

AUSSCHIEDUNG VON ORGANISCHEN SÄUREN DURCH DIE ZUCKER- RÜBENWURZEL UND DEREN BEDEUTUNG FÜR DIE P-MOBILISIERUNG IM BODEN

EXUDATION OF ORGANIC ACIDS BY SUGAR BEET ROOTS-EFFECT ON P-MOBILIZATION IN SOIL

BEIßNER, L.; RÖMER, W.

Institut für Agrikulturchemie der
Georg-August-Universität Göttingen
von-Siebold-Str. 6
37075 Göttingen

Summary

Experiments were conducted to determine the quantity of organic acids in root exudates, if any, released by sugar beet plants and to measure P solubility after addition of organic acids to soil.

In a first experiment, sugar beet plants were grown in quartzsand at different levels of P application. After 20 days, root exudates were collected by transferring plants of different P status to 2 mM CaCl₂ solution for 16 hours. Organic acids were estimated in root exudates by HPLC. Roots of sugar beet plants grown at different P levels released oxalic acid, oxalacetic acid and citric acid generally in the ratio of 1 : 0,35 : 0,15. The amount of carboxylates exuded by P deficient plants (less than 0,1 % P of shoot-dm) were significantly higher as compared to P sufficient plants. Maximum amount of 23 nmol · m root length⁻¹ · h⁻¹ of oxalic acid was released by P deficient plants.

In another experiment, different amounts of mixture of oxalic acid, oxalacetic acid and citric acid (in the ratio of 1 : 0,35 : 0,15) were used to extract P from soil (Fluvisol - of medium P status) by shaking 20 g soil and 50 ml mixture for 16 hours. Increasing amounts of mixture of organic acid progressively increased the amount of P released from soil and decreased the pH. It has also been shown that main P fraction mobilized by organic acids was that bound to surfaces of Fe/Al-oxides via ligand exchange. The increase in P solubility by a decrease of pH (due to higher solubility of Ca-phosphate) was not much in the present soil.

Einleitung

Verschiedene Kulturpflanzen, insbesondere die Zuckerrübe, sind in der Lage, selbst bei relativ geringen Gehalten des Bodens an pflanzenverfügbarem Phosphat noch recht hohe Naturalerträge zu realisieren. Die in Feldversuchen ermittelten P-Aufnahmeraten konnten jedoch nicht mit entsprechenden Simulationsmodellen, in die sowohl bodenchemische, als auch pflanzenmorphologische und -physiologische Meßwerte eingegangen waren, nachvollzogen werden (CLAASSEN, 1990). Die Pflanzen nahmen wesentlich mehr Phosphat auf, als aufgrund der Meßwerte erwartet worden wäre. Ursache hierfür dürfte die Tatsache sein, daß die bekannten Modelle die Mobilisierung von Nährstoffen durch die Pflanzenwurzel nicht berücksichtigen.

Phosphor-Mobilisierungseffekte sind von zahlreichen Autoren (BHAT et al., 1976; HORST und WASCHKIES, 1987) beobachtet worden. Sie wurden in den letzten Jahren insbesondere mit der P-mobilisierenden Wirkung der von den Wurzeln ausgeschiedenen organischen Säuren in Verbindung gebracht (GARDNER et al., 1983). Von GERKE (1992) werden mehrere Mechanismen zur Freisetzung von an Fe/Al-Oxiden bzw. Humus-Fe/Al-Komplexen adsorbierten Phosphaten durch Citrationen diskutiert, wobei der Ligandenaustausch der vermutlich effektivste ist. Die Ausscheidung von Citronensäure und anderen organischen Säuren ist inzwischen von mehreren Kulturpflanzen bekannt. Weiße Lupine wies im Bereich der unter P-Mangel verstärkt ausgebildeten Proteoidwurzeln (RÖMHELD, 1986) eine erhöhte Ausscheidung von Citrat und Protonen auf (GARDNER et al., 1983; DINKELAKER et al., 1989). GERKE et al. (1994) zeigen, daß die im Bereich der Proteoidrhizosphäre von der Pflanze ausgeschiedene Citronen- und Äpfelsäure zu einer erhöhten P-Löslichkeit und P-Aufnahme führt. Weiterhin konnte die Exsudation von Citronen- und Äpfelsäure durch Rapswurzeln (HOFFLAND et al., 1989) und Wurzeln mehrerer Leguminosenarten (GERKE, 1995) nachgewiesen werden. Für die Zuckerrübe liegen diesbezüglich keine Erkenntnisse vor. Aus diesem Grund wurde der Frage nach der eventuellen Bedeutung von Wurzelexsudaten der Zuckerrübe für die P-Mobilisierung in der Rhizosphäre in zwei Teilversuchen nachgegangen:

- Zunächst wurde die Zuckerrübe in einem Quarzsandkulturversuch auf etwaige Wurzelexsudation organischer Säuren geprüft (Versuch 1).
- In einem anschließenden Experiment erfolgten, den Ergebnissen des vorherigen Versuches folgend, P-Desorptionsuntersuchungen an einem Boden mittleren P-Versorgungsgrades mit organischen Säuren entsprechend der qualitativen Zusammensetzung der Wurzelexsudate der Zuckerrübe (Versuch 2).

① Exsudation organischer Säuren durch die Zuckerrübenwurzel bei differenziertem P-Ernährungsstatus

Material und Methoden

Anzucht der Pflanzen

Die Anzucht der Zuckerrüben (cv. Reka) erfolgte in Kunststoffgefäßen (3 l) in der Klimakammer bei einem Tag/Nacht-Rhythmus von 16/8 Stunden, einer Temperatur von 20/15°C und einer relativen Luftfeuchte von 80 %, wobei die photosynthetisch aktive Strahlung während der Tag-Periode $240 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ betrug. Als Substrat diente gewaschener Quarzsand. Phosphor wurde gestaffelt in Mengen von 0, 3, 8 und 12 mg/kg Substrat als Mischung aus KH_2PO_4 und $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ verabreicht. Die Zufuhr anderer Makro- und Mikronährelemente erfolgte in jeweils gleicher, das Pflanzenwachstum nicht begrenzender Menge. Der Wassergehalt wurde auf 70 % der maximalen Wasserkapazität eingestellt und durch tägliches Wiegen kontrolliert. Es wurden 10 Pflanzen pro Gefäß angezogen, wobei jede P-Stufe in 6-facher Wiederholung angelegt war.

Ernte und Aufbereitung der Pflanzen

Die Ernte erfolgte 20 Tage nach dem Auflaufen, wobei die Pflanzen zunächst vorsichtig aus dem Quarzsand ausgewaschen wurden. Die Pflanzen eines Gefäßes wurden dann, je nach Größe des Wurzelsystems, in 100 oder 300 ml Erlenmeyerkolben mit 2 mM CaCl_2 -Lösung überführt und die Kolben mit Alufolie umwickelt. Anschließend wurden die Pflanzen in den Kolben für 16 Stunden in der Klimakammer belassen. Nach Ablauf von 16 Stunden wurden die Pflanzen aus der Exsudationslösung entnommen und Sprosse und Wurzeln getrennt. Die Ermittlung der Wurzellänge erfolgte nach der von NEWMAN (1966) beschriebenen Methode. Die P-Konzentration im Sproß wurde nach Säureaufschluß des Pflanzenmaterials nach SCHEFFER und PAJENKAMP (1952) bestimmt.

Aufbereitung der Exsudate und Säureanalytik

Die Exsudationslösungen wurden zunächst durch eine $0,45 \mu\text{m}$ Membran filtriert und anschließend durch Festphasenextraktion mit stark sauren Anionenaustauschern (quaternäre Amine auf Kieselgel - Bakerbond spe 7091-1) auf ein Volumen von 1 ml aufkonzentriert. Danach erfolgte die quantitative Bestimmung der organischen Säuren in den Eluaten mittels HPLC.

Ergebnisse und Diskussion

In qualitativer Hinsicht konnte festgestellt werden, daß die Zuckerrübe unabhängig vom P-Ernährungsstatus Oxalsäure, Oxalessigsäure und Citronensäure über die Wurzel an die umgebende Lösung abgab. Wie die folgende Abb. 1 zeigt, war aber der Efflux aller genannten Carbonsäuren bei P-Mangel in statistisch signifikanter Weise deutlich erhöht.

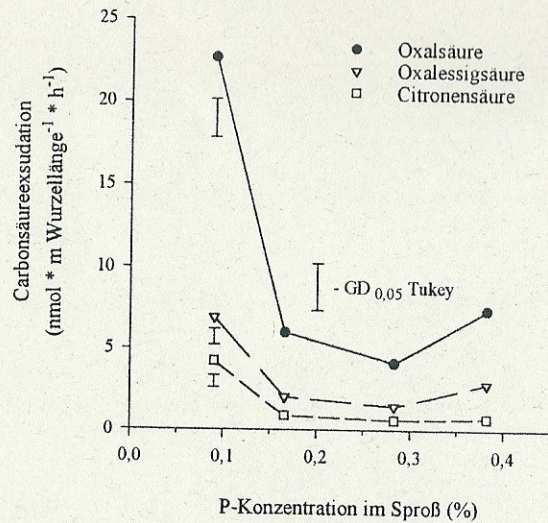


Abb. 1: Exsudation organischer Säuren durch 20 Tage alte Zuckerrübenwurzeln in Abhängigkeit von der P-Konzentration im Sproß (% P in der Trockenmasse)

Als dominierende Carbonsäure erwies sich die Oxalsäure, die in 5 bis 7-fach höherer Rate von der Wurzel abgegeben wurde als Oxalelessig- bzw. Citronensäure. In weiteren, hier nicht dargestellten Exsudationsversuchen mit in Nährlösung angezogenen Zuckerrübenpflanzen wurden sehr ähnliche Resultate erzielt. Das bedeutet, daß eventuelle Verletzungen von Wurzelzellen beim Auswaschen aus dem Quarzsand, und damit "erhöhte Exsudationsraten", keine große Rolle gespielt haben dürften.

Zuckerrübe zeigt demzufolge, wie auch Raps (HOFFLAND et al., 1989), Weiße Lupine (GARDNER et al., 1983; DINKELAKER et al., 1989; GERKE et al., 1994), Luzerne (LIPTON et al., 1987) und andere Leguminosenarten (GERKE, 1995) eine durch P-Mangel bedingte deutlich erhöhte Exsudation von organischen Säuren durch die Wurzel.

Der qualitative und quantitative Vergleich der eigenen Ergebnisse mit in der Literatur beschriebenen Resultaten ist zum Teil recht schwierig, da die hier verwendete Methode zur Bestimmung organischer Säuren mittels Festphasenextraktion und HPLC bisher kaum angewandt wurde. Lediglich GERKE (1995) arbeitete mit der gleichen Methode, wobei er eine im wesentlichen pflanzenartspezifische quantitative Zusammensetzung der exsudierten Carbonsäuren nachweisen konnte. Hierbei zeigten Rotklee, Weißklee und Luzerne eine vom P-Status der Pflanzen abhängige Ausscheidung von Citronensäure und Oxalelessigsäure,

wohingegen Chinakohl Oxalsäure, Oxalelessigsäure, Citronensäure und Äpfelsäure über die Wurzel abgab.

Der vom genannten Autor ebenfalls geprüfte Spinat zeigte, wie die im vorliegenden Versuch untersuchte Zuckerrübe, die Ausscheidung von Oxalsäure, Oxalelessigsäure und Citronensäure, wobei auch in quantitativer Hinsicht Exsudationsraten wie bei der Zuckerrübe gemessen werden konnten. Diese Übereinstimmung erscheint bemerkenswert, ist aber aufgrund der Tatsache, daß beide Pflanzen zur Familie der Chenopodiaceen gehören, nicht weiter verwunderlich.

Die im obigen Versuch gewonnenen Erkenntnisse zur Exsudation organischer Säuren durch die Zuckerrübenwurzel wurden genutzt, um im anschließenden Experiment die Bedeutung der ausgeschiedenen Carbonsäuren für die P-Mobilisierung in einem Boden zu erfassen.

- Phosphatdesorption in einem Lehm Boden durch organische Säuren bzw. pH-Absenkung durch HCL

Material und Methoden

Boden

Der verwendete Boden (Auenlehm - tU, Leineniederung bei Göttingen) eines P-Langzeitversuches des Instituts für Agrikulturchemie wies einen P-Gehalt von 7,5 mg/1000 ml Boden (H₂O-Extraktion) auf, was nach Angaben der LWK Hannover einem mittleren Versorgungsgrad (Gehaltsklasse B) entspricht. Der pH-Wert (CaCl₂) lag bei 7,2. Der Boden wurde zunächst mit steigenden Mengen eines Säuregemisches aus Oxalsäure, Oxalelessigsäure und Citronensäure versetzt, wobei das molare Verhältnis dieser Säuren, entsprechend der durchschnittlichen Zusammensetzung der Wurzelexsudate der Zuckerrübe (Versuch 1), in jeder Stufe auf 1 (Oxalsäure) : 0,35 (Oxalelessigsäure) : 0,15 (Citronensäure) eingestellt war. Die Zugabe an Oxalsäure (und der anderen Säuren im vorher genannten Verhältnis) war hierbei mit 0, 5, 10, 20, 30, 50 und 100 µmol/g Boden sehr weit abgestuft.

Durchführung

Jeweils 20 g luftgetrockneter, auf 2 mm gesiebter Boden wurde in 500 ml Schüttelflaschen mit 50 ml eines Säuregemisches der oben genannten Konzentrationsabstufung in 0,04 M NaCl-Matrix versetzt und für 16 Stunden auf dem Überkopfschüttler geschüttelt. Nach Filtration und Messung der pH-Werte der Filtrate wurde die P-Konzentration im Filtrat nach Säureaufschluß ermittelt.

Ergebnisse und Diskussion

Wie Abb. 2 zeigt, hatte die sukzessive Erhöhung der Zufuhr organischer Säuren (auf der Abszisse als Summe der zugeführten Carboxylgruppen aus Oxal-, Oxalessig- und Citronensäure dargestellt), einen beinahe exponentiellen Anstieg der P-Freisetzung von der Festphase des Bodens zur Folge.

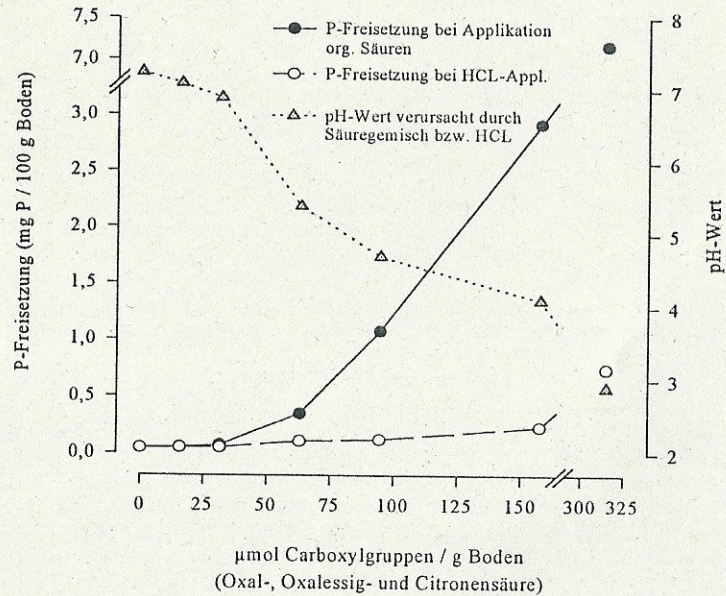


Abb. 2: Einfluß eines Säuregemisches aus Oxalsäure, Oxalessigsäure und Citronensäure (molares Verhältnis 1 : 0,35 : 0,15) auf den pH-Wert und die P-Freisetzung des Bodens sowie die P-Freisetzung bei Einstellung der entsprechenden pH-Werte durch HCL

Da mit steigender Zufuhr organischer Säuren auch der pH-Wert der Gleichgewichtslösung abfiel, ist ein Anstieg der P-Konzentration in der Lösung durch die Auflösung von Ca-Phosphaten denkbar.

Um den pH-Effekt vom möglichen Effekt des Ligandenaustausches durch Anionen der dissoziierten organischen Säuren zu trennen, sind in parallel durchgeführten P-Desorptionsexperimenten pH-Wert-Absenkungen mit HCL auf die entsprechenden, durch die Carbonsäuren bedingten pH-Werte vorgenommen worden. Wie die P-Desorptionskurve durch HCL-Anwendung in Abb. 2 zeigt, ist eine ausschließlich durch die pH-Wert-Absenkung

bedingte Steigerung der P-Freisetzung von der Bodenfestphase erst ab einem pH-Wert der Gleichgewichtslösung unter 4 deutlich feststellbar.

Die P-Mobilisierung als Folge des Ligandenaustausches von an Fe- und Al-Oxiden gebundenem Phosphat gegen die organischen Säureanionen (STUMM, 1986; GERKE, 1992; GERKE et al.; 1994) ist demzufolge quantitativ bei dem hier verwendeten Auenlehm Boden als wesentlich bedeutender einzustufen als die Erhöhung der P-Löslichkeit durch ausschließliche pH-Wert-Absenkung. Die durch die Absenkung des pH-Wertes bedingte Zunahme der Löslichkeit von Ca-Phosphaten fiel hier vergleichsweise gering aus.

Grundsätzlich ist jedoch festzuhalten, daß die P-mobilisierende Wirkung von Carbonsäuren bzw. Protonen von der im Boden dominierenden P-Fraktion abhängig ist. Das Carboxylatanion wirkt deshalb nicht zwangsläufig auf die P-Löslichkeit. So zeigten LOPEZ-HERNANDEZ et al. (1979), daß die Zugabe von Citronensäure und Äpfelsäure zu einem Kalkboden mit einem pH-Wert von 7,8 die P-Löslichkeit nur in dem Maße erhöhte, wie auch der pH-Wert abnahm. Parallel durchgeführte Extraktionen mit auf denselben pH-Wert eingestellten KCL-Lösungen wirkten hinsichtlich der P-Löslichkeit genauso wie Carbonsäure-Lösungen. Bei dem beschriebenen Kalkboden dürfte demzufolge die P-Löslichkeit von der Fraktion der Ca-Phosphate bestimmt worden sein.

Schlußfolgerungen

Die Diskrepanz zwischen gemessener und mittels Modell errechneter Phosphataufnahme bei Zuckerrübe im Feldversuch (CLAASSEN, 1990) dürfte im wesentlichen auf die P-mobilisierende Wirkung der von der Zuckerrübenwurzel in die Rhizosphäre ausgeschiedenen organischen Säuren zurückzuführen sein.

Zusammenfassung

Pflanze

Die Zuckerrübe scheidet unabhängig vom P-Ernährungszustand Oxalsäure, Oxalessigsäure und Citronensäure über die Wurzel aus, wobei die Exsudationsrate bei P-Mangel deutlich erhöht war. Quantitativ größte Bedeutung erlangte hierbei die Oxalsäure, die mit einer Rate von maximal $23 \text{ nmol} \cdot \text{m Wurzellänge}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ausgeschieden wurde.

Boden

Die sukzessive Erhöhung der Zufuhr der drei organischen Säuren, im Verhältnis 1 : 0,35 : 0,15 wie sie von der Zuckerrübe exsudiert wurden, war bei einem Auenlehm Boden mittleren P-Versorgungsgrades (7,5 mg P/1000 ml Boden, P-H₂O-Methode) von einem beinahe exponentiellen Anstieg der P-Freisetzung von der Bodenfestphase begleitet.

Die P-Mobilisierung durch organische Säureanionen war im verwendeten Boden quantitativ wesentlich bedeutender als die Erhöhung der P-Löslichkeit durch ausschließliche

pH-Wert-Absenkung mittels HCL. Für die P-Mobilisierung wird vorrangig der Austausch von an Fe/Al-Oxiden adsorbierten Phosphationen durch die organischen Saureanionen verantwortlich gemacht.

Literatur

- BHAT, K.K.S.; NYE, P.H.; BALDWIN, J.P.: Diffusion of phosphate to plant roots in soil. IV. The concentration distance profile in the rhizosphere of roots with root hairs in a low-P soil. *Plant and Soil* **44**, 63-72, (1976).
- CLAASSEN, N.: Nährstoffaufnahme höherer Pflanzen aus dem Boden - Ergebnis von Verfügbarkeit und Aneignungsvermögen. Severin Verlag, Göttingen, (1990).
- DINKELAKER, B.; RÖMHELD, V.; MARSCHNER, H.: Citric acid excretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of white lupin (*Lupinus albus* L.). *Plant Cell Environment* **12**, 285-292, (1989).
- GARDNER, W.K.; BARBER, D.A.; PARBERY, D.G.: The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus* L. III. The probable mechanism by which phosphorus movement in the soil/root interface is enhanced. *Plant and Soil* **70**, 107-124, (1983).
- GERKE, J.: Phosphate, aluminium and iron in the soil solution of three different soils in relation to varying concentrations of citric acid. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* **155**, 339-343, (1992).
- GERKE, J.: Chemische Prozesse der Nährstoffmobilisierung in der Rhizosphäre und ihre Bedeutung für den Übergang vom Boden in die Pflanze. Cuvillier Verlag, Göttingen, (1995), im Druck.
- GERKE, J.; RÖMER, W.; JUNGK, A.: The excretion of citric and malic acid by proteoid roots of *Lupinus albus* L.: effects on soil solution concentration of phosphate, iron and aluminium in the proteoid rhizosphere in samples of an oxisol and a luvisol. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* **157**, 289-294, (1994).
- HOFFLAND, E.; FINDENEGG, G.R.; NELEMANS, J.A.: Solubilization of rock phosphate by rape. II. Local root exudation of organic acids as a response to P-starvation. *Plant and Soil* **113**, 161-165, (1989).
- HORST, W.J.; WASCHKIES, C.: Phosphatversorgung von Sommerweizen (*Triticum aestivum* L.) in Mischkultur mit Weißer Lupine (*Lupinus albus* L.). *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* **150**, 1-8, (1987).
- LIPTON, D.; BLANCHARD, R.; BLEVINS, D.: Citrate, malate and succinate concentrations in exudates from P-deficient and P-stressed *Medicago sativa* L. seedlings. *Plant Physiol.* **85**, 315-317, (1987).
- LOPEZ-HERNANDEZ, D.; FLORES, D.; SIEGERT, G.; RODRIGUEZ, J.: The effect of some organic anions on phosphate removal from acid and calcareous soils. *Soil Sci.* **128**, 321-326, (1979).
- NEWMAN, E.J.: A method of estimating the total length of root in a sample. *J. Appl. Ecol.* **3**, 133-145, (1966).
- RÖMHELD, V.: pH-Veränderungen in der Rhizosphäre verschiedener Kulturpflanzen in Abhängigkeit vom Nährstoffangebot. *Kali-Briefe* **18**, 13-30, (1986).
- SCHEFFER, F.; PAJENKAMP, H.: Phosphatbestimmung in Pflanzenaschen nach der Molybdän-Vanadin-Methode. *Z. f. Pflanzenernähr., Düngung, Bodenk.* **56**, 2-8, (1952).
- STUMM, W.: Coordinative interactions between soil solids and water - an aquatic chemists point of view. *Geoderma* **38**, 19-30, (1986).

Die vorgestellten Ergebnisse sind Teil eines Projekts, das im Rahmen des Graduiertenkollegs "Landwirtschaft und Umwelt" von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert wurde.