

A
3
5
74

PROEFSTATION VOOR DE GROENTEN- EN FRUITTEELT ONDER GLAS TE NAALDWIJK

Peroxidase activiteit en chlorose bij enkele gewassen

door: C. Sonneveld en
R.W.N. van Duivenboden

INHOUD

Pagina

Introductie.....	1.
Materialen en methoden.....	3.
Resultaten.....	4.
Conclusies.....	7.
Literatuur.....	9.
Bijlagen.....	11./12.

INTRODUCTIE

Bij verschillende gewassen die in de glastuinbouw worden geteeld kunnen chloroseverschijnselen optreden. Bij sommige gewassen is deze chlorose soms goed te determineren, zoals magnesiumgebrek bij tomaat. In andere gevallen is de oorzaak van de chlorose moeilijk vast te stellen. Dit wordt veroorzaakt door het feit dat de beelden van een tekort aan ijzer en mangaan veel gelijkenis met elkaar vertonen. Voorts kunnen bij het optreden van de chlorose ook andere factoren een rol spelen, zoals een hoog mangaangehalte, een hoog zinkgehalte, molybdeengebrek enz. Gewassen waarbij zich in de praktijk regelmatig chlorose voordoet zijn gerbera, roos, chrysant en alstroemeria; meer incidenteel wordt chlorose aangetroffen bij veel andere gewassen, waarvan tomaat en komkommer voorbeelden zijn. Soms is de oorzaak van een bepaald chlorosebeeld duidelijk te achterhalen. Een voorbeeld hiervan is mangaangebrek bij chrysant (Van der Hoeven en Sonneveld, 1972). Gewasanalyse geeft hierbij een duidelijke identificatie en gewasbspuiting met mangaansulfaat een duidelijke bestrijding van de chlorose. In de meeste gevallen ligt de identificatie echter niet zo gemakkelijk. Een voorbeeld hiervan is het optreden van chlorose bij gerbera. Analyse van een serie gewasmonsters die in de praktijk werden verzameld gaven in sommige gevallen lage gehalten aan mangaan of ijzer, maar deze gehalten vertoonden geen duidelijke samenhang met de chlorose die zich voordeed (Sonneveld en Voogt, 1974). In een proef die werd genomen op het Proefstation in verschillende gronden waar zich chlorose had voorgedaan bleek dat zowel mangaan als ijzer oorzaak van het optreden van chlorose bij gerbera konden zijn, zonder een duidelijk verschil in de symptomen van chlorose (Sonneveld en Voogt, 1977). Een extra handicap bij het vaststellen van de oorzaak van het optreden van chlorose is het feit dat de ijzerbepaling in het gewas gewoonlijk geen duidelijke indicatie geeft. In proeven met toediening van verschillende hoeveelheden ijzer werden soms duidelijke verschillen in chlorose gevonden. De oorzaak van de chlorose was dan duidelijk terug te voeren tot een tekort aan ijzer. Desondanks werden dan geen duidelijke verschillen in ijzergehalte gevonden. Dit deed zich bijvoorbeeld in eigen onderzoek voor bij gerbera (Voogt en Sonneveld, 1977), en bij het telen van komkommer in steenwol (Voogt, 1977). De gevonden verschillen in ijzergehalte van het blad waren in deze gevallen in het geheel niet aanwezig of te gering om de verschillen te verklaren.

De oorzaak van de moeilijkheden met de interpretatie van de gewas-analyseresultaten van ijzer is wellicht het feit dat veel ijzer in de plant inactief is. De geringe activiteit van ijzer in de plant bleek bij de analyse van perssappen van tomatenbladeren. Slechts ongeveer 6% van het in de plant aanwezige ijzer werd in het perssap teruggevonden. Voor zink en mangaan was dit respectievelijk 30% en 70%. (Sonneveld, 1978).

De moeilijkheden met interpretatie van de analyseresultaten van de ijzerbepaling in het blad doen zich niet alleen bij ons voor. Ook in de literatuur wordt hierover regelmatig gerapporteerd. Zie hierover onder andere Van Driel, 1965. Daartegenover staan een aantal vermeldingen in de literatuur waarbij wel degelijk verschillen in ijzergehalte worden gevonden bij verschillen in de ijzervoorziening van het gewas (Besford and Deen, 1977; Bar-Akiva, et al, 1967; O'Sullivan, et al, 1969 en Boxma, 1972). Toch geven de ijzergehalten van het blad vaak geen algemeen bruikbare indicatie voor het optreden van ijzergebrek. Mogelijk als gevolg van sterke wisselingen in de opname, zouden soms wel verschillen gemeten kunnen worden bij bemonsteringen onder gelijke omstandigheden en op hetzelfde moment, maar zouden deze niet als algemeen bruikbare waarden gehanteerd kunnen worden.

Teneinde in die gevallen dat de interpretatie van chlorose moeilijkheden geeft toch een uitspraak te kunnen doen over de oorzaak van de chlorose, wordt wel gebruik gemaakt van de peroxidase activiteit. Als gevolg van ijzergebrek kan namelijk de activiteit van bepaalde enzymen worden onderdrukt (Van Driel, 1965). Bij ijzergebrek is dit de activiteit van peroxidase (Bar-Akiva and Lavon, 1968; O'Sullivan et al, 1969). Als doel van de toepassing van de bepaling van de peroxidase activiteit worden genoemd het kunnen onderscheiden van ijzer- en mangaangebrek in geval de ijzerbepaling van het gewas daarin geen uitsluitsel geeft- en als tweede punt de snelheid van de bepaling. Een gewasanalyse op ijzer vraagt aanzienlijk meer tijd dan het bepalen van de peroxidase. De methode wordt dan gehanteerd als een quick-test (Bar-Akiva, et al, 1967).

Zoals reeds is vermeld, geeft in de glastuinbouw het onderscheiden van ijzer- en mangaangebrek vrij veel problemen. Om deze reden is een oriënterend onderzoek uitgevoerd naar de bruikbaarheid van de bepaling van de peroxidase activiteit. Het onderzoek werd uitgevoerd met materiaal uit proeven en met monsters die in de praktijk werden verzameld.

MATERIALEN EN METHODEN

De monsters zijn van de volgende objecten afkomstig.

1. Tomaat in voedingsfilm. Proef met ijzerchelaten eerste halfjaar 1978.
2. Tomaat in veensubstraat. Proef met ijzer- en mangaantoeiening 1978.
3. Gerbera van bedrijven in de praktijk. Verschillende bedrijven waar chlorose optrad.
4. Roos in veensubstraat. Proef met verschillende mangaan- en ijzer-trappen.

Naast de bepaling van de peroxidase activiteit werd in het stoof-droge materiaal en in het perssap van vers materiaal ijzer, en soms ook mangaan en zink bepaald. De bepalingsmethoden worden hieronder beschreven.

Peroxidase activiteit

Voor een uitvoerige beschrijving wordt verwezen naar Van Duivenboden en Van Dijk, 1978. Samengevat wordt de bepaling als volgt uitgevoerd. Vers plantmateriaal wordt met water gemengd in een verhouding 1:20 en geëxtraheerd. Onder invloed van het hierin aanwezige enzym peroxidase wordt pyrogallol geoxideerd met waterstofperoxide. Dit brengt een kleurverandering met zich, waarvan de intensiteit gedurende een bepaalde tijd wordt gemeten. Uit de hierbij gemeten extinctiewaarden worden peroxidase-activiteit units (PU) berekend als volgt:

$$PU_v = \frac{\Delta E \cdot 10^4}{\Delta T \cdot W}$$

waarin ΔE de verandering in extinctie is tussen de tijdstippen T_1 en T_2 en ΔT het tijdverschil in seconden tussen T_2 en T_1 en W het aantal mg vers materiaal dat in bewerking is genomen. PU_v is dan berekend op het verse materiaal. Indien PU wordt uitgedrukt op het droge materiaal wordt de formule:

$$PU_d = \frac{\Delta E \cdot 10^6}{\Delta T \cdot D \cdot W}$$

waarin D dan het droge-stofgehalte is van het verse materiaal in procenten.

Ijzerbepalingen in het gewas

De bepaling van ijzer in gedroogd gewas werd op de normale wijze uitgevoerd, zoals omschreven voor gewasanalyse door Van Dijk, 1976.

Voor bepaling van ijzer in het verse gewas werd dit materiaal eerst gedurende twee weken bewaard bij -35°C . Daarna ontdooid en uitgeperst bij een druk van 400 atm; zie Sonneveld, 1978. In het plantesap wordt het ijzer op de gebruikelijke wijze bepaald met behulp van atomaire absorptie.

RESULTATEN

De resultaten zullen per groep worden behandeld. Voor zover beschikbaar zullen de volgende gegevens worden besproken.

PU_v - peroxidase activiteit uitgedrukt op het verse materiaal

PU_d - idem, uitgedrukt op het droge materiaal

Fe_{pv} - het Fe-gehalte van het perssap, uitgedrukt op het perssap (mg.l^{-1}).

Fe_{pd} - idem, uitgedrukt op het droge materiaal (mg.kg^{-1}).

Fe_t - het totaal Fe-gehalte bepaald in en uitgedrukt op het droge materiaal (mg.kg^{-1}).

Tomaat voedingsfilm

De resultaten van het onderzoek van het tomatenblad uit de voedingsfilm zijn samengevat in tabel 1.

Monster	PU_v	PU_d	Fe_{pv}	Fe_{pd}	Fe_t
beh. 1 jong	0.78	4.6	2.9	14	94
oud	1.51	14.8	1.1	10	146
beh. 2 jong	0.97	6.1	1.3	7	95
oud	1.34	13.0	1.1	10	144
beh. 3 jong	0.98	5.8	-	-	89
oud	1.51	14.2	1.1	9	152
beh. 4 jong	1.17	7.4	-	-	84
oud	1.67	15.5	1.2	10	132
beh. 5 jong	1.24	8.2	-	-	98
oud	1.78	18.2	1.1	10	130

Tabel 1 Resultaten van de bepaling van peroxidase activiteit in ijzer in tomatenblad uit de proef in voedingsfilm.

In de proef werden verschillende ijzerchelaten vergeleken. In volgorde van behandeling waren dit EDTA - HEEDTA - DTPA - EDDHA en EDDHA-MA.

Tussen de behandelingen kwamen op het moment van bemonsteren weinig verschillen voor in chlorose. Het oude blad was wel -zoals vrijwel altijd het geval is bij tomaat- donkerder van kleur dan het jonge. Voor wat betreft de resultaten kan worden opgemerkt dat de peroxidase activiteit van het oude blad aanzienlijk hoger is dan van het jonge; hetzelfde geldt voor het totaal ijzergehalte. Voor wat betreft het perssap zijn niet voldoende waarnemingen aanwezig om een uitspraak hierover te doen. Voorts kan worden opgemerkt dat in het oude blad gemiddeld slechts 7% van het totaal ijzer in het perssap is teruggevonden.

Tomaat veensubstraat

Bij de tomaat in veensubstraat werden op hetzelfde moment als in de voedingsfilm een monster genomen van het oude en het jonge blad ter vergelijking met de resultaten van de tomaat in voedingsfilm. In tabel 2 zijn de resultaten opgenomen.

Monster	PU _v	PU _d	Fe _{pv}	Fe _{pd}	Fe _t
jong	0.90	5.2	1.2	6	99
oud	1.63	14.7	1.3	10	151

Tabel 2 Resultaten van de bepaling van peroxidase activiteiten ijzer in tomatenblad uit de veensubstraatproef.

In grote lijnen stemmen de resultaten overeen met deze verkregen uit de proef in voedingsfilm.

Gerbera praktijk

De resultaten van de bemonstering bij de gerbera zijn in tabel 3 opgenomen. In deze tabel zijn ook aantekeningen over de chlorose opgenomen. Voor informatie over de bedrijven wordt verwezen naar bijlage 1.

Omdat in het gerberablend naast ijzer ook mangaan en zink zijn bepaald en de resultaten hiervan niet elders worden opgenomen, zijn deze in bijlage 2 samengevat en bediscussieerd.

Monsters	PU _v	PU _d	Fe _{pv}	Fe _{pd}	Fe _t	chlorose
1. Petra	1.52	9.6	0.68	4	96	geen
2. Petra	1.30	9.0	-	-	100	matig
3. Romeo	0.80	5.6	0.80	5	101	geen
4. Petra	1.68	10.4	0.60	3	119	geen
5. Petra	2.32	15.5	0.53	3	93	sterk
6. Petra	0.80	5.3	0.54	3	90	geen
7. Petra	0.90	6.3	0.73	4	109	matig
8. Euza	0.64	5.6	0.50	4	142	geen
9. Veronica	0.78	5.5	0.68	4	104	geen
10. Veronica	0.82	6.7	0.78	6	111	vrij sterk
11. Romeo	0.46	3.3	0.72	4	108	geen
12. Romeo	0.68	4.8	0.40	2	77	matig

Tabel 3 De resultaten van de bepalingen van peroxidase activiteit en ijzer in gerberablاد.

Uit de resultaten zijn de volgende conclusies mogelijk. De verschillen in peroxidase activiteit zijn vrij groot, maar vertonen geen duidelijke samenhang met de chlorose. Indien van enige samenhang sprake zou zijn is dit een lagere PU bij gewas zonder chlorose, in die gevallen dat hetzelfde ras op hetzelfde bedrijf zowel met als zonder chlorose werd bemonsterd. In 4 van de 5 gevallen is de PU lager zonder chlorose. Dit zou dus niet wijzen op ijzergebrek in het gewas, omdat dan juist lagere waarden gevonden zouden moeten worden. Opvallend is het lage ijzergehalte in het perssap. Het totaal gehalte aan ijzer ligt op een vrij normaal niveau. Gemiddeld van het totaal aanwezige ijzer wordt in het blad nog geen 4% hiervan teruggevonden in het perssap.

Roos in veensubstraat

Het blad van de rozen was afkomstig uit een proef van Arnold Bik van het Proefstation te Aalsmeer. In deze proef werden de rozen geteeld in veensubstraat, bij verschillende mangaan en ijzerniveaus. De vier verschillende ijzerniveaus werden bemonsterd bij het middelste mangaanniveau, met uitzondering van de eerste ijzer trap die over de verschillende mangaanniveaus werd bemonsterd. Bij de eerste ijzertrap kwam namelijk zoveel chlorose voor dat bij één behandeling niet voldoende blad kon worden verkregen. In tabel 4 zijn de resultaten van de peroxidase bepaling opgenomen. De ijzerbepalingen zijn niet uitgevoerd, omdat daarvoor te weinig blad beschikbaar was.

Monster	PU v
Fe ₁	0.23
Fe ₂	0.12
Fe ₃	0.10
Fe ₄	0.12

Tabel 4 De peroxidase activiteit van rozenblad.

Bij Fe₁ was sterke ijzerchlorose aanwezig in het blad, zoals blijkt is de peroxidase activiteit juist hoger dan bij de andere monsters.

CONCLUSIES

In een onderzoek is de bruikbaarheid van de bepaling van peroxidase activiteit nagegaan als indicatie voor het optreden van ijzergebrek. Daarnaast is ijzer bepaald in het perssap van bladeren en is ook het totaal ijzergehalte van het blad bepaald.

Bij tomaatblad was de peroxidase activiteit in het oude blad belangrijk hoger dan in het jonge blad. Bij gerbera werden in het algemeen lagere waarden gevonden dan bij tomaat. Duidelijke samenhang met de chlorose werd niet gevonden. Bij roos werden zeer lage waarden gevonden. Het bladmonster met ijzergebrek gaf een hogere waarde voor de peroxidase activiteit in plaats van de juist te verwachten lagere waarden.

In het algemeen kan dus worden gesteld dat de uitkomsten van de peroxidase bepaling nog geen duidelijke aanwijzingen hebben gegeven over de oorzaak van het optreden van chlorose. Dit zou een gevolg kunnen zijn van het feit dat de chlorose in de onderzochte monsters niet werkelijk door ijzergebrek zou zijn veroorzaakt. Daarom lijkt het wenselijk nog een wat meer materiaal uit proeven te onderzoeken, waarvan met zekerheid bekend is dat ijzergebrek de oorzaak van de chlorose is. Mogelijk zal dergelijk materiaal in 1979 beschikbaar zijn. Overigens werd bij de roos ook geen juiste uitkomst verkregen, terwijl het wel zeker was dat de oorzaak van de chlorose in die monsters veroorzaakt werd door ijzergebrek.

Voor wat betreft de ijzerbepalingen in het blad moet worden gezegd dat ook deze geen duidelijke aanwijzingen in de richting van ijzergebrek hebben gegeven. In het perssap werd slechts een gering percentage van het totaal in het blad aanwezige ijzer gevonden.

Voor wat betreft het totaal ijzer moet een voorbehoud worden gemaakt voor de betrouwbaarheid van de cijfers. Juist onlangs werd aangetoond dat het spoelen van het gewas alvorens het wordt gedroogd grote invloed heeft op de uitkomst van deze bepaling. In dit onderzoek werd het gewas nog niet gespoeld. Ook dit kan een verklaring zijn voor het feit dat de gevonden verschillen vaak niet in overeenstemming waren met de verwachtingen.

LITERATUUR

Van der Hoeven, B. en C. Sonneveld, 1972. Mangaangebreek bij chrysanten. Vakblad voor de Bloemisterij, 27, no 39, 9.

Sonneveld, C. en S.J. Voogt, 1974. De chemische samenstelling van gerberabladd. Intern verslag Proefstation Naaldwijk, no 669, 1974.

Sonneveld, C. en S.J. Voogt, 1977. De mangaan en ijzeropname bij gerbera. Intern verslag Proefstation Naaldwijk, no 29, 1977.

Voogt, S.J. en C. Sonneveld, 1977. De opname van zink, ijzer en mangaan door gerbera geteeld in veensubstraat. Intern verslag Proefstation Naaldwijk, no 17, 1977.

Voogt, S.J., 1977. Onderzoek naar de ijzervoorziening van komkommers geteeld in steenwol. Intern verslag Proefstation Naaldwijk no 42, 1977.

Sonneveld, C. 1978. Vergelijking van Fe-DTPA en Fe-EDDHA, als ijzermeststof voor tomaten geteeld in voedingsfilm. Intern verslag Proefstation Naaldwijk, no 11, 1978.

Driel, W. van , 1965. Biochemische aspecten van de bestrijding van ijzergebreek in de plant. Landbouwk. Tijdschr. 77, 823 - 834.

Besford, R.T. and J.L.W. Deen, 1977. Peroxidase activity as an indicator of the iron status of conifers *Scientia Horticulturae*, 7, 161-169.

Bar-Akiva, A., M. Kaplan and R. Lavon, 1967. The use of a biochemical indicator for diagnosing micronutrient deficiencies of grapefruit trees under field conditions. *Agrochimica*, 11, 283-289.

O'Sullivan, M., M.J. Flynn and F.J. Codd, 1969. A biochemical method for diagnosing micronutrient deficiencies in plants. *Ir. J. agric. Res.* 8, 111-119.

Boxma, R., 1972. Bicarbonate as the most important factor in lime-induced chlorosis in the Netherlands. *Plant and Soil*, 37, 233-243.

Duivenbode, R.W.N. van en P.A. van Dijk, 1979. De bepaling van de peroxidase activiteit, Intern verslag Proefstation Naaldwijk, 1979, no

Dijk, P.A. van, 1976. Analysemethoden voor gewasonderzoek.
Proefstation Naaldwijk.

Bijlage 1

Gewasmonsters gerbera

- bedrijf A K. de Bloois, Grote Achterweg, Naaldwijk.
Algemeen goede stand van gewas. In Petra wat chlorose.
- bedrijf B Groenewegen, Burg. Elsenweg, Naaldwijk.
Veel chlorose in Petra.
- bedrijf C Holsteyn, Noordhoornseweg, Den Hoorn.
Algemeen goede stand. Petra wat chlorose.
- bedrijf D Van de Salm, Molenstraat, Pijnacker.
Veronica zwaar in chlorose; Romeo plekken.

<u>Monsternr.</u>	<u>Bedrijf</u>	<u>Ras</u>	<u>Chlorose</u>
1	A	Petra	geen
2	A	Petra	matig
3	A	Romeo	geen
4	B	Petra	geen
5	B	Petra	sterk
6	C	Petra	geen
7	C	Petra	matig
8	C	Erza	geen
9	D	Veronica	geen
10	D	Veronica	vrij sterk
11	D	Romeo	geen
12	D	Romeo	matig

Gerbera Mn en Zn onderzoek

De resultaten van de zink en de mangaanbepaling zijn in onderstaande tabel samengevat.

Monsternr.	m a n g a a n			z i n k		
	Mn _{pv}	Mn _{pd}	Mn _t	Zn _{pv}	Zn _{pd}	Mn _t
1	8.2	44	109	3.9	21	95
2	-	-	100	-	-	114
3	6.9	42	110	4.3	26	77
4	5.6	29	129	3.9	20	119
5	4.0	22	84	4.8	27	152
6	10.4	59	100	3.7	21	118
7	71.3	427	987	5.0	30	162
8	9.5	73	127	4.3	33	129
9	6.7	40	116	6.0	36	114
10	7.5	54	113	4.9	36	96
11	4.6	29	77	2.8	18	68
12	3.0	18	57	3.3	20	77

Uit de tabel blijkt dat in alle monsters het mangaan- en het zinkniveau redelijk is. Bij monster 7 wordt een zeer hoog mangaangehalte gevonden. Doorgaans wordt slechts een gedeelte van het mangaan en zink in het perssap teruggevonden. Voor mangaan is dit 40% en voor zink 25%. Deze zelfde tendens is teruggevonden in tomatenblad (Sonneveld, 1978).