

ABSORCION FOLIAR DE AZUFRE RADIOACTIVO EN PLANTAS DE FRIJOL

Por

GUSTAVO A. CRIOLI

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas

Turrialba, Costa Rica

Junio, 1963



BIBLIOTECA CONMEMORATIVA

ORTON

INSTITUTO INTERAMERICANO DE  
CIENCIAS AGRICOLAS

17685

TURRIALBA, COSTA RICA

ABSORCION FOLIAR DE AZUFRE RADIOACTIVO EN PLANTAS DE FRIJOL

Tesis

Sometida al Consejo de Estudios Graduados  
como requisito parcial para optar al grado

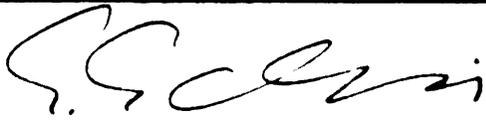
de

Magister Agriculturae

en el

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas

APROBADO:

	Consejero
	Comité
	Comité
	Comité

Junio, 1963

Thesis  
069a

## AGRADECIMIENTOS

El autor desea expresar sus agradecimientos a los miembros de su Comité Consejero Drs. Manuel Ibañez, Carl C. Moh y Eddie Echandi por su asesoramiento, y especialmente a su Consejero Principal Eduardo Jiménez a quien pertenecen muchas de las ideas originales de este trabajo.

Al Dr. Howard Boroughs ex-Consejero Principal.

A la Organización de los Estados Americanos y a la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad del Nordeste (Argentina) y su Instituto de Botánica, por haberle brindado la oportunidad de realizar estudios postgraduados.

A los miembros del personal del Instituto que en una u otra forma le prestaron gentil colaboración durante su permanencia.



BIOGRAFIA

El autor nació en la ciudad de Santa Fe, Argentina, en el año 1933.

Realizó sus estudios universitarios en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad del Nordeste, graduándose de Ingeniero Agrónomo en el año 1957.

Desde el año 1958 trabaja en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad del Nordeste.

Realizó sus estudios postgraduados en el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas desde enero a julio de 1960 y desde noviembre de 1962 a junio de 1963, mediante una beca de la Organización de los Estados Americanos y de la Universidad del Nordeste.



## TABLA DE CONTENIDO

	Página
INTRODUCCION .....	1
REVISION DE LITERATURA .....	2
MATERIALES Y METODOS .....	11
RESULTADOS .....	16
ANALISIS E INTERPRETACION .....	24
CONCLUSIONES .....	28
RESUMEN .....	30
SUMMARY .....	31
LITERATURA CITADA .....	32



## INTRODUCCION

Las plantas absorben normalmente los elementos nutritivos por las raíces. Sin embargo, se ha demostrado que la parte aérea es también capaz de desempeñar esta función. Aunque la nutrición foliar no llega a reemplazar a las aplicaciones al suelo como práctica general, todavía sería de gran utilidad para solucionar ciertos problemas como la deficiencia de ciertos elementos menores, o para suministrar complementos nutritivos en etapas críticas del desarrollo de las plantas.

A pesar de que según Wittwer (52) ya en 1803 se aplicaba elementos nutritivos al follaje, esta técnica sólo adquirió cierta importancia en los últimos años con el uso de fertilizantes muy solubles, herbicidas selectivos, reguladores de crecimiento.

El objetivo de este trabajo era estudiar la absorción foliar del sulfato por Phaseolus vulgaris bajo condiciones fisiológicas diferentes y determinar la forma química de traslación de este anión cuando es aplicado por vía foliar o radical.



## REVISION DE LITERATURA

El hecho de que las sustancias aplicadas a las hojas puedan ser utilizadas por las plantas nos hace preguntarnos en que forma entran y como se trasladan dichas sustancias. Según Barinov (2), aparentemente la entrada de una sal puede tener lugar en forma tanto iónica como molecular. Biddulph (6) creó que primeramente ocurre la adsorción de los iones a los coloides de la pared celular y luego sigue la absorción activa por los constituyentes protoplasmáticos. El plasmalema sería la primera barrera a través de la cual los iones son conducidos, posiblemente ligados a sustancias parcialmente específicas para cierto ión, o iones congéneres. Desafortunadamente, opina este mismo autor, se carece todavía de suficiente información para determinar si la absorción foliar ocurre en forma semejante o diferente a la radical, debido a diferencias en extensión y morfología de las superficies absorbentes.

Por su parte Wittwer y Teubner (53) dicen que tanto el intercambio como la absorción activa pueden predominar durante la absorción foliar de aniones como sulfato, fosfato y cloruro. En cambio la rápida velocidad de absorción y reversibilidad, conjuntamente con alguna dependencia al pH, sugieren que en la absorción de cationes como sodio, potasio, calcio y magnesio, el intercambio iónico es el proceso más importante. Aclaran que los datos son muy escasos e incompletos, lo que determina que el conocimiento actual sobre la absorción foliar tenga aún muchas lagunas.

Son varios los factores externos e internos que influyen la absorción foliar:



1. Angulo de contacto del líquido con la superficie de la hoja. La mojabilidad de un líquido es función del ángulo de contacto, el cual depende de la tensión superficial y naturaleza de la superficie a mojar. Así, un aumento en la mojabilidad de un líquido asperjado puede resultar en un incremento de la absorción como consecuencia directa al aumento en área tratada. Una de las maneras de provocar este aumento es con el uso de humectantes. La efectividad de estos ha sido muy discutida. Muchos investigadores han encontrado resultados positivos (11, 18, 19, 28, 29), en cambio otros han demostrado que esto no siempre es cierto (4, 13, 27, 43, 44, 56). La razón para tanta controversia quizá se debe a las condiciones en que fueron ejecutados estos estudios, pues tanto la composición de las soluciones asperjadas como la clase de humectante, la especie vegetal y las condiciones ambientales, variaron de un experimento a otro.

2. Punto de penetración de los nutrientes en las hojas. Hasta la fecha no se ha definido claramente si la entrada de los nutrientes a la hoja es a través de los estomas (7, 9, 35, 39) o de la cutícula (12, 27, 33, 39, 40, 44, 47, 48, 25). A la luz de los trabajos realizados al respecto es posible concluir que las dos vías son utilizadas en mayor o menor grado, dependiendo de la estructura anatómica de la hoja en referencia (13, 15, 16). Es sabido que las especies vegetales difieren mucho entre sí en cuanto a la cantidad de estomas por unidad de superficie, grosor de la cutícula, presencia de cera, pubescencia, etc., y que muchas veces hay diferencias entre la cara superior e inferior de una misma hoja.



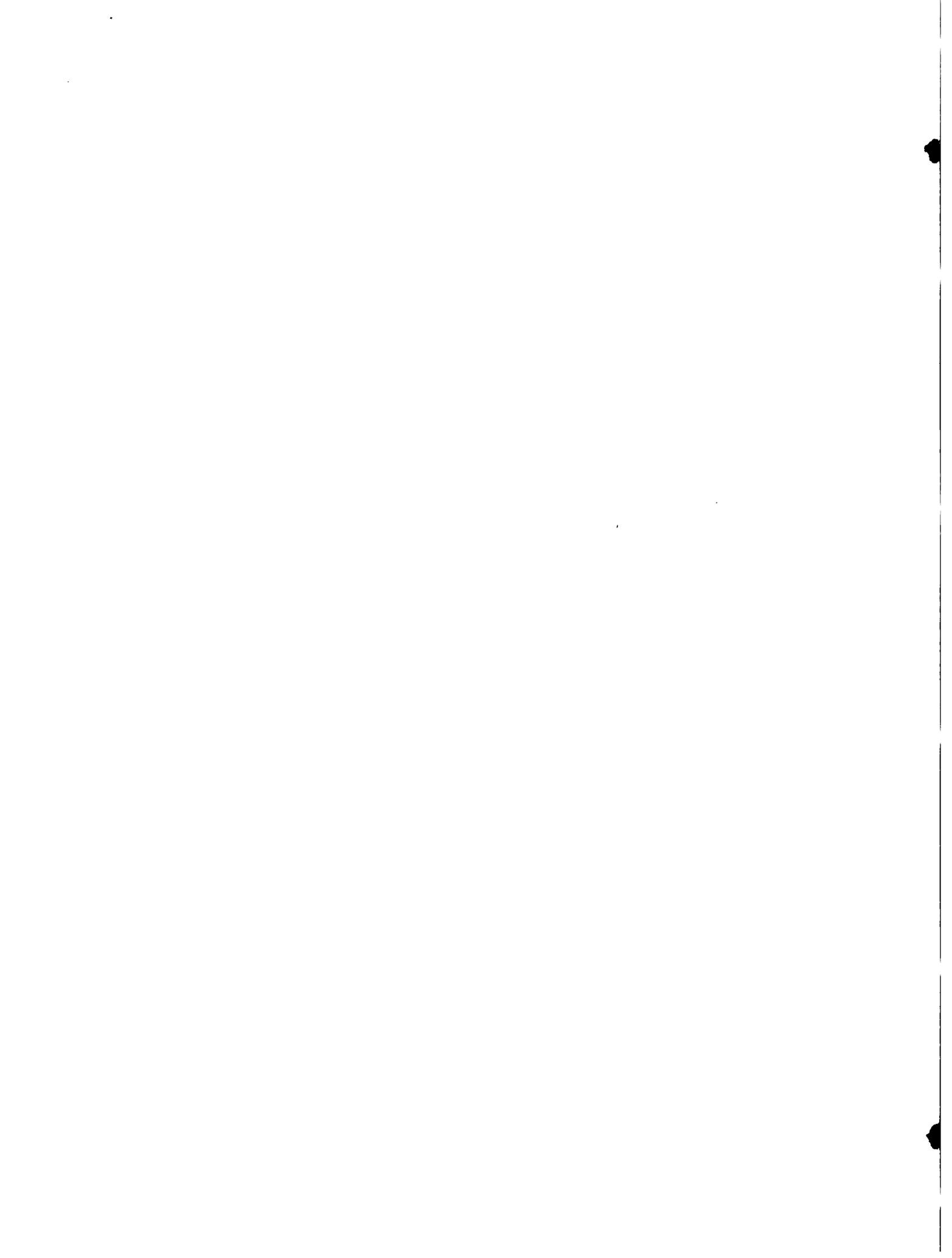
3. Temperatura, humedad y luz. Si una parte de la absorción foliar se lleva a cabo por medio de los estomas y el resto por la cutícula, es lógico pensar que los factores ambientales como temperatura, humedad y luz ejerzan una influencia distinta de acuerdo con el proceso sobre el cual actúan.

Algunos investigadores afirman que la hoja absorbe más a la luz que en la oscuridad, y que la absorción aumenta proporcionalmente con la intensidad lumínica (20, 21, 24, 30, 44). Otros autores afirman que el efecto de la luz no tiene importancia (11) o que más bien depende de la duración de la exposición de las plantas a la luz o a la oscuridad (43).

La disminución que se experimenta en la absorción y transporte de nutrientes aplicados foliarmente en la oscuridad puede ser resultado de una reducción del contenido de carbohidratos en la hoja. Pruebas realizadas para aclarar este punto mostraron que la adición de azúcares a las soluciones asperjadas tuvo en ciertos casos resultados positivos (20, 47, 54, 55) o erráticos (4, 11, 44, 49), pero generalmente la sucrosa incrementó la absorción y transporte.

La humedad relativa tiene gran influencia sobre la absorción foliar, de tal manera que la eficiencia es mayor cuando la humedad es alta (11, 25, 31, 47, 49). Es posible que el efecto de la humedad sea sólo el de retrasar el secado de la solución asperjada (31, 47) o bien que aumente el contenido hídrico de la hoja al disminuir la transpiración.

Acerca del efecto de la temperatura se ha encontrado que la absorción y el transporte aumentan directamente con la temperatura desde



10 a 21°C (44). Los valores de  $Q_{10}$  para absorción y transporte son mayores que 2 a temperaturas menores de 10°C (31, 35), indicando que ciertos procesos metabólicos no son muy activos a bajas temperaturas.

Sebioka (41) ha encontrado que la temperatura óptima del aire para la absorción foliar es de 30°C. Según Pallas (35) el efecto de la temperatura es limitado por la humedad relativa debido a que ambos factores afectan el funcionamiento de los estomas. Por ejemplo al estudiar la absorción de 2,4-D entre 20 y 30°C, encontró que el  $Q_{10}$  fue de 1.5 si la humedad relativa era del 34-48%, mientras que a 70-74% el  $Q_{10}$  subió a 4.

4. Composición química de la solución. La forma química en que un elemento es aplicado determina hasta cierto punto la eficiencia con que éste es absorbido. Se han encontrado diferencias en la absorción de un mismo elemento de acuerdo con la especie química. Según Koontz y Biddulph (27) el fosfato monosódico y fosfato dipotásico son los compuestos de fósforo más rápidamente absorbidos (en ese orden), debido posiblemente a que no cristalizan tan rápidamente como las sales de Na, K y  $NH_4$ . La adición de compuestos de calcio o sal de Epsom a soluciones de úrea, sulfato de zinc o sulfato de cobre provoca la cristalización en la superficie foliar, lo cual retarda la absorción (14, 36, 37, 38). Se ha comprobado que la reducción en la efectividad de algunas soluciones hechas con aguas duras, es debida a la presencia de cationes, principalmente  $Ca^{++}$  (50).

Siendo que el ión acompañante también puede ser absorbido por la hoja, puede ocurrir que haya una interacción entre éste y el nutrimento en estudio, la cual puede ser positiva o negativa, dependiendo de



que ambos iones sean metabolizados o no.

Otro factor que influye en la absorción es el pH. Para los fosfatos se ha encontrado que los valores entre 2 y 3 son los mejores (25, 43, 44, 51). Al respecto, la acción del pH ha sido explicada diciendo que a valores bajos penetran moléculas no disociadas de  $\text{PO}_4\text{H}_3$ , o bien que hay un intercambio entre  $\text{PO}_4\text{H}_2^-$  y  $\text{PO}_4\text{H}^{--}$ . Una alternativa sería que la reacción del medio tenga algún efecto sobre la permeabilidad de la epidermis y tejidos adyacentes, lo cual no sería de extrañar pues soluciones que producen áreas necróticas en los sitios de aplicación son más rápidamente absorbidas (43). Otros autores encuentran poco o ningún efecto de pH (4, 33, 34).

Thorne (47) investigó el efecto de la concentración de la sustancia aplicada, y encontró una relación directa entre el porcentaje absorbido y la dosis durante un período determinado; sin embargo, esta relación tendió a desaparecer con el tiempo. La distribución dentro de la planta del elemento absorbido fue independiente de la concentración. Resultados similares fueron obtenidos por Mederski y Hoff (31) quienes trabajaron con Mn.

Koontz y Biddulph (27) también encontraron que la cantidad de fósforo transportado fuera de la hoja en que se realizó la aplicación era función de la concentración, pero no en proporción directa. Estos autores creen que el menor transporte de P cuando la dosis aplicada es baja puede deberse al bajo ritmo de absorción, a un alto porcentaje de retención de P por los tejidos de la hoja o a ambas causas.

5. Pérdidas de los nutrientes. Estas pérdidas pueden ser debidas a diferentes causas: a) a que parte de la sustancia no alcanza la



superficie foliar; b) por escurrimiento, sobre todo si las hojas están en posición vertical; c) por volatilización de los nutrientes y d) por lixiviación o lavado de la solución por la lluvia (7).

Una lluvia fuerte que caiga dentro de las primeras ocho horas después del tratamiento puede lavar aproximadamente el 90% del residuo de la cara superior y el 50% del de la cara inferior de la hoja (7, 11). Aunque los nutrientes lavados no se desperdician pues éstos caen al suelo y pueden ser absorbidos por las raíces o ser fijados por el suelo mismo, se habrá perdido una de las principales ventajas de la nutrición foliar que es la de la utilización inmediata de los nutrientes. En el caso de la úrea es posible que se pierda algo del nitrógeno en forma amoniacal debido a la acción de la ureasa, pero no hay datos que indiquen que estas pérdidas son serias (11).

La pérdida por lixiviación puede ser producida por diversos mecanismos tales como simple difusión, intercambio iónico con  $H^+$  y  $CO_3H^-$  del agua de lluvia, y excreciones glandulares.

6. Ritmo de absorción. Los datos obtenidos por diferentes investigadores son muy distintos aún para un mismo elemento y un mismo vegetal. Koontz y Biddulph (27) encontraron en manzano que después de 30 horas se había absorbido alrededor del 50% del P aplicado por aspersión, mientras que Fisher y Walker (18) sólo hallaron una absorción del 30% en cuatro días. Wittwer y Teubner (53) citan varios resultados obtenidos por diferentes investigadores que confirman lo errático del ritmo de absorción. Es posible que ello se deba a las diferencias de condiciones bajo las que se realizaron las experiencias.



7. Edad, posición de la hoja y estado nutricional de la planta. Se ha comprobado que para la mayor parte de los nutrientes la absorción es mayor por las hojas jóvenes que por las viejas. La traslación por otra parte, es menor desde hojas nuevas que desde viejas (9, 27, 47). Al respecto Koontz y Biddulph (27) han encontrado que la edad y posición de las hojas determinan la cantidad y dirección del flujo transportado desde la hoja tratada. Sus resultados mostraron que las hojas viejas transportaron más que las jóvenes y que la cantidad de P trasladado a la raíz aumentó con la proximidad de los órganos.

El estado fisiológico de la planta también tiene importancia, pues las plantas crecen a un ritmo diferente de acuerdo con la edad y el medio en que habitan, además de que la absorción está relacionada con la actividad metabólica del organismo. Thorne (47) suplió con P a las raíces y encontró que esto no afectaba ni la cantidad total de P absorbido ni la velocidad inicial, pero supliada la raíz con bajas concentraciones más fósforo era trasladado que cuando era supliada por altas concentraciones. Wittwer y Teubner (53) y Teubner y col. (44) también encontraron que altos niveles de P en el medio radical disminuyeron el transporte del P absorbido por las hojas. En cambio Cook y Boynton (11) encontraron que plantas con exceso de nitrógeno absorbieron mas úrea que las deficientes.

8. Transporte y redistribución de los nutrientes. Para lograr una fertilización foliar eficaz es necesario que el nutriente aplicado sea absorbido rápidamente y transportado al lugar requerido. Si la movilidad es limitada, como sucede con ciertos cationes divalentes (4, 8), hay acumulación en los tejidos y la absorción puede disminuir.



Bukovac y Wittwer (8), al estudiar este problema encontraron que Rb, Na y K fueron rápidamente absorbidos y eran muy móviles. El P, Cl y S también fueron absorbidos rápidamente pero su movilidad fue menor. La absorción del Zn, Cu, Mn, Fe y Mo fue más lenta y la movilidad intermedia, decreciendo en el orden apuntado. El Mg, Ca, Sr y Ba fueron poco absorbidos y no movilizados.

9. Efectos de inhibidores. Arisz (1), al discutir el efecto de inhibidores metabólicos, dice que una hoja que haya recibido la aplicación de una solución, puede diferenciarse en dos zonas, una que está en contacto directo con la solución y otra (zona libre) a la cual llega la solución posteriormente. En las dos zonas puede ser acumulado el soluto, pero sólo en la primera es absorbido por el citoplasma. El efecto de inhibidores metabólicos como el CNK sobre la utilización de nutrimentos aplicados a las hojas lo ilustra un experimento en el cual se añadió cloruro y cianuro sobre la zona de absorción. En este caso, el cianuro inhibió la absorción y traslación a la zona libre. Cuando el CNK se aplicó en la zona libre no hubo inhibición de la absorción ni de la traslación. Resultados similares han sido obtenidos con arseniato y uranil nitrato.

#### Técnicas utilizadas en los estudios de absorción foliar

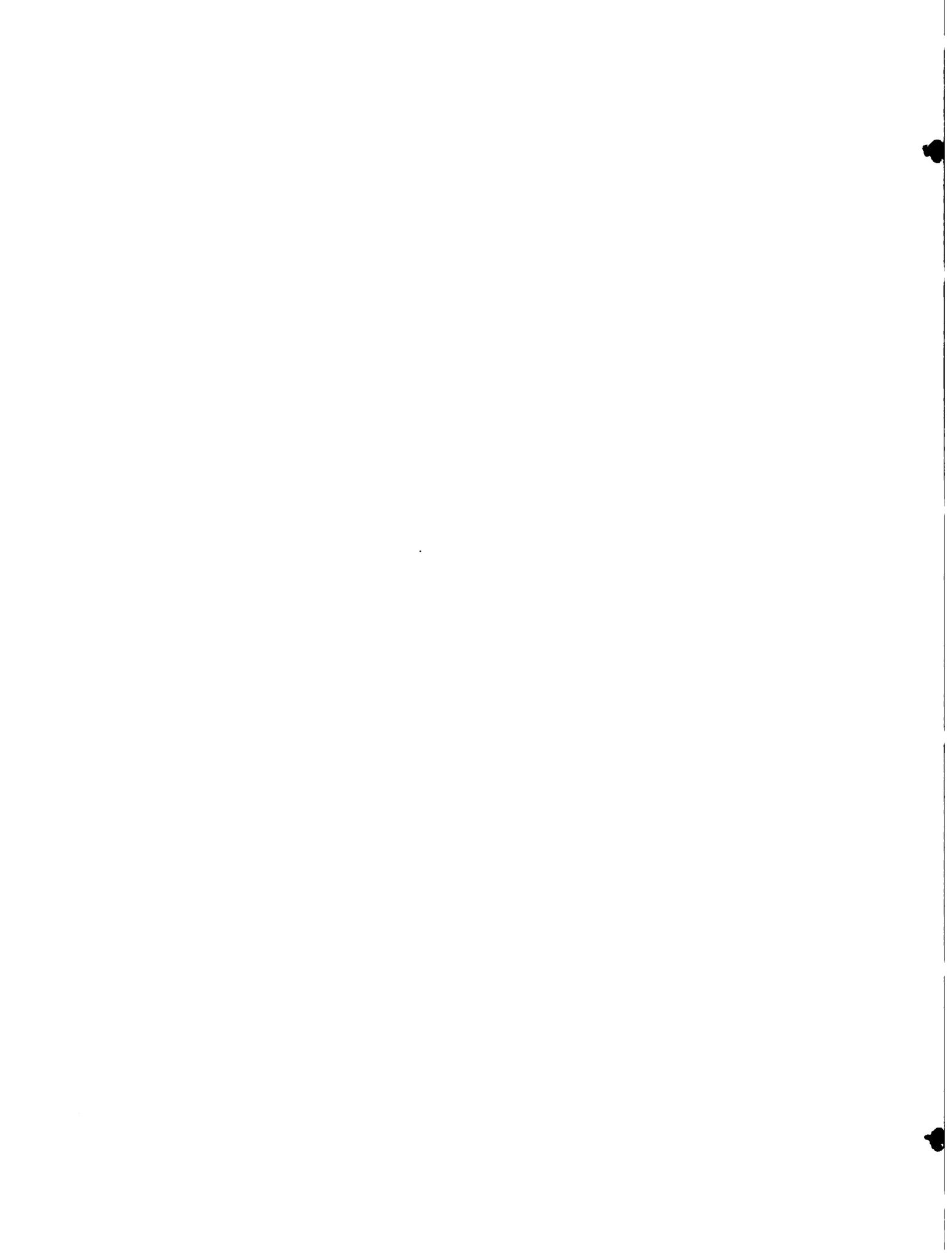
Jyung (26) ha hecho una buena revisión sobre estas técnicas. Según dicha revisión los métodos más empleados son: a) asperjar las superficies a tratar (9, 11, 17, 18, 27, 42, 44, 45, 46, 48); b) pintar las superficies foliares con las soluciones (4, 22, 45, 54, 55); c) sumersión de las partes a tratar (8, 53); d) colocar una gota de



la solución (4, 27) o varias (44), la gota puede ser rodeada por un anillo de lanolina (20) o plasticina (10) para tener la seguridad de que queda en el mismo lugar de aplicación. Además, se han usado inyecciones (27), espolvoreos e infiltración al vacío (10).

Un aspecto muy interesante de estas técnicas la constituye el lavado de las partes tratadas con lo cual se procura eliminar la fracción no absorbida, utilizando para ello agua destilada pura o con detergentes, ácidos y sales. Las soluciones son aplicadas en forma de chorro fino o bien se usan para sumergir en ellas a la parte tratada.

Otra manera consiste en aplicar una sola gota radioactiva y remover posteriormente un pequeño disco de tejido con la solución no absorbida. Una desventaja de este método es que no se puede considerar la absorción por el tejido removido.



## MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron plantas de Phaseolus vulgaris L. de unos 15 días de edad, cultivadas ya fuera en recipientes de cartón parafinado llenados con arena de río o en hidroponia. Como medio nutritivo se usó la solución de Hoagland N<sup>o</sup> 1 con microelementos (23). Las soluciones aplicadas foliarmente fueron sulfato diamónico para los dos primeros experimentos y sulfato disódico para el resto, ambas a una concentración 0.05 M. Las dos formas de sulfato estaban marcadas con S<sup>35</sup>. Los experimentos se llevaron a cabo en el invernadero o en un cuarto de crecimiento donde se controló la luz y la temperatura. Las aplicaciones de sulfato radioactivo se efectuaron en todos los casos sobre la cara superior de una de las hojas cotiledonares.

La radioactividad de las muestras fue medida de la siguiente manera: el material fresco o seco fue digerido con ácido nítrico concentrado hirviendo, continuando el calentamiento hasta reducir el volumen a un mililitro. Luego se llevó a volumen con agua destilada y de este volumen se tomó una alícuota y se colocó en una plancheta de acero inoxidable (además se añadió una gota de detergente para lograr una distribución uniforme de la solución). Las planchetas se secaron bajo luz infrarroja y finalmente se midió la radioactividad con un contador G.M. automático. Todas las muestras fueron contadas hasta que se acumuló un número de cuentas no menor de 2.500.

### Lavado de las hojas tratadas

Se utilizaron diez plantas a las cuales se aplicó aproximadamente 5  $\mu$ c de S<sup>35</sup> (50 lambdas de sulfato diamónico en forma de cinco gotas). Después de 24 horas las hojas se lavaron con cinco porciones de



10 ml. de agua destilada; los líquidos correspondientes se recogieron por separado y se determinó la actividad en ellos.

#### Ritmo de absorción y distribución

Para estudiar la absorción y distribución del sulfato en la planta en función del tiempo, se tomaron varias plantas al azar y se les dió una dosis individual de unos 3  $\mu$ c. de  $S^{35}$  (50 lambdas de sulfato de amonio, pH 4). La aplicación se hizo a una de las hojas cotiledonares. Después de 0, 2, 4, 8, 24 y 48 horas se cosecharon 20 plantas, una de las cuales fue separada para hacerle una radioautografía. Las demás fueron subdivididas en: a) hoja tratada; b) otras hojas; c) tallo y d) raíces. El punto de aplicación fue lavado con tres porciones de 10 ml. de agua destilada. Las porciones fueron combinadas y su radioactividad medida. Las muestras vegetales fueron procesadas y contadas según se describió anteriormente.

#### Influencia del pH sobre la absorción

Las plantas fueron arregladas según un diseño irrestrictamente al azar de cuatro tratamientos con cuatro repeticiones de tres plantas cada una. Los tratamientos fueron: a) pH 2.20; b) pH 3.95; c) pH 6.80 y d) pH 8.80. Dichas plantas crecieron en un cuarto con control de temperatura ( $21.5 \pm 1^{\circ}C$ ) e intensidad lumínica (700 ft. c.); la humedad relativa era de  $85 \pm 5\%$  y la duración del día de 12 horas. Se aplicó 1  $\mu$ c de  $S^{35}$  (10 lambdas de sulfato de sodio) a una hoja cotiledonar de cada planta. El pH de las soluciones se ajustó usando un mismo volumen de una solución de hidróxido de sodio de diferentes concentraciones. La toma de muestras se realizó a la hora después de la



aplicación, tomando únicamente la hoja tratada. El punto de aplicación se lavó con 30 ml. de agua destilada. Las muestras fueron procesadas y contadas. También se midió la radioactividad del agua de lavado.

### Intensidad lumínica

Se utilizó el mismo material y un diseño semejante al del experimento anterior, excepto que se usó un solo pH y dos condiciones lumínicas. A cada hoja se le aplicó 1  $\mu$ c. de  $S^{35}$  (10 lambdas de sulfato radioactivo, pH 6.80). Las condiciones experimentales son resumidas en el siguiente cuadro:

Intensidad lumínica		
Tratamiento	Durante el crecimiento	Durante el período de absorción
A $\rightarrow$ A	Alta (700 ft. c.)	Alta
A $\rightarrow$ B		Baja
B $\rightarrow$ A	Baja (350 ft. c.)	Alta
B $\rightarrow$ B		Baja

Las plantas permanecieron hasta el momento de la aplicación del  $S^{35}$  ya fuera en alta intensidad lumínica o en baja intensidad lumínica durante 12 horas por día. Justo antes de dar el sulfato radioactivo, 12 plantas de alta intensidad pasaron a baja intensidad (A  $\rightarrow$  B) y otras 12 permanecieron en las mismas condiciones (A  $\rightarrow$  A). Del mismo modo, 12 plantas de baja intensidad pasaron a alta intensidad (B  $\rightarrow$  A) y otras 12 permanecieron en baja intensidad (B  $\rightarrow$  B). La cosecha se realizó a las seis horas después de la aplicación. Las



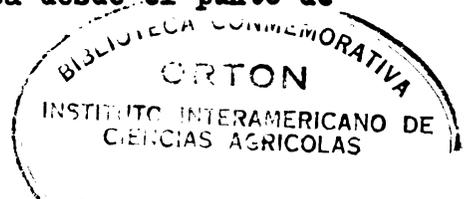
muestras se subdividieron en hoja tratada y resto de la planta. El punto de aplicación se lavó con 30 ml. de agua destilada cuya radioactividad se midió y las muestras fueron procesadas en la forma usual.

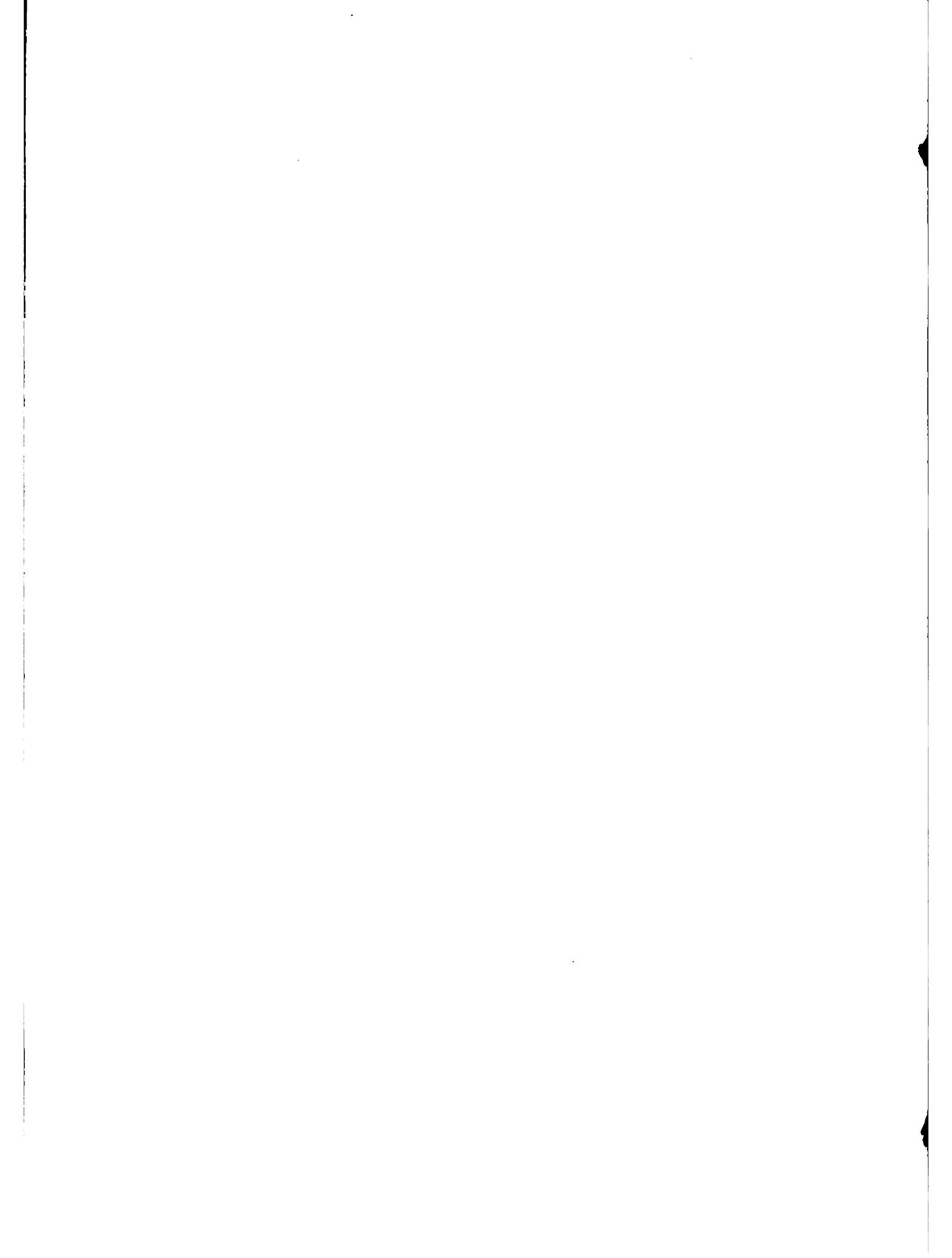
#### Efecto del cianuro sobre la absorción y transporte

Varias plantas recibieron aproximadamente 1  $\mu$ c. de  $S^{35}$  cada una (10 lambdas de sulfato, pH 6.8), en combinación con dosis variables de cianuro. Los tratamientos fueron los siguientes: a) aplicación separada; b) aplicación superpuesta de los ingredientes y c) testigo. En los tratamientos a) y b) se usaron soluciones de cianuro de potasio: 0.1 M y 0.001 M, a las que se les había añadido azul de metileno al 0.1% y Tween-80 al 0.5%. Como testigo se usó agua destilada con iguales proporciones de azul de metileno y Tween-80.

Para estudiar el efecto del cianuro sobre la absorción de sulfato se pintó, con la correspondiente solución, un círculo de 1 cm. de diámetro hacia el centro del haz de una cotiledonar. Hora y media después se aplicó la dosis de  $S^{35}$  sobre esa misma área. El procedimiento seguido para estudiar el efecto sobre el transporte fue el de pintar una franja transversal con las diferentes soluciones en el centro de la hoja, y después que hubo transcurrido un tiempo igual al anterior se aplicó el  $S^{35}$  un poco más arriba de la franja.

Tres horas después de aplicado el  $S^{35}$  se colectaron únicamente las hojas tratadas y se les removió con un sacabocados el punto donde se aplicó la solución radioactiva. Un grupo de hojas fueron montadas en papel absorbente y secadas en una estufa a 70°C por 24 horas. Luego se dividieron en dos partes: a) la superior o sea desde el punto de





aplicación del  $S^{35}$  hasta el ápice y b) la inferior, el resto de la hoja más el pecíolo. Las porciones de hojas fueron pesadas y su radioactividad medida. Otro grupo de plantas fue utilizada para hacer radioautografías.

#### Forma química de traslación

Para este ensayo se germinó semillas de frijol en papel absorbente y luego las plantitas fueron transferidas a una solución hidropónica. A los 15 días se aplicó aproximadamente 5  $\mu$ c. de  $S^{35}$  (100 lambdas de sulfato, pH 6.80) a una de las hojas cotiledonares de 5 plantas. A otras cinco plantas se dio 10  $\mu$ c. de  $S^{35}$  a las raíces. Veinte horas más tarde se tomaron los tallos de las correspondientes plantas y fueron sometidos a un proceso de extracción según el método de Benson y col. (5). Se usó etanol al 95%, al 80% y finalmente agua destilada. Los tres extractos fueron mezclados y evaporados. Luego se realizaron cromatogramas bidireccionales, usando como solventes fenol-agua (4:1) y butanol-propiónico-agua (142:71:100) (32). Finalmente los cromatogramas fueron radioautografiados con una película de rayos-X.



## RESULTADOS

### Lavado de las hojas

Para poder medir la fracción del sulfato radioactivo que fue utilizado por las hojas era preciso conocer exactamente las condiciones en que debería ser hecho el lavado de las partes tratadas. Fue así que se procedió a medir la radioactividad en diferentes porciones de agua aplicadas después de un período de absorción de 24 horas. Los resultados son resumidos en el Cuadro Nº 1.

CUADRO Nº 1.  $S^{35}$  removido de las hojas por varios lavados.

	Lavado (10 ml. de agua)				
	1º	2º	3º	4º	5º
Porcentaje	90.0	9.2	0.6	0.1	0.1

Se observa que con los tres primeros lavados se removió casi todo el fertilizante no absorbido. La cantidad de  $S^{35}$  que aparece en los otros dos lavados no es significativa. Por lo tanto se consideró que un lavado de 30 ml. era suficiente para limpiar a la hoja tratada del sulfato no absorbido. Este método fue usado en los experimentos siguientes.

### Ritmo de absorción

Desde el punto de vista agronómico es interesante conocer la rapidez con que un nutriente aplicado foliarmente es utilizado por el vegetal. Para llegar a dicho conocimiento se determinó el módulo de absorción y de transporte del  $S^{35}$  aplicado como sulfato en función



del tiempo. Los resultados de este experimento pueden apreciarse en el Cuadro Nº 2 y en los Gráficos números 1 y 2.

CUADRO Nº 2. Absorción y traslación de sulfato marcado con  $S^{35}$  en función del tiempo. Datos expresados en porcentaje de la actividad aplicada.

	Tiempo en horas					
	0	2	4	8	24	48
Absorción total	---	0.4	7.9	27.9	49.5	83.3
Traslación total	---	---	0.2	0.8	3.0	7.8
Trasladado a las hojas	---	---	---	0.1	0.4	1.6
"    al tallo	---	---	0.1	0.6	2.1	4.5
"    a la raíz	---	---	0.1	0.2	0.8	2.4

Los módulos de absorción fueron los siguientes: de 0 a 2 horas, 0.2; de 2 a 8 horas, 4.6 y de 8 a 48 horas de 1.4.

La relación porcentual entre azufre movilizado y azufre absorbido fue en aumento a medida que transcurrió el tiempo, así a las dos horas no se registró ninguna movilización; a las cuatro horas la relación era de 2.41; a las ocho horas de 2.99; a las veinticuatro horas de 6.56 y a las cuarenta y ocho horas de 10.10.

#### Absorción a diferentes valores de pH

A fin de comprobar la importancia del pH de la solución en la absorción foliar, se realizó un experimento donde se aplicó sulfato disódico marcado con  $S^{35}$  a cuatro distintos valores de pH a saber 2.20,



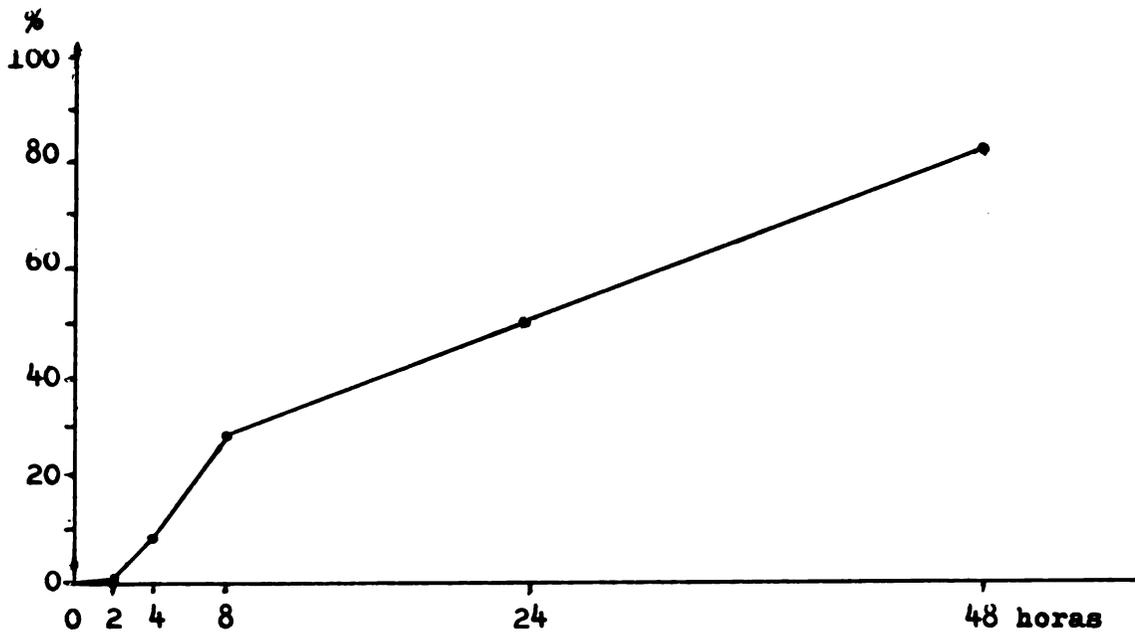


GRAFICO Nº 1. Absorción de  $S^{35}$  en función del tiempo. Los datos representan porcentajes de la actividad aplicada.

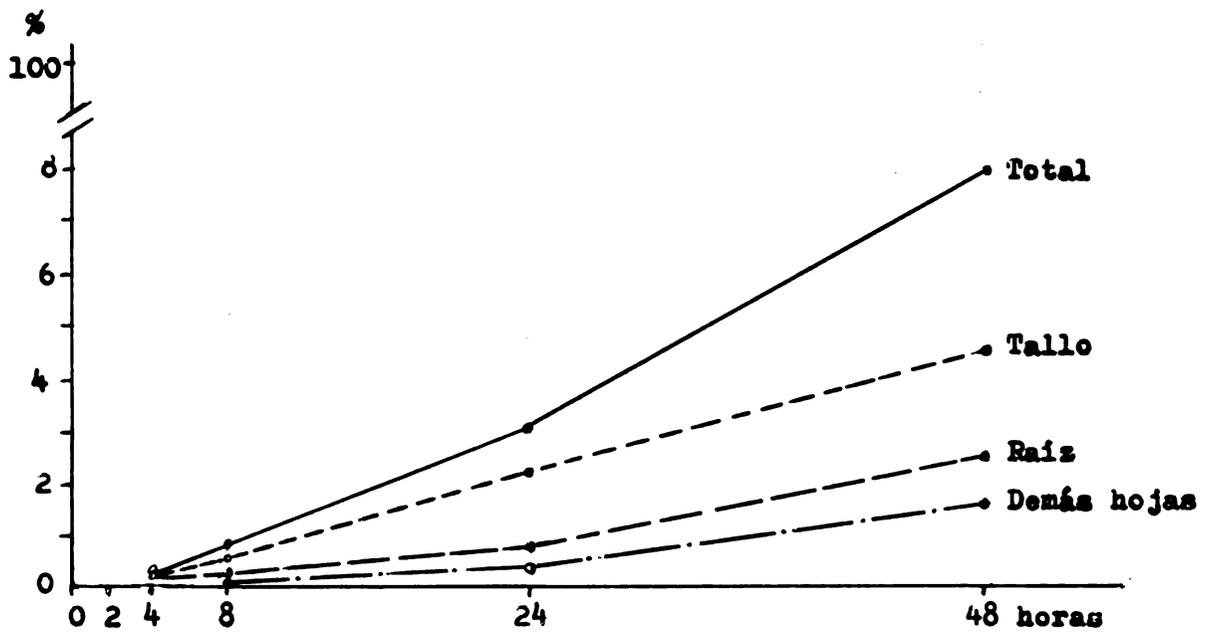
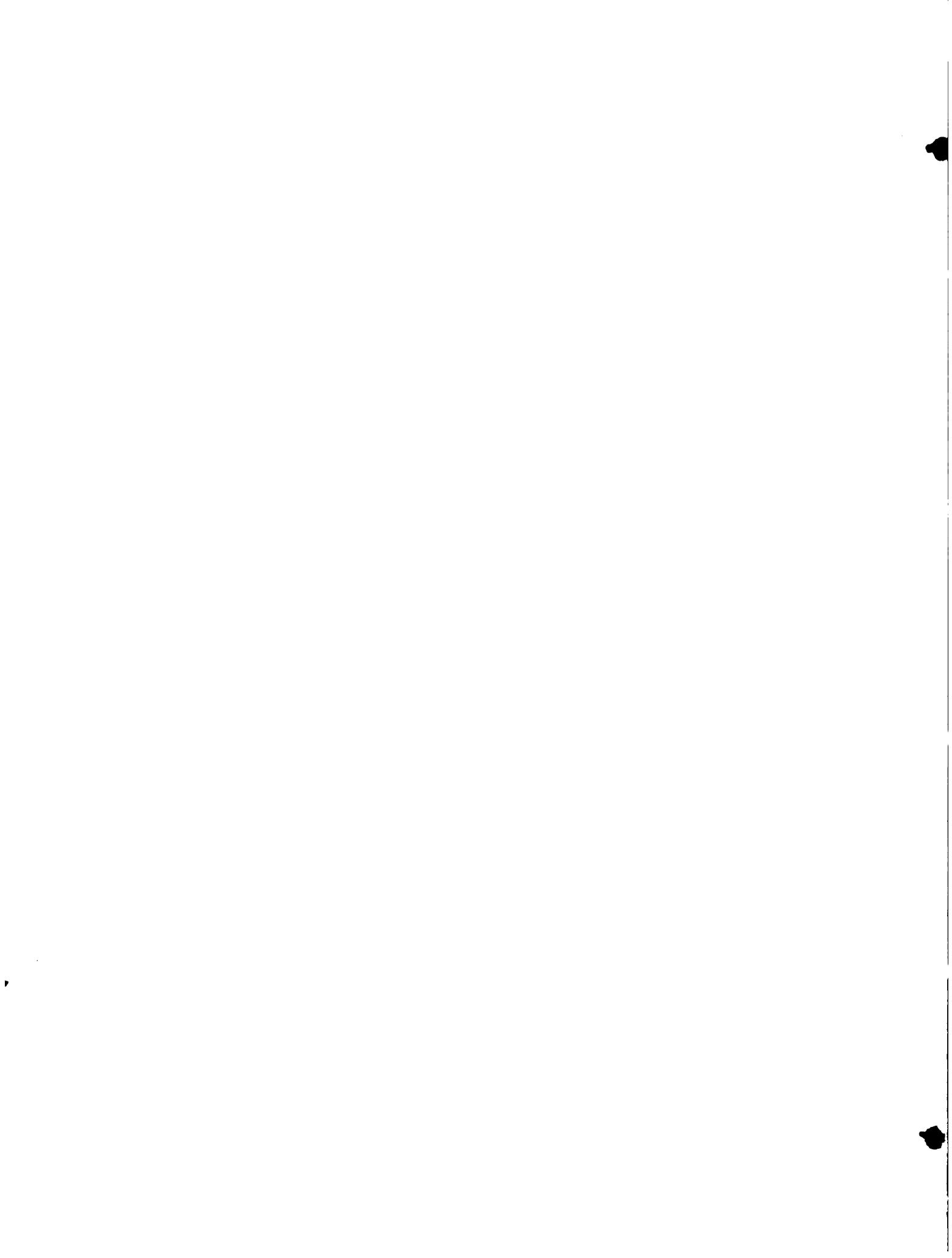


GRAFICO Nº 2. Transporte de  $S^{35}$  fuera de la hoja tratada a diferentes tiempos. Datos expresados en tanto por mil de la actividad aplicada.



3.95, 6.80 y 8.80. Los resultados de este experimento son presentados en el Cuadro N<sup>o</sup> 3 y Gráfico N<sup>o</sup> 3.

CUADRO N<sup>o</sup> 3. Absorción de  $S^{35}$  a diferentes valores pH. Los resultados son expresados en porcentaje de la actividad aplicada.

---

pH	2.20	3.95	6.80	8.80
% Absorbido	0.814	0.702	1.107	1.105

---

---

Se realizó el análisis estadístico de los resultados obtenidos sin haber alcanzado significancia.

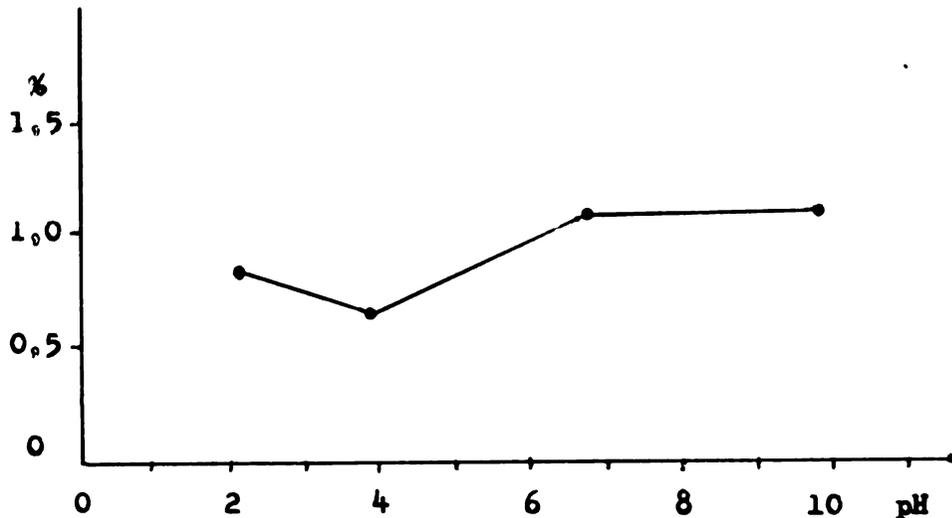


GRAFICO N<sup>o</sup> 3. Absorción de  $S^{35}$  a pH 2.20, 3.95, 6.80 y 8.80. Los resultados expresados en porcentaje de la actividad aplicada.



Efecto de intensidad lumínica

Se sabe que la luz tiene efecto sobre la absorción foliar. Sin embargo para ver si el efecto de la intensidad lumínica es importante sólo durante el proceso de absorción o si también lo es durante la época de crecimiento de la planta, se efectuó una experiencia donde las plantas crecieron y/o absorbieron en dos condiciones de intensidad lumínica. Los resultados de este experimento son resumidos en el Cuadro N<sup>o</sup> 4 y en el Gráfico N<sup>o</sup> 4.

CUADRO N<sup>o</sup> 4. Absorción y transporte de  $S^{35}$  bajo distintos regímenes lumínicos. Los resultados son expresados en porcentaje de la actividad aplicada.

Tratamiento	Absorción	Transporte
A → A	1,279	0,110
A → B	0,660	0,050
B → A	1,602	0,150
B → B	1,384	0,120

El análisis estadístico de los resultados no dio significancia.



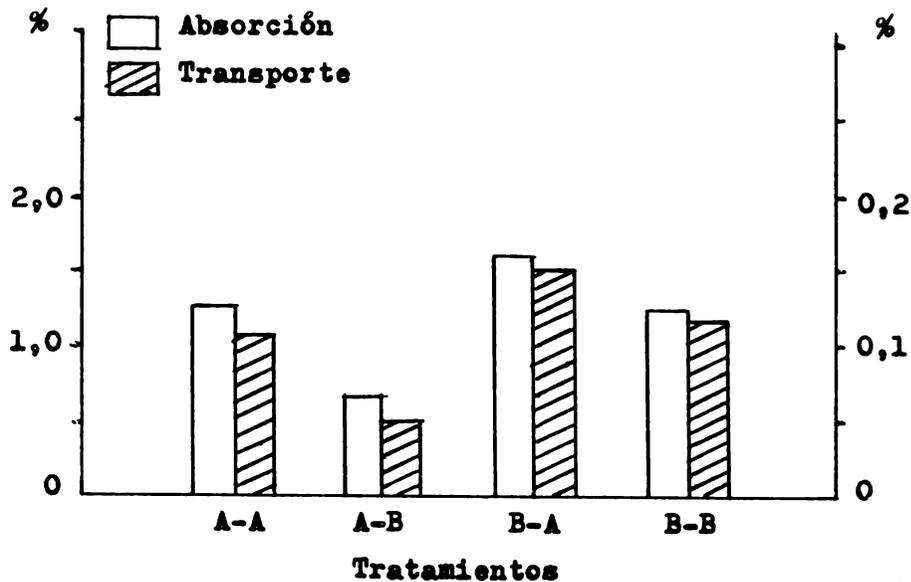


GRAFICO Nº 4. Absorción y transporte de  $S^{35}$  a distintos regímenes lumínicos. Los resultados expresados en porcentaje de la actividad aplicada.

### Efecto del Cianuro

Uno de los criterios para saber si un proceso es metabólico o nó, es el de observar su respuesta a la acción de agentes que inhiben ciertos sistemas enzimáticos. El CNK es uno de esos agentes. Para observar la respuesta de plantas de frijol tratadas con CNK a la absorción de  $S^{35}$  se estudiaron dos sistemas de aplicación del cianuro: a) en la zona de absorción y b) fuera de dicha zona. Los resultados obtenidos se presentan en el Cuadro Nº 5.

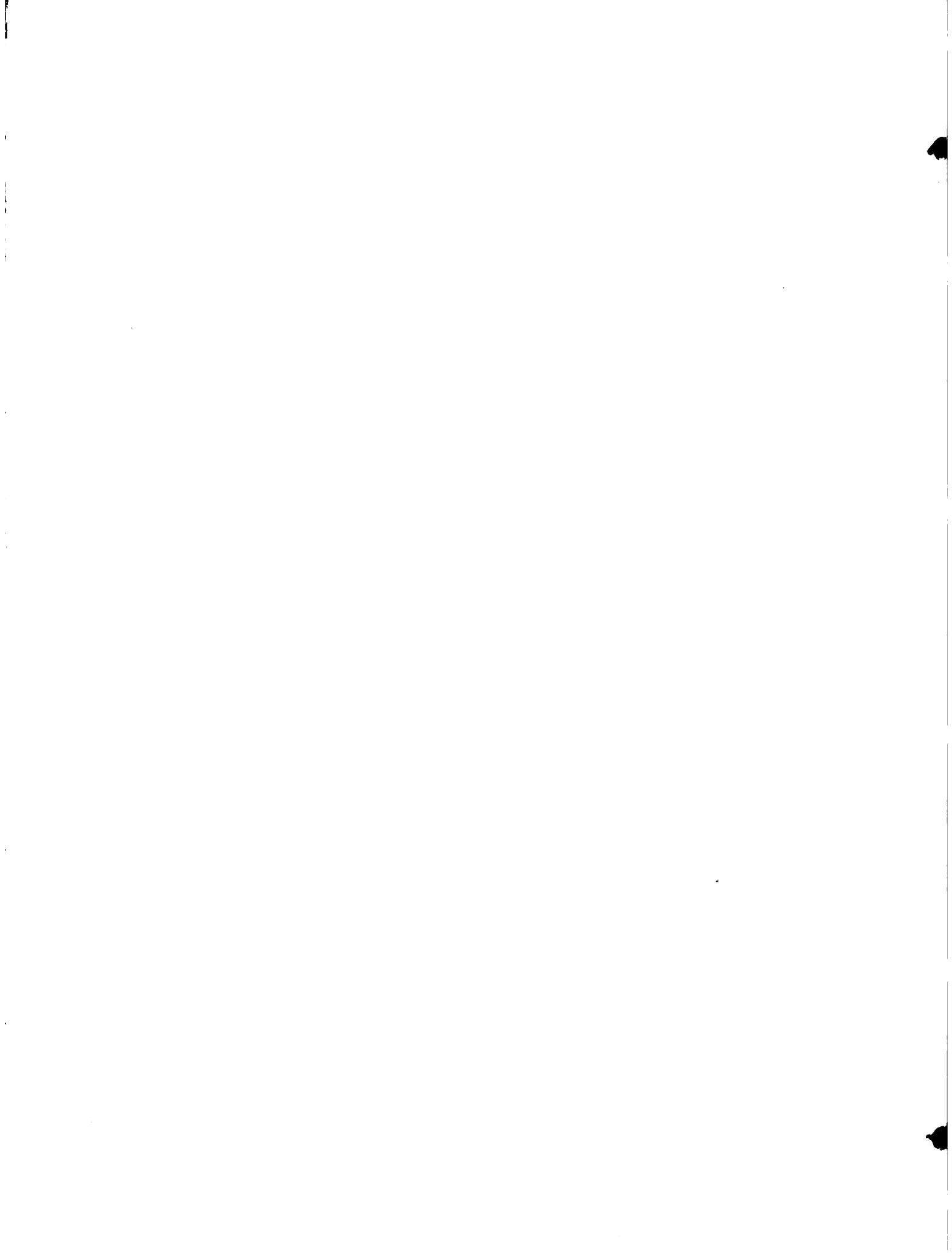
Según el análisis estadístico de los datos (Cuadro Nº 5), el efecto del cianuro sobre la absorción de sulfato fue significativo solamente cuando se usó el sistema de aplicación separada. En cambio, el efecto sobre el transporte se manifestó independientemente del sistema de aplicación. En este caso, la tendencia del sulfato a



CUADRO Nº 5. Efecto del CNK a distintas concentraciones y dos formas de aplicación sobre la absorción y transporte de  $S^{35}$ . Resultados expresados respectivamente en cpm/mg y porcentaje.

Porción Foliar	Testigo		Cianuro (0.001M)		Cianuro (0.1M)	
	cpm/mg	%	cpm/mg	%	cpm/mg	%
<b>APLICACION SEPARADA</b>						
Basal	591	52.5	692	41.3	754	36.2
Apical	533	47.5	980	58.7	1326	63.8
Absorción total	1124	100.0	1672	100.0	2080	100.0
<b>APLICACION SUPERPUESTA</b>						
Basal	430	63.7	383	57.8	342	52.0
Apical	245	36.3	279	42.2	316	48.0
Absorción total	675	100.0	662	100.0	658	100.0

movilizarse hacia la parte basal de la hoja disminuyó significativamente conforme aumentó la concentración de inhibidor. Es evidente también, que la franja transversal de cianuro, usada en el sistema de aplicación separada, actuó como una barrera efectiva para la traslación del  $S^{35}$  hacia la parte inferior, tal como lo ilustra el mayor porcentaje de radioactividad en la parte superior de la hoja. Este impedimento no se observó cuando el sulfato radioactivo fue superpuesto al cianuro.



Forma química de traslación

Los datos obtenidos en el experimento diseñado para identificar la forma química en que se mueve el  $S^{35}$  cuando éste es aplicado foliarmente o a la raíz como sulfato, no son precisos. La separación cromatográfica de los compuestos radioactivos extraídos de los tallos no fue buena posiblemente debido a la alta concentración de sales en el extracto, aunque otros factores como excesiva humedad del papel y poca constancia de la temperatura, pueden haber influido. No obstante esas dificultades, radioautografías de los cromatogramas permitieron diferenciar una gran mancha correspondiente al sulfato inorgánico y otras manchas de menor importancia que pueden ser de cisteína, cistina, glutatión, sulfato de colina y metionina, según la opinión del Dr. Manuel Ibañez.



## ANALISIS E INTERPRETACION

En el experimento de ritmo de absorción del sulfato se pueden apreciar tres períodos bien definidos. El inicial, que va desde el momento de la aplicación hasta la segunda hora, se caracteriza por un módulo muy bajo; en el siguiente período, comprendido entre la segunda y la octava hora, el ritmo alcanza su máxima intensidad. Finalmente, en el último período, que se prolonga hasta la cuarenta y ocho hora, el módulo de absorción comienza a decrecer. El primer período (con un módulo de 0.2) coincide con el encontrado por Barinov y Ratner (3) durante las primeras horas de absorción de sulfato. Estos autores lo denominan "fase latente de absorción". Es posible que esta fase se deba a que durante ese tiempo el sulfato debe atravesar la cutícula. Para dichos autores el período latente duró alrededor de 24 horas, quizá esto se explique por el hecho que el trabajo lo realizaron en tomate cuyas hojas probablemente tenían mucho mas cutícula que las hojas de frijol. Una vez establecido el paso a través de la cutícula el ritmo aumenta considerablemente (con un módulo de 4.6) y es sostenido por espacio de seis horas. Hay que hacer notar que las soluciones se secaron hasta cristalizar sobre la superficie foliar antes de la cuarta hora desde su aplicación. Sin embargo, después de ese tiempo fue cuando se alcanzó el más alto ritmo de absorción. Es probable que todavía hubiera una capa de sal en solución, probablemente saturada, entre los cristales y la superficie foliar, pues de otra manera sería muy difícil de explicar esa absorción tan grande. El hecho que la sal no permanezca en solución completa, no parece tener tanta importancia como la higroscopicidad de la sal en cuestión. La baja en el ritmo de absorción durante el tercer período pudo ser debida a una

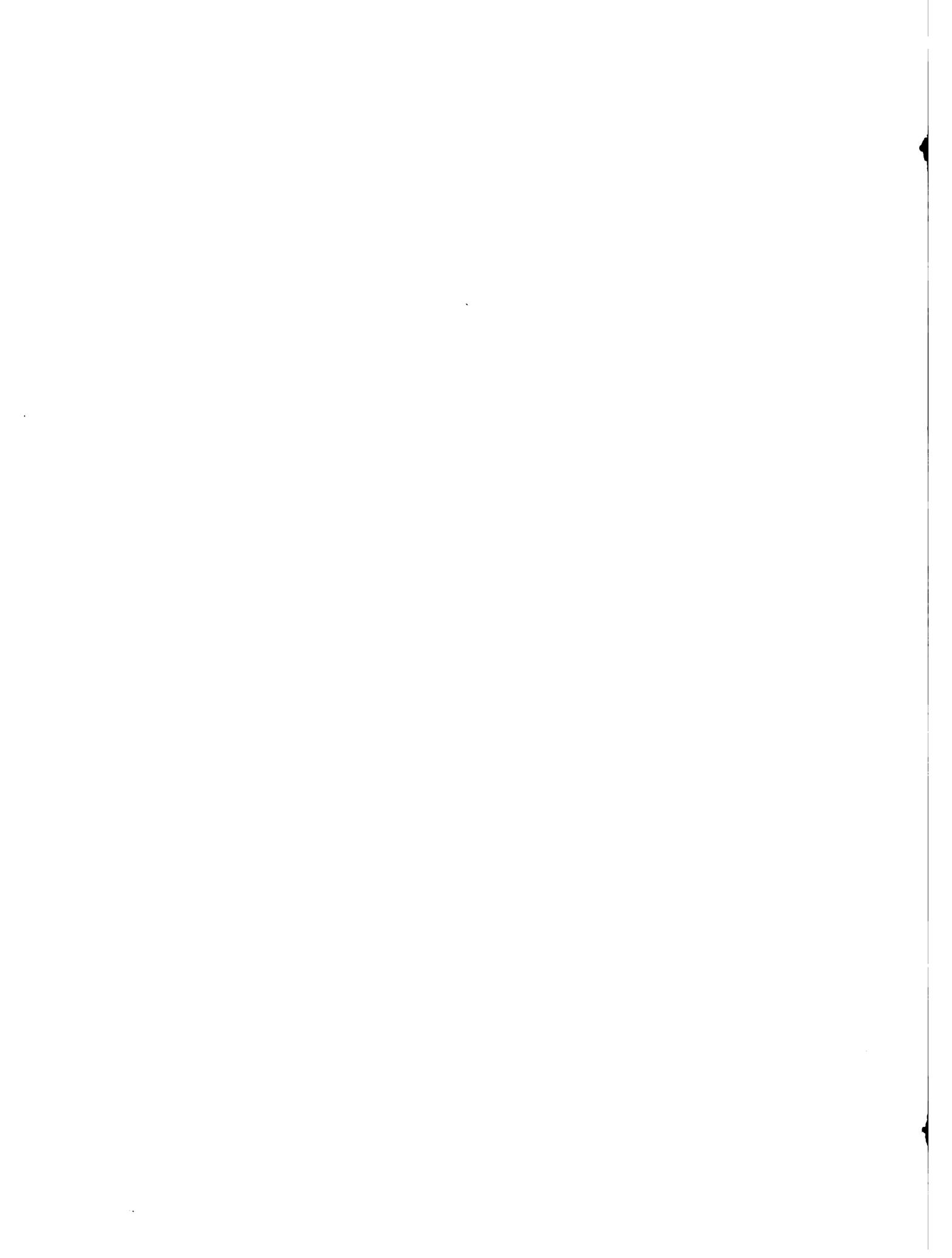


acumulación del sulfato en la hoja.

Ya se dijo que el transporte fuera de la hoja tratada fue nulo en las dos primeras horas. Sin embargo en una radioautografía se notó que el  $S^{35}$  ya había alcanzado, por ese entonces, el tallo. A las cuatro horas el radioisótopo ya se había distribuido a todas las partes de la planta, alcanzando su mayor concentración en el tallo y la raíz. Luego el sulfato siguió movilizándose a un ritmo cada vez mayor. Las radioautografías han revelado que el sulfato no es transportado a la otra hoja cotiledonar pero sí hacia la primera hoja trifoliada. Esto explicaría por que hay más concentración de  $S^{35}$  en el tallo y la raíz que en las demás hojas.

La relación entre azufre movilizado y azufre absorbido va en aumento a medida que transcurre el tiempo. A las 48 horas esta relación es cuatro veces mayor que a las cuatro horas, lo cual parece indicar que la traslación fue ininterrumpida.

En el experimento de absorción de sulfato disódico a diferentes valores de pH no se observó dependencia alguna de la absorción a la reacción de la solución, aunque a pH bajo parece que hubo una menor absorción. Aunque la mayoría de los autores han determinado diferencias en la absorción a diferentes valores de pH, Barrier y Loomis (4) encontraron para el sulfato que el pH tiene poca importancia sobre la absorción foliar. Una posible explicación para la falta de respuesta al pH puede ser que el sulfato estaba en forma disociada ( $SO_4^{--}$ ) a todos los valores ensayados y que el pequeño aumento observado en la región alcalina se debiera a la mayor cantidad de Na, lo que pudo tener algún efecto positivo sobre la permeabilidad de la cutícula.



El efecto de la intensidad lumínica sobre la absorción y sobre el transporte no fue muy marcado. Se pudo notar sin embargo que cuando las plantas crecieron en alta intensidad y absorbieron el  $S^{35}$  a baja intensidad (tratamiento A→B), tanto la absorción como el transporte disminuyeron considerablemente. Por el contrario cuando las condiciones fueron invertidas (tratamiento B→A) la absorción y transporte aumentaron. Es probable que la disminución antes señalada se deba a la baja producción de azúcares durante la absorción, pues algunos investigadores han reportado que una baja en el contenido de hidratos de carbono produce un efecto negativo sobre la absorción (20, 47, 4, 11, 44, 49) mientras que la adición de azúcares a la solución asperjada sobre plantas mantenidas en la oscuridad produce un aumento de la misma (20, 47, 54, 55). Se podría agregar a lo anterior que la absorción y transporte son limitados no sólo por la cantidad de carbohidratos disponibles sino que también por el ritmo fotosintético prevalente. Esto es sustanciado por el hecho de que la absorción y transporte se mantuvieron constantes cuando las condiciones lumínicas no cambiaron durante el período de absorción (tratamientos A→A y B→B). En resumen se podría decir que el efecto del régimen de luz sobre la absorción foliar se manifiesta de dos maneras: primero cambiando el contenido de carbohidratos y segundo, alterando el ritmo fotosintético de la hoja.

Los resultados obtenidos sobre el efecto de la aplicación de CNK difieren de los de Arisz (1). Este investigador encontró inhibición de absorción y transporte cuando el cianuro fue aplicado en la zona de absorción del ion  $Cl^-$  y ninguna inhibición cuando se aplicó en la zona



libre. El efecto estimulante del cianuro sobre la absorción de sulfato probablemente se debe a un aumento en la permeabilidad de las membranas celulares de la epidermis. El efecto negativo del cianuro sobre la movilización del  $S^{35}$  puede estar relacionado con el transporte activo del anión a través de las células parenquimatosas que rodean los haces vasculares.

En cuanto a la forma de traslación del sulfato se refiere, los resultados obtenidos en estas pruebas no permiten llegar a una conclusión definitiva. Fue difícil conseguir una buena separación de los compuestos en los cromatogramas debido al exceso de sales en los extractos de tallos. Obviamente, esto interfirió con la identificación de las manchas. Sin embargo, se puede decir que en la planta de frijol una gran porción del sulfato absorbido, ya sea por la raíz o por las hojas, se moviliza como tal sin excluir la posibilidad de que también sean transportados algunos productos de su metabolismo (metionina, ácido cisteico, cisteína, etc.). Esto contradice en parte el hallazgo de Nissen y Benson (32) quienes reportaron que el azufre se movilizaría en forma de sulfato de colina.



## CONCLUSIONES

1. En el lavado de las hojas tratadas se determinó que un lavado con 30 ml. de agua destilada era suficiente para remover la solución no absorbida por las hojas.
2. Durante las dos primeras horas la absorción fue lenta, pero luego se aceleró hasta alcanzar un módulo máximo a las seis horas siguientes, para luego disminuir.
3. En general se puede decir que el ritmo de absorción de sulfato es rápido y que a las 24 horas se ha absorbido el 50%.
4. La cantidad de azufre radioactivo movilizado fuera de la hoja aumentó con el tiempo.
5. La relación azufre movilizado/azufre absorbido no fue constante y aumentó con el tiempo.
6. La absorción de sulfato disódico no alcanzó diferencias significativas al variar los pH de 2.20 a 8.80.
7. Variaciones en la intensidad lumínica afectaron la absorción y el transporte. Este efecto parece estar asociado con el contenido de carbohidratos de la hoja, así como con el ritmo fotosintético durante el período de absorción.
8. El cianuro tuvo un efecto estimulante sobre la absorción e inhibidor sobre el transporte de sulfato cuando estos compuestos fueron aplicados por separado.
9. El cianuro no tuvo efecto sobre la absorción cuando éste y el sulfato fueron aplicados en el mismo sitio.



10. Bajo condiciones naturales el sulfato aplicado en forma de un círculo en la mitad de una hoja se mueve con mayor rapidez hacia el ápice que hacia la base.
11. La mayor parte del  $S^{35}$  incorporado vía foliar o radical se mueve en el tallo en forma de sulfato inorgánico. En menor cantidad se puede trasladar como aminoácidos u otras formas solubles.



## RESUMEN

Se investigó la absorción foliar de sulfato en plantas de frijol cuando se variaban algunas condiciones fisiológicas, y la forma química en que éste se trasladaba dentro de la planta, usando para ello azufre-35.

Se utilizaron plantas de 10 a 15 días de edad de Phaseolus vulgaris L., cultivadas en arena de río o solución nutritiva de Hoagland N<sup>o</sup> 1 con micro-elementos. Se trabajó en invernadero e en cuatro de crecimiento con control de luz y temperatura. Se hicieron seis experimentos: a) lavado de hojas tratadas; b) ritmo de absorción y transporte de sulfato; c) absorción de sulfato a distintos valores de pH; d) absorción y transporte del sulfato a distintos regímenes de intensidad lumínica; e) efecto del CNK sobre la absorción y transporte y f) forma química de traslación del azufre. Las soluciones radioactivas aplicadas tenían una concentración de 0.05 M y una actividad específica que varió en cada experimento. La aplicación se realizó siempre en la capa superior de una de las hojas cotiledonares.

Se determinó que: 30 ml. de agua destilada son suficientes para lavar el sulfato no absorbido; que el 50% del sulfato es absorbido a las 24 horas de aplicado; que el pH no influye en la absorción; que la intensidad lumínica influye en la absorción y transporte; que el cianuro no tiene efecto sobre la absorción de sulfato si aquel se aplica en la zona de absorción y en cambio aumenta la absorción y disminuye la movilización cuando se aplica en una zona libre. Finalmente se encontró que el sulfato se mueve en gran parte como sulfato inorgánico tanto se aplique por vía foliar como radical.



## SUMMARY

Sulfate absorption by bean leaves was investigated. Likewise, it was studied under various conditions in bean plants was investigated, as well as the chemical form in which sulfur was translocated in the plants. Sulfur-35 was used throughout the experiments.

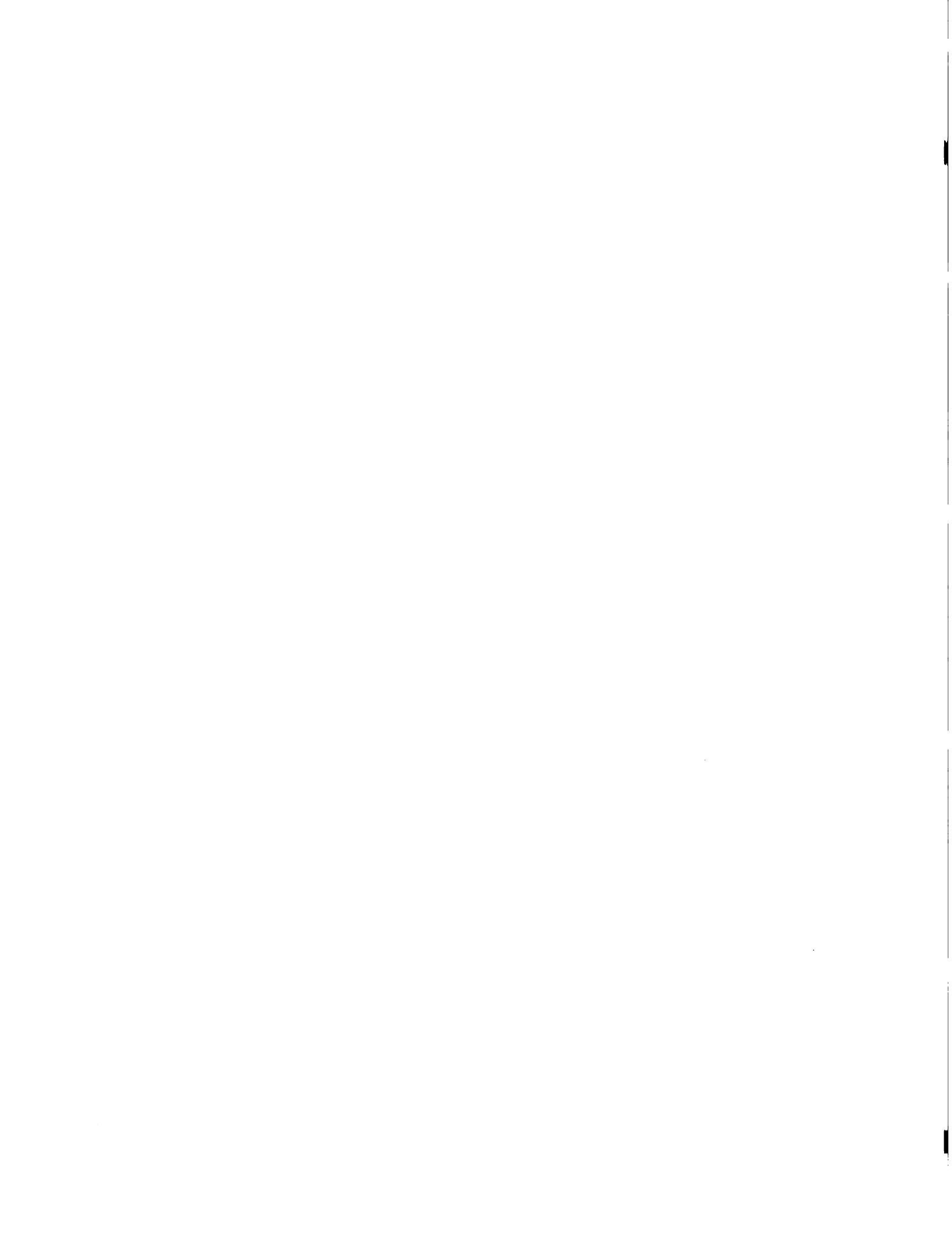
Ten to 15 days old plants of Phaseolus vulgaris L. were employed in this study. The plants were grown in river sand or Heagland NQ 1 nutritive solutions with microelements. Work was performed in a greenhouse or in a growing room with light and temperature control. Six experiments were carried out: a) washing of treated leaves; b) absorption rhythm and sulfate transport; c) sulfate absorption at different pH values; d) absorption and transport of sulfate at different level of light intensity; e) KCN effect upon absorption and transport; f) investigations on the chemical form of transport of sulfur. The radioactive solutions applied had a 0.05 M concentration and a specific activity that varied in each experiment. Application was always performed on the upper face of cotyledonary leaves.

It was determined that 30 ml. of distilled water were enough to remove the unabsorbed sulfate and that 50% of the sulfate was absorbed in 24 hours. pH has little effect upon absorption. Light intensity has an influence on absorption and translocation. KCN has no effect upon sulfate absorption when it is applied to the absorption zone. When KCN was applied to the free zone it increases absorption but decreases mobility. Sulfur practically moves as inorganic sulfur, regardless of the mode of application.



## LITERATURA CITADA

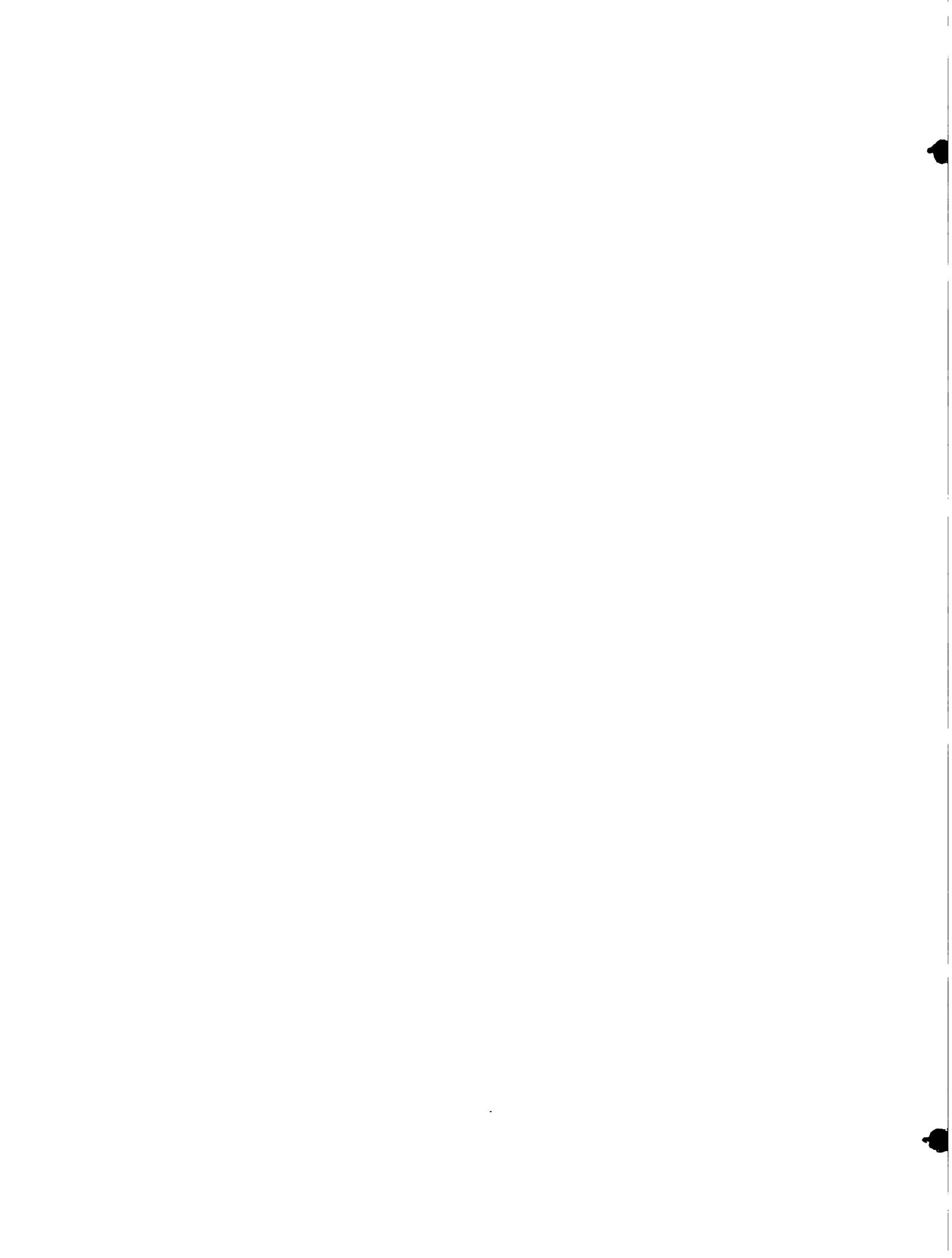
1. ARISZ, W. H. Symplasm theory of salt uptake and transport in parenchymatic tissue. In Recent Advances in Botany 2:1125-1128. 1959.
2. BARINOV, G. V. Comparative rates of entry of  $P^{32}$  and  $Ca^{45}$  and their solubility in plants following foliar application. Doklady Botanical Sciences Sections; a translation of Doklady Akademicheskikh nauk SSSR 125(1-6):88-89. 1959.
3. \_\_\_\_\_ & RATNER, E. I. Some features of the assimilation of substances through the leaves after foliar application. Plant Physiology; a translation of Fiziologiya Rastenii 6(3):333-340. 1959.
4. BARRIER, G. E. & LOOMIS, W. E. Absorption and translocation of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid and  $P^{32}$  by leaves. Plant Physiology 32(3):225-231. 1957.
5. BENSON, A. A. ET. AL. The path of carbon in photosynthesis. V. Paper chromatography and radioautography of the products. American Chemical Society Journal 72(4):1710-1718. 1950.
6. BIDDULPH, O. Radioisotopes in plants, foliar entry and distribution. In Caldecott, R. S. and Snyder, L. A. A symposium on radioisotopes in the biosphere. Minneapolis, University of Minnesota, Center for Continuation Study of General Extension Division, 1960. pp. 73-85.
7. BOYNTON, D. Nutrition by foliar application. Annual Review of Plant Physiology 5:31-54. 1954.
8. BUKOVAC, M. J. & WITTWER, S. H. Absorption and mobility of foliar applied nutrients. Plant Physiology 32(5):428-435. 1957.
9. CAIN, J. C. Absorption and metabolism of urea by leaves of coffee, cacao and banana. American Society for Horticultural Sciences. Proceedings 67:279-286. 1956.
10. COLWELL, R. N. The use of radioactive phosphorus in translocation studies. American Journal of Botany 29(10):798-807. 1942.
11. COOK, J. A. & BOYNTON, D. Some factors affecting the absorption of urea by McIntosh apple leaves. American Society for Horticultural Sciences. Proceedings 59:82-90. 1952.
12. CRAFTS, A. S. Weed control: applied botany. American Journal of Botany 43(7):548-556. 1956.



13. CURRIER, H. B. & DYBING, C. D. Foliar penetration of herbicides; review and present status. *Weeds* 7(2):195-213. 1959.
14. DICKEY, R. O., DROSDOFF, M. & HAMILTON, J. Copper deficiency of tung in Florida. Florida Agricultural Experiment Station. Bulletin no 447. 1948. 32 p.
15. DYBING, C. D. & CURRIER, H. B. A fluorescent dye method for foliar penetration studies. *Weeds* 7(2):214-222. 1959.
16. \_\_\_\_\_ & CURRIER, H. B. Foliar penetration by chemicals. *Plant Physiology* 36(2):169-174. 1961.
17. EGGERT, R. & KARDOS, L. T. Further results on the absorption of phosphorus by apple trees. American Society for Horticultural Sciences. Proceedings 64:47-51. 1954.
18. FISHER, E. G. & WALKER, D. R. The apparent absorption of phosphorus and magnesium from sprays applied to the lower surface of McIntosh apple leaves. American Society for Horticultural Sciences. Proceedings 65:17-24. 1955.
19. GUEST, P. L. & CHAPMAN, H. D. Investigations on the use of iron sprays, dust, and soil application to control iron chlorosis of citrus. American Society for Horticultural Sciences. Proceedings 54:11-21 1949.
20. GUSTAFSON, F. G. Absorption of Co<sup>60</sup> by leaves of young plants and its translocation through the plant. *American Journal of Botany* 43(2):157-160. 1956.
21. \_\_\_\_\_ & SCHLESSINGER, M. J. Absorption of Co<sup>60</sup> by leaves of bean plants in the dark. *Plant Physiology* 31(5):316-318. 1956.
22. HIGASHIMO, S. & YATAZAWA, M. The metabolism of phosphorus compounds. I. Utilization of radioactive isotopes. Shiga Agricultural College. Science report Series 1, no 1:39-41. 1952. (Original no disponible para examinar; resumen en *Chemical Abstracts* 50(9):6597 h. 1956). 24-21
23. HOAGLAND, D. R. & ARNON, D. I. The Water-culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station. Circular no 347. 1950. 32 p.
24. HRODZINS'KYI, D. M. & HRODZINS'KYI, A. M. The problem of the effect of light and CO<sub>2</sub> assimilation on the absorption of nutrients substances by plants. *Ukrainsky Botanichny Zhurnal* 17(2):29-38. 1960. (Original no disponible para examinar; resumen en *Biological Abstracts* 36(21):73.428. 1961).



25. INDENKO, I. F. Foliar nutrient application in black currant and the possibility of combining it with fungicide treatment. *Plant Physiology*; a translation of *Fiziologiya Rastenii* 7(2):160-166. 1960.
26. JYUNH, W. H. Foliar absorption of mineral nutrients with special reference to the use of radioisotopes and the "leaf washing technique". M.S. Thesis. U. S. Atomic Energy Unclassified Report no AECU-4433. 1959. 45 p.
27. KOONTZ, H. & BIDDULPH, O. Factors affecting absorption and translocation for foliar applied phosphorus. *Plant Physiology* 32(5):463-470. 1957.
28. LABARCA, C. Absorción foliar de fósforo radioactivo en plantas de café. Tesis M. A. Turrialba, C. R., Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1960. 53 p.
29. LEONNARD, O. A. Effect of additives on the herbicidal effectiveness of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid. *Plant Physiology Suppl.* 31:xxi. 1956.
30. MAEDA, S. & KOJIMA, A. The effect of pight on foliar absorption specially on the filtration of the solution into the inter cellular space through the stomata. *Kyushu Daigaku Nogabuku Gakogey Zasshi* 17:9197. 1959. (Original no disponible para examinar; resumen en *Chemical Abstract* 57(4):5046 c. 1959).
31. MEDERSKY, H. & HOFF, D. J. Factors affecting absorption of foliar applied manganese soybean plants. *Agronomy Journal* 50(4):175-178. 1958.
32. NISSEN, P. & BENSON, A. A. Choline sulfate in higher plants. *Science* 134(3492):1759. 1961.
33. ORGELL, W. H. The isolation of plant cuticle with pectic enzymes. *Plant Physiology* 30(1):78-80. 1958.
34. \_\_\_\_\_ & WEINTRAUB, R. L. Some principles involved in foliar absorption of 2,4-D. *Plant Physiology Suppl.* 31:xxi. 1956.
35. PALLAS, J. E. Effects of temperature and humidity on foliar absorption and translocation of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid and benzoic acid. *Plant Physiology* 35(5):575-580. 1960.
36. PARKER, E. R. Experiments on the treatment of mottle-leaf of citrus trees. *American Society for Horticultural Sciences. Proceedings* 31:98-107. 1934.



37. PARKER, E. R. Experiments on the treatment of mottle-leaf of citrus trees. II. American Society for Horticultural Sciences. Proceedings 33:82-86. 1936.
38. \_\_\_\_\_ Experiments on the treatment of mottle-leaf of citrus trees. IV. American Society for Horticultural Sciences. Proceedings 35:217-226. 1938.
39. ROBERTS, E. A., SOUTHWICK, M. D. & PALMITER, D. H. A micro-chemical examination of McIntosh apple leaves showing relationships of cell wall constituents to penetration of sprays solutions. Plant Physiology 23(4):557-559. 1948.
40. SCOTT, F. M. Internal suberization of plant cuticle in relation to environmental factors and permeability. Botanical Gazette 117(1):55-72. 1950.
41. SEBIOKA, H. Effect of temperatures on the translocation of foliar-applied  $P^{32}$  in the sweet potato plant. Crop Science Society of Japan. Proceedings 29(2):273-275. 1961. (Original no disponible para examinar; resumen en Biological Abstract 36(21):73.540. 1961).
42. SILBERSTEIN, O. & WITTWER, S. H. Foliar application of phosphatic nutrients to vegetable crops. American Society for Horticultural Sciences. Proceedings 58:179-190. 1951.
43. SWANSON, G. A. & WHITNEY, J. B. Studies on the translocation of foliar applied  $P^{32}$  and other radioisotopes in bean plants. American Journal of Botany 40(10):816-823. 1953.
44. TEUBNER, F. G., WITTWER, S. H., LONG, W. G. & TUKEY, H. B. Some factors affecting absorption and transport of foliar-applied nutrients as revealed by radioactive isotopes. Michigan Agricultural Experiment Station. Quarterly Bulletin 39(3): 398-415. 1957.
45. THOMPSON, C. C. Efficiencies of wetting agents used in agricultural sprays. Journal of the Science of Food and Agriculture 9:650-657. 1958. (Original no disponible para examinar; resumen en Chemical Abstract 53(4):3586 i. 1959).
46. THORNE, G. N. The effect of applying a nutrient in leaf sprays on the absorption of same nutrient by roots. Journal of Experimental Botany 8(24):401-412. 1957.
47. \_\_\_\_\_ Factors affecting uptake of radioactive phosphorus by leaves and its translocation to other parts of the plant. Annals of Botany 22(87):381-398. 1958.



48. TURREL, F. M. Citrus leaf stomata: structure, composition and pore size in relation to penetration of liquids. *Botanical Gazette* 108(4):476-483. 1947.
49. VOLK, R. & MC AULIFFE, C. Factors affecting the foliar absorption of N<sup>15</sup> labeled urea by tobacco. *Soil Science of America. Proceedings* 18(3):308-312. 1954.
50. WESTWOOD, M. N. & BATJER, L. P. Effects of environment and chemical additives on absorption of naphthalenacetic acid by apple leaves. *American Society for Horticultural Sciences. Proceedings* 76:16-29. 1960.
51. WITTMER, S. H. Progress report on atomic energy research. In *Atomic Energy Congress of the United States, Eighty-fourth Congress, second session, Washington D. C., June 4-8, 1956. Hearings before the special subcommittee on research and development. Washington, D. C., U. S. Government Printing Office, 1956. pp. 30-50.*
52. \_\_\_\_\_ Nutrient uptake with special reference to foliar absorption. In Comar, C. L., ed. *Atomic energy and agriculture; a symposium presented at the Atlanta meeting on December 27-29, 1955. Washington, D. C., American Association for the advancement of Science, 1957. pp. 139-164. (AAAS Publication no 49).*
53. \_\_\_\_\_ & TEUBNER, F. G. Foliar absorption of mineral nutrients. *Annual Review of Plant Physiology* 10:13-32. 1959.
54. YATAZAWA, M. & HIGASHIMO, S. The metabolism of phosphorus compounds. II. Utilization of radioactive isotopes. *Shiga Agricultural College, Science Reports Serie I, no 2:31-39. 1952. (Original no disponible para examinar; resumen en Chemical Abstracts 50(9):6597 i. 1956).*
55. \_\_\_\_\_ & TAI, K. The mechanism of foliar absorption of phosphates. I. Effect of accompanying sugars upon the foliar absorption of phosphate. *Journal of the Science of Soil and Manure* 24:93-95. 1953. (Original no disponible para examinar; resumen en *Chemical Abstracts* 48(3):1486 d. 1954).
56. ZUKEL, J. W., SMITH, A. E., STONE, G. M. & DAVIES, M. E. Effects of some factors on rate of absorption of malic hidrazide. *Plant Physiology Suppl.* 31:xxi. 1956.