

LABORATORIUM VOOR BLOEMBOLLENONDERZOEK

LISSE

MUTATIEVEREDELING BIJ BOLGEWASSEN  
DOOR MIDDEL VAN RADIOACTIEVE  
BESTRALING EN ANDERE METHODEN.

Ir. H.Y. Alkema

Rapport 24 - januari 1974.

P-12  
15N 359513

# INHOUD

## VOORWOORD

1. MUTATIEVEREDELING	1
1.1 Mutagentia	1
1.2 Het effect van een mutagene behandeling	3
1.3 Het rendement van een mutagene behandeling	5
2. HET ONDERZOEK AAN BOLGEWASSEN	7
2.1 Iris	7
2.2 Narcis	13
2.3 Lelie	14
2.4 Hyacint	14
2.5 Bijgoedgewassen	15
3. DISCUSSIE	17
4. SAMENVATTING	18
5. LITERATUUR	19

## VOORWOORD

Sinds 1960 zijn op het L.B.O., in samenwerking met het I.T.A.L., de mogelijkheden van mutatieveredeling bij bolgewassen onderzocht. Nu het onderzoek op het L.B.O. is afgesloten, worden de resultaten hiervan ter beschikking gesteld van de praktijk. Het onderzoek zal echter worden voortgezet op het Instituut voor de Veredeling van Tuinbouwgewassen te Wageningen (I.V.T.), waar reeds vele jaren aan mutatieveredeling bij de tulp wordt gewerkt. Vanwege het laatste zijn in dit rapport geen resultaten van het werk aan tulpen opgenomen.

## 1. MUTATIEVEREDELING

Het komt vaak voor dat men in een gewas met vele goede eigenschappen een enkele eigenschap zou willen veranderen, bijv. de mate van geschiktheid voor vroege bloei of de bloemkleur. Dit 'veredelen' is bij bolgewassen met behulp van de normale methode (telen uit zaad) vaak een lange weg. Mutatieveredeling is echter een methode waarmee het gestelde doel sneller kan worden bereikt. Ook is het de enige methode die kan worden gebruikt indien de gewenste eigenschap niet in een andere cultivar of in een wildvorm of species aanwezig is of indien de te verbeteren cultivar steriel is. Ook wanneer het inkruisen van een gewenste eigenschap vanuit een wildvorm of species een vermindering of verdwijning van andere belangrijke eigenschappen zou betekenen, is mutatieveredeling de meest aangewezen methode.

Dr. W.E. de Mol, die deze methode reeds in 1922 toepaste, moet als de pionier op het gebied van de mutatieveredeling bij bolgewassen worden beschouwd.

Onder mutatieveredeling wordt een methode verstaan waarbij de veredelde vorm tot stand komt met behulp van zgn. mutagentia.

### 1.1. M u t a g e n t i a

Men onderscheidt fysische (straling, temperatuur) en chemische (gassen, vloeistoffen) mutagentia.

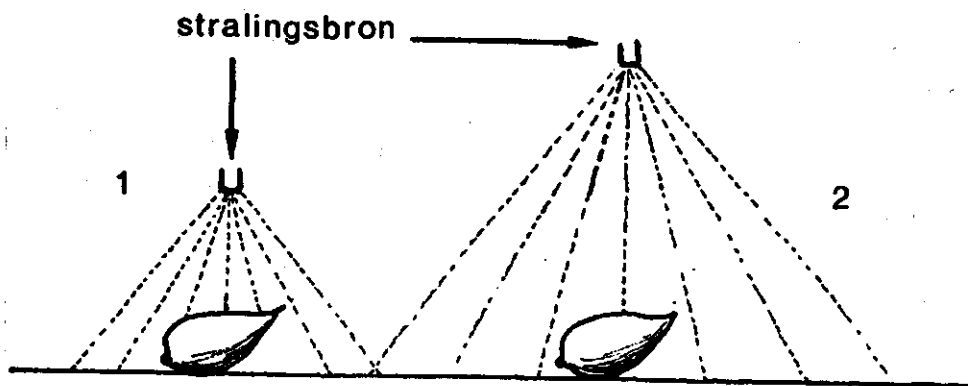
Fysische mutagentia. Hiertoe behoren de neutronen- en de röntgenstralen.

a. Neutronenstralen. In een ruimte, waarin de te bestralen planten of plantedelen zijn geplaatst, worden neutronen bimmengelaten. De stralingsintensiteit is gering en de doseringssnelheid is dientengevolge laag.

b. Röntgenstralen. De straling wordt opgewekt met een röntgenapparaat; de stralingsbundel is kegelvormig. De doseringssnelheid is kleiner naarmate de afstand tussen stralingsbron en plant groter is (fig. 1).

Een behandeling met dit soort mutagentia wordt gekarakteriseerd door de aard van de toegepaste straling, de dosis (hoeveelheid rad) en de doseringssnelheid (aantal rad per min.).

Onder stralingsdosis wordt verstaan de totale hoeveelheid straling die de plant gedurende de behandeling heeft getroffen. De eenheid van straling is de rad ( $100 \text{ erg.cm}^{-2}$ ). 1000 rad wordt genoteerd als kilorad (1Krd = 1000 rad). Onder doseringssnelheid wordt verstaan de hoeveelheid straling die de plant per tijdseenheid treft.



*Fig. 1. De stralingsintensiteit is afhankelijk van de afstand tussen bron en te bestralen object. De doseringsnelheid in 1 is groter dan in 2.*

De stralingsenergie dringt de cellen van de plant binnen en kan de in de cel aanwezige stoffen veranderen. Zo kunnen gedeelten van chromosomen worden veranderd of vernietigd, waardoor bepaalde erfelijke eigenschappen veranderen of verdwijnen.

De bestraling veroorzaakt vaak schade doordat onmisbare chromosomen of plantecellen in hun geheel vernietigd worden. In het eerste groeiseizoen na de behandeling is dan ook een groot aantal misvormde planten te verwachten en een trage groei. Het aantal misvormde planten is groter en het achterblijven in groei sterker, naarmate het materiaal zwaarder (of sneller) behandeld is. In het eerste jaar na de behandeling kan men vlekken van een andere kleur op de bloem aantreffen. Vanaf het tweede jaar is de groei vaak weer normaal. De misvorming die dan optreedt, is niet te wijten aan een weefsel- of celvernietiging door de behandeling.

Uiteraard zijn er meer mutagentia. Eén daarvan, nl. ultraviolet licht, is gemakkelijk en zonder gevaar toe te passen op pollen.

Chemische mutagentia. Er zijn vele chemische stoffen die een mutagene werking hebben. In dit onderzoek is alleen gebruik gemaakt van colchicine. Met behulp van dit middel is polyploidisatie te bereiken, waardoor een steriele plant kan veranderen in een min of meer fertiele plant.

Polyploidie is het verschijnsel dat in sommige cellen van een plant een groter aantal chromosomen voorkomt dan in de overige cellen (bijv. 60 of

90 chromosomen in plaats van 30).

Colchicine is een stof (voorkomend in Colchicum en waarschijnlijk ook in Gloriosa), welke verhindert dat na de deling van de chromosomen een scheidingswand wordt gevormd tussen de twee in principe reeds bestaande dochterkernen en -cellen. De twee dochterkernen blijven dan bijeen en vormen zo een kern waarvan het aantal chromosomen tweemaal zo groot is als dat van cellen die, door normale, ongestoorde delingen zijn ontstaan (fig. 2).

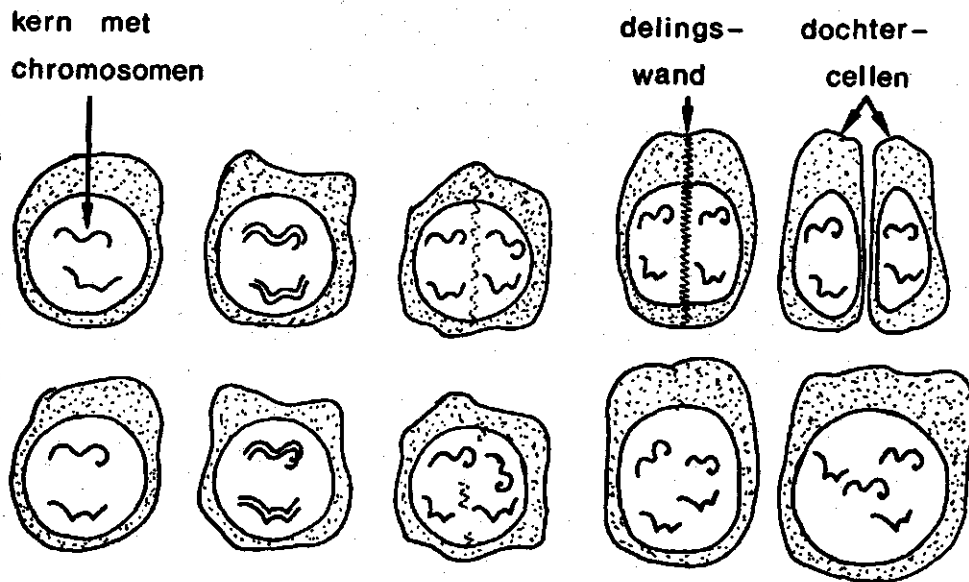


Fig. 2. Celdeling schematisch voorgesteld. Boven: normale deling; onder: deling onder invloed van colchicine.

## 1.2. Het effect van een mutagene behandeling

Het effect van een behandeling met mutagentia is afhankelijk van de aard van het materiaal, van het tijdstip van de behandeling en van de vóór- en nabehandeling van het materiaal. De groeipunten in het materiaal moeten op het moment van de behandeling zo klein mogelijk zijn. Naarmate zij op dat moment kleiner zijn is het effect anders (Nezu, 1963; zie ook figuur 3).

Het materiaal moet tijdens de behandeling zoveel mogelijk groeipunten hebben of van dien aard zijn dat na de behandeling zoveel mogelijk groeipunten kunnen worden verwacht.

Om duidelijk te maken waarom deze eisen moeten worden gesteld, zal hieronder nader worden ingegaan op het effect van bestraling van tulpebollen tijdens de bewaarperiode. In deze bewaarperiode bevinden zich in een

tulpebol een stengel met bloem en een nieuwe hoofdbol in de oksel van de binnenste rok. In de oksels van de rokken van deze nieuwe hoofdbol bevindt zich het meristeem waaruit zich in de loop van het voorjaar nieuwe klusters zullen ontwikkelen (fig. 3).

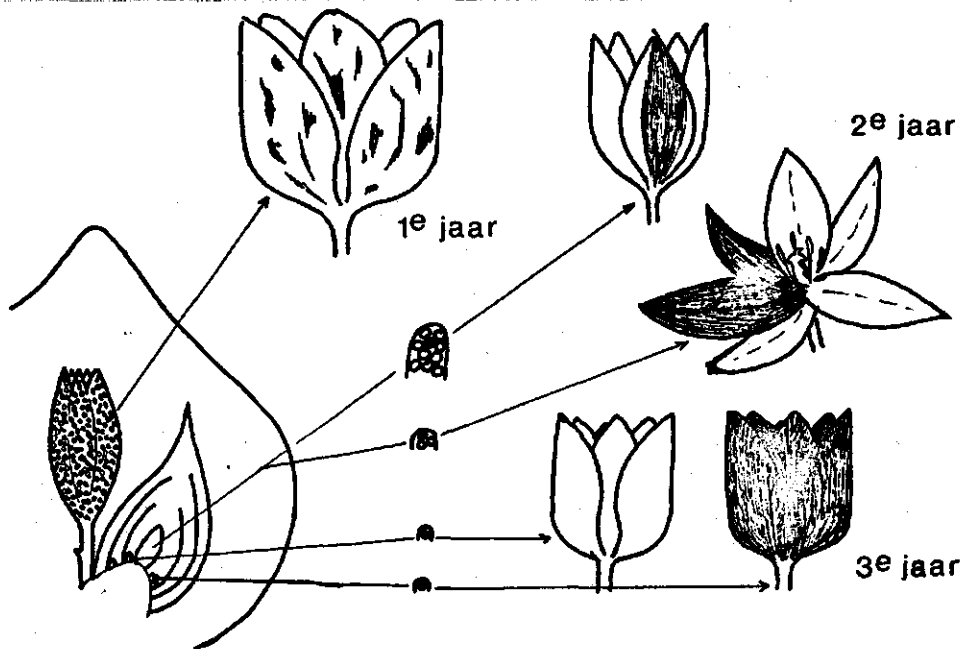


Fig. 3. Tulpebol bestraald in september. De grootte van het bestraalde groeipunt bepaalt het mutatiebeeld en het tijdstip waarop de mutatie zichtbaar wordt (gearceerd: gemuteerd weefsel; wit: ongemuteerd). Tekening naar M. Nezu.

Wanneer de bol in de bewaarperiode wordt bestraald heeft dit ten gevolge dat een groot aantal cellen van de bloem muteren (omdat deze dan reeds uit veel cellen bestaat). Tot aan de bloei vermeerderen deze cellen zich echter nauwelijks meer, zodat de gemuteerde cellen slechts aanleiding geven tot vlekjes van een andere kleur op de bloembladeren. Wanneer cellen in de nieuwe hoofdbol muteren zal dit een veel groter effect hebben op de daaruit groeiende spruit, daar deze cellen relatief gezien een groter deel van de spruit uitmaken dan in het bovengenoemde geval. Gehele sectoren van de bloem kunnen nu een andere kleur hebben. Uiteraard komt dit verschijnsel pas een jaar later tot uiting dan de bovengenoemde vlekken op de bloem.

De meristemen waaruit de bollen van de volgende generatie zullen ontstaan zijn op het moment van bestraling nagenoeg ééncellig. Wanneer deze ene cel muteert, kan daaruit een geheel gemuteerde plant groeien (uit een niet-gemuteerd, ééncellig meristeem ontstaat uiteraard een in het geheel niet gemuteerde plant. Het resultaat kan pas in het derde jaar worden

geconstateerd (Nezu, 1963).

Het meest effect kan dus worden verwacht wanneer de groeipunten nog in het ééncellige stadium verkeren. Door een voorbehandeling moet het materiaal in een zodanige toestand worden gebracht, dat de cellen op het moment van bestraling in een zo gevoelig mogelijk stadium verkeren en tegelijkertijd de overlevingskans van het materiaal zo groot mogelijk is.

De nabehandeling moet zodanig zijn dat afsterving van gemuteerde cellen zoveel mogelijk wordt voorkomen.

### 1.3. H e t r e n d e m e n t v a n e e n m u t a g e n e b e h a n - d e l i n g

Het rendement van de behandeling wordt bepaald door het aantal gemuteerde cellen dat in het materiaal is ontstaan en het gedeelte daarvan dat tot een herkenbaar gemuteerde plant of gemuteerd plantedeel uitgroeit. Het aantal gemuteerde planten is niet altijd duidelijk vast te stellen.

De door mutatie verkregen eigenschappen zijn namelijk, uitzonderingsgevallen daargelaten, steeds recessief t.o.v. de ongemuteerde eigenschappen. In materiaal dat homozygoot is (AA), zal men in de 1e generatie na bestraling moeilijk een mutant (Aa) kunnen waarnemen, omdat deze weliswaar genetisch verschillend maar uiterlijk gelijk is aan het uitgangsmateriaal. Zou men door middel van bestuiving een 2e generatie kunnen verkrijgen, dan zou een eventuele mutatie tot uiting kunnen komen in de recessieve vorm aa, welke uiterlijk wel verschilt van AA en Aa. Heterozygoot materiaal zal gemakkelijker mutanten tonen. Een mutant van Aa wordt aa. Deze is goed te onderscheiden omdat hij een ander uiterlijk heeft.

De herkenbaarheid wordt mee bepaald door chimaerie. Chimaerie houdt in dat een plant gedeeltelijk uit cellen bestaat die andere erfelijke eigenschappen hebben dan de overige cellen. Men onderscheidt sectoriale en periclinale chimaeren. Bij sectoriale chimaeren bestaat een gedeelte van het groeipunt van de plant uit gemuteerde cellen. Zo kan bijvoorbeeld 1/3 gedeelte van de plant uit gemuteerde cellen bestaan en 2/3 uit ongemuteerde. Knoppen die zich in de oksels van de bladeren in de gemuteerde sector bevinden, zullen geheel gemuteerde spruiten kunnen geven. Door deze spruiten te stekken zijn geheel gemuteerde planten te verkrijgen. In de ongemuteerde sector ontstaan geheel ongemuteerde



spruiten. Sectoren van de plant zijn dus gemuteerd.

Bij periclinale chimaeren kan één van de drie cellagen L1, L2 en L3, waaruit een plant bestaat, gemuteerd zijn (fig. 4). Indien L1 (de buitenste laag) gemuteerd is, omspannt een laag van gemuteerde cellen ongemuteerd weefsel.

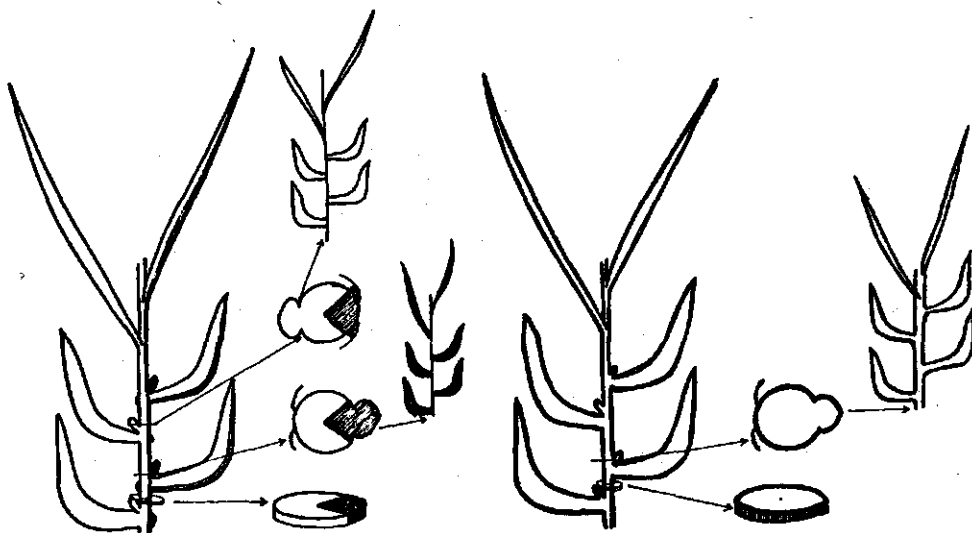


Fig. 4. Sectoriale en periclinale (rechts) chimaere (gearceerd: gemuteerd; wit: ongemuteerd weefsel)

Uit aanwezige okselknoppen zullen ook weer periclinale chimaeren groeien. Het is dan niet mogelijk een volledig gemuteerde plant te verkrijgen. Het rendement is ook afhankelijk van de mutatiefrequentie en de overlevingskans. De mutatiefrequentie is hoger bij grotere stralingsdoses, de overlevingskans is dan echter kleiner. De mutatiefrequentie is de verhouding tussen het aantal cellen dat door de behandeling muteert en het aantal cellen dat ongemuteerd blijft. De dosis waarbij de overlevingskans  $\pm 50\%$  is (LD50) wordt als de meest aan te bevelen dosis beschouwd. Het rendement wordt ook sterk bepaald door de zgn. diplontische selectie. Ongemuteerde cellen tonen meestal een grotere groeikracht dan gemuteerde, waardoor de laatste tijdens de groei van de plant een hoe langer hoe kleiner deel uitmaken van het totale aantal cellen. Aanvankelijk aanwezige mutaties kunnen zo, als het ware, 'uit' de plant groeien (zie fig. 5).

Het nuttig rendement wordt bepaald door het aantal planten dat een positief te waarderen eigenschap bezit. Daar de meeste van de mutanten die als zodanig herkend kunnen worden negatief zijn, is het nuttig rende-

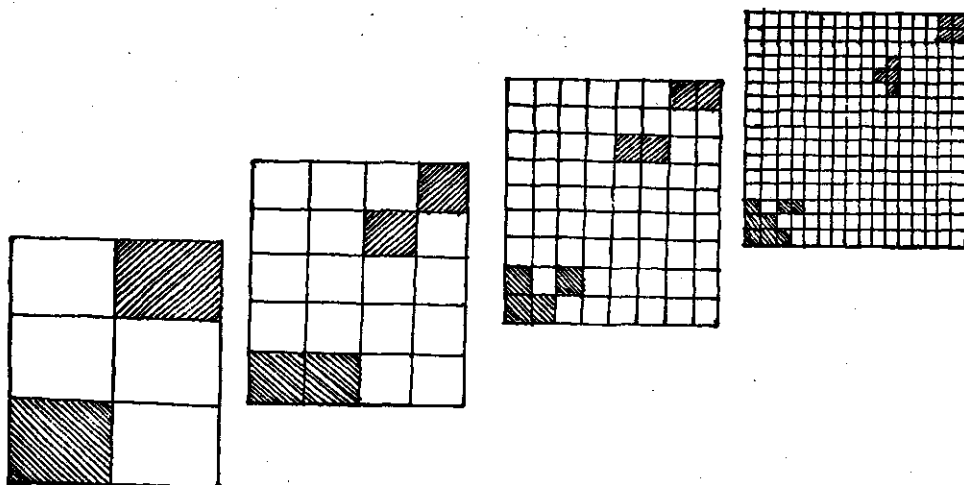


Fig. 5. *Diplontische selectie. Ongemuteerde cellen (□) beginnen eerder of sneller te delen dan gemuteerde (■)*

ment vaak bijzonder laag.

Bij het onderzoek in het kader van dit project werden, in samenwerking met het I.T.A.L. te Wageningen, aan kleine aantallen bollen of knollen van elk van de te behandelen gewassen het beste tijdstip van bestraling en de gunstigste bestralingsdosis vastgesteld. Waren tijdstip en dosis bekend, dan werden grotere aantallen behandeld, die enkele jaren werden voortgekweekt om de partijtjes op mutaties te kunnen onderzoeken.

Behalve het effect van de bestraling werd ook het effect van een colchicinebehandeling bestudeerd. De meeste proeven werden gedaan met iris en narcis; met lelie en een aantal andere bijgoedgewassen zijn echter ook proeven genomen.

## 2. HET ONDERZOEK AAN BOLGEWASSEN

### 2.1 I r i s

Het onderzoek werd in 1960 begonnen met de iriscultivar 'Wedgwood'. Iris 'Wedgwood' is de enige cultivar, die gemakkelijk met Kerstmis in bloei kan worden gebracht. Deze cultivar is echter steriel (soortkruising tussen *I. tingitana* en *I. xiphium*), geeft dus geen stuifmeel en zet geen zaad, zodat de gebruikelijke wijze van veredeling is uitgesloten.

Met behulp van mutatieveredeling werd getracht een 'Wedgwood'-type te krijgen dat in alle overige opzichten aan de normale 'Wedgwood' gelijk

zou zijn, maar een minder fletse bloemkleur zou hebben.

Bij de proeven met iris 'Prof. Blaauw' (kruisingsproduct uit dezelfde ouders als die van 'Wedgwood' en dus ook steriel) gold als doel een type te krijgen, dat vroeger in bloei zou kunnen worden getrokken maar verder geheel gelijk zou zijn aan het normale type.

In het eerste geval was dus het doel een 'Wedgwood' te verkrijgen met de kleur van 'Prof. Blaauw' en in het tweede geval 'Prof. Blaauw' met de vroegheid van 'Wedgwood'.

De volgende proeven werden uitgevoerd:

### I Vaststellen van de gunstigste bestralingsdosis

De bollen werden bestraald met verschillende doses, de eerste groep met 1500 rad en de volgende groepen met een steeds 150 rad zwaardere doses tot 15.000 rad (15 Krad). Een dosis van 1500 rad bleek reeds zo zwaar te zijn dat geen der bollen een spruit boven de grond bracht.

Om de gunstigste dosis vast te stellen, werd de proef herhaald, nu met een serie doses tussen 0 en 1500 rad.

Bollen die met een dosis tussen 900 en 1100 rad waren behandeld, vormden wel een spruit, maar de groei liet zeer te wensen over. Na een behandeling met een dosis van 700 rad was de groei nauwelijks minder dan van de controle; na een dosis van 1300 rad daarentegen kwamen slechts enkele spruiten te voorschijn.

Een dosis van 900-1100 rad bleek de beste te zijn.

### II Invloed van de voorbehandeling

In deze proef werd nagegaan of een voorbehandeling bij een bepaalde temperatuur invloed had op de gevoeligheid voor bestraling. Daartoe werden bollen die bij 30°C waren opgeslagen om hun groei te remmen, eerst 4 weken bij 17°C bewaard, voordat ze werden bestraald.

De meest gunstige dosis bleek ook nu 900-1100 rad te zijn.

De voorbehandeling heeft dus geen invloed op de gevoeligheid voor bestraling.

### III Tijdstip van bestraling

In een volgende proef werd nagegaan of de gevoeligheid van de bol tijdens de bewaring verandert. Toegepast werden doses van 500, 800 en 1100 rad op 11 en 18 september, 2 en 26 oktober en 13 en 27 november. Bollen die in september met 800 rad waren bestraald gaven nog normale planten;

wanneer de behandeling in oktober of november werd uitgevoerd, ontstonden slechts dwergachtige planten. Van de behandelingen met 1100 rad gaven die welke in september of oktober werden uitgevoerd, reeds dwergachtige planten; werd hij in november uitgevoerd, dan kwam het gewas niet op.

De bollen zijn dus gevoeliger voor bestraling naarmate ze later in de bewaarperiode worden bestraald.

#### IV Invloed van herbestraling

Dochterbollen van de bollen die voor de experimenten I, II en III waren gebruikt, werden in de volgende bewaarperiode ('opnieuw') bestraald. Ook in dit geval was een stralingsdosis van 900 à 1100 rad de beste. Er werden geen verschijnselen geconstateerd, waaruit zou kunnen blijken, dat bollen afkomstig van bestraalde bollen anders op bestraling reageren dan die welke van niet-bestraalde bollen afkomstig zijn.

Het al of niet bestraald zijn van de moederbol heeft geen invloed op het effect van bestraling van dochterbollen

#### V Het optreden van mutanten

##### a. 'Wedgwood'

Na de in het voorgaande beschreven oriënterende proeven werden van elk van de ziften 5, 7 en 9 van cv. 'Wedgwood' 1000 bollen bestraald. Tijdstip augustus, direct na het rooien. Dosis: 1000 rad. Het grote aantal planten dat daaruit groeide, waarborgde een goede kans dat er mutanten gevonden zouden worden. In het eerste jaar na de bestraling werden veel morfologische afwijkingen gevonden, het meest in zift 9. Aan het laatste kan geen conclusie worden verbonden omdat afwijkingen in deze maat het meest opvallen. De morfologische afwijkingen waren ontstaan als gevolg van 'stress' door de bestralingsbehandeling.

In het tweede jaar na de bestraling werden geen duidelijke morfologische afwijkingen meer aangetroffen, maar wel veel bloemen met sectoren van een andere kleur en zelfs enkele bloemen die in hun geheel een andere kleur hadden. De meeste bloemen met anders gekleurde sectoren waren te vinden in planten afkomstig van de bestraalde zift 9. In het tweede jaar werden in totaal 19 bloemkleur-mutanten waargenomen.

In het derde jaar na de bestraling werden in totaal 120 mutanten waargenomen. Verhoudingsgewijs kwamen deze in de drie gebruikte maten evenveel voor. Ongeveer 30% van het aantal mutanten waren sectormutant. Niet

vastgesteld werd of men in de overige 70% van de gevallen te doen had met periclinale chimaeren (zie blz.6) of met volledige mutanten (dit zijn dus planten waarbij de drie lagen (L1, L2 en L3) alle uit gemuteerde cellen bestaan).

In het algemeen bestond de kleurvariatie in een lichtere of donkerder tint van de oorspronkelijke bloemkleur.

b. 'Prof. Blaauw'

Van de cv. 'Prof. Blaauw' werden 6000 bollen van zift 9 bestraald. De partij werd na de bestraling vier jaar doorgeteeld. Daarna werden de leverbare bollen (zift 9, 10, 11) in de periode januari tot maart in bloei gebracht. Er was geen verschil in bloeitijdstip tussen deze en een niet bestraalde partij. Ook in het vijfde jaar na de bestraling werd met leverbare bollen van de bestraalde partij geen vroegere bloei verkregen. Wel waren variaties in bloemkleur ontstaan. Deze waren ongeveer gelijk aan die in 'Wedgwood'. De nieuwe kleuren varieerden van wit over lila tot iets helderder blauw en iets donkerder paars dan de oorspronkelijke kleur.

VI. Neutronenbestraling

Behalve bestraling met X- of röntgenstralen is ook neutronenstraling toegepast om mutaties te verkrijgen.

De stralingsintensiteit in de behandelingsruimte is constant, zodat de dosis afhankelijk is van de tijd dat de planten of plantedelen in de behandelingsruimte verblijven. Een neutronenbestraling gedurende 24 uur komt overeen met 1400 rad röntgenstraling, d.w.z. 1 rad per minuut.

Bij bestraling met neutronen is de doseringsnelheid laag vergeleken met die van X-stralen. Het effect van de straling kan daardoor anders zijn. Bollen van cv. 'Wedgwood', werden gedurende 8, 16, 24, 32 of 40 uur in de behandelingsruimte gehouden. Het bleek dat 8 uur niet lang genoeg was om enige invloed op de groei uit te oefenen; na een behandeling van 16 uur daarentegen bleek groei niet meer mogelijk te zijn. De proefbestraling werd daarom herhaald. De bollen werden nu gedurende 10, 13 of 16 uur aan de bestraling blootgesteld.

De meest geschikte tijdsduur werd, op grond van de verkregen gegevens gesteld op 14 uur (vergelijkbare dosis + 800 rad).

VII. Na de in het voorgaande beschreven oriënterende proeven werden 600 platte bollen van cv. 'Wedgwood' (zift 9) gedurende 14 uur bestraald

met neutronen. In het tweede jaar na de bestraling werden 9 mutanten waargenomen. De partij is echter niet verder geteeld, omdat bij de bestraling verontreiniging met gamma-stralen was opgetreden.

#### VIII Colchicine-behandeling

Getracht werd de steriliteit van de cv. 'Wedgwood' op te heffen door het materiaal met colchicine te behandelen. Zoals eerder werd uiteen gezet kunnen onder invloed van deze stof cellen met een dubbel aantal chromosomen ontstaan. Bij deze iriscultivar is het aantal  $2n = 31$  (steriel); dit zou dan veranderen in  $4n = 62$  (mogelijk fertiel). Men liet de bollen de colchicine opnemen via de wortels (de gevoeligheid van wortels voor colchicine is echter tientallen malen groter dan die van andere plantedelen). De bollen werden daartoe geplant in grond die verzadigd was met colchicine-oplossing van 0,1 of 0,2% in water en stonden daarin gedurende een verschillend aantal dagen. De grondtemperatuur bedroeg  $9^{\circ}\text{C}$ . Na een bepaald aantal dagen werden de bollen overgeplant in gewone grond, nadat zij voorzichtig waren afgespoeld om alle nog aanhangende grond en colchicine te verwijderen.

De spruiten van bollen die 10 dagen in grond verzadigd met 0,1% colchicine-oplossing hadden gestaan vertoonden een sterk verminderde groei. Wanneer een oplossing van 0,2% was gebruikt, bedroeg de benodigde behandelingstijd slechts 5 dagen.

Na deze oriënterende proef werden 600 bollen van de cv. 'Wedgwood' (zift 6-8) in grond die met een oplossing van 0,1% colchicine verzadigd was, geplant en gedurende 10 dagen bij  $9^{\circ}\text{C}$  gehouden.

De bollen die aanvankelijk bij  $30^{\circ}\text{C}$  waren bewaard, werden voor het planten gedurende 6 weken bij  $17^{\circ}\text{C}$  opgeslagen.

De nakomelingschap van de behandelde bollen werd getest op mogelijke fertiliteit (bij mogelijk aanwezige tetraploïde vormen) door de bloemen te bestuiven met fertiel pollen van andere cultivars. Er werd geen zaadzetting waargenomen, ondanks het feit dat de vruchtbeginsels werden behandeld met I.A.A. Een bestuiving in het daarop volgend jaar leverde evenmin resultaat op. Het slagen van de bestuiving kan echter nog van andere factoren afhangen. Het niet slagen houdt niet in dat er géén polyploidie aanwezig was. Hij kon op deze manier niet worden ontdekt.

#### IX Temperatuurbehandeling

Eveneens werd getracht tetraploïdie in iris 'Wedgwood' en 'Prof. Blaauw' te induceren met behulp van temperatuurschokken. De bollen werden bloot-

gesteld aan temperatuurovergangen tussen 0° en 45°C.

Het bleek echter niet mogelijk te zijn om vast te stellen of er polyploidie was opgetreden. Het kon niet worden ontdekt met de methode de zaadzetting waar te nemen na bestuiving met fertiel pollen van andere cultivars. Daarom werd de proef niet voortgezet.

### Discussie

De bestraling van irisbollen heeft een groot aantal mutanten opgeleverd. De mutatiefrequentie was echter erg laag. In een bol van zift 9 zijn gemiddeld 5 à 6 groeipunten aanwezig. De 1000 bollen die bestraald werden, bevatten dus ongeveer 5.500 groeipunten. Bollen van zift 5 hebben per bol ongeveer 3 groeipunten, zodat op 1000 bollen ca. 3000 groeipunten voorkomen. In elk van de drie ziften (5, 7 en 9) was het aantal mutanten dat na 3 jaar werd waargenomen, ongeveer gelijk aan 1% van het aantal groeipunten.

Dit percentage is laag, maar komt ongeveer overeen met dat wat in bestralingsproeven gevonden wordt bij andere planten, die op overeenkomstige wijze worden vermeerderd (vóór of na de bestraling).

De genoemde mutatiefrequentie heeft echter betrekking op de hoeveelheid mutanten die uiteindelijk wordt waargenomen. Het werkelijke aantal cellen, dat is gemuteerd, is veel groter. Veel gemuteerde cellen zullen echter zodanig zijn gemuteerd, dat ze niet langer levenskrachtig waren en te gronde gingen.

Andere gemuteerde cellen zullen tenslotte van de diplontische selectie verdrongen zijn door actieve niet gemuteerde groeipunten, waardoor ze na één of een paar jaar met de plantedelen waarin zij voorkomen (bijv. in de bolstoel of in de bolrok) verloren gaan.

Ook kunnen mutanten ontstaan waarbij andere eigenschappen veranderd zijn, dan die waarop wordt geselecteerd en daardoor niet opvallen.

Zo kan bijvoorbeeld een ander verklisteringstype zijn ontstaan of een type met een andere bolgroei. De waargenomen mutatiefrequentie is dus mede afhankelijk van het kenmerk waarop wordt geselecteerd, d.w.z. van het doel waarvoor de bestraling is toegepast.

Aan de bloemkleur herkenbare mutanten werden dus in de voorgaande proef van alleen als mutanten beschouwd.

Wat uiteindelijk als mutatiefrequentie wordt aangemerkt, komt dus niet overeen met de aanvankelijke mutatiefrequentie en misschien ook niet met de werkelijke mutatiefrequentie op het ogenblik van selectie.

## 2.2. N a r c i s

Sommige narcissecultivars hebben eigenschappen die hen zowel bijzonder geschikt maken voor de bollenteelt als voor de broei. Bloemkleurmutanten van zulke cultivars, als 'Golden Harvest' en 'Carlton' zouden van belang kunnen zijn. Om deze te verkrijgen is in dit geval mutatieveredeling aan te bevelen, omdat:

1. De erfelijke samenstelling van cultivars vaak niet bekend is,
2. De generatieduur minstens 7 jaar bedraagt, zodat het herhalen van eventueel vroeger gemaakte kruisingen tijd- en geldrovend en bovendien de kans op succes uiteraard vrij onzeker is.

### I. Vaststelling gunstige dosis

In het najaar van 1969 werden enkele aantallen bollen van de cv. 'Mercator' bestraald met doses van 0 tot 1000 rad. De bollen werden na het bestralen 'dubbelgeschud'.

Bollen bestraald met 400 rad gaven een korter gewas dan de controle. Een bestraling met 500 rad had een zeer matige opkomst ten gevolge, terwijl bollen die met nog hogere doses waren bestraald, nauwelijks opkwamen.

De grens werd dus bij 500 rad gelegd. Dezelfde grens werd aangehouden voor bollen die na het bestralen niet waren geschud.

De eerste planten bloeiden in 1972. De bollen voortgekomen uit bollen die bestraald zijn met de grotere dosis, zullen echter pas in 1974 of 1975 de eerste bloeiende planten voortbrengen.

Behalve bloemvorm-mutanten kunnen misschien enkele bloemkleur-mutanten (kleur variërend van geel naar wit) worden gevonden.

### II Bestraling 'Golden Harvest'

Bollen van de cv. 'Golden Harvest' werden in 1970 bestraald met een dosis van 400 of 500 rad. Schubben afkomstig van bollen die bestraald waren met 500 rad, werden na één groeiseizoen nog geheel intact en zonder zichtbare spruit- of bolvorming in de grond aangetroffen. Toen deze schubben opnieuw werden geplant, ontstond in het tweede groeiseizoen wel zichtbare activiteit. De eerste planten bloeiden in 1973, hiervan werden 2 exemplaren uitgetekend. Deze zullen worden doorgeteeld.

### III Colchicine-behandeling

De meeste van de thans in cultuur zijnde cultivars zijn tetraploëd. Van de trompetnarcissen is 'W.P. Milner' nog diploëd, evenals de dub-



bele narcis 'Van Sion'. Een verdubbeling van het aantal chromosomen kan een mutant opleveren die meer op een grote trompetnarcis, resp. een grote dubbele narcis lijkt. Om verdubbeling van het aantal chromosomen te bereiken werd een colchicine-behandeling toegepast. Bollen van de cv. 'Silver Chimes' werden ook met colchicine behandeld. Deze cultivar is zeer waardevol, maar steriel: hij bezit twee stel chromosomen van N. tazetta en één stel van N. triandrus. Een verdubbeling van het aantal chromosomen zou een enigszins fertiele mutant kunnen geven. Daarmee zou dan misschien in meer triandrus-cultivars en in andere groepen narcissen tazetta-eigenschappen kunnen worden ingekruisd. De eerste planten bloeiden in 1973. Van elke cultivar werden enkele planten uitgetekend; deze zullen verder worden geteeld.

### 2.3. L e l i e

Sommige lelies hebben uitgesproken goede eigenschappen. Een variatie van de kleur, zou echter waardevol kunnen zijn. Daar de kruisingsouders van vele van deze hybride-klonen niet meer bekend zijn, kost mutatieveredeling waarschijnlijk minder tijd dan herhalingskruisingen met de mogelijke ouders.

Bollen van cv. 'Tabasco' werden in februari 1966 bestraald met een serie doses van 50 - 1000 rad. Een dosis van 100 rad had geen effect; de groei van het object, bestraald met 200 rad, was duidelijk minder dan die van de controle, terwijl op de schubben bestraald met 400 rad geen adventief-knoppen meer werden gevormd.

### 2.4. H y a c i n t

Van dit bolgewas bestaan algemeen gewaardeerde blauwe, rode en witte cultivars. Van de gele cultivars, waarvan slechts enkele voorkomen, laat de kleur te wensen over.

Met behulp van gewone kruisingstechnieken is de kleur waarschijnlijk niet te verbeteren, omdat van hyacint en aanverwante geslachten in het wild geen gele soorten voorkomen.

Mutatieveredeling door bestraling lijkt daarom de enige weg. De 'gele' cultivar 'City of Haarlem' werd bestraald en na de bestraling gehold. De toegepaste doses, waarvan de laagste 500 rad was, bleken allemaal te groot te zijn geweest. Geen enkele bol vertoonde adventief-knoppen. Op grond van gegevens van andere onderzoekers wordt 350 rad als gunstige dosis aanbevolen.

## 2.5 Bijgoedgewassen

Behalve de bovenvermelde gewassen werd een groot aantal bijgoedgewassen bestraald. Hieronder volgt een kort overzicht:

### a. Ranunculus species

doel: kleuren geel en rood

argumenten: de cv. 'Barbaroux' is ideaal. Hij is echter wit gekleurd; men zou graag andere kleuren willen hebben.

Kruising met andere gekleurde cultivars doet waarschijnlijk bepaalde goede eigenschappen verdwijnen

methode: klauwtjes werden bestraald met een dosis van  $2\frac{1}{2}$ , 5,  $7\frac{1}{2}$ , 10  
15 of 20 Krad

resultaat: de LD 50-dosis was  $\pm$  10 Krad

### b. Anemone Coronaria

doel: gele kleur

argument: het inkruisen van een gele kleur met behulp van wilde soorten is niet goed mogelijk. Daarbij zullen voor de cultuur belangrijke eigenschappen waarschijnlijk teruglopen

methode: bestraling van zaad en pitjes van de cultivars 'Hollandia', 'Sylphide', 'the Bride', 'Mr. Fokker' met  $2\frac{1}{2}$ , 5,  $7\frac{1}{2}$ , 10 of 25 Krad

resultaat: de nog toelaatbare dosis voor zaad is  $\pm$  10 Krad. De groei van de pitjes vertoonde nog geen noemenswaardige achteruitgang bij 15 Krad

### c. Chionodoxa lucillae

doel: kleuren rood en geel

argument: wilde soorten met deze kleuren zijn niet voorhanden; wel zijn 'rose' en 'witte' variëteiten van de blauwe hoofdsoort in cultuur.

methode: bolletjes van Chionodoxa werden bestraald met verschillende doses tussen 250 en 15000 rad

resultaat: alle behandelingen kwamen goed op

herhaling: serie met doses van 15-75 Krad

Resultaat: van geen enkel object kwamen de planten op

Enig advies is niet te geven

d. Scilla sibirica

doel: kleur rood (en geel)

argument: als bij Chionodoxa

methode: bolletjes werden bestraald met verschillende doses tussen 250 en 15000 rad. Na het bestralen werden ze gehold.

resultaat: geen der bollen vormde adventief-knoppen (ook de controlepartij niet)

herhaling: na het bestralen werden de bollen niet gehold

resultaat: de toelaatbare dosis ligt tussen 500 en 1000 rad

e. Endymion hispanicus

doel: kleur rood

argument: een rood gekleurde soort is niet aanwezig in dit geslacht; wel bestaat een rose variëteit van de blauwe soort.

resultaat: de toelaatbare dosis lag tussen 250 en 500 rad

herhaling: opnieuw werden bollen bestraald maar nu met doses van 50 t/m 450 rad

resultaat: ook het object dat met 450 rad was bestraald, vertoonde nog een redelijke opkomst. De tegenstrijdigheid van de waarnemingen kan te wijten zijn aan de doseringssnelheid, maar is waarschijnlijk voornamelijk het gevolg van het al of niet snijden (zie o.a. bij Scilla).

De toelaatbare dosis ligt ongeveer bij 350 rad voor bollen die na de bestraling worden 'gesneden'.

f. Muscari armeniacum

doel: kleuren rood en wit en variabiliteit in blauw

argument: een rood gekleurde soort is in het gewas niet aanwezig.

Van M. botryoides bestaat wel een witte variëteit, maar van M. armeniacum niet. De bloeiwijze van M. botryoides laat veel te wensen over. Meer variatie in de blauw gekleurde cultivars is eveneens gewenst.

methode: de bollen worden bestraald met doses van 250 t/m 15000 Krad

resultaat: de toelaatbare dosis lag tussen 2 en 5 Krad

herhaling: opnieuw werden bollen bestraald, maar nu met doses van  $1\frac{1}{2}$  -  $5\frac{1}{2}$  Krad

resultaat: de toelaatbare dosis is ongeveer  $3\frac{1}{2}$  - 4 Krad

herhaling: getracht werd met behulp van een andere vermeerderingsmethode tot een gunstiger resultaat te komen.

Bestraald werd in een serie van  $1\frac{1}{2}$  - 5 Krad. Na het bestralen werden de bollen gehold of geschubd.

resultaat: de toelaatbare dosis is in dat geval 3 Krad. In geen van de aldus gewonnen partijtjes is bloemkleur- of trosvormmutatie of enige andere mutatie waargenomen.

Op het I.T.A.L. wordt geprobeerd mutanten te verkrijgen met behulp van bladstek.

g. Iris anglica

doel: gele kleur

argument: de Engelse iris is niet te kruisen met andere (gele) species van Xiphium-groep. Soorten met gele bloemen komen wel in deze groep voor (I. lusitanica en I. juncea)

methode: de bollen werden bestraald met doses van 800 t/m 1600 rad.

resultaat: de toelaatbare dosis is + 1000 rad

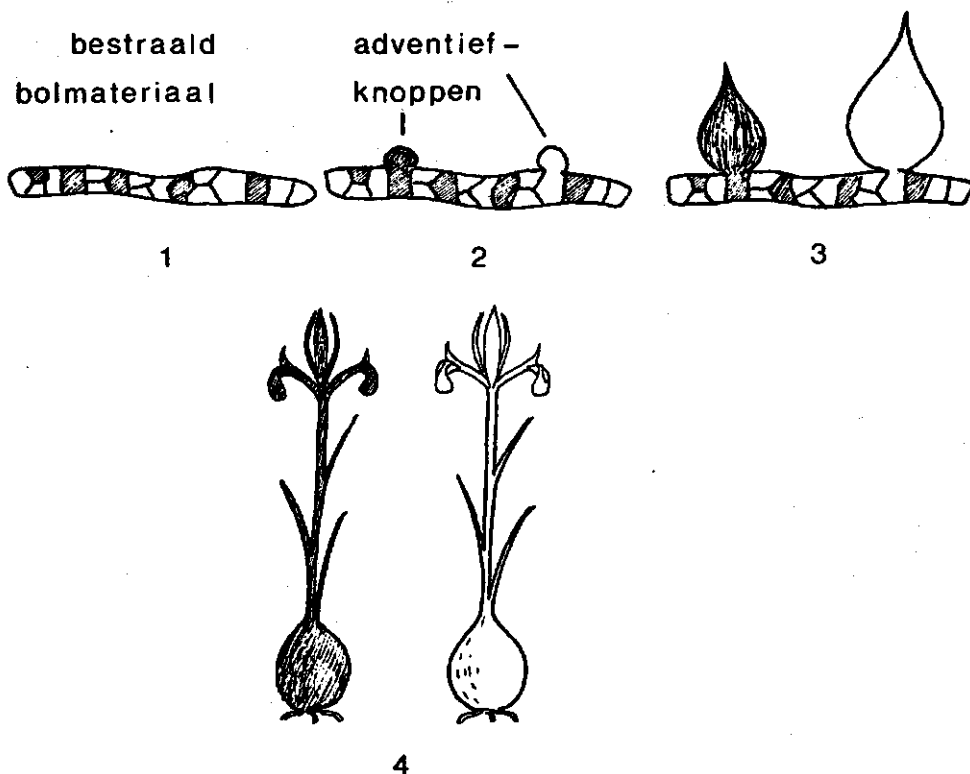
### 3. DISCUSSIE

Uit het voorgaande blijkt dat de resultaten van de mutatieveredeling vaak gering zijn door het optreden van diplontische selectie en chimaerie. De meeste van de moeilijkheden die daardoor ontstaan, kunnen worden voorkomen door planten uit één enkele cel te kweken. Dit is mogelijk door uit te gaan van adventief-knoppen. Adventief-knoppen ontstaan uit slechts één cel (zie fig. 6). Deze ene cel is na bestraling gemuteerd of ongemuteerd. In de hieruit ontstane plant kan geen diplontische selectie plaatsvinden, omdat alle cellen dezelfde eigenschappen bezitten. Evenmin kunnen sectoriale en periclinale chimaeren voorkomen.

Bij toepassing van deze methode kon het aantal mutanten, dat werd waargenomen, wel 30% zijn van het totale aantal planten, dat bij vermeerdering door middel van adventief-knopvorming ontstond. Sommige bolgewassen laten zich vermeerderen met de enkel- of dubbelschub-methode. Deze methoden zijn gericht op het laten ontstaan van adventief-knoppen. Bij de enkelschub-methode ontstaan de nieuwe bollen aan de basis van de rok. Deze methode is vergelijkbaar met de bladstek.

Bij de dubbelschubmethode ontstaan nieuwe knoppen op het bolstoelweefsel dat de delen van de twee rokken verbindt. Onder normale omstandigheden zouden hierop waarschijnlijk nooit knoppen ontstaan.

De dubbelschubmethode is te vergelijken met het stekken van blad met een hielkje. Wanneer voldoende beheersing van deze vermeerderingsmetho-



*Fig. 6. Schema van de ontwikkeling (1, 2, 3, 4) van een mutant na bestraling van materiaal voor vermeerdering door middel van adventief-knoppen (gearceerd: gemuteerd)*

den voor bolgewassen is verkregen, zal worden getracht met behulp van deze methode de mutatiefrequentie te vergroten.

#### 4. SAMENVATTING

De resultaten worden vermeld van mutatieveredeling bij een aantal bolgewassen met behulp van bestraling, een colchicinebehandeling en het toepassen van temperatuurschokken. Aangegeven wordt hoe groot de toelaatbare dosis voor röntgen-bestraling is. De gewenste mutaties werden in het algemeen niet verkregen vanwege de lage mutatiefrequentie. Deze zou kunnen worden verhoogd d.m.v. adventief-knoppen-techniek door plantemateriaal te bestralen dat voor vermeerdering via adventief-knoppen wordt gebruikt.

## 5. LITERATUUR

- ALKEMA, H.Y., 1971. Nieuwe vermeerderingsmethoden bij bolgewassen. Bloembollencultuur 81: 1211.
- HEKSTRA, G. en C. BROERTJES, 1968. Mutationbreeding in Bulbous Iris. Euphytica 17: 345-351.
- HEKSTRA, G., 1966. Veredeling in de groep 'Hollandse Irissen'. Jaarverslag Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Lisse 1965: 55.
- KONZAK, C.F. en L.F. RANDOLPH, 1956. Radication and Iris breeding. Bull. of the Am. Iris Soc. Nr. 148: 68-73.
- MOL, W.E. de, 1956. Der Einfluss der Röntgenstrahlen auf die Entwicklung des Pollens und der Sprosse bei Tulpen. Mit einem Rückblick auf die wissenschaftliche Lebensarbeit des Verfassers von K.J.J. Thamm. Bayerischer Landwirtschaftsverlag, Bonn/München/Wien.
- NEZU, M., 1963. Studies on the production of bud sports in tulips by ionizing radication, III. Frequency and mechanism of color spot formation. Seiken Zihō 15: 75:86.