

NEDERLANDSCHE AKADEMIE VAN WETENSCHAPPEN

Landbouwproefstation
en Bodemkundig Instituut
SEPARAAT
No. 65-68

Een methode van doorstroming der houtvaten
in de wortel in verband met het stoftransport
in radiale richting

DOOR

L. K. WIERSUM

Verslagen Ned. Akad. v. Wetensch., Afd. Natuurkunde, Vol. LIII, N^o. 1, 1944

631.81.031
631.81.033

Plantkunde. — L. K. WIERSUM: *Een methode van doorstroming der houtvaten in de wortel in verband met het stoftransport in radiale richting.* (Aangeboden door Prof. W. H. ARISZ.)

(Aangeboden in de zitting van 29 Januari 1944.)

Bij het bestudeeren van het proces, waardoor stoffen worden opgenomen door het wortelstelsel van de normale hogere plant, heeft men tegenwoordig te rekenen met twee principes ter verklaring ervan, die onderling een zekere tegenstrijdigheid vertoonen. Het oudst is de opvatting, dat de transpiratiestroom in staat zou zijn de voedingsstoffen mee de plant in te slepen. Daarnaast wordt ook aangenomen, dat de voedingsstoffen naar binnen kunnen diffundeeren om pas later ergens in het levende weefsel aan secundaire processen onderhevig te zijn, die de selectie en de regeling van de op te nemen hoeveelheid beheerschen.

In de laatste jaren is een nieuw principe op de voorgrond gekomen, dat onze aandacht richt op processen van stofophooping, die hierbij een rol spelen. In dit verband wordt herinnerd aan het feit, dat zowel in de vacuolen als in het bloedingsvocht uit de wortel de concentratie der opgeloste stoffen practisch steeds hooger is dan in het milieu (HOAGLAND, LUNDEGÄRDH).

In de eerste beschouwingwijze moet men aannemen, dat het protoplasma de betreffende stoffen meer of minder goed doorlaat: er permeabel voor is. Hiermee zijn tal van goed onderzochte feiten in overeenstemming. Het samengaan van het accumulatie-proces, waarbij onder energieverbruik een ophooping van stoffen in ongebonden toestand tot stand komt, met een groote permeabiliteit is echter niet direct voor de hand liggend. Inderdaad zien we dan ook, dat sommige onderzoekers (COLLANDER 1943, LUNDEGÄRDH 1943, ARISZ 1943) aannemen, dat het protoplasma weinig permeabel is voor zouten en andere gedissocieerde stoffen.

Er is dus reden om de vraag in hoeverre het wortelweefsel voor een aantal stoffen permeabel is nogmaals in oogenschouw te nemen. Een membraan of weefsel wordt permeabel genoemd als een in oplossing aanwezige stof er — zij het met meer of minder weerstand — door heen kan dringen op grond van zijn diffusie-vermogen. Hierbij beperken we onze aandacht tot de gewone zouten, die voor de voeding van de plant dienen, en een paar organische stoffen als suiker en ureum, die ook als zoodanig kunnen functionneeren.

Uit een aantal onderzoekingen o.a. van BÖTTICHER en BEHLING, SCHMIDT en ook WRIGHT is bekend, dat er voor de opname van sommige mineralen een positieve correlatie met de sterkte van de transpiratiestroom kan bestaan. Verder concludeert PERIS op grond van een potetometrische methodiek tot het permeabel zijn voor o.a. K, Ca, Mg, NO₃ en Cl naast suikers en ureum. Een bezwaar tegen al deze gegevens is, dat ze op indirecte wijze zijn verkregen.

Een manier om het probleem exact aan te kunnen vatten is een methode te ontwerpen, waarbij de mantel van wortelweefsel van rhizodermis tot het parenchym om het xyleem als membraan fungeert tusschen twee oplossingen — de eene in het milieu, de andere in de houtvaten — die naar willekeur te varieeren en tevens goed voor analyse toegankelijk zijn. Een groote moeilijkheid biedt hier het vocht in het xyleem, dat in zijn samenstelling slecht en hoogstens indirect te regelen is en daarbij tevens niet willekeurig voor analyse beschikbaar is. Met een intact wortelweefsel is dan ook alleen onderzoek van het bloedingsvocht mogelijk (LUNDEGÄRDH 1943). We hebben een oplossing gezocht door van een jonge wortel top en basis af te snijden zoodat het xyleem aan beide zijden geopend is. We verkrijgen dan een holle cylinder met het te onderzoeken levende

weefsel als wand en de vaten als holte en kunnen deze nu kunstmatig doorstroomen.

Op deze basis werd getracht een bruikbare doorstroomings-methodiek uit te werken. Het onderzoek werd verricht op het botanisch Laboratorium in Groningen op instigatie en onder leiding van Prof. ARISZ. Tevens zij dezen hier dank gezegd voor de onderzonden steun en voortdurende belangstelling in het werk.

Materiaal en methode.

Als object voor het verschaffen van geschikte wortels viel de keus op *Vicia Faba*. Uit de proeven van SIERP en BREWIG was bekend, dat hieraan fraaie, lange, onvertakte wortels gekweekt konden worden, die tevens niet al te teer waren. Daarnaast was o.a. uit de onderzoekingen van GREGORY en WOODFORD, PREVOT en STEWARD bekend, dat de wortel een goed accumulatievermogen heeft. Tenslotte zijn de resultaten van PERIS aan de verwante *Phaseolus multiflorus* verkregen.

Gebruikt werden als uitgangsmateriaal de zaden van het tuinboonenras „Lange Hangers”. Deze werden in zeer groote Petrischalen in het donker voorgekiemd en nadat de primaire hoofdwortel ongeveer 4—5 cm lang was, overgebracht op jampotten van ongeveer 450 cc. De jampotten waren in een kas geplaatst, die 's winters verwarmd werd. De planten werden nu nog 2—4 weken verder gekweekt op leidingwater, zonder ververschen, terwijl ook extra aëratie overbodig bleek. Om een fraaie ontwikkeling van de primaire zijwortels te verkrijgen, werd de hoofdwortel nog 3—6 mm getopt om diens verdere groei te belemmeren. Op deze wijze konden tot soms 20 cm lange onvertakte worteltjes worden verkregen, geheel in hun primaire stadium van potentiële wortelhaarzone en vrijwel gelijkmatig 0.6—1 mm dik.

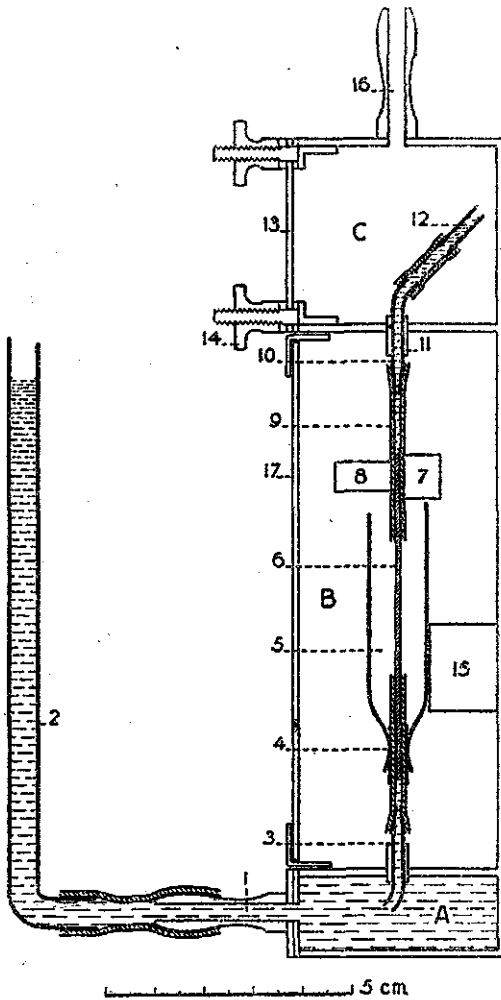
De planten werden meest gebruikt 17—25 dagen na het te kiemen leggen. Hiertoe werd onder leidingwater eerst het geheele wortelstelsel afgesneden en daarna alle afzonderlijke zijwortels. Op het oog werd een selectie toegepast om een aantal goede wortels van de vereischte dikte en zonder eventuele secundaire zijwortels te isoleren. Hieruit werden dan een aantal wortelcilindertjes gesneden. Hoewel 1 cm achter het topje de vaten al voldoende ontwikkeld zijn, werd meestal 2 cm getopt en dan een stuk van 6½—7 cm lengte gesneden om verder gebruikt te worden. De stukjes werden gedurende korte tijd in aqua dest. bewaard, totdat de best passende ervan in het toestel werden gemonteerd. Alle manipulaties werden onder water uitgevoerd.

Het toestel (fig. 1) bestaat uit een geel koperen bak van 11 × 17 cm. Deze is verdeeld in twee kleine en één grotere ruimte. De kleinste onderste ruimte (A) dient als reservoir voor de vloeistof, waarmee de wortels doorstroomd zullen worden. Het tusschenschot is daartoe doorboord en bevat 6 toegespitste glazen buisjes (3) in korte koperen buisjes ingekit. Verder is deze onderste ruimte geheel gesloten en heeft alleen nog een aanzetstuk (1), waardoor de vulling kan plaats hebben. Tevens kan hierop met een kort stukje rubberslang een verdeelde glazen buis (2) worden aangebracht, waarop de hoeveelheid weggezogen vloeistof is af te lezen.

In de groote centrale ruimte (B) worden de 6 wortelstukjes gemonteerd. De aansluiting op toe- en afvoer geschiedt door korte eindjes rubberslang (4 en 9), die door klemming op de wortel worden aangedrukt. Rubberslang van voldoende kleine inwendige diameter en niet te dunne wand, werd verkregen door voorzichtig de kern te verwijderen uit 1-aderig koperdraad. Elk worteltje bevindt zich in een eigen glazen vat (5) van ± 3½ cc inhoud. Het apart monteren van elk stukje wortel heeft het voordeel, dat er 6 waarnemingen tegelijk kunnen worden verricht en eventueel optredende lekkages, vooral bij de aansluitingen, niet direct alle waarnemingen onbruikbaar maken.

Het monteren van de stukjes wortel gaat als volgt. Het slangetje 4 wordt een flink eind naar binnen geschoven in het vaatje 5. Onder water wordt dan een passend stukje wortel in het rubberslangetje opgeschoven tot het stuit tegen de vernauwing veroorzaakt door de glazen insnoering. Met de wortel mee wordt het slangetje een eind naar buiten getrokken, zoodat nu de wortel vastgeklemd zit onder de insnoering. Over het andere vrije eind van de wortelcilinder schuiven we het slangetje (9) en plaatsen het geheel

van milieu-vat, wortel en slang in het toestel. Als steun dient het blok 15, waarop pennen zijn aangebracht tusschen de vaatjes. Het eindje slang (4) schuiven we stevig vast op het toegespitste eind van een toevoerbuisje (3). Het andere slangetje leggen we in een dwarsgleuf van de klebrug (7) en schuiven het eerst vast over het afvoerbuisje (10). Nadat zoo alle 6 wortels zijn ingezet, wordt het bovenste stuk van de klebrug (8) opgezet en vervolgens stevig met moeren aangedrukt. Aangezien de boring in de brug iets kleiner is dan de normale dikte van de rubberslangetjes, worden deze ook hier vast aangedrukt op het worteltje.



- A. toevoer reservoir voor de doorstromingsvloeistof.
- B. centrale ruimte met zes buisjes en klebrug.
- C. zuigkamer.
- 1. aanzetstuk voor rubberslang.
- 2. gecalibreerde glazen buis.
- 3. toegespitst glazen aanvoerbuisje.
- 4. rubberslangetje.
- 5. glazen vaatje $\pm 3\frac{1}{2}$ cm³.
- 6. wortelcilindertje.
- 7. klebrug.
- 8. sluitstuk van de klebrug.
- 9. rubberslangetje.
- 10. afvoerbuisje.
- 11. koperen buisje.
- 12. nauwe opvangbuis.
- 13. deksel met celluloid.
- 14. moer.
- 15. steunblok.
- 16. aanzetstuk voor slang.
- 17. glazen deksel.

Fig. 1. Apparaat voor worteldoorstroming.
Lengtedoorsnede.

Tenslotte kan het vaatje 5, nadat het toestel in staande positie is gebracht, met een willekeurige vloeistof worden gevuld. Om verdamping zooveel mogelijk tegen te gaan en een eventueel uitdrogen van het kleine vrije eind wortel te voorkomen, wordt het geheele vak tenslotte afgesloten door een glazen deksel (17) met een metalen rand.

Als drijvende kracht voor de waterverplaatsing in de houtvaten van de zes wortels, dient een vacuum van 55—65 cm Hg. Hiertoe is met tusschenschakeling van een grooter

vat een vacuumpomp op kamer (C) aangesloten. Een kwikmanometer en een relais-schakeling zorgen voor het constant houden van de onderdruk. De aansluiting geschiedt op buis 16.

De zuigkamer (C) bezit verder een deksel uit doorzichtig celluloidplaat (13), die met een koperen kraag en moeren op een rubber onderlaag kan worden aangedrukt. In de kamer monden de reeds genoemde zes glazen buisjes (10) uit en hierop is met een kort stukje ventielslang een eind nauwe buis (12) aangesloten. Hierin wordt de doorgezogen hoeveelheid vloeistof opgevangen. Indien de doorstroming goed is en er geen lekkages optreden, kunnen we dus, indien noodig, het xyleemvocht van elke wortel afzonderlijk analyseren.

Het geheele toestel wordt tenslotte in een thermostaat geplaatst bij 20° C. Daarbij bevinden zich de wortels in het donker. De proefduur varieert en kan tot 48 uur bedragen, doch is meestal 17—18 uur.

Nadat de proef beëindigd is, wordt het vacuum uitgeschakeld, het toestel uit de thermostaat gehaald en gedemonteerd. Voor zoover noodig is, wordt de in de opvangbuisjes (12) aanwezige vloeistof ter analyse in een ander vaatje overgebracht. De bereikte doorstroming is zeer variabel. Veelal blijken 1 à 2 wortels verstopt of dichtgeklemd te zijn. De onder gunstige omstandigheden bereikte doorstroming per wortel is ruim ½ cc.

Afhankelijk van de aard van de proef kan een monster van of alle vloeistof uit de buisjes (5) voor analyse worden verzameld. Lekkage bij de aansluiting op slang (4) treedt vrijwel in elke proef in een enkel buisje op.

Na afloop van de proef bij de demontage van de stukjes wortel volgt dan nog een controle op de toestand, waarin het materiaal verkeert. Het wortelweefsel wordt beoordeeld naar zijn turgescentie en uiterlijk: d.w.z. of de kleur nog wit is of dat door infiltratie van de intercellulairen de wortel glazig is geworden. Ook de uiteinden worden bekeken om eventuele beschadigingen, platdrukken of uitdroging onder de afsluiting na te gaan.

Het blijkt, dat bij de noodige ervaring en zorgvuldig werken, de meeste wortels zonder noemenswaardige schade of verandering de proef mee kunnen maken. Vaak kan het gebeuren, dat na afloop van een proef de wortel op het oog en het gevoel geheel onveranderd is.

Men kan zich afvragen of deze methodiek, die nieuwe perspectieven opent voor het onderzoek van diverse wortelfuncties, geoorloofd is. Eén van de grootste bezwaren, die men zal kunnen aanvoeren, is twijfel aan het feit, of het weefsel na een dergelijke behandeling wel als normaal mag worden beschouwd. Dit houdt dus in, dat men zonder meer het normale physiologische gedrag van deze stukjes wortel niet accepteert.

Inderdaad kan niet ontkend worden, dat de isoleering van kleine stukjes wortel uit het geheel van de plant, bezwaren met zich mee brengt. Zoo zal het correlatieve verband, dat tusschen spruit en wortelstelsel bestaat, noodzakelijkerwijs te loor gaan. Aan den anderen kant echter brengt dit een vereenvoudiging van het systeem mee. Op het gebied van de hier in aanmerking komende functies hebben SCHMIDT en ook LUTTKUS en BÖTTICHER een invloed van de al dan niet belichte spruit op het absorptie-proces van zouten geconstateerd.

Verder nam BREWIG waar, dat bij sterkere transpiratie-zuiging van het bladoppervlak een verschuiving optreedt van de zône, waarin bij de wortel de maximale waterabsorptie plaats vindt. Wat we hierbij echter zien, is uitsluitend een verschuiving in de mate, waarin een bepaalde eigenschap zich laat gelden. Aangezien het correlatieve verband geen principiëel afwijkend gedrag van de wortel veroorzaakt, kan het ontbreken ervan geen aanleiding zijn om op deze gronden de opstelling te verwerpen.

Voor het onderzoek van de permeabiliteits-eigenschappen van het wortelweefsel is deze methodiek echter zeker minder ingrijpend dan die, waarmee tal van erkende feiten op dit gebied zijn verkregen, zooals het werken met wortelschijfjes of de plasmolytische techniek. De wortel blijft in zijn waterige milieu en het gebruik van hypertonische oplossingen is in onze proeven niet noodig. Ook het wondoppervlak aan beide uiteinden is uitermate klein en een noemenswaardige invloed ervan is niet waarschijnlijk.

Wil men deze methodiek bezigen bij het bestudeeren van absorptie door de wortel, dan is zoo zonder meer kritiek niet gerechtvaardigd. Het is immers uit het werk van PREVOT en STEWARD al bekend, dat kleine stukjes wortel evengoed in staat zijn accumulatie te vertoonen als intacte wortelstelsels.

Kritiek zou alleen uitgeoefend kunnen worden op grond van twijfel aan een normale conditie van het weefsel in de proef. Het normale uiterlijk aan het einde van de proef geeft reeds eenige waarborg voor het nog in goede welstand verkeereren van het worteltje. Een beter bewijs voor het goed functioneeren van het geheel zou hierin bestaan, dat aangetoond werd, dat één der meest vitale processen nog ongestoord voortgang had. Als criterium werd hiervoor het accumulatieproces genomen. Kunnen we dus aantonen, dat onder omstandigheden, die in deze proefopstelling regelmatig voorkomen, het weefsel in staat is, één of ander zout op te hoopen, dan achten we ons gerechtvaardigd ook in andere proeven een normaal physiologisch gedrag van het weefsel te veronderstellen.

Inderdaad blijken de stukjes wortel onder deze omstandigheden tot accumulatie in staat te zijn. Hiertoe werd o.a. in een proef als milieu in vaatje 5 een fosphaat-oplossing van pH 7.5—8 gedaan. Doorstroomd werd met gewoon aqua dest. Analyse van alle zes stukjes wortel na afloop van de proef, die ongeveer 19 uur geduurd had, gaf een hoeveelheid fosphaat van 190 γ H_2PO_4 . Twee series van zes worteltjes als controle gaven resp. 140 γ en 163 γ , gemiddeld dus ongeveer 150 γ , wat ook in andere proeven ongeveer gevonden werd. Er is dus ongeveer 40 γ H_2PO_4 opgenomen. Hiermee gaat samen een vermindering der concentratie in het milieu.

Voegen we aan een volledige voedingsoplossing volgens HOAGLAND echter 1/250 Mol. NaCN toe, dan vinden we een concentratie-toename in het milieu, d.w.z. een afgifte van fosphaat door de wortel, terwijl zonder NaCN ook hier een vermindering van het fosphaat-gehalte van de voedingsoplossing optreedt. Als dus het weefsel normaal kan ademen, blijkt het nog in zoo'n normale toestand te verkeereren, dat accumulatie ongestoord plaats vindt.

Proefresultaten.

Nadat de methodiek voldoende was uitgewerkt om bruikbaar te zijn, werd overgegaan tot het nemen van proeven ermee.

In de eerste plaats werd de doorlaatbaarheid voor K en Ca onderzocht, aangezien gegevens uit de literatuur aanleiding gaven een verschil in gedrag te verwachten. Als anion werd daarnaast nog met H_2PO_4 gewerkt. Ook twee organische stoffen werden onderzocht en wel saccharose en ureum. De eerste als vertegenwoordiger van betrekkelijk slecht permeabele stoffen en de laatste wegens zijn algemeen meest groot permeatievermogen.

Voorloopig zullen hier slechts de resultaten met een tweetal stoffen verkregen, worden vermeld. Hiertoe zijn uitgekozen de algemeen als slecht permeabel of impermeabel geldende stoffen Ca en saccharose.

Voor Ca werd als volgt te werk gegaan. Als vloeistof, waarmee de xylembanen van de stukjes wortel werden doorstroomd, fungeerde een oplossing van 1/30 Mol. $Ca(NO_3)_2$ in aqua dest., waaraan een spoortje fluoresceïne was toegevoegd. Deze laatste stof diende als indicator voor lekkage. Als het milieu na afloop van de proef ook maar eenigszins fluoresceerde bij ultra-violet licht, werd aangenomen, dat de afsluiting bij slangetje 4 niet voldoende was geweest en het analyse resultaat van de betreffende oplossing in vaatje 5 niet betrouwbaar was. Als milieu fungeerde gewoon aqua dest.

Na afloop van de proef werd het vaatje 5 in een reageerbuis leeggegoten en het milieu op Ca geanalyseerd met behulp van een warme verzadigde NH_4 -oxalaat oplossing. Het resultaat van een heele serie proeven was, dat in 35% der gevallen een neerslag van Ca-oxalaat kon worden aangetoond. Dat niet overal Ca kon worden aangetoond, kan ten deele zijn oorzaak hebben in de ongelijke doorstroming, daar deze van wortel tot wortel

zeer sterk kan varieeren. Nu en dan treedt zelfs geen doorstroming op, als de vaten b.v. verstopt raken of dichtgeknepen worden.

We komen dus tot de conclusie, dat het levende weefsel van den wortel Ca doorlaat, al is het niet in sterke mate. In blanco proeven, waarbij met aqua dest. doorstroomd werd, kon nooit een Ca-afgifte worden waargenomen. Hieruit blijkt, dat de afgegeven Ca niet uit het weefsel afkomstig is. Toevoeging van 1/250 Mol. NaCN of verzadiging der oplossing met phenylurethaan, had verder geen merkbare invloed. Dit is een aanwijzing, dat de Ca-afgifte op een diffusie-proces berust.

Dat we bij het onderzoek van Ca inderdaad met het gedrag van een nog normale wortel te maken hebben, steunt niet uitsluitend op het aantoonen van een accumulatie-vermogen voor H_2PO_4 onder soortgelijke omstandigheden, maar ook op het afwijkend gedrag t.o.v. KNO_3 . Met dit zout zijn n.l. op dezelfde wijze een groot aantal proeven genomen. De concentratie, waarmee doorstroomd werd, varieerde van 1/50—1/10 Mol. Onder aérobe omstandigheden kon zelfs bij de hoogste concentraties nooit ook maar de afgifte van een spootje K worden aangetoond. Aangezien K als een veel beter permeërend ion moet worden beschouwd, is dit resultaat wel opmerkelijk. Het wijst erop, dat stofwisselingsprocessen hier ingrijpen, wat alleen mogelijk is bij een goede toestand van het wortelweefsel.

Een tweede probleem, dat is onderzocht, is de afgifte van saccharose. In de meeste proeven werd een saccharose-oplossing van 0.2 Mol. sterkte in het xyleem gebracht. De stof was opgelost in leidingwater om een iets meer physiologisch milieu te hebben en als lekkage-indicator werd weer uranine (Na-fluoresceïnaat) toegevoegd. Het milieu om de wortels bestond uit leidingwater.

Na afloop van de proef, werd uit het milieu-vaatje, dat ruim $3\frac{1}{2}$ ml vloeistof kon bevatten, een 2 ml monster genomen ter analyse. Na inversie met H_2SO_4 en neutralisatie werd de verkregen invertsuiker quantitatief bepaald volgens de methode HAGEDORN-JENSEN.

De verkregen resultaten toonden duidelijk aan, dat saccharose in staat is, zonder al te veel moeite het levende wortelweefsel te passeeren. Zoo konden in een proef, waarbij 5 monsters onderzocht werden, de volgende invertcijfers worden verkregen: 4, 58, 49, > 385 en > 385 γ . Daar in contrôleproeven met doorstroming met leidingwater nooit hogere reductie-cijfers dan 7 γ werden gevonden, moet de toename in reductie een gevolg zijn van het naar buiten diffundeeren der saccharose. Berekening laat zien, dat dit ongeveer 2% van de hoeveelheid stof is, die de vaten zal zijn gepasseerd.

Toevoeging van 1/250 Mol. NaCN aan beide vloeistoffen had in wezen geen invloed op de resultaten. Hieruit meenen we te mogen concludereen, dat actieve processen hierbij geen rol spelen.

Bespreking.

Overzien we nog eens de verkregen resultaten, dan blijkt het, dat voor de beide stoffen Ca en saccharose is aangetoond, dat zij in zekere mate het parenchymweefsel kunnen passeeren. Van veel belang is hierbij, dat de geconstateerde doorlaatbaarheid is aangetoond bij een afgifte der betreffende stof aan het milieu. De richting van het stoftransport is hier dus tegengesteld aan wat onder normale omstandigheden in dit vrij specifieke opname-orgaan plaats heeft. Dit is een reden te meer om — naast de resultaten met NaCN of phenylurethaan — het hier geconstateerde radiale transport van Ca en van saccharose als een diffusie-proces op te vatten. Dat ook in de intacte plant een vrij groote afgifte van ionen, in dit geval K, kan optreden, is door LUTTKUS en BÖTTICHER aangetoond. Dat dit onder bepaalde omstandigheden ook voor Ca mogelijk is, vermeldt SCHMIDT. In deze beide gevallen staat de aard van het proces echter niet vast.

Indien dit proces dus een diffusie is, dan dienen we ons rekenschap te geven langs welke banen het vervoer gaat, door de celwanden of door het protoplasma en de vacuole. Het gebied van de wortel, waarmee geëxperimenteerd wordt, valt binnen dat, waarin wortelharen op kunnen treden. We treffen hier een endodermis aan in zijn primaire

stadium. Ook KROEMER geeft dit aan voor soortgelijke wortels van de verwante *Phaseolus*. Algemeen wordt aangenomen, dat de Casparische punten een transport door de celwand in den weg staan, daar er vetachtige substanties in zijn aangetoond. V. WISSELINGH, V. GUTTENBERG. Ook experimenteele gegevens bevestigen dit, PRIESTLEY en NORTH, DE RUFZ DE LAVISON, zoodat als het juist is, dat de Casparische punten het transport door de endodermiswanden onmogelijk maken, hier in elk geval het protoplasma gepasseerd zou moeten worden.

Aangezien de bij de doorstrooming gebruikte stofconcentraties hypotonisch waren, is een plasmolyse volkomen uitgesloten en zouden de stoffen dus het protoplasma moeten passeeren. Wel is natuurlijk de gebruikte concentratie niet zuiver physiologisch meer te achten, maar dit was o.a. wegens de uit meerdere cellen bestaande, vrij dikke membraan van $\pm 250 \mu$ levend weefsel niet te voorkomen.

Wat Ca betreft, dit ion geldt over het algemeen als slecht permeërend door het protoplasma. Toch hebben diverse onderzoekers een indringen kunnen constateeren. (GELLHORN). OSTERHOUT heeft op zeer fraaie wijze het indringen van Ca in de vacuole van wortelharen uit oplossingen van zeer lage concentraties rechtstreeks kunnen waarnemen door het optreden van kristallen in de vacuole. Ook DE RUFZ DE LAVISON constateerde een indringen uit lage concentraties van het milieu met behulp van een microchemisch onderzoek van coupes van de wortel. Het is echter onbekend of dit actieve opname of een passieve permeatie door het protoplasma is. Op grond van een indirecte methode komt PERIS in een meer recent onderzoek tot de conclusie, dat het wortelweefsel voor Ca permeabel is. Het beste indringingsvermogen zou voor *Phaseolus multiflorus* wortels bij 0.1 Mol. liggen.

Tenslotte maakt het feit, dat Ca het weefsel passeert, de resultaten begrijpelijk, waarbij juist voor dit ion in een aantal gevallen een belangrijke positieve correlatie tusschen sterkte van de opname en sterkte van de transpiratiestroom is geconstateerd. Zoo vindt b.v. WRIGHT bij *Phaseolus vulgaris*, dat bij verdubbelde transpiratie over een periode van 96 uur, ook vrijwel de dubbele hoeveelheid Ca wordt opgenomen. Ook BÖTTICHER en BEHLING vinden een sterke correlatie voor Ca en tenslotte vermeldt ook SCHMIDT dergelijke resultaten. Hier is dus inderdaad de mogelijkheid aanwezig, dat met de waterstroom mee het ion passief wordt opgenomen.

Ook voor saccharose is het resultaat eenigzins verrassend, aangezien dit over het algemeen tot één der slechtst permeërende anelectrolyten wordt gerekend (COLLANDER, 1937). Wel is door diverse onderzoekers een aantal malen een betere permeabiliteit geconstateerd (literatuur bij GELLHORN). Dat bij onze proeven een weefsellaag van een aantal cellen gepasseerd kan worden, terwijl een gedeeltelijk vastleggen of verbruik onderweg niet is uitgesloten, is opvallend. Hierbij mag niet vergeten worden — hetgeen evenzeer voor Ca geldt — dat de diffusie hier vermoedelijk nog bemoeilijkt wordt door een tegengesteld gerichte waterstroom. In het xyleem heerscht n.l. een zekere osmotische zuigspanning, uitgeoefend door de doorstroomingsvloeistof en daarnaast zal het vacuum, dat als beweegkracht dient, ook een zuigspanning veroorzaken.

Bij *Phaseolus* meent PERIS ook voor saccharose een vrij goede permeabiliteit voor deze stof aangetoond te hebben, die zelfs eenigzins in de grootte-orde van ureum valt. Evenmin als voor Ca neemt zij echter hier uitsluitend een diffusie-proces aan, doch zoekt ook naar andere verklaringsmogelijkheden. Ook de resultaten van RENNER, waarbij het brengen van een wortelsysteem in een 3% saccharose-oplossing over een periode van 10 minuten een per minuut dalende terugzuiging van het bloedingssap laat zien, zijn op deze grondslag op aannemelijke wijze te verklaren.

Resumeerende zien wij dus, dat de resultaten van onze proeven wel in overeenstemming zijn met verschillende gegevens in de literatuur, die op een doorlaatbaarheid van het wortelweefsel wijzen. Het is echter niet duidelijk, hoe deze doorlaatbaarheid tot stand komt en langs welke banen de stoffen in het wortelparenchym vervoerd worden, door de celwanden, door het protoplasma en de vacuole of door celwand en protoplasma beide. Indien de voorstelling juist is, dat de Cortische verdikkingslaag een transport

door de wand van de endodermiscellen in radiale richting onmogelijk maakt, dan moet althans het protoplasma der endodermiscellen voor Ca-ionen en saccharose permeabel zijn. In hoeverre de cellen van het parenchym zich hierbij aansluiten staat dan nog te bezien. Is echter de voorstelling over de functie van de Cortische laag onvoldoende gefundeerd en bij het hier onderzochte object niet geldig, dan kan het transport van deze stoffen door het samenhangende stelsel van celwanden plaats hebben zonder dat het protoplasma voor deze stoffen permeabel is. Het verschillende gedrag van kalium en calcium wijst wel op een invloed van het protoplasma, maar in welk deel van het proces men zich deze moet denken, is niet te zeggen. Het is dus nog niet mogelijk op dit oogenblik een oordeel te geven over de wijze, waarop de stoffen in de wortel in radiale richting worden vervoerd.

Tenslotte geeft ons de voor saccharose bereikte conclusie een aanleiding om eenige bedenkingen te opperen tegen de interpretatie, die BREWIG 1939 aan een aantal van zijn proeven gaf. Hij gebruikt hier n.l. saccharose-oplossingen om aan geïsoleerde wortels over een klein gebied water te onttrekken. Hierbij wordt een semipermeabel gedrag van het weefsel verondersteld. Zoolang er geen drukverval in het xyleem heerscht, blijkt n.l. de suikeroplossing niet in staat noemenswaardige hoeveelheden water naar buiten te zuigen. Pas onder invloed van een drukverval zou een regulatiemechanisme een verhoogde waterdoorlaatbaarheid tot stand brengen. Hierna is de suikeroplossing in staat aanmerkelijk meer water aan te zuigen.

Nu echter saccharose in staat blijkt te zijn vrij goed door het wortelweefsel heen te dringen, is ook een andere verklaring mogelijk. Brengen we n.l. een suikeroplossing om een kleine zône van de wortel, dan zal door diffusie de stof ook in de vaten komen. Naarmate hier de concentratie stijgt, hetgeen in het zeer beperkte volume ervan snel kan geschieden, zal het osmotisch verval afnemen en daarmee de waterverplaatsing. Door een waterbeweging in de vaten kan de binnengedrongen suiker worden uitgespoeld en wel des te beter bij een sterke waterstroom. Hoe sterker dus de waterverplaatsing in het xyleem is, hoe beter het osmotisch verval naar het milieu gehandhaafd wordt en des te meer water naar buiten wordt gezogen. Aangezien elk drukverval in het xyleem een daarmee evenredige waterverplaatsing in overlangsche richting veroorzaakt, kan indirect het osmotisch verval beïnvloed worden. Een grooter drukverval veroorzaakt dus een betere doorstroming der vaten en het hierdoor bereikte sterker wegspeelen der ingedrongen saccharose geeft indirect de indruk van een verhoogde waterpermeabiliteit, daar de zuigkracht van het milieu nu in sterkere mate tot uiting kan komen.

Samenvatting.

Het feit, dat er een zekere discrepantie bestaat tusschen de twee voornaamste principes, die ter verklaring van het opnemen van stoffen door de wortel gebruikt worden, vormde aanleiding tot een onderzoek van de doorlaatbaarheid van het levende wortelweefsel tusschen xyleem en milieu in radiale richting met behulp van een nieuwe methode. Hiertoe worden uit de wortelhaarzône van een jonge wortel ruim $6\frac{1}{2}$ cm lange cylindertjes gesneden, zoodat de houtvaten aan beide uiteinden geopend zijn. Na montage in een hiertoe ontworpen apparaat kan men met behulp van een gedeeltelijk vacuum het xyleem kunstmatig doorstromen. Zodoende konden de te onderzoeken stoffen in geschikte hypotonische concentraties in de vaten van de wortel gezogen worden en kon het transport van deze stoffen uit de vaten naar buiten door de mantel levend weefsel worden nagegaan. Door accumulatie-proeven werd de normale conditie van het wortelweefsel in de proef aangetoond.

Voor het algemeen als relatief slecht permeabel geldende Ca kon een afgifte worden waargenomen, die wel op diffusie moet berusten, aangezien remming van de adembaling hier geen effect op uitoeft. Een tweede onderzochte stof was saccharose, waarvoor het wortelweefsel ook betrekkelijk doorlaatbaar bleek. Het afgeven moet ook hier op diffusie berusten.

Beide resultaten vormen een bevestiging van reeds door enkele anderen gevonden gegevens, die echter op indirecte wijze verkregen waren.

Zusammenfassung.

Der Umstand, dass die beiden Hauptprinzipien zur Erklärung der Stoffaufnahme der Wurzeln sich widersprechen, war die Anregung zur erneuten Untersuchung der Permeabilität der lebenden Wurzelgewebe. Unter Zuhilfenahme einer neuen Methodik wurde die Durchlässigkeit der Gewebe zwischen Xylem und Milieu in radialer Richtung studiert. Aus der Wurzelhaar-zone einer jungen Wurzel wurden dazu etwa $6\frac{1}{2}$ cm lange Zylinder geschnitten, sodass die Holzgefäße an beiden Enden geöffnet wurden. Nachdem die Wurzeln in ein zu diesem Zweck entworfenes Apparat befestigt sind, kann man unter Zuhilfenahme eines partiellen Vakuums das Xylem künstlich durchströmen. Auf diese Weise wurden verschiedene Lösungen meist in hypotonischen Konzentration durch die Wurzel gesogen und konnte der Transport aus den Holzgefäßen durch den Mantel lebendigen Gewebes nach aussen untersucht werden. Durch Akkumulationsversuche wurde das normale Verhalten des Wurzelgewebes während der Experimente erwiesen.

Für das allgemein als relativ schlecht permeabel geltende Ca konnte eine Abgabe gezeigt werden, die wohl Folge einer Diffusion sein muss, weil eine Atmungshemmung hier kein Effekt ausübt. Ein zweiter Stoff, der untersucht wurde, war Saccharose, und auch für diese Substanz zeigte sich das Wurzelgewebe ziemlich durchlässig. Die Abgabe muss auch hier Folge einer Diffusion sein.

Beide Resultate sind eine Bestätigung von Ergebnissen, welche zwar schon bekannt waren, aber nur auf indirekter Weise abgeleitet waren.

Summary.

The two leading principles by which the absorption of solutes by the roots is explained, show a certain discrepancy. This fact encouraged a study of the radial permeability of the living tissue of the root between xylem and outward medium by a new method. On this behalf cylinders of ample $6\frac{1}{2}$ cm long were cut out of the root-hair zone of young roots, so that the xylem-tracts were opened at both ends. A flow of solution through the vessels of these pieces of root could be artificially originated by means of a partial vacuum after placing the roots in an apparatus, especially constructed for this purpose. The solutes that were investigated could thus be sucked through the xylem in known hypotonic concentration and the transport across the coat of living tissue to the external solution could be followed up. By means of accumulation tests the normal behaviour of the root-tissue during the experiment was demonstrated.

For Ca which is usually considered as relatively badly penetrating, a transfer across the root-tissue could be observed. This must be due to diffusion as blocking of the respiration had no effect. A second substance which was investigated was saccharose, which also passed through the root-tissue without much resistance. Also here the translocation must be due to diffusion.

Both results are in accordance with dates, which were already discovered by others, but with indirect methods.

Résumé.

Le fait, qu'il y a une certaine contradiction entre les deux principes, d'où l'on part pour expliquer l'absorption de substances par la racine, fut le motif pour entamer une recherche, concernant le passage en direction radiale de différentes substances par le tissu vivant de la racine situé entre le xylème et le milieu extérieur en utilisant une nouvelle méthode. Dans ce but des morceaux d'une longueur de 6.5 cm furent coupés de la jeune racine, de sorte que les vaisseaux ligneux furent ouverts au bout.

Après avoir posé les racines dans l'appareil spécialement construit à cet effet, on peut faire couler une solution par les vaisseaux de la racine en concentration hypotonique et ensuite le transport de ces substances des vaisseaux par la couche de tissu vivant jusqu'au milieu extérieur peut être analysé.

Il est possible de prouver la condition normale du tissu de la racine par détermination de l'accumulation.

Pour le Ca considéré comme une substance pénétrant difficilement, un passage au milieu extérieur fut constaté, ce qui doit être causé par une diffusion, vu qu'un blocus de la respiration n'exerce point d'effet.

La deuxième substance, qui fut examinée, était le saccharose. Aussi pour cette substance le tissu de la racine fut trouvé relativement bien pénétrable. Ce transport est également une diffusion.

Ces deux résultats confirment des données déjà trouvées par d'autres auteurs, mais obtenues d'une manière indirecte.

LITERATUUR.

- ARISZ, W. H., Het actief en passief opnemen van stoffen door Vallisneria. Verslag v. d. verg. Ned. Ak. v. Wet. Amsterdam 52 (1943).
- BÖTTICHER, R. und L. BEHLING, Licht, Transpiration, Salzaufnahme und Blattstruktur. Flora N.F. 34 (1939).
- BREWIG, A., Die Regulationserscheinungen bei der Wasseraufnahme und die Wasserleitgeschwindigkeit in Vicia Faba-Wurzeln, Jahrb. wiss. Bot. 82, 803 (1936).
- , Auslösung leichter Wasserdurchlässigkeit an Wurzeln von Vicia Faba. Planta 29 (1939).
- COLLANDER, R., Einige Ergebnisse und Probleme der botanischen Permeabilitätsforschung. Schrift. d. physiol.-ökon. Ges. z. Königsberg 69 (1937).
- , Diffusion und adenoide Tätigkeit bei der Ionenaufnahme pflanzlicher Zellen. Die Naturwiss. 30, 484 (1942).
- GELLHORN, E., Das Permeabilitätsproblem (1929).
- GREGORY, F. G. and H. K. WOODFORD, An apparatus for the study of the oxygen, salt and water uptake of various zones of the root, with some preliminary results with Vicia Faba. Ann. of Bot. 3, 147 (1939).
- GUTTENBERG, H. VON, Der primäre Bau der Angiospermenwurzel. Handb. d. Pflanzenanat. II, 3, Bd. VIII (1940).
- HOAGLAND, D. R. and T. C. BROYER, Hydrogen-ion effects, and the accumulation of salt by barley roots as influenced by metabolism. Am. Journ. of Bot. 27, 173 (1940).
- KROEMER, K., Wurzelhaut, Hypodermis und Endodermis der Angiospermenwurzel. Bibl. Botan. 59 (1903).
- LUNDEGÄRDH, H., Bleeding and sap movement. Arkiv för Botanik 31 A (1943).
- LUTTKUS, K. und R. BÖTTICHER, Ueber die Ausscheidung von Aschenstoffen durch die Wurzeln. Planta 29, 325 (1943).
- OSTERHOUT, W. J. V., On the penetration of inorganic salts into living protoplasm. Zeitschr. f. phys. Chemie 70, 408 (1910).
- PERIS, K., Zur potetometrischen Bestimmung der Permeabilität der Wurzeln intakter Pflanzen. Protoplasma 26 (1936).
- PREVOT, P. and F. C. STEWARD, Salient features of the root system relative to the problem of salt absorption. Plant Physiol. 11, 3 (1936).
- PRIESTLEY, J. H. and E. E. NORTH, Physiological studies in plant anatomy. New Phytol. 21, 3 (1922).
- RENNER, O., Versuche zur Bestimmung des Filtrationswiderstandes der Wurzeln. Jahrb. wiss. Bot. 70, 805 (1929).
- RUFZ DE LAVISON, J. DE, Recherches sur la pénétration des sels dans le protoplasme et sur la nature de leur action toxique. Ann. d. sciences nat. 9 sér. Bot. 14, 97 (1911).
- SCHMIDT, O., Die Mineralstoffaufnahme der Pflanzen als Funktion einer Wechselbeziehung zwischen inneren und äusseren Faktoren. Zeitschr. f. Bot. 30 (1936).
- SIERP, H. und A. BREWIG, Quantitative Untersuchungen über die Wasserabsorptionszone der Wurzeln. Jahrb. wiss. Bot. 83, 99 (1936).
- WISSELINGH, C. VAN, Beitrag zur Kenntnis der inneren Endodermis. Planta 2, 27 (1926).
- WRIGHT, K. E., Transpiration and the absorption of mineral salts. Plant Physiol. 14, 171 (1939).