

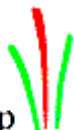
**projectverslag consultancy**

**DORMANCY BEPALING AARDBEI  
UITGANGSMATERIAAL MET BEHULP VAN NIET-  
INVASIEVE METABOLISME (ZUURSTOF  
VERBRUIK) METINGEN  
(PT projectnummer 12810.07)**

**IN OPDRACHT VAN PRODUCTSCHAP TUINBOUW**



**Fytagoras BV**  
*plant science*

Productschap  Tuinbouw


## PROJECTVERSLAG CONSULTANCY

**DORMANCY BEPALING AARDBEI  
UITGANGSMATERIAAL MET BEHULP VAN NIET-  
INVASIEVE METABOLISME (ZUURSTOF  
VERBRUIK) METINGEN  
(PT projectnummer 12810.07)**

**In opdracht van Productschap Tuinbouw**

Uitgevoerd door:  
Fytagoras BV  
(nummer 225)

Gefinancierd door:

**Productschap  Tuinbouw**

Productschap Tuinbouw  
Postbus 280  
2700 AG Zoetermeer

**© Fytagoras BV**

*Dit document is auteursrechtelijk beschermd. Niets uit deze uitgave mag derhalve worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch door fotokopieën, opnamen of op enige andere wijze, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Fytagoras BV. De merkrechten op de benaming Fytagoras komen toe aan Fytagoras BV. Alle rechten dienaangaande worden voorbehouden.*

*Fytagoras BV is niet aansprakelijk voor schade bij toepassing of gebruik van gegevens uit deze uitgave, tenzij er sprake is van opzet of grove schuld van de zijde van Fytagoras BV.*

# Inhoudsopgave

<b>1. Inleiding</b>	<b>4</b>
<b>2. Achtergrond bij de metingen en de meetmethode</b>	<b>5</b>
<b>3. Doelstelling(en) en afbakening</b>	<b>7</b>
<b>4. Plan van aanpak</b>	<b>7</b>
<b>5. Resultaten</b>	<b>8</b>
<b>6. Conclusies, discussie en aanbeveling</b>	<b>12</b>

# 1. Inleiding

In de productie van uitgangsmateriaal voor aardbeiplanten zijn verschillende mogelijkheden voor verbetering van het proces, een betere monitoring en controle. Sleutelzaken hierbij zijn het verbreken en controle van dormantie (kiemrust), beoordeling van de architectuur en samenstelling van het jonge plantmateriaal en op basis daarvan sortering van de planten.

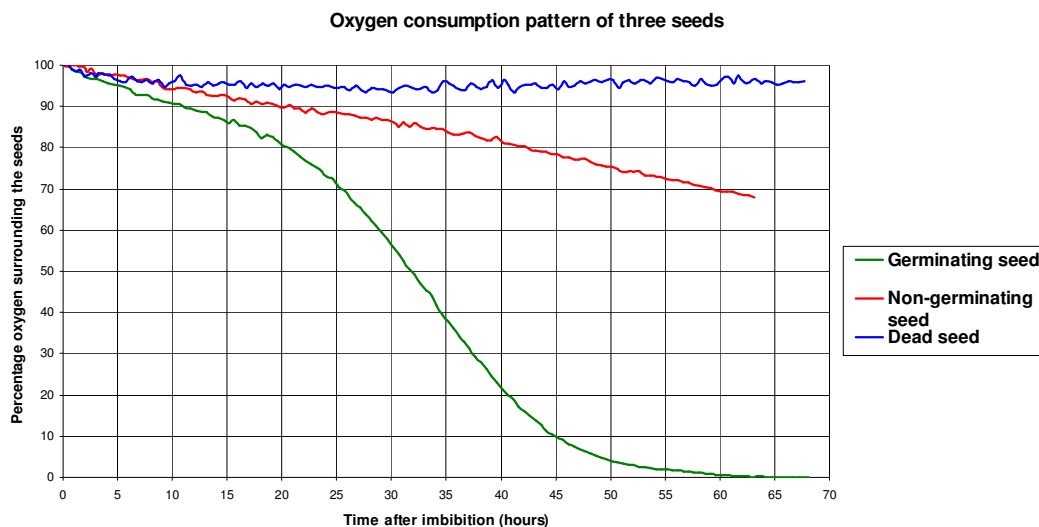
Momenteel zijn er geen goede methoden om de dormantie van het plantaardig uitgangsmateriaal te toetsen na productie, tijdens opslag en bij aflevering. Een snelle niet invasieve methode om dit wel te kunnen zal wezenlijk bijdragen aan een hogere kwaliteit, betere voorspelbaarheid en grotere homogeniteit van het uitgangsmateriaal.

Een mogelijkheid om de dormantie van aardbeiplanten te meten is door het zuurstofverbruik van plantjes te monitoren. De verwachting is dat de dormante exemplaren (veel) minder zuurstof zullen gebruiken dan niet dormante. De mate van dormantie zou dan ook bepaald kunnen worden aan de hand van het zuurstof opname patroon. Planten maken zuurstof, maar verbruiken het ook. Het metabolisme van actieve planten is naar verwachting hoger dus zullen ze als consequentie meer zuurstof verbruiken in het donker. Daarnaast kan worden gekeken naar het zuurstofverbruik/zuurstofproductie patroon onder een dag/nacht (licht/donker) ritme.

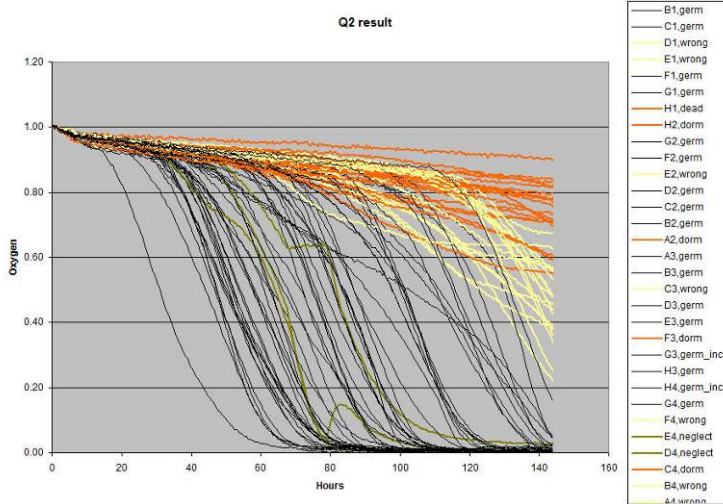
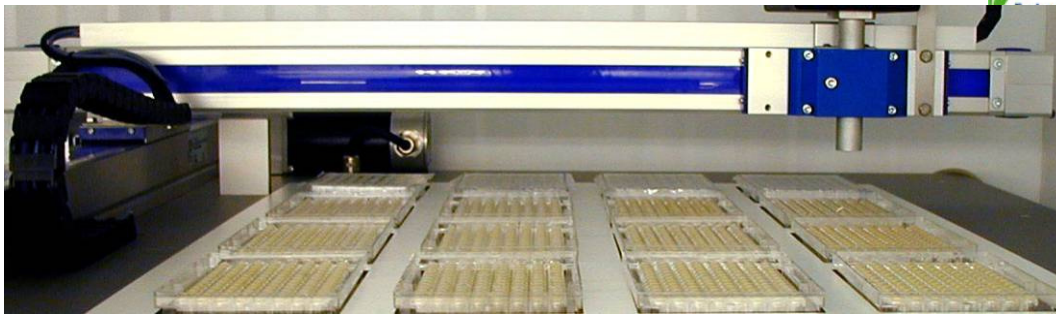
## 2. Achtergrond bij de metingen en meetmethode

Fytagoras (ex TNO) heeft met veel succes de metabolismemeting (=zuurstof verbruikmeting) voor zaden ontwikkeld. Hiermee kunnen kwaliteitsparameters van zaden worde bepaald in relatief korte tijd op basis van automatische metingen aan individuele zaden. In een zaadpartij kunnen hiermee o.a. verschillen in kiemrust va de verschillende zaden worden bepaald.

Recent heeft Fytagoras de meetmethode ook toegepast op planten in weefselkweek. De resultaten laten zien dat ook hier meting van het metabolisme mogelijk is (en dit o.a. afhangt van het type weefselkweekmedium dat bij de planten aanwezig is). Fytagoras heeft veel kennis op het gebied van kiemrust (meer dan 25 publicaties over dit onderwerp in internationale wetenschappelijke tijdschriften).



***Figuur 1: Zuurstofverbruikmeting aan drie zaden (kiemend, dormant en dood). Na 10 uur is het onderscheid zichtbaar.***



***Figuur 2: Machine voor automatische meting van zuurstof verbruik van individuele zaden en meet resultaat waarin de verschillen in metabolisme duidelijk zichtbaar zijn.***



***Figuur 3: Meetopstelling waarbij het metabolisme van weefselkweekplantjes automatisch en niet-invasief wordt gemeten.***

### **3. Doelstelling(en) en afbakening**

De doelstelling van het consultancy-onderzoek is om te testen of met behulp van de non-invasieve metabolisme metingen (zuurstof verbruik), zoals die nu bij Fytagoras worden gebruikt om kiemrust bij zaden vast te stellen, aan ook bij aardbei uitgangsmateriaal (knoppen) de mate van kiemrust is vast te stellen.

### **4. Plan van aanpak**

Fytagoras heeft een apparaat ontwikkeld dat in staat is om zuurstof in een afgesloten ruimte, zoals een glazencontainer, van buiten af te meten. In de test worden een 7 tot 10 aardbeiplantjes waarvan bekend is dat ze dormant zijn en 7 tot 10 plantjes die niet dormant zijn worden gedurende een periode gescand op het hun zuurstof consumptie, waarbij ook dag/nacht cycli kunnen worden betrokken. Ook zal gekeken worden onder welke omgevingscondities het beste onderscheidend vermogen kan worden bereikt. Daarnaast zal deze test ook worden uitgevoerd op geïsoleerde groeipunten (knoppen) van de planten. Gekeken zal worden of er een correlatie te vinden is tussen zuurstof consumptie en mate van kiemrust.

Als alternatief kan in een CO<sub>2</sub> verrijkte en afgesloten omgeving de zuurstof productie worden gemeten bij testplantjes die onder een gelijk lichtniveau worden geplaatst. Gekeken wordt of er een correlatie kan worden gelegd tussen de aanwezigheid van dormantie en zuurstofproductie.

## 5. Resultaten

In het project zijn twee experimenten uitgevoerd. Een eerste experiment waarbij getoetst is welke praktische uitvoering het meest geschikt is voor zuurstofmetingen aan aardbeiplanten uitgangsmateriaal, en een experiment waarbij deze meest geschikte praktische uitvoering is gebruikt voor metingen aan dormante en niet-dormante planten.

### *Experiment 1.*

Doel van het experiment is te bepalen welke uitvoeringsvorm het meest geschikt is.

*Uitvoering van het experiment:*

Gebruikt plantmateriaal:

- Serie A: planten met potkluit (Sonata)
- Serie B: planten volle grond (Sonata WB22+)

Van elk werden de volgende monsters gemaakt voor O<sub>2</sub> meting. Voor elke manier van meten werden twee planten gebruikt.

A1, A2, B1 en B2: Totale plant met wortelkluit in een grote pot.

A3, A4, B3 en B4: Wortels verwijderd. Totale scheut in grote pot.

A5, A6, B5 en B6: Groeitop geïsoleerd in telpotje.

A7, A8, B7 en B8: Groeitop geïsoleerd, afgespoeld met 70% ethanol, gedroogd en daarna in telpotje.

Van elk werd het O<sub>2</sub> gehalte gemeten (met de Non-invasive Oxygen Determination meter), direct na het sluiten van de pot. Alle monsters werden overnacht bij 21°C in het donker geïncubeerd en de volgende ochtend nogmaals gemeten.



### Resultaten experiment 1:

monster	nummer	% O <sub>2</sub> start	% O <sub>2</sub> na overnacht	gewicht (gram)	delta O <sub>2</sub> (%)	delta O <sub>2</sub> (%)/gram
totale plant	A1	21,0	12,8	156,1	7,2	0,05
totale plant	A2	21,0	12,4	154,6	7,7	0,05
plant zonder wortels	A3	21,0	16,4	17,4	3,3	0,19
plant zonder wortels	A4	21,0	16,6	15,7	2,9	0,18
knop	A5	21,0	0,7	1,5	20,2	13,49
knop	A6	21,0	0,2	1,52	20,8	13,66
knop + alcohol	A7	21,0	13,2	1,32	5,3	4,04
knop + alcohol	A8	21,0	16,1	1,21	1,7	1,40
totale plant	B1	21,0	12,0	63,8	7,8	0,12
totale plant	B2	21,0	11,6	72,3	8,5	0,12
plant zonder wortels	B3	21,0	13,7	42,1	5,9	0,14
plant zonder wortels	B4	21,0	16,0	28,6	3,4	0,12
knop	B5	21,0	5,6	0,99	14,9	15,02
knop	B6	21,0	18,4	1,6	1,4	0,85
knop + alcohol	B7	21,0	11,2	1,66	7,7	4,62
knop + alcohol	B8	21,0	8,1	1,3	11,6	8,95

### Conclusies naar aanleiding van de resultaten van experiment 1.

Belangrijk voor de interpretatie is dat de experimenten met hele planten en knoppen in potten met verschillend volume zijn uitgevoerd terwijl de O<sub>2</sub> consumptie in % O<sub>2</sub> is uitgedrukt. Een zuurstof afname van 1% is in een groot volume een grotere hoeveelheid zuurstof (in mol) dan in een klein volume.

Uit de resultaten kunnen we concluderen dat de meetconditie voor de knoppen (klein potje, geïsoleerde knop) het grootste verschil in zuurstof concentratie geeft. Een behandeling met alcohol (sterilisatie om eventuele zuurstof consumerende micro-organismen te doden) geeft geen goed resultaat; de knoppen kleuren bruin.

De metingen aan de hele planten laten zien dat de invloed van de wortels op de meting beperkt is.

Omdat de meting met een geïsoleerde knop het beste resultaat geeft en bovendien het eenvoudigste uitvoerbaar is, is er voor gekozen het vervolg experiment aan geïsoleerde knoppen uit te voeren.

## Experiment 2.

Doel van het experiment is te bepalen of er verschil is in zuurstof consumptie tussen knoppen afkomstig van dormante en niet-dormante aardbeiplanten.

*Uitvoering van het experiment.*

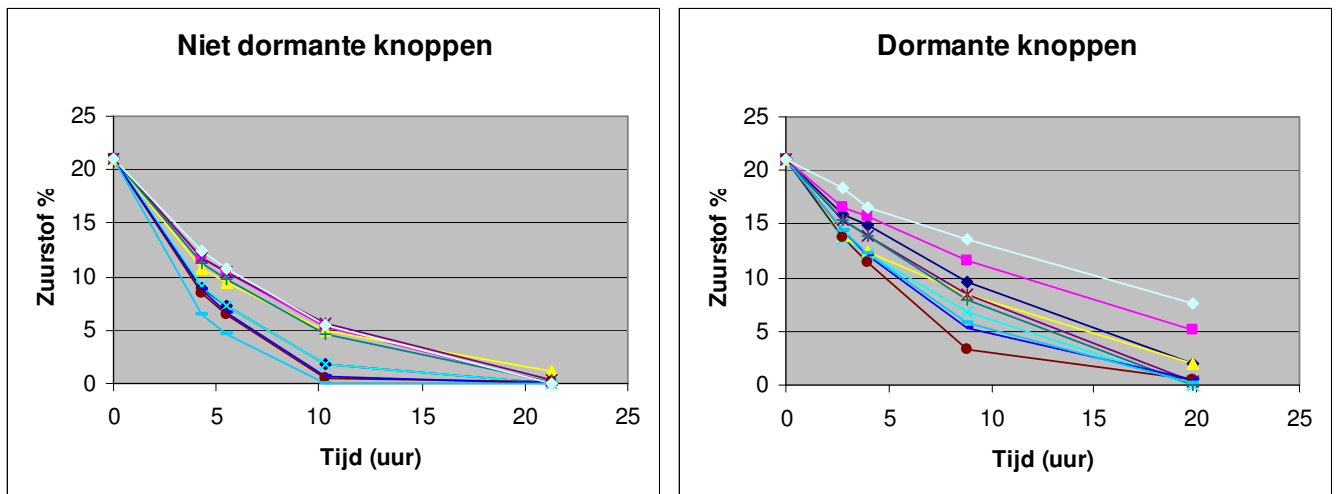
Gebruikte plantmateriaal:

- planten 1 t/m 10: planten met potkluit Tray 10, over de winter bewaard bij  $-1,5^{\circ}\text{C}$  (niet dormant)
- planten 11 t/m 20: planten uit de volle grond kas, over de winter bewaard bij  $2-5^{\circ}\text{C}$  (dormant).

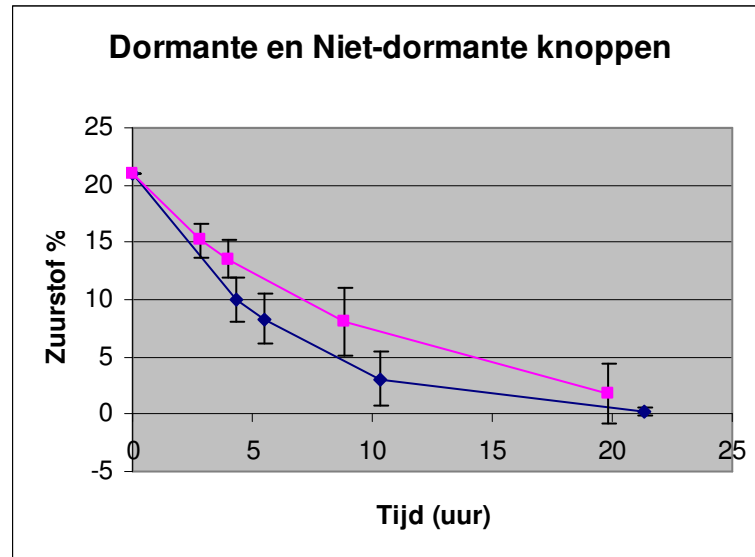
De planten zijn per post verstuurd vanuit Noord Brabant (en hebben meer dan een week op transport gestaan). Bij aankomst zagen de planten er nog goed uit.

Van alle planten werd een groeitop geïsoleerd en in een telpotje met zuurstof gevoelige coating gedaan. Eerst werd serie 1 t/m 10 geïsoleerd. De telpotjes werden gesloten en de  $\text{O}_2$  concentratie werd direct gemeten met de Non-invasive oxygen determination meter. Daarna werden ze in de incubator geplaatst bij  $21^{\circ}\text{C}$  in het donker. Vervolgens werden de groeitoppen van planten 11 t/m 20 op dezelfde wijze ingezet. Deze zijn daardoor 1,5 uur later gestart. Alle monsters zijn 's middags en 's avonds nog 3x gemeten en de volgende ochtend nogmaals.

*Resultaten experiment 2:*



**Figuur 4: Zuurstof consumptie (gemeten als afname van percentage zuurstof in een gesloten vial) van geïsoleerde knoppen van niet-dormante en dormante aardbeiplanten. Ieder lijn is afkomstig van het zuurstofverbruik van één individuele knop.**



***Figuur 5: Gemiddelde zuurstofconsumptie van knoppen geïsoleerd uit dormant (paarse lijn, vierkant) en niet-dormante (blauwe lijn, rond) aardbeiplanten. In de grafiek is ook de standaarddeviatie bij het gemiddelde aangegeven.***

***Conclusies naar aanleiding van de resultaten van experiment 1.***

De resultaten in de figuren 4 en 5 laten zien dat er een significant verschil in zuurstof consumptie tussen knoppen afkomstig van dormant en niet-dormante aardbeiplanten. In het gemiddelde is dit verschil al na 3 tot 5 uur duidelijk. De resultaten van de individuele knoppen (figuur 4) laten zien dat de knoppen van de niet-dormante planten meer homogeen zijn dan de knoppen van dormant planten. Dit suggereert dat de mate van dormantie bij deze planten variabel is.

## 6. Conclusies, discussie en aanbeveling

- De niet-invasieve zuurstof meetmethode is geschikt om op eenvoudige wijze zuurstof verbruik van aardbeiplanten uitgangsmateriaal, en met name geïsoleerde knoppen daarvan, te meten.
- Metingen aan geïsoleerde knoppen laten zien dat:
  - i. Knoppen van dormante planten te onderscheiden van knoppen van niet-dormante planten.
  - ii. Dit onderscheid in de gebruikte meetconfiguratie binnen 3-5 uur is te maken.
  - iii. De meetmethode de heterogeniteit van een partij kan laten zien.

De metingen kunnen nog verder worden geoptimaliseerd waardoor het onderscheidend vermogen nog groter kan worden en de meetduur bekort kan worden. Hiertoe zou het meetvolume nog verder terug gebracht moeten worden.

De gebruikte meetapparatuur behoeft weinig aanpassing om in de praktijk gebruikt te kunnen worden.

In een vervolgonderzoek dient:

- De meetcondities verder geoptimaliseerd te worden (nog groter onderscheidend vermogen, kortere meetduur) met betrekking tot bijvoorbeeld meetvolume, temperatuur, licht/donker).
- De relatie tussen de zuurstofverbruikcurve van de knoppen te worden en de daadwerkelijk uitgroei in de praktijk te worden bepaald.
- De relatie tussen de variatie in zuurstofverbruikcurve van de knoppen en de variatie in een plantpartij te worden bepaald.
- De grootte van de samples die een goed beeld geven van een plantpartij te worden bepaald.
- De methode te worden getest voor verschillende variëteiten.
- Op basis van deze resultaten uit het vervolg onderzoek een optimale apparatuur configuratie te worden bepaald.