

Biochemische aspecten van de bestrijding van ijzergebrek in de plant

W. VAN DRIEL

Van de sporenelementen die een rol spelen bij de plantvoeding, kunnen vooral mangaan en ijzer in de praktijk van de Nederlandse land- en tuinbouw aanleiding geven tot het optreden van gebreksverschijnselen. IJzergebrek treedt voornamelijk in de tuinbouw op.

Als oorzaak van deze gebreken moet vooral overmaat van kalk in de grond genoemd worden (lime-induced chlorosis), al of niet gecombineerd met een slechte bodemstructuur en ontwatering, waardoor hoge bicarbonaatconcentraties kunnen optreden. Daarnaast kunnen de hoedanigheid en de hoeveelheid van de organische stof in de grond een belangrijke rol spelen. Overmaat fosfaat of overmaat zware metalen kan ook tot ijzergebrek leiden. Tenslotte zijn de gevoeligheid van de plant voor ijzergebrek, het groeistadium, de groeisnelheid en het weer van groot belang.

Het ligt niet op onze weg hier uitvoerig op deze oorzaken in te gaan; elders (3, 15, 16) zijn uitvoerige verhandelingen hierover verschenen. Wel dient vermeld te worden dat de genezing van ijzergebrek (en dit geldt ook voor mangaan) van grote betekenis kan zijn zowel voor de opbrengst als voor de kwaliteit der gewassen, bijvoorbeeld bij fruitbomen, kasrozen enz.

SYMPTOMEN

IJzergebrek manifesteert zich in de plant door een vrij specifieke ontkleuring van het blad tussen de nerven. Deze blijven aanvankelijk zelf groen en vormen zo een vrij scherp afstekend patroon op het bleekgele blad. Bij ernstig gebrek kan het blad geheel geelwit worden en treedt sterke groeiremming op; de takken kunnen zelfs insterven (die-back). Bij sierteeltgewassen betekent deze bladverkleuring een belangrijke vermindering van de kwaliteit.

Behalve in groeiremming en chlorose uit het ijzergebrek zich in de stofwisseling, waarin afwijkingen gevonden worden als veranderde ionenverhoudingen (hogere K/Ca en P/Fe), ophoping van organische zuren en vrije aminozuren, verlaging van het eiwitgehalte en vermindering van de activiteit van verschillende, ijzerbevattende enzymen (tabel 1). Het is zeker dat een deel van deze verschijnselen slechts indirect met de ijzervoorziening samenhangt; er is nog nooit een causaal verband aangetoond tussen de biosynthese van chlorofyl en de ijzervoeding, terwijl blijkens de term 'ijzerchlorose' de vermindering van de groene kleurstoffen altijd het eerst opgevallen is. De vorming van de groene en de gele bladkleurstoffen wordt echter in dezelfde mate onderdrukt (7), zodat het waarschijnlijker is dat de groei van de chloroplasten en daarmee de synthese van de verschillende bladkleurstoffen via de eiwitsynthese wordt onderdrukt.

Tabel 1 Veranderingen in de samenstelling van jong tomatenblad bij ijzergebrek

Beoordeling	IJzer- gehalte (dpm Fe)	Katalase ¹	Peroxi- dase ²	Chlorofyl- gehalte (%)	Fosfor- gehalte (%)	Eiwit (% van N _{tot.})
Sterk chlorotisch	23	244	0,86	0,93	2,6	61
Matig chlorotisch	29	265	0,31	0,72	1,5	73
Licht groen	88	385	0,38	0,39	0,5	83

¹ Katalase-activiteit in $\mu\text{l O}_2/3$ min./mg d.s.

² Peroxidase-activiteit in $\Delta\Sigma/5$ min./mg d.s. Bij extreem ijzergebrek treedt een sterke stijging van de peroxidase-activiteit op, waarschijnlijk samenhangend met het begin van de afstervingsprocessen in het blad.

BESTRIJDING

De meeste gebreken aan sporenelementen, ook die van Mn kunnen effectief bestreden worden door bespuiting van het gewas of bemesting van de grond met anorganische zouten van het desbetreffende element (9). IJzergebrek laat zich echter niet op deze wijze genezen, wat onder meer het gevolg is van de extreem lage oplosbaarheid van ijzerhydroxiden bij hogere pH, in vergelijking met die van de overige zware metalen. Het is dan ook vroeger niet mogelijk geweest ijzergebrek door bemesting te bestrijden, terwijl met bespuiting evenmin bevredigende resultaten werden geboekt. Pogingen om stabielere complexe ijzerverbindingen als ijzercitraat en -tartraat toe te passen mislukten door de snelle afbraak van deze verbindingen in het bodemmilieu.

Toepassing van chelaten

Ruim een twaalftal jaren geleden werden ijzermeststoffen geïntroduceerd, die aan de eisen van chemische en microbiologische stabiliteit, oplosbaarheid, beschikbaarheid en niet-giftigheid voor de plant voldeden. Deze verbindingen zijn afgeleid van het uit de analytische chemie bekende EDTA (complexon, ethyleendiamino-tetra azijnzuur) en behoren tot de groep van de metaalchelaten, die hun grote stabiliteit ontleen aan de meerdere bindingen waarmee het twee- of driewaardige metaal-ion via vijftringen gebonden is aan een organisch molecuul (6, 12). De toepassing van deze vrij ingewikkelde en uiterst stabiele metaal-organische verbindingen als meststof zou fysiologische consequenties kunnen hebben, die een nadere bestudering nodig maken.

Bij de keuze van metaal-organische verbindingen die als bestrijdingsmiddel (bijv. als fungicide) gebruikt worden, wordt steeds bewust gestreefd naar gemakkelijk afbreekbare verbindingen, opdat bij de consumptie deze veelal giftige stoffen geheel verdwenen zijn. Bij een meststof daarentegen is een behoorlijke mate van persistentie gewenst om gedurende minstens een groeiseizoen beschikbaar voor de plant te blijven. Er moet dus bij de toepassing rekening worden gehouden met een zekere stabiliteit van deze metaalchelaten na opname in de plant. Het onderzoek zal zich daarom dienen te richten op de vraag of en zo ja onder welke omstandigheden accumulatie van ijzerchelaten in de plant zal optreden, en over de consequenties hiervan voor de fysiologie van de plant.

In de Verenigde Staten en in Groot-Brittanie heeft dit vraagstuk reeds een ruime belangstelling gekregen. Als gevolg van het daar uitgevoerde onderzoek is men tot bepaalde ideeën gekomen betreffende het mechanisme van de opneming van ijzerchelaten.

Wallace en medewerkers vonden bij proeven met radioactieve ijzerchelaten, waarin zowel ijzer als chelaatvormer (^{14}C) gemerkt waren, dat ijzer en organische chelaatvormer in vrijwel dezelfde verhouding werden opgenomen (17). Brown en medewerkers (5, 14) vonden daarentegen dat vrijwel uitsluitend ijzer opgenomen werd en dat vrij chelaat in de voedingsoplossing achterbleef. Gedeeltelijk kon deze controversale verklaard worden doordat de wortels van de planten die Wallace gebruikte, door overplanten vlak vóór het experiment enigszins beschadigd waren, waardoor de selectiviteit van deze wortels sterk gereduceerd werd. Simons en medewerkers (13) ontdekten echter dat afhankelijk van de proefopstelling beide effecten konden optreden. Inderdaad bevestigden zij de waarneming van Brown, dat aan het worteloppervlak het metaal van het chelaat wordt losgemaakt. Het daarbij vrij gekomen chelaatmolecuul kan, klaarblijkelijk via een ander opnemingsmechanisme, apart worden opgenomen. In een zeer groot volume voedingsoplossing gebeurde dat niet; in een beperkt volume kon een aanzienlijke hoeveelheid vrij chelaat door de plant worden opgenomen en zich mogelijk zelfs binnen de plant weer met het ijzer verenigen. Dat de plantewortel in staat is ijzer aan het stabiele metaalchelaat te onttrekken, wordt verklaard door het vermogen van de wortel ijzer(III)chelaat te reduceren tot aanzienlijk minder stabiel ijzer(II)chelaat, waarna de natuurlijke chelaatvormers van de wortel met succes om het ijzer kunnen concurreren. Branton & Jacobson (2) konden inderdaad bij micro-autoradiografisch onderzoek van de wortel geen intacte synthetische ijzerchelaten binnen de wortel aantonen. Hill-Cottingham & Lloyd-Jones (10) bevestigden het verschil in opnemingsmechanisme van ijzer en vrij chelaat: ijzer bereikt in korte tijd een maximale concentratie in de plant, terwijl de opneming van chelaat geleidelijk verloopt en langer doorgaat.

Er zijn nog verschijnselen die niet met bovenstaande ideeën in overeenstemming zijn. Zo blijkt bijv. dat door voeding met ijzerchelaat veel hogere ijzerconcentraties in het blad bereikt worden dan met anorganische ijzervoeding, zonder dat de interne beschikbaarheid vooruit schijnt te gaan. Verder zijn ook de factoren van groeistadium, gezondheidstoestand van de plant en klimaat, die bij het optreden van ijzergebrek een zo belangrijke rol spelen, nog niet uitvoerig in het onderzoek betrokken. Ook de eigenschappen van de verschillende ijzerchelaten en de reeds even aangestipte bodemfactoren zijn nog onvoldoende bestudeerd.

EIGEN ONDERZOEK

In ons onderzoek zijn de bodemfactoren bewust uitgesloten door alle proeven in watercultuur uit te voeren. Deze bodemfactoren worden elders aan ons instituut uitvoerig bestudeerd. Onderzocht worden de invloeden van de

ijzervoedingstoestand van de plant, van de chelaatsoort en -concentratie en van de worteltemperatuur op opnemng en benutting van ijzer.

Methoden

In alle besproken proeven werd ter vermijding van grote groeiverschillen de behandelingsduur met ijzerchelaat beperkt tot 3 à 4 dagen. De worteltemperatuur werd, tenzij anders aangegeven, op 20 °C gehandhaafd door de potten in een doorstroomwaterbad te plaatsen. Overigens werden de planten in een verwarmde kas zonder klimaatregeling gekweekt. De pH (tenzij anders vermeld 5,0) en de samenstelling van de voedingsoplossing werden geregeld bepaald en constant gehouden. Ter vermijding van groeiverschillen door ongelijke voeding werd de voedingsoplossing van elk object via een voorraadvat continu gerecirculeerd. Als proefplant gebruikten wij jonge tomatplanten var. 'Glorie' van ca. zes weken oud, die met of zonder ijzer waren voortgekweekt, zodat naar behoefte gezonde of chlorotische planten voor de proeven beschikbaar waren.

Als maatstaf voor groei en ontwikkeling werden bepaald: lengte, vers en droog gewicht, totaal-N en eiwit-N, totaal-P, bladkleurstofconcentraties (chlorofyllen en carotenoïden), en als direct met de ijzervoeding samenhangende grootheden: ijzergehalte van het blad, stengel en wortel, en activiteit van enkele ijzer-bevattende enzymen. Voor de gebruikte analysemethoden zij verwezen naar een vorig onderzoek (7), met uitzondering voor de extractie van de enzymen katalase en peroxidase. Als extractiemiddel werd gebruikt 2,0 M glycine/KOH-buffer pH 8,0 bij een maalverhouding van 1 : 8. De verkregen bladsuspensie werd 20 minuten bij 60.000 g gecentrifugeerd en de bovenstaande vloeistof gebruikt voor de enzymbepalingen.

De behandelingen met ijzer werden gegeven na verversing van de voedingsoplossing. Zo nodig werden de potten en wortels nog enige malen met water gespoeld om restanten van de voorbehandeling te verwijderen. Alle proeven werden minstens in viervoud opgezet en geanalyseerd. De resultaten zijn betrokken op de droge stof (105 °C).

De gebruikte ijzerchelaten waren:

- Fe-EDTA = Fe(III)Na-verbinding van ethyleendiamino-tetra azijnzuur.
 Fe-DTPA = Fe(III)Na-verbinding van diethyleentramino-penta azijnzuur (chel 330 Fe).
 Fe-EDDHA = Fe(III)Na-verbinding van N,N'-ethyleen-bis(o-hydroxyfenylglycine) (chel 138 Fe).

Deze verbindingen waren alle van een goede laboratoriumkwaliteit. IJzer(II)sulfaat werd in oplossing gegeven, die snel tot $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ hydrolyseerde. Door intensief circuleren van de voedingsoplossing in elke pot werd bereikt dat het colloïdale neerslag in beweging bleef en de wortels kon bereiken. Tenzij anders vermeld, werd van ijzer(II)sulfaat een hoeveelheid overeenkomende met 10 dpm Fe (in de gebruikte voedingsoplossing) en van de ijzerchelaten een met 5 dpm Fe gegeven.

RESULTATEN

Chelaatconcentratie

Uit praktijkproeven is bekend dat er een optimale chelaatconcentratie is. Bij een lagere wordt te weinig ijzer aangevoerd en bij een hogere treden groei-remming en vergiftigingsverschijnselen op. Een fytotoxische werking is te verwachten op grond van een onevenredig groot aanbod van ijzer, waardoor de verhoudingen tussen de zware metalen, die van groot belang zijn voor de levensprocessen van de plant, worden verstoord. Speciaal mangaangebrek is in de praktijk een bekend begeleidend verschijnsel bij behandeling met ijzerchelaat. Men kan zich afvragen waar de interactie tussen de zware metalen zich afspeelt: aan het worteloppervlak of in de plant zelf. De opneming van ijzer uit chelaten berust, zoals boven reeds is vermeld, op twee processen: een reductieproces van Fe(III)chelaat tot minder stabiel Fe(II)chelaat, en een cheleringproces, waarbij de natuurlijke chelaatvormers van de plantewortel zich over het ijzer ontfermen. De hierbij vrijkomende chelaten kunnen in het wortelmilieu mangaan binden en dit minder beschikbaar maken voor de plant. Bovendien kan het vrijgekomen ijzer op het worteloppervlak met mangaan concurreren (8). Het is van belang te weten of en, zo ja, waar in de plant bij supra-optimale giften van ijzerchelaat nog een toeneming van het ijzergehalte optreedt. Wij vergeleken hiertoe het effect van 5 en 25 ppm Fe in verschillende vormen (Fe-EDTA, Fe-DTPA en Fe-EDDHA) op het ijzergehalte van blad, stengel en wortel van tomaatplanten na drie en zeven dagen. Uit tabel 2 blijkt dat wat blad en stengel betreft, bij eenzelfde ijzerchelaat bij beide concentraties dezelfde toeneming van de ijzerconcentratie werd waargenomen. Evenmin had de verhoging van de ijzerchelaatconcentratie in de voedingsoplossing invloed op het chlorofylgehalte of op de activiteit van de enzymen katalase en peroxidase, zodat klaarblijkelijk de interne beschikbaarheid gelijk was. In een enkel geval werd wel eens een achteruitgang van chlorofylconcentratie en van enzymactiviteit waargenomen bij de hoogste chelaatconcentratie, hetgeen erop wijst dat in dat geval de interne beschikbaarheid zelfs iets was achtergebleven. De ijzerconcentratie van de wortels werd echter bij verhoging van de chelaatconcentratie veelal belangrijk verhoogd, zodat het waarschijnlijk is dat de nadelige invloed van hogere chelaatconcentraties zich bij langdurige proeven voornamelijk in het wortelmilieu afspeelt.

Chelaatsoort

Bij de bovenvermelde proeven werden geen verschillen in de ijzerconcentratie van het blad bij toenemende ijzergift waargenomen. Wel traden niveauverschillen op tussen de gebruikte ijzerchelaten. Op grond van hun stabiliteitsverschillen is te verwachten dat het vermogen van de plant om ijzer aan het synthetische chelaat te onttrekken, vermindert bij stijgende stabiliteit van het metaalchelaat, en wel in de volgorde Fe-EDTA, Fe-DTPA, Fe-EDDHA. Hiernaast zal ook het reducerende vermogen van de wortel een belangrijke rol spelen. Brown (4) illustreerde dit fraai met sojaplanten, die een verschillende

Tabel 2 Invloed van de concentratie van ijzerchelaat op de ijzer- en chlorofylgehalten van tomatplanten

Proef nr.	Deel v. d. plant	Gehalten vóór de toediening van chelaten		Gehalten drie dagen na toediening van ijzer als:							
				Fe-DTPA				Fe-EDTA			
				5 dpm Fe		25 dpm Fe		5 dpm Fe		25 dpm Fe	
dpm Fe	% chl.	dpm Fe	% chl.	dpm Fe	% chl.	dpm Fe	% chl.	dpm Fe	% chl.		
W 42	blad	99	0,23	698	0,85	603	0,87	344	0,98	281	0,91
	stengel	46	—	441	—	436	—	305	—	251	—
	wortel	73	—	462	—	419	—	1275	—	2510	—
Fe-EDDHA											
				5 dpm Fe		25 dpm Fe					
				dpm Fe	% chl.	dpm Fe	% chl.				
W 31	blad	124	1,69			281	2,84	277	2,58		
	stengel	60	—			72	—	79	—		
	wortel	176	—			1500	—	2810	—		

gevoeligheid voor ijzergebrek vertoonden. De gevoelige planten waren niet in staat ijzer aan de meer stabiele ijzerchelaten te onttrekken, terwijl de resistente planten zelfs bij een belangrijke overmaat vrij chelaat nog voldoende ijzer konden opnemen.

De geconstateerde verschillen in ijzergehalte van het blad (tabel 3) zijn dus het uiteindelijke resultaat van de concurrentie van de plantewortel met de meer of minder stabiele ijzerchelaten. Het is interessant in dit verband het gedrag van de bladeren en wortels ten opzichte van de verschillende ijzerbehandelingen tegenover elkaar te stellen. Het ijzergehalte van het blad is bij behandeling met ijzer(II)sulfaat steeds het laagst en voor de drie ijzerchelaten hoger (meestal Fe-EDTA > Fe-DTPA > Fe-EDDHA). Het ijzergehalte van de wortel is bij behandeling met ijzer(II)sulfaat aanzienlijk hoger dan bij de drie chelaten, waarbij het gehalte ook meestal in de bovengenoemde volgorde afneemt.

Tabel 3 Invloed van chelaatsoort en ijzervoedingstoestand op de Fe- en P-gehalten van met ijzer(II)sulfaat of ijzerchelaat behandelde tomatplanten

Proef nr.	Deel v. d. plant	Gehalten vóór de toediening van ijzer		Gehalten drie dagen na ijzertoeediening in de vorm van:							
				Fe-EDTA		Fe-DTPA		Fe-EDDHA		FeSO ₄	
				dpm Fe	% P	dpm Fe	% P	dpm Fe	% P	dpm Fe	% P
W 45 'groen'	blad	178	1,09	237	0,97	247	0,93	202	0,95	164	0,92
	stengel	125	1,25	123	1,08	121	0,99	103	1,02	93	1,01
	wortel	2030	1,29	729	1,10	1600	1,10	2650	1,22	11495	1,57
W 45 'geel'	blad	80	1,21	389	1,11	275	1,08	303	1,14	247	1,11
	stengel	72	1,06	176	0,98	157	0,99	170	1,08	159	1,00
	wortel	85	1,12	493	1,10	1205	1,14	2790	1,24	9175	1,66

Een belangrijke vraag is, wat deze ijzergehalten van wortel en blad voor de ijzervoeding van de plant betekenen. Het is duidelijk dat het hoge ijzergehalte van de wortel na behandeling met ijzer(II)sulfaat niet tot een hoog ijzergehalte van het blad leidt, terwijl de lagere ijzergehalten van de wortels van de met ijzerchelaat behandelde planten dit wel doen. Vaak wordt gedacht aan een interne inactivering van ijzer door fosfaat. Het fosfaatgehalte van blad en stengel vertoont echter geen samenhang met het ijzergehalte, dat van de wortel slechts bij extreem hoge ijzergehalten (tabel 3), zoals op grond van de gewichtsverhoudingen ook te verwachten was. De totale gehalten van deze elementen geven echter geen informatie over de bindingswijze, zodat een nader bewijs niet geleverd kan worden.

Een tweede mogelijkheid ter verklaring van de accumulatie van fysiologisch niet of minder actief ijzer in de wortel wordt gevormd door het bestaan van de zgn. ijzer-accumulerende weefsels, die vooral in de wortels, knopen en nerven zouden voorkomen (2). Planten met ijzergebrek zouden eerst deze depots moeten aanvullen, voordat ijzer naar het blad getransporteerd zou kunnen worden. Het is duidelijk dat hiermee de verschillen tussen ijzer(II)sulfaat en de ijzerchelaten niet verklaard kunnen worden, temeer omdat aangenomen wordt dat er geen verschil is tussen eenmaal opgenomen ijzer, hetzij afkomstig uit het toegediende sulfaat hetzij uit het chelaat.

Een derde mogelijkheid is de adsorptie van colloïdale ijzerhydroxiden aan het worteloppervlak. Deze zal zeker verantwoordelijk zijn voor een belangrijk deel van de hoge ijzergehalten van de met ijzer(II)sulfaat behandelde wortels, waaraan ondanks intensief spoelen altijd nog wel iets blijft hangen. Bij de behandeling met ijzerchelaat treden in het geheel geen neerslagen op.

Ijzervoedingstoestand van de plant

Nieuwe aspecten treden naar voren bij planten die op het moment van de behandeling belangrijke verschillen vertonen in hun ijzervoedingstoestand.

Als even oude groene en chlorotische tomatplanten worden behandeld met FeSO_4 , Fe-EDTA, Fe-DTPA of Fe-EDDHA, treden de volgende verschijnselen op. Groene planten die tevoren ruim van ijzer waren voorzien, reageerden het minst op de ijzergiften (tabel 4, W 49-groen). De ijzergehalten van de wortels reageerden helemaal niet op de behandeling. Groene planten die blijfkens hun ijzergehalte minder goed van ijzer waren voorzien, reageerden door in het blad ijzer op te hopen (tabel 3, W 45 groen). Ijzer(II)sulfaat gaf de geringste verhoging, de drie chelaten sterkere. In de wortels van deze planten werd veel ijzer vastgelegd, in het bijzonder bij de behandeling met ijzer(II)sulfaat, maar ook bij die met Fe-EDTA, Fe-DTPA en Fe-EDDHA. Chlorotische planten reageren niet alleen veel duidelijker op de ijzerbehandeling dan gezonde, maar bereiken ook veel hogere ijzergehalten in het blad, speciaal bij de behandeling met chelaat (tabel 4, W 49 geel / tabel 3, W 45 geel). Ook de gehalten in de stengels nemen duidelijk toe. In de wortels vindt eveneens een stijging plaats, maar de gehalten bereiken in geen enkel geval de hoge waarden die de gezonde planten vertonen.

Tabel 4 Invloed van chelaatsoort, ijzervoedingsstoestand en worteltemperatuur op de Fe- en P-gehalten van met ijzerchelaten behandelde tomatenplanten

Proef nr.	Deel v. d. plant	Gehalten vóór de toediening van chelaten		Gehalten drie dagen na toediening van ijzer als:							
		dpm Fe	% P	Fe-EDTA				Fe-DTPA			
				bij worteltemperaturen van:							
		20 °C		12 °C		20 °C		12 °C			
		dpm Fe	% P	dpm Fe	% P	dpm Fe	% P	dpm Fe	% P	dpm Fe	% P
W 49 'groen'	blad	231	1,01	247	1,03	193	0,80	272	1,02	227	0,80
	stengel	82	0,87	92	0,82	78	0,71	71	0,90	—	0,72
	wortel	3470	1,17	2520	1,16	1630	1,07	1560	1,21	1560	1,10
W 49 'geel'	blad	140	1,19	302	1,06	516	1,00	344	1,10	550	0,97
	stengel	55	0,89	110	0,89	168	0,82	127	0,93	210	0,86
	wortel	330	1,08	580	1,09	780	1,04	905	1,09	1000	1,09

Jacobson & Oertli (11) hebben opgemerkt dat een onderbreking in de ijzervoeding van drie of meer dagen, gevolgd door een hernieuwde toevoer, hetzij als sulfaat, hetzij als EDTA, een sterke stijging in het ijzergehalte van het blad tengevolge kan hebben. Ook dit wijst er dus op dat de wortels van planten met (tijdelijk) ijzergebrek of een verminderde selectiviteit of een verhoogde metabolische opnemingsactiviteit vertonen. Brown (4) vond dat wortels van chlorotische planten een sterker reducerend vermogen vertoonden. Merkwaardig hierbij is ook dat het transport van ijzer naar de bladeren van chlorotische planten overweegt boven ophoping in de wortels. Van een preferente aanvulling van ijzerdepots in de wortels is hier dus geen sprake. Bovendien geldt deze accumulatie zowel voor opnemingsproces uit ijzer(II)sulfaat als uit de ijzerchelaten, die eerst gereduceerd en gecheleerd moeten worden, alvorens voor de plant beschikbaar te zijn.

Worteltemperatuur

Of de hiervoor genoemde, verhoogde opnemingsproces van ijzer door planten met ijzergebrek berust op een intensievere stofwisselingsactiviteit van de wortels, hebben wij bestudeerd door de opnemingsproces van ijzer te vervolgen bij verschillende worteltemperaturen.

Alle stofwisselingsprocessen verlopen bij lagere temperatuur langzamer dan bij hogere. Daarom moet verwacht worden dat ook de opnemingsproces van ijzer vermindert en lagere ijzerconcentraties in blad en wortel worden bereikt. Dit vonden wij overeenkomstig de verwachtingen bij gezonde groene planten (tabel 4, W 49 groen, 20/12°). Ook het fosfaatgehalte reageert duidelijk op de lagere worteltemperatuur (tabel 4). De chlorotische planten die bij 20 °C reeds meer ijzer opnamen en hogere concentraties bereikten dan de overeenkomstige groene, namen bij 12 °C nog aanzienlijk meer ijzer op, zowel bij behandeling met Fe-EDTA als met Fe-DTPA (tabel 4, W 49 geel 20/12°). Dit wijst erop dat tenminste een deel van het opnemingsproces bij chlorotische planten niet door stofwisselingsreacties wordt geregeld. Eerder wezen wij erop dat be-

schadigde planten gemakkelijk en zonder dat hiervoor energie nodig was, gehele ijzerchelaten kunnen opnemen. Dit kan geïllustreerd worden door een afgesneden tomatenplant met het wondvlak in een verdunde oplossing van het bloedrode Fe-EDDHA te plaatsen. Reeds binnen een half uur kleuren de bladeren zich rood; klaarblijkelijk wordt Fe-EDDHA passief met de transpiratiestroom mee naar de bladeren gevoerd (cf. 1). Dit geldt niet alleen voor ijzerchelaten maar ook voor andere oplosbare ijzerverbindingen. Men kan zich dus voorstellen dat de wortels van chlorotische planten een sterk verminderde selectiviteit bezitten, als het ware beschadigd zijn. Deze selectiviteit zou nog verder achteruitgaan bij lagere worteltemperatuur, zodat de plant zonder dat in de wortels een aanzienlijke ophoping optreedt, vrij gemakkelijk ijzer kan opnemen, al of niet in chelaatvorm. Onder deze omstandigheden is ook niet te verwachten dat het opgenomen ijzer voor de plant volledig beschikbaar is. Wij namen dit herhaaldelijk waar door bijv. de chlorofyl/Fe-verhouding als maatstaf voor de beschikbaarheid te gebruiken. Het is mogelijk dat er door chelaatvoeding bij ijzergebrek ongedissocieerde chelaten in het blad komen, met alle gevolgen voor de sporenelementenhuishouding van de plant. Er moet bedacht worden dat ijzergebrek met chelaten zeer effectief bestreden kan worden, zodat de vrees voor ontsparingen zich meer beperkt tot het optreden van mangaangebrek dan tot belangrijke groeiremmingen.

Celfractionering

Om tot een nadere uitspraak te komen betreffende het effect van een behandeling met ijzerchelaat op de beschikbaarheid van het ijzer in de plant, hebben wij getracht iets te weten te komen over de verdeling van ijzer over de celfracties en over de veranderingen die daarin optreden bij ijzergebrek en bij de bestrijding daarvan met chelaten.

Met behulp van de moderne centrifuges is het mogelijk de chloroplasten, mitochondriën en andere organellen (celonderdelen) met een redelijke reproduceerbaarheid uit een bladsuspensie af te scheiden. In bepaalde gevallen kan men van een organel een zuiver preparaat bereiden, zij het niet kwantitatief, in andere gevallen is men meer geïnteresseerd in de relatieve verdeling van een celbestanddeel over de celfracties. Deze fracties worden verkregen door de suspensie in een gekoelde centrifuge bij bepaalde, opklimmende, snelheden te laten draaien, waarbij steeds lichtere deeltjes gesedimenteerd worden en afzonderlijk kunnen worden verzameld. Tenslotte resulteert een vloeistof waarin zich uitsluitend de oplosbare celbestanddelen, waaronder ook de oplosbare eiwitten, bevinden. De resultaten zijn echter sterk afhankelijk van het maalmedium, de maalwijze en andere omstandigheden, waarop hier niet zal worden ingegaan. Met behulp van deze scheidingsmethode kan een indruk verkregen worden van de verdeling van ijzer over de celfracties.

Bij oriënterende proeven bleek bij chlorotische planten relatief meer ijzer in de oplosbare fractie aanwezig te zijn dan bij groene. Wat de lokalisering van toegevoegd ijzer betreft, hebben wij de indruk dat niet zonder meer mag worden aangenomen dat oplosbare verbindingen ook in de oplosbare fractie te

rechtkomen. Wordt ijzer(II)sulfaat aan een celsuspensie toegevoegd en daarna gefractioneerd, dan vindt men 60 % in de onoplosbare fracties en 25 % geadsorbeerd aan de oplosbare proteïnen. De ijzerchelaten Fe-EDTA, Fe-DTPA en Fe-EDDHA vindt men onder dezelfde omstandigheden voor ca. 95 % in de oplosbare fractie terug, een deel daarvan weer in de oplosbare proteïnen. Wordt Fe-EDDHA door opzuigen in een afgesneden tomataplant gebracht, dan vindt men na enkele uren ca. 80 % van het toegevoegde ijzer in de oplosbare fractie, drie dagen later echter slechts 70 %. Waarschijnlijk is hier sprake van binding van het gehele ijzerchelaat aan eiwitten, maar ter bevestiging van deze veronderstelling zal nog veel experimenteel onderzoek nodig zijn. Als ijzerchelaten aan de intacte plant worden toegevoegd, worden wel verschillen tussen de gebruikte chelaten gevonden, maar de interpretatie van deze gegevens zonder verdere kennis van de bindingsvorm is nog niet te geven. Het onderzoek zal voortgezet worden teneinde nadere informatie te krijgen over de beschikbaarheid van ijzer binnen de plant.

SAMENVATTING

Van de gebreken aan sporenelementen in land- en tuinbouw in Nederland spelen speciaal ijzer en mangaan een belangrijke rol. Vooral op kalkrijke gronden met een slechte bodemstructuur en/of ontwatering treden deze gebreken op. IJzergrek kan niet effectief bestreden worden met anorganische ijzertzouten. Met de invoering van de synthetische ijzerchelaten is dit probleem grotendeels opgelost. Ondanks de grote stabiliteit van ijzer(III)chelaten is de plant in staat door een reductie- en cheleringsproces ijzer van deze verbindingen te benutten. De gevoeligheid van de plant voor ijzergrek en de pH van het voedingsmilieu spelen hierbij een belangrijke rol. Een directe opneming van ongedissocieerd ijzerchelaat is onder normale omstandigheden niet te verwachten. Wel kan vrij chelaat gemakkelijk door de plant worden opgenomen. Dikwijls treedt na bemesting met chelaat mangaangebrek als secundair verschijnsel op, wat op een verstoring van de verhoudingen der sporenelementen wijst.

Bij toenemende concentratie van ijzerchelaat wordt vooral de ijzerconcentratie in de wortel verhoogd; in het blad treedt geen verhoging op en is eerder van een verlaging van de ijzerbenutting sprake. Bij toenemende stabiliteit van de toegediende ijzerchelaten wordt in principe minder ijzer in het blad opgehoopt. Dit verschijnsel kan echter gemaskeerd worden door andere milieufactoren, zoals de pH, en door de gevoeligheid en de ijzervoedingstoestand van de plant. Vooral bij planten met ijzergrek wordt na behandeling met ijzerchelaat veel ijzer opgenomen, zodat aanzienlijk hogere waarden worden bereikt dan in overeenkomstige groene planten. Daar bij lagere worteltemperatuur in chlorotische planten nog meer ijzer wordt opgenomen, wordt betwijfeld of dit opnameproces wel door stofwisselingsreacties wordt geregeld. Een passieve opneming met de transpiratiestroom van de in het voedingsmilieu opgeloste ijzerverbindingen behoort tot de mogelijkheden. Het onderzoek wordt voortgezet om tot een nadere verklaring te komen van de interne be-

schikbaarheid van ijzer in chlorotische of groene planten die al of niet met ijzerchelaten genezen zijn.

SUMMARY

Biochemical aspects of the control of iron deficiency in plants

In Dutch agricultural and horticultural practice the most frequent trace-element deficiencies concern iron and manganese. Their occurrence is mainly confined to lime-containing soils with poor structure. Inorganic iron compounds are not effective in curing iron deficiency, in contradistinction to the synthetic iron chelates which give favourable results under nearly all conditions.

In spite of their extreme stability, iron chelates are available to the plant because of the latter's reducing and chelating capacities. Important in this respect are the pH of the nutrient medium and the sensitivity of the plant to iron deficiency.

Unlike the absorption of free chelating agents, accumulation of undissociated iron chelates is not to be expected under normal conditions. Manganese deficiency may often be observed after iron-chelate application, indicating a disturbance of the trace-element ratios. The iron concentration in the roots of tomato plants is enhanced by increased iron-chelate dressings, in contrast to the leaf iron concentration, which remains constant. In some experiments a decrease of iron efficiency is observed with the highest dressings. Generally the more stable iron chelates lead to lower iron concentrations in the leaves, but this may be masked by effects of environmental conditions and the degree of iron depletion of the plant.

Iron-deficient tomato leaves treated with iron chelate showed a much larger iron accumulation than comparable healthy leaves. This effect is enhanced at low root temperatures. Hence it is doubtful whether the iron accumulation in chlorotic plants is metabolically regulated. The possibility of a passive absorption by the transpiration stream of the soluble iron compounds from the nutrient medium is suggested. The study is being continued in order to obtain more information on the internal availability of iron to chlorotic and healthy plants treated with synthetic iron chelates.

LITERATUUR / REFERENCES

- 1 Branton, D. & Jacobson, L.: Iron transport in pea plants. *Plant Physiology* 37 (1962) 539—545.
- 2 Branton, D. & Jacobson, L.: Iron localization in pea plants. *Plant Physiology* 37 (1962) 546—551.
- 3 Brown, J. C.: Iron chlorosis in plants. *Advances Agron.* 13 (1961) 329—369.
- 4 Brown, J. C., Holmes, R. S. & Tiffin, L. O.: Iron chlorosis in soybeans as related to the genotype of the root stalk. III. Chlorosis susceptibility and reductive capacity at the root. *Soil Science* 91 (1961) 127—132.
- 5 Brown, J. C., Tiffin, L. O., Specht, A. W. & Resnick, J. W.: Stability and concentration of metal chelates as factors in iron chlorosis of plants. *Agron. J.* 53 (1961) 85—90.
- 6 Chabareck, S. & Martell, A. E.: Organic sequestering agents. New York, 1959.
- 7 Driel, W. van: The effect of iron ethylenediaminetetraacetic acid on the growth and metabolism of tomato plants in water culture. *Plant and Soil* 20 (1962) 85—104.
- 8 Hale, V. Q. & Wallace, A.: Effect of chelating agents and iron chelates on absorption of manganese by bush beans. In: *A decade of synthetic chelating agents in inorganic plant nutrition* (A. Wallace ed.). Los Angeles, California, 1962. (zie ook lit. opg. nr. 15).

- 9 Henkens, Ch. H.: Gebreksziekten en haar bestrijding. *Het loonbedrijf in land- en tuinbouw* 13 (1960) 639—643.
- 10 Hill-Cottingham, D. G. & Lloyd-Jones, C. P.: Absorption and breakdown of iron ethylenediaminetetraacetic acid by tomato plants. *Nature* 189 (1961) 312.
- 11 Jacobson, L. & Oertli, J. J.: The relation between iron and chlorophyll contents in chlorotic sunflower leaves. *Plant Physiology* 31 (1956) 199—204.
- 12 Martell, A. E. & Calvin, M.: Chemistry of the metal chelate compounds. New York, 1953.
- 13 Simons, J. N., Swidler, R. & Benedict, H. M.: Absorption of chelated iron by soy bean roots in nutrient solutions. *Plant Physiology* 37 (1962) 460—466.
- 14 Tiffin, L. O., Brown, J. C. & Krauss, R. W.: Differential absorption of metal chelate compounds by plant roots. *Plant Physiology* 35 (1960) 362—367.
- 15 Wallace, A. (ed.): A decade of synthetic chelating agents in inorganic plant nutrition. Wallace, A. 2278 Parnell Avenue, Los Angeles 64, California, 1962.
- 16 Wallace, A. & Lunt, O. R.: Iron chlorosis in horticultural plants, a review. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 75 (1960) 819—841.
- 17 Wallace, A., North, C. P., Mueller, R. T., Shannon, L. M. & Hemaidan, N.: Behaviour of chelating agents in plants. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 65 (1955) 9—16.