

Pflanzenernährung, Wurzeleistung und Exsudation.

8. Borkheider Seminar zur Ökophysiologie des Wurzelraumes.

(Ed. W. Merbach) B. G. Teubner Verlagsgesellschaft Stuttgart, Leipzig 1998, pp. 137-142

DIE KUPFERAUFNAHME VON ROTKLEE UND WEIDELGRAS AUS Cu-NITRAT-, HUMINSTOFF-Cu- UND Cu-CITRAT-LÖSUNGEN

RÖMER, W.; PATZKE, R.; GERKE, J.

Institut für Agrikulturchemie

Von Siebold-Str. 6

D - 37075 Göttingen

UPTAKE OF COPPER BY RED CLOVER AND RYEGRASS FROM Cu-NITRATE, HUMIC-Cu AND Cu-CITRATE COMPLEXES IN SOLUTION

Abstract

Copper (Cu) is taken up as Cu^{2+} by the roots of higher plants (WELCH et al. 1993). In soil, often most of the Cu in solution is organically complexed (BRÜMMER et al. 1986; GERKE 1995). We therefore conducted experiments on the uptake of Cu^{2+} and organically complexed Cu by red clover and ryegrass as representatives of monocots and dicots.

The short term influx of Cu by red clover was similar from solutions with Cu^{2+} and humic-Cu complexes, whereas the influx from Cu-citrate was lower especially in the -P treatment. The pretreatment with P strongly decreased the Cu influx independently from the Cu species which was applied. Ryegrass took up Cu from Cu^{2+} and humic-Cu solutions at a similar rate. In contrast, Cu uptake from Cu-citrate complexes was significantly lower.

The results show that plants can acquire Cu from organic Cu(II) complexes. The mechanism of uptake are still unknown but may at least partly be related to the excretion of mobilizing agents as suggested by the effect of P-deficiency on Cu influx.

Zusammenfassung

Kupfer (Cu) wird von den höheren Pflanzen als Cu^{2+} aufgenommen (WELCH et al. 1993). Im Boden liegt Cu in der Bodenlösung vielfach als organisch komplexiertes Metallkation vor (BRÜMMER et al. 1986; GERKE 1995). Deswegen wurden Untersuchungen zur Aufnahme von Cu aus Lösungen mit verschiedenen Cu-Spezies durch Weidelgras und Rotklee durchgeführt.

Die Ergebnisse zeigen, daß Rotklee alle drei Cu-Spezies mit ähnlicher Rate aufnimmt. Das heißt, Cu-Citrat- oder Huminstoff-Cu-Komplexe werden genauso gut genutzt wie Cu^{2+} , außer in der -P-Variante. Dagegen nutzte Weidelgras Cu^{2+} und Huminstoff-Cu-Komplexe ähnlich gut, Cu-Citrat-Komplexe aber vergleichsweise gering. Die Ergebnisse zeigen, daß sowohl dikotyledone Arten als auch Gramineen organische Cu-Komplexe nutzen können. Die Mechanismen sind bis jetzt unbekannt, stehen möglicherweise in Zusammenhang mit der Ausscheidung mobilisierender Verbindungen.

Einleitung

Über den Übergang von Kupfer (Cu) aus dem Boden in die Pflanzenwurzel ist bis heute relativ wenig bekannt. Es wird angenommen, daß dieses Metall als Cu^{2+} von der Wurzel aufgenommen wird (WELCH et al. 1993). Andererseits wird das in der Bodenlösung befindliche Cu häufig von organischen Cu-Komplexen dominiert (BRÜMMER et al. 1986; GERKE 1995). Da Cu über die Bodenlösung zur Wurzel transportiert wird, ist es von Bedeutung zu wissen, ob das Cu der gelösten organischen Cu-Komplexe von der Pflanze genutzt werden kann.

Um dieser Frage nachzugehen, wurden in Nährlösungsversuchen Cu^{2+} (aus $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$), Cu-Citrat- und Huminstoff-Cu-Komplexe im Kurzzeitversuch (3 h) den Pflanzen angeboten und aus der Abnahme der Cu-Konzentration der Nährlösung die Cu-Aufnahme ermittelt. Damit wurde geprüft, ob und mit welcher Rate Cu aus den organischen Cu-Komplexen im Verhältnis zu Cu^{2+} aufgenommen wird. Dabei dienten natürliche Huminstoffe als organische Modells-substanzen für gelöste organische Verbindungen im Boden. Citrat wird deshalb vergleichend geprüft, weil es von verschiedenen Leguminosenarten vor allem bei P-Mangel mit hoher Rate durch die Wurzel ausgeschieden wird. (DINKELAKER et al. 1989; GERKE 1995).

Material und Methoden

Für den eigentlichen Cu-Aufnahmeversuch wurden die Rotkleepflanzen 29 Tage und die Weidelgraspflanzen 15 Tage in einer Nährlösung folgender Zusammensetzung vorkultiviert: 250 μM N als $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 100 μM K als KCl, 75 μM Mg als MgSO_4 , 10 μM P als NaH_2PO_4 . Die Mikronährstoffe wurden nach HOAGLAND (vgl. SCHILLING, 1990) appliziert, davon 5 μM Fe als Fe-Squestren. Rotklee wurde bei 3 μM Cu (+ Cu-Variante) oder bei 0,3 μM Cu (- Cu-Variante) und bei ausreichender P-Versorgung (10 μM P = + P-Variante) oder bei P-Mangel (1 μM P = - P-Variante) vorkultiviert. Weidelgras wuchs bei 3 μM Cu (+ Cu) oder bei 0,15 μM Cu (- Cu) und bei variiertem Fe-Angebot: 5 μM Fe (+ Fe) bzw. 0,2 μM Fe (- Fe-Variante). Im

eigentlichen Cu-Aufnahmeversuch wurden die Pflanzen in Lösungen überführt, die $10^{-6,275}$ M Cu ($= 33,7 \mu\text{M Cu L}^{-1}$) verschiedener Cu-Spezies in einer CaCl_2 -Matrix von 0,2 mM enthielten. Die Cu-Bezugsvariante enthielt das Cu als Cu-Nitrat. Die Huminstoffe wurden nach einem Extraktionsverfahren von GERKE und JUNGK (1991) aus einem Humus-Podsol (Hodenhagen, Niedersachsen) gewonnen und nach GERKE (1990) mit Cu beladen. Die Huminstoff-Cu-Komplexierung enthielt 10^{-5} M -COOH je L, die Cu-Citratlösung 10^{-4} M freies -COOH je L. Um zu gewährleisten, daß bei den verwendeten Applikationslösungen vor allem Cu der gewünschten Spezies den Pflanzen angeboten werden, sind Cu-Speziesberechnungen durchgeführt worden. Dabei wurden folgende Spezies berücksichtigt (Gl. 1):

Gleichung 1

$$[\text{Cu}_i] = [\text{Cu}^{2+}] + [\text{CuOH}^+] + [\text{CuCl}^+] + [\text{Cu}(\text{OH})_2^0] + [\text{CuCO}_3^0] + [\text{Cu-Citrat}^-] + [\text{HSCu}(\text{OH})_x^{1-x}]$$

Die darauf basierenden Cu-Speziesberechnungen weisen aus, daß bei Konzentrationen von 10^{-5} M an Huminstoff-COOH-Gruppen oder einer Citrataktivität von 10^{-4} M Lösungen hergestellt werden können, die mehr als 95% der entsprechenden organischen Cu-Spezies enthalten (Tab. 1).

Tabelle 1: Cu-Speziesverteilung (relative Anteile) der verwendeten Applikationslösungen mit und ohne Huminstoff (HS) (10^{-5} M) und Citrat (10^{-4} M)

	HS	Citrat	HS-Cu	Cu-Citrat	Cu^{2+}	CuCO_3^0
pH 6,0	+	+	99,99	0,01	<0,01	<0,01
pH 6,0	-	+	-	98,66	1,24	0,05
pH 6,0	-	-	-	-	92,90	3,72

Randbedingungen: 0,2 mM CaCl_2 ; CO_2 -Partialdruck: 0,03 bar

Die Cu-Gehalte der „Cu-Fütterungslösungen“ wurden nach 3 h direkt oder nach saurem Aufschluß mit dem AAS (Graphitrohr) gemessen. Die Wurzellängen wurden nach NEWMAN (1966) bestimmt. Sie dienten als Basis für die Berechnung der Wurzeloberflächen.

Ergebnisse

Kupfermangel in der Vorkultivierung hat keinen Einfluß auf den Cu-Influx von Rotklee (Abb. 1). Das Cu der organischen Cu-Komplexe wird von Rotklee mit ähnlicher Rate aufgenommen, wie Cu^{2+} . Dagegen erhöhte P-Mangel in der Vorkultivierung den Cu-Influx von Rotklee um den

Faktor 2 (Abb. 1), wenn auch in den -P-Varianten die Nutzung von Cu als Citratkomplex tendenziell etwas geringer ist als die beiden anderen Spezies.

Anders als bei Rotklee zeigte Weidelgras eine Reaktion der Cu-Aufnahmerate in Abhängigkeit von der Cu-Versorgung bei der Anzucht. Die -Cu-Varianten zeigten stets höhere Cu-Influxwerte und zwar unabhängig von der Fe-Ernährung. Im Gegensatz zu Rotklee variierte auch der Cu-Influx von Weidelgras in Abhängigkeit von der angebotenen Cu-Spezies. Cu-Citrat-Komplexe werden mit geringerer Rate aufgenommen als Huminstoff-Cu-Komplexe oder $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ (Abb. 2).

$\text{mol Cu } 10^{-14} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$

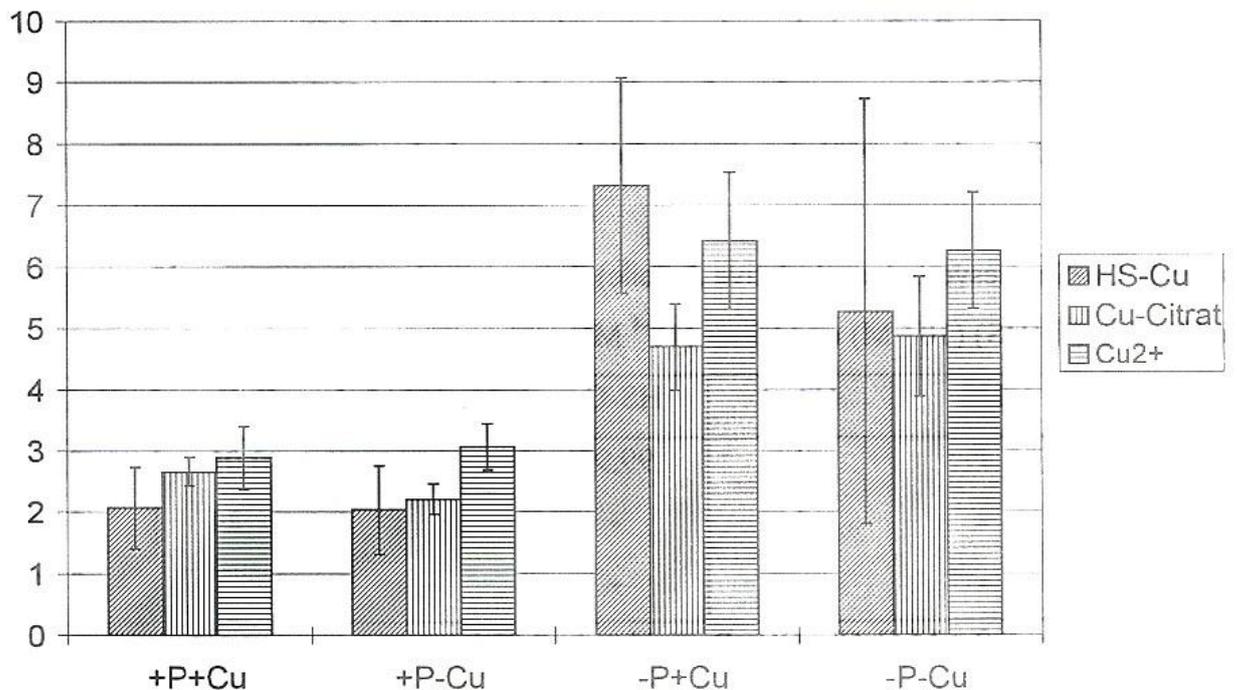


Abb. 1: Cu-Influx von Rotklee nach 3 h, Balken = Standardabweichung

mol Cu $10^{-14} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$

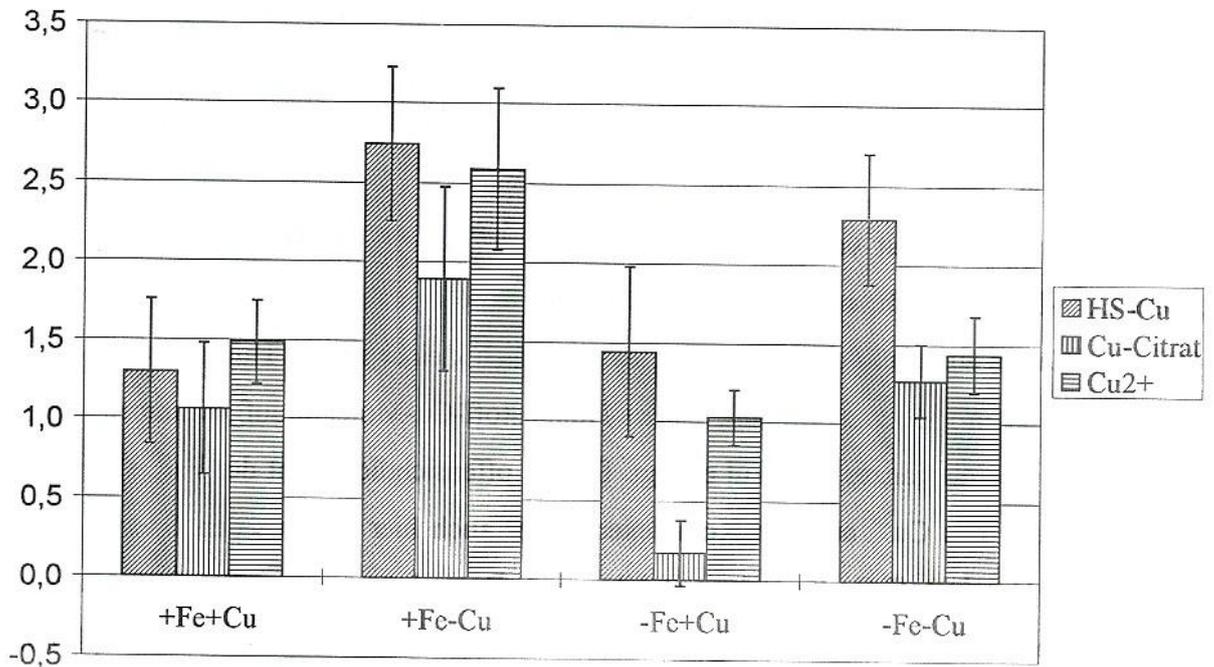


Abb. 2: Cu-Influx von Weidelgrass nach 3 h, Balken = Standardabweichung

Diskussion

Offensichtlich gibt es Unterschiede im Cu-Aufnahmeverhalten der zwei Pflanzenarten. Was zunächst den dikotylen Rotklee betrifft, so kann er das unterschiedlich gebundene Cu^{2+} in gleicher Weise aufnehmen, aber in höherer Rate, wenn die Pflanzen P-Mangel aufweisen. Für Cu ist bekannt, daß dieses als Cu^{2+} von der Pflanzenwurzel aufgenommen wird (WELCH et al. 1993). Damit stellt sich die Frage, wie Cu^{2+} aus den gelösten organischen Komplexen für die Pflanze verfügbar wird. Dies könnte geschehen, wenn die in den AFS eingedrungenen Komplexe mit anderen Komplexen (Proteinen, Glucuronsäuren?) der Rindenzellen in Berührung kommen, die das Cu^{2+} binden, weil sie eine größere Affinität zum Cu^{2+} haben als die in den AFS eingedrungenen Huminstoff- bzw. Citratkomplexe. Allerdings ist die Stabilität der Huminstoff-Cu-Komplexe so hoch, daß dies wenig wahrscheinlich ist (GERKE 1995). Weiter ist denkbar, daß Cu^{2+} -Ionen in ihren Huminstoff- bzw. Citratkomplexen von plasmalemmgebundenen Reduktasen in den Zellwänden zu Cu^+ -Ionen reduziert werden und damit aus den Komplexen freigesetzt werden (WELCH et al. 1993). Ob sie dann als solche aufgenommen oder vor ihrer Aufnahme zu Cu^{2+} aufoxidiert werden, ist unbekannt. Von WELCH et al. (1993) wurde jedenfalls bei *Pisum* ein solcher adaptiver Reduktionsmechanismus bei Cu-Mangel gefunden. Bei P-Mangel ist die Enzymaktivität von Wurzeln (saure Phosphatasen) oft drastisch erhöht (BEISSNER und RÖMER

1994). Ob dies auch für Reduktasen zutrifft, ist nicht untersucht. Aber eine unspezifische Erhöhung der Aktivität von Reduktasen in den Zellwänden der Wurzelzellen ist durch Protonen gegeben, die bei P-Mangel verstärkt ausgeschieden werden (DINKELAKER et al. 1989; GERKE et al. 1994). Außerdem ist bekannt, daß bei Cu-Mangel Reduktionsäquivalente ausgeschieden werden (WELCH et al. 1993).

Was die geringe Nutzbarkeit von Cu-Citrat durch Weidelgras im Vergleich zu Huminstoff-Cu bzw. freie Cu^{2+} -Ionen betrifft, so ist eine Erklärung der experimentellen Befunde noch schwieriger. Geht man davon aus, daß das Cu-Citratmolekül deutlich kleiner als das Huminstoff-Cu-Molekül ist, so müßte es in größerem Umfang als das Huminstoff-Cu-Molekül aufgenommen werden, wenn eine Aufnahme als ganzes Molekül erfolgt. Das ist offensichtlich nicht der Fall. Dann bleibt nur die Freisetzung des Cu^{2+} aus den Komplexen. Aber auch hier gilt aus den Speziesberechnungen, daß die Huminstoff-Cu-Komplexe stabiler sind. Bemerkenswert ist, daß bei reduzierter Fe-Ernährung der Cu-Influx von Weidelgras nicht erhöht ist. Eine erhöhte Phytosiderophorausscheidung führt offenbar nicht notwendig zu einem erhöhten Cu-Aneignungsvermögen der Graspflanzen. In den -Fe-Pflanzen war aber in den 15 Tage alten Pflanzen tatsächlich eine höhere Cu-Konzentration in der Sproß- und Wurzelmasse (hier nicht gezeigt, PATZKE 1997). Das heißt, die Aufenthaltsdauer der Wurzeln von 3 h in der Nährlösung für die 3 Cu-Spezies könnte zu kurz gewesen sein, um Phytosiderophoreffekte zur Ausprägung zu bringen. Insgesamt zeigt sich, daß das Cu der Huminstoff-Cu-Komplexe mit ähnlicher Rate wie freie Cu^{2+} -Ionen durch eine mono- und eine dicotyle Pflanzenart aufgenommen werden, Cu-Citrat aber mit z. T. deutlich geringerer Rate. Die dafür entscheidenden Mechanismen sind jedoch bis jetzt noch nicht klar.

Literaturverzeichnis

- BEISSNER, L.; RÖMER, W.: Phosphataseaktivität der Zuckerrübenwurzel und Nutzung von Phytat-P. VDLUFA-Schriftenreihe 38, Kongreßband, 733-736 (1994).
- BRÜMMER, G.; GERTH, J.; HERMS, U.: Heavy metal species, mobility and availability in soils. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 149, 392-398 (1986).
- 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).
- GERKE, J.; JUNGK, A.: Separation of phosphorus bound to organic matrices from inorganic P in alkaline soil extracts by ultrafiltration. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 22, 1621-1630 (1991).
- GERKE, J.; RÖMER, W.; JUNGK, A.: The excretion of citric and malic acid by proteoid roots of *Lupinus albus* L.. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 157, 289-294 (1994).
- GERKE, J.: Chemische Prozesse der Nährstoffmobilisierung in der Rhizosphäre und ihre Bedeutung für den Übergang vom Boden in die Pflanze. Cuvillier Verlag Göttingen (1995).
- NEWMAN, E.: A method of estimating the total length of root in a sample. J. Appl. Ecol. 3, 133-145 (1966).
- PATZKE, R.: Aufnahme von organisch komplexiertem Kupfer und Cu^{2+} durch Rotklee und Weidelgras in Nährlösung. Diplomarbeit, Fakultät Agrarwissenschaft Göttingen (1997).
- SCHILLING, G.: Pflanzenernährung und Düngung. Teil I Pflanzenernährung. Deutscher Landwirtschaftsverlag Berlin (1990).
- WELCH, R.M.; NORWELL, W.A.; SCHAEFER, S.C.; SHAFF, J.E.; KOCHIAN, V.: Induction of iron III and copper II reduction in pea (*Pisum sativum* L.) roots by Fe and Cu status. Planta 190, 555-561 (1993).