



Verbetering acclimatisatie geënt uitgangsmateriaal

Inventarisatie van stress bij enten van glasgroenten met MIPS en vermindering uitval tijdens acclimatisatie door Graft Promotors

Jan Snel, Luc Stevens, Rob van der Schoor, Evert Davelaar, Paul Dijkhuis, Henk Jalink en Wim van der Krieken





Verbetering acclimatisatie geënt uitgangsmateriaal

Inventarisatie van stress bij enten van glasgroenten met MIPS en vermindering uitval tijdens acclimatisatie door Graft Promotors

Jan Snel, Luc Stevens, Rob van der Schoor, Evert Davelaar, Paul Dijkhuis, Henk Jalink en Wim van der Krieken¹

¹ Ceradis B.V., Postbus 376, 6700 AJ Wageningen

© 2010 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO)

Alle intellectuele eigendomsrechten en auteursrechten op de inhoud van dit document behoren uitsluitend toe aan de Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO). Elke openbaarmaking, reproductie, verspreiding en/of ongeoorloofd gebruik van de informatie beschreven in dit document is niet toegestaan zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van DLO.

Voor nadere informatie gelieve contact op te nemen met: DLO in het bijzonder onderzoeksinstituut Plant Research International, Business Unit Bioscience

DLO is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Exemplaren van dit rapport kunnen bij de (eerste) auteur worden besteld. Bij toezending wordt een factuur toegevoegd; de kosten (incl. verzend- en administratiekosten) bedragen € 50 per exemplaar.

De groenten- en fruitsector investeert in dit project via het  Productschap Tuinbouw

Plant Research International, onderdeel van Wageningen UR Business Unit Bioscience

Adres : Postbus 619, 6700 AP Wageningen
: Wageningen Campus, Droevendaalsesteeg 1, Wageningen
Tel. : 0317 – 48 04 90
Fax : 0317 – 41 80 94
E-mail : info.pri@wur.nl
Internet : www.pri.wur.nl

Inhoudsopgave

	pagina
Samenvatting	1
1. Inleiding	3
1.1. Probleemstelling	3
1.2. Doelstelling	3
1.3. Fysiologische achtergrond	3
1.4. Aanpak	4
2. Inventarisatie stresstolerantie met MIPS	5
2.1 Doelstelling	5
2.2 Resultaten	5
2.2.1 Protocolontwikkeling	5
2.2.2 Praktijktest MIPS-cabinet bij plantenwekerij Van der Lugt	7
2.2.3 Inventarisatie stresstolerantie bij plantenwekerij Vreugdenhil	9
2.3 Conclusies inventarisatie stresstolerantie met MIPS	12
3. Verbetering stresstolerantie enten met Graft Promotors	13
3.1 Doelstelling	13
3.2 Resultaten	13
3.2.1 Ontwikkeling tracers voor monitoren entvergroeiing	13
3.2.2 Graft Promotors voor verhoging stresstolerantie enten	14
3.3 Conclusies tracers en Graft Promotors	20
4. Haalbaarheidsstudie Graft Promotors	21
4.1 Doelstelling	21
4.2 Ringtoets	21
4.2.1 Opzet	21
4.2.2 Resultaten	21
4.3 Conclusies	22
Bijlage I. Handleiding Ringtoets	5 pp.

Samenvatting

Voor het verkrijgen van hoogwaardig uitgangsmateriaal in de glasgroenten blijft enten een belangrijk proces. Bij belangrijke gewassen als tomaat, komkommer en paprika liggen er nog mogelijkheden om het rendement van het entproces te verbeteren, met name bij de acclimatisatie van enten aan de condities in de kas liggen bottlenecks. In het onderzoek is gekeken naar stress tijdens acclimatisatiefase en naar het optimaliseren van de acclimatisatie via conditionering.

Inventarisatie stresstolerantie

Om de stress tijdens de acclimatisatiefase in kaart te brengen heeft Plant Research International met de MIPS sensor praktijkmetingen verricht aan komkommer, tomaat en aubergine. Het bleek dat tijdens de eerste dagen van de acclimatisatie de efficiëntie van de fotosynthese in de loop van de dag sterk afnam. Aan het eind van de acclimatisatie nam de stress af en konden de planten gedurende een groot deel van de dag een hoge efficiëntie van de fotosynthese handhaven. In twee experimenten met tomaat werd extra stress aangebracht door al op dag 2 voorzichtig te beluchten (experiment 1) of door de tomaten te enten zonder lobben (experiment 2). Deze planten gaven veel stress te zien, maar de planten herstelden toch nagenoeg allemaal. Uit de meting van de efficiëntie van de fotosynthese in het begin van de acclimatisatiefase kon dus niet voorspeld kan worden of de ent later gaat uitvallen.

Conditionering met Graft Promotors

Om de uitval van enten te voorkomen is onderzoek gedaan naar toepassing van Graft Promotors (GP's). GP's zijn low risk profile stoffen die een goede vergroeiing van de ent garanderen. Onder condities waarin er sprake is van significante uitval door stress kunnen deze middelen het entpercentage verhogen. In het onderzoek zijn de volgende formuleringen getest op komkommer: IBA, Ca-LS en AA. In de proeven zijn de middelen in verschillende concentraties toegepast onder standaardcondities (controle) en onder condities met minder vocht (stress) op onder- of bovenstam. De meest optimale effecten traden op bij toepassing op de onderstam 1 dag voor het enten. De komkommerenten werden bij alle drie de middelen minder gevoelig voor stress door een lage luchtvochtigheid. Bij toepassing op de onderstam traden geen fytotoxische effecten op.

In een volgend experiment is gekeken of de middelen ook bij andere gewassen effect sorteren. Daartoe is één van de middelen (AA) toegepast op tomaat en aubergine en de moeilijke onderstam Harry. Bij aubergine was er sprake van een duidelijke verbetering in kwaliteit tijdens de acclimatisatiefase. Ook bij de combinatie Bombo/Harry was de ent beter bestand tegen de stress. Alleen bij tomaat waren er geen positieve effecten van AA omdat ook onder stress er geen noemenswaardige uitval optrad.

Haalbaarheidsstudie Graft Promotors

Om te toetsen of de middelen ook onder praktijkcondities tot economisch interessante resultaten leiden, is een ringtoets opgezet. Deze ringtoets is door negen plantenkwekers onder normale bedrijfscondities op tomaat uitgevoerd met de middelen AA en LS. Bij omstandigheden met een entuitval van 2% bleek het middel LS de uitval te halveren tot 1%. Het middel AA had geen significant effect op de uitval van enten. Zoals verwacht vertoonden zowel AA als LS geen significant effect bij uitvalpercentages lager dan 1%.

De resultaten bieden goede perspectieven om het middel verder te ontwikkelen voor risicobeheersing bij productie van uitgangsmateriaal via enten. Hiervoor is enerzijds verder onderzoek nodig naar optimalisatie van formulering, toediening en andere toepassingen en anderzijds moet er een economische analyse gemaakt worden van de ontwikkelingskosten.

1. Inleiding

1.1. Probleemstelling

In veel gewassen, bv. komkommer, tomaat, aubergine en courgette, wordt het uitgangsmateriaal verkregen door enten van een bovenstam op een onderstam om zo een gewenste eigenschap (bv. hogere productie, smaak, ziekteresistentie) te verkrijgen. De entprocedure is een ingrijpende gebeurtenis. Pas na heling van de wond komt het transport tussen onder- en bovenstam weer op gang. Dit trage herstel zorgt er voor dat de ent een tijd lang niet of slecht groeit en uiterst gevoelig is voor stress. Gedurende deze periode is een speciale conditionering vereist om de onder- en bovenstam goed aan elkaar te laten groeien. Bij sommige (veelbelovende) onderstammen lukt dat maar moeizaam. Ook voor de meer gebruikte combinaties geldt dat in de zomer nog steeds kans is op flinke uitval door overmatige stress na het terugplaatsen in de kas. Door betere entconditionering en acclimatisering aan de condities in de kas kan de uitval beperkt blijven.

In dit project zullen met MIPS nieuwe procedures ontwikkeld worden voor het conditioneren en acclimatiseren van enten op basis van de mogelijkheden die natuurlijke plant elicitors, groeiregulators, nutriënten en klimaatfactoren (licht, temperatuur, RV) bieden. Factoren die een rol kunnen spelen tijdens de entvergroeiing zijn: nutriëntenbalans, licht, temperatuur, beïnvloeding wondvergroeiing door elicitors en plantengroeiregulators. Uit onderzoek is gebleken dat vooral elicitors en groeiregulators het vergroeiingsproces kunnen verbeteren. Met MIPS kunnen de effecten van conditionering en acclimatisering op groei, stress en stressgevoeligheid van de enten in de kas voor het eerst nauwkeurig en snel gemeten worden. Op deze wijze kan een flink aantal conditionering/acclimatisering combinaties in relatief korte tijd geanalyseerd worden. Uit deze combinaties zal een aantal geselecteerd worden voor evaluatie en validatie onder praktijkcondities.

1.2 Doelstelling

Het project is opgedeeld in 3 fasen met elk een eigen doelstelling.

1. Verkrijgen kennis over optreden van stressfactoren en stressresponsen die betrokken zijn bij uitval van enten onder praktijkcondities.
2. Ontwikkelen van optimale conditionerings- en acclimatisatieprotocollen op basis van onderzoek naar de stresstolerantie van enten t.a.v. licht- en droogtestress.
3. Beoordelen haalbaarheid van de ontwikkelde kennis en methoden ten behoeve van productontwikkeling.

1.3 Fysiologische achtergrond

De enttechniek bestaat al heel lang, 1000 jaar voor Christus werden in China al combinatieplanten gemaakt. Vreemd genoeg is er tot nu toe weinig fundamenteel onderzoek aan entvergroeiing uitgevoerd. Bij enten moeten de vaatbundels, het parenchymweefsel en de epidermis met elkaar vergroeien. Vooral de snelle vergroeiing van de vaatbundels is van groot belang (gaat dit niet snel genoeg dan sterft de bovenstam af).

Direct na het entproces zijn de verbindingen tussen de vaatbundels in onder- en bovenstam verbroken en is er tijdelijk geen waterstroom en geen sapstroom mogelijk. Om nu te voorkomen dat de bovenstam van de plant door uitdroging en lichtstress verloren gaat wordt de plant vertroeteld in een omgeving met hoge luchtvochtigheid en lage lichtintensiteit. Nadat de vaatbundels zijn vergroeid kan de water- en sapstroom weer op gang komen. De combinatieplant wordt via één of meer tussenstappen aan het klimaat in de kas blootgesteld. In deze belangrijke fase redden een aantal planten het niet. Een belangrijke rol in de regulatie van de waterbalans van de plant is weggelegd voor de huidmondjes. Pas als de waterstroom goed op gang gekomen is kunnen de huidmondjes open gezet worden om CO₂ binnen te laten zonder dat de plant verdroogt. Het opgang komen van fotosynthese en transpiratie is dus een belangrijke indicator voor een succesvolle entvergroeiing.

Met de komst van nieuwe, niet-destructieve en snelle sensoren is het sinds kort mogelijk om fotosynthese en transpiratie in de kas te meten. Met Multiple Imaging of Plant Stress (MIPS) wordt met behulp van chlorofyl fluorescentie de fotosynthese van een gehele plant in kaart gebracht. Met een thermische camera kan de temperatuur van een plant in beeld gebracht worden. De temperatuur van een plant wordt grotendeels bepaald door de omgevingstemperatuur, de stralingsbalans en de transpiratie. Als de transpiratie slecht verloopt, zal de temperatuur van de plant oplopen. Een lage temperatuur van de plant is dus een goede indicator voor een goede transpiratie (en vice versa). Met de MIPS kunnen zowel fotosynthese als thermische beelden van een plant gemaakt worden. De figuur rechts geeft een voorbeeld van een thermische opname van een ficus. De jonge bladeren, waar de transpiratie nog niet goed op gang gekomen is, zij duidelijk herkenbaar door hun hogere temperatuur. Op deze wijze is het nu voor het eerst mogelijk om aan individuele enten te meten of, en in welke mate, ze stress ondervinden bij het herstellen na het entproces.

Op Plant Research International zijn de processen betrokken bij verwonding (afgesneden onder- en bovenstam) in detail bestudeerd. Bij verwonding gaan celcompartimenten stuk waarin zich enzymen bevinden (cellulase, pectinase, peroxidase, lipoxygenase, fosfolipase) die celstructuren afbreken. Als deze enzymen vrijkomen dan wordt de celwand en de celmembraan in de omgeving van de wond afgebroken. Bij dit afbraakproces komen kleine moleculen vrij, de zogenaamde elicitors (spelen o.a. een rol spelen bij plant verdediging tegen micro-organismen). Deze elicitors zijn onderzocht op hun effect op entvergroeiing. Het bleek dat door toepassing van elicitors bij recalcitrante onderstam-bovenstam combinaties van roos het slagingspercentage van succesvolle entcombinaties strek toenam (verdubbelde) en dat het aantal vaatbundels dat per tijdseenheid vergroeide ook meer dan verdubbelde. Toediening van een natuurlijke groeiregulator waarvan bekend is dat deze een rol speelt bij vaatbundeldifferentiatie (auxine) stimuleerde ook entvergroeiing.

Binnen Plant Research International is ook een methode ontwikkeld om transport door vaatbundels van planten te kunnen visualiseren. Fluorescerende stoffen (tracers) worden hierbij aan een afgesneden plantenstengel gegeven. Het watertransport door de vaatbundels naar de bladeren kan gevolgd worden door de tracermoleculen te exciteren met licht van een bepaalde golflengte. Deze methode kan in principe ook gebruikt worden om nauwkeurig de mate van vergroeiing van de vaatbundels te bepalen.

In dit project willen we nagaan of de resultaten behaald bij roos ook gebruikt kunnen worden om entvergroeiing te bestuderen en verbeteren in vruchtgroenten die opgekweekt worden onder licht en droogte stress.

1.4. Aanpak

Het onderzoek is opgesplitst in drie afzonderlijke fasen.

- Fase 1 is gericht op het meten van de activiteit van de planten en op het in kaart brengen van de stress ten gevolge van het entproces.
- Fase 2 is gericht op het verbeteren van de stressbestendigheid van de ent door middel van plantversterkers.
- Fase 3 is een haalbaarheidsstudie om na te gaan of de resultaten aanleiding geven tot verdere ontwikkeling tot breed inzetbare middelen c.q. producten.

Omdat het om nieuwe technologieën en middelen gaat die nog niet in de praktijk zijn uitgetest is er aan het eind van elke fase een go-nogo moment waarop door de onderzoekers samen met de gewasgroep Glasgroenten bekeken of de volgende onderzoeksfase wel zinvol is.

2. Inventarisatie stresstolerantie met MIPS

2.1 Doelstelling

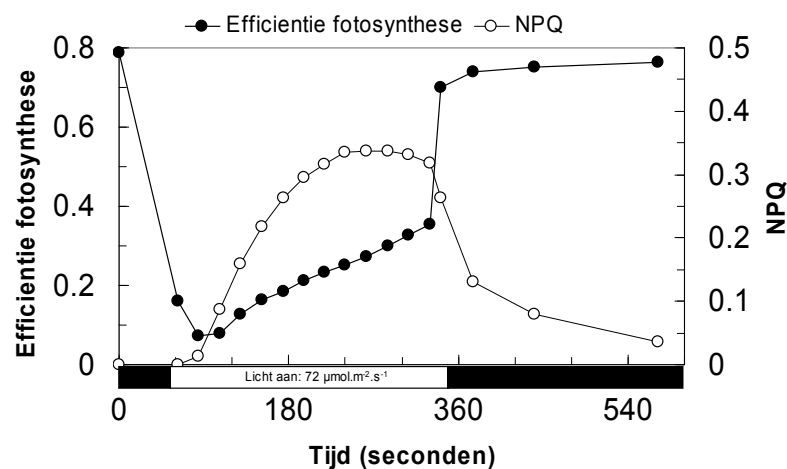
Bij een aantal plantenkwekers zijn goede entfaciliteiten met over het algemeen weinig uitval bij de gangbare rassen. 's Zomers echter is ook met deze faciliteiten het uitvalpercentage hoger. Er is een duidelijke behoefte aan inzicht in de relatie tussen stress en uitval door hoog licht in de zomer. Met de MIPS-cabinet kan op locatie bij plantenkwekers gemeten worden. Met deze apparatuur zal de stress en stresstolerantie bij enten in situ geïnventariseerd worden.

2.2 Resultaten

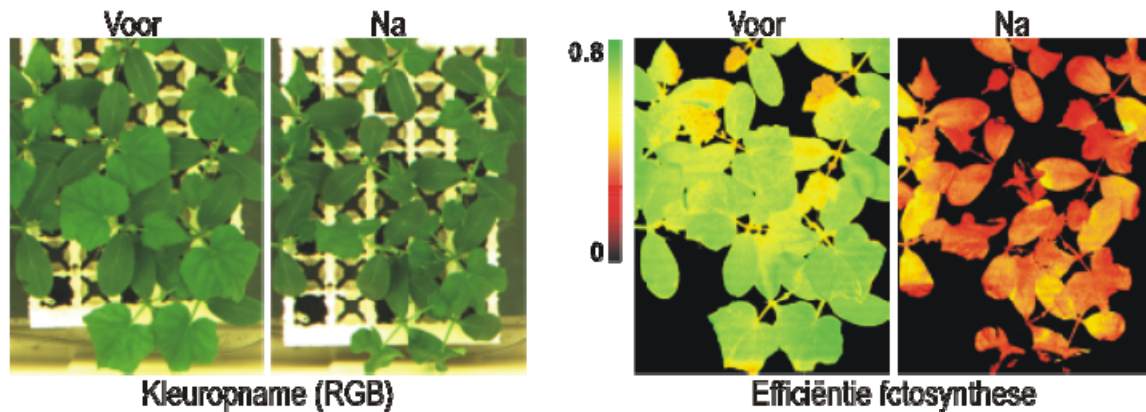
2.2.1 Protocolontwikkeling

Voor het bepalen van lichtstress bij planten zijn twee fluorescentieparameters van belang: i) efficiëntie fotosynthese en ii) de onschuldige omzetting van schadelijke lichtenergie in warmte (aangeduid met NPQ). Door lichtenergie om te zetten in warmte kan de plant de vorming van schadelijke zuurstofvormen voorkomen en zich zodoende beschermen tegen te veel licht. Deze omzetting van lichtenergie in warmte zorgt voor een lagere efficiëntie van de fotosynthese. De MIPS kan deze efficiëntie van de fotosynthese meten, zij het alleen in het donker. Dat is geen bezwaar, want het proces dat verantwoordelijk is voor deze omzetting komt traag op gang en gaat nog even door na belichting. Door de planten snel vanuit de tray in de MIPS te plaatsen en te meten kan toch gemeten worden in hoeverre de planten zich kunnen beschermen tegen lichtstress. Er is een protocol ontwikkeld om deze meting toe te kunnen passen op grotere aantallen enten in een tray.

Eerst is met de Junior-PAM bestudeerd hoe groot de NPQ is en hoe lang het proces door blijft gaan na overzetten van de plant in het donker. Figuur 2.1 laat zien dat de NPQ (open symbolen) maximaal is ca. 3 minuten nadat het licht aangegaan is. Na uitgaan van het licht neemt de NPQ af, maar ook 3 minuten na het uitgaan van het licht nog duidelijk meetbaar. In dit experiment is ook de efficiëntie van de fotosynthese gemeten (gesloten symbolen). In het donker in het begin is de efficiëntie hoog (ca. 0.8). In het licht neemt de efficiëntie eerst snel af en herstelt zich daarna enigszins. Als het licht uitgaat, neemt de efficiëntie snel toe, maar het herstel is niet volledig. Dat komt door de NPQ. Met andere woorden: het herstel van de efficiëntie van de fotosynthese duurt ook meer dan 3 minuten.

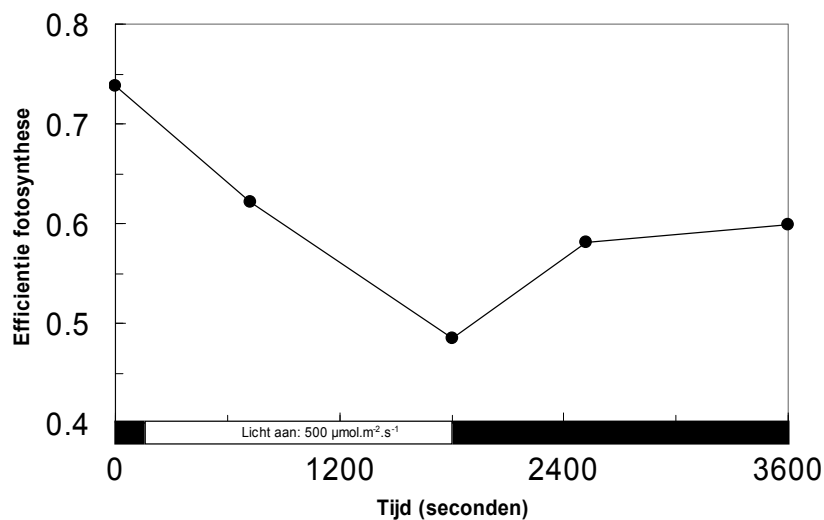


Figuur 2.1. Typisch tijdsverloop van de efficiëntie van de fotosynthese en de niet-fotochemische doving (NPQ) van een geënte komkommer. De meting is gedaan op dag 5 na het enten.



Figuur 2.2. Effect van belichting op de efficiëntie van de fotosynthese van komkommerenten gemeten met de MIPS in het donker. Tussen de twee MIPS opnames is de tray met 12 enten gedurende 30 minuten belicht met ca. $500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ PAR. Tussen de belichting en de start van de MIPS meting zit een tijd van ca. 30 sec.

Vervolgens is uitgezocht of dit inderdaad met de MIPS te meten is onder condities zoals die bij een plantenkweker te verwachten zijn. Figuur 2.2 laat het effect van een 10 minuten durende belichting zien. Aan het kleurenbeeld is te zien dat een aantal planten verwelkt is en slap hangt. Er is een groot effect van belichting op de efficiëntie van de fotosynthese. Door de belichting daalt de gemiddelde efficiëntie van de tray 0.745 naar 0.491.



Figuur 2.3. Verloop van de efficiëntie van de fotosynthese van een tray met 12 enten tijdens en na een belichting van 30 minuten met een lichtintensiteit van $500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (PAR).

Er is ook een tijdsreeks gemaakt waarin nagegaan is hoe lang de effecten van de belichting nog meetbaar zijn met de MIPS. Figuur 2.3 laat zien dat ook na 30 minuten donker de komkommerplanten nog niet hersteld zijn en nog steeds een lagere efficiëntie van de fotosynthese hebben dan voor de belichting.

Op basis van deze metingen is besloten tot een meetprotocol waarin de tray met enten 3 minuten belicht wordt met $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (PAR). Daarna wordt de tray snel in de MIPS-cabinet geplaatst en de meting gestart op 30 s na het eind van de belichting. Deze procedure neemt ca. 5 minuten in beslag zodat er 12 trays van 12 planten per uur gemeten kunnen worden, d.w.z. 144 enten per uur.

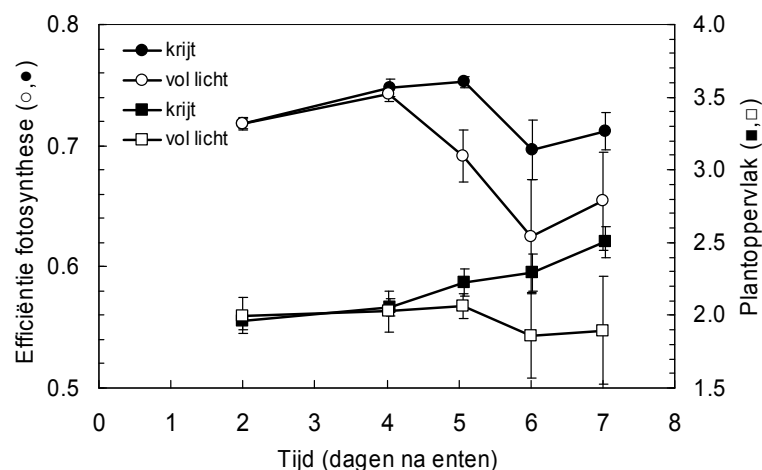
2.2.2 Praktijktest MIPS-cabinet bij plantenkwekerij Van der Lugt

De MIPS-cabinet is naar Van der Lugt verhuisd om de apparatuur en de protocollen uit te testen. De meetopstelling werd vlak bij de te gebruiken mistkamers opgesteld in een niet-gebruikte mistkamer. Op deze manier kunnen de trays met enten snel en zonder veel stress van hun normale plek naar de MIPS vervoerd worden.



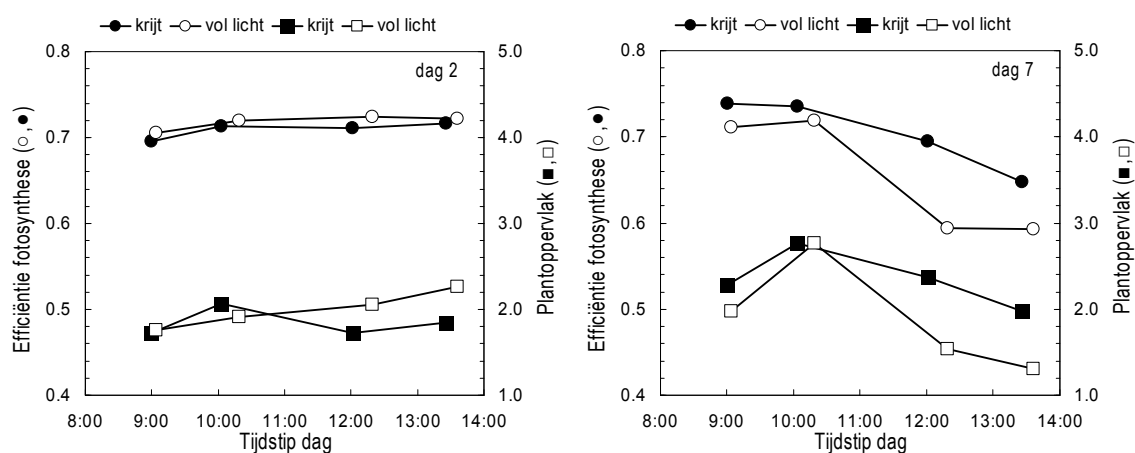
De mistkamer bij Van der Lugt (links) waar de MIPS-Cabinet en de LED belichtingsunit zijn opgesteld (rechts).

De praktijktest is uitgevoerd met komkommer, tomaat en aubergine. Controle trays die dezelfde behandeling hebben ondergaan met uitzondering van de MIPS meting, laten eenzelfde percentage uitval zien als de trays die wel met MIPS gemeten zijn. Dat betekent dat de MIPS-meting zelf heeft geen effect op de entkwaliteit. Wel blijkt dat het verplaatsen van de trays voor flink meer uitval zorgt.



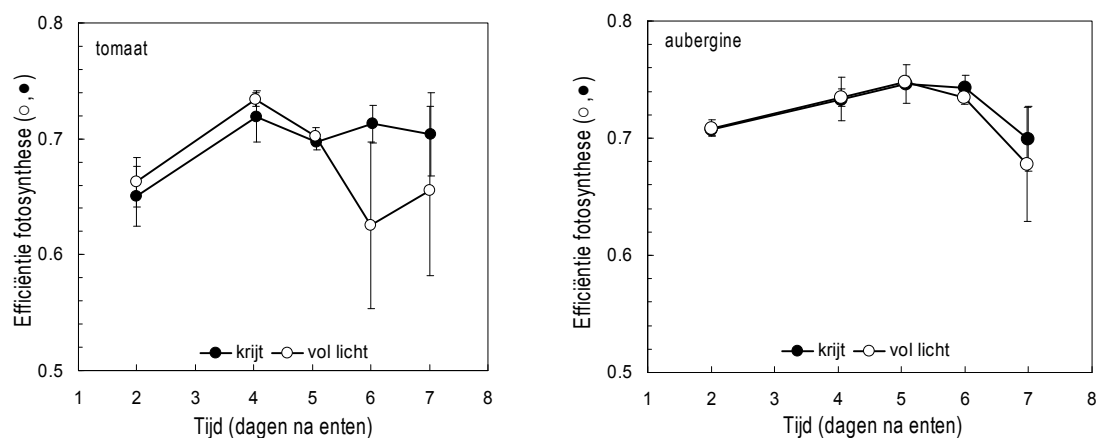
Figuur 2.4. Tijdsverloop van efficiëntie fotosynthese en geprojecteerd plantoppervlak van komkommerplanten zoals gemeten met de MIPS-Cabinet. De data zijn het gemiddelde van 4 trays met ieder 12 enten.

De efficiëntie van de fotosynthese en het geprojecteerde plantoppervlak zijn dagelijks per tray gemeten vanaf dag 2. Figuur 2.4 laat zien dat in de fase dat de enten nog in de mistkamer staan (dag 0 t/m dag 4) de efficiëntie van de fotosynthese toeneemt maar het oppervlak niet. Vanaf het moment dat de enten geacclimatiseerd worden in de kas neemt de efficiëntie af. Bij de planten onder krijt begint ook de meteen groei. Bij de planten onder vol licht is de afname van de efficiëntie van de fotosynthese veel sterker en neemt het geprojecteerd oppervlak af. Dat wordt veroorzaakt door verwelking. De variatie in het begin (dag 2 en 4) is klein, maar tijdens de acclimatisatie in de kas (dag 5-7) neemt de variatie sterk toe, het sterkst bij de planten onder vol licht. Dat wordt deels veroorzaakt doordat bij stress de individuele verschillen tussen planten groter worden, deels ook door het feit dat de metingen over een groot deel van de dag verspreid zijn en de planten gedurende de dag steeds meer stress (verwelking en verlaging efficiëntie fotosynthese) vertonen (zie Figuur 2.5).



Figuur 2.5. Verloop van de efficiëntie van de fotosynthese en het geprojecteerde plantoppervlak van komkommerplanten tijdens de dag. Elk meetpunt geeft het resultaat weer van een meting van 1 tray met 12 planten.

Voor tomaat en aubergine levert het meetprotocol kwalitatief vergelijkbare resultaten. Figuur 2.6 laat zien dat er bij tomaat onder vol licht meer stress (lage efficiëntie fotosynthese) optreedt dan bij aubergine.



Figuur 2.6. Verloop van de efficiëntie van de fotosynthese van geënte tomaten (links) en aubergines (rechts) tijdens de acclimatisatieperiode. Elk meetpunt is het gemiddelde van 4 (tomaat) of 2 (aubergine) trays met 12 planten.

Conclusies

- Het ontwikkelde meetprotocol voor de MIPS-cabinet werkt op een plantenkwekerij.
- De MIPS-meting heeft geen nadelig effect op de kwaliteit van geënte komkommer.
- De capaciteit bedraagt maximaal 144 planten per uur bij 12 planten per tray.
- De MIPS- meting geeft inzicht in het optreden van stress
 - tijdens de acclimatisatie van enten
 - tijdens de dag
- Krijten verlaagt de stress tijdens acclimatisatie.

2.2.3 Inventarisatie stresstolerantie bij plantenkwekerij Vreugdenhil

Door een lichte vertraging bij de uitvoering en de verhuizing van plantenkwekerij Van der Lugt is het experiment voortgezet bij plantenkwekerij Vreugdenhil met tomaat. Er zijn twee experimenten uitgevoerd waarbij onderzocht is of de MIPS in staat is om de uitval van enten ten gevolge van stress te meten. Hiervoor is in een apart kascompartiment op een tafel een proefopstelling met 9 tunnels gebouwd, ieder met een capaciteit van 5 trays met 12 enten. De MIPS-cabinet werd vlak bij deze opstelling in een gezamenlijke tent geplaatst om stress ten gevolge van licht, uitdroging en transport zoveel mogelijk te vermijden (zie Figuur 2.7).

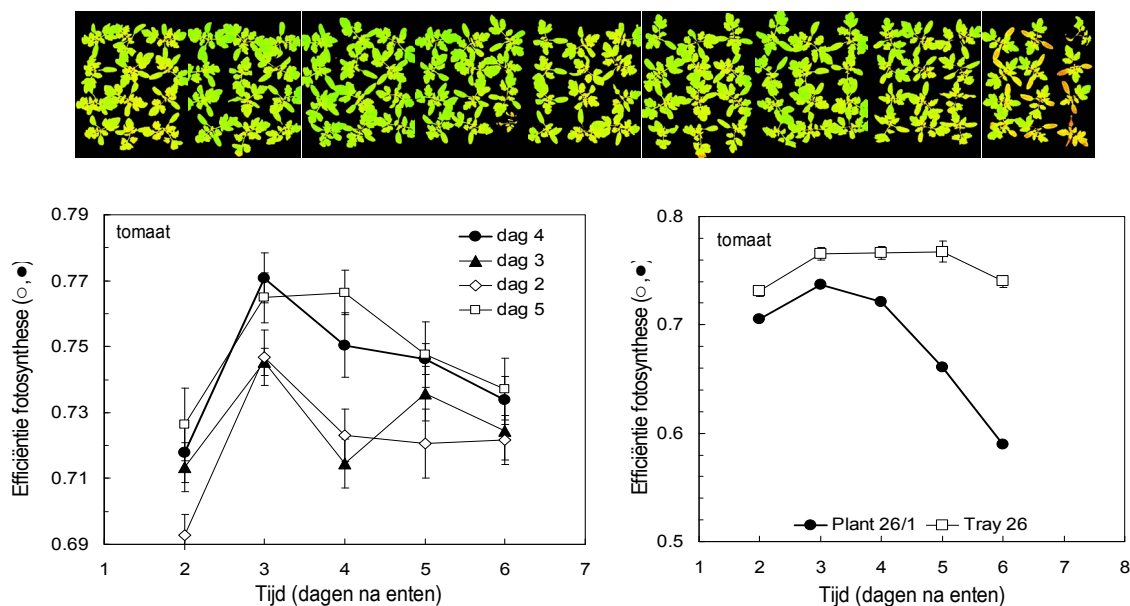


Figuur 2.7. Proefopstelling bij plantenkwekerij Vreugdenhil. Foto links: 11 tunnels op plantentafel. Foto midden: tunnel met 5 trays tomaten. Foto rechts: MIPS-Cabinet naast de plantentafel met tunnels.

Experiment I. Stress bij tomaat door vervroegde beluchting.

In dit experiment zijn de enten onder extra stress geacclimatiseerd in aparte tunnels. Er zijn 4 stressniveaus aangelegd door het tijdstip van de eerste beluchting te variëren: dag 2, dag 3, dag 4 en dag 5. Per behandeling zijn 4 trays van 12 planten gebruikt. Figuur 2.8 laat de resultaten van de MIPS metingen zien.

Het is duidelijk dat alle planten op dag 2 last hebben van stress; de efficiëntie van de fotosynthese was het laagst bij de planten die al op dag 2 belucht zijn. De planten die op dag 2 en 3 voor het eerst belucht zijn hebben meer stress (lagere efficiëntie fotosynthese) dan de planten die op dag 4 of dag 5 voor het eerst belucht zijn. Aan het eind zijn de waarden nagenoeg gelijk. Van de 550 planten die geënt zijn is er slechts één (positie 1 in tray 26) die als slecht beoordeeld werd (entpercentage >99.5%). Deze plant had vanaf het begin van de metingen (dag 2) een lagere efficiëntie van de fotosynthese dan de rest van de enten in dezelfde tray (Figuur 2.8, rechts). Vanaf dag 3 neemt vooral van deze slechte ent de efficiëntie van de fotosynthese sterk af.



Figuur 2.8. Resultaten experiment I. Foto's boven: 'false color' beelden van de efficiëntie van de fotosynthese gemaakt met de MIPS op dag 4. Het meest rechtse beeld is van de planten die op dag 2 belicht zijn. Grafiek onder: tijdsverloop van de efficiëntie van de fotosynthese van tomaat (Cedrico/Maxifort) gedurende de acclimatisatie in de proefopstelling. De datapunten zijn het gemiddelde $\pm$ standaardfout van de 5 tray's per behandeling. Op dag 5 werd bij alle behandelingen de plastic afscherming van de tunnels verwijderd.

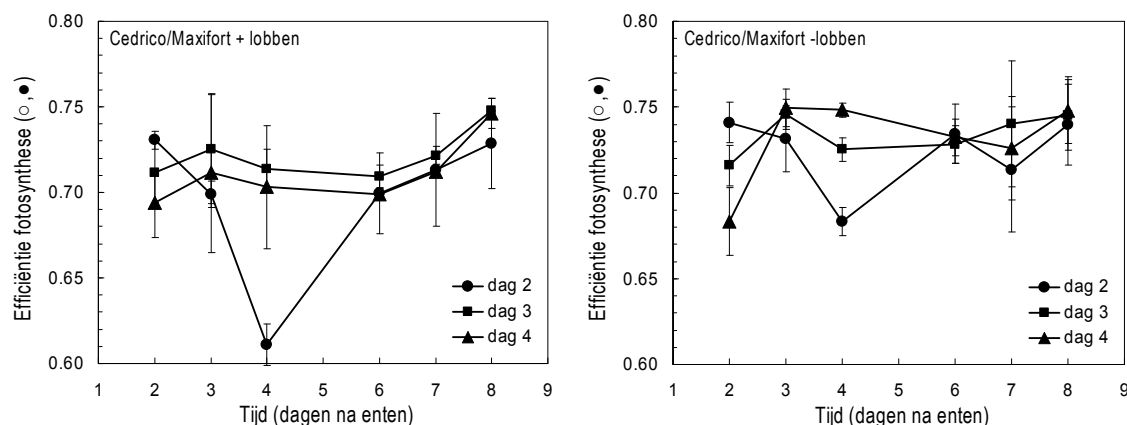
Conclusies

De vroege beluchting leidt tot extra stress die zichtbaar is met de MIPS. De enten hebben zich in dit geval goed kunnen aanpassen waardoor deze extra stress niet voor kwaliteitsverlies en extra uitval gezorgd heeft.

Experiment II. Stress door vervroegde beluchting bij tomaat met en zonder lobben.

In een tweede experiment met dezelfde opzet is nog meer stress aangelegd door een deel van de planten te enten zonder lobben. Hierdoor zouden de enten meer gevoelig zijn voor stress en kan er een betere relatie gelegd worden tussen stress tijdens de acclimatisatie en de kwaliteit op het moment van oppotten. Er zijn drie behandelingen toegepast: start beluchting op dagen 2, 3 en 4. Voor elke behandeling werden 10 trays planten met lobben en 5 trays met planten zonder lobben gebruikt.

Figuur 2.9 laat de MIPS resultaten zien. De planten met lobben die op dag 2 voor het eerst gelucht zijn vertonen op dag 4 de meeste stress. De planten geënt zonder lobben hebben op dag 4 een significant hogere efficiëntie van de fotosynthese dan de planten die met lobben geënt zijn. Dat betekent dat de planten met lobben meer stress ondervinden dan de planten zonder lobben. Dat wordt bevestigd door de beoordeling van de planten voor het oppotten (zie Tabel 2.1). Daaruit blijkt dat de afwezigheid van lobben in dit experiment positief uitwerkt op de kwaliteit van de planten en tot minder uitval (onverkoopbare planten) leidt.



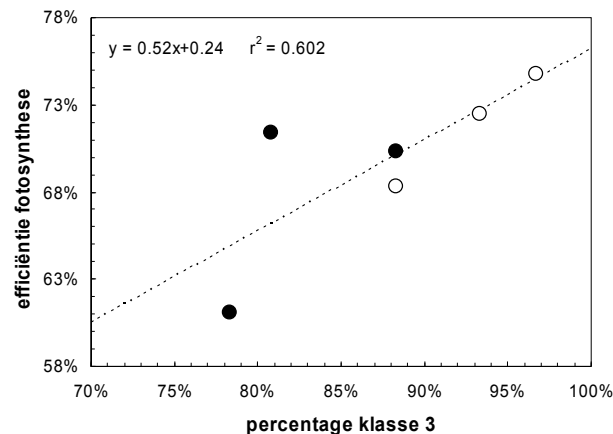
Figuur 2.9. Experiment II: tijdsverloop van de efficiëntie van de fotosynthese van geënte tomaten (Cedrico/Maxifort) die op dag 2, dag 3 resp. dag 4 voor het eerst belucht zijn.

Tabel 2.1. Resultaten van de beoordeling van de kwaliteit van de geënte tomatenplanten vlak voor het moment van oppotten. De beoordeling is uitgevoerd door een medewerker van plantenkwekerij Vreugdenhil. De getallen geven gemiddelde en standaardafwijking (s.e.m.) van het aantal planten in een klasse als percentage van het totaal aantal planten. Voor deze analyse zijn de gegevens gebruikt van alle drie acclimatiebehandelingen.

Entprocedure:	met lobben		zonder lobben	
Klasse	Gemiddelde	s.e.m.	Gemiddelde	s.e.m.
0= Zeer slechte of dode plant	2.2 %	1.1 %	1.7 %	1.2 %
1= Levend maar onder de maat	5.0 %	2.4 %	0.0 %	0.0 %
2= Matige kwaliteit	10.3 %	1.7 %	5.6 %	1.8 %
3= Ok	82.5 %	2.2 %	92.8 %	3.0 %

Voor een tray met planten blijkt er wel een relatie te bestaan tussen de gemeten efficiëntie van de fotosynthese op dag met de meeste stress (dag 4) en het aantal planten in de hoogste kwaliteitscategorie (Figuur 2.10).

Figuur 2.10 laat zien dat de efficiëntie van de fotosynthese 60% van de verschillen in plantkwaliteit kan verklaren ($r^2=0.6$). Dat is niet voldoende om op basis van de efficiëntie van de fotosynthese op dag 4 al te voorspellen wat de kwaliteit van de plant bij het oppotten zal zijn.



Figuur 2.10. Correlatie tussen percentage planten in de hoogste kwaliteit en gemiddelde efficiëntie van de fotosynthese op dag 4. De data zijn van de tomaten uit Figuur 2.9 met en zonder lobben waarvan de beluchting op dag 2, 3 of 4 gestart is. De planten met lobben zijn met donkere symbolen aangegeven; de planten zonder lobben met dichte symbolen.

2.3 Conclusies inventarisatie stresstolerantie met MIPS

- De MIPS-meting heeft geen nadelig effect op de kwaliteit van geënte komkommer.
- De capaciteit bedraagt maximaal 144 planten per uur bij 12 planten per tray.
- De MIPS- meting geeft inzicht in het optreden van stress tijdens de acclimatisatie van enten.
- Er is bij tomaat een correlatie tussen de efficiëntie van de fotosynthese op dag 4 en kwaliteit geënte plant.
- MIPS-meting aan individuele planten heeft geen voorspellende waarde voor kwaliteit geënte tomaat.

3. Verbetering stresstolerantie enten met Graft Promotors

3.1 Doelstelling

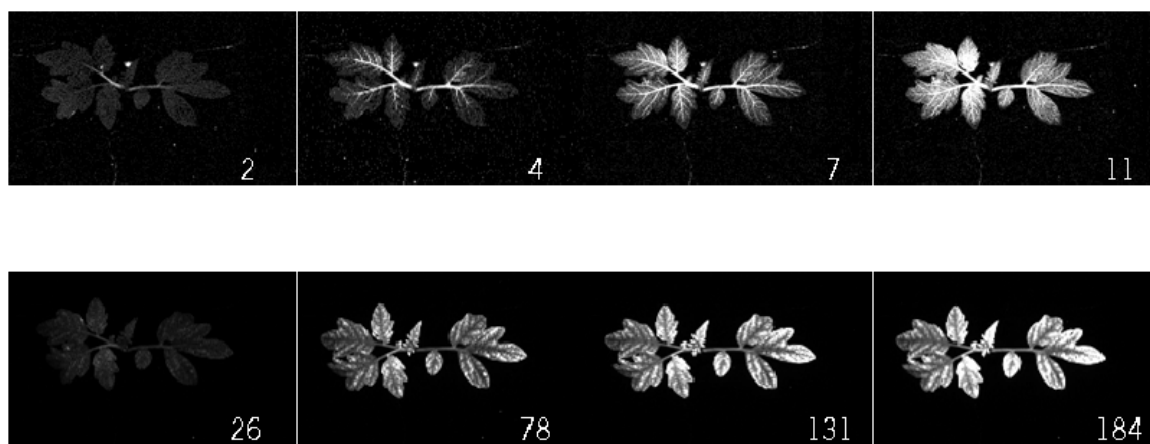
Vergroeiing van onder- en bovenstam is een traag proces en zorgt er voor dat de ent een tijd lang niet of slecht groeit en uiterst gevoelig is voor stress. Bij sommige (veelbelovende) onderstammen is het slagingspercentage laag waardoor grote verliezen geleden worden. Ook voor de meer gebruikte combinaties geldt dat in de zomer nog steeds kans is op flinke uitval door overmatige stress na het terugplaatsen in de kas.

Het doel van Fase 2 is het ontwikkelen van optimale conditionerings- en acclimatisatieprotocollen en het toepassen van natuurlijke stoffen om de entvergroeiing te verbeteren bij recalcitrante onder- en bovenstam combinaties en bij licht- en droogtestress.

3.2 Resultaten

3.2.1 Ontwikkeling tracers voor monitoren entvergroeiing

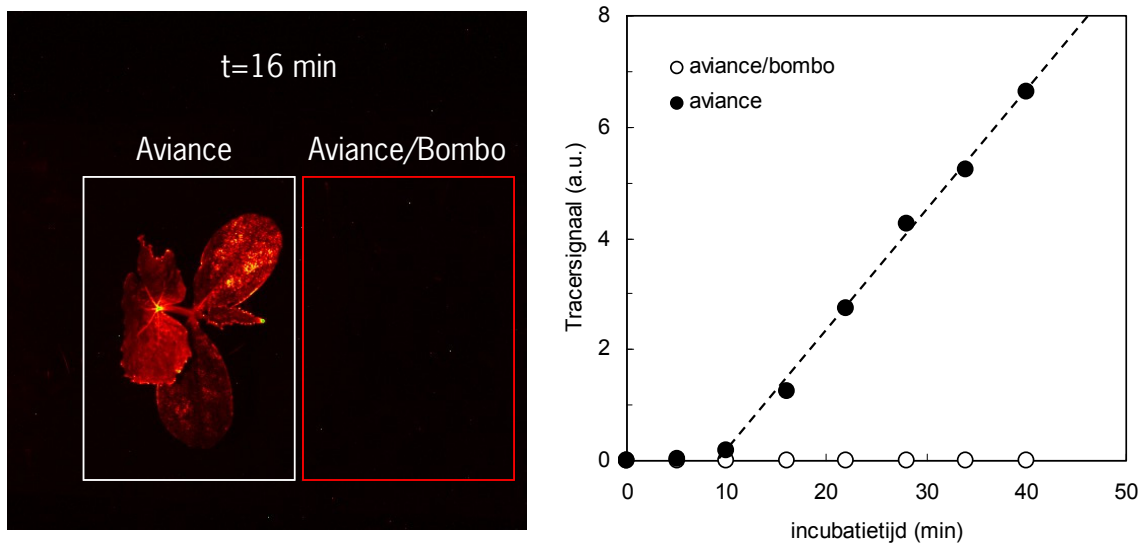
Om vergroeiing van onder- en bovenstam objectief te kunnen volgen is onderzocht of dit met tracers te realiseren is. Tracers zijn er in varianten: gewone kleurstoffen en fluorescente kleurstoffen. De gewone kleurstoffen zijn met het oog of een gewone kleurencamera te zien. Voor fluorescente kleurstoffen is een fluorescentiecamera nodig. Deze is duurder, maar is ook veel gevoeliger. Figuur 3.1 toont het tracersignaal als functie van de incubatietijd van de wortels in de oplossing met fluorescente tracer. Al binnen 2 minuten is de tracer al in de bladstengels en de nerven te zien. Na ongeveer 20 minuten hoopt de tracer zich op in het bladmoes (signaal in bladmoes hoger dan in nerven).



Figuur 3.1. Fluorescentiebeelden van opname van fluorescente tracer PRI-3 door tomatenplant. De getallen in de beelden geven het aantal minuten weer na de start van de incubatie van de plantenwortel in de tracer-oplossing. De bovenste vier beelden zijn 20x versterkt om de tracer beter zichtbaar te maken. Om opname van de tracer door de wortel mogelijk te maken is ca 1/3 van de plug incl. wortel verwijderd.

Om na te gaan of het transport via de vaatbundels van de wortel naar de scheut gaat, is bij komkommer een Aviance plant vergeleken met een geënte Aviance/Bombo plant die weliswaar vergroeid was, maar nog geen functionele vaatbundels had. De hoeveelheid PRI-3 tracer op een bepaald tijdstip is afgeleid van de grijswaarde van het camerasignaal. Figuur 3.2 laat zien dat de tracer al binnen 5 minuten in het blad zit, maar dat de toename pas na 10

minuten goed op gang komt. De bladeren van de geënte komkommerplant zonder functionele vaatbundels bevatten geen PRI-3, ook niet na een uur incubatie.



Figuur 3.2. Opname van PRI-3 tracer door niet-geënte (Aviance) en geënte (Aviance/Bombo) komkommer. Links: 'False color' beeld op $t=16$ min. Rechts: Tijdsverloop van de totale hoeveelheid tracer in het blad.

Conclusies

De fluorescente tracer PRI-3 kan gebruikt worden om vergroeiing/herstel van vaatbundels te meten, maar daarvoor moeten de wortels in de plug wel licht beschadigd worden.

3.2.2 Graft Promotors voor verhoging stresstolerantie enten



Figuur 3.3. Bespuiten van de onder- en bovenstammen.

Screening GP's bij komkommer

Na een voorscreening op basis van werkingsmechanisme, beschikbaarheid en prijs zijn in februari/maart 2006 de middelen LEA, Ca-LS en IBA in verschillende concentraties uitgetest op komkommer. Daarnaast is onderzocht of toediening op onder- of bovenstam verschil uitmaakt. Omdat de middelen naar verwachting alleen een positief effect sorteren onder verhoogde stress, is het belangrijk om de basis stress zoveel mogelijk gelijk te maken aan die bij de praktijkbedrijven. Daarom is besloten om de experimenten bij een vermeerderingsbedrijf onder praktijkcondities uit

te voeren (= standaard stress) en die ter plekke te vergelijken met planten die wat extra stress hebben gekregen in de eerste week na het enten. De experimenten zijn uitgevoerd bij plantenkwekerij Van der Lugt en de extra stress werd aangelegd door de hoeveelheid vocht in de mistkamer te halveren.



Figuur 3.4. Overzicht van komkommerplanten bij de verschillende behandelingen. Foto's genomen op dag 5. Middelen toegediend aan de onderstam.

In het eerste experiment zijn de middelen LEA, Ca-LS en IBA in 3 concentraties (zie Figuur 3.4) aangebracht op onder- of bovenstam en zowel behandelingen als controles zijn blootgesteld aan extra stress. Figuur 3.4 laat zien dat de controleplanten op dag 5 (foto rechtsonder) flink last hebben van de stress en behoorlijk verwelkt zijn. Bij toepassing van GP's via bespuiting van de onderstam geven de drie geteste middelen allemaal in meer of mindere mate bescherming tegen verwelking door de verminderde vochttoevoer in de mistkamer. Toediening van de middelen op de bovenstam geeft ook bescherming tegen de stress, maar de bladeren vertonen fytotoxische reacties. Op de foto genomen 7 dagen na het enten zijn er nog wel kleine verschillen in grootte, maar alle planten hebben zich hersteld.

In een tweede experiment is gekeken naar de effecten van de middelen onder standaardcondities, d.w.z. normale vochttoevoer. Op basis van de resultaten van de eerste screening is gekozen voor de volgende behandelingen: IBA $5 \times 10^{-5} \text{ M}$, LEA 10^{-5} M , Ca-LS 1 g.L^{-1} en formulering (normale sterkte) en voor toediening op onder- of bovenstam. Figuur 3.5 laat zien dat de planten waarvan de onderstam 1 dag voor het enten bespoten is, er bij alle behandelingen goed bij staan. De planten waarvan de bovenstam behandeld is, vertonen weer lichte fytotoxische reacties. Echter alleen op die bladeren die bespoten zijn. De later gevormde bladeren zien er normaal uit.

Komkommer enten **14-3-2006****Onderstam behandeld**

9-3-2006

geënt 10-3-2006



1 = IBA 5x10-5



2 = LEA 10-5



3 = Ca-LS 1 g / L



8 = formulering



7 = onbehandeld



10 = onbehandeld

Figuur 3.5. Overzicht van de komkommerplanten behandeld met verschillende middelen op de onderstam onder standaardcondities. Foto's genomen op dag 4.

In het derde experiment is, naast de visuele beoordeling ook gekeken naar het drooggewicht van de planten en met de MIPS naar de efficiëntie van de fotosynthese en het geprojecteerde oppervlak.

Tabel 3.1. Samenvatting van de effecten van stress op geprojecteerd plantoppervlak, efficiëntie van de fotosynthese (PA) en het drooggewicht (DW) van geënte komkommerplanten. De getallen geven het gemiddelde (gem.) plus de onder- en bovengrenzen van het 90% betrouwbaarheidsinterval (BI).

Standaardcondities + stress									
	Oppervlak (pixels)			PA (%)			DW (g)		
	gem.	90% BI		gem.	90% BI		gem.	90% BI	
Ca-LS boven	80247	63363	97131	79.9	79.2	80.6	0.133	0.122	0.144
Ca-LS onder	71861	77498	95589	79.0	79.0	80.1	0.141	0.124	0.143
formulering	73228	61486	84970	78.6	77.9	79.3	0.131	0.124	0.139
LEA boven	86543	73687	91153	79.6	78.0	80.5	0.134	0.131	0.142
LEA onder	82420	60662	83060	79.2	78.3	79.7	0.137	0.133	0.149

Standaardcondities									
	Oppervlak (pixels)			PA (%)			DW (g)		
	gem.	90% BI		gem.	90% BI		gem.	90% BI	
Ca-LS boven	77031	63091	90972	78.5	76.7	80.3	0.123	0.116	0.130
Ca-LS onder	80498	67792	93205	78.8	78.7	78.8	0.131	0.123	0.140
formulering	81400	71643	91157	79.0	78.4	79.5	0.128	0.120	0.135
LEA boven	92611	84714	100508	80.4	79.8	80.9	0.137	0.131	0.143
LEA onder	83229	76268	90190	79.0	78.2	79.8	0.136	0.126	0.146

Tabel 3.1 laat zien dat er geen significante verschillen zijn tussen de behandelingen. Wel lijkt het drooggewicht bij behandeling van de onderstam met LEA en Ca-LS iets hoger, maar dat is in deze opzet van het experiment niet significant. Daarvoor zou met grotere aantallen planten gewerkt moeten worden.

De voornaamste conclusies uit deze screening zijn

- Behandeling met GP's IBA, LEA of Ca-LS zorgt voor stress-tolerantere ent, snellere ontwikkeling
- Bespuiting van de onderstam werkt net zo goed en voorkomt fytotoxische effecten.
- IBA niet verder getest in verband met mogelijke problemen registratie (hormoonwerking).
- Onder de gebruikte productiecondities hebben LEA and Ca-LS mogelijk positief, maar geen negatief effect

Vergelijkend onderzoek bij tomaat, aubergine en komkommer

Op basis van deze positieve resultaten is besloten een praktijkexperiment op grotere schaal op te zetten bij plantenkwekerij Van der Lugt, waarbij gekeken wordt naar toepassing van GP's bij andere gewassen zoals tomaat en aubergine. De GP's zijn weer toegediend aan onderstammen voor het enten. De effecten van de GP's op de kwaliteit van de enten zijn zowel onder standaardcondities (=optimaal) als onder condities met extra stress (minder vocht) bekeken.

Komkommer

*Tabel 3.2. Beoordeling van effect Graft Promotors (GP) en de gebruikte formulering op de kwaliteit van geënte komkommer op onderstam 'Harry', al dan niet blootgesteld aan stress. Per behandeling werden 40 planten geënt op 16 juni. De planten werden op 15 juni, **1 dag voor het enten**, behandeld met GP of formulering. De beoordeling van de kwaliteit werd door Plkw Van der Lugt uitgevoerd op twee tijdstippen.*

	n	kwaliteit planten op 23-jun			kwaliteit planten op 26-jun		
		% goed	% matig	% slecht	% goed	% matig	% slecht
Met stress							
GP	40	35	33	33	43	28	30
formulering	40	40	48	13	58	20	23
onbehandeld	40	53	28	20	48	5	48
Controle							
GP	40	53	23	25	63	23	15
formulering	40	60	20	20	75	8	18
onbehandeld	40	60	23	18	78	8	15

*Tabel 3.2. Beoordeling van effect Graft Promotors (GP) en de gebruikte formulering op de kwaliteit van geënte **komkommer op onderstam 'Harry'**, al dan niet blootgesteld aan stress. Per behandeling werden 40 planten geënt op 16 juni. De planten werden op 15 juni, **1 dag voor het enten**, behandeld met GP of formulering. De beoordeling van de kwaliteit werd door Plkw Van der Lugt uitgevoerd op twee tijdstippen.*

		kwaliteit planten op 23-jun			kwaliteit planten op 26-jun		
	n	% goed	% matig	% slecht	% goed	% matig	% slecht
				</			

n.d.: niet bepaald.

Zoals verwacht doet de onderstam 'Bombo' het volgens Tabellen 3.2 en 3.3 beter dan onderstam 'Harry'. Onder stress condities heeft de behandeling met GP en formulering hebben bij onderstam 'Harry' minder planten in de categorie 'slecht'.

Aubergine

Bij aubergine is ook gekeken naar het tijdstip waarop de behandeling met GP uitgevoerd is. Tabellen 3.4 en 3.5 laten de resultaten zien van experimenten waarbij op 1 of op 3 dagen voor het enten is behandeld.

*Tabel 3.4. Beoordeling van effect Graft Promotors (GP) en de gebruikte formulering op de kwaliteit van geënte **aubergine op onderstam 'Maxifort'**, al dan niet blootgesteld aan stress. Per behandeling werden 50 planten geënt op 19 juni. De planten werden op 16 juni, **3 dagen voor het enten**, behandeld met GP of formulering. De beoordeling van de kwaliteit werd door Plkw Van der Lugt uitgevoerd op twee tijdstippen.*

		kwaliteit planten op 23-jun			kwaliteit planten op 26-jun		
	n	% goed	% matig	% slecht	% goed	% matig	% slecht
		Met stress					
GP	50	90	10	0	98	2	0
formulering	50	82	18	0	96	4	0
onbehandeld	50	72	28	0	96	4	0
		Controle					
GP	50	84	12	4	92	4	4
formulering	50	62	36	2	88	10	2
onbehandeld	50	80	18	2	92	6	2

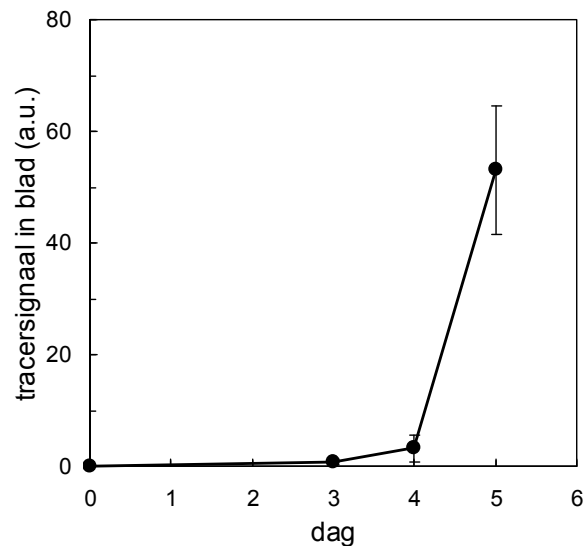
*Tabel 3.5. Beoordeling van effect Graft Promotors (GP) en de gebruikte formulering op de kwaliteit van geënte aubergine op onderstam 'Maxifort', al dan niet blootgesteld aan stress. Per behandeling werden 50 planten geënt op 19 juni. De planten werden op 18 juni, **1 dag voor het enten**, behandeld met GP of formulering. De beoordeling van de kwaliteit werd door Plkw Van der Lugt uitgevoerd op twee tijdstippen.*

		kwaliteit planten op 23-jun			kwaliteit planten op 26-jun		
	n	% goed	% matig	% slecht	% goed	% matig	% slecht

De conclusies bij aubergine is dat behandeling met GP geen effect heeft op de uitval van geënte planten. Het maakt niet uit of er 1 of 3 dagen voor het enten behandeld wordt. Wel is in Tabel 3.4 te zien dat op 23 juni de behandeling van de planten met GP 3 dagen voor het enten de nadelige effecten van de stress tegengaat. Dat effect is bij de eindbeoordeling 3 dagen later echter verdwenen. Dan is er geen uitval meer.

Tomaat

De proef bij tomaat heeft geen bruikbare resultaten opgeleverd omdat er zowel onder standaardcondities als onder stresscondities geen uitval was. Wel is bij tomaat gekeken naar de functionele entvergroeiing met de fluorescente tracer PRI-3. Tijdens het praktijkexperiment bij plantenkwekerij van der Lugt is dagelijks een aantal planten naar PRI gebracht voor het meten van watertransport/stengelvegroeiing met de fluorescente tracer. Figuur 3.6. laat zien dat pas op dag 5 de vaatbundels zodanig vergroeid zijn dat het watertransport van wortel naar blad goed op gang komt. De plant zit op dag 3 al wel vast op de onderstam, maar dan is het watertransport nog niet op gang gekomen.



Figuur 3.6. Hoeveelheid tracer PRI-3 in het blad van geënte tomaat. De hoeveelheid tracer in het blad is een maat voor de functionele vergroeiing van de vaatbundels op de entplek.

3.3 Conclusies tracers en Graft Promotors

Vergroeiing ent en onderstam

- Met fluorescente tracers kan functionele vergroeiing van ent en onderstam gemeten worden.
- Ent en onderstam al na drie dagen vergroeid.
- Effect Graft Promotors op vergroeiing nog niet vastgesteld.

Behandeling van de onderstam met GP's

- Stress-tolerantere planten.
- Aanmerkelijk snellere ontwikkeling.

Behandeling van de bovenstam met GP's

- Bladschade (mogelijk door formulering?)
- Snellere ontwikkeling
- Onder standaardcondities géén effect van Graft Promotors

4. Haalbaarheidsstudie Graft Promotors

4.1 Doelstelling

De resultaten van fase 1 en 2 zijn alleen van toepassing op de gebruikte gewassen bij betrokken bedrijven. Om een robuuste methode te verkrijgen die sectorbreed (andere glasgroenten, maar mogelijk ook andere sectoren) toepasbaar is, is verdere optimalisatie en productontwikkeling nodig. Het doel van Fase 3 is opstellen van een advies t.a.v. verdere mogelijkheden voor de ontwikkeling van de gevonden resultaten tot concrete producten voor de sector.

In september 2006 is op basis van de resultaten van fase 2 door de Plantum werkgroep 'MIPS' besloten om eerst de effectiviteit van de Graft Promotors verder te onderzoeken onder realistische bedrijfscondities. Dit in de vorm van een ringtoets onder begeleiding van Plant Research International. Op basis van die resultaten zal besloten worden of er tot verdere productontwikkeling overgegaan wordt, en zo ja, op welke manier en met welk consortium.

4.2 Ringtoets

4.2.1 Opzet

De opzet van de ringtoets is beschreven in bijlage III. De toets is uitgevoerd aan tomaat bij Beekenkamp Plants, Plantenkwekerij Van der Lugt, Grow Group, Gijmians Planten, Plantenkwekerij Grootsholten, Combiplant, Brabantplant, Hollandplant en Plantenkwekerij Vreugdenhil.

4.2.2 Resultaten

De toetsen zijn in de periode oktober 2006 – december 2006 uitgevoerd volgens het meegeleverde protocol. Ieder bedrijf heeft de toets onder de eigen bedrijfscondities uitgevoerd. Dat levert de volgende resultaten op.

Bedrijf	Bovenstam	Datum		Spuitsvolume (g)		Uitvalpercentage		
		enten	beoordeling	AA	LS	Controle	AA	LS
Bedrijven met uitval <1%								
D	Aranca	8-nov-2006	15-nov-2006	-	-	0.05	0.16	0.32
F	Mecano	8-nov-2006	15-nov-2006		3165**	0.47		0.95
F	Mecano	8-nov-2006	15-nov-2006	2935**		0.69	0.97	
A	E2533063	8-nov-2006	14-nov-2006	869	945	0.71	0.71	0.63
Bedrijven met uitval >1.5%								
C	Ingar	7-dec-2006	14-dec-2006	1269	1302	1.71	1.38	0.98*
E	Mecano	9-nov-2006	17-nov-2006	779	517	1.84***	1.68	1.95
B	Brilliant	6-nov-2006	17-nov-2006	936	971	1.98	1.73	0.94*

* Significant lagere uitval; ** te veel middel gebruikt; *** grote variatie

Voor de analyse kunnen we de resultaten het best onderverdelen in twee categorieën:

- Categorie I: minder dan 1% uitval, en
- Categorie II: meer dan 1.5% uitval.

Categorie I: Bij lage uitval verwachtten we geen effect van de middelen omdat er al weinig uitval is. Dat wordt bevestigd door de resultaten. Hoewel er mogelijk een kleine toename in uitval te zien is, is dit niet significant. De middelen zorgen dus niet voor extra uitval onder gunstige entcondities.

Categorie II: Bij uitval van 1.5% en hoger is er bij twee van de drie bedrijven een significante vermindering van uitval. Het gaat dan grofweg om een halvering van de uitval. Bij één van de drie bedrijven met uitval $> 1.5\%$ was er geen effect. In die toets was er echter sprake van een hoger dan gemiddelde variatie in de resultaten. De oorzaak van die variatie was achteraf niet met zekerheid vast te stellen. Mogelijk is er een 'entster' effect geweest; d.w.z. een verschil in uitval ten gevolge van een verschil in de kwaliteit van de bij de proef betrokken entsters.

4.3 Conclusies

- Het uitvalpercentage zonder toepassing van middel was bij 3 van de 6 bedrijven al laag ($< 1\%$).
- Bij deze bedrijven met lage uitval ($< 1\%$) hebben de geteste middelen geen effect
- Bij hogere uitval (2%) geeft:
 - AA geen effect op aantal onverkoopbare planten
 - LS halvering aantal onverkoopbare planten
 - Halvering van uitval op bedrijfsniveau significant effect ($P=0.05$)

Dit leidt tot de eindconclusie dat LS mogelijk een middel is om uitval te beperken in omstandigheden waarin een hogere uitval te verwachten is.

Bijlage I.

Handleiding Ringtoets

Doel

Testen van de effectiviteit van de in het project 'Verbetering entkwaliteit uitgangsmateriaal met MIPS' toegepaste Graft promotors onder bedrijfscondities.

Deelnemers

Beekenkamp, Van der Lugt, Grow Group, Gipmans, Grootscholten, Combiplant, Brabantplant, Hollandplant, Vreugdenhil.

Uitgangspunten ringtest

Gevoeligheid test

Rendementsverbetering van enten van 98% tot 99% (=1%) is aantoonbaar met een waarschijnlijkheid van 90%.

Gebruikte middelen

AA: LEA 10-5 M in formulering (eerder toegepast).

LS: Ca-LS 0.1% + LEA 10-5 M in formulering (nieuwe combinatie).

Bijgevoegde materialen

Krat met

- 3x gemerkte drukspuit (1.25L) voor bespuiten onderstammen.
- 3x gemerkte flessen graftpromotor AA (250 ml stockoplossing)
- 3x gemerkte flessen graftpromotor LS (250 ml stockoplossing)
- Documenten
- Dit protocol.
- Beoordelingsformulieren (3 stuks).
- Veiligheidsinformatie graftpromotors.

Projectinformatie en bereikbaarheid

Projectcoördinatie
Jan Snel
Plant Research International
e-mail: jan.snel@wur.nl
tel: 0317-475812 (kantooruren)
gsm: 06-53779282

Veiligheidsinformatie middelen
Evert Davelaar
Plant Research International
e-mail: evert.davelaar@wur.nl
tel: 0317-475814

Uitwerking

Aantal planten: 2500 onbehandeld en per middel 2500 behandeld. B.v. 2 x 25 trays behandeld en 1 x 25 trays onbehandeld, uitgaande van 100 planten per tray.

Om met deze aantallen planten de gewenste gevoeligheid te behalen moet tijdens de uitvoering van de test aan een aantal voorwaarden voldaan worden:

1. Trays doorlopen het proces gepaard.
2. Beoordeling vindt blind plaats (beoordelaar weet niet welke trays behandeld zijn).

Toelichting

Ad.1 Gepaarde trays (1 tray controle plus 1 tray per behandeling)

Hieronder wordt verstaan dat een behandelde en een onbehandelde tray

- dezelfde voorbehandeling ondergaan (m.u.v. bespuiting),
- door dezelfde persoon geënt worden,
- dezelfde acclimatisatie ondergaan waarbij de onbehandelde en de behandelde trays naast elkaar in mistkamer/tunnel/kas staan.
- Als gepaard werken niet mogelijk is, dan moeten de aantallen trays groter worden of de minimaal detecteerbare verbetering gaat naar b.v. 2% in plaats van 1%.

Ad.2 Beoordeling blind

De beoordelaar weet niet welke trays behandeld zijn en welke niet. Met name bij kleine verschillen wordt zo voorkomen dat de beoordelaar bevooroordeeld naar de planten kijkt. Hiervoor is het nodig dat aan de trays niet te zien is welke planten behandeld zijn (labels etc.). Ook moet voorkomen worden dat de beoordelaar tussentijds de planten bekijkt en op basis van die waarnemingen onthoudt welke planten behandeld zijn. Als dit niet mogelijk is, dan is er geen mogelijkheid om vast te stellen of de beoordelingen beïnvloed is door het verwachtingspatroon bij de beoordelaar en de resultaten/conclusies zijn dan niet hard.

Proefonthefing

Voor de middelen wordt zonodig een proefonthefing aangevraagd waarbij het behandelde materiaal verkocht mag worden.

Uitvoering

Benodigde materialen

- 2x Drukspuit (1.25L) wordt door PRI geleverd.
- 3x flessen graftpromotor AA en LS (250 ml stockoplossing) wordt door PRI geleverd.
- Handschoenen.
- Mondkap.
- Veiligheidsbril.
- Overall.
- Digitale fotocamera voor fotograferen trays.
- Beoordelingsformulier.

Bespuiting onderstam

De bespuiting vindt 24-28 uur voor het enten plaats.

Vorbereiding

- Selecteer 25+ trays met onderstammen om 25 trays met behandelde enten over te houden.
- Markeer de te bespuiten trays met AA (GP: LEA) en LS (GP: Ca-LS) aan de onderkant van de tray.

- Voorbereiding voor bespuiting.
- Zorg dat de planten voor het sproeien voldoende water hebben om het minimaal 2 uur uit te houden.
- Gebruik overall, veiligheidsbril, mondkap en handschoenen.
- Giet de inhoud van de fles met de GP stock in de schone en lege drukspuit.
- Vul de drukspuit tot aan de markering met schoon leidingwater.
- Vul hiervoor de lege fles van de GP oplossing met schoon leidingwater en giet de inhoud van de fles in de drukspuit.
- Herhaal dit nog 3 maal.
- Controleer dat de drukspuit gevuld is tot aan de maatstreep (1.25 liter).
- Schroef de spuitkop op de fles.
- Meng de oplossing gedurende minimaal 1 minuut door voorzichtig schudden en laat de spuit daarna 5 minuten tot rust komen.
- Weeg de spuit met inhoud op een weegschaal. Rond de meetwaarde af op hele grammen en noteer het gewicht op het formulier.

Bespuiting

- Bespuit de gemarkeerde trays met het betreffende middel.
- Gebruik een fijne sproeiveel en blijf spuiten totdat het middel van de bladeren af begint te druipen.
- Weeg na afloop van de bespuiting de spuit met inhoud op dezelfde weegschaal als voor de bespuiting. Noteer het gewicht en het aantal bespoten trays op het formulier.
- Giet de drukspuit met resterende oplossing leeg in de en spoel hem om met schoon leidingwater. Laat de spuitfles uitlekken en drogen. Overtollig middel kan als chemisch afval afgevoerd worden.
- Plantverzorging onderstammen tussen bespuiten en enten.
- Laat de onderstammen minimaal 1 uur drogen voordat er water gegeven wordt of gesproeid wordt.

Enten

Heel belangrijk: enten gebeurt gepaard per tray, d.w.z. één entster ent zowel de trays met behandelde onderstammen (gemarkeerd met AA en LS) als de tray met onbehandelde onderstammen, liefst op ongeveer dezelfde tijd. Het is wel van groot belang om behandelde en onbehandelde onderstammen niet door elkaar te halen.

Voorbeeld voor geval 5 gepaarde trays per entster:

- Houd 5 trays met de laatst geproduceerde enten van de betreffende entster apart.
- Laat de entster 5 trays enten met behandelde onderstammen en houdt deze trays apart.
- Neem de trays met behandelde en onbehandelde enten en maak 5 drietallen (onbehandeld/AA/LS).
- Geef elk drietel trays een duidelijk zichtbaar traynummer.
- Hierna kunnen de trays per drietel naar de acclimatisatieruimte.

Acclimatisatie

De trays ondergaan per drietel hetzelfde acclimatisatieprotocol.
Zet de trays van een drietel naast elkaar in de acclimatisatieruimte.

Beoordeling

Foto's

- Foto's hoeven alleen gemaakt te worden als er duidelijke positieve of negatieve effecten zijn t.o.v. de controle.
- Fotografeer zowel de controle als de behandelde tray(s) met dezelfde instellingen van de camera.
- Foto's archiveren voor latere presentatie binnen werkgroep.
- Ook tussentijdse effecten documenteren met foto's.

Eindbeoordeling

- Moment: direct voor oppotten.
- Gebruik bijgevoegd beoordelingsformulier.
- Beoordelaar weet niet wat behandeld is en wat onbehandeld is.
- Beoordelaar beoordeelt tray op aantal goede, aantal matige en aantal slechte planten.
- Beoordeling per drietal; d.w.z. trays met zelfde nummercodering direct na elkaar beoordelen.
- Na beoordeling foto's maken indien er duidelijk zichtbare effecten zijn (zie boven).
- Ingevuld formulier opsturen naar PRI.

Afronding

- Drukspuiten: bewaren tot einde ringtoets; daarna terug naar PRI.
- Oplossingen met GP: overtollige oplossing kan als chemisch afval afgevoerd worden of verzameld en aan het eind van de proef bij PRI ingeleverd worden.

RINGTOETS GRAFT PROMOTORS 2006

aan: Plant Research International	fax nr. 0317 - 423110
t.a.v.: Jan Snel	

Gegevens proef	
Bedrijf:	
Gewas:	
Bovenstam:	
Onderstam:	
Datum enten:	
Beoordeling:	
Beoordelaar:	
Datum:	

Middel AA	
Aktieve stof: LEA	
Gewicht spuit	
<u>voor</u> bespuiting:	gram
<u>na</u> bespuiting:	gram

Middel LS	
Aktieve stoffen: Ca-LS + LEA	
Gewicht spuit	
<u>voor</u> bespuiting:	gram
<u>na</u> bespuiting:	gram

Drie- tal	BEOORDELING					BEOORDELING					BEOORDELING				
	TRAY nr.	code*	goed	matig	slecht	TRAY nr.	code*	goed	matig	slecht	TRAY nr.	code*	goed	matig	slecht
			(aantal planten / tray)					(aantal planten / tray)					(aantal planten / tray)		
1															
2															
3															
4															
5															
6															
7															
8															
9															
10															
11															
12															
13															
14															
15															
16															
17															
18															
19															
20															
21															
22															
23															
24															
25															
26															
27															
28															
29															
30															

* **code**: Dit is de code aan de onderkant van de tray; **pas na beoordeling van de drie de trays de code invullen**

Gebruik bij meer dan 30 drietallen de achterkant van dit formulier

Alleen bij meer dan 30 drietallen de achterkant gebruiken!

