PRESLIA 1957
29: 337—348

Ivan Šetlík a Aleška Trnková:

Absorpce fosfátových iontů pokožkou listů

Ústav pro fysiologii rostlin University Karlovy

Navazujíce na výsledky první naší práce (25), v níž jsme mohli podat pouze několik předběžných údajů o pronikání fosfátového a sulfátového iontu pokožkou listů, provedli jsme několik pokusů, které měly blíže ukázat dynamiku tohoto pochodu. Vzhledem k poměrně značnému zájmu, který se dnes věnuje otázce postřiků (3, 18, 27), přibývá ve světové literatuře neustále prací, zabývajících se resorpcí minerálních živin povrchem listů (1, 2, 4 až 17, 19 až 26, 28, 29). Proto považujeme za vhodné uveřejnit některé výsledky, k nimž jsme dospěli a které stojí za sdělení.

A. Pokusy s pelargonií *(Pelargonium zonale)*

Charakter těchto pokusů byl stejný jako v prvé naší práci. Měření aktivity jsme nemohli provádět přímo na rostlině, nýbrž museli jsme se spokojit měřením aktivity vzorků odebíraných z listů. Byly to terčíky o průměru 8 mm, které jsme vyráželi z listů speciálním razidlem, lepili saponovým lakem na mističky z hliníkové folie, sušili v sušárně při 80 °C a pak proměřovali. Kromě toho jsme zhotovovali kontaktní autoradiogramy listů na roentgenovém filmu Foma indux - XX.

Aktivitu všech preparátů jsme změřili vždy najednou po skončení jednoho pokusu, takže naměřené hodnoty jsme mohli přímo srovnávat, i když vzorky byly odebírány v různou dobu. Bylo třeba provést pouze korekci na pokles aktivity během měření (rozpětí dvou dnů).

Vzorky odebírané z listů měly často velmi rozdílnou aktivitu. Měřili jsme je proto v různé vzdálenosti od okénka počítací trubice. Pro přepočet hodnot takto získaných vypočetli jsme převodní faktory tím způsobem, že jsme několik preparátů s odstupňovanou aktivitou měřili v různých vzdálenostech.

Absorpci fosforečnanových iontů pokožkou listů jsme sledovali jednak u listů oddělených od rostlin, jednak u listů, jež byly na rostlinách ponechány. V tomto druhém případě, mohli jsme sledovat také pohyb aktivního fosforu v celé rostlině.

Rostliny vzaté do pokusu jsme přechovávali v místnosti o teplotě 20 °C a relativní vlhkosti 70 %; osvětlovali jsme je dvěma 200 W žárovkami ze vzdálenosti asi 0,75 až 1 m, po 14 hod. denně. Dobře jsme zalévali půdu v květináčích, dbali jsme však na to, abychom listy rostlin nesmočili vodou. Tak bylo vyloučeno jakékoliv omytí aktivních iontů z jedněch listů na druhé nebo do půdy.

Pokud jsme sledovali pohyb aktivity v listech oddělených od rostliny byl postup práce tento: Rostliny, na nichž jsme vybrali listy k pokusům, jsme přenesli do výše uvedené místnosti 24 hodin před začátkem pokusu. Těsně před postřikem jsme list odřízli od rostliny a ihned ponořili basí řapíku do rozehřáté

vaseliny. Potom jsme list položili na zvláště upravenou podložku s otvorem pro řapík a postříkali jsme list na svrchní nebo spodní straně. Podložka byla kryta papírem, který jsme před postřikem každého listu vyměňovali. Při postřiku spodní strany listu směřoval řapík od podložky nahoru a byl v tomto případě chráněn před postřikem tím, že jsme na něj navlékli skleněnou trubičku zatavenou na horním konci. Po postřiku jsme odřízli pod vodou asi 1 cm řapíku a list jsme upevnili vatovou zátkou v hrdle zkumavky 16 × 160 mm tak, že byl ponořen řapíkem v Knopově živném roztoku. V těchto zkumavkách zůstaly listy až do konce pokusu a nejevily makroskopické známky poškození. Odpařený roztok jsme doplňovali na původní objem destilovanou vodou. Listy takto pěstované byly vystaveny stejným světelným, teplotním a vlhkostním podmínkám, jako celé rostliny.

Pokus č. 1

18. 11. 1953 jsme nastříkali na spodní stranu 15 listů a na svrchní stranu 10 listů pelargonie oddělených od rostliny po 0,2 ml 0,1% roztoku KH_2PO_4 o spec. aktivitě cca 80 μc/ml. Postřik jsme prováděli skleněným rozprašovačem a dbali jsme na to, aby roztok byl rovnoměrně rozptýlen po celé straně listu v podobě drobných kapiček. Řapíky listů jsme pak ponořili do Knopova živného roztoku ve zkumavkách.

Z listů stříkaných na spodní straně jsme odebrali po 8 a 24 hodinách, a po 4 a 7 dnech vždy tři listy. Razidlem o průměru 8 mm jsme vyrazili z každého listu 5 až 7 terčíků tak, aby nebyly zasaženy tlustší nervy. Z každého terčíku jsme zhotovili na zmrazovacím mikrotomu řezy rovnoběžné s povrchem listu. Postupovali jsme tak, že jsme terčík postříkanou (spodní) stranou přimrazili na naprosto rovně seříznutou plochu ledu a rozdělili na 4 až 5 řezů o tloušťce 80 μ. Řezy jsme pak lepili saponovým lakem na mističky z hliníkové folie a po usušení proměřovali obvyklým způsobem. Výsledky měření jsou graficky znázorněny na obr. 1.

Několik terčíků se nám podařilo rozdělit na řezy o tloušťce 35 μ. Tak jsme získali podrobnější obraz o rozložení aktivity v pletivech listu. Jako příklad uvádíme na obr. 3 výsledky měření aktivity v jednotlivých řezech takto rozděleného terčíku odebraného po 24 hodinách.

Z listů stříkaných na svrchní straně stahovali jsme po 1, 4 a 6 dnech epidermis spodní strany listu, a to takové její kusy, abychom z nich mohli vyrazit terčíky o průměru 8 mm. Ty jsme pak lepili na mističky z hliníkové folie, sušili a po uschnutí jsme měřili jejich aktivitu. Přibývání aktivity ve vzorcích spodní epidermis s časem je graficky znázorněno na obr. 2.

Pokus č. 2

11. 11. 1953 vybrali jsme 12 rostlin pelargonie pěstovaných v květináčích a přenesli jsme je ze skleníku do místnosti, v níž jsme prováděli pokusy. Rostliny jsme rozdělili do dvojic a na každé rostlině jsme vybrali 6 vyspělých (ale ne příliš starých) zdravých listů. Listy byly v tomto případě ponechány na rostlinách během celého pokusu. Každá dvojice rostlin s celkem 12 vybranými listy, představovala jednu pokusnou variantu. U poloviny pokusných rostlin na svrchní straně a u poloviny rostlin na spodní straně vybraných listů jsme udělali kolem středu listu, kde čepel přechází v řapík, kruhový rámeček z vaseliny o průměru 20 nebo 30 mm, podle velikosti listu. Řídkou vaselinu rozehřátou při 35 °C, jsme nanášeli štětečkem. Vaselinou jsme okroužkovali také řapíky vybraných listů těsně pod čepelí listu.

Do vaselinových kroužků na středu listu natírali jsme štětečkem roztoky obsahující aktivní fosfor. Vaselinové rámečky měly zabránit šíření roztoku po povrchu listu, takže aktivita mohla pronikat do okrajových partií pouze vnitřními pletivy listu. Po 24 hodinách, po třech, pěti a šesti dnech odebírali jsme pak vzorky z okrajů listů takto: z okrajových partií šesti listů každé varianty jsme vyrazili po dvou terčících o průměru 8 mm; každý z nich jsme přilepili na mističku z hliníkové folie, a to jeden svrchní stranou a druhý spodní stranou. Po usušení měřili jsme pak jejich aktivitu. Kdyby se aktivní ionty šířily ze středu listu, kam byl isotop nanešen, do okrajových partií pouze nebo převážně po povrchu listu, přesto, že jsme středy listů orámovali vaselinou, museli bychom při tomto uspořádání naměřit u terčíků lepených svrchní stranou k mističce a odebraných z listu potřebného na spodní straně vždy vyšší aktivitu, než u terčíků z těchže listů, které však byly lepeny k mističce spodní stranou a naopak. Plyne to z toho, že ve vzorku samém dochází k poměrně značné absorpci záření. Ve skutečnosti vzorky lepené jedním i druhým způsobem měly v průměru stejnou aktivitu. Z toho usuzujeme, že se aktivní roztoky nešířily po povrchu listů kapilárními silami.

Složení roztoků, které jsme nanášeli na listy bylo toto: a) 0,5% roztok KH_2PO_4 v destilované vodě; b) 0,5% roztok KH_2PO_4 v destilované vodě se 2 % želatiny; c) 0,5% roztok KH_2PO_4 v destilované vodě s 1 % agaru. Želatinu jsme přidávali jako smáčedlo; roztok s agarem jsme nanášeli za tepla (při teplotě roztoku asi 35 °C) agar po nanesení téměř okamžitě utuhl.

Všechny roztoky měly stejnou specifickou aktivitu, t. j. 50 μc/ml. Na jeden list jsme nanesli vždy 0,2 ml roztoku. Jen roztoku s agarem jsme nanášeli více, t. j. 0,5 ml. Při tom jsme nanášeli každý z uvedených roztoků vždy u dvanácti listů (na dvou rostlinách) na spodní stranu a u dvanácti listů na svrchní stranu.

Výsledky měření aktivity vzorků z okrajových partií listů odebíraných v různých časových intervalech jsou shrnuty v grafickém vyjádření na obr. 4.

Kromě vzorků z okrajových partií listů měřili jsme také kontrolní preparáty ze středu listů, na něž byl natřen aktivní roztok. Tyto vzorky jsme lepili na mističky z hliníkové folie vždy potřenou stranou nahoru. Takto naměřená aktivita středových vzorků, byla proti aktivitě naměřené u okrajových vzorků, ještě i na konci pokusu dosti značná. Aktivita okrajových vzorků po 7 dnech činila u různých variant 1,8 až 3,2 % aktivity vzorků středových. Přitom poměr aktivity naměřené u okrajových a středových vzorků v jednotlivých pokusných variantách nebyl zřejmě v žádném zákonitém vztahu ke způsobu postřiku nebo ke složení roztoku.

Aktivity naměřené u okrajových a středových vzorků nelze ovšem přímo srovnávat. U okrajových vzorků, kde je isotop rozložen, jak předpokládáme, více méně rovnoměrně v celém pletivu, uplatňuje se absorpce záření v pletivu samém daleko více než u vzorků středových, kde část isotopu je přímo na povrchu listu.

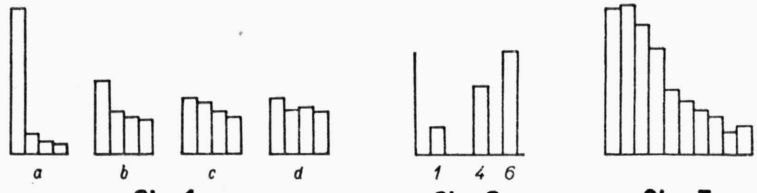
Po skončení pokusu, t. j. sedmého dne jsme odebrali vzorky k měření aktivity také z těch listů na rostlině, které nepřišly do přímého styku s aktivním roztokem. Změřili jsme jejich aktivitu a vypočítali poměr aktivity naměřené u těchto vzorků k aktivitě vzorků odebraných 7. dne pokusu z okrajových partií listů na téže rostlině, které byly na středu natírány aktivním roztokem. Vzorky ze zdravých, vyspělých listů, vyrůstajících asi uprostřed lodyhy měly u různých rostlin 2,2 až 10,5 % aktivity okrajových vzorků z natíraných listů (průměr ze všech rostlin 6,5 %). Vzorky z vrcholových mla-

dých a velmi mladých listů měly 16 až 62 % aktivity okrajových vzorků z natíraných listů (průměr ze všech rostlin 35 %). Ani v tomto případě se nám nepodařilo nalézt zákonité vztahy mezi množstvím fosforu, které jsme nalezli v jednotlivých rostlinách a způsobem aplikace.

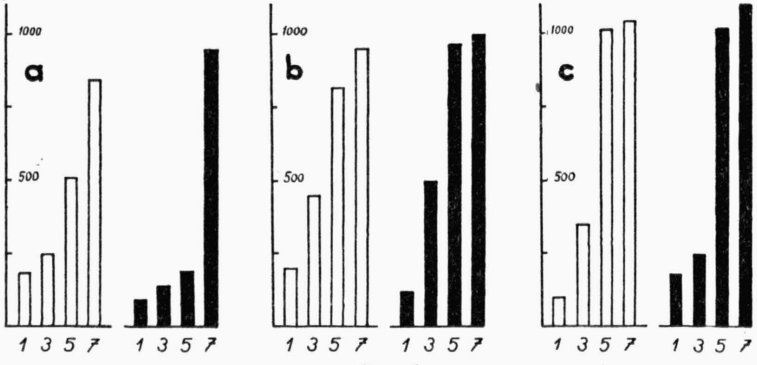
Z některých listů na rostlinách jsme zhotovili kontaktní autoradiogramy (viz tab. XX a XXI, obr. 1, 2 a 3).

Pokus č. 3

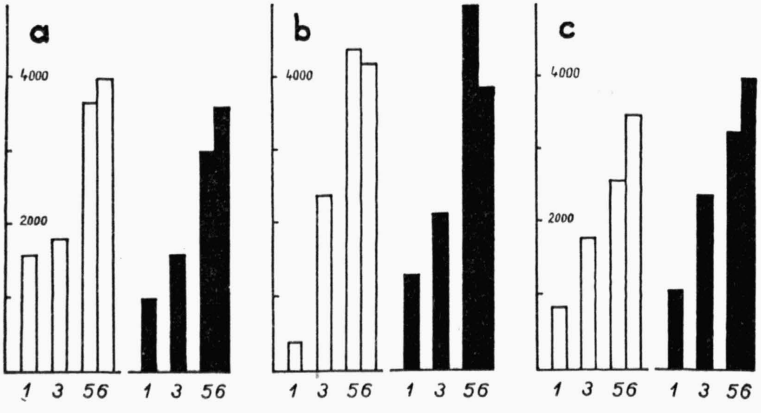
Základní uspořádání a rozvrh pokusu byly obdobné jako u pokusu č. 2, ale listy byly v tomto případě odděleny od rostliny. Další rozdíl byl v tom, že jsme roztoky do vaselinových kroužků nenatírali, ale stříkali skleněným rozprašovačem. Při tom jsme okrajové partie listu zakrývali kousky lepenky



Obr.1 Obr.2 Obr.3



Obr.4



Obr.5

s kruhovým výřezem o velikosti vaselinových kroužků. Roztokem stejného složení postříkali jsme vždy 12 listů na svrchní a 12 listů na spodní straně. Roztoky, které jsme stříkali na listy, byly v tomto případě tyto: a) 0,5% roztok KH_2PO_4 v destilované vodě; b) 0,5% roztok KH_2PO_4 v destilované vodě s přídavkem 2 ‰ želatiny; c) 0,5% roztok KH_2PO_4 v destilované vodě s 1 % isobutanolu. Želatinu jsme vybrali jako látku, která je současně smáčedlem i adhesivem, isobutanol jako látku pouze povrchově aktivní.

Na každý list jsme nastříkali 0,2 ml aktivního roztoku, který obsahoval 50 μc/ml. Po 24 hodinách, po třech, pěti a šesti dnech jsme odebírali vzorky z okrajových partií listů, a to vždy se šesti listů po dvou terčících a lepili jsme je saponovým lakem na mističky z hliníkové folie střídavě horní a dolní stranou jako u pokusu č. 2. Z jednoho listu odebírali jsme vzorky jen dvakrát po sobě, tedy čtyři terčíky.

Výsledky měření aktivity vzorků z okrajových partií listů jsou uvedeny v grafickém vyjádření na obr. 5.

Kromě vzorků z okrajových partií listů měřili jsme i v tomto pokuse aktivitu kontrolních preparátů z postříkaných středů a vypočetli jsme poměr aktivit naměřených u středových vzorků a u okrajových vzorků odebraných šestého dne. U jednotlivých variant měly okrajové vzorky 3,3 až 5,8 % aktivity naměřené u vzorků středových. Že není možno naměřené aktivity přímo srovnávat je jasné i v tomto případě. Z jednoho listu každé pokusné varianty jsme zhotovili kontaktní autoradiogram (viz tab. XX a XXI, obr. 4).

Po skončení pokusu, t. j. šestého dne, měřili jsme také aktivitu roztoků, v nichž byly ponořeny řapíky listů. Roztok ze dvou zkumavek každé varianty jsme odpařili na objem cca 0,5 ml, přenesli na mističku z hliníkové folie a odpařili do sucha. U všech odparků jsme naměřili velmi nepatrnou aktivitu; aktivní fosfát tedy prakticky vůbec nepřecházel z řapíku listů do roztoku, v němž byly ponořeny.

Obr. 1. Časové změny rozložení aktivity v pletivu listu pelargonie postříkaného na spodní straně 0,1% roztokem KH_2PO_4 obsahujícím P^{32}. Jednotlivé odběry vzorků: a) 8 hodin po postřiku, b) 24 hodin, c) 4 dny po postřiku, d) 7 dní. Sloupečky zleva doprava v jedné skupině znázorňují průměrnou aktivitu naměřenou u postříkaných listů v jednotlivých vrstvách o tloušťce 80 μ.

Obr. 2. Přibývání aktivity s časem ve vzorcích spodní epidermis u listů pelargonie postříkaných na svrchní straně 0,1% roztokem KH_2PO_4 obsahujícím P^{32}. Osa x: čas. Osa y: aktivita vzorků v relativních jednotkách. Odběry po 24 hodinách, po 4 a 6 dnech.

Obr. 3. Rozložení aktivity v pletivu listu pelargonie 24 hodin po postřiku 0,1% roztokem KH_2PO_4 obsahujícím P^{32}. Sloupečky zleva doprava: aktivita naměřená v řezech o tloušťce 35 μ následujících po sobě.

Obr. 4. Přibývání aktivity v okrajových vzorcích z listů pelargonie natřených uprostřed roztoky KH_2PO_4 obsahujícími P^{32}. Listy byly během pokusu ponechány na rostlinách. Osa x: čas; odběry 24 hodin po postřiku, dále po 3, 5 a 7 dnech. Osa y: průměrná aktivita vzorků v impulsech za minutu. a) 1% roztok KH_2PO_4 v destilované vodě; b) 1% roztok KH_2PO_4 se 2‰ želatiny jako smáčedla; c) 2% agarový gel s 1% KH_2PO_4. Bílé sloupečky: listy natírané na svrchní straně. Černé sloupečky: listy natírané na spodní straně.

Obr. 5. Přibývání aktivity v okrajových vzorcích u listů pelargonie nastříkaných uprostřed roztoky KH_2PO_4 obsahujícími P^{32}. Listy byly během pokusu odděleny od rostlin a ponořeny řapíky v Knopově živném roztoku. Osa x: čas; odběry po 24 hodinách, po 3, 5 a 6 dnech. Osa y: průměrná aktivita vzorku v impulsech za minutu. a) 1% roztok KH_2PO_4 v destilované vodě; b) 1% roztok KH_2PO_4 v destilované vodě s 1‰ želatiny jako smáčedla; c) 1% roztok KH_2PO_4 s 1% isobutylalkoholu. Bílé sloupečky: listy nastříkané na svrchní straně. Černé sloupečky: listy nastříkané na spodní straně.

B. Pokus s cukrovkou (*Beta vulgaris* var. *saccharifera*)

27. 7. 1954 vybrali jsme na záhonu řepy cukrovky vyseté v polovině května 60 rostlin o průměrné váze kořene 60 g a rozdělili jsme je do 6 variant po 10 jedincích. 28. 7. postříkali jsme mezi 10 a 11 hod. chrást řepy roztoky obsahujícími P^{32}: na každou řepu připadlo 50 μc aktivity. Roztoky, které jsme stříkali na chrást jednotlivých variant měly toto složení: 1. 2% roztok NaH_2PO_4 v destilované vodě, 2. 2% roztok NaH_2PO_4 v destilované vodě se 2 ‰ želatiny jako smáčedla, 3. výluh rozpustných podílů superfosfátu, zředěný 3 : 4 přidáním roztoku aktivního fosfátu a želatiny (výsledná koncentrace želatiny 0,2 %), 4. 1% roztok NaH_2PO_4 v destilované vodě, 5. 1% roztok NaH_2PO_4 v destilované vodě se 2 ‰ želatiny, 6. výluh rozpustných podílů superfosfátu, zředěný 3 : 8 přidáním roztoku aktivního fosfátu a roztoku želatiny. Roztoky 1 až 3 jsme stříkali tak, že připadly 4 ml roztoku na jednu rostlinu, roztoky 4 až 6 ve dvojnásobném množství.

Pohyb aktivního fosfátu v rostlinách řepy jsme v tomto pokuse sledovali pouze autoradiografií. Po 6 a 24 hodinách, po 2, 3, 4 a 6 dnech odebrali jsme z každé varianty po dvou (první čtyři odběry) nebo po jedné rostlině (poslední dva odběry). Na jednoduchém mikrotomu jsme zhotovili jednak řezy řapíkem listů, jednak příčné a podélné řezy kořeny, které jsme lepili arabskou gumou na sklo a po usušení v sušárně při 50 °C exponovali na roentgenový film Foma indux - XX. Kromě toho zhotovili jsme kontaktní autoradiogramy též z některých postříkaných listů (tab. XXII, obr. 1 až 5).

Radiogramy nám umožňují pouze hrubý odhad množství aktivního fosforu, který pronikl do různých částí rostliny. Za těchto podmínek a při poměrně malém počtu pokusných rostlin nemohli jsme zhodnotit eventuální jemnější rozdíly v rychlosti pohybu aktivního fosforu mezi jednotlivými variantami; podstatných rozdílů mezi nimi však nebylo. Příklady autoradiogramů řezů kořeny jsou uvedeny v tab. XXII. na obr. 1 až 6. U řezů z kořenů odebraných po 6 hodinách nemohli jsme při použité délce exposice na roentgenovém filmu zjistit ještě žádnou aktivitu. Autoradiogramy řezů řapíkem listů se nehodí pro reprodukci, poněvadž normální roentgenový film, který jsme měli k disposici, ukazuje jemnější struktury jen velmi nezřetelně. Přesto však místa odpovídající svou polohou vodivým svazkům v řapících jevila již po 6 hodinách zcela zřetelné začernání a při pozdějších odběrech se na radiogramech již objevuje obraz celého průřezu řapíkem. Nejsilnější bylo zčernání po 2 až 3 dnech, kdy byl zřejmě transport nejintensivnější. Zřetelný byl také rozdíl mezi řapíky mladých a starších listů; u mladých listů byl průběh absorpce i transportu rychlejší než u starých.

Diskuse

Z pokusů na pelargonii i na řepě vyplývá, že absorpce fosfátových iontů nanesených ve formě různých roztoků na listy probíhá i tehdy, když již roztok zaschnul. Je to další důkaz toho, že pro využití živin, poskytovaných rostlinám ve formě postřiků na listy, není rozhodující množství látky, které proniká do rostliny přímo při aplikaci roztoku (na př. průduchy). Podstatná část fosfátových iontů přecházela do rostlin v našem případě až po několika dnech, takže absorpce postřiku je pochod, který vyžaduje delší dobu. Ve všech případech se projevil poměrně malý vliv způsobu aplikace aktivního fosfátu na rychlost pronikání fosfátových iontů s povrchu listu do rostliny.

To nasvědčuje tomu, že resorpce iontů pokožkou listů je limitována většinou jinými faktory, než způsobem aplikace. Provedené pokusy nedávají nám dost přesného materiálu pro jednoznačné závěry. Pokud jde o pokusy s pelargonií, je zajímavé, že i v případě, kdy byl aktivní fosfát obsažen v agarovém gelu naneseném na povrch listů, měla dynamika resorpce fosfátových iontů stejný charakter jako při ostatních způsobech aplikace.

Aktivity naměřené u vzorků z okrajů listů, jež byly ponechány na rostlinách, jsou vesměs podstatně nižší, než u vzorků z listů oddělených od rostlin. To lze jistě vysvětlit tím, že fosfátové ionty resorbované pokožkou listu se hromadily pouze v čepeli listu, pokud byl list oddělen od rostliny, zatím co u listů ponechaných na rostlinách se rozváděly po celé rostlině. Aktivně metabolisující mladé listy hromadily daleko více fosfátu nežli listy vyzrálé.

Nepodařilo se nám nalézt přijatelné vysvětlení pro pokles aktivity u vzorků odebraných šestý den po postřiku z listů oddělených od rostliny a stříkaných roztokem fosfátu s přídavkem želatiny (obr. 5b).

Charakter celé práce je dán tím, že jsme neměli přímo na pracovišti k disposici měřicí přístroje. Přesnější kvantitativní data a podrobnější údaje o dynamice resorpce a transportu iontů s povrchu listů bylo by možno získat pouze měřením na rostlinách. Všechna měření aktivity vzorků jsme prováděli v Ústavu nukleární fysiky ČSAV. Tehdejšímu přednostovi ústavu prof. Dr Václavu Petržílkovi, dále Ing. Dr Čestmíru Šimáněmu a všem pracovníkům ústavu jsme hluboce zavázáni za nevšední ochotu, se kterou nám vyšli vstříc a za vždy pohotovou pomoc, bez níž by se tato práce, jakož i naše z počátku zmíněná první práce nebyly mohly uskutečnit.

Došlo 8. XI. 1955.

Adresy autorů: Ivan Šetlík, Botanická záhrada SAV, Komenského 67, Košice.
Aleška Trnková, Výzkumný ústav lesů a myslivosti ČSAZV, Husova 7, Praha I.

Literatura

1. Aufhammer, G., Hopfengart, M.: Untersuchungen zur Mineralsalzaufnahme durch die Blätter bei Getreide. Z. für Pflanzenbau und Pflanzenschutz 3 : 241—246, 1952.
2. Barbier, R.: Un des aspects du problème de la fumure: l'absorption des solutions salines par les feuilles. Agr. Prat. 117 : 346, 1953.
3. Boynton, D.: Nutrition by foliar application. Ann. Rev. Plant Physiol. 5 : 31—54, 1954.
4. Bullock, R. M., Benson, N. P., Tsai, B. K. W.: Absorption of urea sprays on peach trees. Amer. Soc. Hort. Sci. Proc. 60 : 71—74, 1952.
5. Colwell, R. N.: The use of radioactive phosphorus in translocation studies. Am. Jour. Bot. 29 : 798—806, 1942.
6. Cook, J. A., Boynton, D.: Some factors affecting the absorption of urea by McIntosh apple leaves. Amer. Soc. Hort. Sci. Proc. 59 : 82—90, 1952.
7. Depardon, M., Mlle Mauvisseau, Buron, M.: Effets résultant de pulvérisation de solutions d'urée sur le feuillage de la vigne. C. R. Acad. d'Agr. de France 39 : 193—195, 1953.
8. Eggert, R., Kardos, L. T., Smith, R. D.: The relative absorption of phosphorus by apple trees and fruits from foliar sprays and from soil applications of fertilizer, using radioactive phosphorus tracer. Amer. Soc. Hort. Sci. Proc. 60 : 75—86, 1952.
9. Ennis, W. B., Williamson, R. E., Dorschner, K. P.: Studies of spray retention by leaves of different plants. Weeds 1 : 274—286, 1952.
10. Fisher, E. G.: The principles underlying foliage application of urea for nitrogen fertilization of the McIntosh apple. Amer. Soc. Hort. Sci. Proc. 59 : 91—98, 1952.
11. Haines, F. M.: The absorption of water by leaves in fogged air. J. Expt. Bot. 4 : 106 to 107, 1953.

12. Hinsvark, O. K., Wittwer, S. H., Tukey, H. B.: The metabolism of foliar-applied urea. I. Relative rates of $C^{14}O_2$ production by certain vegetable plants treated with labeled urea. Plant Physiol. 28 : 70—76, 1953.
13. Johnsen, E. M., Kenworthy, A. L., Mitchell, A. E.: Influence of spray materials on the structure of sour cherry leaves (Prunus cerasus L. var. Montmorency). Amer. Soc. Hort. Sci. Proc. 55 : 195—198, 1950.
14. Lewis, D.: A note on the absorption of solutes by leaves. Jour. Pom. and Hort. Sci. 14 : 391, 1937.
15. Martin, D. C.: The absorption and translocation of radiostrontium by the leaves, fruits and roots of certain vegetable plants. Ph. D. thesis, Michigan State University, East Lansing, Michigan 1954.
16. Montelaro, J., Hall, C. B., Jamison, F. S.: Reduction of urea injury to tomato foliage by addition of magnesium sulfate to the spray solution. Amer. Soc. Hort. Sci. Proc. 60 : 286—288, 1952.
17. Oliver, W. F.: Absorption and translocation of phosphorus by foliage. Scient. Agric. 32 : 427—432, 1952.
18. Overbeek, J. van: Agricultural applications of growth regulators and their physiological bases. Ann. Rev. Plant Physiol. 3 : 87—108, 1952.
19. Pickett, W. F., Birkeland, C. J.: The influence of some spray materials on the internal structure and chlorophyll content of apple leaves. Can. Agr. Expt. Sta. Bull. 53, 1942.
20. Roberts, E. A., Southwich, M. D., Palmiter, D. H.: A microchemical examination of McIntosh apple leaves showing relationship of cell wall constituents to penetration of spray solution. Plant Physiol. 23 : 557—559, 1948.
21. Rodney, D. R.: The entrance of nitrogen compounds through the epidermis of apple leaves. Amer. Soc. Hort. Sci. Proc. 59 : 99—102, 1952.
22. Sosa-Bourdouil, C., Lecat, P.: Migration des phosphates marqués absorbés par les feuilles aériennes. C. R. Acad. Sci., Paris 234 : 2221—2223, 1952.
23. Stanford, G., McAuliffe, C., Bradfield, R.: The effectiveness of superphosphate top-dressed on established meadows. Agron. J. 42 : 423—426, 1950.
24. Šarova, N. L.: Opyt vnekornevoj podkormki gladiolusa. DAN 94 : 153—156, 1954.
25. Šetlík, I., Trnková, A.: Pronikání postřiků do listů vyšších rostlin sledované pomocí radioaktivních isotopů. Čs. biologie 3 : 227—229, 1954.
26. Vidal, J. L.: Sur l'absorption des solutions salines par les feuilles de la vigne. A propos de l'emploi de bouillie bordelaise au nitrate de cuivre. C. R. Acad. d'Agr. de France 39 : 273—281, 1953.
27. Vnekornevaja podkormka sel'skochozjajstvennych rastenij. Pod redakciej akademikov I. V. Jakuškina i I. S. Varuncjana. Gosud. izdatel'stvo sel'skochoz. literatury, Moskva 1955.
28. Volk, R., McAuliffe, C.: Factors affecting absorption of N^{15}-urea by tobacco leaves. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 18 : 308—312, 1954.
29. Wittwer, S. H., Lundahl, W. S.: Autoradiography as an aid in determining the gross absorption and utilization of foliar applied nutrients. Plant Physiol. 26 : 792—797, 1951.

Text k tabulkám:

Tab. XX. — Obr. 1—3. Autoradiogramy listů z rostlin, na nichž byly některé listy potřeny roztoky KH_2PO_4 obsahujícími P^{32}. Listy byly odebrány z rostlin sedmého dne po nanesení aktivních roztoků na jiné listy, z nichž postřik pronikl do ostatních partií rostliny a tak i do listů, jejichž radiogramy jsou reprodukovány na této tabulce. 1 — listy z vrcholů čtyř rostlin (a, b, c, d). 2 — listy vyrůstající ze středních partií stonků různých rostlin (průměrný výběr). 3 — nově obrážející a staré listy vyrůstající z dolních částí stonků různých rostlin. Exponováno na roentgenový film Foma INDUX-XX 4 dny. Exposice autoradiogramů na positivní materiál u všech listů stejná. Zčernání je tedy úměrné obsahu aktivního fosforu.

Obr. 4. Autoradiogramy listů pelargonie od rostliny oddělených, u nichž jsme do vaselinových kroužků na středu čepele nastříkali roztoky KH_2PO_4 obsahující P^{32}. Vybrané autoradiogramy ukazují postupné pronikání aktivních fosfátových iontů z vaselinového kroužku do ostatních partií listu. Z obrázků je vidět, že i při tomto pochodu význačná úloha náleží vodivým drahám. Exponováno na roentgenový film 24 hodin. Exposice na positivní materiál stejná jako u obr. 1—3.

Tab. XXI. — Týž negativní materiál jako na tab. XX. Exposice při kopírování na materiál positivní byly v tomto případě delší. Vynikají podrobnosti kresby vodivých drah v listech silně aktivních, které pro velké rozdíly v začernání negativního materiálu zanikly na tab. XX.

Tab. XXII. — Obr. 1—5. Autoradiogramy příčných řezů kořenem řepy cukrovky, jejíž chrást byl postříkán rozpustnými podíly superfosfátu, k nimž byl přidán roztok NaH_2PO_4 obsahující P^{32}. 1 — řezy kořenem 24 hodin po postřiku. 2 — dva dny po postřiku; 3 — tři dny po postřiku; 4 — čtyři dny po postřiku; 5 — šest dní po postřiku. Exposice na roentgenový film 5 dnů.

Obr. 6. Autoradiogramy podélných řezů kořenem řepy cukrovky, jejíž chrást byl postříkán roztoky obsahujícími ionty fosfátové s isotopem fosforu P^{32}. Dva řezy vlevo jsou z kořenů odebraných čtyři dny po postřiku. Dva řezy vpravo z kořenů odebraných šest dní po postřiku.

Tab. XXIII. — Autoradiogramy listů řepy cukrovky postříkaných rozpustnými podíly superfosfátu, k nimž byl přidán roztok NaH_2PO_4 obsahující P^{32}. 1 — list odebraný ihned po postřiku; 2, 3 — listy odebrané dva dny po postřiku; 4, 5 — listy odebrané šest dnů po postřiku. Exposice na roentgenový film 5 dnů.

И. Шетлик и А. Трнкова:

Усвоение фосфатов поверхностью листьев

В настоящей работе изучалась скорость усвоения растением меченого фосфора, который был нанесен на поверхность листьев в виде растворов различных фосфатов. Так как у нас не было возможности следить за распределением P^{32} в растениях непосредственным измерением активности отдельных органов, мы ограничились измерением образцов, взятых из листьев и приготовлением авторадиографий.

Опыты проводились с пеларгонией *(Pelargonium zonale)* и со свеклой *(Beta vulgaris* var. *saccharifera)*.

А. Опыты с пеларгонией заключались в следующем:

1. Срезанные листья были опрыснуты на верхней или на нижней стороне 0,1%-ным раствором KH_2PO_4 содержащим P^{32} и культивировались после этого на растворе Кнопа. В определенные сроки после обработки листьев изучалось распределение фосфора в пластинке листа (см. рис. 1—3).

2. Определенная часть поверхности листа, которая была ограничена вазелиновой рамкой, натиралась раствором фосфата меченого P^{32}. Таким образом обрабатывалось шесть листьев на каждом растении. Листья оставались на растениях до окончания опыта. Всего в опыт входило 12 растений и изучались три раствора различного состава: один и тот-же раствор наносился у двух растений на верхнюю и у двух растений на нижнюю сторону листьев. Через определенные промежутки времени после обработки листьев брались образцы для измерения активности в той части листовой пластинки, на которую не наносился активный раствор (см. рис. 4). При окончании опыта, т. е. после шести дней брались тоже образцы из некоторых листьев, которые совсем не пришли в соприкосновение с активным раствором. Остальные листья убирались для авторадиографии (см. рис. 1—3, на табл. XX—XXI).

3. Подобного рода опыт проводился на срезанных листьях. В этом случае части листовой пластинки, ограниченные вазелиновыми рамками, не натирались, но опрыскивались различными растворами содержащими меченый фосфор. Листья культивировались после обработки на растворе Кнопа и через определенные сроки брались образцы из неопрыснутых частей для измерения активности. Результаты опыта приводятся в графическом изображении на рисунке 5. Избранные авторадиографии приведенные на рис. 4, табл. XX и XXI, указывают поступление P^{32} из ограниченной части на середине листа в другие части листовой пластинки.

Б. Опыты со свеклой

Растения небольшего возраста (средний весь корня 60 г.), опрыскивались различными растворами фосфата меченого P^{32}, в том числе и настоем суперфосфата. Поглощение меченого фосфора листьями и его передвижение по растении изучалось при помощи одной только радиографии. Растения убирались в определенное время после опрыскивания. Из опрыснутых листьев с одной, и с другой стороны из тонких корневых срезов, подготовлялись авторадиографии. Примеры таких авторадиографий, при помощи которых мы можем сделать представление о скорости поглощения фосфора и его передвижении в растении, приводятся на табл. XXII и XXIII. Помимо авторадиографий корневых срезов были сделаны авторадиографии срезов черешками листьев, но они не достаточно отчетливые для отпечатывания. Тем не менее они ясно показывают, что активность срезов была наибольшая на третий и четвертый день после обработки

листьев. При применении растворов различного состава скорость поглощения P^{32} не была столь различна, чтобы можно было учесть какую-нибудь разницу на авторадиографиях.

Важнейшим выводом, который можно сделать на основании всех данных приведенных в настоящей работе является факт, что усвоение фосфата нанесенного на поверхность листьев продолжается в течении нескольких дней и что скорость этого процесса определяют большей частью внутренние факторы.

Текст к рисункам и к таблицам

Рис. 1. Распределение меченого фосфора по ткани листьев в зависимости от времени. На нижнюю сторону листьев наносился опрыскиванием 0,1%-ный раствор KH_2PO_4, содержащий P^{32} (0,2 мл, 80 мкС/мл). Через определенное время брались образцы из листьев и срезывались при помощи замораживающего микротома срезы толщиной 80 μ. Столбики обозначают активность отдельных срезов а именно в каждой группе начиная с опрыснутой поверхности (слева направо). Образцы брались через 8(a) и 24(b) часов и через 4(c) и 7(d) дней после опрыскивания.

Рис. 2. Увеличение содержания меченого фосфора в образцах нижнего эпидермиса листьев пеларгонии в зависимости от времени. Листья опрыскивались на верхней стороне 0,1%-ным раствором KH_2PO_4 с добавлением меченого фосфора (0,2 мл на один лист, 80 мкС/мл). По оси абсцисс: время. По оси ординат: активность образцов нижнего эпидермиса взятых в первый, четвертый и шестой день после обработки листьев.

Рис. 3. Распределение меченого фосфора по ткани листа пеларгонии в сутки после опрыскивания нижней стороны листа 0,1%-ным раствором KH_2PO_4 содержащим 80 мкС/мл P^{32} (доза для одного листа 0,2 мл). Столбики слева направо обозначают активность отдельных микротомовых срезов листовой пластинки толщиной 35 μ, начиная с опрыснутой поверхности листа.

Рис. 4. Увеличение активности образцов взятых с листьев, на середине которых натирался раствор фосфата меченого P^{32} (50 мкС/мл, на один лист наносилось 0,2 мл). Образцы были взяты из тех периферийных частей листьев, которые не пришли в соприкосновение с меченым раствором. Обработанные листья были оставлены на растении. По оси абсцисс: время; образцы брались в сутки, в три, в пять и семь дней после обработки листьев. По оси ординат: средняя активность образцов в имп/мин. Меченый фосфор наносился на листья в следующих растворах: a) 1%-ный раствор KH_2PO_4 в дистиллированой воде, b) 1%-ный раствор KH_2PO_4 с добавлением 1% желатины, c) 2%-ный гел агар-агара содержащий 1% KH_2PO_4. Белые столбики: активность образцов из листьев, у которых меченые растворы наносились на верхнюю сторону. Темные столбики: активные растворы наносились на нижнюю сторону листьев.

Таблица XX. — Рис. 1—3. Авторадиографии листьев пеларгонии. На поверхность шести листьев каждого растения — которые не приводятся на рисунке — наносился раствор KH_2PO_4 меченого P^{32}. Семь дней после обработки удалялись с растений некоторые другие листья, тщательно защищаемые от непосредственного соприкосновения с P^{32}. После сушки эти листья накладывались на рентгеновскую пленку (Foma INDUX — XX), экспозиция продолжалась четыре дня. Плотность авторадиографий отдельных листьев можно сравнивать и она дает нам представление о количестве накопленного меченого фосфора. Ввиду больших разниц в количестве накопленного P^{32}, некоторые из радиоавтографий несколько передержаны.

1-молодые листья из верхушки четырех растений (a, b, c, d) 2-зрелые листья из средней части стебля. 3-молодые и старые листья, взятые с нижних частей стебля.

Рис. 4. Радиографии листьев срезанных в начале опыта и культивированных на растворе Кноппа. Площадь в середине листа органиченная вазелиновой рамкой опрыскивалась в начале опыта 0,5% раствором KH_2PO_4 содержащим P^{32}. После трех и шести дней листья сушились и клались на рентгеновскую пленку, где выдерживались 24 часа. Полученные авторадиографии дают представление о постепенном проникновении меченого фосфора в листовую пластинку.

Таблица XXI. — Отпечаток того-же самого негатива как и на табл. XX, но с большей продолжительностью выдержки при позитивном процессе. У листьев содержащих большое количество меченого фосфора проявляются некоторые подробности его распределения более отчетливо.

Таблица XXII. — Рис. 1—5. Радиоавтографии поперечных срезов корнями растений сахарной свеклы. На листья этих растений наносился опрыскиванием раствор суперфосфата с прибавлением P^{32} в виде H_3PO_4 (15 мкС/мл) а именно 4 мл раствора на одно растение. Уборка корней производилась в следующие сроки после обработки: 1 — в сутки, 2 — в два дня, 3 — в три дня, 4 — в четыре дня, 5 — в шесть дней. Выдержка на рентгеновской пленке проводилась 5 дней. Рис. 6. Радиографии продольных срезов корнями растений сахарной свеклы, обработанных как приведено выше (рис. 1—5). Два среза влево, подготовленые из корней убранных четыре дня после обработки; два среза направо из корней убранных шесть дней после обработки.

Таблица XXIII. — Авторадиографии листьев сахарной свеклы опрыснутых раствором суперфосфата меченым P^{32} (изотоп прибавлялся к раствору в форме H_3PO_4) 1 — лист убранный непосредственно после опрыскивания, 2, 3 — листья убранные два дня после обработки, 4, 5 — листья убранные шесть дней после опрыскивания.

I. Šetlík and A. Trnková:

Absorption of foliar applied phosphate ions

The rate of absorption and translocation of foliar applied P^{32} has been studied. Since it was not possible to determine the distribution of radioactive phosphorus by counting with Geiger-Müller tubes directly on living plants, the assay was confined to the counting of samples taken from the leaves (discs 8 mm. in diameter) and to autoradiography.

Pelargonium (P. zonale) and sugar beet *(Beta vulgaris* var. *saccharifera)* were the experimental plants.

A. With pelargonium three experiments were arranged:

Expt. 1. Detached leaves sprayed on their lower or upper surface were cultured in Knop's solution and the distribution of radiophosphorus in the leaf tissues at different intervals subsequent to the application was examined (see fig. 1—3).

Expt. 2. In this experiment attached leaves have been treated with three different solutions containing P^{32} and the translocation of isotopic phosphate was then followed both in the treated leaves and in the whole plant. Twelve plants were chosen for this experiment with six mature leaves treated on every plant. Definite areas in the centre of the leaves were bordered with vaseline rings and painted with different solutions containing P^{32}. Each of the three solutions tested was placed on the upper surface of twelve leaves (two plants) and on the lower surface of another series of twelve leaves. At different intervals following the treatment samples were taken from the margins of the treated leaves and their activity was estimated (see fig. 4). At the end of the experiment, i. e. on the sixth day, samples from leaves, which had not been contaminated directly by the tracer were taken for counting and intact leaves were harvested for autoradiography (see fig. 1—3 on plate XX and XXI). Average activity of the discs from top young leaves amounted from 16 to 62 per cent of the activity found in marginal samples from the treated leaves. With mature leaves of different plants the figure was 2,2 to 10,5%.

Expt. 3. With detached leaves an experiment of similar pattern was arranged by spraying vaseline bordered areas in the centre of the laminas with different phosphate solutions. The leaves were thereafter cultured with their petioles submerged in Knop's solution. Samples for counting were taken from the marginal portions of the leaves. The results of the activity measurements are presented graphically in fig. 5. In fig. 4 of plate XX and XXI some chosen autoradiograms of the sprayed leaves are reproduced showing progressive spreading of P^{32} out of the vaseline ring in the centre of the lamina.

B. In the experiment with sugar beet small plants (average weight of the root 60 g.) were sprayed with different phosphate solutions labeled by P^{32} and the absorption and translocation of foliar applied radiophosphorus was followed by autoradiography. Whole plants were harvested at different intervals subsequent to spraying and autoradiograms were prepared from the dried leaf laminae and from thin sections through the petioles and through the roots. Examples of such autoradiograms, giving a general idea about the rate of radiophosphorus absorption from the surface of the leaves are presented on plate XXII and XXIII. The details of the autoradiograms of the petiole sections are not clear enough to be reproduced. Nevertheless, their activity was maximal on the third and fourth day following treatment of the leaves. By means of autoradiography no gross differences could be detected in our experiment between the rates of absorption of P^{32} applied in solution of different composition.

The conclusions, which may be drawn from the data presented are discussed briefly in the Czech text and the idea is suggested, that the resorption of phosphate ions by the leaf epidermis may be limited predominantly by internal factors.

Explications to the figures:

Fig. 1. Time changes in the distribution of P^{32} in the tissue of pelargonium leaves sprayed on their lower surface with a 0.1% solution of KH_2PO_4 which assayed cca 80 μc of P^{32} per milliliter. In every group the columns from left to right represent the activity in counts per minute in a sequence of microtome sections of the leaf tissue (80 μ thick), beginning from the sprayed surface. a — 8 hours, b — 24 hours, c — 4 days, d — 7 days following treatment.

Fig. 2. Content of radio-phosphorus in the lower epidermis of pelargonium leaves sprayed on their upper surface with a 0.1% solution of KH_2PO_4 containing cca 80 μc of P^{32} per milliliter. Abscissas: time. Ordinates: activity of the samples measured in counts per minute. Samples were taken one, four and six days following treatment.

Fig. 3. Distribution of P^{32} in the tissue of a pelargonium leaf 24 hours following the spraying of its lower surface with 0.1% solution of KH_2PO_4 (80 μc/ml.). The columns from left to right represent the activity of successive microtome sections of the leaf tissues beginning with the sprayed surface (sections 35 μ thick).

Fig. 4. Activity of the marginal portions of pelargonium leaves painted in the centre with different solutions containing P^{32} (50 μc/ml.). The leaves remained on the plants during the experiment. Abscissas: time. Ordinates: average activity of the marginal tissue in counts per minute. Samples were taken at 24 hours, three, five and seven days subsequent to treatment. Applications of labeled phosphate: a — 1% solution of KH_2PO_4 in distilled water. b — 1% solution of KH_2PO_4 with 0.1% of gelatine added as wetting agent. c — 2% gel of agar-agar containing 1% of KH_2PO_4. White columns: the active solution was placed on the upper surface of the leaves. Dark columns: active solution was placed on the lower surface of the leaves.

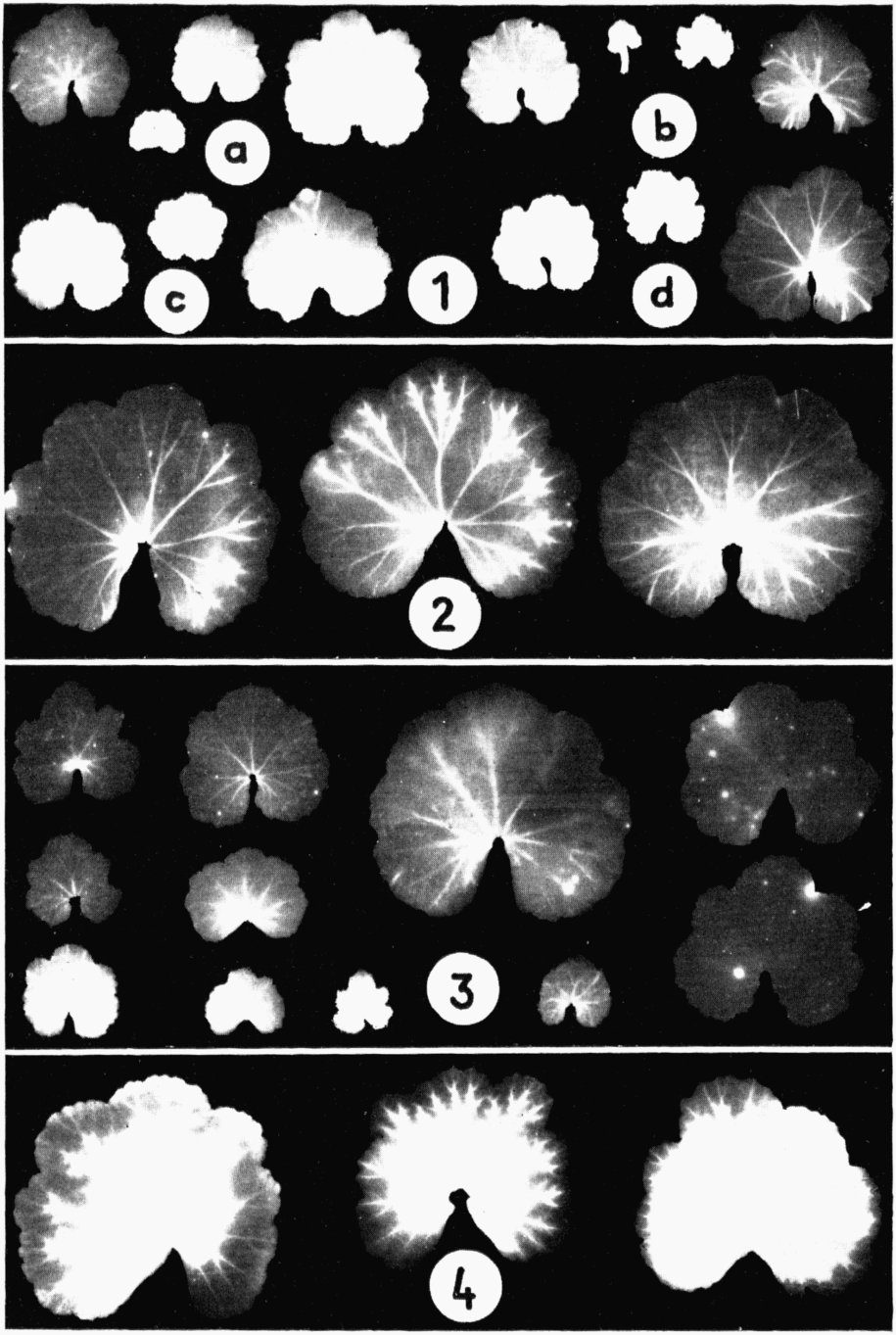
Explications to the plates:

Plate XX. — Fig. 1—3. Autoradiagrams of pelargonium leaves harvested from plants with foliar applied P^{32}. Six leaves on every plant, which are not shown on the plate were painted with solutions of KH_2PO_4 containing the tracer (0.2 ml. of solution with 50 μc per milliliter applied to every leaf). Leaves, which had not been contamined directly were harvested seven days following application of radiophosphorus, pressed between sheets of filter paper and dried in an oven at 80° C. Then they were placed on the X-ray film Foma INDUX-XX, which was exposed for 4 days. The intensity of the autoradiograms reproduced is comparable and representative of the relative quantities of radiophosphorus mobilized in various leaves. Because of great differences in the rate of P^{32} accumulation by leaves of unequal age some of the autoradiograms are slightly overexposed. 1 — young leaves from the tops of four plants (a, b, c, d). 2 — mature leaves growing out from the middle of the stalk. 3 — old and young leaves taken from the lower parts of the stalk. Fig. 4. Autoradiograms of pelargonium leaves which were detached from the plants throughout the experiment. The ring shaped area in the centre of the leaf bordered by vaseline was sprayed with a 0.5% solution of KH_2PO_4 containing P^{32} (0.2 ml. solution with 50 μc/ml.). Three and six days following this treatment the leaves were dried and placed on an X-ray film, which was exposed for 24 hours. The autoradiograms presented give an idea about the process of absorption of P^{32} and its mobilization in the leaf tissue.

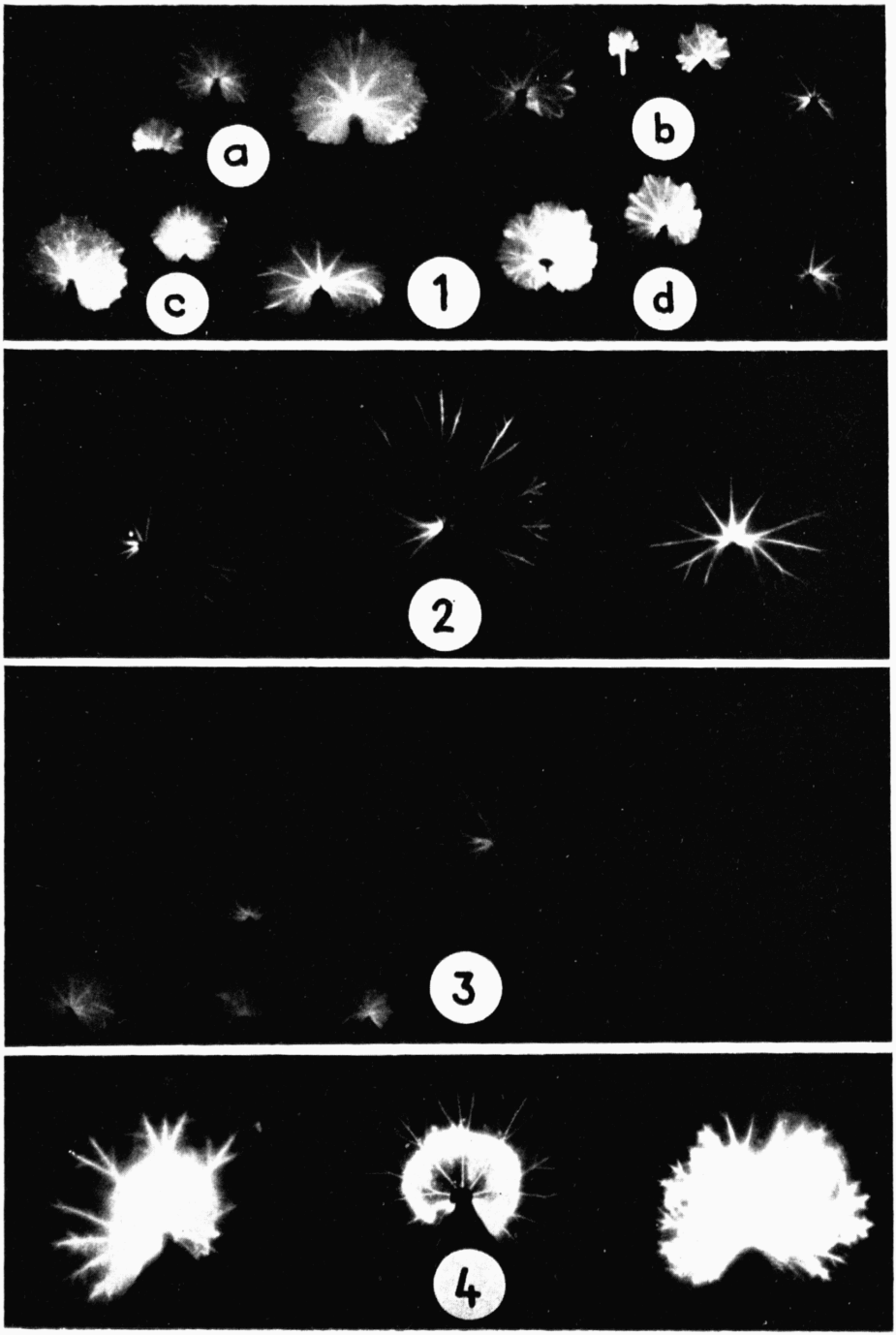
Plate XXI. — Radiograms the same as on plate XX, but with longer exposure when printed on positive material. Some details of the tracer distribution (especially in the leaves with high activity) stand out more clearly.

Plate XXII. — Fig. 1—5. Autoradiograms of transversal sections through the roots of sugar beet plants with foliar applied P^{32}. The leaves were sprayed with the soluble portions of superphosphate; P^{32} in the form of H_3PO_4 was added to the solution up to an activity of cca 15 μc/ml. Four milliliters of this solution were sprayed on every plant. The roots were harvested at different intervals subsequent to treatment: 1 — 24 hours, 2 — two days, 3 — three days, 4 — four days, 5 — six days. Exposure of the X-ray film was 5 days. Fig. 6. Autoradiograms of longitudinal sections through the roots of sugar beet plants with foliar applied P^{32}. The two sections on the left were cut from roots harvested four days following application of the tracer; the two sections on the right from roots harvested six days following treatment.

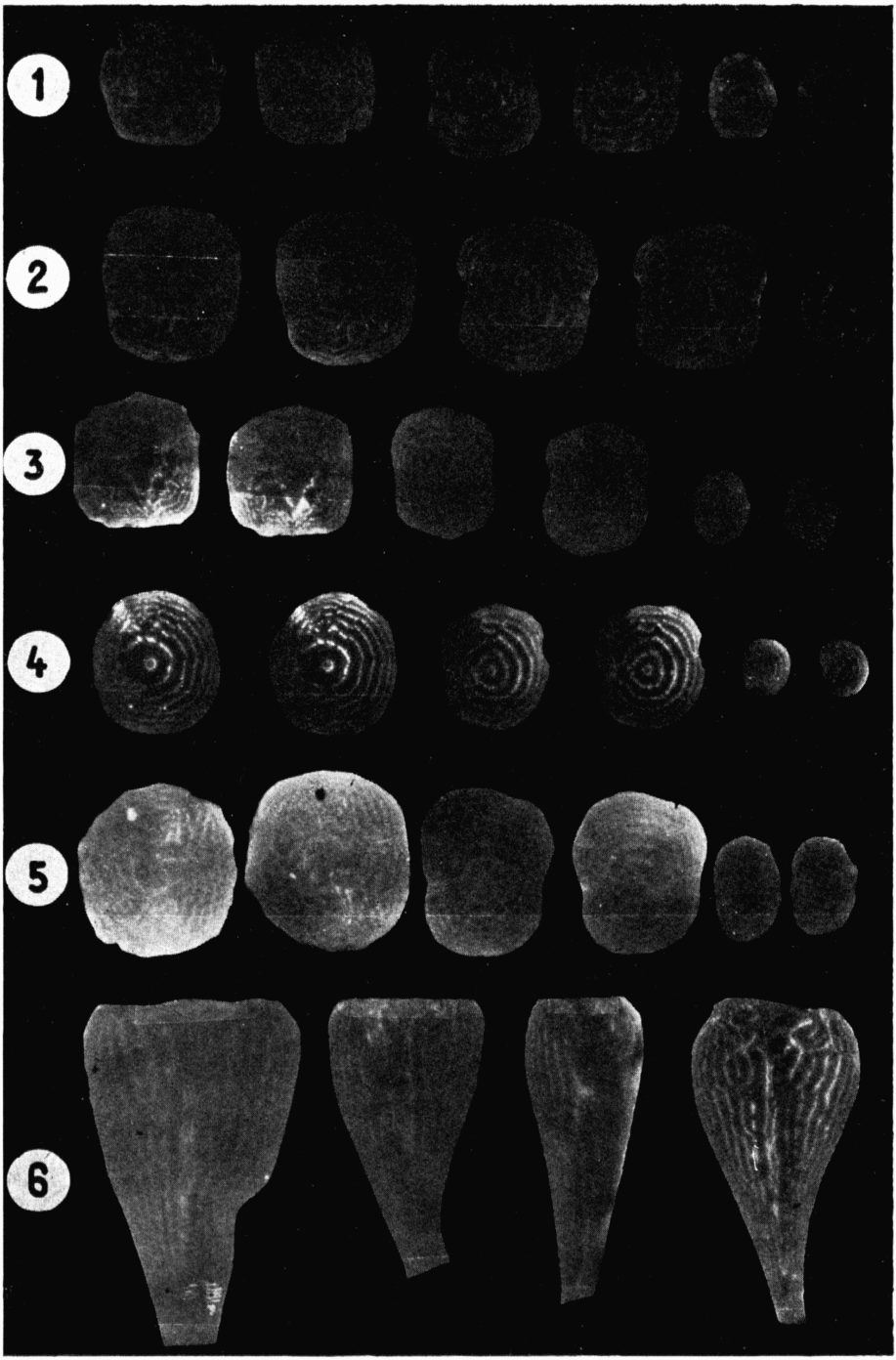
Plate XXIII. — Autoradiograms of sugar beet leaves sprayed with the water extract of superphosphate labeled with P^{32} which was added in the form of H_3PO_4 (4 ml. of a solution with 15 μc/ml. applied to every plant). 1 — leaf harvested immediately after spraying; 2, 3 — leaves harvested two days following the application of P^{32}; 4, 5 — leaves harvested six days after they have been sprayed.



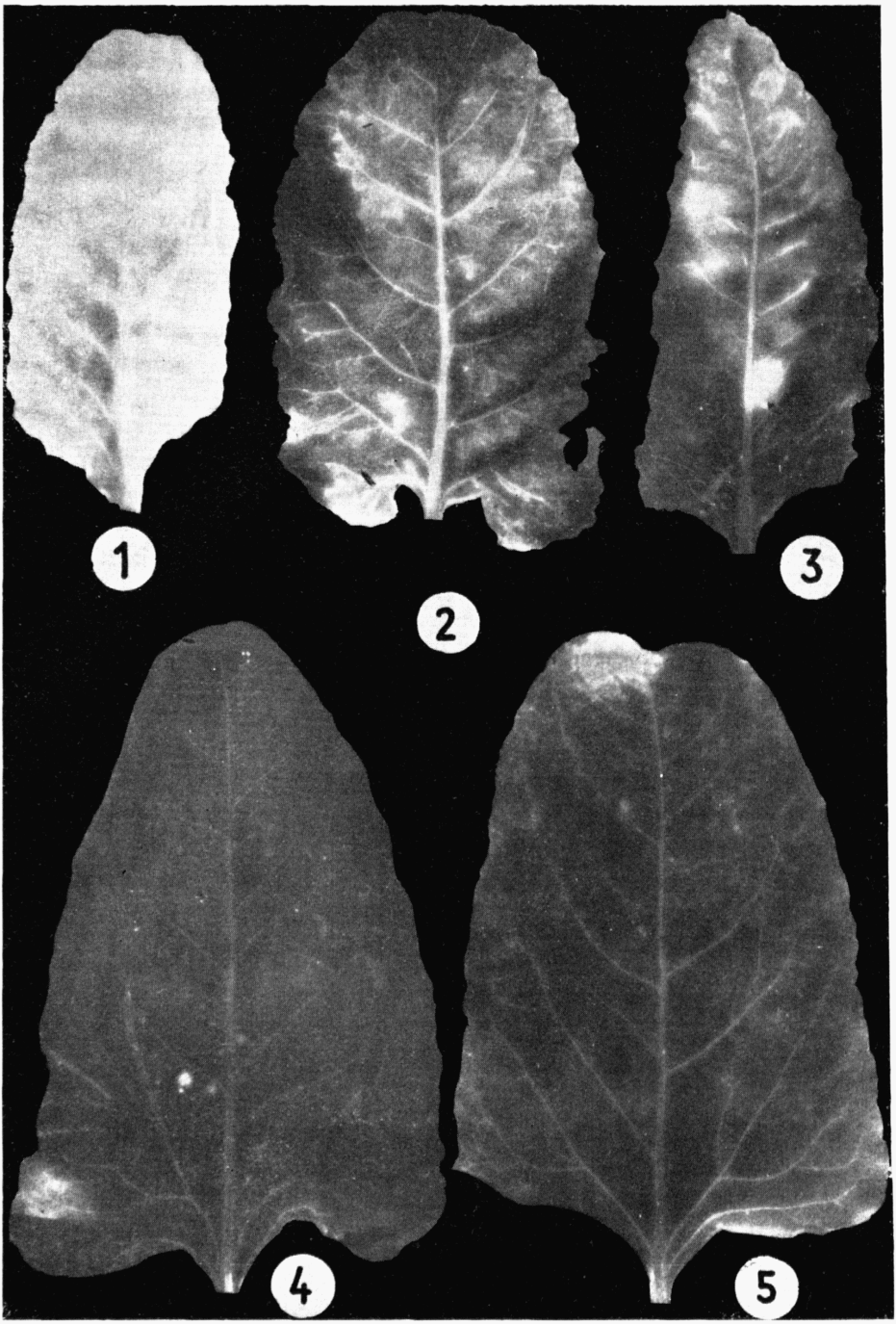
I. Šetlík a A. Trnková: Absorpce fosfátových iontů pokožkou listů



I. Setlík a A. Trnková: Absorpce fosfátových iontů pokožkou listů



I. Šetlík a A. Trnková: Absorpce fosfátových iontů pokožkou listů



I. Šetlík a A. Trnková: Absorpce fosfátových iontů pokožkou listů