1985): Einfluß von Sproß- und Wurzelwachstum auf die Phosphataufnahme bei Getreidepflanzen. Die Bodenkultur 36, 203–211.
- Römer, W., Embaye, T. und Keller, H.* (1998): Abhängigkeit der Cu-, Zn- und Cd-Konzentration in 10 Spinatgenotypen von der Wurzelmorphologie und der Aufnahmerate. VDLUFA-Schriftenreihe, Kongressband 49, 159–162.
- Scheffer, F. und Pajenkamp, H.* (1952): Phosphatbestimmung in Pflanzenaschen nach der Molybdän-Vanadin-Methode. Z. Pflanzenernähr., Düngung, Bodenk. 56, 2–8.
- Schropp, W.* (1951): Der Vegetationsversuch. 1. Die Methodik der Wasserkultur höherer Pflanzen. Methodenbuch Bd. VIII, Neumann Verlag, Radebeul und Berlin.
- Schüller, H.* (1969): Die CAL-Methode, eine neue Methode zur Bestimmung des pflanzenverfügbaren Phosphates im Boden. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 123, 48–63.
- Tinker, P. B. and Nye, P. H.* (2000): Solute Movement in the Rhizosphere. Oxford University Press, Oxford, New York.
- Wallace, A.* (1980a): Effect of excess chelating agent on micronutrient concentrations in bush beans grown in soil solution culture. J. Plant Nutr. 2, 163–170.
- Wallace, A.* (1980b): Effect of chelating agents on uptake of trace metals when chelating agents are applied to soil in contrast to when they are applied to solution culture. J. Plant Nutr. 2, 171–175.
- Williams, R. F.* (1948): The effect of phosphorus supply on the rates of intake of phosphorus and nitrogen and upon certain aspects of phosphorus metabolism in gramineous plants. Aust. J. Sci. Res. (B) 1, 333–361.
- Yuran, G. T. and Harrison, H. C.* (1986): Effects of genotype and sewage sludge on cadmium concentration in lettuce leaf tissue. J. Am. Soc. Horticult. Sci. 111, 491–494.
- Zeien, H.* (1995): Chemische Extraktionen zur Bestimmung der Bindungsformen von Schwermetallen in Böden. Bonner Bodenkundliche Abhandlungen. Band 17, 87–92. Dissertation Universität Bonn, Germany.