

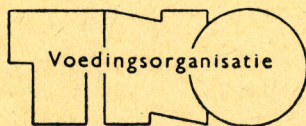
**INSTITUUT VOOR GRAAN, MEEL EN BROOD T.N.O.
TE WAGENINGEN**

MEDEDELING NR. 142

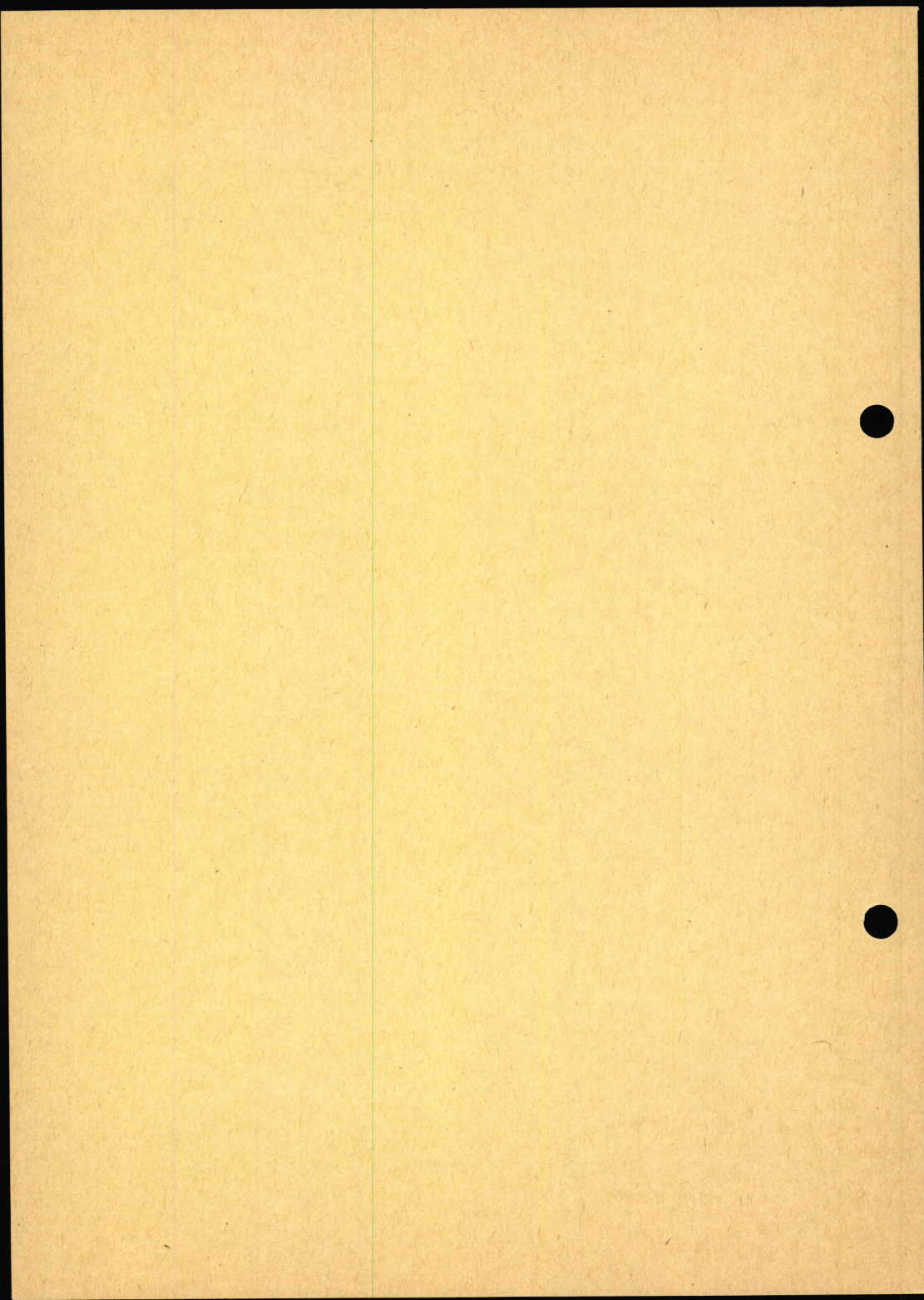
**VERSLAG VAN
HET IN 1960 VERRICHTE ONDERZOEK
AANGAANDE KIEMRUST EN SCHOT**

DOOR

B. BELDEROK



Overdruk uit: 7e Jaarboekje Stichting Nederlands Graancentrum



Verslag van het in 1960 verrichte onderzoek aangaande kiemrust en schot

INLEIDING

Bij het onderzoek, dat in de afgelopen jaren is verricht, werd uitgegaan van de werkhypothese, dat er bij granen een nauwe relatie bestaat tussen de kiemrust en de schotneiging der verschillende rassen. Wij meenden, dat het gewenst was vooral aandacht te besteden aan de volgende twee punten:

A. Analyse van de kiemrustperiode

Dit gedeelte van het onderzoek kwam voor tarwe in het afgelopen verslagjaar vrijwel gereed. Het verband tussen kiemrust en schotneiging is bij dit gewas thans zover opgehelderd, dat hieraan gegevens ontleend kunnen worden voor adviezen aan de praktische landbouw. In het juni-nummer 1961 van Landbouwvoorlichting is op blz. 347-354 een samenvatting van de resultaten gegeven.

Bovendien vormt deze kennis de noodzakelijke basis voor de studie naar het biochemisme van de schotresistentie.

B. Onderzoek naar de inwendige oorzaken van de kiemrust

Hierover is in de afgelopen jaren reeds enig werk verricht. Door het gereedkomen van het onder A genoemde onderzoek, zal bij tarwe de aandacht nu vooral gericht worden op de aard van de in de korrel gelokaliseerde mechanismen, welke uiteindelijk voor de kiemrust verantwoordelijk zijn.

A. ANALYSE VAN DE KIEMRUSTPERIODE

1. Beïnvloeden van de kiemrust door uitwendige omstandigheden

a. Invloed van de relatieve vochtigheid der lucht voor de oogst
Teneinde de invloed na te gaan van verschillen in relatieve vochtigheid der lucht bij het afrijpen van tarwe, werden de volgende proeven verricht met de zomertarwe Peko:

In Mitscherlich-potten werden 10 korrels per pot uitgezaaid en buiten tot het in-aar-komen der planten opgekweekt. Daarna werden zij overgebracht naar een kas met overdag een temperatuur van 18°C en 's nachts 12°C.

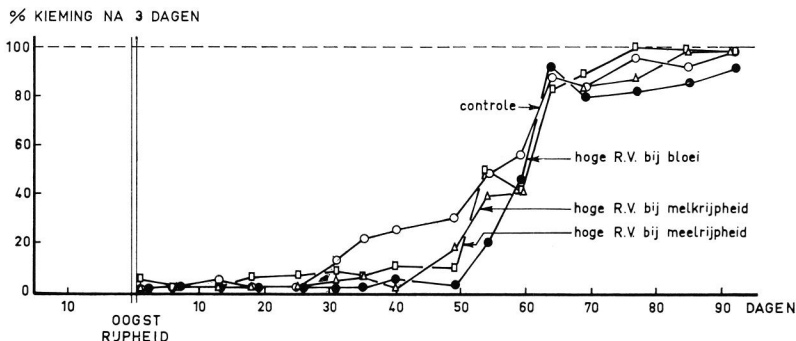
In een gedeelte der kas, dat met doorzichtige plastic gordijnen van de rest was afgescheiden, was voor experimentele doeleinden een beregeningsinstallatie aangebracht. Op de stadia van bloei, melkrijpheid en meelrijpheid werden telkens een 5-tal potten gedurende 6 dagen bij de kunstmatige regen geplaatst, en wel zodanig dat geen waterdruppels op de planten konden vallen. De overige planten bevonden zich in het andere gedeelte der kas, waar de luchtvochtigheid lager was. Bovendien was er een controlegroep van 5 potten, welke continu in laatstgenoemde ruimte stonden.

De R.V. van de lucht bij de regeninstallatie varieerde van 85 tot 90%, in het overige gedeelte der kas van 60 tot 80%. De temperatuur in de afgeschermd ruimte verschilde niet van die in de rest der kas.

Op het oogstrijpe stadium werden de aren geoogst en aan de lucht in een kamer met een constante temperatuur van 18°C opgeslagen. Regelmatig werden kiemprouven verricht gedurende 3 dagen bij 18°C en 4 ml water per petrischaal, teneinde de kiemrust te bepalen. De wijze van uitvoeren der kiemprouven en het bepalen van de kiemrust zijn beschreven op blz. 58 van het verslag over 1959 van het Tienjarenplan voor Graanonderzoek. De resultaten van deze prouven zijn in afb. 8 weergegeven.

Uit deze figuur blijkt, dat de relatieve vochtigheid der lucht in geen der onderzochte stadia van korrelrijping van invloed was op de kiemrust in de periode na de oogst.

PEKO 1960



Afb. 8 Invloed van de relatieve vochtigheid der lucht in verschillende stadia van afrijping op het verloop van de kieming in de periode na de oogst

b. Invloed van de watervoorziening der planten

Tarweplanten van het ras Peko werden in Mitscherlich-potten buiten opgekweekt en bij het in-aar-komen overgebracht naar een kas met overdag een

temperatuur van 18°C en 'snachts van 12°C. De planten werden in twee groepen van ieder 5 potten verdeeld. Van de eerste groep werd de aarde der potten vanaf de overgang van melk- naar meelrijpheid niet meer begoten en droogde spoedig in. Van de tweede groep werd de aarde regelmatig begoten. Op het oogstrijpe stadium werden de aren geoogst en bij een temperatuur van 18°C bewaard. Op de onder *a* beschreven wijze werd van dit materiaal de kiemrust bepaald.

De hierboven genoemde verschillen in watervoorziening der planten gedurende de meelrijpheid hadden geen invloed op de kiemrust. Het is niet waarschijnlijk, dat een tekort aan water op de andere stadia van afrijping (bloei, melkrijpheid) wél van invloed zou zijn op het verloop van de kiemenergie na de oogst.

Voorts werden nog proeven verricht met korrels van een groep tarweplanten, welke in het meelrijpe stadium gedurende 6 dagen beregend waren. Door deze behandeling traden evenmin wijzigingen op in de kiemrust.

c. Invloed van de temperatuur voor de oogst

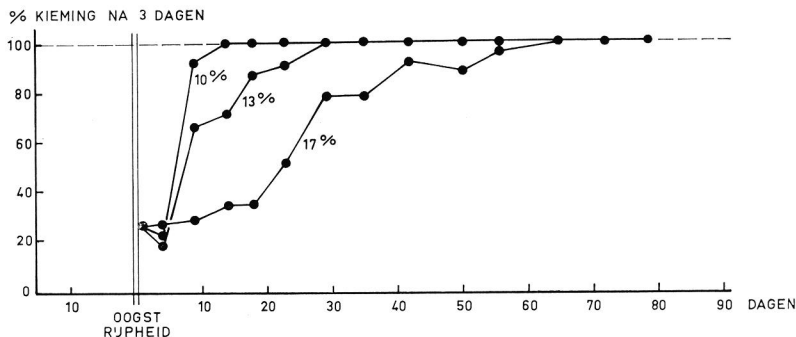
Reeds in 1958 en 1959 zijn proeven verricht met planten van het ras Peko, welke in verschillende stadia van afrijping aan hogere temperaturen waren blootgesteld. Deze proeven zijn in het verslag over 1959 van het Tienjarenplan voor Graanonderzoek op blz. 60 t/m 63 beschreven.

Hierbij bleek, dat de temperatuur na een kritische fase voor de oogst (t.w. de overgang van melk- naar meelrijpheid, waarbij de korrelwand geel begint te worden) van doorslaggevende betekenis is voor de duur van de kiemrust. De korrels van de Peko welke bij hogere temperatuur waren gekweekt, vertoonden een aanzienlijke verkorting van de kiemrust. In de helling van het omhooggaande gedeelte der curven (= variabiliteit in het beëindigen van de rusttoestand bij de individuele korrels) traden geen wijzigingen op.

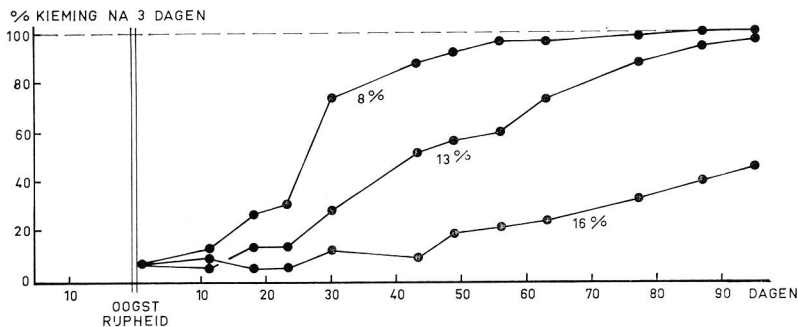
d. Invloed van indrogen der korrels na de oogstrijpheid

Korrels van Carsten's VI en Mado werden na de oogst bij een temperatuur van 18°C bewaard in een drietal glazen bakken, afgedekt met een glazen plaat. In één der bakken bevond zich een laagje gedroogde silicagel, waardoor de korrels in enige dagen tijds indroogden tot een vochtgehalte van ca. 10%; gedurende de daaropvolgende bewaarperiode varieerde dit bij Carsten's VI van 9 tot 11% en bij Mado van 7 tot 9%. In de tweede bak was een laagje water aanwezig, waardoor de korrels een vochtgehalte hadden van 16 tot 18% bij Carsten's VI en van 15 tot 16% bij Mado. In de derde bak waren geen extra voorzieningen aangebracht, de korrels droogden tot een vochtgehalte van 13% in. Wekelijks werden de bakken gelucht teneinde een eventuele ophoping van koolzuur te voorkomen.

CARSTEN'S VI 1960



MADO, 1960



Afb. 9 Invloed van het vochtgehalte der korrels gedurende de bewaarperiode op het verloop van de kieming na de oogst

Met regelmatige tussenpozen werden korrels van dit materiaal te kiemen gezet gedurende 3 dagen bij een temperatuur van 18°C en een waterdosering van 4 ml per petriskaal. De resultaten van deze proeven zijn in afb. 9 weergegeven.

Afb. 9 laat zien, dat door het indrogen der korrels de kiemrustperiode aanzienlijk bekort kan worden. Deze verkorting werd vrijwel uitsluitend veroorzaakt door het feit, dat de helling van het omhooggaande gedeelte der curven steiler werd.

e. Invloed van de bewaartemperatuur

Teneinde de invloed van de bewaartemperatuur na te gaan, werden partijen aren van de rassen Carsten's VI en Mado na de oogst in blikken bussen van 10 l inhoud bewaard bij temperaturen van 8°, 18° en 25° C. Het vochtgehalte

der korrels, dat 15% bedroeg, onderging hierbij geen veranderingen. Wekelijks werden de bussen gelucht, teneinde een eventuele ophoping van koolzuur te voorkomen.

Op de gebruikelijke wijze werd van dit materiaal de kiemrust bepaald.

Zowel bij Carsten's VI als bij Mado bleek de kiemrust bij hogere bewaar-temperatuur verkort te worden. In de helling van het omhooggaande gedeelte der curven traden geen veranderingen op.

Dit is geheel analoog aan hetgeen er gebeurt, wanneer vóór de oogst in het meelrijpe stadium de op halm staande korrels aan verschillende temperatuur-behandelingen worden blootgesteld.

f. Toepassingen in verband met schotbestrijding

In het verslag over 1959 van het Tienjarenplan voor Graanonderzoek is op blz. 58 t/m 60 beschreven, dat er een correlatief verband bestaat tussen de schotneiging van een tarweras enerzijds en de kiemrust en de waterbehoefte anderzijds. Bovendien bestaat tussen beide laatstgenoemde factoren een nauwe samenhang.

Uit hetgeen in de voorafgaande paragrafen is besproken volgt, dat hoge temperaturen in het meelrijpe stadium een verkorting van de kiemrustperiode ten gevolge hebben. Bij een deel van de tarwerassen die in normale jaren schotresistent zijn, zal hierdoor deze periode zo kort worden, dat zij gevoelig worden voor schotaantasting (b.v. Leda, Dippe's Triumph, Felix).

Voorts blijkt de kiemrustperiode korter te worden, naarmate de korrels na de oogstrijpheid verder indrogen. Dit is in overeenstemming met de praktijk-ervaring, dat tarwe die bij het afrijpen reeds volledig is ingedroogd, na regen-buien sneller gaat schieten dan minder ver ingedroogde.

In beide gevallen zal de boer er goed aan doen, om bij de keuze van zijn oogstmethoden en het tijdstip van oogsten rekening te houden met een ver-groting van de kans op schotaantasting.

2. Indeling van Nederlandse tarwerassen naar schotgevoeligheid

Voor de voornaamste Nederlandse tarwerassen beschikken wij thans over kiemrustcurven welke het gemiddelde zijn van de experimenteel bepaalde curven van enige jaren en van verschillende proefvelden. Aan de hand hier-van kunnen richtlijnen worden opgesteld ten behoeve van de praktische land-bouw, om de kans op schotaantasting zo klein mogelijk te doen zijn. Deze hebben betrekking op rassenkeuze, volgorde van oogsten en methoden van ophokken. Voor verdere gegevens zij verwezen naar BELDEROK (1961).

In het afgelopen verslagjaar is een begin gemaakt met het kiemrustonderzoek van enige, in Nederland verbouwde gerst-, haver- en roggerassen, mede met

het oog op het voorspellen van schotgevaar onder invloed van bepaalde weersomstandigheden na de oogst.

B. ONDERZOEK NAAR DE INWENDIGE OORZAKEN VAN DE KIEMRUST

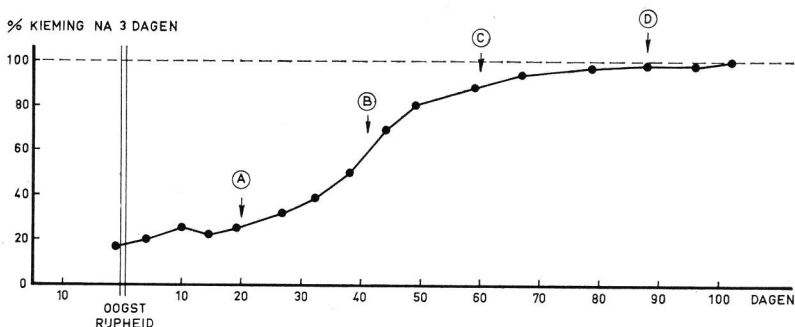
Uit proeven genomen in voorgaande jaren werd de conclusie getrokken, dat de oorzaken van de kiemrust – voor zover deze door eigenschappen van de korrels zelf worden bepaald – grotendeels in de wandlagen gelokaliseerd zijn. Bij het onderzoek naar het biochemisme van de kiemrust hebben wij ons voorlopig tot deze wandinvloed beperkt.

Stoffen die een thiol-groep bevatten, zijn in staat de kiemsnelheid van in rust verkerende tarwekorrels aanzienlijk te bevorderen. Hiervan uitgaande werd de veronderstelling geopperd, dat de kiemrust afhankelijk is van een -SH gevoelig mechanisme, dat in de wandlagen der korrels gelokaliseerd zou zijn. Nu is van aardappelen bekend, dat ook hierbij de kiemrust kan worden gebroken door thiol-bevattende verbindingen. Andere stoffen zijn hiertoe eveneens in staat, o.a. 2-chlooraethanol. Na behandeling met laatstgenoemde stof neemt het gehalte aan -SH groepen in het perssap toe en wel parallel met het spuitend vermogen der jonge knollen. Ook bij het narijpen onder natuurlijke omstandigheden is dit het geval.

De mogelijkheid bestaat, dat bij het beëindigen van de kiemrust van tarwe soortgelijke veranderingen optreden als bij aardappelknollen zijn beschreven. Het verdient aanbeveling ook disulfiden in het onderzoek te betrekken, aangezien zij veelal gemakkelijk omgezet kunnen worden in thiolen.

Langs histochemische weg werd bepaald, of er in de wandlagen der korrels veranderingen optreden in het gehalte aan gebonden -SS- groepen. Bij de proeven in 1959 werd uitgegaan van korrels van Mado en Peko, die gefixeerd waren in een mengsel van 90 delen alcohol (50%), 5 delen ijsazijn en 5 delen formaline. Bij de proeven in 1960 werd ongefixeerd materiaal onderzocht van Mado, Peko, Carsten's VI en Minister. In de periode rondom de oogst werden van ieder ras enige malen met een Leitz slede-bevriesmicrotoom 10 μ dikke dwars- en lengtecoupes vervaardigd en hierin de kleurreactie op gebonden disulfiden uitgevoerd volgens BARRNETT en SELIGMAN (1952, 1954 *a* en *b*). Per monster werden 25–30 korrels onderzocht. In de door ons onderzochte preparaten werd alleen een rode disulfidekleuring waargenomen.

Daar de zetmeelkorrels bij de reactie paars verkleuren en de zaadhuide van de roodzadige tarwerassen bruine componenten bevat, was het zeer moeilijk om bij normaal microscopisch of fasencontrastmicroscopisch onderzoek een juist beeld te krijgen over de kleur. Bij het bestuderen van de preparaten werd daarom gebruik gemaakt van een condensor met variabele kleurfilter



Afb. 10 Verloop van de kieming van het ras Peko in de periode na de oogst. Op de tijdstippen, gemerkt met de letters A tot en met D, werden monsters genomen voor het histochemische onderzoek op gebonden disulfiden

(Leitz variocolor), waarbij nauwkeurig ingesteld werd op de complementaire kleur van het rood van de reactie.¹

Als voorbeeld moge hier aangehaald worden de resultaten van de proeven met Peko uit 1960. In afb. 10 zijn met de pijltjes A tot en met D de tijdstippen aangegeven, waarop monsters werden onderzocht. Van deze monsters zijn in afb. 11A t/m 11D microfoto's weergegeven van dwarscoupes der groeve. Opgemerkt zij, dat ook de verdere korrelwand soortgelijke microscopische beelden te zien gaf.

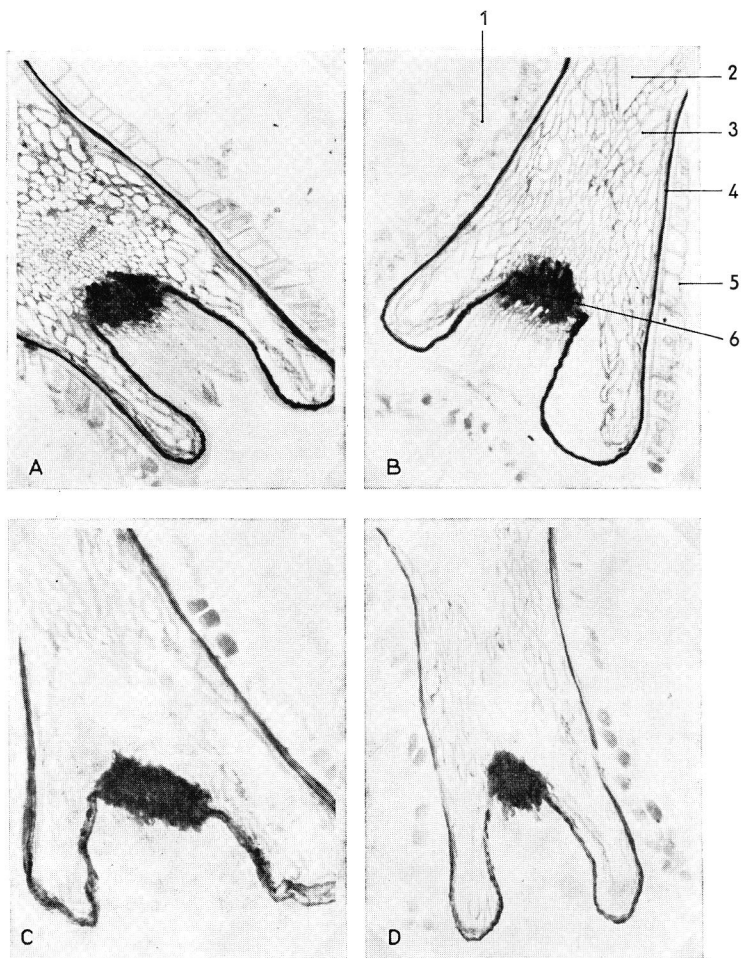
Gedurende de kiemrust bleek de disulfidekleuring sterk positief te zijn in de celwanden van vruchtwand en zaadhuid (afb. 11A). Op de overgang naar de nagerijpte toestand, wanneer ca. de helft der korrels niet meer in rusttoestand verkeert, zien wij een duidelijke afname in kleuring (afb. 11B). In nagerijpte toestand tenslotte was de disulfidekleuring zeer zwak (afb. 11C en 11D), waarbij opgemerkt moet worden, dat in monster D nog een geringe achteruitgang in kleur viel waar te nemen ten opzichte van monster C.

Soortgelijke wijzigingen als hierboven voor Peko zijn beschreven, traden ook bij Mado op. Hierbij was gedurende de eerste 25 dagen na de oogst, wanneer vrijwel alle korrels in kiemrust verkeerden, de disulfidekleuring sterk positief; bij het omhooggaande gedeelte der curve, dat van 25 tot 50 dagen na de oogst viel, trad een duidelijke achteruitgang op, terwijl in nagerijpte toestand de rode kleur van de reactie vrij vaag was.

Bij het ras Carsten's VI was onmiddellijk na de oogst de kleuring minder

¹ Het histochemische onderzoek werd uitgevoerd op het Centraal Laboratorium T.N.O. te Delft, onder leiding van drs. J. ISINGS. Wij danken de Heer ISINGS zeer voor zijn medewerking.

1 Endosperm 2 Groeve 3 Vruchtwand 4 Zaadhuid 5 Aleuronlaag 6 Pigmentstreng



Afb. 11 Microscopische dwarsdoorsneden door de wandlagen van korrels van het ras Peko, waarin gebonden disulfiden gekleurd zijn volgens BARNETT en SELIGMAN. De figuren A tot en met D corresponderen met de in afb. 10 vermelde tijdstippen A tot en met D.

duidelijk dan bij Mado en Peko en nam in de eerste week sterk af. Daarna ging de verdere afname zeer geleidelijk. De achteruitgang in het gehalte aan disulfideverbindingen viel samen met een gelijktijdige toeneming in het percentage korrels, dat in 3 dagen kan kiemen: gedurende de eerste week na de oogst steeg dit laatste van 20 tot 95%.

Bij het witzadige tarweras Minister was bij het bereiken van de oogstrijpheid de disulfidekleuring al weinig duidelijk, om in de eerste week daarna nog een significante afname te vertonen. De kiemrust ging hiermede parallel: bij de oogst kiemde onder onze proefomstandigheden ca. 80% der korrels, dit percentage liep de eerste 10 dagen daarna op tot 100%.

Het voorgaande samenvattend kan worden gezegd, dat bij de 4 onderzochte tarwerassen het beëindigen van de kiemrust gepaard ging met een afname in het gehalte aan gebonden -SS-bruggen in de wandlagen. Gebonden disulfiden zijn in de literatuur uitsluitend bekend van eiwitten en polypeptiden. Het is derhalve zeer waarschijnlijk, dat dit ook in de wandlagen van tarwekorrels het geval zal blijken te zijn.

Bovenbeschreven wijzigingen openen niet alleen de mogelijkheid tot een diepergaande studie van het kiemrustmechanisme bij granen, maar ook zou de histochemische kleurreactie van BARNETT en SELIGMAN in de toekomst wellicht gebruikt kunnen worden bij het toetsen van tarwekruisingen en -selecties op schotneiging. In het laatste geval kan met zeer weinig materiaal (bv. 5 korrels) worden volstaan, zodat individuele planten kunnen worden onderzocht. Er blijven dan nog voldoende korrels over voor uitzaai.

C. LITERATUUR

BARNETT, R. J. and A. M. SELIGMAN. Histochemical demonstration of protein-bound sulfhydryl groups. *Science* **116** (1952), 323-327.

BARNETT, R. J. and A. M. SELIGMAN. Histochemical experiments on sulfhydryls and disulfides. Glutathione, Proceedings of the Symposium in Ridgefield Conn., held in Nov. 1953. New York, 1954a, 89-102.

BARNETT, R. J. and A. M. SELIGMAN. Histochemical demonstration of sulfhydryl and disulfide groups of protein. *Journal of the National Cancer Institute* **14** (1954b), 769-790.

BELDEROK, B. De neiging tot schieten bij Nederlandse tarwerassen. *Landbouwwoorlichting* **18** (1961), 347-354.

