

# Tulpscheutjes in weefselkwe

Voor tulp is weefselkweekvermeerdering cruciaal. Nieuwe cultivars kunnen met weefselkweek veel sneller op de markt gebracht worden dan de huidige 20-25 jaar. Bovendien zijn bollen uit weefselkweek vitaler en robuuster. Commerciële weefselkweekvermeerdering is ondanks veel onderzoek niet van de grond gekomen. Nieuw onderzoek werpt een ander licht op dit probleem. Ondervoeding blijkt de bottleneck; ondervoeding niet omdat er te weinig voeding wordt toegediend maar omdat de plantjes te weinig naar de groeizones kunnen transporteren.

Tekst: Geert-Jan de Klerk, Harry Bos en Dewi Pramanik  
Fotografie: WUR

**D**e helft van het areaal bolgewassen wordt gebruikt voor tulp. De toekomst van tulp lijkt rooskleurig, maar er liggen grote problemen op de loer en het is zelfs niet denkbeeldig dat de tulpenteelt binnen enkele decennia zeer sterk zal krimpen. Een belangrijke oorzaak daarvan is dat het sortiment niet snel vernieuwd kan worden, omdat er geen goede methode is van snelle weefselkweekvermeerdering. Dit ondanks het vele onderzoek dat de afgelopen decennia is verricht.

## WEEFSELKWEK CRUCIAAL

Het eerste onderzoek werd in 1974 gepubliceerd door een Franse onderzoekster. Er is geleidelijk een standaardmethode ontwikkeld die misschien economisch levensvatbaar is bij een beperkt aantal cultivars. De standaardmethode start met 1 mm dikke stengelschijfjes die van zeer jonge bloemstelen worden gesneden. In weefselkweek vormen zich hierop scheutjes die weer in 1 mm schijfjes worden gesneden om opnieuw scheutjes te maken. Als er voldoende scheutjes zijn geproduceerd, worden ze aangezet tot bolvorming. Deze bolletjes kunnen in een gaaskas uitgeplant worden. Uit gezamenlijk onderzoek van Wageningen Universiteit en twee weefselkweekbedrijven bleek dat er twee grote obstakels zijn. In veel cultivars zijn stengelplakjes überhaupt niet in staat om voldoende scheutjes te regenereren. Verder groeien de scheutjes vaak erg slecht en worden ze na een aantal maal overzetten zo iel dat de schijfjes die er van gesneden worden niet levensvatbaar zijn. Normaliter probe-

ren weefselkwekers in zo'n geval met eendeloze veranderingen in voedingstoffen en hormonen betere groei te verkrijgen. Die route is de afgelopen veertig jaar vele malen bewandeld. Wij volgen een andere werkwijze. We proberen de oorzaak te identificeren om vervolgens op basis hiervan de weefselkweekprocedure aan te passen. We hebben ons beperkt tot het probleem van de slechte groei.

## VOEDSELTRANSPORT

Weefselkwekers vinden het vanzelfsprekend dat planten in weefselkweek snel groeien: de temperatuur is adequaat en water en nutriën-

ten zijn ruimschoots aanwezig. Bij nadere beschouwing blijft van het idee van weefselkweek als een soort 'plantenparadijs' niets over. Er zijn veel problemen die planten moeten tackelen om in weefselkweek te kunnen groeien. Daardoor ligt de groeisnelheid meestal onder die van planten buiten weefselkweek. De stressen van planten in weefselkweek zijn vaker opgesomd: (te) hoge concentraties plantenhormonen en nutriënten in het medium, het telkens opnieuw verwonden bij overzetten, zwakke verlichting en zeer hoge vochtigheid.

Waarschijnlijk is voor weefselkweekplantjes de grootste opgave om een nieuwe manier van inwendig transport op te zetten, onder andere voor voedingsstoffen die uit het medium naar de groeizones moeten worden gebracht. In de oorspronkelijke logistiek van planten gaan (1) anorganische voedingsstoffen via sapstromen in het xyleem van wortel naar bladeren en (2) suiker dat geproduceerd is in de fotosynthese van bladeren naar de groeizones via de sapstromen in het floëem (zie kader).

Het is in weefselkweek een probleem om suiker vanuit het medium naar de groeizones te transporteren omdat in het deel van het weefsel dat in contact is met het voedingsmedium suiker niet in het floëem kan worden geladen. Daarvoor is ander, gespecialiseerd floëem nodig. In dit artikel wordt niet op details ingegaan maar gaan we meteen naar onze hypothese die heel logisch is en onvermijdelijk lijkt (zie kader).

## Sapstromen in planten onder normale omstandigheden en in weefselkweek

Net als bij dieren is bij planten intern transport van levensbelang. Bij dieren transporteren bloedvaten zuurstof, voedingsstoffen en afvalproducten. Voor vloeistofstroom in de bloedvaten is een pomp nodig, het hart. Als het hart niet meer pompt gaat een dier onmiddellijk dood. In planten zijn er twee transportsystemen, xyleem en floëem. Die transporteren onder meer voedingsstoffen. Zonder adequaat transport in de vaatbundels kunnen ook planten niet leven. De 'pomp' voor de sapstroom in het xyleem is de verdamping door de bladeren. Sapstroom in het floëem is het gevolg van het in het floëem naar binnen transporteren van suiker door moleculaire pompen. De resulterende hoge osmotische waarde zorgt ervoor dat water wordt aangezogen en er een overdruk ontstaat zodat het water door het floëem uit de bladeren wegstroomt.

De sapstromen in xyleem en floëem worden sterk verminderd door de weefselkweekomstandigheden. De verdamping waardoor de sapstroom in het xyleem tot stand komt is slechts enkele procenten van de normale verdamping door de extreem hoge luchtvochtigheid. Fotosynthese die door suiker te produceren voor de sapstroom in het floëem zorgt is zeer laag. Hoe komt het dat plantjes toch in weefselkweek kunnen groeien? Onze hypothese is dat in plantjes die in weefselkweek groeien, suiker met het (kleine beetje!) verdampingswater in het xyleem vanuit het voedingsmedium naar de bladeren wordt getransporteerd, daar net als suiker uit de fotosynthese in het floëem gepompt wordt en vervolgens met de floëemstroom naar de plaatsen van groei gaat.

# ek blijken zwaar ondervoed

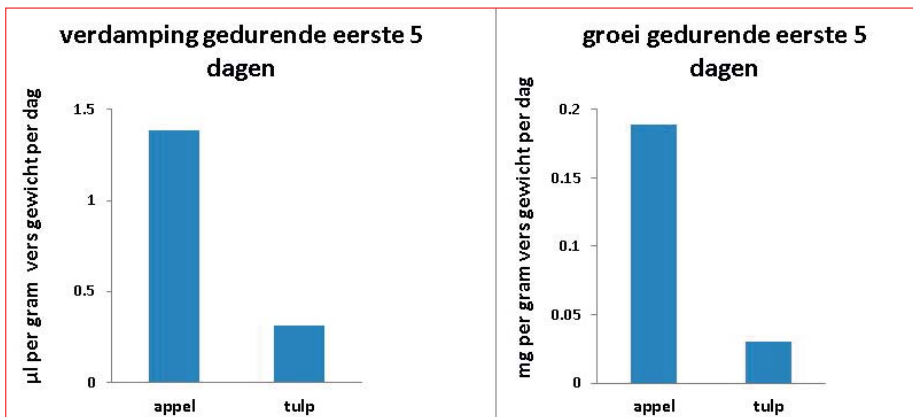


Foto 2. Huidmondjes van een tulpscheutje in weefselkweek. De huidmondjes zijn geheel gesloten

Figuur 1. Groei en verdamping van tulpscheuten en appelscheuten in weefselk-

De enige manier waarop voedingsstoffen uit het medium in een scheutje 'omhoog' kunnen gaan is mee 'liften' met het water dat door het xyleem omhoog gaat naar de bladeren en daar verdamppt wordt. De hoeveelheid water die verdamppt wordt is dus bepalend voor de groei: als er weinig verdamppt wordt, wordt er weinig voedsel getransporteerd en is er weinig groei. Dit transportprobleem is door weefselkwekers nooit onderkend. De meeste onderzoekers denken waarschijnlijk onbewust dat er door diffusie voldoende getransporteerd wordt. Volgens een van de klassieke wetten uit de fysische chemie, Fick's diffusiewet uit 1855, is diffusie voor langere afstanden (> 0.5 cm) echter volkomen ontoereikend voor transport.

## ZEER SLECHTE VERDAMPING

Om deze hypothese te onderzoeken bepaalden we groei en verdamping in tulpscheuten en appelscheuten. Appelscheuten groeien goed in weefselkweek. Verdamping van water door bladeren in weefselkweek is nog nooit gemeten. Daarvoor hebben we eerst een methode ontwikkeld. Geïnteresseerden kunnen een beschrijving van deze methode opvragen. Figuur 1 laat zien dat appel ongeveer zeven maal sneller groeit in weefselkweek dan tulp. Figuur 1 laat ook zien dat de verdamping in tulp veel minder is. Deze resultaten komen goed overeen met onze hypothese. Op basis van de hoeveelheid water die in de scheuten door verdamping naar boven is gezogen en de concentratie voedingsstoffen in dat water (die gelijk zal zijn aan de concentratie in het medium) kan je een schatting maken van de groei die zou moeten plaatsvinden. De schatting lag voor appel en voor tulp zeer dicht bij de gemeten waarde en bevestigt de hypothese: de hoeveelheid water die verdamppt wordt, bepaalt de hoeveelheid groei.

## SLECHTE VERDAMPING?

De zeer slechte verdamping van tulp heeft drie oorzaken:

1. De vorm van de scheuten is cilindrisch, wat een ongunstige oppervlakte-inhoud-verhouding is in vergelijking met platte bladeren. Planten uit de woestijn bijvoorbeeld hebben ook altijd een rondere vorm.
2. Tulpscheuten hebben een dikke waslaag waardoor verdamping direct door de huid vrijwel geheel verhinderd wordt. Bij blaadjes van weefselkweekplantjes van verschillende soorten is de hoeveelheid was ongeveer 0,02 mg/cm<sup>2</sup>, een waarde in dezelfde orde van grootte als bij bladeren buiten weefselkweek, en bij tulp 2 mg/cm<sup>2</sup>. De foto van tulpscheuten laat een witte was zien die verdwijnt als de was er af wordt gewassen met chloroform (foto 1). De dikke laag was heeft ongetwijfeld zijn oorsprong in het barre klimaat waarin tulp in de natuur groeit.
3. Tenslotte zijn de huidmondjes potdicht (foto 2) en zijn er maar weinig. Wij telden tien huidmondjes per mm<sup>2</sup>, normaal zijn dat er 100-300.

## OPLOSBAAR PROBLEEM

Er zijn twee oplossingsrichtingen voor de ondervoeding. De eerste is simpelweg om het transport van voedingsstoffen onafhankelijk van verdamping te maken. Dat kan door kweek in vloeibaar medium waarbij opname gebeurt door het hele oppervlak van het plantje. Om te voorkomen dat de plantjes verdrinken is de temporary immersion bioreactor (TIB) ontwikkeld, waarbij in een eb/vloedsysteem opname van voedingsstoffen door de hele huid wordt verkregen en tegelijk gasuitwisseling wordt gegarandeerd. Hierbij is wel adequate opname door de epidermis nodig, wat bij tulp verhinderd wordt door de dikke waslaag en de gesloten huidmondjes. Dit verklaart de slechte resultaten in onze oriënterende experimenten met TIBs maar deze problemen zijn waarschijnlijk makkelijk oplosbaar. Voor de tweede oplossingsrichting is het ook essentieel dat de doorlaatbaarheid van de epidermis vergroot wordt maar nu om verdamping door scheuten die op agar staan te verhogen. Hierdoor wordt de verdamping bevorderd en zullen er meer water en daarmee voedingsstoffen in de scheut omhoog gaan.



Foto 1. Links: voor spoelen in chloroform, rechts: na spoelen in chloroform