Zaadvorming bij grassen, in het bijzonder bij *Lolium perenne*

Een literatuuronderzoek

J.W. Warringa

cabo-dlo

ISN 272509

Verslag 183, juli 1993

CENTRALE LANDBOUWCATALOGUS
0000 0541 5506

Het DLO-Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek (CABO-DLO) is onderdeel van de Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO) van het Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij.

DLO heeft tot taak het genereren van kennis en het ontwikkelen van expertise ten behoeve van de uitvoering van de landbouwpolitiek van de Nederlandse regering, het versterken van de agrarische industrie, het plannen en beheren van het landelijk gebied en het beschermen van het milieu. CABO-DLO heeft tot taak het verrichten van fundamenteel-strategisch, zowel experimenteel als modelmatig, onderzoek aan planten. De resultaten hiervan dragen bij aan de realisatie van:

- optimale en duurzame plantaardige produktiesystemen;
- produktvernieuwing en produktkwaliteit;
- natuurwaarden en milieukwaliteit in het landelijk gebied.

Adres:
CABO-DLO
Postbus 14
6700 AA Wageningen
tel. 08370-75700
fax. 08370-23110
e-m. postkamer@cabo.agro.nl

Inhoudsopgave

pagina

Inhoudsopgave

1. Inleiding 1

2. Bloei-inductie, bloei-initiatie en bloei-realisatie bij grassen 3

   2.1 De verschillende ontwikkelingsstadia bij grassen 3
   2.2 Inductie en intitiatie bij *Lolium perenne* 8
   2.3 Invloed van externe factoren op de aargrootte bij *Lolium perenne* 9
   2.4 Ecologische aangepastheid van de bloei 11

3. Opbrengstvorming bij *Lolium perenne* 13

   3.1 De opbrengstcomponenten van *Lolium perenne* 13
   3.2 De vorming van het opbrengstpotentieel 14
   3.3 De benutting van het opbrengstpotentieel 16

4. De assimilatenverdeling 21

   4.1 Het vegetatieve stadium 21
   4.2 Opslag van niet-structurele koolhydraten 22
   4.3 Het generatieve stadium 23
      4.3.1 De fase van stengelstrekking 23
      4.3.2 Na aarverschijning 24
      4.3.3 Redistributie vanuit de stengel 25
      4.3.4 Concurrentie tussen verschillende sinks 26
   4.4 De invloed van sinkeigenschappen 27

5. Onderzoekstechnieken 29

   5.1 Beïnvloeding van de koolstofstromen 29
   5.2 Vastleggen van koolstofstromen met $^{13}CO_2$-labelling 30

Literatuur 33

1. Inleiding

De zaadopbrengst van graszaadgewassen blijkt in de praktijk van jaar tot jaar en tussen percelen sterk te variëren. Voor Engels raaigras (*Lolium perenne*) kan de opbrengst variëren tussen ongeveer 750 en 2000 kg/ha, waarbij het gemiddelde rond de 1300 kg/ha ligt (Anonymus, 1980). Deze variabiliteit in opbrengst wordt veroorzaakt door externe omstandigheden (weer, bodemgesteldheid, teeltomstandigheden) en de sterke reactie van *L. perenne* daarop. Soms zijn opvallende verhogingen van de opbrengst gevonden na toediening van groeiregulatoren of fungiciden.

Graszaad is een gewas waarvan de veredeling overwegend gericht is op versterking van de vegetatieve eigenschappen; bloei en zaadvorming zijn negatief voor alle bestemmingen. Omdat toch zaad geproduceerd moet worden zoekt de veredelaar naar aangrijpingspunten om zeldzame combinaties te vinden van hoge gebruikskwaliteit met voldoende reproduk-tieve eigenschappen.

In het teeltonderzoek wordt getracht de reproduktieve eigenschappen te versterken en de vegetatieve te onderdrukken. In de laatste decennia is door verbeterde teeltmethoden de zaadopbrengst met circa 30 % toegenomen (Nordestgaard & Andersen, 1991). Naarmate teelt en veredeling op een hoger niveau bedreven worden, is er een toenemende behoefte aan inzicht in de fysiologie van plant en gewas. Het zwakste gebied in de kennis betreft de zaadvulling en de factoren die invloed hebben op de assimilatenverdeling.

Dit literatuuroverzicht heeft tot doel de aanwezige literatuur en kennis omtrent zaadvorming bij grassen en omtrent onderzoeksmethodieken te rangschikken en het dient als basis voor verder onderzoek.

2. Bloei-inductie, bloei-initiatie en bloei-realisatie bij grassen

2.1 De verschillende ontwikkelingsstadia bij grassen

De uitgebreide reviews over dit onderwerp, waarop dit hoofdstuk gebaseerd is, zijn geschreven door Calder (1966) en Evans (1964). Hoewel deze artikelen ook grassen uit andere klimaatzones behandelen, zal de beschrijving hier beperkt blijven tot de grassen uit de gematigde gebieden.

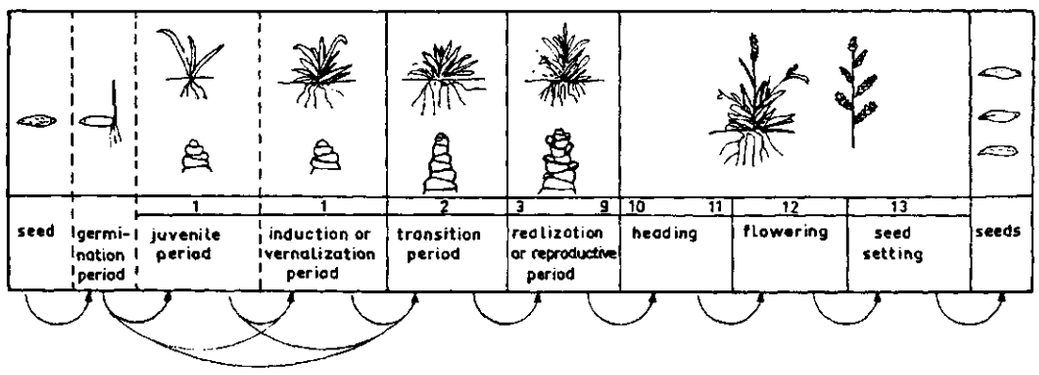
De grassen (*Gramineae*) kennen over het algemeen in hun ontwikkeling drie te onderscheiden stadia of fasen, hoewel niet bij alle soorten al deze fasen voorkomen (Calder, 1966). Deze fasen zijn:

1) Juveniele fase
2) Inductiefase
3) Realisatiefase (initiatie, bloei en zaadontwikkeling)

In Figuur 2.1 zijn de ontwikkelingsfasen uitgebreid weergegeven. De juveniele- en inductiefase vormen samen de vegetatieve fase. De realisatiefase is de generatieve fase.
Canode et al. (1972) merken op dat er in de literatuur verwarrend gebruik gemaakt wordt van de termen inductie , initiatie en ontwikkeling van de bloei. De hier gevolgde indeling van Calder is gebaseerd op de fysiologische toestand van de plant. Initiatie is hierbij de eerste zichtbare verandering van de apex op weg naar zaadproduktie (Calder, 1966). Blondon (1972) introduceerde de termen primaire en secundaire inductie, die duidelijk de twee stappen aangeven die tot bloei leiden. Deze termen geven niet de fysiologische toestand van de plant aan, maar de externe stimuli die vereist zijn voor bloeiontwikkeling.

1) De juveniele fase
Tijdens de juveniele fase is de plant ongevoelig voor bloei-inducerende factoren, zoals koude of korte dag. Het is niet bekend wat precies de lengte van deze fase bepaalt (Calder, 1966). Mogelijk spelen het bereiken van een minimum bladoppervlak, een bepaald aantal bladeren (Gregory, 1948) of een minimum volume van de apex een rol. Bij de dicotyle soort *Lunaria biennis* verkortte een hoge lichtintensiteit de juveniele fase (Wellensiek & Higazy, 1961). Wellicht speelt de accumulatie van koolhydraten een rol. Het is niet bekend of juveniliteit bij grassen een eigenschap van de spruit is of van de gehele plant (Evans, 1964; Calder, 1966).

2) De inductie fase
Tijdens inductie wordt de plant in een toestand gebracht waarin deze kan reageren op factoren die bloei initiëren, de 'ripe to flower stage' (Napp-Zin, 1961). Inductie gaat niet gepaard met een morfologische verandering en kan alleen worden vastgesteld door de plant bij een daglengte te plaatsen waarbij bloei-initiatie plaatsvindt. Elke spruit dient geïnduceerd te worden aangezien deze toestand niet overdraagbaar is (Calder, 1966).



Figuur 2.1 De ontwikkelingsstadia van een grasplant van zaad tot zaad. De getallen geven het ontwikkelingsstadium van de apex weer. Bron: Kleinendorst, 1974.

Inductie vindt plaats bij lage temperatuur en/of korte dag. Veel grassen uit de gematigde zone hebben een koudebehoefte teneinde geïnduceerd te worden. Inductie door middel van koude wordt vernalisatie genoemd (Evans, 1964). Vernalisatie kan kunstmatig bereikt worden bij temperaturen van -6 °C tot +14 °C, hoewel die tussen 0 °C en +10 °C het meest effectief zijn (Evans, 1960a). Over het algemeen geldt voor deze soorten dat hierbij een interactie met korte dag een rol speelt, waarbij sommige soorten daglengteneutraal worden bij lage temperaturen (Bernier et al., 1981; Heide, 1986). Vaak is het optreden van lage temperaturen samen met korte dag effectiever dan een van beide factoren afzonderlijk (Evans, 1964; Calder, 1966). In hoeverre korte dag en lage temperatuur elkaar kunnen vervangen is niet duidelijk en de mate van interactie is sterk afhankelijk van de soort (Kleinendorst, 1974). Het lijkt erop dat korte dag en lage temperatuur slechts binnen een bepaalde temperatuurrange uitwisselbaar zijn (Booij, pers. comm.). Bij *Alopecurus pratensis* bijvoorbeeld is boven 24 °C korte dag (8h) niet meer inducerend (Heide, 1986), hetzelfde geldt voor *Dactylis glomerata* (Heide, 1987).

Inductie door alleen lage temperatuur of korte dag (korte-dag vernalisatie) is gevonden bij o.a. *Secale cereale* (Purvis & Gregory, 1937), *Dactylis glomerata* (Blondon, 1972), *Poa pratensis* (Heide, 1980), *Alopecurus pratensis* (Heide, 1986) en *Lolium perenne* (Evans, 1960a). In geval van *Poa pratensis* zijn de meningen echter wel verdeeld. Onder andere Canode & Perkins (1977) zijn van mening dat *Poa pratensis* een obligate behoefte heeft aan zowel koude als korte dag.

Het fysiologische proces van inductie door koude of korte dag is niet precies bekend. Voor daglengte is het blad het receptieve orgaan terwijl koude via de apex werkt (Evans, 1964; Calder, 1966; Sachs, 1972). Kleinendorst (1969) vond echter dat vernalisatie alleen optrad wanneer de temperatuur rond het blad laag was.

Wanneer tijdens de periode van kou of vlak daarna hoge temperaturen voorkomen kan devernalisatie optreden (Purvis & Gregory, 1952; Lindsey & Peterson, 1962).

3) De realisatiefase

- Initiatie

Wanneer een plant geïnduceerd is kan zich bij de juiste daglengte een bloeiwijze ontwikkelen. Grassen uit de gematigde streken behoren voornamelijk tot de subfamilie *Festucoideae*. Alle leden van deze subfamilie zijn of lange dagplanten of zijn daglengteneutraal. Het laatste is een uitzondering (o.a. *Poa annua*) (Evans, 1964). Niet bij alle soorten begint initiatie onder lange dag omstandigheden. Bij *Poa pratensis* vindt de omslag naar 'double ridge' al tijdens korte dag plaats (Canode & Perkins, 1977). Lange dag cq. secundaire inductie is in dit geval nodig voor de verdere ontwikkeling van de bloeiwijze. Bij het begin van de initiatie vertoont de apex eerst strekking en de bladprimordia groeien niet verder uit. Vervolgens ontstaan in de oksels van de bladprimordia de secundaire primordia, het zgn ' double-ridge' stadium. Deze secundaire primordia groeien uit tot pakjes (aar) of vertakkingen (pluim) van de bloeiwijze (Kleinendorst & ten Hove, 1957; Bommer, 1959; Sachs, 1972). 'Double-ridge' formatie begint in het midden van de apex en gaat van daar naar boven en beneden. Differentiatie van de bloempakjes verloopt evenzo. Binnen een bloempakje echter, differentiëren de bloempjes in acropetale richting (Latting, 1972).

Na initiatie strekken de internodiën zich en vormt zich een bloeihalm. De kritische daglengte waarboven initiatie plaatsvindt verschilt per soort en per genotype (Langer, 1972). Lange dag lijkt vooral nodig voor de volledige ontwikkeling van de bloeiwijze. Wanneer bloei onder minder gunstige omstandigheden plaatsvindt en de plant onvolledig geïnitieerd is, kan viviparie optreden. Dit wil zeggen dat er vegetatieve doorgroei (proliferatie) optreedt in de bloeiwijze, bijvoorbeeld de lemma groeit uit tot blad (Latting, 1972).

Het stimulerend effect van daglengte wordt waargenomen door het blad en zeer waarschijnlijk speelt fytochroom hierbij een rol (Sachs, 1972; Kleinendorst, 1974). Ook is de rol van het hormoon gibberelline bij het stimuleren van de bloei beschreven (Lang, 1965). Bij *Poa pratensis* en *Bromus inermis* bleek GA3, op het blad gesproeid, echter geen vervanger te zijn voor de rol van lange dag bij initiatie (Heide et al., 1987).
Naast daglengte is ook de temperatuur van belang bij de initiatie. Wanneer de nachttemperatuur te hoog is treedt geen bloei op. Volgens Cooper (1960) is dit een algemeen verschijnsel bij grassen uit de gematigde gebieden. Wellicht is dit een vorm van devernalisatie. In tropische korte dag grassen lijkt de bloei juist gestimuleerd te worden door hoge nachttemperaturen (Evans, 1964).

- Bloei en zaadontwikkeling

Dit deel is vooral gebaseerd op een literatuuroverzicht over het effect van milieufactoren op bloei en zaadontwikkeling bij Engels raaigras door Anjo Elgersma (1989, ongepubliceerd) en beperkt zich dan ook tot deze soort. Een uitgebreide review over dit onderwerp is gegeven door Hill (1980). De verschillende stadia die besproken zullen worden zijn: bloei, bestuiving, bevruchting en zaadontwikkeling.

- Bloei en bestuiving

Binnen de bloei kunnen twee niveau's in de tijd worden onderscheiden:
1. het dagelijkse bloeiritme (tijdstip van openen en sluiten, bloeiduur van een bloem).
2. de bloeiperiode (tijd dat een halm/ plant/ gewas bloei vertoont).

Wanneer een bloempje gaat bloeien gaan de kroonkafjes open staan doordat de lodiculae opzwellen. De antheren en stigma's komen gelijktijdig naar buiten (Beddows, 1931).

De antheren springen open en het pollen komt vrij (anthesis). Na bestoven te zijn sluit het bloempje zich. Bloembewegingen worden zeer waarschijnlijk veroorzaakt door herverdeling van water tussen de verschillende bloemdelen (Evans, 1964).

Het dagelijkse bloeiritme verschilt per soort (Evans, 1964) en wordt vooral beïnvloed door de temperatuur (Bennett, 1959; Hill, 1971) en de lichtintensiteit (Emecz, 1961). Hill (1971) vond in een ras van *L. perenne* dat beneden de 14 °C de bloeiduur werd verlengd en soms geheel niet optrad. Op de meeste dagen begond de bloei pas nadat de temperatuur was opgelopen tot 18 °C. Uit meerdere bronnen blijkt dat de bloei dagelijks optreedt tussen ongeveer 8.30 uur en 11.30 uur (Anslow, 1963). Anslow (1963) vond dat binnen een gewas de bloei circa tien dagen duurde (Figuur 2.2).

De bestuiving is dagelijks dan ook tot een korte periode beperkt. Het omvat het vrijkomen van de pollen, de verspreiding (wind) en het landen op een stempel. Pollen zijn niet lang levensvatbaar. Bij hoge relatieve luchtvochtigheid en lage temperatuur zijn de pollen maximaal enkele dagen levensvatbaar (Anslow, 1963). Ook zonlicht verkort de levensduur (Jones & Newell, 1946). Stigma's blijven ongeveer twee dagen receptief (Elgersma, pers. comm.).
Uit onderzoek met tarwe bleek dat vlak voor anthesis de bloem het meest gevoelig is voor schade door te hoge of te lage temperaturen, welke resp. de stijl of de meeldraden beschadigen (Single, 1966; Olugbemi, 1968).

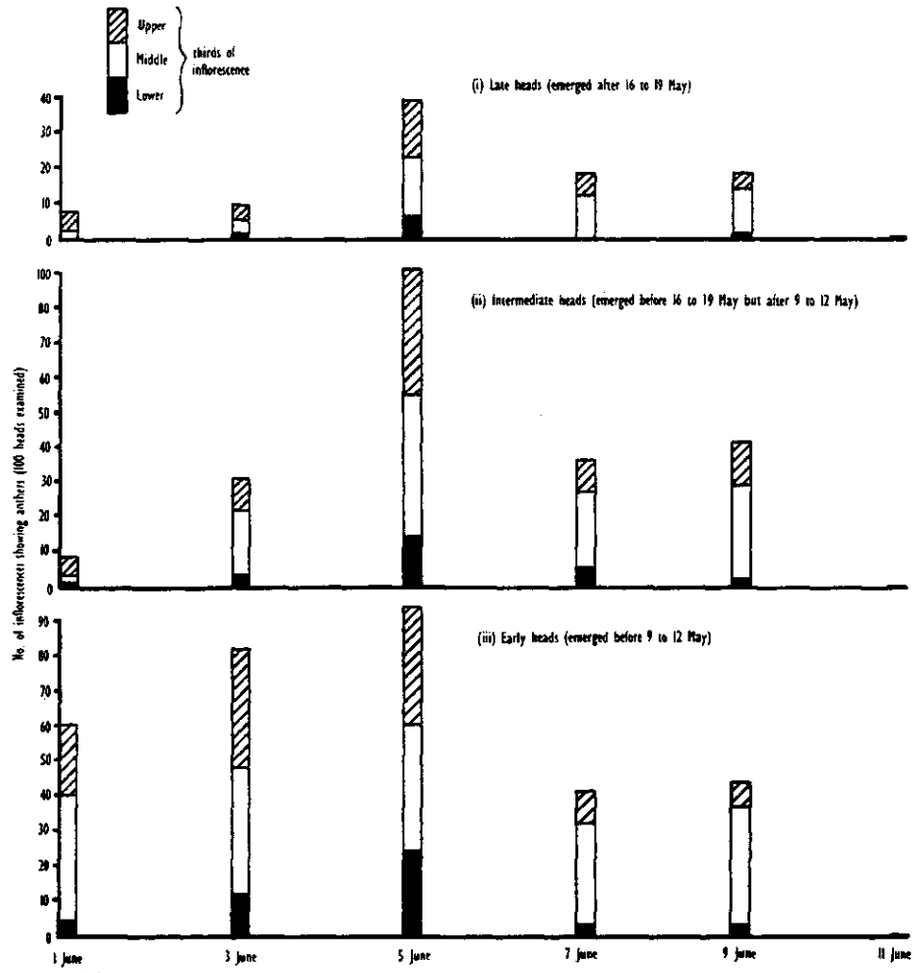
De relatieve luchtvochtigheid heeft waarschijnlijk geen direct effect op de bloei en de bestuiving, zolang het maar niet regent. Regen spoelt de pollen uit de lucht (Lambert, 1966; Vough, 1975).

Bij *L. perenne* begint de bloei in de centrale pakjes van de aar en verloopt dan naar boven en naar beneden. Onderin treedt bloei het laatst op. Binnen een pakje verloopt de bloei van onder naar boven. Onder kasomstandigheden begint de bloei soms in het bovenste pakje van de aar of tegelijkertijd in het midden en de top van de aar.

- Bevruchting

Nadat pollen op de stempel is geland groeit de pollenbuis uit tot in de embryozak. Vervolgens fuseren de twee spermacellen met resp. de centrale cel en de eicel. Wanneer er meer pollen op de stempel landen is de kieming beter (Brewbaker & Majumber, 1959) en de kans op bevruchting hoger.

Hampton & Hebblethwaite (1983a) vonden dat de minimumtemperatuur rond de bloei 70 % van de variatie in zaadaantal kon verklaren. Hoewel er voor de snelheid van pollenbuisgroei bij *L. perenne* een interactie is aangetoond tussen genotype van de moeder en temperatuur (Elgersma et al., 1989b), is het niet duidelijk in hoeverre trage pollenbuisgroei bij lage temperatuur een belangrijke remmende factor is voor hoge zaadopbrengsten.

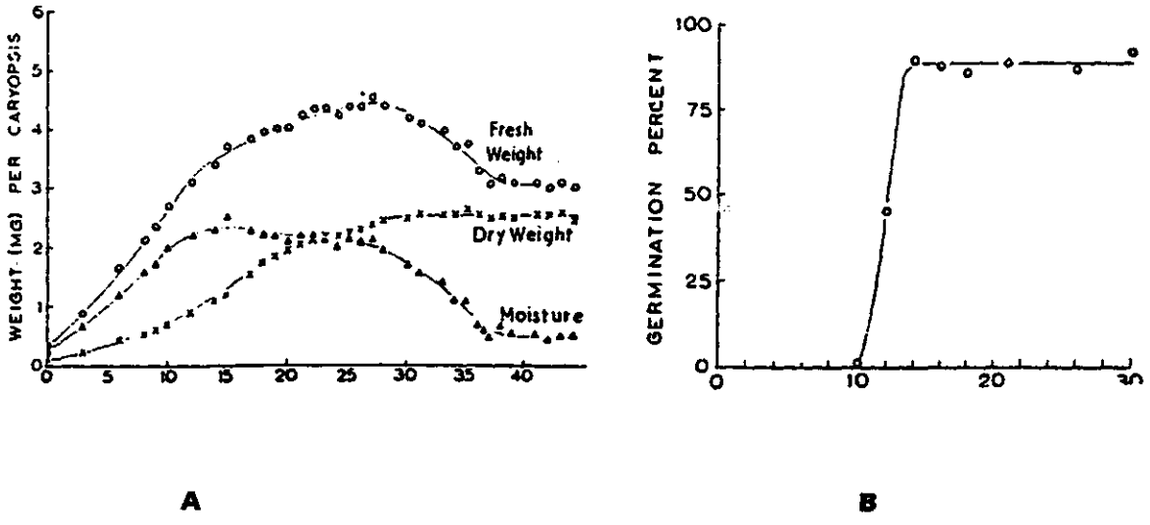


Figuur 2.2 Het bloeipatroon in een raaigrasgewas van vroege, intermediair en laat verschenen aren. Bron: Anslow, 1963.

- Zaadontwikkeling
  Hyde et al. (1959) onderscheidden drie fasen in de zaadontwikkeling (Figuur 2.3a):
  1. Groeifase (± 10 dagen); snelle groei met een hoog vochtgehalte. Niet levensvatbaar (kiemkrachtig) zaad.
  2. Zaadvullingsfase (± 14 dagen); toename drooggewicht tot maximum. Hoeveelheid vocht in het zaad veranderd weinig, maar het vochtgehalte daalt sterk. het zaad wordt levensvatbaar.
  3. Afrijpingsfase (3-7 dagen); vochtgehalte daalt sterk. Drooggewicht blijft ongeveer constant.

Het maximale drooggewicht werd bereikt na circa 28 dagen bij een vochtgehalte van 44 %. Veertien dagen na bloei (bestuiving) was het zaad kiemkrachtig. Dit is bepaald na vier maanden opslag (Figuur 2.3b). Deze resultaten zijn bevestigd door onderzoek van Pegler (1976). Stoddart (1964) vond dat de toename van de kiemkracht veel geleidelijker verliep, bepaald na vier weken drogen.

Stoddart (1964, 1968) volgde gedurende de bloei en zaadontwikkeling het koolhydratenverloop. Er vond een gestage toename plaats van het gehalte aan water oplosbare koolhydraten (WOK) tot circa 18 dagen na bloei (einde zaadvullingsfase). Een afname van dit WOK-gehalte ging samen met een toename van het zetmeel gehalte en het harder worden van het endosperm.



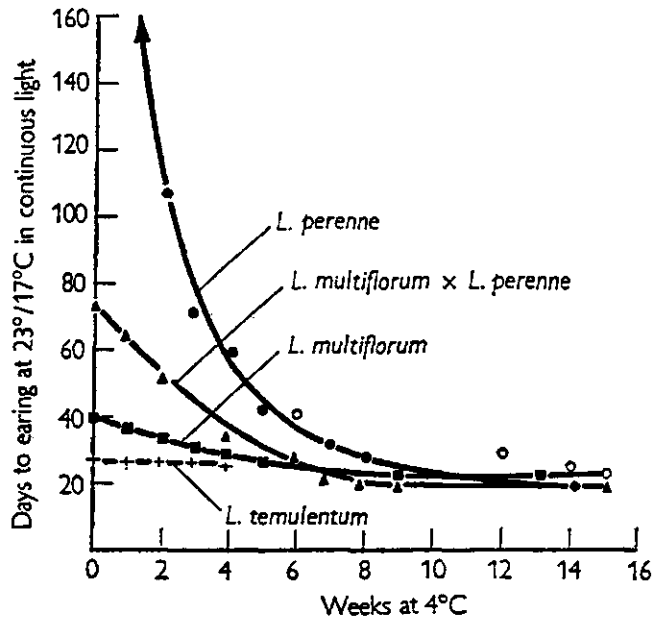
Figuur 2.3 **A)** Het gewichtsverloop van de caryopsis gedurende de ontwikkeling. **B)** Het verloop van de kiemkracht van Engels raaigraszaad tijdens de ontwikkeling. Bron: Hyde et al., 1959.

2.2 Inductie en intitiatie bij *Lolium perenne*

L. perenne kent geen juveniele fase. Inductie kan reeds optreden in geïmbibeerd zaad (Cooper, 1951; Bommer, 1961), hoewel de inductie effectiever is bij zaailingen (Evans, 1960a).

Vernalisatie verloopt sneller bij toenemende temperatuur tussen 4 en 10 °C onder korte dag. Evans (1960a) vond dat vernalisatie optrad bij een dagtemperatuur van 23 °C , mits de nachttemperatuur maar lager dan 10 °C was. Er bestond een minimale koudebehoefte van twee weken bij 4 °C. Maximale inductie, gerelateerd aan het zo snel mogelijk in de aar komen na overplaatsing naar hoge temperatuur en continue licht, trad op na ruim drie maanden vernalisatie. Aarverschijning vond na ongeveer 30 dagen plaats (Figuur 2.4). Kleinendorst (1974) vond bij een vroege kloon ook een maximale inductie na een vernalisatieduur van drie maanden. Er bestond hier echter een groot verschil tussen de onderzochte klonen. Een late kloon was pas na ongeveer 20 weken volledig geïnduceerd.

Zoals reeds eerder genoemd, is inductie mogelijk gebleken door zowel lage temperatuur (0- 14 °C) bij lange dag als door korte dag (8h) bij hogere temperaturen (Evans, 1960a,b). In het eerste geval (lage temperatuur) trad na verloop van tijd ook bloei op, aangezien er sprake was van lange dag omstandigheden. Het verschijnen van de aar bij lage temperatuur verliep sneller bij continu licht dan bij 16 uur licht. Ook bleken fluctuerende temperaturen (bij een zelfde gemiddelde) het proces te versnellen. In het tweede geval (korte-dag vernalisatie) waren de planten na 16 weken geïnduceerd, waarbij een hoge lichtintensiteit remmend werkte (Evans, 1960a).



Figuur 2.4 Het effect van de vernalisatieduur, bij 4 °C en korte dag, op het aantal dagen tot bloei in continue licht. Bron: Evans, 1960a.

Kleinendorst (1974) heeft laten zien dat vernalisatie in het licht sneller verloopt dan in het donker. Twee klonen stierven in het donker af. Een hoog water oplosbare koolhydraten (WOK) gehalte bleek de vernalisatie te versnellen en meer bloeiwijzen op te leveren. Over een absoluut gehalte was niet veel te zeggen omdat er veel variatie tussen de klonen bestond in het WOK-gehalte waarbij de klonen afstierven. Uit het artikel wordt niet duidelijk of het hier gaat om het WOK-gehalte van de spruit alleen of van spruit en wortel samen.

Omslag van de vegetatieve naar de generatieve fase (initiatie) vindt bij *L. perenne* plaats onder lange dag omstandigheden (Evans, 1960a). Bij een vroege kloon bleken drie dagen van continue licht voldoende voor initiatie, terwijl voor een late kloon acht dagen nog niet voldoende waren (Kleinendorst & Sonneveld, 1965a).

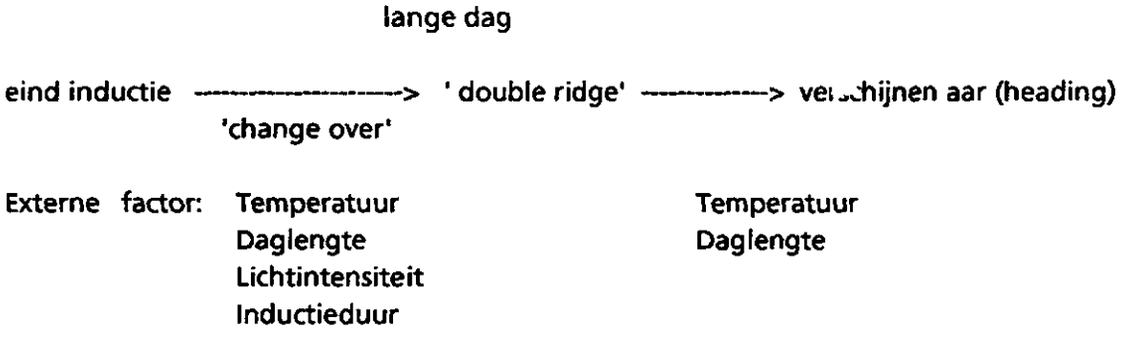
2.3 Invloed van externe factoren op de aargrootte bij *Lolium perenne*

Kleinendorst & Sonneveld (1965a,b, 1966) hebben veel onderzoek verricht naar de invloed van externe factoren tijdens inductie en vooral initiatie op de morfologie van de bloeiwijze van *L. perenne*.

Naast de grootte cq. lengte van de apex (leeftijd spruit) is de periode tussen het eind van de inductie en het verschijnen van de aar bepalend voor het aantal bloempjes per aar (Ryle, 1966). Deze periode kan in twee delen worden gesplitst (Figuur 2.5).

Kleinendorst & Sonneveld (1965, 1966) noemen de periode tussen het einde van de inductie en het 'double ridge' stadium de 'change over period'. Tijdens deze periode vindt de strekking van de apex plaats. In Figuur 2.1 is dit de 'transition period' genoemd.

Er is een positief verband tussen het aantal vegetatieve primordia op de apex op het moment van 'double ridge' en het uiteindelijke aantal pakjes per aar (Kleinendorst & ten Hove,1957; Ryle & Langer, 1963; Kleinendorst & Sonneveld, 1965b, 1966;). Hoe langer de apex op dat moment is, des te meer pakjes kunnen er worden aangelegd.



Figuur 2.5 Schematische weergave van de verkortende invloed (bij toename) van enkele externe factoren op de duur van de 'change over period' en de periode tussen 'double ridge' en aarverschijning.

De lengte van de apex en daarmee het aantal vegetatieve primordia neemt toe met de lengte van de 'change over period'. Wanneer de spruit onvolledig geïnduceerd is neemt de lengte van deze 'change over period' toe (Kleinendorst & Sonneveld, 1965b; Kleinendorst, 1974). De apex lijkt dan minder gevoelig voor bloei-inititiërende omstandigheden. De inductieduur beïnvloedt de periode tussen 'double ridge' en 'heading' niet (Evans, 1960b; Kleinendorst & Sonneveld, 1965b).

De lengte van de 'change over period' wordt onder natuurlijke omstandigheden bepaald door de daglengte. Naarmate de inductie eerder in het seizoen voltooid is, zal de periode totdat de kritische daglengte voor initiatie bereikt is langer zijn en des te groter zal het aantal pakjes per aar zijn (Hertzsch et al., 1964).

Zowel de 'change over period' als de periode tussen 'double ridge' en 'heading' worden verkort door een hogere temperatuur, welke de ontwikkeling van de bloeiwijze versnelt (Figuur 2.5). Het resultaat is een kleinere bloeiwijze. Kleinendorst & Sonneveld (1966) vonden geen effect van de temperatuur (15 of 25 °C) op de aanlegsnelheid van vegetatieve bladprimordia tijdens de 'change over period'. Bij een hogere temperatuur werd deze fase eerder afgesloten en 'double ridge' eerder bereikt. Bij 25 °C verliep de afsplitsing van secundaire primordia (pakjes) blijkbaar sneller dan bij 15 °C. Wellicht was de temperatuur-range te smal om ook de afsplitsingssnelheid van primaire bladprimordia te beïnvloeden.

Ook een grotere daglengte versnelt de ontwikkeling van de bloeiwijze (Evans, 1960a,b; Kleinendorst & Sonneveld, 1966; Langer, 1972). Een groter aantal dagen continue licht na inductie versnelt de ontwikkeling van de bloeiwijze en de 'heading' (Evans,1960b; Kleinendorst & Sonneveld,1965a).

Tussen daglengte en temperatuur treden interacties op ten aanzien van het effect op de aargrootte (Cooper,1952; Ryle,1965). Naast *L. perenne* zijn deze effecten ook beschreven bij *Phleum pratense* en *L. temulentum* (Ryle & Langer, 1963) en *Poa pratensis* (Evans, 1960a; Heide et al., 1987).

En hogere lichtintensiteit tijdens initiatie verkort de periode tussen 'double ridge' en 'heading'. Wellicht als gevolg van de grotere assimilatenbeschikbaarheid is ondanks de kortere periode het aantal bloempjes per pakje groter en de aar zwaarder. Ook bloeien meer zijspruiten (Kleinendorst & Sonneveld, 1965b).

2.4 Ecologische aangepastheid van de bloei

Voor een plant is het van belang de levenscyclus aan te passen aan de klimaatcondities. De bloei dient plaats te vinden tijdens een gunstige periode. Ongunstige klimaatomstandigheden (kou, warmte, droogte, te nat) vormen de selectiekrachten die het seizoensgebonden patroon van groei en reproductie van de plant controleren via fysiologische mechanismen (Calder, 1966).

De meest geschikte controlerende factor voor de bloei is de daglengte, aangezien deze van jaar tot jaar hetzelfde verloop vertoont (Evans, 1964). Wanneer echter alleen de daglengte van belang zou zijn, zou initiatie over een groot deel van het jaar plaats kunnen vinden. Een beperking wordt gevormd door een juveniel stadium of een vernalisatiebehoefte, zodat er geen initiatie optreedt in de herfst, wanneer de temperatuur te laag is en een eventuele bloeiwijze beschadigd zou worden. Omdat er al voor het einde van de winter in de vernalisatiebehoefte voorzien is (Figuur 2.6) lijkt deze behoefte vooral van belang om bloei in de herfst tegen te gaan, in plaats van het stimuleren ervan in het voorjaar (Evans, 1964). Een lange-dag behoefte voor bloei-initiatie verhindert te vroege bloei in het voorjaar en een mogelijke beschadiging van de zich ontwikkelende bloeiwijze door koude (Calder, 1966). Binnen een soort kunnen ecotypen voorkomen die aanzienlijk verschillen in hun bloeireacties (Calder, 1966; Heide, 1984).
Een fijnregeling van het bloeitijdstip, naast daglengte, vindt plaats door de invloed van temperatuur, lichtintensiteit en nutriëntenvoorziening op de ontwikkelingssnelheid van de bloeiwijze (Evans, 1964). Wilson (1959) vond dat een lage beschikbaarheid van stikstof de bloei van *L. perenne* vertraagde. Kleinendorst (1974) vond bij planten op voedings-oplossing dat stikstof absoluut noodzakelijk was voor de produktie van bloeiwijzen.

Behalve aanpassing van het bloeitijdstip kennen grassen ook een aanpassing van het voortplantingssysteem (vegetatief, generatief). Bij veel lange-dag grassen bijvoorbeeld leidt onvolledige initiatie tot vegetatieve proliferaties (Evans, 1964; Kleinendorst & Sonneveld, 1965a; Latting, 1972). Evans (1960b) beschrijft meerdere misvormingen van de bloeiwijze die bij o.a. *Lolium* kunnen voorkomen. En noemt als oorzaak hiervoor het optreden van hogere temperaturen na vernalisatie onder korte-dag omstandigheden.

Opvallend bij de bloei van grassen is de conservatieve reactie op temperatuur en daglengte bij de eerste stap in de reproductie (inductie en initiatie) en de grote flexibiliteit in de latere stadia (ontwikkeling bloeiwijze) waarin het voortplantingssysteem bepaald wordt (Evans, 1964).

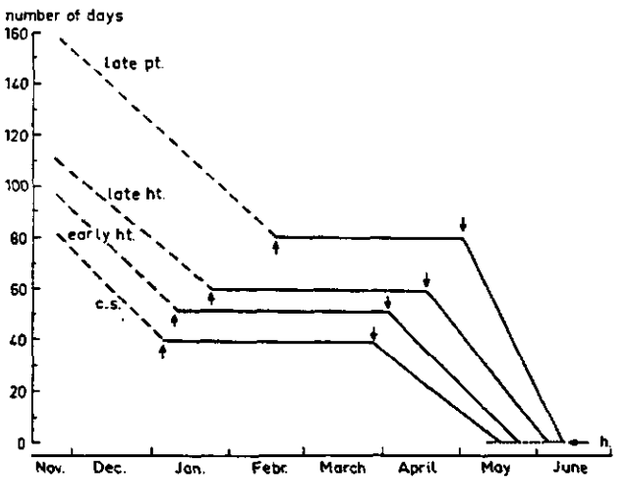


Fig. 2. Relation between date of transference to long day and number of days to heading of four types of perennial ryegrass.
c.s. = commercial seed, early ht. = early hay type, late ht. = late hay type, late pt. = late pasture type.
↑ moment at which the plants were completely vernalized outside:
↓ moment at which the plants attained the 'double ridge' stage outside;
← moment at which the plants were heading outside.

Figuur 2.6 **Het verband tussen de datum waarop planten van vier verschillende typen Engels raaigras bij lange dag geplaatst zijn en het aantal dagen tot aarverschijning. Bron: Kleinendorst, 1974**

3. Opbrengstvorming bij *Lolium perenne*

3.1 De opbrengstcomponenten van *Lolium perenne*

De verschillende componenten die de opbrengst van een graszaadgewas bepalen zijn: aantal bloeihalmen c.q. aren per oppervlakte-eenheid, aantal pakjes per aar, aantal bloempjes per pakje, 'floret site utilization' (FSU) en het zaadgewicht (Tabel 3.1).

Tabel 3.1 De verschillende opbrengstcomponenten van een graszaadgewas en de processen die deze bepalen

	Proces(sen)	Opbrengstcomponent	Grootheid
1)	Uitstoeling, Inductie, Initiatie	Aren per m^2	
2)	Ontwikkeling apex	Pakjes per aar	
3)	Ontwikkeling apex	Bloempjes per pakje	Bloempjes per m^2
4)	Bestuiving, Bevruchting, Zaadontwikkeling, Uitval, Oogst, Schoning	Floret Site Utilisation (FSU)	Zaden per m^2
5)	Zaadvulling	Zaadgewicht	Opbrengst (kg/m^2)

De eerste vier componenten bepalen samen het aantal zaden per oppervlakte-eenheid. Verreweg het grootste deel (60-98 %) van de variatie in zaadopbrengst wordt hierdoor verklaard (Hampton & Hebblethwaite, 1983b; Elgersma, 1990). De laatste opbrengstcomponent, het zaadgewicht, is relatief constant onder verschillende omstandigheden en draagt het minst bij in opbrengstvariaties (Spiertz & Ellen, 1972; Marshall, 1985). Wel bestaan voor zaadgewicht rasverschillen (Elgersma et al., 1989a; Elgersma, 1990). Elgersma (1990) merkte op dat een reden voor het relatief constante zaadgewicht is, dat tijdens de zaadschoning de lichtste zaden uitgeschoond worden. Het zaadgewicht van een gewas wordt bepaald na schoning.

Het aantal zaden per oppervlakte-eenheid wordt volgens Langer (1980) en Field-Dodgson (1971) vooral bepaald door het aantal aren per oppervlakte-eenheid. Spiertz & Ellen (1972) vonden een zeer hoge positieve correlatie (r=0,95) tussen het aantal aren en de zaadopbrengst in één jaar, het jaar daarop in het geheel niet. Elgersma (1990) vond ook geen verband tussen het aantal aren en de opbrengst. Dit aantal variëerde hierbij tussen 1706 en 2375 per m^2. Hebblethwaite & Hampton (1981) stelden, mede op basis van eigen onderzoek, dat het aantal aren niet beperkend is voor de opbrengst wanneer dit tussen de 2000 en 4000 per m^2 ligt. Bij een te hoog aantal bloeihalmen wordt de opbrengst negatief beïnvloed als gevolg van onderlinge concurrentie, vooral om licht.

Tussen het aantal pakjes per aar of het aantal bloempjes per pakje en de opbrengst vond Elgersma (1990) geen significante correlatie. Ook bij Westerwolds raaigras (*L. multiflorum* var. *Westerwoldicum*) werd die correlatie niet gevonden, hoewel er wel significante verschillen tussen de rassen voor deze opbrengstcomponenten bestonden (Elgersma et al.,1989a). Het aantal pakjes per aar kan bij *L. perenne* variëren tussen 16 en 30 en het aantal bloempjes per pakje tussen 4 en 14 (Ryle, 1964; Elgersma & Sniezko, 1988).

Wanneer er voldoende halmen aanwezig zijn dan is de belangrijkste opbrengstcomponent de floret site utilization (FSU) (Spiertz & Ellen, 1972; Elgersma, 1985). Elgersma (1985) onderscheidde een biologische en een economische FSU. De biologische FSU is dat deel van het aantal bloempjes, aanwezig bij de bloei, dat een kiemkrachtig zaad levert. Wanneer ook de oogst en zaadschoning erbij betrokken worden komt men tot de economische FSU; dat deel van de bloempjes dat een oogstbaar zaad levert.

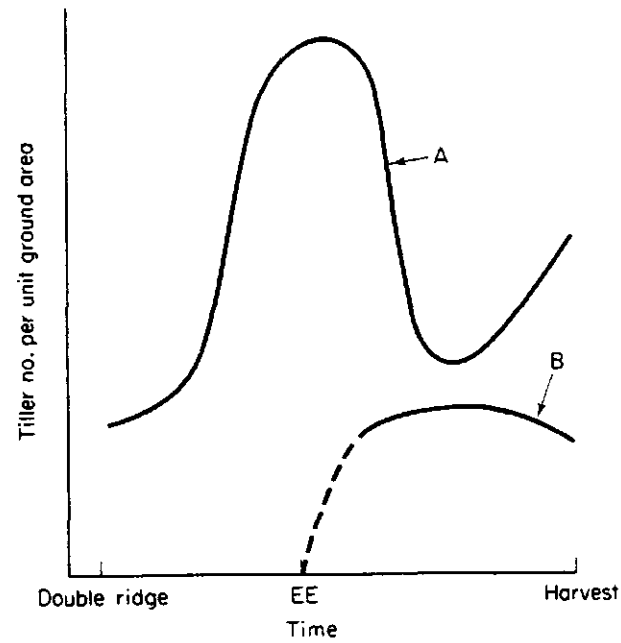
Het aantal bloempjes per oppervlakte-eenheid dat bloeit vormt het opbrengstpotentieel (Hebblethwaite et al., 1980). De mate waarin dit potentieel gerealiseerd kan worden (FSU) hangt af van het succes van de bestuiving, bevruchting, zaadontwikkeling, zaaduitval, oogst en schoning (Tabel 3.1). Zowel granen als grassen hebben als kenmerk dat er veel meer bloempjes aangelegd worden dan zaden gevuld (Hebblethwaite et al., 1980; Marshall, 1985). In de volgende twee paragrafen zal verder worden ingegaan op de factoren die vorming en benutting van het opbrengstpotentieel het sterkst bepalen.

3.2 De vorming van het opbrengstpotentieel

Willen er zich voldoende aren kunnen ontwikkelen dan is het allereerst van belang dat er voldoende spruiten ontstaan, die gevernaliseerd kunnen worden. Spruiten geproduceerd in de nazomer en herfst leveren in de zomer daaropvolgend de grootste bijdrage aan het aantal bloeihalmen en de zaadopbrengst (Griffiths et al., 1973; Hill & Watkin, 1975a). Spruiten die in het voorjaar gevormd worden dragen vooral bij aan de vegetatieve groei van het gewas gedurende de zomer en vroege herfst. Deze spruiten sterven meestal af voor de volgende winter (Anslow, 1963; Hill & Watkin, 1975a).

De uitstoeling in een raaigrasgewas volgt een karakteristiek patroon (Figuur 3.1). In het voorjaar, na een stikstofgift, neemt de uitstoeling sterkt toe tot een maximum rond aarverschijning. Tijdens de stengelstrekking sterven veel spruiten af. Nieuwe zijspruiten ontstaan weer rond het moment van de bloei (Hebblethwaite et al., 1980; Parsons & Robson, 1981). Het verloop van het aantal spruiten in een jaar vertoont twee pieken, één in het voorjaar en één in de nazomer, herfst.

Een verhoging van het spruitaantal in de herfst door middel van bijvoorbeeld extra licht (Spiertz & Ellen, 1972) of stikstofbemesting (Evans, 1954) leidde niet altijd tot een verhoging van het aantal bloeihalmen. Bijbelichting in het voorjaar, vanaf het 'double ridge'-stadium, verhoogde de opbrengst door het aantal halmen te verhogen (Spiertz & Ellen, 1972). Competitie in het gewas om licht lijkt een belangrijke invloed te hebben op het ontstaan en het afsterven van generatieve spruiten (Lambert, 1963; Ryle, 1967; Ong, 1978).



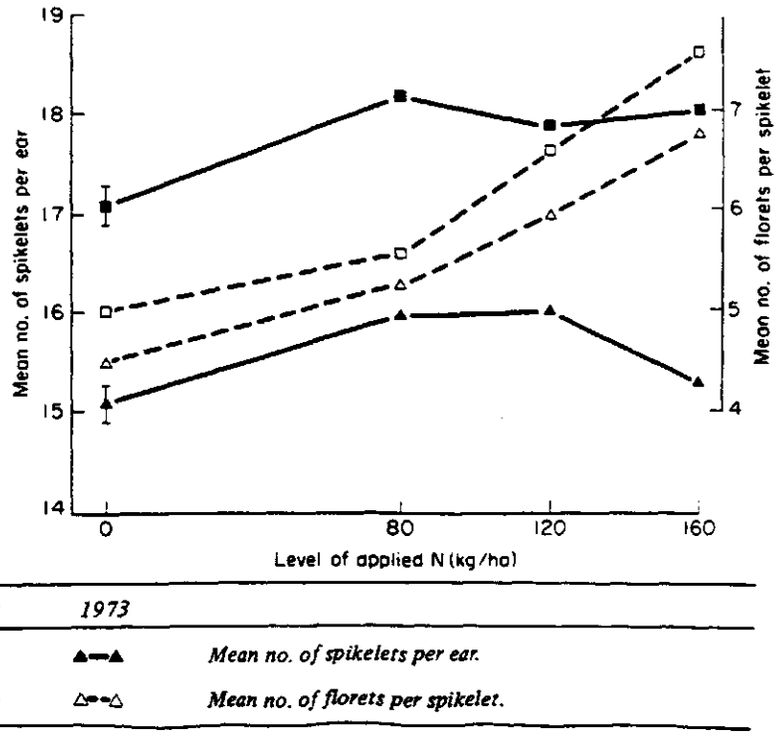
Figuur 3.1 Schematische weergave van het verloop van het totale aantal en het aantal fertiele spruiten in een graszaadgewas *Lolium perenne*. A = totaal, B = aantal fertiele spruiten, EE = aarverschijning. Bron: Hebblethwaite et al., 1980.

Van belang voor een goede uitstoeling is de beschikbaarheid van voldoende stikstof. Een te hoge gift echter (> 90 kg/ha), verhoogde de concurrentie tussen de generatieve spruiten en een sterk toegenomen aantal vegetatieve spruiten. Een te late gift, veel later dan het moment van double ridge, bijvoorbeeld bij aarverschijning, stimuleerde slechts vegetatieve groei en remt het aantal aren (Hebblethwaite et al., 1980).

Gedurende het grootste deel van het jaar ontstaan nieuwe zijspruiten die voor een deel vernalisatie en initiatie ondergaan. De populatie bloeiende halmen zal dus opgebouwd zijn uit spruiten van verschillende leeftijden, met elk hun eigen opbrengstpotentieel (Marshall, 1985). De aren van spruiten ontstaan in de zomer en herfst hebben iets meer pakjes per aar, maar vooral meer bloempjes per pakje dan aren van spruiten ontstaan gedurende de winter en het voorjaar (Anslow, 1963; Ryle, 1964; Hill & Watkin, 1975a; Colvill & Marshall, 1984). Dit is een gevolg van het feit dat de apex van oudere spruiten in het voorjaar, op het moment van generatief worden, langer is.

Als gevolg van deze relaties tussen leeftijd van de spruit en de aargrootte zal iedere ingreep die de leeftijdsopbouw van het spruitenbestand beïnvloedt, hiermee ook het aantal bloempjes (het opbrengstpotentieel) beïnvloeden (Hebblethwaite et al., 1980).

Het effect van de hoogte van de stikstofgift in het voorjaar op het aantal pakjes en bloempjes per pakje in de aar is weergegeven in Figuur 3.2. Een verhoging van de gift heeft weinig invloed op het aantal pakjes per aar maar verhoogt vooral het aantal bloempjes per pakje (Griffiths et al., 1973; Hill & Watkin, 1975a; Hebblethwaite & Ivins, 1977/1978).



Figuur 3.2 Het effect van de stikstofgift op het gemiddelde aantal pakjes per aar en bloempjes per pakje. 1972 en 1973. Bron: Hebblethwaite et al., 1980.

3.3 De benutting van het opbrengstpotentieel

Niet alle bij de bloei aanwezige bloempjes leveren een zaad. Daarvoor blijken meerdere oorzaken aan te wijzen.

Allereerst is een deel van de bloempjes niet vruchtbaar als gevolg van morfologische afwijkingen of ziekten (Johnston, 1960; Hill, 1980). Verder zal een deel van de bloempjes niet met succes bestoven of bevrucht worden. Van dat deel dat wèl bevrucht wordt aborteert een deeL. Tenslotte kan van de zaden die zich verder ontwikkelen niet alles geoogst worden, omdat een deel verloren gaat door zaaduitval en een deel tijdens de oogst en schoning.

Zaadzetting (FSU)
Hoeveel bloempjes direct na de bloei zaad kunnen zetten is niet vaak bepaald. Martins (1990) vond een FSU van 84 % twee dagen na bloei. Tabel 3.2 geeft waarden voor de FSU die ongeveer drie weken na bloei bepaald zijn. Zaaduitval speelt dan nog geen rol van betekenis (Anslow, 1964; Elgersma et al., 1988; Marshall & Ludlam, 1989).

Tabel 3.2 Gemeten waarden voor de biologische Floret Site Utilization (FSU)

Referentie	Biologische Floret Site Utilization
Anslow (1963)	65 %
Burbidge et al.(1978)	60 %
Elgersma (1990)	73, 77,83 %
Elgersma & Sniezko (1988)	8, 63, 72, 73 %
Marshall & Ludlam (1989)	50 %

Uit de tabel blijkt dat ongeveer 50-80 % van de bloempjes na de eerste drie weken zaad heeft gezet. De waarde van 8 % betreft een zeer laag opbrengend genotype. Hill (1980) verstond onder zaadzetting de eerste groei van het embryo en het endosperm, welke volgen op een succesvolle bevruchting. Wanneer bevruchting niet plaatsvindt zal de eicel afsterven.

Abortie en zaaduitval
Na een geslaagde bevruchting kan door abortie de zaadontwikkeling alsnog mislukken. Uit enkele veldproeven waarin de invloed van legering werd bestudeerd, concludeerden Burbidge et al. (1978) dat abortie van zich ontwikkelende zaden een belangrijke oorzaak was voor een vermindering van de FSU. Zij vonden dat een FSU van 60 % op drie weken na de bloei, afnam tot 20-30 % vlak voor de oogst.

Burbidge et al. (1978) stelden dat deze sterke afname van de FSU na drie weken niet was te wijten aan zaaduitval. Dit wordt niet met getallen ondersteund, hoewel om de drie à vier dagen bloempjes en zaden per pakje geteld zijn. Uit onderzoek van Anslow (1964), Marshall & Ludlam (1989), en Elgersma et al. (1988) kwam duidelijk naar voren dat vanaf ruim drie weken na bloei zaaduitval begint op te treden. Anslow (1963/1964) vond dat zaaduitval met een constante snelheid plaatsvond en bovenin een pakje begon. Martins (1990) rapporteerde al na 6-8 dagen na bloei uitval van bloempjes met zaad.

Volgens Burbidge et al (1978) zou abortie van zaden veroorzaakt worden door een assimilaten-/nutriënten tekort als gevolg van legering en concurrentie met nieuwe zijspruiten (Hebblethwaite et al., 1980; Hampton & Hebblethwaite, 1984). Volgens Hill (1971) vond abortie plaats tot drie weken na de bloei. Marshall & Ludlam (1989) volgden de abortie tot drie weken na de bloei. Ongeveer 50 % van de zaden aborteerde. Een derde deel van de onproduktieve bloempjes bevatte vruchtbeginsels en twee derde deel bevatte zaden in het begin van hun ontwikkeling. Deze zaden zagen er verschrompeld uit.

Onderzoek bij maïs heeft laten zien dat een beperking van de assimilatenproduktie door het stilleggen van de fotosynthese (met droogte- of lichtstress) rond het moment van bestuiving, de zaadzetting bijna volledig remde. Er vond ophoping van assimilaten plaats in stengel en blad, maar geen allocatie naar de vruchtbeginsels. De auteurs stelden dat niet de concentratie, maar de importsnelheid van assimilaten naar de vruchtbeginsels toe van belang was (Schussler & Westgate, 1991a,b). Boyle et al. (1991a,b) slaagden erin, met behulp van infusie via de stengel, een medium met o.a. sucrose in de maïsplant te brengen, wat vervolgens het nadelige effect van droogte op de zaadzetting voor 70 % ophief. Dit onderzoek laat zien dat tijdens droogte de assimilatentoevoer naar de zich ontwikkelende zaden beperkend kan zijn. In hoeverre dit in een graszaadgewas in ons klimaat een rol speelt is zeer de vraag.

Elgersma & Sniezko (1988) en Meijer (1985) waren van mening dat abortie bij *L. perenne* zelden later dan 10 dagen na bloei voorkwam en dat abortie in een later stadium nauwelijks een rol speelde bij lage opbrengsten. Meijer (1985) vond een FSU van 53-68 % vlak voor de oogst. Martins (1990) vond dat de FSU tussen twee dagen na bloei en tien dagen na bloei afnam van 84 % naar circa 63 %. Abortie kwam vaker onderin de aar voor. Elgersma & Sniezko (1988) vonden echter geen patroon in de abortie. Uit onderzoek door Elgersma & Sniezko (1988), Marshall & Ludlam (1989), Elgersma (1990), en Martins (1990) kwam naar voren dat legering de bestuiving niet beperkte en geen abortie induceerde. Cytologische en genetische oorzaken zouden verantwoordelijk zijn voor abortie en een mislukte zaadontwikkeling.

Patroon zaadzetting
De zaadzetting neemt van de onderste pakjes in de aar naar de bovenste pakjes iets af. Binnen een pakje is er echter een sterk afnemende zaadzetting van de onderste naar de bovenste bloempjes (Anslow, 1963; Burbidge et al., 1978). De onderste zaden in een pakje worden zwaarder dan de bovenste (Anslow, 1964). Marshall(1985) was van mening dat dit patroon erop wijst dat concurrentie tussen bloempjes onderling om assimilaten en nutriënten een rol speelt. Er zouden aanwijzingen zijn dat pakjes met weinig bloempjes een hogere zaadzetting hebben dan pakjes met veel bloempjes.

Wellicht zijn de onderste zaden echter zwaarder als gevolg van een langere vullingsduur van deze zaden. De onderste bloempjes in een pakje bloeien eerder en rijpen later af dan de bovenste bloempjes (Elgersma & Sniezko, 1988). Een aar rijpt van boven naar onderen af (Anslow, 1964). Een precies afrijpingspatroon, per bloempje, is echter nooit bepaald.

Groeiregulatoren
Tegengaan van legering door toepassing van groeiregulatoren verhoogde soms de opbrengst, meestal door een verhoogd aantal zaden per pakje (Hebblethwaite et al., 1982). Afhankelijk van welke groeiregulator gebruikt werd was het effect op de opbrengst zeer wisselend. Ancymidol, PP333 (paclobutrazol) en fluprimidol gingen legering tegen of vertraagden deze (Hampton et al., 1987; Hebblethwaite, 1987; Martins, 1990). CCC, dat bij granen goed de legering tegengaat, heeft bij grassen veel minder effect (Hebblethwaite & Burbidge, 1976).

Veel onderzoek is gedaan met paclobutrazol, een triazool die de gibberelline synthese remt (Martins, 1990). Het heeft een fungicide werking en vertaagt de veroudering van het blad (Davis et al., 1988; Halmann, 1990). Het verhoogt de concentratie chlorofyl in het blad. Of dit het gevolg is van meer chlorofyl of het kleinere blad is niet duidelijk (Martins, 1990).

Hampton & Hebblethwaite (1985) vonden dat de import van ^{14}C-assimilaten door de aar toenam. Hampton et al. (1987) vonden dat in planten behandeld met paclobutrazol het vlagblad meer naar de aar en de stengel exporteerde en minder naar de zijspruiten.
Uitgebreid veldonderzoek door Martins (1990) heeft laten zien dat paclobutrazol soms de mate van abortie verminderde. Het had geen effect op de zaaduitval. Voor wat betreft de zaadopbrengst was er sprake van onvoorspelbare interacties met het weer en het ontwikkelingsstadium van het gewas.

Oogst- en schoningsverliezen
Van de vlak voor de oogst aanwezige zaden kan slechts een deel na oogst en schoning gewonnen worden (Tabel 3.3). Het verlies rijdens de oogst bedraagt minimaal 5-10 % (Andersen & Andersen, 1975), de rest wordt uitgeschoond.

Het juiste oogsttijdstip wordt bepaald door de balans tussen een toenemende zaaduitval en toename van het aantal afgerijpte zaden (Hill & Watkin, 1975b; Hebblethwaite et al., 1980).

Tabel 3.3 Hoeveelheid zaad die gewonnen wordt na oogst en schoning, uitgedrukt in procenten van de hoeveelheid aanwezig vlak voor de oogst

Referentie	Percentage gewonnen zaad
Burbidge et al.(1978)	40 - 50
Elgersma (1990)	25 - 33
Horeman (1989)	25
Meijer (1985)	40 - 70

Bron: Elgersma (1991)

De zaden die verloren gaan bij oogst en schoning zijn uitgevallen of uitgeschoond. Veel van de uitgeschoonde zaden zijn te licht. Dit als gevolg van onvoldoende zaadvulling door een te korte vullingsduur (onrijp) en/of onvoldoende importsnelheid van assimilaten door het zaad. De zaadvullingsduur is niet alleen afhankelijk van de leeftijd van het zaad bij de oogst, ook de positie in de aar bepaalt deze.

Meijer (1985) gaf als belangrijke oorzaak van te licht zaad, leeftijdverschil tussen de spruiten aan. Dit leidt tot ongelijke afrijping tussen aren. Anslow (1964) vond voor vroege aren een zaadgewicht van circa 2 mg en voor aren die twee weken later verschenen een zaadgewicht van circa 1,2 mg. Binnen een pakje bleek de variatie in zaadgewicht groter. In het onderste pakje nam het zaadgewicht af van het onderste naar het bovenste bloempje van circa 2,5 tot circa 1,4 mg. De afname van onder naar boven in de aar bleek minder groot. Het lijkt erop dat de grote variatie in zaadgewicht voor het grootste deel bepaald wordt door variatie binnen een pakje.

Een late stikstofgift verhoogde het zaadgewicht, bepaald na schoning, iets (Hebblethwaite & Ivins, 1977; Meijer & Vreeke, 1988). Een gift tijdens de bloei verhoogde het gewicht van de zaailingen afkomstig van dat zaad (Ene & Bean, 1975). In veldexperimenten is een positief effect gevonden van irrigatie op het zaadgewicht (Hebblethwaite, 1977; Wright, 1978).
De beschikbaarheid van stikstof wordt hierdoor ook verhoogd.

4. De assimilatenverdeling

4.1 Het vegetatieve stadium

De vegetatieve grasplant bestaat uit een hoofdspruit, één of meer zijspruiten en wortels. De bladeren van elke spruit assimileren CO_2 en een deel van deze assimilaten kan vervolgens geëxporteerd worden.

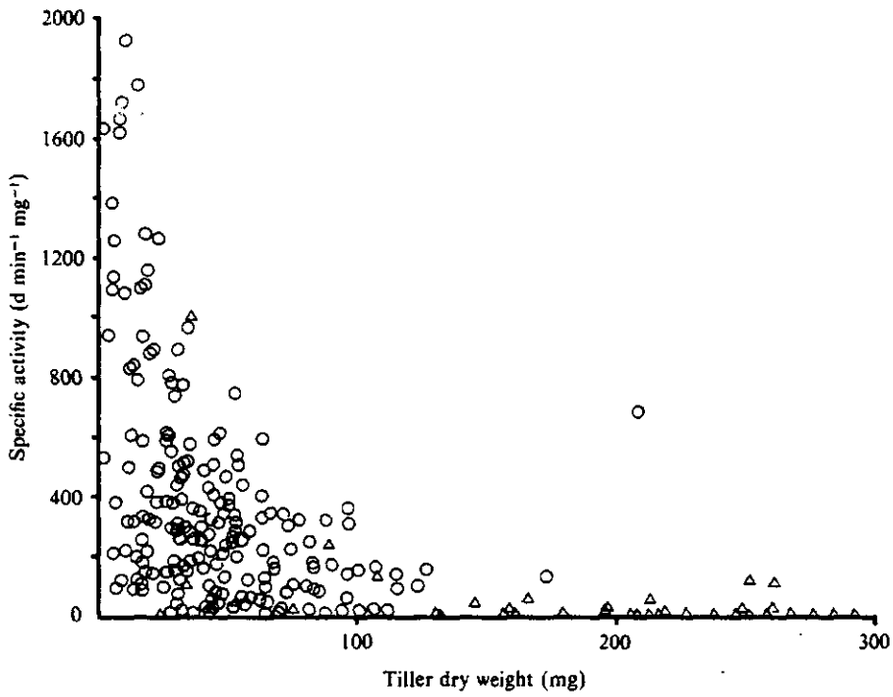
De in dit hoofdstuk genoemde gegevens over import en export van assimilaten door plantedelen zijn verkregen met de $^{14}CO_2$-labellingstechniek. De hoeveelheid die uit een blad geëxporteerd wordt is afhankelijk van de leeftijd en de positie van dat blad. Uit onderzoek met *P. pratense* is bebleken dat bladeren assimilaten beginnen te exporteren wanneer ze volgroeid zijn (Williams,1964). Bladeren aan de hoofdspruit van *Lolium temulentum* en *L. perenne* exporteerden het meest een week na volledige strekking. Op dat moment was de bladschede ook volledig gestrekt (Ryle,1970). Powell & Ryle (1972) vonden dat volledig gestrekte bladeren van *L. temulentum* binnen 24 uur na labelling 65 % van het label exporteerden en 1 week later 80-85 %. Marshall & Sagar (1968) vonden 24 uur na labelling een export van 60 %. Gestrekte bladeren aan een reproduktieve spruit exporteren meer van het label dan vergelijkbare bladeren aan een vegetatieve spruit (Ryle, 1970, 1972; Ryle & Powell, 1972). Jonge bladeren aan een hoofdspruit exporteren naar de zich ontwikkelende bladeren, zijspruiten en de wortels. Oudere bladeren exporteren vooral naar de wortels en de zijspruiten (Williams, 1964; Ryle, 1970; Ryle & Powell, 1972).

Bladeren van verschillende spruiten aan jonge vrijstaande planten van *Lolium multiflorum* bleken te exporteren naar de spruit waartoe ze behoorden en naar de wortels (beide 45 % van de export). De rest ging naar de andere spruiten (Marshall & Sagar, 1968). De export naar de wortels in jonge vrijstaande planten is erg hoog in vergelijking met planten in een zode. Bij *L. perenne* planten in een 'mini-zode' in de kas bedroeg de export naar de wortels vanuit de hoofdspruit circa 10 % (Colvill & Marshall, 1981) en in het veld circa 5 % van de geproduceerde assimilaten (Ong et al., 1978b).

Bij toenemende leeftijd van de vegetatieve spruit bij vrijstaande *L. perenne* en *L. temulentum* planten nam dat deel van de export dat vanuit de jongste bladeren naar de wortels ging sterk af (van 50 % naar 10 %) en de import door de stengel (knopenstapel) toe (Ryle, 1970). Op een bepaald moment zijn er voldoende wortels aangelegd en worden assimilaten in de stengel (knopenstapel) opgeslagen.

Zijspruiten van *L. multiflorum* exporteerden naar de hoofdspruit en de wortels. De eerste zijspruit exporteerde relatief meer naar de wortels (60 % van de export) dan de tweede (50 %) en derde zijspruit (25 %). De derde, jongste zijspruit exporteerde 40 % van de gevormde assimilaten naar de hoofdspruit, dit was meer dan de eerste en tweede zijspruit. Netto exporteerde elke spruit ongeveer evenveel als deze importeerde. De hoeveelheid getransporteerde assimilaten was het grootst bij de hoofdspruit en het kleinst bij de eerste zijspruit. De hoofdspruit bleek het meest onderling afhankelijk en de eerste zijspruit het meest onafhankelijk van de andere zijspruiten (Marshall & Sagar, 1968).

De mate van export van de hoofdspruit naar de zijspruiten is mede afhankelijk van de grootte van de zijspruit. Hoe groter de zijspruit, des te minder is de import vanuit de hoofdspruit (Marshall & Sagar, 1968; Nyahoza et al., 1973; Clemence & Hebblethwaite, 1984). Dit geldt ook voor zijspruiten van generatieve spruiten (Figuur 4.1). Colvill & Marshall (1981) stelden dat de eerste vegetatieve zijspruit onafhankelijk wordt van de import vanuit de hoodfspruit bij een drooggewicht van circa 25 mg. De import bedraagt op dat moment nog 10 % van de totale export vanuit de hoofdspruit.



The relationship between subtending tiller dry weight and specific activity following the feeding of ^{14}C to parts of the main-tiller. Data are for all fed parts on both dates of feeding; O, vegetative tillers; Δ, ear-bearing tillers.

Figuur 4.1 Het verband tussen het zijspruitgewicht en de import van gelabelde assimilaten uit de hoofdspruit. Bron: Clemence & Hebblethwaite,1984.

Samenvattend kunnen we stellen dat tussen de zijspruiten en de hoofdspruit en de zijspruiten onderling transport plaatsvindt van assimilaten. De im- en export van assimilaten van elke zijspruit zijn in evenwicht. Dit geeft aan dat de vegetatieve grasplant een georganiseerd en geïntegreerd systeem van onderling verbonden spruiten is (Marshall & Sagar, 1968; Clifford et al., 1973; Colvill & Marshall, 1981).

4.2 Opslag van niet-structurele koolhydraten

Evenals bij de meeste andere plantesoorten vindt bij grassen het transport van assimilaten plaats in de vorm van sucrose. Bij een overschot aan sucrose vindt opslag plaats. In de vegetatieve plantedelen voornamelijk in de vorm van fructanen, een fructosylpolymeer opgebouwd vanuit sucrose. In de zaden wordt vooral zetmeel opgeslagen (Pollock, 1986). Het fructaanpolymeer dat in grassen en granen uit de gematigde gebieden voorkomt is levan. Binnen de cel vindt opslag plaats in de vacuole (Pollock, 1986; Bucher et al., 1987). Levan is een poly-

meer waarin aan sucrose via ß-(2,6)-verbindingen fructose-monomeren zijn gekoppeld. Ter vergelijking; bij inuline zijn dit ß-(2,1)-verbindingen. Pollock (1986) noemt fructaangehalten in het blad van 15 % bij *L. perenne* en 22 % bij *Phleum pratense* als percentage van de totale niet-structurele koolhydraten.
Synthese van zetmeel in de vegetatieve delen komt voor, maar de gehalten zijn laag. Bij *L. perenne* maakt zetmeel 1 à 2 % uit van de totale niet-structurele koolhydraten in het blad (Pollock, 1986). Voor *Festuca pratensis* vonden Bucher et al. (1987) hogere percentages. In het blad circa 16 %, in de stoppel circa 12 % en in de wortel circa 9 %.

In vegetatieve planten vindt lange-termijn-opslag van reserve koolhydraten vooral plaats in de stoppel (knopenstapel en bladscheden) (Bucher et al., 1987; Prud'homme et al., 1992). Korte-termijn-opslag van sucrose gebeurt vooral in het blad. De wortels bevatten weinig niet-structurele koolhydraten (Pollock, 1986; Bucher et al., 1987; Prud'homme et al., 1992).

4.3 Het generatieve stadium

4.3.1 De fase van stengelstrekking

Wanneer een grasspruit generatief geworden is, zal onder geschikte omstandigheden de stengel zich gaan strekken. De stengel heeft daarvoor assimilaten nodig.

In vrijstaande planten van *L. perenne* nam, na overgang naar het generatieve stadium, de export vanuit het jongste blad aan de hoofdspruit naar de stengel toe van 3 % tot 52 % van de totale export uit dat blad (Ryle, 1970). Hierbij is vanaf bladstadium 7 (het zevende blad volledig gestrekt) tot en met stadium 10 telkens het jongste blad gelabeld. Deze toename van export naar de stengel ging ten koste van export naar de zijspruiten en vooral de wortels. Deze namen af van resp. 39 % en 35 % naar 20 % en nihil op het moment van aarverschijning (bladstadium 12) (Ryle, 1970; Parsons & Robson, 1981). De assimilatenstroom vanuit het jongste blad naar het apicaal meristeem (zich ontwikkelende aar) nam vanaf bladstadium 7 geleidelijk en vanaf bladstadium 10 snel toe tot 66 % van de export bij aarverschijning. Op dat moment bedroeg de export naar de stengel nog 20 % (Ryle, 1970)

Dit patroon van assimilatenverdeling tot aarverschijning bij *L. perenne* komt sterk overeen met dat van *L. temulentum*. Verder onderzoek met vrijstaande planten van deze laatste soort liet zien dat de grote import door de strekkende stengel vooral verzorgd werd door het jongste gestrekte blad (ook: Colvill & Marshall, 1984). Het nog groeiende blad droeg nauwelijks bij. De import door de zich ontwikkelende aar was vooral afkomstig van de twee jongste bladeren en het nog groeiende blad. De eerste twee exporteerden 15-20 % van de geproduceerde assimilaten. Het groeiende blad exporteerde 70-80 % van de geproduceerde assimilaten. De rest van de bladeren exporteerde 5-10 % naar de zich ontwikkelende aar.

De export naar de wortels nam ook bij *L. temulentum* geleidelijk af; van circa 16 % tot circa 3 % van de export bij aarverschijning. Gedurende de hele ontwikkeling tot aarverschijning vond er een export uit de bladeren van 20 % tot 35 % naar de zijspruiten plaats, hoewel vanaf circa 3 weken voor aarverschijning de uitstoeling al gestopt was (Ryle, 1970/1972; Ryle & Powell, 1972).

Evenals in vegetatieve spruiten is ook in generatieve spruiten sprake van een verandering in de voornaamste exportbestemming van de jongste naar de oudste bladeren. De jongste bladeren voorzien vooral de bovenste delen en de oudere bladeren de lagere delen (Ryle, 1972; Clifford & Langer, 1975; Ong & Marshall, 1975; Clemence & Hebblethwaite, 1984). Toch levert elk blad aan de hoofdspruit wel iets aan de meristemen in de hele plant (Ryle, 1972).

4.3.2 Na aarverschijning

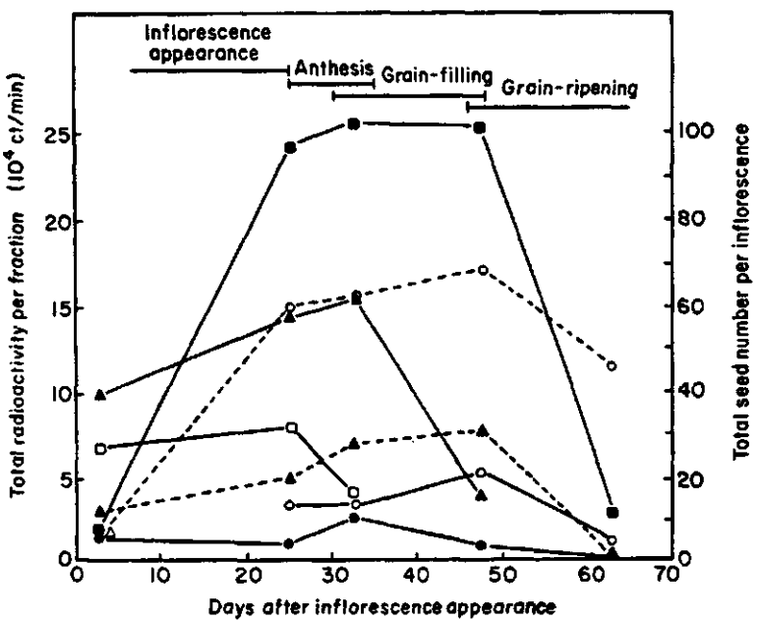
Uit veldonderzoek met *L. perenne* is gebleken dat de aar het belangrijkste assimilerend orgaan aan de reproduktieve spruit is (Ong et al., 1978a; Clemence, 1982; Clemence & Hebblethwaite, 1984; Colvill & Marshall, 1984). Figuur 4.2 laat dit zien. Veertig dagen na het verschijnen van de aar wordt 50 % van het totaal aan assimilaten gefixeerd door de aar (Ong et al., 1978a). Clemence & Hebblethwaite (1984) vonden dat de aar 14 dagen na de bloei evenveel assimileerde als het vlagblad en 37 dagen na de bloei het meest. Bij zowel *Poa annua* als *L. perenne* kwam de fixatie door de bloeiwijze voor 40-50 % voor rekening van de lemma's en de palea's. De kelkkafjes droegen circa 20 % bij en de aarspil de rest. Tegen het eind van de zaadontwikkeling nam het relatieve belang van de aarspil voor de fotosynthese sterk toe, vooral bij *Lolium*. (Ong et al., 1978a). Het belang van de aar als producent van assimilaten neemt vooral toe tegen het eind van de zaadvulling, wanneer de bladeren verouderen. De aar blijft het langst groen van alle groene organen.

Na afrijping exporteerde de bloeiwijze van *Poa annua* 50 % van haar assimilaten naar stengel, zijspruiten en wortels (Ong & Marshall, 1975). Colvill & Marshall (1984) vonden bij *L. perenne* dat tijdens de bloei en ook nog een maand later gedurende de afrijping, de aar 20-30 % van het gefixeerde CO_2 exporteerde. Eerst vooral naar het bovenste internodium (circa25 %) en later ook naar de rest van de stengel, wortels en zijspruiten (circa15 %). De auteurs stellen dat het lijkt alsof de aar zelfvoorzienend is en de groei van de zaden relatief onafhankelijk is van de bladeren. Ondersteuning hiervoor komt van Elgersma & van Hateren (1991), die hebben laten zien dat vlak voor de bloei afgesneden pakjes en aren op water normaal bloeien en kiemkrachtig zaad leveren.

Clemence & Hebblethwaite (1984) vonden, in tegenstelling tot Colvill & Marshall (1984), een afnemende export vanuit de aar gedurende de zaadontwikkeling. Deze bedroeg 37 dagen na bloei ruim 5 % van het totaal aan geproduceerde assimilaten. Netto was de aar al importerend. In beide onderzoeken betrof het een veldgewas. De proeven zijn in verschillende jaren uitgevoerd en dit laat zien dat de invloed van externe factoren op de sterkte van bepaalde sinks en sources en daarmee op de assimilatenverdeling groot is. Dit blijkt ook uit het artikel van Clemence & Hebblethwaite (1984), waarin twee jaren zijn vergeleken. Het experiment van Colvill & Marshall (1984) vond plaats in een gewas waar weinig stikstof aan was toegediend en tijdens een droog jaar. Clemence & Hebblethwaite (1984) bestudeerde een gewas, ruim voldoende voorzien van stikstof (Marshall,1985).

De invloed van externe factoren is ook terug te vinden in de import door de zijspruiten. In het onderzoek van Clemence & Hebblethwaite (1984) vormen deze een belangrijke sink. Op 14 en 37 dagen na bloei exporteerde de stengel resp. 10 % en 24 % naar de zijspruiten. Uit de gegevens van Colvill & Marshall (1984) komt dit nauwelijks naar voren. Ook Ong et al. (1978b) vonden op het moment van bloei geen export vanuit de bloeihalm naar de zijspruiten.

De verschillende experimenten, waarbij gelabeld is na aarverschijning, zijn niet onder gecontroleerde omstandigheden uitgevoerd. Duidelijk wordt dat de aar het belangrijkste assimilerende orgaan is, maar de precieze invloed van het patroon van uitstoeling op de zaadvorming is nog onduidelijk.



Fixation of ^{14}C by the inflorescence and leaves of *Lolium perenne* L. with time. Whole tiller exposed to $^{14}CO_2$ for 10 min and harvested immediately afterwards. ○ - - - ○, Seed number per inflorescence; ■—■, inflorescence; ▲—▲, flag leaf; □—□, penultimate leaf; △—△, lowermost leaf; ▲ - - - ▲, flag leaf sheath; ●—●, stem; ○—○, peduncle.

Figuur 4.2 De koolstoffixatie van verschillende delen van de bloeihalm van *Lolium perenne* tijdens reproduktieve ontwikkeling. Bron: Ong et al.,1978a.

4.3.3 Redistributie vanuit de stengel

Colvill & Marshall (1984) vonden dat na het verschijnen van de aar het blad voornamelijk naar de stengel exporteerde, die op haar beurt aan de aar en aan de zijspruiten leverde. De belangrijkste importbron voor de aar bleek de stengel. Deze werd tussen 14 en 37 dagen na bloei van netto importeur tot netto exporteur. De stengel importeerde op 37 dagen na bloei voor het grootste deel uit de bladeren (vlagblad) (Clemence & Hebblethwaite, 1984). Colvill & Marshall (1984) vonden ook dat tijdens de bloei het grootste deel van export door de bladeren naar de stengel ging. Dit laat zien dat de stengel een tijdelijke opslagfunctie vervult.

In veldonderzoek met *P. pratense, F. pratensis* en *L. perenne* bleek de stengel de belangrijkste opslagplaats van fructanen te zijn. De grootste hoeveelheid bevond zich in de onderste internodiën (Pollock & Jones, 1979). Griffith (1992) vond dat in vrijstaande plan-ten van *L. multiflorum* het fructaangehalte in de stengel gedurende de zaadontwikkeling afnam en suggereert dat dit ten gunste van de zaadvulling gebeurt.

Ook bij granen blijkt de stengel de belangrijkste tussenopslagplaats te zijn voor niet-structurele koolhydraten en bevindt op het moment van bloei ruim de helft daarvan zich in de stengel. Tijdens de zaadvulling nemen het gehalte en de hoeveelheid af (Spiertz & Ellen, 1978; Stoy, 1979; Judel & Mengel, 1982). Bij maïs is de stengel ook de belangrijkste plaats voor accumulatie van niet-structurele koolhydraten (Daynard et al., 1969; Cliquet et al., 1990).

De bijdrage aan de zaadvulling van de uit de stengel afkomstige, voor de bloei gevormde, koolhydraten bedraagt bij tarwe onder normale omstandigheden 10-15 %. Onder droogtestress kan deze bijdrage oplopen tot 27 % (Bidinger et al., 1977). De bijdrage wordt vooral geleverd tegen het eind van de zaadvulling (Kühbauch & Thome, 1989). Dit laatste geldt ook voor gerst (Bonnet & Incoll, 1992) en *L. multiflorum* (Griffith, 1992). Remobilisatie van niet-structurele koolhydraten vanuit de stengel speelt een grotere rol naarmate de activiteit van de groene delen tijdens de zaadvulling lager is. De stengel vormt zo een buffer voor de assimilaatvoevoer naar de zaden (Kühbauch & Thome, 1989; Griffith, 1992).

4.3.4 Concurrentie tussen verschillende sinks

Tijdens stengelstrekking is de stengel van *L. perenne* de meest overheersende sink en dit gaat ten koste van de export naar de wortels en de zijspruiten. De import door de zich ontwikkelende aar neemt vlak voor aarverschijning sterk toe. Dit zou kunnen betekenen dat de stengel en de zich ontwikkelende aar competitieve sinks zijn (Ryle, 1970). Een interessante waarneming in dit verband is dat de import door de stengel vanuit de bladeren met circa 66 % toenam op het moment van aarverschijning (*L. temulentum*). Van het totaal aan door de bladeren tijdens labelling gefixeerde $^{14}CO_2$ ging vlak na aarverschijning 39 % naar de stengel (Ryle, 1972). De aar kon op dat moment zelf fotosynthetiseren.

Na aarverschijning, tijdens bloei en afrijping, is er mogelijk sprake van concurrentie tussen de aar en nieuwe zijspruiten. Colvill & Marshall (1984) vonden dat de uitstoeling na de bloei weer toenam. Clemence & Hebblethwaite (1984) vonden in 1979 minder sterke groei van zijspruiten dan in 1980 en tevens een sterkere groei van stengel en aar. In 1979 begon de hergroei van zijspruiten rond de bloei, terwijl deze in 1980 al voor de bloei begon. De mate van zijspruitgroei wordt sterk beïnvloed door externe omstandigheden, zoals de lichthoeveelheid in het gewas (dichtheid, legering) (Ryle, 1967; Spiertz & Ellen, 1972; Wright & Hebblethwaite, 1979) en de nuriëntenbeschikbaarheid, vooral stikstof (Langer, 1966; Griffiths et al., 1973; Hebblethwaite et al., 1980).

Naast milieufactoren spelen ook genetische factoren een roL. De sterk op zaadproduktie gerichte granen vertonen minder de neiging tot uitstoeling dan de grassen en de reallocatie naar de zaden is bij granen veel hoger (Mohamed & Marshall, 1979). De Harvest Index van granen ligt rond 50 % (Gifford et al., 1984, die van Engelsmaaigras tussen de 10 en 16 % (Elgersma, pers.comm.)). Bij grassen wordt echter vooral veredeld op de vegetatieve eigenschappen.

Tenslotte zou er concurrentie binnen de bloeiwijze tussen bloempjes plaats kunnen vinden (Marshall, 1985). Bij tarwe is vastgesteld dat bij uitgestelde of verhinderde bestuiving van de oudste bloempjes, de zaadzetting in de jongere bloempjes hoger was. Er vond compensatie plaats. Het korrelaantal was hoger en soms ook het aargewicht (Rawson & Evans, 1970; Evans et al., 1972; Bremner & Rawson, 1978). Het lijkt alsof de oudere reproduktieve organen een

remmende invloed uitoefenen op de jongere. Deze vorm van compensatie is ook gevonden bij *Vicia faba* (Aufhammer et al., 1987) en bij *Zea mays* (Struik, ongepubliceerde gegevens). Publikaties betreffende assimilatenverdeling binnen de bloeiwijze van grassen zijn niet gevonden.

Tijdens bloei en zaadvulling zijn als belangrijkste sinks aanwezig; de aar, de zijspruiten en mogelijk de stengel. Het is onduidelijk in welke mate er concurrentie tussen de verschillende sinks optreedt en wat de invloed van externe omstandigheden hierop precies is. Ook de sinkverhoudingen binnen de aar zijn niet bekend.

4.4 De invloed van sinkeigenschappen

In een gewas kan op verschillende momenten tijdens het groeiseizoen de produktie zowel source- als sinkgelimiteerd zijn. De assimilatenproduktie door de sources kan soms hoger of soms lager zijn dan de opslagcapaciteit van de sinks (Ho, 1988). Uit de literatuur komen veel aanwijzingen dat in het veld de assimilatenhoeveelheid niet beperkend is voor de zaadproduktie bij *L. perenne* (Ong et al., 1978a; Colvill & Marshall, 1984; Marshall & Ludlam, 1989). Wanneer dit zo is zal de beperking van de zaadproduktie vooral liggen in de verdeling van de assimilaten. En die verdeling van assimilaten wordt zeer waarschijnlijk bepaald door de sinkeigenschappen in relatie tot de afstand tussen source en sink (Gifford & Evans, 1981; Gifford et al., 1984). Uit studies met tarwe, waarin twee aren met een verschillend aantal korrels zich op gelijke afstand van eenzelfde blad bevonden, bleek de aar met de meeste korrels onevenredig veel meer assimilaten aan te trekken (Cook & Evans, 1978).

Bij sinkeigenschappen valt onder meer te denken aan sinksterkte, sinkgrootte en sinkactiviteit, waarbij geldt; sinksterkte = sinkgrootte x sinkactiviteit. Sinksterkte is het vermogen van een sinkorgaan om assimilaten te importeren. Een maat voor de sinkgrootte is bijvoorbeeld het aantal cellen. Met sinkactiviteit wordt de metabolische activiteit van het sinkorgaan bedoeld. De importsnelheid van een sinkorgaan kan veranderen door de sinksterkte van dat orgaan te veranderen of die van concurrerende sinks (Ho, 1988).

De rol die hormonen zouden spelen bij de assimilatenverdeling, doordat deze de sinkgrootte en -activiteit zouden reguleren, is reeds lang in onderzoek, vooral die van auxinen en cytokininen (Thomas, 1974; Clifford & Langer, 1975; Phillips, 1975; Clifford, 1977). Over de precieze invloed van hormonen op processen die een rol spelen bij het transport van source naar sink is nog weinig bekend (Gifford & Evans, 1981).

Het wegnemen van sinks heeft een regulerend effect op de verdeling van de assimilaten. Daarnaast is er bij veel gewassen ook sprake van een afnemende fotosynthesesnelheid (King et al., 1967; Mondal et al., 1978; Gifford & Evans, 1981). Ong & Marshall (1975) namen korrels weg uit de bloeiwijze van *Poa annua* en dit verminderde de CO_2-fixatie door de bloeiwijze en het vlagblad. De hoeveelheid geëxporteerde assimilaten vanuit het vlagblad nam af, maar die vanuit de bloeiwijze nam toe en wel naar stengel, zijspruiten en wortel.

Verder lijkt het effect op de assimilatenverdeling af te hangen van het type sink dat weggenomen wordt. Wanneer de korrels (generatieve sink) als sinkorgaan wegvallen hopen assimilaten zich op in de stengel. Ook bij tarwe (Kühbauch & Thome, 1989) en maïs (Prioul & Schwebel-Dugué, 1992) is dit waargenomen. Wanneer zaden weggenomen zijn kunnen deze

niet weer opnieuw aangelegd worden. De sinksterkte is daar tot nul gedaald. Griffith (1992) nam zijspruiten (vegetatieve sink) weg bij vrijstaande planten van *L. multiflorum* ten tijde van de bloei. Dit had een ophoping van assimilaten in de bovenste internodiën van de stengel tot gevolg en verlaagde stengel- en aar versgewicht. Het wegnemen van de zijspruiten een week voor de bloei reduceerde bij *L. perenne* het aantal bloempjes per pakje (Martins, 1990). Na het wegnemen van de zijspruiten vond Griffith (1992) weer nieuwe vorming van zijspruiten uit andere okselknoppen. Deze hielden de sinksterkte in stand.
Het wegnemen van de zijspruiten bij tarwe verhoogde echter de zaadopbrengst (Mohamed & Marshall, 1979). Dit laat nogmaals de invloed van genetische factoren op de assimilatenverdeling zien.

5. Onderzoekstechnieken

5.1 Beïnvloeding van de koolstofstromen

Bij het onderzoek naar de assimilatenverdeling in de plant wordt veel gebruik gemaakt van manipulaties van de plant. Dit houdt in dat plantedelen weggenomen worden, hetzij source- hetzij sinkorganen. Ook het variëren van externe omstandigheden zoals temperatuur, lichtintensiteit en -kwaliteit zijn mogelijkheden om de sink-source relaties te beïnvloeden. Het doel van dergelijke ingrepen is het beïnvloeden van óf de assimilatenbeschikbaarheid óf de sinksterkte.

Het variëren van de assimilatenbeschikbaarheid kan gebeuren door het wegnemen van bladeren (o.a. Clifford & Langer, 1975; Prioul & Schwebel-Dugué, 1992) of beschaduwing c.q. bijbelichting (o.a. Spiertz, 1977; Spiertz & Ellen, 1972). Thorpe & Lang (1983) remden het assimilatentransport uit bladeren door de stengel af te koelen en beïnvloedden zo de assimilatenbeschikbaarheid in de plant. Van één jong blad werd de stengel niet gekoeld. De richting van de assimilatenstroom van en naar dit blad varieerde. Tijdens de afkoeling exporteerde dit jonge blad assimilaten, anders importeerde het.

Thorne & Koller (1974) vonden bij soja dat de fotosynthesesnelheid van een 'source'-blad met 50 % toenam, nadat de rest van de bladeren gedurende 8 dagen beschaduwd was. Dit geeft aan dat wanneer een deel van de bladeren beschaduwd of weggenomen wordt, de assimilatenbeschikbaarheid niet evenredig sterk zal afnemen.

Jenner (1980) vond dat beschaduwing bij tarwe de beschikbare hoeveelheid sucrose voor de zaden deed afnemen, maar geen effect had op oplosbare amino-verbindingen in het zaad. Andere factoren naast koolhydraten spelen wellicht een rol bij de effecten van beschaduwing op de zaadontwikkeling.

Uit de literatuur komen sterke aanwijzingen dat licht niet alleen de assimilatenproduktie beïnvloedt, maar ook de sinksterkte van zich ontwikkelende zaden. Evans et al. (1972) vermeldden ongepubliceerde resultaten van Rawson waaruit bleek dat beschaduwing de zaadzetting bij tarwe sterk remde, terwijl volledige remming van de fotosynthese van de aar met DCMU geen nadelig effect op de zaadzetting had. Niet vermeld wordt hoe intensief de beschaduwing was. Heindl & Brun (1983) concludeerden uit experimenten met soja dat licht (zowel rood als wit) een regulerende rol speelt bij de abscissie en het vermogen van bloemen en jonge peulen om assimilaten op te nemen. Dit zou dan een fotomorfogenetisch effect betreffen, omdat toediening van zeer lage dosis licht het nadelige effect van beschaduwing onderin het gewas al konden opheffen. De auteurs hebben de spectrale samenstelling van het licht in het gewas niet gemeten. Bekend is echter dat door blad gefilterd licht een lagere rood:verrood verhouding heeft (Kasperbauer, 1971; Ballaré et al., 1990). Toediening van rood of wit licht brengt deze rood:verrood verhouding weer omhoog. Wellicht dat fytochroom een rol speelt bij het assimilatentransport naar en de abscissie van zaden.

Bij het wegnemen van sinkorganen, zoals zaden, wordt verondersteld dat daarmee de hoeveelheid beschikbare assimilaten voor de resterende sinks toeneemt. Compensatie door een

verhoogde zaadzetting in overgebleven bloempjes is bij meerdere soorten gevonden (3.3.4). Het wegnemen van pakjes uit de aar bij tarwe verhoogde weliswaar de assimilatenbeschikbaarheid voor de resterende zaden, maar verhoogde de import van sucrose en het zetmeelgehalte in de zaden niet. Wel bevatten de zaden meer amino verbindingen (Jenner, 1980). Verder is een afnemende fotosynthesesnelheid na het wegnemen van sinks is bij meerdere gewassen waargenomen (3.4).

Beïnvloeding van de sinksterkte via de sinkactiviteit is mogelijk door de temperatuur van het sinkorgaan te veranderen. De metabolische activiteit van dat orgaan neemt af met afnemende temperatuur (Ho, 1988). Een verhoging van de aartemperatuur bij tarwe verhoogde in eerste instantie de groeisnelheid van de aar, maar versnelde de veroudering. Het zaadgewicht en de opbrengst waren lager (Ford et al., 1976; Spiertz, 1977).

Bovenstaande voorbeelden laten zien dat beïnvloeding van óf de assimilaten-beschikbaarheid óf de sinksterkte via manipulaties mogelijk is, maar dat de resultaten zorgvuldig beoordeeld moeten worden.

5.2 Vastleggen van koolstofstromen met $^{13}CO_2$-labelling

Het volgen van de koolstofstromen in de plant is mogelijk door de plant gelabeld CO_2 te laten fixeren. Een beproefde techniek is de labelling met radioactief $^{14}CO_2$. Nog relatief nieuw is de methode waarbij gebruik gemaakt wordt van $^{13}CO_2$. ^{13}C is een niet-radio-actieve, stabiele koolstofisotoop. Hoewel de detectie van ^{13}C minder gevoelig is dan die van ^{14}C, zijn verschillen tussen monsters van 0,7 promille (0,03 µmol) ^{13}C te detecteren. Het voordeel is dat ^{13}C stabiel is en geen risico's voor de gezondheid met zich meebrengt (Svejcar et al.,1990).
In de natuur maakt ^{12}C 98,89 % van alle koolstof uit en ^{13}C 1,11 %. De $^{13}C/^{12}C$ ratio in natuurlijke materialen schommelt dicht rondom dit gemiddelde als gevolg van discriminatie tijdens fysische, chemische en biologische processen. De $^{13}C/^{12}C$ ratio in de atmosfeer is niet constant. Deze daalt langzaam als gevolg van het gebruik van fossiele brandstoffen. Ook is er een jaarlijkse fluctuatie die verband houdt met de hoeveelheid biomassa op de velden (Farquhar et al., 1989).

De plant fixeert zowel $^{13}CO_2$ als $^{12}CO_2$. Tijdens het labellen wordt de verhouding tussen $^{13}CO_2$ en $^{12}CO_2$ in de omringende lucht iets veranderd. Dit leidt tot een geringe verandering van de $^{13}C/^{12}C$ ratio in de plant. Deze kleine verschillen zijn te meten met een gas isotoop ratio massa spectrometer (GIRMS). Deze meet het verschil in $^{13}C/^{12}C$ ratio tussen het monster en een standaard met een bekende $^{13}C/^{12}C$ ratio. Dit geeft de zgn. delta ^{13}C waarde, uitgedrukt in promille (Boutton, 1991).

Er wordt vanuit gegaan dat de ^{13}C zich in de plant net zo gedraagt als de ^{12}C. Tijdens de fotosynthese vindt echter al enige discriminatie plaats tegen ^{13}C. Voor C_3 planten bedraagt deze circa 20 promille en voor C_4 planten circa 5 promille. Dat wil zeggen dat de $^{13}C/^{12}C$ ratio in de plant respectievelijk 20 en 5 delen per duizend lager is dan in de omringende lucht. Naast discriminatie tijdens de fotosynthese vindt ook discriminatie plaats tijdens andere biochemische processen (transport, membraanpassages) in de plant (Farquhar et al.,1989).

Tijdens labelling is het zaak om de delta ^{13}C waarde in de plant voldoende te veranderen, omdat er tussen labelling en oogst weer 'verdunning' optreedt van het gefixeerde $^{13}CO_2$. Ook verdwijnt er $^{13}CO_2$ via de ademhaling. Kouchi & Yoneyama (1984a) vonden 48 uur na labelling een verademingsverlies van 27-32 % en Svejcar et al. (1990) 29 % na 24 uur. Yamagata et al. (1987) maten dat het meeste verlies optrad in de eerste vier dagen na labelling. Op 54 dagen na labelling bevond zich nog 40 % van het label in de plant. Kouchi & Yoneyama (1984a,b) en Yamagata et al. (1987) hebben bij soja laten zien dat met $^{13}CO_2$ labelling zeer goed de koolstofstromen vanaf bloei tot afrijping in kaart te brengen zijn.

Er zijn grofweg twee labelingstechnieken te onderscheiden; pulse-chase- en steady-state-labelling. Bij de pulse-chase-methode wordt gedurende enige tijd aan de plant ^{13}C in de vorm van CO_2 aangeboden. De labelling duurt enkele tientallen minuten (Svejcar et al., 1990). Tijdens labelling volgens de steady-state methode worden de CO_2-concentratie in de begassingskamer en de $^{13}C/^{12}C$ ratio constant gehouden. De labelling kan net zo lang volgehouden worden als men nodig acht. In vergelijking met pulse-chase vereist deze methode een technisch meer geavanceerde opstelling (Kouchi & Yoneyama, 1984a,b; Yamagata et al.,1987; Cliquet et al.,1990).
Bij beide methoden zijn na labelling vanuit de delta ^{13}C waarde te berekenen;

- de absolute ratio $^{13}C/^{12}C$ in het monster (plantedeel/ inhoudsstof). **R**.
- de fractie ^{13}C t.o.v. C totaal in het monster. **F**, fractional abundance = $\mathbf{R/_{R+1}}$
- de totale hoeveelheid ^{13}C in het monster. **F** x mg C.
- de verrijking van ^{13}C in het monster in vergelijking met een ongelabelde controleplant: **atom excess** = **F** monster - **F** controle.

> Een voordeel van steady-state-labelling is dat niet alleen de fractie nieuw gefixeerde ^{13}C berekend kan worden, maar ook de fractie nieuw gefixeerde ^{12}C en dus het totaal aan nieuw vastgelegde C. Deze grootheid wordt de relatieve specifieke activiteit/allocatie (**RSA**) genoemd.

- **RSA** = (**F** monster - **F** controle plant) / (**F** gas - **F** controle gas)

Dit is de ratio van het 'atom excess' in het monster en het 'atom excess' in het toegediende gas. Wanneer een plantedeel geheel nieuw is aangelegd zal de RSA de waarde 1 hebben. De verhoging van de 'fractional abundance' in het monster ten opzicht van een controleplant is dan evenhoog als in het toegediende gas. Dit geldt echter alleen wanneer alle CO_2 gefix-eerd is, er treedt dan geen discriminatie op (Farquhar et al., 1989). Wanneer er een onbegrensde toevoer van CO_2 is, zal voor de discriminatie gecorrigeerd moeten worden. De RSA vermenigvuldigd met de massa C geeft het totaal aan nieuw vastgelegde C in de plant/orgaan/inhoudsstof (Cliquet et al.,1990).

Een voordeel van steady-state-labelling is verder dat alle C-pools na verloop van tijd in gelijke mate gelabeld worden. Dit maakt het mogelijk koolstofstromen direct te kwantificeren en bijvoorbeeld te bepalen wat de bijdrage aan een bepaalde C-pool is van reserves ten opzichte van actuele fotosynthese.

Voor accurate berekeningen is het noodzakelijk een groeianalyse parallel aan de labelling uit te voeren, om de drooggewichten en hoeveelheid C in de plantedelen nauwkeurig vast te stellen.

Literatuur

Andersen S. & S. Andersen, 1975.
Hosttidsforsog med frograss. Tidsskrift for Froavl 63 (754): 176-184.

Anonymus, 1980.
Teelt van graszaad. Actualiteiten 20. Federatie van verenigingen voor bedrijfsvoorlichting voor Zeeland, Goes.

Anslow RC, 1963.
Seed formation in perennial ryegrass. I Anther exertion and seed set. Journal of the British Grassland Society 18: 90-96.

Anslow RC, 1964.
Seed formation in perennial ryegrass. II Maturation of seed. Journal of the British Grassland Society 19: 349-357.

Aufhammer W., I. Götz & M. Peter, 1987.
Yield performance of field beans (*Vicia faba* L.) in relation to interactions between inflorescences at different nodes. Journal of Agricultural Science, Cambridge 108: 479-486.

Ballaré C.L., A.L. Scopel & R.A. Sánchez, 1990.
Far-red radiation reflected from adjacent leaves: An early signal of competition in plant canopies. Science 247: 329-331.

Beddows A.R., 1931.
Seed setting and flowering in various grasses. Welsh Plant Breeding Station Series, H12: 5-99.

Bennet H.W., 1959.
The effect of moisture and light on flowering in Paspalum species. Agronomy Journal 51: 191-.

Bernier G., J.M. Kinet & R.M. Sachs, 1981.
The physiology of flowering, Vol. 1. CRC press, Inc., Boca Raton.

Bidinger F., R.B. Musgrave & R.A. Fischer, 1977.
Contribution of stored pre-anthesis assimilate to grain yield in wheat and barley. Nature 270: 431-433.

Blondon F., 1972.
Facteurs externes et determinisme floral d'un clone de *Dactylis glomerata* L. In: P. Chouard & N. de Bilderling (Eds.), Phytotronique et prospective horticole, 135-181. Gauthier-Villars, Paris.

Bommer D., 1959.
Über Zeitpunkt und Verlauf der Blütendifferenzierung bei perennierender Gräsern. Zeitschrift für Acker- und Pflanzenbau 109: 95-118.

Bommer D., 1961.
'Samen'-Vernalisation perennierender Gräserarten. Zeitschrift für Pflanzenzucht 46: 105-111.

Bonnett G.D. & L.D. Incoll, 1992.
The Potential Pre-Anthesis and Post-Anthesis Contributions of Stem Internodes to Grain Yield in Crops of Winter Barley. Annals of Botany 69 (3): 219-225.

Boutton T.W., 1991.
Stable carbon isotope ratios of natural materials: I. Sample preparation and mass spectrometric analysis. In: D.C.Coleman & B.Fry (Eds.), Carbon isotope techniques. Academic press, San Diego.

Boyle M.G., J.S. Boyer & P.W. Morgan, 1991a.
Stem infusion of maize plants. Crop Science 31: pp. 1241-1245.

Boyle M.G., J.S. Boyer & P.W. Morgan, 1991b.
Stem infusion of liquid culture medium prevents reproductive failure of maize at low water potential. Crop Science 31: 1246-1252.

Bremner P.M & H.M. Rawson, 1978.
The weigths of individual grains of the wheat ear in relation to their growth potential, the supply of assimilate and interaction between grains. Australian Journal of Plant Physiology 5: 61-72.

Brewbaker J.L. & S.K. Majumber, 1959.
Proceedings of the 9th International Botanical Congress, University of Toronto press, Toronto, 1503-1508.

Bucher H.P., F. Mächler & J. Nösberger, 1987.
Storage and remobilization of carbohydrates in meadow fescue (*Festuca pratensis* huds.). Journal of Plant Physiology 130: 101-109.

Burbidge A., P.D. Hebblethwaite & J.D. Ivins, 1978.
Lodging studies in *Lolium perenne* grown for seed. 2. Flore site utilization. Journal of Agricultural Science, Cambridge 90: 269-274.

Calder D.M., 1966. Inflorescence induction and initiation in the gramineae. In: Milthorpe & JD Ivins (Eds.), The growth of cereals and grasses, FL. Butterworth, London, 59-73.

Canode C.L., M.A. Maun, I.D. Teare, 1972.
Initiation of inflorenscences in cool-season perennial grasses. Crop Science 12: 19-22.

Canode C.L & M. Perkins, 1977.
Floral induction and initiation in Kentucky bluegrass cultivars. Crop Science 17: 278-282.

Clemence T.G.A., 1982.
Seed production by amenity ryegrass (*Lolium perenne*). PhD thesis, University of Nottingham, School of Agriculture.

Clemence T.G.A. & P.D. Hebblethwaite, 1984. An appraisal of ear, leaf and stem $^{14}CO_2$-assimilation, ^{14}C-assimilate distribution and growth in a reproductive seed crop of amenity *Lolium perenne*. Annals of Applied Biology 105: 319-327.

Clifford P.E. & R.H.M. Langer, 1975.
Pattern of control of distribution of ^{14}C-assimilates in reproductive plants of *Lolium multiflorum* Lam. var. Westerwoldicum. Annals of Botany 39: 403-411.

Clifford P.E., 1977.
Tiller bud suppression in reproductive plants of *Lolium multiflorum* Lam. var. Westerwoldicum. Annals of Botany 41: 605-615.

Clifford P.E., C. Marshall & G.R. Sagar, 1973.
The reciprocal transfer of radiocarbon between a developing tiller and its parent shoot in vegetative plants of *Lolium multiflorum* Lam. Annals of Botany 37: 777-785.

Cliquet J.B., E. Deléens, A. Bousser, M. Martin, J.C. Lescure, J.L. Prioul, A. Mariotti & J.F. Morot-Gaudry, 1990. Estimation of carbon and nitrogen allocation during stalk elongation by ^{13}C and ^{15}N tracing in *Zea mays* L. Plant Physiology 92: 79-87.

Colvill K.E. & C. Marshall, 1981.
The patterns of growth, assimilation of $^{14}CO_2$ and distribution of ^{14}C-assimilate within vegetative plants of *Lolium perenne* at low and high density. Annals of Applied Biology 99: 179-190.

Colvill K.E. & C. Marshall, 1984.
Tiller dynamics and assimilate partitioning in *Lolium perenne* with particular reference to flowering. Annals of Applied Biology 104: 543-557.

Cooper J.P., 1951.
Studies on growth and development in *Lolium*. II. Pattern of bud development of the shoot apex and its ecological significance. Journal of Ecology 39: 228-270.

Cooper J.P., 1952.
Studies on growth and development in *Lolium*. III. Influence of season and latitude on ear-emergence. Journal of Ecology 40: 352-379.

Cooper J.P., 1960.
The use of controlled life-cycles in the forage grasses and legumes. Herbage Abstracts 30: 71-79.

Cook M.G & L.T. Evans, 1978.
Effect of relative size and distance of competing sinks on the distribution of photosynthetic assimilates in wheat. Australian Journal of Plant Physiology 5: 495-509.

Davies T.D., G.L. Stevens & N. Sankhla, 1988.
Triazole plant growth regulators. Horticultural Review 10: 63-105.

Daynard T.B., J.W. Tanner & D.J. Hume, 1969.
Contribution of stalk soluble carbohydrates to grain yield in corn (*Zea mays* L.). Crop Science 9: 831-834.

Elgersma A., 1985.
Floret site utilization in grasses: definitions, breeding perspectives and methodology. Journal of Applied Seed Production 3: 50-54

Elgersma A., 1989.
Literatuuroverzicht over het effect van milieufactoren op bloei en zaadontwikkeling in Engels raaigras. (ongepubliceerd).

Elgersma A., 1990.
Seed yield related to crop development and to yield components in nine cultivars of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Euphytica 49: 141-154.

Elgersma A., 1991.
Floret site utilization in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Journal of Applied Seed Production (Supplement) 9: 38-43.

Elgersma A. & R. Sniezko, 1988.
Cytology of seed development related to floret position in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Euphytica S: 59-68.

Elgersma A., J.E. Leeuwangh & H.J. Wilms, 1988.
Abscission and seed shattering in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Euphitica S: 51-57.

Elgersma A., A.P.M. den Nijs & F.A. van Eeuwijk, 1989a.
Genetic variation for seed yield components of Westerwold ryegrass (*Lolium multiflorum* var. *westerwoldicum*). Netherlands Journal of Agricultural Science 37: 119-127.

Elgersma A., A.G. Stephenson & A.P.M. den Nijs, 1989b.
Effects of genotype and temperature on pollen tube growth in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Sexual Plant Reproduction 2: 225-230.

Elgersma A. & J. van Hateren, 1991.
Development of in vitro methods for fertilization studies in perennial ryegrass. In: A.P.M. den Nijs & A. Elgersma (Eds.), Fodder Crops Breeding: Achievements, novel strategies and biotechnologie. Proceedings of the 16th Meeting of the Fodder Crop Section of Eucarpia. Wageningen, Netherlands, 179-180.

Emecz T.J., 1961.
???. Report Welsh Plant Breeding Station for 1960, 125-126.
Ene B.N & E.W. Bean, 1975.
Some differences between certified seed lots of perennial ryegrass and their relationships to nitrogen supply and moisture stress during seed development. from: Griffths et al., 1973.
Evans L.T., 1960a.
The influence of temperature on flowering in species of *Lolium* and in *Poa pratensis*. Journal of Agricultural Science 54: 410-416.
Evans L.T., 1960b.
The influence of environmental conditions on inflorescence development in some long-day grasses. The New Phytologist 59: 163-174.
Evans L.T., 1964.
Reproduction. In: C Barnard (Ed), Grasses and grasslands, Macmillan, New York, 126-153
Evans L.T., J. Bingham & M.A. Roskams, 1972.
The pattern of grain set within the ears of wheat. Australian Journal of Biological Science 25: 1-8.
Evans T.A., 1954.
The effect of nitrogen applications at different dates on the seed yield of pedigree rasses. Journal of the British Grassland Society 9: 53-60.
Farquhar G.D., J.R. Ehleringer & K.T. Hubick, 1989.
Carbon isotope discrimination and photosynthesis. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 40: 503-537.
Field-Dodgson J.R.C., 1971.
The effect of nitrogen on ryegrass seed production. MagrSc thesis, Lincoln College, New Zealand.
Ford M.A., I. Pearman & G.N. Thorne, 1976.
Effects of variation in ear temperature on growth and yield of spring wheat. Annals of Applied Biology 82: 317-333.
Gifford R.M. & L.T. Evans, 1981.
Photosynthesis, carbon partitioning, and yield. Annual Review of Plant Physiology 32: 485-509.
Gifford R.M., J.H. Thorne, W.D. Hitz & R.T. Giaquinta, 1984.
Crop productivity and photoassimilate partitioning. Science 225: 801-808.
Gregory F.G., 1948.
The control of flowering in plants. Symposium of the Society of Experimental Biology 2: 75-103.
Griffith S.M., 1992.
Changes in Post-Anthesis Assimilates in Stem and Spike Components of Italian Ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam) .1. Water Soluble Carbohydrates. Annals of Botany 69 (3): 243-248.
Griffiths D.J., H.M. Roberts & J. Lewis, 1973.
The seed yield potential of grasses. Report Welsh Plant Breeding Station 1973, 117-123.
Halmann M., 1990.
Synthetic plant growth regulators. Adr. Agron. 43: 48-105.
Hampton J.G. & P.D. Hebblethwaite, 1983a.
The effects of the environment at anthesis on the seed yield and yield components of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cv S24. Journal of Applied Seed Production 1: 21-22.

Hampton J.G. & P.D. Hebblethwaite, 1983b.
Yield components of the perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) seed crop. Journal of Applied Seed Production 1: 23-25.

Hampton J.G. & P.D. Hebblethwaite, 1984.
Experiments with vegetative tiller manipulation in the perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) seed crop by the application of growth regulators. Journal of Applied Seed Production 2: 1-7.

Hampton J.G. & P.D. Hebblethwaite, 1985.
The effect of growth retardant application on floret site utilisation and assimilate distribution in ears of perennial ryegrass cv. S24. Annals of Applied Biology 107: 127-136.

Hampton J.G., T.G.A. Clemence & P.D. Hebblethwaite, 1987.
The effect of lodging on ^{14}C-assimilate distribution after anthesis in *Lolium perenne* cv S24, grown for seed. Grass and Forage Science 42: 121-127.

Hebblethwaite P.D., 1977.
Irrigation and nitrogen studies in S.23 ryegrass grown for seed. 1. Growth, development, seed yield components and seed yield. Journal of Agricultural Science, Cambridge 88: 605-614.

Hebblethwaite P.D., 1987.
The chemical control of growth, development and yield in *Lolium perenne* grown for seed. Journal of Applied Seed Production 5: 54-59.

Hebblethwaite P.D. & A. Burbidge, 1976.
The effect of maleic hydrazide and chlorocholine chloride on the growth, seed yield components and seed yield of S.23 ryegrass. Journal of Agricultural Science, Cambridge 86: 343-353.

Hebblethwaite P.D. & J.D. Ivins, 1977.
Nitrogen studies in *Lolium perenne* grown for seed. 1. Level of application. Journal of the British Grassland Society 32: 195-204.

Hebblethwaite P.D. & J.D. Ivins, 1978.
Nitrogen studies in*Lolium perenne* grown for seed. 2. Timing of nitrogen application. Journal of the British Grassland Society 33: 159-166.

Hebblethwaite P.D., D. Wright & A. Noble, 1980.
Some physiological aspects of seed yield in *Lolium perenne* L. (perennial ryegrass). In: P.D. Hebblethwaite (Ed.), Seed Production, Butterworths, London, 71-90.

Hebblethwaite P.D. & J.G. Hampton, 1981.
Physiological aspects of seed production in perennial ryegrass. Eucarpia, report meeting Fodder Crop Section, 1981, 17-32.

Hebblethwaite P.D., J.G. Hampton & J.S. MacLaren, 1982.
The chemical control of growth, development and yield of *Lolium perenne* grown for seed. In: J.S. MacLaren (Ed.), Chemical manipulation of crop growth and development. Butterworths, London, 505-523.

Heide O.M., 1980.
Studies on flowering in *Poa pratensis* L. ecotypes and cultivars. Meld. Norg. LandbrHögsk. 59 (14): 1-27.

Heide O.M., 1984.
Flowering requirements in *Bromus inermis*, a short-long-day plant. Physiologia Plantarum 62: 59-64.

Heide O.M., 1986.
Primary and secundary induction requirements for flowering in *Alopecurus pratensis*. Physiologia Plantarum 66: 251-256.

Heide O.M., 1987.
Photoperiodic control of flowering in *Dactylis glomerata*, a true short-long-day plant. Physiologia Plantarum 70: 523-529.

Heide O.M., M.G. Bush & L.T. Evans, 1987.
Inhibitory and promotive effects of gibberellic acid on floral initiation and development in *Poa Pratensis* and *Bromus inermis*. Physiologia Plantarum 69: 342-350.

Heindl J.C. & W.A. Brun, 1983.
Light and shade effects on abscission and ^{14}C-photoassimilate partitioning among reproductive structures in soybean. Plant Physiology 73: 434-439.

Hertzch W., W. Nitzsche, O. Valle & K. Bergt, 1964.
Schosserbildung von *Lolium perenne* beim Anbau an Orten verschiedener geographischer Breite. Zeitschrift für Pflanzenzucht 51: 347-353.

Hill M.J., 1971.
A study of seed production in 'Grasslands Ranui' perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), 'Grasslands Kahu', timothy (*Phleum pratense* L.) and prairiegrass (*Bromus unioloides* H.B.K.). PhD thesis, Massey University, New Zealand.

Hill M.J., 1980.
Temperate pasture grass-seed crops: formative factors. In: P.D. Hebblethwaite (Ed.), Seed Production. Butterworths, London, 137-149.

Hill M.J. & B.R. Watkin, 1975a.
Seed production studies on perennial ryegrass, timothy and prairie grass. I. Effect of tiller age on tiller survival, ear emergence and seedhead components. Journal of the British Grassland Society 30: 63-71.

Hill M.J. & B.R. Watkin, 1975b.
Seed production studies on perennial ryegrass, timothy and prairie grass II. Changes in physiological components during seed development and time and method of harvesting for maximum yield. Journal of the British Grassland Society 30: 131-140.

Ho L.C., 1988.
Metabolism and compartimentation of imported sugars in sink organs in relation to sink strength. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 39: 355-378.

Horeman G.H., 1989.
Effects of fungicides on perennial ryegrass seed production. In: Proceedings of the XVIth International Grassland Congress, 1989. Nice, France.

Hyde E.O.C., M.A. McLeavy & G.S. Harris, 1959.
Seed development in ryegrass, and in red and white clover. New Zealand Journal of Agricultural Research 2: 947-952.

Jenner C.F., 1980.
Effects of shading or removing spikelets in wheat: testing assumptions. Australian Journal of Plant Physiology 7: 113-121.

Johnston M.E.H., 1960.
Investigations into seed setting in cocksfoot seed crops in New Zealand. New Zealand Journal of Agricultural Research 3: 345-357.

Jones M.D. & L.C. Newell, 1946.
Pollination cycles and pollen dispersal in relation to grass improvement. University of Nebraska College, Agricultural Experimental Station Research Bulletin 148.

Judel G.K. & K. Mengel, 1982.
Effect of shading on nonstructural carbohydrates and their turnover in culms and leaves during the grain filling period of spring wheat. Crop Science 22: 958-962.

Kasperbauer M.J., 1971.
Spectral distribution of light in a tobacco canopy and effects of end-of-day light quality on growth and development. Plant Physiology 47: 775-778.

King R.W., I.F. Wardlaw & L.T. Evans, 1967.
Effect of assimilate utilization on photosynthetic rate in wheat. Planta 77: 261-276.

Kleinendorst A., 1969.
The effect of low temperature around shoot, growing point and root on the vernalization of *Lolium perenne*. Jaarboek Instituut voor Biologisch en Scheikundig Onderzoek van Landbouwkundige Gewassen 1969: 11-18.

Kleinendorst A., 1974.
Some effects of vernalization on the reproductive capacity of *Lolium perenne* L. Netherlands Journal of Agricultural Science 22: 6-21.

Kleinendorst A. & H.J. ten Hove, 1957.
Onderzoek aan het groeipunt bij enkele grassen. Jaarboek Instituut voor Biologisch en Scheikundig Onderzoek van Landbouwlundige Gewassen 1957: 39-49.

Kleinendorst A. & A. Sonneveld, 1965a.
Influence of the number of days in continuous light, after vernalization, on shooting and morphology of the inflorescences of two types of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Jaarboek Instituut voor Biologisch en Scheikundig Onderzoek van Landbouwkundige Gewassen 1965: 41-48.

Kleinendorst A. & A. Sonneveld, 1965b.
Influence of the vernalization period and light intensity on shooting and composition of the inflorescence of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Jaarboek Instituut voor Biologisch en Scheikundig Onderzoek van Landbouwlundige Gewassen 1965: 49-55.

Kleinendorst A. & A. Sonneveld, 1966.
Influence of light intensity and temperature before and after attaining the reproductive phase on the behaviour of perennialryegrass (*Lolium perenne* L.). 1966: 19-29.

Kouchi H. & T. Yoneyama, 1984a.
Dynamics of carbon photosynthetically assimilated in nodulated soya bean plants under steady state conditions. 1.Development and application of $^{13}CO_2$ assimilation system at a constant 13C abundance. Annals of Botany 53: 875-882.

Kouchi H. & T. Yoneyama, 1984b.
Dynamics of carbon photosynthetically assimilated in nodulated soya bean plants under steady state conditions. 2. The incorporation of ^{13}C into carbohydrates, organic acids, amino acids and some storage compounds. Annals of Botany 53: 883-896.

Kühbauch W. & U. Thome, 1989.
Nonstructural carbohydrates of wheat stems as influenced by sink-source manipulations. Journal of Plant Physiology 134: 243-250.

Lang A., 1965.
Physiology of flower initiation. In: W. Ruhland (Ed.), Encyclopedia of Plant Physiology, Vol. 15, 1380-1536. Springer-Verlag, Berlin, 1380-1536.

Langer R.H.M., 1966.
Mineral nutrition of grasses and cereals. In: Milthorpe & Ivins (Ed.), Growth of cereals and grasses. Butterworths, London.

Langer R.H.M., 1972.
How grasses grow. Institute of Biology, Studies in Biology no 34. Edward Arnold Limited, London.

Langer R.H.M., 1980.
Growth of the grass plant in relation to seed production. In: Herbage Seed Production, Grassland Research and Practice Series No1. New Zealand Grassland Association, 6-11.

Lambert D.A., 1963.
The influence of density and nitrogen in seed production stands of S.37 cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.). Journal of Agricultural Science, Cambridge 61: 361-373.
Lambert D.A., 1966.
?. Proceedings of the Conference on Timothy Seed Production, West of Scotland Agricultural College, I.V. Hunt (ed), Auchincruive, Ayr 4-12.
Latting J., 1972.
Differentiation in the grass inflorescence. In: The biology and utilization of grasses. V.B. Younger & C.M. McKell (eds). Academic Press, London.
Lindsey K.E. & M.L. Peterson, 1962.
High temperature suppression of flowering in *Poa pratensis* L. Crop Science 2: 71-74.
Marshall C., 1985.
Developmental and physiological aspects of seed production in herbage grasses. Journal of Applied Seed Production 3: 43-49.
Marshall C. & G.R. Sagar, 1968.
The interdependence of tillers in *Lolium multiflorum* lam.- a Quantitative assessment. Journal of Experimental Botany 19 (61): 785-794.
Marshall C. & D. Ludlam, 1989.
The pattern of abortion of developing seeds in *Lolium perenne* L. Annals of Botany 63: 19-27.
Martins V.M.M., 1990.
The effect of plant growth regulators on floret dynamics and seed production of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). PhD thesis, University of Guelph.
Meijer W.J.M., 1985.
The effect of uneven ripening on floret site utilization in perennial ryegrass seed crops. Journal of Applied Seed Production 3: 55-57.
Meijer W.J.M. & S. Vreeke, 1988.
Nitrogen fertilization of grass seed crops as related to soil minaral nitrogen. Netherlands Journal of Agricultural Science 36: 375-585.
Mohamed G.E.S. & C. Marshall, 1979.
Physiological aspects of tiller removal in spring wheat. Journal of Agricultural Science 93: 457-463.
Mondal M.H., W.A. Brun & M.L. Brenner, 1978.
Effects of sink removal on photosynthesis and senescence in leaves of soybean (*Glycine max* L.) plants. Plant Physiology 61: 394-397.
Napp-Zinn K., 1961.
?. In: Encyclopedia of Plant Physiogy, Vol. 16, W. Ruhland (ed). Springer-Verlag, Berlin, 24-.
Nyahoza F., C. Marshall & G.R. Sagar, 1973.
The interrelationship between tillers and rhizomes of *Poa pratensis* L. An autoradiographic study. Weed Research 13: 301-309.
Olugbemi L.B., 1968.
?. MAgricSc thesis, University of Canterbury, New Zealand.
Ong C.K., 1978.
The physiology of tiller death in grasses. 1.The influence of tiller age, size and position. Journal of the British Grassland Society 33: 197-203.
Ong C.K. & C. Marshall, 1975.
Assimilate distribution in *Poa annua* L. Annals of Botany 39: 413-421.

Ong C.K., K.E. Colvill & C. Marshall, 1978a.
Assimilation of 14CO2 by the inflorescence of *Poa annua* L. and *Lolium perenne* L. Annals of Botany 42: 855-862.

Ong C.K., C. Marshall & G.R. Sagar, 1978b.
The physiology of tiller death in grasses. 2.Causes of tiller death in a grass sward. Journal of the British Grassland Society 33: 205-211.

Parsons A.J. & M.J. Robson, 1981.
Seasonal changes in the physiology of S.24 perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). 3. Partitioning of assimilates between root and shoot during the transition from vegetative to reproductive growth. Annals of Botany 48: 733-744.

Pegler R.A.D., 1976.
Harvest ripeness in grass seed crops. Journal of the British Grassland Society 31: 7-13.

Phillips I.D.J., 1975.
Apical dominance. Annual Review of Plant Physiology 26: 341-367.

Pollock C.J., 1986.
Fructans and the metabolism of sucrose in vascular plants. New Phytologist 104: 1-24.

Pollock C.J. & T. Jones, 1979.
Seasonal patterns of fructan metabolism in forage grasses. New Phytologist 83: 9-15.

Prioul J.L. & N. Schwebel-Dugué, 1992.
Source-sink manipulations and carbohydrate metabolism in maize. Crop Science 32: 751-756.

Prud'homme M.P., B. Gonzalez, J.P. Billard & J. Boucaud, 1992.
Carbohydrate Content, Fructan and Sucrose Enzyme Activities in Roots, Stubble and Leaves of Ryegrass (*Lolium perenne* L.) as Affected by Source Sink Modification After Cutting. Journal of Plant Physiology 140 (3): 282-291.

Purvis O.N. & F.G. Gregory, 1937.
Studies on vernalization of cereals, I. Annals of Botany 1: 569-592.

Purvis O.N. & F.G. Gregory, 1952.
Studies in vernalization. XII. The reversibility by high temperature of the vernalized condition in Petkus winter rye. Annals of Botany 16: 1-21.

Rawson H.M. & L.T. Evans, 1970.
The pattern of grain growth within the ear of wheat. Australian Journal of Biological Science 23: 753-764.

Ryle G.J.A., 1964.
The influence of date of origin of the shoot and level of nitrogen on ear size in three perennial grasses. Annals of Applied Biology 53: 311-323.

Ryle G.J.A., 1965.
Effects of daylength and temperature on ear size in S.24 perennial ryegrass. Annals of Applied Biology 55: 107-114.

Ryle G.J.A., 1966.
Physiological aspects of seed yield in grasses. In: The growth of cereals and grasses. Milthorpe & Ivins (eds). Butterworths, London, 106-118.

Ryle G.J.A., 1967.
Effects of shading on inflorescence size and development in temperate perennial grasses. Annals of Applied Biology 59: 297-308.

Ryle G.J.A., 1970.
Distribution patterns of assimilated ^{14}C in vegetative and reproductive shoots of *Lolium perenne* and *Lolium temulentum*. Annals of Applied Biology 66: 155-167.

Ryle G.J.A., 1972.
A quantitative analysis of the uptake of carbon and of the supply of ^{14}C-labelled assimilates to areas of meristematic growth in *Lolium temulentum*. Annals of Botany 36: 497-512.

Ryle G.J.A. & R.H.M. Langer, 1963.
Studies on the physiology of timothy. 1. Influence of daylength and temperature on initiation and differentiation of the inflorescence. Annals of Botany 27: 213-229.

Ryle G.J.A. & C.E. Powell, 1972.
The export and distribution of ^{14}C-labelled assimilates from each leaf on the shoot of lolium temulentum during reproductive and vegetative growth. Annals of Applied Biology 36: 363-375.

Sachs R.M., 1972.
Inflorescence induction and initiation. In: V.B. Younger & CM McKell (Eds.), The biology and utilization of grasses. Academic Press, London.

Schussler J.R. & M.E. Westgate, 1991a.
Maize kernel set at low water potential: I. Sensitivity to reduced assimilates during early kernel growth. Crop Science 31: 1189-1195.

Schussler J.R. & M.E. Westgate, 1991b.
Maize kernel set at low water potential: II. Sensitivity to reduced assimilates at pollination. *Crop Science* 31: 1196-1203.

Single W.B., 1966.
?. Australian Journal of Agricultural Science 17: 601-610.

Spiertz J.H.J., 1977.
The influence of temperature and light intensity on grain growth in relation to the carbohydrate and nitrogen economy of the wheat plant. Netherlands Journal of Agricultural Science 25: 182-197.

Spiertz J.H.J & J. Ellen, 1972.
The effect of light intensity on some morphological and physiological aspects of the crop perennial ryegrass (*Lolium perenne* L. var. 'Cropper') and its effects on seed production. Netherlands Journal of Agricultural Science 20: 232-246.

Spiertz J.H.J. & J. Ellen, 1978.
Effects of nitrogen on crop development and grain growth of winter wheat in relation to assimilation and utilization of assimilates and nutrients. Netherlands Journal of Agricultural Science 26: 210-231.

Stoddart J.L., 1964.
Seed ripening in grasses I. Changes in carbohydrate content. Journal of Agricultural Science 62: 67-72.

Stoddart J.L., 1968.
Biochemical aspects of seed ripening in grasses. Journal of the National Institute of Agricultural Botany 11: 370-377.

Stoy V., 1979.
The storage and remobilization of carbohydrates in cereals. In: Spiertz & Kramer (Eds.), Crop physiology and cereal breeding, proceedings of a Eucarpia workshop, Wageningen, 55-59.

Svejcar T.J., T.W. Boutton & J.D. Trent, 1990.
Assessment of carbon allocation with stable isotope labelling. Agronomy Journal 82: 18-21.

Thomas N., 1974.
The effect of density stress upon tillering: A physiological interpretation. ???.

Thorne J.H. & H.R. Koller, 1974. Influence of assimilate demand on photosynthesis, diffusive resistances, translocation and carbohydrate levels of soybean leaves. Plant Physiology 54: 201-207.

Thorpe M.R. & A. Lang, 1983.
Control of import and export of photosynthate in leaves. Journal of Experimental Botany 34 (140): 231-239.

Vough L.R., 1975.
?. Herbage Abstracts 45, item 3383.

Wellensiek S.J. & M.H. Higazy, 1961.
The juvenile phase for flowering in *Lunaria biennis*. Proceedings Koninklijke Nederlandse Akademie voor Wetenschappen, C64: 458-463.

Williams R.D., 1964.
Assimilation and translocation in perennial grasses. Annals of Botany 28 (111): 419-429.

Wilson J.R., 1959.
The influence of time of tiller origin and nitrogen level on the floral initiation and ear emergence of four pasture grasses. New Zealand Journal of Agricultural Research 2: 915-932.

Wright D., 1978.
Control of growth, development and seed production in *Lolium perenne*. PhD thesis, University of Nottingham.

Wright D. & P.D. Hebblethwaite, 1979.
Lodging studies in *Lolium perenne* grown for seed. 3.Chemical control of lodging. Journal of Agricultural Science, Cambridge 93: 669-679.

Yamagata M., H. Kouchi & T. Yoneyama, 1987.
Partitioning and utilization of photosynthate produced at different growth stages after anthesis in soybean (*Glycine max* L. Merr.): Analysis by long-term ^{13}C-labelling experiments. Journal of Experimental Botany 38 (193):1247-1259.