

Wie gelangt Eisen in die Pflanze?

Dorothee Staiger*

Obwohl Eisen das vierthäufigste Element in der Erdkruste ist, steht es wegen der geringen Wasserlöslichkeit für die pflanzliche Ernährung kaum unmittelbar bereit. Pflanzen benötigen deshalb einen aktiven Mechanismus, um Eisenionen aus dem Erdboden aufzunehmen. Sie bedienen sich dazu verschiedener chemischer Strategien. Diese Mechanismen sind in den letzten Jahrzehnten physiologisch gut charakterisiert worden, doch erst in jüngster Zeit gelang durch den Einsatz molekular-genetischer Methoden ein Durchbruch bei der Identifizierung der beteiligten Proteine. Als Anwendungsmöglichkeiten ergeben sich eine gezielte Manipulation der Eisenaufnahme in die Pflanze sowie die Phytoremediation.

1. Einleitung

1.1. Bedeutung des Eisens für den pflanzlichen Stoffwechsel

Bereits 1882 erkannte der Pflanzenphysiologe Julius von Sachs die Bedeutung des Eisens für die pflanzliche Ernährung. Er experimentierte mit Hydrokulturen, indem er die Wurzeln der Versuchspflanzen in eisenfreie Nährlösungen eintauchte. Dabei beobachtete von Sachs: „Die ... neuen Blätter bleiben völlig weiß, erzeugen also kein Chlorophyll... Das ist nun der Beweis, daß unserem Nährstoffgemenge noch etwas gefehlt hat: ... daß die Erkrankung unserer Pflanzen, die sogenannte Chlorose, von Eisenmangel herrührt...“^[1] Damit wurde zum ersten Mal festgestellt, dass Eisen für die Biosynthese von Chlorophyll notwendig ist.

Die Bedeutung des Eisens für den Stoffwechsel liegt vor allem in seiner Fähigkeit, die stabilen Ionen Fe^{II} und Fe^{III} zu bilden. Entsprechend sind Eisenionen an den meisten Redoxreaktionen der Elektronentransportketten von Photosynthese und Atmung beteiligt, durch die Energie aus der Übertragung von Elektronen zur Gewinnung von ATP, der „Energiewäh-

lung“ der Zelle, genutzt wird. Eisen ist auch an der symbiotischen Fixierung von Luftstickstoff in den Wurzelknöllchen der Leguminosen beteiligt: Die Untereinheiten des Enzyms Nitrogenase, das N_2 zu NH_3 reduziert, und das Leghämoglobin, das für die Bindung von Sauerstoff in den Wurzelknöllchen verantwortlich ist, enthalten Eisen.

1.2. Schädigungen durch Eisen

Eine Limitierung der zellulären Eisenkonzentration ist erforderlich, da Eisenionen Ein-Elektronen-Übergänge katalysieren und damit die Bildung toxischer Sauerstoffspezies fördern. Als Zwischenstufe bei der Reduktion von molekularem Sauerstoff zu Wasser in der Zelle treten Superoxid-anionen auf, welche Fe^{III} zu Fe^{II} reduzieren (Schema 1). Fe^{II} -Ionen katalysieren ihrerseits die Zersetzung von H_2O_2 zu

Reduktion von Fe^{III} durch Superoxidanionen



Fenton-Reaktion



Summe: Haber-Weiss-Reaktion



Schema 1. Toxizität von Eisenionen in der Zelle. Die Haber-Weiss-Reaktion ist die Summe der Reduktion von Fe^{III} -Ionen durch Superoxidanionen und der Fenton-Reaktion, der durch Fe^{II} -Ionen katalysierten Zersetzung von H_2O_2 zu hochreaktiven Hydroxylradikalen.

Hydroxylradikalen (Fenton-Reaktion), die hochreaktiv sind und Bestandteile der Zelle wie DNA und Lipide schädigen. Ein Überschuss an reaktiven Sauerstoffspezies führt zu einer verstärkten Schädigung der Zellbestandteile. Diesen Zustand bezeichnet man als oxidativen Stress.^[2, 3] In Mutanten der Erbse, die wesentlich mehr Eisen als üblich akkumulieren, kommt es sogar zum Absterben von Zellen und damit zur Bildung von nekrotischen Läsionen in den Blättern. Diese Situation entspricht der einer Erbkrankheit des Menschen, bei der eine erhöhte Eisenaufnahme zu einem erhöhten Leberkrebsrisiko führt.

[*] Dr. D. Staiger
Institut für Pflanzenwissenschaften
Eidgenössische Technische Hochschule
8092 Zürich (Schweiz)
Fax: (+41) 1-632-1081
E-mail: dorothee.staiger@ipw.biol.ethz.ch

Wie wird die Pflanze die Geister, die sie rief, wieder los? Zum einen dient ein antioxidatives System als Schutz, das Superoxidradikale und Wasserstoffperoxid zerstört, bevor sie in Kontakt mit Eisen gelangen. Ironischerweise sind Eisen und Hämgruppen essentielle Cofaktoren der Enzyme Peroxidase und Katalase, die den Abbau von H_2O_2 katalysieren. Zum anderen wird überschüssiges Eisen unschädlich gemacht, indem es in einem multimeren Protein, Ferritin, gespeichert wird, das bis zu 4500 Eisenionen aufnehmen kann.^[2]

1.3. Aufnahme von Eisen

Ein weiterer Punkt zur Regulation des Eisengehalts der Pflanze ist die kontrollierte Aufnahme von Eisen. Obwohl Eisen am Aufbau der Erdrinde als vierthäufigstes Element mit über 3 % beteiligt ist, ist es für die pflanzliche Ernährung nur schwer verfügbar. Eisen kommt primär in Silicaten vor. Durch Verwitterung werden Eisenionen freigesetzt und in Form von schwerlöslichen Eisenoxiden wie Goethit ($\alpha\text{-FeOOH}$) und Hämatit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) abgelagert, die meist hydratisiert sind. Freie Eisenionen liegen bei neutralem pH-Wert in einer Konzentration von etwa 10^{-17} M vor.^[4] Die geringe Löslichkeit im Boden reicht nicht für die Versorgung der Wurzeln mit Eisen aus. Deshalb benötigen Pflanzen einen aktiven Mechanismus, um Eisen aus den Eisen(III)-oxidhydraten freizusetzen und verfügbar zu machen.

Einen Eisenüberschuss findet man höchstens auf überfluteten, schlecht durchlüfteten Böden mit reduzierenden Bedingungen wie Reisböden. Dort liegen Fe^{II} -Ionen vor, die wesentlich besser löslich sind als Fe^{III} -Ionen und von der Pflanze direkt aufgenommen werden. Eine übermäßige Akkumulation von Eisen unter diesen Bedingungen löst das bekannte Bräunungs-Phänomen („bronzing“) der Reispflanzen als Folge von oxidativem Stress aus.^[2, 3]

Pflanzen haben im Lauf der Evolution drei chemische Mechanismen zur Aufnahme von Eisen entwickelt: Solubilisation von Eisen durch Abgabe von Protonen von der Wurzeloberfläche, Reduktion und Chelatbildung.^[3, 5] Obwohl diese Mechanismen in den letzten Jahrzehnten physiologisch gut charakterisiert wurden und eine Reihe von Mutanten mit Defekten in der Eisenaufnahme bekannt waren, gelang erst in jüngster Zeit durch den Einsatz molekulargenetischer und gentechnischer Methoden ein Durchbruch bei der Identifizierung und biochemischen Charakterisierung der beteiligten Proteine.

2. Strategie I: Eisen wird durch Reduktion verfügbar

Die meisten Pflanzen, mit Ausnahme der Gräser, aktivieren bei Eisenmangel einen Katalog von Maßnahmen. Man spricht hier von der Strategie I im Unterschied zur Strategie II der Gräser, die im Anschluss diskutiert wird.^[5]

2.1. Elemente der Strategie I

Strategie I: Pflanzen scheiden Protonen von der Wurzeloberfläche ab, sodass der pH-Wert des Bodens in unmittelbarer Umgebung der Wurzel, der Rhizosphäre, absinkt. Wahrscheinlich wird dazu eine protonenpumpende ATPase aktiviert, ein Enzym, das unter Einsatz von ATP als Energiequelle Protonen durch die Zellmembran nach außen schleust. Die Ansäuerung des Bodens führt zur Dissoziation der $[\text{Fe}(\text{OH})_3]$ -Komplexe: Verringert sich der pH-Wert um 1, steigt die Löslichkeit von Fe^{III} um das Tausendfache.^[6]

Ferner findet an der Wurzeloberfläche eine vermehrte NADH-abhängige Reduktion von Fe^{III} statt. Das dabei entstehende Fe^{II} ist bei neutralem pH-Wert etwa 10^{16} -mal löslicher als Fe^{III} und dient als Substrat für ein Fe^{II} -spezifisches Aufnahmesystem.^[7] Zusätzlich vergrößern die Pflanzen die für die Eisenaufnahme zur Verfügung stehende Oberfläche durch eine verstärkte Bildung von Wurzelhaaren (Fortsätze der äußeren Zellschicht). Die einzelnen Elemente der Strategie I sind in Abbildung 1 zusammengefasst. Bisher ist der Sensor, der die Eisenkonzentration in der Pflanze misst, nicht bekannt.

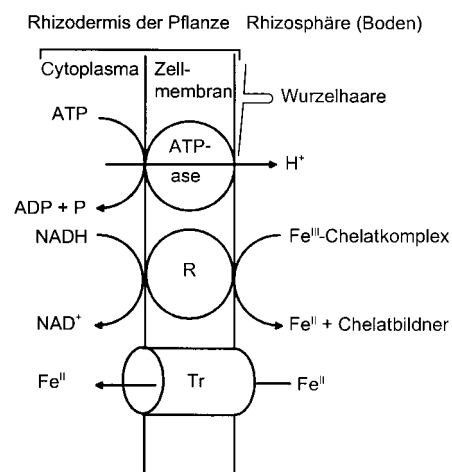


Abbildung 1. Elemente der Strategie I (in Anlehnung an Lit. [5]). Gezeigt ist die äußerste Zellschicht der Wurzel, die Rhizodermis, und die unmittelbare Umgebung des Bodens, die Rhizosphäre. Alle Pflanzen mit Ausnahme der Gräser reagieren auf Eisenmangel mit der Ansäuerung der Rhizosphäre, der vermehrten Reduktion von chelatgebundenen Fe^{III} an der Wurzeloberfläche durch eine NADH-abhängige Reduktase R und der Aufnahme von Fe^{II} über spezifische, induzierte Aufnahmesysteme Tr. Ferner wird die Oberfläche durch zusätzliche Bildung von Wurzelhaaren vergrößert.

2.2. Identifizierung der Fe^{III} -Chelat-Reduktase mithilfe eines genetischen Ansatzes bei der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana*

Eine Identifizierung von Komponenten dieses Eisenaufnahmesystems gelang kürzlich mithilfe eines genetischen Ansatzes bei der Modellpflanze Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*, Abbildung 2). *Arabidopsis* ist ein unschein-



Abbildung 2. *Arabidopsis thaliana* (Ackerschmalwand) ist eine kleine Pflanze aus der Familie der Kreuzblütler, die sich als Modellpflanze der Pflanzenmolekularbiologen etabliert hat.^[8] Der Balken entspricht 5 cm.

bares Unkraut aus der Familie der Kreuzblütler, das wegen seiner kurzen Generationszeit von einigen Wochen und seines kleinen Genoms, dessen Sequenz vollständig bekannt ist, zum Modellsystem der Pflanzenmolekularbiologen wurde.^[8]

Arabidopsis folgt der Strategie I und erhöht bei Eisenmangel die NADH-abhängige Fe^{III} -Reduktase-Aktivität an der Wurzeloberfläche. Guerinot et al. suchten nach Mutanten, in denen bei Eisenmangel diese Fe^{III} -Reduktase-Aktivität nicht erhöht ist.^[9] Sie behandelten dazu Samen von *Arabidopsis* mit dem Mutagen EMS (Ethylmethansulfonat), das Basen im Erbgut zufallsmäßig modifiziert. Führt eine solche Punktmutation zum Austausch einer essentiellen Aminosäure eines Proteins, kommt es zu Ausfallserscheinungen in der Pflanze. Unter den Nachkommen der mutagenisierten Pflanzen suchten die Forscher nach Individuen, bei denen diese Behandlung mit EMS zu einer Störung der Eisenreduktion geführt hat. Sie bedienten sich dazu eines colorimetrischen Tests: Fe^{II} -Ionen bilden mit dem Farbstoff Ferrozin einen Komplex, der bei 562 nm photometrisch nachgewiesen werden kann.

Dabei wurden die drei Mutanten *frd1-1*, *frd1-2* und *frd1-3* (*frd* = ferric reductase deficient) identifiziert. Bei diesen Mutanten ist die Fe^{III} -Reduktaseaktivität bei Eisenmangel im Gegensatz zu der beim Wildtyp nicht induziert.^[9] Genetische Tests zeigten, dass alle drei Mutationen denselben Genort betrafen.

Bei der Identifizierung des Gens, das in diesen Mutanten defekt ist, profitierten die Forscher von Experimenten in einem anderen Labor. Dort war versucht worden, die Fe^{III} -Chelat-Reduktase mithilfe der Polymerase-Kettenreaktion wegen Homologien zu Fe^{III} -Chelat-Reduktasen aus Hefe zu klonieren. Bei dieser Technik wurden chemisch synthetisierte Oligonucleotide, die aus konservierten Bereichen der gewünschten Sequenz abgeleitet wurden, als Startmoleküle für eine enzymatische Amplifikation aus dem *Arabidopsis*-Genom eingesetzt.^[10]

Tatsächlich konnte ein Teil eines *Arabidopsis*-Gens amplifiziert werden, das die vermeintliche Reduktase kodiert. Das vorausgesagte Protein ist unter anderem homolog zu der NADPH-Oxidase aus Phagozyten beim Menschen. Dieses Enzym katalysiert die Reduktion von O_2 zu O_2^- , wobei ein Elektron durch die Zellmembran geschleust und auf O_2 übertragen wird. Das *Arabidopsis*-Protein hat hydrophobe Bereiche, die für eine Lokalisierung in der Membran sprechen. Auf der cytosolischen Seite befinden sich Anheftungsstellen für die Elektronendonoren NADH und den Cofaktor FAD (Abbildung 3). In dem Bereich des Moleküls, der innerhalb der Membran liegt, befinden sich Bindungsstellen für Hämgruppen, über die die Elektronen aus der Zelle transportiert werden.^[10]

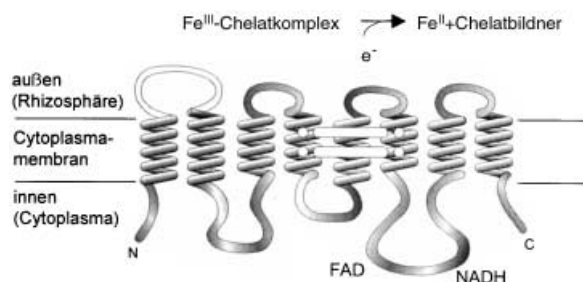


Abbildung 3. Schematischer Aufbau der Fe^{III} -Chelat-Reduktase (modifiziert nach Lit. [10]). Auf der cytosolischen Seite befinden sich Anheftungsstellen für den Elektronendonator NADH und den Cofaktor FAD. In dem Bereich des Moleküls, der innerhalb der Membran liegt, befinden sich Histidine (offene Kreise), die als Bindungsstellen für die Hämgruppen dienen.

Steht dieses Protein tatsächlich im Zusammenhang mit dem Defekt in den *frd*-Mutanten? Bei einer Transformation des intakten Fe^{III} -Reduktase-Gens aus Wildtyp-Pflanzen in die *frd1*-Mutanten werden diese wieder in die Lage versetzt, Fe^{III} zu Fe^{II} zu reduzieren. Darüber hinaus finden sich in den Reduktase-Genen der drei Mutanten Punktmutationen. Somit ist eindeutig gezeigt, dass die *frd*-Mutationen die Reduktase betreffen, die an der Wurzeloberfläche Fe^{III} -Ionen reduziert.^[10]

2.3. Identifizierung von Komponenten des Eisenaufnahmesystems durch funktionelle Komplementation in Hefe

Wie gelangt das Fe^{II} , das durch diese Reduktion entsteht, letztlich in die Zelle? Zur Identifizierung von Proteinen, die den Eisentransport bewerkstelligen, wurde die Technik der funktionellen Komplementation in Hefe eingesetzt (Abbildung 4). Dabei wurde eine Hefemutante verwendet, bei der zwei Fe^{II} -Transportsysteme defekt sind. Diese Hefe wächst in einem Medium mit geringem Eisengehalt schlecht und bildet nur kleine Kolonien.^[11] In die Mutante wurde eine Vielzahl von *Arabidopsis*-Genen eingeführt. Kolonien, die danach besser wachsen und einen größeren Durchmesser haben, sollten ein *Arabidopsis*-Protein exprimieren, das die Fe^{II} -Aufnahme vermittelt.



Abbildung 4. Identifizierung eines Eisentransportproteins aus *Arabidopsis thaliana* durch funktionelle Komplementation in Hefe. Eine Hefemutante, in der zwei Fe^{II} -Transportsysteme defekt sind, bildet auf Medium mit geringem Eisengehalt kleine Kolonien. Mutanten, die nach dem Einführen von *Arabidopsis*-Genen ein Protein zur Fe^{II} -Aufnahme exprimieren, bilden große Kolonien.^[11]

Auf diese Weise wurde das erste *Arabidopsis*-Gen für ein putatives Eisentransportprotein IRT1 (IRT=iron regulated transporter) isoliert.^[11] Die abgeleitete Aminosäuresequenz lässt auf ein Membranprotein mit acht Transmembrandomänen schließen. Die Sequenz zeigt keine Homologie zu den Eisentransportproteinen aus der Hefe oder dem Bakterium *Escherichia coli*. Es handelt sich um den Prototyp einer neuen Klasse von Transportproteinen.

Die Transporteigenschaften von IRT1 wurden nach heterologer Expression in Hefe getestet. Die Untersuchung der Aufnahme von radioaktiven Eisenionen in Anwesenheit oder Abwesenheit von Ascorbat als Reduktionsmittel zeigte, dass Fe^{II} -Ionen das bevorzugte Substrat sind. Somit könnte das Protein physiologisch tatsächlich für die Aufnahme von Fe^{II} verantwortlich sein.^[11] Oft werden unter Eisenmangelbedingungen auch andere, zum Teil toxische Ionen, zusammen mit Eisen vermehrt in die Pflanze aufgenommen. Zum Klären der Frage, ob IRT1 weitere Ionen transportieren kann, wurden verschiedene Übergangsmetalle auf ihre Fähigkeit getestet, die Aufnahme von radioaktiven Eisenionen zu inhibieren.^[11] Ein zehnfacher Überschuss von Cd^{II} inhibiert die Fe^{II} -Aufnahme, während Mn^{II} und Zn^{II} die Aktivität von IRT1 erst inhibieren, wenn sie in etwa hundertfachem Überschuss vorliegen. IRT1 transportiert also auch Mangan, Zink und toxische Metalle wie Cadmium in die Pflanze.

Durch gezielte Mutagenese im IRT1-Protein konnte die Bedeutung einzelner Aminosäuren für die Aufnahme bestimmt werden.^[12] Ein Austausch von drei Histidinresten sowie eines Glutaminsäurerests gegen Alaninreste verhindert die Aufnahme aller Ionen. Diese ausgetauschten Aminosäuren binden vermutlich während des Transports das Substrat. Die Mutation von Glutamat 103 eliminiert die Fähigkeit, Zink zu transportieren, beeinflusst aber die Aufnahme von Eisen, Mangan und Cadmium nicht. Die Mutation von Aspartat 100 eliminiert die Fähigkeit, Eisen und Mangan zu transportieren. Die Mutation von Aspartat 136 eliminiert ebenfalls die Fähigkeit, Eisen und Mangan zu transportieren und schränkt die Aufnahme von Cadmium stark ein – es wird fast ausschließlich Zink transportiert.

Damit ist ein erster Schritt für eine gezielte Änderung des Metallprofils eines Transportproteins getan, das Ionen aus dem Boden in die Pflanze schleust. Ein solches modifiziertes Transportprotein könnte letztlich dazu verwendet werden,

den Mineralgehalt von Pflanzen zu manipulieren, sodass letztere spezifisch Kationen wie Eisen akkumulieren, aber toxische Kationen wie Cadmium nicht.

Interessanterweise wurde kürzlich ein weiteres Eisentransportprotein, IRT2, bei *Arabidopsis* identifiziert, das mit IRT1 verwandt ist.^[13] Im Test mit der Hefemutante führt es zur Aufnahme von Eisen und Zink, nicht aber von Mangan und Cadmium. Die Expression des IRT2-Gens in den äußersten Zellschichten der Wurzel sowie den Wurzelhaaren deutet darauf hin, dass IRT2 an der Aufnahme von Eisen aus dem Boden beteiligt ist.^[13]

3. Strategie II: Eisen wird durch Chelatbildung verfügbar

Gräser, z. B. Gerste, Mais und Hafer, verfolgen die Strategie II. Sie basiert auf dem Prinzip der Chelatbildung. Hierbei wird die Neigung des Eisens genutzt, koordinative Bindungen einzugehen und Komplexe zu bilden. Bei Eisenmangel werden von den Pflanzen Chelatbildner mit sechs Donorstellen synthetisiert und freigesetzt, die Fe^{III} aus den schwerlöslichen Komplexen im Boden herauslösen und binden können.^[3, 5] Diese Chelatbildner werden als Phytosiderophore bezeichnet, in Anlehnung an die Eisenaufnahmesysteme von Mikroorganismen, welche als Siderophore bezeichnete Eisen-chelatbildner freisetzen.^[14] Die Komplexe des Eisen mit den Phytosiderophoren werden über spezielle Transportsysteme in die Wurzelzellen aufgenommen (Abbildung 5).^[15]

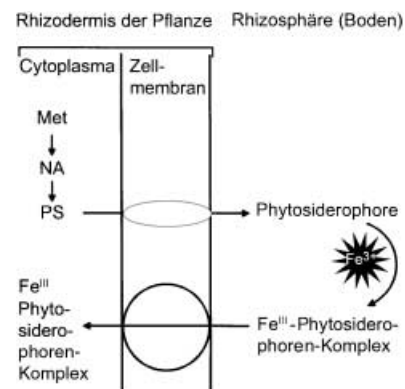


Abbildung 5. Elemente der Strategie II (in Anlehnung an Lit. [5]). Gezeigt ist die äußerste Zellschicht der Wurzel, die Rhizodermis, und die unmittelbare Umgebung des Bodens, die Rhizosphäre. Die Gräser reagieren auf Eisenmangel mit einer vermehrten Synthese von Phytosiderophoren (PS), die von Methionin ausgeht und die nichtproteinogene Aminosäure Nicotianamin (NA) als Zwischenstufe hat. Die Phytosiderophore werden in die Rhizosphäre freigesetzt und binden dort Fe^{III} . Die Fe^{III} -Phytosiderophoren-Komplexe werden über spezifische Transportproteine in die Zellen der Wurzeloberfläche aufgenommen.

Die Menge der freigesetzten Phytosiderophore korreliert mit der Toleranz einer Pflanze gegenüber Eisenmangel. Gerste zeigt eine hohe Resistenz gegen Eisenmangel, während Reispflanzen, die sehr wenig Phytosiderophore freisetzen, sehr empfindlich auf Eisenmangel reagieren (Abbildung 6).^[5, 16]

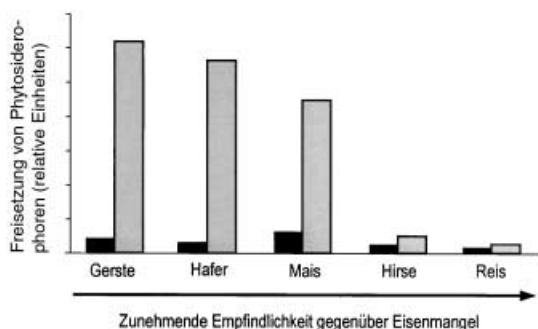
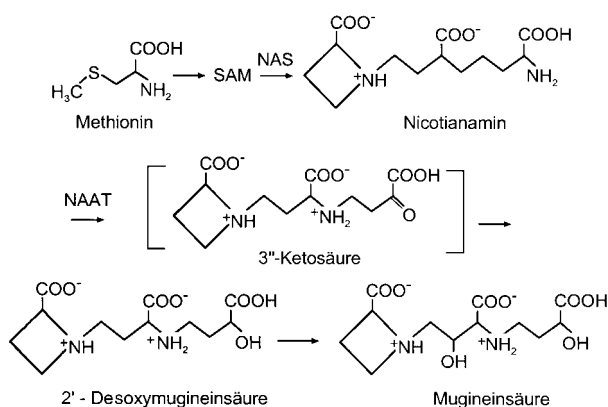


Abbildung 6. Korrelation zwischen Freisetzung von Phytosiderophoren und der Toleranz einer Pflanze gegenüber Eisenmangel (modifiziert nach Lit. [5]). Schwarzer Balken: Anzucht ohne Eisen; grauer Balken: Anzucht mit Eisen. Gerste zeigt eine hohe Resistenz gegen Eisenmangel, während Reispflanzen, die sehr wenig Phytosiderophore freisetzen, sehr empfindlich auf Eisenmangel reagieren.

3.1. Biosyntheseweg der Phytosiderophore

Phytosiderophore werden gebildet, wenn in der Zelle zu wenig Eisen vorliegt. In diesem Fall werden die Biosyntheseenzyme aktiviert. Die Biosynthese (Schema 2) geht von Methionin aus, das zunächst unter Aufwendung von ATP zu



Schema 2. Biosynthese der Phytosiderophore (nach Lit. [17–19]). SAM = S-Adenosylmethionin; NAS = Nicotianaminsynthase; NAAT = Nicotianaminaminotransferase.

S-Adenosylmethionin umgesetzt wird.^[17, 18] Durch Polymerisierung von drei Molekülen S-Adenosylmethionin mittels Nicotianaminsynthase entsteht die Aminosäure Nicotianamin. Die Nicotianaminsynthase konnte aus Gerste isoliert und anschließend kloniert werden. Es handelt sich dabei um ein neuartiges Protein.^[19] Nicotianamin wird durch eine von Nicotianaminaminotransferase katalysierte Transaminierung in die Ketoform umgewandelt und diese zu 2'-Desoxymugineinsäure reduziert.^[20] Mithilfe der sechs funktionellen Gruppen können Fe^{III} -Ionen als Chelatkomplexe gebunden werden. Aus 2'-Desoxymugineinsäure entstehen durch Einführen weiterer Hydroxygruppen speziesspezifische Mugineinsäurederivate, die kollektiv als Phytosiderophore bezeichnet werden.^[21] Die zusätzlichen Hydroxygruppen können die Stabilität der Fe^{III} -Chelatkomplexe erhöhen.^[22]

Nicotianamin konnte in allen untersuchten Pflanzen nachgewiesen werden. Beispielsweise gibt es unter den Pflanzen,

die die Strategie I verfolgen, eine Mutante der Tomaten, die Eisenmangelsymptome zeigt, weil sie kein Nicotianamin synthetisieren kann. Man nimmt an, dass Nicotianamin bei diesen Pflanzen eine Rolle beim Transport von Eisenionen spielt. Die Mutation ist hier auf einen Defekt der Nicotianaminsynthase zurückzuführen.^[23] Dagegen kommen die nachfolgenden Reaktionen nur in Getreidepflanzen vor. Der Aminogruppentransfer durch die Nicotianaminaminotransferase ist also der entscheidende Schritt, der Gräser von den anderen Pflanzen unterscheidet.^[24]

3.2. Identifizierung des Aufnahmesystems für die Fe^{III} -Phytosiderophor-Chelatkomplexe

Während Pflanzen, die die Strategie I verfolgen, Fe^{III} zum wesentlich besser löslichen Fe^{II} reduzieren und dieses über spezielle Transportproteine wie IRT1 aufnehmen, nehmen Pflanzen die die Strategie II verfolgen, Fe^{III} in Form von Komplexen mit den Phytosiderophoren auf.^[5] Kürzlich gelang die Identifizierung eines speziellen Aufnahmesystems für die Fe^{III} -Phytosiderophore mithilfe der Yellow-Stripe-Mutante beim Mais, deren Blätter gelb gestreift erscheinen: Die Chlorophyllsynthese ist beeinträchtigt, da die Mutante keine Fe^{III} -Phytosiderophore aufnehmen kann und deshalb unter Eisenmangel leidet.^[25] Die Mutation ist durch Insertion des Transposons Ac (Ac = Aktivator) in ein für die Eisenaufnahme essentielles Gen verursacht. Transposone sind DNA-Sequenzen, die ihre Position im Genom verändern können. Mit eben diesem Transposon als Sonde konnten die Forscher das betroffene Gen isolieren. Es kodiert ein Protein mit 12 Transmembrandomänen. Um seine Rolle bei der Eisenaufnahme zu untersuchen, verwendeten die Forscher die bereits erwähnte Hefemutante, die kein Eisen aufnehmen und daher bei Eisenmangel nicht wachsen kann. Bringt man in dieser Hefemutante das YS1-Gen aus Mais zur Expression, kann die Mutante in Fe^{III} -2'-Desoxymugineinsäure wachsen. Dies spricht dafür, dass YS1 ein Transportprotein für die Fe^{III} -Siderophore kodiert.^[25]

4. Zusammenfassung und Ausblick

Pflanzen und Gräser, die die Strategie II verfolgen, reagieren auf Eisenmangel mit der Synthese von Phytosiderophoren, die als sechszählige Liganden Fe^{III} komplexieren. Fe^{III} -Phytosiderophore werden durch spezifische Transportsysteme aufgenommen.^[15] Alle anderen Pflanzen pumpen vermehrt Protonen in den Boden, um Fe^{III} -Ionen freizusetzen, die als Substrat für die Fe^{III} -Chelat-Reduktase dienen. Das Produkt Fe^{II} wird über ein Transportsystem wie IRT1 aus *Arabidopsis* in die Wurzelzellen aufgenommen.^[11] Diese Strategie I wird durch den hohen pH-Wert in kalkhaltigen Böden wegen der geringen Löslichkeit von Fe^{III} stark erschwert. Dagegen ist die Aufnahme der Eisen-Phytosiderophor-Komplexe viel weniger vom pH-Wert abhängig. Deshalb können viele Gräser auf kalkhaltigem Boden gedeihen, aus dem Pflanzen, die die Strategie I verfolgen, nur wenig Eisen aufnehmen können.

Welche Folgerungen ergeben sich aus diesem Fortschritt beim Verständnis der Eisenaufnahme in die Pflanze für die menschliche Ernährung? Unter den ernährungsbedingten Mangelerscheinungen steht der Eisenmangel an erster Stelle.^[26] Da ein Großteil der Bevölkerung den Eisenbedarf über pflanzliche Nahrung deckt, könnte ein gezieltes Erhöhen des Eisengehalts von Nutzpflanzen dem Eisenmangel abhelfen. Eine Voraussetzung für eine Manipulation des Eisengehalts ist ein Gesamtbild über die Verteilung des Eisens in der Pflanze.

Aufzuklären bleiben noch die Details der Transportmechanismen, die Eisenionen in der Pflanze und innerhalb der Zelle auf die einzelnen Organellen verteilen. Der Regulationsmechanismus zum Ein- und Ausschalten derjenigen Gene, die an der Aufnahme, Verteilung und Speicherung des Eisens beteiligt sind, ist ebenfalls unbekannt.

Eine Erhöhung des Eisengehalts in einer Form, die letztlich für die menschliche Ernährung nützlich ist, setzt eine Eisenakkumulation in den Pflanzenorganen voraus, die der Ernährung dienen. Will man die Aufnahme von Eisen steigern, indem man in transgenen Pflanzen mehr Transportproteine exprimiert, muss gleichzeitig die Aufnahme von unerwünschten Ionen wie Cd^{II} vermieden werden. Ein anderer Prozess, bei dem die Aufnahme toxischer Metallionen erwünscht ist, ist die so genannte Phytoremediation, die Reinigung metallverseuchter Böden und Gewässer mithilfe metallakkumulierender Pflanzen.^[26] In diesem Fall sollen die Pflanzen die Metalle nach der Aufnahme in die Wurzeln nicht weiter in den Spross transportieren, um die Menge der zu entsorgenden Pflanzenmasse gering zu halten. Ansatzpunkte für beide Anwendungen liefern die in diesem Beitrag beschriebenen Experimente mit der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana*.

Mein Dank gebührt Dr. Hans-Martin Fischer, Dr. Marcel Bucher und Prof. Nikolaus Amrhein für zahlreiche Diskussionen, Stephan Lange und Christoph Lippuner für die kritische Durchsicht des Manuskripts und Dr. Dieter Rubli für seine Hilfe bei der Fertigstellung der Abbildungen.

Eingegangen am 12. November 2001 [M1540]

- [1] Zitiert nach: P. von Sengbusch, *Botanik*, McGraw-Hill, Hamburg, **1989**.
- [2] J.-F. Briat, S. Lobréaux, *Trends Plant Sci.* **1997**, 2, 187–193.
- [3] J.-F. Briat, I. Fobis-Loisy, N. Grignon, S. Lobréaux, N. Pascal, G. Savoin, S. Thoirion, N. von Wirén, O. van Wuytswinkel, *Biol. Cell* **1995**, 84, 69–81.
- [4] M. L. Guerinot, Y. Yi, *Plant Physiol.* **1994**, 104, 815–820.
- [5] H. Marschner, V. Römheld, M. Kissel, *J. Plant Nutr.* **1986**, 9, 695–713.
- [6] E. L. Connolly, M. L. Guerinot in *Plasma membrane redox systems and their role in biological stress and disease* (Hrsg.: H. Asard, A. Bérczi, R. J. Caubergs), Kluwer Academic, Dordrecht, **1998**, S. 179–192.
- [7] H. F. Bienfait, *J. Bioenerg. Biomembr.* **1985**, 17, 73–83.
- [8] Arabidopsis Genome Initiative, *Nature* **2000**, 408, 796–815.
- [9] Y. Yi, M. L. Guerinot, *Plant J.* **1996**, 10, 835–844.
- [10] N. J. Robinson, C. M. Procter, E. L. Connolly, M. L. Guerinot, *Nature* **1999**, 397, 694–697.
- [11] D. Eide, M. Broderius, J. Fett, M. L. Guerinot, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 5624–5628.
- [12] E. E. Rogers, D. J. Eide, M. L. Guerinot, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, 97, 12356–12360.
- [13] G. Vert, J.-F. Briat, C. Curie, *Plant J.* **2001**, 26, 181–189.
- [14] V. Braun, H. Killmann, *Trends Biochem. Sci.* **1999**, 24, 104–109.
- [15] V. Römheld, H. Marschner, *Plant Physiol.* **1986**, 80, 175–180.
- [16] S.-i. Takagi, K. Nomoto, T. Takemoto, *J. Plant Nutr.* **1984**, 7, 469–477.
- [17] S. Shojima, N.-K. Nishizawa, S. Fushiya, S. Nozoe, T. Irifune, S. Mori, *Plant Physiol.* **1990**, 93, 1497–1503.
- [18] J. F. Ma, K. Nomoto, *Physiol. Plant.* **1996**, 97, 609–617.
- [19] K. Higuchi, K. Suzuki, H. Nakanishi, H. Yamaguchi, N.-K. Nishizawa, S. Mori, *Plant Physiol.* **1999**, 119, 471–479.
- [20] M. Takahashi, H. Yamaguchi, H. Nakanishi, T. Shioiri, N.-K. Nishizawa, S. Mori, *Plant Physiol.* **1999**, 121, 947–956.
- [21] H. Nakanishi, H. Yamaguchi, T. Sasakuma, N.-K. Nishizawa, S. Mori, *Plant Mol. Biol.* **2000**, 44, 199–207.
- [22] N. von Wirén, H. Khodr, R. C. Hider, *Plant Physiol.* **2000**, 124, 1149–1157.
- [23] H.-Q. Ling, G. Koch, H. Baumlein, M. W. Ganai, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, 96, 7098–7103.
- [24] K. Kanazawa, K. Higuchi, N.-K. Nishizawa, S. Fushiya, M. Chino, S. Mori, *J. Exp. Bot.* **1994**, 45, 1903–1906.
- [25] C. Curie, Z. Panaviene, C. Loulergue, S. L. Dellaporta, J. F. Briat, E. L. Walker, *Nature* **2001**, 409, 346–349.
- [26] M. L. Guerinot, D. E. Salt, *Plant Physiol.* **2001**, 125, 164–167.