

631.81.031
631.81.037
539.16

SEPARAAT
No. 16400

Ionenopname en -transport

INSTITUUT VOOR
BODEMVRUCHTBAARHEID
van Hallstraat 3 - GRONINGEN

L. K. WIERSUM
Instituut voor
Bodemvruchtbaarheid, Groningen

1 INLEIDING

Sinds \pm 1940, toen vrijwel voor het eerst van isotopen gebruik werd gemaakt in het onderzoek naar opname, afgifte en transport van ionen, is het gebruik van „tracers” als hulpmiddel in het onderzoek steeds algemener geworden. Hoewel met behulp van gemerkte atomen een paar tot nog toe onbekende processen aangetoond konden worden, worden de isotopen toch veelal toegepast om de analyses te vergemakkelijken, daar ze in uiterst geringe concentratie vlug en goed zijn aan te tonen. Zo is met behulp van een Geiger-teller nog $\pm 10^{-16}$ g stof aan te tonen, terwijl dit met andere methoden hoogstens 10^{-6} tot 10^{-10} is.

De vraag of de toepassing van isotopen geoorloofd is, vooral in verband met mogelijke schadelijke effecten als gevolg van de uitgezonden straling, zal men vaak bevestigend kunnen beantwoorden. Daar men als regel met vrij lage dosering en geringe specifieke activiteit kan werken en vele proeven niet lang duren, hoeft men geen beschadigingen te vrezen. Is dit niet het geval, dan kunnen wel degelijk storingen door stralingseffecten optreden, vooral daar vele ionen in bepaalde weefsels of cel-elementen geconcentreerd worden. Bij elementen met een zeer laag atoomgewicht moet men nog rekening houden met de mogelijkheid dat het isotoop in fysisch opzicht toch relatief nog zoveel met het inactieve element verschilt, dat er verschil in gedrag merkbaar is (7, 11, 29, 31, 34).

Om in kort bestek een idee te geven van de toepassingsmogelijkheden van isotopen en de ermee bereikte resultaten op dit gebied zal een kleine keus gedaan moeten worden uit een zeer grote literatuur. Gestreefd is dit te doen door een aantal van de belangrijkste processen, die een rol spelen bij de opname van mineralen uit de grond en het transport ervan in de plant, te bespreken.

2 ENKELE TOEPASSINGSMOGELIJKHEDEN VAN ISOTOPEN BIJ DE BESTUDERING VAN IONENOPNAME EN -TRANSPORT

Om te beginnen kan de vraag gesteld worden tot hoe ver een wortelstelsel zich in de grond uitstrekt. Wil men de plant intact en de bodem ongestoord laten, dan kan men de uitgebreidheid van een wortelstelsel nagaan door om de plant heen in een bepaald patroon pleksgewijs op verschillende diepten kleine hoeveelheden isotoop, b.v. een gemerkt fosfaat dat P^{32} bevat, te inji-

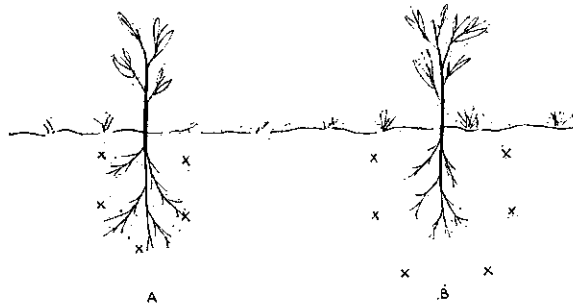


FIG. 1 TWEE PLANTEN MET EEN PATROON VAN GEÏNJECTEERDE TRACERS OP VERSCHILLENDE AFSTAND VAN DE STENGELVOET. Bij A zijn de injectiepunten bereikt en zal de plant reeds radioactiviteit vertonen. In geval B is in de plant nog geen straling aantoonbaar, daar de wortels de toegediende tracers nog niet bereikt hebben.

ciëren (fig. 1). Zodra men in de bovengrondse delen de aanwezigheid van de tracer bespeurt weet men, dat een deel der wortels althans één der injectiepunten heeft bereikt (21, 28).

Een steeds moeilijk te beantwoorden vraag is in hoeverre het gehele wortelstelsel werkelijk aan de opname van ionen deelneemt, vooral als te velde in de doorwortelde zone sterke milieuverschillen optreden, b.v. droge lagen, ongelijke verdeling der voedingsstoffen, plaatselijke verdichting of CO_2 -overmaat enz. Ook in deze gevallen kan men ertoe overgaan lokaal een hoeveelheid isotoop in te brengen om dan na te gaan of dit isotoop daarna in de bovengrondse delen is aan te tonen. Is dit het geval, dan heeft men de absolute zekerheid, dat een bepaald ion van een nauwkeurig bekende plek afkomstig is en dat de zich aldaar bevindende wortels tot de voeding der plant bijdragen. Zo is nogmaals komen vast te staan dat de dieper gaande wortels behalve voor de watervoorziening wel degelijk ook voor de absorptie van mineralen een betekenis hebben (24, 30).

Met behulp van berekeningen der specifieke activiteit in de plek van toediening en in de plant kan men zelfs de bijdrage van in dit gebied voorkomende wortels aan de totale voeding van de gehele plant bepalen (fig. 2). Op dezelfde wijze is het nu mogelijk geworden na te gaan welk deel der in de plant opgenomen zouten uit de toegediende meststof afkomstig is en welk deel ervan onttrokken is aan de reeds tevoren aanwezige voorraad in de bodem (17, 27).

Bij het proces van opname en accumulatie der ionen kunnen we een aantal opeenvolgende stadia onderscheiden. De eerste stap is de overgang van de ionen uit het milieu in het wortelweefsel, hetzij door diffusie, hetzij door ionenuitwisseling. Hierbij gelden fysisch-chemische wetmatigheden en een energielevering door de plant is niet nodig. Pas daarna komen de ionen rechtstreeks onder invloed van de levensprocessen in de cel en treedt een vervoer op naar binnen toe de cel in of een doorvoer naar het xyleem, waarbij door de plant geleverde energie verbruikt wordt, de actieve fase van het proces. Toch is in zekere mate een geheel passieve opname mogelijk doordat ionen meegesleept worden met de transpiratiestroom.

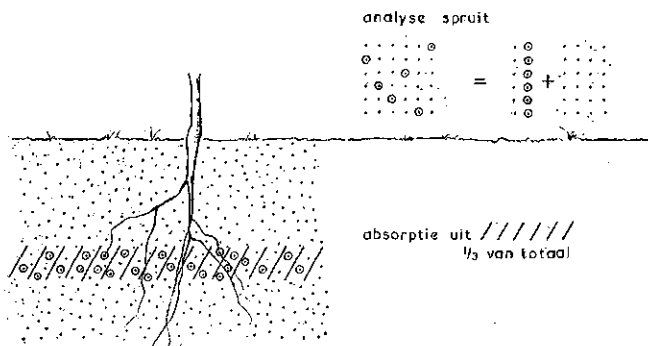


FIG. 2 PRINCIPES VAN DE METHODE OM DE BENUTTING VAN EEN BEPAALDE LAAG (EVENTUEEL MESTSTOF) NA TE GAAN. In de gearceerde laag is de verhouding actieve tot niet-radioactieve deeltjes van een stof $3 \times$ zo hoog als in de plant. De hoeveelheid uit deze laag opgenomen ionen moet dus verdund zijn met de opname van tweemaal zoveel ionen uit de overige grondlagen.

De hoeveelheid direct met het worteloppervlak in aanraking zijnde zouten is maar gering en soms spoedig verbruikt. Nalevering van buiten de rizosfeer is dan noodzakelijk, of ontsluiting van nieuwe voorraad door groei en verdere vertakking der wortels. Men mag verwachten dat de in de bodem aanwezige hoeveelheid vocht van invloed is op de beweeglijkheid der in oplossing aanwezige ionen en dus op de aanvoersnelheid. Daarnaast zou men kunnen veronderstellen, dat in een drogere grond eventueel de levensprocessen in de wortel veranderingen ondergaan. Daar isotopen in zulk een geringe hoeveelheid meetbaar zijn, kunnen ze hier het onderzoek zeer vereenvoudigen. Zo is het werken met kleine hoeveelheden afgesneden wortels onder geheel constante pF-waarden mogelijk. Indicaties zijn verkregen dat binnen zekere grenzen een toeneming van de hoeveelheid vocht in de grond de opname bevordert (fig. 3), (15, 17, 25).

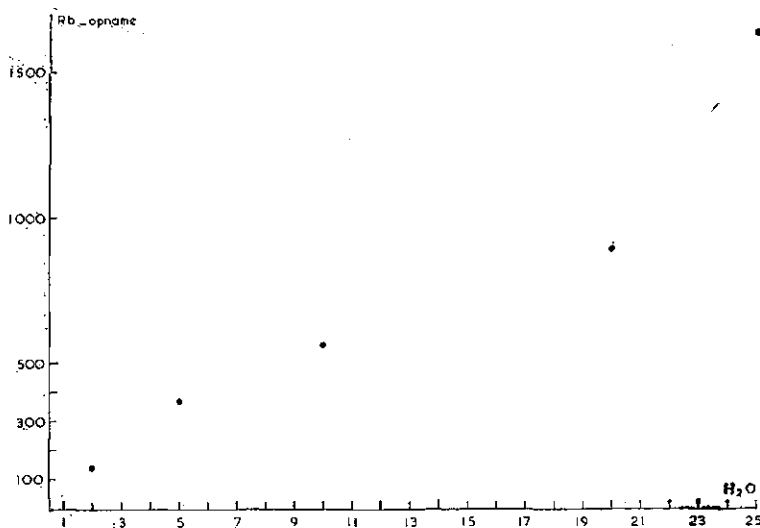


FIG. 3 DE TOENEMING VAN Rb-ABSORPTIE BIJ STIJGEND VOCHTGEHALTE. 25 afgesneden *Vicia-faba*-wortels in 100 g fijn glaszand waaraan steeds $1,7 \mu$ C Rb⁸⁶ is toegevoegd en 1, 2, 5, 10, 20 of 25 ml water.

Al is het wortelweefsel in principe wel permeabel, zodat ionen zowel naar buiten als naar binnen kunnen diffunderen volgens het gegeven concentratieverval, toch wordt het grootste deel der ionen eerst door adsorptie gebonden. Bij de bestudering van de bij dit adsorptieproces plaatsvindende uitwisseling van ionen zijn de isotopen een onmisbaar hulpmiddel gebleken, omdat men nu het gedrag van afzonderlijke ionen kan nagaan.

Zo kan men b.v. bij dit onderzoek het wortelstelsel van een plant een tijdlang radioactieve zouten laten opnemen. Brengt men het wortelstelsel daarna in een normale voedingsoplossing na het geheel eerst grondig te hebben afgespoeld, dan zal de opname van zouten rustig voortgezet kunnen worden. Het blijkt dan dat de voedingsoplossing na enige tijd toch in zekere mate radioactief wordt. Er wisselen dus blijkbaar ionen uit. Nader onderzoek bracht aan het licht dat de adsorptiebinding nog van tweeërlei aard kan zijn, nl. zodanig dat uitwisseling tegen andere ionen mogelijk is, of dat alleen uitwisseling tegen andere ionen van dezelfde soort of chemisch zeer naverwante mogelijk is (fig. 4), (23).

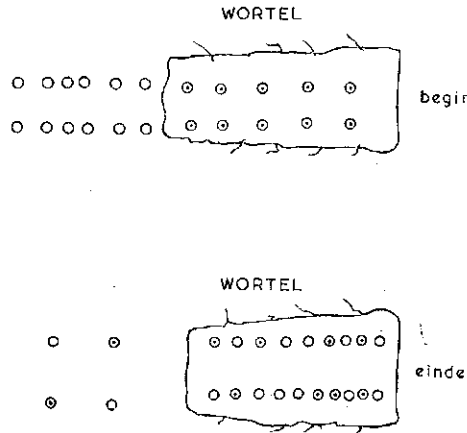


FIG. 4 IONEN-ABSORPTIE ALS DYNAMISCH EVENWICHT. Een radioactieve ionen bevattende wortel geplaatst in een voedingsoplossing zal doorgaan dezelfde ionen te accumuleren, doch als gevolg van gelijktijdige uitwisseling of een gelijktijdig weglekken wordt ook het milieu radioactief.

- niet radioactieve ionen.
- ⊙ radioactieve ionen.

Het specifieke adsorptievermogen van het wortelstelsel is gebleken mede een factor te zijn, die de minerale samenstelling der plant bepaalt en zijn vermogen om bepaalde ionen meer of minder gemakkelijk op te nemen. Voor de bepaling ervan kan men ook met vrucht van isotopen gebruik maken (20).

Daar de concentratie van zouten in het wortelweefsel hoger is dan in het milieu, moet er door de plant een verplaatsing van ionen tegen de diffusiedrang in tot stand zijn gebracht. Dit proces der actieve opname vereist energie en kan o.m. geremd worden door de ademhaling te blokkeren. De heden ten dage meest aangenomen hypothese ter verklaring ervan neemt aan dat het transport tegen het diffusieverval in geschiedt in gebonden vorm, dus met

behulp van een z.g. „carrier”. Het zal duidelijk zijn dat de beschikking over analysemethoden, die uiterst kleine hoeveelheden stof kunnen aantonen, onderzoek op dit moeilijke gebied vergemakkelijkt. Isotopen bieden dit voordeel en in de toekomst is het misschien mogelijk dat micro-autoradiografie van afzonderlijke cellen ons inzicht nog meer kan verdiepen (18).

Na absorptie door de wortels moeten de voedingsstoffen uit de wortels naar de bovengrondse delen der plant worden vervoerd en daarbij naar behoefte worden gedistribueerd over de verschillende organen.

Was men reeds in principe redelijk ingelicht over de aard van de transportbanen en de vervoersnelheid erin, toch biedt het gebruik van isotopen veel voordelen voor nader onderzoek. Zo zijn o.m. snelheden van 180 cm/uur voor vervoer in de houtvaten en 40 cm/uur voor transport van S in het phloem gemeten. Zeer elegant kan de verdeling der getransporteerde stoffen met behulp van autoradiogrammen worden nagegaan (10, 12, 36, 38, 39).

Het probleem of in de zeefvaten gelijktijdig een transport van twee afzonderlijke stoffen in tegengestelde richting kan plaatshebben kan met behulp van isotopen gemakkelijker onderzocht worden. Hier bestaat de mogelijkheid om 2 isotopen toe te passen, die een verschillende straling uitzenden en dus beide afzonderlijk aan intact materiaal te meten zijn. Inderdaad werden opnieuw aanwijzingen verkregen dat dit kan voorkomen (14).

Bij het onderzoek naar de redistributie der reeds in de plant opgenomen stoffen zijn de isotopen een onmisbaar hulpmiddel geworden. De gemerkte atomen kan men immers in hun bewegingen volgen. Ook kan men nu soms met intacte planten werken (fig. 5). Het is wel gebleken dat de beweeglijkheid van vele minerale elementen in de plant veel groter is dan men dacht. Vooral de verbruikscentra als groeitoppen, jonge vruchten enz. trekken steeds vele stoffen van elders tot zich, die er via het phloem heengevoerd kunnen worden uit andere bovengrondse delen der plant.

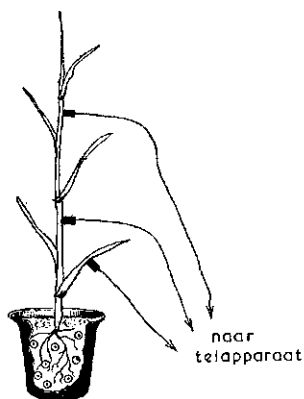


FIG. 5 HET AFTASTEN DER PLANT OP VERSCHILLENDE PLAATSEN. Het doel is de verspreiding van een uit de grond opgenomen radioactieve stof na te gaan.

Deze redistributie, die door licht en donker sterk beïnvloed kan worden, is zelfs zo intensief dat zouten ook weer naar de wortels terugvloeien en dan weer naar het milieu kunnen ontsnappen. Zo is aangetoond dat ionen, die door bepaalde wortels zijn opgenomen, via andere wortels de plant verlieten. Dat er via de planten een migratie van een ion in horizontale richting over enige afstand mogelijk is bleek in proeven waar het planten van een aantal radioactief S bevattende grasplanten tussen andere het gevolg had, dat het gehele bestand radioactiviteit ging vertonen. Redistributie in de plant en ionen-uitwisselingsprocessen spelen hierbij een belangrijke rol. Met andere chemische methoden was dit nooit aantoonbaar geweest (19, 22, 23, 32, 35, 37).

Zo hebben de mogelijkheden die de analyse met behulp van isotopen ons biedt duidelijk ons inzicht verscherpt in het feit, dat de minerale samenstelling van een plant en zijn afzonderlijke delen wel heel sterk het resultaat is van een dynamisch evenwicht tussen opname en afgifte, aanvoer en afvoer.

LITERATUUR

Algemeen

- 1 BIDDULPH, O.: Studies of mineral nutrition by use of tracers. *Bot. Rev.* 21 (1955) 251-295.
- 2 COMAR, C. L.: Radioisotopes in biology and agriculture, 1955.
- 3 GAUCH, H. G.: Mineral nutrition of plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 8 (1957) 31-65.
- 4 KURSANOV, A. L.: The utilization of radioactive isotopes in biology and agriculture in the U.S.S.R. Int. Conf. Peaceful uses Atomic Energy, 1955.
- 5 MATTINGLY, G. E. G.: The use of the isotope ^{32}P in recent work on soil and fertilizer phosphorus. *Soils and Fertilizers* 20 (1957) 59-68.
- 6 STOUT, P. R., R. OVERSTREET, L. JACOBSON AND A. ULRICH: The use of radioactive tracers in plant nutrition studies. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 12 (1947) 91-98.
- 7 TOLBERT, N. E. AND P. B. PEARSON: Atomic energy and the plant sciences. *Adv. Agron.* 4 (1952) 279-305.
- 8 The role of atomic energy in agricultural research. Proc. 4th Ann. Oak Ridge Summer Symp., Aug. 1952, 1953.
- 9 Forschung und Forschungsergebnisse in Agrikulturchemie, Bodenkunde, Pflanzen- und Tierphysiologie. *Ber. a.d. land- und forstwirtschaftlichen Forschung*, 4/4 (1957).

Speciale onderwerpen

- 10 BIDDULPH, O., R. CORY AND S. BIDDULPH: *Plant Physiol.* 31 (1956) 28-34.
- 11 BOULD, C., D. J. D. NICHOLAS AND W. D. E. THOMAS: *Nature* 167 (1951) 140-142.
- 12 BREWER, A. K. AND A. BRAMLEY: *Science* 91 (1940) 269-270.
- 13 BUGHER, J. C., J. COURSAGET AND J. F. LOUITT: Biological Sciences, Progress in nuclear science, 1956.
- 14 CHEN, S. L.: *Am. Journ. Bot.* 38 (1951) 203-211.
- 15 DANIELSON, R. E. AND M. B. RUSSELL: *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 21 (1957) 3-7.
- 16 DEAN, L. A.: U.S. Atomic Energy Comm. TID - 7512 (1956) 53-60.
- 17 - - AND V. H. GLEDHILL: *Soil Sci.* 82 (1956) 71-81.
- 18 EPSTEIN, E.: U.S. Atomic Energy Comm. TID - 7512 (1956) 297-301.
- 19 FRAZIER, J. C., J. F. SCHAFF, R. E. HEIN AND R. H. MCFARLAND: *Bot. Gaz.* 118 (1956) 122-127.
- 20 FRIED, M. AND A. J. MACKENZIE: *Proc. Soil Sci. Soc. Amer.* 14 (1950) 226.
- 21 HALL, N. S., W. F. CHANDLER, C. H. M. VAN BAVEL, P. H. REID AND J. H. ANDERSON: N. Car. Agr. Expt. Sta., Techn. Bull. no. 101, 1953.
- 22 HELDER, R. J. AND J. M. BONGA: *Acta Bot. Neerl.* 5 (1956) 115-121.
- 23 HEVESY, G. AND N. NIELSEN: *Acta Physiol. Scand.* 2 (1941) 347.
- 24 HUNTER, A. S. AND O. J. KELLEY: *Soil Sci.* 62 (1946) 441-451.

- 25 KLUTE, A. AND J. LETEY: *Agron. Abstr.*, Nov. 1956, 4.
- 26 KRAMER, P. J.: U.S. Atomic Energy Comm. TID-7512 (1956) 287-295.
- 27 LESAINI, M. ET G. BARBIER: *Compt. rend. Acad. Sci. Paris* 240 (1955) 2004-2006.
- 28 LIESHOUT, J. W. VAN: In: *De plantenwortel in de landbouw*, 's-Gravenhage, 1955.
- 29 MARTIN, R. P. AND R. SCOTT RUSSELL: *Journ. Expt. Bot.* 1 (1950) 141-158.
- 30 MURDOCK, J. T. AND L. E. ENGELBERT: *Agron. Abstr.*, Nov. 1956, 34.
- 31 OVERSTREET, R. AND T. C. BROYER: *Proc. Nat. Acad. Sci.* 26 (1940) 41.
- 32 REINKEN, G.: *Die Phosphorsäure* 16 (1956) 276-297.
- 33 SCOTT RUSSELL, R.: *The Agric. Rev.* 2/11 (1957) 10-19.
- 34 SHESTAKOV, A. G., G. F. IVANOVA AND N. J. SHMELKOVA: *Izvest. Timiryazev Sel'skokhoz. Akad.* 1 (1955) 165-178.
- 35 TYSZKIEWICS, E. ET G. BARBIER: *Ann. Inst. Nat. Rech. Agron., Sér. A; Ann. Agron.* 6 (1955) 748-750.
- 36 WIEBE, H. H. AND P. J. KRAMER: *Plant Physiol.* 29 (1954) 342-348.
- 37 WILKINSON, J. AND A. J. LINDSEY: *Biochim. et Biophys. Acta* 11 (1953) 453.
- 38 WRIGHT, K. E. AND N. L. BARTON: *Plant Physiol.* 30 (1955) 386-388.
- 39 WYBENGA, J. M.: A contribution to the knowledge of the importance of sodium for plant life. Diss. Wageningen, 1957.

DISCUSSIE

HILLE RIS LAMBERS vraagt: Werd reeds door middel van isotopen onderzocht welke rol cuticulaire excretie en recretie kan spelen? Het is nl. denkbaar dat een door de wortel opgenomen deeltje via de bovengrondse delen de plant verlaat en vervolgens overgaat naar een aangrenzende plant.

INLEIDER: Voor zover hem bekend zijn isotopen gebruikt bij het onderzoek naar uitspoeling van zouten uit het blad door regen, doch nog niet bij het onderzoek van zout-secretie. Met de gedane suggestie moet in proeven te velde zeker rekening worden gehouden, doch in laboratoriumproeven kan men de mogelijkheid van ionenovergang na excretie of recretie wel tegengaan.

DE ZEEUW: Is de snelheidsbepaling van het transport van een bepaalde stof door de plant heen met behulp van gemerkte atomen wel correct, omdat men daarmee de invloed van b.v. fixatie toch eigenlijk annuleert.

INLEIDER: Inderdaad zal fixatie onderweg een rol spelen. Daar tevens ook de eerst arriverende stralende atomen te gering in aantal zijn om te meten, zullen beide oorzaken tot gevolg hebben dat een wat te geringe transportsnelheid gevonden wordt. Onder gunstig gekozen condities hoeft de fout echter niet groot te zijn. Aan het gebruik van andere indicatoren kleeft dezelfde fout.