

Transport und Verteilung von markierten Substanzen III

Einfluss der Fütterungsmethode auf Absorption und Transport von ^{32}P
bei *Phaseolus vulgaris*

Von

R. BACHOFEN

Aus dem Institut für allgemeine Botanik der Universität Zürich
Direktion: Prof. Dr. H. WANNER

Einleitung

Bei Untersuchungen über die Teilnahme von Blättern und Früchten am Stoffkreislauf der Pflanze müssen die betreffenden Organe mit der markierten Substanz versehen, das heisst gefüttert werden können. Für unsere Untersuchungen wünschten wir eine Methode, die sich gleichermassen für die Fütterung von Blättern und Früchten eignet und durch die eine möglichst rasche und vollständige Aufnahme der Tracerlösung durch die Pflanze erreicht wird. Ferner sollte die Methode für Serienversuche geeignet und deshalb einfach und sauber zu handhaben sein.

Arbeiten mit gleicher Problemstellung wurden schon von KOONTZ und BIDDULPH (1957) und TEUBNER, WITWER, LONG und TUKEY (1957) veröffentlicht. Übereinstimmend wird darin gezeigt, dass die Spaltöffnungen für die Salzaufnahme durch Blätter eine untergeordnete Bedeutung haben und dass die durch Ober- und Unterseite des Blattes aufgenommenen markierten Salze von gleicher Grösse sind. Wie wir aber an anderen Versuchen feststellten, dringen Lösungen durch die mit Spaltöffnungen versehene Blattunterseite von *Phaseolus* wesentlich rascher ein als durch deren Oberseite. Salze kristallisieren dabei auf dieser deutlich aus, während auf der Unterseite kaum Spuren von eingetrockneten Stoffen erkennbar sind. Dies schien uns Grund genug, diese Frage mittels Isotopen nochmals zu überprüfen. Im weiteren liessen sich im Zusammenhang mit der Fütterungstechnik Probleme der Wanderung innerhalb des Blattes untersuchen. Neben der Applikation der Tracer-Lösung durch Auftropfen verwendeten wir die Methode der Injektion über Blattzungen, die entweder gegen den Blattstiel oder gegen die Spitze gerichtet waren (vgl. Methodik).

Unsere Untersuchungen wurden von der Atomforschungskommission des Schweizerischen Nationalfonds unterstützt; wir möchten für diese Hilfe bestens dan-

ken. Ferner bin ich auch Frl. L. Somm für die gewissenhafte Durchführung von Analysen zu Dank verpflichtet.

Methodik

Als Versuchspflanze diente *Phaseolus vulgaris* var. *nana* im Alter von 4 Wochen. Zu diesem Zeitpunkt sind neben den Primärblättern 2 Fiederblätter voll entwickelt. Die Fütterung mit ^{32}P erfolgte auf die 4 folgenden Arten:

- a) Auftropfen der Phosphatlösung (isotonisch, pH 7) auf die Blattoberseite;
- b) Auftropfen auf die Blattunterseite;
- c) Mittelrippeninjektion: Durch einen nach der Basis des Blattes offenen U-Schnitt in der Mitte der Spreite des mittleren Fiederblattes wurde eine Zunge der Mittelrippe gebildet, welche in die Lösung tauchte (vgl. Abb. 1);
- d) Mittelrippeninjektion wie c, aber Blattzunge mit nach der Spitze gerichteter offener Seite des U-Schnittes (vgl. Abb. 2).

Bei den letztgenannten Arten der Fütterung tauchte man zur Vermeidung eines passiven Einsaugens von Lösung in die Gefässe als Folge eines im Xylem möglicherweise vorhandenen Unterdruckes die Schnittstelle zuerst 30 Minuten in Wasser und wechselte dieses anschliessend gegen die Tracerlösung aus.

Um sowohl den Transport aus alten wie aus jungen Blättern beobachten zu können, wurde gleichzeitig das Primärblatt und das oberste trifoliolate Blatt gefüttert. Pro Fütterungsstelle gaben wir je $10 \mu\text{C } ^{32}\text{P}$ zu. 1, 2, 4, 8, 24, 48 Std. nach der Fütterung ernteten wir die Pflanzen und trockneten sie nach Herausstanzen der Fütterungsstelle zwischen Presspapier im Ofen bei 80°C . Anschliessend erstellten wir Radiographien auf Agfa-Röntgenpapier; die Expositionszeit betrug dabei 6 Tage. Schliesslich wurde ein Teil der Pflanzen nach Aufgliederung in die 5 folgenden Teile verascht: Die bei-

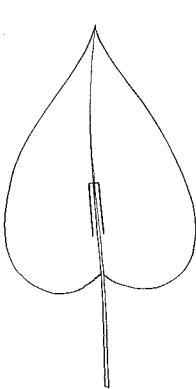


Abb. 1. Schnitt der Blattzunge bei Fütterung c.

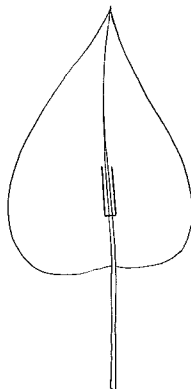


Abb. 2. Schnitt der Blattzunge bei Fütterung d.

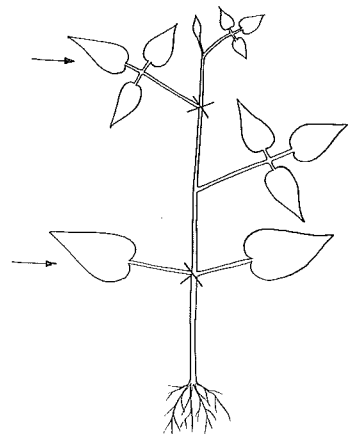


Abb. 3. Aufteilung der Bohnenpflanzen zur quantitativen Bestimmung der Aktivität

den gefütterten Blätter und die übrigen Pflanzenorgane, die oberhalb, zwischen oder unterhalb der beiden Fütterungsstellen lagen (vgl. Abb. 3). Die Aktivität bestimmten wir mittels eines GM-Methan-Durchflusszählers aus der Asche.

Ergebnisse

Wie die Autoradiographien zeigen (Abb. 4—8), findet bei allen Fütterungsarten schon innerhalb einer Stunde eine deutliche Verschiebung der gefütterten Phosphate statt. Besonders ausgeprägt zeigt sich diese bei Fütterung durch die Mittelrippe. Auffallend ist, dass parallel zum Abtransport phosphorhaltiger Stoffe eine rasche und starke Verteilung im Blatt selbst stattfindet. Mit dem Transpirationsstrom wird der aufgenommene Phosphor passiv durch das Xylem nach Peripherie und Spitze des Blattes transportiert. Gleichzeitig findet in den Leitbündeln ein Austausch zwischen Xylem und Phloem statt, was zu einer Verschiebung durch aktiven Transport in Richtung der basalen Blatteile und gegen den Stengel zu führt. Dieser Vorgang ist besonders dort deutlich, wo durch Fütterung über eine gegen die Spitze gerichtete Blattzunge eine direkte Abwanderung unmöglich ist.

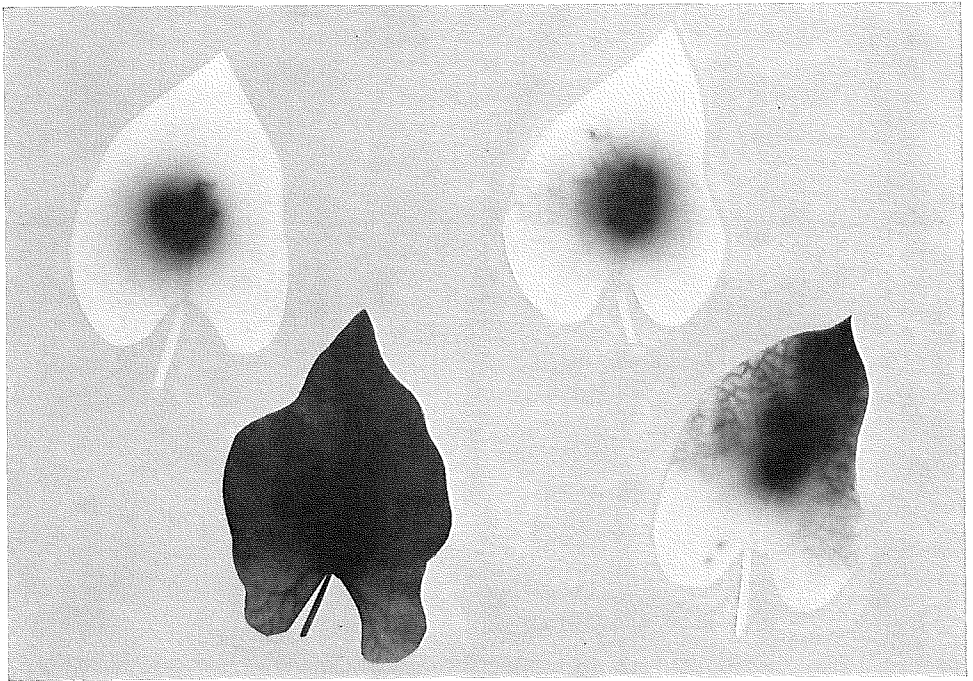


Abb. 4. Autoradiographien von Primärblättern junger Pflanzen nach 1stündiger Fütterung mit ^{32}P : Oben links: Fütterung durch Auftropfen auf die Blattoberseite (a). Oben rechts: Fütterung durch Auftropfen auf die Blattunterseite (b). Unten links: Fütterung über Mittelrippe, diese gegen den Blattstiel offen (c). Unten rechts: Fütterung über Mittelrippe, diese gegen die Blattspitze offen (d).

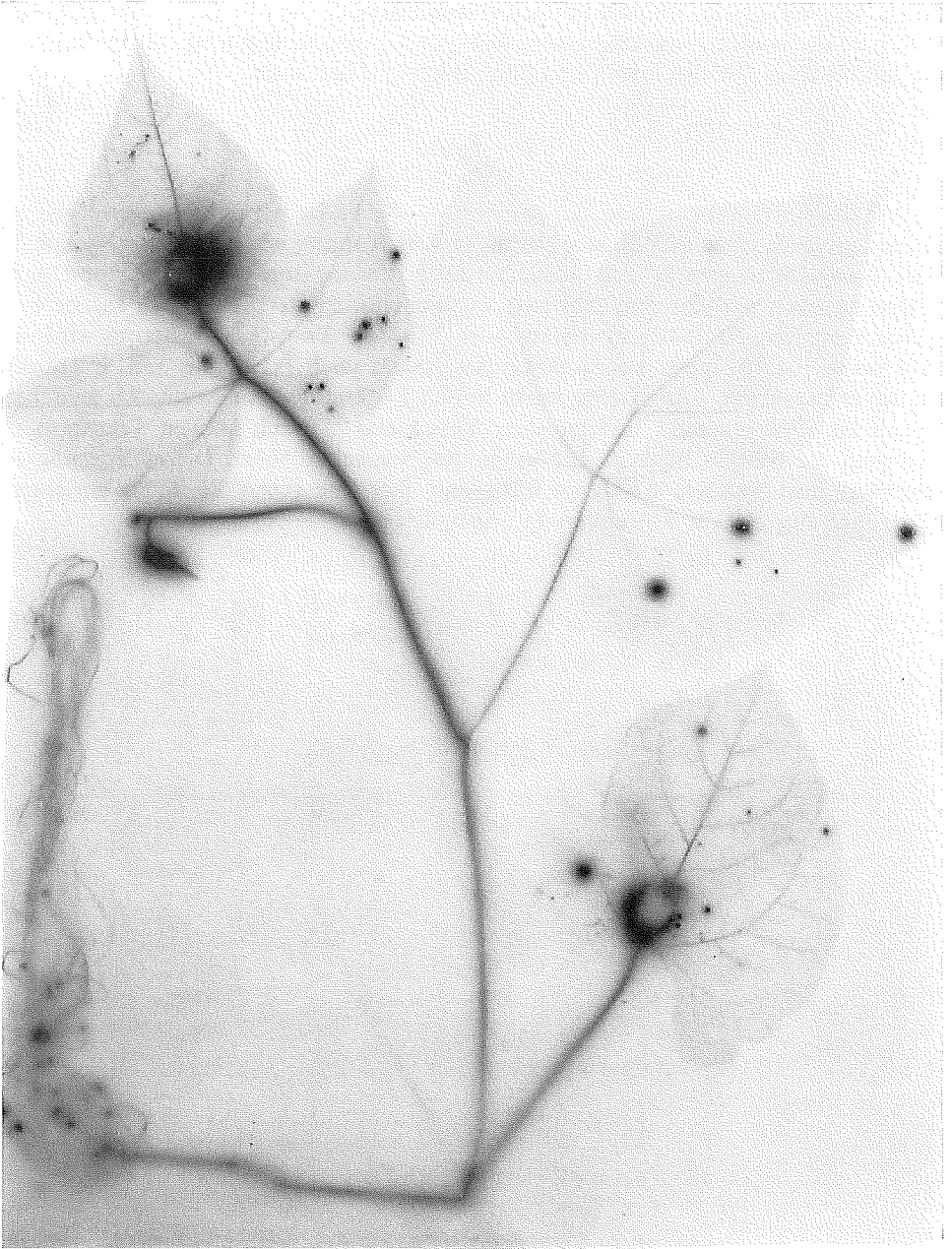


Abb. 5. Autoradiographisches Verteilungsbild von ^{32}P nach 24stündiger Fütterung durch Auftropfen auf die Blattoberseite (a).

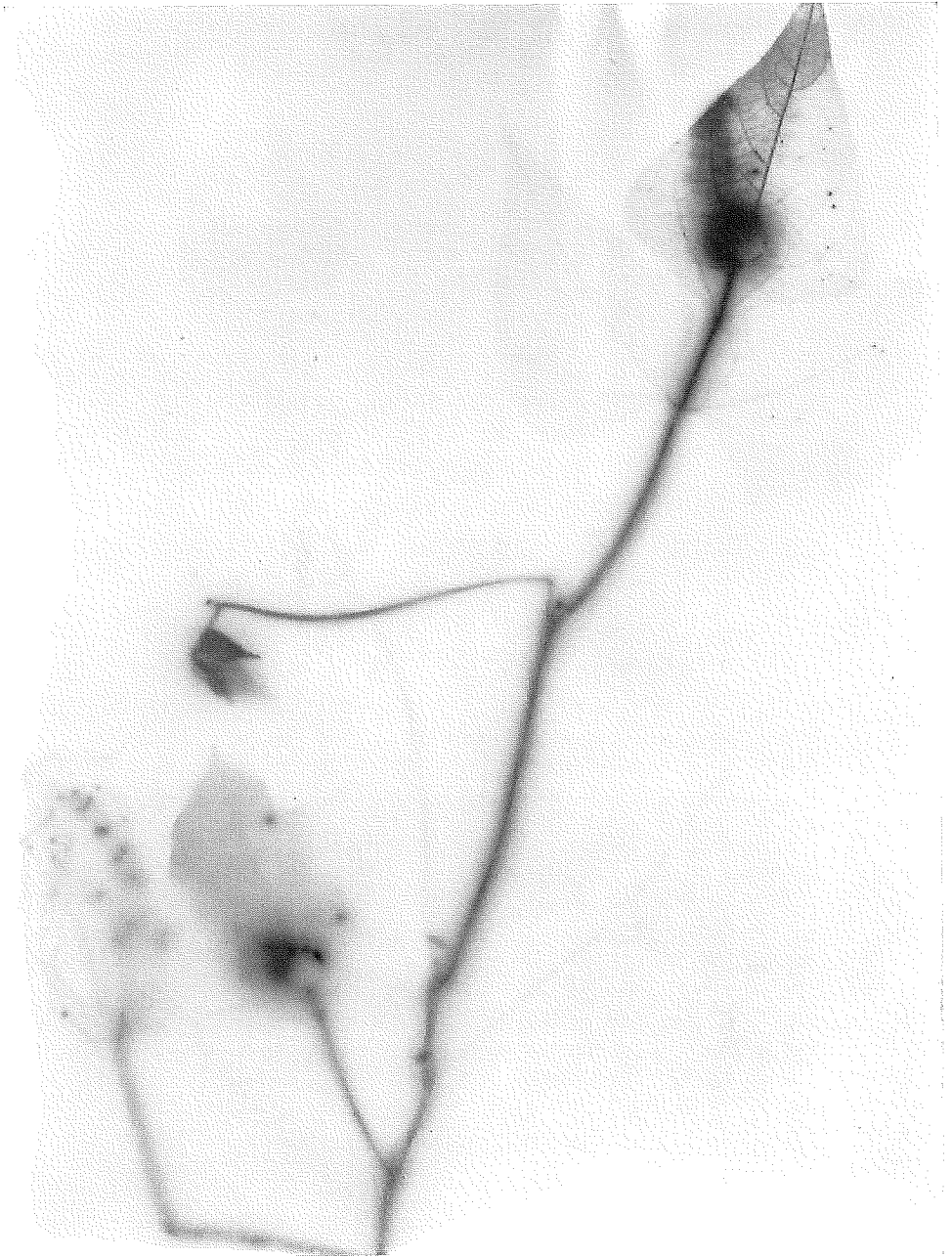


Abb. 6. Autoradiographisches Verteilungsbild von ^{32}P nach 24stündiger Fütterung durch Auftropfen auf die Blattunterseite (b).

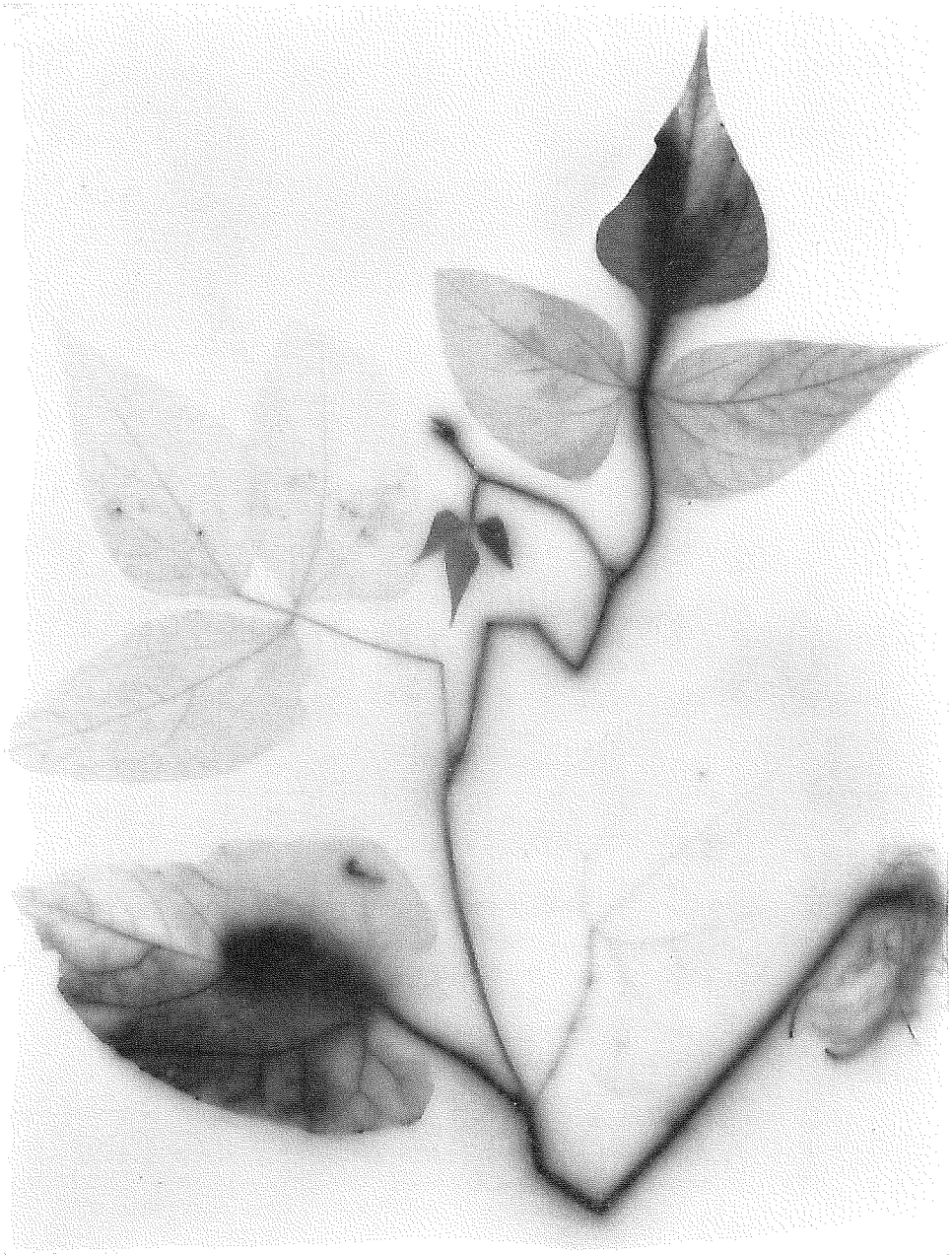


Abb. 7. Autoradiographisches Verteilungsbild von ^{32}P nach 24stündiger Fütterung über Mittelrippe, diese gegen den Blattstiel offen (c).

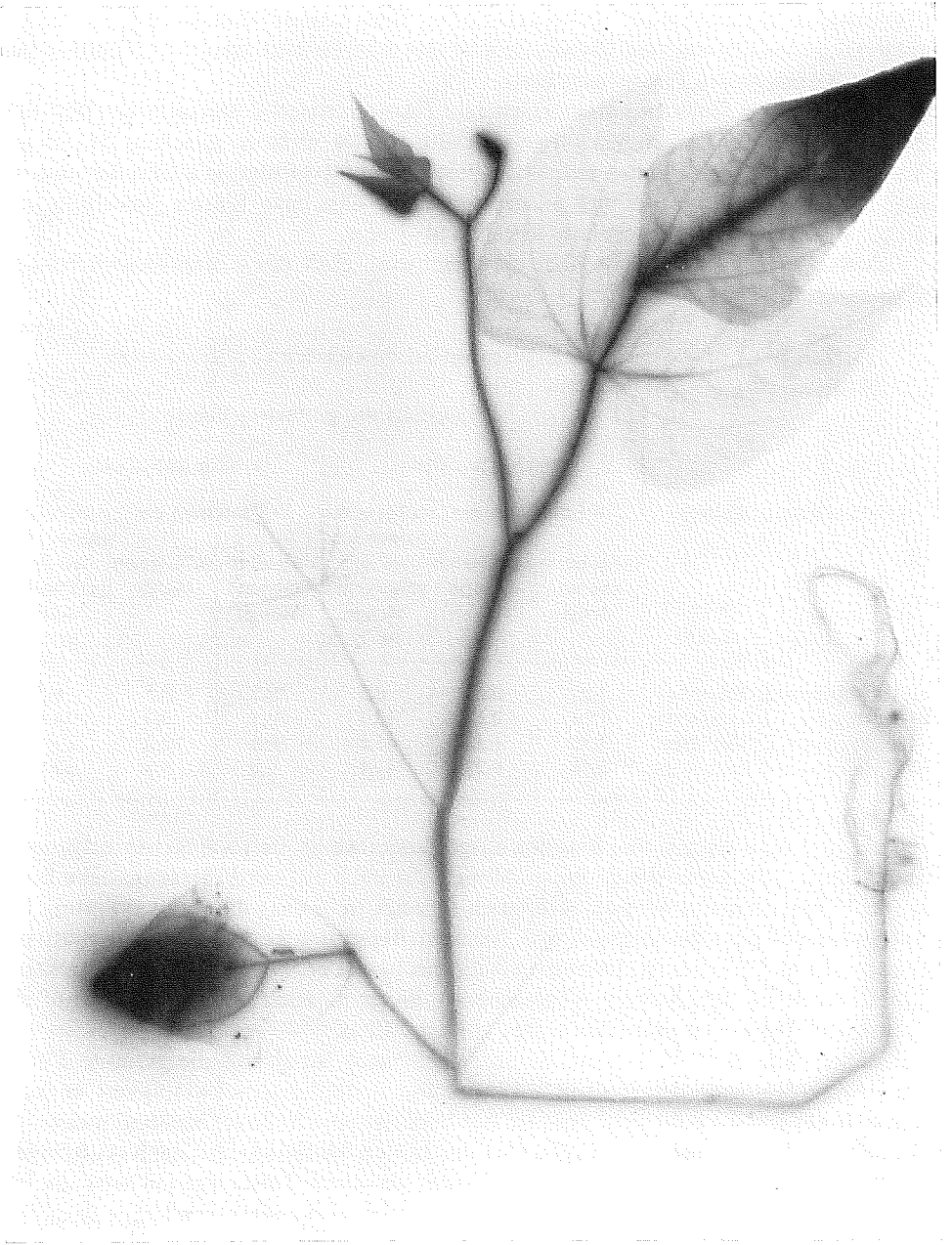


Abb. 8. Autoradiographisches Verteilungsbild von ^{32}P nach 24stündiger Fütterung über Mittelrippe, diese gegen die Blattspitze offen (d).

Die Akkumulierung von ^{32}P im gefütterten Blatt dauert über 24 Std. an; später findet als Folge des raschen P-Umsatzes in der Pflanze eine weitere Verteilung des im Blatt gespeicherten Phosphates statt.

Wie an anderer Stelle an umfangreichem Pflanzenmaterial gezeigt wird (WANNER und BACHOFEN, 1961), nehmen junge und alte Blätter nicht in gleichem Masse am Phosphathaushalt der Pflanze teil. Die Speicherung ist infolge von Wachstumsvorgängen in jungen Organen viel ausgeprägter, so dass alte Blätter innerhalb von 24 Std. wesentlich mehr Phosphate abgeben als junge.

Tabelle 1 erlaubt Vergleiche über die Geschwindigkeit des Abtransportes bei den verschiedenen Fütterungsarten:

Tabelle 1 ^{32}P -Aufnahme und -Transport bei verschiedenen Fütterungsarten.

Fütterungsart (Blätter)	Außerhalb der gefütterten Blätter					
	nach 2 Stunden			nach 48 Stunden		
	in Prozenten der		aufgenommener Anteil der gefütterten Menge in %	in Prozenten der		aufgenommener Anteil der gefütterten Menge in %
	aufgenommenen Menge	gefütterten Menge		aufgenommenen Menge	gefütterten Menge	
a) Auftropfen a. d. Oberseite	3,97	0,33	8,3	29,5	2,5	8,5
b) Auftropfen a. d. Unterseite	1,24	0,17	13,7	20,5	3,0	14,6
c) Mittelrippe n. d. Stiel offen	3,80	1,58	41,6	30,4	30,2	99,3
d) Mittelrippe n. d. Spitze offen	0,65	0,28	43,1	9,0	8,8	97,8

Berechnet man die aus den Blättern ausgewanderten Stoffe so, dass die aufgenommene Menge (gefütterte Menge minus Menge, die noch auf der Fütterungsstelle liegt) als 100% angenommen wird (1. Kolonne), so zeigt sich, dass die Auswanderung bei Auftropfen auf die Oberseite (a) und bei Mittelrippeninjektion nach dem Blattstiel (c) ungefähr gleich gross ist. Dagegen erfolgt bei nach der Spitze gerichteter Injektion (d) ein wesentlich langsamerer Wegtransport; dieser ist auch bei Auftropfen auf die Unterseite (b) geringer als in den ersten beiden Fällen.

In der 2. Spalte (Tab. 1) sind die ausgewanderten Stoffe auf die gesamte Fütterungsmenge bezogen; damit kann auch auf die Aufnahmegeschwindigkeit rückgeschlossen werden. Es zeigt sich, dass bei der Injektionsmethode (c) bis 8mal mehr aufgenommen wird als nach Auftropfen; bei der letzten Methode wird nach Auftropfen auf die Unterseite (b) in 2 Stunden ein etwas grösserer Teil aufgenommen als bei Zugabe auf die Blattoberseite. Nach 48 Stunden zeigt sich ein etwas anderes Bild. Die Auswanderung bezogen auf die in der Pflanze vorhandene Gesamtaktivität (Spalte 4) ist in den ersten drei Fällen von ähnlicher Grösse; nur bei Injektion gegen die Spitze (d) findet man einen bedeutend kleineren Anteil, da ein grosser Teil der aufgenommenen Phosphate in der Blattspitze gespeichert wird und offenbar aus anatomischen Gründen das Blatt nur schwer verlassen kann. Spalte 5 (ausgewanderte Stoffe nach

48 Stunden bezogen auf die gefütterte Menge) zeigt ähnliche Verhältnisse wie Spalte 2; die Vermehrung zwischen 2 und 48 Stunden liegt zwischen 7,4- und 32,4mal und ist am grössten bei nach der Blattspitze gerichteter Mittelrippeninjektion. Wie dies schon nach 2 Stunden festgestellt werden konnte, hat das auf der Unterseite gefütterte Blatt erheblich mehr P aufgenommen als bei oberseitiger Fütterung. Dieses Ergebnis ist aus anatomischen Gründen sehr naheliegend, können doch die gelösten Stoffe durch die wenig cutinisierten Zellwände des Schwammparenchyms sicher leichter eindringen als durch die gut ausgebildete Cuticula der Oberseite. Unsere Ergebnisse an *Phaseolus* stehen damit im Widerspruch mit den in der Einleitung zitierten Arbeiten von KOONTZ und BIDDULPH (1957) und TEUBNER und Mitarbeitern (1957).

Das Resultat der P-Aufnahme durch das Blatt nach Auftropfen der P-Lösung auf die Oberseite steht in guter Übereinstimmung mit den Resultaten von BUCOVAC und WITTWER (1957). Bei dieser Fütterungsmethode verlassen dort nach 48 Stunden $3,5 \pm 0,9\%$ der gefütterten Menge das Blatt. Schliesslich zeigt sich, dass durch Mittelrippeninjektion während dieser Zeit nahezu 100% des gefütterten P aufgenommen wird, während nach Auftropfen wegen Eintrocknen der Lösung und Kristallisation der Salze die Absorption schon nach kurzer Zeit aufhört und auf weit geringeren Werten stehen bleibt (vgl. Spalte 3 und 6).

Zusammenfassung

Durch Untersuchungen des zeitlichen Ablaufs (1—48 Stunden) der Aufnahme und des Abtransports von ^{32}P aus Blättern von *Phaseolus* konnte gezeigt werden, dass bei Verwendung der vom Blatt aufgenommenen Stoffe als Berechnungsgrundlage der Anteil der abtransportierten Stoffe nach einer Zeit von ca. 12 Stunden ziemlich unabhängig ist von der Wahl der folgenden Fütterungsmethoden: Auftropfen der Lösung auf die Oberseite des Blattes, Auftropfen auf dessen Unterseite oder Blattzungenfütterung mit nach dem Stiel offener Blattzunge. Bei letzterer Methode wird nahezu alles gefütterte Phosphat vom Blatt aufgenommen; sie ist deshalb als für unsere Zwecke am geeignetsten zu betrachten.

Literaturverzeichnis

- BUCOVAC, M. J. und WITTWER, S. H.: Absorption and Mobility of foliar applied Nutrients. *Plant Physiol.* 32, 428—434 (1957).
- KOONTZ, H. und BIDDULPH, O.: Factors effecting Absorption and Translocation of foliar applied Phosphorus. *Plant Physiol.* 32, 463—470 (1957).
- TEUBNER, F. G., WITTWER, S. H., LONG, W. G. und TUKEY, H. B.: Some Factors affecting Absorption and Transport of foliar applied Nutrients as revealed by Radioisotopes. *Agr. Expt. Sta. Michigan, Quart. Bull.* 39, 398—415 (1957).
- WANNER, H. und BACHOFEN, R.: Transport und Verteilung von markierten Substanzen I, *Planta* 57, 531—542.

