

Wortelarchitectuur van *Zea mays* L. in relatie tot genetische achtergrond, fosfaatbeschikbaarheid en als selectiemethode in de maïsveredeling

Afstudeerverslag voor extern gebruik



Laurens van Run
Tuinbouw en akkerbouw



Nordic Maize breeding



**van hall
larenstein**
university of applied sciences

**Wortelarchitectuur van *Zea mays* L. in relatie tot genetische achtergrond,
fosfaatbeschikbaarheid en als selectiemethode in de maïsveredeling**

Plant- en wortelanalyse aan inteeltlijnen en tweeweg kruisingen als screeningsmethode op wortelarchitectuur van drieweg kruisingen van *Zea mays* L. onder hoge en lage fosfaatbeschikbaarheid

Student:

Laurens van Run

laurens.vanrun@wur.nl

00 31 626755044

Bunschoterplein 21/11

6711CD Ede

Beoordelaar:

H. Pennekamp

Hogeschool Van Hall Larenstein

Agora 1

8934 CJ Leeuwarden

Docentbegeleider:

D. Kuiper

Hogeschool Van Hall Larenstein

Agora 1

8934 CJ Leeuwarden

In samenwerking met:

G.J. Raaphorst

M.C.M. Raaphorst

Nordic Maize Breeding

Wielwei 55

8516 DE Doniaga

Leeuwarden

Januari 2016

Samenvatting

In de toekomstige landbouw zijn sommige minerale meststoffen waaronder fosfaat (P), minder beschikbaar. Sinds begin 2014 is in Nederland P-kunstmest verboden op derogatiebedrijven. Ondanks dat gewassen maar 5% van de aangewende fosfaat benutten, is de verwachting dat de vermindering van fosfaatbemesting, op termijn de opbrengsten negatief beïnvloedt. Moderne maïsrassen zullen niet meer de opbrengst kunnen geven, die past bij het genetisch potentieel. Fosfaat is weinig mobiel in de bodem. Voor een optimale opname van fosfaat uit de bodem, is het van belang dat maïs het bodemprofiel efficiënt en maximaal bewortelt. Daarnaast is het van belang dat wortelgroei zich kan aanpassen (plasticiteit) aan heterogene voorziening van nutriënten en low input omstandigheden. Wortelarchitectuur van maïs is daarom één van de kweekdoelen waar de toekomstige plantenveredeling zich op zal moeten gaan richten. In dit kader is met literatuur- en veldonderzoek bekeken of het mogelijk is meervoudige hybriden te ontwikkelen met gewenste worteleigenschappen. Hiervoor is een set van dent*flint- en (dent*flint)*flint- kruisingen onderzocht. Van flint genetica is bekend dat deze een betere wortelgroei tonen onder sub-optimale omstandigheden. In het veldonderzoek is early vigour (EV), paarskleuring (PK), laterale wortelontwikkeling (LWS), aantal kroonwortels (#KW), de lengte van de kroonwortels (LKW) en de lengte van de primaire wortel (LPW) geanalyseerd onder een hoge (P_{high}) en lage (P_{low}) beschikbaarheid van P. Één van de belangrijkste conclusies is dat de single crosses in dit onderzoek geen voorspellende waarden hebben voor de prestatie van de driewegkruisingen in Nederland. Flint genetica bleek verschillende worteleigenschappen te bevatten en door te erven. Naar voren is gekomen dat de inzet van specifieke flint genetica, de prestatie onder P_{low} kunnen verbeteren. Deze worteleigenschappen kunnen zowel additief als met een specifieke combinatiegeschiktheid, worden ingezet tot het ontwikkelen van meervoudige hybrides. Een veredelingsprogramma, gericht op nutriënt-efficiënte genotypen moet gebruik maken van worteleigenschappen als screeningsmethode onder P_{high} en P_{low} , op verschillende grondsoorten en met verschillende genetica.

Summary

In future agriculture mineral fertilizers, like phosphate (P), will become restricted or depleted. In 2014 the use of mineral P-fertilizers on derogation farms was banded in The Netherlands. Despite the fact that crops only utilize 5% of the phosphate supplied, it is expected that the reduction of phosphate fertilization, over time will adversely affect the yields. Modern maize varieties will not be able to yield according to their genetic potential. Phosphate is not very mobile in the soil. For an optimal uptake of phosphate from the soil, it is therefore important that roots explore the soil profile efficiently and thoroughly. In addition, it is important that root growth can adapt (plasticity) of heterogeneous supply of nutrients and low input conditions. Root architecture of maize is therefore one of the major future plant breeding goals. In this context a literature study and field research was conducted. Main research question was whether it is possible to develop 3-way/double cross hybrids with desirable root characteristics. Analyses were made on a set of flint*dent and (flint*dent)flint crosses. Flint genetics are known for their better root growth under sub-optimal conditions. In this field study: early vigor (EV), purple leafcoloration (PK), lateral root development (LWS), number of crown roots (#KW), the length of the crown roots (LKW) and the length of the primary root (LPW), were analyzed under a P_{high} and P_{low} availability. One of the main conclusions is that the single crosses in this study have no predictive value for the performance of the 3-way crosses under Dutch conditions. Flint genetics contained inheritable variation on root properties. It was concluded that the use of specific flint genetics may improve performance under P_{low} conditions. These root properties may have both additive and specific combining abilities and are, thus considered as usefull in the development of P_{low} adapted hybrids. A breeding program, focusing on nutrient-efficient genotypes must use root properties as a screening tool among P_{high} and P_{low} conditions, screen on different soil types and with different genetics.

Voorwoord

Heel bijzonder

Heel leuk

Heel uniek

Heel toevallig?

Grietje zou zeggen

Heel boeddha

Zulke mensen zijn enorm schaars.
Dankbaar ben ik voor al die liefde

Laurens van Run

Doniaga, 28 januari 2016

Inhoudsopgave

1.	Introductie	7
1.1.	Probleembeschrijving	7
1.1.1.	Genetica in relatie met fosfaat en stikstof	7
1.1.2.	Genetica in relatie met temperatuur.....	8
1.2.	Probleemstelling.....	10
1.3.	Doelstelling	10
1.4.	Vraagstelling	11
1.4.1.	Hoofdvraag.....	11
1.4.2.	Deelvragen.....	11
2.	Literatuurstudie	12
2.1.	Wortelarchitectuur	12
2.1.1.	Kiemwortels	13
2.1.2.	Primaire wortel	13
2.1.3.	Seminale wortels	13
2.1.4.	Nodale wortels.....	13
2.1.5.	Laterale wortels en haarwortels.....	14
2.2.	Wortelarchitectuur en low input.....	16
2.2.1.	Introductie low input	16
2.2.2.	Fosfaat en maïs	17
2.2.3.	Stikstof en maïs	18
2.3.	Structuurkenmerken 1-8	18
2.3.1.	Structuurkenmerk 1: haarworteldichtheid en –lengte.....	19
2.3.2.	Structuurkenmerk 2: vesiculaire-arbusculaire mycorrhizza	19
2.3.3.	Structuurkenmerk 3: laterale worteldichtheid en -lengte.....	21
2.3.4.	Structuurkenmerk 4: afstand tot laterale vertakking.....	21
2.3.5.	Structuurkenmerk 5: primaire wortellengte en clusterformatie.....	22
2.3.6.	Structuurkenmerk 6: wortelhoek en –diepte.....	23
2.3.7.	Structuurkenmerk 7: aantal en lengte nodale wortels.....	24
2.3.8.	Structuurkenmerk 8: aerenchymvorming	26
2.4.	Wortelarchitectuur en veredeling	27
2.5.	Samenhang tussen wortelarchitectuur, low input en veredeling	29
3.	Materiaal en methode	30
3.1.	Literatuuronderzoek	30
3.2.	Nieuw-Zeeland	30

3.3.	Veldonderzoek Nederland	31
3.3.1.	Observatie van early vigour en paarskleuring	31
3.3.2.	Waarneming en meting aan het wortelstelsel	33
3.4.	Proefopzet.....	34
3.5.	Datapreparatie	35
3.6.	Dataverwerking	36
4.	Resultaten	38
4.1.	High & low input.....	38
4.1.1.	Normaal verdeling.....	38
4.1.2.	ANOVA input	39
4.1.3.	Correlaties	40
4.2.	Het gebruik van de male als C bestuiver in (A*B)*C	41
4.2.1.	Normaalverdeling.....	41
4.2.2.	ANOVA.....	41
4.2.3.	LSD	41
4.2.4.	SNK	42
4.3.	Het gebruik van de male als C bestuiver & input.....	43
4.3.1.	ANOVA C bestuiver & input	43
4.3.2.	LSD	44
4.4.	Het gebruik van beide males in B*C combinatie	44
4.4.1.	Verschil tussen gemiddelden.....	44
4.4.2.	ANOVA.....	44
4.4.3.	LSD	44
4.4.4.	SNK	45
4.4.5.	Mean plots	45
4.5.	Principle Component Analysis	47
4.6.	Female A en plotcode.....	48
4.6.1.	ANOVA naar plotcode	48
4.6.2.	ANOVA naar female A	48
4.6.3.	ANOVA naar female A met select case B*C 1 en 2	49
4.6.4.	ANOVA naar B*C combinatie met select case B*C 1 en 2.....	49
4.6.5.	T-test naar B*C combinatie met select case 1 en 2	49
4.7.	Nieuw-Zeeland	50
5.	Discussie.....	52
5.1.	High & low input.....	52
5.2.	Het gebruik van de male als C bestuiver in (A*B)*C	52
5.3.	Principle Component Analysis	55

5.4.	Specifieke combinatie C bestuiver (male) met input.....	56
5.5.	Regressieanalyse	59
5.6.	Combinatie B*C bestuiver (eerste*tweede male)	60
5.7.	De invloed van flint inteeltlijnen en hun kruisingscombinatie.....	60
5.8.	Females.....	61
5.9.	Nieuw-Zeeland	62
5.10.	Synergie.....	63
6.	Conclusie	64
6.1.	Deelvragen.....	64
6.2.	Hoofdvraag.....	67
7.	Aanbevelingen.....	68
	Literatuur.....	69
	Bijlage 1: detailinformatie proefvelden.....	I
	Bijlage 2: proefveld schema's	II
	Bijlage CD.....	VI

1. Introductie

Maïs is een gewas dat wereldwijd wordt geteeld op 177 miljoen hectare en waarvan de som van de opbrengst alle andere granen overtreft. Het gewas is een fundamenteel onderdeel van het bouwplan in zowel commerciële landbouw in bijvoorbeeld Nederland, als landbouw ten behoeve van levensonderhoud in bijvoorbeeld ontwikkelingslanden. Het verminderen van de bemestingsvereisten van maïsrassen is van groot belang in beide vormen van landbouw (York & Lynch, 2015). Nederland heeft een toenemende bevolkingsgroei en een welvarende economie, waar milieuwetgeving hoog in het vaandel staat. Mede hierdoor wordt de bemestingswetgeving steeds verder aangescherpt. Daarnaast wordt van de bronnen van sommige meststoffen verwacht dat deze binnen honderd jaar zijn uitgeput, één daarvan is fosfaat.

1.1. Probleembeschrijving

1.1.1. Genetica in relatie met fosfaat en stikstof

Voor de landbouw zullen sommige meststoffen waaronder fosfaat steeds minder beschikbaar zijn. Er komt ook meer nadruk te liggen op de nadelen van sommige meststoffen voor het milieu. Het managen van meststoffen wordt belangrijker en daar grijpen overheden steeds meer in. Dit uit zich in een uitbreiding van wet- en regelgeving omtrent de manier en hoeveelheid van het toepassen van meststoffen. Het gebruik van fosfaatkunstmest is vanaf 2014 verboden voor melkveebedrijven die onder de derogatie vallen (Veeteelt.nl, 2014). De reden voor deze maatregel is dat Nederland een mestoverschot heeft en volgens de Europese Commissie, fosfaat uit mest moet gebruiken om in de fosfaatbehoefte te voorzien. In de teelt van maïs (*Zea Mays L.*) kan dat een probleem voor de beginontwikkeling van het gewas zijn, zeker in koude, natte voorjaren (Stok, 2010).

Fosfaat vervult allerlei functies binnen de maïsplant. Zo is het bijvoorbeeld een structuurelement van nucleïnezuur, dat weer een onderdeel is van DNA-moleculen. Verder is fosfaat een onderdeel van enzymen, eiwitten en van fosfolipiden. Fosfaat heeft ook een belangrijke rol in de energieoverdracht bij het metabolisme en de fotosynthese in cellen. Zonder fosfaat kunnen er dus geen nieuwe cellen ontwikkelen en zal er geen groei ontstaan (Dekker & Postma, 2008). Fosfaat speelt daarom in de beginontwikkeling van het gewas een zeer belangrijke rol.

Maïs bevat van nature fosfaat in het zaad. Dit is circa 0,7-0,9 mg P_2O_5 per zaadje. Op deze hoeveelheid kan de kiemplant vier weken groeien alvorens het fosfaat moet gaan opnemen via de wortels (DoVale, 2013). Bij de huidige maïsrassen is het nodig om een fosfaathoudende kunstmest toe te voegen om tot een optimale opbrengst te komen. Nu er echter wetgeving is, waarmee fosfaatkunstmest verboden is, zullen deze rassen niet meer de opbrengst kunnen geven die past bij het potentieel wat deze rassen genetisch hebben. Door de veredeling naar hoog opbrengende rassen in de afgelopen decennia vormen de meeste rassen te weinig of niet het juiste type wortels voor een optimale opname van fosfaat onder een low input van fosfaat. Daarom moet er gezocht worden naar maïs genotypen die van nature al veel en goede wortels vormen die adequaat fosfaat op kunnen nemen uit de bodem (Zhu, Zhang, & Lynch, 2010).

De twee hoofdfuncties van het wortelstelsel zijn de opname van water en nutriënten. Een uitgebreid wortelstelsel is belangrijk om te overleven onder slechte omstandigheden (Stamp,

1986). Bij de mineralenopname zit het grootste verschil in mobiele en niet mobiele mineralen. Mobiele mineralen waaronder stikstof in de vorm van nitraat kunnen door veel verschillende wortels worden opgenomen. Belangrijk hierbij is het besef van uitspoeling van o.a. nitraat. In het voorjaar is stikstof door het aanwenden van mest vooral aanwezig in de bovenste lagen van de bouwvoor. Een groot deel daarvan spoelt later uit naar diepere lagen. Voor maximale stikstofopname zijn dan dieper wortelende wortels gunstig. Niet-mobiele mineralen waaronder fosfaat worden in principe door verschillende soorten wortels opgenomen. Haarwortels doen dit echter het meest efficiënt en deze zijn ook ten aanzien van koolstof allocatie gunstiger voor de plant. Een wortelarchitectuur waar veel haarwortels in ontwikkeld worden, is goed in staat fosfaat op te nemen. Maïs genotypen met deze kenmerken laten zich ook kenmerken door een sterkere beginontwikkeling in low inputsystemen (Zhu, Zhang, & Lynch, 2010).

Bij low inputsystemen wordt er gestreefd naar gebruik van voedingstoffen die al in de bodem aanwezig zijn en is er een beperkte aanwending van externe meststoffen. In de praktijk betekent dit vaak dat één of meerdere nutriënten onvoldoende aanwezig is om optimale groeiomstandigheden voor de hedendaagse maïsrassen te realiseren. Dit is de reden dat voorheen vrijwel standaard een fosfaat- en stikstofhoudende kunstmest werd aangewend in de gangbare maïsteelt. Nu wet- en regelgeving de toepassing van deze fosfaatinput verbiedt en andere inputs steeds meer limiteert, wordt de gangbare maïsteelt in de richting van een low input systeem gedwongen.

1.1.2. Genetica in relatie met temperatuur

Maïs is een gewas dat zijn origine vindt in de tropen. Hierdoor is het gewas redelijk goed bestand tegen hitte. Maïs heeft een relatief hoge temperatuur nodig voor kieming en groei en behoort hiermee tot de thermofiele plantensoorten (Miedema, 1982). Binnen de maïsveredeling zijn meerdere soorten genetisch materiaal te onderscheiden waarvan de meeste in de moderne landbouw gerelateerd zijn aan flint en/of dent genetica. Flint lijnen staan er vooral om bekend dat ze een hoge koudetolerantie bezitten. Dent lijnen dragen vooral bij aan een hogere opbrengst (Hallauer, 1990). Met name bij rassen waarin veel dent materiaal gekruist zit, kunnen suboptimale temperaturen een probleem vormen voor de groei van maïs in het kiemstadium.

Voor Centraal- en Noord-Europa is koude stress een belemmerende hoofdfactor in de maïsteelt (Peter, Eschholz, Stamp, & Liedgens, 2009). Lagere temperaturen zullen vaak leiden tot een lagere opbrengst (Stamp, 1986). Dit komt onder meer door een verminderde nutriëntenbeschikbaarheid in de bodem bij een lagere temperatuur en een verstoorde wortel- en bladontwikkeling van de maïsplant (Engels, 1994) (Stone, Jamieson, & Sorensen, 1999). Zo blijken bijvoorbeeld flint lijnen onder koude stress dikkere wortels maar minder zijwortels te ontwikkelen (Reimer, 2010). Een dergelijke reactie van de plant kan de opname van fosfaat verbeteren en een verklaring zijn waarom flint lijnen beter reageren op koude omstandigheden dan dent lijnen. Of een plant opgroeit in een warme of een koude omgeving heeft dus invloed op de wortelontwikkeling, de mineralenopname en daardoor op de groei van de plant. Bij kou investeert een maïsplant in het algemeen in een kleiner aantal zijwortels maar van grotere lengte, om een stikstof- of fosfaatbron te vinden en zo de verminderde nutriëntenbeschikbaarheid te compenseren. Eenmaal een bron gevonden zal ter plekke een wortelcluster gevormd worden. De mate waarin een maïsplant dit kan, hangt af van het genetisch materiaal en uit zich in het aanpassingsvermogen (plasticiteit) van de wortelarchitectuur (t Zandt, Marié, Kirchgessner, Visser, & Hund, 2015).

De betekenis van wortelarchitectuur in de omgang met lage fosfaatbeschikbaarheid en lage temperaturen is redelijk goed bekend. Zo passen planten hun wortelarchitectuur aan, om fosfaatacquisitie en groei bij lage temperaturen te bevorderen (Niu, Chai, & Jin, 2013). Een maïsplant die van zichzelf al veel fosfaat opneemt en dus een bepaald type wortelarchitectuur ontwikkelt, heeft de genen om deze wortels te ontwikkelen. Dit genetisch verschil in wortelontwikkeling uit zich vooral onder koude omstandigheden (Hund, Fracheboud, & Soldati, 2008). Binnen de maïsveredeling wordt hierop geselecteerd door vroeg in het seizoen de groeikracht van het gewas te beoordelen (early vigour). Early vigour is een visuele beoordeling van de algemene stand van het gewas. Hierbij wordt de mate van groenkleuring van het blad, bladoppervlakte en planthoogte in acht genomen (Peter, Eschholz, Stamp, & Liedgens, 2009). Early vigour is dus een eigenschap waarmee low input geschiktheid en koudetolerantie in kaart kan worden gebracht. Naast een early vigour beoordeling laten maïsplanten met een onderontwikkeld wortelstelsel vaak meer paarskleuring zien dan maïsplanten met een meer ontwikkeld wortelstelsel. Paarskleuring wordt vaak waargenomen onder koude groeiomstandigheden in de kiemplantfase van de groei en wordt vaak, ten onrechte, aangezien voor een fosfaatgebrek of fosfaatopname probleem (mondelinge communicatie M. Raaphorst). Naast bovengrondse plantobservaties is de mate van wortelontwikkeling van belang bij de beoordeling van planten onder koude omstandigheden en/of lage fosfaatbeschikbaarheid. Uit eerdere uitgevoerd onderzoek blijkt dat men een redelijk accurate bepaling kan doen van de wortelmassa door de verticale trekkracht te meten die vereist is om een maïsplant uit de grond te trekken (Nass & Zuber, 1971).

Maïsveredelaars hebben de afgelopen decennia vooral geselecteerd op bovengrondse plantkenmerken. In rasontwikkeling en -beproeving wordt normaal getest onder optimale omstandigheden. Rasverschillen komen het beste tot uitdrukking onder optimale omstandigheden terwijl de “beste” rassen het vaak ook het beste doen onder low input omstandigheden. Er is vanwege de selectie op meer opbrengst, een stroming in de veredeling ontstaan naar rassen die vooral diepe wortels vormen om zo gedurende het hele groeiseizoen nitraatstikstof op te kunnen nemen. Hierdoor zijn moderne rassen mogelijk minder in staat oppervlakkige wortels te vormen die efficiënt fosfaat kunnen opnemen (mondelinge communicatie M. Raaphorst).

Hedendaagse rassen in de moderne maïssteelt zijn hybriderassen. De meeste van de commercieel verkrijgbare maïsrasen bestaan uit twee inteeltlijnen ($A \times B$). Hierbij spreekt men van een vrouwelijke lijn (female) welke het stuifmeel ontvangt van de mannelijke lijn (male). Dit type kruising heet een tweewegweg kruising of een single cross. Door de inteeltlijnen te kruisen met een flint inteeltlijn is het mogelijk om de opbrengstpotentie van de genetica en de koudetolerantie van flint genetica in één ras onder te brengen. Naast deze tweeweg kruisingen (single crosses), ontwikkelen veredelingsbedrijven ook drieweg kruisingen ($A \times B$) $\times$ C. Hierbij wordt de dent-flint single cross ($A \times B$) wederom met een andere flint inteeltlijn gekruist (C). Op deze manier kunnen meer koudetolerante maïsrasen commercieel beschikbaar komen.

1.2. Probleemstelling

Er is zeer veel variatie in beginontwikkeling van de wortelarchitectuur, zo blijkt uit onder meer onderzoek van Nordic Maize breeding (NMB). De wijze waarop deze variatie gebruikt kan worden in de maïsveredeling om de fosfaatopname door de plant te verbeteren met behoud van stikstofopname en opbrengst, is echter weinig onderzocht en niet duidelijk. Een ras dat het vermogen heeft zijn wortelarchitectuur aan te passen op basis van de in de bodem aanwezige voedingsstoffen, zal beter presteren in low input omstandigheden. Om dergelijke rassen met een plastische wortelarchitectuur te kunnen ontwikkelen, zou een screeningsmethode in het kiemwortelstadium of in de beginontwikkeling op het veld zeer waardevol zijn.

Op dit moment is echter nog onbekend welke waarde de screening op wortelarchitectuur heeft in de veredeling voor commerciële maïshybriden.

1.3. Doelstelling

In de uitgevoerde proeven binnen dit onderzoek wordt onderzocht of het mogelijk is om aan de hand van het fenotyperen van de wortelarchitectuur en het vaststellen van de early vigour van inteeltlijnen en tweewegkruisingen, de combinatiegeschiktheid/prestatie van commerciële (drieweg) hybriden te bepalen. Daarbij wordt de invloed van de mannelijke flint inteeltlijnen kwalitatief en kwantitatief geanalyseerd. Aanvullend wordt de invloed van de vrouwelijke dent inteeltlijnen kwalitatief verkend.

Wanneer een voorspellende waarde gegeven kan worden aan kruisingen voordat ze gemaakt zijn, kan in de toekomst tijd worden bespaard bij het screenen van testhybrides. Hiervoor dienen in een eerder stadium de wortelarchitecturen van aparte ouderlijnen en de single cross ouders van driewegkruisingen beoordeeld te worden. Mogelijkerwijs kan men daarmee de overerving van superieure worteleigenschappen vaststellen en daardoor ‘sterkere’ maïsrassen veredelen. Het doel daarbij is maïsrassen te creëren die een betere groei kunnen realiseren in low input systemen en bij lagere temperaturen dan de huidige commerciële rassen.

1.4. Vraagstelling

1.4.1. Hoofdvraag

Is het mogelijk meervoudige hybrides te ontwikkelen met gewenste worteleigenschappen door inkruising van flint inteeltlijnen met een verschillende genetische achtergrond?

1.4.2. Deelvragen

- o Wat zijn relaties tussen kiemwortelanalyse en trekkrachtmeting van volwassen planten met betrekking tot early vigour, plantkleur en wortelarchitectuur en zijn deze geschikt als screeningsmethode?
- o Welke flint inteeltlijnen erven welke worteleigenschappen door?
- o Erven gunstige worteleigenschappen additief door of is er sprake van een specifiek heterosis effect?
- o Welke relaties of correlaties kunnen geïdentificeerd worden en welke waarde kunnen die in de veredeling en screening hebben?
- o In welke mate hebben genotypen met een gewenste wortelarchitectuur een toegevoegde waarde in low input teelt?

2. Literatuurstudie

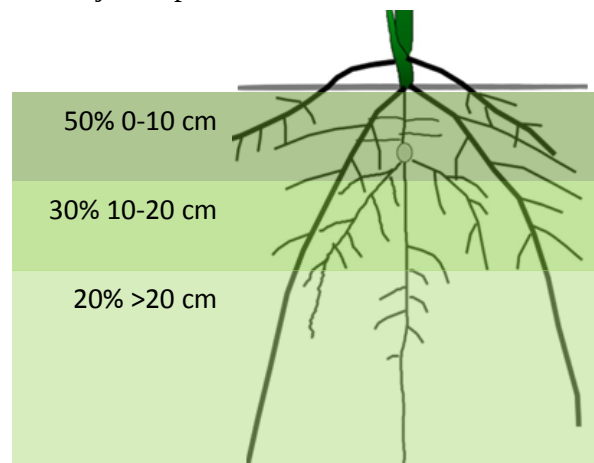
In dit hoofdstuk wordt dieper ingegaan op de achtergrond van de structuur van het maïswortelstelsel, de wortelarchitectuur en de relatie met bemesting en genetica. De omschreven relaties tussen deze onderdelen en de bestudeerde literatuur zijn van belang bij de latere behandeling van de uitgevoerde experimenten in het kader van dit afstudeeronderzoek.

Een totale plant wortelarchitectuur omvat een groot aantal verschillende type wortels. In de het eerste gedeelte van dit hoofdstuk worden deze verschillende soorten wortels beschreven. Vervolgens wordt ingegaan op de maïsteelt onder low input omstandigheden. In de opbouw naar dit onderwerp wordt eerst een introductie gegeven op teeltmanagementpraktijken zoals bemesting en grondbewerking. Vervolgens worden fosfaat en stikstof, als voornaamste nutriënten, in de maïsteelt beschreven. Van met name ammonium en fosfaat is bekend dat ze een sterke relatie hebben met de structuur van het wortelstelsel (Bauer, 2012). De wortelarchitectuur blijkt zich te kunnen aanpassen aan fosfaat- en stikstofbeschikbaarheid. Dit aanpassingsvermogen (plasticiteit) is in deze studie omschreven als structuurkenmerken van het wortelselsel. Deze structuurkenmerken zijn variabele eigenschappen van specifieke wortels die grote invloed kunnen uitoefenen op onder meer de nutriëntenopname van de maïsplant. Structuurkenmerken van het wortelstelsel worden bepaald door omgevingsomstandigheden maar ook door de gebruikte genetica in de veredeling. Nutriëntenopname bepaalt mede de groei van de plant en daarmee het succes van telen bij low input omstandigheden. Er is dus effect op het succes bij low input teelt van structuurkenmerken, het aanpassingsvermogen van de plant en in dit geval specifiek de wortelgroei. Wanneer structuurkenmerken veranderen, wordt de wortelarchitectuur aangepast. Met veredeling kan men mogelijk de wortelarchitectuur vormen en geschikter maken voor maïsteelt bij low input. De relatie tussen het aanpassingsvermogen van het wortelstelsel en veredeling komt aan bod in het slot van de literatuurstudie.

2.1. Wortelarchitectuur

Gewassen verschillen onderling in de opbouw van hun wortelstelsels. Maïs behoort tot de groep gewassen met een complex wortelstel. Dit houdt in dat er verschillende soorten wortels te onderscheiden zijn, die zich verschillend kunnen gedragen en verschillende functies kunnen uitoefenen. Omdat dit het geheel van wortels het stelsel complex maakt, kan men spreken van een wortelarchitectuur. Wanneer men over wortelarchitectuur spreekt, wordt daarmee het geheel van typen wortels bedoeld die gevonden wordt bij maïsplanten.

Wortelarchitectuur omvat van dikke ($\varnothing \pm 5\text{mm}$) kroonwortels tot microscopisch dunne haarwortels ($\varnothing \pm 0,5\text{mm}$). Bij beschouwing van de wortelarchitectuur betreft men de diepte, lengte, dichtheid, inhoudelijke opbouw en de ruimtelijke plaatsing van de wortels door het bodemprofiel (Niu, Chai, & Jin, 2013). De soorten wortels die worden behandeld zijn schematisch weergegeven in figuur 3 aan het einde van deze paragraaf.



figuur 1: De relatieve verdeling van de wortelmassa door de bodem heen.

Het merendeel van de wortels van een maïsplant vormt zich in de bouwvoor, zie figuur 1. Bij een volgroeide maïsplant bevindt vijftig procent van de totale wortelmassa zich in de bovenste tien centimeter grond en dertig procent tussen de tien en twintig centimeter diepte. De overige twintig procent van de wortelmassa bevindt zich beneden de twintig centimeter (Yu, Zhuang, Nakayama, & Jin, 2007). De wortelontwikkeling van maïs is sterk afhankelijk van de genetische achtergrond van de plant en van de milieu omstandigheden waarin de plant groeit. Een deel van de wortelgroei is reeds bepaald vóór de vorming van het zaad in de pre-embryonale fase. Dit zijn bijvoorbeeld de embryonale wortels die al gevormd worden vlak na de bestuiving in het vruchtbeginsel van de korrel aan de kolf van de moederplant. Een ander deel van de wortelgroei ontwikkelt zich post-embryonaal. De vorming van deze wortels wordt mede bepaald als reactie op de omgevings- en groeifactoren. Een voorbeeld hiervan is de verlenging van kroonwortels bij een gebrekkige stikstofbeschikbaarheid.

2.1.1. Kiemwortels

De kiemwortels ontwikkelen zich enkele dagen na de zaai en zijn reeds aangelegd in de embryo in het zaadje (Abbe & Stein, 1954). Deze embryonale wortels zijn de primaire wortel en de seminale wortels. De primaire wortel heeft weinig morfologische variatie en is relatief simpel van opzet. Zo heeft deze wortel één duidelijke verticale hoofdwortel met laterale wortels (zijwortels) (Hochholdinger, Woll, & Dembinsky, 2004). De seminale wortels worden circa twee dagen na kieming zichtbaar.

2.1.2. Primaire wortel

De primaire wortel ontwikkelt zich van onder de kiem en groeit in tegengestelde richting van de kiemplant. De primaire wortel ontwikkelt zich altijd in enkelvoud. Deze wortel wordt in een vroeg stadium van de embryonale ontwikkeling als eerste aangelegd. Vanaf tien tot vijftien dagen na bestuiving is de primaire wortel namelijk al te onderscheiden in het embryo (Hochholdinger, Park, Sauer, & Woll, 2004).

2.1.3. Seminale wortels

De seminale wortels ontwikkelen zich ook vanuit de kiem. In tegenstelling tot de primaire wortel, is het aantal seminale wortels dat gevormd wordt variabel. Deze seminale wortels zijn zichtbaar vanaf 22 tot 40 dagen na bevruchting, tijdens de laatste fase van de wortelontwikkeling binnen in de embryo (Erdelska & Vidovencova, 1993).

2.1.4. Nodale wortels

De nodale wortels bestaan uit kroon- en luchtwortels en deze ontwikkelen zich vanaf de cleoptielknopen van de maïsplant, zie figuur 2. Deze wortels vallen, tezamen met de haarwortels en laterale wortels, onder de post-embryonale wortels. Afhankelijk of ze boven- of ondergronds groeien, worden ze lucht- of kroonwortels genoemd. Ongeveer tien dagen na kieming ontwikkelen de eerste nodale wortels zich. Deze vormen zich in de regel eerst tot kroonwortels, voordat er luchtwortels gevormd



worden. De kroonwortels vormen ook als eerste laterale vertakkingen, omdat kroonwortels vaak op of onder maaiveld ontspringen. In een later stadium ontwikkelen beide soorten wortels ondergronds laterale wortels (Hochholdinger, Woll, & Dembinsky, 2004).

Kroonwortels zorgen doorgaans voor de opname van nutriënten buiten het bereik van de embryonale wortels. Beide soorten nodale wortels, in combinatie met hun laterale wortels, zorgen voor de verankering in de bodem.

figuur 2: Twee cleoptielknopen aan de voet van een maïsplant, aangegeven met pijlen. Boven de luchtwortels die richting de bodem groeien en onder de kroonwortels

2.1.5. Laterale wortels en haarwortels

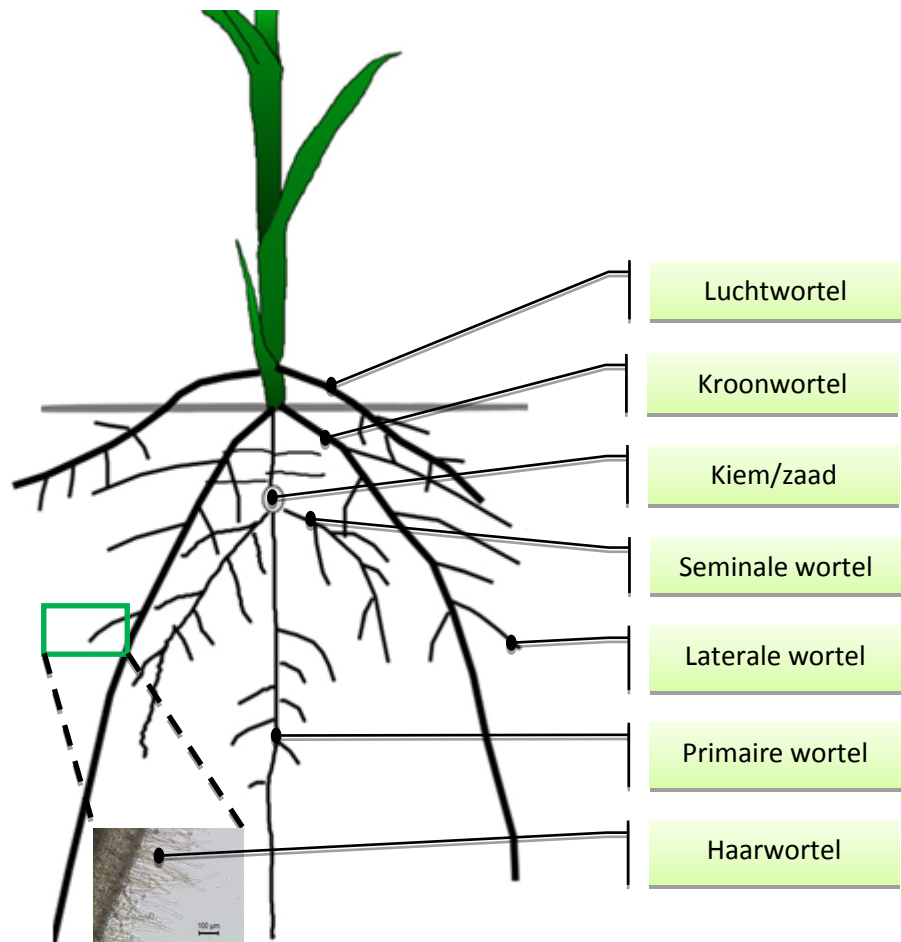
Wortels die niet ontwikkelen vanuit de plant of kiem, zijn de laterale wortels en haarwortels. Deze wortels kunnen zich vormen aan de primaire wortel, de seminale, kroon- en luchtwortels.

Laterale wortels

De eerste laterale wortels vormen zich aan de primaire wortel, circa vier dagen na kieming. De hoeveelheid laterale wortels is een graad voor de vertakking van het wortelstelsel (Postma, Dathe, & Lynch, 2014) en kan variëren van 0 tot 41 wortels per cm wortel (Trachsel, Kaeppler, Brown, & Lynch, 2010). Een hoge mate van vertakking van het wortelstelsel is positief gecorreleerd aan de opname van water en nutriënten en de verankering in de bodem (Smith & Smet, 2012). De hoeveelheid laterale wortels kan sterk variëren als gevolg van een wisselende bodemvruchtbaarheid (Zhu, Kaeppler, & Lynch, 2005).

Haarwortels

Haarwortels vormen zich vanuit de epidermiscellen (Clarkson, 1985). Haarwortels groeien op alle soort wortels en vergroten het worteloppervlak van deze wortel aanzienlijk. Hiermee vervullen haarwortels een belangrijke rol bij de opname van immobiele nutriënten (Lynch, 2011). Haarwortels hebben een gemiddelde lengte van 0,6 tot 3,5 mm (Zhu, Kaeppler, & Lynch, 2005). Ondanks het feit dat haarwortels microscopisch klein zijn, kan men met het blote oog wel een onderscheid aanbrengen tussen matige, gemiddelde of sterke haarwortelvorming (Bates & Lynch, 2000). Zowel haarwortellengte als -dichtheid blijken sterk gereguleerd te worden door de beschikbaarheid van fosfaat (Bates & Lynch, 2000).



figuur 3: Een schematische weergave van de wortelarchitectuur van de maïsplant met bijbehorende naamgevingen.

Bron: (Lynch & Brown, 2012), bewerkt

2.2. Wortelarchitectuur en low input

2.2.1. Introductie low input

In de moderne landbouw worden minerale fosfaat- en stikstofmeststoffen op grote schaal aangewend. In ontwikkelingslanden is het gebruik van deze meststoffen verwaarloosbaar (York & Lynch, 2015). Wereldwijd is de vraag naar fosfaatkunstmest in de vorm van P_2O_5 ruim 45 miljoen ton. Hiernaast wordt deze meststof meestal gedolven uit mijnen in de vorm van fosfaatrots. Hiermee is deze fosfaatbron niet-hernieuwbaar en dus een eindige bron. Men schat dat deze fosfaadmijnen binnen vijftig tot honderd jaar uitgeput zijn (Cordell, Drangert, & Stuart, 2009). Van stikstof is de wereldwijde vraag ruim 147 miljoen ton als N (FAO, 2012). Het gebruik van stikstofkunstmest blijkt het percentage organische stof te verminderen in de bodem. Dit komt door het stimulerende effect van stikstofkunstmest op het bodemleven (Mulvaney, Khan, & Ellsworth, 2009). Wanneer men succesvol kan telen bij minder fosfaat en stikstof, levert dit belangrijke voordelen op. Deze voordelen zijn zowel economisch als milieutechnisch van aard en worden in onderstaande paragrafen verder toegelicht. Succesvol kunnen telen onder zogenoemde low input omstandigheden vraagt inzicht in de relatie van fosfaat en stikstof en de wortelarchitectuur van maïsplanten. De huidige hybride rassen zijn niet per definitie geschikt om een succesvolle en economisch rendabele teelt onder low input omstandigheden mogelijk te maken. Naast genetica speelt ook teeltmanagement een rol in de effectiviteit in de teelt onder low input omstandigheden. Voorbeelden hiervan zijn te vinden in onder andere grondbewerking en bemesting.

Bij de toepassing van de fosfaat en stikstof in de teelt van maïs in Nederland gebruiken veel melkveehouders rundveedrijfmest. De ruimtelijke plaatsing van deze drijfmest heeft ook een relatie met de wortelarchitectuur van maïs. De mest wordt aangewend in de rij waarin gezaaid wordt of vollevelds (Dekker & Postma, 2008). Wanneer de drijfmest te dicht bij het zaad wordt geplaatst, kan schade worden toegebracht aan het wortelstelsel door wortelverbranding. Een depotbemesting in de rij kan leiden tot onderontwikkeling van het wortelstelsel. Hierdoor kan eerder droogteschade plaatsvinden.

In de bemesting heeft de toepassing van verschillende typen meststoffen ook invloed op het wortelstelsel. Zo rapporteren onderzoekers dat het toepassen van verschillende meststoffen tezamen een reactie in het wortelgebied teweeg brengt (Jing, Rui, Zhang, Rengel, & Shen, 2010). Zo wordt onder meer op kalkhoudende gronden de rhizosfeer verzuurd wanneer men een gelokaliseerde gift van superfosfaat en ammoniumsulfaat toedient. Dit heeft als gevolg dat de fosfaat in de bodem wordt gemobiliseerd en de fosfaatopname van de maïs hierdoor wordt gestimuleerd. Er zijn echter meer factoren die de fosfaattoestand in de bodem beïnvloeden naast het meststoffenmanagement: de grondbewerkingsvorm en -tijd, de pH van de rhizosfeer en de vochthuishouding (Niu, Chai, & Jin, 2013).

2.2.2. Fosfaat en maïs

In veel bodems kan de beschikbaarheid van fosfaat een belemmering zijn voor de plantontwikkeling in teeltsystemen. De fosfaatbeschikbaarheid is vaak beperkt omdat het fosfaat gebonden is aan bodemdeeltjes zoals ijzer- en aluminiumoxides, calciumcarbonaat of organische stof (Zhu, Zhang, & Lynch, 2010). In deze vorm is fosfaat dan wel aanwezig in de bodem, maar niet opneembaar voor de plant. Hoewel de vorm van fosfaat een beperking kan zijn, is er ook een groot areaal waar een fosfaattekort heerst. Men schat dat wereldwijd 5,7 miljard hectare land een tekort heeft aan fosfaat (Lynch & Brown, 2012). Het negatieve effect van fosfaattekort in de bodem op maïs kan worden verminderd door het gebruik van geconcentreerde kunstmesten, die een fosfaat leveren die direct beschikbaar is voor de plant. Deze toepassing is echter altijd inefficiënt, vanwege chemische immobilisatie van fosfaat of de weg- en uitspoeling ervan (Niu, Chai, & Jin, 2013). In gewassen wordt doorgaans slechts vijf procent van de toegepaste fosfaatmeststof gebruikt tijdens een teeltseizoen. Een kleine toename in fosfaatefficiëntie zou zich snel vertalen in een groot economisch en ecologisch voordeel (Lynch & Brown, 2012). Wanneer men gewassen kan telen die één procentpunt efficiënter fosfaat opnemen, dan kan dit twintig procent in fosfaatbemesting schelen. Met een wereldwijde vraag aan fosfaatkunstmest van ruim 45 miljoen ton als P_2O_5 kan een dergelijke verandering de wereldwijde vraag naar fosfaatkunstmest potentieel met 9.000.000.000 kilogram afnemen (FAO, 2012).

Bij een lage fosfaatbeschikbaarheid voor de maïsplant wordt de mate van fotosynthese en respiratie drastisch verminderd. Ook daalt de activiteit van verschillende enzymen in de plant aanzienlijk (Usuda & Shimogawara, 1992). Fosfaat wordt door de plant onder andere gebruikt bij de synthese van nucleïnezuur en energie, in de vorm van ATP. Om een betere benutting te krijgen van fosfaat hebben planten complexe mechanismen om in hun fosfaatbehoefte te voorzien. Een van deze mechanismen is de maximalisatie van fosfaatopname uit de bodem, door aanpassing van de wortelarchitectuur. De aanpassingen van de wortelarchitectuur bij fosfaatstress worden veelal gereguleerd door suikers en de hormonen cytokinine, auxine en ethyleen. Dit systeem van suikers en hormonen bepaalt de structuur van het wortelstelsel. De ruimtelijke configuratie van een wortelstelsel is belangrijk voor de fosfaatopname (Niu, Chai, & Jin, 2013).

Ondanks de complexiteit zijn er hoofdkenmerken in de wortelarchitectuur te onderscheiden die terugkomen in het merendeel van de geraadpleegde literatuur van 2004 tot en met 2015 van onder andere Hochholdinger, Hund, Lynch, York en Zhu. Deze individuele wortelkenmerken beïnvloeden de fosfaatopname van de maïsplant maar beïnvloeden ook de stikstofopname. Stikstof en maïs komt verder in dit verslag ter sprake maar het is een cruciaal inzicht dat een kenmerk van wortelarchitectuur voordelig kan zijn voor fosfaatopname maar tegelijkertijd nadelig kan zijn voor stikstofopname. Met het oog op fosfaat zijn er kenmerken die effect hebben op de directe beschikbaarheid hiervan en kenmerken die effect hebben op de mate van bodemverkenning. Met betrekking tot de beschikbaarheid van fosfaat in de grond, is vooral de worteldichtheid van belang van de haarwortels, laterale wortels en de primaire wortel. Bij bodemverkenning zijn met name de lengte, hoek en metabolische kosten van de wortels van belang (Richardson, et al., 2011).

Op fosfaatopname veredelen gebeurt effectiever door op specifieke wortelkenmerken te selecteren ondergronds, dan te selecteren op bovengrondse kenmerken (Zhu, Zhang, & Lynch, 2010). Effectieve fosfaatopname is belangrijk voor de productiviteit in low input teeltsystemen. In intensieve teeltsystemen is dit belangrijk om het milieu-effect te reduceren van weg- en uitspoeling van fosfaatkunstmest.

2.2.3. Stikstof en maïs

In intensieve landbouwsystemen nemen gewassen meer dan de helft van de aangewende stikstof in de meststof niet op. Bij een toename in stikstofefficiëntie door gewassen hoeft er minder bemest te worden met stikstofkunstmest. Dit zou een behoorlijke economische besparing opleveren. Naast deze economische besparing is een voordeel te behalen voor het milieu. Deze milieuwinst kan aanwezig zijn in de vorm van minder uitspoeling van stikstof naar grond- en oppervlaktewater, minder uitstoot van stikstofdioxide naar de atmosfeer en mogelijk een verbetering in opbouw van organische stof in de bodem. Omdat er meer stikstof wordt aangewend dan het gewas opneemt, spoelt er altijd een deel van deze stikstof uit. Bij het strooien van ammoniumhoudende kunstmest vervluchtigt een deel naar de atmosfeer. Ook komt er een deel in de atmosfeer uit de denitrificatie van stikstofoxides (Lynch & Brown, 2012) (AgentschapNL, 2015).

De toename in aanwending van stikstofmeststoffen liep in het verleden parallel met een toename in plantaantallen. Plantaantallen per hectare zijn de afgelopen eeuw fors toegenomen, van minder dan 30.000 planten per hectare tot meer dan 100.000 planten per hectare. Dit houdt in dat de concurrentie om nutriënten tussen planten is toegenomen. Door de verhoogde stikstofconcurrentie tussen individuele planten kan de plant alsnog stikstofstress ervaren. Deze concurrentie is lager wanneer de nodale wortels met een kleinere hoek ten opzichte van het maaiveld groeien. De dichtheid van de wortelarchitectuur van dezelfde plant wordt hierdoor verminderd (York, Galindo-Castañeda, Schussler, & Lynch, 2015). Een lagere dichtheid vermindert de overlap van wortels in dezelfde omgeving. Dezelfde bodem wordt zo niet door meerdere wortels benut. Door effectievere stikstofopname door een andere wortelarchitectuur kan stikstofstress dus worden verminderd.

Een toename in stikstofefficiëntie heeft dus veel voordelen. Maïs veredelen met een wortelarchitectuur van wortelkenmerken die de stikstofopname optimaliseren, heeft hiermee potentie om bij te dragen aan een productiever en duurzamer teeltsysteem. Dit komt ten goede voor zowel telers in ontwikkelingslanden als commerciële telers in ontwikkelde landen.

2.3. Structuurkenmerken 1-8

De term wortelarchitectuur duidt het geheel van individuele kenmerken aan die structuur geven aan het wortelstelsel. In figuur 4 staan deze structuurkenmerken en hun plaats rondom het wortelstelsel van de maïs. Deze structuurkenmerken zijn de variabelen die van invloed zijn op het telen in en veredelen op low input situaties. De prestatie van maïs op het land wordt beïnvloed door veel fenotypische kenmerken van de wortelarchitectuur, de anatomie en morfologie die de worteldistributie beïnvloeden en die op hun beurt weer de nutriëntenopname beïnvloeden. Deze kenmerken zijn onder andere de structuurkenmerken: haarworteldichtheid en –lengte, laterale worteldichtheid en –lengte, afstand tot laterale vertakking, primaire wortellengte en clusterformatie, wortelhoek en –diepte, interactie met mycorrhiza's, aantal en lengte nodale wortels en het aerenchym van de wortels. Interacties tussen de fenotypische wortelkenmerken met betrekking tot foerageringsbruikbaarheid en

metabolische kosten zullen bepalen hoe deze kenmerken tezamen de bodemnutriënten opname beïnvloeden. Wanneer bekend is welke wortelkenmerken nutriëntopname maximaliseren en metabolische kosten minimaliseren kan men een functioneel integreerbaar fenotype creëren (York, Galindo-Castañeda, Schussler, & Lynch, 2015).

2.3.1. Structuurkenmerk 1: haarworteldichtheid en –lengte

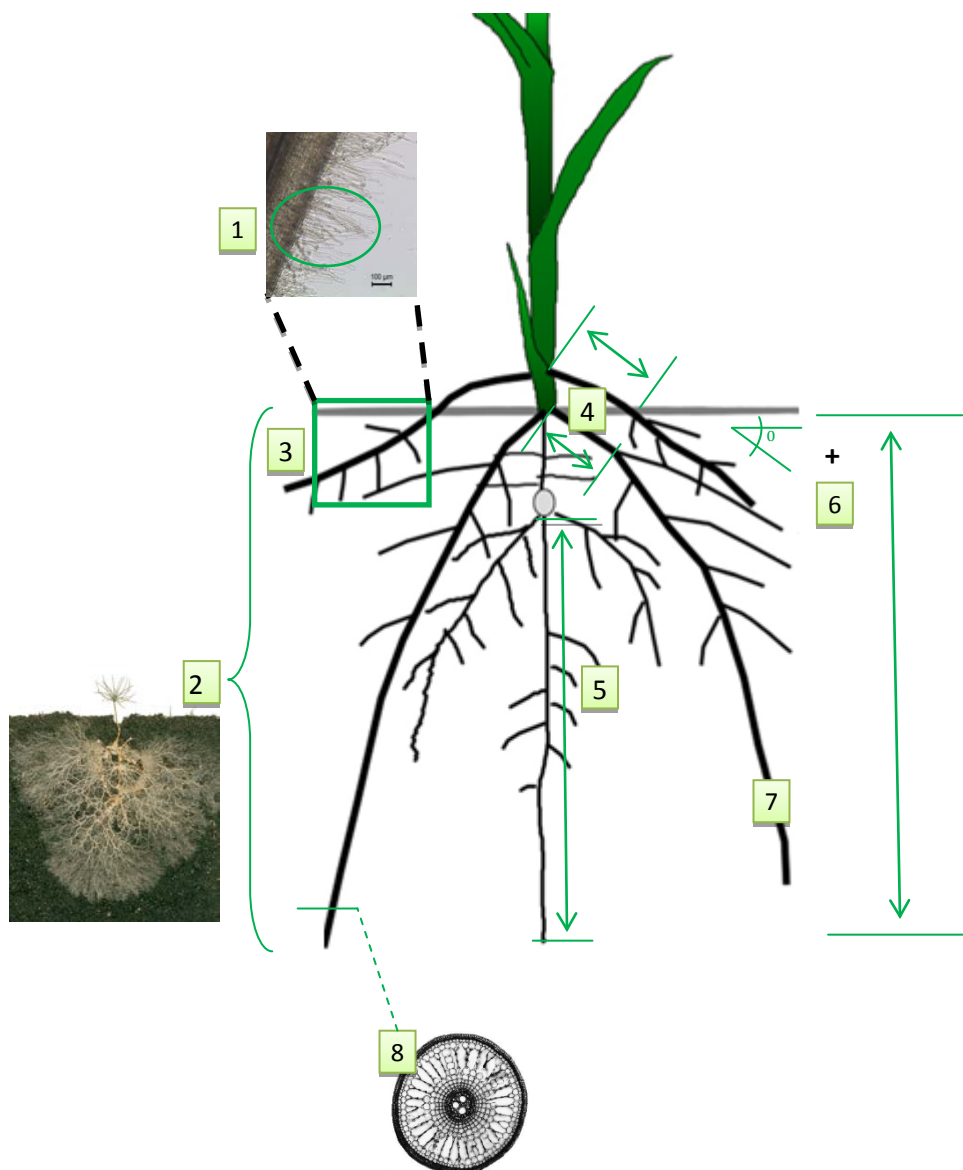
Van haarwortels is bekend dat zowel haarworteldichtheid als haarwortellengte sterk worden gereguleerd door fosfaatbeschikbaarheid. Een grotere haarworteldichtheid versterkt de verspreiding van zwakke organische zuren (exodaten) en enzymen (fosfatasen) die bodemgebonden fosfaat vrij maken en hiermee de biobeschikbaarheid van fosfaat verbeteren. Het wortelstelsel kan een symbiose aan gaan met vesiculaire-arbusculaire mycorrhiza (VAM) om via de hyfen een grotere bodemverkenning en dus meer fosfaatopname te realiseren. Het is echter aangetoond dat VAM en haarwortels dezelfde functie vervullen in de meeste gewassen en dat een grotere haarworteldichtheid- en lengte zelfs VAM kan vervangen in boon en grassen. Hoewel een groeivoordeel niet gedemonstreerd kan worden blijft VAM altijd betrokken bij fosfaatopname bij colonisering van het wortelstelsel (Richardson, et al., 2011). In een low input omgeving, waar fosfaatbeschikbaarheid beperkt is, hebben genotypen met langere haarwortels significant meer plantengroei en meer fosfaatopname. Genotypen met langere haarwortels hebben een betere metabolische kosten-baten ratio dan genotypen met kortere haarwortels. In de wortels worden zogenoemde metabolische ‘kosten’ gemaakt. Onder deze kosten wordt de mate van respiratie gebruikt, uitgedrukt in de uitstoot van koolstof (C). Een ander product van respiratie is wortelgroei na opname van o.a. fosfaat. Men spreekt van een gunstigere metabolische kosten-baten ratio wanneer er minder respiratie is per eenheid fosfaatopname bij langere wortels (Zhu, Zhang, & Lynch, 2010). Haarwortels worden beschouwd als wortels met de minste metabolische kosten per eenheid fosfaatopname (Richardson, et al., 2011). Van alle wortelkenmerken is de verlenging van haarwortels vaak de eerste reactie op fosfaatstress. De verlenging van de haarwortels gebeurt door een versnelling en verlenging van de metabolische activiteit in de haarwortels. Het is bekend dat er meer dan veertig genen verantwoordelijk zijn voor de initiëring en ontwikkeling van haarwortels en dat het merendeel van deze genen wordt geactiveerd door fosfaatstress (Niu, Chai, & Jin, 2013). Uit onderzoek blijkt echter dat haarwortellengte en –dichtheid in maïs bestuurd wordt door enkele grote lokaties in het DNA (QTL's). Op deze kenmerken is middels directe fenotypische selectie relatief eenvoudig te veredelen. Bovendien is er een grote genotypische variatie in haarwortellengte en -dichtheid en is dit kenmerk van substantieel effect op fosfaatopname (Richardson, et al., 2011).

2.3.2. Structuurkenmerk 2: vesiculaire-arbusculaire mycorrhiza

Het is vooral in koude en natte voorjaren dat maïs een verminderde groei laat zien. Maïs is van origine immers een tropisch gewas en de gebruikte cultivars behoren nog altijd tot de C4 categorie van het plantenrijk. Dat koude, natte omstandigheden ongunstig zijn voor de maïsgroei heeft te maken met de vertraagde metabolische activiteit in de plant maar ook in de bodem. Zo is het bodemleven bij lagere temperaturen minder actief en zal minder nutriënten beschikbaar maken voor het gewas. Van fosfaat is bekend dat dertig tot negentig procent van de totale fosfaat in de bodem aanwezig is als organisch fosfaat. In deze vorm dient het eerst gemineraliseerd te worden voordat deze fosfaat opneembaar is voor een maïsplant. Het is bekend dat de VAM schimmel hier een rol in speelt (Timmermans, Sukkel, & Bokhorst, 2012). Het is ook bekend dat het wortelstelsel deze schimmelactiviteit kan stimuleren. Bij kou en daarmee een verminderde bodemactiviteit zal het wortelstelsel van een maïsplant het

bodemleven dus meer moeten stimuleren om bijvoorbeeld fosfaat te mineraliseren. Mycorrhiza colonisatie van de wortels bevordert de opname van fosfaatopname bij lage fosfaatbeschikbaarheid. De colonisatie van deze schimmel beïnvloedt ook de bewortelingsdiepte. Zo wortelen diep wortelende genotypen behoorlijk ondieper na colonisatie van de schimmel en van nature ondiep wortelende genotypen wortelden lichtelijk dieper (Zhu, Kaeppler, & Lynch, 2005).

Klimaat is een veranderende factor in de teelt van gewassen. De voorspelling is dat het klimaat steeds wisselvalliger zal worden. Zo kan men verwachten dat de komende jaren er meer variatie aanwezig zal zijn in de temperatuur aan het begin én tijdens het groeiseizoen. Met deze temperatuurschommelingen neemt de vraag naar robuuste maïsrassen toe. Men spreekt van een robuust ras wanneer deze zich snel kan aanpassen aan weersschommelingen door een continue groei te laten zien op het veld.



figuur 4: Structuurkenmerken van de maïsplant: 1. haarwortellengte en -dichtheid 2. mycorrhiza 3. laterale worteldichtheid en -lengte 4. afstand tussen het begin van nodale wortels en eerste laterale vertakking 5. diepte van

primaire wortel en mogelijke clusterformatie 6. hoek + diepte van de wortels ten opzichte van maaiveld 7. aantal en lengte van nodale wortels 8. aerenchym (luchtholte) binnen in de wortels.
Bron: (Lynch & Brown, 2012), bewerkt

2.3.3. Structuurkenmerk 3: laterale worteldichtheid en -lengte

Laterale worteldichtheid en -lengte is een belangrijk fenotypisch kenmerk in maïs voor fosfaat- en stikstofopname. Onder invloed van een lage fosfaatbeschikbaarheid neemt doorgaans de laterale worteldichtheid af. Dit is het gevolg van een remming van de vorming van nieuwe laterale wortels. Deze eigenschap van de verminderde laterale wortelvorming is een vorm van verkennend gedrag. Nodale en seminale wortels blijven groeien en de bodem verkennen. Laterale wortels vormen zich dan pas wanneer een gelokaliseerde fosfaatbron is gevonden. Zodoende wordt eerst de bodem verkend en zal er plaats specifiek in laterale wortels worden geïnvesteerd wanneer hier direct aanleiding voor is. Er zijn maïs genotypen die een toename of verlenging van laterale wortels vertoonden onder een lage fosfaatbeschikbaarheid. Deze genotypen hadden tot honderd procent meer fosfaatopname en relatieve groeisnelheid dan nauw verwante genotypen met een mindere mate van laterale vertakking. De genetische besturing van laterale vertakking wordt door meer dan vijftien genen gereguleerd en is daardoor complex. Als reactiesignaal bij fosfaatstress blijkt dat auxine een sleutelrol speelt in de aanpassing van de formatie van laterale wortels (Niu, Chai, & Jin, 2013). Noemenswaardig is dat de veranderlijkheid van laterale wortels in reactie op fosfaatbeschikbaarheid genetisch te sturen is. Dit aanpassingsvermogen is dus een eigenschap waar men op kan selecteren bij het veredelen (Richardson, et al., 2011).

Bij stikstoftekort is aangetoond dat minder, maar langere laterale wortels de stikstofopname bevorderen (York & Lynch, 2015). Dit omdat nitraat een mobiel nutriënt is en langere laterale wortels de bodemverkenning uitbreiden terwijl de competitie tussen wortels wordt verminderd.

2.3.4. Structuurkenmerk 4: afstand tot laterale vertakking

De afstand van de eerste laterale wortel tot het punt waar de lucht- of kroonwortel zich vormt is de laterale afstand. Later in het groeiseizoen, wanneer de luchtwortels in contact komen met de bouwvoor, gaan deze laterale wortels vormen. De bouwvoor is echter tegen deze tijd al plaatselijk ontdaan van haar nutriënten. Het uitstellen van het ontwikkelen van laterale wortels totdat ze verder weg zijn van de stengel, kan de koolstof kosten van laterale wortelformatie verminderen, maar tegelijkertijd zal dit geen invloed hebben op de nutriëntenopname. Dit zou meer koolstofallokatie betekenen naar fotosynthetiserend weefsel, reproductief weefsel of foeragerende wortels, die kunnen groeien naar schaarse nutriënten.

Bij beschouwing van de genetica uit de vorige eeuw zijn verschillen gevonden in relatie tot de afstand naar laterale vertakking. Zo is de afstand tussen het begin van de luchtwortel en de eerste laterale wortel aan de luchtwortel met vijftig procent toegenomen ten opzichte van het genetisch materiaal uit deze eeuw. De afstand tussen het begin van de kroonwortel en de eerste laterale wortel is respectievelijk toegenomen met 57%. Opvallend is dat onder low input omstandigheden de afstand tot de laterale wortels afneemt bij luchtwortels (-72%) maar dat low of high input omstandigheden geen effect hebben op de afstand tot laterale vertakking bij kroonwortels. Onderzoekers stellen dat de metabolische energie, die wordt bespaard door de laterale afstand te vergroten, gebruikt kan worden door de plant ten behoeve van laterale wortellengte (York, Galindo-Castañeda, Schussler, & Lynch, 2015). Dit suggereert een toename in laterale wortellengte bij een toename in de afstand tot de laterale wortels.

2.3.5. Structuurkenmerk 5: primaire wortellengte en clusterformatie

Een belangrijke reactie op fosfaattekort is de reductie in de groei van de primaire wortel. Het is aangetoond dat de afgenomen groei van de primaire wortel gecorreleerd is met verminderde cellulaire activiteit in zowel het meristeem als in de wortelalongatie zones van deze wortel (Niu, Chai, & Jin, 2013). De afgenomen cellulaire activiteit in het meristeem van de primaire wortel is niet een direct gevolg van fosfaatuitputting, maar deze reactie op fosfaatstress is genetisch geprogrammeerd. De primaire wortel kan de diepst wortelende wortel van de maïsplant zijn. Door beperkte groei van deze wortel ontwikkelt het wortelstelsel zich minder diep. Hierdoor kan de plant gevoelig worden voor droogte. Er zijn droogte resistente inteeltlijnen van maïs die een relatief goede prestatie hebben bij een lage fosfaatbeschikbaarheid. Dit toont aan dat bij fenotypen die goed presteren onder droogte, dit niet ten koste hoeft te gaan van prestatie onder fosfaatstress. Bovendien veronderstelt men dat het wortelpuntje functioneert als fosfaatsensor van de primaire wortel. Het is bekend dat eiwitten in het wortelpuntje de activiteit en distributie van hormoonachtige stoffen beïnvloeden als reactie op een lage concentratie van bodemfosfaat. Tevens wordt verondersteld dat auxine een rol speelt op de aanpassing van de primaire wortel bij fosfaatstress. De onderliggende mechanismen dienen nog nader onderzocht te worden (Niu, Chai, & Jin, 2013).

Bij de primaire wortel kunnen ook clusterformaties worden waargenomen. Dit zijn laterale wortels die met een hoge dichtheid in een cluster groeien. Wanneer een laterale wortel groeit vanuit een andere laterale wortel spreekt men van een secundaire laterale wortel. Recent onderzoek heeft aangetoond dat de morfologische en fysiologische eigenschappen van deze cluster een sleutelrol spelen in fosfaatefficiëntie. De formatie van een cluster wordt vooral veroorzaakt door fosfaatstress, hoewel het nog onbekend is of de interne of externe fosfaatconcentratie verantwoordelijk is voor de formatie van een cluster (Niu, Chai, & Jin, 2013). Wel is bekend dat wanneer de primaire wortel een geconcentreerde fosfaatbron vindt in de bodem, er vaak een cluster gevormd wordt (Richardson, et al., 2011). Ook is bekend dat stikstof hierbij betrokken is. Een laag stikstofgehalte in de bodem stimuleert de formatie van een wortelcluster bij fosfaatstress, terwijl een hoog stikstofgehalte in de bodem de clusterformatie remt (Niu, Chai, & Jin, 2013). Welke stikstofvorm hierbij betrokken is, is voor maïs nog onbekend. Bij sommige plantensoorten maakt de stikstofvorm niet uit. Plantensoorten reageren verschillend op organische of anorganische stikstof met de clusterformatie (Paungfoo-Lonhienne, Schenk, & Lonhienn, 2009). De grote overlap van genen die tot expressie komen en verantwoordelijk zijn voor de clusterformatie bij lage stikstof- en fosfaatgehalten laat zien dat clusterformatie niet alleen hoeft op te treden bij fosfaatstress (Niu, Chai, & Jin, 2013).

2.3.6. Structuurkenmerk 6: wortelhoek en –diepte

Stikstof en fosfaat komen met name via de bouwvoor in de bodem als gevolg van bemesting en gewasresten op het bodemoppervlak van voorgaande teelten (Ge, Rubio, & Lynch, 2000). Dit maakt dat in het voorjaar de beschikbaarheid van stikstof en fosfaat het grootst is in de bouwvoor. Hierdoor zijn het de wortels met een kleine hoek ten opzichte van het maaiveld, die de opname van stikstof en fosfaat faciliteren vroeg in het seizoen. Dit komt omdat wortels met een kleine hoek ondieper wortelen. Er bevinden zich dan meer wortels in de bovenste laag van de bodem. De wortels die de hoek bepalen zijn de nodale en seminale wortels, zie kenmerk 5 van figuur 4. Deze wortels samen worden ook wel de axiale wortels genoemd (York, Galindo-Castañeda, Schussler, & Lynch, 2015). Er zit veel genetische variatie in het aantal en de lengte van nodale wortels. Naast de hoek van de wortels zijn aantal en lengte van nodale wortels ook van invloed op de diepte van bodemverkenning. Hoewel de beschikbaarheid van stikstof in het voorjaar het grootst is boven in de bouwvoor, spoelt stikstof later in het seizoen uit. Het spoelt dan uit naar diepere lagen in de bodem in de vorm van nitraat. Om later in het seizoen deze stikstof op te kunnen nemen, zijn diepere wortels nuttig (Lynch & Brown, 2012).

Verder beïnvloedt de hoek van de axiale wortels de concurrentie om stikstof en fosfaat tussen wortels van eenzelfde plant, maar ook tussen naburige planten. Met een kleine hoek van de axiale wortels wordt de concurrentie om nutriënten tussen de wortels van dezelfde plant minder. Er komt meer ruimte tussen de wortels zodat de dichtheid van de wortels vermindert (York, Galindo-Castañeda, Schussler, & Lynch, 2015). Een kleinere hoek van de axiale wortels vermindert de concurrentie om fosfaat met naburige wortelstelsels (Ge, Rubio, & Lynch, 2000). Dit is een belangrijk inzicht omdat axiale wortels die meer horizontaal groeien meer verspreid zijn. Hierdoor ervaren ze minder concurrentie met andere wortels (Lynch, 2007).

Wortelstelsels met een kleine hoek wortelen doorgaans minder diep. Dit komt ten goede aan de opname van fosfaat maar kan nadelig zijn voor wateropname tijdens droogte en de stikstofopname later in het seizoen. Wortelstelsels die met een grote hoek wortelen, wortelen doorgaans dieper. Dit is gunstig voor de wateropname tijdens droogte en de stikstofopname later in het seizoen, maar gaat ten koste van de opname van fosfaat. Er lijkt hier een ruil te zijn tussen voordelen van twee hoeken van bewortelen (Lynch & Brown, 2012).

Wortelstelsels die in een kleinere hoek wortelen maar die later in het seizoen dieper kunnen wortelen, kunnen voor de plant een uitkomst zijn. Zo kan de fosfaatopname worden verbeterd terwijl de vocht- en stikstofopname niet teveel worden beperkt. De voordelen van een wortelstelsel met een kleinere hoek zijn groot. Zo heeft dit type wortelstelsel de opname van fosfaat gemaximaliseerd, met als gevolg dat de kiemplant groei vergroot. Hierdoor vindt er een grotere fotosyntheseactiviteit plaats, met meer toewijzing van nutriënten naar de wortels. Het wortelstelsel is in staat dieper te wortelen waardoor het gewas meer kan opbrengen, ook tijdens droogte (York, Galindo-Castañeda, Schussler, & Lynch, 2015).

2.3.7. Structuurkenmerk 7: aantal en lengte nodale wortels

De kroon- en luchtwortels kunnen sterk variëren in aantal en lengte. Het aantal en de lengte van deze nodale wortels wordt net als andere structuurkenmerken beïnvloed door genetica en omgeving. Dat genetica invloed heeft op de nodale wortels blijkt bijvoorbeeld uit onderzoek naar de wortelarchitectuur van commerciële maïsrassen van de afgelopen honderd jaar. De nieuwe rassen hebben significant minder en langere nodale wortels (York, Galindo-Castañeda, Schussler, & Lynch, 2015). Het aantal kroonwortels tussen lijnen kan genetisch verschillen met een factor 10 (Lynch, 2014). De invloed van de omgeving op nodale wortels blijkt bijvoorbeeld al bij twee weken oude kiemplanten. Onder stikstofstress worden de kroonwortels langer maar de luchtwortels, die zich later vormen, worden sterk geremd in zowel aantal als in lengte (Gao, Chen, Yuan, & Zhang, 2014). De lengte gaat vaak ten koste van het aantal nodale wortels en vice versa. De vorming van nodale wortels heeft ook invloed op andere wortels. Er worden minder en kortere laterale wortels gemaakt onder stikstofstress. Hierdoor kan stikstof binnen de plant worden bespaard. De bespaarde stikstof kan worden gebruikt voor het langer groeien van de nodale wortels. Dit verklaart een remming van laterale wortelgroei en een stimulatie van nodale wortelgroei onder stikstofstress (Gao, Chen, Yuan, & Zhang, 2014).

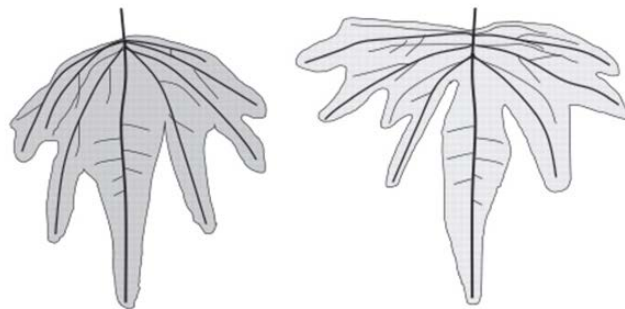
Nodale wortels hebben een belangrijke relatie met stikstof en fosfaat. Samen met de hoek waarin zij groeien (zie structuurkenmerk 5), hebben aantal en lengte van de nodale wortels een grote invloed op de stikstof- en fosfaatopname.

Maïsgenetica die minder kroonwortels vormt, kan in het metabolisme van de plant stikstof besparen. Deze stikstof kan worden gebruikt om de bestaande kroonwortels sneller en langer te laten groeien. Hierdoor wordt de stikstofopname vergroot met als gevolg een betere plantgroei en opbrengst (Lynch, 2014). Onderzoek wees uit dat een hybride ras van 1998 ongeveer één nodale wortel per cleoptielknoop minder had dan een hybride uit 1959. Deze hybride uit 1998 presteert beter bij stikstofgebrek. Minder nodale wortels optimaliseert stikstofopname terwijl de stikstofconcurrentie tussen planten wordt verminderd (York, Galindo-Castañeda, Schussler, & Lynch, 2015). Dit illustreert dat de wortelarchitectuur van maïsrassen de afgelopen veertig jaar meer is toegespitst op het efficiënt opnemen van stikstof.

Maïs die genetisch meer maar kortere nodale wortels vormt, zal de bodem intensiever benutten. Dit kan gunstig zijn ten behoeve van de fosfaatopname. Op deze manier komen er namelijk meer nodale wortels boven in de bouwvoor waar de fosfaat zich met name bevindt (Richardson, et al., 2011). Deze wortelstructuur draagt echter ook bij aan meer worteloverlap. Dat wil zeggen dat de ruimte in de bodem waar een nodale wortel het fosfaat weghaalt, wordt gedeeld met een andere nodale wortel. Deze andere wortel bevindt zich dan in een omgeving die al uitgeput is. Dit kan gezien worden als een verspilling van koolstoftoewijzing naar deze tweede nodale wortel in dezelfde wortelzone. Fosfaatopname wordt efficiënter door een toename van het aantal laterale wortels aan nodale wortels, eerder dan door een toename van het aantal nodale wortels (Richardson, et al., 2011). Noemenswaardig is dat het deels omgekeerde principe van toepassing is voor stikstofopname. De efficiëntie van stikstofopname wordt gemaximaliseerd bij minder, maar langere laterale wortels (Postma, Dathe, & Lynch, 2014).

Hoewel aantal en lengte van laterale wortels een belangrijke rol speelt, is de rol van het aantal nodale wortels duidelijk. Ten behoeve van de maximalisatie van zowel stikstof- als fosfaatopname, zijn minder nodale wortels gunstig. De metabolische kosten voor het produceren van deze wortels kunnen gebruikt worden voor langere kroonwortels, langere laterale wortels of meer laterale wortels. Langere kroonwortels vergroten de bewortelingsdiepte van deze wortels. Tezamen met langere laterale wortels, wordt zo de stikstofopname geoptimaliseerd. De fosfaatopname wordt optimaler wanneer er meer laterale wortels worden gevormd.

Vermoedelijk is er een ideaal aantal nodale wortels voor het ideale wortelstelsel in een bepaalde omstandigheid. Te weinig nodale wortels leidt tot een tekort aan bodemvolume, dat wordt verkend. Een teveel aan nodale wortels leidt tot een overmatige intensiteit van doorworteling van het verkende bodemvolume. Daarnaast relateert het aantal nodale wortels aan de bewortelingsdiepte. Voor een groot deel bepaalt de worteldiepte gunstige opnameomstandigheden voor fosfaat óf stikstof en tijdens droogte, voor water. Waarschijnlijk is het ideale aantal nodale wortels gerelateerd aan het aantal cleoptielknopen wat wordt gevormd, zie figuur 5. In het gewas boon, dat wat betreft de wortelarchitectuur vergelijkbaar is met maïs, is hier onderzoek naar uitgevoerd (Lynch & Brown, 2012). Het blijkt dat bij boon, de hoek van de nodale wortels verschilt per cleoptielknoop. Omdat de nodale wortels per cleoptielknoop in een andere hoek groeien, hebben genotypen met meer knopen, een groter bereik aan bodemverkenning. De bodem wordt immers onder meerdere hoeken verkend. Het aantal cleoptielknopen is niet afhankelijk van de fosfaattoestand in de bodem, er kan op veredeld worden. Dit biedt mogelijkheden voor het verbeteren van de nodale wortels in de maïs.



figuur 5: Het veredelen op cleoptielknopen biedt een compromis tussen diep of ondiep wortelen. Links een variant met twee knopen en rechts drie knopen.

Bron: (Lynch & Brown, 2012)

2.3.8. Structuurkenmerk 8: aerenchymvorming

Met het verkennen van de bodem legt de maïsplant fosfaat en koolstof vast in de wortels. Het verkennen van de bodem kan meer dan vijftig procent van de dagelijkse fotosyntheseactiviteit in beslag nemen (Zhu, Zhang, & Lynch, 2010).

De wortels van planten zijn opgebouwd uit cellen met verschillende functies. De opbouw daarin kan variëren. Binnen deze cellenstructuur, ook wel parenchym genoemd, kunnen zich luchtholtes vormen.

De luchtholtes worden aerenchym genoemd, zie figuur 6. Het aerenchym vervangt de levende cellen in de wortel. In dit geval is de vorming van aerenchym in plaats van levende cellen, de enige verandering in de morfologie van het wortelstelsel.

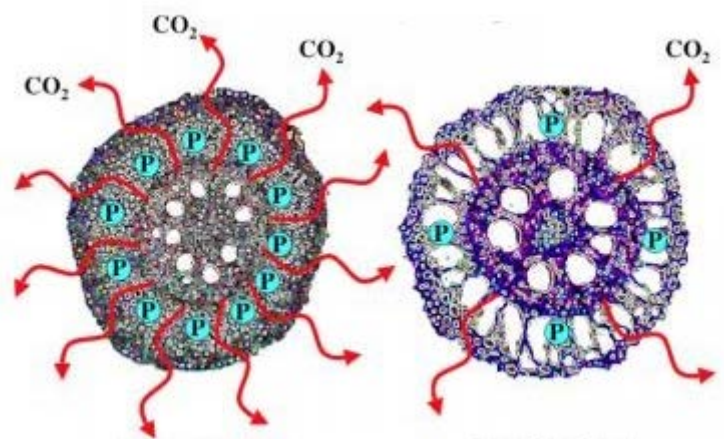
Omdat worteldiameter, worteloppervlakte en nutriëntenopname gelijk blijven in aerenchymvormende wortels kunnen deze als energiezuinige wortels worden gezien. Omdat aerenchym de plant geen fosfaat en koolstof gekost heeft en geen onderhoudsademhaling nodig heeft, kost het de plant minder energie om een dergelijke wortel te vormen, zie figuur 7.

Aerenchymvorming is voor een deel erfelijk en voor een deel afhankelijk van de omgeving (Lynch, 2014). Ook in maïs is er genetische variatie in aerenchymvorming, waarbij het fosfaatgehalte binnen in de wortel ook van invloed is. Aerenchymvorming is namelijk ook een reactie op gebrek aan fosfaat, stikstof en water in de bodem, net als een hoge temperatuur (Lynch, 2014). Door de vorming van aerenchym blijft er energie over voor de plant en kan er geïnvesteerd worden in andere wortels. Door de aanleg van aerenchym kan de plant dus meer of langere wortels maken.



figuur 6: Een dwarsdoorsnede van een maïswortel met (L) en zonder (R) aerenchymvorming.

Bron: (Lynch, 2014)



figuur 7: Door aerenchymvorming legt de plant minder fosfaat (P) vast in de wortel en vindt er minder onderhoudsrespiratie plaats (CO₂).

In onderzoek blijkt dat fosfaatopname tot zeventig procent kan worden verhoogd door de vorming van aerenchym bij een lage fosfaatbeschikbaarheid (Lynch, 2014). Langere wortels stelt de maïsplant ook in staat dieper te wortelen. Hierdoor kan de plant tijdens droogte of stikstoftekort de diepere lagen in de bodem bereiken met de gunstige gevolgen van dien (Saengwilai, Nord, Chimungu, Brown, & Lynch, 2014) (Gao, Chen, Yuan, & Zhang, 2014). Energie die wordt bespaard met aerenchym kan mogelijk ook bovengronds worden gebruikt door de plant. Onderzoek toont aan dat maïs met aerenchymvorming meer groei vertoont bij gebrek aan nutriënten. Zo leidde de vorming van aerenchym in wortels tot een toename in groei van meer dan vijftig procent bij een lage fosfaat- of stikstofbeschikbaarheid (Lynch, 2014). De vorming van aerenchym in wortels lijkt een essentieel structuurkenmerk voor maïsgenotypen die worden geteeld onder low inputomstandigheden.

Aerenchymvorming kan nu, maar zeker in de nabije toekomst, van grote waarde zijn met het oog op klimaatverandering. Naar verwachting zullen er meer perioden van droogte voorkomen en zullen deze perioden ook langer aanhouden. Naast toenemende droogte zal de mate van neerslag veranderen, deze wordt namelijk intenser (Westenbrink, 2014). Omdat dezelfde hoeveelheid neerslag zal vallen in een korter tijdsbestek, zullen tijdelijke overstromingen vaker voorkomen. Bij deze klimaatverandering kan aerenchymvorming in de wortels voor beide situaties een bescherming bieden. Bij droogte kan de maïs dieper wortelen en bij overstroming zorgt aerenchym voor lucht in de wortels. Doordat de aerenchym lucht bevat kan de gasuitwisseling langer doorgaan voordat de wortel, als gevolg van verstikking, afsterft (Jackson & Armstrong, 1999).

2.4. Wortelarchitectuur en veredeling

Structuurkenmerken kunnen reageren op de nutriëntentoestand in de bodem. Deze reactie wordt echter indirect veroorzaakt. Het is namelijk het gekoppelde gen in het DNA van de plant, dat wordt geactiveerd wat de groei van het wortelstelsel beïnvloed. De mate van remming of stimulering van het DNA bepaalt de reactie op bijvoorbeeld fosfaattekort. Laterale worteldichtheid en -lengte wordt bijvoorbeeld op vijftien lokaties in het DNA

geregeld (Richardson, et al., 2011). Onder fosfaattekort is een hoge laterale worteldichtheid gunstig, omdat dit tot een hogere fosfaatopname leidt. Er zijn maïsgenotypen waarvan de laterale worteldichtheid toeneemt bij fosfaattekort. Echter zijn er ook genotypen die het tegenovergestelde effect laten zien bij fosfaattekort (Niu, Chai, & Jin, 2013). De reactie vanuit de genen veroorzaakt dus het aanpassingsvermogen van structuurkenmerken op low input situaties. Het inkruisen van dit soort genetische effecten wisselt in complexiteit. Een effect zoals laterale worteldichtheid laat zich moeilijk inkruisen omdat de genen zich op veel plaatsen in het DNA bevinden. Elk gen draagt dan een stukje bij aan laterale worteldichtheid. Een effect zoals haarworteldichtheid wordt bestuurd vanuit enkele lokaties in het DNA. Elke lokatie draagt dan meer bij aan haarworteldichtheid, dan een lokatie bijdraagt aan laterale worteldichtheid. Hierdoor is het eenvoudiger om een grotere haarworteldichtheid in te kruisen (Niu, Chai, & Jin, 2013). Dit genetisch effect erft namelijk additief over, het is een opstapelbaar kenmerk in het nageslacht. Het is aannemelijk dat andere structuurkenmerken zoals de wortelhoek, aantal nodale wortels en dergelijke genetisch apart gestuurd worden (Lynch & Brown, 2012). Op deze structuurkenmerken is daarom vermoedelijk redelijk eenvoudig te veredelen.

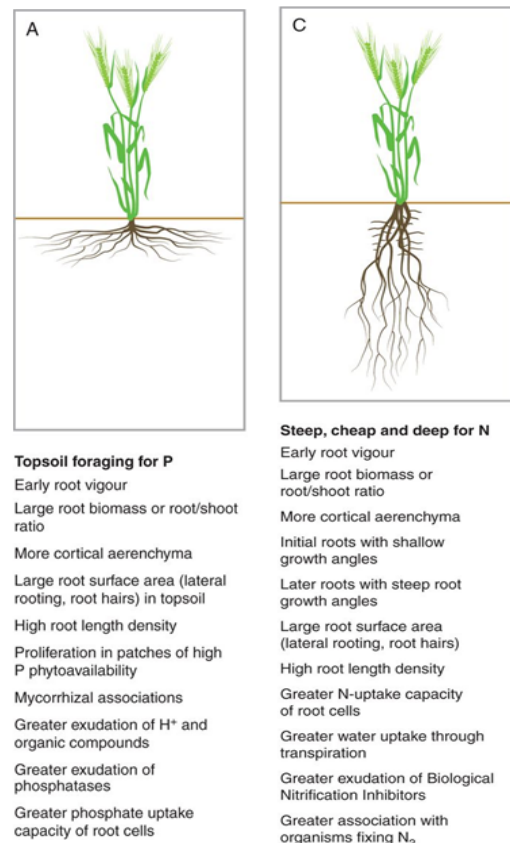
Een veredelingsprogramma wat zich richt op oorzaken, zoals specifieke structuurkenmerken, is effectiever dan een programma wat zich richt op de gevolgen hiervan. Een voorbeeld is de hoek waarin wortels groeien. Deze bewortelingshoek is grotendeels verantwoordelijk voor de bewortelingsdiepte. Men kan stellen dat de hoek waaronder wortels groeien, een oorzaak is van de diepte die wortels kunnen bereiken. Deze bewortelingsdiepte is een gevolg van de bewortelingshoek. De bewortelingsdiepte is op zijn beurt weer een oorzaak van meer droogtetolerantie en stikstofopname (later in het seizoen). Hierdoor neemt de opbrengst toe, wanneer water of stikstof de limiterende factoren zijn voor optimale groei. Veredelen op opbrengst is veredelen op een deelgevolg van de oorzaak bewortelingshoek.

Veredelen op opbrengst is geruime tijd een veredelingsdoel geweest. Al minstens honderd jaar ligt de nadruk bij maïsveredelaars op het verhogen van de opbrengst. Hierbij wordt de wortelarchitectuur traditioneel genegeerd, terwijl maïsplanten juist door de wortels een optimale groei kunnen bereiken in verschillende bodems en omstandigheden (Waines & Ehdaie, 2007). Het verbeteren van fosfaat efficiëntie door selectie op bovengrondse kenmerken zoals opbrengst, is lastig door de complexiteit van fosfaatbeschikbaarheid in de bodem (Zhu, Zhang, & Lynch, 2010). In de afgelopen eeuw zijn de wortels van maïsrassen anders gaan groeien. Ten opzichte van oudere hybriden hebben moderne hybriden een zeven graden minder steile bewortelingshoek, één nodale wortel minder per cleoptielknoop en een dubbele afstand tot laterale vertakking. Alle hybriden die zijn gebruikt in dit onderzoek hebben een bewortelingshoek van meer dan 45 graden ten opzichte van de horizon. Met een dergelijke bewortelingshoek kunnen alle wortelstelsels van de hybriden uit het onderzoek als steil worden beschouwd. Moderne genetica heeft zowel onder goede als matige stikstofbeschikbaarheid een meeropbrengst van ruim vijftig procent ten opzichte van de oudere genetica uit de vorige eeuw. Dit is te verklaren doordat het merendeel van deze eigenschappen gunstig zijn voor stikstofopname (York, Galindo-Castañeda, Schussler, & Lynch, 2015). In low input situaties is een optimale fosfaatopname ook essentieel, dus moet hier ook op worden veredeld.

2.5. Samenhang tussen wortelarchitectuur, low input en veredeling

Het is bekend dat de hoedanigheid van structuurkenmerken, gunstig voor fosfaatopname, ongunstig kan zijn voor stikstofopname, zie figuur 8. Er is een wisselwerking tussen fosfaatopname en stikstofopname door menig structuurkenmerk. Alleen aerenchymvorming en minder nodale wortels lijken zowel fosfaat- als stikstofopname te bevorderen.

Selecteren op alleen wortelmassa zal vermoedelijk niet het gewenste resultaat opleveren. Veredelen op een wortelarchitectuur die leidt tot meer wortelmassa kan namelijk een negatief effect hebben op de opbrengst. De metabolische kosten in koolstof en nutriënten die de plant heeft geïnvesteerd in zijn wortels, zijn dan groter dan de opname die deze wortels kunnen realiseren (Clarkson, 1985). Het vormen van de juiste structuurkenmerken bij de juiste omstandigheden is noodzakelijk. Door op dit aanpassingsvermogen van specifieke structuurkenmerken te veredelen, kan onder wisselende stressfactoren in low input situaties de optimale opbrengst worden behaald. Ruim tien jaar geleden suggereerden onderzoekers al dat het aanpassingsvermogen van de hoeveelheid laterale wortels (Zhu, Kaeppler, & Lynch, 2005) en haarwortellengte in de toekomst mogelijk een veredelingscriterium zou worden (Zhu, 2003).



figuur 8: De wisselwerking tussen geoptimaliseerde wortelarchitectuur: voor fosfaatopname (P) links en voor stikstofopname (N) rechts.

Bron: (Lynch, 2014), bewerkt

3. Materiaal en methode

Nordic Maize breeding (NMB) is een bedrijf dat zich specialiseert in het veredelen van nutriënt-efficiënte maïsrassen. NMB is de opdrachtgever van dit afstudeeronderzoek. Het afstudeeronderzoek bestaat uit een literatuuronderzoek dat parallel liep aan twee veldonderzoeken. De veldonderzoeken zijn uitgevoerd in het voorjaar van 2015 in Friesland, op lokatie in Joure en in Tjalleberd. Alleen op lokatie Joure zijn waarnemingen uitgevoerd direct aan het wortelstelsel. De drieweg hybriden die zijn onderzocht in Friesland zijn geproduceerd in de nursery van NMB in Nieuw-Zeeland in de Nederlandse winter van 2014/2015. Een nursery is de naamgeving voor een zaadproductie waarbij vele testkruisingen worden ontwikkeld voor bijvoorbeeld een screening in het volgende seizoen. Omdat hier waarnemingen zijn uitgevoerd aan relevante ouderlijnen, zijn deze waarnemingen opgenomen in dit afstudeeronderzoek. De data uit Nieuw-Zeeland zijn toegevoegd aan de data van de veldonderzoeken in Friesland.

3.1. Literatuuronderzoek

Door NMB zijn wetenschappelijke artikelen aangeleverd. Sleutelwoorden van deze artikelen zijn doorgaans 'phosphate', 'architecture', 'maize', 'phenotype', 'root', 'phosphate deficiency', 'phosphate acquisition', 'root traits' en 'pull resistance'. Deze collectie van literatuur omvat ruim tweehonderd artikelen.

3.2. Nieuw-Zeeland

In Nieuw-Zeeland zijn waarnemingen uitgevoerd aan jongvolwassen en volwassen planten van de single cross, (A*B). Hier is onder andere early vigour (EV) en trekkracht (LP) bepaald. LP is een score (1-9) die wordt toegekend aan de hand van de verticale trekkracht die nodig is om een plant met wortels en al uit de grond te trekken. Hoe hoger de LP hoe meer kracht er nodig was om de plant uit te grond te trekken. LP kan worden gebruikt als indicatie voor de massa van het wortelstelsel (Penny, 1981). Totaal wortelgewicht, wortelvolumen en gewicht van nodale wortels is namelijk significant en positief gecorreleerd met verticale worteltrekweerstand (Nass & Zuber, 1971). Naast de EV en LP is ook een korrelopbrengstbepaling uitgevoerd door het aantal korrels op een kolf te tellen. Alle bepalingen zijn verricht aan drie representatieve planten in één plotje. Het veld in Nieuw-Zeeland is qua proefopzet vergelijkbaar met de proefopzet van het onderzoek in Friesland in 2015. Echter is in Nieuw-Zeeland de nursery alleen onder high input aangelegd ten behoeve van zaadproductie, ter illustratie zie figuur 9. Er zijn geen ouderlijnen gegroeid onder low input omstandigheden. De data van de onderzoeken in seizoen 2014/2015 worden in dit onderzoek gebruikt en zijn te vinden op de bijlage CD. Deze data zijn toegevoegd aan één overkoepelende database.



figuur 9: De zaaimachine in Nieuw-Zeeland links met een overzicht van het resultaat rechts.

3.3. Veldonderzoek Nederland

Op lokatie in Tjalleberd en in Joure zijn observaties verricht aan de driewegkruisingen, $(A*B)*C$. Op beide lokaties zijn observaties uitgevoerd naar de early vigour en paarskleuring van de maïsplanten in de plotjes. De lokaties hebben verschillende zaaidata. In Joure is op 8 mei gezaaid en in Tjalleberd op 13 en 14 mei. In Joure zijn 34 dagen na zaaidatum observaties uitgevoerd en in Tjalleberd 42 dagen na zaaidatum. Alleen op lokatie Joure zijn waarnemingen en metingen uitgevoerd aan de wortelstelsels van maïsplanten. Dit is 39 dagen na zaaidatum uitgevoerd. Bij de observatie aan de wortelstelsels is de laterale wortelontwikkeling waargenomen, zijn de lengtes van kroonwortels en de primaire wortel gemeten en is het aantal kroonwortels geteld.

3.3.1. Observatie van early vigour en paarskleuring

Op alle proeflokaties zijn de early vigour en paarskleuring beoordeeld. Bij deze observatie is gekeken naar de gemiddelde maïsplant die representatief is voor het gezaaide plotje. Early vigour is de mate waarin een maïsplant groeikracht toont. Bij bijvoorbeeld fosfaatstress heeft de maïsplant verminderde fotosynthese, respiratie en enzymactiviteit en zal achterblijven in groei, wat zich uit in een beperkte early vigour (Usuda & Shimogawara, 1992). Ook is te verwachten dat er minder early vigour is bij een matige ontwikkeling van haarwortels en laterale wortels (Richardson, et al., 2011), alhoewel men in de praktijk vaak paarskleuring aantreft bij matige wortelontwikkeling.

Bij het beoordelen van early vigour worden een aantal kenmerken in acht genomen: totale bladoppervlakte, bladkleur en plantlengte. Bij de observatie van het bladoppervlakte wordt rekening gehouden met het aantal bladeren en de afmetingen van het blad. Bij de observatie van bladkleur is de tint van bladgroen van belang. Hoe donkerder groen het blad kleurt, des te hoger de EV score zal zijn. Bij de observatie van plantlengte wordt geen meetlat gebruikt maar wordt gekeken naar de lengteafwijking van de gemiddelde plant ten opzichte van de referentie. De score is gegeven aan een heel plotje waarbij is gekeken naar individuele planten door het plotje heen. Het scoren van een plotje op EV gebeurt op het oog, waarbij gescoord wordt van 1 tot en met 9. Hierbij staat een EV score van 1 voor uitermate slecht uitziende, relatief kleine en slecht ontwikkelde maïsplanten en een EV score van 9 voor uitermate vitale, relatief grote en goed ontwikkelde maïsplanten. Voor illustratie van de EV score, zie tabel 1. Er is geen foto beschikbaar van een EV score van 8.

tabel 1: Het scoren van een object op Early Vigour (EV) gebeurt op het oog waarbij men scoort van 1 tot en met 9. Hierbij staat een EV score van 1 voor een uitermate beroerde, relatief kleine en slecht ontwikkelde maïsplant en een EV score van 9 voor een uitermate vitale, relatief grote en goed ontwikkelde maïsplant.

EV	EV	EV
4 	5 	6 
7 		9 

Paarskleuring wordt in dit geval niet betrokken bij de EV observatie. Deze wordt apart gescoord op eenzelfde manier zoals men de bladkleur observeert. In plaats van de mate van donkergroen te bepalen, is een score toegekend voor het oppervlakte wat paars kleurt. Voor illustratie van de paarsscore, zie tabel 2.

tabel 2: De paarsscore waarbij een plant met paarsscore 1 alleen aan de zijkant van het blad paarskleuring toont en een plant met paarsscore 9 bijna totaal paars kleurt.

Paars	Paars	Paars
1 	3 	5 
7 	9 	

3.3.2. Waarneming en meting aan het wortelstelsel

Genotypen met een vigoreus wortelstelsel vroeg in de ontwikkeling, hebben ook een superieur wortelstelsel bij adolescentie (Nass & Zuber, 1971). Op lokatie Joure zijn maïsplanten uitgegraven, telkens drie planten per plotje. Het uitgraven is uitgevoerd middels de “shovelomics methode” (Trachsel, Kaeppler, Brown, & Lynch, 2010). Op zandgrond is deze methode efficiënt om in een vroeg stadium genotypes te identificeren met een uitgebreid wortelstelsel. In deze methode wordt de plant opgegraven met behulp van een spade op 30 cm afstand van de stengel. Waar volgens de methode van Trachsel en zijn team voor alle wortelkenmerken een score wordt gegeven, is in dit onderzoek alleen een score gegeven voor de laterale wortelontwikkeling. Met andere woorden, voor de dichtheid en lengte van de laterale wortels is één score gegeven. Bij een zeer matige laterale wortelontwikkeling is een score 1 gegeven en bij zeer sterke laterale wortelontwikkeling is een score 9 gegeven. Van deze scorewaarnemingen zijn geen foto's gemaakt vanwege onbeschikbaarheid van een geschikt fototoestel. Er is dus geen schaalverdeling aanwezig voor laterale wortelontwikkeling. Naast deze scorewaarneming is het aantal kroonwortels geteld en zijn de lengtes van de primaire wortel en de kroonwortels gemeten.

3.4. Proefopzet

Voor het onderzoek zijn er vijf proeven aangelegd op schrale zandgrond waarvan twee in Joure (LVR en PPO) en de overige drie in Tjalleberd (LVR), Nije Mirdum (PPO) en Rolde (PPO). De proefvelden zijn door twee partijen gezaaid: de student Laurens van Run (LVR) en de organisatie Praktijkonderzoek Plant & Omgeving (PPO). De proeflokatie Rolde is gelegen in de provincie Drente en de overige proeflokaties in de provincie Friesland. De resultaten van lokatie Nije Mirdum (PPO) en Rolde (PPO) en Joure (LVR) zijn uiteindelijk niet gebruikt in dit onderzoek vanwege de omvang van de huidige gegevensverwerking. De proefopzet van deze lokaties is identiek aan die van Joure.



figuur 10: Diverse situaties omtrent het zaaien in Tjalleberd en Joure. Weergegeven de vierrijige zaaimachine (PPO), éénrijige zaaimachine (LVR) en zaadafteller.

Bij de verschillende proefvelden zijn testkruisingen met verschil in genetische achtergronden gezaaid in twee verschillende bemestingsomstandigheden, high en low input. Plotjes in de high input hebben alle voedingsstoffen tot hun beschikking voor optimale groei en plotjes in de low input hebben alleen een tekort aan fosfaat. In Joure is de RundVeeDrijfmest (RVDM) in beide inputs vollevelds uitgereden. In Tjalleberd is de RVDM in de high input in de rij aangebracht en in de low input vollevelds. In Joure is de gehele voorbewerking verlopen via een traditioneel maïsteeltsysteem: Op kaal bouwland, met maïs als voorvrucht, is RVDM uitgereden en vervolgens is het land gehakfreed, geploegd en weer gehakfreed om het zaaiklaar te maken. Hier is later gezaaid door het PPO met een vierrijige zaaimachine met tractor. In Tjalleberd is op een stoppel van triticale/erwt RVDM uitgereden, danwel in de rij danwel vollevelds. Vervolgens is direct op de stoppel een strook gefreed met behulp van de strokenfrees. Later is hier met een éénrijige pneumatische (hand)zaaimachine gezaaid, ter illustratie van de werkwijze zie figuur 10. Voor verdere detailinformatie zie Bijlage 1: detailinformatie proefvelden.



figuur 11: De proeflokaties Joure (links) en Tjalleberd (rechts). De derde foto illustreert de werkwijze van de wortelanalyse.

De proef is op alle lokaties in twee delen opgesplitst, zie Bijlage 2: proefveld schema. Dit is vanwege de beschikbare ruimtes op de proefpercelen. Elk plotje bestaat uit 2 rijen van netto 5 meter diepte, ter indicatie van de plotjes zie figuur 11. Tussen de plotjes is een pad gemaakt van één meter. Proefopzet 2 is een vervolg op proefopzet 1, waar andere kruisingen worden gebruikt. De cijfers in de proefopzetten corresponderen met de veldboeken waar de interne code voor de testkruising staat vermeld. In de veldboeken staat elke kruising weergegeven met het kruisingsverleden. Zo betekent het cijfer 3 simpelweg regel 3 in het veldboek, waar de geniteurs achter staan vermeld.

3.5. Datapreparatie

De plotjes zijn gezaaid in high en low input omgevingen en zijn onder andere drieweg kruisingen van NMB en referentie kruisingen (huidige commerciële hybriden van diverse (concullega's¹). De zogenoemde C bestuiver (tweede male) is de flint vaderlijn die gebruikt is als bestuiver van de single cross bij de productie van de drieweg hybride. In de gebruikte dataset zijn hier twee verschillende males voor gebruikt. Dit kan male1 of male2 zijn.

De drie waarnemingen per plotje van de laterale wortelscore, lengte en aantal kroonwortels en lengte primaire wortel zijn gemiddeld tot één waarde. De variabelen zijn vervolgens eerst getest op normaalverdeling. Dit kan middels de Kolmogorov-Smirnov (KS) en Shapiro-Wilk (SW) testen. Bij eventueel verschillende uitkomsten, weegt de waarde van de SW test zwaarder (Field, 2009). Niet normaal verdeelde variabelen zijn nogmaals getest op normaal verdeling, na transformatie met logaritme of vierkantswortel. Tot slot is de normaalverdeling getoetst middels de bootstrapfunctie in SPSS.

¹encyclo.nl/concullega

Om de Nederlandse driewegkruisingen overzichtelijk te vergelijken met de Nieuw-Zeelandse single crosses, is voor de Nederlandse waarnemingen een samengetrokken wortelscore berekend. Uit het aantal kroonwortels, vermenigvuldigt met de lengte van de kroonwortels en de lengte van de primaire wortel hier vervolgens bij opgeteld, ontstaat een Totale WortelLengte (TWL). De TWL kan als de volgende formule worden weergegeven: $([#KW * LKW] + LPW)$. De TWL moet worden vergeleken met de early vigour en LP uit Nieuw-Zeeland. Early vigour en LP zijn beide observaties met een score van 1 tot 9 en geen meting, zoals TWL. Omwille van een eerlijke vergelijking en zodoende geen consessie te doen aan de betrouwbaarheid van de vergelijking is de TWL genormaliseerd en omgezet naar een indexcijfer. Dit indexcijfer is WortelLengteScore ook wel afgekort met WLS. Overigens is dit een gepaarde analyse omdat dezelfde females zijn gebruikt bij de single crosses en driewegkruisingen.

3.6. Dataverwerking

Op de hele dataset is een 'Analysis Of Variation' (ANOVA) uitgevoerd. Zodoende is getoetst op de groepen high en low input en de verschillende males als achtergrond van de variabelen. Omdat niet alle variabelen normaal verdeeld zijn, zijn parallel ook non parametrische toetsen uitgevoerd. Dit is gebeurd met de 'Wilcoxon Signed Rank' (WSR) test en met bootstrap op de T-test en op de ANOVA. Bootstrap (n=5000) kan in dit geval een normaal verdeling kunstmatig opwekken bij variabelen die net niet normaal verdeeld zijn. Deze testen wijzen op ongespecificeerde verschillen tussen de groepen binnen variabelen. Hierna is onderzoek uitgevoerd naar gespecificeerde verschillen tussen de groepen binnen variabelen middels de post hoc testen 'Least Significant Distance' (LSD) en 'Student-Newman-Keuls' (SNK). Post hoc testen naar input alléén zijn niet mogelijk, omdat input bimodaal is (high/low). Deze LSD en SNK testen maken inzichtelijk op welke variabele de groepen of onderdelen van groepen verschillen. Daarmee wordt inzichtelijk gemaakt welke combinatie van input, male of female (significant) hoger of lager scoort op de verrichte waarnemingen.

Op eenzelfde wijze is gekeken naar de correlaties tussen variabelen. Dit is eerst uitgevoerd met de Pearson correlatie en vervolgens is deze met de bootstrapfunctie bewerkt. Parallel is gebruik gemaakt van de verdelingsvrije Spearman correlatie.

Ook is de 'Principale Component Analysis' (PCA) uitgevoerd. Om de onderlinge samenhang tussen variabelen binnen dit onderzoek verder te analyseren zijn er diverse data reductie analyses (PCA's) uitgevoerd op de diverse waarnemingen. Hierbij is in de eerste instantie de hele dataset geanalyseerd met uitsplitsing naar C bestuiver (male) en later per male & input behandeling. PCA is een statistische aanpak die vaak in wetenschappelijk plantenveredelingsonderzoek wordt gebruikt. Met een PCA worden 'Principale Components' (PC's) verkregen die onderling geen correlatie hebben. Een PC geeft een beeld van welke variabelen een onderlinge samenhang vertonen en de mate waarin deze variabelen een samenhang vertonen. De eerste component (PC1) verklaart daarbij in de belangrijkste mate de variatie. De tweede PC (PC2) is de eerstvolgende verklarende groepering van variabelen enzovoort. De hoeveelheid van PC's kan een indicatie geven van de verscheidenheid aan genotypes of specifieke kruisingseffecten en kan daardoor een beeld geven welke geniteurs interessant zijn voor populatieverbetering of rasontwikkeling.

Om een begrip te kunnen krijgen van het effect van de bestuivers B en C moet men ook het effect van de female (A) kunnen benaderen. Hierom is er getest op de volgende male-kruisingscombinaties:

1. A_1 *male2*male1 (gepaard)
2. A_1 *male1*male2 (gepaard)
3. A_X *male3*male1
4. A_X *male3*male2
5. A_X *male1*male2
6. A_X *male2*male1

Het verschil tussen combinatie 1 en 2 enerzijds en 5 en 6 anderzijds is dat de combinatie 1 en 2 alleen de kruisingen zijn met een unieke female die met allebei de male combinaties in de dataset voorkomen. Dus een female komt zowel voor in het onderzoek in de combinatie van male2*male1 als male1*male2.

4. Resultaten

In dit hoofdstuk zijn de belangrijkste resultaten omschreven. Om de resultaten te kunnen interpreteren zijn er verschillende statistische testen uitgevoerd, zie hoofdstuk 3 Materiaal en methode. Analyse is uitgevoerd naar tweewegkruisingen in Nieuw-Zeeland en driewegkruisingen in Friesland.

Wanneer geschreven wordt over een male of het effect van een male, dan wordt daarmee de kruising bedoeld waarin deze male is gebruikt (als B danwel C bestuiver). Waar wordt verwezen naar de uitdraai van een statistische test wordt de bijlage CD bedoeld, die alle testen bevat.

4.1. High & low input

4.1.1. Normaal verdeling

In enkele gevallen kan een normaal verdeling van de variabelen worden bevestigd, zie de bijlage CD. De variabelen niet normaal verdeeld zijn:

- o Early Vigour
- o Paarkleuring
- o Laterale wortelscore in high input
- o Lengte kroonwortels

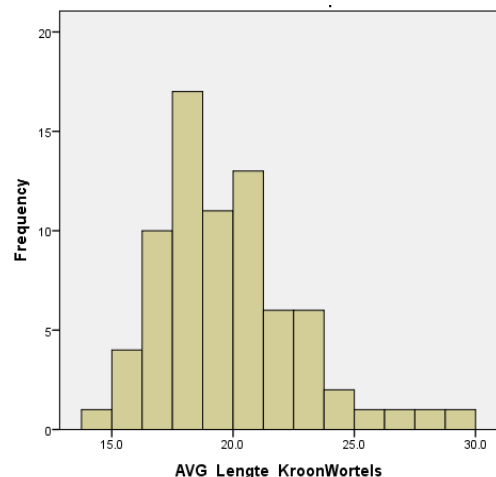
Het transformeren van deze variabelen door de logaritmische waarde of de vierkantswortel te nemen, resulteerde nog steeds niet in een normaal verdeling. Vanwege de lange rekenduur (>1uur) is besloten de test op normaalverdeling met behulp van bootstrap, eerst uit te voeren op ongeveer de helft van de variabelen. Nadat het merendeel van deze variabelen niet normaal verdeeld bleken te zijn, zijn verdere testen gestaakt.

De resultaten van deze testen op normale verdeling staan in tabel 3.

tabel 3: Samenvatting van de testen op normaal verdeeldheid van de variabelen.

	INPUT	standaard	Logaritme	Vierkantswortel	Bootstrap
EV	high	nee	nee	nee	nee
	low	nee	nee	nee	nee
Paars	high	nee	nee	nee	nee
	low	nee	nee	nee	nee
LW Score	high	nee	nee	nee	nee
	low	ja	nee	ja	ja
#KW	high	ja	nee	nee	
	low	ja	nee	nee	
Lengte KW	high	nee	nee	nee	
	low	nee	ja	nee	
Lengte PW	high	ja	ja	ja	
	low	ja	ja	ja	

Bij visuele analyse van de histogrammen waarbij de variabelen waren uitgesplitst naar input, blijkt dat per input de histogrammen van de niet normaal verdeelde variabelen zich bimodaal gedragen. Dit kan betekenen dat er mogelijk meerdere verdelingen in één histogram zijn opgenomen door het programma SPSS. Een voorbeeld hiervan is de gemiddelde lengte van de kroonwortels in de low input, zie figuur 12. In de figuur is duidelijk te zien dat er mogelijk twee normaal verdeelde groepen bestaan, door de twee zichtbare toppen in het histogram. Dit pleit voor een uitsplitsing naar male per input.



figuur 12: Histogram van de gemiddelde lengte van de kroonwortels onder lage fosfaatbeschikbaarheid.

4.1.2. ANOVA input

De histogrammen van deze variabelen lijken bij visuele beschouwing wel normaal verdeeld te zijn, zie de input histogrammen op de bijlage CD. Hierop is besloten de variabelen als geheel te analyseren middels ANOVA. Deze test wordt uitgevoerd om te toetsen of de gemiddelden van de variabelen significant van elkaar verschillen, op basis van de input. Om de resultaten te staven zijn parallel T-test met/zonder bootstrap, WSR test en ANOVA met bootstrap uitgevoerd. Alle resultaten van deze testen staan samengevat in tabel 4.

tabel 4: Samengevatte uitkomsten van de ANOVA testen en (non-parametische) alternatieven naar input. Weergegeven zijn de significanties van de testen. Waarden kleiner dan 0,05 zijn gearceerd.

INPUT		Paired Samples Test	Bootstrap Paired Samples Test	Wilcoxon Signed Rank Test	ANOVA	Bootstrap ANOVA
pair 1	EV hi	0,009	0,010	0,041	0,051	0,031
	EV lo					
pair 2	Paars hi	0,001	0,001	0,000	0,001	0,001
	Paars lo					
pair 3	LW hi	0,595	0,597	0,685	0,539	0,603
	LWS lo					
pair 4	#KW hi	0,055	0,050	0,033	0,040	0,029
	#KW lo					
pair 5	Lengte KW hi	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	Lengte KW lo					
pair 6	Lengte PW hi	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000
	Lengte PW lo					

Een gevonden waarde lager dan 0,05 geeft aan dat de betreffende variabele tussen de beide input teelten verschillend is. De tabel laat zien dat alle variabelen over de beide input-teelten verschillen, behalve de laterale wortelscore. De laterale wortelscore verschilt op basis van al deze testen niet tussen high en low input teelt.

4.1.3. Correlaties

Tussen de variabelen in high en low input teelt, zijn correlaties gevonden middels de Pearson correlaties met en zonder bootstrap en de Spearman correlatie. Correlaties worden alleen vermeld als deze significant zijn en gelijk of groter zijn dan 0,3.

Onderstaande correlaties zijn gevonden met behulp van de Pearson correlatie:

Positieve correlatie bestaat tussen:

- Early vigour high input en early vigour low input (0,54)

Zeer zwakke positieve correlaties bestaan tussen:

- Laterale wortelscore high input en early vigour low input (0,39)
- Aantal kroonwortels high input en early vigour high input (0,41)

Zeer zwakke negatieve correlaties bestaan tussen:

- Early vigour low input en paarskleuring low input (-0,36)
- Laterale wortelscore low input en paarskleuring high input (-0,32)
- Lengte primaire wortel low input en paarskleuring high input (0,30)

Het toepassen van de bootstrap op de Pearson correlatie leidde niet tot meer correlaties dan de reguliere Pearson correlatie.

Met de verdelingsvrije Spearman correlatie zijn voor een deel dezelfde correlaties gevonden als met de Pearson correlatie. Overige gevonden correlaties bestaan als zeer zwakke correlaties tussen:

- Aantal kroonwortels low input en de early vigour in low input (0,32)
- Lengte kroonwortels high input en aantal kroonwortels high input (0,31)

Tussen de overige variabelen zijn geen correlaties vastgesteld.

4.2. Het gebruik van de male als C bestuiver in (A*B)*C

4.2.1. Normaalverdeling

De normaalverdeling is voor beide males bepaald naar C bestuiver bij (A*B)*C drieweghybrides, waarbij ook uitgesplitst is naar input.

De variabelen zijn normaal verdeeld met uitzondering van:

- Early vigour low input voor beide males
- Paars high input voor beide males
- Paars low input voor male1
- Laterale wortelscore high input voor beide males

Het transformeren van deze variabelen door de logaritmische waarde of de vierkantswortel te nemen, resulteerde niet in een normale verdeling voor de bovenstaande variabelen.

4.2.2. ANOVA

De ANOVA wijst op significante verschillen tussen de males als C bestuiver bij drieweghybrides (A*B)*C. Het toepassen van de bootstrapfunctie gaf identieke resultaten in de ANOVA, zie ANOVA C bestuiver en bootstrap ANOVA C bestuiver.

Het niet normaal verdeeld zijn van sommige variabelen lijkt dus geen effect op de significantie te hebben. Er is significant verschil gevonden bij de volgende variabelen en teelt:

- Paarskleuring (sig. 0,022 en 0,002 voor high en low input)
- Gemiddeld aantal kroonwortels in de high input (sig. 0,001)
- Gemiddelde lengte primaire wortel in de high input (sig. 0,021)
- Gemiddelde laterale wortelscore in de low input (sig. 0,00)

4.2.3. LSD

Met de uitgevoerde post hoc toets LSD worden significante resultaten gevonden bij variabelen, tussen de beide males als C bestuiver bij de twee verschillende inputteelten, zie LSD C male.

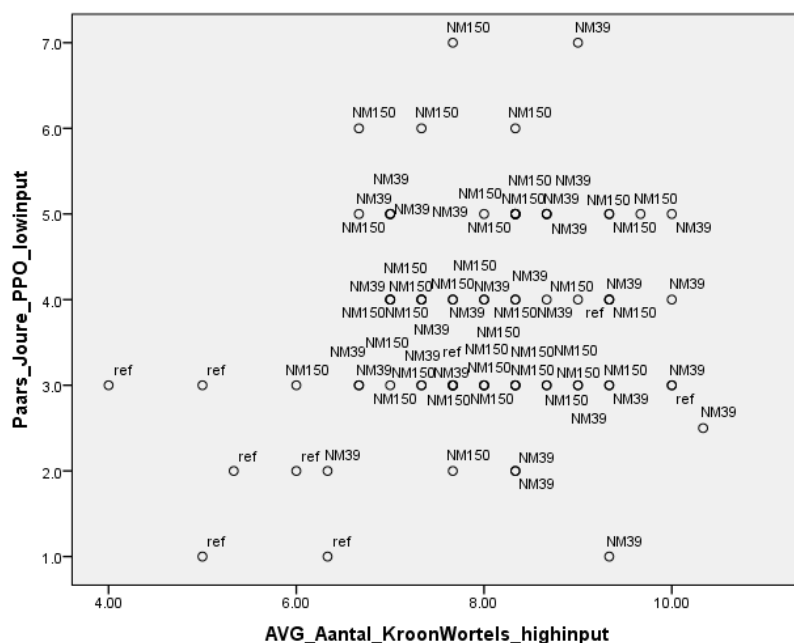
Resultaten onder high input zijn:

- Kruisingen met male1 zijn paarser dan kruisingen met male2, met gemiddeld 0,9 scorepunt
- Kruisingen met male1 en male2 hebben ruim anderhalve kroonwortel meer gevormd dan referentiekruisingen
- Kruisingen met male1 hebben respectievelijk een, ongeveer 1,5 cm en 2,5 cm langere, primaire wortel dan kruisingen met male2 en referentiekruisingen

Resultaten onder low input zijn:

- Kruisingen met male1 en male2 zijn paarser dan referentiekruisingen, met ongeveer 1½ scorepunt
- Kruisingen met male1 hebben ruim 2 cm langere kroonwortels dan referentiekruisingen
- Kruisingen met male1 scoren ongeveer 1 punt slechter op laterale wortels dan kruisingen met male2 of referentiekruisingen.

De resultaten van de referentiekruisingen ten opzichte van kruisingen met male1 en male2 op het gebied van paarskleuring in low input en aantal kroonwortels in high input staan in figuur 13.



figuur 13: Scatterplot tussen paarskleuring in low input en aantal kroonwortels in high input.

4.2.4. SNK

De uitgevoerde SNK post hoc test gaf aan dat er alleen significante verschillen bestaan in de vergelijking tussen beide males, op de variabele early vigour. De resultaten staan in tabel 5 en tabel 6. Ongeacht input zijn er, gekruist met male1, zeven plotjes die laag scoren en twee plotjes die hoog scoren op early vigour. Gekruist met male2, ongeacht de input, is er één plotje dat laag scoort en zijn er vier plotjes die hoog scoren op early vigour.

tabel 5: Samengevat resultaat van de SNK post hoc test naar male1 als C bestuiver.

Early vigour					
NZ-code	Subset	Male	High	Low	
177	1	1	6,5	5	Lage zijde EV
331	1	1	6,5	5	
147	1	1	6	6	
341	1	1	6	6	
27	2	1	6,5	6	
152	2	1	6	6,5	
332	2	1	6,5	6	
22	1	1	8,5	8	Hoge zijde EV
204	2	1	8,5	8	

tabel 6: Samengevat resultaat van de SNK post hoc test naar male2 als C bestuiver.

Early vigour					
NZ-code	Subset	Male	High	Low	
611	1	2	6	5	Lage zijde EV
447	1	2	8	7,5	Hoge zijde EV
446	1	2	7,75	8	
440	1	2	8	8,5	
616	1	2	9	7,5	

4.3. Het gebruik van de male als C bestuiver & input

Ten behoeve van het vergelijken van de invloed van de gebruikte males als C bestuiver in drieweghybrides (A*B)*C, is er een nieuwe variabele gecreëerd, waarbij elk plotje één getal heeft gekregen naar male en input. Dit getal bestaat uit twee cijfers waarbij het eerste cijfer de male en het tweede cijfer de input aangeeft. Zo is bijvoorbeeld een plotje '11' gekruist met male1 en geanalyseerd in input1 (high). Een plotje met '22' als waarde is gekruist met male2 en geanalyseerd in input2 (low). Referentiekruisingen zijn niet opgenomen in deze nieuwe variabele. Zodoende kan middels ANOVA en bijbehorende post hoc testen, onderzoek worden uitgevoerd tussen de males én tussen de inputs. De bootstrap functie bracht geen nieuwe inzichten die eerdere ANOVA's niet gaven. Hoewel sommige variabelen niet normaal verdeeld zijn, lijkt dit geen invloed te hebben op de resultaten van de analyse van deze dataset.

4.3.1. ANOVA C bestuiver & input

De ANOVA is uitgevoerd op de fosfaattoestanden high en low (zie ANOVA input). Hieruit blijkt dat er alleen bij early vigour en laterale wortelscore geen significant verschil is tussen de inputs. Een nadere analyse op de combinatie input en C bestuiver bevestigt dit beeld voor een deel. Met deze analyse is namelijk niet alleen een significant verschil gevonden voor early vigour en laterale wortelscore maar ook voor de overige variabelen, zie ANOVA met factor male_input.

De ANOVA wijst op significante verschillen tussen de males en input tussen alle variabelen:

- Early vigour (0,021)

- Paarskleuring (0,000)
- Laterale wortelscore (0,001)
- Aantal kroonwortels (0,005)
- Lengte kroonwortels (0,000)
- Lengte primaire wortel (0,002)

De specifieke combinaties van C bestuiver naar input, verschillen dus significant voor early vigour, paarskleuring, laterale wortelscore, aantal kroonwortels, lengte kroonwortels en lengte primaire wortel.

4.3.2. LSD

De LSD afkomstig uit deze ANOVA geeft de volgende significante resultaten:

- In de early vigour scoort male1 in de low input lager dan male1 in de high input (-0,36) en male2 in de high input (-0,5).
- Voor paarskleuring scoort male2 in de high input beter dan dezelfde male in low input (-1,2) en male1 in zowel high (-0,97) als low input (-1,47).
- De laterale wortelontwikkeling van male1 in de low input is zwakker dan die van dezelfde male in de high input (-0,49) en male2 in zowel high (-0,84) als low (-0,96).

4.4. Het gebruik van beide males in B*C combinatie

Voorheen is alleen onderzoek uitgevoerd naar de C bestuiver bij drieweghybrides (A*B)*C. Om echter te kunnen onderzoeken wat het effect is van de combinatie van het kruisen met de males is een nieuwe variabele gecreëerd. In deze variabele heeft elke specifieke combinatie B bestuiver (van de single cross) met de C bestuiver (van de drieweg hybride) een unieke code ontvangen. Zo heeft bijvoorbeeld een plotje, met male3 als B bestuiver en male2 als C bestuiver, voor deze variabele het nummer '4' gekregen.

4.4.1. Verschil tussen gemiddelden

Uit de ANOVA blijkt dat de early vigour in de high input niet significant verschilt tussen combinatie 1 en 2, zie verschil tussen gemiddelden B*C combinatie 1 en 2. De early vigour in de low input verschilt wel significant tussen combinatie 1 en 2. In de high input is het verschil tussen de gemiddelden van de combinaties 0,005 scorepunt. Onder low input is dit verschil bijna het honderdvoudige. De early vigour van combinatie 2 (male1*male2_{gepaard}) is afgerond 0,5 scorepunt hoger dan van combinatie 1 (male2*male1_{gepaard}).

4.4.2. ANOVA

De ANOVA met deze variabele als factor laat zien dat er alleen significant verschil bestaat bij paarskleuring en laterale wortelscore, zie ANOVA Factor=B*C bestuiver zonder select case (n=7).

4.4.3. LSD

De LSD post hoc wijst op significante verschillen tussen combinaties van B en C bestuivers. Zo kleurt de combinatie 4 (male3*male2) significant minder paars dan combinaties met male1 als C bestuiver, ook wanneer deze male3 als B bestuiver heeft.

Wat betreft de laterale wortelscore hebben plotjes met combinatie 2 (male1*male2_{gepaard}) een sterkere laterale wortelontwikkeling dan plotjes met combinatie 3 (male3*male1) en 6 (male2*male1). Plotjes met combinatie 4 (male3*male2) hebben een sterkere laterale wortelontwikkeling dan plotjes met combinatie 3 (male3*male1) en 6 (male2*male1). Plotjes met combinatie 3 (male3*male1) tonen een zwakkere laterale wortelontwikkeling dan plotjes met combinatie 2 (male1*male2_{gepaard}) en 4 (male3*male2). Plotjes met combinatie 6 (male2*male1) hebben een zwakkere laterale wortelontwikkeling dan plotjes met combinatie 2 (male1*male2_{gepaard}) en 4 (male3*male2).

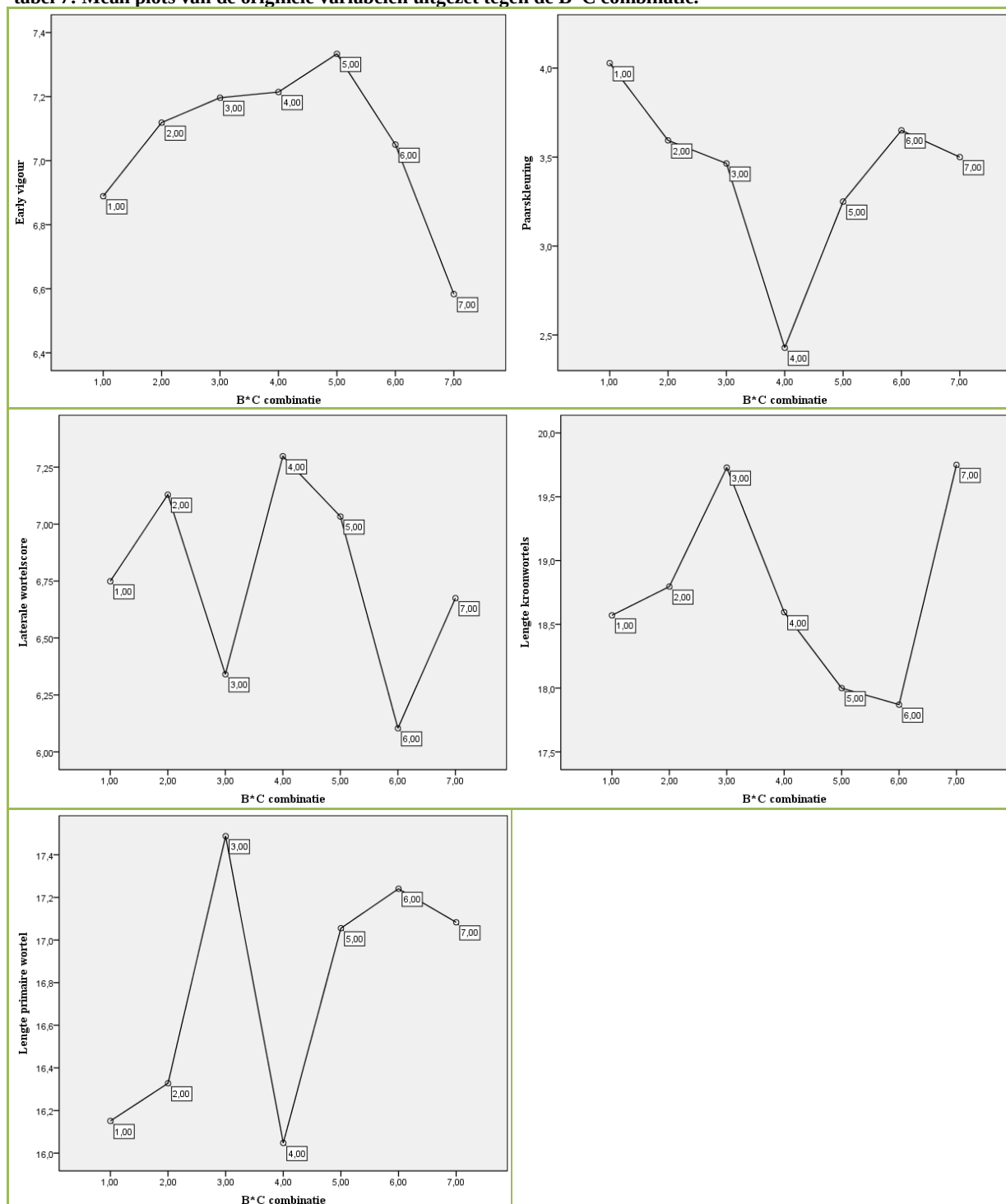
4.4.4. SNK

De enige SNK tabel die wordt geproduceerd door de ANOVA, met significante resultaten, is bij paarskleuring. Plotjes met combinatie 4 (male3*male2) hebben significant de minste paarskleuring, ongeacht female A. Plotjes met combinaties 1 en 6 (male2*male1) hebben significant de meeste paarskleuring, ongeacht female A.

4.4.5. Mean plots

Bij het analyseren van de mean plots, uitgezet tussen de originele variabelen (early vigour e.d.) en de nieuwe variabele, blijkt dat plotjes met de combinatie male3 als B bestuiver en male2 als C bestuiver regelmatig bovengemiddeld presteren. Zo hebben ze de één-na-hoogste early vigour, het minste paarskleuring en de hoogste laterale wortelscore. De plotjes met de combinatie male3 als B bestuiver en de male1 als C bestuiver hebben de langste kroonwortels en de langste primaire wortel. De mean plots die het meeste inzicht geven zijn opgenomen in tabel 7.

tabel 7: Mean plots van de originele variabelen uitgezet tegen de B*C combinatie.



4.5. Principle Component Analysis

PC1 toont voor een groot deel dezelfde componentenladingen bij high input als bij low input. Alleen voor de lengte van de primaire wortel is de componentenlading omgekeerd voor male2 high input (-0,49 in PC1) en male2 low input (0,52 in PC1).

Worden de PC1 van high input of low input vergeleken met de PC1 van de samengetrokken PCA's (high+low input) dan levert dit nieuwe inzichten op. Bij male1 blijkt dat PC1 van de samengetrokken PCA een ander beeld geeft dan die van de high input of low input. Bij male2 blijkt dat de PC1 van de samengetrokken PCA min of meer gelijk aan die van de high input of low input, zie tabel 8 en tabel 9.

tabel 8: Samengevatte resultaten van PC1.

PC1		male1 (samengetrokken)	male2 (samengetrokken)	male1 high input	male2 high input	male1 low input	male2 low input
Early vigour	high	0,814	0,139	0,732	0,835	-	-
	low	0,572	0,851	-	-	0,796	0,753
Paarskleuring	high	-0,579	0,303	-0,524	-	-	-
	low	-0,370	-0,484	-	-	-0,849	-0,121
Laterale wortelscore	high	-0,158	0,595	-	-0,423		
	low	-	0,248	-	-	-0,572	0,127
Aantal kroonwortels	high	0,585	-	0,509	0,780	-	-
	low	0,510	0,821	-	-	0,171	0,775
Lengte kroonwortels	high	0,173	-0,216	0,682	0,185	-	-
	low	0,295	0,255	-	-	0,175	-
Lengte primaire wortel	high	-	-	0,386	-0,191	-	-
	low	-0,396	0,370	-	-	-	0,802

tabel 9: Samengevatte resultaten van PC2.

PC2		male1 (samengetrokken)	male2 (samengetrokken)	male1 high input	male2 high input	male1 low input	male2 low input
Early vigour	high	0,160	0,819	-	-	-	-
	low	0,630	0,245	-	-	-	-0,176
Paarskleuring	high	0,410	0,163	0,432	0,802	-	-
	low	-0,586	-0,106	-	-	-	0,838
Laterale wortelscore	high	0,475	-0,275	0,632	-0,205	-	-
	low	-0,157	-	-		0,175	0,554
Aantal kroonwortels	high	-0,493	0,771	-0,617	-0,141	-	-
	low	-	0,232	-	-	-0,131	-0,242
Lengte kroonwortels	high	-0,310	0,191	0,101	0,152	-	-
	low	0,459	0,430	-	-	0,710	-0,136
Lengte primaire wortel	high	0,322	-0,185	0,706	0,793	-	-
	low	0,560	-0,203	-	-	0,886	0,283

4.6. Female A en plotcode

4.6.1. ANOVA naar plotcode

In de ANOVA naar de plotjes (uitgedrukt in NZ code) blijkt dat de plotjes significant verschillen op early vigour en laterale wortelscore, zie ANOVA naar NZ code. Wanneer wordt ingezoomd met de SNK, blijkt dat voor de early vigour het plotje met NZ code 331 significant lager scoort, ongeacht input. NZ code 331 is een plotje wat B*C combinatie 1 of 6 heeft (male2*male1) met als female [REDACTED]. Verder blijkt dat plotjes met NZ codes 186, 446 en 447 significant hoger scoren op early vigour dan de rest. Dit zijn de kruisingen ([REDACTED]*male2)*male1, ([REDACTED]*male1)*male2 en ([REDACTED]*male1)*male2 respectievelijk. Hierbij scoren de gemiddelden van combinaties met male1*male2 niet-significant hoger dan de combinatie male2*male1.

Uit dezelfde SNK komt naar voren dat plotjes met NZ code 436 significant lager scoort op laterale wortelscore dan de rest, zie SNK NZ code. Deze NZ code heeft kruising ([REDACTED]*male1)*male2. Verder blijkt dat plotjes met NZ code 188 significant hoger scoort op laterale wortelscore dan de rest. Deze NZ code heeft de kruising ([REDACTED]*male2)*male1.

4.6.2. ANOVA naar female A

De ANOVA naar female laat zien dat alleen het aantal kroonwortels significant verschilt tussen de females, zie ANOVA naar female. Wanneer wordt ingezoomd middels de SNK blijkt dat de female [REDACTED] significant minder kroonwortels in de hybrides inbrengt, net zoals [REDACTED], zie SNK female. De females [REDACTED] en [REDACTED] blijken significant meer kroonwortels in de hybrides in te brengen.

4.6.3. ANOVA naar female A met select case B*C 1 en 2

Wanneer de analyse symmetrisch wordt gemaakt met behulp van de functie select case naar B*C combinatie 1 en 2, verandert de ANOVA. In deze ANOVA is de laterale wortelscore de enige variabele waarop de females significant verschillen, zie ANOVA factor=female select case 1 en 2.

De SNK toont dat de female [REDACTED] een significant lagere laterale wortelscore inbrengt in de hybrides, ongeacht B*C male combinatie. De female [REDACTED] toont een significant hogere laterale wortelscore als inbreng en de female [REDACTED] toont een niet significante hogere score. Ondanks dat de females volgens de ANOVA niet verschillen, verschillen de females wel volgens de SNK, zie SNK female met select case B*C 1 en 2. Hier is het de female [REDACTED] die significant minder kroonwortels inbrengt in de hybrides en de female [REDACTED] die significant meer kroonwortels inbrengt, ongeacht de B*C bestuivers.

4.6.4. ANOVA naar B*C combinatie met select case B*C 1 en 2

Bij een verdere symmetrische analyse met de B*C combinatie als factor toont de ANOVA wederom een ander resultaat. Zo blijkt de early vigour significant te verschillen tussen de B*C combinatie 1 (male2*male1) en 2 (male1*male2) bij dezelfde female. Omdat in dit geval maar twee groepen worden vergeleken (combinatie 1 en 2), is een post hoc niet mogelijk. Met deze ANOVA is het niet duidelijk hoe de early vigour verschillend is tussen de B*C combinaties. Een T-test biedt hier wel inzicht in.

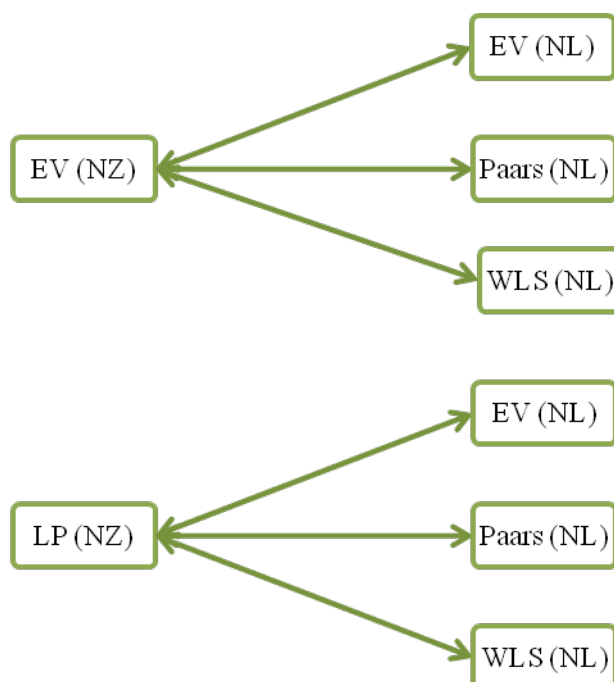
4.6.5. T-test naar B*C combinatie met select case 1 en 2

Uit een vervolg van deze ANOVA, een T-test als symmetrische analyse met select case 1 en 2 blijkt dat early vigour significant verschilt tussen deze twee bestuivingscombinaties, zie T-test B*C combinatie met select case B*C combinatie 1 en 2. De gemiddelde early vigour voor B*C combinatie 1 (male2*male1) is 6,8 en voor combinatie 2 (male1*male2) is de gemiddelde early vigour 7,2. Dit verschil in gemiddelde is significant (0,032).

4.7. Nieuw-Zeeland

In Nieuw-Zeeland (NZ) is de early vigour (EV) en de verticale trekkracht bepaald (LP) van de ouders van de driewegkruisingen zoals die onderzocht zijn in Nederland (NL). In NZ zijn de single crosses (A*B) onderzocht, waarna die wederom bestoven zijn met een flint male (C bestuiver). Hier zijn regressieanalyses op uitgevoerd, zie de bijlage CD.

In eerste instantie is een correlatieanalyse uitgevoerd middels crosstabs, zie figuur 14. Hierbij zijn de early vigour en paarskleuring van de Nederlandse driewegkruisingen (A*B)*C uitgezet tegen de LP en EV van de Nieuw-Zeelandse single crosses (A*B). Deze analyse toont geen enkele correlatie tussen de variabelen onderzocht in NL en de variabelen onderzocht in NZ. De mate van spreiding is niet statistisch onderzocht. Wel zijn alle wortelstelsels van de nursery gefotografeerd. Visueel was er voor single crosses in NZ veel spreiding in wortelarchitectuur waar te nemen, zie tabel 10.



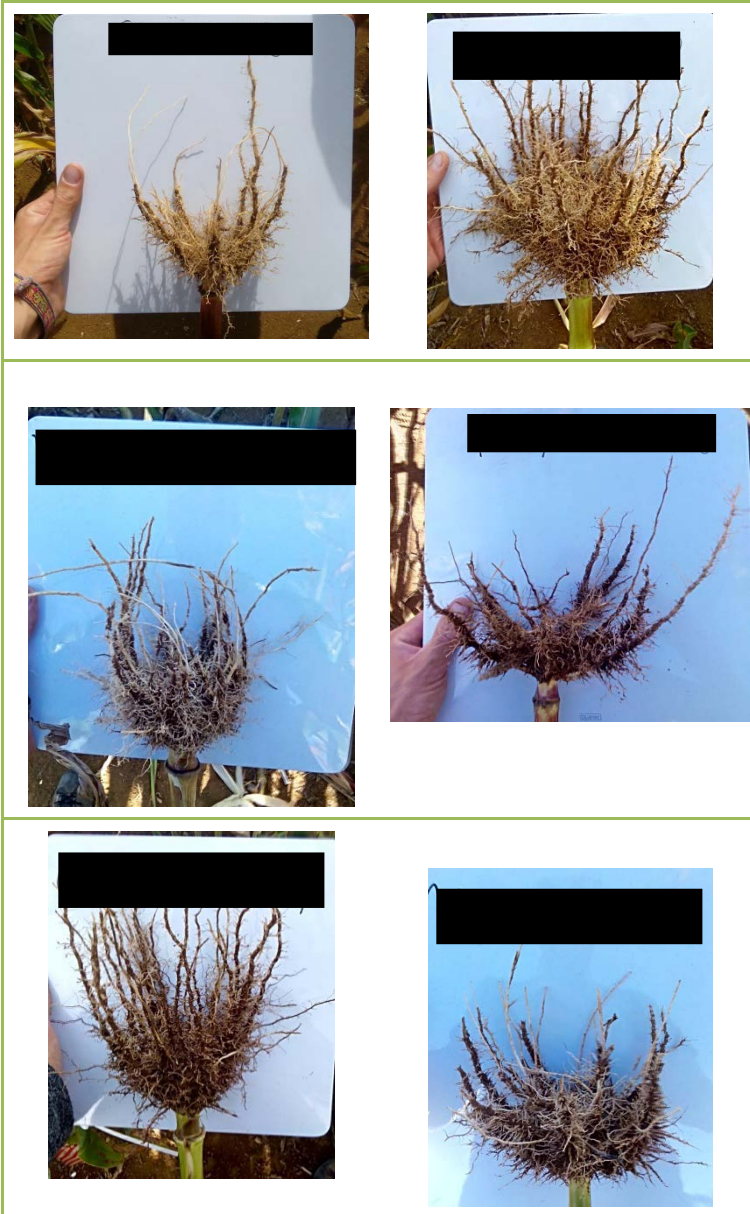
figuur 14: Een overzicht van de uitgevoerde correlaties in een boomdiagram.

De verdelingsvrije Spearman correlatie is gebruikt om een eventueel effect van normaalverdeling te ondervangen. Ook deze analyse toont geen enkele correlatie tussen de bovenstaande variabelen.

Vervolgens is een correlatie uitgevoerd tussen de wortellengtescore (WLS) high input van de driewegkruisingen en de EV en LP van de single crosses. Uit deze correlatie komt alleen een correlatie van 0,44 naar voren tussen de Nieuw-Zeelandse single crosses bij de LP en EV. Vervolgens is deze correlatie uitgevoerd middels de verdelingsvrije Spearman. Deze analyse toont ook alleen een correlatie tussen de LP en EV van de Nieuw-Zeelandse single crosses, deze is 0,47.

Dezelfde analyses (crosstab en Spearman correlatie) met de WLS low input levert hetzelfde resultaat, met een verschil tussen de LP en EV van de single crosses van een paar honderdsten.

tabel 10: Tussen de single crosses in Nieuw-Zeeland was een spreiding van wortelarchitectuur visueel duidelijk waar te



5. Discussie

In de uitgevoerde experimenten en analyses zijn tussen de high en low input verschillen geconstateerd. Het is hierbij opmerkelijk dat in de high input juist effect wordt geconstateerd en variatie aanwezig is in de lengte van de primaire wortel terwijl in de low input dit juist geconstateerd is in de laterale wortelscore. Mogelijk speelt fosfaatbemesting een rol in de wortelarchitectuur.

5.1. High & low input

Een uitgevoerde ANOVA op de gehele dataset en de daarin gevonden verschillen en significanties, rechtvaardigen een verdere analyse. Dit wordt bevestigd door de uitgevoerde post hoc van deze ANOVA, waarbij is ingezoomd op de verschillende male klassen (flint C bestuivers). Hieruit blijkt dat onder high input, male1 significant meer paarskleuring geeft dan male2. Wanneer de ANOVA echter wordt uitgevoerd om te testen of er verschillen bestaan tussen de high en low input, dan blijkt dat er bij early vigour en de laterale wortelscore geen significante verschillen bestaan. Een nadere analyse op de combinatie van C bestuiver met input bevestigt dit beeld voor een deel. Met deze analyse is namelijk niet alleen een significant verschil gevonden voor early vigour en laterale wortelscore, maar voor alle variabelen, zie ANOVA C bestuiver & input. Deze analyse toont aan dat de beide males als C bestuiver, verschillend reageren op high en low input. In het algemeen kan gesteld worden dat onder low input bij de hybriden meer paarskleuring optreedt, een lagere early vigour wordt gerealiseerd en de ontwikkeling van de laterale wortel minder sterk is.

Dit duidt er op dat er een specifieke positieve reactie van bepaalde genetica is op de fosfaatbemesting. Het is ook mogelijk dat genetische verschillen onder hoge fosfaatbeschikbaarheid minder/anders tot expressie komen dan onder lage fosfaatbeschikbaarheid.

5.2. Het gebruik van de male als C bestuiver in (A*B)*C

Wanneer de resultaten van de post hoc LSD worden geanalyseerd, dan kunnen er onder high input, verschillende effecten van de gebruikte males geconstateerd worden. Zo blijkt dat male1 een significant sterkere paarskleuring in de hybriden geeft dan male2. Ook blijkt dat male1 en male2 significant meer kroonwortels in de hybriden vormen dan de referentiekruisingen. Verder blijkt dat male1 een significant langere primaire wortel inbrengt dan male2 en referentiekruisingen. Oftewel, onder high input reageren kruisingen, die gemaakt worden met zowel male1 als male2, anders dan onder low input omstandigheden. Deze resultaten worden deels bevestigd in de ANOVA op low input. Echter, in deze ANOVA blijkt dat male1 een significant zwakkere laterale wortelontwikkeling heeft dan male2 en de referentie. De verschillen tussen de reacties van de diverse flint bestuivers blijken niet alleen te bestaan over de bemestingsvarianten heen, maar ook binnen een bemestingsvariant zijn er specifieke verschillen gevonden.

In een analyse waarbij de female A als factor wordt gegroepeerd per male en deze is aangevuld met een posthoc SNK test, blijkt dat er een significante invloed is van zowel de male als de female. Een ANOVA met SNK op de resultaten per male, over de inputs heen, levert hiervoor aanwijzingen. Hieruit blijkt dat male1 juist een significant verschil laat zien voor early vigour en het aantal kroonwortels, terwijl dit in eerste instantie niet bleek uit de

eerdere ANOVA over de gehele dataset, zie ANOVA C bestuiver. Voor male2 is er een significant verschil voor de early vigour en de laterale wortelscore (SNK). Een verschil in laterale wortelscore blijkt in dit geval wel uit de eerdere ANOVA over de gehele dataset, maar alleen bij de low input.

Mogelijkerwijs is er een verband bij male2 tussen de eerder gevonden langere primaire wortel en de lagere laterale wortelscore (LSD bij ANOVA met C bestuiver als factor) aan de ene kant en de variatie tussen early vigour en het aantal kroonwortels aan de andere kant (SNK males). Dus het uitvoeren van een SNK posthoc zonder onderscheid naar input middelt de gevonden verschillen tussen de males uit. Deze test geeft echter wel bruikbare informatie over de variatie van de waarnemingen per male over de inputs heen. Dat wil zeggen dat er een specifiek kruisingseffect is per male op een gebruikte single cross (A*B). Ter illustratie: de male die gebruikt is in de kruising als C bestuiver, zorgt ervoor dat een ras (één object) bijvoorbeeld op early vigour significant hoog of laag scoort, zie tabel 11.

Uit de SNK test blijkt dat er drie significant verschillende groepen kunnen worden gevormd op rasniveau, waarin male1 de vader is als C bestuiver. Deze wijken onderling af als het gaat om de early vigour, zie tabel 11.

tabel 11: Samengevat resultaat van de SNK post hoc test naar male1.

Early vigour					
NZ code	Subset	Male	High	Low	
177	1	1	6,5	5	Lage zijde EV
331	1	1	6,5	5	
147	1	1	6	6	
341	1	1	6	6	
27	2	1	6,5	6	
152	2	1	6	6,5	
332	2	1	6,5	6	Hoge zijde EV
22	1	1	8,5	8	
204	2	1	8,5	8	

De beoordeling van combinatiegeschiktheid van male1 met andere genetica kan de veredelaar van dienst zijn. Het blijkt namelijk dat er een relatief grote groep is waarbij de early vigourscore altijd aan de lage kant is, terwijl er maar een relatief kleine groep is die altijd aan de hoge kant scoort, ongeacht input.

Male2 laat een heel ander beeld zien. Ook hier worden significante verschillen op early vigourscore en op de laterale wortelscore gevonden, maar geen significante verschillen op het aantal kroonwortels. Aanvullend laat male2 juist een hele positieve score zien op early vigour en daarbij ook een grotere variatie, zie tabel 12.

tabel 12: Samengevat resultaat van de SNK post hoc test naar male2.

Early vigour					
NZ code	Subset	Male	High	Low	
611	1	2	6	5	Lage zijde EV
447	1	2	8	7,5	Hoge zijde EV
446	1	2	7,75	8	

440	1	2	8	8,5	
616	1	2	9	7,5	

In tabel 12 is te zien dat male2 meer gunstige variatie en een hogere absolute score voor early vigour inbrengt dan male1. Op basis van deze bevindingen kan worden gesteld dat deze male geschikt is om als geniteur te gebruiken dan male1. Deze male kan gebruikt worden om de early vigour van rassen of populaties te verbeteren. Dit zal met name van belang zijn wanneer aangetoond kan worden dat deze genen additief doorvererven en een hoge mate van erfelijkheid hebben (heritability²).

Ondanks de eerder beschreven verschillen tussen de males, is gebleken uit een T-test zonder bootstrap met gepaarde waarnemingen en een WSR test, dat alleen early vigour een significante ($<0,000$) correlatie (0,502) laat zien tussen de beide inputs. Wordt er echter een bootstrap uitgevoerd op de T-test met WSR test, dan worden er ook significante verschillen gevonden voor paarskleuring, het aantal kroonwortels en de lengte van de primaire wortel. Deze testen geven aan dat hier ook significante verschillen bestaan tussen high en low input. Dit is alleen niet het geval voor de laterale wortelscore want hiervoor worden geen significante verschillen gevonden. Met andere woorden, alle waarnemingen verschillen tussen high en low input maar alleen op laterale wortelscore is dit verschil niet significant. Dit betekent dat de verschillen in scores van laterale wortels niet verklaard kan worden door de fosfaatbemesting.

In een verdere analyse is ook gekeken naar de correlaties tussen high en low input en de waarnemingen (correlatietabellen Pearson met bootstrap en Spearman). Hieruit blijkt onder andere dat er een positieve correlatie van 0,4 wordt gevonden tussen de early vigour en het aantal kroonwortels onder high input met een significantie van $<0,000$. Verder zijn er geen conclusies mogelijk. Hieruit kan afgeleid worden dat een screening op karaktereigenschappen onder high input een lage voorspellende waarde heeft voor eigenschappen in low input en vice versa. De enige uitzondering hierop vormt early vigour.

Dat betekent dat bij de screening van geniteurs en hybriden in kweekprogramma's op bovengrondse kenmerken (early vigour) onder high input omstandigheden mogelijkwerwijs te weinig gebruik gemaakt wordt van de bestaande genetische diversiteit van bijvoorbeeld wortelkenmerken. Het screenen op early vigour in low fosfaat input omstandigheden kan mogelijk hoog opbrengende rassen opleveren voor zowel high als low input. Met betrekking tot high en low input kunnen deze relaties heel anders zijn op het gebied van stikstof, aangezien een andere wortelarchitectuur nodig is voor een maximale stikstofopname. Dit blijkt uit de onderzoeken naar laterale wortels (Niu, Chai, & Jin, 2013) (York & Lynch, 2015), wortelhoek- en diepte (Ge, Rubio, & Lynch, 2000) (York, Galindo-Castañeda, Schussler, & Lynch, 2015) (Lynch & Brown, 2012) en lengte en aantal nodale wortels (Lynch & Brown, 2012). Dit geeft de noodzaak aan van meer onderzoek naar de diversiteit van worteltypen en reacties op high en low input met betrekking tot fosfaat en stikstof.

² encyclo.nl/begrip/heritability

5.3. Principle Component Analysis

In de eerder beschreven analyses zijn relaties aangetoond tussen de high en low input behandeling en de effecten daarvan op de genetica. In de correlatie analyse worden voor genetica groepen (B & C males of females) relaties gevonden. Wat echter niet uit deze analyses blijkt, is de onderlinge samenhang tussen de variabelen per bestuiver en de weging (lading) van deze samenhang. De PCA over een subgroep van bestuivers over de input behandelingen heen, geeft een beeld waarbij paarskleuring en lengte van de primaire wortel een groot deel van de totale variatie verklaren in combinatie met een hoge component lading bij male2 in PC1. Bij male1 wordt de PC1 juist gevormd door early vigour en aantal kroonwortels. Deze combinatie van variabelen in de PC komt bij male2 voor op PC2. Het is daarmee duidelijk dat beide gebruikte males een heel verschillend effect op de waarnemingen geven. Bij male1 is er bijvoorbeeld een grote groep genetica die een minder lange primaire wortel combineert met meer kroonwortels en mogelijk daardoor een betere early vigour en minder paarskleuring laat zien. De gevonden verschillen geven nog te weinig verklaring voor de effecten van de input op de gebruikte males, maar ze laten wel zien welke variatie het meest aanwezig en verklarend is. Om specifieke wortelarchitectuur-input-male interacties vast te kunnen stellen zijn de PCA's ook op de male-input selectie uitgevoerd.

Een PCA op male1 onder low input lijkt de reactie van de genetica op de omstandigheden te specificeren. Er worden voor deze male onder high input slechts 2 componenten gevonden terwijl bij low input dat er 3 zijn met een verklarend aandeel van 31, 22 en 20% (zie bijlage CD). PC1 van de high input geeft wel een relatie aan tussen early vigour en lengtes van wortels, maar geen relatie met de wortelscore. Dit zou erop kunnen duiden dat planten onder deze omstandigheden voldoende fosfaat kunnen opnemen en een ongeremde kiem en wortel (lengte) groei kunnen realiseren.

Anders is dat bij male1 onder low input. Hier wordt PC1 gevormd door een combinatie van early vigour, paarskleuring én wortelscore. Gezien de negatieve lading van wortelscore zou dit erop kunnen duiden dat een matige wortelscore gepaard gaat met een lage early vigour en veel paarskleuring. Bij deze male zou wortelscore dus een indicatie kunnen zijn voor early vigour en paarskleuring en andersom. Kennelijk maken planten die gekruist zijn met deze male weinig wortels onder lage fosfaatbeschikbaarheid. Wanneer bij male1 naar PC2 en PC3 wordt gekeken, dan blijkt er een groep te zijn die óf vooral langere/kortere wortels (primaire wortel/kroonwortels) óf meer/minder wortels maakt (laterale wortelscore/aantal kroonwortels).

Male2 laat een heel verschillend beeld zien over de inputs heen. Opvallend is dat early vigour ook hier weer de hoogste lading heeft in PC1 maar dat tezamen vertoont met het aantal kroonwortels. Bij low input komt dit beeld terug, maar er is dan een samenhang met de lengte van de primaire wortel. PC2 bij high input duidt op een relatie tussen de lengte van de primaire wortel en de paarskleuring. Het is mogelijk dat de early vigour onder high input een relatie heeft met kroonwortels: de aanwezigheid van kroonwortels kunnen fosfaatopname faciliteren. Maar dit is niet een relatie die in eerste instantie verwacht wordt. PC2 lijkt bij male2 onder high input een relatie weer te geven die waarschijnlijker is. Hier is immers een verband aangetoond tussen paarskleuring en de lengte van de primaire wortel. Mogelijk kan dit verband met de primaire wortel verklaard worden door bijvoorbeeld een specifiek heterosis effect. Het effect van heterosis komt namelijk zeer vroeg tot uiting. Al een paar dagen na kieming kan het effect van heterosis zeer sterk aanwezig zijn bij de kiemplant (Hoecker, Keller, Piepho, & Hochholdinger, 2006).

Bij male2 low input bestaat er een minder duidelijk beeld omdat hier ook de primaire wortel gerelateerd is aan early vigour. Mogelijk geeft een kleine primaire wortel een lagere early vigour vanwege een verminderde fosfaatopname onder low input. Terwijl onder high input de lengte van de primaire wortel van minder belang is, omdat de kroonwortels deze taak dan gedeeltelijk overnemen. PC2 low input duidt op een relatie tussen paarskleuring en de laterale wortelscore. Wellicht wijst dit erop dat een matig ontwikkeld wortelstelsel meer paarskleuring geeft. Duidelijk is in elk geval dat male2 onder zowel high als low input meer variatie laat zien op aantal kroonwortels en dat deze spreiding in de veredeling gebruikt kan worden ten behoeve van selectie.

Uit onderzoek van Hund bleek uit een PCA dat de primaire wortel waarneming goed kan worden geassocieerd met alle andere worteleigenschappen en de bovengrondse drogestofopbrengst (Hund, Richner, Soldati, Fracheboud, & Stamp, 2007). Ander onderzoek, ook middels PCA, toonde aan dat wortellengte, primaire worteloppervlakte en drogestofgewicht van het wortelstelsel de meeste variatie verklaren tussen kiemplanten van maïs. Bovendien stellen zij dat de drie genoemde eigenschappen gunstig zijn om te screenen op grote hoeveelheden maïslijnen (Kumar, Abdel-Ghani, Reyes-Matamoros, Hochholding, & Lübberstedt, 2012).

In de genetica set die is gebruikt in dit onderzoek, is er een groepering aanwezig die sterke ($>0,5$) componentenladingen toont voor de bovengrondse kenmerken paarskleuring en early vigor score in PC1. Opvallend is dat in dezelfde set genetica een groepering aanwezig is die sterke componentenladingen toont voor ondergrondse kenmerken in PC2. Dit toont aan dat in deze dataset genetica aanwezig is waarvoor juist veel en juist weinig variatie is voor zowel bovengrondse als ondergrondse kenmerken. Dit inzicht toont de noodzaak voor het verder onderzoeken van deze genetische variatie. Wanneer de genetica kan worden aangewezen die verantwoordelijk is voor de bovengronds dan wel voor de ondergrondse variatie, kan men deze variatie van de genetica gebruiken als screeningsmethode en verdere ontwikkeling van genetisch materiaal. Vermoedelijk betreft het hier de female (A). Het screenen op worteleigenschappen en het toetsen daarvan met behulp van PCA heeft dus op basis van deze uitkomsten, toegevoegde waarde in selectie en ontwikkeling van maïsgenotypen. Met dit onderzoek is echter wel aangetoond dat verschillende genetica heel verschillende variatie én onderlinge relaties kunnen laten zien tussen waarnemingen aan wortels en bovengrondse delen. Het is dus van belang per bestuiver een beeld te krijgen van de effecten van deze lijn, voor selectie en ontwikkeling. Zodoende kan geprofiteerd worden van de variatie en kan selectie zinvol uitgevoerd worden.

Tevens is duidelijk gemaakt dat het screenen van materiaal onder high of low input verschillende effecten en relaties kan laten zien. In dit onderzoek blijkt bijvoorbeeld dat de resultaten van een screening met kruisingen waarin male1 is gebruikt als C bestuiver, verkregen uit een high input omgeving, niet zonder meer vergeleken kunnen worden met resultaten verkregen uit een low input omgeving. Dit pleit voor het gelijktijdig screenen van materiaal onder zowel high en low input.

5.4. Specifieke combinatie C bestuiver (male) met input

Uit de PCA analyse bleek dat de males verschillende componentenladingen opleveren, waardoor ze van elkaar verschillen naar gelang de input. Omdat de males, gebruikt als C bestuiver, niet hetzelfde gedrag vertonen onder de verschillende inputs, is het noodzakelijk

hier verder op in te zoomen. Door de data te analyseren, op basis van de specifieke male als C bestuiver in combinatie met de input, kan dit meer inzicht verschaffen in mogelijk aanwezige verbanden.

In een vervolgstap op de uitvoer van de PCA, een bootstrap ANOVA, blijkt tussen de verschillende combinaties van male met input, dat voor alle getoetste waarnemingen er significante verschillen worden gevonden, zie de bootstrap ANOVA male_Input. Deze gevonden significante variatie in de bootstrap ANOVA, is bevestigd door een T-test ten aanzien van alle waarnemingen, zie de T-test male_input. Voor alle duidelijkheid, de combinaties per C bestuiver en input zijn er vier, bestaande uit male1, gecombineerd met de high of low input en male2, gecombineerd met de high en low input.

De post hoc uit deze ANOVA geeft alle significante verschillen tussen de getoetste combinaties en maakt het mogelijk de gevonden verschillen te kwantificeren. Daarnaast levert de LSD test niet alleen inzicht in welke variabele de groepen van elkaar verschillen, maar toont de test ook de onderlinge verhoudingen, zie de bootstrap LSD male_input. Het absolute niveau en de richtingen van de verschillen zijn hiermee onderzocht en de volgende significante uitkomsten zijn bevonden:

Male1 geeft onder low input een lagere early vigour dan male1 en male2 onder high input. Onder low input worden er geen verschillen gevonden tussen de males op het gebied van early vigour. Opvallende bij de paarskleuring is dat onder zowel hoge als lage fosfaatbeschikbaarheid, male1 sterkere paarskleuring laat zien dan male2. Early vigour en paarskleuring in ogenschouw genomen, mag worden aangenomen dat male1 meer stress in de hybriden inbrengt.

Toch blijkt dat male2 ook onder low inputomstandigheden meer paarskleuring laat zien dan onder high input. Mogelijk kunnen de eerder geconstateerde effecten worden verklaard door het resultaat dat male1 onder low input ten opzichte van alle andere opbjecten de minste laterale wortelontwikkeling vertoont. Dit is in overeenstemming met de literatuur van (Niu, Chai, & Jin, 2013), waarin vermeld wordt dat genotypen met een sterkere laterale wortelontwikkeling meer fosfaatopname en groei demonstreren dan nauw verwante genotypen met een mindere mate van laterale wortelontwikkeling.

De resultaten op variabele aantal kroonwortels geeft aan dat male2 in de low input minder kroonwortels maakt dan male1 en male2 in de high input. Dit wil zeggen dat het bemestingsniveau invloed heeft op de wortelarchitectuur van male2 waarbij men een significant effect constateert, dat male2 minder kroonwortels produceert bij een lage fosfaatbeschikbaarheid. Ook bij male1 in de low input zijn er minder kroonwortels geproduceerd in vergelijking met male2 en male1 in de high input. Hiermee is opnieuw een bewijs gevonden voor het effect van de fosfaatbemesting op wortelarchitectuur. Omdat er geen significant verschil gevonden is tussen de males bij verschillende inputs, is het aannemelijk dat het verschil in aantal kroonwortels louter veroorzaakt wordt door de fosfaatbemesting.

Verder lijkt er een effect te zijn van deze bemesting op de lengte van de kroonwortels. Male1 vormt onder high input kortere kroonwortels dan male1 en male2 beide vormen onder low input. Dit effect kan niet worden geconstateerd bij male2 in de low input. Opvallend is, dat male1 in de low input langere kroonwortels vormt dan male1 onder high input en male2 onder low input. Hoewel male1 in vergelijking met male2 onder low input langere kroonwortels

vormt, is dit verschil (0,9 cm) niet significant, zie bootstrap LSD male_input. Daarnaast blijkt dat male2 onder high input kortere kroonwortels maakt dan male1 onder low input. Wanneer dat effect wordt gerelateerd aan het aantal kroonwortels dan blijkt dat, male2 onder high input ook meer kroonwortels maakt dan male1 onder low input. Male2 onder high input maakt weliswaar kortere kroonwortels maar wel meer dan male1 onder low input. Dit illustreert dat de males een verschillende wortelarchitectuur hebben onder andere fosfaatbemestingsniveaus.

Er zijn geen verschillen gevonden tussen de lengte en het aantal kroonwortels onder high input. Hoewel male1 meer en kortere kroonwortels vormt onder high input dan onder low input is dit effect niet geconstateerd bij male2. Bij male2 is onder low input ook geen kruislings verband geconstateerd tussen het aantal en de lengte van de kroonwortels. Bij male1 is onder low input dit verband wel te constateren. Met andere woorden, er is sprake van een genetisch effect en een bemestingseffect, maar deze zijn niet voor beide males hetzelfde. Beide males laten een effect zien van minder en langere kroonwortels bij low input. Alleen male2 laat ongeacht input, geen gecombineerd effect zien van aantal en lengte van kroonwortels. Male1 geeft een sterker effect op wortelarchitectuur bij een andere fosfaattoestand dan male2, waarbij male2 alleen minder kroonwortels maakt onder low input. Het beeld van verschillende wortelarchitecturen van male1 en male2 wordt bevestigd door de analyse van de primaire wortel. Hieruit blijkt dat male2 onder high input altijd een kortere primaire wortel vormt in vergelijking met alle andere objecten. Het lijkt erop dat het al eerder genoemde kruislingse verband het aantal en de lengte van de kroonwortels ook geldt voor de primaire wortel. Alle wortelkenmerken in ogenschouw genomen, is het aannemelijk dat male1 een meer gedrongen wortelarchitectuur inbrengt dan male2. Er treedt ook een bemestingseffect op, waarbij male2 onder low input een langere primaire wortel vormt dan de andere objecten. De wortellengte is een indicator van geschiktheid voor low input. De selectie op een sterke primaire wortelontwikkeling kan de early vigour onder koele omstandigheden verbeteren (Hund, Fracheboud, & Soldati, 2008). En voor de groei van maïs zijn koele omstandigheden vergelijkbaar met een low inputsituatie (Stok, 2010).

Met de bovenstaande analyses is aangetoond dat er een genetisch component in de wortelarchitectuur is en het effect daarvan in low en high input, heel duidelijk aanwezig is. Dat houdt in dat de keuze van geniteurs zeer belangrijk is voor de prestatie van de wortelarchitectuur van hybriden bij een lage of hoge fosfaatbeschikbaarheid.

Dat een duidelijk ontwikkelde primaire wortel bijdraagt aan een gunstige bovengrondse groei blijkt ook uit onderzoek van (Richner, Kiel, & Stamp, 1997). Hierin wordt gesteld dat een uitgebreide primaire wortel, met veel laterale wortels, significant gerelateerd is aan de opbrengst van de bovengrondse biomassa. Dit kan een logische relatie zijn aangezien door ditzelfde onderzoek kan worden bevestigd dat de primaire wortel behouden blijft gedurende het hele groeiseizoen. Men heeft berekend dat van de totale hoeveelheid water die wordt opgenomen in het groeiseizoen, ongeveer zeventien procent wordt opgenomen via de primaire wortel. Het onderzoeken van de primaire wortellengte is dan ook een belangrijke waarneming om uit te voeren. In een ander onderzoek (Zhang, Li, Rong, Gao, & Wu, 2014) is ook wortellengte gebruikt om maïs te testen op geschiktheid voor een lage fosfaatbeschikbaarheid. Daarbij is een combinatiecijfer gebruikt waarin de wortellengte is samengevoegd met het aantal bladeren en het drogestofgewicht van het bovengrondse deel van de maïs. Het doen van onderzoek aan dergelijke wortelarchitectuur kan al in het kiemstadium omdat wortelkenmerken in het kiemstadium heel bruikbare parameters zijn voor veredelaars wanneer wordt veredeld op nutriënt-efficiënte rassen (Zhang, Li, Rong, Gao, & Wu, 2014).

In zijn algemeenheid blijkt dat een relatief groot wortelgewicht vroeg in het seizoen bijdraagt aan een superieure wortelarchitectuur later in het seizoen. De maïslijnen met het grootste en snelst groeiende wortelstelsel als kiemplant blijken het meest massieve wortelstelsel te hebben bij volwassenheid (Nass & Zuber, 1971).

In eerder onderzoek door NMB naar de wortelarchitectuur van maïskiemplanten blijken ook relaties met volwassen planten op het veld. Een goede ontwikkeling van de primaire wortel in het kiemplantstadium blijkt sterk positief gecorreleerd te zijn met het aantal en dichtheid van nodale wortels in het stadium van volwassenheid. Met andere woorden: een vroege sterke primaire wortelontwikkeling leidt tot een sterke nodale wortelontwikkeling later in het seizoen. Hieropvolgend blijkt verder uit dit onderzoek dat de nodale wortelontwikkeling duidelijk negatief gecorreleerd is met de ontwikkeling van haarwortels. Bij een wortelarchitectuur met een sterke nodale wortelontwikkeling mag men beduidend minder haarwortels verwachten. Het blijkt dat bij low input deze correlaties sterker tot uitdrukking komen.

Pogingen om wortelontwikkeling te stimuleren middels veredeling zal een effect hebben op de gehele groei van de plant. Een deel van de genetica, verantwoordelijk voor meer wortellengte en –grootte, ligt in het genetisch materiaal met een sterke groeicapaciteit. Echter is een duidelijke relatie niet aanwezig. Toch kan de genetische variatie in wortels gebruikt worden om op een sterkere wortelarchitectuur te selecteren, zonder hierbij in te leveren op de opbrengst bovengronds (Guingo, Hébert, & Charcosset, 1998).

Er moet worden opgemerkt dat uit de bovenstaande ANOVA met LSD post hoc geen conclusies worden getrokken met betrekking tot de correlaties tussen de objecten of waarnemingen. Er worden slechts verschillen geconstateerd. Om de samenhang te onderzoeken is er een regressieanalyse uitgevoerd.

5.5. Regressieanalyse

De eerder beschreven relaties met betrekking tot de wortelarchitectuur zijn niet terug gevonden in de uitgevoerde correlatieanalyse (zie de Pearson correlatietabel male_input). Bij male1 in high input is er alleen een significante correlatie gevonden tussen het aantal kroonwortels en paarskleuring (-0,402). Met andere woorden, hoe meer paarskleuring des te minder kroonwortels er zijn gevormd en vice versa.

Male1 in de low input toont alleen een negatieve correlatie tussen early vigour en paarskleuring. Bij deze male in deze fosfaatbemesting geldt dus: hoe hoger de score op early vigour des te minder de paarskleuring.

Voor de andere flint bestuiver (male2) blijkt er zowel onder high als low input een correlatie te zijn tussen de early vigour en het aantal kroonwortels. Op basis van de eerdere LSD test is er geen verband aangetoond tussen deze twee waarnemingen voor male2, ongeacht input terwijl dit wel blijkt uit de correlatieanalyse. Er is namelijk een verband gevonden tussen de early vigour en het aantal kroonwortels voor male2 in beide inputs. Hiermee is aangetoond dat male2 een significant andere wortelarchitectuur inbrengt dan male1. Met andere woorden, als een kruising hoog scoort op early vigour en deze heeft male1 als C bestuiver, dan mag verwacht worden dat deze kruising minder paarskleuring zal tonen. In dit geval kan men geen uitspraak doen over het aantal kroonwortels op basis van de early vigourscore. Als een kruising hoog kan worden gescoord op early vigour en deze heeft male2 als C bestuiver dan

mag verwacht worden dat deze kruising meer kroonwortels zal hebben. In dit geval kan men geen uitspraak doen over de verwachte paarskleuring op basis van de early vigourscore.

In deze dataset is de relatie tussen early vigour en aantal kroonwortels bij male2 afhankelijk van de genetica maar niet van fosfaatbemesting. Aanvullend hierop, mag gesteld worden dat het vinden van verschillen tussen groepen, die zijn verkregen door kruisingen met verschillende geniteurs, wat anders is dan het vaststellen van relaties tussen variabelen binnen één groep. Het ontbreken van een lineair verband tussen twee variabelen, terwijl er wel verschillen worden gevonden tussen de groepen, wijst erop dat de gevonden variatie binnen de groep erg afhankelijk is van alle gebruikte geniteurs. Zonder daar nu een bewijs voor te leveren, is het aannemelijk dat beide males een verschillend additief effect hebben op de kruising maar dat ook de gebruikte females een bijdrage leveren aan de waarnemingen van de uiteindelijke kruisingen.

Kortom, de keuze van de female is ook bepalend voor het uiteindelijke effect. Mogelijk kunnen de verschillen tussen de onderzochte kruisingen verklaard worden door bijvoorbeeld een specifiek heterosis effect. Het effect van heterosis komt namelijk zeer vroeg tot uiting en dit wordt bevestigd door literatuur. Al een paar dagen na kieming kan het effect van heterosis zeer sterk aanwezig zijn bij de kiemplant (Hoecker, Keller, Piepho, & Hochholdinger, 2006).

5.6. Combinatie B*C bestuiver (eerste*tweede male)

Om een eventueel effect van de combinatie van males (B*C) vast te kunnen stellen, is een gepaarde analyse uitgevoerd. De analyse is waar mogelijk gepaard naar dezelfde female, wat de A is in een driewegkruising zoals (A*B)*C. Hierbij tracht men niet het female-effect te meten, maar een additieve-effect van de males. Deze combinaties zijn interessant om onderling te vergelijken, omdat ze het specifieke heterosis effect beter kunnen demonstreren. Duidelijk is dat de combinatie male3*male2 gunstig scoort op paarskleuring. Deze combinatie van B*C bestuiving geeft namelijk de minste paarskleuring. Male combinaties 1 en 6, beide met male1 als B bestuiver, scoren minder gunstig op paarskleuring. Male1 scoort matig op wortelscores, terwijl male3*male1 juist hele hoog scoort op de lengte van de kroonwortels en op de lengte primaire wortel. Hier scoort male3*male2 juist weer ongunstig op. Wanneer de male combinaties 3 en 4 met elkaar vergeleken worden, is het effect zichtbaar dat male2 algeheel gezien een meer gewenste wortelarchitectuur geeft in combinatie met male3, maar ook in combinatie met male1.

Het additieve effect is af te lezen uit de combinaties 1, 3 en 6: alle hybriden waar male1 als B bestuiver is gebruikt, geven een lagere score op laterale wortelontwikkeling. Het lijkt aannemelijk dat male2 als geniteur een sterke laterale wortelontwikkeling door erft, tezamen met korte kroonwortels en een korte primaire wortel. De male3 lijn geeft een duidelijk positieve bijdrage aan de wortelvorming. Met name in combinatie met male2 geeft male3 een goed wortelstel, wanneer het gaat om lengte van de kroonwortels, primaire wortel en op het gebied van laterale wortelontwikkeling. Dit uit zich in een duidelijk sterkere early vigour tezamen met weinig stress in de vorm van paarskleuring.

5.7. De invloed van flint inteeltlijnen en hun kruisingscombinatie

In tabel 13 zijn alle significante geconstateerde effecten, zoals omschreven in deze studie, samengevat. Deze tabel maakt de verschillende specifieke en individuele effecten van de gebruikte males zichtbaar én de genetische (additieve) effecten van de males in de

kruisingen. Er blijkt een duidelijk additief effect aanwezig te zijn. Zo geeft male1 als C bestuiver onder hoge én lage fosfaatbeschikbaarheid een ongunstige early vigour. Wordt deze male als B bestuiver gebruikt, in combinatie met male2 als C bestuiver, dan uit zich dat in een zeer gunstige early vigour bij de hybride. Dit geldt ook voor de laterale wortelscore, waar male1 matig op scoort als C bestuiver onder beide inputs. Wordt dezelfde male ingezet als B bestuiver, dan bezit de hieruit voortkomende driewegkruising een goede laterale wortelontwikkeling.

tabel 13: De significante effecten van de flint males als C bestuiver en in de combinatie met de B bestuiver op de onderzochte driewegkruisingen. Resultaten zijn weergegeven als niet significant (ns) of significant als een zeer gunstig effect (++), gunstig effect (+), ongespecificeerd effect (+-), ongunstig effect (-) en zeer ongunstig effect (--). De waarnemingen zijn afgekort tot EV (early vigour), paars (mate van paarskleuring), LWS (laterale wortelscore), #KW (aantal kroonwortels), LKW (lengte kroonwortels) en LPW (lengte primaire wortel). Deze tabel is als Excelbestand te vinden op de bijlage CD waarbij de herkomst van de effecten vermeld staat.

		Combinatie B*C						
		C bestuiver			1	2	4	7
		m1	m2	REF	m2*m1	m1*m2	m3*m2	REF
EV	hi	--	++	ns	-	++	ns	ns
	low	-	+	ns				
Paars	hi	-	+-	+-	-	ns	++	+-
	low	--	--	++				
LWS	hi	-	++	ns	ns	+	+	ns
	low	-	+	+				
#KW	hi	+	+	-	ns	ns	ns	ns
	low	ns	ns	ns				
LKW	hi	ns	ns	ns	+	ns	ns	+-
	low	++	ns	--				
LPW	hi	++	+	+-	+	ns	ns	ns
	low	ns	ns	ns				

5.8. Females

Aanvullend op de beschreven effecten van de males (additief) in de vorige paragraaf is verder onderzoek uitgevoerd naar de invloed van de females. De verschilmeting tussen gemiddelden laat het verschil zien tussen de gemiddelden en de gepaarde kruisingen, zie op de bijlage CD 'Verskil tussen gemiddelden'. Hierin wordt het effect zichtbaar van de combinatie male2*male1 en male1*male2. Onder high input komt het verschil tussen genen niet tot uiting. Het verschil tussen de bestuivingscombinaties, is een verschil tussen genen. Immers, de eindkruisingen verschillen genetisch van elkaar, ondanks het gebruik van dezelfde genetica (male1 & male2). Dit terwijl onder low input, het verschil zich wel openbaart in de early vigour. Zo is de gemiddelde early vigour van combinatie 2 (male1*male2) hoger dan die van combinatie 1 (male2*male1).

Bij het uitvoeren van een post hoc test van een ANOVA op de NZ codes, is het opvallend dat de females met ■-pedigree een significant hogere early vigour vertonen. Dit suggereert dat niet alleen de malecombinatie, maar ook de specifieke female een benoemenswaardig effect heeft op de eindkruising. Al zijn de genen van de female maar voor een vierde vertegenwoordigd in een dergelijke driewegkruising, er is vermoedelijk een specifiek heterosis effect van de ■-pedigree met de gebruikte flint inteeltlijnen op het gebied van early vigour.

Uit dezelfde SNK test blijkt, dat genetica met de zwakste laterale wortelontwikkeling gekruist is met de combinatie male1*male2 en de genetica met de hoogste laterale wortelontwikkeling is gekruist met de combinatie male2*male1. Dit terwijl eerder bevonden is dat de combinaties met male1*male2 een sterke early vigour vertonen. De resultaten van laterale wortelscore kunnen mogelijk ook worden verklaard door een specifiek heterosis effect van de female [REDACTED] met de gebruikte flint males en juist een slechte combinatiegeschiktheid van de female [REDACTED] met deze males.

Dit toont aan dat er een effect aanwezig is van de gebruikte females in de driewegkruisingen. Dit rechtvaardigt verder statistisch onderzoek naar de females. Hiertoe is een ANOVA uitgevoerd, ditmaal met de female als factor. Uit deze anova blijkt het alleen de laterale wortelscore te zijn waarin de females onderling significant op verschillen. De SNK post hoc van deze ANOVA op het gebied van laterale wortelontwikkeling laat zien dat de female [REDACTED] significant lager scoort en de female [REDACTED] significant hoger scoort. Dit zijn dezelfde females die in de vorige ANOVA naar plotjescode ook zijn geïdentificeerd als respectievelijk laagst en hoogst scorend. Beide toetsen bevestigen elkaar. Ook levert de laatste SNK test inzicht in het aantal kroonwortels bij de gebruikte females. Deze zijn namelijk significant minder voor de [REDACTED] en significant meer voor de [REDACTED]. De [REDACTED] met significant minder kroonwortels, heeft significant meer laterale wortelontwikkeling in deze test. De [REDACTED] met significant meer kroonwortels heeft (niet significant) minder laterale wortelontwikkeling. Mogelijkerwijs bestaat er, op femaleniveau, een correlatie tussen aantal kroonwortels en laterale wortelscore.

In een uitgevoerde T-test op de kruisingscombinatie 1 (male2*male1) en 2 (male1*male2) komen niet-significante relaties naar voren. Zo blijkt dat de early vigour van combinatie 1 lager is met een hogere score op paarskleuring. De early vigour van combinatie 2 is hoger dan die van combinatie 1 en de paarskleuring van combinatie 2 is lager dan die van combinatie 1. Het blijkt dus dat deze niet-significante resultaten een trend laten zien waarbij combinatie 2 een gunstigere resultaat geeft op het gebied van early vigour en paarskleuring. Dit wijst erop dat deze geniteurs vervangende effecten demonstreren in plaats van additieve effecten, zoals eerder is geconstateerd.

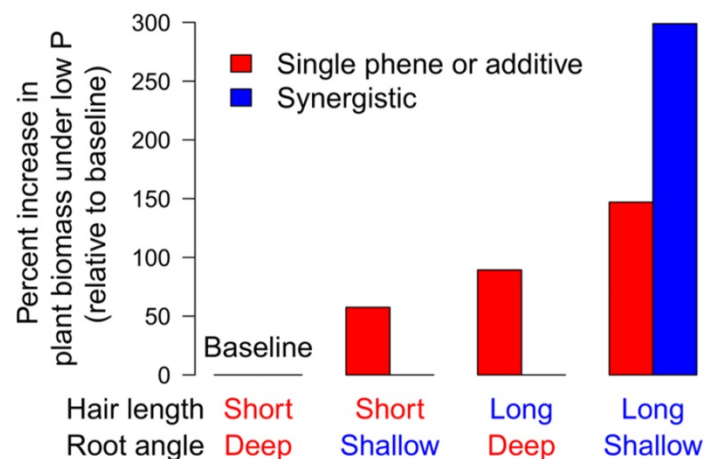
5.9. Nieuw-Zeeland

Met de regressieanalyses zijn geen correlaties gevonden tussen de single crosses (ouders) onderzocht in Nieuw-Zeeland en de driewegkruisingen (nageslacht) onderzocht in Nederland. De enige correlatie is gevonden tussen de laurenspower en de early vigour van de Nieuw-Zeelandse single crosses van rond de 0,45. Er is dus een verband tussen de early vigour en verticale trekkracht die nodig is om de plant uit de grond te trekken. Zoals de literatuur (Penny, 1981) (Nass & Zuber, 1971) aangeeft, kan die trekkracht gebruikt worden als indicatie voor de massa van het wortelstelsel. Dit betekent dat de single crosses met een fors wortelstelsel (een hoge LP) een gunstige early vigour laten zien. Zodoende kan gesteld worden dat early vigour bij deze genetica als een screeningsmethode kan worden gebruikt onder Nieuw-Zeelandse omstandigheden. Dit kan gunstig zijn aangezien NMB jaarlijks nieuwe test (drieweg)kruisingen laat produceren in Nieuw-Zeeland. Door te screenen op early vigour kunnen al in een vroeg stadium mogelijk interessante single crosses worden geselecteerd.

Het verschil in klimaat kan hier invloed op uitoefenen aangezien de single crosses niet in hetzelfde jaar en op hetzelfde veld zijn getest als de driewegkruisingen. Het is niet mogelijk om duidelijke oorzaken aan te wijzen voor deze effecten. Het is wel aannemelijk dat de C bestuiver van zeer grote invloed is op de driewegkruising. Het screenen van single crosses op early vigour en dus indirect op wortelstelsel is dus niet bruikbaar als selectiemethode voor driewegkruisingen omdat er geen correlaties zijn gevonden tussen de Nieuw-Zeelandse single crosses en Nederlandse driewegkruisingen.

5.10. Synergie

Bij het veredelen op wortelarchitectuur voor een lage fosfaatbeschikbaarheid wordt gezocht naar genotypen met veel haarwortels. Interessant daarbij zijn ook genotypen met een kleinere hoek van het wortelstelsel ten opzichte van de horizon omdat het wortelstelsel oppervlakkiger wortelt. Elk van deze twee eigenschappen draagt bij aan een goede fosfaatopname van de maïs bij lage fosfaatbeschikbaarheid. Wanneer genotypen ontwikkeld worden met beide eigenschappen, treedt een synergie op. Dit komt voort uit het feit dat haarwortels voor fosfaatopname, het beste oppervlakkig kunnen voorkomen, in plaats van op diepte, omdat de meeste fosfaat zich boven in de bouwvoor bevindt. Wanneer beide eigenschappen (haarwortels en wortelhoek) zich combineren, dan treedt er als het ware een '1+1=3' effect op. Genotypen met een sterke haarwortelontwikkeling laten bijvoorbeeld 50% meer groei zien dan die met een zwakkere ontwikkeling. Een oppervlakkigere bewortelingshoek levert 100% meer groei op. Door synergie laten genotypen met meer haarwortels én een oppervlakkige wortelhoek 300% meer groei zien (York, Nord, & Lynch, 2013). Deze synergie is een belangrijk inzicht voor het veredelen op low input, zie figuur 15.



figuur 15: Haarwortellengte en bewortelingshoek, hun afzonderlijke bijdrage aan fosfaatopname en hun synergie

Dit is belangrijk zien dat één Bron: (York, Nord, & Lynch, 2013) omdat het laat

karaktereigenschap van genetica niet bepalend is, wanneer deze eigenschap als doel wordt gesteld. Het is van belang dat de achterliggende oorzaak van het succes van een karaktereigenschap wordt doorgrond. Vervolgens moet op deze oorzaak worden veredeld met de karaktereigenschap als middel (York, Nord, & Lynch, 2013). Het simpelweg screenen op opbrengst onder lage fosfaatbeschikbaarheid is geen doeltreffende veredelingsstrategie geweest. Onderzoek wijst op het verstorende effect van het verschil in fosfaatbeschikbaarheid door de bodem heen en het tegelijk voorkomen van zowel abiotische als biotische stress

(Lynch, 2011). Daarnaast vertonen genotypen, die de gewenste karaktereigenschap bevatten, interactie met andere eigenschappen. Daardoor is het identificeren van genotypen met de gewenste eigenschap, onwaarschijnlijk. Bovendien kan door simpele selectie op een massaal wortelstelsel, de opbrengst zelf verminderen wanneer geen rekening gehouden wordt met de metabolische kosten van de wortels (Lynch, 2014). In dit licht kan opbrengst wel degelijk een nuttig selectie criterium zijn, net zoals bijvoorbeeld totale wortellengte. Tezamen met specifieke morfologische eigenschappen zoals de lengte van een specifieke wortel of bewortelingspatronen wordt zo het uiteindelijke doel niet uit het oog verloren (Reid, Tan, Griffin, & Goulden, 2010). Immers, maïs wordt hoofdzakelijk gezaaid voor de opbrengst.

6. Conclusie

De belangrijkste conclusies uit dit onderzoek worden beantwoord aan de hand van de onderstaande deelvragen en de hoofdvraag.

6.1. Deelvragen

Wat zijn relaties tussen kiemwortelanalyse en trekkrachtmeting van volwassen planten met betrekking tot early vigour, kleur en wortelarchitectuur en zijn deze geschikt als screeningsmethode?

Het effect van een goede combinatiegeschiktheid (heterosis) is al in het kiemstadium aanwezig. De resultaten van dit onderzoek laten zien dat early vigour een sterke correlatie heeft met paarskleuring. Verder blijkt uit de literatuur dat kiemanalyse een sterke voorspellende waarde heeft voor de wortelarchitectuur bij volwassenheid. Het selecteren op early vigour en wortelarchitectuur leent zich dus goed als screeningsmethode.

Welke flint inteeltlijnen erven welke worteleigenschappen door?

In de vergelijking tussen de twee gebruikte flint inteeltlijnen in dit onderzoek kunnen specifieke en verschillende worteleigenschappen aangewezen worden. Door alle male-female combinaties met elkaar te vergelijken kunnen mogelijke verervingseffecten worden aangetoond. Wanneer male1 als C bestuiver gebruikt wordt, erft male1 ongeacht input een langere primaire wortel door dan male2. De inteeltlijn male1 erft een slechtere laterale wortelontwikkeling door. Dit komt alleen tot uiting bij een tekort aan fosfaat. Is de fosfaatbeschikbaarheid op peil, dan toont male1 deze negatieve worteleigenschap niet significant. Gebruikt als C bestuiver, erft male1 meer en langere kroonwortels door, terwijl male2, een sterkere laterale wortelontwikkeling inbrengt. Als B bestuiver, erft male1 meer paarskleuring door, met daarbij een matige, algehele wortelontwikkeling. Het gebruik van male1 als C bestuiver, levert duidelijk betere prestaties op. Male3 gebruikt als B bestuiver, erft langere kroonwortels en primaire wortel door, wanneer male1 als C bestuiver in de hybride aanwezig is. De flint inteeltlijn male2 als C bestuiver, erft in het algemeen een uitgebreid wortelstelsel door.

Naast worteleigenschappen, erven de males verschillende wortelarchitecturen door. Bij kruisingen met male1 als C bestuiver is het merendeel van de variatie te verklaren door early vigour terwijl de variatie voor male2 als C bestuiver, berust op het aantal kroonwortels en laterale wortelscore.

Samenvattend kan geconcludeerd worden dat kruisingen met male1 meer stress vertonen dan male2. Kruisingen met male1 als C bestuiver tonen sterker paars bij low input. Overigens tonen referentiekruisingen zich stressbestendiger bij een lage fosfaatbeschikbaarheid (minder paars) dan kruisingen met de flint lijnen male1 en male2. Dit valt te verwachten omdat deze rassen al uitontwikkeld zijn en zich al in de praktijk hebben bewezen.

Erven gunstige worteleigenschappen additief door of is er sprake van een specifiek heterosis effect?

Uit de resultaten in dit onderzoek blijkt male1 minder geschikt te zijn als geniteur voor het door vererven van genen die een hoge early vigour demonstreren. Het is aannemelijk dat male1 vooral een sterke, specifieke combinatiegeschiktheid vertoont voor early vigour. Wellicht is er dus geen sprake van een additieve bijdrage aan de early vigour maar betreft het een specifiek heterosiseffect. Voor een additieve bijdrage toont male2 zich geschikter. Deze male laat namelijk meer gunstige variatie en een hogere absolute score voor early vigour zien dan male1. Naast de male geniteur is ook de female geniteur van belang om een goede early vigour te behalen. De [REDACTED]-female groepering toont een significant hoge early vigour wat een bewijs is voor een specifieke heterosis met de gebruikte flint inteeltlijnen. Ook de resultaten op het gebied van laterale wortelscore kunnen worden verklaard door een specifiek heterosis effect van de female groepering [REDACTED] met de gebruikte flint males en de slechte combinatiegeschiktheid van de female [REDACTED] met deze males.

In een uitgevoerde T-test op de kruisingscombinatie 1 (male2*male1) en 2 (male1*male2) komen niet-significante relaties naar voren. Zo blijkt dat de early vigour van combinatie 1 lager is met een hogere score op paarskleuring. De early vigour van combinatie 2 is hoger dan die van combinatie 1 en de paarskleuring van combinatie 2 is lager dan die van combinatie 1.

Niet significante resultaten uit een T-test laten een trend zien waarbij de combinatie male1*male2 gunstiger resultaat geeft op het gebied van early vigour en paarskleuring dan de combinatie male2*male1. Dit wijst erop dat deze geniteurs in combinatie met de males zowel heterosis als additieve effecten demonstreren. De impact van deze constatering op de veredeling is, dat met het stapelen van additieve genen een basisniveau in prestatie kan worden verkregen. Daarna kan gezocht worden naar specifieke heterosis effecten tussen lijnen.

Welke relaties of correlaties kunnen geïdentificeerd worden en welke waarde kunnen die in de veredeling en screening hebben?

Correlaties tussen variabelen zijn niet geïdentificeerd. Veredelaars moeten genetica onder zowel high als low input screenen op wortelarchitectuur. Alleen early vigour, getest onder hoge fosfaatbeschikbaarheid, heeft een voorspellende waarde voor prestatie onder lage beschikbaarheid van fosfaat. Fosfaatbeschikbaarheid veroorzaakt verschillen in wortelarchitectuur. Uit de resultaten van dit onderzoek kan worden geconcludeerd dat voor deze genetica de fosfaatbeschikbaarheid invloed uitoefent op de early vigour, paarskleuring, het aantal kroonwortels en hun lengte en de lengte van de primaire wortel. Parallel kan worden geconcludeerd uit de resultaten dat er een genetische component aanwezig is in de wortelarchitectuur en het effect hiervan onder zowel lage als hoge fosfaatbeschikbaarheid duidelijk aanwezig is. Dit betekent dat de keuze van geniteurs zeer belangrijk is voor de ontwikkeling van het type wortelstelsel. Eerdere onderzoeken bevestigen het gevonden resultaat dat male1 onder hoge fosfaatbeschikbaarheid een significante negatieve correlatie vertoont tussen het aantal kroonwortels en paarskleuring. Dit is in overeenstemming met Richardson, et al., 2011, waarin is gesteld dat meer nodale wortels gunstig kan zijn ten behoeve van de fosfaatopname. Met meer kroonwortels kan de maïsplant meer fosfaat

opnemen onder fosfaatstress wat zich uit in minder paarskleuring, wat een teken is van algehele stressreductie.

Uit de literatuurstudie in dit onderzoek zijn meerdere relaties tussen wortelstructuur en fosfaatopname naar voren gekomen. Zhu, Zhang, & Lynch, 2010 stellen dat wanneer fosfaatbeschikbaarheid beperkt is, genotypen met langere haarwortels significant meer fosfaatopname en plantgroei demonstreren.

Naast haarwortels is ook aangetoond dat een sterkere laterale wortelontwikkeling een meerwaarde heeft bij low input situaties (Niu, Chai, & Jin, 2013). Parallel hieraan geeft hetzelfde onderzoek aan dat wanneer een laterale wortelcluster gevormd wordt in een fosfaatdepot in de bodem, dat gunstig is bij lage fosfaatbeschikbaarheid. Fosfaat manifesteert zich met name aan de oppervlakte van de bouwvoor en met deze kennis is het logisch dat een relatief oppervlakkig wortelstelsel meer fosfaat tot zich kan nemen. Hierom zijn genotypen met een oppervlakkige wortelhoek geschikter om te telen dan genotypen met een steile wortelhoek (York, Galindo-Castañeda, Schussler, & Lynch, 2015).

De conclusie uit de bestudeerde publicaties komen in grote lijnen overeen met de uitgevoerde analyses in dit onderzoek. Ook in eerdere onderzoeken zijn verschillen gevonden in correlaties. Veel onderzoeken zijn met ander genetisch materiaal uitgevoerd en/of andere omstandigheden. Veldproeven kunnen andere responseffecten laten zien dan potproeven of proeven in een vloeibaar medium.

In welke mate hebben genotypen met een superieure wortelarchitectuur een toegevoegde waarde in low input teelt?

Het is moeilijk om aan te geven wat superieure worteleigenschappen zijn. Uit dit onderzoek komt naar voren dat onder low fosfaat input testkruisingen met een sterke laterale wortelontwikkeling en korte primaire wortel minder paars kleuring vertoont en een hogere early vigour. Dat kan gezien worden als superieure wortelarchitectuur maar ook een specifiek effect zijn van de gebruikte female en male genetica. Daarnaast is dit experiment alleen uitgevoerd op zandgronden terwijl bekend is dat een wortelarchitectuur een ander respons effect kan laten zien op grondsoorten als klei en veen. Het is goed mogelijk dat kruisingen met genetisch meer en langere kroonwortels beter presteren onder low fosfaat omstandigheden op een zwaardere grond.

Ten aanzien van selectie en veredeling is het opmerkelijk dat in de high input juist effect wordt geconstateerd en variatie aanwezig is, in de lengte van de primaire wortel. Dit terwijl in de low input dit juist geconstateerd voor de laterale wortelontwikkeling. Dat betekent dat een veredelingsprogramma om gebruik te maken van variatie niet alleen onder high en low input moet gaan screenen, maar ook met verschillende genetica op verschillende grondsoorten.

6.2. Hoofdvraag

Is het mogelijk meervoudige hybrides te ontwikkelen met superieure worteleigenschappen door inkruising van flint inteeltlijnen met een verschillende genetische achtergrond?

De hoofdvraag wordt positief beantwoord. In deze studie is middels veldonderzoek en literatuurstudie aangetoond, dat flint lijnen genetisch verschillende worteleigenschappen

kunnen bezitten. Deze worteleigenschappen kunnen zowel additief als met een specifieke combinatiegeschiktheid worden ingezet tot het ontwikkelen van meervoudige hybrides.

7. Aanbevelingen

Op basis van dit onderzoek zijn een aantal aanbevelingen te maken.

In eerste instantie wordt aanbevolen om bij het selecteren van female geniteurs rekening te houden met een mogelijk specifiek heterosis effect. Gebleken is dat er specifieke female pedigrees zijn die een sterke early vigour in de hybride brengen, ongeacht male of input.

Als tweede aanbeveling wordt voorgesteld gebruik te maken van de specifieke B*C bestuivingscombinatie van male3*male2 als bestuivers in toekomstige drieweghybriden. Dit omdat deze combinatie bij de hybriden goede resultaten inbrengt, zichtbaar als goede scores op early vigour, paarskleuring en ontwikkeling van de laterale wortel.

Ten derde wordt aanbevolen om te screenen op worteleigenschappen onder verschillende omstandigheden zoals onder hoge en lage fosfaatbeschikbaarheid en op verschillende grondsoorten zoals klei, veen en zand.

Nieuwe geniteurs met gewenste worteleigenschappen kunnen worden opgenomen in het genenbestand van NMB. Hierdoor kunnen nieuwe kruisingen geschikter worden voor teelt onder low input omstandigheden. Hierbij is het belangrijk dat deze geniteurs een plasticiteit bezit wat de plant in staat stelt wortels, gericht op fosfaatopname, te ontwikkelen bij fosfaattekort en wortels, gericht op stikstofopname, bij een stikstoftekort.

Ten vierde wordt aanbevolen hierop te screenen zonder opbrengst als selectiecriteria te verwaarlozen.

Voor het veredelen op nutriënt-efficiënte rassen in de nabije toekomst, wordt ten vijfde sterk aanbevolen genetica te selecteren met aerenchymvorming. Deze eigenschap is namelijk gunstig bij een mineralentekort, ongeacht fosfaat of stikstof.

Literatuur

- Abbe, E., & Stein, O. (1954). *The origin of the shoot apex in maize: embryogeny*. American Journal of Botany.
- AgentschapNL. (2015). *Maatregelen reductie emissie methaan, lachgas en CO₂ in de landbouw*. Ministerie van Economische Zaken, Landbouw en Innovatie.
- Aiken, R., & Smucker, A. (1996). *Root system regulation of whole plant growth*. Annual review of phytopathology.
- Bates, T., & Lynch, J. (2000). *The efficiency of Arabidopsis thaliana by low P availability*. Plant Cell Environment.
- Bauer, B. (2012). *Stripp-Till, Mit Streifen zum Erfolg*. DLG-Verlag.
- Clarkson, D. (1985). *"Factors affecting mineral nutrient acquisition by plants"*. Annual review of plant physiology .
- Cordell, D., Drangert, J. O., & Stuart, W. (2009). *The story of phosphorus: Global food security and food for thought*. Linköping University Sweden.
- Dekker, P., & Postma, R. (2008). *Verhoging efficiëntie fosfaatbemesting*. Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.
- DoVale, J. C. (2013). *"Genetic responses of traits relationship to components of nitrogen and phosphorus use efficiency in maize"*. Minas Gerais: Acta Scientiarum.
- Engels, C. (1994). *"Effect of root and shoot meristem temperature on shoot to root dry matter partitioning and the internal concentrations of nitrogen and carbohydrates in maize and wheat"*. Annals of Botany.
- Erdelska, O., & Vidovencova, Z. (1993). *Development of adventitious seminal root primordia during embryogenesis*. Biologia Bratislava.
- Fan, M. S., Zhu, J. M., Richards, C., Brown, K. M., & Lynch, J. P. (2003). *Physiological roles for aerenchyma in phosphorus-stressed roots*. Functional Plant Biology.
- FAO. (2012). *Current world fertilizer trends and outlook to 2016*. Food and Agriculture Organisation.
- Field, A. (2009). *Discovering statistics using spss (and sex drugs and rock 'n' roll)* . SAGE Publications Ltd.
- Gao, K., Chen, F., Yuan, L., & Zhang, F. (2014). *A comprehensive analysis of root morphological changes and nitrogen allocation in maize in response to low nitrogen stress*. China Agricultural University.
- Ge, Z., Rubio, G., & Lynch, J. P. (2000). *The importance of root gravitropism for inter-root competition and phosphorus acquisition efficiency: results from a geometric simulation model*. China Agricultural University.

- Guingo, E., Hébert, Y., & Charcosset, A. (1998). *Genetic analysis of root traits in maize*. Station d'amélioration des plantes fourragères Lusignan France.
- Hallauer, A. (1990). *Methods used in developing maize inbreds*. Maydica.
- Hirel, B., Le Gouis, J., Ney, B., & Gallais, A. (2007). *The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches*. Journal of experimental botany.
- Hochholdinger, F., Park, W., Sauer, M., & Woll, K. (2004). *From weeds to crops: genetic analysis of root development in cereals*. Trends Plant Science.
- Hochholdinger, F., Woll, M. S., & Dembinsky, D. (2004). *"Genetic dissection of root formation in maize (Zea mays) reveals root-type specific developmental programmes"*. Annals of Botany.
- Hoecker, N., Keller, B., Piepho, H. P., & Hochholdinger, F. (2006). *Manifestation of heterosis during early maize (Zea mays L.) root development*. University of Tübingen.
- Hund, A., Fracheboud, A., & Soldati, A. (2008). *"Cold tolerance of maize seedlings as determined by root morphology and photosynthetic traits"*. European journal of agronomy.
- Hund, A., Richner, W., Soldati, A., Fracheboud, Y., & Stamp, P. (2007). *Root morphology and photosynthetic performance of maize inbred lines at low temperature*. Institute of Plant Science, Zürich .
- Jackson, M. B., & Armstrong, W. (1999). *Formation of aerenchyma and the processes of plant ventilation in relation to soil flooding and submergence*. Plant Biology.
- Jing, J., Rui, Y., Zhang, F., Rengel, Z., & Shen, J. (2010). *Localized application of phosphorus and ammonium improves growth of maize seedlings by stimulating root proliferation and rhizosphere acidification*. China Agricultural University.
- Klimaatbureau. (2015). *Lachgas (N₂O): No laughing matter*. Klimaatgids.
- Kumar, B., Abdel-Ghani, A. H., Reyes-Matamoros, J., Hochholdinger, F., & Lübberstedt, T. (2012). *Genotypic variation for root architecture traits in seedlings of maize (Zea mays L.) inbred lines*. Iowa State University.
- Lynch, J. P. (2007). *Roots of the Second Green Revolution*. Australian Journal of Botany.
- Lynch, J. P. (2011). *Root phenes for enhancing soil exploration and phosphorus acquisition: tools for future crops*. Plant Physiology.
- Lynch, J. P. (2014). *Root phenes that reduce the metabolic costs of soil exploration: opportunities for 21st century agriculture*. The Pennsylvania State University.
- Lynch, J. P., & Brown, K. (2012). *New roots for agriculture: exploiting the root phenome*. Pennsylvania State University.
- Miedema, P. (1982). *"The effects of low temperature on Zea mays"*. Advances in Agronomy.
- Mulvaney, R. L., Khan, S. A., & Ellsworth, T. R. (2009). *Synthetic nitrogen fertilizers deplete soil nitrogen: A global dilemma for sustainable cereal production*. University of Illinois.

- Nass, H. G., & Zuber, M. S. (1971). *Correlation of corn (Zea mays L.) roots in development to mature root development*. Department of agronomy University of Missouri.
- Nass, H. G., & Zuber, M. S. (1971). *Correlation of early and mature root development in corn*. Department of agronomy University of Missouri.
- Niu, Y. F., Chai, R. S., & Jin, G. L. (2013). *Responses of root architecture development to low phosphorus availability: a review*. Annals of Botany.
- Paungfoo-Lonhienne, C., Schenk, P. M., & Lonhienn, T. G. (2009). *Nitrogen affects cluster root formation and expression of putative peptide transporters*. Journal of Experimental Botany.
- Penny, L. (1981). *Vertical-Pull resistance of maize inbreds and their testcrosses*. Northern Grain Insects Research Lab.
- Peret, B., Clement, M., Nussaume, L., & Desnos, T. (2011). *Root development adaption to phosphate starvation: better safe than sorry*. Trends Plant Science.
- Peter, R., Eschholz, T. W., Stamp, P., & Liedgens, M. (2009). *Early Growth of Flint Maize Landraces under Cool Conditions*. Crop Science Society of America.
- Postma, J., Dathe, A., & Lynch, J. (2014). *Optimal lateral root branching density for maize depends on nitrogen and phosphorus availability*. American society of plant biologists.
- Reid, J. B., Tan, Y., Griffin, W. B., & Goulden, D. (2010). *Root system plasticity as a factor in crop breeding for improved nutrient uptake*. The New Zealand Institute for Plant & Food Research Limited.
- Reimer, R. (2010). *"Response of maize (Zea mays) seedlings to low and high temperature: association mapping of root growth and photosynthetic-related traits"*. Zurich.
- Richardson, A. E., Lynch, J. P., Ryan, P. R., Delhaize, E., Smith, F. A., Smith, S. E., et al. (2011). *Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture*. Springer Science+Business Media B.V.
- Richner, W., Kiel, C., & Stamp, P. (1997). *Is seedling root morphology predictive of seasonal accumulation of shoot dry matter in maize?* ETH Zürich institute of plant sciences.
- Richner, W., Soldati, A., & Stamp, P. (1996). *"Shoot-to-root relations in field-grown maize seedlings"*. Agronomy Journal.
- RVO.nl. (2015). *Gebruiksnormen stikstof en fosfaat*. Den Haag: Meststoffen Nederland.
- Saengwilai, P., Nord, E. A., Chimungu, J. G., Brown, K. M., & Lynch, J. P. (2014). *Root cortical aerenchyma enhances nitrogen acquisition from low nitrogen soils in maize (Zea mays L.)*. American Society of Plant Biologists.
- Smith, S., & Smet, L. (2012). *Root system architecture: insights from Arabidopsis and cereal crops*. Philosophical Transactions of the Royal Society.
- Stamp, P. (1986). *"Chilling stress in maize"*. Wageningen: Pudoc.
- Stok, T. v. (2010). *"fosfaat kan uit rijenbemesting"*. Grondig.

- Stone, P., Jamieson, P. D., & Sorensen, I. B. (1999). *"Effect of soil temperature on phenology, canopy development, biomass and yield of maize in a cool-temperature climate"*. Field Crops Research.
- 't Zandt, D. i., Marié, C. L., Kirchgessner, N., Visser, E. J., & Hund, A. (2015). *High-resolution quantification of root dynamics in split-nutrient rhizoslides reveals rapid and strong proliferation of maize roots in response to local high nitrogen*. Society for Experimental Biology.
- Timmermans, B., Sukkel, W., & Bokhorst, J. (2012). *Telen bij lage fosfaatkiveaus in de biologische landbouw; achtergronden en literatuurstudie*. Louis Bolk Instituut.
- Trachsel, S., Kaeppler, S. M., Brown, K. M., & Lynch, J. P. (2010). *Shovelomics: high throughput phenotyping of maize (Zea mays L.) root architecture in the field*. Springer Science + Business Media B.V.
- Usuda, H., & Shimogawara, K. (1992). *Phosphate deficiency in maize*. Laboratory of chemistry, Teikyo University Tokyo.
- Veeteelt.nl. (2014, april 28). *veeteelt.nl*. Opgeroepen op mei 4, 2015, van Ministerie bevestigt verbod fosfaatkunstmest: <http://veeteelt.nl/nieuws/ministerie-bevestigt-verbod-fosfaatkunstmest-lto-witheet>
- Waines, J., & Ehdaie, B. (2007). *Domestication and crop physiology: roots of green-revolution wheat*. Annual Botany.
- Westenbrink, B. (2014). *KNMI: weer wordt extremer*. KNMI.
- York, L. M., & Lynch, J. P. (2015). *Intensive field phenotyping of maize (Zea mays L.) root crowns identifies phenes and phene integration associated with plant growth and nitrogen acquisition*. Pennsylvania state university.
- York, L. M., Nord, E. A., & Lynch, J. P. (2013). *Integration of root phenes for soil resource acquisition*. Pennsylvania State University.
- York, L., Galindo-Castañeda, T., Schussler, J. R., & Lynch, J. P. (2015). *Evolution of US maize (Zea mays L.) root architectural and anatomical phenes over the past 100 years corresponds to increased tolerance of nitrogen stress*. Journal of Experimental Botany .
- Yu, G., Zhuang, J., Nakayama, K., & Jin, Y. (2007). *Root water uptake and profile soil water as affected by vertical root distribution*. Plant Ecology.
- Zhang, L., Li, J., Rong, T., Gao, S., & Wu, F. (2014). *Large-scale screening maize germplasm for low-phosphorus tolerance using multiple selection criteria*. Sichuan Agricultural University.
- Zhu, J. (2003). *Composite interval mapping and physiological function of root traits conferring phosphorus efficiency in maize (Zea Mays L.)*. Pennsylvania State University.
- Zhu, J., Kaeppler, S., & Lynch, J. (2005). *Topsoil foraging and phosphorus acquisition efficiency in maize (Zea mays L.)*. Functional Plant Biology.
- Zhu, J., Zhang, C., & Lynch, J. P. (2010). *The utility of phenotypic plasticity of root hair length for phosphorus acquisition*. Pennsylvania state university.

Bijlage 1: detailinformatie proefvelden

Bij de bemesting wordt altijd een hoeveelheid per hectare bedoeld.

Lokatie	Low input		High input		Bodemstoestand		
	RVDM	Kunstmest	RVDM	Kunstmest	P-AL	Pw	kali
Joure LvR & Joure PPO	40m ³ vollefelds (3,4% N / 1,2% P ₂ O ₅)	163kg (32% N) + 450kg (25% P) ³ + 1000kg (40,5% CaO) + 1000kg (29% K ₂ O)	40m ³ vollefelds (3,4% N / 1,2% P ₂ O ₅)	365kg (15% N / 23% P) + 450kg (25% P) + 1000kg (40,5% CaO) + 1000kg (29% K ₂ O)	26	19	26
Tjalleberd LvR	40m ³ vollefelds (geen monster)	150kg TopPhos ³ + 200kg (32% N)	40m ³ in de rij (geen monster)	150kg TopPhos + 200kg (32% N)	39	37	52
Nije Mirdum PPO	40m ³ vollefelds (4,1% N / 1,5% P ₂ O ₅ / 5,8% K ₂ O)	0kg	40m ³ vollefelds (4,1% N / 1,5% P ₂ O ₅ / 5,8% K ₂ O)	150kg (26% N / 7% P)	43		169
Rolde PPO	37,5m ³ vollefelds (3,85% N / 1,6% P ₂ O ₅ / 5,5% K ₂ O)	200kg (60% K)	37,5m ³ vollefelds (3,85% N / 1,6% P ₂ O ₅ / 5,5% K ₂ O)	200kg (26% N / 7% P) 200kg (60% K)		39	

³ Met de oogst van het voorgaande jaar mag men een fosfaatafvoer hanteren van 70kg P per hectare voor lokatie Joure en Tjalleberd

Bijlage 2: proefveld schema's

De proef is op locaties Joure en Tjalleberd in 2 delen opgesplitst. Dit is vanwege de beschikbare ruimtes op de proefpercelen. Elk plotje bestaat uit 2 rijen van netto 5 meter diepte. Tussen de plotjes is een pad gemaakt van één meter. Proefopzet 2 is een vervolg op proefopzet 1, waar andere kruisingen worden gebruikt. De cijfers in de proefopzetten corresponderen met de veldboeken waar de interne code voor de testkruising staat vermeld. In de veldboeken staat elke kruising weergegeven met het kruisingsverleden. Zo betekent cijfer 3 in de rechter bovenhoek simpelweg regel 3 in het veldboek waar de geniteurs achter staan vermeld.

Proefopzet Joure deel 1. Aangegeven met een gele arcering zijn de banen (ranges) (in de bovenste rij)

←Zaairichting															
Range	r14	r13	r12	r11	r10	r9	r8	r7	r6	r5	r4	r3	r2	r1	Rij:
:	263	243	223	203	183	163	143	123	103	83	63	43	23	3	1
	264	244	224	204	184	164	144	124	104	84	64	44	24	4	2
	265	245	225	205	185	165	145	125	105	85	65	45	25	5	3
	266	246	226	206	186	166	146	126	106	86	66	46	26	6	4
	7	267	247	227	207	187	167	147	127	107	87	67	47	27	5
	268	248	228	208	188	168	148	128	108	88	68	48	28	8	6
		249	229	209	189	169	149	129	109	89	69	49	29	9	7
		250	230	210	190	170	150	130	110	90	70	50	30	10	8
		251	231	211	191	171	151	131	111	91	71	51	31	11	9
		252	232	212	192	172	152	132	112	92	72	52	32	12	10
		253	233	213	193	173	153	133	113	93	73	53	33	13	11
		254	234	214	194	174	154	134	114	94	74	54	34	14	12
		255	235	215	195	175	155	135	115	95	75	55	35	15	13
		256	236	216	196	176	156	136	116	96	76	56	36	16	14
		257	237	217	197	177	157	137	117	97	77	57	37	17	15
		258	238	218	198	178	158	138	118	98	78	58	38	18	16
		259	239	219	199	179	159	139	119	99	79	59	39	19	17
		260	240	220	200	180	160	140	120	100	80	60	40	20	18
		261	241	221	201	181	161	141	121	101	81	61	41	21	19
		262	242	222	202	182	162	142	122	102	82	62	42	22	20

Proefopzet Joure deel 2. Aangegeven met een gele
arcering zijn de banen (ranges) (in de bovenste rij)
en de riien (laatste kolom). De overige nummers

←Zaairichting

Range	r8	r7	r6	r5	r4	r3	r2	r1	Rij:
	90	100	110	120	130	140	150	160	1
	89	99	109	119	129	139	149	159	2
	88	98	108	118	128	138	148	158	3
	87	97	107	117	127	137	147	157	4
	86	96	106	116	126	136	146	156	5
	85	95	105	115	125	135	145	155	6
	84	94	104	114	124	134	144	154	7
	83	93	103	113	123	133	143	153	8
	82	92	102	112	122	132	142	152	9
	81	91	101	111	121	131	141	151	10

Proefopzet Tjalleberd deel 1. Aangegeven met een gele arcering zijn de banen (ranges) (in de bovenste rij) en de riien (laatste kolom). De overige nummers verwijzen naar de testkruisingen in het veldboek.

																						Rijenbesteding				↓Zaairichting				
30	29	28	27	26	25	24	23	22	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	Rij
																														Range
32	31	30	29	28	27	26	25	24	23	22	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	1
62	61	60	59	58	57	56	55	54	53	52	51	50	49	48	47	46	45	44	43	42	41	40	39	38	37	36	35	34	33	2
92	91	90	89	88	87	86	464	84	83	82	81	80	79	78	77	76	75	74	73	72	71	70	69	68	67	66	65	64	63	3
122	121	120	119	118	117	116	115	114	113	112	111	110	109	108	107	106	105	104	103	102	101	100	99	98	97	96	95	94	93	4
152	151	150	149	148	147	146	145	144	143	142	141	140	139	138	137	136	135	134	133	132	131	130	129	128	127	126	125	124	123	5
182	181	180	179	178	177	176	175	174	173	172	171	170	169	168	167	166	165	164	163	162	161	160	159	158	157	156	155	154	153	6
212	211	210	209	208	207	206	205	204	203	202	201	200	199	198	197	196	195	194	193	192	191	190	189	188	187	186	185	184	183	7
242	241	240	239	238	237	236	235	234	233	232	231	230	229	228	227	226	225	224	223	222	221	220	219	218	217	216	215	214	213	8
272	271	270	269	268	267	266	265	264	263	262	261	260	259	258	257	256	255	254	253	252	251	250	249	248	247	246	245	244	243	9
302	301	300	299	298	297	296	295	294	293	292	291	290	289	288	287	286	285	284	283	282	281	280	279	278	277	276	275	274	273	10
332	331	330	329	328	327	326	325	324	323	322	321	320	319	318	317	316	315	314	313	312	311	310	309	308	307	306	305	304	303	11
362	361	360	359	358	357	356	355	354	353	352	351	350	349	348	347	346	345	344	343	342	341	340	339	338	337	336	335	334	333	12
392	391	390	389	388	387	386	385	384	383	382	381	380	379	378	377	376	375	374	373	372	371	370	369	368	367	366	365	364	363	13
422	421	420	419	418	417	416	415	414	413	412	411	410	409	408	407	406	405	404	403	402	401	400	399	398	397	396	395	394	393	14
452	451	450	449	448	447	446	445	444	443	442	441	440	439	438	437	436	435	434	433	432	431	430	429	428	427	426	425	424	423	15
						476	475	474	473	472	471	470	469	468	467	466	465	464	463	462	461	460	459	458	457	456	455	454	453	16
pad																														

Proefopzet Tjalleberd deel 2. Aangegeven met een gele arcering zijn de banen (ranges) (in de bovenste rij) en de riien (laatste kolom). De overige nummers verwijzen naar de testkruisingen in het veldboek.

		Volleveldsbemesting																								↓Zaairichting					
Rij		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Range	1	32	31	30	29	28	27	26	25	24	23	22	21	380	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3
	2	62	61	60	59	58	57	56	55	54	53	52	51	20	49	48	47	46	45	44	43	42	41	40	39	38	37	36	35	34	33
	3	92	91	90	89	88	87	86	85	84	83	82	81	50	79	78	77	76	75	74	73	72	71	70	69	68	67	66	65	64	63
	4	122	121	120	119	118	117	116	115	114	113	112	111	80	109	108	107	106	105	104	103	102	101	100	99	98	97	96	95	94	93
	5	152	151	150	149	148	147	146	145	144	143	142	141	110	139	138	137	136	135	134	133	132	131	130	129	128	127	126	125	124	123
	6	182	241	180	179	178	207	176	175	174	203	172	171	140	199	168	167	166	165	164	163	162	161	160	159	158	157	156	155	154	153
	7	212	271	240	209	238	237	236	205	204	233	202	201	170	259	198	197	196	195	194	253	192	191	250	189	188	187	186	185	184	183
	8	272	301	270	239	268	267	266	235	234	263	232	231	200	289	228	227	226	225	224	283	252	251	280	219	218	247	246	215	214	213
	9	302	331	300	299	298	297	296	265	264	293	262	321	260	319	258	287	256	255	254	313	282	281	340	249	248	277	306	245	244	243
	10	332	421	330	359	328	387	326	295	294	323	292	381	290	349	288	317	286	285	284	343	342	311	400	279	338	307	396	275	274	273
	11	362	451	360	389	358	417	356	325	324	353	352	471	410	409	318	347	316	345	314	373	372	341	430	309	368	337	426	305	304	303
	12	392	395	390	419	388	447	386	385	354	383	382	444	440	469	348	407	346	375	344	403	402	371	460	339	398	397	466	335	334	333
	13	422	425	420	449	418	457	416	415	384	413	410	424	470	429	378	438	376	405	404	433	462	401	85	399	428	427	476	365	364	393
	14	452	455	450	211	208	453	446	445	414	443	472	474	473	458	408	454	436	465	434	463	394	475	476							
	15																														
	16																														
Pad																															

Bijlage CD

