

Neuere Erkenntnisse zur Phosphataufnahme von Pflanzen – Literaturbefunde¹

WILHELM RÖMER

Institut für Agrilkulturchemie, Göttingen, Germany

(Received 19 May 2004; accepted 5 October 2005)

Zusammenfassung

Die mit einem mechanistischen Modell berechnete P-Aufnahme verschiedener Kulturpflanzen stimmt dann mit der gemessenen relativ gut überein, wenn die P-Gehalte in den Böden hoch war. Bei niedrigen Boden-P-Gehalten nahmen die Pflanzen mehr P auf als berechnet. Wichtige Ursachen dafür sind u.a. physiologische Reaktionen der Wurzeln, die die P-Verfügbarkeit in der Rhizosphäre verändern: I. Die erhöhte Exsudation von Phosphatasen, insbesondere Phytase setzt Phosphat aus Phosphorsäureestern frei, das von den Pflanzen genutzt wird. Transgene *Trifolium subterraneum*-Pflanzen mit einem Phytasegen aus *Aspergillus niger* zeigten bei Phytatnahrung eine deutliche Verbesserung ihres P-Ernährungszustandes. II. Dicotyle Pflanzen (z.B. Lupinen, Rotklee, Weißklee, Luzerne, Zuckerrüben, Spinat) exsudierten bei niedrigem P-Angebot verstärkt niedermolekulare organische Anionen (Citrat, Malat, Oxalat, u.a.) je Einheit Wurzellänge. Diese Moleküle setzen im Boden Phosphationen u.a. durch Ligandenaustausch aus an Fe/Al-Oxidhydraten sorbiertem Phosphat frei, das von Pflanzen aufgenommen werden kann. Transgene Eukalyptuspflanzen mit einem Citratsynthetase (CS)-Gen aus Möhre exprimierten verstärkte die CS, exsudierten mehr Citrat und verbesserten ihren P-Ernährungszustand auf einem Andosol in Folge der P-Mobilisierung im Boden. Bei Möhren wurden Abschnitte auf der DNA für die Codierung von Phosphattransportern (DcPT1, DcPT2) charakterisiert und ihre Expression in Kreuzungsnachkommen über die mRNA quantifiziert. In Reis wurden 4 putative quantitative Merkmalsorte (QTLs) für die Phosphataufnahme auf 4 Chromosomen charakterisiert und entsprechenden Markern zugeordnet. Sie wurden aus einer indischen Sorte in eine japanische eingekreuzt und wiedergefunden. Damit konnte in isogenen Reislinsen die P-Aufnahmeeffizienz deutlich erhöht werden. Insgesamt ergibt sich, dass die markergestützte Einkreuzung von quantitativen Merkmalen wie der P-Aufnahme und der Gentransfer von bestimmten Merkmalen, die am Ende der P-Mobilisierung im Boden dienen, von den betreffenden Autoren als nützliche Mittel zur Verbesserung der P-Aufnahme angesehen werden. Damit ergeben sich neue positive Perspektiven für die Nutzung von Böden mit relativ hohen Gesamt-P-Gehalten, aber geringer P-Verfügbarkeit.

Stichwörter: Phosphataufnahme, Phosphatmobilisierung, Phosphattransporter, Phosphatase, Phytase, Exsudation organischer Säuren, Gentransfer, Ligandenaustausch, Modellierung der Phosphataufnahme

Correspondence: Prof. Dr. Wilhelm Römer, Institut für Agrilkulturchemie, Carl-Sprengel-Weg 1, D-37075 Göttingen, Germany.

E-mail: wroemer@web.de

¹Nach einem Vortrag an der Sächsischen Landesanstalt für Landwirtschaft zur Verabschiedung von Lothar Sunthelm aus dem Berufsleben am 15. April 2005.

(New findings on phosphate uptake in plants – a literature survey)

Abstract

Phosphate uptake calculated with a mechanistic model fitted relatively well with the measured uptake in several cultivated plants when the soil P content was high. At low soil P content the plants took up more P than calculated. Some reasons for that are among others physiological reactions of the roots, which do change the P availability in the rhizosphere: I. Increased exudation of phosphatases, in particular phytase release phosphorus from phosphorus esters which can be used by the plants. Transgene *Trifolium subterraneum* plants with a phytase gen from *Aspergillus niger* displayed a clearly improved phosphorus nutritional status when supplied with phytate. II. Dicotyledonous plants (f.e. lupins, red clover, alfalfa, sugar beet and spinach) exude increased amounts of low molecular organic anions (citrate, malate, oxalate, a.o.) per unit root length at low P-supply. These molecules release phosphorus ions from hydrated Fe/Al oxids bound phosphate among other by ligand exchange, which then is plant available. Transgene eucalyptus plants containing a citrate synthetase (CS) gene from carrot express higher levels of CS, exude more citrate and improve the P nutritional status of an Andosol. In carrots, pieces of DNA coding for P transporters (DcPT1, DcPT2) were characterized and their expression was quantified by mRNA in cross offsprings. In rice, four putative quantitative trait loci (QTLs) for P uptake on four different chromosomes were characterized and assigned to according markers. They were crossed from an Indian variety into a Japanese one and detected there. In this way P uptake could substantially be improved in isogenic lines. The marker assisted crossing of quantitative traits like P uptake and the gene transfer with the aim of P-mobilization in the rhizosphere were regarded as useful tools for increasing P-uptake by the according authors. These findings are especially relevant for soils with high content of total P but low in P availability.

Keywords: Phosphate uptake, phosphate mobilization, phosphate transporter, phosphatase, phytase, exudation of organic acids, gene transfer, ligand exchange, modeling of phosphate uptake

Phosphat – ein unentbehrlicher Nährstoff

Ein kurzer Rückblick auf die Geschichte zur Ernährung der Pflanzen mit Phosphat ergibt das Folgende: Carl Sprengel schreibt 1828: "Wenn eine Pflanze 12 Stoffe zu ihrer Ausbildung bedarf, so wird sie nimmer aufkommen, wenn nur ein einziger an dieser Zahl fehlt, und stets kümmerlich wird sie wachsen, wenn einer derselben nicht in derjenigen Menge vorhanden ist, als es die Natur der Pflanze erheischt." Die Phosphorsäure zählt mit zu den 12 Stoffen. 1840 schreibt Justus von Liebig: "Die Nahrungsmittel aller grünen Gewächse sind unorganische Substanzen. Die Pflanze lebt von Kohlensäure, Ammoniak (Salpetersäure), Wasser, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Kieselsäure, Kalk, Magnesia, Kali und Eisen; und manche bedürfen Kochsalz." (zu Einzelheiten der damaligen Entwicklung vergleiche Van der Ploeg et al. 1999). Über das Gesetz vom Minimum (Sprengel 1828, Liebig 1855) gelangte Mitscherlich (1909) durch gezielte Experimente zum Ertragsgesetz (Figure 1).

Es wird sichtbar, dass mit der Zufuhr einer jeden weiteren Einheit P_2O_5 (x) zum Substrat der Ertrag (y) weniger ansteigt, um schließlich den Höchstertrag (A) zu erreichen; wobei der Wirkungsfaktor c für jeden Nährstoff spezifisch ist:

$$\frac{dy}{dx} = c_0 (A - y).$$

Wir haben es hier also mit einem mathematischen Zusammenhang zwischen dem Ertrag und dem Phosphatangebot zu tun (vgl. Schilling, 2000, S. 229). Unsere heutige Gehaltsklasseneinteilung für die P-Düngungsempfehlungen gehen in ihrem Ursprung auf

158

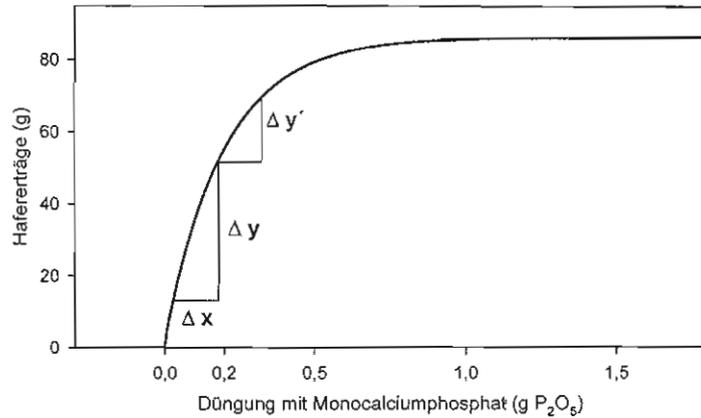


Abbildung 1. Abhängigkeit des Haferertrages (Korn, Stroh, Wurzeln) von der Phosphatgabe im Gefäßversuch mit Quarzsand (auszugsweise nach Mitscherlich, 1909).
Figure 1. Dependence of DM yield (grain, straw, roots of oat) on phosphate supply in a pot experiment with quartz sand.

die Mitscherlich'schen Erkenntnisse zurück. Aber was wissen wir eigentlich über das Aneignungsvermögen der Pflanzen für Phosphat? Erstens ist bekannt, dass die Phosphatdynamik im Boden sehr kompliziert ist – die Leipziger Gruppe mit Suntheim und Matzel hat eindrückliche Beweise dafür geliefert (Suntheim und Matzel 1975, Matzel und Suntheim 1977, Suntheim et al. 1987). Zweitens wissen wir heute eigentlich so ganz genau noch nicht, wie Phosphationen aus der Bodenlösung etwa durch Ionenkanäle in die lebende Wurzelzelle gelangen und von dort bis in die Blüten und Samen in höchsten Baumwipfeln. Aber dieser ganze Prozess wird heute modelliert und es werden Vorhersagen über die P-Aufnahme in die Pflanze gemacht.

Die Modellierung der Phosphataufnahme

Die Abbildung 2 zeigt wesentliche Parameter, die vom Boden und von der Pflanze bekannt sein müssen, wenn man die Aufnahme mittels Modell kalkulieren will. Da ist C , die Konzentration des Bodens an Ionen, also hier von Phosphationen, die potentiell zur Diffusion in Richtung Wurzel bereit stehen. Eine dafür geeignete Größe könnte z.B. das lactatlösliche Phosphat sein, oder auch das Phosphat, das mit der kontinuierlichen Wasserextraktion nach Suntheim und Matzel (1985) erfasst werden kann. C_1 ist die Phosphatkonzentration der Bodenlösung. Diese hängt in jedem Boden von der Lösungstension der Bodenphosphate ab. Orthophosphationen werden frei durch Desorption von z.B. an Fe- und Al-Oxidhydraten oder an Humus-Fe-Al-Komplexen gebundenen Phosphationen und durch Auflösung von Ca-Phosphaten. Das Verhältnis von C/C_1 ist die Pufferung (b), also die Fähigkeit des Bodens eine bestimmte Konzentration in der Bodenlösung (C_1) z.B nach Pflanzenentzug aufrecht zu erhalten. Durch das hohe P-Sorptionsvermögen der Böden ist dieser Faktor b meist sehr hoch (Faktoren um 500 bis 3000, z.B. bei Claassen, 1990; Jungk, 2002). Da Phosphat durch Diffusion und nicht durch Massenfluss wie NO_3^- zur Wurzel gelangt, wird der effektive Diffusionskoeffizient (D_e) gebraucht. Er leitet sich von dem Diffusionskoeffizient im Wasser (D_i) ab (für $H_2PO_4^- = 0,89 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$). Er ist eine physikalische Festgröße, die aber im

Parameter der Nährstoffverfügbarkeit im Boden

Chemische Aspekte:

- C Konzentration des an der Diffusion teilnehmenden Stoffes (mol cm⁻³ Boden)
- C_1 Konzentration in der Bodenlösung (mol cm⁻³ Lösung)

Lösung)

- b Pufferung $b = dC/dC_1$

Räumliche Aspekte:

- D_e effektiver Diffusionskoeffizient (cm²s⁻¹)

$$D_e = D_i * \Theta * f \frac{1}{b}$$

- D_i Diffusionskoeffizient im Wasser
- Θ volumetrischer Wassergehalt (cm³ cm⁻³ Boden)
- f Widerstandsfaktor

Parameter des Nährstoffaneignungsvermögens der Pflanzen:

Physiologische Aspekte:

- I_{max} maximaler Influx
- K_m Michaelis-Konstante (mol cm⁻³ Lösung)
- C_{1min} minimale Konzentration (mol cm⁻³ Lösung)
- v_o Wasserinflux (cm³ cm⁻²s⁻¹)

Morphologische Aspekte

- r_o Wurzelradius (cm)
- r_1 mittlerer Abstand zwischen den Wurzeln (cm)
- L_v Wurzellängendichte (cm Wurzel cm⁻³ Boden)

Mögliche Nährstoffmobilisierung

Abbildung 2. Parameter für das Modell zur Nährstoffaufnahme (nach Claassen 1990).
Figure 2. Parameters of modeling the nutrient uptake (according to Claassen 1990).

Boden modifiziert wird durch: den Wassergehalt (Θ), den Widerstandsfaktor (f) und die Pufferung (b). Der D_e für Phosphat ist deshalb um drei bis vier Zehnerpotenzen niedriger als D_i (z.B. bei Kaselowsky 1990, Claassen 1990, Jungk 2002). Ferner werden Phosphataufnahmeraten je Einheit Wurzel(-länge) bzw. -oberfläche) von unterschiedlich alten Pflanzen benötigt. Hierzu werden Pflanzen z.B. in Nährlösungen (NL) angezogen und die P-Aufnahme in Abhängigkeit von der P-Konzentration in der NL gemessen. D.h., die Kinetik der Phosphataufnahme wird geprüft. So erhält man die maximale Aufnahmerate (I_{max}) und die Michaelis-Konstante (K_m) für Phosphat. Des weiteren werden morphologische Parameter wie der Wurzelradius, die Wurzellängendichte u.a. benötigt. Ohne auf weitere Einzelheiten einzugehen, sollen nun Resultate vorgestellt werden, bei denen die P-Aufnahmen von Pflanzen (Feldversuche) gemessen und mittels Modell berechnet wurden. Aus dem Vergleich der Resultate sollen Schlussfolgerungen gezogen werden.

Abbildung 3 zeigt das Ergebnis mit Zuckerrüben. Ein P-arter Boden wurde mit 0, 200, 500 bzw. 1000 kg P₂O₅/ha gedüngt. In der Bodenlösung waren danach 0,9; 2,1; 2,7 bzw.

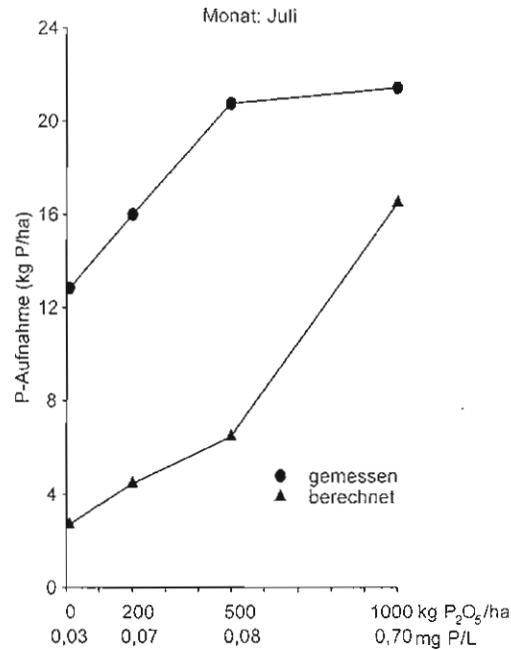


Abbildung 3. P-Aufnahme von Zuckerrüben gemessen und mittels Simulationsmodell berechnet nach Claassen, 1990. P-Versuch in Dinklar, 1987.
 Figure 3. P uptake of sugar beet measured and calculated by the simulation model of Claassen, 1990. P field experiment at Dinklar, 1987.

22 $\mu\text{mol P/l}$. Letzterer Wert entspricht 682 μg also ca. 0,7 mg P/l, was einem hohen P-Angebot entspricht. Auf den Parzellen wurden Anfang und Ende Juli Pflanzen geerntet und die in diesem Zeitraum aufgenommene P-Menge analysiert. Sie reichte von 12 bis über 20 kg P/ha. Interessant ist die mit dem Modell berechnete Aufnahme.

Während die errechnete und die gemessene P-Menge bei hohem P-Angebot relativ dicht beieinander lagen, lag die berechnete Menge bei niedrigem Boden-P-Gehalt deutlich unter der tatsächlichen. Auch bei der Wintergerste zeigte sich dasselbe Phänomen (Abbildung 4 nach Steingrobe et al. 2001). Hier war die Übereinstimmung von errechneter und gemessener P-Aufnahme bei niedrigem P-Angebot deutlich niedriger als bei hohem P-Angebot. Aus diesen Befunden ist der Schluss zu ziehen, dass bei niedrigem P-Angebot die Modellbetrachtung offenbar versagt. Es besteht der Verdacht, dass die Pflanzenwurzeln Prozesse des Inlösens von Nährstoffen in der Rhizosphäre beeinflussen, die das Modell nicht erfasst. Daraus ergibt sich die Frage nach der Art dieser Prozesse und ihrer Wirksamkeit.

Phosphatmobilisierung durch Phosphatasen

Die Rindenzellen der Wurzeln besitzen die Fähigkeit saure Phosphatasen zu bilden bzw. zu aktivieren und zu exsudieren. Diese Prozesse sind relativ leicht messbar. Hierzu werden Pflanzen bei variiertem P-Niveau in Nährlösung angezogen und die Wurzeln in Gläser mit

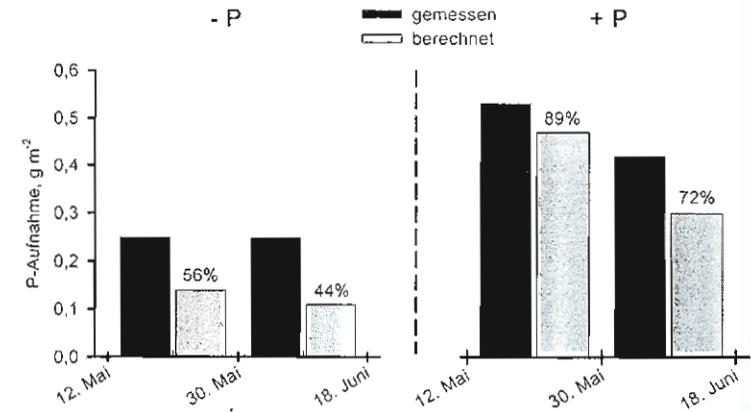


Abbildung 4. Vergleich der gemessenen und mittels Modell errechneten P-Aufnahme von Wintergerste im Feldversuch bei zwei P-Niveaus im Boden (nach Steingrobe et al. 2001).
 Figure 4. Comparison of the measured and calculated P uptake of winter barley in a field experiment with two P levels (according to Steingrobe et al. 2001).

einer Lösung eines Phosphorsäureesters, z.B. Nitrophenylphosphat getaucht. Dieser Ester wird durch die Phosphatase der Wurzelzellen in Nitrophenol und Phosphat gespalten. Bei einem pH-Wert von 8, z.B. durch Zugabe eines Tropfens NaOH, zeigt ersteres gelbe Farbe, deren Intensität spektralphotometrisch gemessen wird.

Abbildung 5 zeigt ein mit diesem Vorgehen gewonnenes Resultat (Beißner 1997). Die Pflanzen wurden mit 1 oder 100 μmol Phosphat angezogen. Die Hydrolyserate der P-Mangelpflanzen war über alle 42 Tage drastisch erhöht. Die negative Korrelation zwischen P-Versorgungszustand und Phosphataseaktivität war statistisch hoch signifikant, auch bei pH-Werten bis über 7. Wären also z.B. im Boden P-Ester in Wurzelnähe, so können diese leicht hydrolysiert werden, so dass ihr Phosphat aufgenommen werden kann.

Ein besonderer Phosphorester im Boden ist das Phytin. Es ist bekannt, dass die Pflanzen Phytat-P nicht gut nutzen können, da ihre Wurzeln ungenügende Mengen extrazellulärer Phytase abscheiden (Beißner und Römer 1996, Randall et al. 2001). Nun ist es gelungen, das Phytasegen von *Aspergillus niger* in *Trifolium subterraneum* L. (Bodenfrüchtiger Klee) zu übertragen und zur Expression zu bringen. Die transgenen Pflanzen zeigten eine deutliche Verbesserung ihres P-Ernährungszustandes, wenn ihnen unter sterilen Bedingungen Phytat angeboten wurde (Richardson et al. 2001). Damit ergibt sich eine erste Schlussfolgerung: Bei geringen Gehalten des Bodens an pflanzenverfügbarem Phosphat sind Pflanzen in der Lage bzw. können in die Lage versetzt werden, verstärkt Phosphorsäureester in Wurzelnähe zu spalten und das freigesetzte Orthophosphat aufzunehmen.

Phosphatmobilisierung durch organische Säuren

Die Tabelle 1 zeigt die Voraussetzungen für einen zweiten wichtigen Mechanismus für die P-Mobilisierung: Die Wurzelausscheidung von organischen Säuren. Aus den Zuckerrübenwurzeln von Pflanzen, die P-Gehalte in den Sprossen von weniger als 0,1 bis 0,2% besaßen, wurden insbesondere zwei Säuren in beträchtlichen Mengen exsudiert: Oxalsäure und Citronensäure (Beißner 1997). Bei guter P-Ernährung erfolgt auch eine Exsudation, aber auf

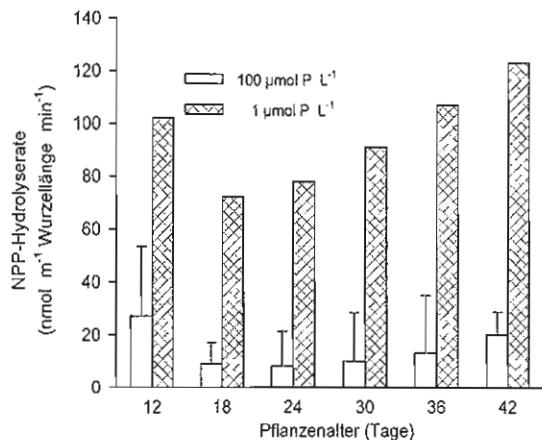


Abbildung 5. Nitrophenyl-Phosphat (NPP)-Hydrolyse rate bei pH 5 von Zuckerrübenwurzeln mit variierter P-Ernährung im Alter von 12 bis 42 Tagen; die Balken auf den Säulen entsprechen den Grenzdifferenzen bei der Irrtumswahrscheinlichkeit von $p=0,05$, $n=8$ (nach Beißner 1997).

Figure 5. Nitrophenyl phosphate (NPP) hydrolyse rate at pH 5 of sugar beet roots at a different P supply. Age of plants: 12 until 42 days. Bars on columns show the LSD at $p=0.05$ level, $n=8$ (according to Beißner 1997).

viel niedrigerem Niveau. Bei Spinat lag die Exsudation sogar eine Zehnerpotenz höher, aber auch hier war in den P-Mangelpflanzen die Säureexsudation deutlich erhöht (Keller, 2000). Dieses Phänomen wurde auch bei anderen Pflanzen beobachtet. Tabelle I zeigt u.a. die Ergebnisse von drei Lupinenarten (Egle 2003). Von 12 unterscheidbaren organischen Säureanionen sind hier nur Werte für Citrat und Malat, als für die P-Dynamik wichtigen Säureanionen, wiedergegeben. Bei allen drei Lupinenarten sowie bei Rotklee, Luzerne und Weißklee wird bei P-Mangel signifikant mehr Citrat exsudiert als bei hohem P-Angebot. Interessant ist die hohe Exsudationsrate der Schmalblättrigen Lupine. Auffallend ist: Bei Gräsern, aber auch bei Mais, ist die Exsudationsrate eine ganze Zehnerpotenz niedriger als bei den dikotylen Pflanzenarten.

Welche Wirkung haben die ausgeschiedenen Säuren bzw. die entsprechenden Anionen auf die Löslichkeit der Bodenphosphate? Keller (2000) hat zu einem Boden steigende Mengen an vier organischen Säuren zugegeben und nach sechs Stunden die Böden mit Wasser geschüttelt und die gelöste P-Menge bestimmt (Abbildung 6).

Man erkennt die hohe Effizienz der applizierten Citronen- und Äpfelsäure, die geringere von Oxalsäure und die sehr geringe von Milchsäure in Bezug auf die P-Löslichkeit. Die parallele Zugabe von HNO_3 zur Einstellung gleicher pH-Werte zeigt, dass der dominierende Effekt für die erhöhte P-Löslichkeit in dem benutzten Boden von den Anionen herrührt und nicht von den Protonen. Es ist jedoch zu bemerken, dass die P-Mobilisierung in verschiedenen Böden durch die mehrbasischen organischen Anionen wie Oxalat und Citrat nicht immer die gleich Effizienz zeigen. Die Ursachen sind noch unklar (Jones et al. 2003). Daneben gibt es noch weitere von den Wurzeln induzierte chemische Veränderungen in der Rhizosphäre, die auch die P-Löslichkeit beeinflussen (vgl. Hinsinger 2001). Offenbar ist aber der Ligandenaustausch an den Oberflächen der Fe-/Al-Oxidhydrat-Phosphatkomplexe bzw. Humus-Fe-/Al-Phosphatkomplexe einer der effektiv wirksamen Mechanismen der P-Freisetzung (Abbildung 7 nach Gerke 1995).

Tabelle I. Exsudationsraten für Citrat, Malat und Oxalat einiger Kulturpflanzenwurzeln bei variiertem P-Angebot, c.v. = Sorte.

Table I. Exudation rate of citrate, malate and oxalate of some crop roots at different P supply, c.v. cultivar.

Pflanzenart	Anion	- P	+ P	Autoren	
umol cm ⁻¹ h ⁻¹					
Dikotyle Pflanzen					
Zuckerrübe c.v. Reka	(ganze Wurzel)	Citrat	0,05	0,01	Beißner 1997
		Oxalat	0,20	0,04	Beißner 1997
	(Wurzelspitzen)	Citrat	0,40	0,12	Beißner 1997
		Oxalat	0,65	0,15	Beißner 1997
Spinat c.v. Tabu	Citrat	0,95	0,69	Keller 2000	
	Oxalat	3,91	2,76	Keller 2000	
	Oxalat	0,40	0,10	Gerke 1995	
Weißlupine c.v. Minori	(ganze Wurzel)	Citrat	0,32	0,15	Egle 2003
		Malat	0,43	1,18	Egle 2003
	(Proteoidwurzeln)	Citrat	6,70		Neumann et al. 1999
Gelblupine c.v. Borsaja	Citrat	0,73	0,42	Egle 2003	
	Malat	0,88	1,22	Egle 2003	
	Citrat	6,80	3,64	Egle 2003	
	Malat	7,19	5,2	Egle 2003	
Schmalblättrige Lupine c.v. Bordako	Malat	7,19	5,2	Egle 2003	
	Citrat	1,10	0,10	Gerke 1995	
Rotklee c.v. Vesta	Citrat	0,80	0,05	Gerke 1995	
	Citrat	0,40	0,08	Gerke 1995	
Luzerne c.v. Polder	Citrat	0,80	0,05	Gerke 1995	
	Citrat	0,40	0,08	Gerke 1995	
Weißklee c.v. Huia	Citrat	0,80	0,05	Gerke 1995	
	Citrat	0,40	0,08	Gerke 1995	
Monokotyle Pflanzen					
Mais	Citrat	0,018	0,015	Beißner 1997	
	Oxalat	0,037	0,005	Beißner 1997	
Weidelgras c.v. Lirasand	Citrat	0,030	0,010	Gerke 1995	

Ein Experiment im "Reagenzglas" zeigt klar den Effekt der organischen Säureanionen. Findet man aber auch diesen Effekt im Rhizosphärenboden der im Boden gewachsenen Pflanzen? Gerke et al. (1994) haben Weiße Lupinen in einem Oxisol und einem Cambisol angezogen und Phosphatkonzentrationen in den Rhizosphärenbodenlösungen bestimmt (Tabelle II).

Die P-Gehalte der Bodenlösungen in Wurzelnahe waren doppelt so hoch wie im wurzelfernen Boden. Praktisch könnte das bedeuten, dass Pflanzenwurzeln, die in der Lage sind, Phosphat in ihrer direkten Umgebung zu mobilisieren, weniger Düngerphosphat brauchen. Ein Beispiel dafür, dass diese Überlegung richtig ist, zeigt Tabelle III.

Mais reagiert auf eine P-Düngung auf einer Roterde mit einer starken Biomassesteigerung, da er seine P-Aufnahme auf über 300% erhöht. Weißlupine reagiert auf die P-Düngung sehr wenig. Sie steigert zwar auch die P-Aufnahme auf 130 %, aber die Biomasse blieb nahezu gleich. Sie konnte also auch bei geringerem P-Angebot genug P aufnehmen, offenbar durch die P mobilisierende Wirkung der exsudierten organischen Säuren. Die Exsudation organischer Säuren der Lupinenwurzeln liegt laut Tab. I eine Zehnerpotenz über der von Mais und Weidelgras (Römer et al. 2002, Beißner 1997), was die geringe P-Mobilisierungsleistung von

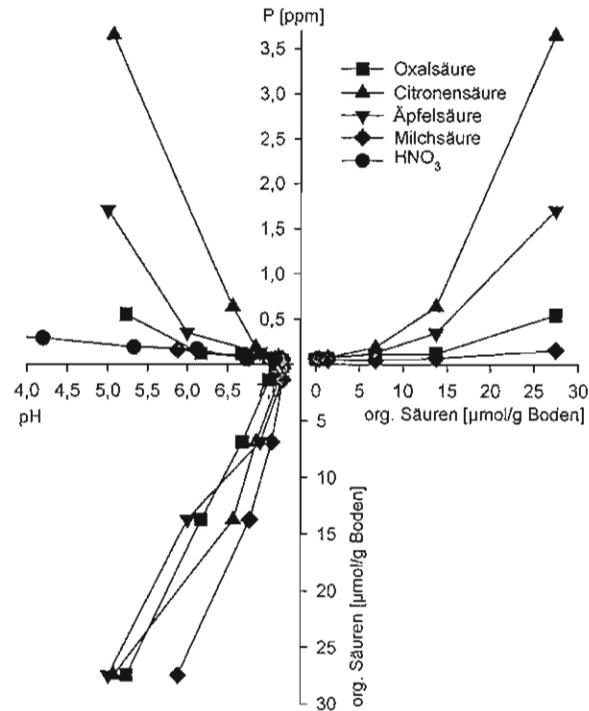


Abbildung 6. Änderung der P-Löslichkeit in einem Lösslehmboden von pH 7,2 nach Zugabe gestaffelter Mengen von organischen Säuren und HNO₃ (nach Keller 2000).
 Figure 6. Changes of P solubility of a loess loam soil with pH 7.2 after application of increasing amounts of organic acids and HNO₃ (according to Keller 2000).

Wurzeln der Gramineen erklärt. Damit ergibt sich die zweite Schlussfolgerung: Eine geringe P-Verfügbarkeit im Boden führt besonders bei dikotylen Pflanzen zu einer erhöhten Ausscheidung niedermolekularer organischer Säuren und somit zu einer erhöhten P-Löslichkeit in ihrer Rhizosphäre.

Dieses Phänomen der P-Mobilisierung durch die Pflanzenwurzel z.B. mittels Citrat hat offenbar praktische Konsequenzen insbesondere für Böden mit hohem P-Sorptionsvermögen, die weltweit viele Millionen ha (Smithson and Sanches 2001) umfassen, aber auch z.B. in Gestalt von Gneisverwitterungsböden in Sachsen vorkommen. So ist es Suzuki et al. (2003) gelungen aus den Mitochondrien von Zellen der Möhre das Citratsynthetasegen (CS-Gen) zu isolieren, in ein Plasmid zu übertragen, mittels Agrobacterium in Zellen von Eukalyptus einzuführen und daraus transgene Pflanzen zu regenerieren. Nach der Anzucht von Eukalyptuspflanzen unter gleichen Bedingungen wurde sowohl in Kontrollpflanzen als auch in den transgenen Eukalyptuspflanzen die Aktivität der Citratsynthetase (CS) in den Pflanzen gemessen.

Die Abbildung 8 zeigt, dass die Aktivität der CS in den transgenen Pflanzen um den Faktor 1,5 – 5 erhöht war. Mehrere transgene Eukalyptuspflanzen exsudierten deutlich mehr Citrat

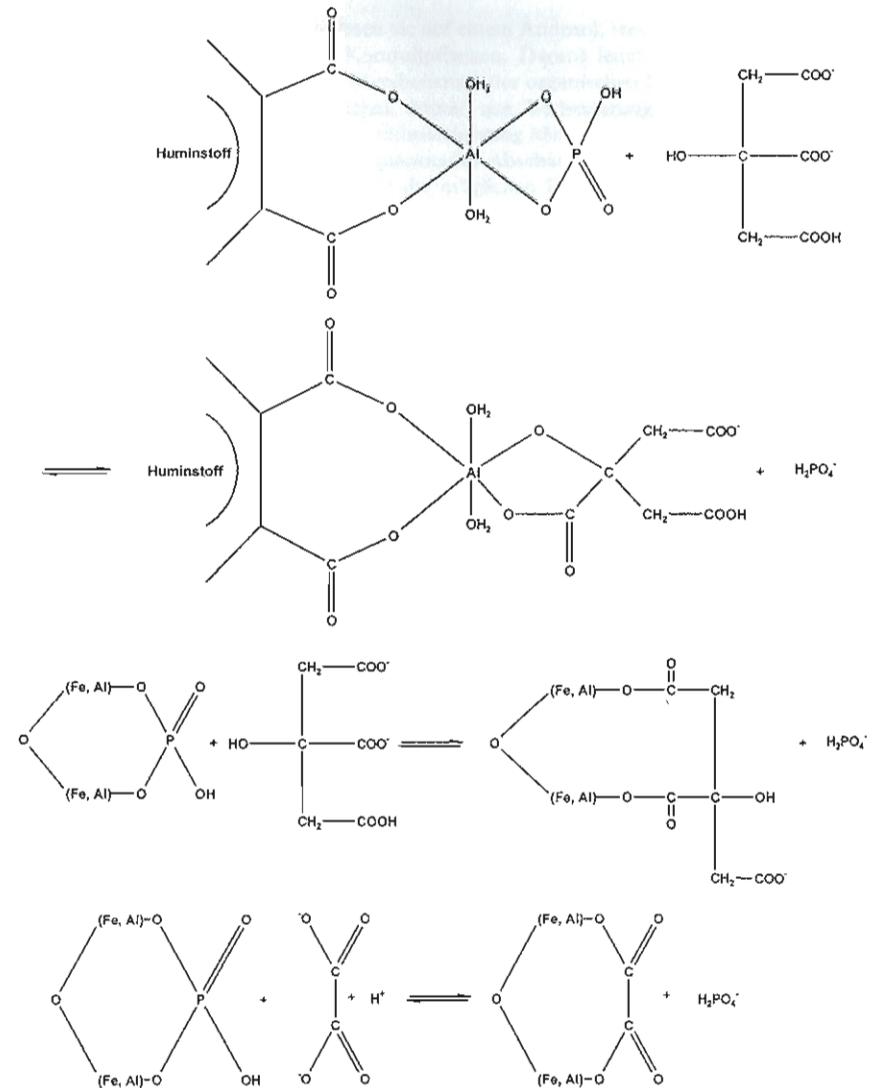


Abbildung 7. Schematische Darstellung der Desorption von Phosphat durch Citrat bzw. Oxalat von Huminstoff-Al-Komplexen und von Fe/Al-Oxiden unter Beachtung des mittleren Protonierungsgrades der Citrat- und Phosphatanionen im pH-Bereich 4,5–6,0 (nach Gerke 1995).
 Figure 7. Scheme of the ligand exchange of phosphate by citrate or oxalate at the humic-aluminum-phosphate complexes and Fe/Al-oxide-phosphate complexes within a pH range 4.5–6.0 and a medium level of protonation of citrate and phosphate ions (according to Gerke 1995).

Phosphataufnahme von Pflanzen 11

Tabelle II. Änderung der P-Konzentration in der Bodenlösung unter dem Einfluss von Proteoidwurzeln der Weißlupine auf zwei Böden nach 72 Tagen Pflanzenkulivierung im Vergleich zum Boden ohne Pflanzen (nach Gerke et al. 1994).

Table II. Changes of P_i concentrations in soil solutions caused by the present of absent of proteoid roots from white lupines with two soils. Age of plants: 72 days (according to Gerke et al. 1994).

Boden		P-Konzentration μM
Oxisol	ohne Proteoidwurzeln	2,0
	mit Proteoidwurzeln	4,2
Cambisol	ohne Proteoidwurzeln	1,1
	mit Proteoidwurzeln	2,7

Tabelle III. Einfluss der P-Düngung auf TM-Ertrag und P-Entzug von Mais und Weißlupine auf einer P-fixierenden Roterde (Oxisol), nach Römer und Gerke (1998).

Table III. Influence of P fertilization on DM yield and P uptake by maize and white lupine on a P fixing oxisol (according to Römer & Gerke 1998).

	Spross - TM		P - Entzug	
	g	rel.	mg	rel.
Mais				
ohne P	5	100 a ¹⁾	6	100 a
mit P	13	236 b	22	366 b
Weißlupine				
ohne P	7,4	100 a	20	100 a
mit P	7,6	103 a	26	130 b

¹⁾unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p = 0,05$.

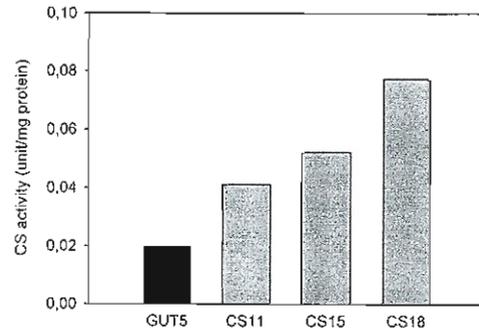


Abbildung 8. Citrat-Synthase-Aktivität in Kontrollpflanzen (GUT5) und 3 verschiedenen transgenen Pflanzentypen (CS 11, CS15, CS18) von Eucalyptus (Suzuki et al. 2003).

Figure 8. Citrate synthase activity of control plants (GUT5) and 3 different transgenic plant types (CS 11, 15, 18) of Eucalyptus (Suzuki et al. 2003).

als die Kontrollpflanzen. Auch wuchsen sie auf einem Andosol, welcher für hohe P-Sorption charakteristisch ist, besser als die Kontrollpflanzen. Daraus leitet sich die dritte Schlussfolgerung ab: Die Veränderung des Metabolismus der organischen Säuren durch genetische Manipulation kann als ein nützliches Mittel zur Verbesserung der P-Aufnahme bei Eukalyptus angesehen werden. Diese Schlussfolgerung könnte sich auch für andere Pflanzen als tragfähig erweisen. Es gibt bereits quantitative Abschätzungen zu dem P-Mobilisierungssprozess mittels organischer Säuren und der möglichen Erhöhung der P-Aufnahme (Gerke et al. 2000, I und II). Bei diesen Betrachtungen wurden Einflüsse von Mikroben in der Rhizosphäre nicht berücksichtigt, denn deren quantitative Erfassung und Trennung von den Prozessen, die von der Wurzel selbst ausgelöst werden, ist sehr kompliziert (vgl. hierzu Schilling et al. 1998).

Gene für Phosphattransporter

Die Erhöhung der P-Aufnahme durch vorherige Mobilisierung ist eine indirekte Methode zur Steigerung der Effizienz der P-Aufnahme. Es gibt auch Forschergruppen, die sich mit den direkten Mechanismen, d.h. den Erbanlagen bzw. den sogenannten Transportern, also den Proteinen in den Zellmembranen befassen, die die Phosphataufnahme bewerkstelligen. Früher sprach man von einem vermutlich existierenden Träger oder Carrier der Stoffaufnahme. Heute werden sie tatsächlich analytisch erfasst. Koyama et al. (2003) arbeiteten mit zwei Möhrengentypen, einem Wildtyp und einer Mutante. Letztere erreichte bei ähnlichem K_m -Wert eine drei mal so hohe P-Aufnahmerate (Tabelle IV).

Was ist die Ursache für die 3-fach höhere P-Aufnahmerate? Die Autoren haben aus der Mutante die Genabschnitte, die für die Proteine verantwortlich sind, die den P-Durchtritt durch die Membran ermöglichen, isoliert und charakterisiert. Der Weg ging über die sogenannte cDNA. Sie haben zwei Genabschnitte auf der DNA, die für P-Transporter kodieren, isoliert. Wenn nun P-Mangel eintritt, werden diese DNA-Abschnitte aktiv, d.h. an ihnen wird die mRNA aufgebaut, die die Erbinformation von der DNA zu den Ribosomen transportiert. Die entsprechenden m-Ribonukleinsäuren kann man identifizieren und ihre Menge messen.

Die Abbildung 9 zeigt, dass die RNA für den P_i-Transporter (Transporter für Orthophosphat) DcPT1 in der Mutante um zwei Zehnerpotenzen stärker ausgebildet ist als im Wildtyp. D.h. das Expressionsniveau, also die Ausprägung für die Proteinstruktur, die das Phosphat durch die Membran durchschleust, ist in der Mutante viel stärker ausgeprägt. Daraus ergibt sich eine vierte Schlussfolgerung: Für manche Pflanzenarten wären Gene nützlich, die solche Proteine kodieren, welche für eine hohe P-Aufnahme zuständig sind. Eine detaillierte Literaturlauswertung zu diesem Gebiet findet sich bei Rausch und Bucher (2002).

Tabelle IV. Kinetikparameter der Orthophosphataufnahme des Wildtyps und einer Mutante von Karotte (nach Koyama et al. 2003).

Table IV. Kinetic parameters of orthophosphate uptake of a wild type and a mutant of carrot (according to Koyama et al. 2003).

Zell-Linie	K_m (μM)	V_{max} ($\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1}$) (g Frischgewicht ⁻¹)
------------	-------------------------	--

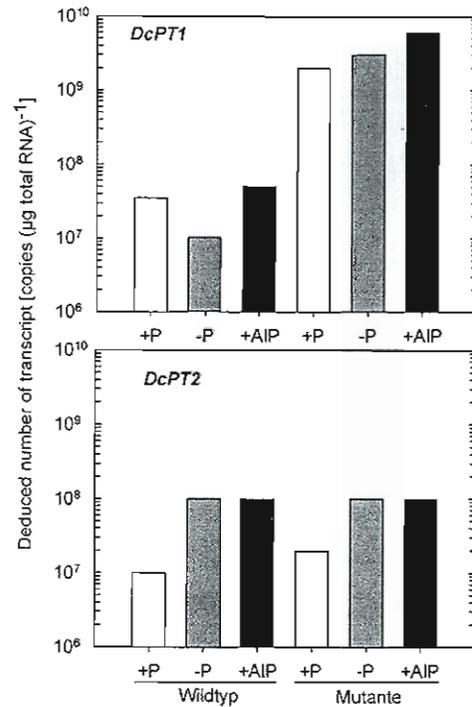


Abbildung 9. Quantifiziertes Transkriptionsniveau der Phosphattransporter DcPT1 und DcPT2 in Möhren-Zelllinien nach verschiedenem P-Angebot bei der Anzucht (AIP = Aluminiumphosphat) (nach Koyama et al. 2003).
Figure 9. The quantitative transcription level of the phosphate transporter DcPT1 and DcPT2 in carrot cell lines after different P supply during cultivation (AIP = aluminum phosphate) (according to Koyama et al. 2003).

Das Merkmal P-Aufnahme ist leider kein qualitatives Merkmal, das nur von einem Einzelgen regiert wird, das wenn es eingekreuzt ist, phänotypisch zu Tage tritt. Es ist ein quantitatives Merkmal, das gleichzeitig von mehreren, meist additiv wirkenden Genen regiert wird (Literatur bei Wissuwa et al. 1998). Soll z.B. das Merkmal "hohe Effizienz bei der P-Aufnahme" eines Genotyps in einen ertragreichen modernen Genotyp mit geringer P-Aufnahmefähigkeit eingekreuzt werden, so können Züchter heute molekulare Marker einsetzen um den Einkreuzungserfolg zu kontrollieren. Abbildung 10 zeigt als ein praxisrelevantes Beispiel das Chromosom Nr. 12 von Reis mit einigen Markerpositionen sowie einen mutmaßlichen quantitativen Merkmalsort (QTL) für die P-Aufnahme.

Wissuwa et al. (1998) haben bei Reis auf dem Chromosom Nr. 12 und einigen weiteren Chromosomen insgesamt vier solcher mutmaßlicher QTLs für die Phosphataufnahme identifiziert. Dies war gelungen durch entsprechende Kreuzungsexperimente mit der indischen Landrasse "Kasalath", die bei niedrigem P-Angebot hohe P-Aufnahmeraten erreicht und mit der japanischen Sorte "Nipponbare", die bei niedrigem P-Angebot nicht wächst, weil sie unter diesen Bedingungen kaum Phosphat aufnehmen kann. Wenn man nun die entsprechenden Abschnitte auf der DNS der indischen Sorte mit der hohen P-Aufnahme, also die entsprechenden QTLs, kennt, so kann man sie mit den entsprechenden molekularen

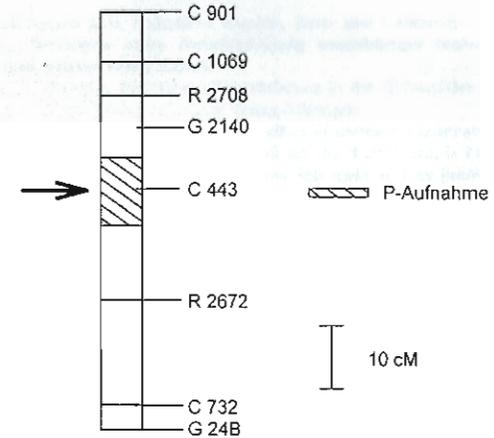


Abbildung 10. Position eines mutmaßlichen quantitativen Merkmalsortes (Quantitative Trait Locus = QTL) für die P-Aufnahme auf dem Chromosom 12 von Reis. Der Pfeil zeigt auf die Markerstelle, die dem QTL "P-Aufnahme" am nächsten ist (auszugsweise nach Wissuwa et al. 1998).

Figure 10. Position of a putative quantitative trait of P uptake on the rice chromosome 12. The arrow shows the marker position which is nearest to the QTL (according to Wissuwa et al. 1998).

Techniken (u.a. Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismen (RFLPs)) in den Kreuzungsprodukten wiederfinden. Wissuwa (2001) sowie Wissuwa und Ae (2001) arbeiteten mit einem Haupt-QTL, der mit dem Marker C443 auf dem Chromosom 12 und einem kleineren QTL mit dem Marker C498, der auf dem Chromosom 6 sitzt. Die nahen isogenen Linien (NILs), die sie aus den Kreuzungen erzielten, wurden auf einem aeroben Boden angebau. Dessen P-Gehalt war auf verschiedene Niveaus eingestellt.

Aus Abbildung 11 geht hervor, dass bei niedrigem P-Angebot (5–11 mg P kg⁻¹) die zwei isogenen Linien, die in ihrem Erbgut jeweils einen solchen QTL besitzen, deutlich mehr P aufnehmen als die japanische Ausgangssorte. Bei mittleren bis hohen P-Gehalten lässt die Überlegenheit der isogenen Linien nach. Damit ergibt sich eine fünfte Schlussfolgerung: Es ist möglich geworden, die genetische Basis für das Merkmal "hohe P-Aufnahmeeffizienz" in einigen Kulturpflanzen und ihren Wildformen aufzuklären. Damit eröffnen sich neue Wege für die Züchtung die P-Aufnahmeeffizienz bei geringem P-Angebot zu verbessern.

Insgesamt gesehen zeichnen sich also neue aussichtsreiche Wege ab, auf züchterischem Wege, einschließlich gentechnischer Veränderungen im Erbgut der Pflanzen, die P-Aufnahmeeffizienz zu erhöhen. Weltweit gibt es landwirtschaftlich genutzte Flächen mit relativ hohen P-Gehalten, aber geringer P-Verfügbarkeit. Letzteres trifft besonders für Boden in den Tropen/Subtropen zu (Batjes 1997). Für Böden in solchen Gebieten wären Kulturpflanzentypen mit höherer P-Aufnahmeeffizienz von hohem ökonomischen und ökologischem Wert, denn die Vorräte an abbaubwürdigen Rohphosphaten für P-Dünger mit niedrigem Cd-Gehalten und anderen unerwünschten Beimengungen sind weltweit sehr begrenzt (Pradt 2003, Wagner 2005). Auf die landwirtschaftlichen Nutzflächen der Industriestaaten Europas brauchten in Zukunft viel weniger P-Dünger ausgebracht zu werden, da viele Böden hoch versorgt sind (Barberis et al. 1994), in Regionen mit hohem Tierbesatz sogar bis in die Unterböden (Leineweber 1994). Für derartige Standorte wäre ein

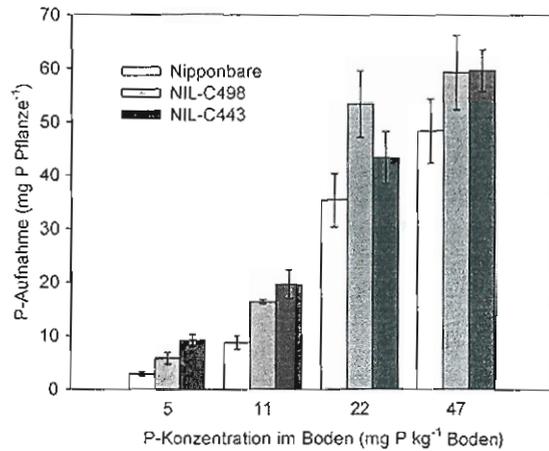


Abbildung 11. Wirkung des Boden-P-Gehaltes (Bray-2) auf die P-Aufnahme der Sorte Nipponbare und 2 nahen isogenen Linien (NILs), die QTLs für hohe P-Aufnahme tragen (Wissuwa und Ae 2001).
Figure 11. Effect of soil P concentrations (Bray-2) on the P uptake of cultivar Nipponbare and two near isogenic lines that carry QTLs for high P uptake (Wissuwa & Ae 2001).

forciertes "Mining" mit solch neuen Kulturpflanzentypen besonders sinnvoll. Ihr Anbau hätte dazu noch den positiven Nebeneffekt, dass der unerwünschte P-Eintrag in Oberflächengewässer und das Grundwasser reduziert werden könnte (Römer 1999, Auerswald et al. 2002). Auf Standorten mit niedrigen Gesamt-P-Gehalten ist allerdings im Interesse einer erwünschten hohen Ertragsbildung eine P-Düngerzufuhr von außen erforderlich, denn die Kulturpflanzen müssen in definierten Entwicklungsabschnitten bestimmte P-Mengen aufnehmen, um die ertragsbildenden Merkmale ausbilden zu können (Römer und Schilling 1986). Hier ergibt sich aber die Frage, wie hoch z.B. die P-Konzentration im entsprechenden Pflanzenorgan (-gewebe) sein muss, wenn ein definierter Ertrag an erwünschten Ernteprodukten gebildet werden soll. Es ist die Frage nach der internen P-Effizienz des aufgenommenen Phosphats. Dass auf diesem Gebiet ebenfalls Verbesserungen nötig und möglich sind ist bekannt (Römer et al. 1995, Stelling et al. 1996, Wissuwa 2001). Die zukünftigen Möglichkeiten auf diesem Gebiet sollten an anderer Stelle genauer analysiert und erörtert werden.

Literatur

- Auerswald K, Claassen N, Römer W, Werner W. 2002. VDLUFA-Standpunkt: Mögliche ökologische Folgen hoher Phosphatgehalte im Boden und Wege zu ihrer Verminderung. Mitt. der DBG 98:75–80.
- Barberis E, Marsan FH, Scialenghe R, Lammers A, Schwertmann U, Edwards A, Maguire R, Wilson M, Delgado A, Torrent J. 1996. European soils overfertilized with phosphorus. Part 1. Basic properties. *Fertilizer Res* 45:199–207.
- Batjes NH. 1997. A world data set of derived soil properties by FAO-UNESCO soil unit for global modelling. *Soil Use Manage* 13:9–19.
- Beißner L, Römer W. 1996. Improving the availability of phytate-P to sugar beet by phytase application to soil. IX. Intern. Coll. for Optimization of Plant Nutrition; 8–15 September 1996. Prag. Proceedings. pp 327–332.
- Beißner L. 1997. Mobilisierung von Phosphor aus organischen und anorganischen P-Verbindungen durch Zuckerrübenwurzeln. Dissertation. Universität Göttingen. Cuvillier Verlag, Göttingen.
- Claassen N. 1990. Nährstoffaufnahme höherer Pflanzen aus dem Boden. Severin Verlag, Göttingen.

- Egle K. 2003. Untersuchungen zum Phosphor-, Kupfer-, Zink- und Cadmium-Anreicherungsvorgängen von drei Lupinenarten und Weidelgras unter Berücksichtigung wurzelbürtiger organischer Säuren. Dissertation. Universität Göttingen. Shaker Verlag Aachen.
- Gerke J. 1995. Chemische Prozesse der Nährstoffmobilisierung in der Rhizosphäre und ihre Bedeutung für den Übergang vom Boden in die Pflanze. Cuvillier Verlag Göttingen.
- Gerke J, Beißner L, Römer W. 2000. The quantitative effect of chemical phosphate mobilization by carboxylate anions on P uptake by a single root. *J Plant Nutr Soil Sci* 163: 1 207–212; II 213–219.
- Gerke J, Römer W, Jungk A. 1994. The excretion of citric and malic acid by proteoid roots of *Lupinus albus* L. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 157:289–294.
- Hinsinger P. 2003. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: A review. *Plant Soil* 237:173–195.
- Jones DL, Dennis PG, Owen AG, van Hees PAW. 2003. Organic acid behavior in soils – misconceptions and knowledge gaps. *Plant Soil* 248:31–41.
- Jungk A. 2002. Dynamics of nutrient movement at the soil-root interface. In: Waisel Y, Eshel A, Kafkafi U, editors. *Plant Roots – The Hidden Half*. 3. Auflage: Marcel Dekker Inc. pp 587–616.
- Kaselowsky J. 1990. Wirkung von Lagerungsdichte und Wassergehalt des Bodens auf die Verfügbarkeit von Phosphat und Kalium sowie das Nährstoffanreicherungsvorgängen von Pflanzen. Dissertation. Universität Göttingen.
- Keller H. 2000. Einfluss wurzelbürtiger organischer Säuren auf das Cu-, Zn- und Cd-Anreicherungsvorgängen von Spinatgenotypen. Dissertation. D386 Kaiserslautern, Fachbereich Chemie. http://kluedo.uni-kl.de/Chemie/Metadaten/dissertation_33.html.
- Koyama H, Sawaki N, Kihara T, Suzuki Y, Teisuo H. 2003. Enhanced expression of a phosphate transporter gene is involved in superior Pi acquisition in a carrot mutant cell line that shows normal growth rate in aluminum-phosphate medium by enhanced citrate excretion. *Proceedings of 2nd International Symposium on Phosphorus Dynamics in the Soil-Plant Continuum*. September 21–26 2003; Perth. pp 156–157.
- Leineweber P, Geyer-Wedell K, Jordan E. 1994. Phosphorgehalte von Böden in einem Landkreis mit hoher Konzentration des Viehbesatzes. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk* 157:383–385.
- Liebig Jv. 1840. Die organische Chemie in ihrer Anwendung auf Agricultur und Physiologie. Vieweg, Braunschweig.
- Liebig Jv. 1855. Die Grundsätze der Agriculturchemie. Anhang. S. 13, 2. Auflage Vieweg, Braunschweig.
- Matzel W, Suntheim L. 1977. Eignung der fraktionierten Extraktion als Methode zur Identifizierung definierter Bodenphosphate. *Arch. Acker- und Pflanzenbau und Bodenk* 12:879–885.
- Mitscherlich EA. 1909. Das Gesetz des Minimums und das Gesetz des abnehmenden Bodenertrages. *Landwirtschaftliches Jahrbuch* 38:537–552.
- Neumann G, Massonau A, Martinova E, Römhild W. 1999. Physiological adaptations to phosphorus deficiency during proteoid root development in white lupin. *Planta* 208:273–282.
- Pradt D. 2003. Verfügbarkeit und Vermarktung von Roh- und Recyclingmaterial aus der Sicht der Düngemittelindustrie. Tagungsband zum Symposium "Rückgewinnung von Phosphor in der Landwirtschaft und aus Abwasser und Abfall". des UBA in Berlin, 6.–7.2. 2003, 2/1–2/5.
- Randall PJ, Hayes JE, Hocking PJ, Richardson AE. 2001. Root exudates in phosphorus acquisition by plants. In: Ae N, Arihara J, Okada K, Srinivasan A, editors. *Plant nutrient acquisition – New perspectives*. Tokyo: Springer Verlag. pp 71–100.
- Rausch C, Bucher M. 2002. Molecular mechanisms of phosphate transport in plants. *Planta* 216:23–37.
- Richardson AE, Hadobas PA, Simpson RJ. 2001. Phytate as a source of phosphorus for the growth of transgenic *Trifolium subterraneum* L. In: Horst WJ et al., editors. *Plant nutrition – food security and sustainability of agroecosystems*. New York: Kluwer Academic Publishers. pp 560–561.
- Römer W. 1999. Zum Problem sehr hoher P-Gehalte im Boden vor dem Hintergrund der Düngeverordnung von 1996 und der Eutrophierung von Gewässern. *VDLUFA-Schriftenreihe* 50:5–19.
- Römer W, Egle K, Kang DK, Keller H, Gerke J. 2002. L'absorption de Cd par différentes variétés de lupinus compare à celle du ray-grass en fonction de la fertilization phosphatée. *Agronomie* 22:431–442.
- Römer W, Gerke J. 1998. Phosphat und Eisenmobilisierung durch Wurzelexsudate bei *Lupinus albus* L., Lupinen in Forschung und Praxis, Hrsg. Wink M. pp 15–25.
- Römer W, Schenk H, Daetz F, Schmidt L, Römer A. 1995. Genotypische Unterschiede des Phosphatentzuges und der Phosphatverwertung bei *Zea mays* L. und *Hordeum distichon* L. *Kühn-Archiv* 89:164–177.
- Römer W, Schilling G. 1986. Phosphorus requirements of the wheat plant in various stages of 1st life cycle. *Plant Soil* 91:221–229.
- Schilling G. 2000. *Pflanzenernährung und Düngung*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.
- Schilling G, Gransee A, Deubel A, Lesovic G, Ruppel S. 1998. Phosphorus availability, root exudates and microbial activity in the rhizosphere. *Z. Pflanzenernähr Bodenk* 161:465–478.