

# Planters tilpasning til fosfatmangel

## - grundforskning med perspektiver

Hvordan tilpasser planter sig til fosfatniveauet i jorden? Hvordan og hvor hurtigt registrerer planten ændringer i jordens fosfatniveau? Hvilke molekulære mekanismer tillader planten at udnytte fosfat mere effektivt? Og kan man få planter til at optage mere fosfat eller til at udnytte det bedre? Grundvidenskabelige studier af geners respons på fosfat er et skridt på vejen mod udvikling af planter, der udnytter fosfat bedst muligt.

Af Renate Müller, Lena Nilsson og Tom Hamborg Nielsen  
Institut for Plantebiologi, Den Kongelige Veterinær- og Landbohøjskole

Fosfat er et vigtigt næringsstof for planter, men i landbrugsjord giver både overskud af fosfat og for lidt fosfat problemer. I Danmark og andre lande med et højt industrialiseret landbrug har vi et overflodsproblem, hvor der tilføres flere næringsstoffer til jorden end der fjernes. Afgrøderne vokser godt, men de overskydende næringsstoffer skader vandmiljøet og forandrer plantesamfundet i naturområder. I mange tropiske og subtropiske lande har man det modsatte problem? udpinte marker, lavt høstudbytte og overudnyttelse af den naturlige vegetation. En vigtig faktor i begge problemstillinger er planternes evne til at optage og udnytte fosfat.

På Institut for Plantebiologi på KVL undersøger vi den genetiske baggrund for planters fosfatomsætning, og hvordan planter tilpasser sig fosfatniveauet i jorden. Det langsigtede mål er at udvikle planter, der udnytter fosfat bedst muligt.

### Fosfat er et essentielt makronæringsstof

Grundstoffet fosfor er nødvendigt for alle levende organismer. Planter optager relativt store mængder fosfor i form af uorganisk fosfat via rødderne. Fosfat indgår i mange vigtige molekyler i planten, f.eks. arvematerialet DNA, fosfolipider i cellemembraner og de energibærende ATP-molekyler.

Planter, der mangler fosfat, har stærkt reduceret strækingsvækst og har ofte deformede blade med døde pletter. Et karakteristisk symptom er, at bladene bliver mørke eller næsten lilla. Farveændringen skyldes, at de fosfatsultede planter ophober rødlige farvestoffer, anthocyaniner. Mængden af anthocyaniner kan tages som mål for graden af stress (Figur 1).



Figur 1. Planter der mangler fosfat, skifter farve over mørkegrøn til violet. Her ses forsøgsplanten gåsemad (*Arabidopsis thaliana*), dyrket ved forskellige niveauer af fosfat. Ekstremt

lavt (0.01 mM P, øverst til venstre), lavt (0.05 mM P, nederst til venstre). Planterne vist til højre har først fået de samme lave niveauer af fosfat som planterne til venstre. Derefter er de i 4 dage dyrket ved højt fosfatniveau (4 mM P) og de har nu skiftet til en frisk farve, da de ikke længere er i fosfat-mangel.

Ved fosfatmangel visner de ældre blade, og deres fosfat og andre næringsstoffer transporteres til yngre blade og genbruges. Fosfat kan nemt transporteres rundt i de vegetative dele af planten (rod, stængel og blade), men i frøet indlejres fosfatet i meget stabile forbindelser og bliver først frigivet, når frøet spirer. Dette sikrer næste generations fosfatforsyning i den første tid.

### Planternes tilpasning til jordens fosfatindhold

Mange års intensiv landbrugsproduktion med tilførsel af handelsgødning og spredning af gylle har bevirket, at store mængder fosfor er ophobet i dansk landbrugsjord. Imidlertid er kun en lille del af dette fosfor tilgængeligt for plan-



Figur 2. Planter der mangler fosfat er mindre, men de kan alligevel have en større rodlængde end planter, som er forsynet med tilstrækkelig fosfat. Dette ses her for tomatplanter, som er dyrket med hhv. lav (til venstre) og høj fosfatforsyning (til højre).

terne. Langt det meste er bundet til mineraler eller lerpartikler, indgår i organiske forbindelser eller danner uopløselige udfældninger med positivt ladede ioner. Planternes rødder kan kun optage frit fosfat, som er opløst i jordvæsken, og da fosfor kun langsomt frigives fra jordpartikler til jordvæsken, kan planterne mangle fosfat, selvom jordens fosforindhold er højt.

På grund af den begrænsede mobilitet af fosfor i jorden må planterne afsøge et stort jordvolumen for tilgæn-

geligt fosfat for at få dækket deres behov. Ved fosfatmangel udvikler planten derfor et større rodnet, og både rodlængde og antallet af rodhår øges. Med det forøgede rodnet kan planten hente fosfat fra et større område, men det sker på bekostning af skuddets vækst (Figur 2).

De fleste planter har også evnen til at alliere sig med mikroorganismer. Symbiose med svampe (mykorrhiza), der trænger ind i plantens rødder, giver planten adgang til et langt større underjordisk forsyningsnet, som består af svampens hyfer. Til gengæld for fosfat får svampen tilført sukkerstoffer fra planten.

Planter har også udviklet strategier til at forøge mængden af frit fosfat i jorden. Rødderne udskiller enzymer, der kan frigive organisk bundet fosfat, og de kan også fremme frigivelse af mineralisk bundet fosfat ved at udskille organiske syrer.

### Fosfat optages hurtigt

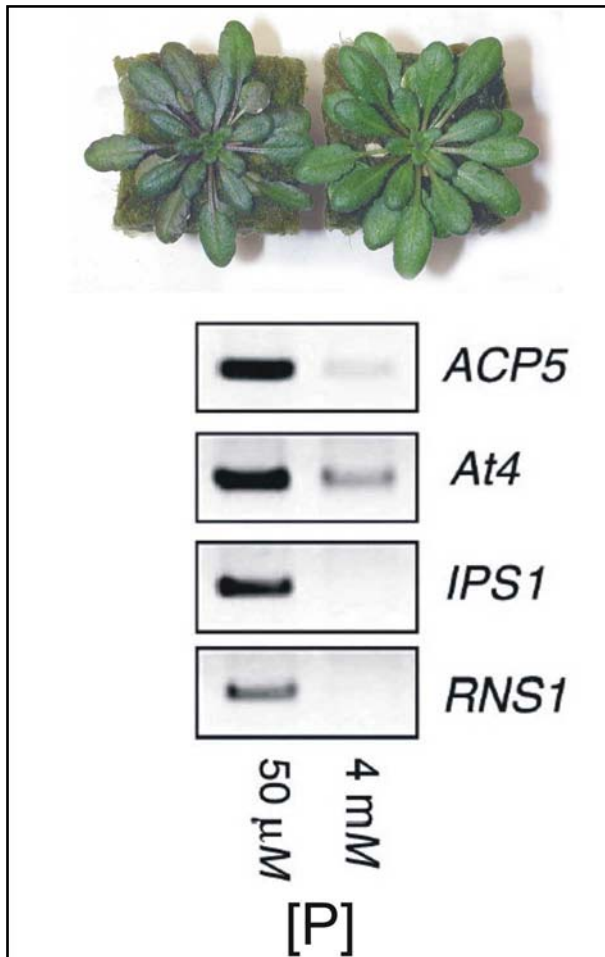
vor hurtigt kan planter optage fosfat efter en periode med fosfatsult? Optagelsesstudier hvor planterne dyrkes i vandkultur viser, at plantens indhold af fosfat er tydeligt øget allerede to timer efter tilførsel af fosfat, og efter bare 4 timer med høj koncentration af fosfat i næringsopløsningen er indholdet af fosfat i plantens blade steget til det dobbelte af udgangsværdien! I roden er stigningen i fosfatindhold ikke helt så markant, men dette skyldes at fosfatet hurtigt transporteres op til bladene. Planter som mangler fosfat er altså i stand til hurtigt at optage næringsstoffet. Transporten fra rod til skud sker ligeledes meget hurtigt. Vi har analyseret optagelsen af fosfat både ved at bruge radioaktive isotoper og ved at analysere indholdet af fosfat i de forskellige plantedele (Figur 3).



Figur 3. Forsøgsplanten gåsemad (*Arabidopsis*) dyrkes i spande med næringsopløsning, således at både blade og rødder kan høstes og analyseres. Fosfat ekstraheres fra plantevævet og med et farvereagens synliggøres fosfatkoncentrationen (der dannes et grønt farvekompleks), og derefter måles farveintensiteten (absorbansen) af opløsningen.

### Respons indenfor 30 minutter

Hvad sker der så i planten i minutterne fra fosfatkoncentration i vandet ændres, til at ændringerne kan måles i blade og rødder? Man kender en række gener, som er mere aktive, når planten mangler fosfat. Disse fosfat-responsive gener udtrykkes kun svagt (eller slet ikke), når der er fosfat er til stede (Figur 4).



**Figur 4.** Gåsemad blev dyrket ved lavt fosfatniveau i 4 uger. Planten til højre fik tilført fosfat til højt niveau de to sidste dage. Aktiviteten af gener, som koder for en fosfatase (*ACP5*), en ribonuklease (*RNS1*) og to gener (*At4*, *IPS1*) med ukendt funktion blev undersøgt. Båndenes intensitet er et mål for mængden af mRNA og dermed for genernes aktivitet. De fire udvalgte gener er meget aktive i planterne i fosfatmangel, mens generne slukkes efter tilførsel af fosfat.

En del fosfat-responsive gener koder for enzymer, der er med til at øge optagelsen af fosfat fra jordbunden eller til at remobilisere fosfat fra andre plantedele. Nogle af disse enzymer frigør fosfat fra organiske forbindelser, så fosfatet bliver tilgængeligt. Andre sørger for, at planten kan udskille syrer, som opløser fosfat, som er bundet i jorden. Endelig koder visse gener for transportører, som sidder i membraner og transporterer fosfat ind i cellen eller sender fosfat rundt i planten.

Ved at analysere ændringer i aktiviteten af disse gener kan man få et indtryk af, hvornår planten registrerer, at den mangler fosfat, og hvor hurtigt den „opfatter“, at der igen er tilstrækkeligt fosfat. Denne såkaldte fosfat-sensing resulterer i, at planten sætter mekanismerne i gang for at øge tilgængelighed, remobilisering og genbrug af fosfat, når der er mangel. Samtidig er det vigtigt at „nødforsyningssystemet“ lukkes, når der igen er nok fosfat. I vores forsøg med tilførsel af fosfat til sultede planter, reagerede planterne tydeligt ved at slukke bestemte gener i løbet af nogle minutter. Planterne kan altså hurtigt „mærke“ ændringer i deres forsyning af fosfat.

### Hvordan regulerer planten genaktiviteten?

Her er en stor udfordring for vores forskning. Den grundlæggende mekanisme til at „mærke“ (på engelsk „sense“) fosfat er stort set ukendt. Når et gen skal udtrykkes eller forblive slukket, styres dette via hjælpeproteiner, som kaldes transkriptionsfaktorer. Transkriptionsfaktorerne binder sig til specifikke DNA-sekvenser i det gen som skal styres, og bestemmer derved, om genet er aktivt eller slukket. Den samme transkriptionsfaktor kan deltage i regulering af flere gener, og et gen reguleres som regel af flere transkriptionsfaktorer. Dette giver et kompliceret netværk af styringsmekanismer, og der findes mere end tusind forskellige transkriptionsfaktorer til reguleringen af en plantes genaktivitet.

I vores forskning har vi valgt at fokusere på en gruppe på 14 gener, som koder for en bestemt type af transkriptionsfaktorer. Disse gener ligner hinanden og har bestemte motiver i deres DNA sekvens. De henføres derfor til samme genfamilie, som betegnes PSR-familien (PSR står for Phosphate Starvation Response). Det er påvist, at en lignende transkriptionsfaktor regulerer fosfatbalancen i en encellet alge, og det formodes, at flere af generne i PSR-familien har betydning for højere planters respons på fosfatmangel.

Vi undersøger bl.a. planter, hvor generne i PSR-familien, er slået ud (knock-out mutanter). Disse mutanter har et ændret udseende, et ændret indhold af fosfat, og deres reaktion på fosfatsult er ændret. For eksempel har de en mindre grad af rød farvning, og ved fosfatmangel forøges deres rodvækst ikke i samme grad som hos normale planter (vildtype). Desuden forbliver gener slukkede, som ellers typisk er aktive under fosfatsult. Analysen af disse mutanter vil bidrage til forståelsen af fosfatoptagelse og bringe os nærmere en forbedret fosforudnyttelse.

### Perspektivet

For at kunne forbedre planters evne til at optage fosfat er det nødvendigt først at identificere de mekanismer, der gør planten i stand til at mærke fosfatmangel og effektivisere udnyttelsen af fosfat. Planter med en mere effektiv optagelse og udnyttelse af fosfat, vil også vokse bedre ved et lavt niveau af frit fosfat i jorden. Vi kunne så spare kunst-

gødning og planteavlere i ulandene kunne få højere udbytte på jorde, hvor fosfat ellers er svært tilgængeligt.

Bioteknologien tilbyder os redskaberne til at identificere faktorer, som er vigtige for plantens reaktion på fosfatsult. En øget viden om plantens molekylære signaler kan skabe grundlag for at udvikle kulturplanter med forbedret optagelse af fosfat. Planterne vil kunne tilføres nye gener ved hjælp af genetisk modifikation eller ved konventionel planteforædling. Nye afgrødesorter med forbedret fosfatoptagelse vil være til gavn for landbrug og miljø, både lokalt og globalt.

Flere oplysninger om os: <http://www.plbio.kvl.dk/>

Renate Müller og Tom Hamborg Nielsen er lektorer og Lena Nilsson er ph.d. -studerende på Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole. Forskningen præsenteret i denne artikel er udført på Plantebiokemisk Laboratorium, Institut for Plantebiologi, KVL, med støtte fra Statens Jordbrugs- og Veterinærvidenskabelige Forskningsråd og Danmarks Grundforskningsfond.