

# Abschlussbericht

---

Förderkennzeichen:	SAS-2015-IOW-LWC
Zuwendungsempfänger:	Professur Pflanzenbau, AUF, Universität Rostock
Kooperationspartner:	Klaus J. Dehmer, Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Groß Lüsewitz
Vorhabensbezeichnung:	Unraveling molecular signaling pathways involved in phosphorus acquisition of potato (PIPAPo)
Laufzeit des Vorhabens:	01.04.2017 bis 30.04.2018
Autoren:	Mareike Kavka Ralf Uptmoor

---

Hinweis: Der Bericht sollte eine Länge von 8 bis 10 Seiten nicht überschreiten!

# Inhaltsverzeichnis

Kapitel	Seite
1 Zusammenfassung und Schlussfolgerung	1
2 Einleitung und Ziele des Projektes	1
3 Material und Methoden	2
4 Ergebnisse	4
5 Diskussion	6
6 weitere Leistungen aus dem Projekt*	7
7 Literaturverzeichnis	8
Danksagung	9
Anhang	

\* z.B. Beiträge auf Konferenzen, Publikationen (mit Status), Drittmittelanträge (mit Status)

## 1 Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Die Phosphoraneignung der Kartoffel ist gering, es existieren jedoch genotypische Unterschiede. Die mikro-RNAs miR399 und miR827 spielen eine wichtige Rolle im P-Signaling. Im Anschubprojekt wurde untersucht, ob sich Kartoffel-Genotypen mit unterschiedlichen P-Aneignungseffizienzen in der Expression der mikro-RNAs unterscheiden und ob diese mikro-RNAs eine Rolle bei der P-Aneignung der Kartoffel spielen. Dazu wurden zwei Kartoffel-Genotypen mit unterschiedlicher P-Aneignungseffizienz mit und ohne Phosphatzufuhr angezogen. Zu verschiedenen Zeitpunkten wurde die Expression der mikro-RNAs miR399 und miR827 in Blättern und Wurzeln sowie die wurzelassoziierte Phosphataseaktivität gemessen. Die Phosphataseaktivität war ohne Phosphatzufuhr zum ersten Messzeitpunkt nach zwei Wochen signifikant erhöht, die mikro-RNA-Expression in den Wurzeln nach drei Wochen. In den Blättern wurde keine durch P-Mangel ausgelöste Erhöhung der Expressionslevel festgestellt. Ein starkes lokales Signal für eine Steigerung der Phosphataseaktivität (Phosphormangel an den Wurzeln) könnte hier das systemische Signal (erhöhte mikro-RNA-Expression) überdeckt haben. Ein direkter Zusammenhang zwischen mikro-RNA-Expression und Phosphataseaktivität konnte nicht nachgewiesen werden. Unterschiede zwischen Genotypen mit unterschiedlichen Phosphor-Aneignungseffizienzen wurden nicht gefunden.

## 2 Einleitung und Ziele des Projektes

Die P-Aneignungseffizienz der Kartoffel (*Solanum tuberosum*) ist im Vergleich zu anderen Feldfrüchten niedrig, das heißt, ihr Vermögen, Phosphor aus dem Boden aufzunehmen, ist gering und ihr Düngeranspruch dementsprechend hoch (Rosen et al. 2014).

Kartoffelgenotypen mit unterschiedlichen P-Aneignungseffizienzen wurden in einem vorherigen P-Campus-Projekt identifiziert. Intraspezifische Unterschiede in der P-Aneignungseffizienz können dazu genutzt werden, die molekulare Basis der P-Aneignung der Kartoffel und mögliche Signalwege für eine erhöhte P-Aneignung zu untersuchen.

Mikro RNAs (miRNAs) spielen eine essenzielle Rolle in den P-Signalwegen. Vor allem miR399 wird in P-Mangel-Geweben hoch exprimiert. In *Arabidopsis* wird sie zu den Wurzeln transportiert, wo sie PHOSPHATE 2 ausschaltet (Lin et al. 2008). Die daraus resultierende erhöhte Expression von Phosphattransportern führt zu einer erhöhten P-Aufnahmekapazität. In der Tomate führte eine Überexpression von *Arabidopsis* miR399 zu einer erhöhten Phosphatase-Aktivität und Protonenausscheidung der Wurzeln, was zu einer erhöhten P-Aufnahme aus dem Boden zur Folge hatte (Gao et al. 2010). Auch *Arabidopsis* miR827 wirkt als positiver Regulator der Phosphattransporter-Expression unter P-Mangel durch den Abbau von NITROGEN LIMITATION ADAPTATION (Lin et al. 2013), während die

möglichen direkten Ziele von miR827 in Gerste (Hackenberg et al. 2013) und in Reis (Lin et al. 2010) auf eine komplexere Regulation hinweisen. Sowohl miR399 als auch miR827 wurden in der Kartoffel gefunden (Zhang et al. 2013), aber bisher ist nichts über ihre Rolle in Reaktion auf P-Mangel in dieser Art bekannt.

Im Anschubprojekt sollten in Vorbereitung auf einen größeren Projektantrag folgende Fragen beantwortet werden: Unterscheiden sich die Expressionslevel von miR399 und miR827, wenn Kartoffelgenotypen mit unterschiedlicher P-Aneignungseffizienz unter P-Mangel wachsen? Welches ist der optimale Zeitpunkt für Genexpressionsanalysen in Kartoffeln bei P-Mangel? Könnte die Expression der mikro-RNAs eine Rolle in der P-Aneignung über Phosphatasen spielen?

### **3 Material und Methoden**

#### **3.1 Pflanzenanzucht, Ernte und P-Bestimmung**

Die Kartoffel-Genotypen Amsel und Russet Burbank wurden in den Groß Lüsewitzer Kartoffel-Sortimenten des IPK *in vitro* in  $\frac{1}{2}$  MS-Medium propagiert. Nach etwa drei Wochen Wachstum wurden die bewurzelten Pflanzen in 3 l-Töpfe so in autoklavierten Sand gepflanzt, dass etwa  $\frac{1}{3}$  des Sprosses unterirdisch war, und weiter im Gewächshaus kultiviert (20°C, 12/12 h Licht/Dunkel). Die Pflanzen wurden jeden zweiten Tag mit einer Nährlösung gegossen, die entweder 0,5 mM P enthielt oder nicht (5 mM KNO<sub>3</sub>, 5 mM Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 2 mM MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,1 mM FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 50,3 µM KCl, 25,07 µM H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 2,01 µM MnSO<sub>4</sub>·xH<sub>2</sub>O, 2,02 µM ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,52 µM CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O und 0,50 µM Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0,5 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> oder KCl mit pH 5,8). Einmal pro Woche wurden die Töpfe mit entionisiertem Wasser geflutet, um eine Konzentration von nicht gebrauchten Nährstoffen zu verhindern. Die Pflanzhöhe wurde von der Sandoberfläche bis zum jüngsten Blatt (> 2 cm Länge) wöchentlich gemessen. Vier Pflanzen wurden pro P-Stufe und Ernte (eine, zwei, drei und sechs Wochen nach der Pflanzung) in Blätter, Wurzeln, Spross (ober- und unterirdischer Teil) und – wenn vorhanden – Knollen geteilt. Ein etwa 3 cm langes repräsentatives Stück Wurzel wurde bis zur Messung der sauren Phosphataseaktivität in der jeweiligen Nährlösung (mit oder ohne P, max. 3 h) aufbewahrt (Woche 2, 3 und 6). Die verbleibenden Wurzeln wurden insgesamt (Wochen 1 bis 3) oder teilweise (Endernte) in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -80°C bis zur Extraktion der RNA aufbewahrt, ebenso die Blätter insgesamt (Woche 1) oder nur die drei jüngsten Blätter. Bei der Endernte wurden sowohl von den restlichen Wurzeln als auch von den anderen Pflanzenteilen nach der Trocknung bei 60°C für eine Woche Trockenmassen und die P-Konzentrationen bestimmt.

Zur P-Bestimmung wurden die trockenen Proben für 4 h bei 105°C getrocknet und für 5 h bei 550°C im Muffelofen verascht. Gesamt-P wurde mit Salzsäure (25%) nach Page et al. (1982)

extrahiert und mit Optischer Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES, Optima 8300, Perkin Elmer, USA) bei einer Wellenlänge von 214 nm bestimmt.

### 3.2 Messung der Phosphataseaktivität

Für die Messung der wurzellossoziierten sauren Phosphataseaktivität wurden die Wurzelstücke in Natrium-Acetatpuffer (50 mM, pH 5,5) gewaschen und trocken getupft. Anschließend wurden sie für 1 h in 4,5 ml Natrium-Acetatpuffer (50 mM, pH 5,5) mit 600 µl para-Nitrophenylphosphat (0,1 %) bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Reaktion wurde mit 0,9 ml NaOH (0,4 M) gestoppt und das durch Phosphataseaktivität entstandene para-Nitrophenol in der Lösung photometrisch bei einer Wellenlänge von 410 nm mit drei technischen Replikaten gemessen (Specord 40, Analytik Jena). Die Frischmasse des Wurzelstücks wurde bestimmt und Phosphataseaktivität als entstandenes para-Nitrophenol pro Gramm Wurzel und Stunde gegen eine Standardkurve mit para-Nitrophenol berechnet.

### 3.3 Messung der mikro RNA Expression

Gesamt-RNA wurde aus 50-100 mg gefrorenem Blatt- und Wurzelgewebe extrahiert. Das Probenmaterial wurde in 1 ml peqGold TriFast™ (Peqlab, VWR Company) nach Herstellerinformationen mit Precelly© Evolution (Bertin Technologies) homogenisiert. Gesamt-RNA wurde mittels Nanodropmessung (Thermo Fisher Scientific, USA) und die Qualität mittels Agarosegel-Elektrophorese bestimmt. Um genomische DNA zu entfernen, wurden 1 µg der Gesamt-RNA mit DNase I behandelt (RNase-frei, Thermo Fisher Scientific, USA). cDNA wurde von 0,4 µg RNA transkribiert (RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Dafür wurden 4 pmol stem-loop-Primer (5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACTGGATACGACCAGGGC-3' und 5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACTGGATACGACTGTTTG-3') und 20 pmol oligo(dT)-Primer pro 20 µl Reaktion genutzt. Quantitative Real-Time-PCR für reife miRNA 399a-f und miR827 (3p-Stamm, nach miRbase) und EF1-α (Referenz-Gen) wurde mit zwei technischen Replikaten in 96 well-Platten durchgeführt (CFX96™ Real-Time System, BioRad Laboratories, USA). Das Reaktionsvolumen beinhaltete 10 µl Maxima SYBR Green qPCR Mastermix (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), 0,6 µl von jeweils dem Vorwärts- und Rückwärts-Primer (10 µM, für EF1-α 5'-CACTTCCCACATTGCTGTAAAG-3' und 5'-CTTCAAGAACTTAGGCTCCTTC-3', für miR399 5'-AGAGGTGCCAAAGGAGAGC-3' bzw. für miR827 5'-GCCGCCTTAGATGAACATCAA-3' als Vorwärts-Primer und 5'-CAGTGCAGGGTCCGAGG-3' als universeller Rückwärts-Primer), 3,8 µl Nuklease-freies DEPC-behandeltes Wasser (Carl Roth, Karlsruhe, Germany) und 5 µl cDNA-Lösung (1:10 verdünnt). Das Programm bestand aus einer initialen Denaturierung bei 95°C (3 min), 40 (für EF1-α) oder 45 (für miR399 und miR827) Zyklen bei 95°C für 10 s, 57°C für 30 s und 72°C für 60 s.

Eine finale Schmelzkurvenanalyse von 57°C bis 95°C mit 57°C für 30 s und 0,5°C pro 5 s steigendem Temperaturgradienten wurde für die Kontrolle der Primerspezifität genutzt. Um die Primereffizienz zu berechnen, wurden die Originaldaten in LinRegPCR version 2017.0 (Ruijter et al. 2009) geladen. Die mittlere Effizienz für jedes Primerpaar wurde über alle Proben pro Gen nach Grundliniensubtraktion berechnet. C<sub>q</sub>-Werte wurden mit einer Fluoreszenzschwelle von 180.3 berechnet. Relative Werte für jede Probe wurden gegen EF1- $\alpha$  als Referenzgen ermittelt.

### 3.4 Statistische Analysen

R (Version 3.3.2, R Core Team 2016) wurde für alle statistischen Analysen genutzt. Original- oder transformierte Daten wurden für zweifaktorielle ANOVA und Tukey's HSD als Posthoc-Test verwendet. Residuen wurden visuell auf Normalverteilung und Varianzhomogenität überprüft und Originaldaten bei Bedarf logarithmiert. Mittelwerte wurden als signifikant verschieden angesehen, wenn der p-Wert unter 0,05 lag.

## 4 Ergebnisse

Amsel und Russet Burbank als effizienter und nicht-effizienter Genotyp waren ohne Phosphatgaben nach sechs Wochen Wachstum in Sand signifikant kleiner ( $p < 0,001$ , Abb. 1A). Amsel hatte geringfügig höhere Trockenmassen beim Wachstum ohne P als Russet Burbank (Abb. 1B). Die Wurzel-Phosphataseaktivität war ab der ersten Probennahme zwei Wochen nach Pflanzung bis zur letzten Probenahme signifikant unterschiedlich zwischen den beiden P-Stufen ( $p < 0,005$ ), jedoch nicht verschieden zwischen den beiden Genotypen ( $p > 0,05$ ). Die Phosphataseaktivität der Pflanzen mit Phosphat verringerte sich leicht von Woche 2 zu Woche 6 von  $3,5 \text{ mg pNP (g Wurzel)}^{-1} \text{ h}^{-1}$  zu  $2,2 \text{ mg pNP (g Wurzel)}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , während sie bei Pflanzen ohne Phosphatzufuhr konstant bei etwa  $6 \text{ mg pNP (g Wurzel)}^{-1} \text{ h}^{-1}$  lag (Abb. 1C). Die Expression der reifen miR399 in den Wurzeln war nach ein und zwei Wochen Wachstum in Sand bei allen Pflanzen gering und unterschied sich nach drei Wochen signifikant zwischen den Pflanzen mit und ohne Phosphatdüngung ( $p < 0,001$ ) (Abb. 1D).

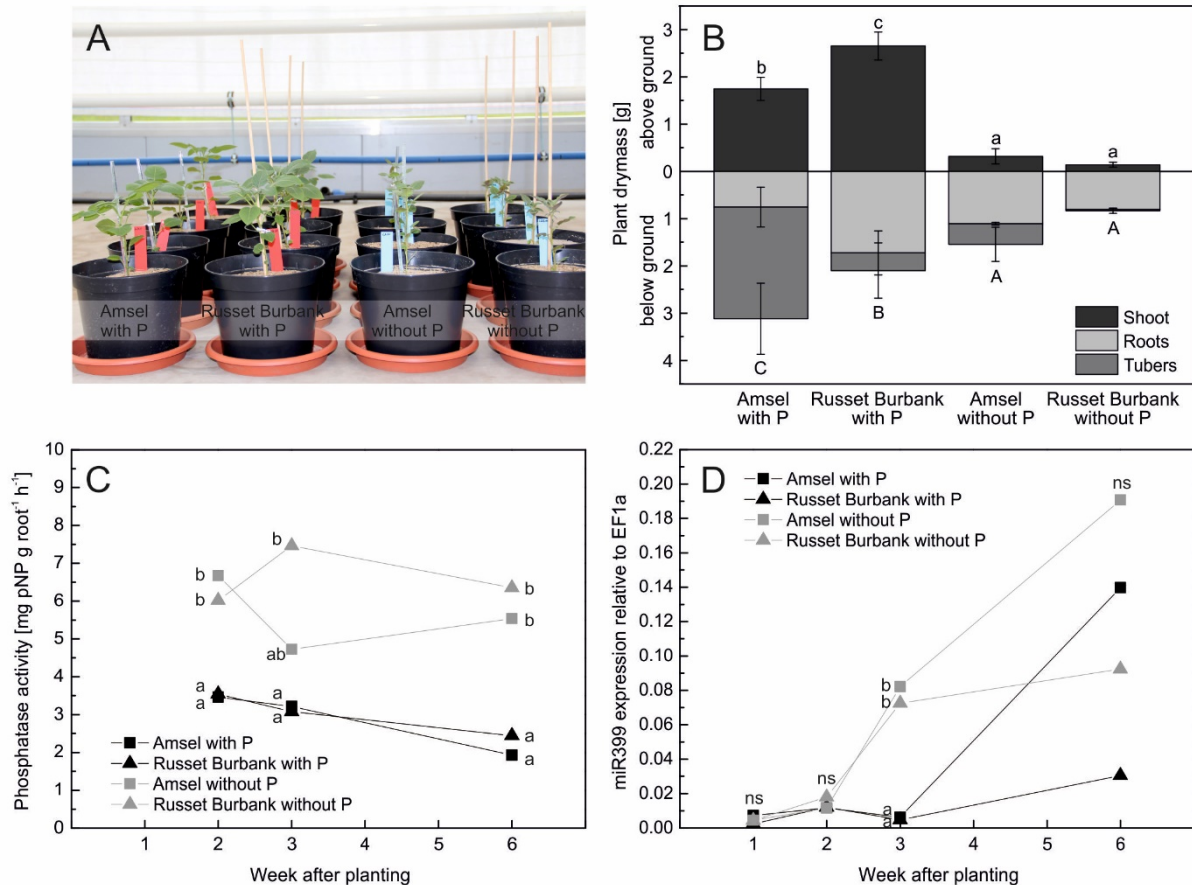


Abb. 1: (A) *In vitro* propagierte Kartoffelgenotypen in Sand, bewässert mit Nährlösung mit oder ohne Phosphat und (B) Pflanzentrockenmasse nach sechs Wochen (MW  $\pm$  SD, n=4); (C) saure Phosphataseaktivität an den Wurzeln (MW, n=3) und (D) miR399 Expression relativ zu EF1 $\alpha$  Expression (MW, n=3). Verschiedene Buchstaben bedeuten signifikante Unterschiede pro Pflanzenteil (ober- oder unterirdisch) bzw. Zeitpunkt (ANOVA und Tukey's HSD,  $p < 0,05$ ); ns: nicht signifikant.

Die Expression der mikro RNA 827 in Wurzeln folgte einem ähnlichen Muster mit weniger starken Unterschieden im Zeitverlauf und zwischen den P-Stufen (Abb. 2B). Die Expression in Blättern zeigte kein eindeutiges Muster oder Unterschiede zwischen Genotypen oder P-Stufen (Abb. 2C und 2D). Die Phosphoraufnahme und Verteilung in der Pflanze (Abb. 2A) folgte weitgehend der Biomasseverteilung (Abb. 1B) mit mehr Phosphor in den schon gebildeten Knollen von Amsel und mehr Phosphor in der oberirdischen Biomasse bei Russet Burbank bei Wachstum mit Phosphat. Beim Wachstum ohne Phosphat unterschied sich die P-Aufnahme nicht signifikant zwischen den beiden Genotypen (Abb. 2A).

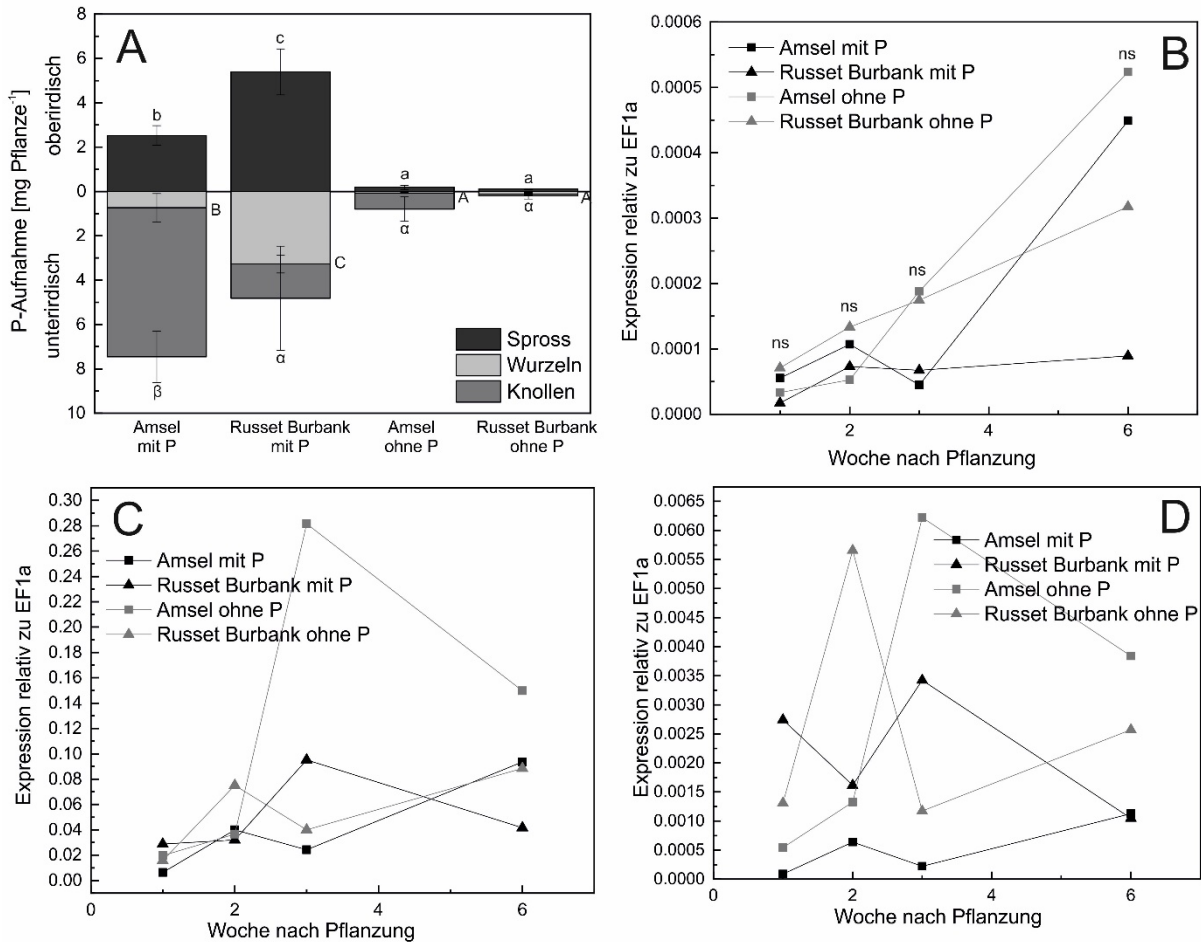


Abb. 2: (A) P-Aufnahme in mg pro Pflanze von *in vitro* propagierten Kartoffelgenotypen in Sand, bewässert mit Nährlösung mit oder ohne Phosphat für sechs Wochen (MW  $\pm$  SD, n=4); (B) mikro-RNA-Expression relativ zu EF1 $\alpha$  von miR827 in Wurzeln, (C) miR399 in Blättern und (D) miR827 in Blättern (MW, n=3). Verschiedene Buchstaben bedeuten signifikante Unterschiede pro Pflanzenteil bzw. Zeitpunkt (ANOVA und Tukeys HSD,  $p < 0,05$ ); ns: nicht signifikant.

## 5 Diskussion

Die wurzelassoziierte saure Phosphataseaktivität war in Pflanzen ohne Phosphatdüngung erhöht bevor die miR399-Expression in Wurzeln sich erhöhte und stieg nicht weiter an. Auch Zimmermann et al. (2004) hatten erhöhte sekretierte Phosphataseaktivität an Kartoffelwurzeln des Genotyps Désirée bei Phosphormangel gefunden. In *Arabidopsis* wird die Aktivität der Phosphatase mit dem größten Anteil an wurzelassoziiierter Aktivität (AtPAP10) vor allem durch lokale Signale, d.h. Phosphatmangel an der Wurzel, kontrolliert und ist unabhängig vom P-Status der gesamten Pflanze. Die Transkription stieg dabei bereits zwei Stunden nach dem Transfer der Pflanzen auf Medium mit geringem P-Gehalt (Zhang et al. 2014). Transgene Tomaten, die *Arabidopsis* miR399d überexprimierten, hatten eine höhere sekretierte Phosphataseaktivität als Wildtypen in Nährlösung mit und ohne Phosphat (Gao et al. 2010). In unserem Versuch könnte ein starkes lokales Signal ein späteres



systemisches Signal maskiert haben. Ein Vergleich von zwei Genotypen in dieser Studie zeigte keine Unterschiede in Phosphataseaktivität und miR399 Expression. In Mais zeigte sich, dass P-Mangel-tolerante Genotypen höhere (Gaume et al. 2001; Jiang et al. 2017) oder frühere (Du et al. 2016) Wurzel-Phosphataseaktivität unter P-Mangel hatten als sensitive Genotypen. Die in vorherigen Versuchen als P-effizient und ineffizient klassifizierten Genotypen Amsel und Russet Burbank zeigten in diesem Versuch jedoch auch keine signifikanten Unterschiede in Gesamtbiomasse und -P-Aufnahme und dementsprechend in ihrer P-Effizienz. Die Hochregulierung der Expression von miR827 in P-Mangel-Geweben einiger Pflanzen ist bekannt (Chiou and Lin 2011). In dieser Studie zeigte sich in Wurzeln und Blättern eine Expression ähnlich der zu miR399. Für beide mikro-RNAs zeigte sich jedoch keine Hochregulierung in den Blättern der Kartoffel in der P-Mangelvariante.

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass sich die mikro-RNA-Expression in den Wurzeln zwar nach drei Wochen Phosphormangel erhöhte, es ließ sich jedoch kein funktionaler Zusammenhang zur Phosphataseaktivität nachweisen, da diese bereits vorher angestiegen war.

## **6 Weitere Leistungen aus dem Projekt**

### **Poster**

Wacker K., Kavka M., Dehmer K. J., Eichler-Löbermann B., Uptmoor R.: Unterschiede in der Phosphoreffizienz und Phosphoraneignung verschiedener *Solanum tuberosum* L. Genotypen aus in vitro und Knollen-Kultur, Jahrestagung der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften, Witzenhausen, 26.09.17-28.09.17

Kavka M., Wacker K., Pfahler V., Dehmer K. J., Uptmoor R.: Phosphorus acquisition mechanisms of potato (*Solanum tuberosum* L.), 6th symposium on Phosphorus in Soils and Plants, Leuven, Belgien, 10.09.18-13.09.18

Kavka M., Wacker K., Pfahler V., Dehmer K. J., Uptmoor R.: Phosphorus acquisition mechanisms of potato (*Solanum tuberosum* L.), Jahrestagung der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften, Kiel, 25.09.18-27.09.18

### **Masterarbeit**

Reimers, S. M.: Veränderungen der Wurzelarchitektur von phosphoreffizienten und -ineffizienten Kartoffelgenotypen (*Solanum tuberosum* L.) unter Phosphormangel im Zeitverlauf, Abgabe: 28.09.18

### **Publikationen**

Wacker K., Pfahler V., Bachmann-Pfabe S., Dehmer K. J., Uptmoor R., Kavka M.: Genotype specific differences in phosphorus efficiency of potato (in prep.)

### **Drittmittelanträge**

Folgeantrag im P-Campus: Sustainability of potato production: Cloning and sequencing of candidate genes improving P acquisition efficiency to reduce fertilizer inputs (STOP-P)

DFG-Antrag: RNA-Sequenzierung, Überexpression von miR399 und miR827 und Entwicklung von knock-out Mutanten zur Validierung von Kandidatengenen, die in die P-Signalkette involviert sind (geplante Einreichung: nach Veröffentlichung der o.g. Publikation)

### **7 Literaturverzeichnis**

Chiou T-J, Lin S-I (2011) Signaling Network in Sensing Phosphate Availability in Plants. *Annu Rev Plant Biol* 62:185–206. doi: 10.1146/annurev-arplant-042110-103849

Du Q, Wang K, Xu C, et al (2016) Strand-specific RNA-Seq transcriptome analysis of genotypes with and without low-phosphorus tolerance provides novel insights into phosphorus-use efficiency in maize. *BMC Plant Biol* 16:222. doi: 10.1186/s12870-016-0903-4

Gao N, Su Y, Min J, et al (2010) Transgenic tomato overexpressing ath-miR399d has enhanced phosphorus accumulation through increased acid phosphatase and proton secretion as well as phosphate transporters. *Plant Soil* 334:123–136. doi: 10.1007/s11104-009-0219-3

Gaume A, Mächler F, León CD, et al (2001) Low-P tolerance by maize (*Zea mays* L.) genotypes: Significance of root growth, and organic acids and acid phosphatase root exudation. *Plant Soil* 228:253–264. doi: 10.1023/A:1004824019289

Hackenberg M, Shi B-J, Gustafson P, Langridge P (2013) Characterization of phosphorus-regulated miR399 and miR827 and their isomiRs in barley under phosphorus-sufficient and phosphorus-deficient conditions. *BMC Plant Biol* 13:214. doi: 10.1186/1471-2229-13-214

Jiang H, Zhang J, Han Z, et al (2017) Revealing new insights into different phosphorus-starving responses between two maize (*Zea mays*) inbred lines by transcriptomic and proteomic studies. *Sci Rep* 7:srep44294. doi: 10.1038/srep44294

Lin S-I, Chiang S-F, Lin W-Y, et al (2008) Regulatory Network of MicroRNA399 and PHO2 by Systemic Signaling. *Plant Physiol* 147:732–746. doi: 10.1104/pp.108.116269

Lin S-I, Santi C, Jobet E, et al (2010) Complex Regulation of Two Target Genes Encoding SPX-MFS Proteins by Rice miR827 in Response to Phosphate Starvation. *Plant Cell Physiol* 51:2119–2131. doi: 10.1093/pcp/pcq170

- Lin W-Y, Huang T-K, Chiou T-J (2013) NITROGEN LIMITATION ADAPTATION, a Target of MicroRNA827, Mediates Degradation of Plasma Membrane-Localized Phosphate Transporters to Maintain Phosphate Homeostasis in Arabidopsis. *Plant Cell Online* 25:4061–4074. doi: 10.1105/tpc.113.116012
- Page AL, Miller RH, Keeney DR (1982) *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*, 2nd edition. Soil Science Society of America, Madison, WI, USA
- R Core Team (2016) *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria
- Rosen CJ, Kelling KA, Stark JC, Porter GA (2014) Optimizing Phosphorus Fertilizer Management in Potato Production. *Am J Potato Res* 91:145–160. doi: 10.1007/s12230-014-9371-2
- Ruijter JM, Ramakers C, Hoogaars WMH, et al (2009) Amplification efficiency: linking baseline and bias in the analysis of quantitative PCR data. *Nucleic Acids Res* 37:e45–e45. doi: 10.1093/nar/gkp045
- Zhang R, Marshall D, Bryan GJ, Hornyik C (2013) Identification and Characterization of miRNA Transcriptome in Potato by High-Throughput Sequencing. *PLOS ONE* 8:e57233. doi: 10.1371/journal.pone.0057233
- Zhang Y, Wang X, Lu S, Liu D (2014) A major root-associated acid phosphatase in Arabidopsis, AtPAP10, is regulated by both local and systemic signals under phosphate starvation. *J Exp Bot* eru377. doi: 10.1093/jxb/eru377
- Zimmermann P, Regierer B, Kossmann J, et al (2004) Differential Expression of Three Purple Acid Phosphatases from Potato. *Plant Biol* 6:519–528. doi: 10.1055/s-2004-821091

### **Danksagung**

Wir danken Constance Le Gloanec und Brigitte Claus für die Unterstützung im Labor und Julia Schmidt für die ICP-Messungen.