

# Toepassing van radioactieve isotopen in het onderzoek over plantevoeding

L. K. WIERSUM

*Instituut voor Bodemvruchtbaarheid, Haren (Gr.)*

# Toepassing van radioactieve isotopen in het onderzoek over plantevoeding

L. K. WIERSUM

Instituut voor Bodemvruchtbaarheid, Haren (Gr.)

Nadat ruim 40 jaar geleden voor het eerst een onderzoek met door radioactiviteit gemerkte stof werd verricht, heeft deze techniek een enorme vlucht genomen. Men leeft niet meer in illusies over te verwachten wonderbaarlijke mogelijkheden, maar de methode heeft zich een vaste en onmisbare plaats veroverd in vrijwel elk laboratorium. Desondanks heeft deze methode voor het grote publiek nog steeds wat geheimzinnigs en is men er enigszins bevreesd voor. Het hoe en waarom van de toepassing blijft voor velen onduidelijk.

## Isotoop en radioactiviteit

De techniek van de toepassing van radioactieve isotopen maakt gebruik van het feit dat in de chemie gebleken is, dat van de elementen modificaties bestaan. Deze modificaties hebben chemisch gelijke eigenschappen, hetgeen te danken is aan een identieke samenstelling van de zwerm electronen om de atoomkern. De samenstelling van de atoomkernen verschilt in het aantal neutronen, die ze bevatten, en hiermede gaat een verschil in atoomgewicht gepaard (fig. 1). De samenstelling van de kern, die uit protonen en neutronen bestaat, kan nu in sommige gevallen zodanig zijn, dat deze instabiel is. Is dit het geval, dan zal deze kern op een zeker moment plotseling een verandering ondergaan naar een stabiele toestand. Deze verandering, die steeds met een of andere vorm van straling gepaard gaat, is de oorzaak van de radioactiviteit. Veelal verandert met de atoomkern ook het aantal electronen in de zwerm en gaat het radioactieve element over in een stabiel ander element.

De straling, die bij deze verandering optreedt, kan van drieërlei aard zijn. De  $\alpha$ -deeltjes, bestaande uit heliumkernen, hebben maar een zeer geringe reikwijdte, doch werken sterk ioniserend.

\* Dr. L. K. Wiersum, plantefysioloog, studeerde van 1932 tot 1940 aan de Rijksuniversiteit te Groningen. In 1947 promoveerde hij op het proefschrift 'Transfer of solutes across the young root'. Na o.m. een periode van zeven jaar in Indonesië (APL en CPV) is hij sinds 1955 als fysioloog verbonden aan het Instituut voor Bodemvruchtbaarheid te Haren.

De  $\beta$ -deeltjes, meestal negatief geladen electronen, worden met zo'n hoge energie uitgestoten, dat ze een zeer aanzienlijk doordringend vermogen kunnen hebben. Het aantal veroorzaakte ionisaties per eenheid afgelegde weg is veel geringer. De  $\gamma$ -straling is nauw verwant aan de röntgenstraling, maar nog korter van golflengte en zeer energierijk. Deze straling is het meest doordringend en het minst ioniserend.

Het aantonen van de straling berust in de meeste gevallen op de waarneming van de veroorzaakte ionisatie.

Wil men een radioactief element als 'merk' gebruiken, dan moet men er zeker van zijn, dat het zich overigens geheel identiek gedraagt aan de niet-radioactieve stof. Dit is als regel wel het geval. Slechts bij de isotopen van de zeer lichte atomen komen verschillen te voorschijn tengevolge van het relatief grote verschil in atoommassa, bijv. H = 1 en tritium = 3.

Het voordeel van het gebruik van isotopen berust op het feit dat ze hun aanwezigheid door straling verraden. Zo kan men langs deze weg het gedrag van een op zeker moment toegevoegde portie van een of ander element nauwkeurig volgen. Het blijft zich van de reeds aanwezige, niet radioactieve, hoeveelheid onderscheiden. Zo kan men dus het transport zeer nauwkeurig volgen en is de lokalisatie gemakkelijk vast te stellen.

Een prettige omstandigheid is dat de apparatuur voor het aantonen van straling bijzonder gevoe-

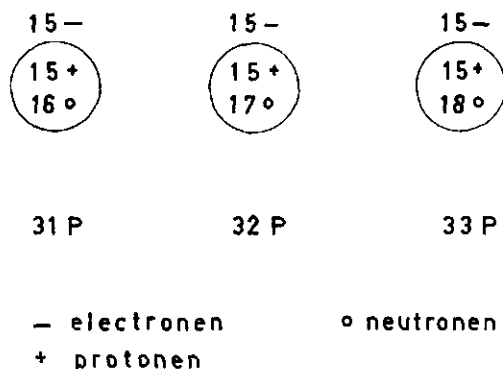


Fig. 1 Drie isotopen van fosfor, alleen de kern van  $^{31}P$  is stabiel

lig is, zodat uiterst geringe hoeveelheden stof waarneembaar zijn.

Van belang is voorts dat men met eenzelfde apparatuur vele elementen kan bepalen. Immers, detectie en meting berusten steeds op meting van een der drie soorten straling.

Een groot voordeel kan ook zijn dat de serie handelingen, nodig voor een analyse, bekort kan worden. Soms kan men een meting al direct uitvoeren aan een pil of poeder van het gedroogde materiaal. Veel gebruikelijker is de meting aan een oplossing na verassing of natte destructie van het materiaal. Van storingen door andere elementen heeft men geen last. Zelfs kan men gemakkelijk twee of meer isotopen naast elkaar aantonen, omdat de soort of de energie van de straling kenmerkend is voor het isotoop.

Een aantrekkelijk voordeel van het gebruik van isotopen is dat het niet-destructief onderzoek toelaat. In vele gevallen dringt de straling zover door dat detectie en meting van buiten af mogelijk is. Doordat monsterneming dan overbodig is, kan men aan intacte objecten een proces vervolgen.

#### Toepassingen in het onderzoek

Hierna worden de voordelen nader toegelicht.

1. De voorziening van de plant met fosfaat wordt nog steeds intensief bestudeerd. Wil men met kleine organismen, kleine monsters of met een korte proefduur werken, dan is een gevoelige bepalingsmethode vereist. De gebruikelijke chemische methoden zijn in staat  $10^{-6}$ — $10^{-10}$  g aan te tonen. Met behulp van stralingsmeting met een Geiger-Müller-teller kan men nog ongeveer  $10^{-16}$  g aantonen. Gebruikt men autoradiografie, dan gaat de gevoeligheid tot  $1,5 \times 10^{-16}$  g P/mm<sup>2</sup>. Vele stoffen kan men in hoeveelheden van 0,01  $\gamma$  gemakkelijk meten.

2. Het gebruik van isotopen maakt het ook mogelijk onderscheid te maken tussen wat er reeds was en hetgeen later werd toegevoegd. Indien in een korte spanne tijds de hoeveelheid opgenomen voedingsstof zeer gering is t.o.v. hetgeen reeds in het organisme aanwezig was, dan is op grond van de variabiliteit in het materiaal en de proeven deze opnemingsmethode moeilijk statistisch betrouwbaar aan te tonen. Bevat het organisme echter het aangeboden radioactieve element, dan staat absorptie onomstotelijk vast. Bij de interpretatie dient men echter wel rekening te houden met de mogelijkheid van uitwisseling.

Deze voordelen hebben we zelf toegepast in een onderzoek over de invloed van het vochtgehalte van het milieu op de snelheid van opnemingsstof door de wortel. Het was nu mogelijk met een twintigtal stukjes afgesneden wortel van 6 cm



Fig. 2 Afgesneden tuinboonworteltjes (6 cm lang) voor proeven over de invloed van het watergehalte van grond op de snelheid van mineraalopnemings

en minder dan 1 mm dik proeven uit te voeren (fig. 2). Waterverplaatsing in de grond, veroorzaakt door verdamping uit de bovengrondse delen, was zodoende als storende factor geëlimineerd. Geconcludeerd kon worden, dat als gevolg van de betere condities voor diffusie een hoger watergehalte in de grond de opnemingsstof begunstigt (Wiersum, 1958).

3. Lang heeft men de opnemingsstof door de plant als een zuiver eenzijdig gericht proces gezien, al waren er wel aanwijzingen dat er soms verliezen optraden. Stelt men een plant een tijdlang een radioactieve voedingsstof ter beschikking en zet men de plant daarna weer in een milieu met hetzelfde element in niet-actieve vorm dan gaan groei en absorptie door. Het blijkt dat het milieu dan radioactief wordt door een uitwisselingsproces. Opnemingsstof is dus de resultante van een overwegende opnemingsstof minus een kleine afgifte; een dynamisch evenwicht.

Dit heeft een onderzoeker parten gespeeld, die meende een afzonderlijke grasplant te kunnen merken door deze enige tijd radioactieve fosfor te laten opnemen. Bij een verdere groei in een gesloten bestand zouden uitlopers van deze plant tussen die van anderen dan zijn te herkennen. Doch de omringende planten bleken ook in een zwakke mate radioactief te worden, doordat <sup>32</sup>P uit de gemerkte plant in de grond overging en dan weer werd opgenomen.

4. De vraag welk gedeelte van een toegevoegde meststof de plant ter beschikking komt, was vroeger eigenlijk niet precies te beantwoorden. Het was immers te verwachten dat de sterkere ont-

wikkeling van het wortelstelsel als gevolg van betere voeding tevens een hoger verbruik van de bodemvoorraad zou meebrengen. Nu men in staat is de meststof met radioactiviteit te merken, is de vraag eenvoudig op te lossen. Vindt men bijv. 60 % van de radioactiviteit die in totaal werd gegeven, in het gewas terug, dan moet men aannemen dat van het niet-radioactieve gedeelte van de meststof ook 60 % is opgenomen.

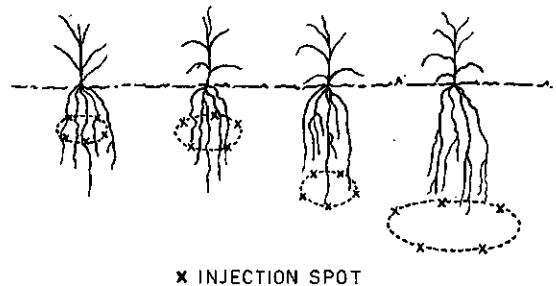
5. De vraag of bij de toegenomen bacteriële activiteit in de grond na toediening van verse organische stof ook een versnelde afbraak van de reeds aanwezige 'stabiele humus' optreedt, is moeilijk te beantwoorden. Nu men echter in staat is met radioactief  $^{14}\text{C}$  gemerkte, stabiele humus te werken of met gemerkt organisch materiaal kan men met zekerheid vaststellen uit welke fractie de gevormde  $\text{CO}_2$  afkomstig is.

6. Zeer veel wordt ook de zgn. verdunningsmethode toegepast. Hierbij voegt men een hoeveelheid radioactieve stof toe aan een onbekende hoeveelheid vloeistof of aan een onbekende voorraad van dezelfde stof. Wel moet dan vaststaan, dat een volkomen menging of homogenisatie optreedt in niet te lange tijd. Men neemt dan een monster van bekende grootte en bepaalt de hoeveelheid activiteit erin en eventueel ook de hoeveelheid niet-radioactieve stof. Het gevraagde totaal volume of de onbekende voorraad is:

$$\frac{\text{toegediende activiteit}}{\text{activiteit in het monster}} \times \text{de hoeveelheid in het monster}$$

De bepaling van de hoeveelheid voedingsstof in de grond die voor de plant beschikbaar is, is nauwelijks op een juiste manier te realiseren. We mogen echter aannemen dat de plant in eerste instantie alleen datgene kan opnemen wat in uitwisselingsevenwicht is met de bodemoplossing. Dit sluit dus o.a. de voorraad geadsorbeerde ionen in. Deze voorraad leent zich om met de isotoopverdunningsmethode gemeten te worden. Dit kan eenvoudig en snel. Deze 'E-waarde' kan bepaald worden door aan een suspensie met grond in water een bekende hoeveelheid radioactief fosfaat, sulfaat of calcium toe te voegen. In een monster van de vloeistof meet men dan de totale hoeveelheid ionen en de activiteit. Een berekening volgens bovenstaande formule geeft dan de E-waarde. Men kan ook iets anders te werk gaan. Dan mengt men de grond met een radioactiviteit bevattende meststof. Hierin worden planten gekweekt, die men later analyseert op hoeveelheid en activiteit van het betrokken element. Op basis van het bovenstaande principe berekent men dan de zgn. L-waarde, wederom aangevende hoeveel van de betreffende voedingsstof voor de plant beschikbaar was.

7. Het onderzoek naar de uitbreiding, diepgang en dichtheid van een wortelstelsel gaat steeds gepaard met een vernietiging van althans een deel van het object. Immers, het onderzoek is te velde alleen te verrichten in de wand van een profielkuil of met behulp van vrij grote boormonsters. Met behulp van enkele isotopen is niet-destructief onderzoek mogelijk. Om een aantal planten heen injecteert men in cirkelvormige patronen van uiteenlopende diameter en op verschillende diepten een aantal doses van bijv. radioactief fosfaat. Uit het al of niet radioactief worden van de plant kan men concluderen of de wortels zich uitstrekken tot aan de plaats van injectie (fig. 3) en de mate van radioactiviteit kan een graadmeter zijn voor de wortelactiviteit ter plaatse. Zo bleek in een bepaald profiel 1,7 % van de wortels op 60—80 cm diepte voor te komen. Deze wortels namen 9,2 % van de totale P-absorptie voor hun rekening in dit geval (Van Lieshout, 1960).



× INJECTION SPOT

Fig. 3 Een voorbeeld van een aantal injectiepatronen. Als de plant radioactief is geworden hebben de wortels de injectieplaatsen van het betreffende patroon bereikt

8. Voor het transport-onderzoek zijn de radioactieve isotopen een uniek hulpmiddel geworden. Gevoeligheid van detectie, lokalisatie en metingen van buiten het systeem bieden vele voordelen.

Het volgen van de waterbeweging in de grond — vooral in de fijnste details — is zeer lastig. Men heeft al lang kleurstoffen of bepaalde ionen als markeerders trachten te gebruiken. Deze lijden echter allen aan het bezwaar dat ze in meer of mindere mate interacties, bijv. adsorptie, met de grond ondergaan. Nu bestaat de mogelijkheid om het water zelf te merken door er tritiumoxyde ( $^3\text{H}_2\text{O}$ ) aan toe te voegen.

9. In vele deltagebieden is het van belang goed geïnformeerd te zijn over het transport en de bewegingen van het door de rivier aangevoerde slib. Door De Groot (1966) kon gebruik gemaakt worden van de aanzienlijke verschillen in het mangaangehalte van slib van Maas, Rijn, Eems, Wezer en Elbe. Van afgezet slib kon dus de herkomst worden aangegeven. Voor het nagaan van trans-



Fig. 4 De witte zone om de wortel duidt het verdwijnen van het radioactieve rubidium vlak om de wortel heen aan. De donkere strepen wijzen op accumulatie in de zeer jonge worteltjes

portbanen binnen één delta is men er nu toe overgegaan kobalt aan het slib te binden. Na bestraling wordt dit gebonden kobalt radioactief en kan dan in uiterst geringe hoeveelheden worden aangetoond.

10. Voor lokalisatie-problemen in een plat vlak kan men vaak zeer elegant gebruik maken van autoradiografie. Men legt dan een röntgenfilm gedurende enige tijd tegen het vlak, om na ontwikkeling na te gaan, waar als gevolg van straling

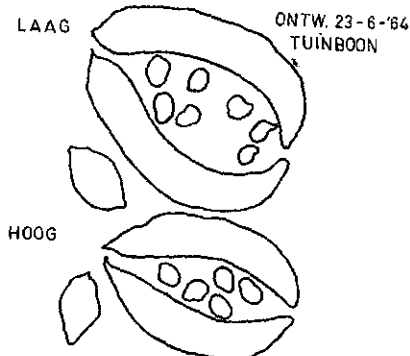


Fig. 5 Autoradiografie van twee peulen van een tuinboon. De tussen de vruchtwanden in liggende zaden geven geen zwarting

zwarting is opgetreden. Mengt men een grond homogeen met radioactief rubidium — een vervanger van kalium — en laat men er dan een plant op groeien, dan blijkt dat in hoofdzaak rubidium onttrokken wordt aan een dun laagje grond van 1—2 mm dikte om de wortels heen (fig. 4). Nog extremer is de situatie bij de onttrekking van fosfaat, zodat bij een gewas te velde een zeer groot deel van het bruto doorwortelde profiel niet in de fosfaatvoorziening meedoet. Met behulp van dezelfde techniek kon worden aangetoond, dat bij de tomataplant het in de voedingsoplossing gegeven calcium in alle delen van de plant terecht komt, uitgezonderd de sterk groeiende vruchten.

Voor zaden van de tuinboon werd eveneens aangetoond dat deze in eerste instantie geen calcium aangevoerd krijgen via de houtvaten (fig. 5).

Voor de appel werd min of meer hetzelfde aangetoond. Het zeer lage calciumgehalte van tomaat en appel, wat in extreme gevallen aanleiding geeft tot resp. neusrot en stip, is nu beter te begrijpen (Wiersum, 1966).

Bij deze voorbeelden willen we het laten, ofschoon vele toepassingen niet zijn genoemd. Vooral in de biochemie, waar men nu bepaalde elementen in het stofwisselingsproces kan volgen, heeft de toepassing van isotopen een grote vlucht genomen.

Gebruik van radioactieve isotopen is terecht aan stringente wettelijke voorschriften gebonden. Maar daarmee is nu de veiligheid van de werker en van zijn omgeving stellig verzekerd.

### Samenvatting

Na een korte bespreking van hetgeen onder radioactiviteit wordt verstaan, worden de voordelen van de toepassing aangeduid. Deze voordelen bestaan o.m. uit de mogelijkheid uiterst geringe hoeveelheden goed te bepalen, en uit de mogelijk-

heid een onderscheid te maken tussen toegevoegde en aanwezige stof.

Van dergelijke voordelen wordt gebruik gemaakt bij bepaling van de benutting van meststoffen of bij bepaling van in de grond beschikbare hoeveelheden voedingsstof.

Bij het wortelonderzoek kan nu een niet-destructieve methode benut worden. Slibbewegingen kunnen vervolgd worden met behulp van kobalt. Autoradiografie bood o.m. de mogelijkheid de verdeling van Ca over de plant nader te onderzoeken.

### Summary

#### *Application of radioisotopes in plant-nutrition research*

The principles of radioactivity and the advantages of its application are discussed. In a number of examples these advantages are illustrated.

The detection of minute quantities makes it possible to use small samples. Another advantage is the discrimination made possible between what was present and what has been added. So the percent utilization of fertilizer can be exactly measured. Determination of the available stock of nutrient is elucidated. The advantage of non-destructive research for root research is described.

Another large field of application of radioactive substances is in transport research. As examples the use of cobalt in tracing silt movement and of autoradiography in following calcium transport to apples, tomatoes and broad-bean fruits are enumerated.

### Literatuur

- De toepassing van atoomenergie in de landbouw. *Landbouwk. Tijdschr.* 70 (1958) 241—376.
- Comar, C. L.: *Radioisotopes in biology and agriculture; principles and practice.* New York 1955, 481 pp.
- Groot, A. J. de: *Mobility of trace elements in deltas.* Trans. Comm. II & IV, Int. Soc. Soil Sci., Aberdeen 1966, 267—279.
- Lieshout, L. W. van: *Invloed van het bodemmilieu op ontwikkeling en activiteit van het wortelstelsel.* Diss. Wageningen, 1960, 91 pp. Ook gepubliceerd als *Versl. Landbouwk. Onderz.* 66.18 (1960) 91 pp.
- Wiersum, L. K.: *Velocity of nutrient uptake by excised roots as governed by the soil solution.* Trans. Comm. II & IV, Int. Soc. Soil Sci., Hamburg 1958, vol. 2, 169—174.
- Wiersum, L. K.: *Calcium content of fruits and storage tissues in relation to the mode of water supply.* *Acta Bot. Neerl.* 15 (1966) 406—419.
- Wiersum, L. K.: *Root-system development.* In: *Soil-moisture and irrigation studies.* Proc. Panel FAO/IAEA, Vienna, 1966. IAEA, Vienna 1967, pp. 83—95.