

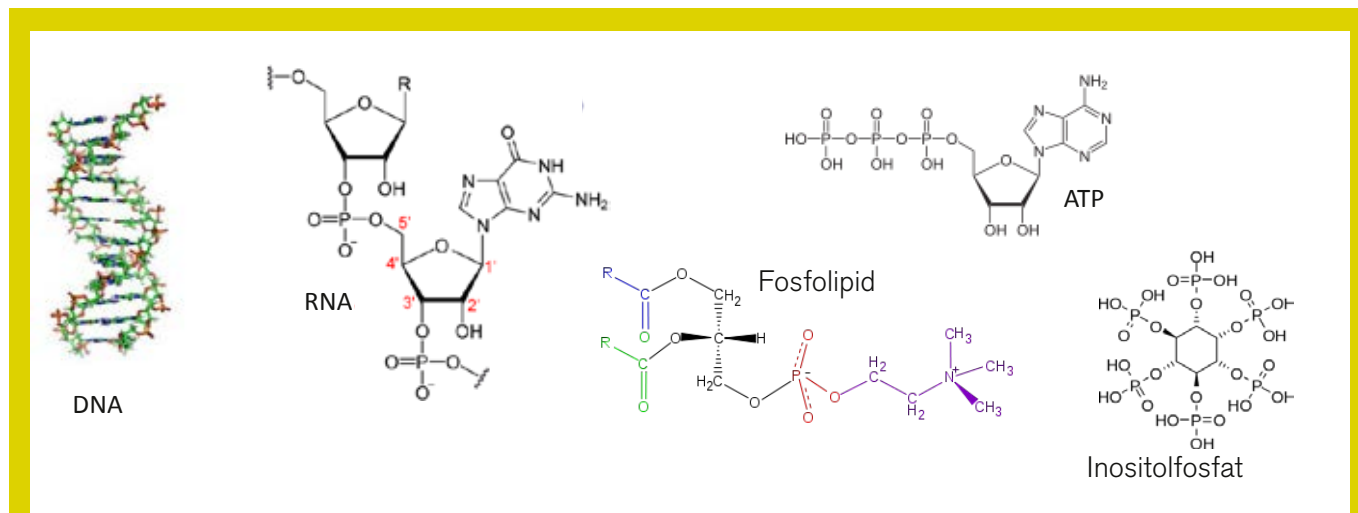
Andrea G. Vincent ▪ Ulrik Ilstedt ▪ Johan Vestergren ▪ Reiner Giesler ▪ Per Persson ▪ Gerhard Gröbner ▪ Jürgen Schleucher



Figur 1. Granplanta (*Picea abies*) i ett försöksområde nära Umeå. Foto Andrea Vincent.

## Fosfor – nödvändigt för skogens tillväxt

- Den boreala skogen är betydelsefull för kolinlagring, biologisk mångfald och svensk ekonomi. Därför är det viktigt att förstå de mekanismer som påverkar skogens tillväxt.
- Även om kväve är det näringsämne som anses mest betydelsefullt för skogens tillväxt i boreala skogar, kan fosfor lokalt vara begränsande.
- Vi vet mindre om fosfors funktion än om kvävet, eftersom det ännu inte finns enkla och bra metoder för att undersöka dess många organiska och inorganiska former.
- Vi använde avancerade biokemiska tekniker för att karakterisera organiskt fosfor i skogsjordar på molekylär nivå.
- Skogsjordar visade sig innehålla en mångfald av organiska fosformolekyler, de flesta RNA-nukleotider och fosfolipider från organismers cellmembran.
- Mycket av fosfor i boreala skogsjordar finns i små organiska molekyler med högt energi- och näringsinnehåll som i princip lätt bryts ned av organismer till mineraliskt fosfor. Förändringar i nedbrytningshastigheten kan påverka tillgängligheten för fosfor i boreala skogar.



Figur 2. Exempel på organiska fosforföreningar som påträffas i växter, mikroorganismer och djur.

Den boreala skogen är jordens näst största biom med 33 % av den skogstäckta ytan. Skogarna upprätthåller viktiga ekosystemtjänster såsom biologisk mångfald och kolbindning, men är också avgörande för ekonomin. Därför har forskare länge varit intresserade av vilka faktorer som påverkar skogens hälsa och tillväxttakt. En av de viktigaste faktorerna är näringsämnen i marken – en grupp om 25 grundämnen som växter och markmikrober behöver för tillväxt och reproduktion. Av dessa 25 grundämnen är kväve (N) och fosfor (P) ofta de tillväxtbegränsande näringsämnen för skogar världen över. En ökad tillgång på dessa ämnen, t.ex. genom skogsgödsling, skulle ge den kraftigaste tillväxtresponen hos träden. I den boreala skogen anses N vara det mest begränsande näringsämnet för trädutveckling, och man har länge studerat varför och hur det påverkar denna. Icke desto mindre är P ett nödvändigt näringsämne för allt liv och tenderar

att vara sällsynt i miljön, men dess roll i boreala skogar har studerats betydligt mindre än den hos N. Delvis beror detta på att P i marken ofta binds till många olika typer av organiska molekyler som kräver avancerad teknik för att identifieras. Att identifiera olika former av P i marken är grundläggande för att man skall veta hur det påverkar skogstillväxten och få en mer balanserad bild av hur boreala skogar "fungerar".

### Fosfor – livsnödvändigt

Fosfor (P) är livsnödvändigt och finns i molekyler som DNA, RNA och ATP, liksom fosfolipider (Figur 2) som är de huvudsakliga beståndsdelarna i organismernas cellmembraner. Allt P på jordytan kommer ursprungligen från berggrunden, och kan inte tas upp av organismer från luften, vilket många så kallade kvävefixerare kan göra med N. Med tiden vittrar berggrunden och frigör P till jordlagren, där växter och markmikrober tar upp det och använ-

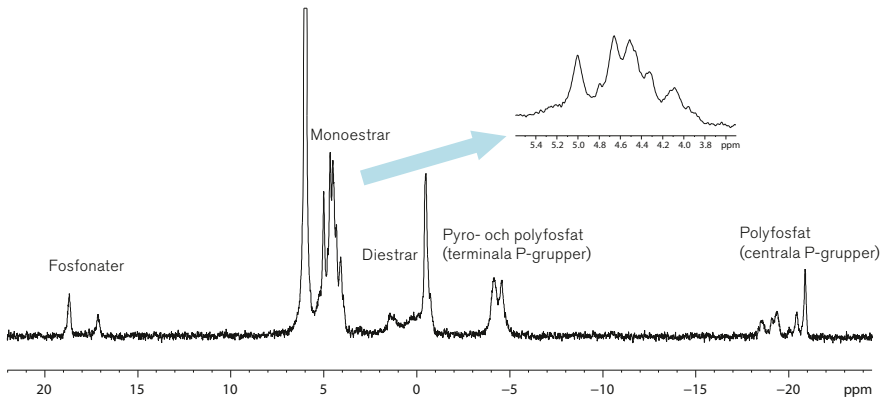
der det för tillväxt, och omsätter det därmed till organiskt P. När växter och mikrober dör återvänder P till jorden i organisk form, så att denna gradvis blir den dominerande formen av markfosfor. Detta är ett problem för växterna eftersom de bara kan använda organiskt P efter det att enzymer från rötter och mikrober frigjort mineraliskt fosfat från de organiska fosformolekylerna. Ett enzyms möjlighet att frigöra mineraliskt fosfat från en organisk fosformolekyl beror på molekylens typ och storlek, samt ifall den binder vid mineraler i jorden, då detta påverkar enzymets möjlighet att frigöra fosfat. För att förstå hur mycket av markens P som är tillgängligt för växterna behöver man därför identifiera de olika organiska fosformolekylerna i marken. Organiskt P uppträder i olika "familjer", såsom diestrar och monoestrar. Diestrar är vanliga i olika vävnader hos växter, djur och mikroorganismer, t.ex. i DNA, RNA, fosfolipider och ATP. Monoestrar såsom inositolfosfat finns i frön (Figur 2).



Figur 3. Glasrör med ett jordextrakt från boreal skogsmark (t.v.), som sedan förs in i NMR-spektrometern (t.h.) för att erhålla <sup>31</sup>P NMR-spektrum. Foto Andrea Vincent.

### Från hjärnor till jord – nukleär magnetresonans-spektroskopi

Den största framgången i att bestämma organiskt P i mark har nåtts med nukleär magnetresonans-spektroskopi (NMR), en teknik som bl.a. används inom medicinen för att synliggöra interna strukturer i människokroppen, t.ex. i hjärnan. Under 1980-talet insåg markforskare att de kunde använda NMR för att identifiera olika organiska fosformolekyler i jord. Jordprover blandas med kemikalier för att få löst fosfor i ett provrör (Figur 3). Röret placeras sedan i en jättestor mag-



Figur 4. Representativt  $^{31}\text{P}$  NMR-spektrum från jord i boreal skogsmark, där varje topp representerar en egen "familj" av fosforföreningar. Den infällda bilden är en utvidgad sektion av monoesterregionen för att visa hur bred den egentligen är.

net (Figur 3), den centrala delen i ett NMR-instrument.

Ett spektrum tas fram (Figur 4) där varje topp representerar en särskild fosforförening, som kan identifieras utifrån sin position på x-axeln. De NMR-studier av skogsjordar som gjorts världen över visar att dessa innehåller föreningar som hör till diester- och monoesterfamiljerna, men att monoestrarna dominerar kraftigt. Medan diestrarna förekommer rikligt i mikroorganismer, växter och djur, är ursprung och funktion för mängden fosfor från monoestrar i marken mer osäker, till att börja med därför att de är svåra att identifiera. Den infällda bilden i Figur 4 visar hur monoesterregionen av diagrammet är sammansatt av många överlappande toppar som bildar ett brett "berg". Vissa föreningar motsvaras direkt av olika toppar, men en del föreningar skymms också under "berget". Organiskt P kan uppgå till 90 % av allt P i marken, och då monoestrar är den vanligaste typen av organiskt P, är det avgörande att kunna

bestämma dem för att kunna förstå om de är viktiga som näringsämnen i skogen.

### En ny metod för att identifiera okända organiska fosforföreningar

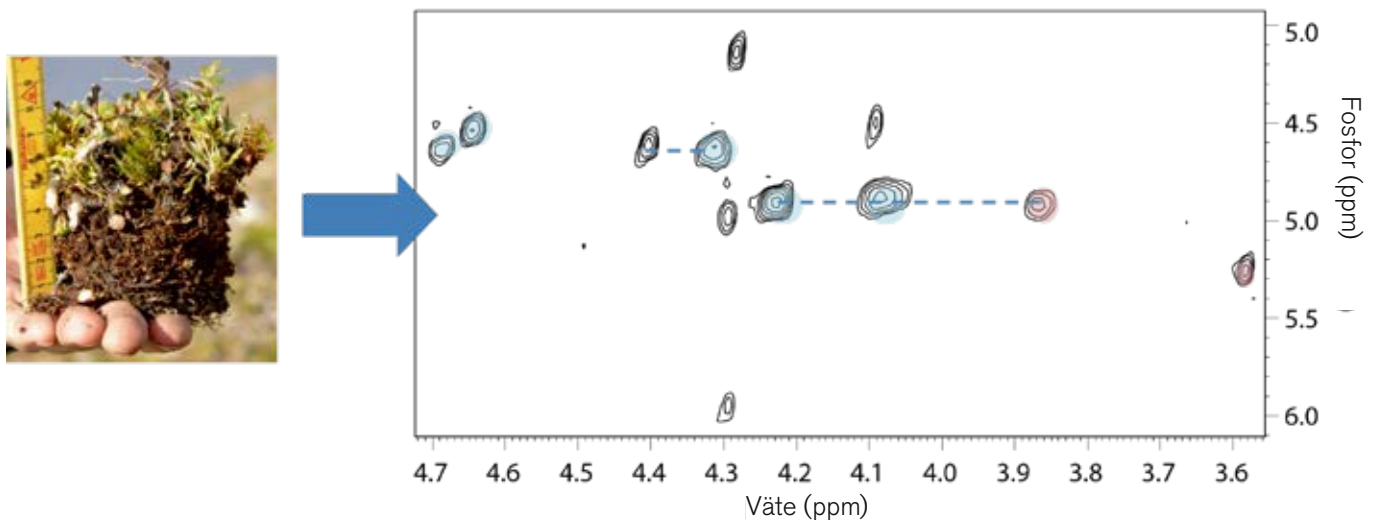
För att lösa detta problem behövdes en annan uppsättning av NMR-redskap. Inom biokemi används en typ av NMR som inte bara ser fosfor (endimensionell NMR, eller 1-D-NMR) utan också väteatomerna som sitter på fosforatomerna (tvådimensionell, eller 2-D-NMR). Den kan därför lätt skilja ut de överlappande fosfortopparna, förutsatt att väte skiljer sig mellan dem. Ett problem var att 2-D-NMR inte fungerar när proverna innehåller mycket järn, vilket är fallet i mark. En logisk lösning skulle vara att avlägsna järnet för 2-D-NMR-analyserna, men hur skulle man lyckas med det utan att ändra på sulfidjoner som gärna binds till järn, bil-

da en olöslig fällning av järnsulfid som kan avlägsnas genom centrifugering. Det återstående järnfria provet var perfekt lämpat för 2-D-NMR. Det första tvådimensionella NMR-spektrumet från skogsmark någonsin visas i Figur 5. Spektrumet är som en topografisk karta, där varje topp, representerar en särskild monoester. Precis som på en topografisk karta är de toppar som har flest linjer de "högsta bergen", dvs. de vanligaste monoestrarna.

Toppar som ligger på samma horisontella linjer (Figur 5) har samma värde på den vertikala (P-) axeln, men hamnar på helt olika lägen på den horisontala (H-) dimensionen. Därmed är den extra vätedimensionen i 2-D-NMR avgörande för att skilja föreningar åt som ser likadana ut i 1-D-NMR.

### RNA och fosfolipider vanliga i skogsmark

Med 2-D-NMR kunde vi visa att mycket av det P som vi fann i skogsjordar, något oväntat, var i form av nukleotider, som är byggstenar i RNA, dvs. ribonukleinsyra (Figur 5). RNA används av organismerna för många olika ändamål, såsom proteinsyntes, och i regel är det bara aktiva, växande, organismer som producerar RNA. Men varför finns då så mycket RNA i jorden? RNA är en molekyl som bryts ned snabbt utanför den levande organismen, vilket innebär att det RNA som upptäcktes troligen fanns inuti levande mikroorganismer som dödades och gick sönder under NMR-analysen. 2-D-NMR avslöjade också mycket fosfolipider, som finns i mikroorganismernas cellmembran och som också avges till jorden när organismerna dör.



Figur 5. Humusjord från boreal skogsmark (t.v.) och ett representativt tvådimensionellt  $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$  NMR-spektrum från en sådan jord. Varje tvådimensionell topp motsvarar en särskild fosforförening. Blå färg visar nukleotider från RNA och rosa visar fosfolipider. Foto Reiner Giesler.

## Fosfor – nödvändigt för skogens tillväxt

### Framtida forskning och utveckling

Vår forskning visar att en stor del av P i skogsmark troligen finns inuti cellerna hos levande aktiva mikroorganismer. Molekylstrukturerna för dessa föreningar visar att de troligen är lätt nedbrytbara så att mineraliska fosfater i dem, som kan tas upp av växterna, troligen lätt kan frigöras. Resultaten innebär att alla faktorer som påskyndar nedbrytningen av organiska P-molekyler kan öka tillgängligheten på fosfor i skogsmark. Det gäller t.ex. den höjda aktiviteten hos mikroorganismerna i marken som kan bli följd av ett varmare klimat. När vi nu fått en bättre bild av de olika organiska fosforföreningarna i mark, blir nästa steg att följa deras förflyttning genom mark-växt-systemet, för att bättre förstå hur och när skogens växter och mikroorganismer använder organiskt P för tillväxt.

### Tack

Finansieringen kommer från VR och FORMAS, samt Centrum för miljövetenskaplig forskning, CMF, och Wallenberg- och Kempe-stiftelserna.

### Läs mer

Vestergren, J., Vincent, A. G., Jansson, M., Persson, P., Ilstedt, U., Gröbner, G., Giesler, R. & Schleucher, J. 2012. High resolution characterization of organic phosphorus in soil extracts using two-dimensional  $^1\text{H}$ - $^{31}\text{P}$  NMR correlation spectroscopy. *Environmental Science & Technology* 46:3950–3956.

Vincent, A. G., Schleucher, J., Gröbner, G., Vestergren, V., Persson, P., Jansson, V. & Giesler, R. 2012. Changes in organic phosphorus composition in boreal forest humus soils: the role of iron and aluminium. *Biogeochemistry* 108:485–499.

### Ämnesord

Fosfor, skog, mark, näringsämnen, nukleär magnetresonans- (NMR-) spektroskopi.

### Författare



**ANDREA VINCENT**  
PostDoc,  
institutionen för skogens  
ekologi och skötsel,  
SLU, 901 83 Umeå  
070-670 35 75  
Andrea.Vincent@slu.se



**ULRIK ILSTEDT**  
Docent,  
institutionen för skogens  
ekologi och skötsel,  
SLU, 901 83 Umeå  
090-786 83 90  
Ulrik.Ilstedt@slu.se



**REINER GIESLER**  
Professor,  
institutionen för ekologi, miljö  
och geovetenskap,  
Umeå universitet  
901 87 Umeå  
0980-400 13  
Reiner.Giesler@emg.umu.se



**JOHAN VESTERGRAN**  
Doktorand,  
kemiska institutionen,  
Umeå universitet  
901 87 Umeå  
090-786 59 73  
Johan.Vestergren@chem.  
umu.se



**PER PERSSON**  
Professor,  
kemiska institutionen,  
Umeå universitet  
901 87 Umeå  
090-786 55 73  
Per.Persson@chem.umu.se



**GERHARD GRÖBNER**  
Professor,  
kemiska institutionen,  
Umeå universitet  
901 87 Umeå  
090-786 63 46  
Gerhard.Grobner@chem.  
umu.se



**JÜRGEN SCHLEUCHER**  
Professor,  
institutionen för medicinsk  
kemi och biofysik,  
Umeå universitet  
901 87 Umeå  
090-786 53 88  
Jurgen.Schleucher@chem.  
umu.se