Einfluß wurzelbürtiger organischer Säuren auf das Cu-, Zn- und Cd-Aneignungsvermögen von Spinatgenotypen

Dissertation
vom Fachbereich Chemie
der Universität Kaiserslautern
zur Erlangung des akademischen Grades

„Doktor der Naturwissenschaften“
(Dr. rer. nat.)

genehmigte Dissertation (D 386)

vorgelegt von
Diplom-Chemiker Holger Keller

Kaiserslautern 2000

Tag der wissenschaftlichen Aussprache

11. Juli 2000

Prüfungskommission

Vorsitzender: Prof. Dr. Dr. D. Schrenk

1. Berichterstatter: Prof. Dr. G. Eisenbrand

2. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Römer

Die vorliegende Arbeit entstand zwischen April 1995 und Juni 2000 im Institut für Agrikulturchemie des Fachbereiches für Agrarwissenschaften der Georg-August-Universität Göttingen.

Herrn **Prof. Dr. Wilhelm Römer** danke ich für die Überlassung des Themas, seine stets erfolgten Anregungen und die unbezahlbare Unterstützung während der Durchführung der Arbeit.

Herrn **Prof. Dr. G. Eisenbrand** danke ich für die Betreuung und Unterstützung während der Promotionszeit.

Für die Übernahme des Prüfungsvorsitzes danke ich **Herrn Prof. Dr. Dr. D. Schrenk**.

Die Arbeit wurde gefördert durch die DFG im Graduiertenkolleg „Landwirtschaft und Umwelt“ am Forschungs- und Studienzentrum Landwirtschaft und Umwelt der Fakultät für Agrarwissenschaften der Georg-August-Universität Göttingen und im Rahmen des DFG-Projektes *Ro 1238/2-1* vom 30.03.98.

Meinen Eltern Gerdi und Albert sowie Starr für ihre Geduld und Motivation

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorbtionsspektrometer/ -spektrometrie
AbfKlärV	Klärschlammverordnung
AFS	apparent free space = Apoplast
c_L	Elementkonzentration in der Bodenlösung
c_{Lmin}	minimale Elementkonzentration in der Bodenlösung, bei der die Nettoaufnahme gleich Null ist
C_{org}	organisch gebundener Kohlenstoff
CAL	Calcium-Acetat-Lactat-Lösung
dto.	dito (lat.) - ebenso
F_M	Massenfluß
FS	Frischsubstanz
F-AAS	Flammen-Atomabsorptionsspektrometrie
$GD_{0,05}$(Tukey)	Grenzdifferenz nach Tukey bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5%
GF-AAS	Graphitofen-Atomabsorptionsspektrometrie
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
I_{max}	maximale Aufnahmerate je Einheit Wurzellänge (Inflow)
I	Nettoaufnahmerate pro Einheit Wurzellänge (Inflow)
K_m	Michaelis-Konstante
KAK	Kationenaustauschkapazität
LUFA	Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt
Me	Metall
n.n.	nicht nachweisbar/unterhalb der Nachweisgrenze
p	Irrtumswahrscheinlichkeit (5%, 1%, oder 0,1%)
+P	mit Phosphat hoch versorgt
-P	mit Phosphat niedrig versorgt
PAR	photosynthetisch aktive Strahlung
r	Korrelationskoeffizient
r^2	Bestimmtheitsmaß
SD	Standardabweichung des Mittelwertes
SM	Schwermetall/Schwermetalle
TM	Trockenmasse

$Tukey_{0,05}$	signifikante Unterschiede nach Durchführung eines Tukeytestes bei 5% Irrtumswahrscheinlichkeit
v_0	Wasserinflow
WK	Wasserkapazität
WL	Wurzellänge
WSV	Wurzellängen-Sproßmassen-Verhältnis bzw. Wurzel-Sproß-Verhältnis

Anmerkung:

Zur Beschreibung von Prozessen und Zuständen, z.B. P-Aufnahme oder P-Mangel, wird die Abkürzung P als Synonym für Phosphat verwendet. In Zusammenhang mit Gehalts- und Konzentrationsangaben beziehen sich diese aber auf das Element Phosphor.

Abbildungsverzeichnis

Tabellenverzeichnis

1 Einleitung

Schwermetalle sind ein natürlicher Bestandteil unserer Umwelt. Einige dieser Metalle sind als Spurenelemente für die pflanzlichen und tierischen Organismen essentiell. Zu ihnen gehören Eisen, Mangan, Kupfer und Zink. Zusätzlich gehören für die Pflanzen Molybdän und für Tiere Cobalt zu den essentiellen Elementen. Durch ihre Fähigkeit zum Wechsel der chemischen Wertigkeit (Fe, Mn, Cu, Mo) übernehmen diese Elemente als Bestandteile von Enzymen biochemische Funktionen. Eisen und Kupfer sind unter anderem Bestandteile von Redoxsystemen (z.B. in der Photosynthese und in der Atmungskette) und für zahlreiche, am intermediären Stoffwechsel beteiligte Enzyme notwendig. Zink dient entweder als Metallkomponente von Enzymen oder als funktioneller, struktureller oder regulatorischer Cofaktor bei einer großen Zahl von Enzymen (MARSCHNER 1995).
Neben den essentiellen Schwermetallen gibt es aber auch Metalle wie Cadmium, Quecksilber, Blei und Chrom, für die bisher keine essentiellen Funktionen nachgewiesen werden konnten. Alle Schwermetalle, auch die lebensnotwendigen, führen nach der Überschreitung einer elementspezifischen Konzentration zu Schädigungen von pflanzlichen und tierischen Organismen.
Aus toxikologischer Sicht wird dabei Cadmium zu den bedenklichsten Schwermetallen gezählt (WEIGEL 1990; WALLNÖFER UND ENGELHARDT 1988), dem auch humantoxikologische Bedeutung zukommt. In Tierversuchen erwies es sich eindeutig als krebserzeugend. Außerdem wird es vom Körper wegen seiner Bindung zu Metallothionein nur langsam ausgeschieden und reichert sich aufgrund seiner Halbwertszeit von 10-30 Jahren vor allem in der Niere und der Leber an (EISENBRAND UND METZLER 1994). Chronische Belastungen können durch Inhalation und orale Aufnahme von Cadmium verursacht werden. Dabei kommt es vor allem in der Niere zu einer Schädigung des glomerulären und/oder des tubulären Apparates mit nachfolgender Proteinurie (MERIAN 1984). Weiterhin sind Veränderungen im Mineralhaushalt der Knochen (Itai-Itai-Krankheit) und Schädigungen von Lunge und Leber sowie Anämien bekannt (STOEPPLER 1991).
Etwa 75% der vom Menschen aufgenommenen Schwermetalle (orale und inhalative Aufnahme) stammen aus pflanzlichen Nahrungsmitteln. Zusätzlich gelangen Schwermetalle durch pflanzliche Futtermittel über die Nahrungskette in Lebensmittel tierischer Herkunft (HEINTZ UND REINHARDT 1991).

Um die Schwermetallbelastung für den Menschen möglichst gering zu halten ist somit das Verständnis der Schwermetallanreicherung in den Pflanzen wichtig, um die Qualität pflanzlicher und tierischer Lebensmittel zu gewährleisten. Da es auf diesem Gebiet noch große Wissenslücken gibt, sind Erkenntnisse aus dem Gebiet der Pflanzenernährung notwendig. Im Folgenden soll ein kurzer Abriß über die Schwermetallproblematik und pflanzenernährerische Aspekte gezeigt werden.

1.1 Vorkommen von Schwermetallen im Boden

Endogene Quellen

Böden befinden sich im obersten, belebten Bereich des Verwitterungsmantels der Erdkruste. Dieser Bereich wird als Pedosphäre bezeichnet und grenzt nach unten an die Lithosphäre und nach oben an Atmosphäre, Hydrosphäre und Biosphäre (SCHEFFER UND SCHACHTSCHABEL 1989; FIEDLER UND RÖSLER 1993). Schwermetalle sind natürliche Bestandteile verschiedener Gesteine und Minerale in der Erdkruste (ERNST 1982; MERIAN 1984; HEINTZ UND REINHARDT 1991; SCHIMMING 1993; FIEDLER UND RÖSLER 1993) und liegen dort gebunden in Sulfiden, Oxiden, Karbonaten, Sulfaten, Phosphaten und Silikaten vor.
Durch Verwitterung schwermetallhaltiger Gesteine im Zuge des Bodenbildungsprozesses ergibt sich so eine natürliche, geogene Hintergrundkonzentration an Schwermetallen. Im allgemeinen unterscheiden sich die Schwermetallkonzentrationen der Böden nur wenig von denen des Ausgangsgesteins und sind relativ niedrig. Lokal können aber auch höhere geogene Schwermetallkonzentrationen in der Umgebung von Vulkanen und Thermalquellen (HEINTZ UND REINHARDT 1991; FIEDLER UND RÖSLER 1993; WILCKE UND DÖHLER 1995) bzw. bis zur Erdoberfläche reichender Erzlagerstätten vorkommen.

Anthropogene Schwermetallbelastungen

Zu den natürlichen Bodengehalten kommen noch deutliche Anreicherungen infolge lange andauernder anthropogener Belastungen hinzu, die ihre Ursprünge im Erzabbau bzw. der Erzverhüttung im Mittelalter (z.B. Harz, Erzgebirge), oder sogar der Römerzeit haben. Sie lassen sich auch in den Aueböden schwermetallbelasteter Flüsse wie z.B. dem Ruhrgebiet finden (WILCKE UND DÖHLER 1995). In den letzten 100 Jahren hat die Wirtschaftstätigkeit des Menschen weltweit zu drastisch angestiegenen Emissionen von Schwermetallen geführt (NRIAGU 1979). Die wichtigsten anthropogenen Eintragsquellen von Schwermetallen in Böden atmosphärischer Herkunft sind laut FIEDLER UND RÖSLER (1993) die Emission schwermetallbelasteter Stäube aus der Kohle-, Moor- und Vegetationsverbrennung, der Eisen- und Stahlproduktion, der Nichteisenindustrie, von Vergaserkraftstoffen und von Müllverbrennungsanlagen sowie aus der Produktion von speziellen Spurenelementen. Nach MIEHLICH UND LUX (1990) finden sich so die Schwerpunkte von Schwermetalldepositionen in der Umgebung urbaner und industrieller Zentren. Da die Schwermetalle in der Atmosphäre vor allem an Aerosole gebunden sind, können Verlagerungen aus den Zentren bis hin zu den Hochalpen und der Arktis erfolgen, wo Schwermetalleinträge anthropogenen Ursprungs nachweisbar sind (WILCKE UND DÖHLER 1995).

Eine weitere Quelle anthropogener Schwermetalleinträge in Böden stellen die landwirtschaftlichen Bewirtschaftungsmaßnahmen dar. Nach WILCKE UND DÖHLER (1995) zählen hierzu die Verwendung anorganischer Düngemittel (insbesondere Cd-haltiger P-Dünger, wobei die Herkunft eine große Rolle spielt), Wirtschaftsdünger tierischer Herkunft (Zn- und Cu-angereicherte Futtermittel, z.B. in der Schweinemast), Bewässerungsmaßnahmen und die Verwendung von Pflanzenschutzmitteln. Fungizide auf Cu- oder Zn-Basis werden beispielsweise im Hopfen- und Weinbau eingesetzt (KLOKE 1985; SAUERBECK 1986). Weitere Quellen stellen nach WILCKE UND DÖHLER (1995) die Verwertung von Sekundärrohstoffen dar, wobei es sich um organische Siedlungsabfälle wie Klärschlamm, Kompost, Bioabfall und Müllkomposte handelt, die lokal zu erhöhten Schwermetallgehalten der Böden führen können.

Schwermetallaustrag

Schwermetalle können über verschiedene Wege aus Böden ausgetragen werden. Größte Bedeutung für den Agrarbereich haben nach ISERMANN (1992) die Schwermetallausträge durch oberflächlich abfließendes Wasser, wobei neben der Lösungsfracht insbesondere die Erosion eine große Rolle spielt. Dies führt zwar zu einer zum Teil erheblichen Belastung der Vorfluter, führt aber in der Regel nicht zu einer Absenkung der Schwermetallkonzentration in der Ackerkrume, da durch die Wassererosion der Boden selbst abgetragen wird. Sieht man von der Erosion ab, so ergeben sich nach WILCKE UND DÖHLER (1995) als wichtigste Austragswege für Schwermetalle im Boden das Sickerwasser sowie der Entzug und die anschließende Abfuhr mit dem Erntegut.

Durch Bilanzierung aller Eintrags- und Austragswege (HEINTZ UND REINHARDT 1991; SCHIMMING 1993; WILCKE UND DÖHLER 1995) zeigt sich allerdings, daß der

Schwermetalleintrag meist höher ist als der Austrag. Somit kommt es zu einer langsamen Akkumulation von Schwermetallen in den Böden. Die Vorratsänderung der landwirtschaftlichen Böden in der Bundesrepublik Deutschland beträgt nach WILCKE UND DÖHLER (1995) im Durchschnitt für Cd +3,6 g ha^{-1} a^{-1}, für Cu +237 g ha^{-1} a^{-1} und für Zn +896 g ha^{-1} a^{-1}.

1.2 Gesetzliche Regelungen für Schwermetalle in Böden

Erste Bodengrenzwerte für Schwermetalle wurden in der Klärschlammverordnung (AbfKlärV) von 1982 (ANOMYM 1982) aufgestellt. Diese Werte sind durch die Novellierung der Klärschlammverordnung (ANONYM 1992) verschärft worden. Tabelle 1.1 zeigt die geltenden Bodengrenzwerte für die Elemente Cu, Zn und Cd.

Tabelle 1.1: *Bodengrenzwerte der Klärschlammverordnung (AbfKlärV) (ANONYM 1992) für die Schwermetalle Kupfer, Zink und Cadmium.*

	Tongehalt <5% oder pH-Wert 5-6*	Tongehalt >5% und pH-Wert >6
Cu	60	60
Zn	150	200
Cd	1,0	1,5

* = bei pH-Wert <5 ist keine Klärschlammausbringung erlaubt.

Es handelt sich aber hier nicht um „Grenzwerte“ in dem Sinne, daß bei deren Überschreitung schon mit einer akuten Gefährdung von Pflanze und Tier bzw. Mensch zu rechnen ist. Definitionsgemäß sind es vielmehr Vorsorgewerte, oberhalb derer kein Klärschlamm mehr ausgebracht werden darf, um eine weitere Schwermetallanreicherung und damit potentiell auftretende Risiken zu verhindern.

In der Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung (BBodSchV) vom 17. März 1998 sind Prüf-, Maßnahme- und Vorsorgewerte für Schwermetallgehalte im Boden in Abhängigkeit von der Nutzungsart vorgegeben (BMU 2000). Ein Überschreiten der Prüfwerte zieht eine eingehendere Untersuchung nach sich, ob mögliche Gefahren für das Schutzgut bestehen, während bei Erreichen der definierten Maßnahmewerte in der Regel von einer Gefahr auszugehen ist und Maßnahmen notwendig werden.

1.3 Grenz- und Richtwerte für Lebens- und Futtermittel

Die Aufnahme von Schwermetallen durch den Menschen kann über verschiedene Pfade (Luft, Trinkwasser, Boden, Nahrung, Tabakrauch) erfolgen. Für die Elemente Arsen, Blei und Cadmium steht die Aufnahme über die Nahrung im Vergleich zu allen anderen Pfaden weit im Vordergrund (EIKMANN 1994).

In der Bundesrepublik Deutschland werden nach Angaben der Zentralen Erfassungs- und Bewertungsstelle für Umweltchemikalien beim Bundesgesundheitsamt (ZEBS) täglich 27-34 µg Cadmium mit der Nahrung aufgenommen (WEIGERT ET AL. 1984). Besonders hohe Cadmium-Konzentrationen können beispielsweise in Pilzen oder Nieren und Leber nachgewiesen werden (STOEPPLER 1991). Eine Auswahl von Lebensmittelricht- und Futtermittelgrenzwerten für die Elemente Blei und Cadmium sind in Tabelle 1.2 bzw. Tabelle 1.3 dargestellt (ENTEL ET AL. 1987; BGA 1993).

Tabelle 1.2: *Lebensmittelrichtwerte für Blei und Cadmium in pflanzlichen und tierischen Nahrungsmitteln (Angaben in mg kg^{-1} Frischsubstanz).*

Lebensmittel	Blei	Cadmium
	[mg kg^{-1} FS]	
Käse	0,25	0,05
Rindfleisch	0,25	0,10
Rinderleber	0,50	0,30
Kalbsniere	0,50	0,50
Wurstwaren	0,25	0,10
Fisch und Fischwaren	0,50	0,10
Weizenkörner	0,30	0,10
Roggenkörner	0,40	0,10
Kartoffeln	0,25	0,10
Blattgemüse	0,80	0,10
Spinat	0,80	0,50
Wurzelgemüse	0,25	0,10

Tabelle 1.3: *Futtermittelgrenzwerte für Blei und Cadmium (Angaben mg kg^{-1} mit 88% Trockenmasseanteil).*

Futtermittel	Blei	Cadmium
	[mg kg^{-1} TM]	
Heu/Gras	40	1
Rübenblatt	40	1
Einzelfuttermittel	10	1
Alleinfuttermittel	5	1

Da den Elementen Kupfer und Zink kaum humantoxikologische Bedeutung zukommt, sind für sie auch keine Richt- und Grenzwerte definiert.

1.4 Aufnahme und Verteilung von Schwermetallen in der Pflanze

Die Pflanze kann Schwermetalle über die Wurzel und die Blätter aufnehmen (WEIGEL 1990). Bei normalen Schwermetallkonzentrationen in der Luft ist die Aufnahme über das Blatt allerdings zu vernachlässigen. Die Schwermetallaufnahme durch die Pflanzenwurzel hängt von der Größe des Wurzelsystems und der jeweiligen Leistung der Einzelwurzel ab. Die Leistung der Einzelwurzel wird durch die Aufnahmeeigenschaften (z.B. I_{max} = maximale Aufnahmerate je Einheit Wurzel u.a.) und die chemische Mobilisierung (Erhöhung der Löslichkeit) charakterisiert (CLAASSEN 1990). Schwermetallionen diffundieren bei der Aufnahme durch die Wurzeln zuerst aus der Bodenlösung in die zwischen den Zellwänden des Rindenparenchyms befindlichen interzellularen Hohlräume, sowie in die Zellwände. Diese werden als Apoplast, bzw. in der Wurzel auch als „apparent free space" (AFS) oder scheinbar freier Raum bezeichnet. Die Diffusion innerhalb dieses AFS erfolgt dabei relativ langsam, wobei es durch die Carboxylgruppen der Polygalacturonsäuren an den Oberflächen der Zellwände zu einer Akkumulation von Kationen kommt. Das Rindenparenchym wird durch die Endodermis vom Zentralzylinder abgegrenzt. Diese Endodermis ist eine besondere Zellschicht, deren Wände von einer harzartigen Lipidschicht und Ligninen überzogen sind und sie zu einer nahezu unüberwindlichen Barriere für Wasser und darin gelöste Stoffe macht. Diese, auch Casparyscher Streifen genannte Schicht, trennt das Rindenparenchym von dem Zentralzylinder. In jungem Wurzelgewebe, also in den Wurzelspitzen, ist der Casparysche Streifen noch unvollständig ausgebildet und daher ein Ionentransport auf dem apoplasmatischen Weg bis in den Zentralzylinder und somit

bis an das Xylem und Phloem möglich (MENGEL 1984). So gelangen z.B. Ca- und Mg-Ionen überwiegend auf diesem Weg in die junge Wurzel (PITMAN 1977).
In den Wurzelabschnitten, in denen der Casparysche Streifen ausgebildet ist, können die Ionen im AFS nur bis zu diesem diffundieren. Um in das Xylem zu gelangen und in den Sproß transportiert zu werden, müssen sie das Plasmalemma der Rindenzellen durchqueren, um dann im Symplast (Kontinuum der Zellprotoplasten, verbunden über Plasmodesmen) weiter diffundieren zu können. Das bedeutet, daß an der Grenzfläche zwischen Apoplast und Symplast die eigentliche Ionenaufnahme stattfindet. Diese erfolgt über ionenspezifische Mechanismen. Die passive Ionenaufnahme der Kationen erfolgt durch sehr kleine spezifische Ionenkanäle, wobei der Ionenradius und Wechselwirkungen der Ionen mit den Ionenkanälen limitierend wirken. Die Richtung wird dabei durch das elektrochemische Gefälle bestimmt, wobei das elektrische Potential durch ATPasen aufrecht erhalten wird (MARSCHNER 1995).
Nach dem Durchtritt der Ionen durch die Membran gilt der Prozeß der Aufnahme als abgeschlossen und die Ionen werden in das Xylem abgeschieden. Die Funktion des Xylems besteht hauptsächlich im Transport von Wasser und anorganischen Ionen in den Sproß. Dementsprechend sind die Gehalte an organischen Stoffen gering (MENGEL 1984). Allerdings gelang HÖFNER (1967) der Nachweis, daß im Xylem Aminosäuren enthalten sind, die zur Komplexierung von Zink und Cobalt führen. Auch Untersuchungen von WHITE ET AL. (1981a, 1981b) zeigten, daß der Xylemsaft von Sojabohnen und Tomaten nennenswerte Konzentrationen an Citronen-, Äpfel- und Maleinsäure sowie Aminosäuren aufweist, die in der Lage sind, Metallionen zu komplexieren. Ionen mit einem geringen internen Bedarf werden über die Gefäßstränge in die Blattspitzen transportiert und dort ausgeschieden. Nicht selten können dort auch toxische Anreicherungen von Schwermetallen zustande kommen und Chlorosen oder Nekrosen hervorrufen (AMBERGER 1996).
Betrachtet man die Verteilung der Schwermetalle in der Gesamtpflanze, so zeigt sich, daß der größere Teil der aufgenommenen Schwermetalle in den Wurzeln verbleibt (SAUERBECK 1989; LÜBBEN 1993). Die Schwermetallverlagerung in den Sproß ist abhängig vom Rückhaltevermögen der Wurzeln (SAUERBECK 1989; FLORIJN 1993) und der Bildung mobiler Komplexbildner (HÖFNER 1967; WHITE ET AL. 1981a).

1.5 Schwermetalltoxizität und -toleranz bei Pflanzen

Die Konzentration eines Elementes in Pflanzen ist nach der Ansicht mehrerer Autoren (KLEIN ET AL. 1981; SAUERBECK 1982; MACNICOL UND BECKETT 1985; STYPEREK 1986) dann als toxisch zu werten, wenn es durch eine weitere Steigerung der Dosis zu einem signifikanten Rückgang des Ertrages kommt, ohne daß ein Ungleichgewicht bei den anderen essentiellen Elementen auftritt und als Ursache in Frage kommt. Kommt es aber als Folge eines solchen Ungleichgewichtes zu Ertragsdepressionen, spricht man von einem induzierten Mangel der betreffenden essentiellen Elemente.

Vor einer Ausbildung toxischer Symptome reichern sich die Schwermetalle zunächst ohne sichtbare Schäden in den Zellen an. Bei den essentiellen Elementen wird dies als Luxuskonsum bezeichnet. Wird ein bestimmter Schwellenwert überschritten, kommt es zu Störungen des Zellstoffwechsels. Häufig werden Enzymreaktionen blockiert, vor allem diejenigen, die mit dem Substanzaufbau und der -erhaltung verbunden sind, während dissimilatorische Prozesse wie z.B. der Proteinabbau gefördert werden. Sind die Störungen nicht allzu groß, werden die Abbauprodukte unter Bildung von Chlorosen ausgelagert. Diese Chlorosen beginnen an den Blattspitzen und Blatträndern. Bei weiterer Anreicherung kommt es zu einer schweren Schädigung des Stoffwechsels und zu Nekrosen. Die ersten Symtome werden gewöhnlich an den älteren Blättern ausgebildet. Bei einem Überangebot, verbunden mit rascher Verlagerung in den nicht mehr am Stoffwechsel teilnehmenden Xylemgefäßen, beobachtet man die Bildung von Chlorosen und/oder Nekrosen nach Übertritt in das Parenchym bereits in der Nähe der Adern. Bei Dikotylen geschieht dies meist in den Interkostalflächen in Form chlorotischer und nekrotischer Flecken, die sich ständig vergrößern und schließlich auch auf den Blattrand übergreifen. Bei Monokotylen bilden sich beginnend von den Blattspitzen und Blatträndern nekrotische, mehr oder weniger dunkelbraune Flecken über die gesamte Blattspreite aus, während das übrige Gewebe unter gelbbrauner Verfärbung abstirbt (BERGMANN 1993).

Weiterhin werden in der Literatur Toxizitätssymptome wie die Reduktion der Transpiration, der Nettophotosynthese, der Proteinsynthese und der Lateralwurzelbildung sowie eine Schädigung der Zellmembranen und der Wurzelzellen durch toxische Schwermetallkonzentrationen beschrieben, wodurch die Wasser- und Nährstoffaufnahme reduziert oder gar unterbunden sein kann (KOEPPE

1978; KASTORI ET AL. 1992; BERGMANN 1993; FODOR ET AL. 1995; LEITA ET AL. 1995; PRASSAD 1995). Für Cd werden Toxizitätsgrenzwerte (bezogen auf die Trockenmasse) von 1-10 mg kg^{-1}, für Cu 15-25 mg kg^{-1} und für Zn 150-850 mg kg^{-1} definiert, wobei diese unter anderem abhängig von der Pflanzenart und dem Alter der Pflanzen sind (KLEIN ET AL. 1981; SAUERBECK 1982; MACNICOL UND BECKETT 1985; STYPEREK 1986; LÜBBEN 1993).

Bei Pflanzen wird aber auch die Ausbildung von Schwermetalltoleranzen beobachtet. Diese beruhen zum einen in einer Einschränkung der Schwermetallaufnahme, zum anderen auf internen Toleranzmechanismen. Solche sind z.B. die verstärkte Bindung der Schwermetalle an der Zellwand, die Ausbildung metalltoleranter Enzyme oder die Ablagerung der Schwermetalle in den Vakuolen sowie die Komplexierung der Schwermetalle durch biologische Liganden (Phytochelatine) im Cytoplasma (BAKER 1981; TAYLOR 1987; RAUSER 1990; SCHULTZ UND HUTCHINSON 1991; CUMMING UND TOMSETT 1992). COSTA UND MOREL (1993) diskutieren sogar eine Ausscheidung von bereits aufgenommenem Cd als möglichen Mechanismus der Cd-Toleranz bei Lupine. Alle Schutzmechanismen zielen darauf ab, die Aktivität der Schwermetalle im Cytoplasma niedrig zu halten, da sie sonst die normalen Zellfunktionen stören würden.

Pflanzen verschiedener Spezies können Schwermetalle in unterschiedlichem Maße im Sproß anreichern (PETTERSSON 1976; SAUERBECK 1982; KUBOI ET AL. 1986; KLOKE 1994a). In vielen dieser Fälle ist unklar, ob dies auf einer unterschiedlichen Aufnahme, Verteilung innerhalb der Pflanze oder aber einem unterschiedlichen Wachstum des betreffenden Pflanzenteils beruht. Pflanzen, die die Fähigkeit besitzen, die Aufnahme von Schwermetallen einzuschränken bezeichnet man als „excluder“ und solche die überdurchschnittlich viel Schwermetalle aufnehmen als Akkumulatorpflanzen oder Hyperakkumulatoren. Viele Untersuchungen der letzten Jahre haben weiterhin gezeigt, daß es nicht nur Unterschiede in der Schwermetallaufnahme zwischen Kulturpflanzen gibt, sondern auch ausgeprägte Sortenvarianzen existieren (PETTERSSON 1977; HINSLEY ET AL. 1978; ISERMANN ET AL. 1984; MENCH ET AL. 1989; LÜBBEN 1991; FLORIJN ET AL.1993; GUO ET AL. 1995).

Die Mechanismen und Faktoren, die die Verfügbarkeit, Aufnahme und Verteilung von Schwermetallen beeinflussen sind dabei weitgehend unbekannt.

2 Problemstellung

In der Einleitung wurde gezeigt, daß die Gehalte an Schwermetallen, insbesondere von Cd, in pflanzlichen Ernteprodukten möglichst gering sein sollten, um Toxizitäten und Ertragseinbußen bei Pflanzen sowie Gesundheitsschäden von Mensch und Tier zu vermeiden. Um dieses Ziel zu erreichen, gibt es verschiedene gesetzliche Regelungen, u.a. die Klärschlammverordnung (AbfKlärV), die auf Basis von Gesamtschwermetallgehalten im Boden die Verwendung von Klärschlämmen auf landwirtschaftlichen Flächen reglementiert. Andererseits wird durch das Kreislaufwirtschaftsgesetz angestrebt, möglichst wenig Abfall zu produzieren, der auf Deponien gelagert oder andersweitig entsorgt werden muß. Ziel ist es, anfallende sogenannte Sekundärrohstoffe wie z.B. Klärschlämme, Komposte und Grünhäcksel in der Landwirtschaft und im Gartenbau wiederzuverwerten, da diese Tausende von Tonnen Mineraldünger jährlich ersetzen könnten. Aus Gründen der Akzeptanz und noch ungeklärter Sachverhalte wurden allerdings von den 1996 angefallenen 2,4 Millionen Tonnen Klärschlamm (TM) nur ca. 38% auf landwirtschaftlichen Flächen wiederverwertet (BERGS 1998). Da diese Sekundärrohstoffdünger auch Schwermetalle enthalten, die so in den Boden eingebracht werden, ist bei deren Verwendung langfristig mit einer Erhöhung der Schwermetallgehalte im Boden zu rechnen. Bilanzierungen (vgl. Kapitel 1.1) über die Eintrags- und Austragswege von Cu, Zn und Cd weisen schon jetzt auf eine Anreicherung im Boden hin.

Aus dieser Entwicklung leitet sich nicht nur die Forderung ab, den Schwermetalleintrag möglichst gering zu halten, sondern auch nach Wegen zu suchen, die Schwermetallaufnahme in die Pflanzen zu senken. KLOKE UND METZ (1999) weisen darauf hin, daß große Unterschiede in der Schwermetallakkumulation zwischen Pflanzenarten und auch -sorten bestehen. Es sollte deshalb möglich sein, Sorten mit besonders niedriger Schwermetallaufnahme bzw. -akkumulation in den Ernteprodukten zu züchten. Da es aber bisher kein ausreichendes Wissen über die zugrunde liegenden Mechanismen der unterschiedlichen Schwermetallaufnahme bei Pflanzenarten bzw. Genotypen gibt, ist eine gezielte Züchtung auf geringes Akkumulationsvermögen nicht möglich.

Daraus leitet sich die Zielstellung der vorliegenden Arbeit ab. Es soll versucht werden, Zusammenhänge zwischen wichtigen Parametern der Nährstoffaufnahme, die auch für die Schwermetalle von Bedeutung sind, und den Schwermetallgehalten in den Pflanzen herzustellen, um so mögliche Wege für eine gezielte Selektion auf niedrige Schwermetallgehalte zu finden.

Da sich in den vergangenen Jahren gezeigt hat, daß Pflanzenwurzeln beträchtliche Mengen organischer Säuren ausscheiden können, insbesondere bei einer geringen Phosphatversorgung, und damit die chemischen Eigenschaften im wurzelnahen Boden (Rhizosphäre) meßbar verändern (HOFFLAND 1989; GERKE ET AL. 1994; BEIßNER 1997) lag die Vermutung nahe, daß sich die Löslichkeit der Schwermetalle ebenfalls verändert. Unklar ist allerdings, ob damit deren Aufnahme in die Pflanze erhöht oder erniedrigt wird. Die Erniedrigung der Aufnahme wäre zumindest für belastete Böden (z.B. Harzvorland), auf denen Schwermetalle wie Kupfer, Zink und Cadmium für Pflanzen toxische Gehalte erreichen können, wünschenwert, da dies einen Detoxifikationsmechanismus darstellen würde.

In der vorliegenden Arbeit soll deshalb untersucht werden, welche Faktoren einen Einfluß auf das Schwermetallaneignungsvermögen von Pflanzen haben und welche Rolle den Wurzelexsudaten bei der Mobilisierung und Aufnahme der Schwermetalle Kupfer, Zink und des humantoxischen Cadmiums zukommt.

Folgende Fragen sollen dabei beantwortet werden:

1. **Welche physikochemischen Bodeneigenschaften bestimmen die Höhe des pflanzenverfügbaren Schwermetallanteils im Boden und welchen Einfluß haben diese auf das Schwermetallakkumulationsvermögen verschiedener Pflanzenarten?**
2. **Wie groß ist die genotypische Variabilität im Schwermetallaneignungs-vermögen von Spinat und welche Parameter des Aneignungsvermögens spielen dabei eine Rolle?**
3. **Welche organischen Säuren werden insbesondere unter P-Mangel in welchen Raten von Spinatwurzeln ausgeschieden?**
4. **Welchen Einfluß hat die Exsudation organischer Säuren auf die Verfüg-barkeit von Schwermetallen und deren Aufnahme durch die Pflanzenwurzel?**

3 Material und Methoden

In diesem Kapitel werden zunächst die verwendeten Materialien und allgemeine Untersuchungsmethoden beschrieben. Besonderheiten in der Versuchsanordnung werden bei den jeweiligen Experimenten dargestellt.

Alle Schwermetallmessungen wurden nach entsprechender Aufbereitung des Probenmaterials an einem Atomabsorptionsspektrometer (AAS) der Firma Perkin Elmer, bestehend aus den Elementen AAS 5000, HGA 500 und AS 40, durchgeführt. Hierbei kam sowohl die Flammenmeßtechnik (Flammen-AAS) als auch die Graphitofentechnik (GF-AAS) zum Einsatz; Geräteparameter und Einstellungen befinden sich im Anhang, Tabelle 9.1.

Photometrische Messungen wurden mit dem Spectrophotometer UV-120-02 der Firma Shimazu durchgeführt.

Zur kontaminationsfreien Vermahlung von Pflanzen- und Bodenproben wurde eine Zentrifugalmühle ZM-100 der Fa. Retsch mit Titanzubehör bzw. eine Fliehkraft-Kugelmühle mit Achat-Bechern verwendet.

Die Bestimmung von pH-Werten erfolgte mittels einer Einstabmeßelektrode.

3.1 Benutzte Böden

In den Versuchen sollte die Schwermetallaufnahme von Pflanzen aus kontaminierten Böden untersucht werden. Deshalb sollten die Versuchsböden möglichst hohe Schwermetallgehalte (oberhalb der Grenzwerte der AbfKlärV, vgl. Tabelle 1.1) bei gleichzeitig niedrigem P-Versorgungsstatus aufweisen und verschiedene Bodenarten repräsentieren. Der niedrige P-Status läßt eine höhere Aktivität der Wurzeln (Säure- bzw. Protonenexsudation) erwarten (GERKE 1995), die Einfluß auf die Schwermetallöslichkeit im Boden haben kann. Bei einem Screening verschiedener Bodenproben aus dem Harz, die infolge von Erzabbau hohe Schwermetallgehalte aufweisen, konnten jedoch keine geeigneten Böden gefunden werden, da die P-Gehalte immer sehr hoch lagen. Deshalb wurden 3 Böden mit niedrigen P-Gehalten ausgewählt, mit löslichen Schwermetallverbindungen angereichert und je nach Versuch in feuchtem Zustand unterschiedlich lange (mehrere Wochen bzw. Monate) ruhen lassen.

Bei den Böden (Tabelle 3.1) handelt es sich um zwei schwerer texturierte Böden, einen Löß-Lehm-Boden aus Börry (Raum Hameln) und eine Lößparabraunerde (C-Horizont) aus Elliehausen bei Göttingen, sowie einen leichten, d.h. humosen

Sandboden aus Hodenhagen (Raum Walsrode), die alle niedrige CAL-extrahierbare P-Gehalte aufwiesen. Weiterhin wurde eine schwermetallkontaminierte Parabraunerde aus Harlingerode (Harzvorland) verwendet, deren hohe Schwermetallgehalte auf längerfristige Emmissionen einer Blei-Zinkhütte zurückzuführen sind, jedoch sehr hohe CAL-P-Gehalte aufwies.

Tabelle 3.1: *Kenngrößen der Versuchsböden.*

Herkunft	Hodenhagen	Börry	Elliehausen	Harlingerode
Bodentyp	Podsol	Luvisol	Luvisol	Luvisol
Horizont	Ap	Ap	C	Ap
Korngrößenanteile (%)				
Ton	3	20	16	18
Schluff	6	75	75	76
Sand	91	5	9	6
Bodenart	Ss	Ut4	Ut3	Ut4
C_{org} (%) [1]	3,2	1,1	0,3	0,6
$CaCO_3$ (%) [1]	0,1	0,8	8,1	1,5
pH-Wert ($CaCl_2$) [2]	5,0	6,4	7,7	6,9
pflanzenverfügbarer Phosphor (CAL-Extrakt) (mg P 100 g^{-1} Boden) [2]	5,8	2,4	0,6	8,8
Schwermetallgesamtgehalte (mg kg^{-1}) [2]				
Cu	3,7	12,1	10,7	145
Zn	13	44	39	1334
Cd	0,4	0,2	0,01	26

[1] bestimmt von der LUFA Hameln

[2] eigene Analysen

3.2 Untersuchungen an den Böden

3.2.1 Bestimmung der allgemeinen Bodenkenndaten

Der P-Versorgungszustand der Böden wurde mit der Calciumacetat-Lactat (CAL)-Methode nach SCHÜLLER (1969) bestimmt. Das so extrahierte Orthophosphat wurde angefärbt und spektralphotometrisch nach MURPHY UND RILEY (1962) bei 882 nm gemessen.
Der pH-Wert des Bodens wurde in Suspension mit einer 0,01 M $CaCl_2$-Lösung im Verhältnis 1 : 2,5 (Boden : Lösung) bestimmt.
Die Korngrößenanalyse sowie die Bestimmung der Kohlenstoffgehalte wurden von der LUFA Hameln durchgeführt.
Die Carbonatgehalte wurden mit der Scheibler-Apparatur bestimmt.
Die Bestimmung der maximalen Wasserkapazität (WK) der Böden erfolgte nach MITSCHERLICH (1927). Die spätere Pflanzenanzucht erfolgte bei 65-70% der maximalen WK.

3.2.2 Bestimmung der Schwermetallgehalte im Boden und in Bodenextrakten

Zur Bestimmung der Gesamtgehalte an Schwermetallen in den Versuchsböden wurden die luftgetrockneten Proben mit einem 2 mm Sieb gesiebt. Anschließend wurden die Proben mit Königswasser nach der DIN-Vorschrift 38414, Teil 7 aufgeschlossen (SCHOLL ET AL. 1986). Die Messung der Schwermetall-konzentrationen erfolgte in diesem Aufschluß mit der Flammen-AAS.
Zur Charakterisierung der Bindungsformen der Schwermetalle im Boden, insbesondere zur Ermittlung der „pflanzenverfügbaren" Anteile, wurde eine sequentielle Extraktion (ZEIEN 1995) durchgeführt. Die Bestimmung der Elementkonzentrationen in den Extrakten erfolgte mittels Flammen-AAS.

3.2.3 Bodenlösung

Die Bodenlösung aus den Böden der Vegetationsversuche (Böden, ohne bzw. mit Pflanzenbewuchs) wurde nach der Verdrängungsmethode (ADAMS 1974; ADAMS ET AL. 1980) direkt nach Versuchsende (Ernte) gewonnen. Hierzu wurde der feuchte Boden (ca. 65% der maximalen Wasserkapazität) in 250 ml-Standzylinder gefüllt, die an der Unterseite eine mit Filterpapier abgedeckte Öffnung aufwiesen und auf säuregespülten Bechergläsern standen. Mit einer Schlauchpumpe wurde von oben tropfenweise eine 4%-ige Kaliumthiocyanat-Lösung zugegeben, die das in den

Hohlräumen des Bodens befindliche Bodenwasser (= Bodenlösung) nach unten in die Bechergläser verdrängte. Mit Hilfe der Kaliumthiocyanat-Lösung wurde ermittelt, wann die Front der Verdrängungslösung am Ausfluß des Zylinders auftaucht. Hierzu wurde nach bestimmten Zeiten ein Tropfen der verdrängten Lösung entnommen und in 5%-ige Eisen(III)-chlorid-Lösung in 0,1 N Salzsäure gegeben. Das ausfallende, blutrote Eisenthiocyanat zeigte die Ankunft der aufgetropften Lösung an und das Auffangen der verdrängten Bodenlösung wurde beendet. Je nach Wassergehalt des Bodens konnten zwischen 5 und 15 ml Bodenlösung gewonnen werden.
Die Bestimmung der Schwermetalle in den Bodenlösungen erfolgte direkt mittels Flammen-AAS (Cu, Zn) bzw. GF-AAS (Cd). Zur Ermittlung des Gesamt-P-Gehaltes in der Bodenlösung wurde der organisch gebundene Phosphor durch Aufschluß mit einem Säuregemisch in Orthophosphat umgewandelt und zusammen mit dem anorganischen Anteil bestimmt. Hierzu wurden 10 ml der Bodenlösung mit 0,5 ml konzentrierter Schwefelsäure versetzt und auf einem Heizbad bei 100°C auf ein Volumen von ca. 2 ml eingeengt. Anschließend wurden 4 ml eines Gemisches aus konzentrierter Salpetersäure, Perchlorsäure und Schwefelsäure (im volumetrischen Verhältnis von 7 : 2 : 1) zugegeben und die Probe auf dem Heizbad bei 180°C verkocht. Nach Neutralisation und Aufnahme in 25 ml wurde die Phosphatkonzentration spektralphotometrisch nach MURPHY UND RILEY (1962) bestimmt.

3.3 Verwendete Pflanzenarten, deren Sorten und Anzuchtmethoden

Die Auswahl der verwendeten Pflanzenarten erfolgte nach unterschiedlichen Gesichtspunkten. Spinat (11 Sorten) wurde ausgewählt, da er in der Literatur als Schwermetallakkumulator beschrieben wird (LÜBBEN 1991; FIEDLER UND RÖSLER 1993), Rotklee und Lupine, da diese besondere Mechanismen der Phosphatmobilisierung aufweisen (GERKE 1995; NEUMANN ET AL. 1999) und schließlich das Weidelgras als Vertreter der Monokotylen zum Vergleich, von dem eine geringe Änderung der Löslichkeit der Schwermetalle in der Rhizosphäre erwartet wurde.
Im einzelnen handelt es sich hierbei um folgende Sorten (Cultivare = cv.):

Spinat	*Spinacia oleracea* L.	cv. Monnopa[1], cv. Tabu[1], cv. Capro[1] cv. Sombero[2], cv. Avanti[3], cv. Subito[3], cv. Kerdion[3], cv. Spicer[4], cv. Spartacus[4], cv. San Diego[5], cv. San Carlos[5]

Rotklee	*Trifolium pratense* L.	cv. Vesta
Lupine	*Lupinus albus* L.	cv. Amiga
Weidelgras	*Lolium multiflorum* Lam.	cv. Limella

[1] Fa. Carl Sperling & Co. (D); [2] Fa. Enza Zaden B.V. (NL); [3] Fa. Rijk Zwaan (NL); [4] Fa. Bejo Samen-Vertriebs GmbH (D); [5] Fa. S&G Seeds B.V. (NL)

Die Pflanzen, vor allem die Spinatsorten Tabu und Monnopa, von denen sich laut Angabe des Züchters die Sorte Monnopa durch niedrige Oxalsäuregehalte im Sproß auszeichnet, wurden in verschiedenen Medien angezogen. Neben der Anzucht in Boden bzw. Boden-Sandgemischen wurden auch Pflanzen in Quarzsand- und Nährlösungen angezogen (Einzelheiten zur Düngung und Zusammensetzung der Nährlösungen befinden sich in den Versuchsbeschreibungen bzw. im Anhang).
Die Anzucht der Pflanzen erfolgte entweder unter Freilandbedingungen in der Drahthalle des Gewächshauses oder in einer Klimakammer unter kontrollierten Bedingungen.

3.4 Untersuchungen an Pflanzen

Nach Trennung von Wurzeln und Sprossen wurde zunächst deren Frischmasse bestimmt. Bei den Sprossen geschah dies direkt durch Auswiegen. Die Wurzeln wurden bei Anzucht in Boden oder Quarzsand durch schonendes Auswaschen über einem 2 mm-Sieb vom Substrat getrennt. Die gesäuberten Wurzeln bzw. die Wurzeln von in Nährlösung angezogenen Pflanzen wurden durch 10-minütiges Zentrifugieren bei 2900 U min^{-1} (= 1200 g) vom anhaftenden Wasser befreit; anschließend wurde deren Frischmasse bestimmt. Zur Bestimmung der Trockenmassen wurde das Pflanzenmaterial bei 105°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

3.4.1 Elementbestimmung im Pflanzenmaterial

Zur Bestimmung der P- und Schwermetallkonzentrationen wurden die Pflanzenproben auf 0,75 mm vermahlen. Anschließend wurden 0,2 g Trockensubstanz in Teflongefäße eingewogen, mit 4 ml konzentrierter Salpetersäure (65%) versetzt und im Trockenschrank bei 175°C für 12 Stunden einem Druckaufschluß unterworfen. Die Aufschlußlösung wurde in 10 ml aufgenommen und die Schwermetalle direkt mit der Flammen-AAS bzw. GF-AAS bestimmt. Die P-Gehalte wurden spektral-

photometrisch mit der Molybdat-Vanadat-Methode nach SCHEFFER UND PAJENKAMP (1952) ermittelt.
Die Schwermetallkonzentrationen in der Wurzel und die daraus abgeleiteten Ergebnisse (z.B. Schwermetallaufnahmeraten je Wurzeleinheit) sind nur als Anhaltspunkte zu betrachten, da es bei der Gewinnung der Meßdaten methodische Probleme gibt. Zum einen muß man beim Auswaschen des Bodens mit Verlusten besonders bei Feinwurzeln rechnen. Weiterhin ist eine Kontamination der Wurzelproben mit Restbodenpartikeln bei dieser Aufarbeitung nicht auszuschließen, was sich auch auf die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse auswirkt. Außerdem können auch größere Mengen von Schwermetallen im Wurzelapoplasten stark adsorbiert sein, die somit noch nicht als von der Pflanze aufgenommen gelten (FLORIJN 1993).

3.4.2 Bestimmung der Wurzellänge

Von der gewonnenen Wurzelfrischmasse (vgl. 3.4) wurden jeweils repräsentative Unterproben von 0,2 bis 0,5 g, abhängig von Pflanzenart und -alter, entnommen und die Wurzellänge mit Hilfe einer der beiden unten beschriebenen statistischen Verfahren ermittelt. Die Unterproben wurden bis zur Messung in 20%-iger Alkohollösung bei 4°C aufbewahrt.
Bei der Linien-Schnittpunkt-Methode nach NEWMAN (1966) wurden die Wurzeln in 0,5 cm lange Stücke zerkleinert und auf einem 0,2 mm Sieb gleichmäßig verteilt. Anschließend erfolgte die Bestimmung der Wurzellänge, indem bei 100-maligem zufälligem Verschieben des Siebes die Schnittpunkte zwischen den Wurzeln und einer im Okular eines Mikroskopes befindlichen Haarlinie gezählt wurden. Aus der Anzahl der Schnittpunkte von Wurzelstücken und Haarlinie kann die Wurzellänge der Unterprobe (WL_U) nach Gleichung 3.1 ermittelt werden:

Gleichung 3.1:

$$WL_U = \frac{N \bullet F \bullet \pi}{2 \bullet n \bullet H}$$

wobei	WL_U	=	Wurzellänge der Unterprobe (cm)
	N	=	Summe der Schnittpunkte aller Messungen
	F	=	Fläche des Siebes (cm^2)
	n	=	Anzahl der Zählungen (100)
	H	=	Länge der Haarlinie (cm)

Die gemessene Wurzellänge der Unterprobe bezogen auf die Gesamtwurzelfrischmasse ergibt die Gesamtwurzellänge (WL, in cm pro Pflanze oder Gefäß).

Bei der Linien-Schnittpunkt-Methode von TENNANT (1975) wurde die Probe in ca. 1 cm lange Stücke zerkleinert und in einer mit Wasser befüllten Schale gleichmäßig verteilt. In den Schalenboden sind Gitternetzlinien im Abstand von 1,25 cm eingeritzt. Ausgewertet wurden die Anzahl der Schnittpunkte der Wurzelfragmente mit diesen Linien in mehrmaliger Wiederholung. Die Gesamtwurzellänge WL ergibt sich aus:

Gleichung 3.2: $$WL = \frac{11}{14} \bullet G \bullet N \bullet \frac{FM}{UP}$$

wobei	WL	=	Wurzellänge der Gesamtprobe in cm
	$\frac{11}{14}$	=	Faktor für die Prüffläche
	G	=	Abstand der Gitternetzlinien (= 1,25 cm)
	N	=	Summe der Schnittpunkte der Unterprobe
	FM	=	Wurzelfrischmasse der Gesamtprobe in g
	UP	=	Wurzelfrischmasse der Unterprobe in g

Da beide Methoden im Verlauf der Experimente zur Anwendung kamen, wurde ein Methodenvergleich durchgeführt (vgl. Anhang, Tabelle 9.2) Mehrere Proben wurden parallel mit beiden Verfahren ausgewertet und führten zu vergleichbaren Ergebnissen.

3.4.3 Phosphor- und Schwermetallnettoaufnahmeraten-(Inflow) der Wurzeln

Der Elementinflow, später kurz als Inflow bezeichnet, beschreibt die Nettomenge eines Elementes, die pro Einheit Wurzellänge und Zeiteinheit von der Pflanze aufgenommen wird. Da für junge Pflanzen in Gefäßversuchen ein exponentielles Wurzelwachstum angenommen werden kann, wurde die Nettoaufnahmerate bzw. der Inflow (I) nach der von WILLIAMS (1948) konzipierten Gleichung berechnet:

Gleichung 3.3: $$I = \frac{(U_2 - U_1)}{(t_2 - t_1)} \bullet \frac{\ln\left(\frac{WL_2}{WL_1}\right)}{(WL_2 - WL_1)}$$

wobei	I	=	Inflow in mol cm^{-1} s^{-1}
	U	=	Elementmenge in der Pflanze in mol
	WL	=	Wurzellänge in cm
	t	=	Zeitpunkt der Ernte in s
	Die Indizes 1 und 2 stehen für den 1. und 2. Erntetermin		

Für die Berechnung des Inflow über einen längeren Zeitraum hinweg, sind mindestens zwei Erntetermine notwendig, an denen die Elementmengen in den Pflanzen und die Wurzellängen ermittelt werden. Aus den in der betreffenden Zeitspanne aufgenommenen Elementmenge (U_2-U_1) und den Wurzellängen läßt sich ein mittlerer Inflow zwischen diesen Meßterminen berechnen.

3.4.4 Gewinnung von Wurzelexsudaten

Für die Gewinnung von Wurzelexsudaten, das sind organische (u.a. Carbonsäuren, Aminosäuren, Mono- und Polysaccaride) und anorganische (H^+, HCO_3^-) Verbindungen, werden in der Literatur verschiedene Methoden beschrieben.

MENCH UND MARTIN (1991) und MASAOKA ET AL. (1993) beschreiben die Gewinnung der Exsudate aus Nährlösungskulturen, wobei erstere die Nährlösung gegen Wasser austauschten und eine Exsudation für 24 Stunden in Wasser mit nachfolgender Filtration und Einengung der Lösung durchführten, während in der zweiten Methode die Nährlösung kontinuierlich über einen Amberlite XAD-4 Austauscher geleitet wurde, der anschließend mit Methanol extrahiert wurde.

Bei LIPTON ET AL. (1987) wurden die Pflanzen in Quarzsand angezogen; anschließend wurden die Exsudate durch Perkolation aus dem Gefäß gewonnen. Eine „Abstauchmethode“ wurde von GRANSEE UND WITTENMAYER (1995) vorgestellt. Hierbei wurden die Pflanzenwurzeln mit dem Quarzsand in Wasser getaucht und so die darin enthaltenen Exsudate gewonnen. Zur Gewinnung von Exsudaten bestimmter Wurzelbereiche wurden nach der Methode von NEUMANN ET AL. (1999) Filterpapierstücke aufgelegt, aus denen anschließend die Exsudate extrahiert wurden. Weitere Autoren beschreiben die Gewinnung von Wurzelausscheidungen aus Bodenlösungen (ELKHATIB 1990) oder aus Bodenextrakten (FOX UND COMERFORD 1990; GRIERSON 1992; TANI ET AL. 1993; BAZIRAMAKENGA ET AL. 1995).

Alle vorgestellten Methoden besitzen Vor- und Nachteile. Der Vorteil von Nährlösungskulturen gegenüber Quarzsandkulturen ist, daß sich die Wurzelsysteme ohne größere Verletzungen gewinnen lassen. Dadurch ist die Gefahr, mit den

Exsudaten auch Wurzelinhaltsstoffe aus beschädigten Zellen zu bestimmen, relativ gering. Allerdings fanden MACKAY UND BARBER (1984) sowie MOZAFAR UND OERTLI (1986) beim Vergleich beider Methoden morphologische Unterschiede des Wurzelsystems. BEIßNER (1997) konnte ebenfalls bei in Sandkultur angezogenen Pflanzen ein deutlich verzweigteres Wurzelsystem mit mehr Seitenwurzeln feststellen als bei Nährlösungspflanzen. Hierfür werden mechanische Reize des Festsubstrates verantwortlich gemacht.

Neben diesen morphologischen Unterschieden werden beim Vergleich der Methoden auch physiologische Unterschiede diskutiert. So fanden BARBER UND GUNN (1974) bzw. MOZAFAR (1991) eine deutliche Stimulation der Wurzelexsudation, wenn das Wachstum der Pflanzen in festem Substrat erfolgte. BEIßNER (1997) konnte bei Mais ebenfalls deutliche Unterschiede zwischen der Anzucht in Nährlösung und Quarzsand, sowohl in der Menge der abgegebenen Exsudate, als auch der qualitativen Zusammensetzung feststellen.

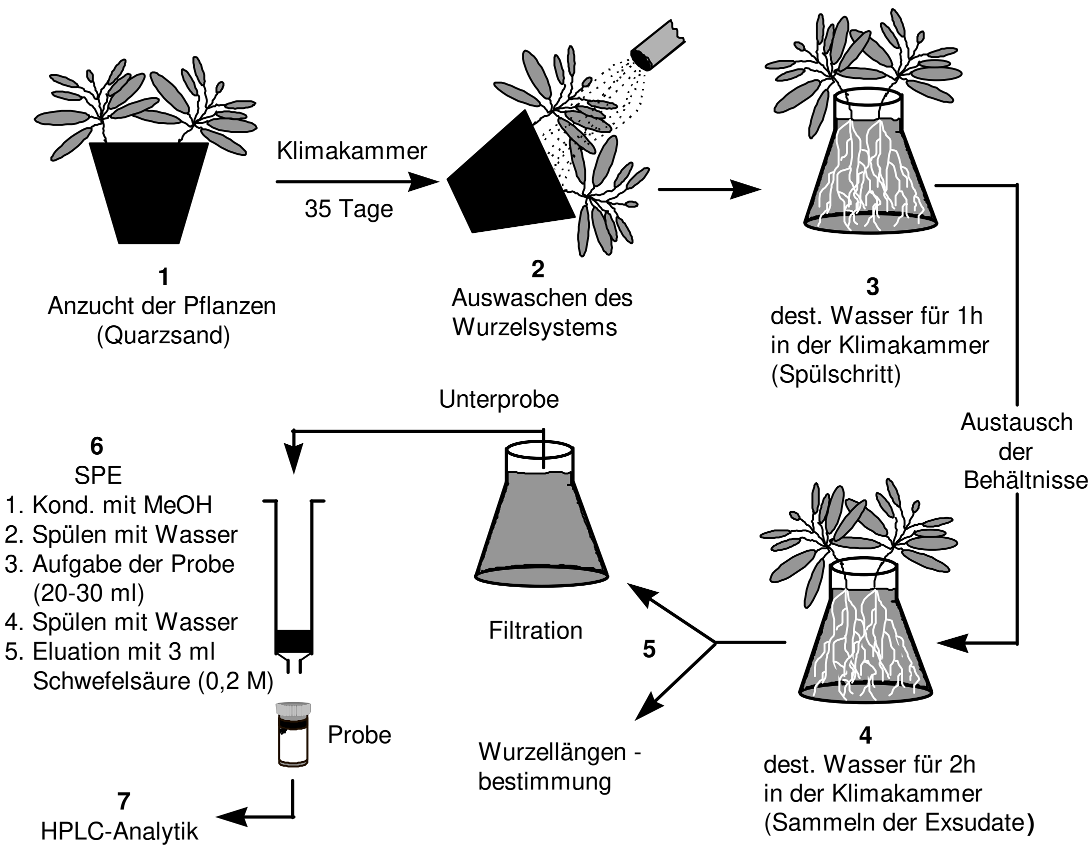


Abbildung 3.1: *Schematische Darstellung der Methode zur Gewinnung von Wurzelexsudaten sowie deren Vorbereitung für die HPLC-Analytik.*

Bei der mit Spinat verwandten Zuckerrübe waren die Unterschiede aber nur tendenziell. Aus diesen Gründen ist der Anzucht in Quarzsand der Vorzug zu geben, da diese Methode die Verhältnisse im Boden besser widerspiegelt.
Die in der vorliegenden Arbeit verwendete Methode wurde in Anlehnung an die Exsudatgewinnung von GERKE (1995) entwickelt (Abbildung 3.1). Zur Gewinnung der Exsudate wurden die Wurzeln vorsichtig aus den Gefäßen ausgespült und vom anhaftenden Quarzsand befreit. Das Wurzelsystem der intakten Pflanzen wurde für 1 Stunde in mit Alufolie abgedunkelte Erlenmeyerkolben mit entmineralisiertem Wasser überführt, um eventuelle Wurzelverletzungen „ausbluten“ zu lassen. Diese Lösungen wurden verworfen und durch neue Lösungen ersetzt. Die Pflanzen verblieben für 2 Stunden in der Klimakammer, wobei die Lösungen ständig belüftet wurden. Die so gewonnenen Exsudatlösungen wurden über Faltenfilter 602h ½ (Schleicher & Schüll) filtriert und der HPLC-Analytik zugeführt.

3.5 Bestimmung von organischen Säuren mittels HPLC

Für die Bestimmung von organischen Säuren ist in Anlehnung an das von GERKE (1995) beschriebene Verfahren eine Trennmethode entwickelt worden, die es erlaubt, vierzehn Mono-, Di- und Tricarbonsäuren qualitativ und quantitativ zu bestimmen. Die Trennung beruht auf dem Prinzip der Anionenausschluß-chromatographie.

3.5.1 Probenvorbereitung

Für die Bestimmung der organischen Säuren wurden die filtrierten Exsudatlösungen mittels Festphasenextraktion aufkonzentriert und von störenden Bestandteilen gereinigt (Abbildung 3.1). Hierzu wurden Chromabond SB-Säulen (quarternäre Amine; 500 mg) in Verbindung mit einer Baker spe-10-Vakuumbox verwendet, die mit Methanol und anschließend entmineralisiertem Wasser vorkonditioniert wurden. Danach sind 20-30 ml Exsudatlösung aufgegeben, mit einem Säulenvolumen Wasser (3 ml) Matrixreste entfernt und die Säule im Vakuum getrocknet worden. Anschließend wurden die adsorbierten Anionen mit 3 mal 1 ml 0,2 M Schwefelsäure eluiert; die so erhaltene Probe wurde nach Filtration über 0,45 µm-Chromafil (PES) Membran-Spritzenvorsatzfilter (Machery & Nagel) direkt für die HPLC-Analyse verwendet.

3.5.2 HPLC-Geräteparameter

Zur Charakterisierung der organischen Säuren wurde ein HPLC-System der Firma Waters, bestehend aus einer Niederdruckgradientenpumpe 600E, einem Autosampler WISP 712, einem Photodiodenarray-Detektor PDA 996 und einer EDV-gestützten Auswerteeinheit (Waters Millennium 2010-Software) verwendet.

Trennsäule:	Merck Polyspher OA KC (Länge: 300 mm; Durchmesser: 7,8 mm)
Laufmittel:	0,015 M Schwefelsäure / isokratisch
Fluß:	0,3 ml min^{-1}
Säulentemperatur:	52°C
Detektion:	210 nm / Max-Plot; AU= Ampere Unit
Injektionsvolumen:	40 µl
Laufzeit:	40 min Trennung + 40 min Säulenregenerierung

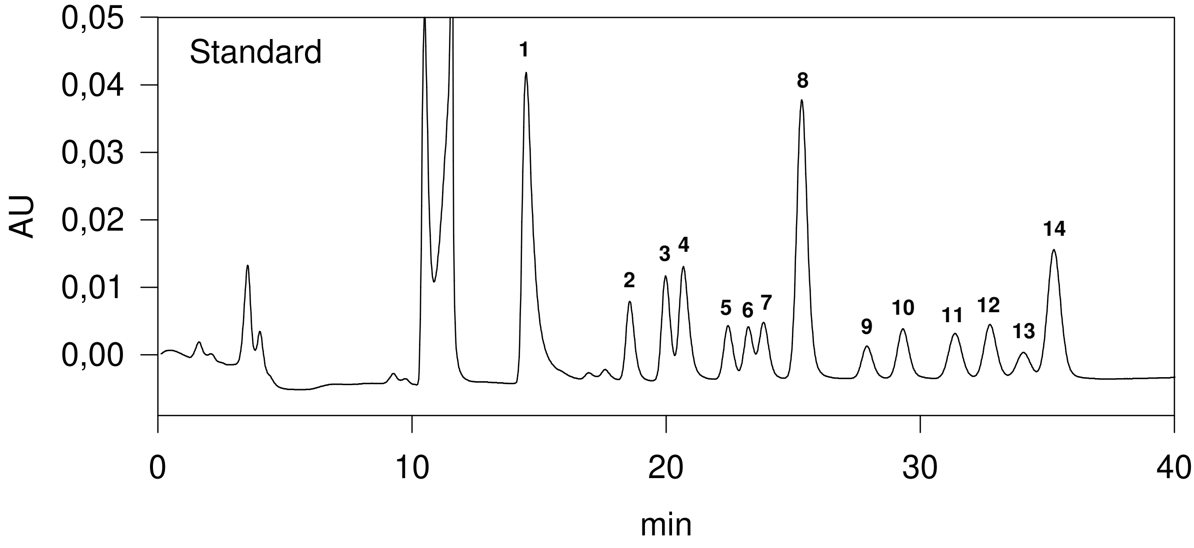


Abbildung 3.2: *Chromatogramm eines Standardgemisches organischer Säuren bei 210 nm. Zusammensetzung des Standards: 1= Oxalsäure, 2= Citronensäure, 3= Weinsäure, 4= 2-Oxoglutarsäure, 5= Äpfelsäure, 6= Brenztraubensäure, 7= Malonsäure, 8= t-Aconitsäure, 9= Bernsteinsäure, 10= Milchsäure, 11= Ameisensäure, 12= Glutarsäure, 13= Essigsäure, 14= Fumarsäure.*

3.5.3 Aufnahme der Kalibriergeraden

Für die Zusammenstellung der im Standard enthaltenen organischen Säuren wurden die Ergebnisse verschiedener Autoren (LIPTON ET AL. 1987; FOX UND COMERFORD 1990; PETERSEN UND BÖTTGER 1991; GRIERSON 1992; TANI ET AL. 1993; GRANSEE UND WITTENMAYER 1995; BEIßNER 1997) ausgewertet. Zur Aufnahme der Kalibriergeraden wurden Referenzsubstanzen (Fa. Fluka, Fa. Riedel-de Häen) in acht verschiedenen Konzentrationen in Wasser gelöst und direkt injiziert. Die Auswertung der Peaks erfolgte über deren Flächen. Die Identifizierung der aufgetrennten Einzelkomponenten erfolgte über die Retentionszeit (Tabelle 3.2). Bei der Auswahl der Detektionswellenlänge erwies sich die Wellenlänge 210 nm am geeignetsten, da die meisten organischen Säuren hier eine sehr hohe Absorption aufweisen. Störungen durch Matrixeffekte bei dieser unspezifischen UV-Absorption konnten durch Kontrolluntersuchungen im höheren Wellenlängenbereich ausgeschlossen werden.

Tabelle 3.2: *Qualifizierung und Quantifizierung von organischen Säuren in wäßrigen Lösungen.*

	Retentionszeit [min]	Wellenlänge [nm]	Linearität * [mg L^{-1}]	Regression r^2
Oxalsäure	14,46	210	303	0,9998
Citronensäure	18,51	210	1201	0,9999
Weinsäure	19,74	210	1202	0,9996
2-Oxoglutarsäure	20,64	210	407	0,9999
Äpfelsäure	22,41	Max-Plot	1214	0,9999
Brenztraubensäure	23,18	Max-Plot	211	0,9999
Malonsäure	24,13	210	1210	0,9998
t-Aconitsäure	25,18	210	100	0,9998
Bernsteinsäure	27,51	210	1204	0,9999
Milchsäure	29,24	210	1333	0,9999
Ameisensäure	31,11	210	1214	0,9999
Glutarsäure	32,52	210	2005	0,9999
Essigsäure	34,06	210	1223	0,9999
Fumarsäure	35,06	210	33	0,9999

* Linearität war bis zum höchsten gemessenen Standard gegeben

Im Bereich zwischen 22 und 24 Minuten wurden jedoch bei einigen Proben Matrixeffekte beobachtet, die durch Anwendung des Max-Plot-Verfahrens, bei dem für jeden Meßpunkt aus dem aufgenommenen Spektrum (200-350 nm) das Maximum angenommen wird, ausgeschaltet werden konnten.

3.5.4 Reproduzierbarkeit, Wiederfindung und Nachweisgrenzen

Für die Bestimmung der Wiederfindungsraten wurde einer Exsudatlösung eine bekannte Menge Standard beigemischt und über Festphasenextraktion aufgearbeitet. Die Wiederfindungsraten (Tabelle 3.3) ergaben sich aus den gefundenen Konzentrationen der organischen Säuren nach Abzug des im Exsudat enthaltenen Anteils bei 5-maliger Wiederholung.

Tabelle 3.3: *Wiederfindungsraten, Reproduzierbarkeiten sowie Nachweisgrenzen organischer Säuren unter Berücksichtigung der Probenvorbereitung mittels Festphasenextraktion.*

	Wiederfindung (Exsudat+Standard) [%]	Reproduzierbarkeit SD (%)	Nachweisgrenze [mg L^{-1}]
Oxalsäure	96	3,4	1,68
Citronensäure	87	3,4	2,81
Weinsäure	97	3,0	5,85
2-Oxoglutarsäure	91	3,6	0,03
Äpfelsäure	109	3,4	4,15
Brenztraubensäure	99	3,9	0,36
Malonsäure	83	3,4	3,89
t-Aconitsäure	107	4,0	0,02
Bernsteinsäure	82	8,8	6,41
Milchsäure	106	4,7	6,12
Ameisensäure	103	5,4	5,02
Glutarsäure	102	5,5	5,25
Essigsäure	102	3,9	5,30
Fumarsäure	88	3,5	0,08

Die Reproduzierbarkeit gibt die Genauigkeit der Meßmethode unter Einbeziehung der Probenvorbereitung einer aufgestockten Probe bei 5-facher Wiederholung an. Die Ermittlung der Nachweisgrenze erfolgte über die Bestimmung eines Signal-

Rauschverhältnisses von 3 : 1. Im Vergleich zu den Ergebnissen von BEIßNER (1997) liegt die Nachweisempfindlichkeit der vorgestellten Methode etwa um den Faktor 10 höher.

3.6 Statistische Auswertung

Für statistische Berechnungen wurden folgende Verfahren angewandt: Berechnung arithmetischer Mittelwerte und Standardabweichungen, ein- und zweifaktorielle Varianzanalyse, lineare Regressions- und Korrelationsanalyse.

Die Varianzanalyse wurde dabei mit Hilfe des Programmes SigmaStat, Version 2.0 durchgeführt, wobei die Grenzdifferenzen nach Tukey bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% berechnet wurden. Signifikante Unterschiede in den Versuchsgliedern wurden dabei durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet.

Um Zusammenhänge zwischen zwei Parametern quantifizieren zu können, erfolgte die Ermittlung von Korrelationskoeffizienten (r) mittels linearer Regression. Die so erhaltenen Korrelationskoeffizienten wurden auf statistische Signifikanz überprüft.

4 Schwermetallaufnahme und -verteilung in verschiedenen Kulturpflanzen

4.1 Schwermetallgehalte verschiedener Kulturpflanzen beim Anbau auf unterschiedlich texturierten Böden (Screeningversuch)

4.1.1 Vorbemerkungen und Zielstellung

Die Schwermetallakkumulation in landwirtschaftlichen Kulturpflanzen ist von verschiedenen Faktoren abhängig. Eine wichtige Rolle spielen neben dem Gesamtgehalt an Schwermetallen im Boden verschiedene physikochemische Bodenfaktoren (pH-Wert, Gehalt an organischer Substanz, Tongehalt). Diese Faktoren bestimmen die Höhe des pflanzenverfügbaren Anteils der nichtsilikatisch gebundenen Schwermetalle im Boden (SAUERBECK 1989; LÜBBEN ET AL. 1991; SAUERBECK UND LÜBBEN 1991). Aber auch Pflanzeneigenschaften spielen eine große Rolle. Deshalb sollte in einem Screeningversuch das Schwermetallakkumulationsvermögen von Weißer Lupine, Rotklee und Spinat im Vergleich zu der Graminee Weidelgras untersucht werden, da auf Grund von früheren Untersuchungen (GERKE 1995) größere Unterschiede zwischen diesen Arten erwartet wurden. Um den Einfluß der Bodenfaktoren auf die Elementgehalte der Pflanzen zu berücksichtigen, wurden 3 Böden unterschiedlicher Textur bzw. Schwermetallbelastung ausgewählt.

4.1.2 Versuchsbedingungen

Durchgeführt wurde der Versuch in einer Vegetationshalle, wobei die Kultivierung der Pflanzen in 3 Liter Gefäßen erfolgte. Verwendet wurden der Sandboden aus Hodenhagen und die Lößlehmböden aus Börry und Harlingerode. Die Bodenkenndaten sind in Tabelle 3.1 aufgeführt. Der Sandboden aus Hodenhagen und der schwermetallbelastete Boden aus Harlingerode wurden direkt verwendet, der Boden Börry wurde mit Quarzsand vermischt (5 Teile Boden + 1 Teil Quarzsand), um ein Verbacken des Bodens im Gefäß zu vermeiden. Die Einwaage an Boden bzw. Bodensubstrat betrug jeweils 3 Kilogramm. Da das Verhalten der Pflanzenarten bei erhöhten Schwermetallgehalten untersucht werden sollte, wurden der Boden Hodenhagen sowie das Bodensubstrat (Börry) zusätzlich so mit löslichen Schwermetallverbindungen (Kupfersulfat, Cadmiumnitrat, Zinksulfat) versetzt, daß die Grenzwerte der AbfKlärV (ANONYM 1992) überschritten wurden (Tabelle 4.1).

Tabelle 4.1: *Gesamtschwermetallgehalte sowie die mobile (1. Fraktion) und leicht nachlieferbare Fraktion (2. Fraktion) nach ZEIEN (1995) und die Konzentrationen der Schwermetalle in den nach ADAMS (1974) gewonnenen Bodenlösungen der Böden Hodenhagen und Harlingerode sowie des Bodensubstrates aus Börry. Werte in Klammern geben die Standardabweichung (SD) von 3 Wiederholungen an.*

		Hodenhagen		Börry		Harlingerode	
Gesamtgehalte	Cu	82	*(11)*	78	*(1,3)*	145	*(2)*
(mg kg^{-1})	Zn	190	*(15)*	354	*(16)*	1334	*(7)*
	Cd	1,3	*(0,2)*	1,6	*(0,2)*	26	*(0,1)*
1. Fraktion	Cu	6	*(0,18)*	7	*(0,18)*	5	*(0,01)*
(mobil)	Zn	105	*(3,5)*	6	*(0,53)*	17	*(0,05)*
(mg kg^{-1})	Cd	0,3	*(0,01)*	0,3	*(0,01)*	2,8	*(0,01)*
2. Fraktion	Cu	7	*(0,01)*	22	*(0,27)*	5	*(0,3)*
(leicht nachlieferbar)	Zn	32	*(2,65)*	137	*(2,65)*	347	*(15)*
(mg kg^{-1})	Cd	0,8	*(0,01)*	0,6	*(0,27*	14	*(0,27)*
Bodenlösungs-	Cu	0,18	*(0,03)*	0,22	*(0,03)*	0,05	*(0,02)*
konzentration	Zn	76,1	*(6,4)*	6,2	*(0,55)*	0,23	*(0,03)*
(mg L^{-1})	Cd	0,58	*(0,08)*	0,20	*(0,02)*	0,045	*(0,0045)*

Bei der Aufdüngung der Gefäße wurde auf eine Phosphatgabe verzichtet, um die P-Verfügbarkeit der Böden möglichst gering zu halten (vgl. Kapitel 3.1).

Der Boden Hodenhagen und das Bodensubstrat Börry erhielten als Grunddüngung jeweils 0,6 g Kalium als Kaliumsulfat pro Gefäß, die Gefäße mit Nichtleguminosen zusätzlich 0,6 g Stickstoff als Ammoniumnitrat. Bei den Lupinevarianten wurde der Boden mit einem Rhizobienpräparat geimpft. Dem Sandboden Hodenhagen wurden zusätzlich 0,15 g Magnesium pro Gefäß als Magnesiumsulfat zugesetzt. Der Boden aus Harlingerode wurde ohne Dünger- oder Schwermetallzugabe verwendet. Die Bepflanzung der Gefäße erfolgte 17 Tage nach Schwermetall- und Düngerlösungszugabe, wobei bei Weidelgras 120 Samen, Rotklee 100 Samen, Lupine 7 und Spinat jeweils 24 Samen ausgesät wurden. Nach dem Auflaufen der Keimlinge wurden die Lupinen auf 5 und die Spinatpflanzen auf 12 Pflanzen pro Gefäß vereinzelt. Während der gesamten Kultivierungsdauer wurden die Gefäße täglich mit entmineralisiertem Wasser auf 70% der maximalen Wasserkapazität gegossen. Die Ernte der Spinatpflanzen erfolgte 44 Tage, der Lupinen 50 Tage, des

Weidelgrases 57 Tage und des Rotklees 63 Tage nach Aussaat (Börry, Hodenhagen). Auf dem Boden Harlingerode lagen die Termine jeweils 14 Tage früher.

4.1.3 Ergebnisse und Diskussion

4.1.3.1 Wachstum (Trockenmassebildung) und Wurzelbildung der Pflanzen

Bevor die Schwermetallgehalte in den Sprossen der verschiedenen Kulturpflanzen dargestellt und der Zusammenhang mit den Schwermetallgehalten der Böden diskutiert werden, ist es notwendig, sich einen Eindruck vom Wachstum der Pflanzen zu machen.

Tabelle 4.2: *Mittelwerte und Standardabweichungen (SD) der Trockenmasseerträge und Wurzellängen sowie die Wurzel-Sproß-Verhältnisse von Lupine, Weidelgras, Rotklee und zwei Spinatsorten (Monnopa, Tabu) bei Anzucht in verschiedenen schwermetallkontaminierten Böden unter Freilandbedingungen (Gefäßversuch mit vier Wiederholungen).*

Boden (Herkunft)		TM-Ertrag [g/Gefäß]	*SD*	Wurzellänge [m]	*SD*	Wurzel-Sproß-Verhältnis [m g^{-1}]	*SD*
	Lupine	4,8	*0,6*	186	*18*	39	*3*
Sandboden	Weidelgras	17,7	*1,1*	2336	*127*	132	*6*
	Rotklee	3,6	*0,3*	411	*84*	115	*17*
(Hodenhagen)	Monnopa	0,9	*0,1*	45	*9*	52	*11*
	Tabu	0,6	*0,1*	39	*7*	68	*13*
	Lupine	4,8	*1,0*	313	*88*	69	*32*
Lößlehmboden	Weidelgras	12,1	*1,8*	1735	*30*	146	*22*
	Rotklee	2,9	*0,3*	385	*58*	133	*8*
(Börry)	Monnopa	8,6	*0,3*	442	*74*	52	*9*
	Tabu	6,5	*1,3*	332	*46*	52	*6*
	Lupine	6,7	*0,8*	175	*27*	26	*6*
Lößlehmboden	Weidelgras	6,4	*0,8*	683	*97*	107	*6*
	Rotklee	1,0	*0,4*	97	*2*	111	*42*
(Harlingerode)	Monnopa	4,7	*0,5*	391	*106*	84	*25*
	Tabu	5,2	*0,5*	272	*100*	51	*15*

Im Versuch wurden neben Böden unterschiedlicher Textur und P-Gehalte auch Pflanzen mit unterschiedlichen Wachstumseigenschaften verwendet. Auch die Kultivierungsdauer der Pflanzenarten variierte im Versuch. Diese Faktoren beeinflussten sowohl die Trockenmasseerträge als auch die Wurzellängen und damit auch das Wurzellängen-Sproßmasse-Verhältnis, die das Pflanzenwachstum charakterisieren (Tabelle 4.2).

Vergleichsweise gutes Wachstum zeigten auf dem Sandboden Hodenhagen die Lupinen, das Weidelgras und der Rotklee. Dagegen zeigten beide Spinatsorten eine sehr niedrige Trockenmassebildung der Sprosse und der Wurzellängen. Die insgesamt hohen Schwermetallgehalte (Abbildung 4.1) in den Sprossen, insbesondere die Zn-Gehalte lagen mit 1000 bis 1400 mg kg^{-1} sehr hoch, lassen die Vermutung zu, daß es sich hierbei um eine toxizitätsbedingte Wachstumsdepression handelt. Dem widersprechen allerdings die Ergebnisse auf dem Boden Börry, wo die Spinatpflanzen bei ähnlich hohen Schwermetallgehalten der Sprosse die höchsten Trockenmassen bildeten. Wahrscheinlicher ist eine Schädigung der Spinatwurzeln infolge der Zn-Konzentration in der Bodenlösung, die im Boden Hodenhagen mehr als 10 mal höher war als im Boden Börry (Tabelle 4.1).

Neben dem Spinat zeigten auf dem Boden Börry auch die anderen Pflanzenarten normales Wachstum. Auf dem anthropogen belasteten Boden Harlingerode waren die Pflanzen 14 Tage früher geerntet worden, was die geringeren TM-Erträge erklärt. Bei Rotklee war jedoch ein gehemmtes Wachstum zu beobachten, das sich neben geringer Trockenmassebildung auch in Wachtumsanomalien der Blätter äußerte. Denkbar ist, daß beim Rotklee mit ca. 12 mg kg^{-1} schon toxische Cd-Gehalte im Sproß erreicht wurden, die kein normales Wachstum zuließen.

Bedingt durch gestaffelte Erntetermine bestanden auch innerhalb der Bodenvarianten Unterschiede in der Wachstumsdauer der einzelnen Pflanzenarten. Es zeigte sich aber, daß die Vegetationsdauer, Lupine wuchs 6 Tage länger als der Spinat, aber 7 Tage weniger als das Gras und 13 Tage weniger als der Rotklee, keinen erkennbaren Einfluß auf die unterschiedlichen Schwermetallgehalte der Pflanzenarten hatte.

Ein weiterer wichtiger pflanzenartspezifischer Parameter zur Charakterisierung des Pflanzenwachstums ist das Wurzel-Sproß-Verhältnis. Es gibt an, welche Wurzellänge je Einheit Sproßmasse zur Ernährung der Pflanze zur Verfügung steht.

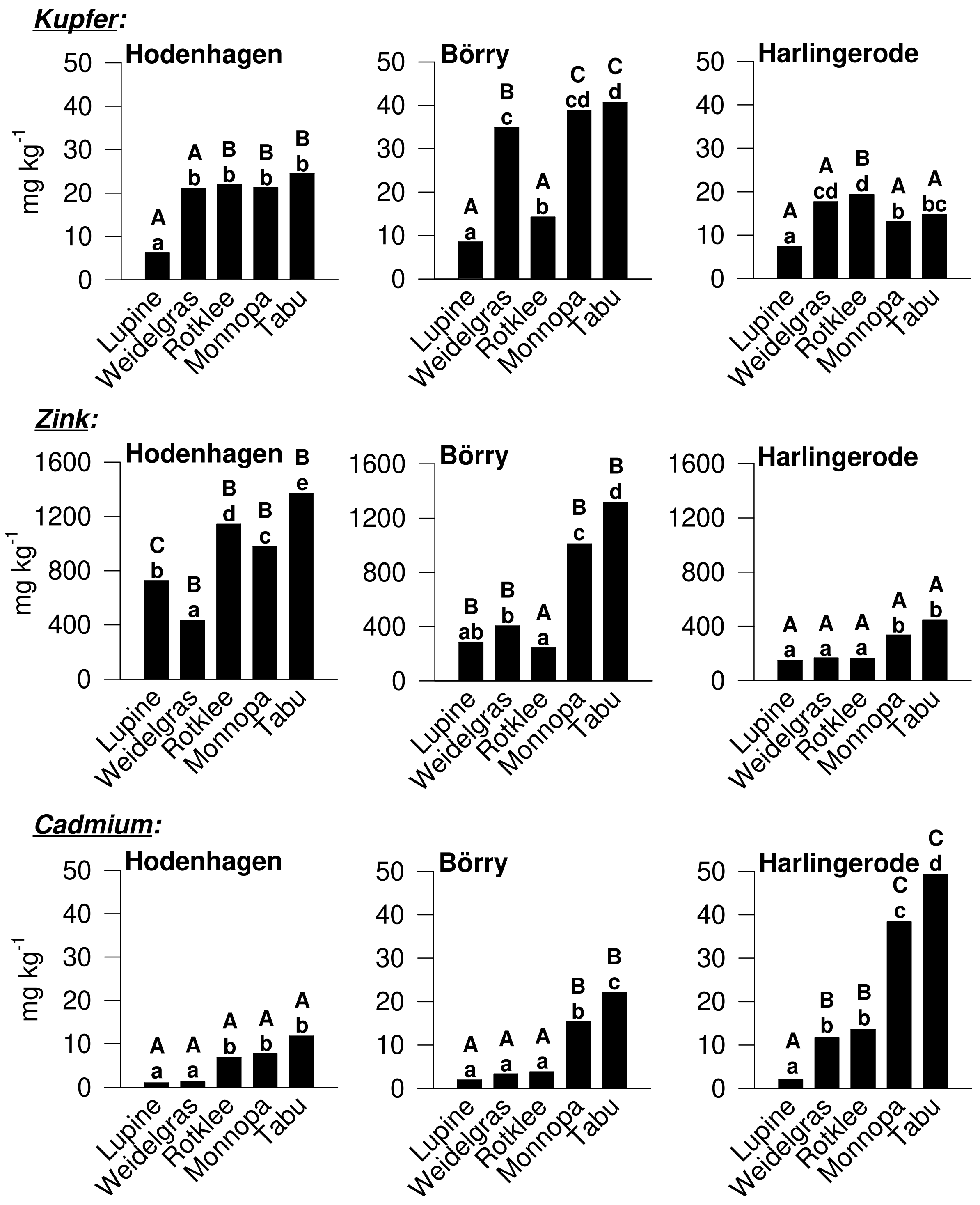


Abbildung 4.1: *Schwermetallgehalte in den Sprossen von Lupine, Weidelgras, Rotklee und den Spinatsorten Monnopa und Tabu bei Anzucht auf 3 verschiedenen Böden / Bodensubstraten unter Freilandbedingungen (Gefäßversuch) nach einer Kultivierung für 30 bis 63 Tagen. (Werte mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant, $Tukey_{0,05}$. Großbuchstaben: Böden innerhalb Pflanzenart; Kleinbuchstaben: Pflanzenarten innerhalb Bodenvariante).*

Es zeigte sich, daß Weidelgras und Rotklee in allen Varianten ähnliche Wurzel-Sproß-Verhältnisse besaßen, die 3-4 mal größer als bei Weißer Lupine und ca. doppelt so groß waren wie bei Spinat. Da die Wurzel das primäre Aufnahmeorgan für Nähr- und Schadelemente (Cd) ist, kommt dem Wurzel-Sproß-Verhältnis bei der Anreicherung von Schwermetallen im Sproß einige Bedeutung zu. Da aber andere wichtige Kenngrößen (Schwermetallgehalte der Wurzeln, Verteilungsquotient zwischen Sproß und Wurzel, Nettoaufnahmeraten) im vorliegenden Screening-versuch nicht untersucht wurden, sollen Unterschiede und deren mögliche physiologische Ursachen in den Schwermetallgehalten der 4 Pflanzenarten nicht näher diskutiert werden.

4.1.3.2 Einfluß der Bodenfaktoren auf die Schwermetallgehalte von Kulturpflanzen

Die Gehalte an Cu, Zn und Cd in den Sprossen von Lupine, Weidelgras, Rotklee und den zwei Spinatsorten Monnopa und Tabu zeigten, abhängig von Element und Bodenart, zum Teil deutliche Unterschiede auf (Abbildung 4.1). Hierbei ließen sich sowohl statistisch absicherbare Unterschiede beim Vergleich der Schwermetallgehalte der einzelnen Pflanzenarten auf den verschiedenen Böden, als auch signifikante Unterschiede zwischen den Arten auf den einzelnen Böden finden.

Kupfer:

Die Weiße Lupine wies auf allen drei Böden mit weniger als 10 mg kg^{-1} die niedrigsten Cu-Gehalte im Sproß auf und unterschied sich somit in jeder Variante von den anderen Kulturpflanzen. Im Boden Hodenhagen zeigten Weidelgras, Rotklee und Spinat mit 21-25 mg kg^{-1} vergleichbare Cu-Gehalte in den Sprossen, während auf dem Boden Börry nur Weidelgras und Spinat mit 35-41 mg kg^{-1} vergleichbar hohe Cu-Gehalte aufwiesen. Rotklee lag mit Cu-Gehalten von 14 mg kg^{-1} deutlich darunter. In der Variante Harlingerode lagen die Cu-Gehalte von Weidelgras, Rotklee und Spinat mit 13-19 mg kg^{-1} ebenfalls deutlich über den Gehalten von Lupine, wobei Rotklee die höchsten Gehalte besaß.

Während die Cu-Gehalte in den Sprossen von Lupine nahezu unabhängig von den Bodenarten waren, war ein Einfluß des Bodens beim Spinat deutlich zu erkennen. Die Gehalte in den Sprossen beider Sorten stiegen von Harlingerode über Hodenhagen zu Börry hin signifikant an. In ähnlicher Weise verhielt sich auch das Weidelgras. Beim Rotklee konnte man allerdings eine andere Reihenfolge finden.

Die Variante Börry lieferte die niedrigsten Cu-Gehalte im Sproß, während in Harlingerode und Hodenhagen die Cu-Gehalte deutlich höher lagen.
Diese Ergebnisse zeigen, daß die Akkumulation von Cu in den einzelnen Pflanzenarten unterschiedlich ist. Um den Einfluß des Bodens bzw. der Bodenfaktoren zu verdeutlichen, bot sich an, die Sproßgehalte der verschiedenen Pflanzen innerhalb einer Bodenvariante zu mitteln. Für Hodenhagen ergab sich so ein mittlerer Cu-Gehalt in den Sprossen der Pflanzenarten von 19 mg kg^{-1}, für Börry 27 mg kg^{-1} und Harlingerode ein Mittel von 15 mg kg^{-1} TM. Die im Mittel niedrigsten Gehalte fanden sich so in der industriell belasteten Parabraunerde aus Harlingerode, die mit einem Gesamtgehalt von 145 mg Cu kg^{-1} (Tabelle 4.1) den zulässigen Grenzwert der AbfKlärV (ANONYM 1992) um mehr als das Doppelte überschreitet. Die Gesamtgehalte der Böden Hodenhagen und Börry liegen nur geringfügig über dem Grenzwert von 60 mg Cu kg^{-1} Boden. Dies verdeutlicht, daß der Gesamtgehalt im Boden ohne Einbeziehung von Bodenfaktoren, die die Löslichkeit der nichtsilikatisch gebundenen Schwermetalle beeinflussen, keine Aussagekraft besitzt. Zu diesem Ergebnis kamen HERMS UND BRÜMMER bereits 1984. Die Durchführung einer sequentiellen Extraktion nach ZEIEN (1995) (vgl. Anhang, Tabelle 9.5) zur Bestimmung der Element-Bindungsformen ergab, daß der größte Teil des Kupfers im Boden Harlingerode in nicht pflanzenverfügbaren Formen, insbesondere fest gebunden an die organische Substanz, vorliegt. Das gilt auch für den Boden Hodenhagen, der mit 3,2% C_{org} den höchsten Anteil an organischer Substanz aufweist (Tabelle 3.1).
Die erste Fraktion der sequentiellen Extraktion (vgl. Tabelle 4.1) erfaßt die wasserlöslichen und austauschbaren (= unspezifisch adsorbierte) Schwermetall-anteile sowie leicht lösliche metallorganische Komplexe. Sie wird von verschiedenen Autoren (BRÜMMER ET AL. 1991; HORNBURG ET AL. 1993; PRÜESS UND HAUFFE 1993; HEYMANN UND WIECHMANN 1996) zur Erfassung des pflanzenverfügbaren Anteiles vorgeschlagen. Weiterhin ist die leicht nachlieferbare 2. Fraktion zur Beurteilung notwendig, da sich diese in einem dynamischen, von Bodenreaktion und Gesamtgehalt abhängigen Gleichgewicht mit der mobilen 1. Fraktion befindet (ZEIEN 1995). Erfaßt werden hiermit spezifisch adsorbierte, oberflächennah okkludierte und an $CaCO_3$ gebundene Formen sowie metallorganische Komplexe geringer Bindungsstärke. Ermittelt man nun die relativen Anteile der beiden Fraktionen am Gesamtgehalt, so ergibt sich, daß sich in Hodenhagen 16%, Börry 37% und in

Harlingerode nur 7% des nichtsilikatisch gebundenen Cu in der mobilen bzw. leicht nachlieferbaren Fraktion befinden. In den Varianten Hodenhagen und Börry wurden die Schwermetalle in Form von Salzlösungen zugesetzt. Nach HOGG ET AL. (1993) und BACKES ET AL. (1995) werden lösliche Schwermetallsalze im Boden zuerst schwach adsorbiert. Danach erfolgt in einem langsamen Prozeß die Überführung der Metalle in festere Bindungen. Es ist zu vermuten, daß zum Zeitpunkt der Aussaat diese Prozesse noch nicht abgeschlossen waren und sich noch kein stabiles Gleichgewicht im Boden eingestellt hatte, womit die erhöhten Gehalte in den Fraktionen 1 und 2 erklärbar sind. Daß die leicht nachlieferbare Fraktion bei Börry hohe Cu-Gehalte aufwies, läßt aber auch auf eine andere Zusammensetzung der organischen Substanz schließen. Im Gegensatz zu Harlingerode und Hodenhagen, wo für Cu vermehrt feste, nicht pflanzenverfügbare Bindungen mit der organischen Substanz vorliegen, scheinen die Cu-Ionen im Boden Börry zum größeren Teil nur Komplexbindungen geringerer Stärke mit der organischen Substanz auszubilden (Tabelle 9.5, Anhang).

Wichtige Faktoren, die neben der organischen Substanz die Löslichkeit von Cu beeinflussen, sind aber auch der pH-Wert (MCBRIDE UND BLASIAK 1979; KUO UND BAKER 1980; HARTER 1983) sowie der Ton- und Carbonatgehalt (HERMS UND BRÜMMER 1984). In carbonatfreien oder -armen Böden durchlaufen die Cu-Gehalte der Bodenlösungen bei pH 5-6 ein Minimum (MCLAREN ET AL. 1983). Da es sich bei dem Boden Hodenhagen um einen sorptionsarmen Sandboden mit einem pH von 5 handelt, war die Bodenlösungskonzentration mit 0,18 mg L^{-1} relativ hoch (Tabelle 4.1). Bei pH-Werten über 6 werden nach Überschreitung des Ladungsnullpunktes der im Boden vorhandenen Eisenoxide zunehmend negativ geladene Cu-Komplexe freigesetzt. Außerdem führt der pH-Anstieg zu einer abnehmenden Kettenlänge von Huminsäuren, wodurch die Konzentration an löslichen Komplexbildnern erhöht wird (RITCHIE UND POSNER 1982). In der Bodenvariante Börry mit einem pH von 6,4 treffen diese Bedingungen zu, wobei der Carbonatgehalt von 0,8% dem allerdings etwas entgegenwirkt. Die Konzentration in der Bodenlösung betrug hier 0,22 mg Cu L^{-1} (Tabelle 4.1). In tonreichen, carbonathaltigen Böden, wie dem aus Harlingerode (Tabelle 3.1), findet kaum Schwermetallmobilisierung durch organische Komplexbildner statt, da die organische Substanz in Form von Ca^{2+}-stabilisierten Ton-Humuskomplexen geringer Löslichkeit vorliegt (HERMS UND BRÜMMER 1984). Weiterhin trägt der Anteil an hochmolekularer organischer Substanz, die insbesondere für Cu zu einer Festlegung über einen pH-Bereich von 3-8 führt, dazu bei, daß in der neutralen Parabraunerde aus Harlingerode (pH 6,9) die Cu-Konzentration in Bodenlösung nur 0,05 mg L^{-1} betrug (Tabelle 4.1).

Tabelle 4.3: *Ergebnisse der Korrelationsrechnungen (Steigung und Bestimmtheitsmaß) für die Beziehungen zwischen der Gesamtheit der Sproßgehalte der angebauten Pflanzenarten und dem Schwermetallgesamtgehalt im Boden, den Gehalten der austauschbaren (1. Fraktion; 1 M NH_4NO_3-Extrakt) und leicht nachlieferbaren (2. Fraktion; 1 M NH_4OAc-Extrakt) Fraktionen sowie den Bodenlösungskonzentrationen.*

	y-Wert	x-Wert	b	r^2
Cu	Sproßgehalt (mg kg^{-1})	Gesamtgehalt (mg kg^{-1})	- 0,14	0,17
		1. Fraktion (mg kg^{-1})	6,48	0,26
		2. Fraktion (mg kg^{-1})	0,69	0,25
		Bodenlösung (mg L^{-1})	66,02	0,21
Zn	Sproßgehalt (mg kg^{-1})	Gesamtgehalt (mg kg^{-1})	- 0,53	0,40
		1. Fraktion (mg kg^{-1})	4,68	0,24
		2. Fraktion (mg kg^{-1})	- 2,12	0,43
		Bodenlösung (mg L^{-1})	6,86	0,31
Cd	Sproßgehalt (mg kg^{-1})	Gesamtgehalt (mg kg^{-1})	0,63	0,28
		1. Fraktion (mg kg^{-1})	6,17	0,28
		2. Fraktion (mg kg^{-1})	1,16	0,28
		Bodenlösung (mg L^{-1})	- 27,87	0,21

Um diesen Betrachtungen Rechnung zu tragen, wurden Korrelationen zwischen den Cu-Gehalten in den Sprossen der Pflanzen und den Cu-Gesamtgehalten, den Cu-Gehalten der mobilen und der leicht austauschbaren Fraktionen, sowie den Cu-Konzentrationen der Bodenlösungen der 3 Böden berechnet (Tabelle 4.3). Da sich die Berechnungen nur auf eine geringe Anzahl von Datensätzen beziehen und über verschiedene Pflanzenarten extrapoliert wurde, war ein hohes Bestimmtheitsmaß nicht unbedingt zu erwarten. Dennoch deutet sich für Cu sowohl für die Gehalte der mobilen (r^2 = 0,26) als auch der leicht nachlieferbaren Fraktion (r^2 = 0,25) eine positive Beziehung an. Die Cu-Konzentration der Bodenlösung (r^2 = 0,21) scheint ebenfalls positiv mit den Sproßgehalten korreliert zu sein. Der Gesamtgehalt im Boden zeigt dagegen eine wesentlich lockerere Beziehung zu den Cu-Gehalten im Sproß.

Zink:

Beim Vergleich der Zn-Gehalte in den Sprossen der Pflanzenarten fiel auf, daß Weiße Lupine und Weidelgras auf allen 3 Böden, Rotklee jedoch nur auf den Böden Börry und Harlingerode signifikant niedrigere Gehalte aufwiesen als die zwei Spinatsorten (Abbildung 4.1). Hierbei wies die Spinatsorte Tabu immer höhere Zn-Gehalte auf als die Sorte Monnopa, auf den Böden Hodenhagen und Börry waren diese Unterschiede sogar signifikant. Weiterhin war zu beobachten, daß in allen Pflanzenarten die Zn-Gehalte vom Boden Harlingerode über Börry zu Hodenhagen hin signifikant anstiegen.

Anders als bei Cu, kommt dem Boden-pH bei der Beurteilung der Löslichkeit von Zn eine bedeutende Rolle zu. Mit absinkendem pH steigt die Löslichkeit von Zn im Bereich von pH 7 bis pH 3 stark an. Zusätzlich spielt der Tongehalt und der damit verbundene Anstieg der Kationenaustauschkapazität (KAK) eine große Rolle. Die mit steigendem Tongehalt ansteigende Anzahl von unspezifischen Adsorptionsplätzen hat bei saurer Bodenreaktion eine verringerte Löslichkeit insbesondere von Zn, aber auch Cd zur Folge (HERMS UND BRÜMMER 1984).

Betrachtet man die Zn-Konzentrationen in der Bodenlösung der 3 Bodenvarianten (Tabelle 4.1), so erkennt man, daß in Übereinstimmung mit den physikochemischen Eigenschaften im sauren, sorptionsschwachen Sandboden aus Hodenhagen die höchsten Werte zu finden sind (76 mg Zn L^{-1}). Mit ansteigendem pH und höherem Tongehalt sinken die Zn-Konzentrationen in der Bodenlösung von Börry auf 6,2 mg L^{-1} und von Harlingerode auf 0,23 mg L^{-1}.

Die Mittelwerte der Zn-Gehalte in den Sprossen der Pflanzenarten spiegeln den gleichen Trend wider. Mit 930 mg kg^{-1} TM lagen die durchschnittlichen Zn-Gehalte in Hodenhagen deutlich über den mittleren Gehalten von Börry (652 mg Zn kg^{-1}) und dem anthropogen mit Schwermetallen belasteten Boden Harlingerode (252 mg Zn kg^{-1}). Die Korrelationsrechnungen (Tabelle 4.3) zeigen dem entsprechend, daß die Zn-Konzentration in der Bodenlösung mit einem Bestimmtheitsmaß von $r^2 = 0,31$ eine relativ enge Beziehung zum Sproßgehalt ergibt. Weiterhin zeigt die Beziehung von mobiler Fraktion und Zn-Gehalt im Sproß eine positive Geradensteigung mit einem Bestimmtheitsmaß von $r^2 = 0,24$ auf. Dieses Resultat steht mit dem Verhalten zur Korrelation in der Bodenlösung in Einklang. Betrachtet man jedoch die Werte für die einzelnen Böden, so fällt auf, daß Hodenhagen mit einer mobilen Fraktion von 105 mg Zn kg^{-1} Boden die Bodenlösungswerte bestätigt, während die mobilen Zn-

Gehalte in Börry (6 mg kg^{-1}) und Harlingerode (17 mg kg^{-1}) nicht dem oben beschriebenen Trend folgen (Tabelle 4.1). Da die Böden Börry und Harlingerode im Gegensatz zum Sandboden aus Hodenhagen über eine hohe leicht nachlieferbare Fraktion verfügen (Tabelle 4.1) ist eine unterschiedliche Bereitstellung dieser Zn-Anteile zum pflanzenverfügbaren Anteil zu vermuten. Die bessere Verfügbarkeit der leicht nachlieferbaren Fraktion im Boden Börry kann mehrere Ursachen haben. Durch den Zusatz des leicht löslichen Zn-Salzes können die Zn-Ionen noch in einer leichter desorbierbaren Form vorliegen. Weiterhin haben die Ergebnisse bei Cu gezeigt, daß die organische Substanz in Börry aus einem höheren Anteil leichtlöslicher Verbindungen bestehen muß, welche ebenfalls die Zn-Löslichkeit erhöhen können.
Im Gegensatz zum Cu, für dessen Aufnahme durch die Pflanzen neben der mobilen (1. Fraktion) auch die leicht nachlieferbare Cu-Fraktion (2. Fraktion) von Bedeutung war, traf dies beim Zn nur auf die leichtlöslichen Anteile zu (Konzentration der Bodenlösung, 1. Fraktion).

<u>Cadmium:</u>

Bei Betrachtung der Cd-Gehalte in den Sprossen zeichnet sich bei allen drei Böden die gleiche Rangfolge der Pflanzenarten ab (Abbildung 4.1). Die niedrigsten Cd-Gehalte fanden sich in Weißer Lupine und stiegen über Weidelgras und Rotklee zu Spinat hin deutlich an. Spinat zeigte somit die meist signifikant höchsten Cd-Gehalte im Sproß, wobei sich auch wie beim Zn Sortenunterschiede zeigten. Die Gehalte in der Spinatsorte Tabu waren hier ebenfalls immer höher als in Monnopa. Auf den Böden Börry und Harlingerode waren diese Unterschiede sogar signifikant. Aber anders als beim Zn konnte man bei Cd auf dem Boden Harlingerode die höchsten Cd-Gehalte in den Sprossen und auf dem Boden Hodenhagen die geringsten Sproßgehalte finden.
Cd verhält sich bodenchemisch ähnlich wie Zn. Im pH-Bereich von 3-8 liegt Cd zum beträchtlichen Teil unspezifisch adsorbiert vor (TILLER ET AL. 1979; TILLER ET AL. 1984) und ist somit leichter in Lösung zu bringen als Zn. HORNBURG (1991) beschreibt Cd als das mobilste Schwermetall im Boden. Betrachtet man die Cd-Konzentrationen in der Bodenlösung (Tabelle 4.1), so zeigt sich analog zum Zn die höchste Cd-Konzentration im sauren, sorptionsschwachen Sandboden (0,58 mg Cd L^{-1}). Entsprechend dem Zn konnte man auch für Cd in den Bodenlösungen von Börry mittlere (0,20 mg Cd L^{-1}) und niedrige Konzentrationen bei Harlingerode (0,045 mg

Cd L^{-1}) finden. Aufgrund der schwachen Bindung von Cd im Boden waren die größten Anteile des nichtsilikatisch gebundenen Cd in der mobilen bzw. leicht nachlieferbaren Fraktion zu finden (Tabelle 4.1, bzw. Anhang, Tabelle 9.5) Hierbei waren die Cd-Gehalte der beiden Fraktionen in Börry und Hodenhagen vergleichbar, während in Harlingerode die Cd-Gehalte aufgrund des Gesamtgehaltes deutlich höher lagen.

Die Korrelationsrechnungen in Tabelle 4.3 zeigen, daß es bei Cd im Gegensatz zu Cu und Zn keine positive Beziehung zwischen der Bodenlösungskonzentration und den Cd-Gehalten im Sproß gibt. Positive Beziehungen mit Bestimmtheitsmaßen von r^2 = 0,28 sind jedoch sowohl für die mobile als auch die leicht nachlieferbare Fraktion und, aufgrund der schwachen Bindung des Cd im Boden, für den Gesamtgehalt zu finden. Zu einem ähnlichen Ergebnis kommen HEYMANN ET AL. (1996), die unter Verwendung einer breiteren Datenbasis Beziehungen zwischen Cd-Gehalten in Spinat und Cd-Gesamtgehalten im Boden unter Berücksichtigung des pH (r^2 = 0,70) und der mobilen Fraktion (r^2 = 0,50) fanden.

Sowohl der größere Einfluß der Bodengesamtgehalte (Tabelle 4.1) an Cd (in Harlingerode mehr als Faktor 15 höher als in Börry und Hodenhagen) als auch die Ergebnisse von CLARKSON UND LÜTTGE (1989) machen den Anstieg der Cd-Sproßgehalte von Hodenhagen über Börry zu Harlingerode erklärbar. Diese Autoren vermuten für Cd, Cu und Zn einen gemeinsamen Transporter in den Zellmembranen der Pflanzen. Bei gleicher Transporterleistung sinkt so der Gehalt eines Elementes in der Pflanze, wenn ein weiteres Element hinzukommt. Überträgt man diese Überlegungen auf das vorliegende Experiment, so zeigt sich, daß tatsächlich das molare Verhältnis von Cd zu Cu plus Zn in der mobilen Fraktion von Hodenhagen (Cd/[Cu+Zn] = 0,0044) über Börry (0,018) zu Harlingerode (0,093) stark zunahm, womit der starke Anstieg der Cd-Gehalte in den Sprossen der Variante Harlingerode bei gleichzeitig niedrigen Zn-Gehalten erklärbar wird.

4.1.4 Schlußfolgerung

Insgesamt ergibt sich, daß für eine Prognose der Schwermetallkonzentrationen in den Sprossen von Nahrungs- und Nutzpflanzen die Bodenextraktion mit 1 M NH_4NO_3 (mobile Fraktion = 1. Fraktion) nach ZEIEN (1995) am besten geeignet ist, da diese im Gegensatz zur Bodenlösung bzw. des Gesamtgehaltes für Cu, Zn und Cd stets positive und relativ enge Beziehungen lieferte. Die Enge dieser Beziehungen hängt jedoch neben den physikochemischen Bodeneigenschaften auch sehr stark von den pflanzenartspezifischen Faktoren der betrachteten Pflanzen Lupine, Weidelgras, Rotklee und Spinat ab (vgl. auch BIRKE 1991). Dabei ist insbesondere auf die großen Unterschiede in den Zn- und Cd-Gehalten zwischen Spinat und den anderen Kulturpflanzen hinzuweisen. Diese Unterschiede und die Tatsache, daß die zwei Spinatsorten meist signifikante Sortenunterschiede bei Zn und Cd zeigten, förderten das weitere Interesse an Spinat, da bei ihm die oberirdischen Teile direkt verzehrt werden. In diesem Zusammenhang erscheint es interessant, das Schwermetallaneignungsvermögen näher zu untersuchen und eventuelle genotypische Unterschiede aufzuklären.

Im folgenden Experiment wurden deshalb 11 Spinatsorten auf einem P-armen Lößlehmboden vergleichend angezogen, um die Variabilität der Schwermetallgehalte in den Sproßmassen zu untersuchen.

4.2 Screeningversuch mit 11 Spinatsorten

4.2.1 Vorbemerkungen und Zielstellung

In Kapitel 4.1 konnte gezeigt werden, daß nicht nur zwischen verschiedenen Pflanzenarten Unterschiede in den Schwermetallgehalten der oberirdischen Pflanzenteile zu beobachten sind, sondern daß es auch zum Teil signifikante Sortenunterschiede gibt. Insbesondere bei Kulturpflanzen wie dem Spinat, die hohe Schwermetallkonzentrationen in ihren oberirdischen Organen anreichern können und gleichzeitig als Nahrungsmittel dienen, erscheint es sinnvoll, nach Genotypen zu suchen, die ein geringes Aneignungsvermögen für Schwermetalle, insbesondere des kanzerogen wirkenden Cd, zeigen (KLOKE 1994b). Die von METZ UND KLOKE (1998) angestellte Prognose zeigt, daß der Sortenwahl eine große Bedeutung für die Lebensmittelqualität zukommt. Unter Einbeziehung von Daten aus zahlreichen Sortenversuchen kommen sie zu dem Schluß, daß bei ausschließlicher Verwendung cadmophiler Sorten der tolerable Aufnahmewert von wöchentlich 7 µg Cd kg^{-1} Körpergewicht (FAO/WHO) allein durch die pflanzliche Nahrungsaufnahme schon erreicht bzw. überschritten wird. Durch den Anbau cadmophober Sorten hingegen könnte die Belastung der Verbraucher mit Cd halbiert werden.

Um eine effektive Selektion von Pflanzensorten durchführen zu können, ist es notwendig, die Parameter des Aneignungsvermögens wie das Wurzel-Sproß-Verhältnis oder die Aufnahmeraten der Wurzeln zu untersuchen. Neben diesen Eigenschaften des Wurzelsystems kann das Aufnahmeorgan Wurzel auch Speicherorgan sein (RIETZ UND KÜCKE 1992; GUO ET AL. 1995), was eine einfache Selektion erschwert. Weiterhin ist der P-Ernährungsstatus der Pflanzen von Bedeutung, da in der Literatur wiederholt über Phosphor/Schwermetall-wechselwirkungen berichtet wird. Verschiedene Autoren finden so bei Mais, Bohnen und anderen Pflanzenarten einen P-induzierten Fe- bzw. Zn-Mangel (TRIER UND BERGMANN 1974; WANASURIA 1976; LONERAGAN ET AL. 1979; MURPHY ET AL. 1981; SINGH ET AL. 1988), wobei BERGMANN (1993) die Ursache für den P-induzierten Zn-Mangel in einer erhöhten Zn-Festlegung in der Wurzel sieht. JOHN (1976) und STREET ET AL. (1978) finden bei Hafer und Salat bzw. Mais eine Reduzierung der Cd-Gehalte bei Steigerung der P-Düngung. Außerdem kann es auf P-Mangelstandorten zu einer Erhöhung der Schwermetallöslichkeit durch P-mobilisierende Mechanismen der Pflanzen (Citratausscheidung, pH-Wertabsenkung etc.) kommen (GERKE 1995;

MEYER ET AL. 1994a; MEYER ET AL. 1994b). Das Wissen über diese Zusammenhänge bei Spinat ist jedoch sehr begrenzt. Mit diesem Versuch sollte deshalb die Sortenvarianz eines Spektrums von Spinatsorten mehrerer Länder der EU bezüglich der Schwermetallgehalte in Sprossen und Wurzeln sowie einiger wichtiger Pflanzenparameter (Wurzellänge, Wurzel-Sproß-Verhältnis) bei Anzucht auf einem mit Schwermetallen angereicherten P-armen Lößlehmboden (Elliehausen) bestimmt werden. Außerdem war beabsichtigt, durch Staffelung der P-Düngung zu untersuchen, welchen Einfluß der P-Ernährungszustand auf die Schwermetallgehalte in Sproß und Wurzel hat.

4.2.2 Versuchsbedingungen

Die Anzucht der Spinatsorten erfolgte in Mitscherlich-Gefäßen unter freiland-ähnlichen Bedingungen in einer Vegetationshalle. Als Bodensubstrat wurde hierbei eine Mischung aus 3 kg Lößlehmboden (C-Horizont einer Lößparabraunerde; Elliehausen) und 3,5 kg Quarzsand verwendet. Das Bodensubstrat war auf 2 P-Stufen, 1,0 bzw. 5,1 mg P_2O_5 in 100 g Boden eingestellt. Als Grunddüngung wurden dem Substrat in allen Gefäßen 350 mg kg^{-1} N als Ammoniumnitrat, 500 mg kg^{-1} K als Kaliumsulfat und 30 mg kg^{-1} Mg als Magnesiumsulfat zugesetzt. Allen Gefäßen wurden die Schwermetalle Kupfer (als $CuSO_4$-Lösung), Zink (als $ZnSO_4$-Lösung) und Cadmium (als $Cd(NO_3)_2$-Lösung) in Höhe der halben in der AbfKlärV (ANONYM 1992) vorgeschriebenen Grenzwerte zugesetzt, angefeuchtet und abgedeckt für 7 Wochen in der Vegetationshalle aufbewahrt. Eine Analyse des Bodensubstrates bei Versuchsende ergab die in Tabelle 4.4 aufgeführten Schwermetallgehalte.

Tabelle 4.4: *Gesamtschwermetallgehalte sowie die mobilen und leicht nachlieferbaren Fraktionen nach ZEIEN (1995) des Bodensubstrates Elliehausen bei Versuchsende.*

	Cu	Zn	Cd
		[mg kg^{-1}]	
Gesamtgehalte	34,4	112	0,71
1. Fraktion (mobil)[1]	1,4	14	0,12
2. Fraktion (leicht nachlieferbar)[2]	5,2	38	0,38

[1] = 1 M NH_4NO_3-Extrakt   [2] = 1 M NH_4OAc-Extrakt

Zur Aussaat wurden pro Gefäß 12 Samen ausgebracht. Nach dem Aufgang verblieben 4 Pflanzen pro Gefäß. Alle Gefäße erhielten täglich entmineralisiertes Wasser (70% der maximalen WK). Die Ernte erfolgte 48 Tage nach der Aussaat.

4.2.3 Ergebnisse

4.2.3.1 Trockenmassebildung und Wurzelmorphologie

Durch die Staffelung der P-Düngung zeigten sich deutliche Unterschiede im Wachstum der Spinatsorten (Tabelle 4.5). Bei ausreichender P-Versorgung (+P) erreichten die Trockenmasseerträge im Mittel aller Sorten 16 g pro Gefäß, wobei sich die einzelnen Sorten in ihren Erträgen stark voneinander unterschieden.

Tabelle 4.5: *Sproßtrockenmassen (TM) und Wurzellängen (WL) je Gefäß sowie die Wurzel-Sproß-Verhältnisse (WSV) von 11 Spinatsorten im Gefäßversuch unter Freilandbedingungen bei unterschiedlichem P-Ernährungszustand (+P = hoch; -P = niedrig) 48 Tage nach der Aussaat.*

	+P			-P				
Sorten	TM [g]	WL [m]	WSV [m g^{-1}]	TM [g]	WL [m]	WSV [m g^{-1}]	TM +P/-P	WSV -P/+P
Sombero	11	581	53	3,1	275	89	3,5	1,7
Tabu	14	664	48	3,0	256	86	4,7	1,8
Spartacus	15	906	60	2,2	205	95	6,8	1,6
Kerdion	15	810	53	4,3	446	102	3,5	1,9
Avanti	15	736	48	3,9	368	96	3,8	2,0
Monnopa	16	582	36	5,1	474	93	3,1	2,6
Subito	16	550	34	3,4	252	74	4,7	2,2
Spicer	17	874	52	2,1	224	107	8,1	2,1
Capro	18	841	48	2,9	302	105	6,2	2,2
San Carlos	18	955	52	2,6	234	96	6,9	1,9
San Diego	21	1211	58	2,6	223	89	8,1	1,5
Sortenmittel	*16*	*792*	*49*	*3,2*	*296*	*94*	*5,4*	*2,0*
$GD_{0,05}$ (Tukey)	*2,8*	*331*	*23*	*1,1*	*174*	*49*		
relatives Sortenmittel (+P-Variante = 100%)	*100*	*100*	*100*	*20*	*37*	*192*		

Die Sorte Sombero hatte mit 11 g pro Gefäß den niedrigsten und San Diego mit 21 g pro Gefäß den höchsten Ertrag (Tabelle 4.5). Alle Spinatsorten reagierten auf P-Mangel (-P) mit starken Ertragseinbußen. Im Sortenmittel erreichten sie nur 20% des bei ausreichender P-Versorgung erzielten Trockenmasseertrages. Dabei waren auch hier deutliche Sortendifferenzen zu erkennen. Während sich bei der Sorte Monnopa die Trockenmassen der P-Varianten nur um den Faktor 3,1 unterschieden, waren die Erträge der Sorten Spicer und San Diego bei P-Mangel ca. 8 mal niedriger als die der +P-Variante. Phosphor stellte somit das begrenzende Element für das Pflanzenwachstum in der -P-Variante dar.

Dies spiegelte sich auch in den P-Gehalten der Sprosse wider (Tabelle 4.6). In der +P-Variante enthielt die Sproßtrockenmasse im Sortenmittel 0,43% P, dieser Wert sank bei P-Mangel auf 0,32% ab. An den P-Entzügen wurde dies noch deutlicher.

Tabelle 4.6: *P-Gehalte in der Sproßmasse sowie die P-Entzüge von 11 Spinatsorten im Gefäßversuch unter Freilandbedingungen bei variierter P-Ernährung.*

Sorten	P-Gehalt im Sproß [% P in der TM]			P-Entzug durch den Sproß [mg P je Gefäß]		
	+P	-P	+P/-P	+P	-P	+P/-P
Sombero	0,50	0,37	1,4	55	11	5,0
Tabu	0,51	0,38	1,3	71	11	6,5
Spartacus	0,43	0,30	1,4	65	7	9,2
Kerdion	0,44	0,30	1,5	68	13	5,2
Avanti	0,43	0,35	1,2	67	14	4,7
Monnopa	0,41	0,28	1,5	67	14	4,7
Subito	0,45	0,31	1,5	74	11	6,7
Spicer	0,37	0,28	1,3	63	6	10,5
Capro	0,36	0,31	1,2	64	9	7,1
San Carlos	0,38	0,32	1,2	70	8	8,8
San Diego	0,39	0,30	1,3	81	8	10,1
Sortenmittel	*0,43*	*0,32*	*1,3*	*68*	*10*	*7,1*
$GD_{0,05}$ (Tukey)	*0,08*	*0,09*		*12*	*4*	
relatives Sortenmittel (+P-Variante = 100%)	*100*	*74*		*100*	*15*	

In der -P-Variante wurden nur 15% der P-Menge von den Pflanzen aufgenommen wie in der +P-Variante. Hierbei fielen die Sorten Monnopa, aber auch Kerdion und Avanti auf, da sie unter P-Mangel mit 13-14 mg P je Gefäß die höchsten Entzüge realisierten. Der P-Entzug war bei diesen Sorten nur um Faktor 4,7 bzw. 5,2 niedriger als in der +P-Variante. Bei Sorten wie Spicer oder San Diego konnte man dagegen bei P-Mangel nur 1/10 der Entzüge der +P-Variante finden. Diese Ergebnisse sind Hinweise auf Unterschiede in der P-Aufnahmeeffizienz, da die Sorten Monnopa, Kerdion und Avanti bei gleich niedrigem P-Angebot mehr P aufnehmen konnten und somit höhere Sproßmassen bildeten als die Sorten Spicer und San Diego.

Durch den P-Mangel wurde neben dem Sproßwachstum (20% der Trockenmasse von +P) auch das Wurzelwachstum auf 37% der +P-Variante reduziert (Tabelle 4.5). Die Wurzellängen gingen so im Sortenmittel von 792 m (+P) auf 296 m (-P) zurück. Bei niedriger P-Versorgung bewirkten diese Unterschiede so eine Verdopplung des Wurzel-Sproß-Verhältnisses (WSV), wobei wieder sortentypische Varianzen zu erkennen waren. Bei Monnopa war bei P-Mangel das WSV 2,6 mal größer als in der +P-Variante, während sich bei der Sorte San Diego das WSV nur um den Faktor 1,5 unterschied.

4.2.3.2 Schwermetallgehalte in den Spinatsprossen

Die Darstellung der Schwermetallgehalte der Spinatsprosse in Abbildung 4.2 zeigt, daß die Sorten bei geringem P-Angebot (-P) deutlich höhere Cu-, Zn- und Cd-Gehalte in den Sprossen aufwiesen als bei hohem P-Angebot (+P). Diese Unterschiede waren für alle Sorten und Elemente signifikant. Zwischen den Sorten ließen sich, je nach Element und P-Versorgung, ebenfalls signifikante Unterschiede erkennen:

<u>Kupfer:</u>

In der ausreichend mit P versorgten Variante (+P) lag der mittlere Cu-Gehalt der Sprosse bei 11 mg kg^{-1} (Abbildung 4.2), wobei die maximalen Sortenabweichungen +17/-28% betrugen. Keine der Sorten überschritt so den in Kapitel 1.5 erwähnten Toxizitätsgrenzwert von 15-25 mg kg^{-1}. Die relativ hohe Spannweite resultierte aus dem großen Unterschied zwischen den Sorten Spicer (niedrigster Gehalt) und San Diego (höchster Cu-Gehalt), die sich signifikant voneinander unterschieden.

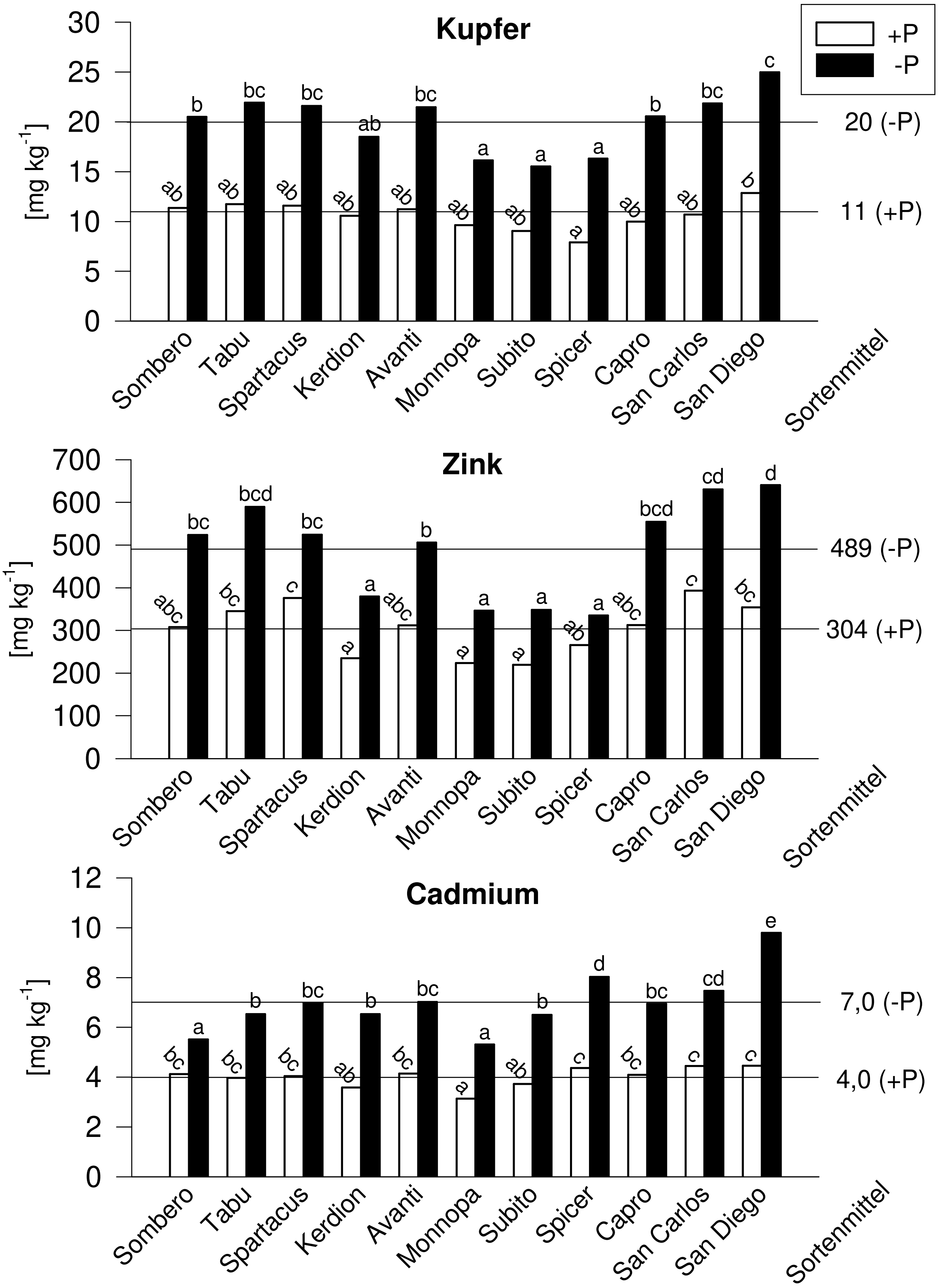


Abbildung 4.2: *Cu-, Zn- und Cd-Gehalte der Sproßtrockenmassen von 11 Spinatsorten bei variierter P-Ernährung sowie das Sortenmittel für die +P- bzw. -P-Stufe. (Werte mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb der P-Stufe unterscheiden sich signifikant, Tukey$_{0,05}$).*

Die anderen Sorten gruppierten sich sehr dicht um den Mittelwert und zeigten keine großen Unterschiede.

Unter P-Mangelbedingungen (-P-Variante) zeigte sich ein ganz anderes Bild (Abbildung 4.2). Der mittlere Cu-Gehalt in den Sprossen von Spinat lag hier bei 20 mg kg^{-1} und damit annähernd doppelt so hoch (182%) wie bei der +P-Variante. Die maximalen Abweichungen vom Sortenmittel lagen bei +25/-23%, wobei sich das Sortiment jedoch uneinheitlicher zeigte als in der +P-Variante. Sorten mit niedrigen Cu-Gehalten im Sproß (Monnopa, Subito, Spicer) standen Sorten mit signifikant höheren Cu-Gehalten gegenüber (Tabu, Spartacus, Avanti, San Carlos, San Diego). Unabhängig vom P-Ernährungsstatus zeigten hierbei die Sorte Spicer signifikant niedrige, und die Sorte San Diego die signifikant höchsten Cu-Gehalte in den Sprossen.

<u>Zink</u>:

Bei hohem P-Angebot lagen die mittleren Zn-Konzentrationen im Sproß bei 304 mg kg^{-1}. Eine Überschreitung des Toxizitätsgrenzwertes, der für Zn bei 150-850 mg kg^{-1} liegt, kann somit nicht ausgeschlossen werden. Die Zn-Gehalte in den Spinatgenotypen wiesen aber im Gegensatz zu den Cu-Gehalten deutliche Unterschiede auf. Die maximalen Abweichungen vom Sortenmittel lagen bei +29/-28%. Niedrige Zn-Gehalte in den Sprossen wiesen die Sorten Monnopa, Subito und Kerdion auf. Signifikant höhere Gehalte konnte man in den Sorten Tabu, Spartacus, San Carlos und San Diego finden.

In der -P-Variante lag das Sortenmittel bei 489 mg Zn kg^{-1} TM, d.h. um den Faktor 1,6 höher als bei +P. Die maximale Schwankungsbreite betrug +31/-32% vom Mittelwert. Die bei der +P-Variante gefundenen Tendenzen bezüglich der Sproßgehalte bestätigen sich auch in der -P-Variante, jedoch zeigten sich deutlichere Unterschiede zwischen den Sorten. Monnopa, Subito und Kerdion, aber auch Spicer wiesen die niedrigsten Zn-Gehalte auf, die deutlich unter dem Sortenmittel lagen. Die höchsten Gehalte konnte man wieder in den Sorten Tabu, Spartacus, San Carlos und San Diego finden, aber auch in Sombero, Avanti und Capro lagen die Zn-Gehalte über dem Sortenmittel. Damit zeigen die Spinatsorten, besonders in der -P-Variante, deutliche sortentypische Übereinstimmungen in den Cu- und Zn-Gehalten (Tabelle 4.7).

Tabelle 4.7: *Ergebnisse der Korrelationsrechnungen (y = bx + a; r = Korrelationskoeffizient) für die Beziehungen zwischen den Elementgehalten in den Sprossen von 11 Spinatsorten (N = 33).*

	Y		X	b	a	r	
+P	Sproßgehalt Cu	vs.	Sproßgehalt Zn	0,015	6,0	0,590	***
	Sproßgehalt Cu	vs.	Sproßgehalt Cd	1,25	5,6	0,328	
	Sproßgehalt Zn	vs.	Sproßgehalt Cd	104	-112	0,694	***
-P	Sproßgehalt Cu	vs.	Sproßgehalt Zn	0,024	8	0,888	***
	Sproßgehalt Cu	vs.	Sproßgehalt Cd	1,3	11	0,484	**
	Sproßgehalt Zn	vs.	Sproßgehalt Cd	41	200	0,413	*

* p = 0,05   ** p = 0,01   *** p = 0,001

Cadmium:

Auch für Cd lag in der +P-Variante das Sortenmittel mit 4 mg Cd kg^{-1} TM (Abbildung 4.2) bei einer maximalen Sortenabweichung von +12/-22% innerhalb der in Kapitel 1.5 aufgeführten Toxizitätsgrenzwerte von 1-10 mg kg^{-1}. Die Sorte Monnopa wies mit 3,13 mg Cd kg^{-1} die niedrigsten Cd-Gehalte im Sproß auf. Die höchsten Cd-Gehalte befanden sich in den Sprossen der Sorten San Carlos und San Diego, aber auch in der Sorte Spicer, die sich durch geringe Cu- und Zn-Gehalte auszeichnete.

Das Sortenmittel der Cd-Gehalte in der -P-Variante lag bei 7 mg kg^{-1}, und war damit 75% höher als in der +P-Variante. Die Abweichungen der Sorten vom Mittelwert betrugen +40% bis -24%. Es ließen sich deutliche Signifikanzen zwischen den Sorten erkennen, wobei sich die niedrigsten Cd-Gehalte in den Sorten Monnopa und Sombero und die höchsten Gehalte in den Sorten Spicer und San Diego wiederfanden.

4.2.3.3 Schwermetall- und P-Gehalte in den Wurzeln und die Verteilung der Schwermetalle in den Pflanzen

Ähnlich den P-Gehalten in den Sprossen, nahmen die Gehalte in den Wurzeln der Spinatsorten bei verringertem P-Angebot im Mittel von 0,15% (+P) deutlich auf 0,09% ab (Tabelle 4.8). Gleichzeitig stiegen unter P-Mangel die mittleren Gehalte von Cu (134%), Zn (123%) und Cd (156%) in den Wurzeln signifikant an. Im Gegensatz zu dem Anstieg in den Schwermetallgehalten der Sprosse, der für alle Sorten und Elemente signifikant war, ließen sich bei den Wurzelgehalten nur teilweise statistisch absicherbare Unterschiede bei den Sorten finden. Grund hierfür waren die in Kapitel 3.4.1 beschriebenen analytischen Probleme bei der Elementbestimmung in Wurzelproben, die zu einer starken Streuung der Meßergebnisse führten. Die größten Unterschiede traten bei den Cd-Gehalten auf. Nur die Sorten Sombero und Monnopa unterschieden sich nicht signifikant. Bei Cu zeigten sich hingegen nur bei sechs, bei Zn sogar nur bei vier Sorten signifikante Unterschiede in den Wurzelgehalten.

Tabelle 4.8: *Schwermetall- und Phosphorgehalte in den Wurzeltrockenmassen von 11 Spinatsorten bei Anzucht im Gefäßversuch unter Freilandbedingungen und variierter P-Ernährung (signifikante Unterschiede in den Elementgehalten der einzelnen Spinatsorten durch die variierte P-Ernährung sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet, Tukey$_{0,05}$).*

Sorte	Cu		Zn		Cd		P	
	+P	-P	+P	-P	+P	-P	+P	-P
	[mg kg^{-1}]		[mg kg^{-1}]		[mg kg^{-1}]		[%]	
Sombero	222 ^{a}	232 ^{a}	349 ^{a}	365 ^{a}	10,2 ^{a}	13,5 ^{a}	0,17 ^{a}	0,09 ^{b}
Tabu	181 ^{a}	239 ^{a}	278 ^{a}	423 ^{b}	9,1 ^{a}	15,6 ^{b}	0,15 ^{a}	0,09 ^{b}
Spartacus	165 ^{a}	211 ^{a}	294 ^{a}	500 ^{b}	10,6 ^{a}	16,6 ^{b}	0,15 ^{a}	0,10 ^{b}
Kerdion	155 ^{a}	251 ^{b}	286 ^{a}	294 ^{a}	7,6 ^{a}	14,9 ^{b}	0,14 ^{a}	0,06 ^{b}
Avanti	182 ^{a}	229 ^{b}	377 ^{a}	396 ^{a}	10,3 ^{a}	16,7 ^{b}	0,16 ^{a}	0,09 ^{b}
Monnopa	220 ^{a}	195 ^{a}	334 ^{a}	306 ^{a}	7,6 ^{a}	11,9 ^{a}	0,16 ^{a}	0,08 ^{b}
Subito	173 ^{a}	273 ^{b}	295 ^{a}	352 ^{a}	9,5 ^{a}	16,0 ^{b}	0,14 ^{a}	0,08 ^{b}
Spicer	129 ^{a}	217 ^{b}	249 ^{a}	351 ^{b}	10,2 ^{a}	16,3 ^{b}	0,12 ^{a}	0,09 ^{b}
Capro	144 ^{a}	219 ^{a}	371 ^{a}	459 ^{a}	11,9 ^{a}	17,9 ^{b}	0,16 ^{a}	0,11 ^{b}
San Carlos	196 ^{a}	282 ^{b}	365 ^{a}	439 ^{a}	13,1 ^{a}	17,8 ^{b}	0,16 ^{a}	0,11 ^{b}
San Diego	174 ^{a}	249 ^{b}	365 ^{a}	516 ^{b}	13,8 ^{a}	20,9 ^{b}	0,14 ^{a}	0,09 ^{b}
Sortenmittel	*176 ^{a}*	*236 ^{b}*	*324 ^{a}*	*400 ^{b}*	*10,4 ^{a}*	*16,2 ^{b}*	*0,15 ^{a}*	*0,09 ^{b}*
GD$_{0,05}$ (Tukey)	*98*	*117*	*159*	*122*	*5,4*	*4,7*	*0,05*	*0,05*
rel. Sortenmittel (+P = 100%)	*100*	*134*	*100*	*123*	*100*	*156*	*100*	*60*

Durch den Quotienten aus den Schwermetallgehalten der Wurzeln und denen der Sprosse ließen sich Rückschlüsse auf die Verteilung der Elemente innerhalb der Pflanze ziehen (Tabelle 4.9). Hierbei zeichneten sich deutliche Unterschiede zwischen den Schwermetallen ab. Die Cu-Gehalte der Wurzeln waren im Sortenmittel 17 mal (+P) bzw. 12 mal (-P) höher als in den Sprossen. Die Verhältnisse bei Zn (+P: 1,1; -P. 0,8) geben an, daß sich das aufgenommene Zn gleichmäßig über die ganze Pflanze verteilte, während Cd sich im Sortenmittel um den Faktor 2,6 (+P) bzw. 2,3 (-P) in den Wurzeln anreicherte. Für die Elemente Cu und Zn unterschieden sich zudem die Sortenmittel beim Vergleich der P-Stufen signifikant. Für Cd konnte aber eine Beeinflussung der Schwermetallverteilung durch die unterschiedliche P-Ernährung nicht festgestellt werden.

Tabelle 4.9: *Verteilung der Schwermetall- und Phosphorgehalte in 11 Spinatsorten, dargestellt als Verhältnis von Wurzel- zu Sproßgehalt (signifikante Unterschiede in den Verhältnissen der einzelnen Spinatsorten durch die variierte P-Ernährung sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet, Tukey$_{0,05}$. Kleine Buchstaben: vertikaler Vergleich; große Buchstaben: horizontaler Vergleich).*

Sorte	Cu		Zn		Cd		P	
	+P	-P	+P	-P	+P	-P	+P	-P
Sombero	20 ^{a}	11 ^{b}	1,1 ^{a}	0,7 ^{b}	2,5 ^{a}	2,5 ^{a}	0,35 ^{a}	0,26 ^{a}
Tabu	15 ^{a}	11 ^{a}	0,8 ^{a}	0,7 ^{a}	2,3 ^{a}	2,4 ^{a}	0,29 ^{a}	0,23 ^{b}
Spartacus	14 ^{a}	10 ^{a}	0,8 ^{a}	1,0 ^{b}	2,6 ^{a}	2,4 ^{a}	0,36 ^{a}	0,34 ^{a}
Kerdion	15 ^{a}	14 ^{a}	1,2 ^{a}	0,8 ^{a}	2,1 ^{a}	2,3 ^{a}	0,32 ^{a}	0,21 ^{b}
Avanti	16 ^{a}	11 ^{b}	1,2 ^{a}	0,8 ^{b}	2,5 ^{a}	2,4 ^{a}	0,36 ^{a}	0,25 ^{b}
Monnopa	23 ^{a}	12 ^{b}	1,5 ^{a}	0,9 ^{b}	2,4 ^{a}	2,2 ^{a}	0,38 ^{a}	0,29 ^{a}
Subito	19 ^{a}	18 ^{a}	1,3 ^{a}	1,0 ^{b}	2,5 ^{a}	2,5 ^{a}	0,31 ^{a}	0,25 ^{a}
Spicer	16 ^{a}	13 ^{a}	0,9 ^{a}	1,1 ^{a}	2,3 ^{a}	2,0 ^{a}	0,32 ^{a}	0,32 ^{a}
Capro	14 ^{a}	11 ^{a}	1,2 ^{a}	0,8 ^{a}	2,9 ^{a}	2,6 ^{a}	0,43 ^{a}	0,38 ^{a}
San Carlos	18 ^{a}	13 ^{b}	0,9 ^{a}	0,7 ^{b}	3,0 ^{a}	2,4 ^{a}	0,43 ^{a}	0,34 ^{a}
San Diego	14 ^{a}	10 ^{b}	1,0 ^{a}	0,8 ^{a}	3,1 ^{a}	2,1 ^{b}	0,36 ^{a}	0,31 ^{a}
Sortenmittel	*17 ^{A}*	*12 ^{B}*	*1,1 ^{A}*	*0,8 ^{B}*	*2,6 ^{A}*	*2,3 ^{A}*	*0,35 ^{A}*	*0,29 ^{B}*
GD$_{0,05}$ (Tukey)	*10*	*7*	*0,6*	*0,3*	*1,4*	*0,7*	*0,12*	*0,16*

4.2.4 Diskussion

4.2.4.1 Schwermetallgehalte der Spinatsprosse in Abhängigkeit von der P-Ernährung

Die bei der ausreichend mit P versorgten Variante gefundenen maximalen Sortenabweichungen (Abbildung 4.2) für Cu (+17/-28% vom Sortenmittel) bestätigen die Ergebnisse von RÖMER ET AL. (1998a), die bei einem ähnlichen Spinatsortiment auf einem hoch mit P versorgten, schwermetallbelasteten Lößlehmboden Abweichungen von +24/-33% vom Sortenmittel fanden. Eine vergleichbare Sortenvarianz für Cu fanden auch FISAHN ET AL. (1995) in den Sprossen von 59 Spinatsorten (+22/-22%), während LÜBBEN (1991) wesentlich größere Unterschiede bei den Cu-Gehalten in den Sprossen von Spinat gefunden hatte (+42/-50% vom Sortenmittel).

Bei den Zinkgehalten liegen die gefundenen maximalen Abweichungen vom Sortenmittel (+29/-28%) höher als die von HELAL ET AL. (1990) und RÖMER ET AL. (1998a) gefundenen maximalen sortentypischen Spannweiten bei Spinat (+15/-26% bzw. +17/-21%), aber niedriger als die Varianzen, die LÜBBEN (1991) angibt (+39/-52%).

Für das toxikologisch bedenkliche Cd werden im Versuchsansatz Sortenvarianzen von +12/-22% gefunden. ISERMANN ET AL. (1984) und RÖMER ET AL. (1998a) fanden ähnlich hohe Sortenvarianzen (+13/-22% bzw. +16/-18%) für Cd, während LÜBBEN (1991) und FISAHN ET AL. (1995) wesentlich höhere Spannweiten bei Spinat feststellten (+49/-23% bzw. +32/-49%).

Die gefundene große Sortenvarianz von Cu, Zn und Cd in den Sprossen von Spinat bei ausreichender P-Düngung untermauern so die Ansicht von ISERMANN ET AL. (1984), CREWS UND DAVIES (1985), YURAN UND HARRISON (1986) und EYSINGA UND COOLS (1988), daß die Sortenwahl bei Nahrungspflanzen zur Verminderung der Cd-Belastung der Verbraucher beitragen kann. BRÜNE ET AL. (1982) weisen allerdings darauf hin, daß sich Sortenunterschiede meist nur auf ein Element beziehen und so nicht eine Selektion nach einem generell geringen Schwermetallgehalt erfolgen kann. Die Korrelationsrechnungen in Tabelle 4.7 bestätigen dies nicht unbedingt, da alle Steigungsparameter positiv sind. Aber in der +P-Variante zeigten sich relativ enge, signifikante Beziehungen nur zwischen den Cu- und Zn-Gehalten bzw. den Zn- und Cd-Gehalten der Spinatsprosse, wohingegen zwischen den Cu- und den Cd-Gehalten kein signifikanter Zusammenhang hergestellt werden konnte. Betrachtet man die einzelnen Sorten, so wies Sorte Spicer niedrige Cu- und Zn-Gehalte, aber hohe Cd-Gehalte im Sproß auf. Tabu und Spartacus zeigten hohe Cu- und Zn-Gehalte bei mittleren Cd-Gehalten. Jedoch fanden sich auch Sorten, die hohe (San Diego), bzw. niedrige (Monnopa, Subito) Gehalte bei allen untersuchten Elementen aufwiesen.

Neben der Frage des Sortenverhaltens spielt die Reproduzierbarkeit der Resultate eine wichtige Rolle. YURAN UND HARRISON (1986) konnten in ihren Untersuchungen an Salat, die nach dem Cd-Gehalt aufgestellte Rangfolge der Sorten im Folgejahr unter gleichen Bedingungen nicht reproduzieren. Demgegenüber fanden RÖMER ET AL. (1998a) bei Spinat gut reproduzierbare Ergebnisse im Wiederholungsversuch. Gesicherte Aussagen in Bezug auf das Sortenverhalten können also nur mehrjährige Untersuchungen unter Freilandbedingungen bringen.

Die Forderung der Praxis ist es, Anbauempfehlungen abzuleiten. Beschränkt man sich hierbei auf das humantoxische Cd als Hauptproblem, so sollen ertragsreiche Sorten mit geringen Cd-Gehalten gefunden werden, die beim Anbau auf mäßig kontaminierten Standorten eine Produktion von Nahrungsmitteln unterhalb der Richtwerte für Lebensmittel (BGA 1986) ermöglichen. Da man davon ausgehen kann, daß sowohl im kommerziellen Anbau als auch im privaten Hausgartenanbau mit ausreichender Nährstoffversorgung, insbesondere bei Stickstoff und Phosphor, gearbeitet wird, ist es ausreichend, das Sortenverhalten bei hohem P-Angebot als Beurteilungsmaßstab anzusetzen.

Aus den vorliegenden Untersuchungen lassen sich somit die Sorten Monnopa, Kerdion und Subito empfehlen. Sie verfügten über niedrige Cd-Gehalte im Sproß bei Erträgen, die im Sortenmittel lagen. Diese Empfehlung darf jedoch vorläufig nicht verallgemeinert werden, da die Sorte Subito bei RÖMER ET AL. (1998a) höchste Cd-Gehalte aufwies, während die in der dortigen Arbeit empfohlene Sorte Spicer (hohe Trockenmasse, niedriger Cd-Gehalt) im vorliegenden Experiment zwar ebenfalls hohen Ertrag bei allerdings gleichzeitig hohem Cd-Gehalt erbrachte. Ursachen für diese sich widersprechenden Resultate können zum Beispiel Einflußgrößen wie der verwendete Boden oder klimatische Bedingungen sein, die sich auf die Ausprägung der genotypischen Unterschiede auswirkten. Der eigene Versuch wurde unter Freilandbedingungen, der von RÖMER ET AL. (1998a) in der Klimakammer durchgeführt.

Insgesamt zeigt sich, daß sich die unter +P-Bedingungen festgestellten Sortenunterschiede bei P-Mangel zum Teil noch verstärkten und so zu größeren sortenspezifischen Unterschieden in den Schwermetallgehalten führten. Dies läßt den Schluß zu, daß die unterschiedlichen Schwermetallgehalte der Spinatsprosse in Zusammenhang mit Parametern der Nährstoffaufnahme stehen, da sich eine Veränderung dieser Parameter infolge von P-Mangel auch auf die Schwermetallgehalte auszuwirken scheint.

4.2.4.2 Einfluß von Wurzelparametern auf den Schwermetallgehalt der Spinatsprosse

Morphologische Eigenschaften der Wurzeln wie die Wurzellänge und das Wurzel-Sproß-Verhältnis spielen bei der Nährstoffaufnahme eine große Rolle. Betrachtet man die Ergebnisse der Korrelationsrechnungen von Wurzellänge zu Sproßgehalten (Tabelle 4.10) so zeigt sich an den Bestimmtheitsmaßen (Cu: r^2 = 0,11; Zn: r^2 = 0,29; Cd: r^2 = 0,34) der Funktionen unter +P-Bedingungen, daß die Wurzellänge allein nicht geeignet ist, die Schwermetallgehalte in den Sprossen befriedigend zu beschreiben.

Tabelle 4.10: *Ergebnisse der Korrelationsrechnungen (y = bx + a; r = Korrelationskoeffizient) für die Beziehungen zwischen den Elementgehalten in den Sprossen und den Wurzellängen (WL) bzw. den P-Gehalten der Sprosse von 11 Spinatsorten (N = 33).*

		+P				-P			
Y	X	b	a	r		b	a	r	
Sproßgehalt Cu		0,003	8,6	0,339		-0,008	22,4	0,262	
Sproßgehalt Zn	WL	0,156	180	0,534	***	-0,408	609	0,349	*
Sproßgehalt Cd		0,001	3,1	0,584	***	-0,005	8,5	0,458	**
Sproßgehalt Cu		8,8	6,8	0,289		32	9,7	0,405	*
Sproßgehalt Zn	P-Gehalt	-28,7	316	0,024		1491	17	0,502	**
Sproßgehalt Cd		-1,7	4,7	0,210		-5,2	8,6	0,176	

* p= 0,05   ** p= 0,01   *** p= 0,001

Dieses Ergebnis bestätigt Untersuchungen von HELAL ET AL. (1990), die bei Spinat ebenfalls keine Beziehungen zwischen morphologischen Wurzeleigenschaften (Wurzellänge, Anzahl der Wurzeln pro Pflanze) und Mikroelementgehalten von

Spinatsprossen finden konnten. Unter P-Mangel lieferte die Regressionsanalyse sogar negative Steigungen für die Beziehung zwischen den Schwermetallgehalten der Sprosse und der Wurzellänge.
Bei verschiedenen Sortenvergleichsversuchen wiesen Autoren auf Verdünnungseffekte infolge verstärkten Massenwachstums hin (ISERMANN ET AL. 1984; KNEBEL UND WERNER 1994). Bei Verwendung des Wurzel-Sproß-Verhältnisses wird der Einfluß der Trockenmasse der Sprosse mit berücksichtigt. Das Wurzel-Sproß-Verhältnis (WSV) beschreibt hierbei die Länge der Wurzel, die für die Ernährung einer Einheit Sproß zur Verfügung steht. Setzt man das WSV in Beziehung zu den Schwermetallgehalten im Sproß, so ergeben sich die in Abbildung 4.3 gezeigten Punktewolken und ihre Regressionsgeraden. Betrachtet man die Beziehung über den gesamten Datenbestand (+P- und -P-Variante vereint), so zeigen sich für Cu, Zn und Cd deutliche Abhängigkeiten, die hochsignifikant sind. Das bedeutet, daß mit zunehmender Wurzellänge pro Einheit Sproß der Schwermetallgehalt der Spinatsprosse für alle 3 Elemente anstieg, da die Kontaktfläche Boden/Wurzel vergrößert war und somit mehr Schwermetalle aufgenommen und im Sproß akkumuliert werden konnten. Aus Tabelle 4.5 geht hervor, daß sich die WSV der +P-Variante und der -P-Variante annähernd um den Faktor 2 unterscheiden. Ähnlich große Unterschiede finden sich in den Sortenmittelwerten der Sproßgehalte zwischen den P-Varianten (Abbildung 4.2), womit der direkte Zusammenhang von WSV und Sproßgehalten bestätigt wird. Ursache für die Verdopplung des WSV ist im unterschiedlichen Wachstum von Sproß und Wurzel bei P-Mangel zu suchen. Die Trockenmassebildung geht hierbei stärker zurück (-80%) als die Wurzelbildung (-63%).
Betrachtet man die Korrelationen von WSV und Sproßgehalten getrennt für die P-Stufen (Abbildung 4.3), so fällt auf, daß sich in der +P-Variante die beschriebenen Beziehungen mit signifikanten Korrelationskoeffizienten wiederfinden lassen, während das in der -P-Variante nicht der Fall ist.

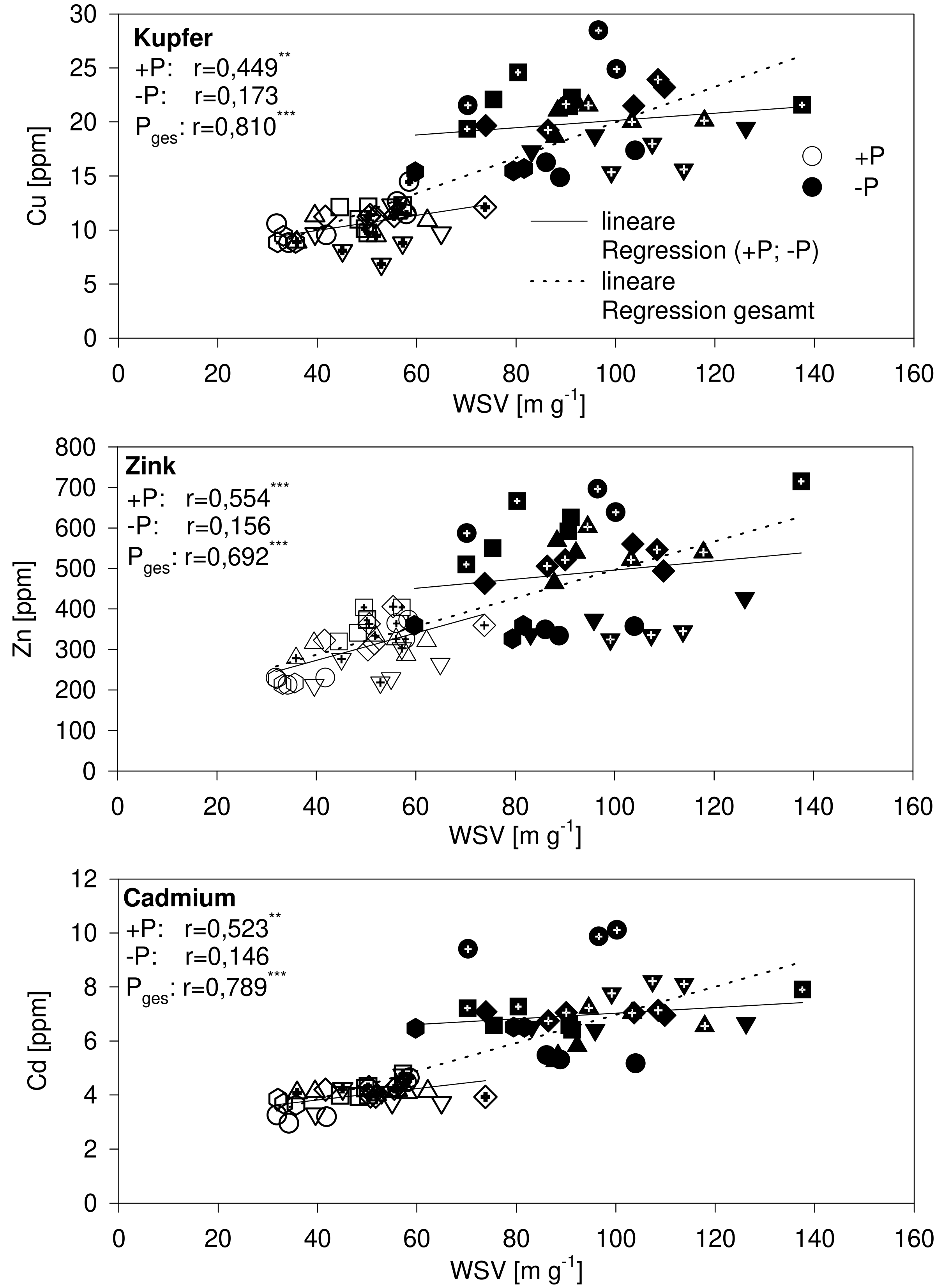


Abbildung 4.3: *Korrelation zwischen den Schwermetallgehalten im Sproß von 11 Spinatsorten und deren Wurzel-Sproß-Verhältnisse (WSV). (3 Wiederholungen je Sorte, als Einzelsymbole dargestellt; * p= 0,05; ** p= 0,01; *** p= 0,001).*

Die Steigung der Regressionsgeraden verläuft in der -P-Variante flacher, was darauf hindeutet, daß die Beziehung der beiden Parameter schwächer ist. Zudem kommt es zu einer deutlichen Aufweitung des Sortenspektrums um die Regressionsgerade, wobei sich Sorten zeigen, die bei ähnlichem WSV deutlich über bzw. unter der Geraden liegen und sich so in ihren Schwermetallgehalten unterscheiden. Dies deutet darauf hin, daß unter P-Mangelbedingungen der Einfluß von anderen Parametern zunimmt, die in der bisherigen Betrachtung noch nicht berücksichtigt wurden.

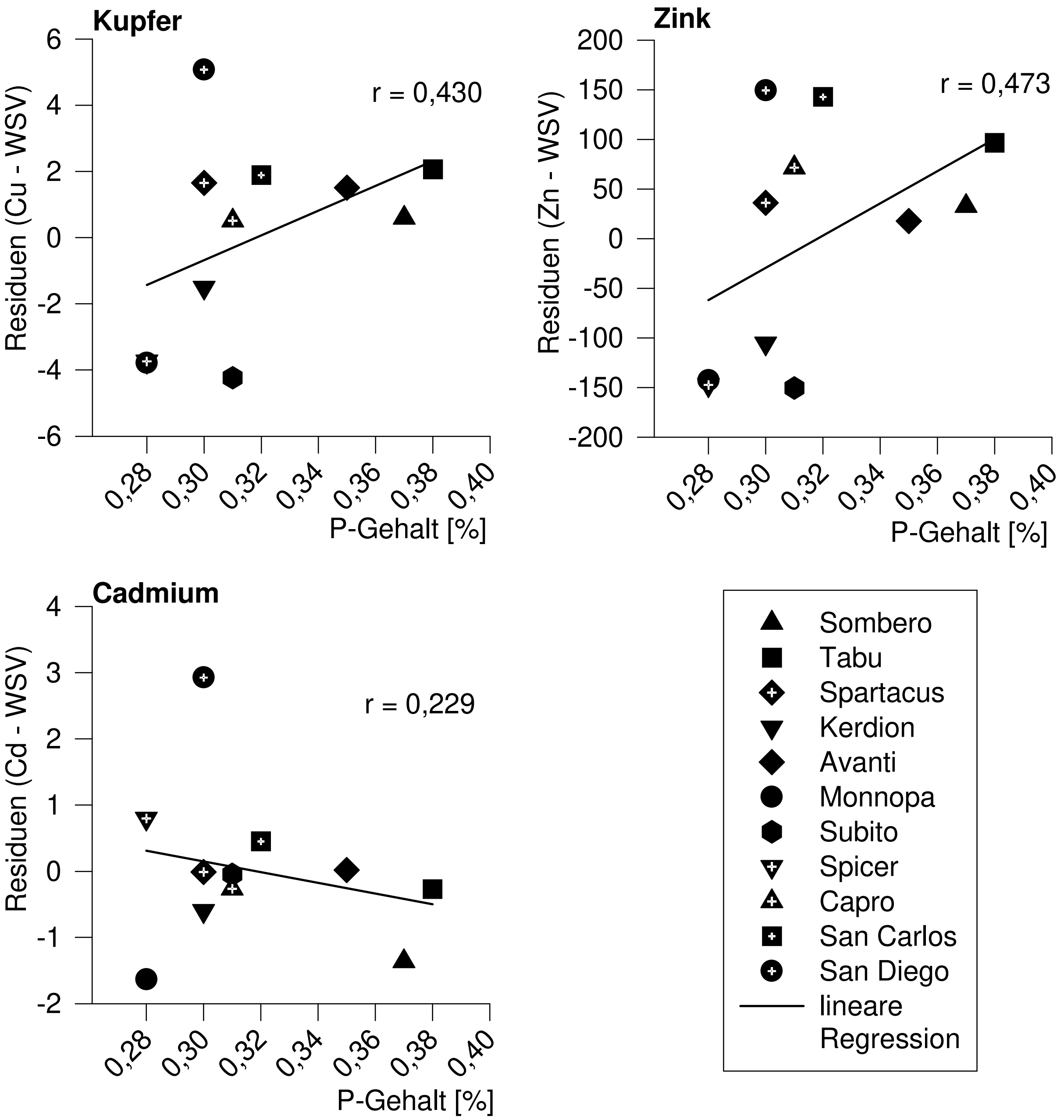


Abbildung 4.4: *Beziehung zwischen dem P-Gehalt der Spinatsprosse bei P-Mangel und den Residuen der Beziehung von Schwermetallgehalten und Wurzel-Sproß-Verhältnisse (r = Korrelationskoeffizient).*

Aus Tabelle 4.10 geht hervor, daß bei P-Mangel eine lockere Beziehung zwischen den Cu- bzw. Zn-Gehalten und den P-Gehalten im Sproß besteht. Für Cd kann keine Beziehung hergestellt werden. Bestimmt man die Residuen aus der Korrelation von Schwermetallgehalten und WSV unter Verwendung der Sortenmittelwerte bei P-Mangel und setzt diese ins Verhältns zu den P-Gehalten in den Sprossen, so ergeben sich die in Abbildung 4.4 dargestellten Beziehungen. Für die Elemente Cu und Zn kann man eine positive Beziehung zwischen den P-Gehalten und den Schwermetallgehalten im Sproß relativ zum WSV erkennen. Die Mechanismen, die es der Pflanze ermöglichen, P aufzunehmen und im Sproß anzureichern, scheinen somit auch die Akkumulation der Elemente Cu und Zn im Sproß beeinflusst zu haben.
Für Cd sind keine eindeutigen Beziehungen erkennbar. Womöglich spielten andere Faktoren für die Cd-Akkumulation eine größere Rolle.
Für die P-Akkumulation im Sproß können bei P-Mangel neben morphologischen Wurzelparametern auch deren physiologische Eigenschaften eine Rolle spielen. So fanden HELAL ET AL. (1990) beim Vergleich von Spinatwurzeln mit Bohnenwurzeln eine 41-64 mal höhere Aufnahmerate für Mikronährstoffe. Genotypische Änderungen der Aufnahmeraten, bzw. Beeinflussung der Löslichkeitsverhältnisse in der Rhizosphäre, die sich auf die P-Aufnahme auswirken, können somit mögliche Ursachen darstellen. PADEKEN (1998) kommt so in seinen Untersuchungen zum Einfluß der P-Düngung auf die Schwermetallkonzentrationen in Pflanzen zu dem Schluß, daß im Wesentlichen Verdünnungseffekte durch Massenzuwachs bei P-Düngung, bzw. veränderte Schwermetallöslichkeiten infolge von Mobilisierungsprozessen durch P-Mangelpflanzen für die Unterschiede in den Sproßgehalten verantwortlich waren.

4.2.5 Schlußfolgerung

Die Ergebnisse des Spinatsortenversuches zeigen, daß es eine große genotypische Varianz der Sorten bei den Schwermetallgehalten der Sproßmassen gibt. Die Auswahl bestimmter Sorten mit insbesondere niedrigen Cd-Gehalten für eine Anbauempfehlung gestaltet sich jedoch schwierig, da die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse auf verschiedenen Böden bzw. unter verschiedenen Anzucht-bedingungen nicht immer gewährleistet ist. Hinzu kommt, daß es kaum Sorten mit generell niedrigen Schwermetallgehalten gibt. Die meisten Sorten im Versuch besaßen niedrige Gehalte für nur ein Element, während sie für die anderen vergleichsweise höhere Gehalte aufwiesen. Dies zeigt deutlich, daß es notwendig ist, die Ursachen für die genotypischen Unterschiede in den Schwermetallgehalten der Sprosse zu analysieren. Für eine Prognose der Schwermetallgehalte liefert das Wurzel-Sproß-Verhältnis insofern Hinweise, daß mit größerem WSV die Wahrscheinlichkeit erhöhter Sproßgehalte an allen 3 Elementen ansteigt. Neben dieser morphologischen Wurzeleigenschaft scheinen aber auch physiologische Eigenschaften, insbesondere bei Nährstoffmangel, eine größere Rolle zu spielen. Aus Abbildung 4.4 geht hervor, daß die Sorte Tabu bei P-Mangel höhere P- und Cu- bzw. Zn-Gehalte besaß, als die Sorte Monnopa und es Beziehungen zwischen den P- und Schwermetallgehalten zu geben scheint. Im folgenden Versuch sollte deshalb der Element-Inflow dieser zwei Sorten bestimmt werden, um Rückschlüsse auf mögliche Unterschiede in der Aufnahmeleistung der Wurzelsysteme ziehen zu können.

4.3 Ermittlung der Wurzelkennwerte (Wurzellänge, Wurzel-Sproß-Verhältnis und Elementaufnahmeraten) zweier Spinatgenotypen bei unterschiedlichem P-Ernährungszustand

4.3.1 Vorbemerkungen und Zielstellung

Die vorangegangenen Versuche (Kapitel 4.1 und 4.2) haben gezeigt, daß die Spinatsorten Monnopa und Tabu zum Teil signifikante Unterschiede in den Schwermetallkonzentrationen des Blattapparates aufwiesen. Die Ergebnisse zeigten weiterhin, daß sich unter Nährstoffmangel (-P-Bedingungen) diese Unterschiede noch verstärkten. Die Ursachen für diese Differenzen sind bisher weitgehend ungeklärt geblieben und vermutlich morphologischen und physiologischen Eigenschaften der Genotypen zuzuordnen. Aus theoretischen Überlegungen zu den Zusammenhängen zwischen Elementgehalten der Sprosse und deren Aufnahme durch die Wurzeln lassen sich die zu untersuchenden Parameter ableiten.
Nach den Vorstellungen von NYE UND TINKER (1977) sowie CLAASSEN UND JUNGK (1984) ergibt sich der Nährstoffgehalt in der Sproßmasse (X) aus der Nettonährstoffaufnahmerate je Wurzellängeneinheit, später als ***Inflow (I)*** nach TINKER UND NYE (2000) bezeichnet, der Wurzellänge (WL) und dem Kehrwert der Wachstumsrate des Sprosses (GR):

Gleichung 4.1: $$X = I \bullet WL \bullet \frac{1}{GR}$$

Bei exponentiellem Wachstum junger Pflanzen ist die relative Wachstumsrate (RGR) eine aussagekräftigere Größe.

Es gilt $GR = \frac{dM}{dt}$, wobei M der Masse der Pflanzen entspricht. Nach Erweiterung mit $\frac{M}{M}$ ergibt sich $GR = \frac{dM}{dt \bullet M} \bullet M$.

Da $\frac{dM}{dt \bullet M}$ der relativen Wachstumsrate (RGR) entspricht, ergibt sich $GR = RGR \bullet M$.

Durch Einsetzen dieses Produktes in Gleichung 4.1 ergibt sich:

Gleichung 4.2: $$X = I \bullet \frac{WL}{M} \bullet \frac{1}{RGR}$$

Der Nährstoffgehalt der Sprosse hängt also vom Inflow, dem Wurzel-Sproß-Verhältnis ($\frac{WL}{M} = WSV$) und dem Kehrwert der relativen Wachstumsrate ab. Das muß auch für die Akkumulation der Schwermetalle in den Sprossen gelten, wobei zu beachten ist, daß die Verteilung der Schwermetalle innerhalb der Pflanze nicht mit denen von Makronährelementen, wie zum Beispiel dem Phosphor, vergleichbar ist (vgl. Tabelle 4.9), die sich zum größten Teil (ca. 95%) im Sproß befinden.
Bei der Berechnung des Inflows von Makronährstoffen wie Stickstoff und Phosphor ist es somit ausreichend, nur die Elementmengen der oberirdischen Organe zu berücksichtigen. Der so berechnete Inflow der Wurzel müßte somit korrekterweise als „Sproßinflow“ der Wurzel bezeichnet werden. Da die Konzentrationen der Schwermetalle in den Wurzeln meist viel höher sind als in den Sprossen, dürfen diese nicht vernachlässigt werden. Um die Unterschiede zwischen den Elementen zu verdeutlichen, ist es somit sinnvoll, neben dem Sproßinflow auch den Gesamtinflow (berücksichtigt die Metalle in Wurzel und Sproß) für die einzelnen Elemente zu bestimmen. Aus dem relativen Anteil von Sproß- und Gesamtinflow ergibt sich schließlich auch der Anteil, der von der Wurzel aufgenommen und in die Sprosse verlagert wird.
Da der Spinatsortenversuch gezeigt hat, daß morphologische Wurzeleigenschaften wie das Wurzel-Sproß-Verhältnis die Unterschiede in der Schwermetallakkumulation der Spinatgenotypen, insbesondere der Sorten Monnopa und Tabu, nur bedingt erklären kann, soll im folgenden Versuch die ***Ausprägung physiologischer Wurzeleigenschaften*** dieser beiden Genotypen näher untersucht werden. Hierzu wird der ***Gesamtelementinflow (I)***, der die Aufnahmeleistung der Wurzel je Einheit Wurzellänge und Zeit beschreibt, ***in Abhängigkeit vom P-Ernährungsstatus*** bestimmt (vgl. Gleichung 4.2). Bei der Ermittlung des Inflows für einen bestimmten Zeitabschnitt während der pflanzlichen Entwicklung geht man in der in Kapitel 3.4.3 beschriebenen Weise vor.

4.3.2 Versuchsbedingungen

Die Anzucht der Spinatsorten Monnopa und Tabu erfolgte in 3 Liter-Gefäßen unter freilandähnlichen Bedingungen in einer Vegetationshalle. Der verwendete Lößlehmboden aus Börry 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 AbfKlärV (ANONYM 1992) um den Faktor 1,5 überschritt.

Anschließend wurde er für 4 Monate in feuchtem Zustand (ca. 20 Gewichtsprozent Wasser) zur Einstellung eines Gleichgewichtes in der Vegetationshalle gelagert und mehrmals durchmischt. Eine Analyse des Bodensubstrates bei Versuchsende ergab die in Tabelle 4.11 aufgeführten Schwermetallgehalte.

Tabelle 4.11: *Gesamtschwermetallgehalte und die mobilen und leicht nachlieferbaren Fraktionen nach ZEIEN (1995) des Bodensubstrates Börry.*

	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 NH_4NO_3-Extrakt   [2] = 1M NH_4OAc-Extrakt

Zur Befüllung der Gefäße wurde eine Mischung aus 2,5 kg Boden und 800 g Quarzsand hergestellt und mit 400 mg Stickstoff als Ammoniumnitrat und 400 mg Kalium als Kaliumsulfat aufgedüngt. Außerdem wurde eine gestaffelte P-Düngung durchgeführt, indem bei der -P-Variante kein und bei der +P-Variante 200 mg Phosphor als Calciumhydrogenphosphat 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 ausgebracht 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 Abschätzung eines möglichen negativen Einflusses der zugesetzten Schwermetalle auf das Wachstum der Spinatsorten Monnopa und Tabu wurden diese zusätzlich auf dem Boden ohne Schwermetallapplikation für 26 Tage kultiviert, wobei die anderen Versuchsbedingungen identisch waren.

Die Gewinnung der Bodenlösungen erfolgte nach der in Kapitel 3.2.3 beschriebenen Methode, wobei neben den Bodenlösungen aus den unbepflanzten Gefäßen (Kontrolle) zur jeweiligen Ernte auch Rhizosphärenbodenlösungen gewonnen wurden. Hierzu wurden Wurzelfragmente mit anhaftendem Rhizosphärenboden selektiert und ebenfalls in Standzylinder eingefüllt. Die weiteren Arbeitsschritte zur Gewinnung der Bodenlösung blieben unverändert.

4.3.3 Ergebnisse

4.3.3.1 Trockenmassebildung, P-Gehalte der Sprosse und Wurzelmorphologie

Durch die unterschiedlich hohe P-Düngung (+P bzw. -P) zeigten sich in allen Varianten, unabhängig von Schwermetallapplikation bzw. Kultivierungsdauer, signifigante Ertragsunterschiede zwischen den P-Stufen für beide Sorten (Tabelle 4.12). Die P-Düngung führte hierbei fast zu einer Verdopplung des Trockenmasseertrages. Die Ertragsniveaus der Sorten innerhalb der P-Stufen unterschieden sich jedoch, im Gegensatz zur -P-Variante des vorhergehenden Versuches, nicht signifikant. Vergleicht man die P-Gehalte der Sprosse mit und ohne P-Düngung (Tabelle 4.12), 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 (Tabelle 4.12). Vergleichbar mit den in Kapitel 4.2 vorgestellten Ergebnissen, führte auch hier der P-Mangel zu einer Verringerung des Wurzelwachstums, die allerdings nur für die Sorte Tabu in allen Varianten signifikant war. Auch das Wurzel-Sproß-Verhältnis (WSV) stieg bei beiden Sorten unter -P-Bedingungen an. Für die Sorte Monnopa ergaben sich hierbei signifikante Unterschiede in allen Varianten, während für Tabu der Trend nicht statistisch absicherbar war. Weiterhin wies Monnopa bei vergleichbarem Trockenmasseertrag nach 40 Tagen (2. Ernte) in der P-Mangelvariante ein signifikant höheres WSV auf als Tabu.

Vergleicht man die Ergebnisse zur 1. Ernte (26 Tage) mit und ohne Schwermetall-zusatz (Tabelle 4.12), so zeigt sich, daß die Schwermetallapplikation zu einer deutlichen Hemmung des Pflanzenwachstums führte. Der Ertragsrückgang lag hierbei, abhängig von Sorte und P-Stufe, zwischen 26% und 50% im Vergleich zu der Variante ohne Schwermetallzusatz. Die Sorte Monnopa schien hierbei stärker auf die Schwermetalle zu reagieren als die Sorte Tabu. Auch bei den Wurzellängen war ein Rückgang um 37-55% festzustellen. Dem gegenüber lagen die WSV nur tendenziell niedriger. Dies gilt auch für die P-Gehalte der Spinatsprosse.

Daraus leitet sich ab, daß sich bei den Pflanzen in der Variante mit Schwermetallzusatz der Schwermetallstreß insgesamt auf das Wachstum der Pflanzen auswirkte, allerdings ohne starke Beeinträchtigungen der physiologischen Funktionen der Wurzeln zu bewirken.

Tabelle 4.12: *Sproßtrockenmassen (TM), Wurzellängen (WL), Wurzel-Sproß-Verhältnisse (WSV) und P-Gehalte in den Sprossen der Spinatsorten Monnopa und Tabu bei Anzucht im Gefäßversuch unter Freilandbedingungen und unterschiedlichem P-Ernährungszustand (+P = hoch; -P = niedrig) für 26 Tage (1. Ernte; mit und ohne Schwermetallzugabe) bzw. 40 Tage (2. Ernte) mit Schwermetallzugabe (signifikante Unterschiede der untersuchten Parameter innerhalb der Varianten sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet, Tukey$_{0,05}$).*

			TM		WL		WSV	P-Gehalt Sprosse
			[g]	[%]	[m]	[%]	[m g^{-1}]	[%]
1. Ernte -SM	+P	Monnopa	1,78 ^{b}	100	114 ^{b}	100	64 ^{a}	0,74 ^{b}
		Tabu	1,50 ^{b}	100	107 ^{b}	100	72 ^{ab}	0,77 ^{b}
	-P	Monnopa	0,87 ^{a}	100	84 ^{a}	100	100 ^{b}	0,42 ^{a}
		Tabu	0,76 ^{a}	100	72 ^{a}	100	94 ^{ab}	0,42 ^{a}
1. Ernte +SM	+P	Monnopa	0,89 ^{b}	50	51 ^{a}	45	59 ^{a}	0,70 ^{b}
		Tabu	0,91 ^{b}	61	60 ^{b}	56	66 ^{ab}	0,70 ^{b}
	-P	Monnopa	0,56 ^{a}	64	46 ^{a}	55	82 ^{b}	0,37 ^{a}
		Tabu	0,56 ^{a}	74	45 ^{a}	63	83 ^{b}	0,39 ^{a}
2. Ernte +SM	+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}

4.3.3.2 Schwermetallgehalte in den Sprossen

Durch die Schwermetallapplikation zum Boden wurden auch die Schwermetallgehalte der Spinatsprosse beeinflußt (Tabelle 4.13). In der Variante mit Schwermetallzugabe lagen die Cu-Gehalte in der Sproßtrockenmasse ca. 2 mal, die Zn-Gehalte 3-5 mal und die Cd-Gehalte 5-6 mal höher als in der Variante ohne Schwermetallzusatz.

Die Reaktion der Spinatsorten Monnopa und Tabu bezüglich der Schwermetallakkumulation in den Sprossen bei unterschiedlichem P-Niveau verlief allerdings bei den betrachteten Varianten ähnlich.

Tabelle 4.13: *Schwermetallgehalte in den Sproßtrockenmassen der Spinatsorten Monnopa und Tabu bei Anzucht für 26 Tage (1. Ernte) mit und ohne Schwermetallzugabe (signifikante Unterschiede innerhalb der Varianten sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet, Tukey$_{0,05}$).*

			Cu	Zn	Cd
				[mg kg^{-1}]	
1. Ernte -SM	+P	Monnopa	12,6 ^{ab}	71 ^{a}	1,3 ^{a}
		Tabu	12,3 ^{a}	72 ^{a}	1,4 ^{a}
	-P	Monnopa	13,7 ^{bc}	119 ^{b}	1,6 ^{b}
		Tabu	14,2 ^{c}	187 ^{c}	1,7 ^{b}
1. Ernte +SM	+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 ^{bc}
		Tabu	29,5 ^{b}	526 ^{c}	9,4 ^{c}

Nach 26 Tagen (1. Ernte), zeigten sich bei hoher P-Versorgung zwischen den Sorten Monnopa und Tabu keine signifikanten Unterschiede, unabhängig davon, ob dem Boden vorher Schwermetalle zugesetzt wurden oder nicht (Tabelle 4.13). Gleiches gilt auch für die Spinatsorten bei einer Kultivierung für 40 Tage (2. Ernte) mit Schwermetallzugabe (Abbildung 4.5).

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 (Tabelle 4.13), während ***bei der 2. Ernte neben den Zn-Gehalten auch die Cd-Gehalte der Sorte Tabu signifikant höher waren als bei der Sorte Monnopa*** (Abbildung 4.5). Damit werden die in Kapitel 4.1 und 4.2 erhaltenen Unterschiede in den Schwermetallgehalten der Sprosse zwischen den Sorten Monnopa und Tabu bestätigt.

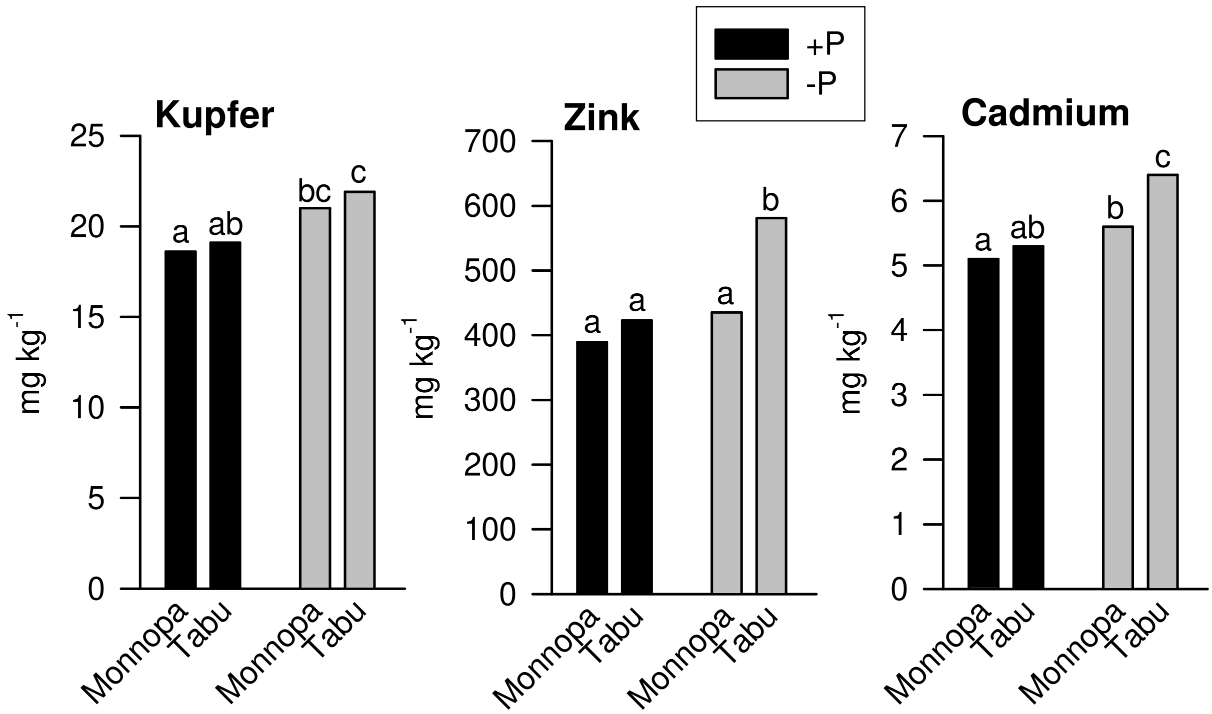


Abbildung 4.5: *Cu-, Zn- und Cd-Gehalte in den Sprossen der Spinatsorten Monnopa und Tabu nach Anzucht für 40 Tage (2. Ernte) unter Freilandbedingungen (signifikante Unterschiede in den Gehalten sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet, Tukey$_{0,05}$).*

4.3.3.3 Phosphorinflow bei unterschiedlich hohem P-Angebot

Für die Wachstumsperiode zwischen dem 26. und dem 40. Tag ergaben sich nach Gleichung 3.3 für das Nährelement Phosphor, entsprechend dem unterschiedlichen P-Angebot, bei der gedüngten Variante annähernd doppelt so hohe Gesamt- bzw. Sproßinflow-Werte wie bei der P-Mangelvariante (Abbildung 4.6).

Tabelle 4.14: *Relative Anteile der Gesamtaufnahmeraten je Wurzeleinheit (= Anteil des Sproßinflows am Gesamtinflow), die für die Element-Akkumulation im Sproß relevant sind (Elementtransfer Wurzel - Sproß).*

		Cu	Zn	Cd	P
			[%]		
+P	Monnopa	32	82	63	98
	Tabu	35	83	69	98
-P	Monnopa	31	86	73	97
	Tabu	35	86	79	97

Wie erwartet waren die Gesamt- und Sproßinflow-Werte nahezu identisch, was bedeutet, daß der von den Wurzeln aufgenommene Phosphor zu 97-98% in die Sprosse verlagert wurde (Tabelle 4.14).

Unter P-Mangel erreichte die Sorte Tabu 54% der Aufnahmeleistung der gedüngten Variante und wies so im Trend einen höheren P-Inflow auf als die Sorte Monnopa, die nur 44% der Aufnahmeleistung der +P-Variante erreichte.

Betrachtet man die Absolutwerte des Sproßinflows bei P-Mangel, der aufgrund der Problematik von Wurzelanalysen (vgl. Kapitel 3.4.1) den zuverlässigeren Wert darstellt, so zeigt sich, daß Tabu mit $4 \cdot 10^{-14}$ mol cm^{-1} s^{-1} einen fast 30% höheren P-Inflow besaß als die Sorte Monnopa ($3{,}1 \cdot 10^{-14}$ mol cm^{-1} s^{-1}). Aufgrund der Streuung der Meßwiederholungen und der Einbeziehung verschiedener Meßgrößen in die Berechnung des Inflows läßt sich dieser Unterschied jedoch nicht statistisch absichern.

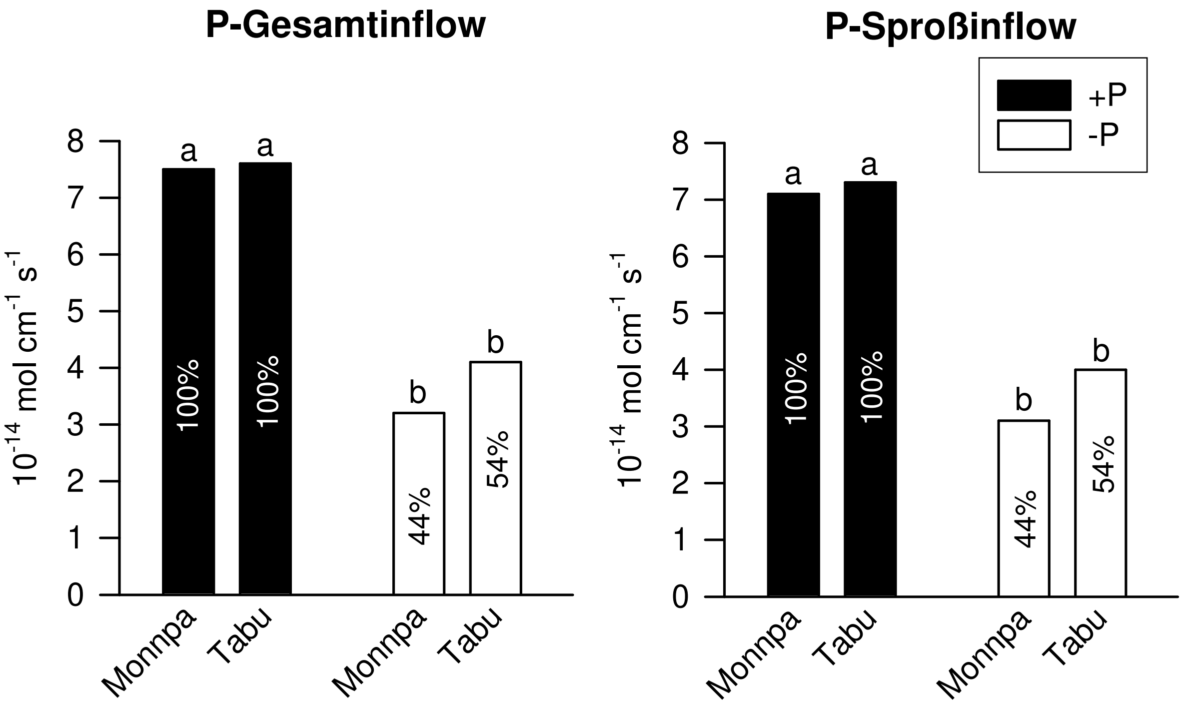


Abbildung 4.6: *Gesamt- und Sproßinflow-Werte des Nährelementes Phosphor zwischen dem 26. und dem 40. Tag der Wachstumsperiode (signifikante Unterschiede sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet, Tukey$_{0,05}$).*

4.3.3.4 Schwermetallinflow in Abhängigkeit von der P-Ernährung

In Abbildung 4.7 sind die Werte des Gesamtinflows und des Sproßinflows der 3 Schwermetalle zwischen dem 26. und 40. Vegetationstag in Abhängigkeit von der P-Ernährung dargestellt. Tabelle 4.14 gibt den relativen Anteil des Sproßinflows am Gesamtinflow wieder. Damit läßt sich eine Aussage über den Anteil der Schwermetalle treffen, der von den Wurzeln aufgenommen und in den Sproß verlagert wurde.

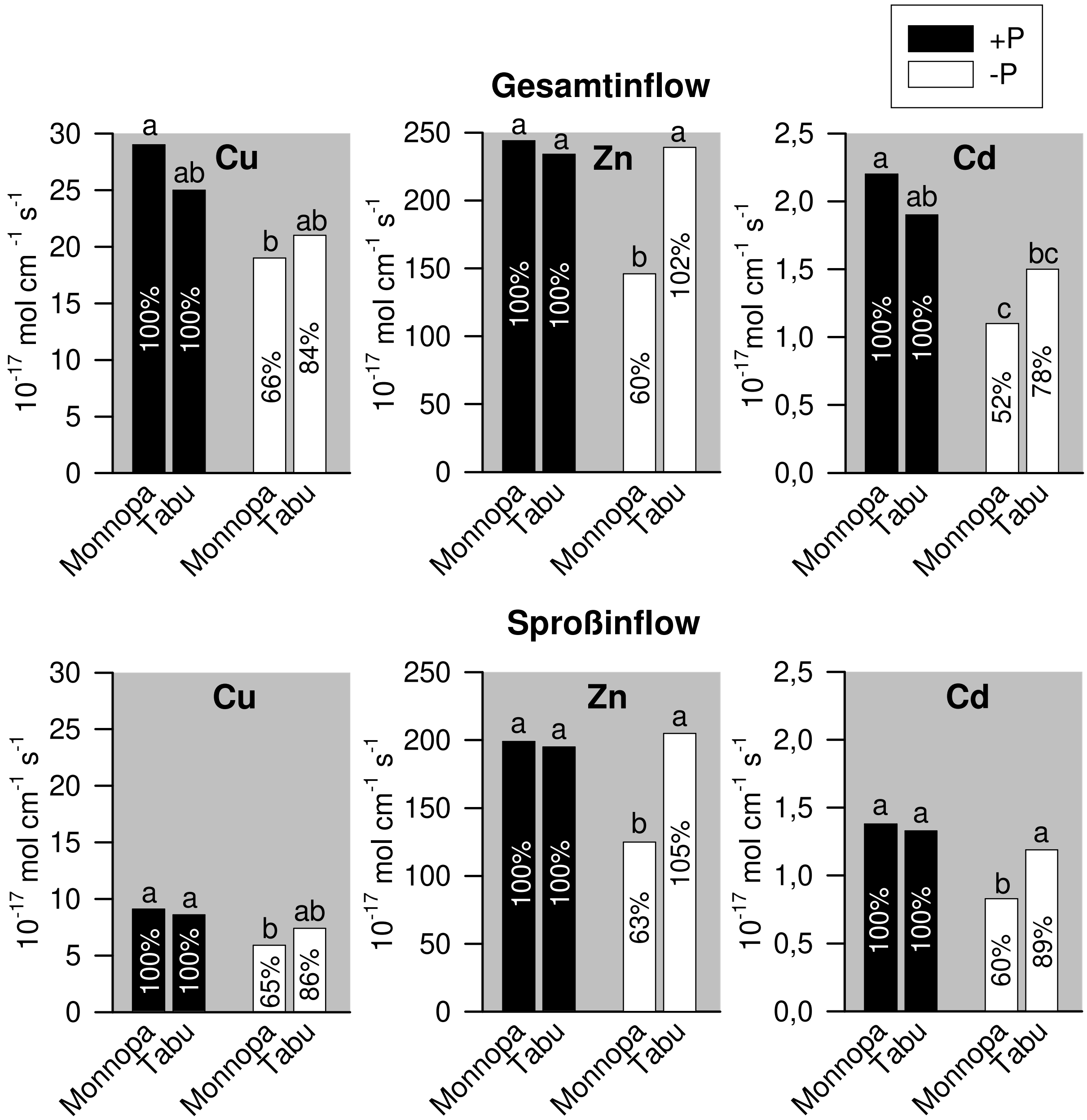


Abbildung 4.7: *Gesamt- und Sproßinflow-Werte der Schwermetalle Cu, Zn und Cd zwischen dem 26. und dem 40. Tag der Wachstumsperiode bei unterschiedlichem P-Ernährungszustand (signifikante Unterschiede sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet, Tukey$_{0,05}$).*

Während dies bei P 97-98% waren (Tabelle 4.14), lagen die Werte zwischen 31% und 35% bei Cu, 82% und 86% bei Zn sowie 63% und 79% bei Cd. 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. ***Bei P-Mangel war bei Cu keine, bei Zn und Cd aber eine Erhöhung der Verlagerungsrate um 3%- bzw. 10%- Punkte festzustellen***. Die Sorte Tabu wies außerdem, unabhängig von der P-Ernährung, etwas höhere Verlagerungsraten für Cu und Cd auf als die Sorte Monnopa.

Vergleicht man die 2 Sorten bezüglich ihrer Gesamt- bzw. Sproßinflows, so zeigt sich, daß bei ausreichender P-Ernährung weder für Cu, noch für Zn oder Cd signifikante Differenzen gefunden werden konnten. ***Bei niedriger P-Versorgung waren die Cu-, Zn- und Cd-Inflows bei der Sorte Tabu immer höher als bei Monnopa***, wobei sie sich beim Sproßinflow für Zn und Cd signifikant voneinander unterschieden.

Betrachtet man die Änderung des Schwermetallinflows bei den Sorten infolge der unterschiedlichen P-Düngung, so zeigten sich deutliche Sortenunterschiede. Bei Monnopa lagen die Inflow-Werte in der P-Mangelvariante für alle 3 Elemente signifikant unter denen der +P-Variante. Bei Tabu konnte man dagegen in der P-Mangelvariante für Zn gleiche Inflow-Werte finden wie in der +P-Variante. Die Cu- und Cd-Inflows lagen zwar auch bei Tabu in der Mangelvariante etwas niedriger als in der 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 3 Schwermetalle signifikant reduzierte. Dagegen realisierte die Sorte Tabu offenbar unabhängig von der P-Ernährung nahezu gleich hohe Gesamt- und Sproßinflow-Werte für alle 3 Elemente.

4.3.3.5 Phosphorkonzentrationen und pH-Werte der Rhizosphärenbodenlösungen

Durch das Wachstum der Spinatpflanzen wurde der Boden in unmittelbarer Umgebung der Wurzeln (Rhizosphäre) beeinflußt. Abbildung 4.8 zeigt, daß die pH-Werte der Rhizosphärenbodenlösungen beider Sorten im Vergleich zur unbepflanzten Kontrolle signifikant anstiegen. Dies gilt für beide Düngevarianten, wobei zwischen den Spinatsorten keine großen Unterschiede festzustellen waren.

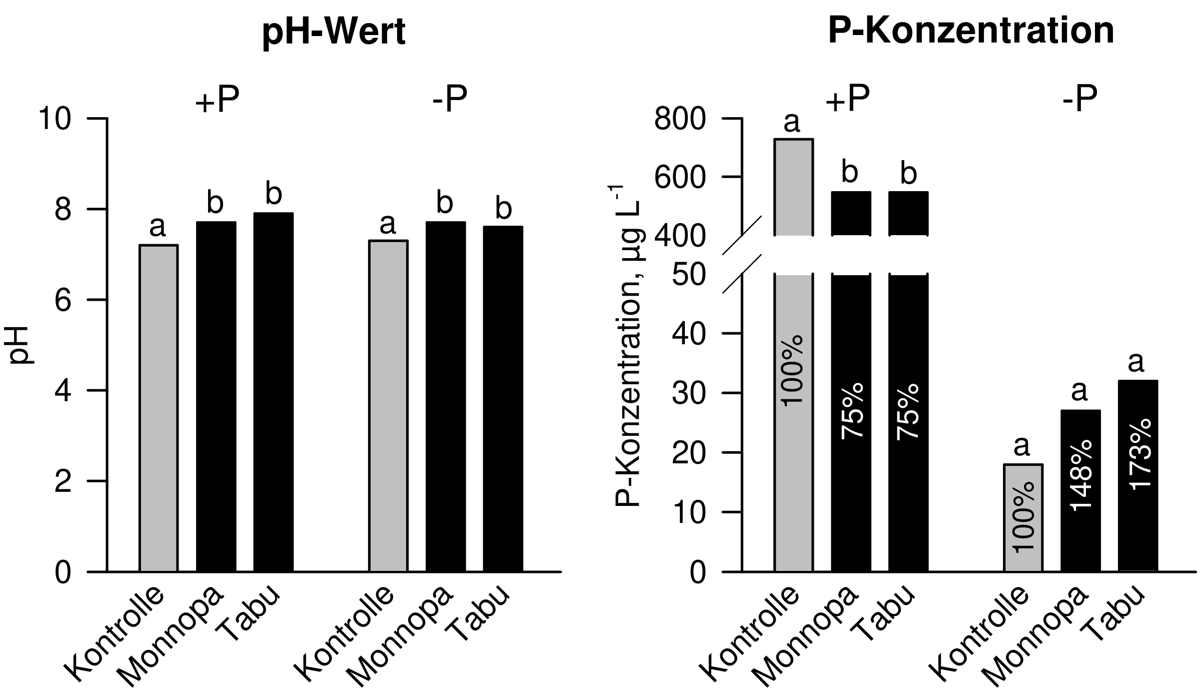


Abbildung 4.8: *pH-Werte und P-Konzentrationen in den aus der Rhizosphäre der Spinatsorten Monnopa und Tabu gewonnenen Bodenlösungen (Rhizosphärenbodenlösung) nach Anzucht für 40 Tage unter Freilandbedingungen im Vergleich zur Bodenlösung aus der unbepflanzten Kontrolle (signifikante Unterschiede sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet, Tukey$_{0,05}$).*

Neben Unterschieden in den pH-Werten konnten auch Veränderungen in den Phosphorkonzentrationen in Wurzelnähe festgestellt werden (Abbildung 4.8). Aufgrund der gestaffelten P-Düngung unterschieden sich die Bodenlösungskonzentrationen der beiden Varianten allerdings etwa um Faktor 20-40. In der mit P gedüngten Variante lagen die P-Konzentrationen der Rhizosphärenbodenlösungen gegenüber der Kontrolle ohne Pflanzen um 25% niedriger, wofür der P-Entzug durch die Pflanzen verantwortlich war. Beide Sorten zeigten hierbei gleiches Verhalten. In der P-Mangelvariante lag die P-Konzentration der Rhizosphärenbodenlösung der

Sorte Tabu mit 32 µg L^{-1} etwas höher als bei Monnopa (27 µg L^{-1}). Gegenüber der Kontrolle war aber bei beiden Sorten (Monnopa 148%; Tabu 173%) ein deutlicher Anstieg der P-Konzentration festzustellen. Erwartet wurde allerdings infolge der P-Aufnahme eine Abnahme der P-Konzentration in der Bodenlösung. Erklärbar wird dieses Phänomen durch eine P-Mobilisierung infolge der Wechselwirkung von Boden und Wurzel, auf die in den folgenden Kapiteln näher eingegeangen wird. Da sich die P-Konzentrationen der Mangelvariante allerdings im Nachweisbereich bewegten, konnten die Unterschiede nicht statistisch abgesichert werden und können so nur auf Trends hinweisen.

4.3.3.6 Schwermetallkonzentrationen in den Rhizosphärenbodenlösungen

Neben Änderungen der pH-Werte und der P-Konzentrationen zeigten sich insbesondere auch Unterschiede in den Schwermetallkonzentrationen der Bodenlösungen.

In den Rhizosphärenbodenlösungen von Monnopa und Tabu konnte man gegenüber der Kontrolle signifikant höhere Cu-Konzentrationen in beiden Düngevarianten finden. Die Konzentrationen lagen in der +P-Variante für beide Sorten mit 105 µg L^{-1} (Monnopa) bzw. 106 µg L^{-1} (Tabu) gleich hoch. ***In der P-Mangelvariante lag die Cu-Konzentration der Rhizosphärenbodenlösung bei Tabu jedoch signifikant über der von Monnopa.***

Auch bei Zn konnten in der gedüngten Variante keine signifikanten Unterschiede zwischen den Rhizosphärenbodenlösungen der beiden Sorten gefunden werden. Gegenüber der Kontrolle lagen die Werte aber im Gegensatz zum Kupfer signifikant niedriger. ***In der P-Mangelvariante lag die Zn-Konzentration der Rhizosphärenbodenlösung von Tabu dagegen signifikant höher als bei Monnopa*** und unterschied sich auch signifikant von der Kontrolle. Monnopa und 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 der von Zn. ***Die Cd-Konzentration in der Rhizosphärenbodenlösung von Monnopa unterschied sich nicht von der Kontrolle, während diese bei Tabu fast doppelt so hoch war.***

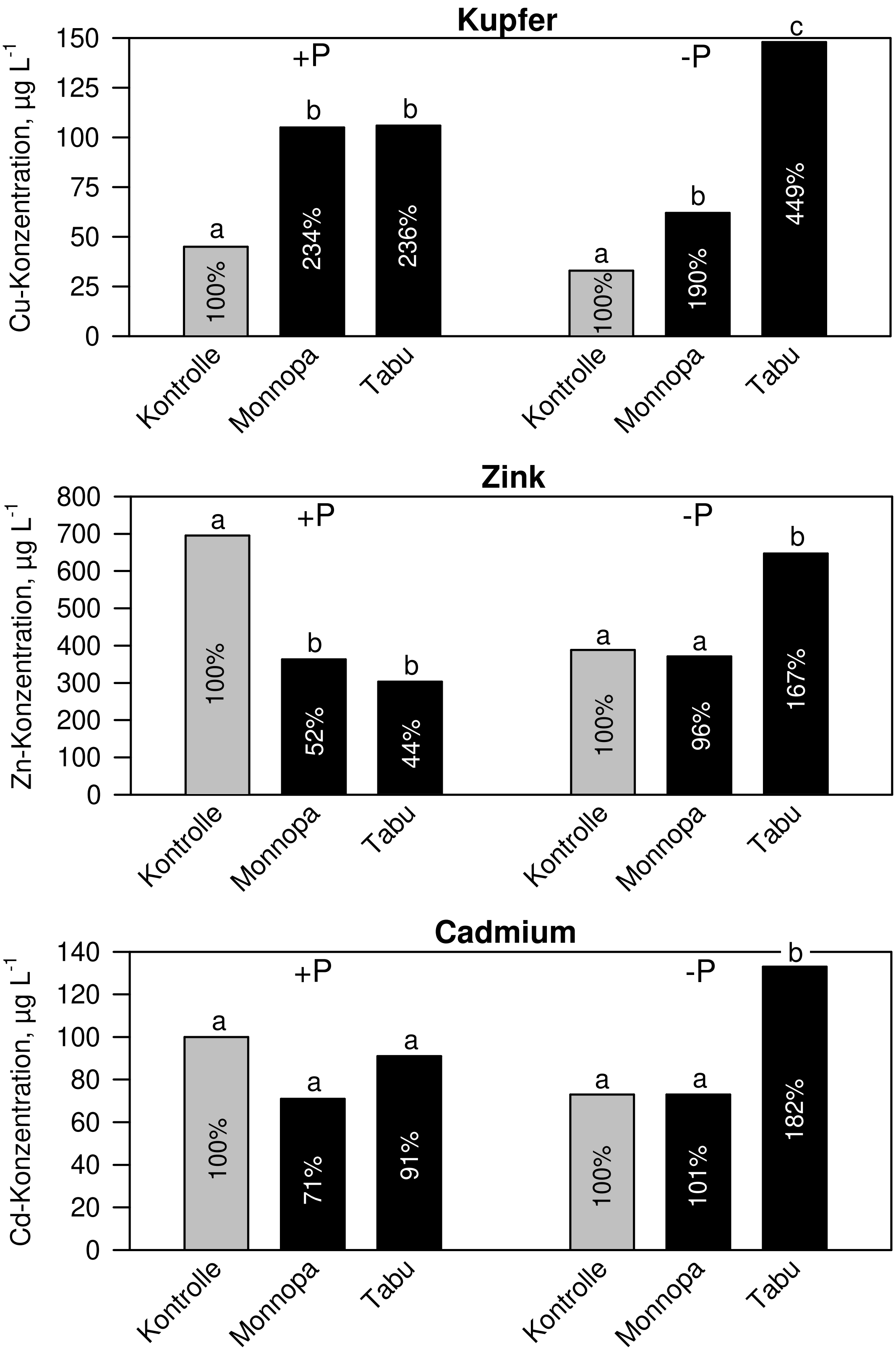


Abbildung 4.9: *Cu-, Zn- und Cd-Konzentrationen in den Rhizosphärenbodenlösungen des mit Schwermetallen versetzten Bodens nach Anzucht der Spinatpflanzen für 40 Tage im Vergleich zur Bodenlösung aus der unbepflanzten Kontrolle (signifikante Unterschiede sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet, Tukey$_{0,05}$).*

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 Tabu allerdings für Cu, Zn und Cd signifikant höher als bei Monnopa.***

4.3.3.7 Abschätzung des Anteils des Massenflusses am Gesamtinflow

Die Aufnahme der Nährstoffe aber auch der Schadelemente wie Cd aus dem Boden erfolgte aus der Bodenlösung, dem Bindeglied zwischen Wurzel und Boden. Für den Antransport der Elemente zur Wurzeloberfläche kommen sowohl Massenfluß als auch Diffusion in Betracht. Nach den Vorstellungen von CLAASSEN (1990) wird durch die Wasseraufnahme der Pflanze die Bodenlösung infolge einer Sogwirkung in Richtung Wurzel verlagert und mit ihr auch die gelösten Nähr- und Schadstoffe, die darin enthalten sind. Dieser Nähr- und Schadstoffstrom wird als Massenfluß bezeichnet. Die Mengen an Nähr- bzw. Schadelementen, die damit antransportiert werden, können gleich, niedriger oder höher als die Aufnahmerate der Wurzeln sein. Zur Abschätzung des Massenflusses für die Elemente P, Cu, Zn und Cd wird von folgender Formel ausgegangen:

Gleichung 4.3: $F_M = c_L \bullet v_0$

F_M ist der Massenfluß, c_L die Konzentration der Elemente in der Bodenlösung und v_0 der Wasserinflow. Der Wasserinflow berechnet sich analog dem Elementinflow (vgl. Gleichung 3.3), wobei der Elemententzug durch die aufgenommene Wassermenge zwischen 1. und 2. Ernte zu ersetzen ist.

Da im Versuch die Transpiration, also der Wasserverbrauch nicht exakt ermittelt wurde, kann hier nur eine grobe Abschätzung vorgenommen werden. Erfahrungswerte aus verschiedenen Gefäßversuchen mit Spinat zeigten allerdings, daß der Wasserverbrauch je nach Alter und Düngungsstufe zwischen 60 ml und 200 ml pro Gefäß und Tag lag. Da zwischen den Spinatsorten keine großen Unterschiede in den Transpirationsraten zu erwarten waren, wurden für die -P-Variante bei beiden Sorten ein mittlerer Wasserverbrauch von 80 ml pro Tag und in der +P-Variante, aufgrund der höheren Sproßmassen, 160 ml pro Tag angenommen.

Tabelle 4.15: *Abschätzung des Anteils des Massenflusses der Elemente Cu, Zn, Cd und P am Gesamtinflow bei den Spinatsorten Monnopa und Tabu zwischen dem 26. und dem 40. Tag der Wachstumsperiode bei unterschiedlichem P-Ernährungszustand (angenommene Transpiration: +P = 160 ml d^{-1}; -P = 80 ml d^{-1}).*

		Massenfluß				Anteil des Massenflusses am Gesamtinflow			
		Cu	Zn	Cd	P	Cu	Zn	Cd	P
		[10^{-17} mol cm^{-1} s^{-1}]				[%]			
+P	Monnopa	9,8	147	12	325	34	60	545	4,5
	Tabu	7,7	115	9,6	253	31	49	505	3,3
-P	Monnopa	3,8	44	4,8	4,3	20	30	436	0,1
	Tabu	4,1	47	5,2	4,6	20	20	347	0,1

Tabelle 4.15 zeigt, daß der Massenfluß auf diesem Boden für die Elemente Cu, Zn und P nicht ausreichte, um den Antransport der Elemente zur Wurzeloberfläche und damit den hohen Gesamtinflow zu erklären. Der größere Anteil wurde offenbar durch Diffusion antransportiert. Bei Cd lag der Massenfluß allerdings um das 3,5- 5,5-fache höher als die ermittelte Aufnahmerate. Dies sollte zu einer Anreicherung von Cd in der Rhizosphäre führen. Die Anteile des Massenflusses am Gesamtinflow lagen für alle Elemente in der gedüngten (+P) Variante höher als in der P-Mangelvariante. Beim Vergleich der Sorten zeigte sich ebenfalls, daß der Massenfluß für den Gesamtinflow bei Monnopa eine größere Bedeutung hatte als für Tabu.

4.3.4 Diskussion

Bei niedrigem P-Angebot wies die Sorte Tabu bei Cu tendenziell, bei Zn und Cd aber signifikant höhere Elementgehalte in den Sprossen auf als die Sorte Monnopa. Dieses zentrale Ergebnis ist offenbar auf genotypische Ursachen zurückzuführen, die nun diskutiert werden sollen.

Die Elementgehalte im Sproß sind dabei das Resultat des Zusammenwirkens verschiedener Einflußgrößen, wobei der Wurzel als aufnehmendes Organ eine zentrale Stellung zukommt.

Neben dem bereits angesprochenen Wurzel-Sproß-Verhältnis (WSV), spielt die Aufnahmeleistung des Wurzelsystems eine große Rolle. JUNGK UND CLAASSEN (1989) fassen die Pflanzeneigenschaften, die für den Übergang von Nährstoffen aus dem

Boden in die Pflanze von Bedeutung sind, unter dem Begriff Nährstoffaneignungsvermögen zusammen. Darunter verstehen sie Parameter der Wurzelmorphologie (z.B. Wurzellänge und WSV) und der Kinetik der Nährstoffaufnahme in die Wurzel, die mit der Michaelis-Menten-Enzymkinetik beschrieben wird (I_{max} = maximale Aufnahmerate, K_m = Michaelis Konstante und c_{Lmin} = minimale Elementkonzentration, bei der die Nettoaufnahme gleich Null ist).

Die Konzentrationen der Elemente in der Rhizosphärenbodenlösung, die für die Aufnahme entscheidend sind, hängen von der Nährstoffverfügbarkeit im Boden ab (CLAASSEN 1990). Darunter sind physikochemische Eigenschaften des Bodens, die Pufferung* der Nährstoffe und der Nährstofftransport zur Wurzel über Massenfluß und Diffusion zu verstehen. Außerdem können Wechselwirkungen zwischen Wurzel und Rhizosphäre eine Rolle spielen. So sind beispielsweise erhöhte Ausscheidungen organischer Moleküle und Protonen von Pflanzen unter P-Mangel bekannt, die neben der Löslichkeit von P auch die von Schwermetallen erhöhen können (ZHANG ET AL. 1991; MEYER ET AL. 1994a; MEYER ET AL. 1994b).

Ein weiterer Faktor, der die Sproßgehalte beeinflussen kann, ist die Translokation aufgenommener Nähr- und Schadelemente in den Sproß. So finden sich Hinweise, daß durch Phosphat eine verstärkte Schwermetallbindung in den Wurzeln erfolgt (LANGIN ET AL. 1962; TRIER ET AL. 1974). Unter P-Mangel wäre somit eine stärkere Verlagerung der Schwermetalle in den Sproß zu erwarten.

Es soll nun versucht werden zu klären, inwieweit sich die Elementgehalte in den Sprossen der zwei Spinatsorten, insbesondere bei P-Mangel, aus den Inflow-Werten, den WSV und den Bodenlösungskonzentrationen ableiten lassen.

Phosphor:

Aus Tabelle 4.12 geht hervor, daß die Spinatsorten Monnopa und Tabu bei ausreichender P-Ernährung ein ähnliches Sproßmassenwachstum besaßen und sich auch in den P-Gehalten der Sprosse nicht signifikant voneinander unterschieden. In der 2. Ernte lagen für die Sorte Tabu allerdings die Erträge und die P-Gehalte der Sprosse tendenziell höher als bei der Sorte Monnopa. Gleiches gilt auch für das WSV, das bei Tabu etwas höher war als bei Monnopa.

$$^{*}\ Pufferung\ (b) = \frac{dc}{dc_L} = \frac{\text{Änderung der Konzentration des diffusiblen Elementes im Boden}}{\text{Änderung der Konzentration des Elementes in der flüssigen Phase}} \left[\frac{mol\ cm^{-3}\ Boden}{mol\ cm^{-3}\ Lösung}\right]$$

Durch die P-Düngung zu Versuchsbeginn lag in dieser Variante eine hohe P-Verfügbarkeit vor, was sich auch an der sehr hohen Bodenlösungskonzentration der unbepflanzten Kontrolle (728 µg P L^{-1}) ablesen läßt (Abbildung 4.8). Durch die P-Aufnahme der Spinatwurzeln kam es bei beiden Sorten zu einer Absenkung der P-Konzentration in Rhizosphärenbodenlösung um ca. 25%. Aus Tabelle 4.15 geht weiterhin hervor, daß für den Antransport von Phosphat zur Wurzel der Massenfluß nur eine untergeordnete Rolle spielte. Der Antransport über Diffusion, verursacht durch das Konzentrationsgefälle zwischen Rhizosphäre und Wurzeloberfläche war somit entscheidend. Zieht man zu dieser Betrachtung die P-Inflow-Werte heran (Abbildung 4.6), so zeigen sich in der +P-Variante ebenfalls keine Unterschiede zwischen den Sorten. Da sich aus gleichen P-Konzentrationen an der Wurzel auch vergleichbare P-Aufnahmeraten ergeben, kann geschlossen werden, daß auch die P-Aufnahmeleistung der Wurzeln beider Sorten ähnlich war.

Daraus folgt, daß bei hoher P-Versorgung der etwas höhere P-Gehalt der Sorte Tabu im Wesentlichen auf das etwas höhere WSV zurückzuführen ist.

In der -P-Variante zeigten sich dagegen andere Verhältnisse. Durch den P-Mangel sind neben den TM-Erträgen auch die P-Gehalte der Sprosse abgesunken (Tabelle 4.12). Die geringe P-Verfügbarkeit läßt sich dabei an der niedrigen P-Konzentration (18 µg P L^{-1}) in der Bodenlösung der unbepflanzten Kontrolle ablesen (Abbildung 4.8). Tabu zeigte auch hier, wie in der +P-Variante, tendenziell höhere Sproßmasseerträge und höhere P-Gehalte in den Sprossen als Monnopa (Tabelle 4.12), die sich aber nicht statistisch absichern lassen. Allerdings führte die Änderung des WSV infolge des P-Mangels zu signifikanten Sortenunterschieden. Während sich für Tabu das WSV nur wenig änderte, stieg es bei Monnopa stark an. Monnopa verfügte somit über ein größeres Wurzelsystem zur Ernährung des Sprosses als Tabu, und müsste nach der bei der +P-Variante erfolgten Argumentation auch über höhere P-Gehalte und eventuell höhere TM-Erträge verfügt haben als Tabu. Da dies aber nicht zutraf, liegt die Vermutung nahe, daß bei P-Mangel neben morphologischen auch physiologische Faktoren, die die Elementverfügbarkeit beeinflussen, relevant sein müssen.

Gegenüber der Kontrolle stiegen die P-Konzentrationen (Abbildung 4.8) in der Rhizosphärenbodenlösung von Tabu (173%) stärker an als bei Monnopa (148%). Die Erhöhung der P-Konzentration in der Rhizosphäre von Tabu führte zu einer Erhöhung des Konzentrationsgradienten und damit zu einem höheren diffusiven P-

Transport zur Wurzel, die dadurch eine höhere Aufnahmeleistung erreichen konnte. Der tendenziell höhere P-Inflow bei Tabu gegenüber der Sorte Monnopa (Abbildung 4.6) bestätigt diese Vermutung.

Da diese Überlegungen auch gut mit dem gefundenen Sproßmassenwachstum und den P-Gehalten der Sprosse korrespondieren, läßt sich schlußfolgern, daß den physiologischen Aufnahmemechanismen bei P-Mangel größere Bedeutung zukommt als den morphologischen Wurzeleigenschaften.

Als Erklärung für die Erhöhung der P-Konzentrationen in den Rhizosphären-bodenlösungen können die Ergebnisse von GARDNER ET AL. (1983) und GERKE ET AL. (1994) dienen, die festgestellt haben, daß Pflanzen unter P-Mangel organische Säuren ausscheiden, die die Phosphatlöslichkeit im wesentlichen durch Ligandenausstausch in der Rhizosphäre erhöhen. Denkbar ist somit, daß die unterschiedlichen P-Gehalte in der Rhizosphärenbodenlösung von Monnopa und Tabu durch Unterschiede bei der Wurzelexsudation verursacht sein können. Folgerichtig wäre also der höhere P-Inflow der Sorte Tabu auf eine höhere P-Mobilisierung im Rhizosphärenboden zurückzuführen.

Zur Beschreibung der P-Aufnahme wurde von CLAASSEN (1990) ein mechanistisches Modell entwickelt, das die Nährstoffaufnahme unter Berücksichtigung der oben genannten Faktoren (ohne chemische Mobilisierung) berechnet. Bei relativ hohen P-Gehalten in der Bodenlösung liefert das Modell eine gute Beschreibung der P-Aufnahme. Bei niedrigen Bodenlösungskonzentrationen führen die Ergebnisse aber zu einer Unterbewertung der P-Aufnahme. Dies steht im Einklang mit den oben diskutierten Ergebnissen. Während in der +P-Variante das WSV ausreichend war, um die P-Aufnahme zu beschreiben, kommt es bei P-Mangel ohne Einbeziehung weiterer, physiologischer Parameter zu einer Fehleinschätzung. SCHENK UND BARBER (1980) und SILBERBUSH UND BARBER (1984) kamen zu ähnlichen Ergebnissen. Die Autoren vermuten, daß der chemischen Mobilisierung von Phosphat unter P-Mangel in Bezug auf das P-Aneignungsvermögen von Pflanzen eine große Bedeutung zukommt. Die Ergebnisse lassen vermuten, daß es pflanzenarten- und sortentypische Differenzen gibt, die näher untersucht werden müssen.

<u>Schwermetalle:</u>

Betrachtet man die Cu-, Zn- und Cd-Gehalte in den Sprossen der Spinatsorten Monnopa und Tabu (Abbildung 4.5), so zeigen sich bei ausreichender P-Versorgung keine signifikanten Unterschiede zwischen den Sorten. Dies steht im Einklang mit den vergleichbaren WSV beider Sorten (Tabelle 4.12). Bei P-Mangel vergrößerte sich das WSV bei beiden Sorten und führte so auch zu einem meist signifikanten Anstieg der Schwermetallgehalte in den Sprossen von Monnopa und Tabu. Diese Ergebnisse stimmen mit denen aus Kapitel 4.2 überein, wo bereits gezeigt wurde, daß mit einem höheren WSV auch eine eine Erhöhung der Schwermetallgehalte in den Sprossen zu erwarten ist. Unter P-Mangel unterschieden sich aber auch die Spinatsorten in ihren Schwermetallgehalten. Tabu zeigte bei Cu tendenziell, bei Zn und Cd aber signifikant höhere Gehalte in den Sprossen als die Sorte Monnopa. Über das WSV lassen sich die Unterschiede nicht erklären, da Tabu über ein signifikant kleineres WSV verfügte als Monnopa. In Kapitel 4.2 führte die Prognose der Schwermetallgehalte über die Größe des WSV bei Tabu ebenfalls zu einer Unterbewertung, während es bei Monnopa zu einer Überbewertung der Schwermetallgehalte in den Sprossen kam.

Wie beim Phosphat scheinen bei den Pflanzen neben den morphologischen Wurzeleigenschaften, insbesondere unter P-Mangel, auch physiologische Parameter (Exsudation P-mobilisierender Substanzen) eine große Rolle für die Schwermetallverfügbarkeit zu spielen. So fanden GERKE ET AL. (1994) unter Lupinen bei niedriger P-Verfügbarkeit eine deutlich erhöhte Löslichkeit von Fe und Al. Ähnliches könnte auch bei den hier untersuchten Elementen zutreffen. Da sich die Elemente Cu, Zn und Cd aufgrund ihrer physikochemischen Eigenschaften, die sich auch auf die Bewertung der Aufnahmeparameter auswirken könnten, stark voneinander unterscheiden (vgl. Kapitel 4.1.3.2), werden sie im Folgenden getrennt behandelt.

<u>Kupfer:</u>

Anders als beim Phosphor, kam es bei Cu in der ***ausreichend mit P gedüngten Variante*** bei beiden Sorten zu einem ähnlich hohen Anstieg (ca. 235%) der Cu-Konzentrationen in den Rhizosphärenbodenlösungen gegenüber der Kontrolle (Abbildung 4.9). Nach CLAASSEN (1990) ist ein Anstieg der Konzentration eines Elementes in der Rhizosphäre denkbar, wenn die durch Massenfluß antransportierte Menge höher ist als die Aufnahme durch die Wurzel. Dies trifft meist für die Elemente Ca und Mg zu. Tabelle 4.15 zeigt aber, daß sich nur 31-34% des Cu-Gesamtinflows über den Massenfluß erklären lassen, und somit die Aufnahmeleistung der Wurzel höher war als der Antransport. Da es aber nicht zu einer Verarmung, sondern zu einer Erhöhung der Cu-Konzentration in der

Rhizosphäre gekommen ist, müssen dafür Faktoren, die die Cu-Löslichkeit erhöhen, verantwortlich sein.

Abbildung 4.8 zeigt, daß der pH-Wert in der Rhizosphäre von pH 7,2 auf pH 7,7 bei Monnopa und pH 7,9 bei Tabu anstieg. In Kapitel 4.1.3.2 wurde diskutiert, daß dies zu einer Erhöhung der Huminstofflöslichkeit führt, die aufgrund ihrer komplexierenden Wirkung die Löslichkeit von Cu erhöht (RITCHIE UND POSNER 1982). Weiterhin ist bekannt, daß Pflanzen auch bei ausreichender P-Ernährung Exsudate unterschiedlicher Zusammensetzung abgeben (BEIßNER 1997; GRANSEE ET AL. 1998; EGLE ET AL. 1999). Da diese Wurzelausscheidungsprodukte zum Teil aus organischen Verbindungen, insbesondere auch aus organischen Säuren bestehen können, wird die Rhizosphäre zusätzlich mit Komplexbildnern angereichert.

Die Erhöhung der Cu-Konzentration in der Rhizosphäre bewirkt so eine Erhöhung des Konzentrationsgradienten, wodurch der diffusive Antransport von Cu zur Wurzeloberfläche erhöht wird. Unklar ist allerdings, in wieweit die komplexierten Cu-Ionen von der Wurzel genutzt werden können. BURGHARDT (1992) findet jedenfalls, daß Huminstoffe die Pflanzenverfügbarkeit von Schwermetallen, insbesondere von Cu herabsetzen können. Da die Erhöhung der Cu-Konzentrationen aber für beide Sorten ähnlich war, zeigten sich auch bei den Cu-Inflow-Werten (Abbildung 4.7) bei ausreichender P-Versorgung keine signifikanten Sortendifferenzen.

Auch ***in der P-Mangelvariante*** fanden sich höhere Cu-Konzentrationen in der Rhizosphärenbodenlösung als in der Kontrolle, wobei sich hier aber auch signifikante Unterschiede zwischen den Spinatsorten zeigten (Abbildung 4.9). Da die pH-Werte der Bodenlösungen annähernd gleich waren und die über Massenfluß antransportierten Anteile des Gesamtinflows (20%) bei beiden Sorten vergleichbar und relativ niedrig waren (Tabelle 4.15), waren Unterschiede in der Menge oder der Zusammensetzung der Exsudate zu vermuten. Da sich die signifikant höheren Bodenlösungskonzentrationen bei Tabu gegenüber Monnopa nur in einem leicht erhöhten Cu-Gesamtinflow widerspiegelten (Abbildung 4.7), liegt die Vermutung nahe, daß durch die Komplexierung von Cu-Ionen, die Aktivität des Cu^{2+} in der Lösung herabgesetzt wurde. Nach WELCH ET AL. (1993) erfolgt bei zweikeimblättrigen Pflanzenarten die Cu-Aufnahme als Cu^{2+}. Deshalb ist es denkbar, daß die komplexierten Ionen zwar leicht zur Wurzel transportiert wurden, aber nicht oder nur schwer aufgenommen werden konnten. Trotzdem schien der leicht erhöhte Cu-Inflow bei Tabu gegenüber Monnopa auszureichen, um die Unterschiede im WSV auszugleichen, denn die Gehalte in den Sprossen unterschieden sich nicht signifikant.

Zink:

Anders als das Cu verhielt sich das Zn. In der ***ausreichend mit P-gedüngten Variante*** kam es, ähnlich dem Phosphat, zu einer ähnlich starken Erniedrigung der Zn-Konzentration in der Rhizosphärenbodenlösung bei beiden Sorten gegenüber der unbepflanzten Kontrolle (Abbildung 4.9). Da sich bei Tabu nur 49% und bei Monnopa 60% des Gesamtinflows vom Massenfluß ableiten lassen (Tabelle 4.15), scheint der Antransport von Zn zur Wurzeloberfläche somit stark durch Diffusionsprozesse beeinflußt.
CHAIRIDCHAI UND RITCHIE (1990) weisen darauf hin, daß auch die Zn-Löslichkeit bei Anwesenheit von organischen Komplexbildnern, wie sie bei Cu diskutiert wurden, ansteigen kann, wenn auch die Affinität von Zn zu den Komplexbildnern weitaus geringer ist als bei Cu. Der Komplexierung durch organische Verbindungen in der Rhizosphäre wirkt aber der Anstieg des pH in der Bodenlösung entgegen, durch den die Adsorption von Zn an den Tonmineralen erhöht wird. Insgesamt ist so mit einer Erniedrigung der Zn-Konzentration in der Rhizosphäre durch den Einfluß der Pflanzen zu rechnen.
Wie bei P und Cu bereits gezeigt, unterschieden sich als Folge der ähnlichen Zn-Konzentrationen in den Rhizosphärenbodenlösungen auch die Werte für den Gesamtinflow beider Sorten nicht signifikant (Abbildung 4.7), woraus sich bei ähnlichem WSV auch vergleichbare Sproßgehalte in beiden Sorten ergaben.
Bei ***P-Mangel*** waren die Verhältnisse anders. Zunächst fällt auf, daß die Zn-Konzentration des Kontrollbodens nur ca. 50% des Wertes der +P-Variante betrug. Auch bei Cu und Cd lagen die Werte in den -P-Kontrollen etwas niedriger als bei den +P-Kontrollen. Die Ursachen dafür sind nicht ganz klar. Zunächst wäre daran zu denken, daß durch die P-Düngung mit Calciumhydrogenphosphat der pH-Wert des Bodens etwas abgesenkt und damit die Löslichkeit angestiegen ist. Die pH-Werte in beiden Kontrollen sind aber nahezu identisch (Abbildung 4.8).
Auch ***bei P-Mangel*** erfolgte der größte Teil des Antransportes von Zn zur Wurzel über Diffusion. Aus Abbildung 4.9 wird aber deutlich, daß sich bei beiden Sorten im Vergleich zur P-gedüngten Variante die Löslichkeit von Zn, relativ zur unbepflanzten Kontrolle anders verhielt. Während bei Monnopa die Zn-Konzentration vergleichar hoch wie in der Kontrolle war, stieg sie bei Tabu sogar signifikant an. Da bei beiden

Sorten der pH-Wert in der Rhizosphärenbodenlösung gegenüber der Kontrolle anstieg, wodurch eher mit einer Festlegung von Zn durch Adsorption an den Tonmineralen zu rechnen gewesen wäre, liegt die Vermutung nah, daß die Erhöhung der Löslichkeit durch organische Komplexbildner, vermutlich aus Wurzelexsudaten, erfolgte.

Die signifikanten Unterschiede in den Zn-Konzentrationen der Rhizosphärenbodenlösung korrespondieren auch mit den Gesamtinflow-Werten, die bei Tabu signifikant höher lagen als bei Monnopa. So kann vermutet werden, daß Tabu eventuell bei P-Mangel die Löslichkeit von Zn in der Rhizosphäre stärker erhöhen konnte als Monnopa und damit auch höhere Aufnahmeraten erreichte.

Cadmium:

Das Cd ist in seinem bodenchemischen Verhalten mit dem Zn zu vergleichen, wobei es noch mobiler ist als das Zn und eine noch geringere Tendenz zur Komplexbildung besitzt.

In der ***+P-Variante*** lagen die Konzentrationen in den Rhizosphärenbodenlösungen beider Sorten nur geringfügig niedriger als bei der Kontrolle (Abbildung 4.9). Nach Tabelle 4.15 müßte es aber zu einer starken Anreicherung von Cd in der Rhizosphäre kommen, da mehr als das 5-fache an Cd über den Massenfluß antransportiert wurde, als die Wurzel tatsächlich aufnahm. Es mußte also eine Immobilisierung von Cd in der Rhizosphäre oder dem rhizosphärennahen Raum erfolgt sein. Neben dem Anstieg des pH-Wertes (Abbildung 4.8) können die Ursachen auch in Änderungen der Adsorptonsverhältnisse in und um der Rhizosphäre zu suchen sein. Tabelle 9.7 (Anhang) zeigt, daß die Pflanzen im Verlauf der Wachstumsperiode große Mengen an Cu und Zn aufgenommen haben. Da die an Festphasen adsorbierten Metallionen mit der Bodenlösung im Gleichgewicht stehen, führt ein Entzug zu einer Nachlieferung von Cu und Zn aus der Festphase wodurch freie Adsorptionsplätze entstehen. Über Massenfluß angelieferte Cd-Ionen könnten sich somit an die freien Adsorptionsplätze angelagert haben. Die Anwesenheit von organischen Komplexbildnern in der Rhizosphäre, zu denen Cu und Zn eine höhere Affinität besitzen als Cd, unterstützen diese Prozesse noch.

Die gefundenen Cd-Konzentrationen in den Rhizosphärenbodenlösungen, die sich für Monnopa und Tabu nicht wesentlich unterschieden, stehen wie bei den übrigen Elementen über vergleichbare Gesamtinflow-Werte in engem Zusammenhang mit den nicht signifikant verschiedenen Sproßgehalten beider Sorten bei ausreichender P-Düngung.

Unter ***P-Mangel*** fanden sich, wie bei Cu und Zn, signifikant höhere Cd-Konzentrationen in der Rhizosphärenbodenlösung von Tabu im Vergleich zu Monnopa und der Kontrolle. Eine höhere Konzentration an organischen Komplexbildnern in der Rhizosphäre könnte auch hier die mögliche Ursache sein. Der somit erzeugte höhere Konzentrationsgradient zwischen Bodenlösung und Wurzeloberfläche könnte so wahrscheinlich bei Tabu zu einem höheren Cd-Antransport und infolge dessen zu einem höheren Gesamtinflow geführt haben, der letztlich für die signifikant höheren Cd-Gehalte in den Sprossen der Spinatsorte Tabu gegenüber Monnopa verantwortlich war.

Die bei Monnopa für alle 3 Elemente gefundenen, geringeren Inflow-Werte (Gesamt- und Sproßinflow) könnten aber auch noch eine andere Ursache haben. Denkbar ist eine Verschlechterung der Aufnahmekinetik unter P-Mangel durch veränderte Wurzeleigenschaften und Permeabilitäten der Wurzelzellen. PADEKEN (1998) weist auf diese Möglichkeit hin, nachdem er bei Mais in Nährlösung bei P-Mangel niedrigere Cd-Inflow-Werte gefunden hat als in den ausreichend mit P versorgten Pflanzen.

Aus Tabelle 4.14 geht hervor, daß sich auch bezüglich der Verlagerung von Schwermetallen aus der Wurzel in den Sproß neben Sortenunterschieden (Cu, Cd) auch Unterschiede zwischen den Düngestufen (Zn, Cd) zeigten. Abbildung 4.7 zeigt aber, daß es keine wesentlichen Unterschiede in der Aussage von Gesamtinflow und Sproßinflow gibt, wobei letzterer die Translokation der Schwermetalle mit berücksichtigt. Somit kommt der Verlagerung innerhalb der Pflanze, entgegen den Ergebnissen von RÖMER ET AL. (1998a), nur eine untergeordnete Bedeutung zu. Allerdings haben diese Autoren ihre Pflanzen nicht unter Freilandbedingungen, sondern in der Klimakammer bei anderen klimatischen Bedingungen (andere Transpiration) angezogen. Die Transpirationsrate der Blätter hat aber für einzelne Elemente ganz unterschiedliche Konsequenzen für die Aufnahme in die Pflanze und deren Verteilung in der Gesamtpflanze (MARSCHNER 1995).

4.3.5 Zusammenfassung

Bei hohem P-Angebot zeigten beide Spinatsorten nahezu gleiche Schwermetallgehalte in den Sprossen bei nicht signifikant verschiedenen Werten:

- der Wurzel-Sproß-Verhältnisse,
- des Gesamtinflows und des Sproßinflows
- sowie der Cu-, Zn- und Cd-Konzentrationen in den Bodenlösungen.

Bei niedrigem P-Angebot zeigte Sorte Tabu im Vergleich zu Monnopa leicht erhöhte Cu, aber signifikant erhöhte Zn- und Cd-Gehalte der Sprosse bei:

- signifikant niedrigerem Wurzel-Sproß-Verhältnis,
- leicht erhöhten Cu-Gesamt- bzw. Sproßinflow,
- signifikant erhöhtem Zn- und Cd- Gesamt- bzw. Sproßinflow
- sowie signifikant erhöhten Cu-, Zn- und Cd-Konzentrationen in den Bodenlösungen.

4.3.6 Schlußfolgerung

Berücksichtigt man die bodenchemischen Eigenschaften der einzelnen Elemente sowie verschiedene Aufnahmefaktoren, kommt man zu dem Schluß, daß die Exsudation organischer Verbindungen unter P-Mangel und die damit verbundene chemische Mobilisierung entscheidende Faktoren für die genotypischen Unterschiede zwischen den Spinatsorten Monnopa und Tabu darstellen müßten.

Deshalb erschien es notwendig, die Exsudation und die Zusammensetzung der Wurzelauscheidungen von Monnopa und Tabu näher zu bestimmen und deren Einfluß auf die Schwermetallöslichkeit im Boden sowie auf die Aufnahme der Schwermetalle durch die Pflanzen zu untersuchen.

5 Einfluß der Exsudation organischer Verbindungen auf die Schwermetall-mobilisierung und deren Aufnahme

Vorbemerkungen und Versuchsziele

Die Abgabe organischer Verbindungen durch die Pflanze in den wurzelnahen Raum, insbesondere bei Nährstoffmangel, führt zu einer Veränderung von physikalischen, chemischen und biologischen Gleichgewichten in der Rhizosphäre, welche die Stoffaufnahme beeinflussen können. Die stoffliche Zusammensetzung der Wurzelausscheidungen ist dabei sehr komplex. Ergebnisse von GRANSEE ET AL. (1998) zeigen, daß sich bei optimal ernährten Maispflanzen die Exsudate zu 75% aus Zuckern, 17% Aminosäuren und Amiden und zu 8% aus Carbonsäuren zusammensetzten. Unter P-Mangel kam es zu einer Reduzierung des Zuckeranteils bei veränderter Zusammensetzung und einem Anstieg des Carbonsäureanteils auf ca. 25%.

Aufgrund ihrer chelatisierenden Wirkung kommt den organischen Säuren eine große Bedeutung zu, da sie Bindungsverhältnisse direkt beeinflussen können. Allerdings weisen GRANSEE ET AL. (1998) auch darauf hin, daß ebenfalls ein mittelbarer Einfluß der Zusammensetzung der Zuckerfraktion bei P-Mangel einen Einfluß auf die P-Freisetzung haben kann. Ergebnissen von DEUBEL (1996) zufolge, ist es möglich, daß eine Veränderung der Zuckerfraktion die Zusammensetzung der Rhizosphären-population ändern, und die Leistungsfähigkeit phosphatmobilisierender Bakterien erhöhen kann.

Da von den (mehrwertigen) organischen Säuren wegen ihrer komplexierenden Eigenschaften auch bei der Schwermetallmobilisierung der größte direkte Effekt zu erwarten ist, sollten die nachfolgenden Versuche in 3 Richtungen erfolgen:

1. Messung der Exsudation organischer Säuren bei den zwei Spinatsorten Monnopa und Tabu in Abhängigkeit von der P-Ernährung.
2. Prüfung der Wirkung der in den Exsudaten gefundenen organischen Säuren auf die Schwermetallöslichkeit im Boden.
3. Prüfung komplexierter Schwermetalle auf deren Aufnehmbarkeit durch die Pflanzen.

5.1 Einfluß der Phosphaternährung auf die Ausscheidung organischer Säuren bei Spinat

5.1.1 Vorbemerkungen und Zielstellung

Die von mehreren Autoren beschriebenen Phosphor-Mobilisierungseffekte (BHAT ET AL. 1976; HORST UND WASCHKIES 1986, 1987) wurden in den letzten Jahren vor allem mit der P-mobilisierenden Wirkung der von Pflanzenwurzeln ausgeschiedenen organischen Säuren in Verbindung gebracht. Die jüngsten Ergebnisse zeigen, daß insbesondere unter P-Mangel eine Erhöhung der Ausscheidungsrate verschiedener organischer Säuren erfolgte (LIPTON ET AL. 1987; HOFFLAND ET AL. 1989; JONES UND DARRAH 1995; GERKE 1995; BEIßNER 1997; NEUMANN ET AL. 1999). Dabei wurden von den Autoren bei Lupine, Mais, Raps und Luzerne als Hauptkomponenten insbesondere Citrat und Malat, bei Zuckerrübe Oxalat identifiziert.

NEUMANN ET AL. (1999) untersuchten an Lupinen die biochemischen Mechanismen die der bei P-Mangel erhöhten Citronensäureausscheidung zugrundeliegen. Sie kommen zu dem Schluß, daß im wesentlichen zwei Prozesse die Exsudation von Citronensäure begünstigen. Durch eine bei P-Mangel gesteigerte Aktivität der Phosphoenolpyruvat-Carboxylase (PEPC) wird bei der Veratmung von Assimilaten die Biosynthese von Citronensäure erhöht. Weiterhin kommt es zu einer Anreicherung von Citronensäure, da durch die reduzierte Aktivität der Aconitase die Umsetzung von Citronensäure im Tricarbonsäurezyklus erniedrigt wird.

Da die Ausscheidung organischer Säuren bei Spinat bisher kaum untersucht wurde, sollen im Folgenden neben der qualitativen Zusammensetzung des exsudierten Säurespektrums auch Änderungen in den Ausscheidungsraten der einzelnen Säuren in Abhängigkeit von der P-Ernährung für die Spinatsorten Monnopa und Tabu untersucht werden.

5.1.2 Versuchsbedingungen

Die Anzucht der Spinatsorten Monnopa und Tabu erfolgte in Kunststoffgefäßen (2,5 Liter) unter kontrollierten Bedingungen in der Klimakammer. Der Tag/Nacht-Rhythmus war auf 14/10 Stunden bei einer Temperatur von 20°/15°C und einer relativen Luftfeuchte von 70% eingestellt, wobei die photosynthetisch aktive Strahlung (PAR) während der Tag-Periode 240 µE m^{-2} s^{-1} betrug. Als Substrat für die Anzucht diente auf Grund der in Kapitel 3.4.4 geschilderten Ergebnisse feiner Quarzsand bei einer Einwaage von 3 kg pro Gefäß, dem sämtliche Nährstoffe noch vor der Aussaat zugesetzt wurden. Die genaue Zusammensetzung der Nährstoffmengen ist der Tabelle 9.3 im Anhang zu entnehmen. Zur Staffelung der P-Stufen wurden 6 mg P kg^{-1} für die -P-Variante und 12 mg P kg^{-1} für die +P-Variante gewählt. Je P-Variante und Sorte gab es 4 Wiederholungen, wobei die Samen nach dem Aufgang auf 6 Pflanzen pro Gefäß vereinzelt wurden. Der Wassergehalt in den Gefäßen wurde auf 70% der maximalen Wasserkapazität des Substrates eingestellt und die Wasserverluste durch Evapotranspiration durch tägliche Zugabe von demineralisiertem Wasser ausgeglichen. 35 Tage nach dem Auflaufen erfolgte dann die Ernte. Methodische Einzelheiten zur Gewinnung der Exsudate, der Bestimmung von Wurzellängen und der P-Gehalte in den Sprossen sind in Kapitel 3.4 beschrieben. Die Bestimmung von organischen Säuren mittels HPLC erfolgt nach der in Kapitel 3.5 dargestellten Methode.

5.1.3 Ergebnisse und Diskussion

5.1.3.1 Wachstum und Wurzelbildung der Spinatsorten in Quarzsandkultur

Anhand der Abbildung 5.1 läßt sich erkennen, daß die Staffelung der P-Düngung ausreichend war, um Pflanzen zu erzeugen, die zum einen ausreichend ernährt waren und zum anderen deutliche Mangelsymptome zeigten. Bei beiden Sorten kam es zu einem signifikanten Ertragsrückgang bei P-Mangel, wobei auch die P-Gehalte der Sprosse signifikant absanken. Die Wurzel-Sproß-Verhältnisse (WSV) stiegen wie erwartet bei beiden Sorten unter P-Mangel auf mehr als das Doppelte an.

Der Vergleich der Absolutwerte aus Abbildung 5.1 mit Ergebnissen von in Boden angezogenen Spinatpflanzen (Tabelle 4.12) zeigt zum Teil große Unterschiede. Aus dem Vergleich der WSV folgt, daß das Wurzelsystem der in Quarzsand gewachsenen Pflanzen sehr viel kleiner war als das bei der Kultur im Boden. Außerdem lagen die P-Gehalte bei den gut ernährten Pflanzen in der Quarzsandkultur etwa 50% niedriger als bei den im Boden gewachsenen (2. Ernte) bei ähnlichen Sproßerträgen. Dieser Vergleich macht deutlich, daß Unterschiede auch in Bezug auf die Säureexsudation nicht auszuschließen sind, und bei der möglichen Übertragung der gewonnenen Ergebnisse auf Pflanzen in Bodenkultur entsprechend berücksichtigt werden müssen.

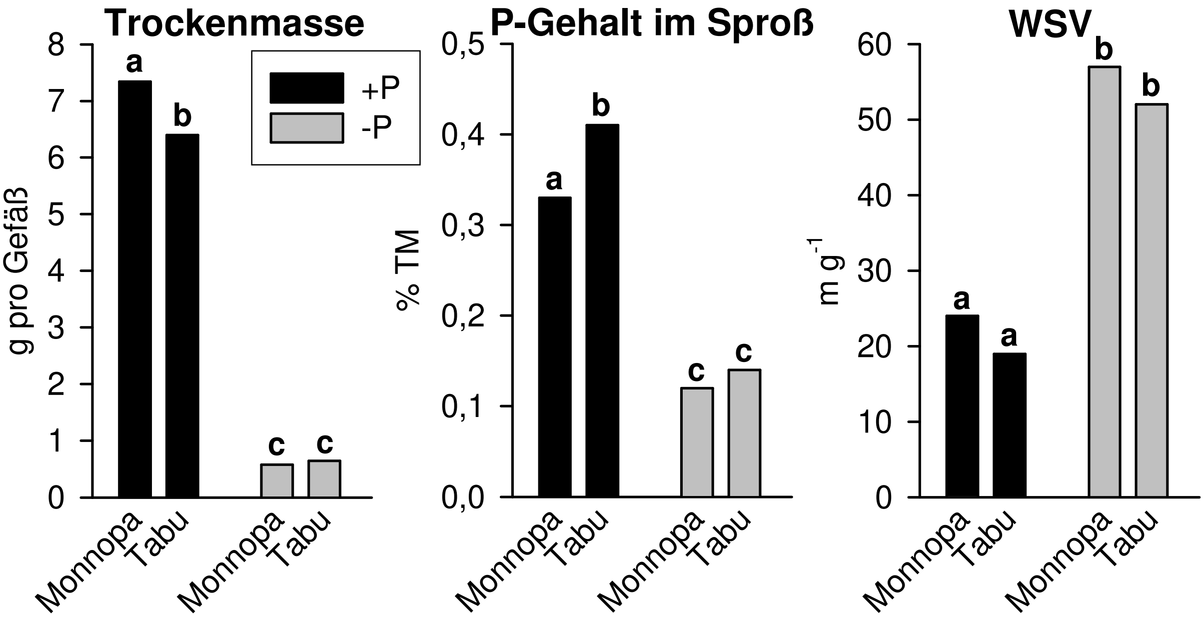


Abbildung 5.1: *Trockenmasseerträge, P-Gehalte der Sprosse und die Wurzel-Sproß-Verhältnisse der Spinatsorten Monnopa und Tabu bei Anzucht in Quarzsandkultur mit variierter P-Ernährung in der Klimakammer für 35 Tage. (Werte mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant, Tukey$_{0,05}$).*

5.1.3.2 Exsudation organischer Säuren bei zwei Spinatsorten

Das Säuremuster der von den Spinatsorten Monnopa und Tabu ausgeschiedenen Carbonsäuren war sehr ähnlich (Tabelle 5.1). Dabei war Oxalsäure bei beiden Sorten, unabhängig von der P-Düngung, die dominierende Komponente. Daneben konnte man mit vergleichbar mittleren Ausscheidungsraten Citronensäure, Äpfelsäure, Malonsäure, Bernsteinsäure und Milchsäure finden. Außerdem ließen sich auch geringe Mengen an 2-Oxoglutarsäure, Brenztraubensäure, Essigsäure und Fumarsäure sowie bei der Sorte Tabu noch zusätzlich Glutarsäure bestimmen. Nicht nachweisbar waren in den Exsudaten von Spinat Weinsäure, t-Aconitsäure und Ameisensäure.

In Tabelle 5.1 sind die sechs für Spinat wichtigsten Säuren Grau unterlegt dargestellt. Die Säuren lassen sich dabei in verschiedene Gruppen einteilen.

- Für Oxalsäure und Citronensäure stiegen die Ausscheidungsraten bei beiden Sorten unter P-Mangel signifikant an. Außerdem ließen sich deutliche Sortenunterschiede bezüglich der Höhe der Säureausscheidung finden. Bei Tabu lagen diese signifikant höher als bei Monnopa.

Tabelle 5.1: *Ausscheidungsraten organischer Säuren bei den Spinatsorten Monnopa und Tabu in Abhängigkeit von der P-Versorgung (-P = 6mg P kg^{-1} und +P = 12 mg P kg^{-1} Substrat). (Werte mit unterschiedlichen Buchstaben im horizontalen Vergleich unterscheiden sich signifikant, $Tukey_{0,05}$).*

	Monnopa		Tabu	
	+P	-P	+P	-P
	[nmol cm^{-1} h^{-1}]		[nmol cm^{-1} h^{-1}]	
Oxalsäure	1,08 a	1,70 b	2,76 c	3,91 d
Citronensäure	0,22 a	0,31 b	0,69 c	0,95 d
Weinsäure	*n.n.*	*n.n.*	*n.n.*	*n.n.*
2-Oxoglutarsäure	0,01 a	0,01 a	0,01 ab	0,02 b
Äpfelsäure	0,31 a	0,36 a	0,63 b	0,68 b
Brenztraubensäure	0,03 a	0,06 ab	0,06 ab	0,08 b
Malonsäure	0,05 a	0,26 b	0,08 a	0,25 b
t-Aconitsäure	*n.n.*	*n.n.*	*n.n.*	*n.n.*
Bernsteinsäure	0,12 a	0,17 ab	0,22 b	0,29 b
Milchsäure	0,27 a	0,53 b	0,45 b	0,48 b
Ameisensäure	*n.n.*	*n.n.*	*n.n.*	*n.n.*
Glutarsäure	*n.n.*	*n.n.*	0,07 a	0,10 a
Essigsäure	0,07 a	0,03 a	0,11 b	0,13 b
Fumarsäure	0,01 a	0,02 a	0,02 a	0,02 a

n.n.= nicht nachweisbar

- Bei Äpfelsäure und Bernsteinsäure zeigten sich weder bei Monnopa noch Tabu Abhängigkeiten von der P-Düngung. Vergleicht man die ausgeschiedene Säuremenge aber zwischen den Sorten, so finden sich bei Tabu für Bernsteinsäure leicht und bei Äpfelsäure signifikant höhere Ausscheidungsraten als bei Monnopa.
- Durch den P-Mangel wurde die Ausscheidungsrate von Malonsäure bei beiden Sorten signifikant erhöht. Die Sorten unterschieden sich aber nicht in ihren Absolutwerten.
- Für Milchsäure, der einzigen Monocarbonsäure von gewisser Bedeutung, fanden sich bei Monnopa unter P-Mangel ebenfalls signifikant höhere Gehalte als bei ausreichender P-Ernährung. Bei Tabu allerdings zeigten sich keine

Abhängigkeiten bezüglich der P-Düngung. Die Ausscheidungsraten lagen aber hier bei beiden Düngevarianten auf einem relativ hohen Niveau, das mit der -P-Variante von Monnopa vergleichbar war.

Die Sorte Tabu schied somit insgesamt mehr organische Säuren pro Einheit Wurzel aus als die Sorte Monnopa.

5.1.3.3 Vergleich der Ergebnisse mit Daten anderer Autoren

Qualitative Beurteilung der Exsudate

Tabelle 5.2 zeigt einige Beispiele analysierter Exsudatzusammensetzungen bei verschiedenen Pflanzenarten. GERKE (1995) konnte eine im wesentlichen pflanzenartspezifische qualitative Zusammensetzung der exsudierten Carbonsäuren nachweisen. Hierbei zeigten Rotklee und Luzerne eine vom P-Status der Pflanzen abhängige Ausscheidung von Citronensäure und Oxalessigsäure, während Chinakohl und Spinat Oxalsäure, Oxalessigsäure und Citronensäure, der Chinakohl noch zusätzlich Äpfelsäure bei P-Mangel in höheren Raten über die Wurzel abgaben. Die von GERKE (1995) bei allen Pflanzenarten, insbesondere auch bei Spinat festgestellte Oxalessigsäure konnte in den vorliegenden Versuchen nicht identifiziert werden. Auch BEIßNER (1997) findet Oxalessigsäure neben Citronensäure und Äpfelsäure in den Wurzelausscheidungen von Mais, während er bei Zuckerrübe Oxalessigsäure, Citronensäure und Oxalsäure identifizierte.

Da beide Autoren dieselbe Trennmethode benutzten, welche für die vorliegende Arbeit modifiziert wurde, um die Auftrennung des Säurespektrums zu verbessern, kann vermutet werden, daß es sich bei der nachgewiesenen Oxalessigsäure um die Fehlinterpretation einer, oder mehrerer sich überlagernder Säuren handelt, die unter den von ihnen verwendeten Bedingungen eine gleiche Retentionszeit wie Oxalessigsäure besaßen. Hierfür spricht ebenfalls, daß Oxalessigsäure in wäßriger Lösung nur wenig stabil ist und von anderen Autoren als Bestandteil von Exsudaten nicht erwähnt wird.

Citronensäure konnte in den Exsudaten aller, Äpfelsäure in den der meisten Pflanzen nachgewiesen werden (Tabelle 5.2). Hierzu gehören z.B. Lupinen, Luzerne, Chinakohl und Weizen. Bei Spinat ließ sich als Hauptbestandteil der organischen Säuren Oxalsäure identifizieren (Tabelle 5.1).

Tabelle 5.2: *Beispiele für die Exsudation organischer Säuren bei verschiedenen Pflanzenarten nach verschiedenen Quellenangaben.*

Pflanzenart	Ernährungs-zustand	organische Säuren	Abgaberate	Quelle (Autor)
			[nmol m^{-1} h^{-1}]	
Rotklee	+P / -P	Citronensäure	12 - 112	GERKE
	(mehrere Stufen)	Oxalessigsäure	15 - 92	(1995)
Luzerne	dto.	Citronensäure	4 - 80	dto.
		Oxalessigsäure	5 - 76	
Spinat	dto.	Citronensäure	4,5 - 13	dto.
		Oxalessigsäure	8 - 25	
		Oxalsäure	9 - 38	
Chinakohl	dto.	Citronensäure	2,5 - 27	dto.
		Oxalessigsäure	2,5 - 13	
		Oxalsäure	1 - 5	
		Äpfelsäure	4 - 25	
			[nmol m^{-1} h^{-1}]	
Luzerne	+P / -P	Citronensäure	29,8 u. 54,2	LIPTON ET AL.
		Äpfelsäure	32,1 u. 23,3	(1987)
		Bernsteinsäure	5 u. 7,5	
			[nmol m^{-1} h^{-1}]	
Mais	+P / -P	Citronensäure	6 u. 69	JONES UND
	(-P: ohne P, ohne	Äpfelsäure	9 u. 298	DARRAH
	Mikronährstoffe			(1995)
			[nmol m^{-1} h^{-1}]	
Mais	+P / -P	Oxalessigsäure	1,6 - 5,0	BEIßNER
		Citronensäure	1,48 - 1,82	(1997)
		Brenztraubensäure	0,18 - 0,30	
Zuckerrübe	+P / -P	Oxalsäure	4,1 - 22,7	dto.
		Citronensäure	0,7 - 4,2	
		Brenztraubensäure	2,9 - 7,0	
			[nmol cm^{-1} h^{-1}]	
Weißlupine (Nichtproteoidwurzel)	+P / -P	Äpfelsäure	0,74 - 0,51	NEUMANN ET
		Citronensäure	0,09 - 0,18	AL. (1999)
Weißlupine (Proteoidwurzel)	-P	Äpfelsäure	0,70	dto.
		Citronensäure	6,70	
			[nmol cm^{-1} h^{-1}]	
Lupinus angustifolius	+P und -P	Citronensäure	3,6 - 6,8	EGLE ET AL.
		Äpfelsäure	5,2 - 7,2	(1999)
		Bernsteinsäure	0,65 - 1,23	
			[nmol Pfl.$^{-1}$ h^{-1}]	
Weizen	- Al^{3+} / +Al^{3+}	Citronensäure	0,08 u. 0,17	DELHAIZE ET
		Äpfelsäure	>0,08 u. 3,57	AL. (1993)
		Bernsteinsäure	0,08 u. 0,58	

Zu diesem Ergebnis kam auch GERKE (1995). Auch Chinakohl scheidet meßbare Mengen an Oxalsäure aus. BEIßNER (1997) fand ebenfalls bei der mit dem Spinat verwandten Zuckerrübe Oxalsäure als dominierende Säure in den Exsudaten wieder, womit sich ebenfalls ein pflanzenartspezifisches Muster in der Säureausscheidung andeutet.

Neben den Hauptkomponenten Citronensäure, Äpfelsäure und vereinzelt auch Oxalsäure fanden sich aber auch Säuren wie 2-Oxoglutarsäure, Brenztraubensäure, t-Aconitsäure, Malonsäure, Bernsteinsäure, Fumarsäure und die Monocarbonsäuren Milchsäure und Essigsäure in den Exsudaten von Spinat wieder (Tabelle 5.1). Auch für die Ausscheidung dieser Säuren durch Pflanzenwurzeln finden sich Belege in der Literatur. So identifizierten OHWAKI UND HIRATA (1990) in den Wurzelausscheidungen von Kichererbsen neben Citronensäure und Äpfelsäure auch Malon-, Fumar-, Bernstein- und t-Aconitsäure. IMAS ET AL. (1997) konnten bei Tomatenexsudaten Citronensäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Weinsäure, Fumarsäure und die Monocarbonsäuren Essigsäure und Ameisensäure nachweisen.

Die Charakterisierung und Identifizierung organischer Säuren ist somit sowohl vom pflanzenartspezifischen Säuremuster als auch der Trennleistung und Empfindlichkeit der verwendeten Nachweismethode abhängig.

Quantitative Beurteilung der Exsudationsraten

Der Vergleich der in Tabelle 5.1 gezeigten Ergebnisse mit Literaturdaten gestaltet sich als schwierig, da es keine einheitliche Methode zur Gewinnung von Wurzelexsudaten gibt (vgl. Kapitel 3.4.4). Außerdem herrscht bei der Darstellung der Ergebnisse bezüglich der Bezugsbasis keine Einigkeit unter den Autoren. Während einige Autoren ihre Resultate auf die Wurzellänge (m oder cm) beziehen (z.B. GERKE 1995; NEUMANN ET AL. 1999), finden sich auch andere, die als Bezugsgröße die ganze Pflanze (z.B. PETERSEN UND BÖTTGER 1991) oder die Wurzelfrischmasse (z.B. OHWAKI UND HIRATA 1990) verwenden. Da die Aufnahme von Stoffen meist auf die Wurzellänge (CLAASSEN 1990) bezogen wird, bietet sich an, auch die Stoffabgabe auf dieselbe Größe zu beziehen.

Die quantitative Zusammensetzung der Exsudate der Spinatsorten Monnopa und Tabu (Tabelle 5.1) bestätigten die Ergebnisse von GERKE (1995), daß Oxalssäure, gefolgt von Citronensäure die dominierenden Säuren in Spinatexsudaten darstellen und deren Konzentrationen unter P-Mangel signifikant ansteigen. Die absoluten Werte der Exsudation lagen im vorliegenden Versuch allerdings etwa um den Faktor

10 höher als beispielsweise bei GERKE (1995) bzw. BEIßNER (1997), die die gleiche Pflanzenart bzw. die Zuckerrübe als verwandte Pflanzenart und eine vergleichbare Gewinnung der Exsudate in ihren Versuchen verwendeten. Ausscheidungsraten in vergleichbarer Höhe fanden allerdings NEUMANN ET AL. (1999) und RÖMER ET AL. (1999) bei Lupinen.

Ursachen hierfür können in der Methodik der Exsudatgewinnung liegen. Die genannten Autoren zogen ihre Pflanzen entweder in Quarzsand- oder Nährlösungskulturen an, bevor das Wurzelsystem in entmineralisiertes Wasser bzw. 0,05 mmol $CaCl_2$-Lösung (BEIßNER 1997) überführt wurde. Ein weiterer Unterschied besteht in der Dauer der Exsudation, die bei GERKE (1995) und BEIßNER (1997) 18 Stunden betrug, während bei NEUMANN ET AL. (1999), RÖMER ET AL. (1999) und den eigenen Untersuchungen eine wesentlich kürzere Exsudationsdauer von 2-4 Stunden gewählt wurde. NEUMANN ET AL. (1999) fanden bei der Verwendung von entmineralisiertem Wasser und 0,5 mmol $CaSO_4$- Lösung keinen Unterschied in der Exsudationsrate von Lupinen bei einer Exsudationszeit von 2 Stunden. Dies zeigt, daß die Membranstabilität, zumindest bei kurzer Exsudationsdauer, durch entmineralisiertes Wasser nicht negativ beeinflußt wird. Da die Gehalte organischer Säuren in der Pflanzenwurzel 50 bis 280 mal höher liegen als in der Exsudationslösung nach 1 Stunde (NEUMANN ET AL. 1999) müßte bei einem Verlust der Membranstabilität ein wesentlich höherer Säureefflux festgestellt werden. Selbst nach 18 Stunden in entmineralisiertem Wasser (GERKE 1995) konnte dies nicht beobachtet werden. Bei Spinat liegen die Werte statt dessen etwa um Faktor 10 niedriger als in den eigenen Untersuchungen bei einer Exsudationszeit von 2 Stunden.

Nach JONES (1998) sind für die Abgabe organischer Säuren 2 Mechanismen verantwortlich. Ein geringer Anteil des Säureefflux resultiert dabei aus einer passiven Abgabe der Säureanionen durch die Lipiddoppelschicht der Zellen, die er als „baseline exudation“ bezeichnet. Der zweite, bedeutsamere Mechanismus beschreibt den aktiven Transport von Säureanionen durch Ionenkanäle. Da die Funktion der Ionenkanäle über biochemische und biophysikalische Regelmechanismen gesteuert wird, ist es denkbar, daß bei völliger Abwesenheit von Nährelementen wie z.B. Kalium und Magnesium (wichtig für ATPasen!) die Durchlässigkeit der Ionenkanäle nach einer gewissen Zeit stark herabgesetzt wird. Dies hätte zur Folge, daß sich auch mit steigender Exsudationszeit die Abgaberaten pro Zeiteinheit gegenüber der

Anfangsphase stark verringern. Da GERKE (1995) von einer konstanten Exsudationsrate über den gesamten Zeitraum ausgeht, würden seine Ergebnisse somit zu einer Unterbewertung der tatsächlichen Abgaberaten führen. Die Verwendung kürzerer Exsudationszeiten scheint somit zuverlässigere Ergebnisse zu liefern. Zudem besteht bei einer kurzen Exsudationszeit weniger die Gefahr von mikrobiellem Abbau organischer Säuren, die das Ergebnis verfälschen könnten.

Offen bleibt allerdings, ob sich die in Tabelle 5.1 gezeigten Unterschiede zwischen den Sorten auf eine erhöhte „baseline exudation" infolge höherer Gehalte organischer Säuren in den Zellen oder einen erhöhten aktiven Transport in Verbindung mit Ionenkanälen zurückführen lassen. NEUMANN ET AL. (1999) zeigten, daß sich unter P-Mangel die Citratkonzentration in der Wurzel erhöht. Die Erhöhung der Exsudationsrate bei P-Mangel ist deshalb schon durch die damit verbundene höhere „baseline exudation" zu erklären. Wahrscheinlich wirkt sich aber auch der P-Mangel auf die Funktionalität der Ionenkanäle aus, wodurch eine erhöhte Abgabe von Säureanionen denkbar ist.

5.1.4 Schlußfolgerung

Die Ergebnisse zeigen, daß beide Spinatsorten unter den gewählten Versuchsbedingungen ein ähnliches Spektrum organischer Säuren ausgeschieden haben. Die ***Menge an abgegebenen Säuren war aber bei Tabu insgesamt höher als bei Monnopa***, wobei die Exsudation einiger Säuren (Oxalsäure, Citronensäure, Malonsäure, Milchsäure) unter P-Mangel bei beiden Sorten zum Teil signifikant anstieg.

Da diese Säuren aufgrund ihrer chelatisierenden Eigenschaften eine Rolle bei der Schwermetallmobilisierung im Boden spielen könnten, sollte deshalb im folgenden Versuch der Einfluß von organischen Säuren auf die Löslichkeit von Phosphat und den Schwermetallen Cu, Zn und Cd näher untersucht werden.

5.2 Bedeutung exsudierter organischer Säuren für die P- und Schwermetall-mobilisierung in der Rhizosphäre

5.2.1 Vorbemerkungen und Zielstellung

Kulturpflanzen unterscheiden sich beträchtlich im Aneignungsvermögen für Nährstoffe insbesondere für Phosphat (FÖHSE ET AL. 1988), das einer spezifischen Adsorption im Boden unterliegt und deshalb nur in geringen Konzentrationen in der Bodenlösung vorkommt. Interessant ist, daß Weiße Lupine besonders effizient in der P-Aufnahme ist und im Vergleich z.B. mit Weizen mit relativ geringen P-Gehalten im Boden auskommt (HORST UND WASCHKIES 1987). Die Ursache ist die Exsudation vor allem von Citronensäure (DINKELAKER ET AL. 1989) und deren P-mobilisierender Wirkung (GERKE 1992).

Neben der erhöhten Löslichkeit von Phosphat wurde dabei auch die Löslichkeit von Fe und Al erhöht. Deshalb wird vermutet, daß auch eine Erhöhung der Löslichkeit von Cu, Zn und Cd durch den Einfluß der Säureexsudation möglich ist. Untersuchungen von NEUMANN ET AL. (1996) zeigen tatsächlich, daß die Applikation von 5,2 mM Äpfelsäure und 2,6 mM Fumarsäure zum Boden die Löslichkeit einer ganzen Anzahl von Kationen im Boden erhöhte. Offenbar war die Bildung von löslichen Komplexen dafür verantwortlich. Da sich in den eigenen Versuchen gezeigt hatte, daß die Spinatpflanzen eine beträchtliche Exsudation organischer Säuren aufweisen (Kapitel 5.1) und die Löslichkeit von Schwermetallen in der Rhizosphärenbodenlösung teilweise erhöht war (Kapitel 4.3), sollte nach möglichen Zusammenhängen zwischen der Säureexsudation und der Änderung der Schwermetallöslichkeit gesucht werden.

Im Folgenden sollten folgende Fragen beantwortet werden:

1. Erhöht die Zugabe eines Gemisches organischer Säuren, wie es von Pflanzen exsudiert wird, die Löslichkeit von Cu, Zn und Cd im Boden?
2. Inwieweit werden Änderungen der Löslichkeit durch Protonen bzw. Säureanionen verursacht?
3. Welche organischen Säuren sind bei der Schwermetallmobilisierung am effektivsten?

5.2.2 Versuchsbedingungen

Zur Bestimmung der Phosphat- und Schwermetallöslichkeit im Boden nach Applikation von organischen Säuren wurde der Lößlehmboden aus Börry (Niedersachsen) verwendet. Spezifische Charakteristika des Bodens sind der Tabelle 3.1 zu entnehmen.

Der Boden wurde vorher mit Schwermetallen (Cu als Kupfersulfat, Zn als Zinksulfat und Cd als Cadmiumnitrat) so versetzt, daß für jedes Element die Grenzwerte der AbfKlärV (ANONYM 1992) erreicht bzw. geringfügig überschritten wurden. Anschließend wurde der Boden in feuchtem Zustand (ca. 20 Gewichtsprozent Wasser) für 11 Monate zur Gleichgewichtseinstellung in der Vegetationshalle gelagert und mehrmals durchmischt. Die Analyse des mit Schwermetallen angereicherten Bodens ergab die in Tabelle 5.3 aufgeführten Gehalte.

Tabelle 5.3: *Gesamtschwermetallgehalte und die mobilen und leicht nachlieferbaren Fraktionen nach ZEIEN (1995) des Bodens Börry.*

	Cu	Zn	Cd
		[mg kg^{-1}]	
Gesamtgehalte	63,2	205	1,45
1. Fraktion (mobil)[1]	1,5	5	0,17
2. Fraktion (leicht nachlieferbar)[2]	8	78	0,52

[1] = 1 M NH_4NO_3-Extrakt [2] = 1 M NH_4OAc-Extrakt

5.2.2.1 Konzeption und Annahmen zur Versuchsplanung

Um den Einfluß der von der Pflanzenwurzel abgeschiedenen organischen Säuren in der Rhizosphäre abschätzen zu können, müssen vorher die Rahmenbedingungen des Versuches definiert werden. Um eine Bodenmenge zu kalkulieren, die mit einer definierten Menge an Exsudat in Berührung kommt und davon beeinflußt wird, waren verschiedene Annahmen notwendig.

Ausgehend von einem 1 cm langen Wurzelfragment (Abbildung 5.2), auf das auch die gemessenen Exsudationsraten bezogen wurden, sollte die Bodenmenge berechnet werden, die das Wurzelfragment umgibt und von ihm beeinflußt wird. Dabei wurde ein mittlerer Wurzelradius von r_1 = 0,25 mm angenommen. Nach JONES (1998) ist davon auszugehen, daß wurzelbürtige, mehrwertige organische Säuren in Abhängigkeit vom Boden zwischen 0,2 und 1 mm, Monocarbonsäuren sogar mehr als 5 mm von der Wurzeloberfläche weg diffundieren können. Deshalb wurde in der vorliegenden Berechnung von einer beeinflußten Bodenschicht von 0,75 mm um die Wurzel ausgegangen.

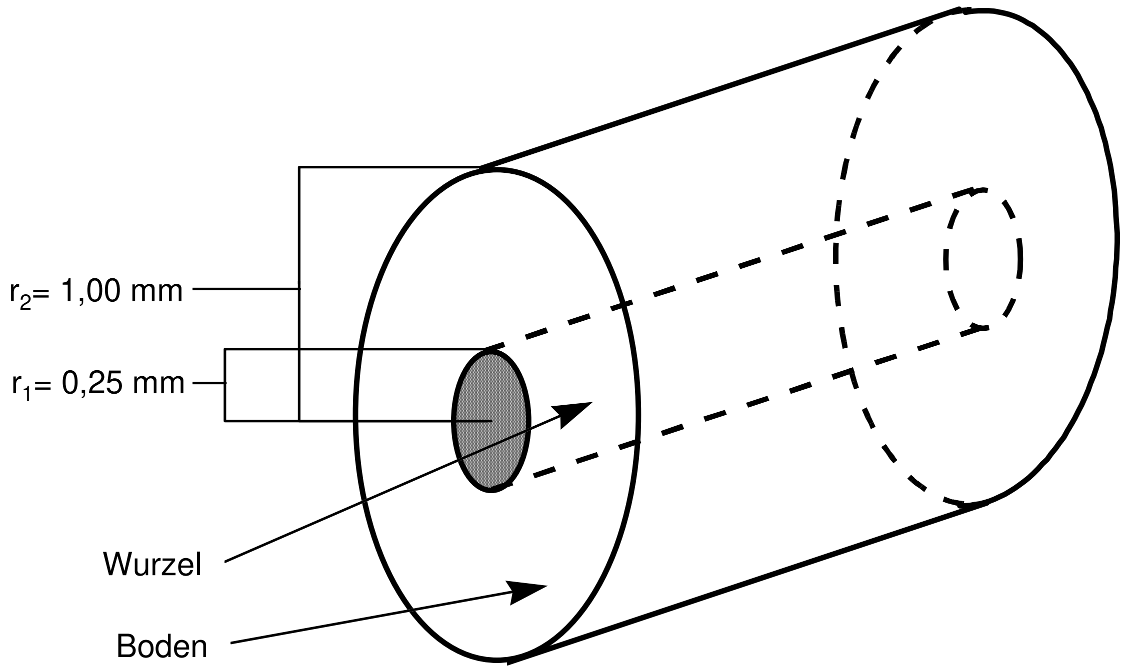


Abbildung 5.2: *Schematische Darstellung eines 1 cm-Wurzelfragmentes mit dem umgebenden Rhizosphärenboden.*

Die Berechnung der Bodenvolumens (V_{Boden}) erfolgt nach Gleichung 5.1.

Gleichung 5.1: $$V_{Boden} = V_2 - V_1 = (r_2^2 \bullet \pi \bullet WL) - (r_1^2 \bullet \pi \bullet WL)$$

wobei r_1 = angenommener Wurzelradius = 0,25 mm

r_2 = Wurzelradius + Bodenzylinder = 1 mm

WL = Länge des Wurzelfragmentes = 10 mm

Damit ergibt sich ein Bodenvolumen von 0,029 cm^3 um ein 1 cm langes Wurzelfragment, das unter Berücksichtigung einer Dichte von 1,2 g cm^{-3} einer von den Exsudaten beeinflußten Bodenmenge von 0,0353 g pro Zentimeter Wurzel entspricht. Die Zugabe der Mengen an organischen Säuren zu dieser Bodenmenge erfolgte unter der Annahme einer 24 stündigen Exsudation der 1 cm langen Wurzel bzw. der Akkumulation der exsudierten Säuremengen im Boden ohne mikrobiellen Abbau bei einer Bodenfeuchte von 17%.

In Anlehnung an ähnliche Untersuchungen von NEUMANN ET AL. (1996), der mit 16 g Boden arbeitet hatte, wurde auch hier die gleiche Bodenmenge verwendet. Der

Boden wurde mit 3,2 ml Lösung befeuchtet, welche die für die Bodenmenge kalkulierten Mengen an organischen Säuren enthielt. Nach sechs Stunden erfolgte die Zugabe von 40 ml demineralisiertem Wasser. Die Bodensuspension wurde danach für 20 Minuten geschüttelt und anschließend filtriert (Faltenfilter 602 h½). Als Maß für die Löslichkeit der Elemente erfolgte die Bestimmung der P- und Schwermetallkonzentrationen im Filtrat.

Die in den Versuchen verwendeten Gemische organischer Säuren wurden entsprechend der Zusammensetzung gemessener Exsudate aus p.a. Chemikalien hergestellt. Eine Angleichung an die reale Exsudatzusammensetzung unter Berücksichtigung der Aminosäure- und Zuckerfraktion erfolgte nicht.

In der ***1. Variante*** sollte die Änderung der Löslichkeit von P, Cu, Zn und Cd (Konzentrationen im Filtrat) durch ein **Säuregemisch**, wie es bei der Sorte Monnopa gefunden wurde (Oxalsäure 2; Zitronensäure 0,3; Bernsteinsäure 0,2; Milchsäure 0,7 und Ameisensäure 0,3 nmol cm^{-1} h^{-1}) im Vergleich zu destilliertem Wasser bestimmt werden. Da BEIßNER (1997) bei den mit Spinat verwandten Zuckerrüben an den Wurzelspitzen wesentlich höhere Exsudationsraten gefunden hatte als bei älteren Wurzelteilen, wurden die organischen Säuren in 3 Konzentrationsstufen dem Boden zugesetzt. Stufe 1 enthielt: Oxalsäure 6,8; Citronensäure 1,0; Bernsteinsäure 0,7; Milchsäure 2,4 und Ameisensäure 1,0 µmol g^{-1} Boden, was der fünffachen exsudierten Menge entspricht. Die 2. und 3. Stufe enthielten die 10- bzw. 20-fache Menge.

In der ***2. Variante*** wurden die **Einzelsäuren** in gleicher Weise in den Konzentrationen 0; 0,34; 1,4; 6,9; 13,7 und 27,5 µmol g^{-1} Boden zugesetzt, was Exsudationsraten von 0-40 nmol cm^{-1} h^{-1} entsprach.

Da die Zugabe des Säuregemisches bzw. der Einzelsäuren zu einer pH-Wertabsenkung im Boden und somit zu einer Erhöhung der Schwermetallöslichkeit führte, wurde in zusätzlichen Varianten den Bodenproben Salpetersäure (0,05 M bis 0,5 M) zugesetzt. Durch die damit verbundene pH-Werterniedrigung von pH 7 auf ca. pH 3,5 sollte eine Abschätzung der Effekte der Protonen bzw. der organischen Säureanionen ermöglicht werden. Dabei wurde davon ausgegangen, daß der Einfluß des Nitratanions auf die Löslichkeit der 3 Elemente zu vernachlässigen ist.

5.2.3 Ergebnisse

5.2.3.1 Änderung der Elementlöslichkeiten bei Zugabe eines Gemisches organischer Säuren zum Boden

Abbildung 5.3 zeigt, daß die P-Konzentration in der Schüttellösung von 0,07 mg L^{-1} (Kontrolle mit Wasser) durch die Zugabe des Gemisches organischer Säuren auf 1,50 mg L^{-1} (Stufe 3) anstieg. Der pH-Wert sank dabei auf 4,5 ab.

Die Zugabe von Salpetersäure führte bei pH 4,5 ebenfalls zu einem Anstieg der P-Löslichkeit, jedoch nur auf etwa 0,25 mg L^{-1}. Das bedeutet, daß der P-Lösungseffekt der organischen Säureanionen wesentlich größer war als der Protoneneffekt.

Betrachtet man die Wirkung der organischen Säuren bzw. der Salpetersäure auf das Löslichkeitsverhalten der Schwermetalle, so zeigten sich Unterschiede zwischen Cu einerseits und den Elementen Zn und Cd andererseits (Abbildung 5.3).

Bei Cu fiel auf, daß die Löslichkeit durch Zugabe der organischen Säuren von 0,03 auf 1,1 mg L^{-1} bei einer pH-Wertabsenkung auf 4,5 deutlich anstieg. Durch die HNO_3-Zugabe stieg die Cu-Löslichkeit in diesem pH-Bereich vergleichsweise nur geringfügig an. Wie beim Phosphat spielte offenbar der Charakter der Anionen für die Löslichkeit des Kupfers eine große Rolle.

Im Gegensatz hierzu schien bei den Elementen Zn und Cd das Säureanion keinen großen Einfluß zu haben. Es war zwar ebenfalls ein Anstieg der Löslichkeit mit steigender Konzentration der organischen Säuren festzustellen, jedoch lagen die Löslichkeiten durch Zugabe von Salpetersäure in ähnlichen Bereichen. Interessant ist, daß diese Erhöhung bis pH 5,5 nahezu unabhängig vom begleitenden Anion war, d.h. der mobilisierende (lösende) Effekt war offenbar nur von der Protonenkonzentration abhängig. Nachdem infolge stärkerer Säurezufuhr der pH-Wert auf 4,5 gesunken war, so stieg sogar das Löslichkeitsverhalten von Zn und Cd bei HNO_3-Zufuhr stärker an, als bei der Zugabe organischer Säuren.

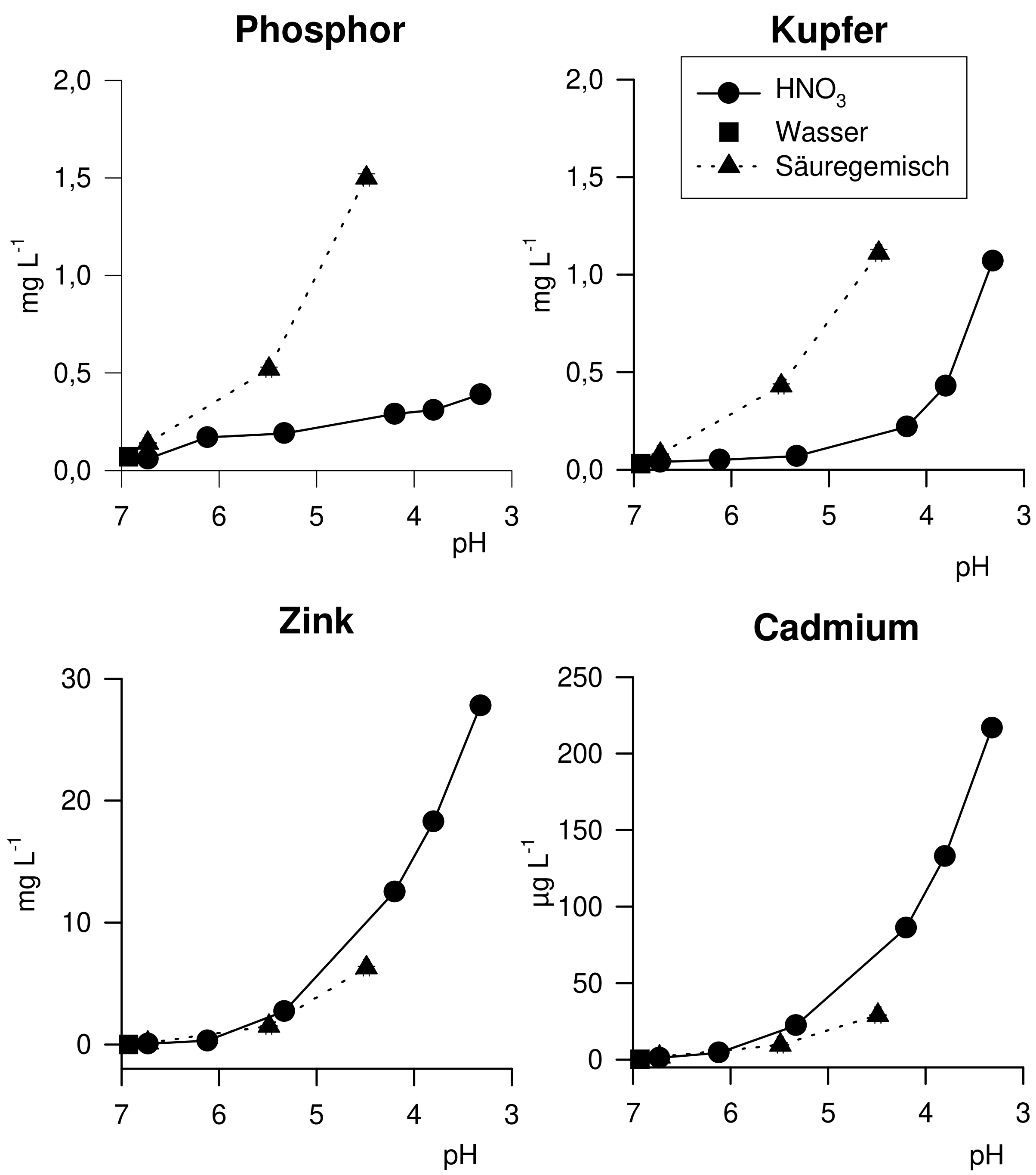


Abbildung 5.3: *Mobilisierung von Phosphat, Kupfer, Zink und Cadmium (dargestellt als Erhöhung der Element-Konzentration der Schüttellösung) durch HNO_3 (●) und einer Mischung aus organischen Säuren (▲) verschiedener Konzentrationsstufen im Vergleich zur Behandlung des Bodens mit demineralisiertem Wasser (■). Die aufgetragenen pH-Werte entsprechen den in den Schüttellösungen gemessenen Werten. (Datenpunkte entsprechen Mittelwerten aus 4 Wiederholungen; die eingezeichneten Standardabeichungen für Konzentration und pH, sind meist kleiner als die Datenpunkte).*

5.2.3.2 Unterschiede bei den Löslichkeiten von P, Cu, Zn und Cd durch die Zugabe von Einzelsäuren zum Boden

Betrachtet man die Wirkung von Oxalsäure, Citronensäure, Äpfelsäure und Milchsäure getrennt, so zeigen sich zum Teil große Unterschiede in deren Einfluß auf die Löslichkeit der Elemente P, Cu, Zn und Cd. In Abbildung 5.4 und Abbildung 5.5 sind für jedes Element die Faktoren **„Staffelung der Konzentration der organischen Säuren“**, **„pH-Wert des Extraktes“** und **„Konzentration des Elementes im Extrakt“** jeweils gegeneinander aufgetragen. Rechts oben wird dabei die Änderung der Elementkonzentration durch unterschiedlich hohe Säuremengen, links unten die Änderung des pH-Wertes des Extraktes durch die Zugabe gestaffelter Säuremengen und links oben die Änderung der Elementlöslichkeit als Funktion des pH-Wertes des Extraktes dargestellt.

Die Änderung des pH des Extraktes infolge der Erhöhung der Säurekonzentration im Boden zeigt, daß sich Oxalsäure, Citronensäure und Äpfelsäure als mehrwertige organische Säuren ähnlich verhielten. Bei vergleichbaren molaren Mengen war die Erniedrigung des pH bei Milchsäure, der einzigen Monocarbonsäure, erwartungsgemäß niedriger. Vergleicht man die Wirkung der einzelnen Säuren bei gleichen molaren Mengen auf die Elementlöslichkeit, so zeigt sich, daß bei allen Elementen die Löslichkeit von Milchsäure über Oxalsäure und Äpfelsäure zu Citronensäure hin zunahm. Dabei zeigten sich allerdings elementabhängige Unterschiede:

- Durch den Zusatz von **Milchsäure** waren bei den Elementen P und Cu keine deutlichen Änderungen in den Löslichkeiten erkennbar (Abbildung 5.4). Bei Zn und Cd zeigten sich ebenfalls kaum Mobilisierungseffekte durch die Milchsäure (Abbildung 5.5). Erst bei der höchsten Säurestufe (27,5 µmol g^{-1} Boden) deutete sich eine Erhöhung der Löslichkeit an.
- Bei allen Elementen war durch die **Oxalsäure** ein leichter Mobilisierungseffekt nur in der höchsten Säurestufe (27,5 µmol g^{-1} Boden) festzustellen. Bei P und Cu unterschied sich die Oxalsäure somit von der Milchsäure. Für Zn und Cd waren die Effekte beider Säuren jedoch vergleichbar.
- Die Löslichkeit der Elemente P, Cu und Zn war durch die Anwesenheit größerer Mengen **Äpfelsäure** deutlich erhöht. Bei Cd war der Mobilisierungseffekt durch Äpfelsäure nur schwach ausgeprägt.

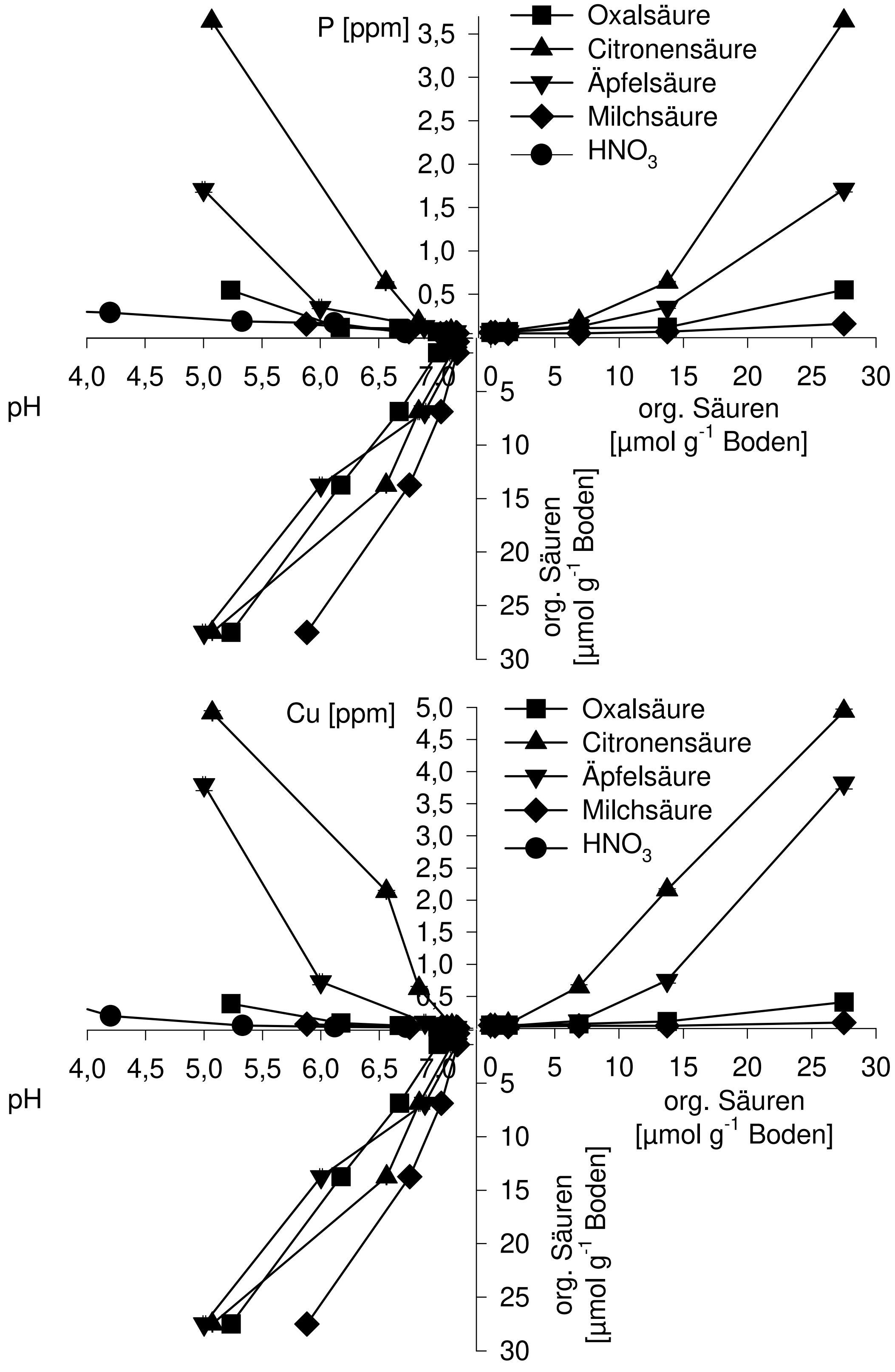
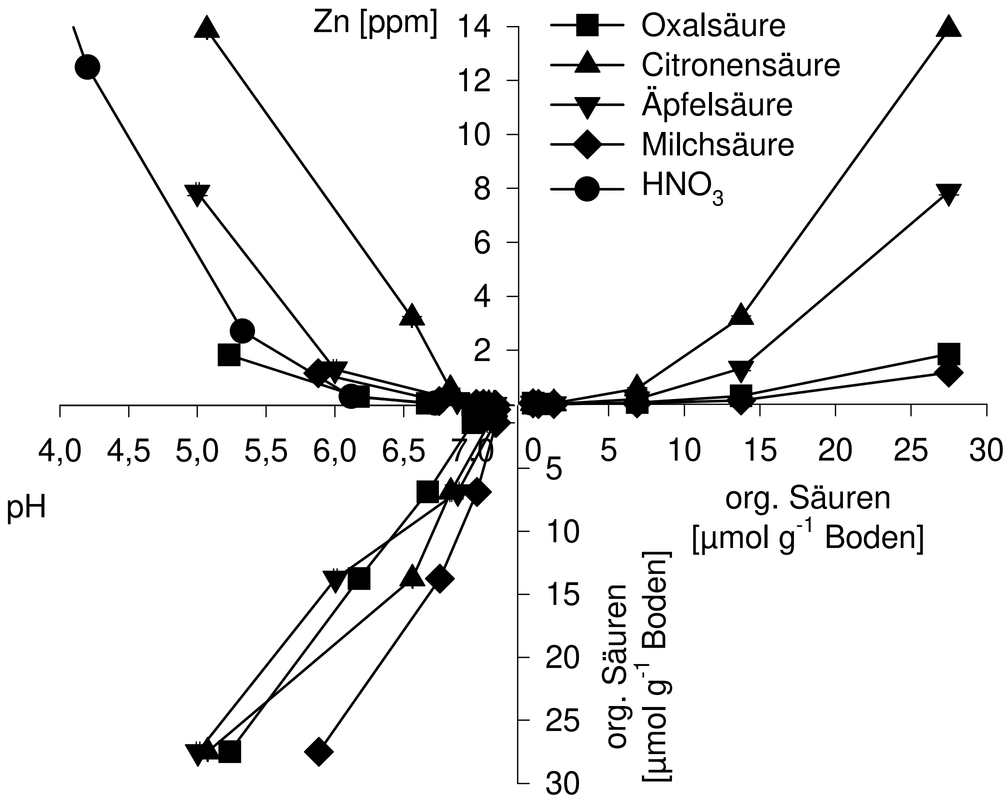


Abbildung 5.4: *Erhöhung der P- bzw. Cu-Löslichkeit durch Zugabe verschiedener Mengen Oxal-, Citronen-, Äpfel-, Milch- oder Salpetersäure zu dem Lößlehmboden aus Börry unter Berücksichtigung der Änderung des pH. (Die eingezeichneten Standardabweichungen aus 3 Wiederholungen für Konzentration und pH, sind meist kleiner als die Datenpunkte).*



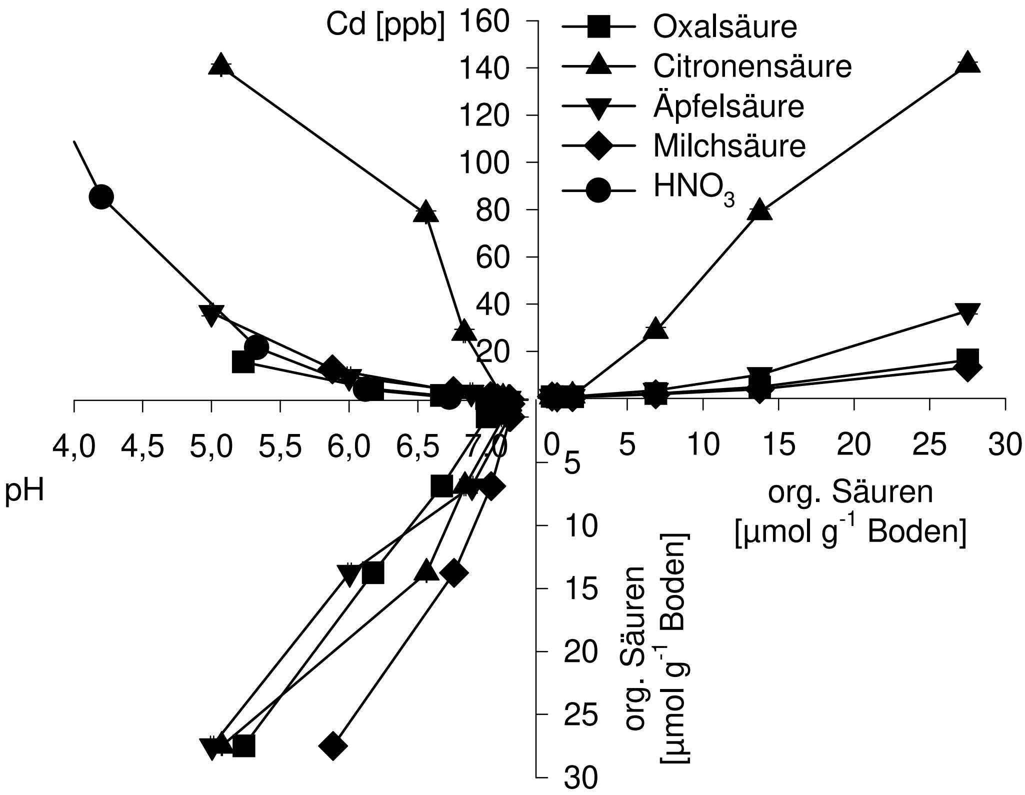


Abbildung 5.5: *Erhöhung der Zn- bzw. Cd-Löslichkeit durch Zugabe verschiedener Mengen Oxal-, Citronen-, Äpfel-, Milch- oder Salpetersäure zu dem Lößlehmboden aus Börry unter Berücksichtigung der Änderung des pH. (Die eingezeichneten Standardabweichungen aus 3 Wiederholungen für Konzentration und pH, sind meist kleiner als die Datenpunkte).*

- Bei allen Elementen zeigte **Citronensäure** die größten Effekte auf deren Löslichkeit. Insbesondere bei Cu und Cd zeigte sich schon bei vergleichsweise geringen Säuremengen (6,9 µmol g^{-1} Boden) eine deutliche Erhöhung der Löslichkeit.

Die Gesamtwirkung der organischen Säuren auf die Elementlöslichkeit im Versuch beruhte dabei auf dem Effekt des Säureanions und dem der Protonen (pH-Wertabsenkung). Im linken oberen Teil von Abbildung 5.4 bzw. Abbildung 5.5 ist die Gesamtwirkung der einzelnen organischen Säuren auf die Löslichkeit der jeweiligen Elemente im Vergleich zum reinen Protoneneffekt durch **HNO_3** aufgetragen.
Bei den Elementen P und Cu zeigt sich, daß die Erniedrigung von pH 7 auf pH 4 durch Zugabe von HNO_3 kaum einen Einfluß auf deren Löslichkeit hatte. Citronensäure als auch Äpfelsäure riefen eine deutlich höhere P- und Cu-Löslichkeit hervor, was auf einen starken Effekt des Anions hindeutet. Bei Oxalsäure zeigte sich bei beiden Elementen erst in der höchsten Säurestufe ein leichter Effekt des Anions. Die Wirkung von Milchsäure unterschied sich nicht von der einer Mineralsäure.
Die Löslichkeit von Zn und Cd ist wesentlich stärker abhängig vom pH. Unterhalb von pH 6 war daher ein deutlicher Anstieg der Löslichkeit beider Elemente feststellbar. Durch das Anion der Citronensäure wurden aber auch hier wesentlich mehr Zn und Cd in Lösung gebracht. Der Einfluß des Anions der Äpfelsäure war bei Zn nur gering und bei Cd nicht feststellbar. Milchsäure war bei beiden Elementen, wie auch bei P und Cu nicht von der Protonenwirkung der HNO_3 unterscheidbar. In der höchsten Säurestufe lagen bei Oxalsäure die gemessenen Löslichkeiten von Zn und Cd sogar unter den über die pH-Werterniedrigung erwarteten Werten.

5.2.4 Diskussion

Vergleicht man die Änderungen der Löslichkeit der Elemente P und Cu durch die Zugabe organischer Säuren so zeigt sich, daß sich die Kurvenverläufe in den pH-Bereichen zwischen pH 7 und pH 4,5 bzw. pH 5 sehr ähnlich sind (Abbildung 5.3; Abbildung 5.4). Da insbesondere die Zugabe von Citronensäure und Äpfelsäure sowohl die Löslichkeit eines Anions (HPO_4^{2-}; $H_2PO_4^-$) als auch die eines Kations (Cu^{2+}) erhöhen, stellt sich die Frage nach den Mechanismen, die dafür verantwortlich sind. Die pH-Wertabsenkung besitzt offenbar für die Erhöhung der Löslichkeit von P und Cu, im Gegensatz zu den Schwermetallen Zn und Cd, kaum eine Bedeutung.

Über das Lösungs- und Adsorptionsverhalten von Phosphat gibt es zahlreiche Untersuchungen (GERKE 1995; STAUNTON UND LEPRINCE 1996; BEIßNER 1997), deren Ergebnisse mit den eigenen Resultaten zur Phosphatlöslichkeit prinzipiell übereinstimmen. Der geringe P-Lösungseffekt der Protonen (HNO_3-Variante) deutet darauf hin, daß in dem verwendeten Boden an Al/Fe-Oxide bzw. Tonminerale adsorbierte Phosphate dominieren. In Kalkböden dagegen spielen Ca-Phosphate eine wesentliche Rolle, deren Löslichkeit bei den hier erreichten pH-Werten (ca. pH 4,5) deutlich ansteigen würde (LOPEZ-HERNANDEZ ET AL. 1979).

Die Erhöhung der P-Löslichkeit in Verbindung mit der Anwesenheit organischer Säuren, insbesondere von Citrat, führte GERKE (1992) im wesentlichen auf 3 Mechanismen zurück:

1. Ligandenaustausch des an Fe/Al-Oxide adsorbierten Phosphates durch organische Anionen
2. Erniedrigung von P-Bindungsplätzen durch Komplexierung von Fe und Al, wodurch Phosphatanionen freigesetzt werden können
3. Veränderung der elektrostatischen Ladungsverhältnisse durch Adsorption von Citrat an der Festphase, wodurch die Oberfläche stärker negativ wird und andere Anionen wie das Phosphat abgestoßen werden.

Welche Mechanismen zur Erhöhung der Löslichkeit wirken bei den drei untersuchten Metallkationen?

Im Experiment ist die Wirkung der organischen Säuren auf die Löslichkeit der Schwermetalle Cu, Zn und Cd auf zwei Effekte zurückzuführen. Mit steigender Säurekonzentration werden dem Boden vermehrt H^+-Ionen zugeführt, die eine Erniedrigung des pH bewirken. Organische Säureanionen besitzen außerdem die Fähigkeit, mit Metallionen Komplexe zu bilden, wodurch die Löslichkeit von Schwermetallen erhöht werden kann. Durch die Anwesenheit von organischen Säuren kann es so zu einer drastischen Änderung der Speziesverteilung in dem System Bodenfestphase/Bodenlösung kommen (KEPPLER UND BRÜMMER 1998, zit. von SCHEFFER UND SCHACHTSCHABEL 1998).

Betrachtet man zunächst die **Abhängigkeit der Cu-, Zn- und Cd-Löslichkeit vom pH-Wert**, ohne den Einfluß von organischen Anionen, so zeigen die 3 Elemente deutliche Unterschiede (HERMS UND BRÜMMER 1984). Sinkt der pH im Boden von pH 7 auf pH 4, so ist bei Böden ganz unterschiedlicher geogener Herkunft ein fast linearer Anstieg der Zn- und Cd-Löslichkeit um etwa 2 Zehnerpotenzen zu beobachten. Für Cu bleibt die Löslichkeit zwischen pH 7 und pH 5 nahezu unverändert. Erst unterhalb von pH 5 bzw. oberhalb von pH 8 ist ein Anstieg der Löslichkeit zu beobachten (vgl. hierzu auch Kapitel 4.1.3.2). Dieser grundsätzliche Unterschied im Verhalten von Cu gegenüber den Elementen Zn und Cd zeigt sich auch in Abbildung 5.3 bzw. in den Abbildung 5.4 und Abbildung 5.5, wenn man die Effekte der gesteigerten Ansäuerung des Bodens mit HNO_3 betrachtet. Dieser unterschiedliche Charakter wird außerdem in Tabelle 5.4 deutlich, in der der Einfluß der Erniedrigung von nur 0,2 pH-Einheiten durch HNO_3 (pH 6,7) gegenüber Wasser (pH 6,9) zu sehen ist. Während bei Cu kein Effekt feststellbar war, tritt bei Zn und Cd schon eine signifikante Erhöhung der Löslichkeit auf.

Tabelle 5.4: *Einfluß von Wasser, eines Gemisches organischer Säuren, variierter Citronensäuremengen und von HNO_3 auf die Löslichkeit von P, Cu, Zn und Cd in einem Lößlehmboden; Zusammensetzung des Säuregemisches in µmol g^{-1} Boden: Oxalsäure 6,8, Citronensäure 1,0, Bernsteinsäure 0,7, Milchsäure 2,4, Ameisensäure 1,0.*

	H_2O	Gemisch	Citronensäure (µmol g^{-1} Boden)			HNO_3
		org. Säuren	0,34 µM	1,4 µM	6,9 µM	0,05 M
	pH 6,9	pH 6,7	pH 7,1	pH 7,1	pH 6,8	pH 6,7
	Konzentration der Schüttellösung in mg L^{-1} (für Cd: µg L^{-1})					
P	0,07 ^{a}	0,14 ^{b}	0,06 ^{a}	0,08 ^{a}	0,19 ^{c}	0,06 ^{a}
Cu	0,03 ^{a}	0,08 ^{b}	0,05 ^{ab}	0,07 ^{b}	0,65 ^{c}	0,04 ^{a}
Zn	0 ^{a}	0,12 ^{b}	0,02 ^{a}	0,03 ^{a}	0,59 ^{c}	0,06 ^{ab}
Cd	0,28 ^{a}	1,85 ^{c}	0,62 ^{b}	1,07 ^{b}	28,5 ^{d}	1,20 ^{b}

Daraus ergibt sich der Schluß, daß es im wurzelnahen Boden zu einer Erhöhung der Löslichkeit von Zn und Cd kommen kann, wenn der pH-Wert im Vergleich zum Ausgangswert infolge einer Exsudation von Protonen, z.B. im Zusammenhang mit einer NH_4^+-Ernährung der Pflanze (BRETELER UND SMIT 1974), um mehrere Zehntel absinkt. Für Cu sind hingegen keine Protoneneffekte im pH-Bereich zwischen 7 und 5 zu erwarten.

Erfolgt die Zufuhr der Protonen in Verbindung mit den **organischen Anionen**, so gibt es deutliche **Veränderungen bei den Elementlöslichkeiten**. Die Löslichkeit von Cu stieg mit fallendem pH und steigender Konzentration organischer Säuren im Vergleich zu Zn und Cd (Abbildung 5.3) stark an. Die höhere Löslichkeit von Cu ist somit im Wesentlichen auf die Anwesenheit der Säureanionen zurückzuführen, die mit den Cu-Ionen lösliche Komplexe bilden können. Aus Abbildung 5.4 und Abbildung 5.5 geht hervor, daß Citrat für die Löslichkeit aller 3 Schwermetalle, das Anion der Äpfelsäure (Malat) jedoch nur für Cu von großer Bedeutung war. Auf die Löslichkeit von Zn besaß Malat nur eine geringe und auf die von Cd keine Wirkung.

Tabelle 5.5: *Stabilitätskonstanten (Log K) der organischen Säure-Metall-Komplexe (MARTELL UND SMITH 1977). Das Me:L:H-Verhältnis gibt die stöchiometrische Zusammensetzung der Komplexe an, wobei Me für Metallion, L für Ligand und H für Proton stehen. Die Indizes geben die Rahmenbedingungen bei der Bestimmung der Stabilitätskonstanten an.*

	Me : L : H - Verhältnis	Citronensäure	Oxalsäure	Äpfelsäure	Milchsäure
H^+	0 : 1 : 1	5,69 [a]	3,82 [a]	4,71 [a]	3,66 [a]
	0 : 1 : 2	4,35 [a]	1,04 [a]	3,24 [a]	-
	0 : 1 : 3	2,87 [a]	-	-	-
Cu^{2+}	1 : 1 : 0	5,90 [b]	4,84 [a]	3,42 [b]	2,55 [e]
	1 : 1 : 1	3,42 [b]	2,49 [a]	2,00 [b]	-
Zn^{2+}	1 : 1 : 0	4,98 [b]	3,88 [c]	2,93 [b]	1,86 [f]
	1 : 1 : 1	2,98 [b]	1,72 [a]	1,66 [b]	-
Cd^{2+}	1 : 1 : 0	3,75 [b]	3,89 [d]	2,36 [b]	1,70 [g]
	1 : 1 : 1	2,20 [b]	-	1,34 [b]	-

Rahmenbedingungen: Temperatur (°C) / Ionenstärke

[a] = 25°C / 0,1 [b] = 20°C / 0 [c] = 25°C / 0,16 [d] = 18°C / 0

[e] = 30°C / 0,1 [f] = ? °C / 0,2 [g] = 25°C / 0

Tabelle 5.5 zeigt eine Zusammenstellung der Stabilitätskonstanten von möglichen Schwermetallkomplexen mit den organischen Säuren. Es zeigt sich, daß Cu für die Citrat- bzw. Malatkomplexe die höchsten Stabilitätskonstanten besitzt. Für die höhere Löslichkeit bei niedrigem pH-Wert ist somit für Cu in erster Linie dessen Komplexierung, bei Zn und Cd sowohl die geringe Bindung an die Bodenfestphase bei niedrigem pH als auch die Komplexierung mit Säureanionen verantwortlich.

In Tabelle 5.4 sind die Elementlöslichkeiten für höhere pH-Werte dargestellt. Durch den Zusatz geringer Citronensäuremengen (0,34 µM bzw. 1,4 µM) kam es sogar zu einem leichten Anstieg des pH von 6,9 (Wasser-Variante) auf 7,1. Die Cu-Löslichkeit stieg dabei wie erwartet im Gegensatz zu der von Zn signifikant an. Auch dieses Ergebnis zeigt, daß bei Cu die Komplexierung der dominierende Mechanismus der Elementlöslichkeit ist. Die Untersuchungen von MEYER ET AL. (1994a) zeigten ebenfalls, daß der Effekt organischer Liganden auf die Löslichkeit von Cu ausgeprägter ist als bei Zn.

Daß bei Zn neben dem pH-Effekt auch die Komplexierung für dessen Löslichkeit von Bedeutung ist, zeigten CHAIRDCHAI UND RITCHIE (1990). Sie untersuchten den Einfluß verschiedener organischer Substanzen (u. a. Citrat, Oxalat, Acetat) auf die Zn-Adsorption in einem lateritischen Boden. Die Zn-Adsorption wurde durch die organischen Liganden in dem Maße reduziert, wie organische Zn-Komplexe in Lösung gebildet wurden. Nach SCHINDLER UND STUMM (1987) besteht der Prozeß der Zn-Mobilisierung aus zwei Schritten. Die organischen Komplexbildner bilden initial ternäre Komplexe mit dem adsorbierten Zn an der Bodenfestphase. Im zweiten Schritt gehen diese Zn-Komplexe verstärkt in Lösung, da sie geringere Adsorption zeigen als die freien Kationen oder die hydroxylierten Komplexe.

Für Cd erwartet man einen ähnlichen Einfluß der organischen Säuren auf dessen Löslichkeit wie bei Zn. Auf der Basis der in Tabelle 5.5 dargestellten Log K-Werte ist aber zu erwarten, daß der Einfluß der Komplexierung etwas geringer als beim Zn ist. Tatsächlich besaß nur das Anion der Citronensäure einen Einfluß auf die Cd-Löslichkeit. Die anderen organischen Säuren zeigten keine Anionenwirkung (Abbildung 5.5). Da der verwendete Lößlehmboden eine hohe Pufferung aufweist, ist aber gerade die Cd-Löslichkeit im Bereich pH 7 bis pH 6 von Bedeutung, da er in diesem Bereich bewirtschaftet wird. Im pH-Bereich um den Neutralpunkt zeigt sich, daß die Cd-Löslichkeit stark durch die Citronensäure beeinflußt wurde (Abbildung 5.5; Tabelle 5.4). Zum gleichen Ergebnis kamen NAIDU UND HARTER (1998), die die Cd-Löslichkeit auch bei hohen pH-Werten untersucht haben und ebenfalls einen großen Effekt insbesondere von Citrat durch dessen komplexbildende Eigenschaften feststellen konnten.

Das Anion der Oxalsäure (Oxalat) wurde von Spinat und der verwandten Zuckerrübe (Tabelle 5.2) am stärksten exsudiert. Tabelle 5.5 zeigt, daß die Stabilitätskonstanten der Metall-Oxalatkomplexe zwischen denen der Citrat- und Malatkomplexe liegen. Eigentlich sollte ein mobilisierender Effekt festzustellen sein. Statt dessen zeigt Oxalsäure bei Cu kaum mobilisierende Eigenschaften, bei Zn und Cd deutete sich sogar eine Erniedrigung der durch die pH-Wertabsenkung zu erwarteten Löslichkeit an. Da Oxalsäure, anders als Äpfel- und Citronensäure, durch Anwesenheit von Ca^{2+}-Ionen leicht ausgefällt werden kann, kam es so zum einen zu einer Reduzierung der Menge des Komplexbildners in der Lösung. Zum anderen ist denkbar, daß durch einseitige Bindung der Oxalsäure an Ca^{2+}, das an Bodenkolloide adsorbiert ist, neue Adsorptionsplätze für insbesondere Zn und Cd geschaffen wurden. Bestimmt man die Änderung der Ca-Löslichkeit durch Zugabe organischer Säuren (Abbildung 9.1, Anhang) so zeigt sich, daß tatsächlich die Löslichkeit von Ca mit steigender Oxalsäureapplikation stark abnahm, während sie bei den anderen Säuren anstieg. NAIDU UND HARTER (1998) weisen außerdem darauf hin, daß bei niedrigen pH-Werten, wie sie bei den höheren Säurestufen vorlagen, die organischen Komplexbildner, insbesondere Oxalsäure aber auch Citronensäure, zu einer Festlegung von Cd führen können. Die Autoren führen dies auf eine Adsorption der negativ geladenen Cd-Komplexe an positiv geladene Bodenpartikel zurück. Durch die geschilderten Sachverhalte wird nun auch erklärbar, warum das Säuregemisch, dessen Hauptkomponente Oxalsäure war, in den höheren Applikationsstufen weniger Zn und Cd in Lösung brachte, als über die pH-Wertabsenkung zu erwarten war (Abbildung 5.3).

Bei der Milchsäure, die als Monocarbonsäure nur über eine Carboxylgruppe verfügt, ist nur von einer geringen Tendenz zur Komplexbildung mit den zweiwertigen Metallkationen auszugehen. Infolge dessen war deren Wirkung, wie es auch aus Abbildung 5.4 und Abbildung 5.5 hervorgeht, im wesentlichen auf die Protonen zurückzuführen. Insgesamt bestätigen sich die Erkenntnisse von JONES (1998), daß der Komplexierungsgrad der Metalle abhängig ist von:

- der betrachteten Säure (Anzahl der Carboxyl- bzw. OH-Gruppen),
- der Konzentration und den chemischen Eigenschaften des Kations,
- dem pH-Wert der Lösung und
- anderen physikochemischen Eigenschaften des Bodens.

5.2.5 Schlußfolgerung

Die Zugabe eines Gemisches organischer Säuren, wie es von Pflanzen exsudiert wurde, erhöht die Löslichkeit von Cu, Zn und Cd im Boden. Bei hohen pH-Werten in der Bodenlösung, wie sie bei Spinat in der Rhizosphäre vorlagen, ist somit mit einer Mobilisierung und damit einer Erhöhung der Schwermetallkonzentrationen zu rechnen. Bei hohen pH-Werten stellte die Komplexbildung von Metallionen den wesentlichen Mechanismus der Mobilisierung dar. Insbesondere Citronensäure gefolgt von Äpfelsäure spielen dabei eine große Rolle, da sie stabile Komplexe mit den Metallionen bilden können. Oxalsäure besitzt ebenfalls eine starke komplexbildende Wirkung, welche allerdings durch Ausfällung mit Ca-Ionen reduziert wird.

Bei zweikeimblättrigen Pflanzen erfolgt die Cu-, Zn- und Cd- Aufnahme durch die Wurzel als Me^{2+} (CLARKSON UND LÜTTGE 1989; WELCH ET AL. 1993; KOCHIAN 1993). Unklar ist somit, ob die Erhöhung der Löslichkeit von Cu, Zn und Cd durch Komplexierung mit organischen Säuren auch eine Erhöhung der Aufnahme der Elemente durch die Wurzel bewirkt.

Im folgenden Versuch sollte deshalb untersucht werden, ob es Unterschiede in der Aufnahme der Schwermetalle aus Metall-Citrat-Komplexen bzw. aus Lösungen mit freien Me^{2+}-Ionen gibt.

5.3 Aufnahme von komplexierten und unkomplexierten Schwermetallspezies durch Spinatwurzeln

5.3.1 Vorbemerkungen und Zielstellung

Die Anwesenheit von organischen und anorganischen Anionen in der Bodenlösung führt zur Ausbildung von gelösten anorganischen und organischen Komplexen unterschiedlicher Stabilität (KEPPLER UND BRÜMMER 1998, zit. von SCHEFFER UND SCHACHTSCHABEL 1998). In den Kapiteln 5.1 und 5.2 konnte gezeigt werden, daß Spinat unter P-Mangel verstärkt organische Säuren ausscheidet und diese im Boden die Löslichkeit der Schwermetalle Cu, Zn und Cd erhöhen können. Die Erhöhung der Gesamtlöslichkeit durch Komplexbildung kann aber zu einer Erniedrigung der Aktivität, das heißt des Anteils unkomplexierter Ionen in der Bodenlösung führen. Da bei zweikeimblättrigen Pflanzen angenommen wird, daß die Zn- und Cu-Aufnahme durch die Wurzeln im wesentlichen als Me^{2+} erfolgt (WELCH ET AL. 1993; KOCHIAN 1993), stellt sich die Frage, ob Pflanzen bei erhöhter Löslichkeit der Elemente diese auch aufnehmen können, wenn sie in zumeist komplexierter Form vorliegen.

Von Aluminium ist bekannt, daß in Böden bei $pH < 4{,}5$ die Löslichkeit von Al^{3+} ansteigt. Insbesondere solche positiv geladenen monomeren Al-Spezies führen unter diesen Bedingungen zu toxischen Effekten und zur Schädigung der Pflanzenwurzeln (HORST ET AL. 1983; ALVA ET AL. 1986; KINRAIDE UND PARKER 1990). Die Ausbildung einer Toleranz gegenüber Al-Streß konnte von FUENTE ET AL. (1997) bei Tabak auf eine erhöhte Citronensäureausscheidung der Wurzeln zurückgeführt werden, die zu einer Komplexierung von Al^{3+} in der Rhizosphäre und dadurch zu einer Reduzierung der Al-Aufnahme durch die Wurzel führte.

Die Erhöhung der Löslichkeit der Metalle als organische Komplexe bedeutet somit nicht notwendigerweise, daß die Pflanzen diese Metalle auch in erhöhtem Maße aufnehmen. Von monokotylen Pflanzen wie dem Weidelgras ist andererseits bekannt, daß sie Fe und Zn in Form von Phytosiderophor-Komplexen (Komplexe mit nichtproteinogenen Aminosäuren) direkt aufnehmen können (MARSCHNER ET AL. 1989). Auch bei dikotylen Pflanzen gibt es Hinweise, daß die Nutzung organischer Cu- und Zn-Komplexe durch die Wurzeln möglich ist. So soll nach MINNICH ET AL. (1987) *Phaseolus vulgaris* gelöstes, organisch komplexiertes Cu aus Klärschlämmen nutzen können. Nach den Ergebnissen von RÖMER ET AL. (1998b) ist es ebenfalls wahrscheinlich, daß Rotklee in der Lage ist, Cu auch aus Komplexen mit

Citronensäure bzw. Huminstoff in ähnlichen Raten aufzunehmen wie aus unkomplexierten Lösungen.

Da jedoch unklar ist, ob auch Spinat komplexierte Schwermetalle nutzen kann, sollte dieser in Nährlösung angezogen werden. Anschließend sollten den Spinatpflanzen Schwermetallösungen in Form freier bzw. an organische Säureanionen komplexierter Kationen angeboten werden. Dabei wurde Citronensäure ausgewählt, da diese im Gegensatz zur Oxalsäure, die bei Spinat mengenmäßig die dominierende exsudierte Säure darstellte, höhere Komplexbildungskonstanten besitzt und die Metallmobilisierungswirkung viel größer war als bei Oxalsäure (vgl. Kapitel 5.2). Aus der zeitlichen Abnahme der Elementkonzentrationen in den Lösungen (Verarmung) und den gemessenen Wurzellängen sollte auf die Aufnahmerate (Inflow) der Wurzeln für diese Metalle geschlossen werden.

5.3.2 Material und Methoden

Junge Spinatpflanzen der Sorte Monnopa wurden in Quarzsand für 14 Tage angezogen und danach je 4 Pflanzen in 3 Liter Gefäßen mit Nährlösung unter Klimakammerbedingungen 20 Tage weiter kultiviert (Tag/Nachtrhythmus: 12/12 h, Temperatur 20/15°C, relative Luftfeuchtigkeit 70%, photosynthetisch aktive Strahlung (PAR) 240 µE m^{-2} s^{-1}). Danach begann der eigentliche Verarmungsversuch mit den freien bzw. komplexierten Metallionen. Die Zusammensetzung der Nährlösung bis zum 20. Tag ist in Tabelle 9.4 (Anhang) beschrieben und wurde jeden zweiten Tag erneuert. Die ständige Durchmischung und Belüftung der Nährlösung erfolgte durch Einleitung eines Luftstroms.

Die P-Konzentration (6,5 µM) wurde bewußt relativ niedrig gehalten, da insbesondere die Schwermetallaufnahmekinetik von P-Mangelpflanzen untersucht werden sollte. Vier Tage vor dem Beginn des Verarmungsversuches wurde in der Nährlösungszusammensetzung das Fe-EDTA-Salz durch Eisensulfat ersetzt, damit EDTA als Komplexbildner die Versuchsdurchführung nicht störte. In den Verarmungsversuchen wurden die Nährlösungen durch Schwermetallösungen (Cd 0,5 µM, Cu 0,5 µM und für Zn 2,0 µM als Nitratsalze) ersetzt. Für die Variante mit Citronensäure-Metall-Komplexen wurden den Lösungen 10^{-4} mol L^{-1} Citronensäure zugesetzt, wobei die Ergebnisse von GERKE (1995) berücksichtigt wurden, der in der Bodenlösung von Lupine 0,2-7,5*10^{-4} mol L^{-1} Citrat gefunden hatte. Neben den genannten Verarmungslösungen wurden auch Citronensäurelösungen ohne

Metallzusatz verwendet, um die Elementdynamik an den Wurzeln nur durch Citrat verfolgen zu können. Der pH-Wert aller Lösungen wurde dabei auf pH 5-6 eingestellt. Nach dem Überführen der Wurzeln in die jeweiligen Metall-Nitrat- bzw. -Citratlösungen wurden nach 1, 2, 4, 6, 9, 12, 18 und 24 Stunden jeweils 10 ml aus den Lösungen entnommen und die Elementkonzentration mittels AAS bestimmt. Anschließend wurden die Pflanzen geerntet und die Wurzellängen (vgl. Kapitel 3.4.2) nach TENNANT (1975) bestimmt. Die Aufnahme (Inflow)- bzw. Abgaberate (Efflux) der Wurzeln ergab sich aus der Änderung der Elementkonzentration und dem Volumen der Verarmungslösungen bezogen auf die Zeit und die Wurzellänge.

5.3.3 Ergebnisse

Abbildung 5.6 A, B und C zeigen die Veränderungen der in den Verarmungslösungen gemessenen Cu-, Zn- bzw. Cd-Konzentrationen über den Zeitraum von 24 Stunden. In den Varianten **ohne Citrat** nahmen die Elementkonzentrationen bei allen 3 Elementen in der 1. Stunde sehr stark, dann etwas langsamer ab, so daß in der Folge bei Cu und Cd schon nach 4 Stunden, bei Zn aber erst nach etwa 12 Stunden die c_{Lmin}-Werte (Nettoaufnahmerate = 0) erreicht wurden. Die rasche Konzentrationsabnahme bei den Metallionen deutet darauf hin, daß es in den ersten Stunden zwischen AFS (Zellwände) und der Verarmungslösung zu einer Gleichgewichtseinstellung kam, wobei vermutlich ein größerer Teil der unkomplexierten Kationen an den Zellwänden adsorbiert wurde. Nach Erreichen dieses Gleichgewichtszustandes ließen sich aus der zeitlichen Abnahme der Elementkonzentrationen in den Lösungen Aufnahmeraten der Wurzeln ermitteln. Wenn diese pro Zeiteinheit für mehrere Stunden auf ähnlich hohem Niveau liegen, kann davon ausgegangen werden, daß eine Aufnahme durch das Plasmalemma in den Symplasten erfolgt. Beim Element Zn war diese Bedingung erfüllt, denn es zeigte sich, daß die Aufnahmeraten zwischen der 1. und 6. Stunde relativ konstant zwischen 7,2- und $4{,}8 \cdot 10^{-15}$ mol cm^{-1} s^{-1} lagen. Danach sanken die Aufnahmeraten ab, da sich die Konzentration in der Verarmungslösung c_{Lmin} annäherte, bei der keine Nettoaufnahme der Wurzel mehr erfolgte.

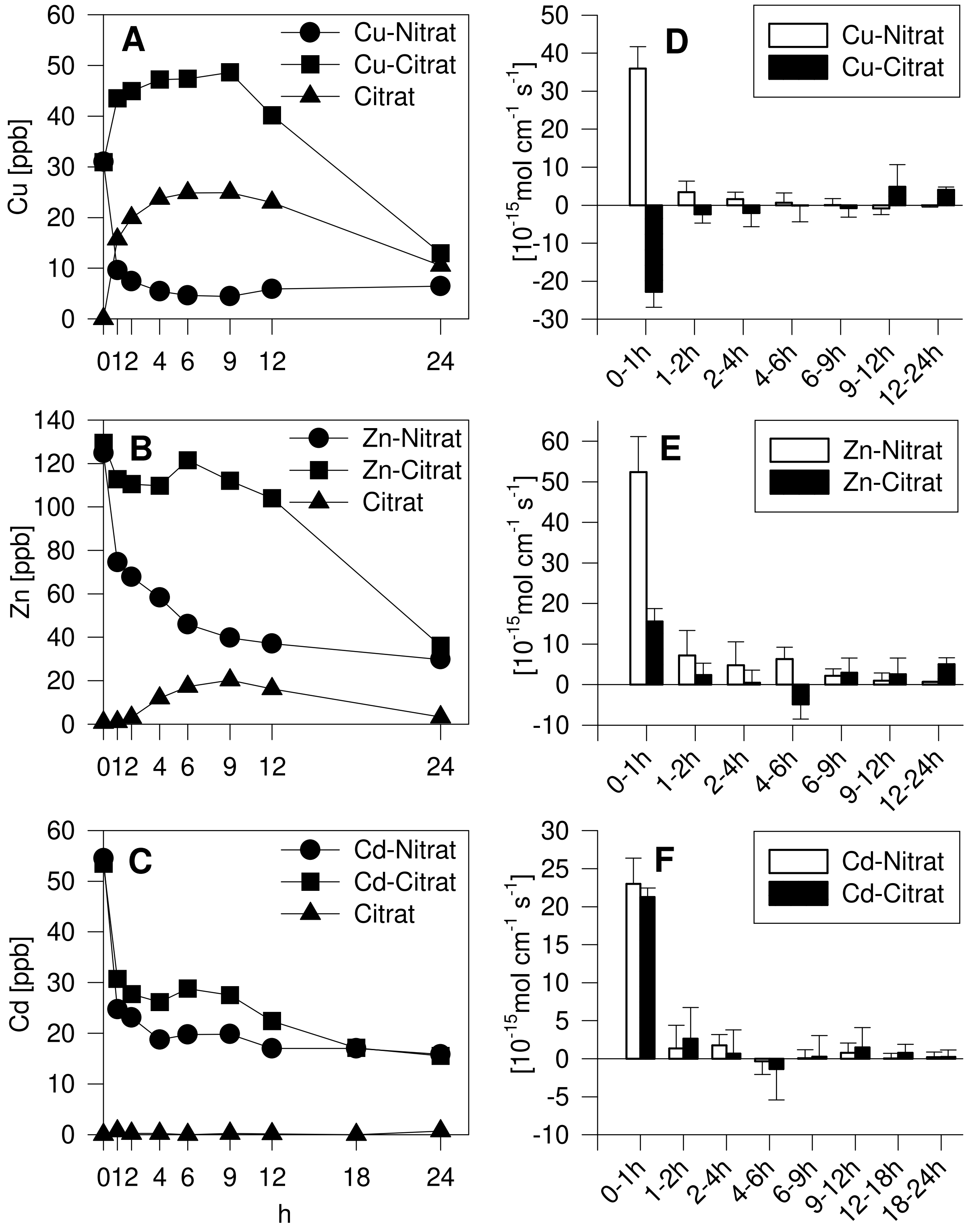


Abbildung 5.6: *Änderung der Cu-(A), Zn-(B) und Cd-Konzentrationen (C) in den angebotenen Schwermetallösungen mit und ohne Zusatz von 10^{-4}M Citronensäure bei pH 5-6 während 24 Stunden sowie die Cu-(D), Zn-(E)- und Cd-Inflow- bzw Effluxwerte (F) bei Spinatwurzeln. Die Balken in den Abbildungen D-F zeigen die Standardabweichungen (SD) von 4 Wiederholungen.*

Für die Cu- und Cd-Nitratvarianten ließen sich keine Aussagen über stabile Aufnahmeraten machen, da bereits ein bis vier Stunden nach Gleichgewichtseinstellung die Konzentration der Verarmungslösung nahe c_{Lmin} lag. In weiteren Versuchen müßten daher höhere Konzentrationen bzw. größere Lösungsvolumina angeboten werden, um entsprechend hohe Aufnahmeraten über mehrere Stunden beobachten zu können.

Die **Anwesenheit von 10^{-4} M Citronensäure** veränderte die Entleerung der Verarmungslösungen bei Cu und Zn eindeutig (Abbildung 5.6, A, B), während beim Cd der Effekt nur sehr gering war (Abbildung 5.6, C). Beim Cu nahm die Konzentration nicht ab, sondern stieg bis zur 6. Stunde sogar um ca. 20 ppb auf ca. 50 ppb an, blieb bis zur 9. Stunde etwa konstant und sank erst dann bis zur 24. Stunde auf ca. 10 ppb ab. Auch beim Zn erfolgte die Einstellung eines Gleichgewichtes zwischen AFS und Lösung. Zunächst war eine geringe Abnahme der Konzentration um ca. 20 ppb auf 110 ppb erkennbar, die dann aber zwischen der 1. und 9. Stunde etwa konstant blieb, um später wie beim Cu bis zum Versuchsende auf den c_{Lmin}-Wert abzusinken.

Beim Cd verläuft die Verarmungskurve mit Citronensäure sehr ähnlich wie die ohne Zusatz von Citronensäure, aber c_{Lmin} wird ohne Citrat schon nach 4 Stunden, mit Citronensäure erst nach 18 Stunden erreicht.

Nach Einstellung des Gleichgewichtszustandes (nach ca. 9 Stunden) ließen sich bei der Cu-Citratvariante Aufnahmeraten von $4{,}9\text{-}4{,}0 \cdot 10^{-15}$ mol cm^{-1} s^{-1} ermitteln. Bei Zn-Citrat erreichte die Aufnahme Raten von $2{,}5\text{-}5 \cdot 10^{-15}$ mol cm^{-1} s^{-1}, die sich nicht signifikant von denen der Zn-Nitratvariante (2. bis 6. Stunde) unterschieden. Für Cd ließen sich für diesen Zeitraum (9-24h) auch in der Cd-Citratvariante keine Aufnahmeraten bestimmen, da die Cd-Konzentrationen schon annähernd c_{Lmin} erreicht hatten. Die Varianten mit reiner Citronensäure zeigten, daß vermutlich Cu- und Zn-Ionen, die an der Wurzeloberfläche bzw. dem Apoplasten durch die vorausgegangene Anzucht in Nährlösung adsorbiert, aber noch nicht von der Wurzel aufgenommen wurden, durch Einwirken der Citronensäure in Lösung gebracht wurden. Nach der Gleichgewichtseinstellung (nach ca. 9 Stunden) erfolgte auch aus diesen Lösungen eine Aufahme bis zum Erreichen der c_{Lmin}-Konzentration. Da Cd kein Bestandteil der Nährlösung war, konnten hier auch keine Effekte beobachtet werden.

5.3.4 Diskussion

Die wesentliche Ursache für das unterschiedliche Verhalten der 3 Elemente bei der Entleerung der Verarmungslösung ist im Komplexierungsgrad der 3 Elemente mit der Citronensäure zu sehen.

Tabelle 5.6: *Reaktionen der Bildung wichtiger Metallkomplexe und die zugehörigen Stabilitätskonstanten (log K) für die Elemente Cu, Zn und Cd.*

Gleichgewichtsreaktionen	Cu log K	Zn log K	Cd log K
$\frac{[MeOH^+][H^+]}{[Me^{2+}]} = K_1$	-7,7	-7,69	-10,10
$\frac{[MeNO_3^-]}{[Me^{2+}][NO_3^-]} = K_2$	1,0	0,40	-0,31
$\frac{[Me-Citrat^-]}{[Me^{2+}][Citrat^{3-}]} = K_3$	5,90	4,98	3,75

Aus den Stabilitätskonstanten der wichtigsten in den applizierten Lösungen vorhandenen Metallspezies (Tabelle 5.6) unter Berücksichtigung der Rahmenbedingungen (pH 6; CO_2-Partialdruck = 0,03 bar; 10^{-6} M NO_3^- (Cu, Cd); $4*10^{-6}$ M NO_3^- (Zn); 10^{-4} M Citronensäure) läßt sich der Komplexierungsgrad der Metallionen (Me^{2+}) in Lösung nach folgender Gleichung berechnen:

Gleichung 5.2: $$[Me_t] = [Me^{2+}] + [MeOH^+] + [MeNO_3^-] + [Me-Citrat^-]$$

Formt man die in Tabelle 5.6 gezeigten Reaktionsgleichungen nach den gebildeten Komplexen um und setzt diese in Gleichung 5.2 ein so erhält man:

Gleichung 5.3: $$[Me_t] = [Me^{2+}] \bullet \left(1 + \frac{K_1}{[H^+]} + K_2[NO_3^-] + K_3[Citrat^{3-}]\right)$$

Durch Einsetzen der Stabilitätskonstanten und Konzentrationen in die Gleichung ergeben sich dann die in Tabelle 5.7 aufgeführten Speziesverteilungen in den Lösungen.

Tabelle 5.7: *Cu-, Zn- und Cd-Speziesverteilung in den applizierten Schwermetallösungen bei Zusatz von 10^{-4} M Citronensäure (pH 5-6) unter Verwendung der Stabilitätskonstanten nach MARTELL UND SMITH (1977) für die wichtigsten gebildeten Komplexe.*

	Elementkonzentration in Lösung	$[Me^{2+}]$	$[MeOH^{+}]$	$[MeNO_3^{+}]$	$[Me\text{-}Citrat^{-}]$
			(%)		
Cu	0,5 µM	1,2	0,025	0,0003	98,7
Zn	2,0 µM	9,5	0,19	0,0001	90,3
Cd	0,5 µM	64	0,0051	0,00003	36

Bei einer Citratkonzentration von 10^{-4} M zeigt sich, daß 99% der Cu-, 90% der Zn- und 36% der Cd-Ionen mit der Citronensäure Komplexe bilden. Dieser unterschiedliche Komplexierungsgrad erklärt auch die Effekte die bei der Gleichgewichtseinstellung der Citronensäurevarianten mit dem AFS auftraten. Aufgrund der hohen Stabilität der Cu-Citratkomplexe und der hohen Citronensäurekonzentration wurden offenbar Cu-Ionen aus dem Apoplasten herausgelöst, wie auch bei der reinen Citronensäurevariante zu erkennen war. Die Stabilitätskonstante für Zn-Citrat ist etwas kleiner, deshalb war auch der Effekt der Zn-Freisetzung aus den Wurzeln geringer aber noch gut meßbar. Dieser Prozeß der Freisetzung von Cu und Zn aus dem AFS überlagert zu Versuchsbeginn den Prozeß der Aufnahme. Erst nach ca. 9 Stunden stellte sich ein Gleichgewichtszustand zwischen dem AFS und der Verarmungslösung ein, wodurch die Beobachtung der Aufnahme möglich wurde. Nach Erreichen des Gleichgewichtes ist bei allen 3 Elementen die Konzentration in den Verarmungslösungen abgesunken, woraus sich schließen läßt, daß die Pflanzen in der Lage waren, Elemente auch aus Citratkomplexen aufzunehmen.

Unklar ist allerdings, ob nach 9 Stunden schon ein mikrobieller Citratabbau eingesetzt hatte, der zur Freisetzung unkomplexierter Ionen führte, die offenbar von den Wurzeln rasch aus der Lösung entnommen werden können. Den Abbau von Äpfelsäure, Fumarsäure und t-Aconitsäure in wäßrigen Lösungen bzw. einem Sandboden haben NEUMANN ET AL. (1996) untersucht. Sie kommen zu dem Ergebnis, daß in Wasser nach 48 Stunden noch kein Abbau festzustellen war und auch im Boden nach 24 Stunden noch zwischen 86 und 91% der Säuren wiederzufinden waren. Deshalb scheint ein starker Abbau der Citronensäure durch Mikroben, welche die Wurzeloberfläche besiedeln, wenig wahrscheinlich, müßte aber in weiteren Versuchen überprüft werden.

Ergebnisse verschiedener Autoren (MINNICH ET AL. 1987; PARKER ET AL. 1992; RÖMER ET AL. 1998b) haben gezeigt, daß Pflanzenwurzeln in der Lage sein können, komplexierte Metallionen zu nutzen. Dabei werden verschiedene Mechanismen der Nutzbarmachung diskutiert. PARKER ET AL. (1992) zeigten, daß in Nährlösung eine Zn^{2+}-Aktivität von 10^{-11}-10^{-12} M für Tomate ausreichend war, wenn gleichzeitig hohe Konzentrationen an organisch komplexiertem Zn in Lösung vorhanden waren. Dies läßt den Schluß zu, daß die Kinetik der Nachlieferung unkomplexierter Zn-Ionen aus den Komplexen zur Gleichgewichtseinstellung genügend schnell abläuft, um freie Zn^{2+}-Ionen an der Wurzeloberfläche bereitzustellen. WELCH ET AL. (1993) fanden bei *Pisum sativum* bei Fe- bzw. Cu-Mangel eine erhöhte Reduktionsrate an der Wurzel. Sie weisen auf die Möglichkeit spezifischer plasmalemmagebundener Reduktasen hin, die das Cu(II) in organischen Komplexen zu Cu(I) reduzieren. Dadurch kann die Stabilität der Komplexe erniedrigt und Cu^{-}-Ionen freigesetzt werden, die nach Aufoxidation zu Cu^{2+}-Ionen von der Wurzel aufgenommen werden können. Für die Möglichkeit eines solchen Mechanismus spricht, daß zwar die Cu-Aufnahme, nicht aber die Zn-Aufnahme bei diesen Autoren erhöht war.

Die Aufnahme von Metallkomplexen durch die Membran schließen BARBER UND LEE (1974; zit. von MARSCHNER 1995) zumindest für EDTA-Komplexe aus. In die gleiche Richtung weisen auch die Ergebnisse von TYLER UND MCBRIDE (1992). Bei Mais und Bohnen war in Nährlösungskultur die Aufnahme von Cd nach Komplexierung mit Huminsäure deutlich erniedrigt. CABRERA ET AL. (1988) kamen bei ähnlichen Versuchen mit Gerste zum gleichen Ergebnis. Die Autoren erklären diesen Effekt in erster Linie durch eine Verringerung der Cd-Aktivität, wobei allerdings die Verringerung der Aktivität größer als die Verringerung der Cd-Aufnahme war. Untersuchungen von CIESLINSKI ET AL. (1998) zeigten wiederum, daß die Exsudation organischer Säuren in eindeutigem Zusammenhang mit der Cd-Verfügbarkeit und der Cd-Akkumulation in Weizen steht, wobei aber der Aufnahmemechanismus unklar ist.

Wahrscheinlich ist die Natur des Komplexbildners (Log K-Werte) in der Rhizosphäre von entscheidender Bedeutung für die Löslichkeit und die Stabilität der Verbindungen. Neben der Stabilität der gebildeten Metallkomplexe, die einen Einfluß auf die Kinetik der Freisetzung unkomplexierter Metallionen haben dürfte, ist es auch denkbar, daß die Größe der Metallkomplexe eine Rolle spielen kann. So dürfte die Diffusion zur Wurzeloberfläche für an sehr große Huminstoffe komplexierte Metalle zwar erleichtert, ein Eindringen in den AFS aber aufgrund sterischer Effekte weniger wahrscheinlich sein als beispielsweise für kleinere, mobilere Metall-Citronensäurekomplexe.

Diese Überlegungen machen deutlich, daß

1. eine genauere Untersuchung der Zusammensetzung der Wurzelexsudate,
2. die Speziierung der Metallkomplexe insbesondere in der Rhizosphärenbodenlösung unter Einbeziehung der Huminsäuren und
3. Kenntnisse über die Verfügbarkeit der Metalle aus den einzelnen Spezies

nötig sind, um Prognosen für die mögliche Schwermetallaufnahme durch bestimmte Pflanzenarten bzw. Sorten zu treffen.

5.3.5 Schlußfolgerung

Die Experimente mit 10^{-4} M Citronensäure haben gezeigt, daß insbesondere bei Cu und Zn mit einer sehr hohen Komplexierung durch das Anion der Citronensäure zu rechnen ist. Die Aufnahme von Cu und Zn wird aber in den ersten 9 Stunden durch Komplexierungreaktionen von am AFS adsorbierten Cu- und Zn-Ionen mit der Citronensäure überlagert. Danach ließen sich für Cu und Zn in der Zeit zwischen der 9. und 24. Stunde Inflow-Werte bestimmen, die auf eine Nutzung dieser Elemente aus den Citratkomplexen schließen lassen. Allerdings müßte in entsprechenden Versuchen die Stabilität des Citrates (Mikrobenabbau?) überprüft werden.

Eine 36%-ige Komplexierung des Cd hatte keine Konsequenz für dessen Aufnahme im Vergleich zu Cd-Lösungen ohne Citrat. In neuesten Arbeiten (GERKE ET AL. 1999) wurden aber in der Bodenlösung von Weißlupinen (Proteoidrhizosphäre) 10^{-3} M Citrat gemessen. Diese um eine Zehnerpotenz höhere Citronensäurekonzentration läßt die Komplexierung aller 3 Elemente weiter ansteigen mit der Folge, daß die Aufnehmbarkeit der 3 Elemente auch unter solchen Bedingungen zu prüfen ist, denn dann sind insbesondere für das Cd andere Verhältnisse (Aufnahmeraten) zu erwarten.

Insgesamt deutet sich aber an, daß die Nutzung von Schwermetallen aus Komplexen mit organischen Säuren durch die Pflanzenwurzel wahrscheinlich ist und so eine Erhöhung der Elementlöslichkeit durch Wurzelausscheidungen auch zu erhöhten Aufnahmen von Cu, Zn und Cd führen kann.

Allerdings bleibt zu beachten, daß die Übertragung der in Nährlösung erzielten Ergebnisse auf Bodenkulturen nicht ohne weiteres möglich ist. Aus den Ergebnissen in Kapitel 5.2 geht zwar hervor, daß organische Säuren die Löslichkeit von Schwermetallen im Boden erhöhten. Allerdings können aufgrund der Komplexität der Zusammensetzung der Rhizosphärenbodenlösung und der dadurch entstandenen Metallspezies unterschiedlichster Stabilität keine gesicherten Aussagen über die Aufnehmbarkeit der Metalle gemacht werden. Die eindeutige Beantwortung der Frage, ob die Metallkomplexierung in der Rhizosphäre die Aufnahme durch die Pflanzen erhöht oder aber auch einen Detoxifikationsmechanismus, z.B. für erhöhte Cd-Gehalte im Boden darstellen könnte, bleibt noch offen.

6 Abschließende Betrachtung

Die durchgeführten Untersuchungen haben gezeigt, daß die Mechanismen der Schwermetallmobilisierung und Aufnahme durch Pflanzen sehr komplex sind. Neben physikochemischen Bodeneigenschaften spielen insbesondere morphologische und physiologische Pflanzeneigenschaften eine große Rolle. Die Bodeneigenschaften bilden dabei die Ausgangssituation, wobei neben den Schwermetall-Gesamtgehalten insbesondere der pH-Wert, der Gehalt an organischer Substanz und der Tongehalt, sowie die Bindungsformen der Schwermetalle im Boden über den Anteil der mobilen und pflanzenverfügbaren Fraktion entscheiden.

Diese Ausgangssituation wird von den Pflanzen in unterschiedlicher Weise genutzt und beeinflußt. Pflanzen mit großen Wurzelsystemen stehen zu einer größeren Bodenmenge in Kontakt. Die Ergebnisse in Kapitel 4.2 zeigen, daß es eine positive Beziehung zwischen den Kupfer-, Zink- und Cadmiumgehalten der Sprosse von 11 Spinatsorten und dem Wurzel-Sproß-Verhältnis gibt. Andererseits zeigen die in Kapitel 4.1 dargestellten Resultate, daß sich zwischen verschiedenen Pflanzenarten keine solche Beziehung aufzeigen läßt. Weidelgras und Rotklee verfügen über ein viel größeres Wurzelsystem relativ zum Sproß als Spinat, die Schwermetallgehalte in den Sprossen liegen aber meist deutlich unter denen von Spinat.

Dies zeigt, daß der Leistung der Einzelwurzel eine große Bedeutung zukommt. Im Vergleich der Sorten ist die genotypische Varianz dieser Eigenschaft weniger groß als beim Vergleich zwischen Pflanzenarten. So finden HELAL ET AL. (1990) bei Spinat 41-64 mal höhere Elementaufnahmeraten als bei Bohnen, obwohl das Wurzelsystem der Bohnen 16 mal größer als beim Spinat war. Sie schließen aus ihren Ergebnissen, daß bei ausreichender Elementkonzentration in der Rhizosphärenbodenlösung physiologische Wurzelparameter wie die maximale Aufnahmerate (I_{max}) von größter Bedeutung sind. Die maximale Aufnahmerate ist dabei ein Maß für die Aufnahmeleistung einer Wurzel, die durch die Höhe des passiven Durchtrittes von Metallionen durch Ionenkanäle und von aktiven Aufnahmemechanismen, wie z.B. den von CLARKSON UND LÜTTGE (1989) diskutierten gemeinsamen Transporter für Cu-, Zn- und Cd-Ionen, in den Zellmembranen bestimmt wird.

Neben der „Durchlässigkeit“ der Zellmembranen, die einen Einfluß auf die Aufnahme von Schwermetallen hat, ist die Konzentration der betreffenden Elemente in der Rhizosphärenbodenlösung sowie deren Antransport durch Diffusion und Massenfluß

entscheidend. Die Bodenlösungskonzentration wird dabei durch die oben erwähnten Bodeneigenschaften und den Wechselwirkungen zwischen der Pflanzenwurzel und dem diese umgebenden Boden (Rhizosphäre) bestimmt. Auch die mikrobielle Aktivität in dieser Bodenzone kann dabei eine Rolle spielen (DEUBEL 1996).
Es ist bekannt, daß Pflanzenwurzeln die physikochemischen Prozesse in der Rhizosphäre, insbesondere bei Nährstoffmangel duch Ausscheidung organischer und anorganischer Stoffe beeinflussen können. Neben Protonen, die den pH-Wert absenken, kommt es so auch zur Ausscheidung von organischen Verbindungen wie Aminosäuren, Zuckern und organischen Säuren. Aufgrund ihrer chelatisierenden Wirkung kommt dabei den mehrwertigen organischen Säuren eine besondere Bedeutung zu. In Kapitel 5.1 konnte so gezeigt werden, daß es zwischen den Spinatsorten Monnopa und Tabu quantitative Unterschiede in der Säureexsudation gibt. Die qualitative Zusammensetzung der Säureanteile in den Wurzelexsudaten ist hingegen weitgehend identisch. Betrachtet man die Wirkung der organischen Säuren im Boden, so zeigt sich, daß diese die Löslichkeit von Cu, Zn und Cd erhöhen. Dabei gibt es allerdings große Unterschiede in der Effektivität der einzelnen Säuren sowie in den Wirkmechanismen. Die Löslichkeit von Cu ist vor allem auf die Komplexierung mit den Säureanionen zurückzuführen. Bei den Elementen Zn und Cd wird die Löslichkeit zum Teil durch Komplexierung der Ionen, in erster Linie aber durch Änderungen im pH-Wert beeinflußt. Erst bei hohen pH-Werten tritt der Anioneneffekt in den Vordergrund. Citrat erwies sich in den Versuchen als das effektivste Säureanion. Die Wirkung von Oxalsäure, der dominierenden Komponente in den Spinatexsudaten, die ebenfalls komplexierend auf Schwermetalle wirkt, wird im Versuch durch Ausfällung mit Ca-Ionen reduziert.
Die Ergebnisse in Kapitel 4.3 zeigen, daß die Schwermetallkonzentrationen in den Rhizosphärenbodenlösungen von Spinatpflanzen, die unter P-Mangel leiden, zum Teil signifikant ansteigen. Zusätzlich zeichnet sich die Sorte Tabu, die höhere Exsudationsraten aufweist als die Sorte Monnopa, durch höhere Schwermetallöslichkeiten in der Rhizosphäre aus. Diese Ergebnisse erhärten die Vermutung, daß es zwischen diesen Ergebnissen einen Zusammenhang gibt. Allerdings ist nicht ganz eindeutig zu beweisen, ob diese Erhöhung der Löslichkeit in erster Linie auf die Anwesenheit der von den Wurzeln ausgeschiedenen organischen Säuren zurückzuführen ist. Andere nicht berücksichtigte Exsudatkomponenten könnten ebenfalls einen Einfluß in der Rhizosphäre ausüben. So beschreibt DEUBEL

(1996), daß die Zuckerfraktion der Exsudate Mikroorganismen als Nahrungsquelle dienen kann. Diese Mikroorganismen, die vermehrt in der Rhizosphäre zu finden sind, scheiden als Stoffwechselprodukte, u.a. ebenfalls organische Säuren aus, die die Löslichkeitsverhältnisse in der Rhizosphäre zusätzlich verändern.

Die Erhöhung der Löslichkeit der Schwermetalle kann sich somit auf die Aufnahmekinetik auswirken, wobei die Aufnahmerate der Wurzel erhöht wird. Unklar ist allerdings, ob die komplexierten Metallionen gleichermaßen von der Wurzel aufgenommen werden können wie die freien, unkomplexierten Ionen.

In Kapitel 5.3 konnte in einem 24 Stunden-Experiment gezeigt werden, daß nach der Einstellung eines Gleichgewichtes zwischen der Wurzel und den Verarmungslösungen (komplexierte Cu- bzw. Zn-Ionen) die Nutzung der komplexierten Metalle mit ähnlichen Aufnahmeraten beobachtet werden konnte wie bei den unkomplexierten Varianten. Allerdings wurde bei den Versuchen ein möglicher Abbau der Citronensäure infolge von Mikroorganismen nicht überprüft.

Versucht man diese Ergebnisse auf die Verhältnisse im Boden zu übertragen, so scheint im Zusammenhang mit einer erhöhten Exsudation an organischen Säuren und einer dadurch bedingten Erhöhung der Schwermetallöslichkeit auch eine erhöhte Aufnahme von Cu, Zn und Cd wahrscheinlich zu sein. Zumindest bei der Sorte Tabu ist das auch zu beobachten.

Da aber auch zu berücksichtigen ist, daß TYLER UND MCBRIDE (1992) eine Verringerung der Cd-Aufnahme bei Mais und Bohnen durch Komplexierung mit Huminsäure festgestellt haben, spielt offenbar die Natur des Liganden eine große Rolle. Der Speziesverteilung in der Rhizosphärenbodenlösung kommt so große Bedeutung zu, da aufgrund derer Komplexität, insbesondere durch die in stets wechselnder Zusammensetzung vorkommenden organischen Bodensubstanz, bis heute keine gesicherten Aussagen über die Aufnehmbarkeit der Metalle gemacht werden können. Metallspeziierungen der Bodenlösungen dürften hier weiterhelfen.

Die Verteilung der aufgenommenen Schwermetalle in der Pflanze stellt den letzten Schritt dar, der bei der Entstehung von höheren oder geringeren Schwermetallgehalten der Sprosse zu berücksichtigen ist. Dabei spielen Mechanismen wie die Ausscheidung bereits aufgenommener Schwermetalle (COSTA UND MOREL 1993) ebenso eine Rolle wie das unterschiedliche Rückhaltevermögen der Wurzeln, das insbesondere element- und pflanzenspezifisch ist. In Kapitel 4.2 wurde gezeigt, daß bei Spinat in der ausreichend mit P versorgten Variante die Cu-Gehalte in den

Wurzeln 17 mal höher waren als im Sproß. Bei Cd und Zn lagen sie nur um Faktor 2,6 bzw. 1,1 höher. Gründe hierfür können zum einen eine unterschiedliche Festlegung in der Wurzel und/oder Unterschiede in den Transportmechanismen zum Sproß liegen. Neben den morphologischen und physiologischen Wurzeleigenschaften sind in diesen Mechanismen, die zu einer unterschiedlichen Ausprägung der Wurzel-Sproß-Barriere führen, die wesentlichen Gründe für die Unterschiede zwischen Pflanzenarten zu vermuten.

Insgesamt ergibt sich:
Die insbesondere bei P-Mangel beobachtete verstärkte Exsudation von organischen Säuren erhöht die Löslichkeit von Cu, Zn und Cd in der Rhizosphäre bei Spinat deutlich (bei Cu durch Anioneneffekte, bei Zn und Cd durch pH und Anioneneffekte). Wenn auch das WSV offenbar für hohe Schwermetallgehalte in den Spinatsorten hohe Bedeutung hat, so wirkt sich offenbar die genotypisch variierte Säureexsudation und damit veränderte Schwermetallöslichkeit in der Rhizosphäre klar auf die Schwermetallgehalte in den Sprossen aus. Diesen Schluß lassen jedenfalls die Differenzen zwischen den Sorten Monnopa (niedrige Schwermetallgehalte) und Tabu (hohe Schwermetallgehalte) zu. Der Einfluß anderer Komponenten der Wurzelexsudate und der Einfluß der Mikroorganismen auf die Schwermetallöslichkeit muß allerdings noch mit berücksichtigt werden. Hier besteht Forschungsbedarf. Spinatsorten mit geringer Exsudationsrate organischer Säuren wären also in Hinsicht auf geringe Schwermetallgehalte der Sprosse positiv zu bewerten. Aufgrund fehlender Kenntnisse über die genaue Spezieszusammensetzung in der jeweiligen Rhizosphärenbodenlösung und deren Nutzbarkeit durch die Pflanze kann allerdings nicht ausgeschlossen werden, daß Wurzelexsudate im Einzelfall auch eine detoxifizierende Wirkung besitzen. Es deutet sich aber an, daß die Eigenschaften „kleines WSV" und wahrscheinlich auch „niedrige Exsudationsraten organischer Säuren" aufgrund der vorliegenden Ergebnisse als Selektionskriterium für Spinat auf niedrige Schwermetallgehalte geeignet sind. Allerdings ist zu vermuten, daß allein dadurch die insgesamt sehr hohen Schwermetallgehalte im Spinat auf belasteten Flächen nicht entscheidend gesenkt werden können.

7 Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war es, nach Zusammenhängen zwischen den Schwermetallgehalten (Cu, Zn, Cd) in den Sprossen mehrerer Kulturpflanzenarten (Weißlupine, Rotklee, Weidelgras und Spinat) und Parametern des Bodens (u.a. Textur, pH-Wert, Schwermetallgehalt und Schwermetallöslichkeit) sowie dem Nährstoffaneignungsvermögen dieser Pflanzen zu suchen, wobei insbesondere die genotypischen Unterschiede zwischen den Spinatsorten Monnopa und Tabu im Mittelpunkt stehen. Hierzu wurden Gefäßversuche mit verschiedenen Böden durchgeführt, um:

- die Schwermetallgehalte in den Pflanzen, sowie deren wurzelmorphologischen Kenngrößen,
- die Änderung der Konzentrationen der Schwermetalle in der Bodenlösung und
- die Schwermetallaufnahmeraten der Wurzeln zu bestimmen.

Da Grund zu der Annahme bestand, daß die Exsudation organischer Säuren in der Rhizosphäre die Löslichkeit von Schwermetallen und eventuell auch deren Aufnahme verändert, wurden außerdem Experimente durchgeführt zur:

- Ermittlung der Exsudation organischer Säuren bei den Spinatsorten Monnopa und Tabu in Abhängigkeit von der P-Ernährung,
- Bestimmung der Löslichkeitsänderung von Schwermetallen im Boden bei Zugabe von organischen Säuren,
- Aufnahme von Cu, Zn und Cd aus komplexierten und nicht komplexierten Lösungen.

Folgende Resultate wurden erzielt:

1. Für die Prognose der Cu-, Zn- und Cd-Konzentrationen in den Sprossen von Nahrungs- und Nutzpflanzen ist die Bodenextraktion mit 1 M NH_4NO_3 besser geeignet als die Gesamtschwermetallgehalte der Böden. Die somit extrahierten Anteile entsprechen der mobilen Schwermetallfraktion im Boden. Es zeigte sich weiterhin, daß der pH-Wert des Bodens einen großen Einfluß auf die Mobilität der Elemente Zink und Cadmium hatte.

   Beim Vergleich der Schwermetallakkumulation von Weißlupine, Rotklee, Weidelgras und Spinat auf den verschiedenen Böden wurde deutlich, daß pflanzenartspezifischen Eigenschaften eine große Bedeutung zukommt. ***Insbesondere Spinat zeigte bei Zn und Cd stets höchste Sproßgehalte*** in allen Varianten. Auch zeigten sich Sortenunterschiede zwischen den 2 näher untersuchten Spinatsorten, wobei ***die Cu-, Zn- und Cd-Gehalte bei der Sorte Tabu generell, teilweise sogar signifikant höher waren als bei der Sorte Monnopa***.

2. Bei der Anzucht von 11 Spinatsorten im Gefäßversuch wurde die genotypische Sortenvarianz der Cu-, Zn- und Cd-Gehalte in der Sproßmasse näher bestimmt und Beziehungen zwischen den Schwermetallgehalten der Sprosse und dem P-Ernährungszustand sowie den Faktoren des Aneignungsvermögens für Schwermetalle aufgezeigt. Hierbei wurden folgende Ergebnisse erzielt:

- Bei ausreichender P-Versorgung wurden vor allem für die Elemente Zn und Cd große zum Teil signifikante Sortenunterschiede in den Sproßgehalten festgestellt.
- ***Bei P-Mangel fanden sich in allen untersuchten Spinatsorten signifikant höhere Schwermetallgehalte in den Sprossen als bei ausreichender P-Versorgung, wobei die Sortenunterschiede zum Teil noch deutlicher hervortraten***.
- Resultierend aus den vorliegenden Ergebnissen lassen sich die Sorten ***Monnopa, Kerdion und Subito für den Anbau empfehlen***, da sie hohe Trockenmasseerträge bei vergleichsweise niedrigen Schwermetallgehalten aufwiesen.
- Die Untersuchung morphologischer Wurzelparameter ergab, daß das ***Wurzellängen-Sproßmassen-Verhältnis (WSV) positiv mit den Cu-, Zn- und Cd-Gehalten der Spinatsprosse korreliert war.*** Daraus ist zu schließen, daß bei vergleichbarer Sproßmasse ein größeres Wurzelsystem, das für die Pflanze das aufnehmende Organ darstellt, einen höheren Schwermetallgehalt der Sprosse bedingt.
- Eine Residuenanalyse ergab, daß es für die Elemente Cu und Zn eine positive Beziehung zwischen den P-Gehalten und den Schwermetallgehalten im Sproß, relativ zum WSV gibt. Daraus kann geschlossen werden, daß Prozesse, die sich auf die P-Aufnahme auswirken, auch für die Verfügbarkeit zumindest von Cu und Zn von Bedeutung sind.

3. Die eingehendere Untersuchung der Spinatsorten Monnopa und Tabu im Gefäßversuch ergab, daß beide Sorten bei hohem P-Angebot ähnliche Schwermetallgehalte in den Sprossen besaßen. Bei ***niedrigem P-Angebot hatte***

die Sorte Tabu im Vergleich zu Monnopa leicht erhöhte Cu- aber signifikant erhöhte Zn- und Cd-Gehalte in den Sprossen. Im Zusammenhang damit wurden bei der ***Sorte Tabu*** leicht erhöhte Cu- bzw. ***signifikant erhöhte Zn- und Cd-Gesamt- bzw. Sproßinflow-Werte**** sowie ***signifikant erhöhte Cu-, Zn- und Cd-Konzentrationen in der Bodenlösung*** festgestellt.

4. Zur Bestimmung der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung von Wurzelexsudaten wurde eine HPLC-Methode ausgearbeitet, mit deren Hilfe sich 14 organische Säuren bestimmen lassen.

5. Zur Bestimmung organischer Säuren in den Wurzelexsudaten der Spinatsorten Monnopa und Tabu wurden diese in Quarzsand bei variierter P-Ernährung angezogen, vorsichtig ausgewaschen und deren Wurzelexsudate in Wasser gesammelt. Dabei wurden folgende Ergebnisse erzielt:

- In den Wurzelexsudaten der Spinatsorten Monnopa und Tabu wurde ein ***weitgehend identisches Säuremuster identifiziert.*** Neben den ***Hauptkomponenten Oxalsäure, Citronensäure, Äpfelsäure, Malonsäure, Bernsteinsäure und Milchsäure***, konnten auch Spuren von 2-Oxoglutarsäure, Brenztraubensäure, Essigsäure und Fumarsäure, bei der Sorte Tabu zusätzlich noch Glutarsäure nachgewiesen werden.
- Bei ausreichender P-Ernährung zeigten sich bei der Sorte Tabu insgesamt höhere Ausscheidungsraten als bei der Sorte Monnopa. ***Bei P-Mangel stiegen die Ausscheidungsraten von Oxalsäure, Zitronensäure und Malonsäure bei beiden Sorten signifikant an***. Bei den Ausscheidungsraten von Äpfelsäure und Bernsteinsäure ließen sich keine Abhängigkeiten von der P-Düngung erkennen. Die Ausscheidungsraten von Milchsäure waren nur bei der Sorte Monnopa unter P-Mangel erhöht.

6. Die Veränderung der Schwermetallöslichkeit im Boden wurde untersucht, indem zu einem Lößlehmboden ein Säuregemisch aus p.a. Chemikalien, wie es bei der Exsudation von Spinat auftrat, zugesetzt und durch eine Wasserextraktion die Änderung der Elementlöslichkeit gemessen wurde. Die Ergebnisse waren, daß:

---

* Inflow-Werte = Nettoaufnahmeraten je Einheit Wurzellänge (der Gesamtinflow berücksichtigt Schwermetallgehalte in Wurzel und Sproß, der Sproßinflow nur die Gehalte des Sprosses).

- die Löslichkeit von Cu, Zn und Cd erhöht wurde,
- es Unterschiede zwischen den Elementen gab, wobei ***bei Cu die Löslichkeit in erster Linie auf die komplexierende Wirkung des Anions zurückzuführen war, während für Zn und Cd die Erniedrigung des pH-Wertes entscheidender war***,
- ***Citronensäure*** bei der Erhöhung der Löslichkeit aller betrachteten Elemente im Vergleich zu Oxal-, Äpfel- und Milchsäure ***am effektivsten*** war.

7. In einem kurzzeitigen Nährlösungsversuch (24 Stunden) wurde an Spinatwurzeln intakter Pflanzen untersucht, ob mit Citronensäure komplexierte Schwermetalle (0,5 µM Cu; 2 µM Zn; 0,5 µM Cd) von den Wurzeln genauso aufgenommen werden können wie unkomplexierte Metallionen.
   Bei Anwesenheit von 10^{-4} M Citronensäure lagen laut durchgeführten Speziesberechnungen 99% der Cu-, 90% der Zn- und 36% der Cd-Ionen in komplexierter Form vor. In den ersten 9 Stunden war der Aufnahmeprozeß durch Komplexierungsreaktionen von am AFS adsorbierten Cu- und Zn-Ionen mit der Citronensäure überlagert. Bei Cd gab es keine signifikanten Differenzen zwischen komplexierter und nichtkomplexierter Variante. Nach Einstellung eines Gleichgewichtes ließen sich für Cu und Zn in der Zeit zwischen der 9. und 24. Stunde Inflow-Werte bestimmen, die auf eine Nutzung dieser Elemente aus den Citratkomplexen schließen lassen.

Die zusammenfassende Bewertung der Resultate und Schlußfolgerungen aus der Arbeit sind in Kapitel 6 zu finden.

8 Literaturverzeichnis

Adams, F. (1974): Soil solution. In: The plant root and its environment. E.W. Carson (ed.), University Press of Virginia, Charlottesville, 441-481.

Adams, F.; Burmester, C.; Hue, N.V.; Long, F.L. (1980): A comparison of column-displacement and centrifuge methods for obtaining soil solutions. Soil Sci. Soc. Am. J. 44, 733-753.

Alva, A.; Edwards, D.; Asher, C.; Blamey, F. (1986): Effect of phosphorus/aluminium molar ratio and calcium concentration on plant response to aluminium toxicity. Soil Sci. Soc. Am. J. 50, 133-137.

Amberger, A. (1996): Pflanzenernährung, 4. Auflage. Eugen Ulmer GmbH, Stuttgart.

Anonym (1982): Klärschlammverordnung (AbfKlärV) Bundesgesetzblatt, 734-738.

Anonym (1992): Klärschlammverordnung (AbfKlärV) vom 15. April 1992. Bundesgesetzblatt Z 5702 A, Teil 1, 1450-1490.

Backes, C.A.; McLaren, R.G.; Rate, A.W.; Swift, R.S. (1995): Kinetics of Cadmium and Cobalt Desorption from Iron and Manganese Oxides. Soil Soc. Am. J. 59, 778-785.

Baker, A.J.M. (1981): Accumulators and excluders - Strategies in the response of plants to heavy metals. J. Plant Nutr. 3, 643-654.

Barber, D.A.; Gunn, K.B. (1974): The effect of mechanical forces on the exudation of organic substances by the roots of cereal plants grown under sterile conditions. New Phytol. 73, 39-45.

Baziramakenga, R.; Simrad, R.R.; Leroux, G.D. (1995): Determination of organic acids in soil extracts by ion chromatography. Soil Biol. Biochem. 27, 349-356.

Beißner, L. (1997): Mobilisierung von Phosphor aus organischen und anorganischen P-Verbindungen durch Zuckerrübenwurzeln. Dissertation, Cuvillier Verlag Göttingen.

Bergmann, W. (1993): Ernährungsstörungen bei Kulturpflanzen. 3. Auflage, Gustav Fischer Verlag Jena.

Bergs, C.G. (1998): Rechtliche Regelungen für die Verwertung von Klärschlämmen und sonstigen Sekundärrohstoffdüngern. 9. Klärschlammberatertagung der LK Hannover am 1.12.98 in Nienburg.

BGA (1986): Richtwerte ’86. Bundesgesundheitsblatt 29, Nr. 1 vom 01.01.1986, 22-23.

BGA (1993): Bundesgesundheitsamt: Richtwerte für Schadstoffe in Lebensmitteln. Bundesgesundheitsblatt 5/93, 24-25.

Bhat, K.K.S.; Nye, P.H.; Baldwin, J.P. (1976): 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.

Birke, C. (1991): Der Schwermetalltransfer aus langjährig mit Siedlungsabfällen gedüngten Böden in Kulturpflanzen und dessen Prognose durch chemische Extraktionsverfahren. Dissertation, Universität Bonn.

BMU (2000): Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung (BBodSchV) vom 17. März 1998. Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit, homepage: http://www.bmu.de.

Breteler, H.; Smit, A.L. (1974): Effect of ammonium nutrition on uptake and metabolism of nitrate in wheat. Neth. J. agric. Sci. 22, 73-81.

Brümmer, G.W.; Hornburg, V.; Hiller, D.A. (1991): Schwermetallbelastung von Böden. Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch. 63, 31-42.

Brüne, H.; Ellinghaus, R.; Heyn, J. (1982): Schwermetallgehalte hessischer Böden und ergänzende Untersuchungen zur Schwermetallaufnahme durch Pflanzen. Kali-Briefe 16, 271-291.

Burghardt, H. (1992): Stabilität von Schwermetall-Humatkomplexen und die Pflanzenverfügbarkeit der darin enthaltenen Schwermetalle. Dissertation, Universität Göttingen.

Cabrera, D.; Young, S.D.; Rowell, D.L. (1988): The toxicity of cadmium to barley plants as affected by complex formation with humic acid. Plant and Soil 105, 195-204.

Chairidchai, P.; Ritchie, G. (1990): Zinc adsorption by a lateritic soil in the presence of organic ligands. Soil Sci. Soc. Am. J. 54, 1242-1248.

Cieslinski, G.; Van Rees, K.C.J.; Szmigielska, A.M.; Krishnamurti, G.S.R.; Huang, P.M. (1998): Low-molecular-weight organic acids in rhizosphere soils of durum wheat and their effect on cadmium bioaccumulation. Plant and Soil 203, 109-117.

Claassen, N. (1990): Nährstoffaufnahme höherer Pflanzen aus dem Boden - Ergebnis von Verfügbarkeit und Aneignungsvermögen. Severin Verlag Göttingen.

Claassen, N.; Jungk, A. (1984): Bedeutung von Kaliumaufnahmerate, Wurzelwachstum und Wurzelhaaren für das Kaliumaneignungsvermögen verschiedener Pflanzenarten. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 147, 276-289.

Clarkson, D.T.; Lüttge, U. (1989): Divalent cations, transport and compartmentation. Progress in Botany 51, 93-112.

Costa, G.; Morel, J.L. (1993): Cadmium uptake by *Lupinus albus* (L.): Cadmium excretion, a possible mechanism of Cadmium tolerance. J. Plant Nutr. 16, 1921-1929.

Crews, H.M.; Davies, B.E. (1985): Heavy metal uptake from contaminated soils by six varieties of lettuce (*Lactuca sativa* L.). J. Agric. Sci. 105, 591-595.

Cumming, J.R.; Tomsett, A.B. (1992): Metal tolerance in plants: Signal transduction and acclimation mechanisms. In: Biogeochemistry of trace elements. D.C. Adriano (ed.), Lewis Publishers, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 329-364.

DelHaize, E.; Ryan, P.R.; Randall, P.J. (1993): Aluminium tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) - II. Aluminium-stimulated excretion of malic acid from root apices. Plant Physiol. 103, 695-707.

Deubel, A. (1996): Einfluß wurzelburtiger organischer Kohlenstoffverbindungen auf Wachstum und Phosphatmobilisierungsleistung verschiedener Rhizosphären-bakterien. Halle, Univ., Dissertation, Shaker-Verlag Aachen.

Dinkelaker, B.; Römheld, V.; Marschner, H. (1989): Citric acid excretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of white lupin (*Lupinus albus* L.). Plant Cell Environment 12, 285-292.

Egle, K.; Römer, W.; Gerke, J.; 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/Muritz, Germany, in Press.

Eikmann, T. (1994): Aufnahme von Arsen, Blei und Cadmium durch den Menschen in Ballungsräumen mit direkter und indirekter Beteiligung des Bodens. In: G. Kreysa und J. Wiesner: Beurteilung von Schwermetallen in Böden von Ballungsgebieten: Arsen, Blei und Cadmium. DECHEMA-Fachgespräche Umweltschutz, Frankfurt, 277-292.

Eisenbrand, G.; Metzler, M. (1994): Toxikologie für Chemiker, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York.

ElKhatib, E.A. (1990): Simultaneous determination of low molecular weight organic acids in soil solution by ion chromatography. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 153, 201-205.

Entel, H.-J.; Förster, N.; Hinckers, E. (1987): Futtermittelrecht. - Band 1, Anlage 5 - Schadstoffe, Parey Verlag, Berlin.

Ernst, W.H.O. (1982): Schwermetallpflanzen. In: Pflanzenökologie und Mineralstoffwechsel. H. Kinzel (Hrsg.), Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.

Eysinga, J.P.N.L.R. van; Cools, M.H. (1988): Acta Horticulturae 222, 197-200.

Fiedler, H.J.; Rösler, H.J. (1993): Spurenelemente in der Umwelt. 2. Auflage, Gustav Fischer-Verlag, Jena.

Fisahn, J.; Simons, M.; Höfner, W. (1995): Schwermetallaufnahme von Spinat (*Spinacea oleracea* L.) in Abhängigkeit vom Genotyp. VDLUFA-Schriftenreihe, Kongreßband 40, 537-540.

Florijn, P.J. (1993): Differential distribution of cadmium in lettuce (*Lactuca sativa* L.) and maize (*Zea mays* L.). Dissertation, Universität Wageningen.

Florijn, P.J.; van Beusichem, M.L. (1993): Uptake and distribution of cadmium in maize inbred lines. Plant and Soil 150, 25-32.

Fodor, E.; Szabonagy, A.; Erdei, L. (1995): The effects of cadmium on the fluidity and H^+-ATPase activity of plasma membrane from sunflower and wheat roots. J. Plant Physiol. 147, 87-92.

Föhse, D.; Claassen, N.; Jungk, A. (1988): Phosphorus efficiency of plants. I. External and internal P requirement and P uptake efficiency of different plant species. Plant and Soil 110, 101-109.

Fox, T.R.; Comerford, N.B. (1990): Low-Molecular-Weight Organic Acids in Selected Forest Soils of the Southeastern USA. Soil Sci. Soc. Am. J. 54, 1139-1144.

Fuente, J.M. de la; Ramírez-Rodríguez, V.; Cabrera-Ponce, J.L.; Herrera-Estrella, L. (1997): Aluminium Tolerance in Transgenic Plants by Alteration of Citrate Synthesis. Science 276, 1566-1568.

Gardner, W.; Barber, D.; Parbery, D. (1983): The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus* L. III. The probable mechanism by which phosphorus in the soil/root interface is enhanced. Plant and Soil 70, 107-124.

Gerke, J. (1992): 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.

Gerke, J. (1995): Chemische Prozesse der Nährstoffmobilisierung in der Rhizosphäre und ihre Bedeutung für den Übergang vom Boden in die Pflanze. Habilitationsschrift, Universität Göttingen.

Gerke, J.; Römer, W.; 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. Bodenk. 157, 289-294.

Gerke, J.; Wessel, E.; Egle, K.; Römer, W., (1999): Heavy metal aquisition by white lupin and yellow lupin. 9th Intern. Lupin Conference, Klink/Müritz, Germany, in Press.

Gransee, A.; Wittenmayer, L. (1995): Eine neuartige Methode zur Gewinnung und Identifizierung von Wurzelausscheidungen bei Kulturpflanzen. VDLUFA-Schriftenreihe 40, 733-736.

Gransee, A.; Schaecke, W.; Merbach, W. (1998): Wurzelausscheidungen als mögliche Einflußgrößen auf den Nähr- und Schadstofftransfer in Kulturpflanzen. Mengen- und Spurenelemente. 18. Arbeitstagung, 4. und 5. Dezember 1998, Tagungsband, 426-433.

Grierson, P:F: (1992): Organic acids in the rhizosphere of *Banksia integrifolia L.* Plant and Soil 144, 259-265.

Guo, Y.L.; Schulz, R.; Marschner, H. (1995): Genotypic differences in uptake and distribution of cadmium and nickel in plants. Angew. Botanik 69, 42-48.

Harter, R.D. (1983): Soil Sci. Soc. Am. J. 47, 47-51.

Heintz, A.; Reinhardt, G. (1991): Chemie und Umwelt, 2. Auflage Vieweg Verlag. Braunschweig

Helal, H.M.; Arisha, H.; Rietz, E. (1990): The uptake of trace elements by spinach and bean varieties of different root parameters. Plant and Soil 123, 229-232.

Herms, U.; Brümmer, G. (1984): Einflußgrößen der Schwermetallöslichkeit und -bindung in Böden. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 147, 400-424.

Heymann, H.; Wiechmann, H. (1996): Cadmiumverfügbarkeit für Gemüsepflanzen in Kleingartenböden. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 159, 459-465.

Hinsley, T.D.; Alexander, D.E.; Ziegler, E.L.; Barrett, G.L. (1978): Zinc and cadmium accumulation by corn inbreds grown in sludge amended soils. Agron. J. 70, 425-428.

Hoffland, E.; Findenegg, G.R.; Nelemans, J.A. et al. (1989): 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.

Höfner, W. (1967): Biogene Komplexbildner als Transportformen aufgenommener Mikronährstoffe in der Pflanze. Habilitationsschrift, Universität Gießen.

Hogg, D.S.; McLaren, R.G.; Swift, R.S. (1993): Desorption of Copper from Some New Zealand Soils. Soil Sci. Soc. Am. J. 57, 361-366.

Hornburg, V. (1991): Untersuchungen zur Mobilität und Verfügbarkeit von Cadmium, Zink, Mangan, Blei und Kupfer in Böden. Dissertation Universität Bonn, Bonner Bodenkundliche Abhandlungen 2.

Hornburg, V.; Welp, G.; Brümmer, G. W. (1993): $CaCl_2$- und NH_4NO_3-extrahierbare Schwermetallgehalte in Böden - ein Methodenvergleich. Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch. 72, 373-376.

Horst, W.J.; Wagner, A.; Marschner, H. (1983): Effect of aluminium on root growth, cell division rate and mineral element contents in roots of Vigna unguiculata genotypes. Z. Pflanzenphysiol. 109, 95-103.

Horst, W.J.; Waschkies, C. (1986): Verbesserung der Phosphatversorgung von Sommerweizen durch Anbau von Weißer Lupine auf einem Boden niedriger Phosphatverfügbarkeit. VDLUFA-Schriftenreihe 16, Kongreßband 1985, 179-183.

Horst, W.J.; Waschkies, C. (1987): Phosphatversorgung von Sommerweizen (*Triticum aestivum* L.) in Mischkultur mit Weißer Lupine (*Lupinus albus* L.). Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 150, 1-8.

Imas, P.; Bar-Yosef, B.; Kafkafi, U.; Ganmore-Neumann, R. (1997): Phosphate induced carboxylate and proton release by tomato roots. Plant and Soil 191, 35-39.

Isermann, K. (1992): Cadmium - Ökobilanz der Landwirtschaft. Mengen- und Spurenelemente. 12. Arbeitstagung der Friedrich-Schiller-Universität Jena, 200-208.

Isermann, K.; Karch, P.; 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.

John, M.K. (1976): Interrelationships between plant cadmium and uptake of some other elements from culture solutions by oats and lettuce. Environ. Pollut. 11, 85-95.

Jones, D.L. (1998): Organic acids in the rhizosphere - a critical review. Plant and Soil 205, 25-44.

Jones, D.L.; Darrah, P.R. (1995): Influx and efflux of organic acids across the soil-root interface of *Zea mays* L. and ist implications in rhizosphere C flow. Plant and Soil 173, 103-109.

Jungk, A.; Barber, S.A. (1974): Phosphate uptake rates of corn roots as related to the proportion of the roots exposed to phosphate. Agron. J. 66, 554-557.

Jungk, A.; Claassen, N. (1989): Availability in soil and acquisition by plants as the basis for phosphorus and potassium supply to plants. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 152, 151-157.

Kastori, R.; Petrovic, M.; Petrovic, N. (1992): Effects of excess lead, cadmium, copper, and zinc on water relations in sunflower. J. Plant Nutr. 15, 2427-2439.

Kinraide, T.; Parker, D. (1990): Apparent phytotoxicity of mononuclear hydroxy-aluminium complexes. Physiol. Plant 79, 283-288.

Klein, H.; Priebe, A.; Jäger, H.-J. (1981): Grenzen der Belastbarkeit von Kulturpflanzen mit dem Schwermetall Cadmium. Angew. Botanik 55, 295-308.

Kloke, A. (1985): Zufuhr von Schwermetallen zum Boden mit Pflanzenschutzmitteln. Ber. über Landwirtsch. 198, Sonderh., 117-122.

Kloke, A. (1994a): Schwermetalle und Pflanzensorten, ein möglicher Weg zur Minderung der Belastung unserer täglichen Nahrung mit Schwermetallen. VDLUFA-Mitteilungen, Heft 1-2, 42-46.

Kloke, A. (1994b): Sortenabhängigkeit der pflanzlichen Schwermetallaufnahme. In: Merbach, W. (Ed.): 5. Borkheider Seminar zur Ökophysiologie des Wurzel-raumes, 74-76.

Kloke, A.; Metz, R. (1999): Aufgaben einer Arbeitsgruppe zur Erfassung des Schwermetalltransfers Boden-Pflanze durch Sortenwahl. Pflanzenbelastung auf kontaminierten Standorten. Berichte/Umweltbundesamt 99,1; 275-278.

Knebel, P.; Werner, W. (1994): Entwicklung eines standardisierten biologischen Schnelltests zur Abschätzung der pflanzenverfügbaren Schwermetallgehalte in Altlast-Verdachtsflächen. VDLUFA-Schriftenreihe, Kongreßband 38, 297-300.

Koeppe, D.E. (1978): The uptake, distribution, and effect of cadmium and lead in plants. The Science of the Total Environment 7, 197-206.

Kochian, L.V. (1993): Zinc absorption from hydroponic solutions by plant roots. In: Zinc in Soils and Plants, A.D. Robson (Ed.), Kluwer Academic Publishers, 45-57.

Kuboi, T.; Noguchi, A.; Yazaki, J. (1986): Family-dependent cadmium accumulation characteristics in higher plants. Plant and Soil 92, 405-415.

Kuo, S. und Baker, A.S. (1980): Soil Sci. Soc. Am. J. 44, 969-974.

Langin, E.F.; Ward, R.C.; Olsen, R.A.; Rhoades (1962): Factor responsible for poor response of corn and grain sorghum to phosphorus fertilization: II. Lime and P placement on Zn-P relations. Soil Sci. Soc. Proc. 26, 574-578.

Leita, L.; Marchiol, L.; Martin, M.; Peresotti, A.; Dellevedove, G.; Zerbi, G. (1995): Transpiration dynamics in Cadmium-treated soybean (*Glycine max* L.) plants. J. Agronomy and Crop Sci. 175, 153-156.

Lipton, D.; Blanchar, R.; Blevins, D. (1987): Citrate, malate and succinate concentrations in exudates from P-deficient and P-stressed *Medicago sativa L.* seedlings. Plant Physiol. 85, 315-317.

Loneragan, J.F.; Grove, T.S.; Robson, A.D.; Snowball, K. (1979): Phosphorus toxicity as a factor in zinc-phosphorus interactions in plants. Soil Sci. Am. J. 43, 966-972.

Lopez-Hernandez, D.; Flores, G.; Siegert, G.; Rodriguez, J.V. (1979): The effect of some organic anions on phosphate removal from acid and calcareous soils. Soil Sci. 128, 321-326.

Lübben, S. (1991): Sortenbedingte Unterschiede bei der Aufnahme von Schwermetallen durch verschiedene Gemüsepflanzen. VDLUFA-Schriftenreihe, Kongreßband 33, 605-612.

Lübben, S. (1993): Vergleichende Untersuchung zur Schwermetallaufnahme verschiedener Kulturpflanzen aus klärschlammgedüngten Böden und deren Prognose durch Bodenextraktion. Dissertation, Universität Göttingen.

Lübben, S.; Rietz, E.; Sauerbeck, D. (1991): Metal uptake and crop growth on sewage sludge field trials with heavy metal contents near the recommended limit values. In: P.L`Hermite (Ed.): Treatment and use of sewage sludge and liquid agricultural wastes. Proceedings of a Symposium held in Athena, Greece, 1.-4.10.1990 (COST 681), 535-543.

Mackay, A.D.; Barber, S.A. (1984): Comparison of root and root hair growth in solution and soil culture. J. Plant Nutr. 7, 1745-1757.

MacNicol, R.D.; Beckett, P.H.T. (1985): Critical tissue concentrations of potentially toxic elements. Plant and Soil 85, 107-129.

Marschner, H., (1995): Mineral nutrition of higher plants. Sec. Ed., Academic Press, London.

Marschner, H.; Treeby, M.; Römheld, V. (1989): Role of root induced changes in the rhizosphere for iron acquisition of higher plants. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 152, 197-204.

Martell, A.; Smith, R. (1977): Critical stability constants. Vol. 3. Other organic ligands. Plenum Press, New York.

Masaoka, Y.; Kojima, M.; Sugihara, S.; Yoshihara, T.; Koshino, M.; Ichihara, A. (1993): Dissolution of ferric phosphate by alfalfa (*Medicago sativa L.*) root exudates. Plant and Soil 155/156, 75-78.

McBride, M.B.; Blasiak, J.J. (1979): Zinc and copper solubility as a function of pH in an acid soil. Soil Sci. Soc. Am. J. 43, 866-870.

McLaren, R.G.; Williams, J.G.; Swift, R.S. (1983): Geoderma 31, 97-106.

Mench, M.; Tancogne, J.; Gomez, I.; Juste, C. (1989): Cadmium bioavailability to Nicotiana tabacum L., Nicotiana rustical L. and Zea mas L. grown in soil amended with cadmium nitrate. Biol. Fert. Soils 8, 48-53.

Mench, M.; 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.

Mengel, K. (1984): Ernährung und Stoffwechsel der Pflanze. VEB Fischer Verlag, Jena.

Merian, E. (1984): Metalle in der Umwelt, Verlag Chemie. Weinheim; Deerfield Beach, Florida; Basel.

Metz, R.; Kloke, A. (1998): Einfluß der Sortenwahl auf den Cadmiumtransfer Boden-Pflanze. VDLUFA-Schriftenreihe, Kongreßband 49, 139-142.

Meyer, U.; Gerke, J.; Römer, W. (1994a): Einfluß von Citronensäure auf die Löslichkeit und die Aufnahme von Cu und Zn durch Weidelgras. Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch. 73, 99-102.

Meyer, U.; Gerke, J.; Römer, W. (1994b): Einfluß von Citrat auf die Mobilisierung und Aufnahme von Zn und Cu bei Weidelgras und Weißer Lupine. In: Merbach, W. (Ed.): 5. Borkheider Seminar zur Ökophysiologie des Wurzelraumes, 137-143.

Miehlich, G.; Lux, W. (1990): Eintrag und Verfügbarkeit luftbürtiger Schwermetalle und Metalloide in Böden. VDI Berichte 837, 27-51.

Minnich, M.; Mc Bride, M.; Chaney, R. (1987): Copper activity in soil solution. II. Relation to copper accumulation in young snap beans. Soil Sci. Soc. Am. J. 51, 573-578.

Mitscherlich, E.A. (1927): Bodenkundliches Praktikum. Springer-Verlag, Berlin, zitiert nach Thun und Herrmann.

Mozafar, A. (1991): Contact with ballotini (glass spheres) stimulates exudation of iron reducing and iron chelating substances from barley roots. Plant and Soil 130, 105-108.

Mozafar, A.; Oertli, J.J. (1986): A critical evaluation of iron mobilization mechanisms with special reference to the contact effect phenomenon. J. Plant Nutr. 9, 759-780.

Murphy, J.; Riley, J.P. (1962): A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. Analytica Chimica Acta 27, 31-36.

Murphy, L.S.; Ellis Jr., R. Adriano, D.C. (1981): Phosphorus-micronutrient interaction effects on crop production. J. Plant Nutr. 3, 593-613.

Naidu, R.; Harter, R.D. (1998): Effect of Different Organic Ligands on Cadmium Sorption by and Extractability from Soils. Soil Sci. Scoc. Am. J. 62, 644-650.

Neumann, G.; Dinkelaker, B.; Marschner, H. (1996): Kurzzeitige Abgabe organischer Säuren aus Proteoidwurzeln von Hakea Undulata (Proteaceae). In: Merbach, W. (Ed.): 6. Borkheider Seminar zur Ökophysiologie des Wurzelraumes B. G. Teubner Verlagsgesellschaft Stuttgart, Leipzig, 129-136.

Neumann, G.; Massonneau, A.; Martinoia, E.; Römheld, V.I (1999): Physiological adaptions to phosphorus deficiency during proteoid root development in white lupin. Planta 208, 373-382.

Newman, E. (1966): A method of estimating the total length of root in a sample. J. Appl. Ecol. 3, 133-145.

Nriagu, J.O. (1979): Global inventory of natural and anthropogenic emissions of trace elements to the atmosphere. Nature 279, 409-411.

Nye, P.H.; Tinker, P.B. (1977): Solute Movement in the Soil-Root System. Blackwell, Oxford.

Ohwaki, Y.; Hirata, H. (1990): Phosphorus absorption by chickpea (*Cicer arietinum*) as affected by VA mycorrhiza and carboxylic acids in root exudates. In: Van Beusichem, M.L. (Hrsg.); Plant nutrition physiology and applications, 171-177. Kluwer Academic Publishers.

Padeken, K. (1998): Schwermetallaufnahme verschiedener Pflanzenarten unter besonderer Berücksichtigung der N- und P-Ernährung. Landbauforschung Völkenrode, Sonderheft 182, Dissertation.

Parker, D.; Aguilera, J.; Thomason, N. (1992): Zinc-phosphorus interactions in two cultivars of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) grown in chelator buffered nutrient solutions. Plant and Soil 143, 163-177.

Petersen, W.; Böttger, M. (1991): Contribution of organic acids to the acidification of the rhizosphere of maize seedlings. Plant and Soil 132, 159-163.

Pettersson, O. (1976): Heavy-metal ion uptake by plants from nutrient solutions with metal ion, plant species and growth period variations. Plant and Soil 45, 445-459.

Pettersson, O. (1977): Differences in cadmium uptake between plant species and cultivars. Swed. J. Agr. Res. 7, 21-24.

Pitman, M.G. (1977): Ion transport into the xylem. Ann. Rev. Plant Physiol. 28, 71-88.

Prassad, M.N.V. (1995): Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. Environ. Exp. Botany 35, 525-545.

Prüess, A.; Hauffe, H.-K. (1993): Mobile (NH_4NO_3-extrahierbare) Gehalte anorganischer Schadstoffe in Böden als Grundlage für die Prognose des Schadstofftransfers in Kulturpflanzen. VDLUFA-Schriftenreihe 37, 517-520.

Rauser, W.E. (1990): Phytochelatins. Ann. Rev. Biochem. 59, 61-86.

Rietz, E.; Kücke, M.: Schwermetallgehalte in Wurzeln und Sproß unterschiedlicher Kulturpflanzen in Abhängigkeit vom pH-Wert und vom Schwermetallgehalt des Bodens. VDLUFA-Schriftenreihe, Kongreßband 35, 693-696.

Ritchie, G.S.P. und Posner, A.M. (1982): The effect of pH and metal binding on the transport properties of humic acids. J. Soil Sci. 33, 233-248.

Römer, W.; Embaye, T.; Keller, H. (1998a): Abhängigkeit der Cu-, Zn- und Cd-Konzentration in 10 Spinatgenotypen von der Wurzelmorphologie und der Aufnahmerate. VDLUFA-Schriftenreihe, Kongreßband 49, 159-162.

Römer, W.; Patzke, R.; Gerke, J. (1998b): Die Kupferaufnahme von Rotklee und Weidelgras aus Cu-Nitrat-, Huminstoff-Cu- und Cu-Citrat-Lösungen. In: Merbach, W. (Ed.): 8. Borkheider Seminar zur Ökophysiologie des Wurzelraumes B. G. Teubner Verlagsgesellschaft Stuttgart, Leipzig, 137-142.

Römer, W.; Keller, H.; Egle, K.; Beißner, L. (1999): Wurzelexsudation organischer Säuren und deren Einfluß auf die Löslichkeit von Nähr- und Schadstoffen. Mitt. Ges. Pflanzenbauwiss. 12, 89-90.

Sauerbeck, D. (1982): Welche Schwermetallgehalte in Pflanzen dürfen nicht überschritten werden, um Wachstumsbeeinträchtigungen zu vermeiden? VDLUFA-Schriftenreihe 39, 108-129.

Sauerbeck, D. (1986): Möglichkeiten zum Schutz der Pflanzenproduktion auf belasteten Böden. In: Belastungen der Land- und Forstwirtschaft durch äußere Einflüsse. Vorstand des Dachverbandes Wissenschaftlicher Gesellschaften der Agrar-, Forst-, Ernährungs-, Veterinär- und Umweltforschung (Hrsg.). Schriftenreihe agrarspectrum 11. DLG-Verlag, Frankfurt. 205-229.

Sauerbeck, D. (1989): Der Transfer von Schwermetallen in die Pflanze. In: D. Behrens und J. Wiesner: Beurteilung von Schwermetallkontaminationen im Boden. DECHEMA-Fachgespräche Umweltschutz, Frankfurt, 281-316.

Sauerbeck, D.; Lübben, S. (1991): Auswirkungen von Siedlungsabfällen auf Böden, Bodenorganismen und Pflanzen. Berichte aus der ökologischen Forschung, Band 6, Forschungszentrum Jülich GmbH.

Scheffer, F. und Pajenkamp, H. (1952): Phosphatbestimmung in Pflanzenaschen nach der Molybdän-Vanadin-Methode. Z. Pflanzenernähr. Düngung Bodenk. 56, 2-8.

Scheffer, F.; Schachtschabel, P. (1989): Lehrbuch der Bodenkunde, 13. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart.

Scheffer, F.; Schachtschabel, P. (1998): Lehrbuch der Bodenkunde. 14. Auflage; Ferdinand Enke Verlag; Stuttgart; S. 127.

Schenk, M.K.; Barber, S.A. (1980): Potassium and phosphorus uptake by corn genotypes grown in the field as influenced by root characteristics. Plant and Soil 54, 65-76.

Schimming, C.-G. (1993): Kontamination von Böden: Belastung mit Metallen. In: Handbuch des Bodenschutzes. H.-P. Blume (Hrsg.), 2. Auflage, ecomed-Verlag, Landsberg/Lech.

Schindler, P.; Stumm, W. (1987): The surface chemistry of oxides, hydroxides and oxide minerals. In W. Stumm (Hrg.): Aquatic surface chemistry. Chemical processes at the particle-water interface. John Wiley, New York, 83-110.

Scholl, W.; Ellinghaus, R.; Rieß, P. (1986): Untersuchung von Klärschlamm- und Bodenproben auf den Gehalt an Schwermetallen und Nährstoffen lt. Klärschlammverordnung des Bundes vom 25.06.1982. VDLUFA-Schriftenreihe, Heft 15.

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 Phosphats im Boden. Z. Pflanzenernähr. Bodenkd. 123, 48-63.

Schultz, C.L.; Hutchinson, T.C. (1991): Metal tolerance in higher plants. In: Metals and their compounds in the environment. E. Merian (ed.), VCH Verlag, Weinheim.

Silberbush, M.; Barber, S.A. (1984): Phosphorus and potassium uptake of field-grown soybean cultivars predicted by a simulation model. Soil Sci. Soc. Am. J. 48, 592-596.

Singh, J.P.; Karamanos, R.E.; Stewart, J.W.B. (1988): The mechanism of phosphorus-induced zinc deficiency in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Can. J. Soil Sci. 68, 345-358.

Staunton, S.; Leprince, F. (1996): Effect of pH and some organic anions on the solubility of soil phosphate: implications for P bioavailability. Europ. J. Soil Sci. 47, 231-239.

Stoeppler, M. (1991): Cadmium. In: Merian, E. (Ed.): Metals and Their Compounds in the Environment. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim.

Street, J.J.; Sabey, B.R.; Lindsay, W.L. (1978): Influence of pH, phosphorus, cadmium sewage sludge, and incubation time on the solubility and plant uptake of cadmium. J. Environ. Qual. 7, 286-290.

Styperek, P. (1986): Die Cd-Aufnahme von Pflanzen aus verschiedenen Böden und Bindungsformen und ihre Prognose durch chemische Extraktionsverfahren. Umweltbundesamt, UBA-Texte 9.

Tani, M.; Higashi, T.; Nagatsuka, S. (1993): Dynamics of low-molecular-weight aliphatic carboxylic acids (LACA's) in forest soils. I. Amount and composition of LACA's in different types of forest soils in Japan. Soil Sci. Plant Nutr. 39, 485-495.

Taylor, J.G. (1987): Exclusion of metals from the symplasm: A possible mechanism of metal tolerance in higher plants. J. Plant Nutr. 10, 1213-1222.

Tennant, D. (1975): A test of a modified line intersect method of estimating root length. J. Ecology 63, 955-1001.

Tiller, K.G.; Nayyar, V.K.; Clayton, P.M. (1979): Specific and non-specific sorption of cadmium by soil clays as influenced by zinc and calcium. Austr. J. Soil Res. 17, 17-28.

Tiller, K.G.; Gerth, J.; Brümmer, G. (1984): The relative affinities of Cd, Ni and Zn for different soil clay fractions and goethite. Geoderma 34, 17-35.

Tinker, P.B.; Nye, P.H. (2000): Solute Movement in the Rhizosphere. Oxford University Press, Oxford, New York.

Trier, K.; Bergmann, W. (1974): Ergebnisse zur wechselseitigen Beeinflussung der Zink- und Phosphorernährung von Mais (*Zea mays* L.). Arch. Acker- u. Bodenkd. 18, 65-75.

Tyler, L.D.; McBride, M.B. (1982): Influence of Ca, pH and humic acid on Cd uptake. Plant and Soil 64, 259-262.

Wallnöfer, P.R.; Engelhardt, G. (1988): Schadstoffe, die aus dem Boden genommen werden. In: Schadwirkungen auf Pflanzen (Lehrbuch der Pflanzentoxikologie). B. Hock und E.F. Elstner (Hrsg.), 2. Aufl., Braunschweiger Wissenschaftsverlag, Mannheim, Wien, Zürich.

Wanasuria, S. (1976): Die Aufnahme von Zink, Eisen, Mangan und Kupfer unter dem Einfluß hoher Phosphatgaben bei einigen dikotylen Pflanzen. Dissertation, Universität Gießen.

Weigel, H.J. (1990): Zur Ökotoxikologie des Schwermetalls Cadmium: Untersuchungen zur Aufnahme, Verteilung und Wirkung des Metalls bei Pflanze und Tier. Habilitationsschrift, Technische Universität Braunschweig.

Weigert, P.; Müller, J.; Klein, H.; Zufelde, K.P.; Hillebrand, J. (1984): Arsen, Blei, Cadmium und Quecksilber in und auf Lebensmitteln. ZEBS-Heft 1/1984.

Welch, R.; Norvell, W.; Schaefer, S.; Shaff, J.; Kochian, L. (1993): Induction of iron (III) and copper (II) reduction in pea (*Pisum sativum* L.) roots by Fe and Cu status. Does the root-cell plasma Fe (III) chelate reductase perform a general role in regulating cation uptake? Planta 190, 555-561.

White, M.C.; Decker, A.M.; Chaney, R.L. (1981a): Metal complexation in xylem fluid. I. Chemical composition of tomato and soybean stem exudate. Plant Physiol. 67, 292-300.

White, M.C.; Chaney, R.L.; Decker, A.M. (1981b): Metal Complexation in Xylem Fluid III. Electrophoretic Evidence. Plant Physiol. 67, 311-315.

Wilcke, W.; Döhler, H. (1995): Schwermetalle in der Landwirtschaft. KTBL-Schriftenvertrieb im Landwirtschaftsverlag GmbH, Münster.

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.; Harrison, H.C. (1986): Effects of genotype and sewage sludge on cadmium concentration in lettuce leaf tissue. J. Am. Soc. Hortiult. 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.

Zhang, F.; Römheld, V.; Marschner, H. (1991): Release of zinc mobilizing root exudates in different plant species as affected by zinc nutritional status. J. Plant Nutr. 14, 675-686.

9 Anhang

Tabelle 9.1: *Geräteparameter für die Bestimmung von Schwermetallen mittels AAS.*

Flammen-AAS (Prallkugel):

	Luft/Acetylen [%]	λ-Peak [nm]	Spaltbreite	Lampenstrom [mA]	Standards* [ppm]	NG [ppm]	BG [ppm]
Cu	25/55	324,7	0,7	15	2 / 4 / 5	0,01	0,03
Zn	23/50	213,9	0,7	15	0,2 / 1 / 2	0,04	0,10
Cd	25/55	228,8	0,7	4	1 / 2 / 2,5	0,02	0,04
Fe	28/60	248,3	0,2	20	2 / 4 / 5	0,02	0,05
		296,7	0,2	20	10 / 20 / 30	0,15	0,42

NG = Nachweisgrenze

BG = Bestimmungsgrenze

* Zur Messung von Pflanzenaufschlüssen, Bodenlösungen und Verarmungslösungen wurden die Standards in 0,1% (v/v) HNO_3, bei Königswasseraufschlüssen in 2 M HNO_3 und bei Extrakten in der jeweiligen Extraktionslösung angesetzt.

GF-AAS (D2-Untergrundkorrektur):

	Temperaturprogramm						λ-Peak	Spalt	Standards* (ppb, bei 20 µl Inj.-Vol.)	NG	BG
Cu (5 mA)	Step	1	2	3	4	5	324,7	0,7	20 / 40 / 60	0,2	0,55
	T (°C)	120	900	2200	500	2600					
	RT	10	5	0	1	1					
	HT	15	15	3	3	3					
Cd (3 mA)	Step	1	2	3	4	5	228,8	0,7	2 / 5 / 10	0,08	0,22
	T (°C)	120	200	1300	500	2650					
	RT	10	5	0	1	1					
	HT	15	25	2	5	2					

* Standards in 0,1% (v/v) HNO_3.

Alle Messungen erfolgten unter Verwendung eines unbeschichteten Rillenrohrs, der superschnellen Aufheizung und Gasstop während der Atomisierung.

Tabelle 9.2: *Vergleich der statistischen Methoden von NEWMAN (1966) und TENNANT (1975) zur Bestimmung der Wurzellängen an 8 ausgewählten Proben.*

	nach Newman	nach Tennant
	Wurzellänge in m	
1	267	259
2	299	288
3	308	311
4	268	276
5	346	352
6	383	371
7	358	346
8	405	416

Tabelle 9.3: *Düngemengen an Makro- und Mikronährstoffen in Quarzsandkulturen nach HOAGLAND UND SNYDER (zit. von SCHROPP 1951)*

Makronährstoffe			Mikronährstoffe	
N:	1264 mg kg^{-1}	$Ca(NO_3)_2 \times 4H_2O$	70 µg kg^{-1}	$MnCl_2 \times 4H_2O$
K:	279 mg kg^{-1}	K_2SO_4	110 µg kg^{-1}	H_3BO_3
	238 mg kg^{-1}	KCl	17,8 µg kg^{-1}	$ZnSO_4 \times 7H_2O$
Mg:	304 mg kg^{-1}	$MgSO_4 \times 7H_2O$	10 µg kg^{-1}	$CuSO_4 \times 5H_2O$
P1:	30 mg kg^{-1}	$NaH_2PO_4 \times H_2O$	10 µg kg^{-1}	$Co(NO_3)_2 \times 6H_2O$
	11 mg kg^{-1}	NaCl	6,2 µg kg^{-1}	$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \times 4H_2O$
P2:	60 mg kg^{-1}	$NaH_2PO_4 \times H_2O$	464 µg kg^{-1}	Fe-Sequestren® (6%)
	0 mg kg^{-1}	NaCl		

Tabelle 9.4: *Zusammensetzung der Nährlösung an Makro- und Mikronährstoffen nach JUNGK UND BARBER (1974).*

Makronährstoffe			Mikronährstoffe	
N	2,5 mM	$Ca(NO_3)_2 \times 4H_2O$	5 µM	$MnCl_2 \times 4H_2O$
K	1,5 mM	K_2SO_4	30 µM	H_3BO_3
Mg	0,75 mM	$MgSO_4 \times 7H_2O$	1 µM	$ZnSO_4 \times 7H_2O$
P1	6,5 µM	$NaH_2PO_4 \times H_2O$	0,5 µM	$CuSO_4 \times 5H_2O$
			0,28 µM	$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \times 4H_2O$
			80 µM	Fe-EDTA-Na-Salz

Tabelle 9.5: *Ergebnisse der sequentiellen Extraktion nach* ZEIEN *(1995) der in den Versuchen verwendeten Böden aus Hodenhagen, Börry und Harlingerode nach erfolger Schwermetallzugabe.*

1. *Mobile Fraktion: Wasserlösliche und austauschbare(= unspezifisch adsorbierte) Schwermetallanteile sowie leicht lösliche metall-organische Komplexe*
2. *Leicht nachlieferbare Fraktion: Spezifisch adsorbierte, oberflächen-nah okkludierte und an $CaCO_3$ gebundene Formen sowie metallorganische Komplexe geringer Bindungsstärke*
3. *In Mn-Oxiden okkludierte Fraktion: (sowie restliche spezifisch adsorbierte und geringe Anteile organisch gebundener Metalle)*
4. *Organisch gebundene Fraktion*
5. *In schlecht kristallienen Fe-Oxiden okkludierte Fraktion*
6. *In kristallinen Fe-Oxiden okkludierte Fraktion*
7. *Residualfraktion*

KW-Aufschluß = Königswasseraufschluß

	Hodenhagen			Börry			Harlingerode		
	Cu	Zn	Cd	Cu	Zn	Cd	Cu	Zn	Cd
	[mg kg^{-1}]			[mg kg^{-1}]			[mg kg^{-1}]		
1. Fraktion	6	105	0,3	7	6	0,3	5	17	2,8
2. Fraktion	7	32	0,8	22	137	0,6	5	347	14
3. Fraktion	3	10	0	5	19	0	3	109	2,8
4. Fraktion	38	5	0	11	26	0	57	99	1,1
5. Fraktion	9	9	0,3	14	78	1,1	24	347	1,1
6. Fraktion	2	6	0,2	10	49	0	17	257	0,6
7. Fraktion	8	12	0	5	53	0	22	186	0
Summe	73	178	1,5	74	368	1,9	133	1361	23
KW-Aufschluß	82	190	1,3	78	354	1,6	145	1334	26
Wiederfindung (%)	89	94	112	94	104	116	91	102	87

Tabelle 9.6: *P-Konzentration von Lupine, Weidelgras, Rotklee und zwei Spinatsorten bei Anzucht in verschiedenen schwermetallkontaminierten Böden unter Freilandbedingungen; Gefäßversuch (Werte in Klammern geben die Standardabweichung aus 4 Wiederholungen an).*

	Hodenhagen	Börry	Harlingerode
		P-Gehalt der TM in %	
Lupine	0,21 *(0,01)*	0,15 *(0,02)*	0,37 *(0,01)*
Weidelgras	0,37 *(0,02)*	0,32 *(0,05)*	0,57 *(0,05)*
Rotklee	0,32 *(0,01)*	0,14 *(0,004)*	0,38 *(0,02)*
Monnpoa	0,22 *(0,01)*	0,26 *(0,03)*	0,61 *(0,14)*
Tabu	0,30 *(0,04)*	0,38 *(0,05)*	0,75 *(0,06)*

Tabelle 9.7: *Gesamtentzüge (in µg pro Gefäß) durch die Pflanzen (Sprosse und Wurzeln) der Spinatsorten Monnopa und Tabu bei Anzucht im Gefäßversuch für 26 bzw. 40 Tage.*

			Cu	Zn	Cd	P
				[µg]		
1. Ernte -SM	+P	Monnopa	40	192	3,4	14200
		Tabu	31	150	3,4	12400
	-P	Monnopa	27	160	2,4	4200
		Tabu	23	194	2,3	3700
1. Ernte +SM	+P	Monnopa	53	449	11	6700
		Tabu	69	521	9,5	7100
	-P	Monnopa	53	397	8,0	2500
		Tabu	68	461	8,2	2600
2. Ernte +SM	+P	Monnopa	351	3041	51	43400
		Tabu	398	3685	55	56000
	-P	Monnopa	241	1853	28	17500
		Tabu	256	2665	32	20500

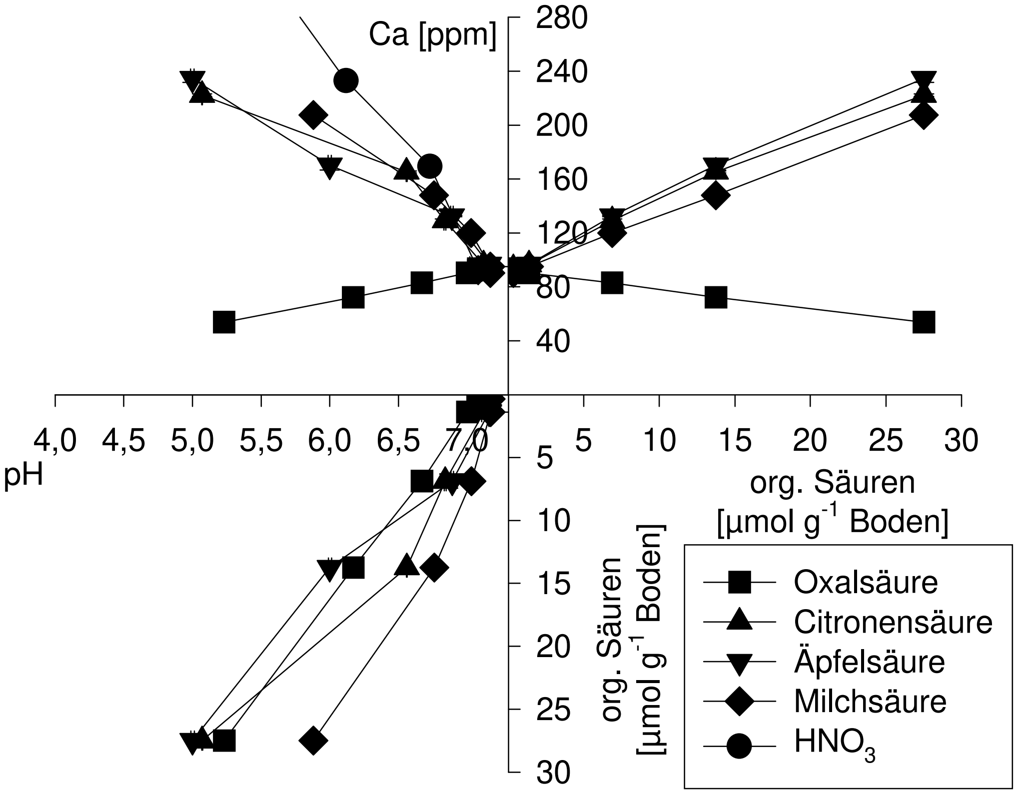


Abbildung 9.1: *Änderung der Ca-Löslichkeit durch Zugabe verschiedener Mengen Oxal-, Citronen- Äpfel- oder Milchsäure zu dem Lößlehmboden aus Börry unter Berücksichtigung der Änderung des pH. (Die eingezeichneten Standardabweichungen aus 3 Wiederholungen für Konzentration und pH, sind meist kleiner als der Datenpunkt).*

Danksagung

Bei allen Mitarbeitern und Kollegen des Institutes für Agrikulturchemie möchte ich mich für die gute Zusammenarbeit in den letzten Jahren ganz herzlich bedanken.

Mein Dank gilt vor allem Herrn Prof. Dr. W. Römer, der sich als ein nie versiegender Quell an nützlichen Informationen erwiesen und immer die Geduld aufgebracht hat, einen unwissenden Chemiker mit den Geheimnissen der Pflanzenernährung vertraut zu machen.

Herrn Dr. B. Steingrobe möchte ich für die kritische Durchsicht des Manuskriptes, sowie die ständige fruchtbare Diskussionsbereitschaft danken, die sehr zum gelingen der Arbeit beigetragen hat.

Frau Martina Noltkämper danke ich für die Durchsicht des Manuskriptes und ihre Unterstützung im Kampf gegen Komma- und Tippfehler.

Meiner Zimmergenossin Frau Hanadi El Dessougi danke ich für die Freundschaft, die sie mir entgegengebracht hat und die aufmunternden Worte, die manchmal nötig waren, um diese Arbeit zu beenden.

Insbesondere Frau Birgit Eichenberg und Frau Susanne Koch sowie Frau Marlies Niebuhr möchte ich für die tatkräftige Mitarbeit bei zahlreichen Versuchen, vom Ansetzen von Gefäßen, deren Betreuung bis hin zur Durchführung von Analysen danken.

Herrn Ralf-Werner Rasch und Frau Angelika Neumann danke ich für ihre Mithilfe bei der Durchführung der Nährlösungsversuche.

Den Firmen Carl Sperling & Co., Enza Zaden B.V., Rijk Zwaan, Bejo Samen-Vertriebs GmbH und S&G Seeds B.V. danke ich für die Bereitstellung des Saatgutes.

Für die finanzielle Unterstützung danke ich der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Meinen Eltern danke ich für die Geduld und die Unterstützung, die sie mir im Verlauf des Studiums zukommen ließen.

Meiner Freundin K Starr Schoell danke ich für die Motivation und Energie, die ich durch sie gewonnen habe und die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

Allen Freunden danke ich ich für die Abwechslungen und schönen Stunden in der anderen Hälfte meines Lebens, welche nichts mit dieser Arbeit zu tun hat.

Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN

Geburtsdatum:	09.11.1967
Geburtsort:	Kaiserslautern
Familienstand:	ledig
Staatsangehörigkeit:	deutsch
Eltern:	Albert Keller und Gerdi Keller, geb. Christoffel

SCHULBILDUNG

1974 bis 1978	Grundschule in Wolfstein (Pfalz)
1978 bis 1980	Staatl. Realschule in Kaiserslautern
1980 bis 1987	Staatl. Gymnasium am Rittersberg in Kaiserslautern
1987	Abitur

HOCHSCHULAUSBILDUNG

1987 bis 1994	Chemiestudium an der Universität Kaiserslautern
1993	Diplomarbeit im Fachbereich Weinchemie und Kellerwirtschaft der Staatlichen Lehr- und Forschungsanstalt für Landwirtschaft, Weinbau und Gartenbau (SLFA)
Januar 1994	Abschluß als Diplom-Chemiker
1995 bis 2000	Stipendiat und wissenschaftlicher Mitarbeiter mit dem Ziel der Promotion am Institut für Agrikulturchemie der Georg-August-Universität Göttingen

BISHERIGE TÄTIGKEITEN

1991	Chemielaborant im Rahmen eines Sonderprojektes bei der Chantal Pharmaceutical GmbH, Siegelbach
1992 bis 1993	Mitarbeiter bei Dr. med. Dr. rer. nat. B. Scheerer, Arzt für Labormedizin im Bereich Schwermetallanalytik, Kaiserslautern
1994	wissenschaftlicher Mitarbeiter im Institut für medizinische Chemie an der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH)
1998 bis 2000	wissenschaftlicher Mitarbeiter im Rahmen eines DFG-Projektes am Institut für Agrikulturchemie, Universität Göttingen