

Fysiologie en Kwaliteit van Tuinbouwprodukten



ISBN 52 1502

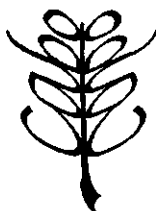
Agrobiologische Thema's 2

De reeks Agrobiologische Thema's behandelt actuele landbouwproblemen, met name op het gebied van de plantaardige produktie, vanuit de optiek van de onderzoeksdisciplines van het DLO-Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek (CABO): biochemie, fysiologie, oecologie, simulatie en systeemanalyse.

De reeks is een weergave van de voordrachten gehouden tijdens de themadagen, die jaarlijks door het CABO worden georganiseerd in samenwerking met DLO-instituten, proefstations en universitaire vakgroepen.

Fysiologie en Kwaliteit van Tuinbouwprodukten

H.M. Dekhuijzen & S.C. van de Geijn (red.)



CABO Wageningen 1990

Abstract

Dekhuijzen, H.M. & S.C. van de Geijn (ed.), 1990. Fysiologie en Kwaliteit van Tuinbouwprodukten (Physiology and Quality of Horticultural Products). Agrobiologische Thema's 2 (Agrobiological Themes 2). Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek (CABO), Wageningen, 104 pp.

The publication consists of four chapters on the quality of vegetables and four on the quality of cut flowers. The topics on vegetables include: a general introduction on the quality of vegetables (Chapter 1), research on the redistribution of root reserves and the quality of the sprout in Chicory (Chapter 2), the accumulation of nitrate in lettuce (Chapter 3) and the nitrosation of nitrogen containing compounds in vegetables (Chapter 4).

The items on cut flowers dealt with are: a general introduction on the quality of cut flowers (Chapter 5), the biochemical changes as a result of cold treatment of tulip bulbs (Chapter 6), the role of the distribution of assimilates in the flower bud opening in roses (Chapter 7) and the role of membrane transport of assimilates in the ageing of *Alstroemeria* leaves (Chapter 8).

Free descriptors: plant physiology, product quality, vegetables, cut flowers

ISBN 90 73384 02 8

© Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek (CABO),
Wageningen

Niets uit deze uitgave, met uitzondering van titelbeschrijving en korte citaten ten behoeve van een boekbespreking, mag worden gereproduceerd, opnieuw vastgelegd, vermenigvuldigd of uitgegeven door middel van druk, fotokopie, microfilm, langs elektronische of elektromagnetische weg of op welke andere wijze dan ook zonder schriftelijke toestemming van de uitgever, CABO, Postbus 14, 6700 AA Wageningen. Voor alle kwesties inzake het kopiëren uit deze uitgave: Stichting Reprorecht, Amsterdam.

Gedrukt in Nederland

Inhoud

| | |
|--|-----------|
| Woord vooraf | 1 |
| 1 Belangrijke kwaliteitsproblemen bij de teelt van groentegewassen onder glas | 3 |
| <i>Ir. G.W.H. Welles</i> Proefstation voor Tuinbouw onder Glas (PTG), Naaldwijk | 3 |
| 1.1 Inleiding | 3 |
| 1.2 Aandachtsvelden binnen het kwaliteitsonderzoek | 4 |
| 1.2.1 Uitwendige kwaliteit | 5 |
| 1.2.2 Inwendige kwaliteit | 8 |
| 1.2.3 Houdbaarheid | 9 |
| 1.3 Tot slot | 13 |
| 1.4 Literatuur | 13 |
| 2 Redistributie van inhoudstoffen en kwaliteit bij witlof van de krop | 15 |
| <i>Drs. J.A. Reerink</i> Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek (CABO), Wageningen | |
| 2.1 Inleiding | 16 |
| 2.2 Uitvoering experimenten | 19 |
| 2.3 Resultaten | 20 |
| 2.4 Discussie | 26 |
| 2.5 Literatuur | 28 |
| 3 Ophoping van nitraat in groentegewassen | 31 |
| <i>Ir. M. Blom-Zandstra</i> Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek (CABO), Wageningen | |
| <i>Ir. K. Reinink</i> Centrum voor Plantenveredelings Onderzoek (CPO), Wageningen | |
| 3.1 Inleiding | 31 |
| 3.2 Fysiologische achtergronden | 33 |
| 3.3 Mogelijk reguleringsmechanisme | 34 |
| 3.4 Consequenties voor de praktijk | 38 |
| 3.4.1 De stikstofgift | 38 |
| 3.4.2 Bijbelichting | 39 |
| 3.4.3 Veredeling | 39 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 3.5 | Literatuur | 40 |
| 4 | Nitrosering van stikstofhoudende verbindingen in groenten | 43 |
| | <i>Ir. H.G.M. Tiedink</i> Vakgroep Toxicologie (LUW)/Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek (CABO), Wageningen | |
| 4.1 | Inleiding | 43 |
| 4.2 | Screeningsonderzoek naar het voorkomen van precursors van direct mutagene NO-verbindingen in Nederlandse groenten | 45 |
| 4.3 | Rol van indolverbindingen bij de vorming van direct mutagene NO-verbindingen in groene kool | 48 |
| 4.4 | De rol van glucosinolaten bij de vorming van NO-verbindingen | 50 |
| 4.5 | Conclusies | 51 |
| 4.6 | Literatuur | 51 |
| 5 | Houdbaarheid sierteeltproducten | |
| | <i>Dr.ir. U. van Meeteren</i> Proefstation voor de Bloemisterij in Nederland (PBN), Aalsmeer. Huidig adres Vakgroep Tuinbouwplantenteelt, Landbouwniversiteit, Wageningen. | |
| 5.1 | Goede houdbaarheid, een noodzaak | 53 |
| 5.2 | Uitgangsmateriaal | 54 |
| 5.3 | Teeltomstandigheden | 55 |
| 5.4 | Oogst | 57 |
| 5.5 | Afzet | 59 |
| 5.6 | Knelpunten | 61 |
| 5.7 | Onderzoek | 61 |
| 5.8 | Literatuur | 62 |
| 6 | Verdeling van assimilaten, met name organisch stikstof, tijdens koudebehandeling van tulpebollen in verband met bloeibaarheid | 63 |
| | <i>Drs. H. Lambrechts en Prof.dr. C. Kollöffel</i> Vakgroep Botanische Oecologie en Evolutiebiologie, Rijksuniversiteit Utrecht | |
| 6.1 | Inleiding | 64 |
| 6.2 | Materiaal en Methode | 65 |
| 6.3 | Resultaten | 65 |
| 6.4 | Discussie | 70 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 6.5 | Literatuur | 72 |
| 7 | Het belang van de assimilatenverdeling bij de bloemknopopening van de roos | 75 |
| | <i>Dr. D. Kuiper, S.A. Ribôt</i> | |
| | Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek (CABO), Wageningen | |
| | <i>Dr. N. Marissen</i> | |
| | Proefstation voor de Bloemisterij in Nederland (PBN), Aalsmeer | |
| 7.1 | Inleiding | 75 |
| 7.2 | Intacte versus afgesneden roos | 77 |
| 7.3 | De probleemstelling | 78 |
| 7.3 | Materiaal en methode | 80 |
| 7.4 | Resultaten en discussie | 80 |
| | 7.4.1 Waterhuishouding | 80 |
| | 7.4.2 Effecten van saccharose | 82 |
| | 7.4.3 Proeven met individuele petalen | 84 |
| | 7.4.3 Suikergehaltes | 84 |
| | 7.4.4 Concurrentieproeven | 88 |
| 7.5 | Evaluatie | 88 |
| 7.6 | Literatuur | 89 |
| 8 | Membraantransport van assimilaten gedurende de veroudering van alstroemeriabladeren | 91 |
| | <i>Dr. J.Th. Elzenga</i> | |
| | Centrum voor Agrobiologische Onderzoek, Wageningen | |
| | <i>Drs. W.G. van Doorn</i> | |
| | ATO Agrotechnologie, Wageningen | |
| 8.1 | Inleiding | 91 |
| | 8.1.1 Hormoontoevoegingen aan vaaswater van snijbloemen | 91 |
| | 8.1.2 Houdbaarheidsbehandelingen in de praktijk | 92 |
| 8.2 | Effecten en achtergronden van hormoonwerking | 92 |
| 8.3 | Transportprocessen | 96 |
| | 8.3.1 Membraantransport | 96 |
| | 8.3.2 Regulering van membraantransport | 97 |
| | 8.3.3 Opname-experimenten met alstroemeria-bladweefsel | 98 |
| 8.4 | Literatuur | 100 |
| | De auteurs | 101 |

Voor een concurrerende land- en tuinbouw is de kwaliteit van het produkt van een zeer grote betekenis. Vanuit het landbouwkundig onderzoek is reeds vele jaren aandacht besteed aan zowel de fyto-sanitaire als de fysiologische kwaliteit van produkten. Het CABO besteedt reeds meer dan 15 jaren aandacht aan het verkrijgen van een beter inzicht in fysiologische processen om daarmee gericht de kwaliteit door veredeling, teelt of bewaring te kunnen verbeteren. Duidelijke successen zijn er geboekt bij de verlenging van de houdbaarheid van snijbloemen. Betere inzichten zijn er verworven in de nitraat- en nitrosaminen-problematiek. Er zijn echter nog vele problemen met betrekking tot houdbaarheid, stevigheid en voedselveiligheid die om een oplossing vragen. Tevens dienen zich vanuit het fundamenteel onderzoek nieuwe perspectieven aan om met behulp van moleculair-biologische en cel-fysiologische methoden het inzicht in de fysiologische kwaliteitseigenschappen te verdiepen. Het is nog de vraag of het ook mogelijk is om op korte termijn nieuwe geavanceerde niet-destructieve bepalingsmethoden toe te passen.

In dit tweede deel uit de reeks Agrobiologische Thema's, zijn de lezingen gepubliceerd die op 15 maart 1990 werden gepresenteerd op de themadag "Fysiologie en Kwaliteit van Tuinbouwprodukten". De onderzoekers van CABO geven u in samenwerking met collega's van de proefstations, collega-instituten en universitaire vakgroepen een actueel beeld van de stand van zaken en de nieuwe perspectieven in het onderzoek. De medewerking van de gastsprekers, de heren Welles (PTG), Van Meeteren (PBN/LUW), mevr. Lambrechts (RUU) en de heer Van Doorn (ATO) hebben wij zeer op prijs gesteld.

Dr.ir. J.H.J. Spiertz
Directeur CABO

1 Belangrijke kwaliteitsproblemen bij de teelt van groentegewassen onder glas

ir. G.W.H. Welles

Proefstation voor Tuinbouw onder Glas (PTG), Naald.vijk

Samenvatting

In de glasgroenteteelt spitst het kwaliteitsonderzoek zich toe op drie belangrijke aandachtsvelden, namelijk verbetering van de uitwendige en inwendige kwaliteit en verlenging van de houdbaarheid. Op het Proefstation voor Tuinbouw onder Glas is in de afgelopen 15 jaar veel empirisch onderzoek verricht naar het effect van teeltmaatregelen en rassen op de kwaliteit. Belangrijke knelpunten ten aanzien van de uitwendige kwaliteit verdienen nadere aandacht, met name kleuropbouw en -behoud van komkommer en tomaat en het verminderen van de gevoeligheid voor uitwendige fysiologische afwijkingen bij tomaat en paprika. Voor wat betreft de inwendige kwaliteit staat de smaak van tomaat, paprika, radijs en meloen en het nitraatgehalte van bladgewassen centraal in het onderzoek van zowel het PTG als enkele Wageningse instituten. Ook naar verbetering van de houdbaarheid wordt veel onderzoek verricht, onder andere via een samenwerkingsproject met ATO gericht op stevigheidsopbouw, -behoud en -afbraak bij tomaat.

In samenwerking met de Wageningse instituten zal er op het PTG in de komende jaren veel aandacht worden gegeven aan verklarend onderzoek voor opbouw van kwaliteit in de teeltfase. Dit betreft de aspecten houdbaarheid en inhoudstoffen. Het objectief kunnen meten van de verschillende kwaliteitsparameters is ook in dit verband van groot belang.

1.1 Inleiding

Het begrip produktkwaliteit kan zowel vanuit de producent als vanuit de consument worden benaderd. Beide benaderingen, ook wel uitgedrukt als 'fitness for sale' en 'fitness for use', liggen in elkaars verlengde en bereiken een synthese als kwaliteitswensen van de consument goed worden vertaald in technische specificaties (Steenkamp, 1987).

Cramwinckel (1989) onderscheidt de tweedeling analytische en emotionele kwaliteit. Alle produkttechnische eigenschappen die een belangrijke bijdrage aan de kwaliteit van een produkt geven worden gerekend tot de 'analytische kwaliteit' en de kwaliteiten van het produkt, zoals de consument deze beleeft, tot de 'emotionele kwaliteit'. Naarmate een produkt een grotere emotionele

waarde krijgt kunnen produkttechnische eigenschappen een kleiner deel van de kwaliteit verklaren.

Voor producenten in de voedingstuinbouw is het van belang om zoveel mogelijk met de wensen van de consument rekening te houden. Zowel onderzoek vanuit de markt- en kwaliteitskunde om verwachtingen van de consument om te kunnen zetten in operationeel bruikbare specificaties als onderzoek vanuit de teeltkunde om meetbare produkttechnische eigenschappen (analytische kwaliteit) optimaal te kunnen benutten in het productieproces zijn noodzakelijk. Uit het voorgaande moge duidelijk zijn dat samenwerking tussen beide disciplines een voorwaarde is om tot een voor de doelgroep (= consument) optimaal resultaat te komen.

Voor de sector glasgroenten is samenwerking van afzetorganisaties, met mogelijkheden tot het (doen) uitvoeren van marktkundig en sensorisch onderzoek, met onderzoekinstellingen en producenten (telers) dan ook essentieel om een optimaal resultaat te verkrijgen.

Het Centraal Bureau van de Tuinbouwveilingen (CBT) is voor de voedings- tuinbouw, dus ook de glasgroenteteelt, een belangrijke organisatie, waar het gaat om het signaleren van veranderingen in wensen, behoeften en verwachtingen van de consument (én handel) en het geven van informatie over optredende en te verwachten knelpunten in het tuinbouwkundig onderzoek. In het navolgende zal een overzicht worden gegeven van de belangrijkste aandachtsvelden met betrekking tot produktkwaliteit voor het glasgroente-onderzoek. Hierbij wordt met name het lopende en voor de middellange termijn geplande onderzoek aan glasteelten op het Proefstation voor Tuinbouw onder Glas (PTG) te Naaldwijk belicht. Tevens zal daarbij worden aangegeven welke problemen een instellings-overschrijdende aanpak vragen.

1.2 Aandachtsvelden binnen het kwaliteitsonderzoek

Het (fysiologisch) onderzoek naar kwaliteit strekt zich zowel over de teelt- als over de bewaarfase van produkten uit. Centrale vraag hierbij is hoe kwaliteit in termen van produkteigenschappen (analytische kwaliteit) wordt opgebouwd in de pre-harvest fase en op welke wijze deze eigenschappen kunnen worden behouden of verloren gaan tijdens de post-harvest fase. De stuur- groep Kwaliteit Voedingsgewassen van de NRLO-taakgroep Produktfysiologie onderscheidt hierbij de volgende - belangrijkste - produkteigenschappen: stevigheid, inhoudstoffen, kleur, vochtgehalte, fysiologische afwijkingen en parasitaire afwijkingen.

Bij het PTG wordt veelal van de volgende indeling uitgegaan:

1. *uitwendige kwaliteit* (vorm, kleur en het aan- of afwezig zijn van zichtbare kwaliteitsgebreken);
2. *inwendige kwaliteit*: positief gewaardeerde (smaak en vitaminegehalte) en negatief gewaardeerde inhoudstoffen (nitraat, residuen van gewas- beschermingsmiddelen en zware metalen);
3. *houdbaarheid* (verandering van stevigheid, kleurverlies en het optreden van ziekten, met name rot).

Het PTG richt zich op vrijwel alle genoemde kwaliteitsaspecten, zij het dat de teeltfase (opbouw van kwaliteit) hierbij centraal staat en het onderzoek in

de post-harvest fase zich hoofdzakelijk beperkt tot het bestuderen van de na-effecten van de tijdens de teelt opgebouwde kwaliteit.

Aan de kwaliteit liggen - afhankelijk van het probleem - verschillende fysiologische processen in de plant ten grondslag: waterhuishouding en minerale voeding, stofwisseling en assimilatenverdeling, ontwikkeling en hormonale regulatie. Waar mogelijk zal bij de bespreking van kwaliteitsproblemen hierop nader worden ingegaan.

1.2.1 Uiterlijke kwaliteit

Het uiterlijk van groenten is en blijft een uiterst belangrijke kwaliteitsparameter aangezien de consument 'met zijn ogen koopt'. Dankzij juist deze over het algemeen uitstekende uiterlijke kwaliteit van onze groenten is met name de positie van glasgroenten op de internationale markt sterk en bij enkele produkten, zoals paprika en aubergine, breidt de export nog uit.

Alle genoemde kwaliteitsaspecten in relatie tot het uiterlijk blijken door raskeuze en het nemen van maatregelen in meer of minder belangrijke mate te kunnen worden beïnvloed. In het praktijkonderzoek hebben vooral de aspecten kleur en zichtbare afwijkingen veel aandacht. Voor een aantal produkten blijven echter de kwaliteitsproblemen in bepaalde perioden van het jaar groot. Gezien de complexiteit van deze problemen zal dan ook meer achtergrondonderzoek, geënt op de reeds verkregen empirische resultaten, in de nabije toekomst noodzakelijk zijn. Als belangrijkste knelpunten kunnen in dit verband worden genoemd:

1. *opbouw, behoud en afbraak van pigmenten* bij met name komkommer en tomaat;
2. *ontstaan van fysiologische afwijkingen* tijdens aanleg en groei van de te oogsten organen, met name het optreden van zwelscheuren, goudspikkels en kroonverlies bij tomaat en het optreden van zwelscheuren, stip bij paprika en kelkverdroging bij aubergine.

Bij tomaat ontstaan vooral kleurproblemen in de zomerperiode tijdens hoge instraling en hoge kastemperaturen. Ondanks dat de biosynthese van de belangrijkste pigmenten lycopene en beta-caroteen nog niet geheel is opgehelderd (Tomes, 1963) is er veel empirisch onderzoek verricht naar de effecten van verschillende omstandigheden en factoren op het kleuringsproces, o.a. kastemperatuur, lichtsamenstelling, groeiregulatoren en voedingsamenstelling. De opgave voor het praktijkonderzoek is deze kennis te vertalen in praktische teeltmaatregelen.

Bij komkommer vormen de chloroplasten en dan met name het chlorofyl het belangrijkste pigment voor de kleur bij de oogst. Zowel de biosynthese van chlorofyl (Quispel en Stegwee, 1983) als de invloed van teeltomstandigheden en rassen op de kleur van de vrucht bij de oogst en na bewaring zijn door velen onderzocht (o.a. Janse, 1988). Bij onvoldoende lichttoetreding in het gewas worden er in de vruchtschil onvoldoende chloroplasten gevormd en deze kunnen worden omgezet in chromoplasten (gele kleur). In de zomerperiode zijn het vooral het grote bladoppervlak van het volgroeid gewas en de hoge kastemperatuur, die verantwoordelijk zijn voor respectievelijk een verminderde aanmaak en omzetting c.q. afbraak van het chlorofyl in de vruchtschil. Afhankelijk van de positie van de vruchten aan de plant, vindt deze vermin-

derde aanmaak en/of afbraak in verschillende mate plaats. Dit leidt dan ook tot heterogeniteit in de kleur, hetgeen de presentatie van het produkt vermindert. Het praktijkonderzoek is er tot op heden niet volledig in geslaagd deze problemen op te lossen, hoewel door rassenkeuze, gewasonderhoud en aanpassing van de voeding (EC, K⁺, NH₄⁺) de kleur kan worden verbeterd (Janse, 1988a). Mogelijk dat het recentelijk op ATO gestarte onderzoek naar de chlorofyl-synthese en -afbraak nieuwe aanknopingspunten voor het praktijkonderzoek oplevert.

Bij de fysiologische afwijking *zwelscheurtjes* in de vruchtwand van tomaat en paprika, spelen meerdere fysiologische processen een rol. Bakker (1988) bracht het optreden van deze scheurtjes bij tomaat in verband met de groeisnelheid van de vruchten en suggereerde dat een gewijzigde assimilatenverdeling in de plant (blad/vrucht-verhouding) de gevoeligheid voor zwelscheurtjes kan beïnvloeden. Zwelscheurtjes ontstaan steeds tussen 6 en 7 weken na de vruchtzetting, hetgeen gezien de hoge groeisnelheid in die periode, wijst op een wanverhouding tussen toename in vruchtgrootte en epidermisgroei. De waarnemingen van Den Outer en Veenendaal (1987) geven aan dat de epidermiscellen van vruchten met zwelscheurtjes tot 80 % dikkere celwanden hebben in vergelijking met die van vruchten zonder zwelscheurtjes. Hierdoor zou de elasticiteit van de epidermis mogelijk kunnen worden verminderd, hetgeen samen met bovengenoemde wanverhouding tot meer zwelscheuraantasting aanleiding kan geven.

Naast de assimilatenverdeling en stuggere weefsels speelt mogelijk de waterhuishouding en de mate van worteldruk bij het optreden van zwelscheurtjes een rol, zoals bleek uit een grotere gevoeligheid voor zwelscheurtjes bij paprika als deze werd geteeld onder een hoge kasluchtvochtigheid (Bakker, 1987).

Bij paprika zijn - in tegenstelling tot bij tomaat - de rasverschillen in gevoeligheid voor zwelscheurtjes gelukkig dermate groot dat verwacht mag worden dat dit probleem spoedig tot het verleden gaat behoren. Teneinde eventuele rasverschillen in gevoeligheid ten aanzien van zwelscheurtjes vroegtijdig op te kunnen sporen, wordt momenteel op het CRZ bij tomaat een snelle toetsmethode ontwikkeld.

Bij zowel tomaat als paprika kunnen in bepaalde perioden van het jaar respectievelijk goudspikkels en stip het uiterlijk van de vrucht ontsieren. Onderzoek op de LUW (o.a. Den Outer en Veenendaal, 1987) heeft aangetoond dat hier sprake is van plaatselijke ophoping van kristallijne verbindingen, met name calcium-oxalaat-monohydraat, welke plaatselijk leidt tot afsterven van cellen in de vruchtwand. Alle maatregelen die leiden tot een geringere Ca-toevoer naar de vruchten, blijken effectief dit probleem te verminderen. Voor de teler betekent dit echter dat een evenwicht moet worden gevonden in maatregelen, aangezien een geringe Ca-toevoer gemakkelijk kan leiden tot een grotere gevoeligheid voor neusrot (Sonneveld, 1989).

Een fysiologische kwaliteitsafwijking, welke zeer waarschijnlijk op eenzelfde proces berust, is het optreden van kelkverdroging van aubergine met name in de voorjaarsmaanden. Ook hier is aangetoond dat in het kelkweefsel plaatselijke ophoping van Ca-oxalaat-verbindingen optreedt, hetgeen tot plaatselijke necrose leidt. In tegenstelling tot bij tomaat en paprika, waar het gaat om te hoge Ca-toevoer naar de vruchten, vergroten hier juist maatregelen die

het Ca-transport naar de (kelk)bladeren bevorderen, het probleem. Immers de kelk gedraagt zich als een blad, hetgeen betekent dat een sterke toename in de verdamping zal leiden tot méér kelkverdroging (Tabel 1.1).

Een combinatie van maatregelen als raskeuze, voedingsamenstelling en beheersing van het klimaat (met name luchtvochtigheid) blijkt dusdanig effectief te zijn dat van genoemde drie afwijkingen alleen het probleem goudspikkels in combinatie met neusrot, momenteel nog in het praktijkonderzoek aandacht krijgt.

Tabel 1.1 Invloed van teeltmaatregelen (luchtvochtigheidsregime en Ca/K verhouding in de voedingsoplossing) op drie fysiologische kwaliteitsafwijkingen, namelijk goudspikkels bij tomaat, stip bij paprika en kelkverdroging bij aubergine. Tomaat en aubergine zijn beproefd in de winter en het voorjaar; paprika in een herfstteelt.

| | % vruchten met goudspikkels bij tomaat | % vruchten met stip bij paprika | % vruchten kelkverdroging bij aubergine |
|---|--|---------------------------------------|---|
| Luchtvochtigheidsregime: | | | |
| Dag hoog; nacht hoog | 74 | 59 | < 1 |
| Dag laag; nacht hoog | 52 | 70 | 12 |
| Dag hoog; nacht laag | 58 | 46 | 8 |
| Dag laag; nacht laag | 48 | 52 | 41 |
| LSD (5 %) | 11 | 15 | 7 |
| Voedingsamenstelling: K/Ca verhouding in de voedingsoplossing: | | | |
| Hoog | 25 | 40 | 17 |
| 'Normaal' | 55 | 65 | 23 |
| Laag | 79 | - | 33 |
| LSD (5 %) | 9 | 5 | 6 |

Tot slot kan bij de uitwendige kwaliteit ook het probleem van *kroonverlies* bij tomaat worden genoemd. Dit probleem treedt voornamelijk op in de warme zomermaanden, hetgeen mogelijk wijst op een verhoogde ethyleenproductie in de plant c.q. vrucht onder extreme klimaatsomstandigheden. Om twee redenen is nadere aandacht van het onderzoek voor dit probleem gewenst. Op de eerste plaats vanwege het feit dat tomaten met kroontje moeten worden

geleverd. Zonder kroontje worden tomaten door Westeuropese consumenten niet als vers herkend. Op de tweede plaats vanwege de grote gevoeligheid van kroonloze vruchten in de zomerperiode voor het opreden van waterig rot bij transport in een watergoot (Verkerke e.a., 1990). In de komende maanden zal het PTG, zo mogelijk samen met andere onderzoekinstellingen, onderzoek verrichten naar de oorzaken en mogelijke oplossingen voor dit probleem.

1.2.2 Inwendige kwaliteit

De inwendige kwaliteit van groenten geniet steeds meer belangstelling, zowel van consument als ook van het tuinbouwkundig onderzoek.

Bij dit kwaliteitsaspect spelen ook emotionele waarden van de consument een belangrijke rol. Om het imago van de voedingstuinbouw - en met name de glastuinbouw - te verbeteren zal dan ook veel moeten worden gedaan aan een positieve beeldvorming naar buiten en zal in het onderzoek de wijze van produceren (milieuvriendelijkheid) en (arbeids)omstandigheden nadere aandacht moeten krijgen.

Drie belangrijke inwendige kwaliteitsaspecten zijn bij de glasgroenten in onderzoek, namelijk het *nitraatgehalte* bij blad- en knolgewassen (met name kropsla), de *smaak* bij met name tomaat, paprika, meloen en radijs en inwendige *fysiologische afwijkingen* (o.a. radijs).

Voor wat betreft verlaging van het nitraatgehalte lijken er - naast veredeling - enige mogelijkheden te zijn om bij kropsla, geteeld in voedingsfilm, de nitraataccumulatie in de winterperiode door een aangepaste voedingsamenstelling te verminderen (De Boon en Van der Steenhuizen, 1987). Zie ook de bijdrage van Blom-Zandstra die hierop in Hoofdstuk 3 ook nader ingaat. Op het PTG wordt momenteel onderzocht in hoeverre door een gedoseerde N-toediening en een gedeeltelijke vervanging van NO_3^- door Cl^- en SO_4^{2-} , de nitraatophoping kan worden verminderd, zonder verlies aan groeisnelheid en uitwendige kwaliteitseigenschappen. De resultaten van dit onderzoek zijn behalve voor sla ook voor andere blad- en knolgewassen van belang (o.a. radijs).

Onderzoek naar verbetering van de smaak blijkt bijzonder gecompliceerd te zijn. Bij de tomaat zijn vele produkteigenschappen voor de smaak verantwoordelijk. In een door het CBT gefinancierd onderzoek, uitgevoerd door CIVO-TNO, wordt nagegaan welke produkteigenschappen bij tomaat bepalend zijn voor de smaakwaardering van de consument en met welke - instrumentele - analysemethoden deze eigenschappen kunnen worden gemeten. Uit de resultaten van de eerste fase van het onderzoek blijkt dat consumenten drie onafhankelijke criteria hanteren ten aanzien van de kwaliteitsbeoordeling. Dit zijn het uiterlijk, de snijvastheid en de smaak. Ten aanzien van de smaakwaardering spelen de volgende eigenschappen, afhankelijk van het type tomaat, in meer of mindere mate een rol: stevigheid in de mond, meligheid, taaiheid van de schil en geur- en smaakkenmerken (zuurheid, zoetheid en 'kruidige smaak') (Van Gemert en Wolters, 1989). Deze kennis over de voor smaak verantwoordelijke eigenschappen en stoffen is nodig om het praktijkonderzoek richting te geven. Op het PTG is men op grond van deze gegevens en onderkenning van het belang van het aroma voor de

smaakwaardering (Schijvens en Van der Vuurst de Vries, 1986) afgestapt van de instrumentele bepaling van refractie- en zuurgehalte en worden de effecten van teeltmaatregelen en rassen op de aangenaamheid gescreend met een eigen (consumenten)panel. Teneinde de gevonden verschillen in aangenaamheid te kunnen herleiden tot - voor veredelingsbedrijven en het teeltonderzoek - bruikbare produkteigenschappen wordt momenteel ook een eigen expert-panel getraind.

De produkteigenschap meligheid bij vleestomaten blijkt sensorisch goed te kunnen worden waargenomen. In samenwerking met het Agrotechnologisch Instituut (ATO) wordt nog dit jaar op het PTG een onderzoekproject gestart naar de mogelijkheden van objectivering van deze eigenschap.

Met behulp van genoemde beide panels zullen in de komende jaren behalve tomaat ook paprika, meloen en radijs meer aandacht krijgen. Bij paprika zal het accent daarbij vooral liggen op het in stand houden van het via consumenten- en panelonderzoek vast te stellen smaakprofiel van de afzonderlijke vruchtkleuren. Onderzoeksvoorstellen daartoe worden momenteel door enkele instituten voorbereid.

Dat smaakonderzoek niet altijd complex hoeft te zijn, bewijst het onderzoek op het PTG bij meloen. Aangezien er een hoge correlatie bestaat tussen het suikergehalte en de sensorische beoordeling op aangenaamheid, kan in principe door vaststelling van de refractie ('soluble solids') in het teelt- en rassonderzoek snel vooruitgang worden geboekt. Op veilingen wordt overigens inmiddels bij de keur van meloen al een minimumnorm voor het suikergehalte van 8 % gehanteerd en bij cherrytomaten van 6 %.

Tot slot de kasradijs. Belangrijke inwendige kwaliteitseigenschappen zijn naast het nitraatgehalte, ook voosheid en de scherpte. Naar de oorzaken van het ontstaan van voosheid tijdens de teelt is zowel door het PTG als door de LUW onderzoek verricht. Duidelijke verschillen in voosheid door teeltmaatregelen (onder andere temperatuur en voedingsconcentratie; Hey en Kobryn, 1988) en raskeuze zijn vastgesteld. Het in 1987 - door de vakgroep Plantentologie en -morfologie van de LUW - gestarte achtergrondonderzoek naar het ontstaan van voosheid, zal dienen te worden voortgezet. Nieuwe onderzoeksvoorstellen zijn daartoe in voorbereiding. Daarnaast zullen objectieve - instrumentele - meetmethoden ontwikkeld dienen te worden. Uit consumentenonderzoek van het CBT is gebleken dat vooral consumenten van oudere leeftijd een voorkeur hebben voor scherper smakende radijs in de winterperiode. In een samenwerkingsproject met het PTG is inmiddels door het RIKILT aangetoond dat de sensorische score voor scherpte goed correleert met het gehalte aan de glucosinolaatverbinding 4-methylthio-butenyl (Westerling e.a., 1989). Momenteel wordt op het RIKILT nagegaan of de dure en tijdrovende bepaling van deze glucosinolaatverbinding met behulp van de ontwikkelde HPLC-methode kan worden vervangen door een goedkopere en vooral snellere methode. Een snelle objectieve meetmethode is ook hier voorwaarde voor een systematische toepassing in het rassonderzoek, het teelt- en veredelingsonderzoek en vooral ook toepassing bij de keur op de veiling.

1.2.3 Houdbaarheid

In het algemeen kan de houdbaarheid van een produkt worden omschreven als de periode gedurende welke het produkt nog verkoopbaar geacht wordt. Afhankelijk van het produkt bepalen verschillende eigenschappen de lengte van de verkoopbare periode.

Bij vruchtgroenten spelen stevigheid (tomaat, paprika), kleurverlies (komkommer) en het optreden van rot (komkommer, paprika, bladgroenten) een belangrijke rol bij de houdbaarheid. De bovengenoemde - subjectieve - omschrijving van houdbaarheid geeft aan dat vooral de handel belang hecht aan een lange houdbaarheid. Een vermindering van de toeleveringsfrequentie aan de detailhandel en een gewenste verruiming van het afzetgebied voor kasprodukten maken een langere houdbaarheid in de toekomst wenselijk (de Veer, 1988). Echter ook de consument stelt het op prijs om het produkt enkele dagen te kunnen bewaren zonder smaakvermindering.

Het houdbaarheidsonderzoek neemt op het PTG reeds vele jaren een belangrijke plaats in. Hierbij gaat het in de eerste plaats om het - empirisch - vaststellen van de effecten van teeltmaatregelen en rassen op de houdbaarheid van met name vrucht- en bladgewassen. Veel gegevens zijn in de afgelopen 15 jaar verzameld en sedert enkele jaren wordt ook op veilingen via houdbaarheidscontroles systematisch de ondergrens voor houdbaarheid bewaakt en worden telers gemotiveerd via teeltmaatregelen en rassenkeuze de kwaliteit te verbeteren. In het teeltkundig onderzoek zijn voor wat betreft de teeltfase de meeste gegevens verzameld bij tomaten en komkommers (Tabel 1.2). Bij beide produkten zal hieronder nader worden aangegeven welke houdbaarheidsaspecten nader fysiologisch onderzoek vragen.

Tomaat

In het praktijkonderzoek wordt de houdbaarheid bepaald middels de doorkleursnelheid en het uitstalleven. De doorkleursnelheid is het aantal dagen van oogst tot het bereiken van het kleurstadium 100 % oranje; het uitstalleven is het aantal dagen tussen kleurstadium 100 % oranje en het stadium waarop de vrucht (met de hand) zacht aanvoelt. Hieruit blijkt dat vooral het stevigheidsverlies in de tijd als maat voor de houdbaarheid wordt genomen, hetgeen ook door Stenvers (1975) is beschreven.

Hoewel de gevolgde methode subjectief is, voldoet hij voor het aantonen van verschillen tussen teeltbehandelingen en rassen goed. In Tabel 1.2 zijn de kwalitatieve effecten van enkele belangrijke teeltomstandigheden in relatie tot de houdbaarheid voor tomaten samengevat.

Uit Tabel 1.2 blijkt dat naast invloed van de klimaatfactoren, vooral ook de voedingsconcentratie en -samenstelling de houdbaarheid beïnvloedt. Aangezien uit onderzoek op het PTG ook is gebleken dat de aanwezigheid van enkele uitwendige kwaliteitsafwijkingen, zoals bijvoorbeeld zwelscheurtjes en goudspikkels, de houdbaarheid van tomaten kan verkorten, is onderzoek naar vermindering van het optreden van deze fysiologische afwijkingen ook uit houdbaarheidsoogpunt van belang.

Dat naast de vruchtstevigheid ook andere factoren een rol kunnen spelen bij de houdbaarheid, bleek ook uit een door het voormalige Sprenger Instituut (nu ATO) op de veiling ontwikkeld houdbaarheidsmodel.

Naast de vruchtstevigheid bij aanvoer bleken vooral het kleurstadium en het optreden van zwelscheurtjes en goudspikkels de houdbaarheid redelijk te kunnen voorspellen (Polderdijk en Damen, 1987a). Redelijk, omdat in totaal maximaal slechts 44 % van de verschillen in houdbaarheid tussen de partijen kon worden verklaard. Met behulp van een instrumentele meting van de vruchtstevigheid kan wellicht echter de nauwkeurigheid belangrijk worden opgevoerd. Momenteel wordt daarom door het ATO nagegaan of met behulp van eenvoudige stevigheidsmeters het model gebruikt kan worden bij de veilingkeur om de slechtst houdbare partijen uit de aanvoer te halen.

Tabel 1.2 Invloed van teeltmaatregelen op de houdbaarheid* van tomaat en komkommer. + = positief effect; - = negatief effect; 0 = geen effect. +/- of 0/-: afhankelijk van seizoen. (Janse, 1988a; 1988b).

| Teeltfactor | Tomaat | Komkommer |
|--|--------|-----------|
| Luchttemperatuur | +/- | - |
| Lichtintensiteit | 0/- | + |
| CO ₂ -concentratie | 0 | 0/- |
| Luchtvochtigheid | - | - |
| Voedingsconcentratie | + | + |
| Voedingssamenstelling (K/Ca-verhouding) | + | + |
| Plantdichtheid | - | - |
| Teeltmedium (substraat/grond) | + | + |

* Houdbaarheid bepaald op basis van vooral stevigheid (tomaat) en op basis van de vruchtkleur na bewaring, c.q. het optreden van vruchtrot (komkommer).

Meer inzicht in de processen en parameters welke de vruchtstevigheid bij de oogst bepalen, kan voorspelling van de houdbaarheid vergroten en nieuwe impulsen geven aan het teelt- en veredelingsonderzoek. Een meer gerichte toepassing van respectievelijk teelt- en selectietechnieken aan de hand van verkregen objectieve criteria c.q. signaalkenmerken voor vruchtstevigheid wordt dan immers mogelijk.

Hobson (1984) verzamelde basisgegevens welke het belang van de verschillende factoren die aan de vruchtstevigheid tijdens de rijping bijdragen kunnen kwantificeren. Ongeveer 65 % van het stevigheidsverlies tijdens de rijping zou door *enzymen* (polygalacturonase 1 en 2), 10% door *celturgor*, 10 % door de *morfologische bouw* van de vrucht en de overige 15 % door *plasmo-*

desmata, celwandmateriaal en overige enzymactiviteit (onder andere cellulase) veroorzaakt worden. In een in 1989 gestart samenwerkingsproject 'stevigheid tomaat' tussen het ATO en het PTG zal het belang van deze en andere factoren zowel tijdens de opbouwfase (vruchtgroei aan de plant) als tijdens de behoud- en afbraakfase (bewaarfase) worden onderzocht. Het PTG levert hierbij vooral anatomisch/morfologische inbreng, terwijl op het ATO vooral onderzoek op cel- en weefselniveau plaatsvindt (membraansamenstelling, turgor en enzymactiviteit).

De in dit project verkregen kennis is niet alleen uit houdbaarheidsoogpunt van belang. Immers vruchtstevigheid bij de tomaat is ook een belangrijke eigenschap bij de smaakwaardering (zie onder 1.2.2).



Objectieve instrumentele meting van stevigheid bij tomaten op het PTG.

Komkommer

Bij komkommer bepalen de vruchtkleur bij de oogst en het optreden van rot slechts voor een deel de houdbaarheid. Uit houdbaarheidsonderzoek, dat het voormalige Sprenger Instituut in 1987 op veilingen uitvoerde, bleek dat bij tweederde deel van de onderzochte komkommers de houdbaarheid bepaald werd door geelverkleuring, een vijfde deel door het optreden van 'slappe vruchtnekken' en bij het overige deel door vruchttrot en 'slappe vruchten'. Gedurende de bewaring trad vruchttrot het eerst op, vervolgens respectievelijk 'slappe vruchtnekken', geelverkleuring en 'slappe vruchten'. Maximaal 19 % van de variatie in houdbaarheid tussen partijen kon met deze eigenschappen worden verklaard, hetgeen te weinig is om slecht houdbare partijen bij de keur op te kunnen sporen (Polderdijk en Damen, 1987b). In Ta-

bel 1.2 zijn de kwalitatieve effecten van enkele teeltmaatregelen op de houdbaarheid weergegeven. In het onderzoek is vooral gelet op geelverkleuring na bewaring en het optreden van rot.

Voor het toekomstig onderzoek betekent dit dat ter verbetering van de houdbaarheid aan meerdere kenmerken aandacht besteed moet worden. Naast de vruchtkleur bij de oogst verdient het voorkomen van rot veel aandacht. De oogst- en sorteerhandelingen dienen zodanig te zijn dat vrucht- en steelbeschadigingen zoveel mogelijk worden tegengegaan, aangezien beschadigingen goede ingangspoorten zijn voor schimmels (Janse, 1988a). Een nauwkeurige, instrumentele, meting van de vruchtkleur zou mogelijk de voorspelbaarheid van de houdbaarheid direct na de oogst kunnen vergroten. Het probleem 'slappe nekken' en 'slappe vruchten' treedt vooral in de zomerperiode op na bewaring, doch aangetoond is dat teeltmaatregelen de mate van optreden van 'slappe nekken' kunnen beïnvloeden. Ook treden duidelijk rasverschillen op. Door alleen volgroeide vruchten te oogsten van een behoorlijk met vruchten belast jong gewas, kan het probleem aanzienlijk worden verminderd (Janse, 1990). Op het PTG wordt in de komende zomerperiode naar mogelijke achtergronden van dit probleem gezocht, zo mogelijk met ondersteuning van Wageningse instituten.

1.3 Tot slot

In het voorgaande zijn een aantal belangrijke kwaliteitsvraagstukken bij enkele vruchtgroenten en een enkel eenmalig oogstbaar gewas besproken. Kwaliteitsonderzoek op het PTG vindt daarnaast ook plaats bij vrijwel alle andere groentegewassen welke in de praktijk worden geteeld. Veelal betreft het ook hier empirisch onderzoek (rassen, effecten van teeltmaatregelen op diverse kwaliteitskenmerken). In de komende jaren zal het, in nauwe samenwerking met andere onderzoekinstellingen, noodzakelijk zijn om enerzijds het verklarend onderzoek naar de achtergronden van kwaliteitsopbouw tijdens de teelt verder te versterken, anderzijds de verkregen kennis te kwantificeren en in te bouwen in bestaande simulatiemodellen (onder andere ten behoeve van de kasklimaatregeling). Objectivering van de kwaliteit, middels het ontwikkelen van instrumentele meetmethoden voor de verschillende kwaliteitsparameters, is ook hiervoor van groot belang teneinde te kunnen komen tot een bedrijfseconomische duiding van het begrip kwaliteit en het ontwikkelen van beslissingsondersteunende systemen voor de teler.

1.4 Literatuur

- Bakker, J.C. en J.A.M. van Uffelen, 1987. Zwelscheuren bij paprika blijven een gecompliceerd probleem. *Groenten en Fruit* 43(24): 42-43.
- Bakker, J.C., 1988. Russeting (cuticle cracking) in glasshouse tomatoes in relation to fruit growth. *Journal of Horticultural Science* 63(3): 459-463.
- Boon, J. van der, J.W. van der Steenhuizen en E. Steingrover, 1988. Effect of EC and Cl and NH₄ concentration of nutrient solutions on nitrate accumulation in lettuce. *Acta Horticulturae* 222 (1988): 35-42.

- Cramwinckel, A.B., 1989. Wat is kwaliteit? De betekenis van 'analytische' en 'emotionele' kwaliteit. *Voedingsmiddelentechnologie* (6): 17-21.
- Gemert, L.J. van en C.J. Wolters, 1989. Relaties tussen consumentenvoorkeuren en zintuiglijk waarneembare kenmerken bij tomaat. CIVO-TNO Zeist, rapport no. A 89.399.
- Heij, G. en J. Kobrijn, 1988. Influence of day temperature and salt concentration on the incidence of sponginess in radish tubers (*Raphanus sativus* L.) *Netherlands Journal of Agricultural Science* 36 (3): 309-313.
- Hobson, G., 1984. The ripening of tomato fruit. The mechanism of tomato fruit ripening. Annual Report G.C.R.I. Littlehampton 1984: 58-59.
- Janse, J., 1988a. Teeltmaatregelen en kwaliteit bij komkommer: Positief effect van de instraling. *Tuinderij* 68(3): 30-32.
- Janse, J., 1988b. Teeltmaatregelen en de houdbaarheid van tomaat: Het mag niet alleen om de productie draaien. *Tuinderij* 68(1): 22-23.
- Janse, J. 1990. Slappe nekken bij komkommer. Ongepubliceerde gegevens PTG, Naaldwijk.
- Outer, R.W. den en W.L.H. van Veenendaal, 1987. Goldspecks in tomato fruits (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Journal of Horticultural Science* 63(4): 645-649.
- Polderdijk, J.J. en P.M.M. Damen, 1987a. Kwaliteitskenmerken en houdbaarheid van tomaat, 1987. Sprenger Instituut. Rapport no. 2348.
- Polderdijk, J.J. en P.M.M. Damen, 1987b. Houdbaarheidsonderzoek komkommers 1987. Sprenger Instituut. Rapport no. 2350.
- Quispel, A. en D. Stegwee, 1983. *Plantfysiologie*. Bohn, Scheltema en Holkema, Utrecht/Antwerpen, 1983.
- Schijvens, E.P.H.M. en R.G. van der Vuurst de Vries, 1986. Onderzoek naar de smaak van tomaten. Sprenger Instituut. Intern rapport no. 2337.
- Sonneveld, C., 1989. Tomaat: plotseling veel neusrot. Hoog verdampingsniveau een van de oorzaken. *Groenten en Fruit* 44(41): 41.
- Steenkamp, J.E.B.M., 1987. Voedingsmiddelen van grondstof tot consument. 4. Voedingsmiddelen en consument. *Voedingsmiddelentechnologie* (18): 13-17.
- Stenvers, N., 1975. Growth, ripening and storage of tomato fruits (*Lycopersicon esculentum* Mill.). The measurement of softening during the ripening of tomato fruits. *Gartenbauwissenschaft*, 1973 (38-6): 517-531.
- Tomes, M.L., 1963. Temperature inhibition of carotene synthesis in tomato. *Bot. Gaz.* 124: 180-185.
- Veer, J. de, 1988. 'De technische en economische ontwikkeling in de glastuinbouw tot het einde van deze eeuw.' Voordracht op een symposium 'Onderzoek voor de glastuinbouw tot 2000' ter gelegenheid van de opening nieuwbouw op het Proefstation voor Tuinbouw onder Glas te Naaldwijk.
- Verkerke, W., J. Janse, C. Gielesen, K. Buitelaar en M. Boesten, 1990. Waterig rot bij tomaat: de stand van zaken. Proefstation voor Tuinbouw onder Glas te Naaldwijk. Verslag no. 12.
- Westerling, F.J., F.G.H. Hollman, D.P. Venema, O.P. Bordewijk en J.M.M. van Maaren, 1989. Onderzoek naar de relatie tussen de scherpte en het glucosinolaatgehalte van 39 monsters radijs; oktober 1988 tot juni 1989. ATO-rapport 59.

2 Redistributie van inhoudstoffen en kwaliteit van de krop bij witlof

Drs. J.A. Reerink
Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek (CABO)

Samenvatting

Om verbanden te kunnen leggen tussen de kwaliteit van witlof en de omstandigheden tijdens zowel de wortelgroei in de vollegrond (de teelt), als tijdens het forceren (de trek), wordt onderzoek verricht naar het verloop van de fysiologische processen tijdens de trek, en de invloed hierop van verschillende factoren als temperatuur, voeding en de fysiologische toestand van de wortel. Deze laatste, ook wel 'rijpheid' genoemd, is eigenlijk een complex van factoren, dat bepaald wordt door het ras, de teeltomstandigheden en de vernalisatieperiode voor de trek.

Door het ontbreken van fotosynthetische activiteit tijdens de trek, is de plant energetisch, maar grotendeels ook voor bouwstoffen aangewezen op de reserves in de wortel. De beschikbaarheid van de inhoudstoffen in de wortel voor redistributie bepaalt dan ook de potentiële kropvorming. De wortels bevatten een grote hoeveelheid fructosepolymeren (inuline). Om deze reden wordt het gehalte van het afbraakproduct fructose veelal als indicatie voor de rijpheid gebruikt. Een groot deel van de fructose wordt echter omgezet in saccharose. Bovendien blijken andere inhoudstoffen van de wortel, waaronder organische stikstofverbindingen, een belangrijk aandeel in de kropdrogestof te vormen. Ook de beschikbaarheid van deze stoffen is afhankelijk van de omstandigheden tijdens de wortelteelt, zoals de bemesting van de bodem, en van de lengte van de koude opslagperiode.

De nutriëntengift tijdens de trek kan maar voor een deel een beperkte beschikbaarheid van mineralen in de wortel compenseren. Door aanpassing van de temperatuur tijdens de trek kan de van de fysiologische toestand afhankelijke groeisnelheid van de krop gereguleerd worden, maar het voorkomt niet dat er verschillen in ontwikkeling blijven bestaan, wat blijkt uit bijvoorbeeld de chemische samenstelling van de krop.

De verschillen in ontwikkeling veroorzaken niet alleen een variabele productie, maar bepalen ook de morfologische en fysiologische eigenschappen van de krop, en daardoor de kwaliteit.

2.1 Inleiding

Witlof, *Cichorium intybus* L. var. *foliosum*, is een tweejarige plant van de familie der *Compositae*, en nauw verwant aan bijvoorbeeld cichorei, *C. intybus* L. var. *sativus*. In het eerste jaar vormen de planten penwortels waarin reservestoffen worden opgeslagen. De wortels bevatten een wit melksap, waarin bittermakende stoffen zoals lactucine voorkomen. Witlof is een langedagplant, die bovendien een koudeperiode nodig heeft voor de inductie van de bloei in het tweede jaar: de vernalisatie.

Gebleekt cichorei-blad werd reeds vóór 1550 voor consumptie gebruikt, maar de teelt van witlof deed zijn intrede rond 1850 in België, in de driehoek Leuven-Brussel-Mechelen, en verspreidde zich van hieruit, via het westen van België, naar het noorden van Frankrijk en naar Nederland.

Nog steeds zijn deze drie landen de belangrijkste producenten van witlof. Het aandeel van Frankrijk in de witlofproductie is het grootst, gevolgd door België, maar terwijl in deze landen in de jaren zeventig het witlofareaal reduceerde, vond in Nederland juist een uitbreiding plaats. Sindsdien is niet alleen de Nederlandse productie enorm toegenomen, maar vooral het aandeel van de export (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Ontwikkelingen in de productie, export en import (Miljoenen kg), in Frankrijk, België en Nederland (bron:PAGV, 1989)

| | land | 1976/77 | 1980/81 | 1984/85 | 1987/88 |
|-----------|-----------|---------|---------|---------|---------|
| productie | Frankrijk | 97 | 166 | 186 | 199 |
| | België | 80 | 84 | 93 | 98 |
| | Nederland | 20 | 28 | 45 | 61 |
| export | Frankrijk | 1,0 | 4,2 | 2,1 | 5,8 |
| | België | 35,1 | 31,6 | 31,5 | 27,0 |
| | Nederland | 1,3 | 4,4 | 13,8 | 24,5 |
| import | Frankrijk | 0,0 | 5,3 | 9,0 | 6,8 |
| | België | 0,0 | 1,7 | 3,4 | 5,0 |
| | Nederland | 2,2 | 2,3 | 0,4 | 0,53 |

Het productieproces van witlof bestaat uit drie fasen.

De teelt van de penwortels vindt plaats vanaf eind april, wanneer meestal direct in de volle grond wordt gezaaid. De wortels worden vanaf begin augustus tot half november gerooid. Hierna volgt een periode van koudebehandeling door de wortels direct na het rooien in te kuilen, ofwel op te slaan in een koelcel bij 0 tot -1 °C. Wanneer de wortels bij een hogere temperatuur in het donker worden geplaatst, ontwikkelt zich door etiolerings de witte krop. De reservestoffen in de wortel fungeren daarbij als bouwsteen- en energiebron. De plant blijft in een vegetatief stadium, waarbij wel een bloemsteel wordt aangelegd: de zogenaamde pit.

Om de groei van de kroppen te versnellen wordt de temperatuur verhoogd, waardoor deze fase het 'forceren' of 'trekken' van witlof wordt genoemd. Bij de trek op hydrocultuur is in de praktijk een trekduur van 21 tot 23 dagen gebruikelijk.

Omdat het uitgangsmateriaal in hoge mate de forceerresultaten bepaalt, stelt men aan de teelt van de wortels bijzondere eisen. De bodem moet een goed vochthoudend vermogen hebben, goed bewortelbaar en niet slempgevoelig zijn. Het organisch-stof-, stikstof- en kalkgehalte, de pH en de dichtheid van de grond zijn van grote invloed op wortelgroei (van Kruistum & Buishand, 1982; van Kruistum et al., 1989), evenals de voorvrucht en klimatologische omstandigheden.

Door de speciale eisen voor de wortelteelt en de toegenomen specialisatie van de witloftrek wordt een steeds groter deel van de wortels op contract geteeld (Tabel 2.2).

Tabel 2.2 Ontwikkelingen in het teeltareaal van witlofwortels en het aandeel van de contractteelt. (bron: aug./sept.-steekproef CBS; PAGV, 1989)

| | 1976 | 1978 | 1980 | 1982 | 1984 | 1986 | 1988 |
|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| totale teelt (ha) | 2377 | 3293 | 3435 | 3776 | 4731 | 6165 | 5208 |
| contractteelt (ha) | 639 | 795 | 913 | 1068 | 2103 | 3438 | 3809 |
| % contractteelt | 27 | 24 | 27 | 28 | 44 | 56 | 73 |

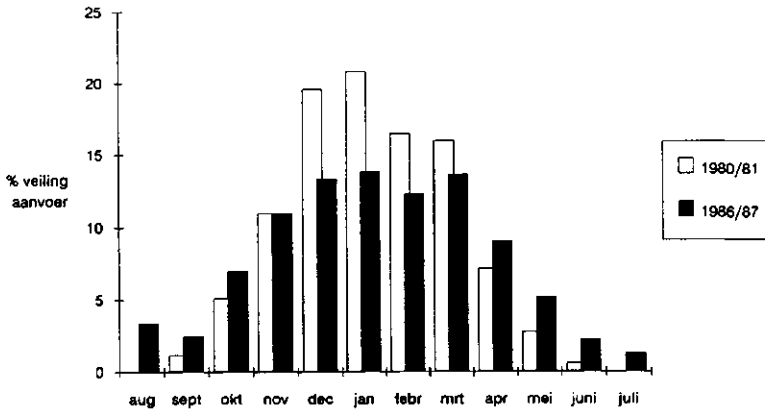
Tijdens de groei van de penwortel worden assimilaten in de vorm van saccharose vanuit de spruit naar de wortel getransporteerd, waar omzetting plaatsvindt in inuline, dat als reserve-koolhydraat wordt opgeslagen. Dit inuline is een polyfructosaan dat bestaat uit onvertakte ketens van 20 tot 40 fructosyleenheden met een eindstandige glucosylgroep (Meier & Reid, 1982). Mogelijk bevindt zich ook ongeveer halverwege de keten nog een glucosyleenheid (Devlin, 1975).

Tijdens de periode van koude opslag vindt onder andere reversie van dit proces plaats: inuline wordt afgebroken tot oligofructosanen en uiteindelijk fructose. In de grote hoeveelheid fructose die vrijkomt vindt isomerisatie tot glucose plaats, gevolgd door synthese van saccharose. Op deze wijze neemt het gehalte aan voor redistributie beschikbare koolhydraten toe. De mate van inuline-afbraak bepaalt in hoge mate de geschiktheid van de wortels voor kropproductie, wat wordt aangeduid als 'trekrijpheid'.

De snelheid van deze afbraak is per ras verschillend, afhankelijk waarvan men ze voor vroege, middelvroeg of late trek gebruikt. Door het steeds grotere aanbod van verschillende (vroeg en late) rassen en de aanpassing van de trekomstandigheden, vindt een steeds grotere spreiding van de witloftrek

over het jaar plaats, wat goed zichtbaar is aan het aanvoerpatroon op de veilingen (Figuur 2.1).

Aangezien de teeltperiode van de wortels slechts enkele maanden varieert, wordt de spreiding van de trek in het seizoen gerealiseerd door, naast het gebruik van vroege of late rassen, de lengte van de bewaarperiode te variëren. Als gevolg van de grotere 'rijpheid' van de wortels na een langere bewaarperiode, treedt een snellere kropgroei op. Dit wordt gecompenseerd door de trektemperatuur te verlagen.



Figuur 2.1 Procentuele veilingaanvoer van witlof per maand, in het seizoen 1980/81 en 1986/87 (bron: PAGV, 1989)

Er zijn echter meer factoren dan alleen de koolhydraatsamenstelling van de wortels die invloed hebben op de kropontwikkeling. Zo is niet alleen het gehalte van mineralen in de wortel, maar vooral ook de beschikbaarheid ervan van belang. De voedingsoplossing kan tijdens de trek voor een deel in de nutriëntenbehoefte van de groeiende krop voorzien.

Bij de trek van witlof is de relatieve luchtvochtigheid veelal erg hoog, wat een lage transpiratie tot gevolg heeft. Dit remt ook de opname van nutriënten uit de voedingsoplossing en het transport ervan door het xyleem.

Een voorbeeld hiervan is de geringe transpiratie in vooral het binnenste van de krop, de pit, waar bovendien in het begin van de trek weinig celstrekking plaatsvindt. Door een gereduceerd xyleemtransport ontstaat hier gemakkelijk een calciumdeficiëntie. Calcium is essentieel voor de stabiliteit van membranen en van de middenlamel. Wanneer in een later stadium van de trek de celstrekking toeneemt ontstaan bruinverkleuringen, de zogenaamde bruine pit, vergelijkbaar met bijvoorbeeld 'bitterpit' in appels (Palzkill et al., 1976).

Van groot belang voor zowel de haarwortelontwikkeling als de opname van nutriënten is een goede aëratie van het voedingsmedium. Zuurstof is nodig voor de respiratie en kan bij een compact weefsel zoals dat van de penwortel makkelijk beperkend worden. Bij een lage zuurstofspanning is de opname van ionen als kalium en fosfaat sterk gereduceerd (Marschner, 1986).

Ook de zuurgraad van de voedingsoplossing kan de opname van mineralen door de wortel sterk beïnvloeden. Een te lage of hoge pH kan niet alleen het

wortelweefsel beschadigen, maar verstoort ook het membraantransport en beïnvloedt de valentie van ionen als fosfaat en daardoor de beschikbaarheid voor opname door de wortels. Dit kan leiden tot deficiëntie in de krop, maar het tegenovergestelde is ook mogelijk.

Een voorbeeld van het laatste is de overvloedige ijzeropname bij een te lage pH, waardoor blauwverkleuring van het lof optreedt. De behoefte aan ijzer bij witlof is laag, daar het een etiolerende groei betreft en een van de belangrijkste functies van ijzer juist ligt bij de synthese van chlorofyl.

Aangezien de witloftrek wordt uitgevoerd met wortels die zich, door ras-eigenschappen, de wijze van teelt en de variabele periode van koude opslag, in een verschillende fysiologische toestand bevinden, zijn geen algemeen geldende optimale trekomstandigheden te definiëren.

Door het grote aantal factoren dat de kropontwikkeling beïnvloedt, zijn er naast ziekten door infectie met schimmels en bacteriën, in de praktijk verschillende andere verschijnselen die vrij onregelmatig optreden en tot grote produktieschade kunnen leiden. Voorbeelden hiervan zijn losse krop, bruinrand, necroses, glazigheid, blauw lof, roodverkleuringen, lange pit en bruine pit.

In 1988 werd basisonderzoek naar de trek van witlof gestart bij het CABO, in samenwerking met het PAGV en met financiële steun van het bedrijfsleven. Het doel van dit onderzoek is meer inzicht te krijgen in de chemische en fysiologische veranderingen die plaatsvinden in de wortel en in de zich ontwikkelende krop. Daarbij wordt de invloed bestudeerd van zowel externe als interne factoren op processen, die een rol spelen bij de redistributie van inhoudstoffen en de vorming van de krop.

Dit moet leiden tot globale richtlijnen voor een trekstrategie, die gericht is op aanpassing van de trekomstandigheden aan de fysiologische toestand van de wortel en de zich ontwikkelende krop, om hiermee kropproductie, in kwantitatief en kwalitatief opzicht te optimaliseren. Het onderzoek bevindt zich in een tussenfase.

2.2 Uitvoering experimenten

De wortels die in de experimenten gebruikt worden, ras 'Flash' of 'Faro', zijn afkomstig van het PAGV te Lelystad. Ze worden op een nauwkeurig omschreven wijze geteeld onder verschillende condities.

Voor een aantal experimenten zijn wortels van het ras 'Flash' geteeld op stikstofarme grond, waarvan enkele kavels onbemest zijn gelaten. Andere kavels zijn vóór de teelt bemest met 80 kg stikstof/ha en/of tijdens de teelt drie maal met 50 kg/ha. Vervolgens zijn de wortels 5 of 15 weken bij 0 °C bewaard.

De experimenten worden uitgevoerd in twee identieke lichtdichte groeicellen, waarin de luchttemperatuur geregeld kan worden. De per cel aanwezige 16 PVC-bakken, worden tot maximaal de helft gevuld met wortels (ca. 25 stuks) om een gelijkmatig aanbod van nutriënten door het continu stromende voedingsmedium te waarborgen.

Als voedingsmedium wordt een verdunning van een Hoagland-voedingsoplossing gebruikt (5 mM KNO₃, 2 mM MgSO₄, 5 mM Ca(NO₃)₂, 1mM

KH_2PO_4 , en micronutriënten). De voedingsmedia hebben een circulatiesnelheid van 300 l/h en worden per cel betrokken uit vier gescheiden reservoirs met een inhoud van 75 l. Er wordt een temperatuur van het voedingsmedium gehandhaafd die 3 °C hoger ligt dan de luchttemperatuur in de cellen.

Op verschillende tijdstippen tot 40 dagen na het inzetten, worden vijf tot tien planten per gehanteerde trekconditie gebruikt voor individuele bepaling van verandering in drogestofgewicht en -gehalte van wortel, krop en haarwortels.

Daarnaast worden bepalingen gedaan aan de veranderingen in chemische samenstelling van wortel en krop. Het gehalte en de samenstelling van koolhydraten wordt bepaald met een HPLC-techniek.

Bovendien worden individueel de visuele kwaliteitskenmerken van wortel en krop fotografisch vastgelegd voor de bepaling van de compactheid, geslotenheid en lengte van de krop, de pitlengte, het voorkomen van bruine of holle pit en van aantastingen van de wortel.

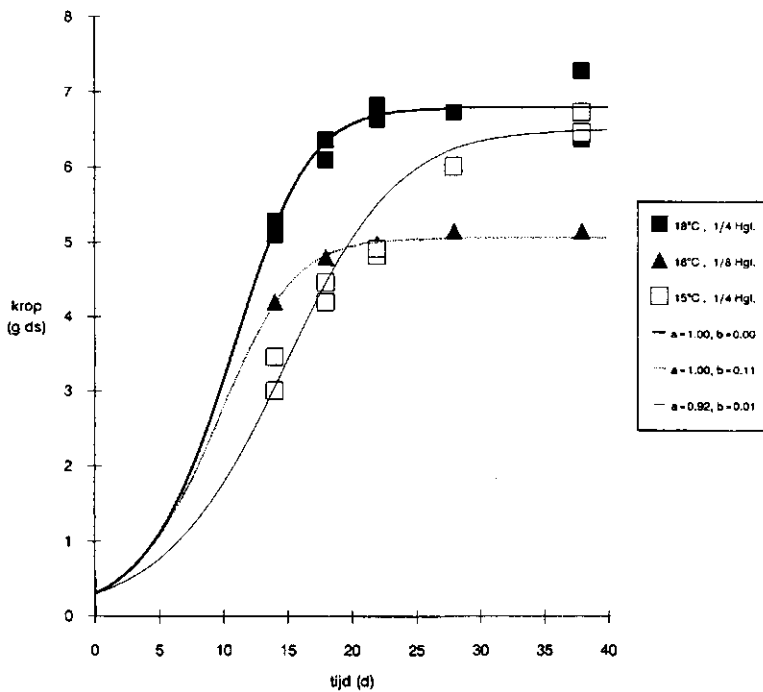
2.3 Resultaten

In eerste instantie is het belangrijk te weten wat het overall-effect van een verschil in temperatuur en nutriëntengift tijdens de trek is. Een 3 °C lagere temperatuur heeft, in het tijdsbestek van 23 dagen waarbinnen in de praktijk de trek plaatsvindt, een lager kropdrogestofgewicht tot gevolg. Echter wanneer de kropgroei tot 40 dagen wordt gevolgd, blijkt uiteindelijk wel eenzelfde kropproductie bereikt te worden (Figuur 2.2).

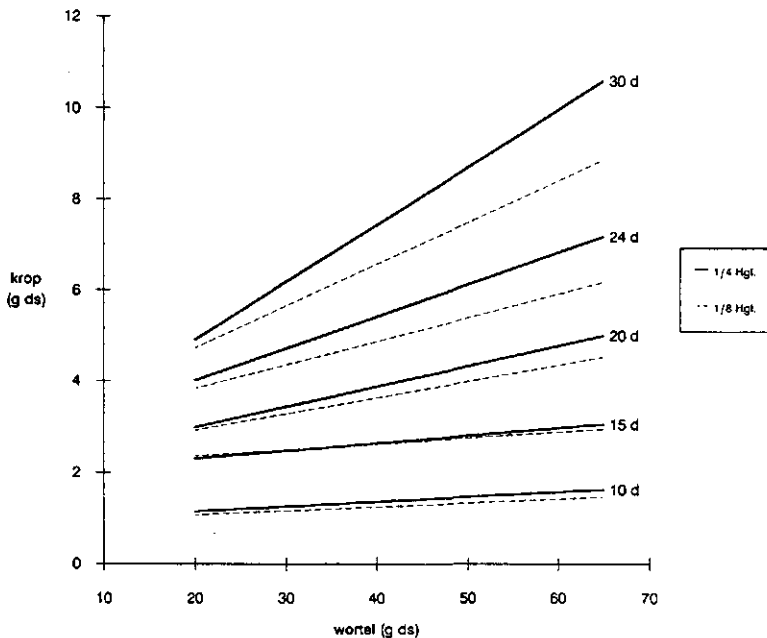
Uit de resultaten van trekexperimenten met een verdunningsreeks van een volledige Hoagland-oplossing als voedingsmedium, blijkt dat de behoefte van witlof aan externe nutriënten vrij gering te zijn. Alleen bij een verdunningsfactor hoger dan 4 wordt de kropproductie geremd. Daarnaast blijft het drogestofgehalte vrijwel ongewijzigd. Alleen een onverdunde Hoagland-oplossing veroorzaakt na een groeiperiode van 20 dagen een wat lager drogestofgehalte van de krop, maar beïnvloedt het drogestofgewicht niet. Afwijkend van het effect van een lagere temperatuur, wordt bij een geringe nutriëntengift ook na 40 dagen niet hetzelfde niveau van kropproductie bereikt (Figuur 2.2).

Het verloop van de groeicurven (Woodward & Sheehy, 1983) toont dat een lage temperatuur een vertraging van de ontwikkeling (a), en een nutriëntendeficiet een groeiremming (b) veroorzaakt.

De invloed van de nutriëntengift op de kropproductie is niet bij alle wortels gelijk. Ondanks een voorselectie op wortelmaat bij het PAGV, varieert bij aanvang het drogestofgewicht van de wortels die in de experimenten gebruikt worden van 25 tot 60 gram. De eerste 10 tot 15 dagen is de kropproductie vrijwel onafhankelijk van het wortelgewicht, maar daarna blijft bij de kleine wortels de kropgroei sterk achter.



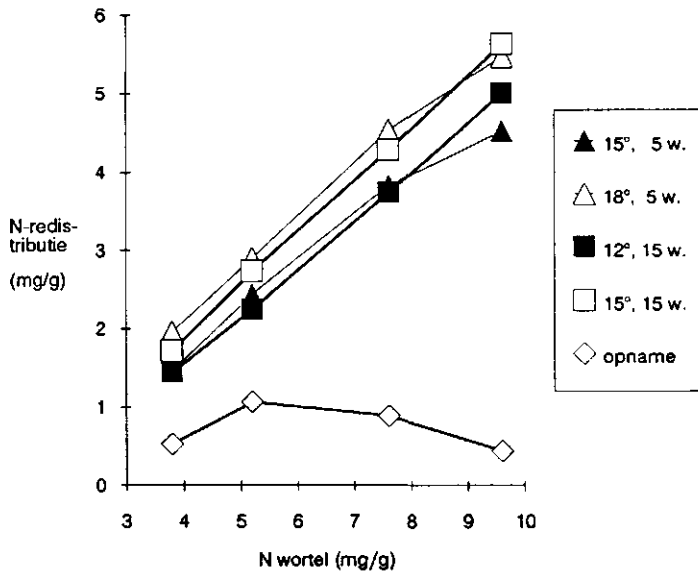
Figuur 2.2 Kropgroei tijdens de trek bij 18 of 15 °C, en 1/4 en 1/8 Hoagland-oplossing; curvefitting naar Woodward & Sheehy, 1983; a = groeifactor, b = remmingsfactor.



Figuur 2.3 Lineaire tussen kropproductie en wortelgewicht na 10, 15, 20, 24 en 30 dagen trek bij 18 °C en 1/4 en 1/8 Hoagland-oplossing

Een geringere nutriëntengift heeft alleen een sterk remmend effect op de krogroei bij grote wortels, in een laat stadium van de trek (Figuur 2.3). Dit wijst op een beperkte hoeveelheid voor redistributie beschikbare koolhydraten bij kleine wortels, terwijl bij grote wortels eerder een mineralengebrek optreedt. Niet alleen hebben kleine wortels minder inhoudstoffen, maar ook hun koolhydraatgehalte blijkt lager, en de gemiddelde ketenlengte van de koolhydraten groter te zijn: de beschikbaarheid voor redistributie is minder.

De nutriëntenvoorziening tijdens de trek is sterk afhankelijk van de mineraalopname door de wortels tijdens de teelt in de vollegrond. Evenredig met de mate van stikstofbemesting van de bodem (0, 80, 150 en 230 kg/ha), neemt ook het stikstofgehalte in de wortels toe (resp. 3,8, 5,2, 7,6 en 9,6 mg/g ds). De redistributie van stikstof uit de wortel tijdens de trek is rechtevenredig met het gehalte.



Figuur 2.4 Stikstofredistributie uit wortels met een verschillend stikstofgehalte, in 24 dagen trek bij verschillende temperaturen, na 5 of 15 weken opslag bij 0 °C, en de opname uit het medium (15 °C, 15 weken, 1/4 Hgl.)

Na een langere periode van koude opslag van de wortels (15 in plaats van 5 weken) neemt de stikstofredistributie toe, wat weer gecompenseerd kan worden door een lagere trektemperatuur (Figuur 2.4).

Het aandeel van het voedingsmedium in de stikstofvoorziening voor de krogroei op zich is gering, behalve bij wortels met een zeer laag stikstofgehalte (Figuur 2.4). Bovendien wordt ook de stikstofredistributie uit de wortel nauwelijks door de concentratie van het voedingsmedium beïnvloed.

De mate van stikstofbemesting van de bodem heeft niet alleen effect op het gehalte van stikstof in de wortel en de redistributie ervan tijdens de trek, maar beïnvloedt ook de opbouw van koolhydraatreserves in de wortel. Het totale koolhydraatgehalte in de wortel is lager naarmate een hogere bemes-

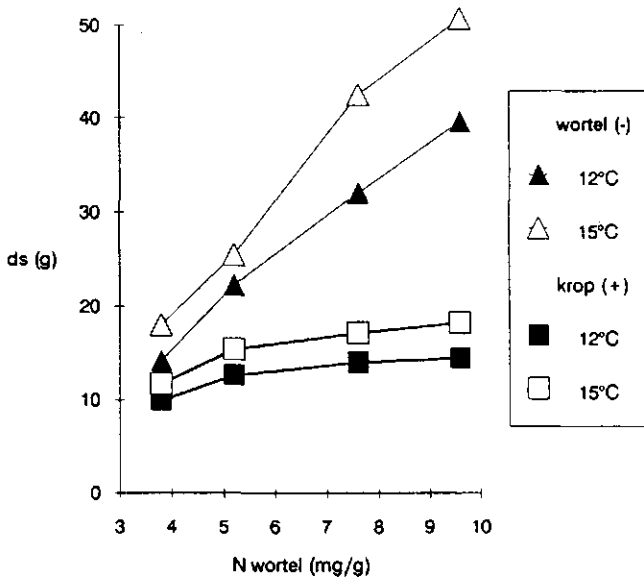
ting van de bodem heeft plaatsgevonden. De beschikbaarheid van de koolhydraten voor zowel de redistributie als voor de respiratie, die de energie levert voor de bij de krogroei betrokken processen, is echter afhankelijk van de vorm waarin ze zich in de wortel bevinden. De mate waarin inuline-afbraak heeft plaatsgevonden tijdens de periode van koude opslag blijkt sterk te verschillen. Zelfs na een opslagperiode van 15 weken bestaat de koolhydraatreserve in wortels met een laag stikstofgehalte nog voor 80 % uit oligo- en polyfructosanen, waarvan de helft een polymerisatiegraad (DP) van 9 of hoger heeft.

Tabel 2.3 Samenstelling (mg/g) van witlofwortels met een verschillend stikstofgehalte, na 15 weken opslag bij 0 °C, en de drogestofafname na 24 dagen trek bij 12 °C, 1/4 Hgl.

| inhoudstof | N-gehalte (mg/g) | | | |
|---------------------|------------------|------|------|------|
| | 3,8 | 5,2 | 7,6 | 9,6 |
| koolhydraten (mg/g) | | | | |
| DP > 9 | 327 | 283 | 181 | 167 |
| DP 3-8 | 326 | 329 | 255 | 228 |
| saccharose | 79 | 110 | 146 | 155 |
| glucose | 6 | 2 | 3 | 2 |
| fructose | 96 | 93 | 113 | 112 |
| totaal | 834 | 817 | 698 | 664 |
| rest ds (mg/g) | 166 | 183 | 302 | 336 |
| aminozuur (N x6,25) | 23,8 | 32,5 | 47,5 | 60 |
| (% van rest ds) | 14 | 18 | 16 | 18 |
| na 24 dagen: | | | | |
| koolhydraten | 707 | 603 | 440 | 326 |
| koolhydraat afname | 127 | 214 | 258 | 338 |
| (% afname) | 15 | 26 | 37 | 51 |
| aminozuur | 14,8 | 18,4 | 24,1 | 28,7 |
| aminozuurafname | 9 | 14,1 | 23,4 | 31,4 |
| (% afname) | 38 | 43 | 49 | 52 |

Bij wortels met een hoog stikstofgehalte is het oligo- en polyfructosaangehalte minder dan 60 %, waarvan slechts een derde een DP van 9 of hoger heeft. Ondanks een lager koolhydraatgehalte is de hoeveelheid saccharose in wortels met een hoog stikstofgehalte aanzienlijk groter; de hoeveel-

heid fructose verschilt erg weinig, en glucose is nauwelijks aanwezig (Tabel 2.3). Deze ongelijke afbraak van inuline zet zich ook tijdens de trek voort. Dientengevolge is de afname van koolhydraten in stikstofrijke wortels na 24 dagen trek groter: vrijwel rechtevenredig met het saccharosegehalte in de wortels vóór de trek en de verdere inuline-afbraak tijdens de trek.



Figuur 2.5 Toename van drogestof in de krop (+) en afname van drogestof in de wortel (-) van wortels met een verschillend stikstofgehalte, in 24 dagen trek bij verschillende temperaturen, na 15 weken opslag bij 0 °C.

Toch zijn deze lineaire relaties tussen stikstofgehalte en -redistributie, en tussen stikstofgehalte en de afname van koolhydraten in de wortel, niet terug te vinden in de kropproductie. Naarmate de wortels een hoger stikstofgehalte hebben, en de drogestofafname van de wortels tijdens de trek groter is, wordt de relatieve productieverhoging duidelijk minder (Figuur 2.5). Dit betekent dat bij stikstofrijke wortels een groter deel van de koolhydraten voor respiratie gebruikt wordt.

Een belangrijk verschil dat zich voordoet bij kroppen op wortels met een verschillend stikstofgehalte is de samenstelling. Ondanks een hoger drogestofgewicht van de krop bij wortels met een hoger stikstofgehalte, is de hoeveelheid koolhydraten in de krop juist geringer (Tabel 2.4). Hoewel het nog niet duidelijk is waar de rest van de kropproductie uit bestaat, kan wel wat worden gezegd over de herkomst. Aangezien nog minder dan 1 % van de stikstof in de wortels in anorganische vorm aanwezig is zal de redistributie ervan hoofdzakelijk betrekking hebben op aminozuren.

In deze vorm bepaalt de geredistribueerde stikstof voor ruim 35 % de resterende, niet uit koolhydraten bestaande, kropproductie.

Tabel 2.4 Produktie en samenstelling van witlofkroppen (mg/g wortel) na 24 dagen trek bij 12 °C, 1/4 Hgl., op wortels met een verschillend stikstofgehalte, na 15 weken opslag bij 0 °C.

| inhoudstof | N gehalte (mg/g) | | | |
|-------------------------|------------------|------|------|------|
| | 3,8 | 5,2 | 7,6 | 9,6 |
| krop drogestof (ds) | 99 | 126 | 140 | 144 |
| koolhydraten | 80 | 79 | 69 | 58 |
| rest ds | 19 | 47 | 71 | 86 |
| aminozuur uit wortel | 9 | 14,1 | 23,4 | 31,3 |
| (% van de rest ds) | 47 | 30 | 33 | 36 |
| ds uit wortel (-koolh.) | 14,7 | 28,5 | 62,2 | 57,5 |
| (% van rest ds) | 77 | 61 | 88 | 67 |

Als we ook redistributie van andere inhoudstoffen erbij betrekken, dat wil zeggen het verlies aan droge stof van de wortel minus koolhydraten, dan kunnen die zo'n 75 % van de niet uit koolhydraat bestaande fractie van de kropdrogestof vormen (Tabel 2.4). De rest betreft dan, naast de uit de voedingsoplossing opgenomen mineralen, uit met koolhydraten gesynthetiseerde produkten. Deze niet-koolhydraatfractie vormt een relatief groter aandeel van de totale kropdrogestof bij de wortels met een hoog stikstofgehalte.

Voor de omvorming van koolhydraten is energie nodig, en doordat het de kropopbrengst niet verhoogt, zal het ten koste gaan van de netto kropproductie per gram drogestofverlies van de wortel.

Van de koolhydraatafname in wortels met een stikstofgehalte van 3,8; 5,2; 7,6 en 9,6 mg/g komt maximaal respectievelijk 65, 45, 30 en 25 % als drogestof in de krop terecht.

Er is nog een ander aspect waardoor de kropsamenstelling verschilt. Het drogestofgehalte van de krop is namelijk aanzienlijk lager bij wortels met een hoger stikstofgehalte. Dit heeft waarschijnlijk ook te maken met het ontwikkelingsstadium van de krop. De groeicurve van kroppen op wortels met een laag stikstofgehalte heeft niet alleen een lager maximum (b groter dan 0), maar ook een lagere groeisnelheid (a kleiner dan 1), dat wil zeggen een tragere ontwikkeling (Figuur 2.2). Juist in een laat stadium van de kropontwikkeling vindt de meeste celstrekking plaats, waardoor het drogestofhalte lager wordt.

2.4 Discussie

De belangrijkste variabele waar men bij de witloftrek mee te maken heeft is de samenstelling van de wortel. Om gedurende een langer seizoen te kunnen forceren worden verschillende rassen gebruikt, en worden de trekomstandigheden aangepast aan de fysiologische toestand van de wortels, de zogenaamde rijpheid.

Daar de mate waarin de trekomstandigheden de gevolgen van verschillen in de fysiologische toestand van de wortel kunnen compenseren beperkt is, en meestal berust op een compromis tussen productie en kwaliteit, zullen de trekresultaten in eerste instantie afhangen van de keuze van de wortels. Door de toename in contractteelt van de wortels is het noodzakelijk in het contract met de teler de juiste eisen aan de wortels te kunnen stellen.

Dat zich bij consequent toegepaste trekomstandigheden toch onregelmatig productie- dan wel kwaliteitsproblemen voordoen, heeft hoofdzakelijk te maken met de variaties die optreden bij de wortelteelt. Bovendien kunnen ook binnen een teelt de ontwikkeling van de wortels verschillen.

Voor een optimale aanpassing van de trekomstandigheden is het belangrijk te weten waaruit de rijpheid van de wortels bestaat en welke factoren de fysiologische toestand van de wortel kunnen beïnvloeden.

Ter bepaling van het juiste rooitijdstip van wortels wordt de rijpheid veelal gekarakteriseerd door de polymerisatiegraad van de koolhydraten (Bhatia et al., 1974), en zijn er aldus praktische toetsmethoden ontwikkeld, zoals de 2,6-dichlorofenol-indofenoltest (Jolivet et al., 1970), en de refractometrische test (Fiala & Jolivet, 1980).

Ook de veranderingen in de rijpheidstoestand van de wortels tijdens de periode van koude opslag worden vaak gemeten aan de polymerisatiegraad van de koolhydraten (Rutherford, 1977; Rutherford & Phillips, 1975).

Een langere teeltperiode veroorzaakt een lager polyfructosaangehalte in de wortels (Vertregt & van Kruistum, 1989). In de resultaten van het onderzoek van genoemde auteurs is het polyfructosaangehalte (met een ketenlengte groter dan 6) zelfs vóór een periode van koude opslag nooit hoger dan 50 % van de koolhydraten in de wortel. In onze experimenten varieerde het oligo- en polyfructosaangehalte na 15 weken koude opslag nog van 60 tot 80 %, waarvan de helft met een ketenlengte groter dan 9.

Doordat inuline hoofdzakelijk is opgebouwd uit fructosyleenheden, wordt het gehalte aan fructose in de wortels als indicatie voor de rijpheid gebruikt (Rutherford & Weston, 1968; Roggen, 1976), terwijl deze auteurs een minstens even hoog gehalte aan saccharose in de wortel vinden. De resultaten van onze experimenten tonen juist een duidelijke relatie van de koolhydraatafname in de wortel met de hoeveelheid saccharose, meer dan met de hoeveelheid fructose.

De fysiologische toestand van de wortel aan het einde van de teelt of na de periode van koude opslag wordt niet alleen bepaald door de mate van synthese cq. afbraak van inuline. Vertregt en Van Kruistum (1989) schrijven een geringere kropproductie bij een langere teeltperiode van de wortels toe aan een lager koolhydraatgehalte van de wortels. De totale hoeveelheid koolhydraten in de wortel is echter gelijk, en bestaat bovendien voor een kleiner deel uit polyfructosanen. Dit doet vermoeden dat het hier eerder een be-

perkte beschikbaarheid van andere inhoudstoffen dan koolhydraten betreft. Uit onze experimenten blijkt dat andere inhoudstoffen een relatief groot aandeel hebben in de totale redistributie.

De mate waarin de redistributie van andere inhoudstoffen dan koolhydraten plaatsvindt wordt wel beïnvloed door de lengte van de opslagperiode, maar wordt toch hoofdzakelijk bepaald door de omstandigheden tijdens de teelt van de wortels. Door een verhoogde stikstofbemesting tijdens de teelt neemt met het stikstofgehalte van de wortels ook de beschikbaarheid van koolhydraten voor de kropgroei toe. Desondanks neemt het aandeel van andere bestanddelen dan koolhydraten in de redistributie van inhoudstoffen toe van 15 % bij stikstofarme wortels, tot 45 % bij stikstofrijke wortels, waarbij het voor ongeveer de helft stikstofhoudende verbindingen betreft. Hiermee neemt ook het deel van het koolhydratenverlies in de wortel dat voor energievoorziening wordt gebruikt toe. Dit heeft tot gevolg dat, in tegenstelling tot de resultaten van Vertregt en Van Kruistum (1989), de kropopbrengst voor wortels die verschillen in N-gehalte niet evenredig is met het drogestofverlies van de wortel.

De hoeveelheid 'vrije' aminozuren die in kroppen is gevonden, bedraagt zo'n 3 tot 4 % van de drogestof (Fiala et al., 1983), wat een vijfde deel is van het berekende totale aminozuurtransport naar de krop. Volgens deze auteurs hebben ook organische zuren een zelfde aandeel in de kropdrogestof.

De rol van andere inhoudstoffen dan koolhydraten in de kropvorming lijkt aanzienlijk, en zal dan ook nader onderzoek vereisen.

Eveneens zal de invloed van de teeltomstandigheden op de beschikbaarheid van de inhoudstoffen voor de kropvorming nog meer aandacht moeten krijgen. Uit de experimenten met verschillende stikstofbemesting tijdens de teelt blijkt dat de gevolgen van deze bemesting niet beperkt blijven tot de beschikbaarheid van stikstof in de wortel tijdens de trek. Ook de algehele 'rijpheid' van de wortels wordt er door beïnvloed. Dit uit zich in verschillen in ontwikkeling, het maximaal bereikbare produktieniveau, de samenstelling en het gehalte van de kropdrogestof. Door de complexiteit van de gevolgen van tijdens de teelt onstane deficiënties in de wortel, is het begrijpelijk dat louter een verhoging van de nutriëntengift tijdens de trek geen volledige compensatie kan opleveren.

Uit de experimenten blijkt dat het stikstoftransport naar de krop voor het grootste deel wordt bepaald door de stikstofverbindingen uit de wortel.

Ook andere onderzoekers schrijven de herkomst van de kropstikstof voor 30 tot 85 % aan de wortel toe (Soudain et al., 1983). Volgens deze auteurs zou de minerale stikstof van het voedingsmedium wel de redistributie van koolhydraten bevorderen, maar een dergelijk effect hebben wij tot nu toe niet kunnen bevestigen.

Niet alleen de kropproduktie, maar ook de kwaliteit van de krop is afhankelijk van de fysiologische toestand van de wortel en de omstandigheden tijdens de trek. De verschillen in beschikbaarheid van zowel koolhydraten als andere inhoudstoffen, zoals de stikstofhoudende verbindingen, hebben niet alleen effect op de mate van groei, maar ook op de samenstelling van de krop en het drogestofgehalte. In de experimenten blijkt het koolhydraatgehalte van de krop tijdens de trek aanzienlijk af te nemen, van 60 naar 40 en 30 % na respectievelijk 14, 24 en 38 dagen, in tegenstelling tot een constant gehalte

van 60 % (Rutherford & Phillips, 1975). Bovendien blijkt het koolhydraatgehalte van de krop behoorlijk te variëren met het stikstofgehalte van de wortel. Dit kan bijvoorbeeld invloed hebben op de smaak, daar bitterstoffen als lactucine in witlof geneutraliseerd worden door de aanwezigheid van koolhydraten (Pronost, 1983).

Afhankelijk van de mate waarin verschillende inhoudstoffen uit de wortel geredistribueerd worden zal ook de morfologische structuur van het bladweefsel verschillen, en hierdoor de vorm van de krop.

Ook de opname uit het medium kan de morfologie van de krop beïnvloeden. Door een geringere transpiratiestroom wordt het drogestofgehalte van de krop hoger, en kan een deficiëntie van mineralen veroorzaakt worden.

Zo wordt bruine pit, evenals 'zwart hart' bij selderij, 'bitter pit' bij appel en 'tip burn' bij sla en kool, veroorzaakt door een gebrek aan calcium (Palzkill & Tibbitts, 1977), waarbij membranen desintegreren en een cytoplasmatische lek optreedt die door oxidatie bruinverkleuringen veroorzaakt (den Outer, 1989). Aangezien calcium normaliter niet geredistribueerd wordt (Loneragan & Snowball, 1969) is de plant hiervoor aangewezen op het nutriëntenmedium.

In Frans onderzoek wordt een reductie van bruine pit bereikt door het voor de trek dompelen van wortels in een calciumchloride-oplossing (Jolivet et al., 1988). Dompelen in water blijkt echter ook al een reductie op te leveren.

Daar een groot scala van factoren tijdens de teelt van de wortel, de koude opslag en vervolgens de trek, de kropvorming kan beïnvloeden, is het leggen van directe verbanden tussen de kwaliteit van de krop en de mogelijke variaties in het productieproces moeilijk te realiseren.

Het is daarom belangrijk een goed inzicht te krijgen in de fysiologische processen die tijdens de trek plaatsvinden, en hun invloed op de ontwikkeling van de krop te bepalen. Dat wil zeggen dat onderzocht moet worden wat de chemisch-fysiologische en morfologische basis is van kwalitatieve aspecten van de krop, als de vorm, de compactheid, de pitlengte, de samenstelling en het optreden van verschijnselen als necroses, bruine pit, glazigheid en verkleuringen. Zodoende worden de visuele kenmerken van de krop geregistreerd en de relaties onderzocht met de in de experimenten gevarieerde factoren, de chemische compositie van de krop en de veranderingen in de wortel.

2.5 Literatuur

- Bhatia, I.S., K.S. Mann & R. Singh, 1974. Biochemical changes in the water-soluble carbohydrates during the development of chicory (*Cichorium intybus* L.) roots. *Journal of Science, Food and Agriculture* 25, 535-539.
- Devlin, R.M., 1975. Carbohydrates. In: *Plant Physiology*. Van Nostrand, New York, 128-155.
- Fiala, V., J.L. Bomsel, R. Moneger, C. Tesniere & E. Jolivet, 1983. Composition biochimique et qualité commerciale du chicon d'endive: Influence de l'état physiologique de la racine et des conditions de forçage. *Septième Biennale International de l'Endive*, Beauvais, G1-G13.
- Fiala, V. & E. Jolivet, 1980. The aptitude of roots of chicory for chicon production studied by their carbohydrate composition. *Scientia Horticulturae* 13, 125-134.

- Jolivet, E., S. Lefevre, B. de Coninck, 1976. Détermination de l'état physiologique de la racine tubérisée de chicorée de Bruxelles (*Cichorium intybus* L.) par son pouvoir réducteur à l'égard du 2,6-dichlorophénol-indophénol: application au repérage de la période optimale de forçage. *Physiologie Végétale* 14(4), 849-863.
- Jolivet, E., V. Fiala, J. Laville & J.-P. Cochet, 1988. Prévention de la coloration brune de l'axe du chicon d'endive par traitement de la racine par une solution de chlorure de calcium. *P.H.M.-Revue Horticole* 283, 33-38.
- Kruistum, G. van & T. Buishand, 1982. Teelt en trek van witlof. *Teelthandleiding* 12, PAGV, Lelystad, 100 pp.
- Kruistum, G. van & medewerkers PAGV, Lelystad, 1989. Witlof: teelt van de wortel, productie van lof. *Teelthandleiding* 12, PAGV, Lelystad, 153 pp.
- Loneragan, J.F. & K. Snowball, 1969. Calcium requirements of plants. *Australian Journal of Agricultural Research* 20, 465-478.
- Marschner, H., 1986. Ion uptake mechanisms of individual cells and roots: short distance transport. In: *Mineral nutrition of higher plants*, Academic Press Ltd., London, 17-69.
- Meier, H. & J.S.G. Reid, 1982. Reserve polysaccharides other than starch in higher plants. In: F.A. Loewus & W. Tanner (Eds.), *Encyclopedia of Plant Physiology*. 13A, 418-471.
- Outer, R.W. den, 1989. Internal browning of witloof chicory (*Cichorium intybus* L.). *Journal of Horticultural Science* 64, 697-704.
- Palzkill, D.A., T.W. Tibbitts & P.H. Williams, 1976. Enhancement of calcium transport to inner leaves of cabbage for prevention of tipburn. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 101, 645-648.
- Palzkill, D.A. & T.W. Tibbitts, 1977. Evidence that root pressure flow is required for calcium transport to head leaves of cabbage. *Plant Physiology* 60, 854-856.
- Pronost, Y., 1983. L'amertume de *Cichorium intybus* L. Recherche d'un test discriminant. *Mémoire fin d'études I.S.A.B.*, Beauvais, 96 pp.
- Roggen, H.P.J.R., 1976. Prediction of the proper stage of maturity for forcing chicory roots (*Cichorium intybus* L.) by determination of inulase activity. *Proceedings of the Eucarpia meeting on leafy vegetables*, IVT, Wageningen, 29-31.
- Rutherford, P.P., 1977. Changes during prolonged cold storage in the reducing sugars in chicory roots and their effects on the chicons produced after forcing. *Journal of Horticultural Science* 52, 99-103.
- Rutherford, P.P. & A.A. Jackson, 1965. L'influence du froid sur la dégradation des oligosaccharides de fructose dans les racines de chicorée de Bruxelles et l'effet sur la production des chicons. *Annals de Gembloux* 71, 187-196.
- Rutherford, P.P. & D.E. Phillips, 1975. Carbohydrate changes in chicory during forcing. *Journal of Horticultural Science* 50, 463-473.
- Rutherford, P.P. & E.W. Weston, 1968. Carbohydrate changes during cold storage of some inulin-containing roots and tubers. *Phytochemistry* 7, 175-180.
- Soudain, P., J.P. Cochet, H. Bannerot & C. Lesaint, 1983. Facteurs génétiques, agronomiques et technologiques controlant la qualité du chicon d'endive. *Septième Biennale International de l'Endive*, Beauvais, A1-A19.
- Vertregt, N. & G. van Kruistum, 1989. Redistribution of dry matter and carbohydrates in witloof chicory during forcing. *Scientia Horticulturae* 39, 271-278.

Woodward, F.I. & J.E. Sheehy, 1983. Growth analysis. In: Principles and measurements in environmental biology, Butterworth & Co., London, 241-251.

3 Ophoping van nitraat in groentegewassen

Ir. M. Blom-Zandstra

Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek (CABO), Wageningen

ir. K. Reinink

Centrum voor Plantenveredelings Onderzoek (CPO), Wageningen

Samenvatting

Veel planten, met name bladgroenten, accumuleren bij lage lichtintensiteiten nitraat in hun bladeren. Consumptie van bladgroenten met een hoog nitraatgehalte kan de gezondheid schaden, omdat nitraat in het lichaam een precursor kan zijn bij de vorming van nitriet of carcinogene nitroso-verbindingen. Voor planten is de accumulatie van nitraat fysiologisch van belang. In dit overzicht wordt aangegeven hoe nitraatopslag samenhangt met opslag van organische verbindingen. De consequenties van deze relatie voor het nemen van gerichte praktijkmaatregelen wordt beschreven. Bovendien wordt de nitraataccumulatie als (negatief) kwaliteitskenmerk in relatie met enkele andere kwaliteitskenmerken beschreven.

3.1 Inleiding

Veel bladgroenten, zoals sla, spinazie en andijvie slaan nitraat op in de vacuoles van de mesofylcellen, doordat ze meer nitraat opnemen dan ze voor de eiwitsynthese nodig hebben. Consumptie van groenten met hoge nitraatgehalten levert voor de volksgezondheid risico's op. Nitraat kan in de mondholte en slokdarm worden omgezet in het toxische nitriet of in combinatie met secundaire amines kankerverwekkende nitroso-verbindingen vormen (zie Hoofdstuk 4). Daarom is een 'acceptable daily intake (ADI)' voor de mens vastgesteld door de Joint Expert Committee on Food Additives van de FAO/WHO (1974) van 5 mg Na-nitraat en 0,2 mg Na-nitriet per kg lichaamsgewicht. In Nederland zijn er van overheidswege normen opgesteld voor nitraatgehalten in de groenten, waaraan de produkten moeten voldoen om op de veiling verkocht te mogen worden (Tabel 3.1). Het nitraatgehalte van een bladgroente is dus een belangrijk kwaliteitskenmerk. De waarden variëren enigszins tussen de verschillende groenten (Tabel 3.2). Het is van belang de groenten zo te telen dat aan de normen voldaan wordt.

Nitraatgehalten in planten variëren met de lichtintensiteit waarbij de planten worden geteeld. Hoe hoger de lichtintensiteit is, des te lager is het nitraatgehalte in de bladeren van de plant (Figuur 3.1). Het 'nitraatprobleem' doet zich in Nederland dan ook met name in de wintermaanden voor. Het nitraat-

gehalte van planten wordt ook beïnvloed door andere milieufactoren, zoals bijvoorbeeld temperatuur, beschikbaarheid van water of daglengte (zie voor een overzicht: Maynard et al. 1976; Blom-Zandstra, 1989).

Tabel 3.1 Normen voor maximaal toelaatbare nitraatgehalten (mg/kg vers produkt) in enkele groenten, opgesplitst naar zomer (1 april - 1 nov.) en winter (1 nov. - 1 april) seizoen.

| Groente | zomer | winter |
|-------------|--------|---------|
| sla | 3000 | 4500 |
| spinazie | 3500 | 4500 |
| andijvie | 3000 | 3500 |
| rode bieten | 3500 * | 4000 ** |

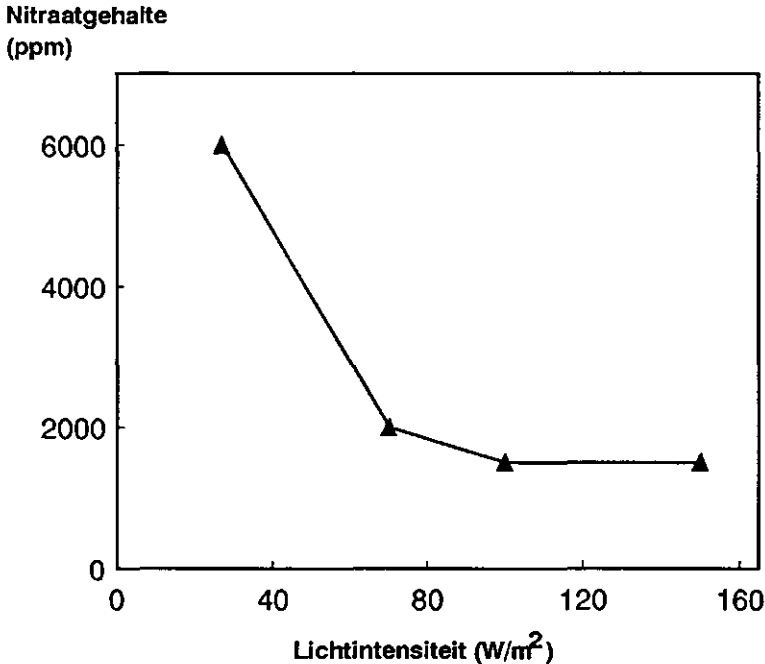
* 1 juli - 1 april

** 1 april - 1 juli

Tabel 3.2 Klassificatie van groenten naar nitraatgehalten in het verse produkt (Uit: Corré & Breimer, 1979)

| Klasse | Groente |
|--------------------------------------|--|
| Soorten met een gehalte < 200 mg/kg | tuinboon erwt aardappel |
| Soorten met een gehalte < 500 mg/kg | bloemkool komkommer ui |
| Soorten met een gehalte < 1000 mg/kg | kool (rood, wit & savoye) wortel perterselie |
| Soorten met een gehalte < 2500 mg/kg | selderie andijvie rabarber |
| Soorten met een gehalte > 2500 mg/kg | biet sla spinazie |

Afgezien van de invloed van deze uitwendige factoren zijn er ook binnen een gewastype aanmerkelijk rasverschillen. Om gerichte teeltmaatregelen te kunnen nemen, voor de verlaging van nitraatgehalten in groenten, is het van belang inzicht te hebben in de fysiologische achtergronden van nitraataccumulatie. In de nu volgende paragraaf zal ingegaan worden op de mogelijke fysiologische rol van nitraat in de plant.



Figuur 3.1 Het nitraatgehalte van spinazieplanten in afhankelijkheid van de lichtintensiteit.

3.2 Fysiologische achtergronden

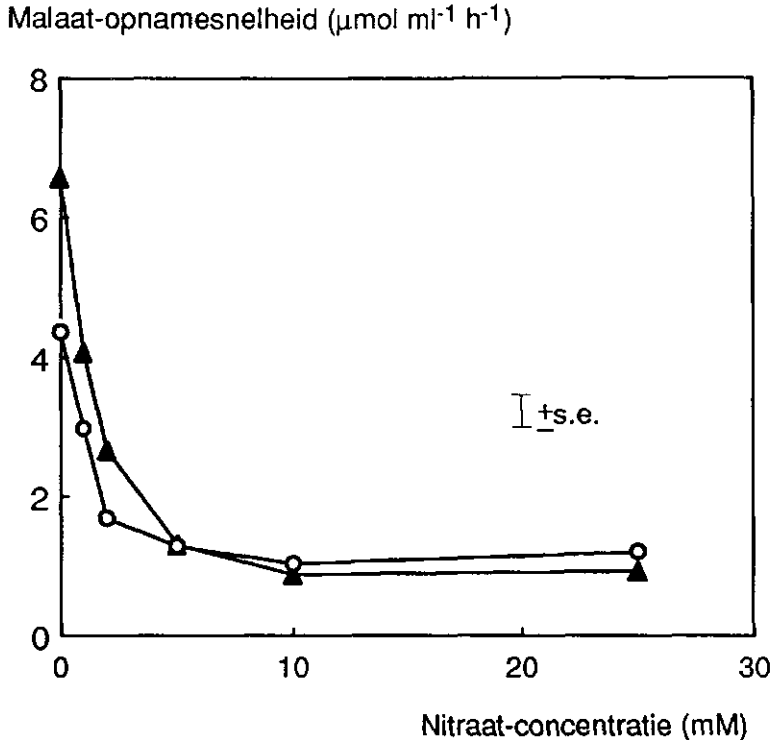
Nitraat wordt na opname door de wortel door de meeste planten direct naar de bovengrondse delen getransporteerd. Daar wordt een gedeelte in de zogenaamde 'metabolic pool' verwerkt tot eiwitten en een deel in de zogenaamde 'storage pool' opgeslagen. Het grootste gedeelte van het nitraat bevindt zich in de vacuole van de cel. Deze opslag wordt door sommigen wel beschouwd als een soort 'luxu-consumptie', dus opslag van nitraat dat door de plant teveel is opgenomen (Chapin, 1980; Salsac et al., 1987; Koch, et al., 1988). Dit lijkt echter onwaarschijnlijk, omdat de nitraatopname door de wortel een sterk gereguleerd proces is. Het is veel waarschijnlijker dat het nitraat in de plant een fysiologische rol vervult als osmoticum, zoals in 1972 al

is gesuggereerd door Mott & Steward. Osmotica zijn geaccumuleerde componenten, waardoor de cellen van bladeren een bepaalde turgescentie hebben. Dank zij deze turgescentie treedt ook celstrekking en daarmee groei van een plant op. Het is opmerkelijk dat opslag van nitraat omgekeerd evenredig is aan de opslag van organische zuren en suikers (Blom-Zandstra & Lampe, 1985). Dit zou samen kunnen hangen met het feit dat bij lage lichtintensiteit de planten door een verlaagde fotosynthese minder organische verbindingen tot hun beschikking hebben dan bij hoge lichtintensiteit. De hoeveelheid energie waarover de planten onder deze lage lichtomstandigheden beschikken, is beperkt. Als energetisch 'goedkoop' alternatief wordt dan nitraat in de vacuoles geaccumuleerd, zodat de turgescentie van de bladeren gehandhaafd blijft en daarmee de groei gewaarborgd. Opname, transport en opslag van nitraat kost minder energie - in de vorm van ATP - dan opslag van beperkt beschikbare organische zuren (Lambers & Steingröver, 1978).

De verschillen in nitraatgehalten tussen rassen blijken eveneens omgekeerd evenredig aan verschillen in opslag van organische verbindingen (Blom-Zandstra et al., 1988; Reinink & Blom-Zandstra, 1989). Dit kan *niet* - zoals in het geval van lage lichtintensiteiten - door een mogelijk energietekort verklaard worden. Een studie aan twee even hard groeiende slarassen, die significant verschillen in nitraatgehalte, toonde aan dat de verschillen werden veroorzaakt door verschillen in stikstof- en koolstofgebruik. Beide rassen namen evenveel nitraat per tijdseenheid op uit een voedingsoplossing, maar het ene ras gebruikte meer nitraat voor accumulatie en had een duidelijk lager organisch stikstofgehalte. Het andere ras accumuleerde meer organische zuren, investeerde relatief minder koolstofverbindingen in drogestofproductie, maar had weer een iets hoger organisch-stikstofgehalte (Blom-Zandstra et al., 1988). Dus verschillen in nitraataccumulatie tussen rassen ontstaan doordat de benutting van C- en N-verbindingen voor ofwel opslag ofwel metabolische processen tussen de rassen verschilt.

3.3 Mogelijk reguleringsmechanisme

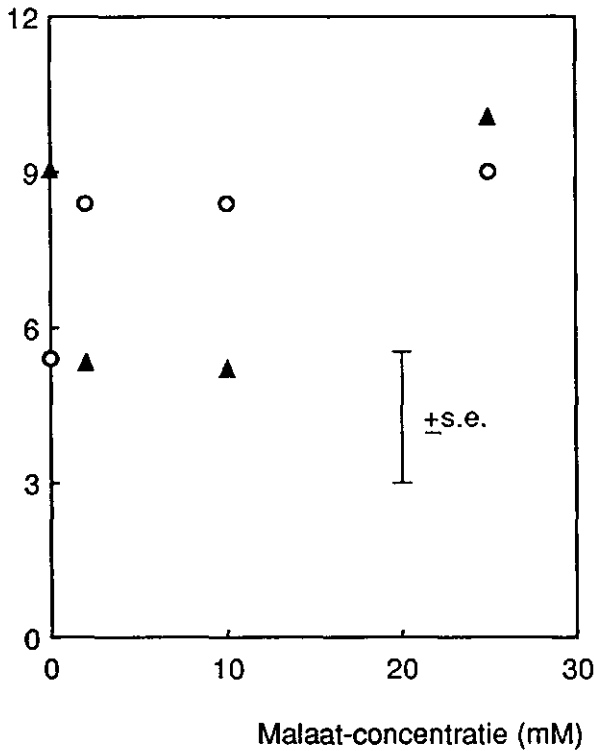
Wat bepaalt nu of een plant nitraat of organische verbindingen in de 'storage pool' opslaat? Ervan uitgaande dat de vacuole de belangrijkste opslagpool in de cel is, zijn uit twee slarassen, die significant in nitraataccumulatie verschillen, vacuoles geïsoleerd. Vervolgens is de influx van nitraat en malaat (als representant voor de organische zuren) in de vacuoles bestudeerd. Het blijkt dat wanneer nitraat en malaat in vergelijkbare concentraties aan de vacuoles worden aangeboden zij een sterke voorkeur hebben voor nitraatopname. Aanwezigheid van nitraat in het incubatiemedium blijkt de malaatopname sterk te remmen, terwijl aanwezigheid van malaat in het incubatiemedium geen invloed heeft op de nitraatopname (Figuur 3.2 & 3.3). Het is echter opmerkelijk dat er geen rasverschillen zijn in de opnamekarakteristieken. Dus verschillen in nitraataccumulatie kunnen niet worden verklaard door verschillen in de eigenschappen van de vacuolemembraan, de tonoplast.



Figuur 3.2 Het effect van de nitraatconcentratie in het incubatiemedium op de malaatopname door vacuoles van 2 slarassen Deci minor (▲) en Grosse brune (○).

De gevonden nitraat- en malaatopnamekarakteristieken geven echter wel inzicht in de manier waarop de plant nitraat al of niet opslaat. Het effect van de lichtintensiteit op de nitraataccumulatie en de rasverschillen kunnen worden verduidelijkt aan de hand van een schema (Figuur 3.4). Nitraat kan worden gebruikt voor synthese van aminozuren en/of eiwitten, of worden opgeslagen in de 'storage pool'. Organische zuren en suikers kunnen worden gebruikt voor structurele componenten en ademhaling of eveneens worden opgeslagen in de 'storage pool'. Eiwitten en andere structurele componenten worden in de groei geïnvesteerd; de opslag van osmotisch actieve componenten dragen indirect bij aan de groei. *Licht* beïnvloedt de verhouding waarin nitraat of organische componenten worden opgeslagen (verhouding A/B in het schema) mogelijkwerwijs via de concentratie van nitraat en organische componenten in het cytoplasma. Een verhoging van de lichtintensiteit vergroot de organische-stikstofproductie en eveneens de malaatproductie.

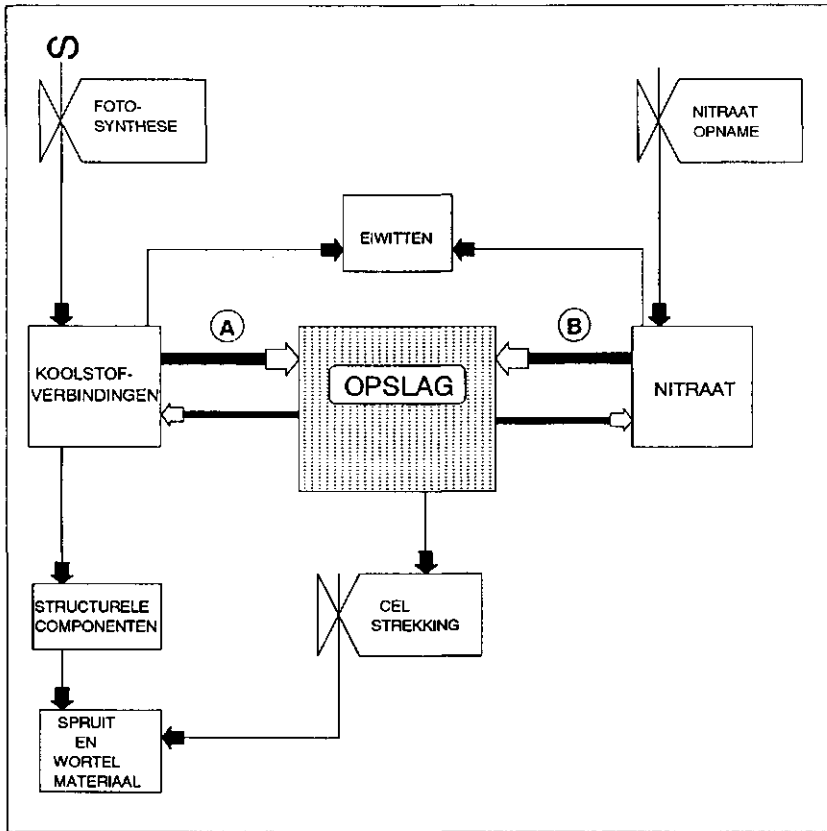
Nitraat-opnamesnelheid ($\mu\text{mol ml}^{-1} \text{h}^{-1}$)



Figuur 3.3 Het effect van de malaatconcentratie in het incubatiemedium op de nitraatopname door vacuoles van 2 slarassen *Deci minor* (▲) en *Grosse brune* (○).

Een verhoogde nitraatreductie heeft mogelijk een verlaging van de nitraatconcentratie in het cytoplasma tot gevolg. Hierdoor neemt enerzijds de nitraatopname door de vacuoles af, terwijl anderzijds de malaatopname wordt verhoogd, doordat het remmende effect van nitraat op de malaatopname kleiner wordt. Bovendien wordt de malaatconcentratie zelf hoger.

Rasverschillen ontstaan mogelijk eveneens door verschillen in de concentratie van nitraat in het cytoplasma. *Rasverschillen* in de produktie van organische stikstof (zoals hierboven vermeld) kunnen deze verschillen in de nitraatconcentratie in het cytoplasma veroorzaken. Hoe hoger de nitraatreductie, des te lager de nitraatconcentratie in het cytoplasma met als gevolg een geringere nitraatflux door de vacuole en meer malaatopname door de vacuole.



Figuur 3.4 Een schematische voorstelling van de koolstof- en stikstofbe-
nutting door planten.

3.4 Consequenties voor de praktijk

Zoals in het voorgaande is beschreven, vervult het nitraat een belangrijke functie als osmoticum en kan niet zonder meer als overschot worden beschouwd. De bladeren van planten zullen dan ook altijd nitraat accumuleren, maar de hoeveelheid is afhankelijk van de uitwendige omstandigheden, de plantesoorten en het ras. Verlaging van het nitraatgehalte kan alleen worden bereikt wanneer de plant organische verbindingen ervoor in de plaats kan accumuleren of wanneer aan de plant een alternatief zoals bijvoorbeeld chloride wordt aangeboden.

3.4.1 De stikstofgift

Enige jaren geleden is in het onderzoek veel aandacht besteed aan de bemesting van groentegewassen. Men zocht naar optimale stikstofgiften waarbij het nitraatgehalte van het produkt zo laag mogelijk was, terwijl het gewas toch een zo groot mogelijk eindgewicht had bereikt. De resultaten van de experimenten waren niet eenduidig. Het vinden van een optimale N-gift is een probleem vanwege het onbestendige (en daarmee onvoorspelbare) klimaat in Nederland. Het is moeilijk te voorspellen hoeveel stikstof voor de groei van planten nodig is. Dit kan alleen op doeltreffende wijze worden gedaan als er voortdurend bodemanalyses worden uitgevoerd in combinatie met tussentijdse stikstofgiften of fertigatie. De situatie waarin de bodem verkeert kan redelijk goed gecontroleerd worden met behulp van de zgn. N_{mineraal} -methode (Lorenz et al., 1985). Deze is echter nogal kostbaar. Het zou beter zijn als er goede voorspellingen gedaan zouden kunnen worden ten aanzien van de stikstofbehoefte van planten en aanbod in de bodem in afhankelijkheid van bijvoorbeeld weertype, grondsoort, etc. Op dit terrein zijn al wat aanzetten gedaan. Gysi & Roth (1988) hebben voor sla een model ontwikkeld dat heel goed overeenkomt met de experimentele gegevens over stikstofopname door de planten.

Wanneer bladgroenten op substraat worden opgekweekt, kan men de planten enige dagen voor de oogst het nitraat onthouden. Het nitraatgehalte in de bladeren daalt vrij snel. De organische zuren en suikers, die de plant onder die omstandigheden opslaat in de 'storage pool', kunnen niet meer voor structurele groei worden gebruikt. Uit experimenten blijkt dat de groeiderving die hierdoor optreedt, najlt bij de daling in het nitraatgehalte. Voor de praktijk hoeft dit dus niet al te grote consequenties voor de opbrengst te hebben. Men moet de behandelingsduur zodanig kiezen, dat met een zo gering mogelijke opbrengstderving toch een zo laag mogelijk nitraatgehalte verkregen kan worden. Het is niet bekend in hoeverre de smaak van groenten wordt beïnvloed door de toename van het gehalte aan organische verbindingen (zie Hoofdstuk 1).

Men kan het nitraat in de voedingsoplossing ook vervangen door chloride. Planten kunnen chloride gemakkelijk opnemen en opslaan in de vacuole (Pope & Leigh, 1989). Experimenten met slaplanten op substraatteelt hebben echter aangetoond dat de chloride het nitraat niet volledig vervangt. Mogelijk is dit een gevolg van verschillen in nitraat- en chloride-opname door de

wortels. Ook voor de veldsituatie zijn gegevens beschikbaar over het vervangen van nitraat door chloride. Experimenten met spinazieplanten hebben aangetoond dat bemesting van de akker met chloride de nitraatgehalten eveneens verlagen (Wehrmann & Haehndel, 1985). Het uiterlijk van de planten wordt niet beïnvloed door de chloride-opname.

3.4.2 Bijbelichting

Het geven van extra licht tijdens de teelt van bladgroenten zal het nitraatgehalte in de planten verlagen. Het is niet nodig om de planten gedurende de hele opkweek bij te belichten, omdat nitraatgehalten over het algemeen vrij snel (in de orde van ca 10-15 dagen) veranderen, nadat het lichtregime is veranderd. Deze oplossing is echter nogal kostbaar en zal de kostprijs van het produkt waarschijnlijk zodanig verhogen dat het onverkoopbaar wordt. Experimenten met spinazieplanten in een fytofoonruimte hebben aangetoond dat een 'laag-licht'-behandeling (bijbelichting gedurende één nacht met ca 8 W/m²) nitraatgehalten kan verlagen (Steingröver et al., 1986). Voor groot-schalige productie is dit effect nog niet reproduceerbaar gebleken.

3.4.3 Veredeling

Het vóórkomen van rasverschillen in nitraataccumulatie geeft aanknopingspunten om te veredelen op laag nitraatgehalte. Bij kruisingen blijkt dat de eigenschap nitraataccumulatie overerft. Twee ouders met een laag nitraatgehalte leveren een nakomeling met een laag nitraatgehalte (Reinink & Groenwold, 1987).

Het nitraatgehalte blijkt uitsluitend gekoppeld aan opslag van organische zuren en suikers. Celgrootte of osmotische waarde verschillen niet tussen rassen met een significant verschillend nitraatgehalte (Reinink & Blom-Zandstra, 1989). Over het algemeen hebben rassen met een laag nitraatgehalte een hoog drogestofgehalte. Een uitzondering hierop is gevonden bij een tetraploïde slaplant.

Een probleem bij de veredeling is het optreden van interacties tussen rasverschillen en omgevingsfactoren. Een rangorde naar nitraatgehalte die voor de wintermaanden geldt, hoeft in het voorjaar niet meer op te gaan. Over deze interactie-effecten is nog weinig bekend.

Nitraataccumulatie door bladgroenten is een gecompliceerd systeem, waarbij verschillende fysiologische processen betrokken zijn. Het veredelen op laag nitraatgehalte betekent dat de stikstofhuishouding en daaraan gekoppeld een gedeelte van de koolstofhuishouding moeten worden beïnvloed. Nitraataccumulatie is vaak gekoppeld aan een hoge groeisnelheid van planten (Grime & Hunt, 1975). Er zullen vaak verschillende, soms tegenstrijdige, belangen tegen elkaar afgewogen moeten worden. De kwaliteit van een produkt wordt door meerdere factoren bepaald:

- Een laag nitraatgehalte (positief kwaliteitskenmerk) kan gepaard gaan met een zeer hoog drogestofgehalte, oplopend tot circa 10 % (negatief kwaliteitskenmerk).

- Verhoging van de osmotische waarde van een voedingsoplossing ter voorkoming van de fysiogene afwijking 'glazigheid' van sla (kwaliteitsverbetering) kan tevens verhoging van het nitraatgehalte tot gevolg hebben (kwaliteitsverslechtering) doordat de plant zijn interne osmotische waarde aanpast.

Bij het veredelen van gewassen op laag nitraatgehalte moeten de verschillende factoren die met de nitraataccumulatie samenhangen nauwgezet worden meegenomen in het programma. Vanuit de fysiologie bezien is nitraataccumulatie een energetisch voordelige oplossing voor het opbouwen van de voor groei noodzakelijke turgescentie. Verlaging van de nitraataccumulatie betekent dat de plant meer energie moet investeren in de productie van osmotica. Dat gaat ten kost van de productie, tenzij op andere wijze hiervoor gecompenseerd wordt.

3.5 Literatuur

- Blom-Zandstra, M. & J.E.M. Lampe, 1985. The role of nitrate in the osmoregulation of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown at different light intensities. *Journal of Experimental Botany* 36, 1043-1052.
- Blom-Zandstra, M., J.E.M. Lampe & F.H.M. Ammerlaan, 1988. C and N utilization of two lettuce genotypes during growth under non-varying light conditions and after changing the light intensity. *Physiologia Plantarum* 74, 147-153.
- Blom-Zandstra, M., 1989. Nitrate accumulation in vegetables and its relationship to quality. *Annals of Applied Biology*, 115, 553-561.
- Chapin, F.S. III, 1980. The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* II, 233-260.
- Corré, W.J. & T. Breimer, 1979. Nitrate and nitrite in vegetables. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, 85 pp.
- Grime, J.P. & R. Hunt, 1975. Relative growth rate: its range and adaptive significance in a local flora. *Journal of Ecology* 63, 393-422.
- Gysi, C. & K. Roth, 1988. Nitrogen dynamics in a vegetable field in Switzerland. *Acta Horticulturae*, 222, 79-92.
- Koch, G.W., E.-D. Schulze, F.Percival, H.A. Mooney & C. Chu, 1988. The nitrogen balance of *Raphanus sativas* x *Raphanistrum* plants. II. Growth, nitrogen redistribution and photosynthesis under NO₃ deprivation. *Plant, Cell and Environment* 11, 755-767.
- Lambers, H. & E. Steingröver, 1978. Growth respiration of a flood-tolerant and a flood-intolerant *Scenecio* species: correlation between calculated and experimental values. *Physiologia Plantarum* 43, 219-224.
- Lorenz, H.P., J. Schlaghecken & G. Engl, 1985. Gezielte Stickstoff-Versorgung im Gemüsebau nach dem "Kulturbegleitende N-min Sollwerte (KNS)-System". Neustadter Hefte: H 26, 116.
- Maynard, D.N., A.V. Barker, P.L. Minotti & N.H. Peck, 1976. Nitrate accumulation in vegetables. *Advances in Agronomy* 28, 71-118.
- Pope, A.J. & R.A. Leigh, 1989. Characterisation of chloride transport at the tonoplast of higher plants using a chloride-sensitive fluorescent probe. In: J. Dainty, M.I. de Michelis, E. Marré & F. Rasi-Caldogno (Eds) *Plant membrane transport: the current position*, Elsevier, Science Publishers B.V., Amsterdam, 185-190.

- Reinink, K. & M. Blom-Zandstra, 1989. The relation between cell size, ploidy level and nitrate content in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Physiologia Plantarum* 76, 575-580.
- Salsac, L., S. Chaillou, J.F. Morot-Gaudry, T. Lesaint & E. Jolivet, 1987. Nitrate and ammonium nutrition in plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 25, 805-812.
- Wehrmann, J. & R. Haehndel, 1985. Influence of chloride on yield and nitrate content of spinach. In: J.J. Neeteson & K. Dilz (Eds), *Assesment of nitrogen fertilizer requirement*, Institute for soil Fertility, Haren, The Netherlands, 95-99.
- WHO, 1974. Toxicological evaluation of some food additives: including anticaking agents, antimicrobials, antioxidants, emulsifiers and thickening agents: Report of the joint FAO/WHO committee on food additives, 17th, which met in Geneva, 25 June - 4 July 1973. FAO nutrition meetings report series; no 53A.

4 Nitrosering van stikstofhoudende verbindingen in groenten

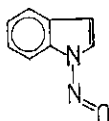
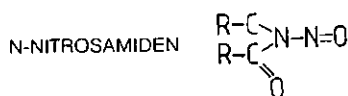
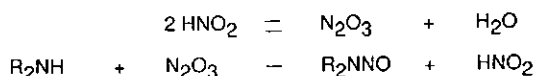
Ir. H.G.M. Tiedink
Vakgroep Toxicologie (LUW)/Centrum voor Agrobiologisch
Onderzoek (CABO), Wageningen

Samenvatting

Er werd onderzocht of Nederlandse groenten N-houdende verbindingen bevatten, welke met nitriet kunnen reageren tot direct mutagene N-nitrosoverbindingen. Hiertoe werden waterextracten van groenten behandeld met nitriet en getest op mutageniteit en N-nitrosogehalten. Brassica-groenten vertoonden hoge mutageniteit en bevatten hoge concentraties NO-verbindingen na nitrosering. Voor deze groenten werd tevens een significante correlatie gevonden tussen glucosinolaatgehalten (zowel totaalgehalten als alkyl/aryl en indolylglucosinolaten) en de hoeveelheid N-nitrosoverbindingen, gevormd in extracten van deze groenten na behandeling met nitriet. Echter uit experimenten met geïsoleerde glucosinolaten bleek dat slechts indolylglucosinolaten in staat zijn N-nitrosoverbindingen te vormen. Berekend kan worden dat de hoeveelheden indolylglucosinolaten die voorkomen in Brassica-groenten nauwelijks kunnen bijdragen aan de mutageniteit van deze groenten na nitrosering. Ook indolverbindingen, de hydrolyseproducten van indolylglucosinolaten bleken een zeer geringe bijdrage te leveren aan de mutageniteit. Verder onderzoek naar de identiteit van precursors van N-nitrosoverbindingen in Brassica-groenten is gewenst.

4.1 Inleiding

N-nitroso(NO)-verbindingen zijn verbindingen welke gevormd kunnen worden uit nitriet en secundaire en tertiaire aminen/amiden of cyclische N-houdende verbindingen. Ze worden derhalve onderverdeeld in N-nitrosaminen, N-nitrosamiden en cyclische NO-verbindingen (Figuur 4.1). Deze drie groepen zijn alle bekende potente carcinogene verbindingen. In het hier besproken onderzoek wordt de aandacht met name gericht op N-nitrosamiden en cyclische NO-verbindingen. Gezien hun gelijke eigenschappen worden deze twee groepen vaak onder één noemer genomen: N-nitrosamiden. N-nitrosamiden verschillen in meerdere opzichten van N-nitrosaminen:



CYCLISCHE N-NITROSO (NO)-VERBINDINGEN

Figuur 4.1 Vormingsreactie van N-nitrosoverbindingen in een zuur milieu.

1. N-nitrosamiden zijn direct mutagene/carcinogene verbindingen. N-nitrosaminen moeten metabool geactiveerd worden alvorens zij een mutagene/carcinogene werking kunnen uitoefenen.
2. Voor de vorming van N-nitrosamiden geldt geen pH-optimum. In het algemeen geldt voor N-nitrosamiden hoe lager de pH hoe sneller de vormingsreactie. Voor N-nitrosaminen is het optimum 3,4.
3. Nitrosamiden zijn instabiele verbindingen, N-nitrosaminen zijn daarentegen stabiel.

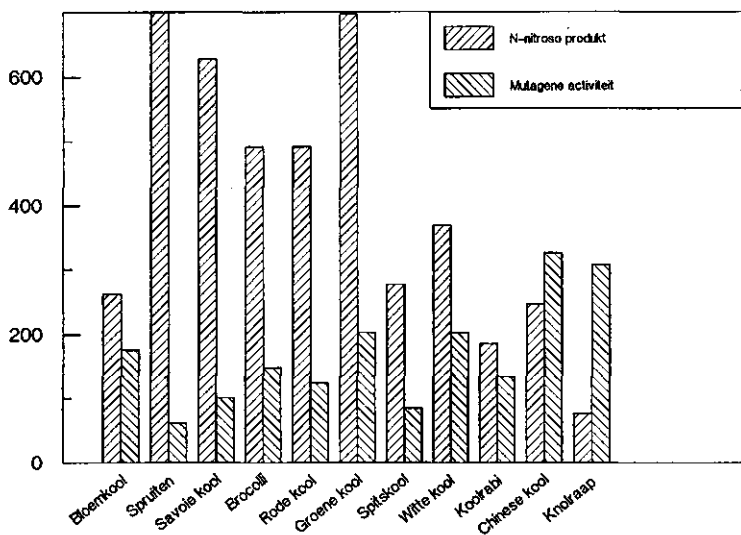
Gezien deze eigenschappen is het minder aannemelijk dat de mens via het milieu of voeding aan N-nitrosamiden wordt blootgesteld. Aan de andere kant ligt de endogene vorming van N-nitrosamiden (in de maag) meer voor de hand dan die van N-nitrosaminen. De laatste jaren wordt steeds duidelijker dat de blootstelling aan endogeen gevormde NO-verbindingen voor de mens van veel grotere betekenis kan zijn dan de blootstelling aan reeds gevormde NO-verbindingen.

Driekwart van onze dagelijkse nitraatopname wordt geleverd door groenten (Ellen & Schuller, 1983). Ongeveer 25 % van opgenomen nitraat komt in het speeksel terecht en 20 % hiervan wordt door bacteriën in de mondholte gereduceerd tot nitriet (Spiegelhalder, 1976). De op deze wijze gevormde hoeveelheid nitriet is vele malen groter dan de eigenlijke nitrietopname. Uit meerdere onderzoeken is gebleken dat naast nitraat in groenten ook N-houdende verbindingen voorkomen welke met nitriet kunnen reageren tot direct mutagene produkten (Piacek-Llanes & Tannenbaum, 1982; Wakabayashi et al., 1984, 1985). Deze gegevens waren o.a. aanleiding voor het hieronder besproken onderzoek.

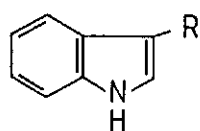
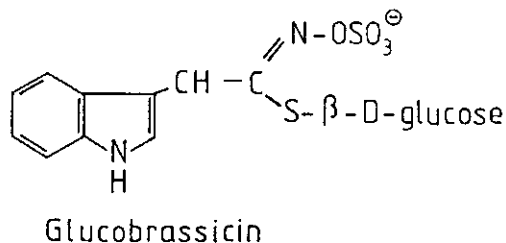
4.2 Screeningsonderzoek naar het voorkomen van precursors van direct mutagene NO-verbindingen in Nederlandse groenten

Er werd onderzocht of afgezien van nitraat en nitriet, N-houdende verbindingen in Nederlandse groenten voorkomen welke met nitriet kunnen reageren tot direct mutagene NO-verbindingen. Hiertoe werden waterextracten gemaakt van 31 groenten, welke na aankoop bij een plaatselijke groentenzaak waren gevriesdroogd en vermalen. Deze waterextracten werden op pH 2 gebracht met zoutzuur, vervolgens werd nitriet toegevoegd (eindconcentratie 40 mM) en werd de pH wederom op pH 2 gebracht.

Hierna werd 1 uur bij 37 °C in het donker geïncubeerd. De gebruikte nitrietconcentratie is vele malen hoger dan de maximale nitrietconcentratie in de maag. Deze hoge concentratie vereenvoudigt de detectie van NO-verbindingen en is geenszins bedoeld om de situatie in de maag na te bootsen. De nitroseringsreactie werd gestopt met een overmaat ammoniumsulfamaat (48 mM). Hierna werd het totaalgehalte aan NO-verbindingen bepaald met een Thermal Energy Analyser volgens de methode van Walters et al. (1978) en werd de directe mutageniteit bepaald met een *Salmonella typhimurium* plaatstest uitgevoerd met een TA100 stam, zoals beschreven door Ames et al. (1975).



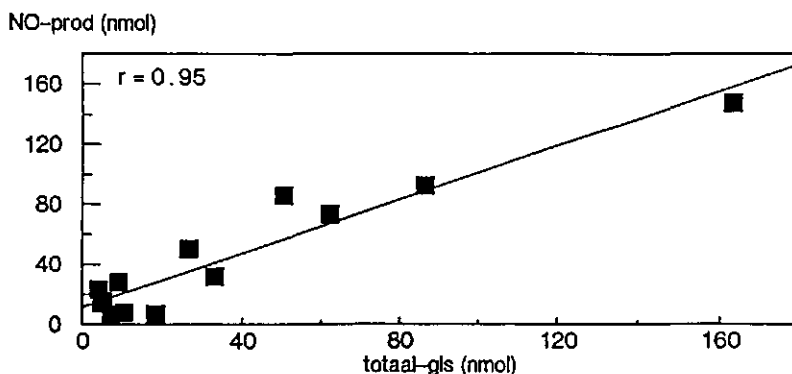
Figuur 4.2 Concentratie (uitgedrukt nmol/25 mg drogestof) N-nitroso product en mutagene activiteit (aantal TA100 revertanten per 25 mg drogestof) in waterextracten van Brassica-groenten geïnduceerd door behandeling met nitriet.



R =

| | |
|--------------------|---------------------|
| CH ₂ OH | INDOL-3-CARBINOL |
| CH ₂ CN | INDOL-3-ACETONITRIL |
| H | INDOL |

Figuur 4.3 Structuurformules van het indolyglucosinolaat glucobrassicine en de hydrolyseproducten indol-3-carbinol (I₃C), indol-3-acetonitril (I₃A) en indol (I).

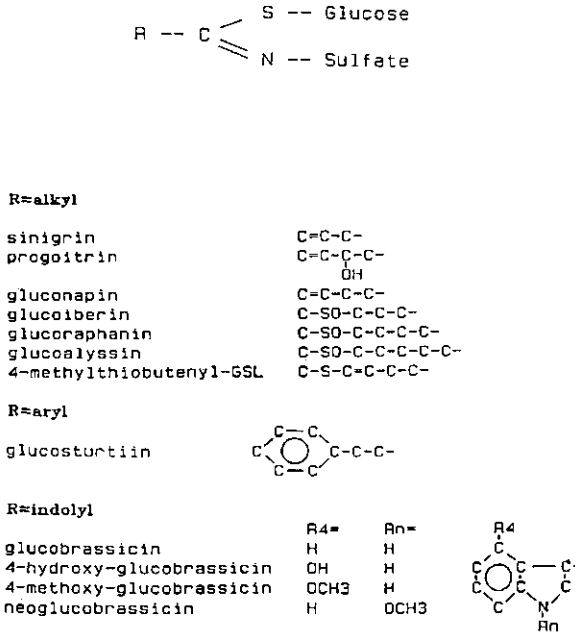


Figuur 4.4 Totale glucosinolaatgehalten (totaal-gls) in Crucifere groenten uitgezet tegen de concentratie N-nitroso (NO)-product (prod) gevormd in extracten van deze groente door behandeling met nitriet, uitgegaan van 25 mg vers.

In het kort komt deze test op het volgende neer: Een histidine-behoefte, repair-deficiënte, niet-virulente bacteriestam wordt overgebracht op een histidine-arm medium. De teststof wordt toegediend en indien deze in staat is om basepaarsubstituties te veroorzaken, welke leiden tot terugmutaties naar histidineprototrofie, dan kunnen de bacteriën uitgroeien tot kolonies (=

revertanten). Het aantal revertanten is een maat voor de mutageniteit. (Voor nadere gegevens over methoden wordt verwezen naar Tiedink et al. 1988). In alle groenten-extracten behandeld met nitriet werden NO-verbindingen aangetoond in tegenstelling tot niet behandelde extracten. Ook werden in alle groenten-extracten revertanten geïnduceerd door de nitrietbehandeling. Brassica-groenten sprongen eruit, zij vormden de hoogste concentraties NO-verbindingen en induceerden tevens de hoogste mutageniteit (Figuur 4.2). Deze parameters waren niet significant met elkaar gecorreleerd.

Tabel 4.1 Structuur van de meest voorkomende glucosinolaten in Crucifere groenten



Wakabayashi et al. (1985) identificeerden in Chinese kool indol-3-acetonitril als een belangrijke precursor van direct mutagene NO-verbindingen. Indol-3-acetonitril (I₃A) is evenals indol-3-carbinol (I₃C) en indol (I) een afbraakproduct van glucobrassicine, een glucosinolaatverbinding (Fenwick et al., 1983) (Figuur 4.3).

Glucosinolaatverbindingen komen slechts voor in Crucifere groenten. In deze planten is ook een enzym aanwezig, myrosinase, welk glucosinolaten hydrolyseert (Fenwick et al., 1983). Dit enzym wordt werkzaam bij beschadiging van celwanden, b.v. bij snijden. In Tabel 4.1 staan de meest voorkomende glucosinolaten in Brassica-groenten weergegeven.

De gehalten aan glucosinolaten in de droge stof van de groenten werden bepaald met behulp van HPLC zoals beschreven door Muuse & van der Kamp (1987). Glucosinolaten konden alleen worden aangetoond in Crucifere groenten. De totaalgehalten aan glucosinolaten in deze groenten bleek significant gecorreleerd te zijn met de hoeveelheid NO-verbindingen gevormd in

extracten van deze groenten na behandeling met nitriet (Figuur 4.4). Werden de glucosinolaten onderverdeeld in alkyl/aryl- en indolylglucosinolaten, dan bleef voor beide groepen deze significante correlatie bestaan.

Gezien het feit dat een afbraakprodukt (I_3A) van een indolylglucosinolaat-verbinding geïdentificeerd werd als een belangrijke precursor van direct mutagene NO-verbindingen in Chinese kool (Wakabayashi et al. 1985) en dat in dit onderzoek een significante correlatie werd gevonden tussen (indolyl)-glucosinolaatgehaltes in Brassica-groenten en de hoeveelheid NO-verbindingen in extracten van deze groenten na nitrosering, werd de rol van indolverbindingen in de vorming van direct mutagene NO-verbindingen in Brassica groenten nader onderzocht.

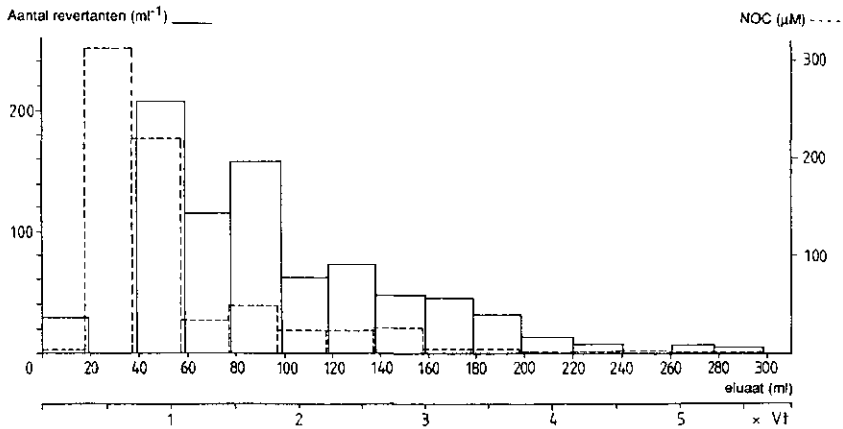
4.3 Rol van indolverbindingen bij de vorming van direct mutagene NO-verbindingen in groene kool

In de hieronderstaande experimenten werd gebruik gemaakt van groene kool (*Brassica oleracea*, var. *sabauda*), rijk aan indolylglucosinolaten (12,6 mmol/g droge stof) en welke een hoge mutageniteit vertoont na nitrosering (16600 TA100 revertanten/g droge stof). Een half uur na de bereiding van water/methanol-extracten van groene kool konden slechts spoortjes intacte glucosinolaten worden aangetoond, wat wijst op de hydrolyse van glucosinolaten. Bij de enzymatische hydrolyse van het meest voorkomende indolylglucosinolaat glucobrassicine worden I_3A en in mindere mate I_3C en I gevormd. I_3A , I_3C en I werden allen mutageen bevonden na nitrosering (Tiedink et al., 1989).

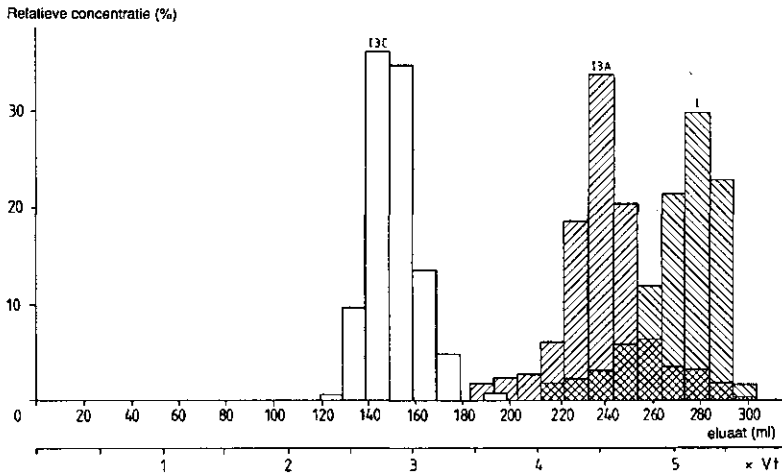
Een geconcentreerd water/methanol-extract van groene kool werd op een gelpermeatiekolom gebracht. (Gelpermeatiechromatografie berust op een scheiding van componenten door middel van molecuulmassa.) Er werden fracties verzameld, welke volgens boven beschreven methode werden genitroseerd, met uitzondering van een 15 minuten durende incubatie in plaats van 1 uur. De fracties werden getest op hun totaal NO-gehalte en directe mutageniteit (Figuur 4.5).

In de eerste fracties (tot tweemaal het totaal volume van de kolom (V_t)) werd het overgrote deel aan mutageniteit en totaal NO-produkt gevonden. In volgende experimenten werden aan groene kool extracten I_3A , I_3C en I toegevoegd. Met behulp van HPLC werden alle fracties onderzocht op de aanwezigheid van de drie indolverbindingen (Figuur 4.6).

Uit Figuur 4.6 blijkt dat de indolverbindingen na $2V_t$ van de kolom elueren. In deze fracties werden relatief gezien zeer lage gehalten aan NO-verbindingen en nauwelijks mutageniteit gevonden. Om aan te tonen dat de van nature in de kool aanwezige indolen (I_3A , I_3C , I) inderdaad in fracties na $2V_t$ elueren, werd het gehalte aan I_3A in een groene-koolextract bepaald met behulp van HPLC en massaspectrometrie (Tiedink et al. in druk).



Figuur 4.5 Mutagene activiteit (aantal TA100 revertanten per ml fractie) en concentratie N-nitrosoverbindingen (NOC per ml fractie) geïnduceerd door behandeling met nitriet in fracties van een gelpermeatiechromatografie (GPC)kolom verkregen met een groene koolextract. Extract afkomstig van 1,8 g gevriesdroogde groene kool. Totaal volume van de kolom (Vt).



Figuur 4.6 Hoeveelheden indolverbindingen in gelpermeatiechromatografiefracties van een groene koolextract waaraan indol-3-acetonitril (I₃A), indol-3-carbinol (I₃C) en indol (I) zijn toegevoegd. Hoeveelheden in fracties zijn uitgedrukt als het percentage van de totale hoeveelheden gedetecteerd in alle fracties. Extract was afkomstig van 1,7 g groene kool waaraan 200 μg I₃A, 283 μg I₃C en 150 μg I was toegevoegd.

Tevens werd de totale hoeveelheid I_3A in de fracties 10-15 bepaald. Zodoende kon de recovery berekend worden door de hoeveelheid I_3A in de fracties 10-15 te delen door de hoeveelheid I_3A op kolom gebracht maal 100 %. De recovery bedroeg 83 %, waardoor werd aangetoond dat I_3A inderdaad in de fracties 10-15 eluëert. Berekend kan worden dat de hoeveelheid I_3A die voorkomt in de groene kool < 5 % bijdraagt aan de mutageniteit van groene kool na nitrosering. Uit bovengenoemde experimenten kan worden geconcludeerd dat de indolverbindingen I_3A , I_3C en I nauwelijks bijdragen aan de mutageniteit van groene kool na nitrosering.

4.4 De rol van glucosinolaten bij de vorming van NO-verbindingen

Bovengenoemde experimenten toonden aan dat indolverbindingen nauwelijks betrokken zijn bij de vorming van NO-verbindingen in groene kool, rijk aan indolylglucosinolaten. In de eerste experimenten werd echter een significante correlatie gevonden tussen glucosinolaatgehaltes in Brassica-groenten en de hoeveelheden gevormd NO-product in extracten van deze groenten na nitrosering, waarbij de totale gehalten aan glucosinolaten op molaire basis overeenkomen met de hoeveelheden NO-verbindingen. Daarom werden geïsoleerde glucosinolaten onderzocht op hun potentie NO-verbindingen te vormen bij behandeling met nitriet. Glucosinolaatoplossingen werden genitroseerd en daarna geanalyseerd op de aanwezigheid van NO-verbindingen met HPLC gekoppeld aan een fotohydrolysedetector volgens een methode van Shuker & Tannenbaum (1983) (Tabel 4.2). Met dit systeem werden slechts NO-verbindingen en nitriet gedetecteerd. Uit Tabel 4.2 blijkt dat slechts indolylglucosinolaten in staat zijn NO-verbindingen te vormen. Wanneer glucosinolaten voor nitrosering werden behandeld met myrosinase, waardoor hydrolyse optrad, dan werden alleen NO-verbindingen gevormd uit de afbraakproducten van indolylglucosinolaten.

De experimenten werden herhaald voor mutageniteitsbepalingen. Slechts de afbraakproducten van glucobrassicine (dit zijn onder andere I_3A , I_3C en I) werden mutageen bevonden na nitrosering. Berekend kan worden dat de mutageniteit afkomstig van afbraakproducten van glucobrassicine < 1 % bijdragen aan de mutageniteit van groene kool na nitrosering. Andere glucosinolaten zullen in zijn geheel niet bijdragen aan de mutageniteit. Er dient echter wel opgemerkt te worden dat de hydrolyseproducten van aryl/alkylglucosinolaten zowel vóór als ná nitrietbehandeling cytotoxisch werden bevonden.

Tabel 4.2 De potentie van intacte en met myrosinase behandelde glucosinolaten om N-nitrosoverbindingen te vormen door behandeling met nitriet.

| Glucosinolaat | intact | met myrosinase behandeld |
|----------------------|--------|--------------------------|
| Sinalbine | - | - |
| Brassicinapine | - | - |
| Nasturtiine | - | - |
| Glucobrassicine | + | + |
| 4-OH-Glucobrassicine | + | + |
| Glucotropaeolin | - | - |
| Gluconapine | - | - |
| Progoitrine | - | - |
| Sinigrine | - | - |

4.5 Conclusies

Uit dit onderzoek kan worden geconcludeerd dat noch indolverbindingen (I_3A , I_3C en I) noch glucosinolaten belangrijke precursors van direct mutagene NO-verbindingen in Brassica-groenten zijn. Echter gezien de relatief hoge mutageniteit die in deze groenten gevonden wordt na nitrosering, moeten andere componenten in deze groenten aanwezig zijn die hiervoor verantwoordelijk zijn. Verder onderzoek naar de identiteit van deze verbindingen is gewenst, alsmede onderzoek naar de vorming van NO-verbindingen onder fysiologische omstandigheden.

4.6 Literatuur

- Ames, B.N., J. McCann & E. Yamasaki, 1975. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/Mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutation Research* 31, 347-364.
- Ellen, G. & P.L. Schuller, 1983. Nitrate, origin of continuous anxiety. In: R. Preussmann (Ed.), *Das Nitrosamin problem*. Verlag Chemie GmbH, Weinheim (BRD), 97-134.
- Fenwick, G.R., R.K. Heaney & W.J. Mullin, 1983. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 18, 123-201.
- Muuse, B.G. & H.J. van der Kamp, 1987. Determination of glucosinolates in crucifer vegetables for human consumption and rapeseed. In: J.P. Wathelot (Ed.), *Glucosinolates in rapeseed: analytical aspects*. Proceedings of a seminar in the CEC programme of research on plant productivity, held in Gembloux, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 38-49.

- Piacek-Llanes, B.G. & S.R. Tannenbaum, 1982. Formation of an activated N-nitroso compounds in nitrite treated fava beans (*Vicia faba*). *Carcinogenesis* 3, 1379-1384.
- Shuker, D.E. & S.R. Tannenbaum, 1983. Determination of nonvolatile N-nitroso compounds in biological fluids by liquid chromatography with postcolumn photohydrolysis detection. *Analytical Chemistry* 55, 2152-2155.
- Tiedink, H.G.M., J.A.R. Davies, L.W. van Broekhoven, H.J. van der Kamp & W.M.F. Jongen, 1988. The formation of direct mutagenic N-nitroso compounds in vegetable extracts; A comparison with the glucosinolate content. *Food and Chemical Toxicology* 26, 947-954.
- Tiedink, H.G.M., J.A.R. Davies, N.A. Visser, W.M.F. Jongen & L.W. van Broekhoven, 1989. The stability of nitrosated products of indole, indole-3-acetonitrile, indole-3-carbinol and 4 chloroindole. *Food and Chemical Toxicology* 27, 723-730.
- Tiedink, H.G.M., A.M. Hissink, S.M. Lodema, L.W. van Broekhoven en W.M.F. Jongen, in press. Several known indole compounds are not important precursors of direct-mutagenic N-nitroso compounds in green cabbage. *Mutation Research*.
- Wakabayashi, K. M. Nagao, T. Ho Chung, M. Yin, I. Karai, M. Ochiai, T. Tahira & T. Sugimura, 1984. Appearance of direct-acting mutagenicity of various foodstuffs produced in Japan and South-East Asia on nitrite treatment. *Mutation Research* 143, 17-21.
- Wakabayashi, K., M. Nagao, M. Ochiai, T. Tahira Z. Yamaizumi & T. Sugimura, 1985. A mutagen precursor in Chinese cabbage, indole-3-acetonitrile, which becomes mutagenic on nitrite treatment. *Mutation Research* 143, 17-21.
- Walters, C.L., M.J. Downes, M.W. Edwards & P.L.R. Smith, 1978. Determination of a non-volatile N-nitrosamine in a food matrix. *Analist, London* 103, 1127.

5 Houdbaarheid sierteeltprodukten

Dr.ir U. van Meeteren
Proefstation voor de Bloemisterij in Nederland, Aalsmeer.
Huidig adres: Vakgroep Tuinbouwplantenteelt,
Landbouwniversiteit, Wageningen.

Samenvatting

In het kort wordt aangegeven waarom een goede houdbaarheid van sierteeltprodukten van belang is. Hierbij wordt een omschrijving van het begrip 'houdbaarheid' aan de orde gesteld. Aan de hand van een aantal concrete voorbeelden worden de verschillende schakels in de keten van produktie en afzet besproken, welke een invloed hebben op de houdbaarheid van de produkten. De vragen en problemen die zich voordoen kunnen worden samengevat met de termen: kwaliteitscriteria en toetsmethodieken, *Botrytis*-aantasting, teeltomstandigheden, handling, verpakkingen en transportcondities. In het kort worden enkele onderzoekgebieden aangestipt waar het onderzoek zich de komende jaren op zou moeten concentreren, om te komen tot een verbetering van de houdbaarheid van Nederlandse sierteeltprodukten.

5.1 Goede houdbaarheid, een noodzaak

In 1988 bereikte de totale export van snijbloemen en potplanten uit Nederland een waarde van ca. 4,5 miljard gulden. Nederland nam hiermee ruim 70 % van de wereldsnijbloemenexport voor zijn rekening (Bron: Bloemenbureau Holland, 1989). De produktie in andere landen neemt toe. Deze produktie wordt voornamelijk op de binnenlandse markt van de producerende landen afgezet, wat leidt tot toenemende concurrentie op deze markten. Bovendien worden de eisen van de consument steeds hoger en zijn sierteeltprodukten luxe artikelen die met andere genotsartikelen moeten concurreren.

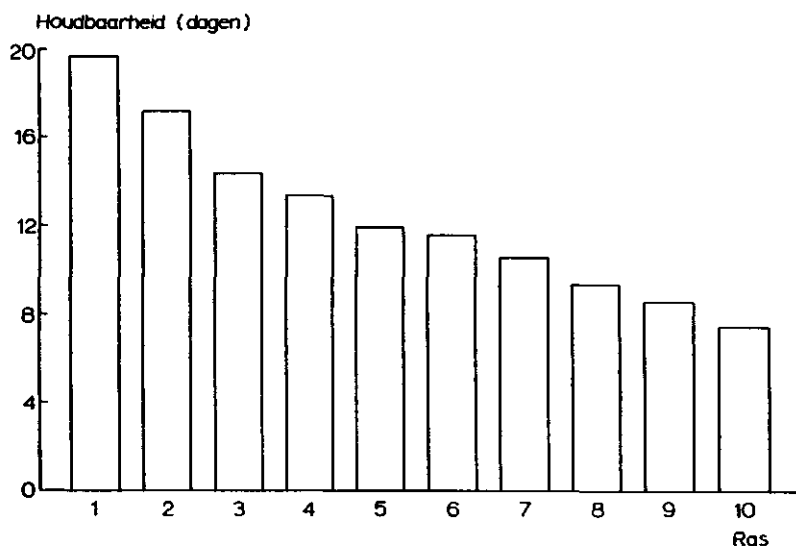
Een tevreden consument, die na aankoop van bloemen of planten plezier beleeft van zijn aanschaf, is op de langere termijn een zeer belangrijke factor in het totale proces dat uiteindelijk de vraag naar bloemen en planten en de prijs die deze opbrengen bepaalt. Om de consument dit plezier te laten beleven is het van groot belang dat zijn aankoop voldoet aan zijn verwachtingen. Hiervoor is het noodzakelijk dat de bloemen of planten gedurende een bepaalde periode voldoende sierwaarde bezitten.

Indien we houdbaarheid definiëren als de tijdsduur gedurende welke een produkt tenminste een minimale sierwaarde bezit, dan is het gedrag van planten en bloemen in de huiskamerfase, zoals bloemknopopening, bladver-

geling, abscissie van bloemen, knoppen en bladeren, bloemverkleuring, slap worden en veroudering, bepalend voor de houdbaarheid. Een sierteeltprodukt heeft een goede houdbaarheid als de gehele ontwikkeling goed verloopt en het bovendien tenminste een minimaal aantal dagen duurt voor de veroudering ver is voortgeschreden. Sierteeltprodukten onderscheiden zich wat betreft de houdbaarheidsproblematiek dan ook van groente en fruit, doordat niet alleen de status op het moment van verkoop aan de consument aan bepaalde eisen moet voldoen, maar doordat bovendien bij de gebruiker de ontwikkeling zich weer voort moet zetten. Daarnaast bestaat de verkochte 'bloem' uit vele verschillende organen, zoals kelkbladen, bloembladen, meeldraden, vruchtbeginsel, stengel en meestal loofbladen. Bij potplanten komt hier nog het wortelstelsel in een substraat bij. Bovendien bevinden bij vele potplanten en bloeiwijzen van snijbloemen de bloemen zich op het moment van oogsten in verschillende ontwikkelingsstadia.

5.2 Uitgangsmateriaal

Voor een goede houdbaarheid bij de consument zijn alle schakels in de gehele keten van productie tot en met afzet (uitgangsmateriaal, teelt, oogst, na-oogstbehandeling, bewaring, transport, behandeling door detaillist en consument) van belang.



Figuur 5.1 Houdbaarheid van verschillende Gerbera-rassen. (Anleta (1), Alp (2), Pimpernel (3), Maywood (4), Teracorso (5), Marjoleine (6), Appelbloesem (7), Florence (8), Anboika (9), Utah (10). Gegevens uit: De Gelder, A., 1984. Proefverslag gebruikswaardeonderzoek Gerbera 1983-1984, PBN, Aalsmeer).

Het gewas en de cultivar bepalen reeds de houdbaarheid die maximaal mogelijk is: de potentiële houdbaarheid van een iris is korter dan die van een chrysant; de ene Gerbera-cultivar is maximaal acht dagen houdbaar, de andere twintig dagen (Figuur 5.1).

Het is dan ook van groot belang dat van bestaande en nieuwe cultivars de potentiële houdbaarheid bekend is. Het gebruik van eenduidige, objectieve toetsmethoden om deze houdbaarheid te bepalen is hiervoor noodzakelijk. Het is verheugend dat het afgelopen jaar een begin is gemaakt met zogenaamde 'referentie-toetsen' (De Gelder, 1989). In deze toetsen wordt de houdbaarheid van nieuwe cultivars, volgens nauwkeurig vastgestelde voorschriften vastgesteld en vergeleken met enkele bekende cultivars. De methodiek hiervoor is in nauw overleg tussen het voormalige RIVRO, veredelingsbedrijven, veilingen en het Proefstation voor de Bloemisterij tot stand gekomen. Behalve de potentiële houdbaarheid worden ook enkele specifieke aspecten onderzocht die een knelpunt vormen bij het betreffende gewas. Voor verdere verbetering van de houdbaarheid door middel van veredeling is het van belang inzicht te hebben in de overerving van de verschillende componenten van de houdbaarheid. Verdelingsonderzoek naar bedoelde componenten zal binnenkort met enkele bolgewassen op het Centrum voor Plantenveredelings Onderzoek (CPO) worden uitgevoerd.

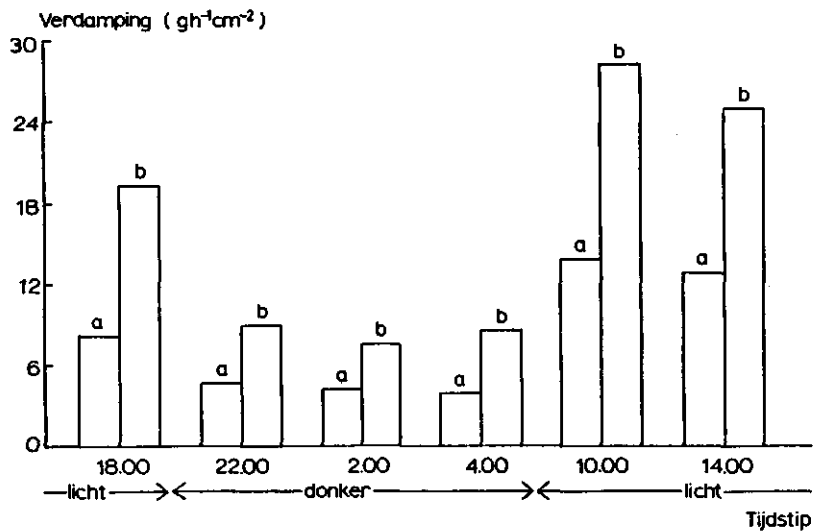
5.3 Teeltomstandigheden

Na de keuze van het gewas is de teelt de volgende schakel in de produktieketen. Tijdens de teelt wordt voor een belangrijk deel bepaald welk gedeelte van de potentiële houdbaarheid ook daadwerkelijk wordt gerealiseerd. Er bestaan grote verschillen in houdbaarheid tussen verschillende seizoenen. Ook tussen partijen bloemen en planten van verschillende telers kunnen de verschillen groot zijn (Tabel 5.1); soms zelfs tussen partijen van dezelfde teler.

Tabel 5.1 Houdbaarheid van Freesia-bloemen, cv. 'Polaris', afkomstig van verschillende tuinders (Gegevens uit: Sytsema-Kalkman, E. Ch. 1990. Proefverslag 3001-5, PBN, Aalsmeer).

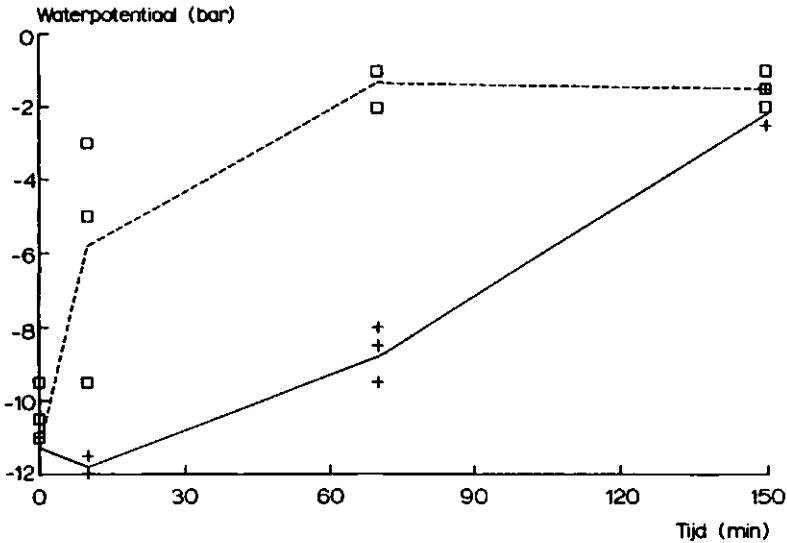
| Herkomst | Houdbaarheid (dagen) |
|-----------|----------------------|
| tuinder 1 | 5,6 |
| tuinder 2 | 6,1 |
| tuinder 3 | 6,7 |
| tuinder 4 | 7,4 |
| tuinder 5 | 7,7 |
| tuinder 6 | 8,0 |

Omstandigheden in de kas, zoals lichtintensiteit, temperatuur, watergift, bemesting, luchtvochtigheid en luchtbeweging verschillen tussen kassen. Tot nu toe is echter niet bekend welke van deze factoren de verschillen in houdbaarheid tussen partijen bloemen en planten veroorzaken. Soms kan een enkele verandering van teeltwijze een duidelijke invloed hebben op de houdbaarheid. Een voorbeeld hiervan is het gebruik van assimilatiebelichting bij de teelt van rozen. Het gebruik van deze bijbelichting in de winter heeft een verhoging van de produktie tot gevolg. De geoogste takken zijn bovendien dikker en steviger, de bloemen zijn groter en de kleur van bloemen en bladeren is beter dan wanneer geen assimilatiebelichting wordt toegepast. Uit uitbloeioproeven op Bloemenveiling Westland bleek echter dat de houdbaarheid van dergelijke rozen nogal eens korter is dan die van bloemen geteeld zonder gebruik van bijbelichting. Uit onderzoek op het Proefstation voor de Bloemisterij in Aalsmeer is gebleken dat onder meer de verdampingssnelheid van 'belichte' rozen aanzienlijk hoger is dan van 'onbelichte' rozen (Figuur 5.2).



Figuur 5.2 Verdampingssnelheid van afgesneden rozen, cv. 'Sonia'. Bloemen geplaatst in water bij 20 °C, RV 60 %, 12 uur licht (1,5 W/m²), 12 uur donker. 'Onbelicht' (a) = geen bijbelichting tijdens de teelt; 'Belicht' (b) = planten tijdens de teelt bijbelicht met SON-T lampen (ca. 5 W/m² op planthoogte) van 2.00 tot 22.00 uur. (Gegevens uit: Van Meeteren, U. & G. Slootweg, 1990. Waterbalans belichte/niet belichte rozen. Proefverslag 3308-1, PBN, Aalsmeer).

Dit is een gevolg van een lagere diffusieweerstand van de huidmondjes. Bovendien blijkt de snelheid waarmee 'belichte' rozen direct na de oogst zich met water volzuigen bij kamertemperatuur geremd te zijn ten opzichte van onbelichte rozen (Figuur 5.3). De kans dat er bij rozen bij de consument iets fout gaat is door het toepassen van assimilatiebelichting vergroot.



Figuur 5.3 Verloop van de waterpotentiaal van afgesneden rozen, cv. 'Sonia', na het plaatsen in water. Omgevingscondities: temperatuur 20 °C, RV 60 %, lichtintensiteit 1,5 W/m² (TL 84). 'Onbelicht' (■) = geen bijbelichting tijdens de teelt; 'Belicht' (+) = planten tijdens de teelt bijbelicht met SON-T lampen (ca. 5 W/m² op planthoogte) van 2.00 tot 22.00 uur. (Gegevens uit: Van Meeteren, U. & G. Sloopweg, 1990. Waterbalans belichte/niet belichte rozen. Proefverslag 3308-1, PBN, Aalsmeer).

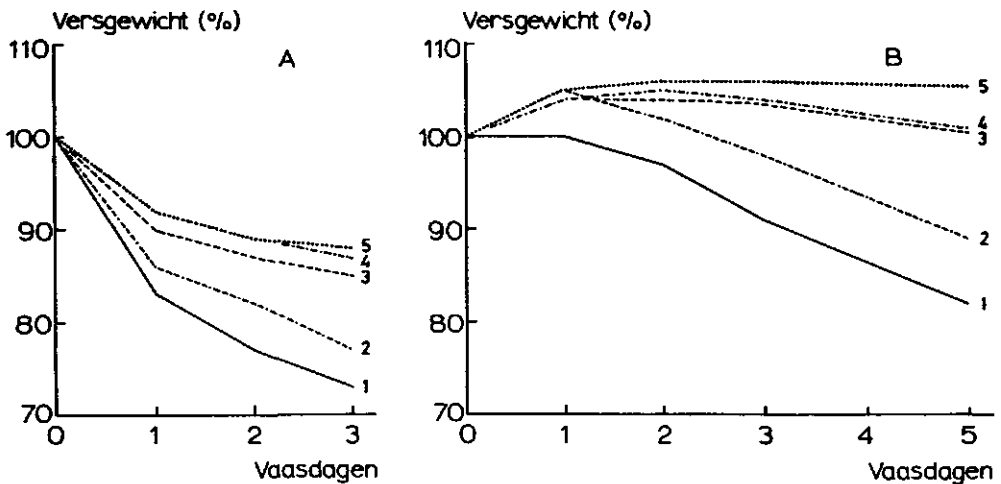
5.4 Oogst

De derde belangrijke factor in de productieketen is het oogsten. Het ontwikkelingsstadium van de bloemen op het moment van oogsten heeft grote invloed, zowel op het openkomen van bloemknoppen als op de totale houdbaarheid. Ook de kans op schade tijdens het transport kan worden beïnvloed door het ontwikkelingsstadium, evenals de mate van aantasting door *Botrytis* (Tabel 5.2). De eisen die gesteld worden ten behoeve van handel en transport zijn dikwijls tegenstrijdig aan de eisen die gesteld moeten worden voor een goede ontwikkeling bij de consument. Ook de handelingen die tijdens en direct na de oogst worden verricht kunnen van groot belang zijn. Ter demon-

stratie enkele resultaten van chrysant. Bij enkele chrysantecultivars kunnen zeer snel slappe bladeren optreden als zij in een vaas met water worden gezet, als gevolg van een belemmerde wateropname door de stengel. Het optreden van deze negatieve waterbalans kan sterk worden verminderd of geheel worden voorkomen (afhankelijk van de cultivar) door de takken op grotere afstand van de wortels af te snijden (Figuur 5.4).

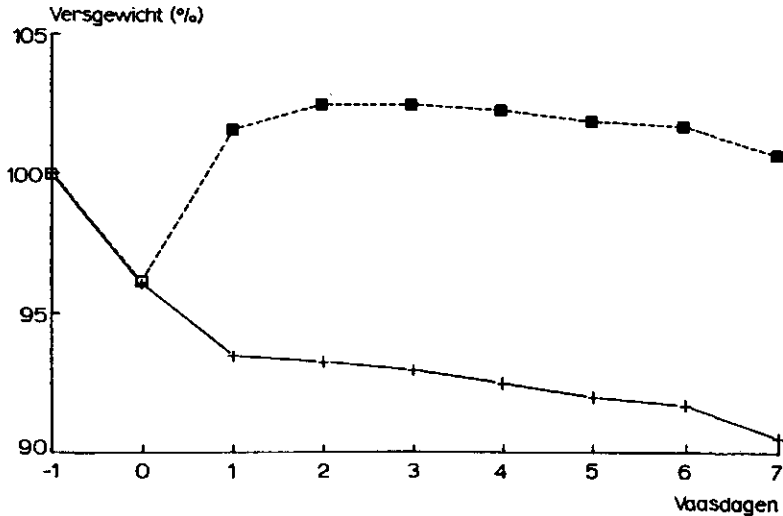
Tabel 5.2 Invloed aanvoer stadium op aantal bloemen (in procenten) van Saintpaulia cv. 'Rhapsodie rose', aangetast door *Botrytis cinerea*; waarnemingen na beëindiging van een transportsimulatie. Als transportsimulatie hebben de planten zeven dagen in een klimaatcel (17 °C, 70 % RV, donker) gestaan, ingepakt in een 'ongeperforeerde plastic potplantenhoes' (Gegevens uit: Drijver, C. 1985. Naoogstbestrijding van *Botrytis* bij Saintpaulia. Stageverslag, PBN, Aalsmeer).

| Aanvoer stadium (Aantal open bloemen per plant) | Aangetaste bloemen (%) |
|--|------------------------|
| 1 - 3 | 1 |
| 5 - 10 | 4 |
| circa 15 | 9 |



Figuur 5.4 De invloed van de afsnijhoogte boven de wortels op het versgewicht gedurende het vaasleven van chrysanten, cv. 'Cassa' (A) en 'Horim' (B). Afsnijhoogtes: 5 cm (1), 10 cm (2), 15 cm (3), 20 cm (4) en 25 (5). (Van Meeteren, 1989).

Bovendien blijkt dat het wel of niet optreden van de slappe bladeren sterk afhankelijk is van de temperatuur van het water gedurende de eerste uren van het vaasleven (Figuur 5.5). Door een lage watertemperatuur aan het begin van de vaasperiode kan de belemmering van de wateropname gedurende de gehele verdere vaasperiode worden voorkomen.



Figuur 5.5 Verloop versgewicht van chrysanthe, cv. 'Cassa', tijdens bewaring en vaasleven. De takken zijn de eerste twee uur van het vaasleven in water van 20 °C (+) of van 5 °C (■) geplaatst. (Gegevens uit: Van Meeteren, U., 1989. Waterbalans chrysanthe. Proefverslag 3002-4, PBN, Aalsmeer).

5.5 Afzet

Aansluitend op de oogst doorlopen de producten de gehele keten van handel en distributie. De lengte en samenstelling van deze afzetketen kan sterk verschillen. De kortst denkbare keten is de rechtstreekse verkoop van tuinder aan consument. Er komen in de praktijk echter ook zeer lange ketens voor met vele schakels, bijvoorbeeld tuinder, veiling, exporteur, vervoerder, importeur, groothandel en detaillist. In al deze schakels worden de bloemen en planten op een of andere manier behandeld en verblijven zij enige tijd. Om meer inzicht te verkrijgen in de knelpunten met betrekking tot de kwaliteit van sierteeltproducten tijdens de afzetketen is van 1986 t/m 1988 een grootschalig onderzoek uitgevoerd, het zogenaamde 'Ketenonderzoek Bloemisterijproducten' (Pladdet et al., 1988). Dit onderzoek is tot stand gekomen op initiatief van de Vereniging van Groothandelaren in Bloemkwekerijproducten (VGB) en de Vereniging van Bloemenveilingen in Nederland (VBN).

Het onderzoek heeft voornamelijk bestaan uit een inventarisatie van de condities waaraan bloemen en planten worden blootgesteld in de verschillende fasen van de afzetketen, van de tijdsduur dat de produkten aan die condities worden blootgesteld, van de activiteiten die ze ondergaan in de verschillende fasen en van de verpakings- en toevoegingsmiddelen die worden aangetroffen. Enkele van de resultaten uit dit onderzoek wil ik hier onder de aandacht brengen.

Op de binnenlandse markt is de totale doorlooptijd van snijbloemen vanaf de oogst tot verkoop aan de consument in de meeste gevallen vier dagen. Van Nederlandse bloemen die verkocht worden in Frankrijk, Zwitserland en Duitsland is de modale doorlooptijd ongeveer zes dagen en van bloemen die verkocht worden in Engeland, Italië, Zweden en de Verenigde Staten ongeveer acht dagen. De temperatuur gedurende deze periode wordt tot aan de veilingklok binnen een beperkte bandbreedte gehouden; daarna echter vindt een brede uitwaaiing van de temperatuur plaats. Zeker de helft van de in Nederland geproduceerde snijbloemen wordt, na het verlaten van de koelruimten in de veilingen, ver boven de optimale bewaar temperatuur afgezet. Voor bloeiende kamerplanten is de modale doorlooptijd op de binnenlandse markt zeven dagen. Voor de overige landen varieert deze tijd tussen twaalf en vijftien dagen.

In de gehele afzetketen is de lichtintensiteit waarbij potplanten zich bevinden, beneden het lichtcompensatiepunt. In 73 % van alle ruimten is de intensiteit minder dan 2 W/m^2 .

Aantasting door *Botrytis cinerea* is een van de belangrijkste redenen voor verkorting van de houdbaarheid bij vele sierteeltprodukten. Alhoewel in circa 70 % van de genomen luchtmonsters geen of zeer weinig sporen van *Botrytis* werden aangetoond, blijkt dat het slechts zelden voorkomt dat een bloem of plant zich niet enige tijd in een met sporen besmette ruimte bevindt.

Bij snijbloemen is een positieve waterbalans een belangrijke voorwaarde voor het behouden van voldoende sierwaarde bij de consument. Hiervoor is een onbelemmerde wateropname uit de vaas een vereiste. Deze wateropname kan sterk belemmerd worden, onder meer ten gevolge van de aanwezigheid van bacteriën op en in de bloemstelen. De aantallen bacteriën worden sterk verhoogd als de bloemen enige tijd in water worden geplaatst, waarin zich veel bacteriën bevinden. Tijdens het Ketenonderzoek bevatte circa 40 % van alle watermonsters onaanvaardbaar veel ($> 10^6$ per ml) bacteriën. Het water bij de Nederlandse telers is meestal vrij schoon. Bij importeurs komen grote verschillen voor; bij de detailhandel was in 50 % van de waarnemingen het bacteriegehalte te hoog.

Om een indruk te verkrijgen wat de waargenomen condities in de afzetketen betekenen voor de houdbaarheid van de produkten, is door het voormalige Sprenger Instituut (huidige ATO) een rekenmodel opgesteld. Uit berekeningen met dit model blijkt dat in 69 % van de doorgerekende ketens de houdbaarheid met 20 tot 35 % afneemt, in 23 % van de ketens met 35 tot 50 % en in 8 % met meer dan 50 %. Hierbij moeten we ons wel realiseren, dat door de beperkte beschikbare kennis over de invloed van allerlei condities en handelingen op de houdbaarheid, de uitkomsten van deze berekeningen (nog) een beperkte waarde hebben.

5.6 Knelpunten

Kortweg kunnen we de vragen en problemen samenvatten met de termen: kwaliteitscriteria en toetsmethodieken, *Botrytis*-aantasting, teeltomstandigheden, handling, verpakkingen en transportcondities. Kennis is nodig van de invloed van activiteiten en condities op de houdbaarheid, zodat bijvoorbeeld rasverschillen en gevolgen van teeltmaatregelen snel en duidelijk getoetst kunnen worden, maar ook simulatiemodellen van het kwaliteitsverloop in de keten verbeterd kunnen worden. De oorzaken van het ontstaan van partijverschillen moeten worden geanalyseerd. Deze verschillen moeten objectief vastgesteld kunnen worden, liefst op de veiling voor de verkoop. Het is noodzakelijk om de stress-tolerantie van de produkten te vergroten, zodat ze beter bestand zijn tegen uitdrogen, lage lichtintensiteiten, ethyleen en *Botrytis*. Hierbij zal veredeling een belangrijke rol moeten spelen, maar ook teeltmaatregelen en na oogsthandelingen en -behandelingen.

5.7 Onderzoek

Voor al deze zaken is het een vereiste inzicht te hebben in de processen die bepalend zijn voor de houdbaarheid van het geogste produkt. Hiervoor is fysiologisch onderzoek over de regulering van onder meer bloemknopontwikkeling en -opening, bloemveroudering, bladvergelting en de waterbalans noodzakelijk. Alhoewel bijna alle bloemen in een knopstadium worden geogst, ontbreekt inzicht in de regulerende processen van bloemknopopening en in de factoren (inwendig of uitwendig) die daar invloed op hebben. Ook over de regulatie van de veroudering is nog maar weinig bekend. Met de huidige ter beschikking staande fysische meetmethodieken is het waarschijnlijk mogelijk de rol van veranderingen in de membraanpermeabiliteit duidelijk vast te stellen. Moleculair-biologische onderzoeksmethodieken bieden mogelijkheden om de rol van specifieke gen-produkten bij de regulering vast te stellen.

De oorzaken van een verstoring van de waterbalans van afgesneden bloemen zijn gedeeltelijk bekend. Totaal onbekend is nog de achtergrond van de grote verschillen tussen rassen met betrekking tot het ontstaan van verstoringen van de waterbalans. Ditzelfde geldt ook voor de reacties op stressomstandigheden. Verder onderzoek over de epidemiologie van *Botrytis cinerea*, alsmede over de interacties tussen schimmel en de waardplant is van belang. Met name de recente vinding dat ethyleen noodzakelijk is voor de kieming van de sporen is in deze interessant (Kecpzyńska, 1989).

Het is verheugend dat volgens de onderzoekplannen van het recent opgerichte Agrotechnologisch Onderzoek Instituut (ATO) er veel capaciteit ingezet gaat worden voor fundamenteel onderzoek betreffende de veroudering van sierteeltprodukten en de waterhuishouding van snijbloemen. Het is zeer wenselijk dat hierbij een goede samenwerking met instituten als het CABO (Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek) en het RIKILT (Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten), enkele vakgroepen van de Landbouwniversiteit en het Proefstation in Aalsmeer tot stand komt. Onderzoek over de regulering van de assimilatenverdeling is waarschijnlijk van

groot belang voor verbetering van de bloemknopopening. De afgelopen jaren is het onderzoek op dit terrein versterkt door projecten op het CABO en het Proefstation in Aalsmeer. Alhoewel aantasting door *Botrytis* een van de belangrijkste problemen in de praktijk is, is onderzoek ter voorkoming van deze aantasting bij sierteelproducten zeer minimaal. Versterking van dit onderzoek is zeker gewenst. Veredelingsonderzoek ter verbetering van de houdbaarheid komt slechts langzaam op gang. Een betere selectie door veredelingsbedrijven zou sterk gestimuleerd kunnen worden door het snel invoeren van 'referentietoetsen' voor verscheidene gewassen. Onderzoek over de invloed van teeltomstandigheden op de houdbaarheid vindt slechts incidenteel plaats. Dergelijk onderzoek wordt sterk belemmerd door een gebrek aan kennis over de processen die verschillen in houdbaarheid veroorzaken.

5.8 Literatuur

- Anonymus, 1989. De Bloemisterij in Nederland in cijfers. Bloemenbureau Holland, Leiden, 6 pp.
- De Gelder, A., 1989. Referentietoets Gerbera. PBN-rapport 81, PBN, Aalsmeer, 42 pp.
- Kepczynska, E., 1989. Ethylene requirement during germination of *Botrytis cinerea* spores. *Physiol. Plant.* 77, 369-372.
- Meeteren, U. van, 1989. Water relations and early leaf wilting of cut chrysanthemums. *Acta Horticulturae* 261, 129-135
- Pladdet, F.C., A. Hoogerwerf, R.M. van Witsen, D.C. van der Laan, .D. Laverman, W. van der Meer, L.J. Ruizendaal & J.J.M. Voorn, 1988. Eindrapport Ketenonderzoek Bloemisterijproducten, Vereniging van Bloemenveilingen in Nederland, Leiden, 73 pp.

6 Verdeling van assimilaten, met name organisch stikstof, tijdens koudebehandeling van tulpebollen in verband met bloeibaarheid

Drs. H. Lambrechts en Prof.dr. C. Kollöffel
Vakgroep Botanische Oecologie en Evolutiebiologie,
Rijksuniversiteit Utrecht

Samenvatting

Bolgewassen, zoals de tulp, hebben na de bloemaanlegfase een bepaalde koudeperiode nodig voor goede strekking van de bloemsteel en volledige pigmentatie van het bloemdek. Deze koudeperiode heeft, afhankelijk van de gebruikte temperatuur en cultivar, een optimale duur. Tijdens droge bewaring van de tulp cv.'Apeldoorn' bij 5 °C is een duur van 12 weken optimaal. In de praktijk bestaat behoefte aan een toets op de duur van de koudebehandeling in verband met bloeibaarheid van bollen, die op de veiling worden aangeboden. In het kader van de ontwikkeling van dergelijke bloeibaarheidstoetsen wordt o.a. gezocht naar veranderingen in de gehalten van stikstofhoudende assimilaten.

Gedurende een droge bewaarperiode van 15 weken bij 5 °C en 17 °C van tulpebollen cv.'Apeldoorn' neemt de totale hoeveelheid eiwitstikstof en vrij aminozuurstikstof in de bolrokken af, maar de verschillen tussen beide temperatuurbehandelingen zijn niet significant. Per g drooggewicht treden er in individuele aminozuurgehalten in de bolrokken geen veranderingen op, die bruikbaar zijn als indicatoren voor de duur van de koudebehandeling.

In de spruiten neemt de totale hoeveelheid eiwit- en aminozuurstikstof bij 17 °C meer toe dan bij 5 °C. Temperatuurafhankelijke verschillen in specifieke aminozuurgehalten per g drooggewicht treden op gedurende de eerste 6 weken van de koudebehandeling. Deze verschillen blijven bestaan gedurende de resterende 9 weken van de koeling. Opvallend daarbij is de aanzienlijke accumulatie van arginine bij 17 °C en de forse daling van het asparaginegehalte bij 5 °C. De verhouding tussen het gehalte aan 4-methyleen-glutamine en asparagine in de spruit stijgt lineair gedurende de hele koudebehandeling, onafhankelijk van het begintijdstip van koeling. Bij 17 °C blijft deze ratio veel lager. Deze koudeafhankelijke parameter kan in de praktijk wellicht worden gebruikt als een indicator voor de duur van de koudebehandeling van cv.'Apeldoorn'.

6.1 Inleiding

De generatieve fase van een bolgewas, zoals de tulp, kan worden ingedeeld in drie opéénvolgende fasen nl. de bloemaanlegfase, de preparatiefase en de strekkingsfase. Tijdens de bloemaanlegfase differentieert het apicale meristem zich tot een complete bloem, bij een temperatuur van ongeveer 20 °C. Daarna is de bol klaar voor de preparatiefase, waarin bij lage temperaturen (0-9 °C) processen optreden, die de spruit in staat stellen tot een adequate strekking. Deze strekking wordt gerealiseerd bij hogere temperaturen in de daaropvolgende strekkingsfase. Onder natuurlijke omstandigheden valt de bloemaanlegfase in de zomer na het rooien, de preparatiefase in de winter na het planten en de strekkingsfase in het voorjaar.

Een aantal soorten bloembollen is wat het moment van bloei betreft programmeerbaar. Dit wil zeggen dat door het manipuleren van de preparatiefase het bij het gewas horende natuurlijke bloeitijdstip kan worden verplaatst in de tijd. Zo kan zeer vroege bloei worden bereikt door de winter kunstmatig te vervroegen. Bollen worden na de aanleg van de bloem bewaard in koelcellen bij 2, 5 of 9 °C totdat ze genoeg koude hebben gehad. Door precies genoeg koude te geven en op tijd de warmere kasperiode te laten aanvangen kan van te voren met vrij grote nauwkeurigheid de bloeidatum worden vastgelegd. De koudebehandeling van de bol heeft een bepaalde optimale duur, afhankelijk van de gebruikte temperatuur en cultivar. Voor de tulp cv. 'Apeldoorn' is dat b.v. 12 weken 5 °C of 16 weken 9 °C (Rees, 1972). Te korte koudebehandeling leidt tot vertraagde strekking van de bloemsteel en uiteindelijk tot een te korte bloemsteel. Bovendien kan te weinig kou resulteren in onvolledige pigmentatie van het bloemdek. Een te lange koudebehandeling leidt tot snellere strekking van de bloemsteel, maar ook tot een kleinere bloem (Moë & Wickstrom, 1973).

In de praktijk blijkt dat door vergissing of onachtzaamheid partijen bollen worden verhandeld die niet de juiste koudebehandeling hebben gehad en dus geen kwalitatief goede bloem leveren op het door de koper gewenste tijdstip. Daarom is er behoefte aan een toets op de duur van de koudebehandeling in verband met bloeibaarheid van bollen, die op de veiling worden aangeboden. In dit onderzoek is de tulp als modelgewas gekozen, niet alleen uit commercieel oogpunt, maar ook omdat aan de tulp al veel teeltkundig en fysiologisch onderzoek is gedaan (Rees, 1972). Bekend is dat er tijdens de preparatiefase van de tulpebol een herverdeling van koolhydraten optreedt tussen bolrokken enerzijds en de overige boldelen anderzijds (Möe & Wickstrom, 1973; Haaland & Wickstrom, 1975; Davies & Kempton, 1975; Aung et al., 1976; Ohyama et al., 1988a). Een korrelatie van specifieke koolhydraatgehaltes met de duur van de koudebehandeling is tot op heden echter niet aangetoond. Over de stikstofhuishouding van de droog bewaarde bol is nog maar weinig bekend. Mogelijk kan het ontstaan van koude geïnduceerde eiwitten of veranderingen in de hoeveelheid reserveëiwit, wel gecorreleerd worden aan de duur van de koudebehandeling (Rees, 1972). Daarmee samenhangend kunnen er eventueel veranderingen optreden in specifieke aminozuurgehalten in de verschillende bolonderdelen.

Aan de Rijksuniversiteit te Utrecht heeft het onderzoek in het kader van de ontwikkeling van bloeibaarheidstoetsen zich tot nu toe voornamelijk gecon-

centreerd op koudeafhankelijke veranderingen van stikstofhoudende stoffen tijdens de preparatiefase van de tulpebol. Aan andere instituten die deelnemen aan dit project, worden parameters onderzocht die eveneens mogelijk gebruikt kunnen worden als indicatoren voor de duur van de koudebehandeling. Dit betreft onderzoek aan groeistoffen (LBO, LUW, VU), enzymactiviteiten (RUG, ATO), membraaneigenschappen (RUG) en ademhaling (VU). Het project wordt gecoördineerd door het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek te Lisse. Voorlopige resultaten over de verdeling van organisch stikstof in gekoelde en ongekoelde bollen, worden hier gepresenteerd.

6.2 Materiaal en Methode

Tulpebollen cv.'Apeldoorn' werden na het rooien bewaard in een geventileerde klimaatcel bij 20 °C tot de start van de preparatiefase. Op 5 september 1988 en 3 oktober 1988 werden de bollen overgebracht naar klimaatkamers van 5 en 17 °C en daar droog bewaard gedurende 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 en 15 weken. Een aantal bollen die 12 weken bij 5 °C werden opgeslagen, zijn aansluitend nog 1 week bij 17 °C bewaard als simulatie van het transport van koelcel naar de veiling, dat bij hogere temperaturen plaats vindt.

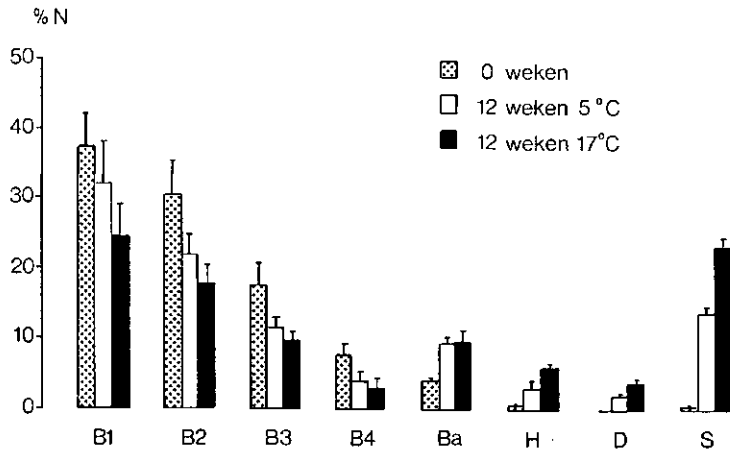
De bollen werden na afloop van de temperatuurbehandelingen, gesplitst in bolrokken, bolbasis, dochterbollen, H-bol en spruiten. Alle bolonderdelen werden direct ondergedompeld in vloeibare stikstof en bewaard bij -80 °C. Ingevroren bolmateriaal werd gevriesdroogd, gewogen en met behulp van een mortier en stamper tot poeder gemalen. Dit poeder werd 5 maal geëxtraheerd met 70 % ethanol (10 ml/g drooggewicht), met norleucine als interne standaard. Het ethanolextract werd drooggedampt met behulp van een rotatieverdampers boven een waterbad met een temperatuur van 50 °C. Het residu werd vervolgens twee maal geëxtraheerd met chloroform:water (5:8). De waterfase is gebruikt voor het uitvoeren van aminozuuranalyses met behulp van een LKB Amino Acid Analyser.

Totaal eiwitstikstof werd bepaald door destructie van de in 80 % ethanol onoplosbare droge stof volgens Kjeldahl, gevolgd door een colorimetrische bepaling van NH_4^+ met behulp van een continuous flow auto-analyser.

Totaal organisch N werd gaschromatografisch met behulp van een Carlo Erba Elementen Analyser bepaald.

6.3 Resultaten

Gedurende 12 weken bewaring van tulpebollen bij 5 ° en 17 °C treedt er een redistributie op van stikstof tussen de verschillende bolonderdelen.(Figuur 6.1). Het totale stikstof neemt af in de bolrokken en neemt toe in de spruit, basis, dochterbollen en H-bol. In het algemeen zijn deze veranderingen wat kleiner in gekoelde bollen dan in ongekoelde bollen.



Figuur 6.1 Totaal stikstof in bolrokken (B 1-4; B1 = buitenste bolrok), spruiten (S), bolbasis (Ba), dochterbollen (D) en H-bol (H), uitgedrukt als % van totaal stikstof in de bol, voor en na 12 weken bewaring bij 5 en 17 °C.

Tabel 6.1 Totaal eiwitstikstof en totaal aminozuurstikstof in bolrokken (B1 = buitenste, B4 = binnenste), op 5 september 1988 en na 12 weken opslag bij 5 en 17 °C.

| Type opslag | | mg eiwit-N | mg aminozuur-N |
|-------------|----------------|------------|----------------|
| B1 | 0 weken | 30,0 ± 5,1 | 10,6 ± 1,80 |
| | 12 weken 5 °C | 21,1 ± 3,8 | 10,5 ± 1,90 |
| | 12 weken 17 °C | 17,4 ± 3,6 | 7,92 ± 1,61 |
| B2 | 0 weken | 27,7 ± 3,6 | 13,1 ± 1,60 |
| | 12 weken 5 °C | 16,1 ± 3,2 | 7,58 ± 1,35 |
| | 12 weken 17 °C | 13,0 ± 1,5 | 6,26 ± 0,81 |
| B3 | 0 weken | 19,2 ± 2,9 | 10,1 ± 1,50 |
| | 12 weken 5 °C | 7,89 ± 1,6 | 4,29 ± 0,76 |
| | 12 weken 17 °C | 9,50 ± 2,2 | 4,08 ± 0,85 |
| B4 | 0 weken | 5,51 ± 2,7 | 3,39 ± 0,50 |
| | 12 weken 5 °C | 3,14 ± 0,7 | 1,59 ± 0,39 |
| | 12 weken 17 °C | 2,50 ± 0,3 | 1,38 ± 0,27 |

De afname in totale stikstof in de bolrokken wordt bij beide temperatuurbehandelingen veroorzaakt door zowel een afname in eiwitstikstof als een afname in vrij aminozuurstikstof. (Tabel 6.1)

De afname in stikstof uit de vrije aminozuurpool wordt, op zijn beurt grotendeels veroorzaakt door een afname van het argininegehalte en bedraagt in alle bolrokken 75-85 % na 12 weken bewaring bij 5 en 17 °C. Bij de aanvang van de preparatiefase is arginine het meest voorkomende aminozuur in de 3 binnenste bolrokken, terwijl in de buitenste bolrok glutaminezuur en 4-methyleen-glutamine domineren. Na 12 weken bewaring van bollen bij 5 en 17 °C zijn in alle bolrokken glutamine en glutaminezuur de belangrijkste aminozuren geworden (Tabel 6.2) Gedurende de volledige preparatiefase is van de totale hoeveelheid van het niet-eiwitaminozuur 4-methyleen-glutamine in de bolrokken meer dan 90 % aanwezig in de buitenste bolrok. Bij 5 °C blijft het totale gehalte van 4-methyleen-glutamine in de buitenste bolrok constant, terwijl na 12 weken opslag bij 17 °C nog maar 46 % van de oorspronkelijk aanwezige hoeveelheid aanwezig is.

Temperatuurafhankelijke verschillen in individuele aminozuurgehalten in de bolrokken zijn wel aanwezig, maar berekend per g drooggewicht zijn de verschillen tussen gekoelde en ongekoelede bollen en tussen korte en lange duur van de koudebehandeling niet groot genoeg, om bruikbaar te zijn voor de ontwikkeling van een toets op de duur van de koudebehandeling.

In de spruiten neemt de totale hoeveelheid eiwit- en aminozuurstikstof toe gedurende de preparatiefase van de bol. Per g drooggewicht treedt er echter een daling van het stikstofgehalte op, wat helemaal veroorzaakt wordt door een afname van de hoeveelheid eiwitstikstof per g drooggewicht. Deze afname is meer uitgesproken in gekoelde bollen dan in ongekoelede bollen. Het totale vrije aminozuurstikstof per g drooggewicht neemt bij 17 °C meer toe dan bij 5 °C (Tabel 6.3). Dit verschil wordt voornamelijk veroorzaakt door een aanzienlijke accumulatie van arginine in ongekoelede spruiten. In gekoelde spruiten daarentegen blijft de hoeveelheid arginine per g drooggewicht nagenoeg constant. Naast dit verschil in argininegehalte per g drooggewicht vallen nog enkele andere temperatuurafhankelijke verschillen in aminozuurgehalten op. Zo treedt er een forse en snelle daling op van het asparaginegehalte per g drooggewicht in 5 °C spruiten, terwijl dit gehalte per g drooggewicht niet verandert bij 17 °C. Proline accumuleert bij beide temperatuurbehandelingen, maar in gekoelde spruiten meer dan in ongekoelede spruiten. Verschillen in deze aminozuurgehalten werden gevonden gedurende de eerste 6 weken van de temperatuurbehandeling en bleven aanwezig gedurende de daaropvolgende 9 weken (Figuur 6.2). Na 12 weken 5 °C is proline het belangrijkste aminozuur in de spruit, terwijl arginine domineert na 12 weken 17 °C.

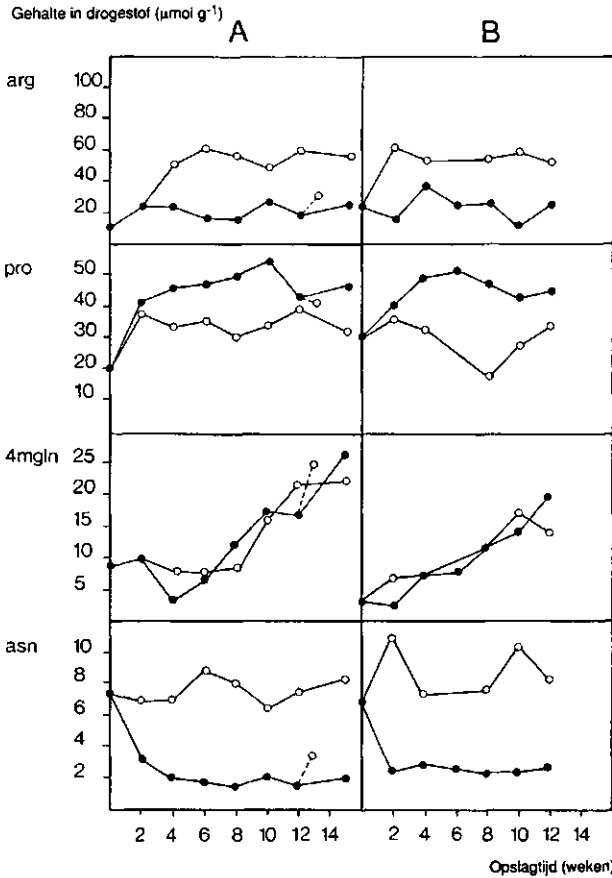
Het aminozuur 4-methyleen-glutamine accumuleert bij 5 en 17 °C in dezelfde mate en geleidelijk gedurende de gehele temperatuurbehandeling van de bol. Deze temperatuurafhankelijke verandering heeft, samen met de koudeafhankelijke verandering in het asparaginegehalte, tot gevolg dat de verhouding tussen het gehalte aan 4-methyleen-glutamine en asparagine sterk toeneemt in gekoelde spruiten en aanzienlijk kleiner blijft in ongekoelede spruiten.

Tabel 6.2 Specifieke aminozuurgehalten in μmol per g drooggewicht in bolrokken, op 05-09-1988 (a) en na 12 weken opslag bij 5 (b) en 17 °C (c).

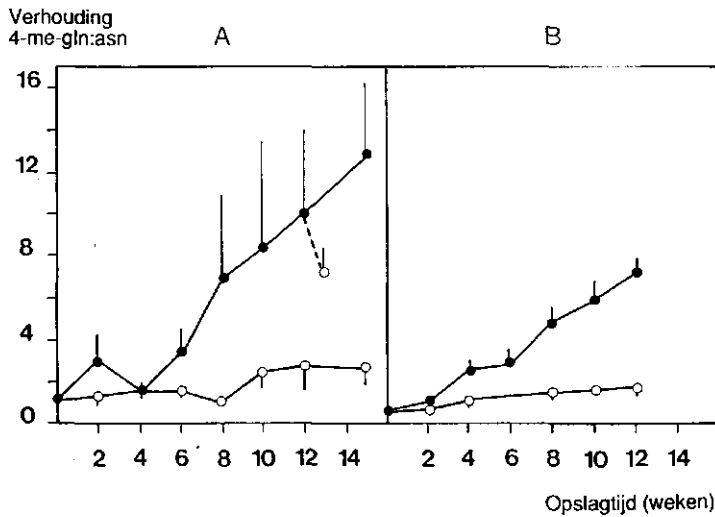
| Aminozuur | B1 | | | B2 | | | B3 | | | B4 | | |
|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c |
| asp | 3,93 | 6,45 | 4,34 | 5,34 | 9,54 | 6,02 | 5,70 | 9,56 | 6,19 | 5,89 | 9,69 | 5,90 |
| thr | 0,66 | 1,32 | 1,71 | 1,21 | 1,29 | 1,96 | 1,42 | 1,18 | 1,99 | 1,58 | 1,17 | 2,10 |
| ser | 1,36 | 5,74 | 3,71 | 1,99 | 5,09 | 3,36 | 2,33 | 5,00 | 3,33 | 2,52 | 4,58 | 3,07 |
| asn | 3,92 | 4,49 | 3,26 | 6,98 | 3,03 | 3,59 | 8,27 | 3,20 | 3,69 | 7,26 | 2,02 | 3,34 |
| glu | 17,4 | 18,9 | 14,1 | 17,7 | 18,3 | 14,4 | 17,8 | 19,2 | 13,9 | 17,5 | 17,6 | 12,5 |
| gln | 7,11 | 22,5 | 15,2 | 11,5 | 18,1 | 13,5 | 12,1 | 15,8 | 13,9 | 11,2 | 13,0 | 11,0 |
| 4me glu | 4,84 | 0,00 | 1,03 | 2,90 | 0,00 | 0,35 | 2,59 | 0,00 | 0,14 | 2,03 | 0,18 | 0,16 |
| 4me gln | 14,2 | 14,5 | 8,57 | 1,68 | 1,41 | 0,78 | 1,21 | 0,90 | 0,19 | 0,92 | 0,71 | 0,12 |
| pro | 1,34 | 7,11 | 5,91 | 1,69 | 7,52 | 6,04 | 2,18 | 5,86 | 6,57 | 2,56 | 5,31 | 5,37 |
| gly | 0,21 | 0,46 | 0,90 | 0,74 | 0,72 | 0,91 | 0,99 | 0,19 | 0,91 | 1,05 | 0,45 | 0,92 |
| ala | 2,67 | 3,45 | 2,19 | 4,63 | 4,16 | 2,96 | 5,15 | 3,67 | 3,30 | 5,17 | 3,36 | 3,11 |
| Aaba | 1,18 | 2,22 | 3,02 | 0,77 | 0,35 | 0,08 | 0,77 | 0,18 | 0,19 | 0,75 | 0,29 | 0,17 |
| val | 1,59 | 3,50 | 4,03 | 2,14 | 2,64 | 3,42 | 2,91 | 2,20 | 3,66 | 3,38 | 2,07 | 3,38 |
| met | 0,00 | 0,29 | 0,47 | 0,05 | 0,46 | 0,54 | 0,16 | 0,31 | 0,43 | 0,24 | 0,37 | 0,16 |
| ile | 1,06 | 2,75 | 2,43 | 0,95 | 2,19 | 2,48 | 1,34 | 1,88 | 2,70 | 1,86 | 1,92 | 2,41 |
| leu | 0,47 | 2,43 | 2,37 | 1,04 | 2,44 | 2,75 | 1,56 | 2,25 | 3,05 | 2,18 | 2,59 | 2,63 |
| tyr | 0,25 | 0,73 | 1,35 | 0,57 | 0,95 | 2,47 | 0,81 | 0,94 | 1,29 | 1,20 | 1,15 | 1,33 |
| phe | 0,53 | 2,19 | 1,82 | 1,09 | 2,34 | 1,69 | 1,48 | 2,15 | 2,02 | 1,96 | 2,22 | 1,84 |
| gaba | 0,00 | 1,07 | 3,21 | 0,00 | 2,34 | 3,73 | 0,00 | 0,19 | 3,70 | 0,00 | 0,16 | 3,42 |
| orn | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,09 | 0,00 | 0,00 | 0,12 | 0,00 | 0,00 | 0,11 | 0,19 | 0,07 |
| lys | 0,53 | 0,73 | 0,79 | 1,19 | 0,51 | 0,70 | 1,54 | 0,52 | 0,68 | 1,92 | 0,55 | 0,79 |
| his | 0,35 | 0,74 | 0,76 | 0,77 | 0,83 | 0,76 | 1,06 | 0,83 | 0,82 | 1,30 | 0,90 | 0,74 |
| 3Mhis | 0,00 | 0,20 | 0,00 | 0,00 | 0,25 | 0,00 | 0,00 | 0,22 | 0,00 | 0,00 | 0,11 | 0,00 |
| arg | 17,2 | 3,52 | 5,52 | 33,8 | 8,45 | 9,43 | 42,5 | 9,35 | 9,86 | 40,2 | 8,65 | 12,6 |
| totaal | 80,8 | 105 | 86,8 | 99,1 | 93,1 | 82,0 | 115 | 85,1 | 82,6 | 113 | 79,4 | 77,2 |

Tabel 6.3 Eiwit- en aminozuurstikstof, totaal en per g drooggewicht, in spruiten op 5 september 1988 en na 12 weken bewaring bij 5 en 17 °C.

| Type opslag | eiwit-N | | aminozuur-N | |
|----------------|-----------|---------|-------------|-----------|
| | mg | mg/g dw | mg | mg/g dw |
| 0 weken | 1.7 ± 0.1 | 52 ± 5 | 0.10 ± 0.04 | 3.2 ± 0.4 |
| 12 weken 5 °C | 9.7 ± 1.9 | 36 ± 5 | 1.3 ± 0.2 | 4.8 ± 0.6 |
| 12 weken 17 °C | 17 ± 2 | 44 ± 2 | 3.1 ± 0.5 | 7.9 ± 0.9 |



Figuur 6.2 Gehaltes van arg, asn, pro en 4-me-gln per g drooggewicht in spruiten gedurende de temperatuurbehandeling van de bol, gestart op 5 september 1988 (A) en 3 oktober 1988 (B) (●—●:5 °C; ○—○:17 °C; ○---○:transportsimulatie bij 17 °C)



Figuur 6.3 4-methyleen-glutamine: asparagine ratio in spruiten gedurende de temperatuurbehandeling van de bol, gestart op 5 september 1988 (A) en 3 oktober 1988 (B)
 A: aminozuurextractie (n=4) van elke spruit afzonderlijk
 B: aminozuurextractie (n=2) van meerdere spruiten tegelijk
 (●—●: 5 °C; ○—○: 17 °C; ●---○: transportsimulatie bij 17 °C)

Het verband met de duur van de koudebehandeling is bijna lineair en bovendien onafhankelijk van het begintijdstip van koeling (Figuur 6.3). Hetzelfde patroon wordt nl. ook gevonden wanneer de temperatuurbehandeling van de bollen 4 weken later wordt ingezet. Na 1 week transportsimulatie worden de verschillen tussen beide temperatuurbehandelingen wat kleiner, maar er blijft nog een aanzienlijk verschil bestaan met spruiten uit ongekoelde bollen.

6.4 Discussie

Tijdens de preparatiefase van tulpebollen vindt er een herverdeling plaats van drogestof tussen bolrokken enerzijds en de rest van de bol anderzijds (Aung et al., 1976). Dit houdt onder meer een redistributie van organisch stikstof in (Zacharius et al., 1957). Bij de cultivar 'Malta' (Ohyama et al., 1988b) neemt de hoeveelheid eiwit-N per g drooggewicht alleen af in de bolrokken van gekoelde bollen. Daaruit werd geconcludeerd dat koudebehandeling essentieel is voor de mobilisatie van reserve-eiwit-N (Ohyama et al., 1988b). Deze conclusie mag echter niet worden getrokken als ook het drooggewicht van de bolrokken verandert, en dat is naar alle waarschijnlijkheid wel het geval. De hier gepresenteerde resultaten tonen aan dat, in de bolrokken van de cultivar 'Apeldoorn', een afname optreedt van het gehalte aan eiwit-N, totaal en per g drooggewicht, bij zowel 5 ° als 17 °C. Na 12

weken droge bewaring zijn de verschillen tussen beide temperatuurbehandelingen niet significant.

Bij 5 °C neemt de hoeveelheid vrij aminozuurstikstof per g drooggewicht in de bolrokken van cv.'Malta' toe. Dit wordt voornamelijk veroorzaakt door een accumulatie van glutamine, 4-methyleen-glutamine en arginine bij 5 °C (Ohyama et al., 1988b). Bij cv.'Apeldoorn' neemt echter zowel bij 5 als 17 °C het vrij aminozuurstikstof per g drooggewicht af, hetgeen voornamelijk het gevolg is van een afname in het argininegehalte. De hoeveelheid 4-methyleen-glutamine per g drooggewicht neemt eveneens af, onafhankelijk van de gebruikte bewaar temperatuur. Dit niet-eiwit amino zuur komt voornamelijk in de buitenste bolrok voor.

Veranderingen in de vrije amino zuursamenstelling in de spruiten van cv.'Apeldoorn' en cv.'Malta' zijn grotendeels vergelijkbaar (Ohyama et al., 1988b). Opvallend is echter het verschil in proline-accumulatie tussen beide cultivars: bij 'Apeldoorn' accumuleert proline meer bij 5 °C dan bij 17 °C, bij 'Malta' is dit juist omgekeerd. Alle temperatuurafhankelijke veranderingen in aminozuurgehalten per g drooggewicht van de totale spruiten, treden ook op in de helmknoppen, bij cv.'Apeldoorn'. (Tonecki & Gorin, in press). In de helmknoppen is het asparaginegehalte per g drooggewicht afhankelijk van de startdatum van de temperatuurbehandeling (Gorin et al., in press). Dit is niet het geval voor hele spruiten. In het algemeen zijn de verschillen tussen beide temperatuurbehandelingen in de helmknoppen extremer dan in de spruit in zijn geheel. In de helmknoppen werd bij 5 °C een grotere daling van het asparaginezuurgehalte per g drooggewicht gevonden dan bij 17 °C (Lukaszewska et al., 1989). In de hele spruit is dit verschil tussen beide temperatuurbehandelingen kleiner.

De vraag bestaat in hoeverre een aantal van de hier beschreven veranderingen in de amino zuursamenstelling kunnen worden gebruikt voor de ontwikkeling van bloeibaarheidstoetsen in de praktijk. De ideale bloeibaarheidstoets zou moeten voldoen aan de volgende criteria:

1. Er moet een significant verschil bestaan tussen gekoelde en ongekoelde bollen en tussen koudebehandelingen van verschillende duur.
2. Gevonden verschillen moeten blijven bestaan na kortstondige blootstelling aan hogere temperaturen, als nabootsing van het transport van koelcel naar veiling.
3. Verschillen moeten onafhankelijk zijn van het starttijdstip van de koudebehandeling.
4. Er moet een causaal verband bestaan tussen de aanwezigheid van de koudeafhankelijke parameter en succesvolle bloei van de bol.
5. De koudeafhankelijke parameter moet betrekkelijk snel kunnen worden bepaald.

In spruiten van de cv.'Apeldoorn' lijkt de verhouding tussen het gehalte aan 4-methyleen-glutamine en asparagine een bruikbare indicator voor de duur van de koudebehandeling. Deze verhouding neemt lineair toe met de duur van de 5 °C-behandeling, terwijl de ratio in 17 °C-spruiten significant lager blijft. Uit Figuur 6.3 blijkt dat als de genoemde aminozuurratio wordt bepaald in een extract van meerdere spruiten, de spreiding op de bepaling van de ratio niet groter is dan 20 %. De verschillen in de aminozuurratio van bollen die een korte en lange duur koudebehandeling hebben gehad, zijn dan

wel significant. Wordt de ratio bepaald voor elke spruit afzonderlijk, dan kan de spreiding oplopen tot 50 %. Dit bemoeilijkt het nauwkeurig vaststellen van de duur van de koudebehandeling en het interpreteren van de transportsimulatie. In dit verband is het opvallend dat ook de spreiding in de strekking van de spruiten uit bollen, die allemaal dezelfde temperatuurbehandeling hebben gehad, groot is. M.a.w. een grote spreiding op de genoemde aminozuurratio sluit een causaal verband met succesvolle bloei nog niet uit. Een ondersteuning voor deze causaliteit is het feit dat vergelijkbare stijging van de 4-methyleen-glutamine:asparagine -ratio optreedt als de koudebehandeling 4 weken later wordt ingezet. Een voordeel voor de uitvoering van de toets in de praktijk is dat aminozuren snel te extraheren en exact en volledig geautomatiseerd te analyseren zijn. Bovendien kan de toets op gelijk welk moment worden uitgevoerd, omdat de verhouding tussen 2 aminozuren onafhankelijk is van de toestand van het uitgangsmateriaal: droog, vers of ingevroren. In dit opzicht lijkt de 4-methyleen-glutamine:asparagine-ratio in spruiten een betere parameter dan het asparaginezuurgehalte per g drooggewicht in helmknoppen (Lukaszewska et al., 1989).

Dit onderzoek toont dus aan dat de temperatuurafhankelijke veranderingen in de aminozuursamenstelling gedurende de droge bewaring van tulpebollen mogelijkheden bieden voor de ontwikkeling van bloeibaarheidstoetsen in de praktijk.

6.5 Literatuur

- Aung, L.H., R.D. Wright & A.A. De Hertogh, 1976. Carbohydrate and dry matter changes in organs of *Tulipa gesneriana* L. during low temperature treatment. *Hortscience* 11, 37-39.
- Davies, J.N., R.J. Kempton, 1975. Carbohydrate changes in tulip bulbs during storage and forcing. *Acta Horticulturae* 47, 353-363.
- Gorin, N., J. Tonecki & J.M. Franssen, 1989. Effect of starting date and temperature of storage on changes in free amino acids in anthers from bulbs of tulip cv. Apeldoorn, as related to the special precooling. Paper presented at the 5th International Symposium on flower bulbs. Seattle. Washington State, July 10-14, 1989. Proceedings in press.
- Haaland, E. & A. Wickstrom, 1975. The effect of storage temperature on carbohydrate interconversion in tulip bulbs. *Acta Horticulturae* 47, 371-374.
- Lukaszewska, A.J., N. Gorin & N. Haanappel, 1989. Changes in the contents of four free amino acids in anthers from tulip bulbs cultivar 'Apeldoorn', stored at 5 or 17 °C, as criteria related to cold treatment. *Scientia Horticulturae* 38, 269-275.
- Môe, R. & A. Wickstrom, 1973. The effect of storage temperature on shoot growth, flowering, and carbohydrate metabolism in tulip bulbs. *Physiol. Plant.* 28, 81-87.
- Ohyama, T., T. Ikarashi, T. Matsubara & A. Baba, 1988a. Behavior of carbohydrates in mother and daughter bulbs of tulips. *Soil Sci. Plant Nutr.* 34(3), 405-415.
- Ohyama, T., T. Ikarashi & A. Baba, 1988b. Effect of cold storage treatment for forcing bulbs on the C and N metabolism of tulip plants. *Soil Sci. Plant Nutr.* 34(4), 519-533.

- Rees, A.R., 1972. The growth of bulbs. Applied aspects of the physiology of ornamental bulbous crop plants. Academic Press, London, 311pp.
- Tonecki, J. & N. Gorin, 1990. Further studies on the use of free amino acids in anthers from tulip bulbs cv. Apeldoorn as indicators about cold treatment at 5 °C. *Scientia Horticulturae*. In press.
- Zacharius, R.M., H.M. Cathey & F.C. Steward, 1957. Nitrogenous compounds and nitrogen metabolism in the Liliacea. III. Changes in the soluble nitrogen compounds of the tulip and their relation to flower formation in the bulb. *Annals of Botany, N.S.* XXI(82), 194-201.

7 Het belang van de assimilatenverdeling bij de bloemknopopening van de roos

Dr. D. Kuiper, S.A. Ribôt
Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek (CABO);
Dr. N. Marissen
Proefstation voor de Bloemisterij in Nederland (PBN)

Samenvatting

Een slecht verlopende bloemknopopening van roos cv Madelon kenmerkt zich door een onvoldoende strekking van de petalen en een verkleuring van de petalen van rood naar een meer blauwige tint. Het water dat nodig is voor de petaalstrekking, bedraagt maximaal 4 % van de totale hoeveelheid opgenomen water door een afgesneden roos. De totaal opgenomen hoeveelheid water correleert niet positief met de kans op een succesvolle bloemknopopening. Het toedienen van oplopende concentraties saccharose in het vaaswater verlaagt de wateropname, vergroot de kans op een goede bloemknopontwikkeling en vergroot derhalve de efficiëntie van waterverbruik door de bloemknop. Saccharose is niet alleen als osmoticum in de petalen actief, maar fungeert ook als bouwsteen voor anabolische processen en/of als substraat voor de ademhaling en/of als protector voor membranen. Tijdens de bloemknopopening is er een tekort aan geschikte koolhydraten in de petalen, ondanks substantiële aanvoer vanuit het blad. De binnenste delen van de petalen beconcurreren elkaar om de door het blad aangevoerd materiaal. De buitenste petalen behoeven slechts water voor de strekking. Bloemknoppen, waarvan de binnenste 10-15 petalen gehandhaafd zijn, terwijl de rest verwijderd is, vertonen een goede bloemknopopening zonder koolhydraatsuppletie in het vaaswater. Mogelijke knelpunten in het metabolisme van de afgesneden roos zullen worden bediscussieerd.

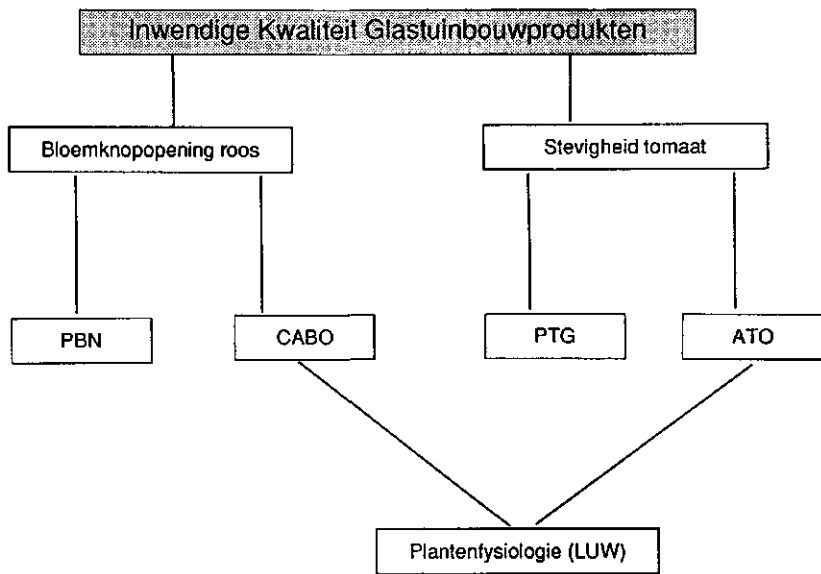
7.1 Inleiding

In 1988 is er een landelijke projectengroep "Inwendige Kwaliteit van Glas-tuinbouwproducten" gestart, waar binnen twee deelprojecten zijn geformuleerd: "De stevigheid van de tomaat" en "De bloemknopontwikkeling van de roos". Beide deelprojecten hebben tot doel inwendige kwaliteitsparameters te definiëren, die zowel gemakkelijk meetbaar moeten zijn als betrouwbare voorspellende waarde moeten bezitten met betrekking tot de kwaliteits-

waarde van het produkt. Een schema van de projectgroep met de betrokken onderzoeksinstellingen staat in Figuur 7.1 afgebeeld.

Het deelproject "Bloemknopopening van de roos" heeft als onderzoeksdoelstellingen:

- 1 Het opsporen van de oorzaken van de slechte bloemknopopening van in de vaas staande afgesneden rozen van cv "Madelon" (Figuur 7.2).
- 2 Het begrijpen wat er fout gaat bij de bloemknopopening en daaruit een toets ontwikkelen die een slechte of een goede bloemknopopening kan voorspellen.
- 3 Het vinden van oplossingen voor het probleem.



Figuur 7.1 Samenwerkingsverbanden binnen de landelijke projectengroep "Inwendige Kwaliteit van Glastuinbouwprodukten".

ATO: Agrotechnologisch Onderzoekscentrum;

CABO: Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek;

LUW: Landbouwuniversiteit Wageningen;

PBN: Proefstation voor de Bloemisterij in Nederland;

PTG: Proefstation voor Tuinbouw onder Glas.



Figuur 7.2 Roos cv "Madelon", de belangrijkste en meest productieve grootbloemige roos van Nederland.

7.2 Intacte versus afgesneden roos

Om de problematiek in een kader te plaatsen is het zinnig de fysiologische toestand van de afgesneden roos te vergelijken met die van de intacte roos.

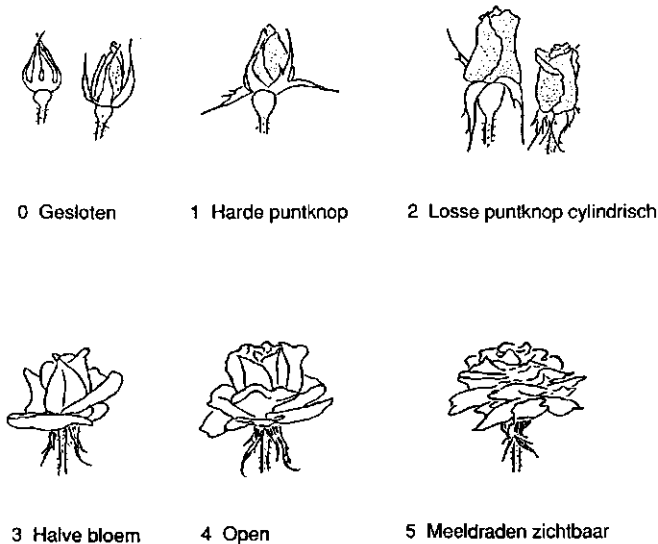
- a *Licht*: De hoeveelheid licht, die de afgesneden roos krijgt, is zodanig laag, dat er netto geen fotosynthese plaats vindt, met andere woorden de op het moment van afsnijden aanwezige hoeveelheid C-verbindingen in blad, stengel en bloem zal tijdens bloemknopontwikkeling slechts minder worden.
- b *Water*: De beschikbaarheid van water zal na het afsnijden van de roos groter worden, aangezien een stuk hydraulische weerstand wegvalt.
- c *Mineralen*: Belangrijke anorganische ionen als NO_3^- , PO_4^{3-} en K^+ zullen na het afsnijden, normaal gesproken, niet meer worden aangevoerd.
- d *Hormonen*: Na het afsnijden is de roos zo goed als beroofd van de aanvoer van in de wortel geproduceerde cytokinines.

De veranderingen (a-d), die door het afsnijden ontstaan, zullen in meer of mindere mate bijdragen tot een versnelling van de veroudering. Binnen dit verouderingsproces dient de roos nog voldoende open te bloeien (Halevy & Mayak, 1979a,b).

7.3 De probleemstelling

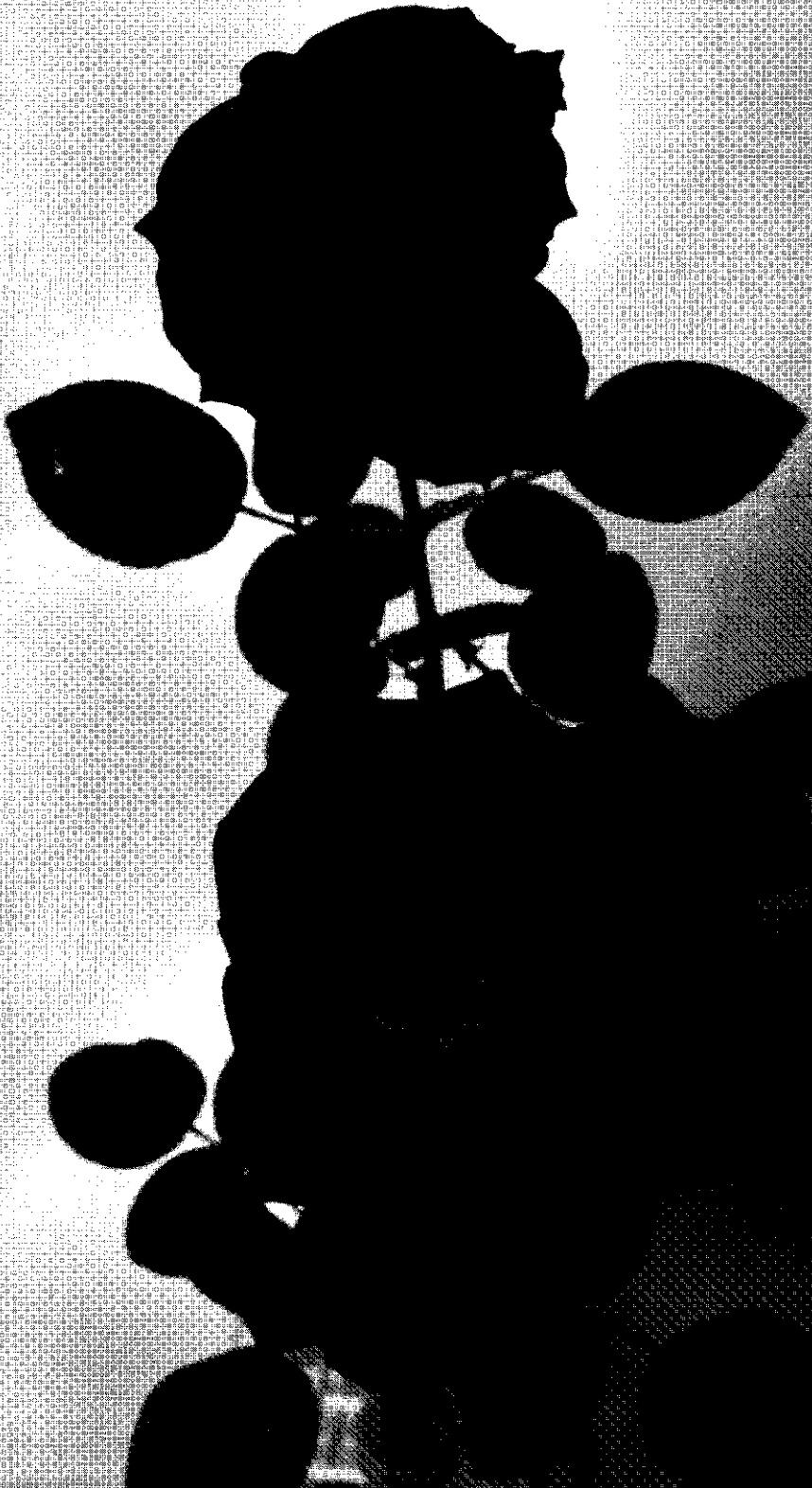
Rozen van cv Madelon worden gesneden tussen stadium 1 (harde puntknop, Figuur 7.3) en stadium 2 (cylindrische knop) en ze vertonen vaak een slechte bloemknopopening. Snijstadium 2-3 levert al een hoger percentage goed geopende bloemen op. Dit is echter een moeilijk te hanteren snijstadium voor de telers, die het liefst de rozen in stadium 0 zouden snijden.

Het opengaan van de roos is een proces van petaal-expansie en petaal-reflexie (Faragher et al., 1984; Reid & Evans, 1986), wat gedragen wordt door de wateropname door de petalen. Een slecht opengaande bloem van Madelon krijgt of houdt niet genoeg water binnen in de cellen van de petalen waardoor afwijkingen in vorm en kleur ontstaan (Figuur 7.4).



Figuur 7.3 Stadia in de bloemknopopening van de roos

Figuur 7.4 Rechts: Een slechte (boven) en een goede (onder) bloemknopopening bij roos cv "Madelon".



Teneinde voldoende water in de petalen te krijgen c.q. te houden, dient er aan een aantal fysiologische voorwaarden te worden voldaan:

- * Water moet voldoende beschikbaar zijn.
- * Osmotische potentiaal moet voldoende laag zijn om water aan te trekken en te binden.
- * Celwandelasticiteit moet nog werkzaam zijn.
- * Membraanfunctie moet dusdanig zijn, dat compartimentalisatie kan plaatsvinden.
- * Hormoonbalans moet goed zijn, bijvoorbeeld zodat er voldoende gibberellinen zijn om de strekking te induceren en de sinkactiviteit te dragen (Murakami, 1973; Zieslin et al., 1976).

7.3 Materiaal en methode

Afgesneden rozen werden bij telers besteld en vervolgens droog of in water naar het PBN of CABO vervoerd. Na aankomst werden de rozen onder water afgesneden en in dat water bleven ze staan bij 5 ° C gedurende meer dan 3 uur. Tevens werd een hoeveelheid ijs aan het water toegevoegd, teneinde aanwezige luchtbellens op te lossen c.q. te verkleinen. Na deze voorbehandeling werden de rozen individueel of in groepjes op de vaas gezet, waarin in ieder geval een 1 ppm $\text{Ag}(\text{NO}_3)_2$ -oplossing zat. Andere stoffen die ook regelmatig werden toegevoegd waren saccharose en KNO_3 . De condities in de uitbloeiruimtes waren: licht, ongeveer 1,5 W m^{-2} (PBN) en 4 W m^{-2} (CABO); relatieve luchtvochtigheid 60-70 %; temperatuur 19-20 °C en een daglengte van 12 h.

Parameters en hun wijze van bepaling:

- * bloemdiameter met behulp van digitale schuifmaat;
- * waterverbruik, gewicht van kroon, kelk en bloembodem, bladeren en steel met behulp van balans;
- * oppervlakte van bladeren en petalen met behulp van bladoppervlaktemeter;
- * osmotische potentiaal met behulp van vriespuntsverlaging;
- * suikerbepalingen met behulp van enzym-kits;
- * groeimetingen aan afzonderlijke petalen op well-plates.

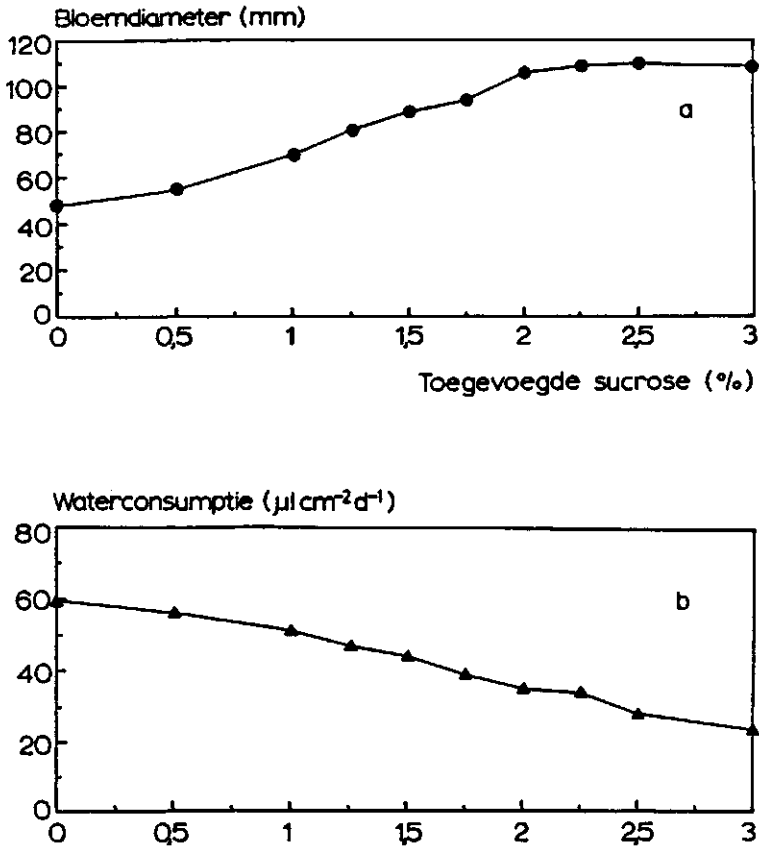
7.4 Resultaten en discussie

7.4.1 Waterhuishouding

De hoeveelheid water die een afgesneden roos consumeert, heeft geen invloed op de kans op een succesvolle bloemknopopening, zolang de gemiddelde consumptie per eenheid van bladoppervlak maar boven de 10 $\mu\text{l cm}^{-2}\text{dag}^{-1}$ blijft. Figuur 7.5 laat zien, dat saccharoetoeiening in het vaaswater enerzijds de bloemknopopening stimuleert, maar anderzijds de waterconsumptie remt. Proeven, waarbij het verdampend oppervlak van afgesneden rozen werd gemanipuleerd, lieten ook zien, dat de wateropname

door de afgesneden roos niet beperkend is voor een goede bloemknopopening.

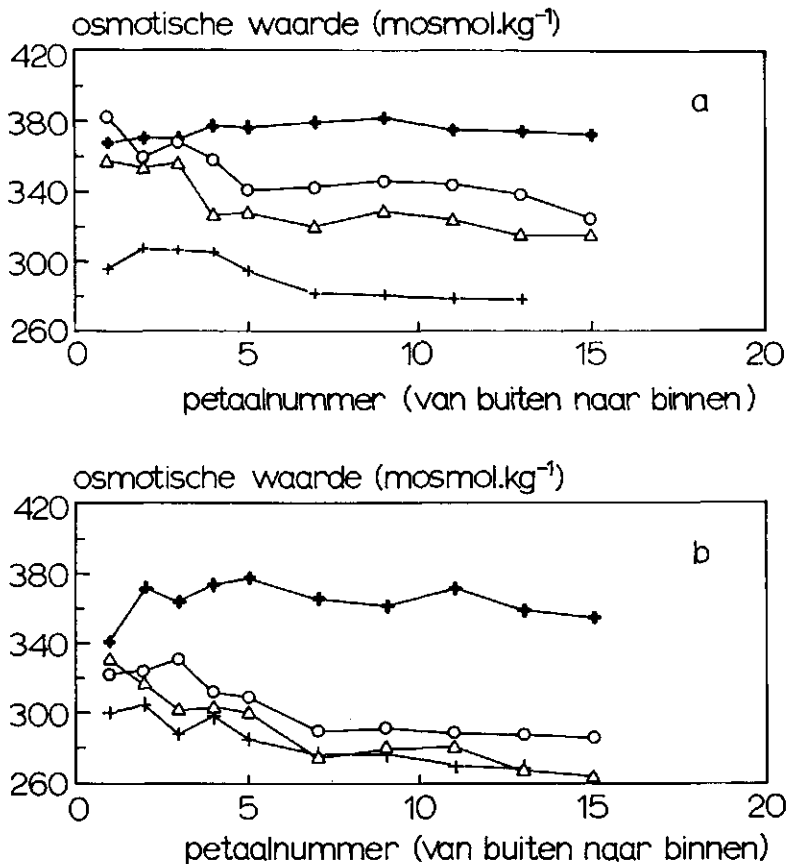
Het lijkt meer een zaak van distributie: de knop kan wel of niet genoeg water aantrekken. Een maat hiervoor is de osmotische waarde. Deze wordt bepaald door drie hoofdgroepen aan opgeloste stoffen: a. anorganische ionen, b. organische zuren, aminozuren en amiden en c. koolhydraten (Evans en Reid, 1988).



Figuur 7.5 Het effect van verschillende concentraties saccharose in het vaaswater op de bloemdiameter aan het einde van de proef (a) en op de gemiddelde dagelijkse waterconsumptie (b). Tijdsduur van de proef was 8 dagen. SD was $\leq 10\%$ en $\leq 5\%$ voor respectievelijk bloemdiameter en waterconsumptie.

Figuur 7.6 laat zien, dat in de petalen van een intacte roos de osmotische waarde stijgt naarmate de bloemknopopening vordert en dat dit het eerst waarneembaar is in de buitenste (= oudste) petalen. De petalen van een afgesneden roos vertonen aanvankelijk hetzelfde verloop, echter de osmotische waarde stijgt in de tijd veel minder. De hoge waarden op dag 7 werden veroorzaakt door een sterke daling van het watergehalte in de petalen. Dus

een goede bloemknopontwikkeling gaat gepaard met celstrekking (= wateropname) en een stijging van de osmotische potentiaal. Dit betekent, dat de hoeveelheid osmotisch actieve stoffen stijgt in petalen van een zich goed openende roos. Een belangrijk deel, hoe belangrijk weten we nog niet, wordt daarin gevormd door de koolhydraten.



Figuur 7.6 Het verloop van de osmotische waarden in (a) de petalen van een intacte roos en een afgesneden roos (b) met een slechte bloemknopopening. +, dag 0; Δ, dag 2; 0, dag 3 en +, dag 7. $n = 3(4) \pm SD (< 5 \%)$.

7.4.2 Effecten van saccharose

Uit de literatuur (Borochof et al., 1976; Ho en Nichols, 1977; Rao en Ran, 1986) blijkt dat saccharosetoevoegingen aan het vaaswater positief zijn voor de bloemknopontwikkeling. Figuur 7.5 laat dit ook zien voor afgesneden rozen van cv Madelon. Dit toont aan dat Madelon rozen die gesneden zijn in het commerciële stadium, koolhydraten tekort komen. Het kan hier een ab-

soluut tekort betreffen, in de gehele afgesneden roos, het kan om een lokaal tekort gaan (bijvoorbeeld in de bloemkroon) en het kan om een kwalitatief tekort gaan. Koolhydraten vervullen een aantal functies binnen de plant: energiebron, substraat voor het anabolisme, osmoticum en beschermer van de dubbellaag van lipiden binnen de membranen.

Tabel 7.1 Totaal waterverbruik, vers- en drooggewichtverandering (resp. ΔG_v en ΔG_d) en netto wateropname van de bloem als % van totale wateropname (Δw) gedurende 8 dagen op de vaas.

| Behandel | Waterverbruik (g) | ΔG_v (g) | ΔG_d (g) | Δw (%) |
|----------------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|-------------------|
| Demiwater (controle) | 128 | 0,58 | 0,18 | 0,3 |
| 1 % saccharose | 114 | 2,81 | 0,52 | 2,0 |
| 0,146 % KNO_3 | 132 | 1,18 | 0,25 | 0,7 |
| 1,75 % saccharose | 84 | 3,02 | 0,61* | 2,9 |
| 1 % saccharose + 0,108 % KNO_3 | 104 | 4,40 | 0,66* | 3,6 |
| 0,255 % KNO_3 | 196 | 2,60 | 0,15 | 1,3 |
| 2,5 % saccharose | 78 | 2,90 | 0,72* | 2,8 |
| 1 % saccharose + 0,214 % KNO_3 | 116 | 5,20 | 0,66* | 3,9 |
| 0,362 % KNO_3 | 174 | 3,70 | 0,25 | 2,0 |

* 100 % bloei

De toename van de bloemdiameter bij hogere concentraties toegevoegde saccharose in het vaaswater wijst in ieder geval op een osmotische functie voor saccharose of derivaten ervan (Figuur 7.5). Tabel 7.1 ondersteunt dat sterk: als we de saccharoseconcentratie verhogen van 0 naar 2,5 % dan daalt het totale waterverbruik van de afgesneden roos, maar het percentage van het opgenomen water dat in de petalen terecht komt, stijgt. Met andere woorden de aantrekkingskracht van de petalen voor het water wordt groter bij oplopende saccharoseconcentraties. Behalve als osmoticum heeft saccharose nog andere functies. Uit Tabel 7.1 blijkt, dat 1,75 % saccharose net zo goed vervangen kan worden door 1 % saccharose met 0,108 % KNO_3 (gelijke osmolaliteit), terwijl een complete vervanging door KNO_3 (0,255 %) geen goede bloemknopopening geeft. De drogestoftoename met 0,6-0,75 g correleert positief met een goede bloemknopopening. Hieruit kan worden afgeleid dat saccharose ook nodig is als bouwsteen voor de biosynthese. Nog een aanwijzing hiervoor is dat met saccharose of met saccharose en KNO_3 behandelde rozen een goede bloemkleur houden, in tegenstelling tot de controle of met KNO_3 behandelde rozen, die blauwig werden. Dit zou veroorzaakt worden door een pH-verhoging van het vacuolevocht. Als de biosyn-

these van eiwitten vertraagt en het katabolisme doorgaat, dan komt er nogal wat NH_3 vrij, dat op zijn beurt H^+ bindt. Saccharose of de splitsingsproducten ervan, glucose en fructose zouden de aminozuur- en eiwitsynthese op peil houden (Mayak and Halevy, 1974; Borochoy et al., 1976).

Tevens blijkt uit Tabel 7.1, dat KNO_3 een veel beter c.q. sneller osmoticum is met betrekking tot de bloemknop, aangezien 1 % saccharose met 0,108 % of 0,214 % KNO_3 , rozen hetzelfde waterverbruik hebben als rozen met 1 % saccharose, maar meer water naar de bloem brengen, $\Delta w = 3,6$ en 3,9 %.

Conclusie: Een in het commerciële stadium afgesneden roos cv Madelon heeft extra van buiten toegevoegde koolhydraten nodig voor een succesvolle bloemknopopening. De extra koolhydraten vervullen een osmotische rol en houden het metabolisme op peil, waardoor de veroudering vertraagd wordt.

7.4.3 Suikergehaltes

Er zijn helaas van cv Madelon nauwelijks nog gegevens beschikbaar over suikergehaltes in de petalen bij diverse behandelingen.

Saccharosetoevoegingen aan het vaaswater verhogen de gehalten aan fructose en glucose en verlagen die van saccharose. Madelon op demiwater vertoont snel, en over de hele linie dalende suikergehaltes. Vergeleken met cv Sonia bezit cv Madelon weinig zetmeel in de petalen (Berkholst, 1989; Berkholst en Gonzales, 1989). Het zetmeel in de petalen wordt tijdens de bloemknopontwikkeling gehydrolyseerd, waardoor koolhydraten beschikbaar komen (Evans en Reid, 1988). De vraag blijft onbeantwoord of cv Madelon tijdens de teelt te weinig zetmeel c.q. koolhydraten in de petalen inbouwt, waardoor een zelfstandige bloemknopopening, los van de struik, niet mogelijk is.

Tabel 7.2 Koolhydraatgehaltes in drooggewicht in petalen van cv Madelon (mg g^{-1}).

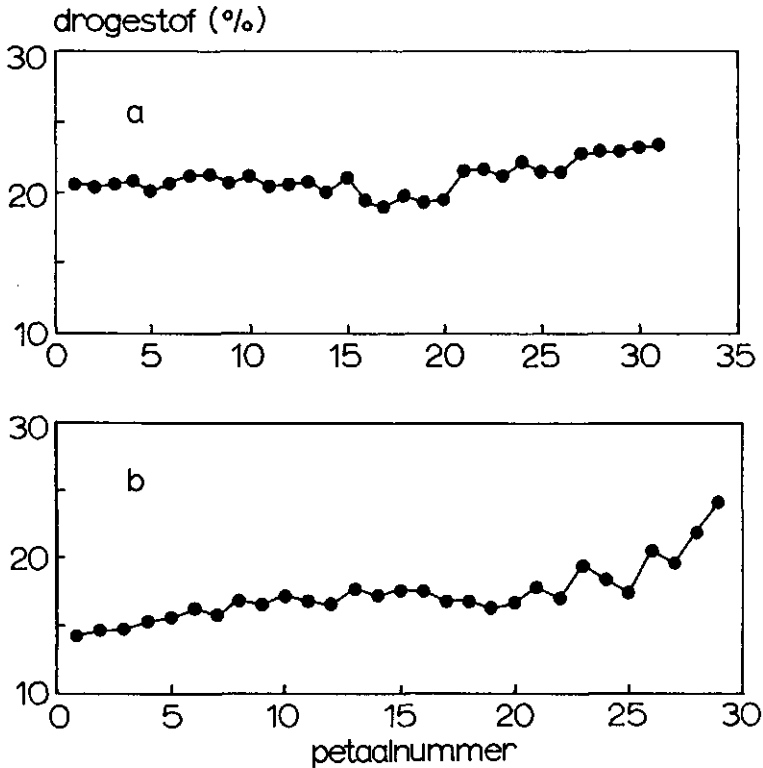
| Snijstadium | zetmeel | saccharose | glucose | fructose |
|--------------------|-----------|------------|---------|----------|
| Commercieel | 26,7 | 12,7 | 12,4 | 16,5 |
| Rijp ¹⁾ | 41,1-58,9 | nb | nb | nb |

¹⁾ stadium waarin goede bloemknopopening zo goed als zeker is, nb niet bepaald.

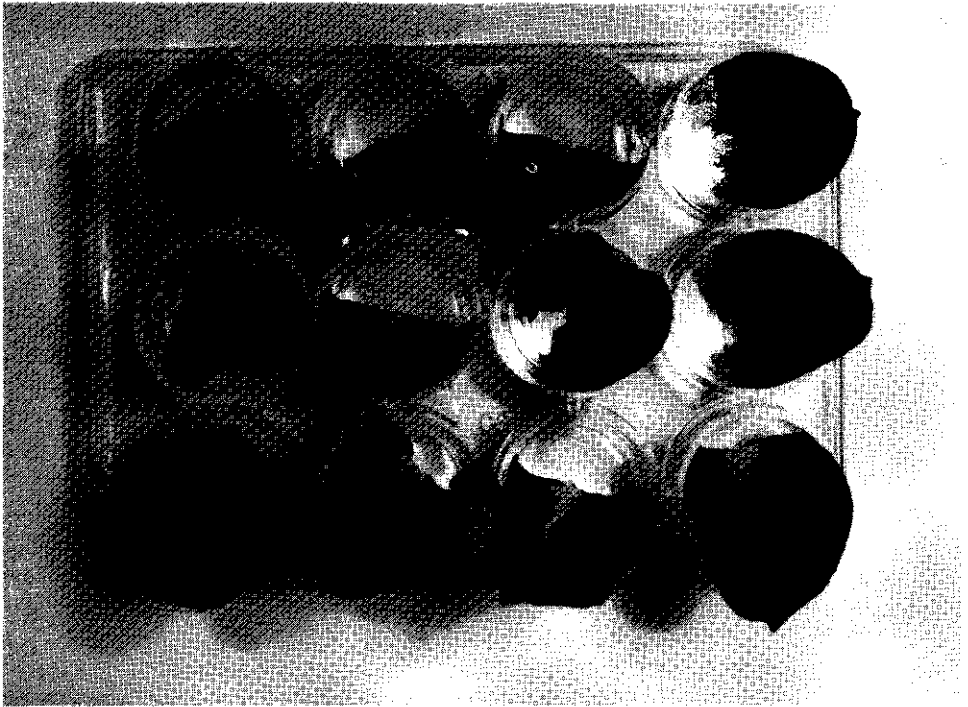
7.4.3 Proeven met individuele petalen

Op de conclusie dat er te weinig koolhydraten beschikbaar zijn voor een goede bloemknopopening volgt de vraag hoe dat "tekort" verdeeld is over de bloemkroon. Metingen aan petalen van intacte rozen laten zien dat de peta-

len in het commerciële snijstadium allemaal een min of meer gelijk drogestofpercentage hebben (Figuur 7.7). Slechts de allerbinnenste hebben een hoger drogestofgehalte. In een volledig geopende intacte roos ligt de situatie anders (Figuur 7.7). De buitenste petalen hebben nu een beduidend lager drogestofgehalte, ondanks een grote toename in drooggewicht (niet in Figuur). Dus hebben de buitenste petalen veel water opgenomen voor de strekking. De binnenste petalen hebben zelfs een hoger drogestofgehalte dan in het snijstadium ondanks de inmiddels plaatsgevonden strekking. Dus tot in de laatste stadia van de bloemknopopening vindt er drogestofimport in de binnenste petalen plaats. De petalen worden van buiten naar binnen door de plant gevuld. In een volgende serie proeven is onderzocht waartoe de afzonderlijke petalen in staat zijn indien ze in het commerciële stadium of in stadium 3 worden gesneden (Figuur 7.3). In dat laatste stadium gaat de roos gegarandeerd goed open. Voor deze proef werd gebruik gemaakt van well-plates (Figuur 7.8), waar elke petaal in een aparte well stond. In elke well werd 1 ppm AgNO_3 -oplossing gedaan. De resultaten van de metingen aan petalen van in het commerciële stadium gesneden rozen staan in Figuur 7.9.



Figuur 7.7 Percentage drogestof van de afzonderlijke petalen (1-25, van buiten naar binnen). Uit intacte rozen van het commerciële snijstadium (a, twee groepen van 4 planten) en uit volledig geopende rozen (b, één groep van 4 planten; $\text{SD} \leq 5\%$).

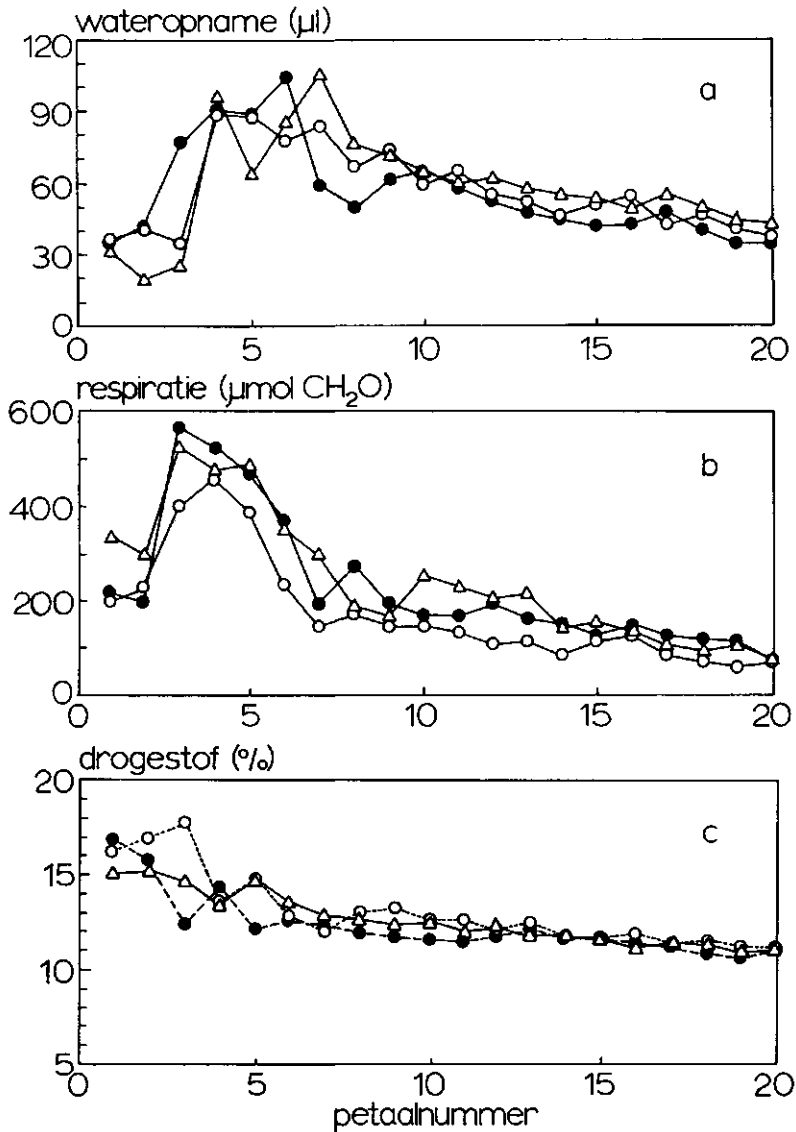


Figuur 7.8 Well-plate met afzonderlijke petalen.

Bij de interpretatie moet men er rekening mee houden, dat bij het inzetten van de proef om en om één petaal is ingezet en één is gebruikt voor gewichtsbepalingen. Dus in feite werd er met 40 petalen gewerkt. De buitenste 10 (2 x 5) petalen hebben een drogestofgehalte van ongeveer 16 %, terwijl dat aan het begin van de proef 20 % was (Figuur 7.7). Tijdens de proef varieerde de wateropname van deze groep van 30 tot 90 μl . Gezien deze cijfers en hun afmetingen is de conclusie gerechtvaardigd, dat de buitenste 10 petalen slechts water behoeven om zich maximaal te strekken. De volgende groep van circa 10 petalen heeft circa 12 % drogestof en een wateropname van circa 80 μl . Deze petalen hebben net wel of net niet genoeg drogestof in zich om maximaal te strekken.

De resterende petalen hebben ook 12 % drogestof, maar een dalende wateropname naarmate het petaalnummer hoger is. Deze groep heeft zeker niet genoeg drogestof om maximaal te strekken. Het verbruik van drogestof (respiratie) loopt parallel met de wateropname, dus de petalen die zich het meest strekken tijdens de proef hebben ook het hoogste energieverbruik.

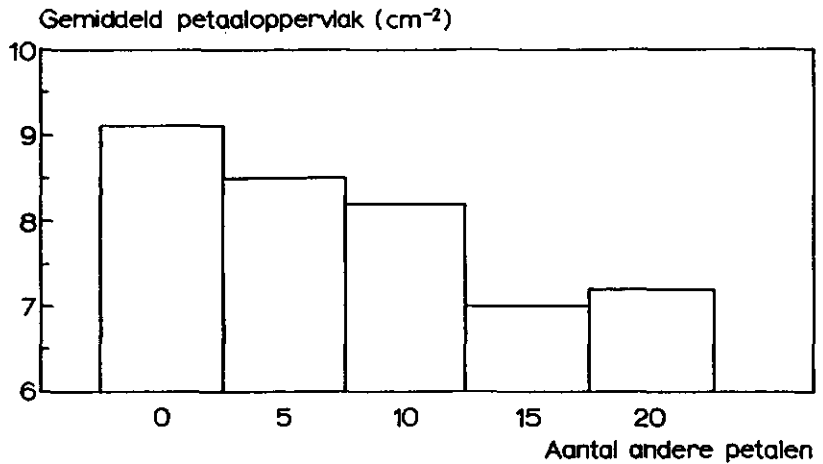
Geconcludeerd kan worden dat de buitenste (circa 10) petalen uit in het commerciële stadium gesneden rozen ruim voldoende door de plant zijn geladen, aangezien het drogestofpercentage nog kan zakken tot 12 %. De daarop volgende 10 petalen hebben net wel of net niet genoeg meegekregen van de plant en de resterende petalen bezitten volstrekt te weinig drogestof om adequaat te kunnen strekken. De resultaten van rozen in stadium 3 worden niet getoond, elke petaal kon zich maximaal strekken.



Figuur 7.9 De netto wateropname (a), respiratie (b) en drogestofpercentage (c) van gedurende 7 dagen in well-plates gegroeide petalen (in triplo). De petalen waren afkomstig van in het commerciële stadium gesneden rozen. Petalen zijn van buiten naar binnen genummerd van 1 tot 20.

7.4.4 Concurrentieproeven

Het bloemgewicht van rozen (gesneden in het commerciële stadium) neemt toe, hoewel ze op demiwater staan (Tabel 7.1). Met andere woorden er vindt redistributie van drogestof naar de bloem plaats. Het is bekend dat deze rozen op demi geen goede bloemknopopening hebben. Er is dus niet voldoende drogestof geredistribueerd. Om dit te toetsen zijn rozen van dit stadium gesneden en gepeld, zodat 7 à 10 binnenste petalen bleven staan. Het bleek dat deze "restant-roosjes" het prima deden op demi. De redistributie naar de bloem toe is voldoende om de 7 à 10 binnenste petalen te voeden. In Figuur 7.10 staan de resultaten van een concurrentieproef, waarbij de binnenste 10 petalen concurrentie kregen van 1-5, 6-10, 11-15 en 16-20 andere petalen. Het gemiddeld petaaloppervlak neemt af bij toenemende aantal concurrerende petalen. De eerste kolom, zonder concurrentie, geeft een waarde die hoger is dan een binnenste petaal in de intacte situatie bereikt.



Figuur 7.10 Het gemiddelde oppervlak van de binnenste 10 petalen in aanwezigheid van een variërend aantal extra petalen ($SD \leq 15\%$).

7.5 Evaluatie

Het lijkt erop, dat een tekort aan koolhydraten in de bloemkroon verantwoordelijk is voor de slechte bloemknopopening. De mogelijkheid evenwel, dat er wel genoeg koolhydraten in de bloem zijn, maar niet in de juiste vorm, kan niet worden uitgesloten. Een reëel tekort zou in overeenstemming zijn met de geringe redistributie vanuit de rest van de plant naar de petalen gedurende het vaasleven. Een extrapolatie van een dergelijk redistributie-gedrag kan een relatieve trage vulling van de petalen verklaren. Vervolgonderzoek, aangevuld met metingen van koolhydraatgehaltes en hele koolstofbalansen, moet uitwijzen of de huidige veronderstellingen juist zijn. Daarnaast zal ge-

poogd worden het redistributiepatroon hormonaal te beïnvloeden en zal gezocht gaan worden naar geschikte membraanparameters voor het testen van de kwaliteit van een petaal.

7.6 Literatuur

- Berkholst, Ch.E.M., 1989. High Starch Content in 'Sonia' Rose Corollas at Picking May Add Quality to Vase Life. *Gartenbauwissenschaft*, 54 (1); 9-10.
- Berkholst, C.E.M., Navarro González, M., 1989. A simple test for starch in rose petals. *Adv. Horti Sci.*, 3; 24-28.
- Borochoy, A., Mayak, S., Halevy, A.H., 1976. Combined Effects of Abscisic Acid and Sucrose on Growth and Senescence of Rose Flowers. *Physiol. Plant*, 36; 221-224.
- Evans, R.Y., Reid, M.S. 1988. Changes in Carbohydrates and Osmotic Potential during Rhythmic Expansion of Rose Petals. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 113 (6); 884-888.
- Faragher, J.D., Mayak, S., Tirosh, T., Halevy, A.H., 1984. Cold Storage of Rose Flowers: Effects of Cold Storage and Water Loss on Opening and Vase Life of 'Mercedes' Roses. *Scientia Horticulturae*, 24; 369-378.
- Halevy, A.H., Mayak, S., 1979. Senescence and post harvest physiology of cut flowers. Part I. *Horticultural Reviews*, 1; 204-236.
- Halevy, A.H., Mayak, S., 1981. Senescence and post harvest physiology of cut flowers, Part II. *Horticultural Reviews*, 3; 59-143.
- Ho, L.C., Nicols, R., 1977. Translocation of ^{14}C -sucrose in Relation to Changes in Carbohydrate Content in Rose Corollas Cut at Different Stages of Development. *Ann. Bot.*, 41; 227-242.
- Mayak, S., Halevy, A.H., 1974. The Action of Kinetin in Improving the Water Balance and Delaying Senescence Processes of Cut Rose Flowers. *Physiol. Plant.* (32); 330-336.
- Murakami, Y., 1973. The role of gibberellins in the growth of floral organs of *Pharbitis nil*. *Plant & Cell Physiol.* (14); 91-102.
- Rao, L.V.R., Mohan Ram, H.Y., 1985. Water Stress-induced Requirement of Gibberellic Acid for Flower Bud Growth and Opening in *Gladiolus*. *J. Plant Physiol.*, Vol. 122; 181-186.
- Reid, M.S., Evans, R.Y., 1986. Control of Cut Flower Opening. *Acta Horticulturae*; 181.
- Zieslin, N., Biran, L., Halevy, A.H., 1974. The effect of growth regulators on the growth and pigmentation of "Baccara" rose flowers. *Plant & Cell Physiol.* (15); 341-349.

8 Membraantransport van assimilaten gedurende de veroudering van alstroemeribladeren

Dr. J.Th. Elzenga,
Centrum voor Agrobiologische Onderzoek (CABO)
Drs. W.G. van Doorn,
ATO Agrotechnologie (ATO)

Samenvatting

Bij afgesneden bloeiende takken van alstroemeria treedt al vrij snel vergeling van de vegetatieve bladeren op. Reeds 15 jaar geleden werd door Staden gevonden dat deze bladvergeling sterk te remmen was door GA_3 aan het vaaswater toe te voegen. De vergeling van alstroemeria vertoont gelijkenis met verouderingsprocessen van eenjarige gewassen waarbij de ontwikkeling van generatieve structuren het afsterven van vegetatief blad induceert. De verklaring voor dit type veroudering wordt gezocht in een verandering van de source-sink-relatie tussen generatieve en vegetatieve structuren. Deze source-sink-relatie wordt ten dele bepaald door transportprocessen. In dit hoofdstuk wordt een overzicht gegeven van de factoren die een rol spelen bij met name transport over membranen en wordt verslag gedaan van onderzoek naar de invloed van GA_3 op karakteristieken van saccharose- en aminozuuroptname door bladprotoplasten en bladponsjes.

8.1 Inleiding

8.1.1 Hormoontoevoegingen aan vaaswater van snijbloemen

Op het voormalige Sprenger Instituut (nu ATO) werden tussen 1975 en 1980 onder leiding van O. L. Staden de effecten geïnventariseerd van hormoontoevoegingen aan het vaaswater op de houdbaarheid van snijbloemen. Toevoeging van auxinen had meestal geen of een negatief effect. Ook de effecten van kinetine en benzyladenine waren vaak gering. Een duidelijk effect werd echter gevonden na toevoeging van gibberellinezuur. Bij afgesneden bloeiende takken van lelies (*Lilium hybride*) en alstroemeria (*Alstroemeria pelegrina* L.) vergelden de bladeren meestal enkele dagen voordat er verwel-

king of absissie van de petalen wordt waargenomen. Toevoeging van GA_{4+7} of GA_3 stelde het begin van de bladvergeling bij beide soorten sterk uit. Gibberellinen hadden niet alleen een effect als ze aan het vaaswater werden toegediend, maar ook als de takken direct na de oogst gedurende relatief korte tijd (16-24 uur) op een oplossing van gibberellinen werden geplaatst en ze daarna werden blootgesteld aan dezelfde condities als die welke bij de normale afzetweg heersen. Zelfs als de takken enkele dagen droog werden bewaard bij 20 ° C werd de bladvergeling tijdens het daarop volgende vaasleven sterk uitgesteld.

8.1.2 Houdbaarheidsbehandelingen in de praktijk.

De resultaten van het onderzoek aan de bladvergeling bij lelies (Staden 1976a; Staden et al 1979a, 1976b) en aan de bladvergeling bij alstroemerias werden in een aantal verslagen (Staden et al, 1979b; 1979c; 1979d; Van den Berg, 1976; Staden & Van den Berg, 1976a, 1976b; Staden 1976b) vastgelegd. Dit oriënterende onderzoek op het Sprenger Instituut werd in 1980 afgesloten. Vervolgens werden de proeven op de Nederlandse bloemenveilingen met een groter sortiment herhaald. Daarbij bleek dat sommige cultivars veel sneller bladvergeling vertonen dan andere. In alle gevallen werd de vergeling sterk vertraagd door een voorbehandeling met gibberellinen. In juli 1988 werd voor alstroemeria de voorbehandeling verplicht gesteld. Er is nog een discussie gaande of de voorbehandeling tegen bladvergeling gecombineerd moet worden met een voorbehandeling met STS (zilverthiosulfaat, tegen vroegtijdige abscissie van de petalen).

De Nederlandse producenten van voorbehandelingsmiddelen en snijbloemvoedsel hebben verschillende middelen op de markt gebracht die gibberellinen bevatten, al dan niet gecombineerd met STS. Het voorbehandelingsmiddel tegen bladvergeling is sinds kort ook leverbaar in pilvorm. Doordat aan elke emmer waarop de takken worden voorbehandeld een of enkele pillen worden toegevoegd worden problemen met de dosering tot een minimum beperkt.

8.2 Effecten en achtergronden van hormoonwerking

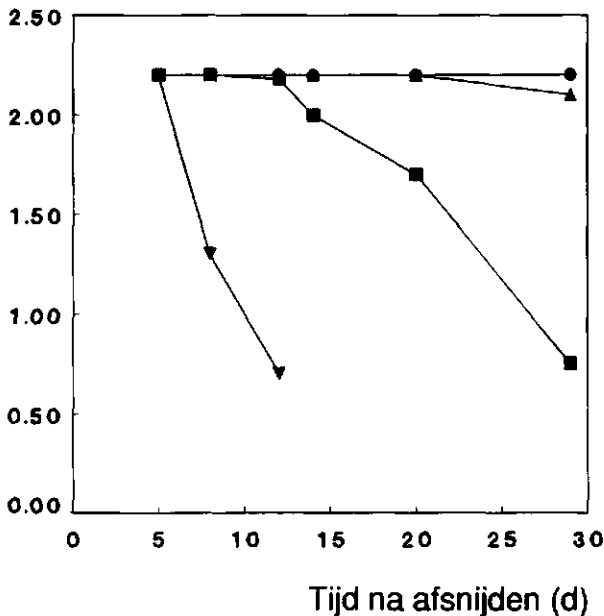
De oriënterende proeven met hormonen zijn recent op het ATO herhaald, waarbij nauwkeuriger werd vastgesteld bij welke concentraties de verschillende hormonen effectief zijn. Voor alstroemeria was voor een continu-behandeling met GA_3 een concentratie van 10^{-7} M even effectief als hogere concentraties. Bij een voorbehandeling van 24 uur was 10^{-7} M even effectief als de laagste concentratie tijdens de continu-behandeling. Te hoge dosering van GA_3 gaf afwijkingen aan de bloemontwikkeling en bladschade (Van Doorn et al., 1990). Vastgesteld werd dat bij alstroemeria IAA geen of een negatief effect had. Kinetine had alleen bij hoge concentraties een effect, mits continu toegediend. Bij afgesneden bladeren van alstroemeria gaf kinetine wel bij lage concentraties een uitstel van de bladvergeling. Daarmee lijkt alstroemeria geen uitzondering op de regel dat exogeen toegediende cytokininen de bladvergeling vertragen (Van Doorn et al.,

1990). Ook het positieve effect van gibberellinezuur op de bladvergeling lijkt niet uitzonderlijk, en is niet beperkt tot monocotylen zoals lelies en alstroemerias. (Goering, 1987).

De werking van exogeen toegediende gibberellinen zou kunnen berusten op de aanvulling van de endogene pool van gibberellinen. Tetcyclasis en ancyridol, beide remstof van de gibberellinesynthese, versnelden de bladvergeling in takken die niet met GA waren behandeld. De effecten van beide remstoffen konden teniet worden gedaan door toevoeging van een lage concentratie gibberellinezuur. Dit zou betekenen dat tijdens de veroudering van de afgesneden takken de netto productie van gibberellinen de beperkende factor wordt voor de instandhouding van de chlorofylconcentratie in het blad. Het lijkt hier te gaan om de productie van gibberellinen in het blad zelf, omdat afgesneden bladeren hetzelfde reageren als bladeren aan de afgesneden bloeiende takken (Van Doorn et al., 1990).

De vergeling van vegetatieve bladeren van alstroemeria vertoont veel gelijkenis met de veroudering van monocarpe planten, planten die tijdens hun levenscyclus maar één keer bloeien en vruchten produceren. Hierbij is de veroudering sterk gekoppeld aan de ontwikkeling van bloemen en het vullen van de zaden. Een voor de hand liggende verklaring hiervoor is dat de voor de ontwikkeling van de generatieve structuren benodigde nutriënten uit de bladeren worden betrokken.

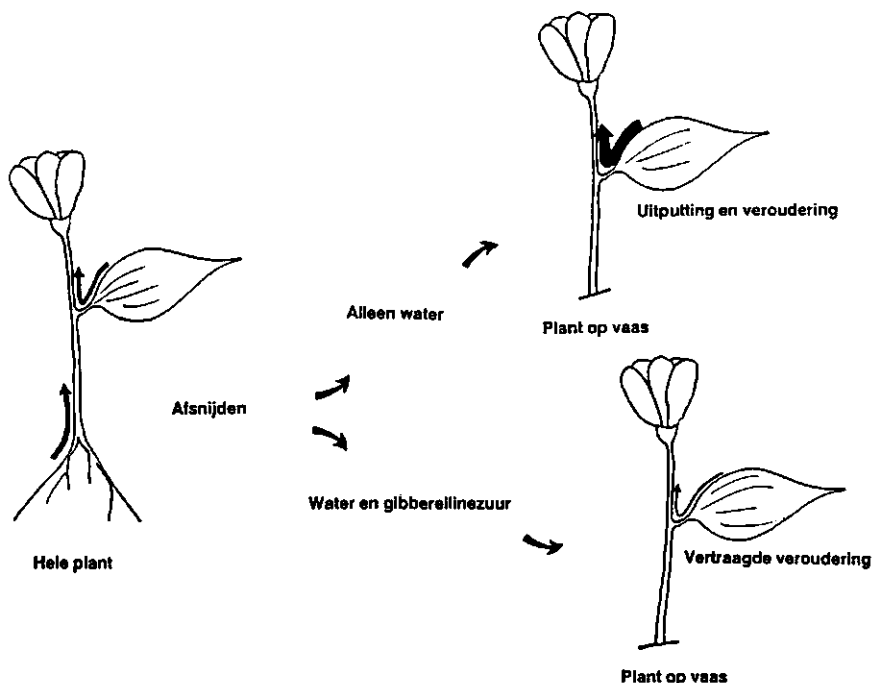
Chlorofylgehalte in vers blad (mg/g)



Figuur 8.1 Effect van verschillende behandelingen op het verloop van het chlorofyl-gehalte van de vegetatieve bladeren aan afgesneden bloemstengels van alstroemeria. Planten in dag-nacht-cyclus: met GA₃ (Δ), met mineralen (•), controle zonder GA₃ en mineralen (■); controleplanten in donker (v) (Rangelov & Elzenga, 1990)

Met plantehormonen kan de veroudering bij monocarpe planten worden beïnvloed. Met kinetine, maar bij sommige soorten ook met auxine en gibberelline kan de veroudering worden geremd, terwijl abscissinezuur de veroudering versnelt.

In alstroemeria is toevoegen van GA_3 niet de enige behandeling die tot gevolg heeft dat de vergeling vrij lang kan worden uitgesteld. Eenzelfde effect kan worden bereikt door belichting, toevoegen van nutriënten aan het vaaswater (Figuur 8.1) en, onlangs op ATO aangetoond, belichting met rood licht. Ook bij alstroemeria zijn er aanwijzingen dat het effect van GA_3 op de veroudering verband houdt met een door GA_3 geïnduceerde verandering van de source-sink-verhouding van blad en generatieve structuren (Figuur 8.2).



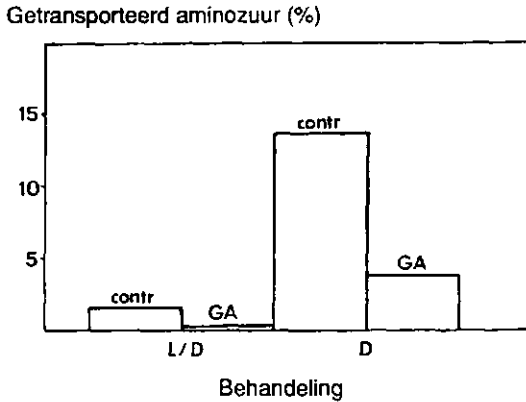
Figuur 8.2 Hypothese voor de werking van GA_3 op de bladvergeling. In bloeistengels zonder wortelstelsel moeten zowel assimilaten als nutriënten, nodig voor de bloemontwikkeling, betrokken worden uit het blad. Volgens de werkhypothese wordt veroudering geïnduceerd wanneer een nutriënt, mogelijk stikstof, een kritische onderwaarde bereikt. GA_3 zou door beïnvloeding van transportprocessen de redistributie van nutriënten vanuit het blad kunnen verminderen en zo het tijdstip dat de kritische ondergrens wordt bereikt uit kunnen stellen.

Lokale behandeling van een blad met GA_3 leidt ertoe dat dit blad langer dan onbehandelde bladeren groen blijft, terwijl aminozuurtranslocatie vanuit dit blad naar andere delen van de plant sterk wordt geremd (Figuur 8.3).

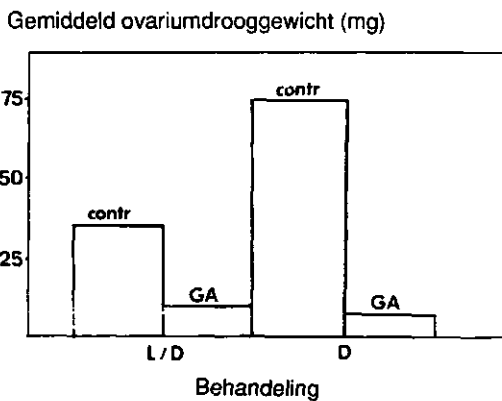
In met GA_3 behandelde bloemstengels is de ontwikkeling van bloemen en zaden sterk geremd terwijl de vitaliteit en ontwikkeling van vegetatieve

bladeren is gestimuleerd. Naast bloemen die normaal van kleur en afmeting zijn ontwikkelen zich aan met GA₃ behandelde stengels ook kleine en fletse bloemen.

Het percentage van deze 'achterblijvers' neemt toe met toenemende GA₃-concentratie. Zaaddozen van behandelde planten bereiken slechts een drooggewicht dat 25 % is van dat van onbehandelde planten (Figuur 8.4). Daarentegen neemt het gewicht van het vegetatieve blad toe door GA₃-behandeling. De bovenstaande effecten van behandeling met GA₃ lijken de hypothese te ondersteunen dat de source-sink-verhouding er door wordt veranderd.



Figuur 8.3 Percentage van op het blad opgebracht radioactief gemerkt aminozuur (isoaminoboterzuur) dat naar de bloem werd getransporteerd. Het blad waarop het radioactief gelabelde aminozuur werd opgebracht werd vooraf behandeld met GA₃ of met water (controle). Na 48 uur werd de radioactiviteit in de verschillende delen van de plant bepaald. L/D: planten in dag-nacht-cyclus; D: planten in het donker.



Figuur 8.4 Drooggewicht van de ovaria van de tweede orde bloemen onder verschillende omstandigheden. (let op de overeenkomst met Figuur 8.3)

8.3 Transportprocessen

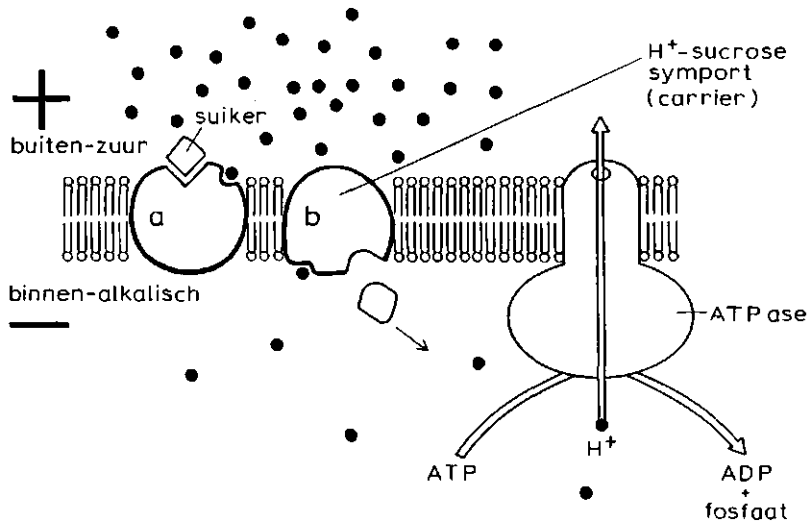
De translocatie van mineralen en assimilaten wordt naast een aantal andere factoren bepaald door het transport van deze stoffen over membranen. Allereerst vindt transport plaats over de plasmamembraan van mesofylcellen in het source-blad, van het cytoplasma naar de apoplast. Vandaar worden de assimilaten over de plasmamembraan van het begeleidende cel/zeefvatcomplex in het floëem opgenomen. In het sink-orgaan wordt dezelfde weg in omgekeerde richting afgelegd.

8.3.1 Membraantransport

Opname over een membraan geschiedt via gespecialiseerde membraaneiwitten. Deze eiwitten reguleren een van de belangrijkste functies van membranen, namelijk het in stand houden van concentratieverschillen tussen verschillende compartimenten.

Grofweg zijn de betrokken membraaneiwitten in te delen in:

- Primaire transporteiwitten, die onder verbruik van chemische energie (ATP) ionen over de membraan pompen. In de plasmamembraan zijn dit Ca-ATPase, dat een rol speelt bij de homeostase van cytoplasmatisch calcium en de H⁺-pompende ATPase. Dit laatste creëert een gradiënt over de membraan van H⁺-ionen zodanig dat de pH in het extracellulaire milieu lager is dan in het cytoplasma. Tevens wordt een elektrisch potentiaalverschil, binnen negatief, opgebouwd. Elektrische potentiaal en pH-gradiënt vormen samen de zogenaamde 'proton motive force' (pmf), de elektrochemische potentiaal voor H⁺-ionen. Dit is een kracht die protonen ondervinden om terug in het cytoplasma te stromen. De pmf wordt gebruikt in een proces dat wordt gekataliseerd door een tweede groep van transporteiwitten:
- Symporters en antiporters. Via deze eiwitten wordt de pmf aangewend om andere stoffen over de membraan te transporteren. Hiermee kan een stof tegen een eventuele concentratiegradiënt in (nauwkeuriger, tegen een elektrochemische potentiaal van die stof in) worden getransporteerd (Figuur 8.5). Dit proces kan doorgaan tot de drijvende krachten op vervoerde protonen en 'gecotransporteerde' stoffen gelijk zijn. Bij symporter-eiwitten gaan proton(en) en gecotransporteerde stof in dezelfde richting, bij de antiporter-eiwitten in tegengestelde richting.
- De derde groep van transporteiwitten vormen door de kanalen. Hierdoor vindt transport plaats van stoffen in de richting van de elektrochemische potentiaal van die stoffen zelf. Voor geladen deeltjes kan dit transport ook tegen een chemische gradiënt in plaatsvinden en zal door kunnen gaan totdat de diffusiepotentiaal van die ionen gelijk is geworden aan de elektrische potentiaal.



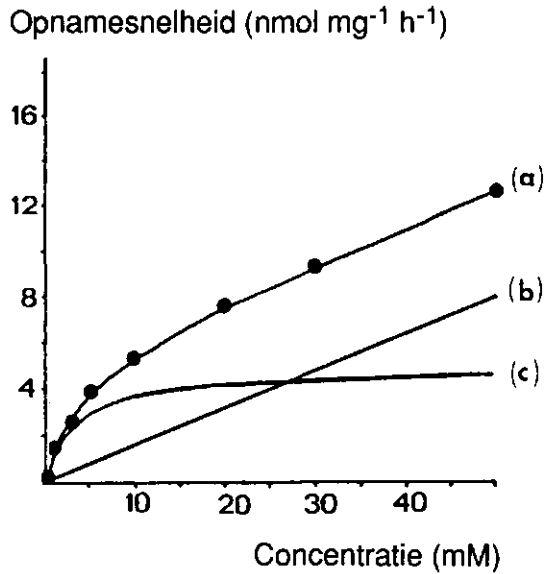
Figuur 8.5 Schematische weergave van membraantransportprocessen. De ATPase transporteert onder verbruik van ATP protonen over de membraan. De concentratiegradiënt is weergegeven door de dichtheid van bolletjes, het verschil in elektrische potentiaal door + en -. Deze gradiënt drijft de opname van suiker via de symporter (a en b).

De genoemde transporteiwitten, zijn door ontwikkeling in de meettechnieken van de laatste tien jaren, niet langer handige abstracties om waarnemingen te kunnen verklaren, maar de met transport samenhangende elektrische stromen kunnen aan individuele kanalen worden gemeten (patch-clamptechniek).

8.3.2 Regulering van membraantransport

Regulering van transport van een stof, substraat, via bovenbeschreven processen kan op verschillende manieren plaatsvinden:

- Via de drijvende kracht; deze bestaat voor symportopname uit de pmf en de electrochemische potentiaal van het substraat. De grootte van de pmf hangt af van de diffusiepotentiaal van de permeabele en in vrij hoge concentratie aanwezige ionen en van de pompsnelheid van het H⁺-pompende ATPase. En verder van de 'belasting' van de pomp, het totaal van lek en andere fluxen van H⁺ en andere kationen terug naar het cytoplasma.
- Via de affiniteit voor het substraat van de symporter; De opname van substraat via een transporteiwit kan worden beschreven met dezelfde kinetiek (Michaelis-Menten) als 'normale' enzymen en vertoont dus ook affiniteit en verzadiging (Figuur 8.6).



Figuur 8.6 Ontleding van de saccharoseopname-isotherm (a) van bladponsjes van alstroemeria in een lineaire term (b; diffusie over de membraan) en een verzadigbare (Michaelis-Menten) term (c; transport door een transporteiwit).

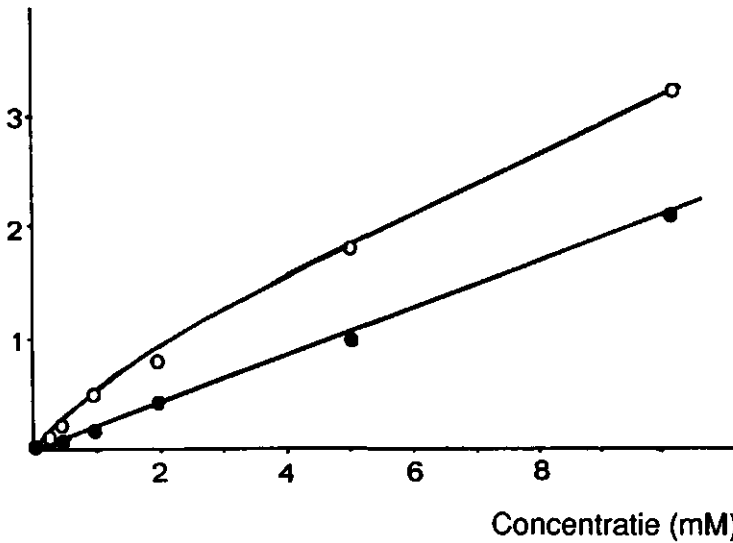
Dat plantehormonen, naast indirecte beïnvloeding via verschillende metabole processen, ook direct transportprocessen kunnen reguleren blijkt uit de volgende voorbeelden:

- auxine stimuleert de H⁺-pompense ATPase;
- cytokinine beïnvloedt de Ca²⁺-pompense ATPase;
- mogelijk wordt de membraanpermeabiliteit gereguleerd door GA₃, abscissinezuur en etheen;
- de ion-selectiviteit kan worden beïnvloed door abscissinezuur en cytokinine.

8.3.3 Opname-experimenten met alstroemeria-bladweefsel

In opnameexperimenten met uit het vegetatieve blad van alstroemeria geïsoleerde protoplasten of bladponsjes waarvan de epidermis werd afgestript blijkt dat de opname van saccharose en isoaminoboterzuur (als voorbeeld van een aminozuur) zeer goed volgens de hierboven gegeven theorie is te beschrijven. De opname isotherm (waarbij de opnamesnelheid wordt uitgezet tegen de substraatconcentratie) kan zoals in Figuur 8.6 is gebeurd worden uitgesplitst in een diffusiecomponent en een verzadigbare component. De parameters van deze twee componenten, D , de diffusieconstante, K_m en V_{max} welke respectievelijk staan voor de affiniteit van het transporteiwit voor het substraat en de capaciteit van het transportsysteem, kunnen worden gebruikt om de opname te beschrijven en het effect van verschillende behandelingen te kwantificeren.

Opnamesnelheid ($\text{nmol } \mu\text{l}^{-1} \text{ h}^{-1}$)



Figuur 8.7 Vergelijking van de saccharoseopname-isothermen van saccharose (o) en L-glucose (•) door protoplasten, geïsoleerd uit vegetatieve bladeren van alstroemeria.

De opname door bladponsjes en protoplasten gedraagt zich als een modelsysteem voor een proton-substraat-symport:

- remmers, zoals de protonofoor CCCP, die de pmf afbreken laten, alleen de diffusiecomponent over.
- vergelijken we de opname van saccharose met die van L-glucose, een stof waarvan bekend is dat er geen transportcarrier voor is, dan blijkt dat L-glucose alleen de diffusiecomponent aanwezig is (Figuur 8.7).
- de opname van saccharose blijkt afhankelijk te zijn van de pH; bij verlaging van de pH neemt de opnamesnelheid toe. Verlaging van de pH betekent dan een vergroting van de pmf, maar het is ook mogelijk dat de affiniteit van het transporteiwit voor protonen (die ook als substraat van het transporteiwit zijn te beschouwen) zo laag is, dat in het pH-gebied waarin is gemeten een verhoging van de protonenconcentratie stimulerend werkt.

In verband met de verouderingsexperimenten zijn natuurlijk de effecten van GA_3 en licht op de opnamekarakteristieken het interessantst. Zowel licht als een kortdurende behandeling met GA_3 verhogen de opnamesnelheid terwijl ze de affiniteit voor saccharose niet beïnvloeden. Voor licht is dit een resultaat dat in de lijn der verwachting ligt, aangezien in groene weefsels belichting praktisch altijd een verhoging van de membraanpotentiaal induceert en daarmee een versterking van de pmf. Dat ook GA_3 de opnamesnelheid verhoogt is geen algemeen optredend effect. Voorlopige resultaten suggereren dat de verhoging van de opnamesnelheid door GA_3 ook een gevolg is van een verhoging van de membraanpotentiaal. Of deze membraanpotentiaal-verandering veroorzaakt wordt door een stimulatie van de protonenpomp of van een verandering van de membraanpermeabiliteit

voor ionen is een interessante vraag voor toekomstig onderzoek. Voorlopig mag worden geconcludeerd dat de twee behandelingen die de veroudering beïnvloeden ook een effect hebben op transportkarakteristieken van bladweefsel en dat wellicht een oorzakelijk bestand tussen de twee bestaat.

8.4 Literatuur

- Doorn, W.G. van, J. Hibma, J. de Wit, 1990. Effect of exogenous hormones on leaf yellowing in cut flowering branches of *Alstroemeria pelegrina* L. (aangeboden).
- Goering, H., 1987. Hormonal regulation of leaf growth and senescence in relation to stomatal movements. pp 201-209. In: S. Purohit (ed.) Hormonal regulation of plant growth and development. Martinus Nijhoff, Dordrecht.
- Staden, O.L. 1976a. Bestrijding van vroegtijdige bladvergelting bij de lelie. Rapport nr. 1945. Sprenger Instituut, Wageningen.
- Staden, O.L. 1976b. Bestrijding van vroegtijdige bladvergelting bij alstroemeria op de vaas. Rapport nr. 1956. Sprenger Instituut, Wageningen.
- Staden, O.L., G.M. Braaksma, J.E.A. Slootman 1979a. Onderzoek naar de bestrijding van bladvergelting bij de lelie. Intern verslag nr. 373. Sprenger Instituut, Wageningen.
- Staden, O.L., C. van Henten, J.E.A. Slootman 1979b. Bestrijding van bladvergelting bij lelies en alstroemerias. Intern verslag nr. 390. Sprenger Instituut, Wageningen.
- Staden, O.L., C. van Henten, J.E.A. Slootman 1979c. Bestrijding van bladvergelting bij alstroemeria IV. Intern verslag nr. 384. Sprenger Instituut, Wageningen.
- van den Berg, A.J. 1976. Bestrijding van vroegtijdige bladvergelting bij alstroemeria op de vaas. Intern verslag nr. 173. Sprenger Instituut, Wageningen.
- Staden, O.L., A.J. van den Berg 1976a. Bestrijding van vroegtijdige bladvergelting bij alstroemeria op de vaas II. Intern verslag nr. 183. Sprenger Instituut, Wageningen.
- Staden, O.L., A.J. van den Berg 1976b. Bestrijding van vroegtijdige bladvergelting bij alstroemeria op de vaas III. Intern verslag nr. 185. Sprenger Instituut, Wageningen.
- Staden, O.L., C. van Henten, J.E.A. Slootman 1979d. Bestrijding bladvergelting bij alstroemeria V. Intern verslag nr. 391. Sprenger Instituut, Wageningen.
- Molendijk, M., 1989. Onderzoek naar de membraantransportkinetiek bij geïsoleerde protoplasten en bladsponsjes van alstroemeria hybr. Doktoraal verslag vakgroep Tuinbouwplantenteelt, LUW, Wageningen.
- Rangelov, B., J.T.M. Elzenga 1990. The influence of gibberellic acid (GA_3) on the development of alstroemeria cut flowers. CABO verslag (in preparation).

De auteurs

Ir M. Blom-Zandstra

Greet Blom-Zandstra (35) studeerde Moleculaire Wetenschappen aan de LUW. Zij werkte in 1980 enkele maanden als practicum-assistent aan de LUW-vakgroep Organische Chemie en gaf een jaar les in de vakken organische chemie en analytische chemie bij de avondopleiding van de analistenopleiding in Arnhem (OLAN). Vanaf eind 1980 werkt zij bij het CABO aan de fysiologische achtergrond van nitraataccumulatie in sla. Op 13 juni 1990 promoveerde zij aan de Rijksuniversiteit Utrecht op het proefschrift "Some physiological aspects of nitrate accumulation in lettuce (*Lactuca sativa* L.).

Drs. W.G. van Doorn

Wouter van Doorn (38) studeerde biologie aan de Rijksuniversiteit te Utrecht. Hij is vanaf 1984 verbonden aan het Sprenger Instituut in Wageningen, waar hij onderzoek verrichtte aan de fysiologie, met name de waterhuishouding, van sierteeltproducten. Sinds de oprichting van het ATO (1989) heeft hij naast deze onderzoekstaak de leiding van de hoofdafdeling Bewaarmethoden en Transport.

Dr. J.Th. Elzenga

Theo Elzenga (34) studeerde biologie, met als hoofdvak plantenfysiologie, aan de Universiteit van Amsterdam. Na een 2-jarige uitstap naar de informatica begon hij in 1984 aan een promotieonderzoek bij de vakgroep Plantenfysiologie aan de RUG in Groningen. Dit onderzoek naar het gebruik van bicarbonaat door ondergedoken waterplanten is beschreven in het proefschrift 'Mechanism for bicarbonate utilization in water plants'. De nadruk viel tijdens dit onderzoek op de regulatie van de membraantransportprocessen die betrokken zijn bij het mechanisme van waterplanten om naast CO₂ ook bicarbonaat te gebruiken als koolstofbron voor de fotosynthese. Sinds 1988 is hij in tijdelijke dienst bij het CABO en doet onderzoek naar de betrokkenheid van membraanprocessen bij de veroudering van de vegetatieve bladeren van alstroemeria.

Dr. D. Kuiper

Daan Kuiper (37) studeerde biologie, met hoofdvak plantenfysiologie, aan de Universiteit van Groningen. In de periode 1978-1980 was hij docent biologie in Barendrecht, om in 1980 te beginnen met een promotieonderzoek bij de vakgroep Plantenfysiologie van de Universiteit van Groningen. In 1984 verscheen het proefschrift "Genetic differentiation and phenotypic plasticity in *Plantago* species". In dat jaar begon hij als postdoc-onderzoeker bij de vakgroep Plantenfysiologie te Groningen aan een STW project, waarin een mechanisme, onderliggend aan de fenotypische plasticiteit, werd onderzocht. Tevens werd dit mechanisme getoetst als screeningsfactor voor zoutresistentie in granen. In deze periode verbleef hij drie maanden als gastmedewerker aan de vakgroep Plantenfysiologie van de universiteit van Lund (Zweden). In 1987 kwam hij als wetenschappelijk onderzoeker in dienst van het Proefstation voor de Bloemisterij te Aalsmeer. Substraatteelt, bemestingsvraagstukken en wortelgroei en -ontwikkeling in afhankelijkheid van lucht- en waterhuishouding vormden daar zijn onderzoeksterrein. Sinds 1 oktober 1988 is hij in dienst van het CABO en doet onderzoek aan de rol van koolhydraten, plantegroeistoffen en membranen in het proces de van bloemknopopening van de roos.

Prof.dr. C. Kollöffel

Chris Kollöffel (52) studeerde Biologie met als hoofdvak Plantenfysiologie aan de Rijksuniversiteit te Utrecht. Behaalde in 1963 zijn doctoraalexamen Biologie. Promoveerde in 1970 bij dezelfde Universiteit op een proefschrift getiteld: 'Respiratory metabolism in the cotyledons of *Pisum sativum* L. during maturation and germination'. Hij werd in 1960 benoemd tot kandidaatsassistent bij de vakgroep Algemene Plantkunde en is sedertdien in dienst van de Rijksuniversiteit te Utrecht. In 1978 werd hij benoemd tot lector met als leeropdracht de Algemene Plantkunde. Hij is thans geplaatst als hoogleraar op de leerstoel Plantenfysiologie in de vakgroep Botanische Oecologie en Evolutiebiologie.

Drs. H. Lambrechts

Hilde Lambrechts (28), geboren te St-Truiden (België), volgde een HBO-A-opleiding klinische chemie te Deventer en legde daarna een doctoraal-examen biologie af in 1988 te Utrecht. Voornaamste wetenschappelijke interesses: plantenfysiologie en biochemie.

Per 1 mei 1988 werkzaam als onderzoeker in opleiding bij de projectgroep transportfysiologie van de vakgroep botanische oecologie en evolutiebiologie van de Rijksuniversiteit te Utrecht. Doel van het onderzoek is het aandragen van fundamentele kennis over fysiologische processen die optreden tijdens de koudebewaring van tulpebollen, met het oog op de ontwikkeling van bloeibaarheidstoetsen voor bolgewassen.

Dr. N. Marissen

Nollie Marissen beëindigde haar studie biologie aan de Vrije Universiteit te Amsterdam in 1983. Vervolgens werd aan dezelfde universiteit een promotie-onderzoek verricht, in samenwerking met het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek te Lisse, hetgeen in 1989 met een proefschrift werd afgerond. Sinds januari 1987 is zij in dienst van het Proefstation voor de Bloemisterij in Nederland als wetenschappelijk onderzoeker in de kerngroep Naogst.

Dr.ir. U. van Meeteren

Uulke van Meeteren studeerde in 1974 af bij de Landbouwhogeschool in Wageningen in de studierichting Tuinbouwplantenteelt. In 1980 promoveerde hij bij dezelfde hogeschool op een proefschrift getiteld 'Water relations and keeping-quality of cut Gerbera flowers'. Daarna was hij tot 1986 werkzaam als wetenschappelijk onderzoeker bij de afdeling 'Fysiologie' van het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek te Lisse. Hier heeft hij hoofdzakelijk onderzoek uitgevoerd naar de rol van licht en ethyleen bij de bloemknopabscissie van lelie. In 1986 kwam hij in dienst van het Proefstation voor de Bloemisterij te Aalsmeer, als senior wetenschappelijk onderzoeker bij de kerngroep 'Na-oogst'. Naast het uitvoeren van eigen onderzoek, met name betreffende de oorzaken van de verstoring van de waterbalans bij verschillende snijbloemen na de oogst, vormde het coördineren van het houdbaarheidsonderzoek binnen deze kerngroep een belangrijk onderdeel van de functie. Sinds 1 maart 1990 is hij als Universitair Hoofddocent Produktkwaliteit in dienst van de Landbouwuniversiteit te Wageningen (vakgroep Tuinbouwplantenteelt). Hij is lid van diverse overlegorganen op het terrein van onderzoek betreffende de houdbaarheid van sierteeltproducten.

Drs. J.A. Reerink

Jos Reerink (29) studeerde in februari 1986 af aan de Rijksuniversiteit Utrecht met als hoofdvakken Plantenfysiologie en Fytopathologie en als keuzevak Biofysica. In het kader van de Tewerkstelling Erkend Gewetensbezwaaarde Militaire Dienst heeft hij van september 1986 tot juni 1988, bij de vakgroep Algemene Plantkunde van de RU Utrecht, onderzoek verricht naar "Circadiane ritmiek van protonpompactiviteit en kalium/proton-antiport in *Wolfiella gladiata* en *Commelina benghalensis*", en een data-verwerkingssysteem opgezet voor de "Accumulatie van zware metalen door gewassen op verschillende bodemsoorten". Sinds 1 juni 1988 is hij in tijdelijke dienst bij het Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek te Wageningen, bij de afdeling Gewas- en Graslandkunde, in het project van het "Onderzoek naar factoren en processen die de produktie en kwaliteit van witlof beïnvloeden".

Ir. K. Reinink

Kees Reinink (32) studeerde Plantenveredeling aan de LUW. Hij werkte van 1981-1985 bij het PAGV te Lelystad aan de ontwikkeling van gecomputeriseerde teeltadviesystemen. Vanaf 1985 werkt hij bij het IVT (sinds 1 januari 1990 CPO) te Wageningen aan nitraataccumulatie in sla. Daarnaast werkt hij aan resistentieveredeling van sla tegen bladluizen en valse meeldauw.

S.A. Ribôt

Simon Ribôt kwam na een middelbare tuinbouwschoolopleiding in 1970 in dienst bij het toenmalige CPO, thans CABO. Als verdere opleiding behaalde hij in 1973 het HBO-A-diploma en in 1977 het HBO-B-diploma botanie. Sinds 1988 neemt hij deel als onderzoeksassistent aan het project bloemknopopening van rozen.

Ir. H.G.M. Tiedink

Erica Tiedink (28) studeerde Humane Voeding aan de Landbouwniversiteit Wageningen. In januari 1987 behaalde zij haar doctoraal diploma met lof (hoofdvakken Toxicologie en Voeding, bijvak Biochemie). Van april 1987 tot januari 1988 was zij in dienst van het CABO en maakte een aanvang met het project "Nitrosering van N-houdende verbindingen in groenten". In 1988 werd dit project voor 3 jaar voortgezet als promotieonderzoek, als samenwerkingsproject tussen de vakgroep Toxicologie (LUW) en het CABO. Het project beoogt via een samenspel tussen chemisch-analytische en toxicologische technieken een beter inzicht te krijgen in de (endogene) vorming van direct mutagene N-nitrosoverbindingen uit componenten aanwezig in groenten. De onderzoeksinteresses van Erica gaan uit naar gezondheids/kwaliteitsaspecten van de voeding.

Ir. G.W.H. Welles

Gerard Welles (36) studeerde in januari 1978 af aan de Landbouwniversiteit, met als afstudeerrichting Tuinbouwplantenteelt en keuzevakken Plantenveredeling en Fytopathologie. Sinds 1 december 1977 is hij werkzaam op het Proefstation voor Tuinbouw onder Glas te Naaldwijk als hoofd van de sectie teeltonderzoek glasgroenten en sinds 1 januari 1985 tevens als hoofd van de sectie kwaliteitsonderzoek glasgroenten. Hij is voorzitter van de kwaliteitswerkgroep glasgroenten, waarin onderlinge afstemming, prioriteitstelling in onderzoek en bespreking van consequenties van onderzoekresultaten plaatsvindt tussen CBT, ATO, CAD K&B en PTG. Tevens is hij lid van de in 1988 in Wageningen opgerichte werkgroep "objectivering van meetmethodieken kwaliteit".