

CENTRUM VOOR AGROBIOLOGISCH ONDERZOEK

Verslagen
nr. 4, 1976

Verslag van de conferentie van de Society for Experimental
Biology te Londen, 17-19 december 1975

door

C.R. Vonk

139510

<u>Inhoud</u>	<u>Blz.</u>
Abcissinezuur (ABA)	5
Cytokinenen	6
Floëemtransport	9
Nitraatreductase	10

De conferentie, georganiseerd door de Society for Experimental Biology, werd gehouden in Queen Mary College. Het aantal deelnemers van buiten Engeland was gering.

Hieronder volgt een samenvatting van voordrachten die zijn bijgewoond.

Abcissinezuur (ABA)

Onderzoek over de ABA-produktie door wortels en cotylen van de tomataplant heeft uitgewezen, dat beide plantedelen in staat zijn ABA te synthetiseren, vooral onder waterstress condities (twintigmaal meer dan controle). De gevonden activiteit is in de cotylen gelijk verdeeld over cis- en trans-ABA, terwijl de gevonden activiteit in de wortels in een gebonden vorm werd aangetroffen (waarschijnlijk als ester).
Miners, Phillips en Roddick (Exeter).

De kiemkracht van slazaad (Grand Rapids) is duidelijk afhankelijk van de temperatuur, maar varieerde voor zaden van verschillende herkomst (plaats van winning). De optimum temperatuur voor kieming kan variëren van 8 - 20 °C met een sterke afname van de kieming boven de 30 °C. Gebleken is dat er een sterke correlatie bestaat tussen de herkomst van het zaad en de endogene ABA-concentratie daarin. Nader onderzoek met ¹⁴C-ABA wees uit, dat bij verhoogde temperatuur ABA wordt omgezet in een nog niet nader geïdentificeerde component (53% van de totale activiteit bij 30 °C). Geconcludeerd werd dat morfologische verschillen en klimaatcondities waaronder het zaad werd gewonnen waarschijnlijk verantwoordelijk zijn voor de onregelmatige kieming. De vorm waarin ABA voorkomt, zou daarbij een rol spelen. Mengen van zaden van verschillende herkomst moet vermeden worden.

Robbertson en Berrie (Glasgow).

Een duidelijke overeenkomst werd gevonden tussen met ABA behandelde en aan waterstress onderworpen voorjaarstarwe. Zowel ABA-injecties (tweemaal per week 5µg/50µl) als waterstress (éénmaal per 4 weken) resulteerde in een microscopisch gelijk beeld: zwarte stippen in het blad. Deze konden worden toegeschreven aan versterkte haarinplantingen. De stomatale lengte (eye piece divisions) verschilt significant van die van onbehandelde planten.

Uit dit onderzoek werd de conclusie getrokken dat de waargenomen toename van ABA bij waterstress de toename van de beharing en de reductie van de stomatale lengte kan verklaren.

Uitwendig worden na waterstress of ABA-behandeling smallere bladeren waargenomen.

Aan een eventuele verhoging van proline na een gift van ABA of na waterstress werd geen aandacht geschonken. Garrie (Plant Breeding Institute, Cambridge).

Door toevoeging van verschillende hoeveelheden ABA (10^{-9} - 10^{-6} mol) aan een cultuurmedium van *Lemma minor* neemt het drooggewicht sterk toe. Bij een concentratie van 10^{-6} mol tot tienmaal. De vermeerdering van de zgn. fronds neemt door deze behandeling sterk af.

Een sterke $^{14}\text{CO}_2$ -fixatie kan worden waargenomen de eerste 24 uur na de gift van het ABA. Hierna vindt een afname plaats (tot 40%). Gebleken is dat de suikers (glucose, fructose en sucrose) en zetmeel sterk toenemen, zelfs meer dan uit de remming van de groei verwacht zou mogen worden. De chloroplasten blijken sterk gezwollen te zijn en na zes dagen bij de hoogste ABA-concentratie te barsten.

Mc Laren en Smith (Nottingham).

Cytokinenen

Door Hewett en Wareing werd gevonden dat na 5 minuten belichten met rood licht van het blad van *Populus robusta* een verhoogde cytokinineactiviteit van deze bladeren gevonden kan worden (Planta: 1973, 114, 119-129). Door Horgan werd via methanol-extractie, HPLC- en NMR-analyse vastgesteld, dat het hier de vorming van o-(hydroxy)-benzyladenosine betrof (Horgan et al., Tetrahedron Lett.: 1973, 30, 2827-2828). Verliezen tijdens de zuivering van dit in de orthoconfiguratie voorkomende cytokinine werden berekend uit de toegevoegde, synthetische paravorm (Thompson et al., Planta: 1975, 124, 207-210).

Bij nader onderzoek is gebleken dat de toename door rood licht ongedaan gemaakt kan worden door een behandeling met "ver rood". Verondersteld wordt dat deze cytokinevorming onder controle van het fytochroom staat.

Cytokinine, bepaald in het donker bij kamertemperatuur, neemt in de tijd af. Dit gebeurde niet indien het materiaal direct na de behandeling in vloeibare stikstof gebracht werd. Vermoed wordt dat o.i.v. rood licht een snelle enzymatische omzetting plaatsvindt.

Thompson en Wareing (Aberystwyth).

Bij *Xanthium* neemt het cytokinineniveau na een 16 uur durende donkerperiode sterk af in de bladeren, knoppen en het wortellexudaat. Als mogelijk oorzaak kan gedacht worden aan:

- a. reductie van de synthesesnelheid;
- b. toenemende degradatie en metabolische omzetting;
- c. omzetting naar minder actieve vormen;
- d. toenemende export naar andere delen van de plant;
- e. sterk afnemende import vanuit de wortels.

Hierbij kunnen de volgende opmerkingen gemaakt worden:

- ad a. Gebleken is dat de fotoperiode geen werking heeft op de afname van het totale cytokinineniveau in het blad van *Xanthium*, gesteld dat in het blad synthese plaats zou vinden.
- ad b/c Hiervoor konden geen aanwijzingen verkregen worden, maar de mogelijkheid dat de gevoeligheid van de bepalingmethode (Callus bio-test) te gering is om de verschillen aan te tonen mag niet worden uitgesloten.
- ad d. Er zijn aanwijzingen dat "ringen" van de stengel het cytokinineniveau constant houdt aangezien in dat geval geen afname gemeten kon worden. Een toename van het cytokinineniveau kon evenwel ook niet geconstateerd worden. Op grond hiervan werd een verminderde import vanuit de wortels aangenomen. De regulatie van het waargenomen afnemende cytokinineniveau in blad, knoppen en wortellexudaat na een 16 uur durende donkerperiode, zou via een bladsignaal kunnen gaan. Verondersteld wordt dat tijdens de donkerperiode een signaal vanuit het blad naar de wortel gaat en dat hierna het cytokinineniveau in het wortellexudaat en het blad daalt.

Hiervoor zijn echter geen aanwijzingen verkregen. Wareing en Henson (Aberystwyth).

Wortelknolletjes van *Lupinus*, *Alnus* en *Vicia faba*, blijken naast IAA en GA ook cytokininen te bevatten. Door Henson en Wheeler (Glasgow), wordt gewerkt aan de identificatie, het metabolisme, de mogelijke translocatie van cytokinine die vanuit de wortelknolletjes naar de waardplant gaan en vanuit de waardplant naar de knolletjes.

Cytokinineanalyse (Soybean callus test) van bloedingsap van planten (*Vicia faba*) met en zonder knolletjes leverde geen verschil aan cytokinine op. Wel bevatten de wortelknolletjes veel meer cytokininen dan welk ander deel van de plant ook.

Bij eenzelfde analyse bij *Alnus glutinosa*, waar de wortelgroei van de planten met knolletjes veel minder is dan van de planten zonder knolletjes, leverden de planten zonder knolletjes tweemaal zoveel cytokinineactiviteit op (als wordt afgezien van de hoeveelheid in de knolletjes) als de planten met knolletjes. Ook hier wordt in de knolletjes de hoogste activiteit gevonden (blad 64, wortel 176, knolletjes 903 eenheden).

Naast zeatine en zeatineriboside werd een onbekend cytokinine aangetroffen waarschijnlijk een glucoside. Vast staat dat het purinemolecuul niet op de 9-plaats geglucosideerd is. Het is opmerkelijk dat het glucoside wel in de knolletjes, maar niet in de rest van de plant voorkomt.

De verkregen resultaten wijzen op een produktie in de wortels van cytokininen, die vandaar uit naar de andere delen worden overgebracht.

Een duidelijke seizoeninvloed werd gevonden: een laag cytokinineniveau vanaf oktober tot januari, daarna een langzame toename tot maart, gevolgd door een sterke toename in de maanden april en mei. Deze seizoeninvloed komt het sterkst tot uiting in de wortelknolletjes. Gezien de andere vorm waarin de cytokinine in de knolletjes voorkomt, wordt het onwaarschijnlijk geacht dat cytokininetransport naar de knolletjes vanuit de waardplant plaatsvindt. Voor literatuur op dit gebied zij verwezen naar:

Alain, Rigaud en Barthe, *Physiol, Vegetable* 1974, 279 2029-2032 en Edwards en La Motte, *Plant Physiol.* 1975, 56 425-428.

Floëemtransport

In de zeefvaten van *Nymphoides peltata* worden onder de licht- en scanningelektronenmicroscop draden of snoeren waargenomen die lijken op de door o.a. Crafts en Thain waargenomen transcellulaire draden. "Freeze-etched" vaatbundels en secties verkregen door bevriezing van intact materiaal geven onder de transmissieelektronenmicroscop het beeld van bundels of filamenten te zien die niet zijn omgeven door een membraan.

Door Johnson, Barclay en Freundlich (Aberdeen) wordt, op grond van de structuur aangenomen, dat de draden losgescheurde stukken van de bundels of filamenten zijn die in intact functionerend weefsel niet voorkomen.

Vermoedelijk ontstaan deze draden wanneer van een onder druk staand systeem de druk (b.v. door afsnijden) wordt weggenomen (bernoulli-effect).

Zie voor deze draden of strengen (strands) ook: Phloem transport in plants: Crafts en Crips 1971, Freeman and Comp., San Fransisco.

Wanneer *Perilla frutescens* wordt aangezet tot bloei-inductie vinden opmerkelijke veranderingen plaats in het vaatbundelsysteem. De ontwikkelingssnelheid van nieuwe vaatbundelelementen neemt snel af. In het floëem wordt de verdeling van de zeefvaten, potentieel aanwezig voor de translocatie, speciaal beïnvloed.

Uit het microscopisch onderzoek kwamen de volgende punten duidelijk naar voren:

- a. Er vindt een snelle toename plaats in de afzetting van "definite callose" over de zeefplaat van de tot bloei aangezette plant;
- b. Er wordt een reductie in de grootte van de zeefvaten in het floëem van de bloeiende planten verkregen;
- c. De differentiatie van floëem en xyleem vanuit de cambiale zone neemt af;
- d. Waarschijnlijk is de cambiale activiteit tot nul gereduceerd voordat complete verandering plaatsvindt;
- e. De verhouding aantal zeefplaten/aantal zeefvaten is constant;
- f. De dwarsdoorsnede van de vaatbundels, beschikbaar voor de

translocatie van assimilaten vanuit de bladeren naar de wortels is in vegetatief plantmateriaal van *Perilla* drie-/viermaal groter dan in bloeiende planten.

Al-Hadithi en Woolhouse (Leeds University).

Nitraatreductase

Geëtiroleerde cotylen van zaailingen van de mosterdplant vertonen na continue belichting met ver rood en nitraatvoeding een snelle toename in nitraatreductase (bepaling nitrietvorming volgens sulfanilamide/N-1-naftyl-ethyleendiamine-HCl-methode).

De combinatie van ver rood licht en nitraat geeft een exponentiële toename van nitraatreductase te zien, bij nitraatvoeding alleen is dit niet het geval. Van het lichtspectrum blijken "rood" en "blauw" licht inactief te zijn.

Door cycloheximide ontstaat een remming op het reageren van de plant op nitraat (87%) en niet op het verre rood. Wordt Na_2WO_4 (1m mol) aan het groeimedium toegevoegd, dan vindt geen remming plaats, dit in tegenstelling tot de directe toevoeging vanaf het zaaien (95% remming).

Nitraat geeft een "lag-phase" in de activiteit van nitraatreductase, belichting met ver rood licht niet.

Gesuggereerd werd dat licht de activering van niet-actieve nitraatreductase veroorzaakt. Directe fytochroomwerking is niet aangetoond, hoewel dit wel werd gesuggereerd. De mogelijke verandering van membraanpermeabiliteit werd niet nagegaan. Johnson (Nottingham).

Zie in dit verband ook: Beevers et al., *Plant Physiol.* 1965, 40 691-698.

Uit een onderzoek naar de correlatie tussen korrelopbrengst en activiteit van nitraatreductase bij granen, gemeten aan een te velde staand gewas (latin square), werd aangetoond dat nitraatreductase afneemt naarmate de bladouderdom toeneemt.

De bepaling van nitraatreductase wordt gebruikt als methode om vooraf te voorspellen of een bepaald gewas tot hoge opbrengst zou kunnen komen, dit zou voor het veredelingsonderzoek belangrijk kunnen zijn.

Zie: Croy en Hageman, *Crops Science* 1970, 10, 280-285.

Boven aangehaald onderzoek gaat onder "Engelse" condities ook op.

De activiteit van nitraatreductase in de periode voor en na de spruitvorming is echter verschillend. De timing van de uit te voeren test en de ouderdom van het blad van de onderling te vergelijken planten is dus belangrijk. Een positieve correlatie werd gevonden tussen de totale opbrengst en een hoog nitraatreductasegehalte in een vroeg ontwikkelingsstadium van de plant.

De correlatie met totaal eiwit in de korrels bleek minder goed. Wittington, Johnson en Blackwood (Nottingham).

Zie ook: Jordan en Huffaker, *Physiol. Plant.*: 1972, 26, 296-301.

Bijwoning van deze conferentie was uitermate nuttig, omdat een indruk verkregen werd over het lopende onderzoek op het gebied van de plantehormonen.

Vorderingen op het gebied van de bepaling en de werking van cytokininen en de interpretatie van de verkregen resultaten, behoorden tot de speciale interesse.

De gesprekken met o.a. dr. Philips, drs. Thompson, prof. dr. Wareing en dr. Al-Hadithi over het eigen onderzoek (bloemknopverdroging bij iris en cytokininenonderzoek) zijn eveneens zeer nuttig geweest.