D 359

# Aspecten van de stikstofhuishouding van de ongehechte grote ratelaar (Rhinanthus serotinus (Schönh.) Oborny)

verslag doctoraal
onderwerp 1974
plantenfysiologie

P.A.van der Knaap
St. Jansberg 35
Drachten (Sm.)

Rijksuniversiteit Groningen
Bibliotheek Biologisch Centrum
Kerklaan 30 — Postbus 14
9750 AA HAREN

Inhoud.


1. Inleiding. . . . . 1

2. Materiaal en methode. . . . . 4
2.1. Proefplanten. . . . . 4
2.2. Voedingsoplossingen. . . . . 5
2.3. Ammoniumbepaling. . . . . 6
2.4. Nitrietbepaling. . . . . 6
2.5. Nitraatbepaling. . . . . 6
2.6. Opnameproeven. . . . . 7
2.7. Nitraatreductase activiteit bepaling. . 7
2.8. Bepalin N-onoplosbaar. . . . . 8
2.9. Bepaling N-oplosbaar. . . . . 9
2.10. Ammoniumbepaling in plantemateriaal. . 9
2.11. Gewichtsbepalingen. . . . . 9
2.12. Statistische methoden. . . . . 9

3. Resultaten. . . . . 11
3.1. Voorbereidende proeven. . . . . 11
3.2. Opnameproeven. . . . . 12
3.3. Nitraatreductase activiteit. . . . 15
3.4. Groeiproeven. . . . . 18

4. Discussie. . . . . 26

5. Aanhangsel. . . . . 34
5.1. IJklijnen. . . . . 34
5.1A. Ammoniumbepaling in HCl-extract. . . 35
5.2. Tabellen met metingen en berekeningen. 36
5.3. Statistische bewerkingen. . . . . 51
5.4. Foutendiscussie. . . . . 54
5.5. "Lists" van de gebruikte programma's. . 56

6. Literatuur. . . . . 59

## 1. Inleiding.

Onder de Anthophyta komen parasieten voor, die bladgroen bezitten; de zg. halfparasieten.
Dit geldt bv. voor de in Nederland voorkomende geslachten Euphrasia, Melampyrum, Odontites en Rhinanthus, die allen behoren tot de Rhinanthoideae, een onderfamilie van de Scrophulariaceae.
Met behulp van haustoria wordt contact gemaakt tussen de wortels van de parasiet en die van de gastheer.
Er bestaat een open xyleem-xyleem verbinding, en hoewel geen floeem contact is gevonden, is een parenchymatisch contact aanwezig (Kuyt, 1969; Meyboom, 1968; Musselman, 1973).
Dit geldt ook voor Orobanche in de aan de Scrophulariaceae verwante familie Orobanchaceae (Whitney, 1973).

Tussen de gastheer en parasiet treedt gewoonlijk een groot watertransport op (van Dieten,1973; Whitney,1973).
Bij Phoradendron (fam. Loranthaceae) is water de belangrijkste aan de gastheer onttrokken stof (Hull& Leonard, 1964).

Striga (Okonkwo,1966; Rogers& Nelson,1962), Rhinanthus (Meyboom,1968; v.d. Boogaart,1974), Odontites (Govier e.a.,1967) en Orobanche (Singh e.a.,1971 b) nemen van hun gastheer mineralen op.
Ook organische verbindingen worden opgenomen door de parasiet. Voor Orobanche is de koolhydratenopname van groot belang. (Singh e.a.,1972)
Deze opname van stoffen zou passief, met de waterstroom mee, kunnen gebeuren (Singh& Singh,1971).

Onder andere bij Rhinanthus (Klaren,1971; v.d. Boogaart,1974) en Odontites (Govier e.a.,1968) blijkt de minerale samenstelling van parasiet af te wijken van die van de gasrheer. Dit zou kunnen wijzen op selectieve uitscheiding van stoffen door de bladklieren, die in grote hoeveelheden aanwezig zijn op de bladeren (v.d. Duim,1972; Govier e.a., 1968), op selectie in de haustoria of op opnameactiviteit van de wortels van de parasiet.

Selectie in de haustoria zou ook een verklaring kunnen zijn voor het verschijnsel dat het aminozuur spectrum van Rhinanthus afwijkt van de gastheer en vrij onafhankelijk is van de gastheersoort (Meyboom,1968; Klaren,1971).
Andere mogelijke verklaringen voor dit verschijnsel is een snelle omzetting in de haustoria door hoge transaminase activiteit. Ook bij Orobache (Singh e.a.,1972) is een van de gastheer afwijkende samenstelling van de N- fractie gevonden: de verhouding amiden+aminozuren tegenover vrij-nitraat en ammonium is voor de parasiet hoger dan voor de gastheer. Bij Odontites is het aminozuurspectrum echter in enige mate afhankelijk van de gastheer (Govier e.a.,1967).

Holoparasieten (parasieten zonder bladgroen) zijn wat betreft hun energievoorziening afhankelijk van hun gastheer. Zij hopen gewoonlijk koolhydraten op (Setty e.a.,1969).
De verhouding monosacchariden- disacchariden is daarbij hoger dan in de gastheer (Whitney,1973). Bij Rhinanthus treedt echter geen ophoping van koolhydraten op (de Boer,1972; v.d. Duim,1972; van Dieten, 1973).

Van de Scrophulariaceae zijn sommige vertegenwoordigers in staat tot het volbrengen van de levenscyclus, onafhankelijk van een gastheer. Deze planten bezitten kennelijk de mogelijkheden tot alle noodzakelijke metabolische activiteiten, maar groeien gewoonlijk duidelijk beter als ze gehecht zijn op een gastheer. Door deze eigenschap (van o.a. Rhinanthus en Odontites) is het mogelijk de volgende algemene vraagstelling te formuleren;Welke is (zijn) de factor(en) die de halfparasiet zo goed doet (doen) groeien als hij doet, wanneer hij gehecht is op een gastheer in vergelijking met een ongehechte plant.

Onder experimentele omstandigheden is het mogelijk de hechting van Rhinanthus op zijn gastheer (b.v. Hordeum) uit te stellen tot 3 weken nadat de ratelaars in de grond zijn gezet en 16 dagen na het toevoegen van een gastheer. De dan optredende veranderingen in Rhinanthus zijn o.a.: toename van water- en P-gehalte en toename van fotosynthese en eiwitgehalte. Verdere verschillen tussen gehechte en ongehechte ratelaars zijn: een hogere spruit-wortel verhouding, een lager koolhydraatgehalte, en een hogere fotosynthese snelheid bij de gehechte ratelaar dan bij de ongehechte. (de Boer,1972; van Dieten,1973;v.d. Duim,1972;Hofstra&& Klaren,1973;Klaren,1974)

Verschillende van bovengenoemde eigenschappen van de ongehechte ratelaar zouden beschouwd kunnen worden als symptomen van N-deficientie; zoals de langzame groei, de lage spruit-wortel verhouding, het lage N-gehalte, het hoge koolhydraatgehalte en het lage fotosyntheseniveau bij lichtverzadiging (Klaren,1974), alles in vergelijking tot de gehechte ratelaar.

Met betrekking tot de N-huishouding is aan Rhinanthus het volgende onderzoek gedaan:

Meyboom (1968) vindt bij Rhinanthus transport van organische verbindingen van de gastheer naar de parasiet. Hij toont chromatografisch aan dat de ongehechte ratelaar in staat is organische verbindingen op te bouwen, zoals aminozuren, maar dat het aminozuurspectrum toch verschilt van dat van de gehechte ratelaar. Met een meer verfijnde methode, met behulp van een aminozuuranalysator, toont Klaren (1971) aan dat de aminozuur samenstelling van de gehechte ratelaar vrij constant is en onafhankelijk van de gastheersoort, met een mogelijk uitzondering voor proline.

De Boer (1972) vindt dat bij ~~oplossing~~ de ongehechte ratelaar een lager stikstofgehalte (zowel oplosbare als onoplosbare fractie) samengaat met een hoger zetmeelgehalte en drogestofpercentage en een gelijke fotosyntese en chlorofylgehalte als bij de gehechte ratelaar (de Boer), (1972). Een verklaring was dat de ratelaar niet allevoor goede ~~groeu~~ groei noodzakelijke synthese capaciteiten zou bezitten voor de vorming van organische stikstofverbindingen en afhankelijk zou zijn van de gastheer voor bepaalde essentiele organische stikstofverbindingen.

Ook v.d. Duim (1972) vindt in de ongehechte ratelaar een hoger gehalte aan oplosbare en onoplosbare koolhydraten en een lager gehalte aan oplosbare en onoplosbare stikstofverbindingen dan bij de gehechte ratelaar. Bij één proefserie was de oplosbare stikstof fractie van de ongehechte ratelaar echter iets groter dan bij de gehechte ratelaar. Als mogelijke oorzaak van de relatief achterblijvende groei van de ongehechte ratelaar ziet v.d. Duim

het tekort aan stikstofverbindingen.

Van Dieten (1973) heeft de verschillende stikstof fracties en koolhydraat fracties en de fotosynthese in de loop van de tijd bestudeerd. Hij vindt dat bij de ongehechte ratelaar de oplosbare stikstof een toenemend deel uitmaakt van de totale stikstof fractie. Bij een leeftijd van 21 dagen is dit deel ca. 21% en dit percentage neemt geleidelijk toe tot ca. 54% bij een leeftijd van 61 dagen. Het is dan zelfs zo, dat de oplosbare stikstof fractie bij de ongehechte ratelaar groter is dan bij de gehechte. Deze resultaten lijken in tegenspraak met die van Klaren (1971) en die van de Boer (1972), die een kleinere oplosbare stikstof fractie vinden bij de ongehechte ratelaar. De fotosynthese, betrokken op de hoeveelheid eiwit, is bij de gehechte ratelaar hoger dan bij de ongehechte, terwijl de relatieve chlorofylgehaltes ongeveer gelijk zijn. Hieruit leidt van Dieten af dat er naast stikstof in ieder geval een belangrijkere factor is die de gehechte ratelaar goed doet groeien en de fotosynthese opjaagt.

Als de N- voorziening van de ongehechte ratelaar onvoldoende is en aan de behoefte van de ratelaar aan N- verbindingen wordt voorzien door een gastheer, dan komt de vraag naar voren wat de oorzaak is van deze N- deficientie van ongehechte ratelaar. De oorzaak kan worden gezocht in de opname van nitraat, in de reductie ervan tot nitriet, in de verdere reductie en in verdere verwerking van N- verbindingen. Ook andere processen zouden kunnen inferferen met het N- metabolisme (Epstein, 1972, p 288).

## 2. Materiaal en methode.

2.1. De voor de aanpassing van de N.R.A. bepaling volgens Jaworski (1971) (zie 3.3.1.) werd bladmateriaal gebruikt van grote ratelaars uit de "natte weide" van hortus "de Wolf". x Onduidelijk

Verder werd er voornamelijk gewerkt met ongehechte ratelaars, als volgt gekweekt:
Zaden kiemden na een verblijf van ca. 6 weken in een vochtige petrischaal bij 4°C in het donker. Verdere kweek vond plaats in een klimaatkamer onder lange-dag omstandigheden: 16 uur licht bij 20°C en 8 uur donker bij 15°C bij een relatieve luchtvochtigheid van 65%. Hoe?

2.1.1 Opnameproeven.

De planten werden voorgekweekt op in 0,4 n Hoagland voedingsoplossing drijvende alcatheen in bekerglazen. De bekerglazen waren afgeplakt met zwart plasticfolie. Aëratie was bij deze kweekmethode niet mogelijk.

Proef 3.2.1.

Voor de eigenlijke opnameproef werden de planten 2½ dag op aq.dem. gezet. Leeftijd van de planten aan het begin van de opnameproef: 22 dagen. Duur van de opnameproef: 3 dagen. 16 Planten werden over vier vaatjes verdeeld. Gebruikte voedingsoplossingen:1,2,3,4,(zie 2.2.). Gegeven volume: 100 ml .

Proef 3.2.2.

Voor de opnameproef werden de planten 2½ dag op aq. dem. gezet. Leeftijd van de planten aan het begin van de opnameproef: 21 dagen. Duur van de opnameproef : 1 dag. 29 planten werden verdeeld over 5 vaatjes. Gebruikte voedingsoplssingen d,c,b,a en 0,4 n Hoagland (zie 2.2.). Gegeven volume: 100 ml.

Proef 3.2.3.

Vóór de opnameproef werden de planten 2½ dag op aq. dem. gezet. Leeftijd van de planten aan het begin van de proef: 25 dagen. Duur van de proef: 1 dag. 32 planten werden verdeeld over drie vaatjes. Gebruikte voedingsoplossingen: e,c, en a (zie 2.2.). Gegeven volume: 100 ml.

2.1.2 Nitraatreductaseproeven.

Proef 3.3.3.

Planten werden gekweekt in bekerglazen met alcatheen. Leeftijd van de planten bij de oogst: 18 dagen. Gebruikte voedingsoplossingen: 0,4 n Hoagland en "$NH_4$".

Proef 3.3.4.

Ratelaars werden gekweekt op "Kakelhofgrond", 4 per pot. In één pot werd 5 dagen na het poten 4 gerstkiemen bijgeplant. In de andere pot werden geen gastheren toegevoegd. Leeftijd bij de oogst: 4 weken.

Groeiproeven:

Proef 3.4.1.

In 24 plastic bloempotten met perlite werden elk 4 kiemplanten geplant. De potten, die in plastic schotels met hoge rand stonden, werden 2 maal per week voorzien van voedingsoplossing. Per week samen 50ml. Gebruikte voedingsoplossingen: e,d,c en a. Leeftijd bij de oogst: 47 dagen. en verder?

Proef 3.4.2.

De ratelaars werden één week voorgekweekt als bij de opnameproeven. Hierna werden de planten overgebracht op vaatjes en verder gekweekt op 0,4 n Hoagland. Na het hergroeperen van de planten en nadat ze 2½ dag op aq.dem. hadden gestaan werden de planten op verschillende voedingsoplossingen geplaatst voor 22 dagen. Gebruikte voedingsoplossingen: e,d,c en a; er werd twee maal per week ververst. Leeftijd aan het eind van de proef: 42 dagen.

2.2. Voedingsoplossingen.

Er werd gekweekt op 0,4 n Hoagland of modificaties hiervan. Bij deze werden gedeelten van de nitraat vervangen door equivalente hoeveelheden chloride.
De voedingsoplossing "$NH_4$" bestond uit een volledige 0,4 n Hoagland voedingsoplossing met een toevoeging van ammoniumsulfaat.

Stamoplossingen.

| | | |
|---|---|---|
| a) | $KNO_3$ | 50,6 g/l |
| b) | $Ca(NO_3)_2.4H_2O$ | 118,0 g/l |
| c) | $KH_2PO_4$ | 13,6 g/l |
| d) | $MgSO_4.H_2O$ | 67,6 g/l |
| e) | KCl | 37,3 g/l |
| f) | $CaCl_2.2H_2O$ | 73,5 g/l |
| g) | A-Z opl. | |
| h) | ferricitraat | 6,5 g/l |
| i) | $(NH_4)_2SO_4$ | 20,2 g/l |

| stam opl. | 1 | 2 | 3 | 4 | e | d | c | b | a | 0,4n | "$NH_4$" |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| a | 0 | 0 | 0 | 2,00 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2,00 | 2,00 |
| b | 0,12 | 0,4 | 1,2 | 2,0 | 0,05 | 0,15 | 0,5 | 1,0 | 1,5 | 2,0 | 2,0 |
| c | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 |
| d | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 |
| e | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 0 | 0 |
| f | 1,88 | 1,6 | 0,8 | 0 | 1,95 | 1,85 | 1,5 | 1,0 | 0,5 | 0 | 0 |
| g | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,4 |
| h | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 |
| i | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2,0 |

ml stamoplossing per 1000 ml voedingsoplossing.

2.3. $NH_4$- bepaling volgens Neszler.

1. Pipetteer 1 ml van de te meten oplossing in een reageerbuis.
2. Als er Ca of Mg ionen aanwezig zijn, voeg dan 0,5 ml 10% Na-K tartraat toe. Er ontstaat nu geen neerslag van $Ca(OH)_2$ of $Mg(OH)_2$ na het toevoegen van een sterk basische Neszler reagens.
3. Vul aan met aq.dem. tot 9,5 ml .
4. Voeg 0,5 ml Neszler reagens toe (dat bestaat uit gelijke delen Neszlers Lösung A en 8,75 n NaOH) en meng grondig. Er ontstaat nu een gele kleur, die na een tijdje neerslaat.

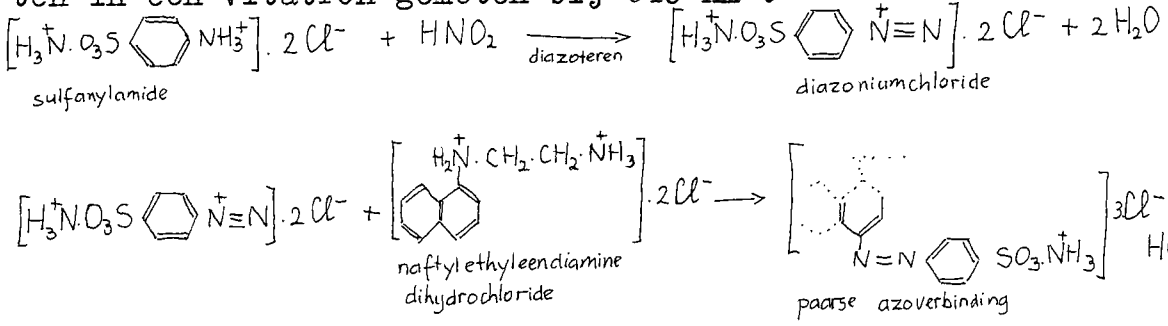
   $2(HgI_2.KI) + 3\ KOH + NH_3 \rightarrow Hg_2ONH_2I + 3KI + 2H_2O$

   Neszler reagens d. geel
5. De extinctie van de ontstane kleur wordt binnen 10 minuten in de Vitatron gemeten bij 413 nm .

2.4. Nitrietbepaling.

reagens a: 1% sulfanylamide in 1 n HCL
reagens b: 0,01% N-1-naftylethyleendiamine dihydrochloride

1. Pipetteer 1 ml van de te meten oplossing in een reageerbuis.
2, Voeg achteréénvolgens toe
   1 ml reagens a
   1 ml reagens b
3. De extinctie van de gevormde kleur wordt na 10 minuten in een Vitatron gemeten bij 540 nm .




2.5. Nitraatbepaling, salicylaatmethode (veranderd, vgls. J. Zantinge).

reagentia:

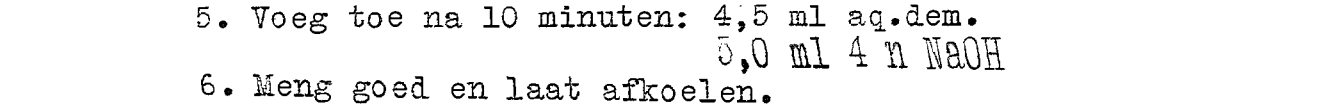
a. natriumsalicylaat, 5 g/l
b. NaCl, 5 g/l (2%)
c. geconcentreerde $H_2SO_4$
d. 4 n NaOH (160 g/l)
e. 1 n NaOH (40 g/l)

Methode:

1. Pipetteer x ml van de te meten oplossing in een korte, wijde reageerbuis.
2. Voeg toe: 5 dr. 2% NaCl oplossing
   1 ml Na-salicylaat oplossing
   1 dr. 1 n NaOH
3. Damp de buis droog op een waterbad, en laat afkoelen.
4. Voeg toe: 0,5 ml geconc. $H_2SO_4$, zó dat de wand en bodem goed bevochtigd worden.

5. Voeg toe na 10 minuten: 4,5 ml aq.dem.
   5,0 ml 4 n NaOH
6. Meng goed en laat afkoelen.

   De uit salicylaat en nitraat gevormde pikraat is in in basisch milieu geel gekleurd.



$$C_6H_4.OH.COOH + 3HNO_3 \rightarrow C_6H_2.3NO_2.OH + CO_2\uparrow + 3H_2O$$

   salicylaat pikraat
7. Meet de extinctie van de gevormde kleur in een Vitatron bij 422 nm .

## 2.6. Opnameproeven.

De opnameproeven werden gedaan in vaatjes met een volume van 100 ml . Het medium werd geëereerd. De planten werden vastgezet in de gleuven in de deksels met vaseline-bijenwasmengsel. Bij proef B en C werden de vaatjes afgeplakt met zwart plastic.
Voor de proef werd het voedingsmedium vervangen door aq. dem.
Na 2½ dag werd de eigenlijke opnameproef begonnen.
De planten werden 2 minuten in het proefmedium gespoeld. Het medium werd daarna afgetapt en na 1 minuut uitdruipen werd er 100 ml proefmedium in het vaatje gedaan. Aan het eind van de proef werd het medium weer met één minuut uitdruipen afgetapt. Het opgevangen medium werd in een maatkolf aangevuld tot 150 ml . Hierna werden de planten geoogst.

## 2.7. Nitraatreductase activiteitsbepaling. (vgl. Jaworski,1971)

Reagentia:

a. 100 ml incubatiemedium bevat:
   15 ml 10% propanol-1 in water.
   20 ml 0,1 mol. $KNO_3$
   10 ml 0,1 mol. fosfaatbuffer, pH 7,5
   55 ml aq.dem.
b. 0,05% chloramphenicol in water (0,5 g/l).

1. Doe 50 mg of meer plantenmateriaal in een reageerbuis.
2. Voeg toe: 3 ml incubatiemedium per 50 mg plantenmateriaal
   2 dr. chloramphenicol
3. Incubeer in het donker bij 27° C in een waterschudbad.
4. Bepaal de gevormde hoeveelheid nitriet door na $t_1$=40 min. en na $t_2$=60 min. 1 ml uit te pipetteren.

| tijd(uur) | $t_0$=0 | $t_1$ | $t_2$ |
|---|---|---|---|
| volume(ml) | $v_0$ | $v_1 = v_0 - 1$ | $v_2 = v_0 - 2$ |
| extinctie | | $E_1$ | $E_2$ |

waarom na $t_1$=40 en $t_2$=60?

Berekening van de nitraatreductase activiteit:

$$N.R.A. = c.\frac{v_2(E_2-E_1)}{g\ (t_2-t_1)}$$

waarin g = gewicht plantemateriaal in g
c = omrekeningsfactor (zie ijklijn, 5.1.)
v = volume medium in de buis in ml
E = gemeten extinctie
t = tijd in uur

N.R.A. wordt uitgedrukt in $10^{-3}$ mgion $NO_2^-$/g/uur.

Wordt de bepaling in n-voud gedaan, met verschillende hoeveelheden plantemateriaal, dan wordt de gemiddelde nitraatreductase activiteit als volgt berekend:

$$N.R.A. = c. \sum_{i=1}^{n} \frac{v_{2i}(E_2-E_1)_i}{(t_2-t_1)_i} \Big/ \sum_{i=1}^{n} g_i$$

Voor het aanpassen van deze procedure, zie 3.3.1.

2.8. Bepaling N-onoplosbaar.

Scheiding:

a. weeg het plantemateiaal af (2.1)
b. maak het fijn in vloeibare stikstof.
c. schud het materiaal 4 uur in HCl (5 ml 3 % HCl per 100 mg versgewicht) in een erlenmeyer van 25 ml.
d. filtreer af in een Buchner trechter en spoel na.
e. het residu op het filtreepapiertje wordt gebruikt voor de bepaling van N-onoplosbaar. Het zijn vooral de eiwitten, die in deze fractie zijn neergeslagen door de HCl oplossing.

Het filtraat wordt opgevangen in een 50 ml maatkolf en met a.d. aangevuld tot de ijkstreep. Deze fractie wordt gebruikt voor de bepaling van N-oplosbaar en van het ammoniumgehalte (zie 2.9. en 2.10) en bevat naast nitraat en ammonium voornamelijk aminozuren en amiden. Eventueel aanwezige nitriet kan ook in deze fractie worden bepaald (zie 2.4.).

Destructie.

1. Doe het residu met het filtreerpapiertje in een Kjeldahlkolf.
2. Voeg toe: 1 spatelpuntje katalysatormengsel
   3 ml geconcentreerde $H_2SO_4$
   Het katalysatormengsel bestaat uit: 1 deel $CuSO_4$
   3 dln. $K_2SO_4$
3. Eerste half uur voorzichtig verhitten, daarna zolang destrueren tot de vloeistof helder is plus een extra half uur.
   De organische N is nu omgezet tot $NH_4.HSO_4$.
4. Verdun het destructiemengsel met 10 ml aq. dem.

Destillatie.

1. Giet de vloeistof in een dubbelwandige destillatiekolf en spoel de Kjeldahlkolf goed na met aq. dem.
2. Voeg 20 ml 7,5 n NaOH toe.
3. De gevormde ammoniak wordt door stoomdestillatie overgedestilleerd en opgevangen in een 25 ml erlenmeyer met 10 ml aq. dem en 10 ml 1/70 n HCl.

4. 5 min. na het overdestilleren van de eerste druppel wordt de erlenmeyer weggehaald en gespoeld met aq.dem.
5. Het destillaat wordt in een maatkolf aangevuld tot 50 ml
6. De hoeveelheid stikstof wordt als ammonium bepaald volgens Neszler (2.3.)

Er lopen blanco's mee met en zonder filtreerpapiertje.

2.9. Bepaling N-oplosbaar

Destructie

10 ml van het onder 2.8.d. verkregen filtraat wordt in een kjeldahlkolf gedaan en gedestrueerd en gedestilleerd als onder 2.8.

Met deze "mikro-Kjeldahl" methode verdwijnen nitraat en nitriet bij de destructie als nitreuze dampen
Bij deze bepaling is verder wel de ammoniumfractie inbegrepen.

2.10. Ammoniumbepaling in plantemateriaal.

1. Voeg aan 10 ml filtraat (2.8.) met 3 dr. methylrood zoveel 1 n en 0,1 n NaOH toe tot kleuromslag.
2. Vul aan tot 20 ml met aq. dem.
3. Doe het mengsel in een dubbelwandige destillatiekolf
4. Voeg 5 ml 0,1 n NaOH toe.

Ga verder als onder 2.8., destillatie, punt 3.

Bij deze methode wordt alle ammonium overgedstilleerd, zonder dat de amiden als asparagine en glutamine worden gesplitst in aspartaat, resp. glutamaat en ammonium. (Methode naar I. Stulen, pers. med., zie 5.1.A)

2.11. Gewichtsbepalingen.

Versgewicht.

Na de oogst van de planten werd de nog aanklevende vaseline met bijenwas voorzichtich verwijderd.
Na 2 uur in het water drijven waren de planten turgescent en werden spruit en wortel apart gewogen nadat ze voorzichtig waren gedroogd (Brouwer & Kuiper, 1972, p. 36).

Drooggewicht.

1. Zet de weegflesjes 1 uur in een droogstoof bij 105 'C
2. Na afkoelen in een exsiccator de flesjes wegen.
3. Doe het plantemateriaal in het weegflesje en weeg.
4. Zet de weegflesjes met inhoud 5 uur bij 105 ' C.
5. Laat de flesjes afkoelen en weeg daarna.

2.12. Statistische methoden.

<u>Kleinste kwadraten aanpassing voor een willekeurige functie.</u>

a. Doel van de "Algol-procedure KLKWWF" is het berekenen van schattingen $c_j$ (j 1, ... , m) voor de parameters $c_j$ in een functie $F(x_i, c_j)$, zodanig dat de serie waarnemingen $x_i$, $y_i$, waarbij aan elke waarneming een gewicht $w_i$ is toegekend (i=1, ... , n), door de functie

F in de zin van de kleinste kwadraten wordt benaderd.

b. Aanname hierbij is, dat de punten op grond van theoretische overwegingen op de door F voorgestelde kromme behoren te liggen, doch dat zij door toevallige meetfouten, die in de y-richting veel groter worden verondersteld dan in de x-richting, niet exact op deze kromme liggen.

c. Voorwaarde voor de kleinste kwadraten oplossing is dan:

$$Q=\sum_{i\ 1}^{n} w_i.(F(x_i,\ c_j) - y_i)^2 \text{ is minimaal}$$

Als de functie F niet lineair is in de te schatten parameters $c_j$, kan het gestelde probleem worden opgelost met

een iterarief proces met behulp van de CYBER 74 van het Rekencentrum der Rijksuniversiteit te Groningen (Algolprocedure KLKWWF, 1968).

Regressie- en correlatieberekening.

Voor het berekenen van regressielijnen (Campbell, 1967) en van (productmoment) correlatiecoefficienten werd een programma gemaakt voor de Hewlett Packard calculator 9820 A. Een ander programma werd gemaakt voor de berekening van partiele en multipele correlatie (Handleiding Planteneocologie, 1968).

Variantieanalyse.

Voor het vergelijken van een aantal monsters uit een proef werd de variantie analyse gebruikt:"single factor analysis of variance" (Campbell, 1967). Ook voor deze berekeningen is een programma gemaakt.

Een 'LIST' van de gebruikte programma's is te vinden in de appendix.(5.5.)

# 3. Resultaten.

## 3.1. Voorbereidende kweekproeven.

Om geschikte ratelaars te krijgen voor de proeven is met verschillende kweekmethoden geprobeerd goede groei te krijgen.

1. Op drijvende kurken werden kiempjes vastgezet met bijenwas-vaseline mengsel. Door het optreden van schimmel is deze methode niet geschikt.
2. Ratelaars werden gekweekt op perspex vaatjes met plastic doppen, waarbij de planten in de gleuven van de deksel werden vastgezet. De vaatjes werden geäereerd. Bij deze methode trad een grote uitval op, daar de kiemplanten erg teer waren.
3. In een bekerglas, afgeplakt met zwart plastic folie, werden de plantjes gekweekt op in voedingsoplossing drijvende alcatheen. De wortelgroei was vaak slecht, waarschijnlijk veroorzaakt doordat niet geäereerd kon worden.
4. De beste methode bleek te zijn de planten na één week groei op alcatheen over te planten op de perspex vaatjes. De uitval was ca. 20%. Er traden soms onverklaarbare groeiverschillen op tussen de verschillende vaatjes. Het was noodzakelijk de planten te hergroeperen voordat er proeven mee werden gedaan om er voor te zorgen dat de gemiddelde grootte, de spreiding in de grootte en het aantal planten per vaatje ongeveer gelijk was.

Er is op vaatjes gekweekt in de klimaatkamer, in de kas van plantenfysiologie en op de werkkamer (kamer 44,vl.C).

In de kas en de klimaatkamer werd na 2 weken goede groei verkregen. In de kas kregen de plantjes echter luis, die een week later weer verdwenen was door een chemische bespuiting.

Op de werkkamer waren de planten sterk geëtioleerd en groeiden naar het licht toe.

In de kas, de klimaatkamer en de werkkamer werden de planten gekweekt op leidingwater en op 0,5 n Hoagland, pH 6,0 voedingsoplossing. Na 1 week had het verschil in behandeling al duidelijk effect op de groei in de kas en de klimaatkamer, maar pas na 2 weken was het verschil zwak waarneembaar aanwezig in de werkkamer.

| kas | aantal planten | gemid. gewicht (mg) | % bladgewicht |
|---|---|---|---|
| leidingwater | 13 | 29,6 | 39,9 |
| 0,5 n Hoagland | 11 | 55,4 | 40,1 |
| leeftijd van de planten: 23 dagen | | | |

Verdere kweek van proefplanten vond plaats in de klimaatkamer, eerst op alcatheen en een week verder op vaatjes op ½n Hoagland.

Kweek op 1 n Hoagland was geen succes, daar de zaadhuid stevig om de cotylen bleef zitten. In vele gevallen stierven de planten dan af. Mogelijk is dit verschijnsel te verklaren als een osmotisch effect.

3.2. Opnameproeven.

3.2.1.

| voedings-oplossing | $10^{-3}$ mgion $NO_3^-$/vat | $10^{-3}$ mgion $NO_3^-$ opname |
|---|---|---|
| 1 | 11,57 | 1,104 |
| 2 | 49,65 | -,426 |
| 3 | 137,80 | -,766 |
| 4 | 335,92 | 1,786 |

Bij de nitraatbepalingen traden moeilijkheden op door dat het gebruikte NaOH niet zuiver bleek te zijn. Waarschijnlijk onder invloed van de $CO_2$ uit de lucht was een gedeelte omgezet in soda.Na toevoegen van extra loog kon alsnog de concentratie bepaald worden. Verder is er algengroei opgetreden, vooral in vat 1 en 3. Gepoogd werd deze algengroei te verhinderen door de opnameperiode te verkorten en door de vaatjes af te plakken met zwart plasticfolie, waardoor er te weinig licht zou zijn voor algengroei.

3.2.2.

| voedings-oplossing | $10^{-3}$ mgion $NO_3^-$/vat | $10^{-3}$ mgion $NO_3^-$ opn. | S/W | % d/v | $(\frac{d}{v})s:(\frac{d}{v})w$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 0,4n H. | 350,24 | -82,54 * | 2,30 | 15,8 | 1,12 |
| a | 174,23 | -23,39 | 2,52 | 19,8 | 1,65 |
| b | 118,94 | -1 ,99 | 3,22 | 16,7 | 2,52 |
| c | 79,21 | -13,66 * | 2,45 | 14,9 | 1,10 |
| d | 19,51 | - ,49 | 2,14 | 15,9 | 1,09 |

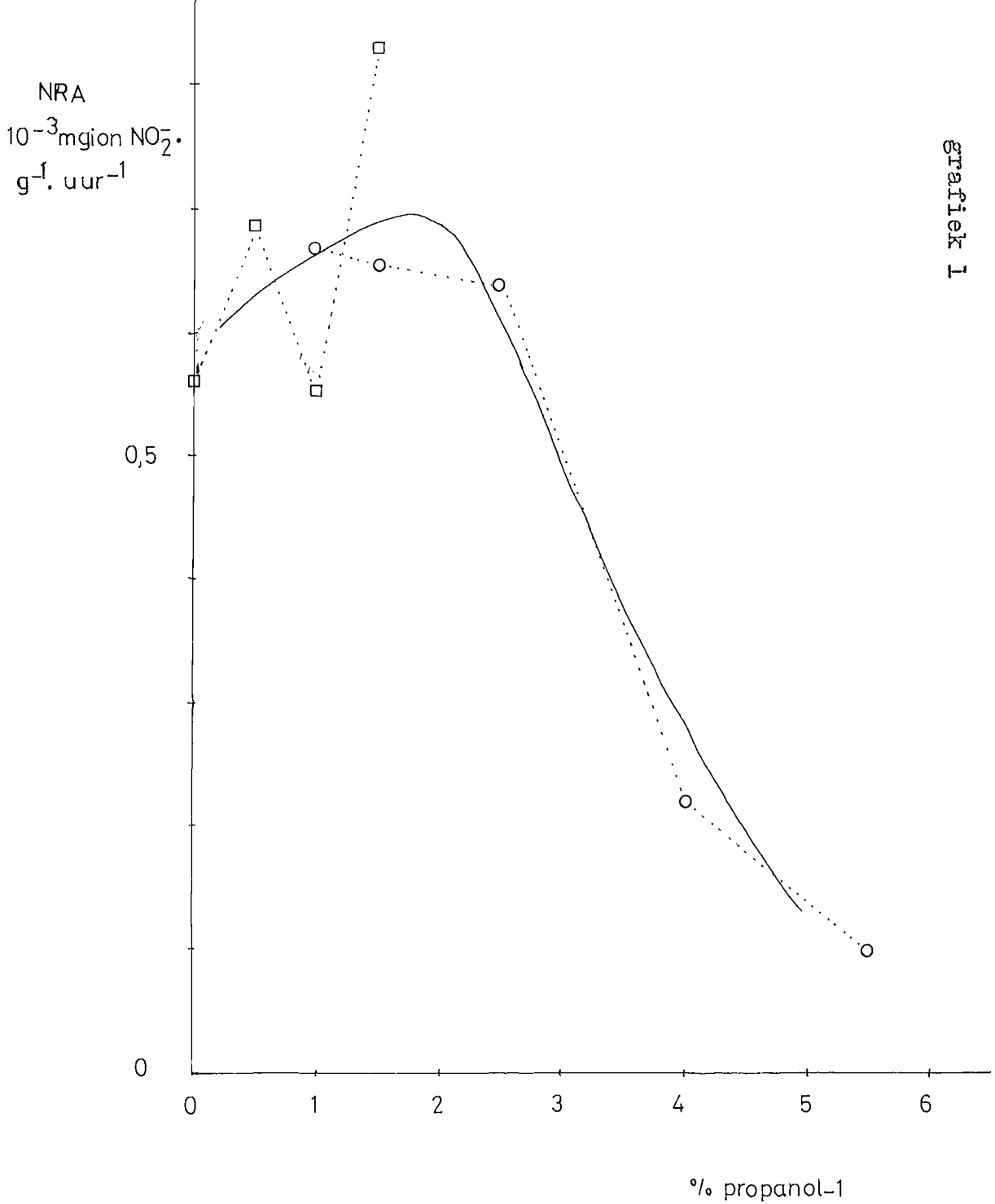
*: significant van 0 verschillend, P=95%
kolom s/w: s = drooggewicht spruit
w = drooggewicht wortel
d: drooggewicht
v: versgewicht
s: spruit
w: wortel

3.2.3.

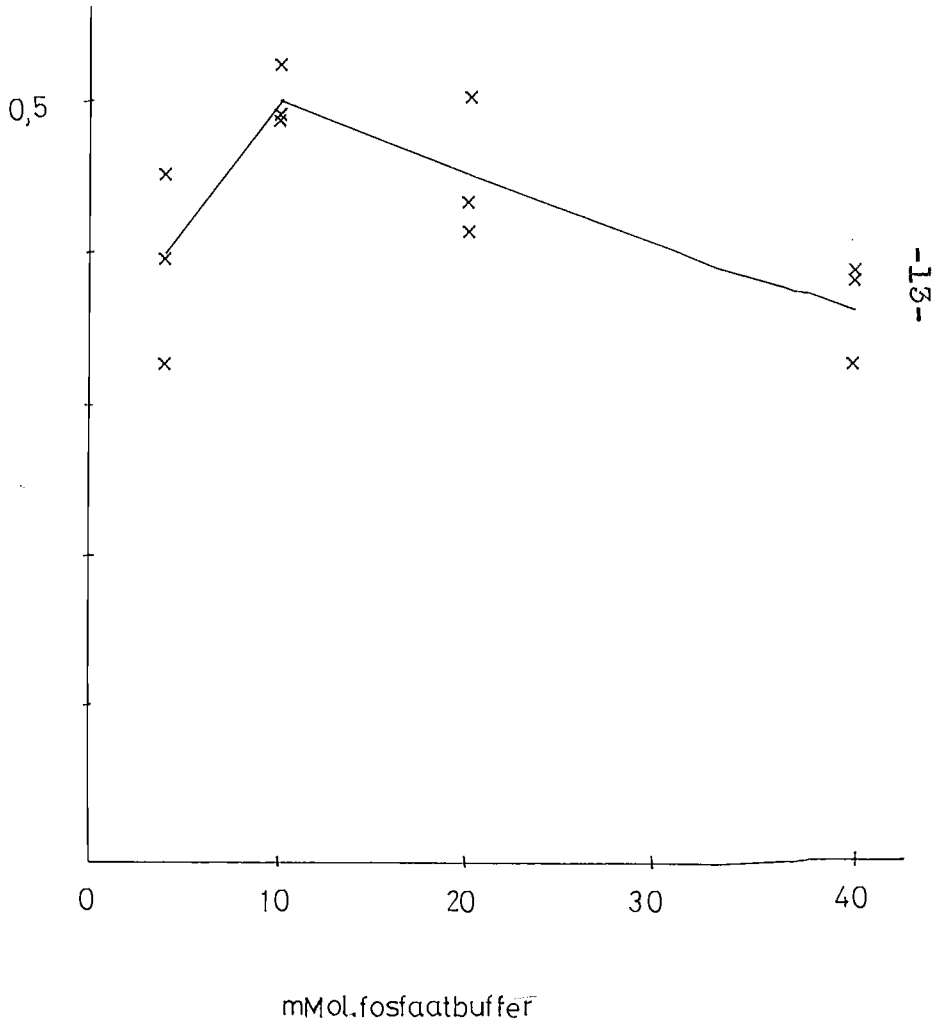
| voedings-oplossing | $10^{-3}$ mgion $NO_3^-$/vat | $10^{-3}$ mgion $NO_3^-$ opn. | s/w | N.R.A. $10^{-3}$ mgion/g/uur |
|---|---|---|---|---|
| e | 6,82 | - ,861** | 1,43 | ,230 (s)<br>,038 (w) |
| c | 70,88 | 2,98 | 1,61 | ,363 (s)<br>,014 (w) |
| a | 187,13 | -49,2 *** | 1,65 | ,241 (s)<br>,002 (w) |

Opname significant van 0 verschillend: ** : P = 99%
*** : P = 99,9%

Bij opnameproef 1, 2 en 3 worden negatieve opnames gevonden. Waarschijnlijk zijn deze verder onverklaarbare resultaten te verklaren uit het feit dat de wortels van de proefplanten er slecht uitzagen en organisch materiaal afgaven in het proefmedium. Dit materiaal zou gestoord hebben bij de kleurreactie op nitraat, waardoor na de proef te hoge extincties gevonden zouden zijn. De opname wordt dan schijnbaar negetief (is: afgifte). Bij proef 2 bleken een aantal planten, vooral in vat a en b, uit te drogen. Eerste verschijnsel was, dat de topblaadjes naar elkaar vouwden en omgerolde randen kregen. Als de spruit al grotendeels uitgedroogd leek, dan zag de wortel er nog niet anders uit. Dit bleek uit het quotient van d/v verhoudingen voor spruit en wortel, die dan toenam van ca. 1,1 tot 2,5.



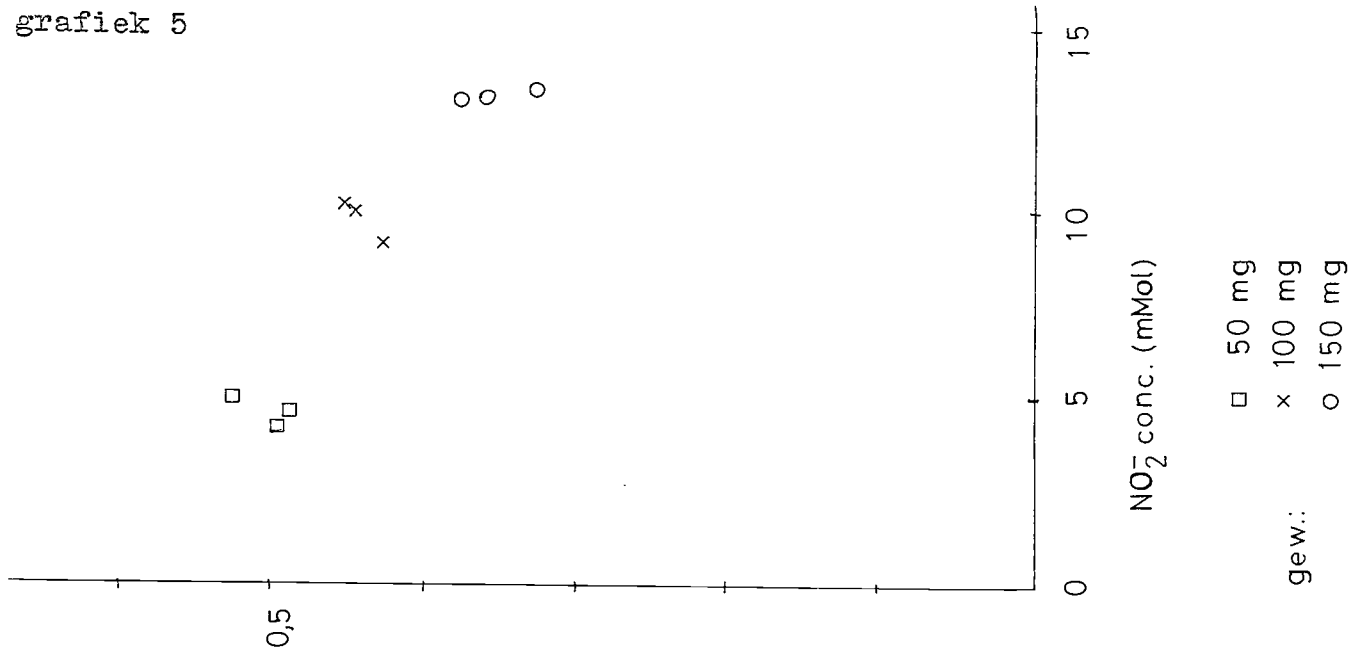

grafiek 1



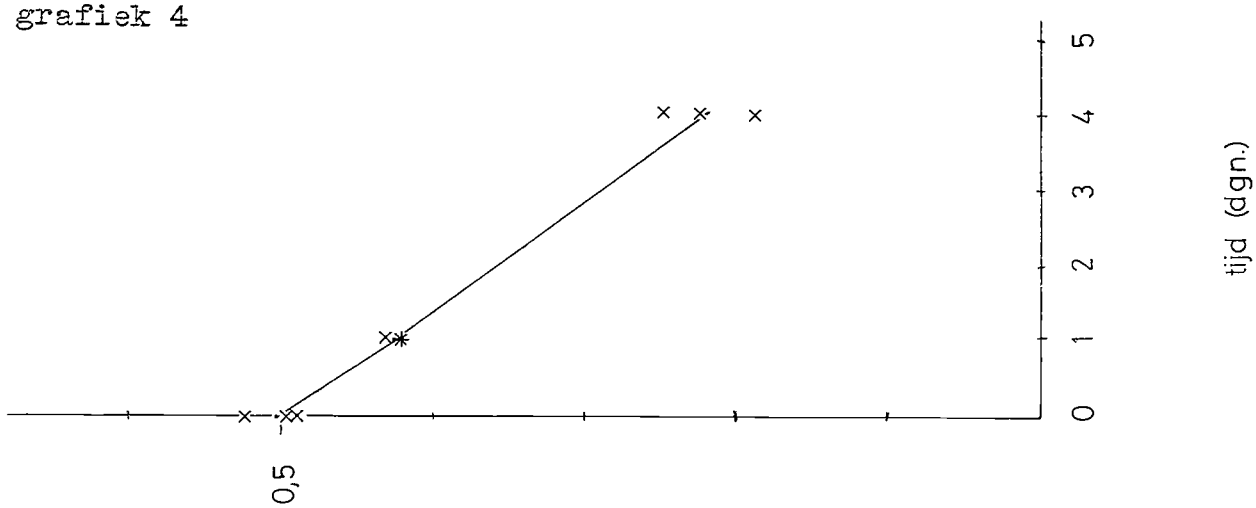

grafiek 2

Onder- en bijschriften!

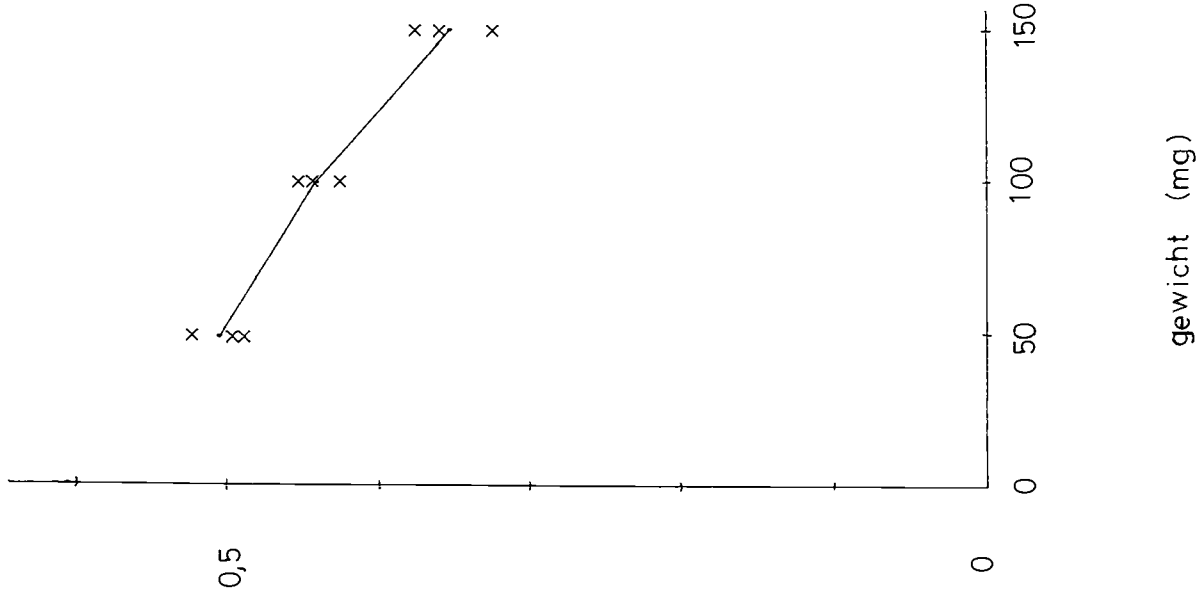
grafiek 5




grafiek 4




grafiek 3




NRA

## 3.3. Nitraatreductase activiteit (N.R.A.).

### 3.3.1. Aanpassen N.R.A. bepaling volgens Jaworski (1971).

Jaworski (1971) geeft als samenstelling van het incubatiemedium voor zijn nitraatreductase activiteit (N.R.A.) bepaling: 5% propanol 1; 0,1 Mol. fosfaatbuffer pH 7,5; 0,02 Mol. $KNO_3$. Per 0,2 g. plantenmateriaal wordt 5 ml incubatiemedium genomen.

Om de methode aan te passen aan de grote ratelaar is bladmateriaal van ratelaars uit de "natte weide" van Hotus "de Wolf" gebruikt.

De N.R.A. is bepaald als functie van de volgende factoren:
a) het propanol percentage
b) de buffer moraliteit
c) bladgewicht per 3 ml medium
d) bewaartijd bij 4 C in het donker

Omdat in een voorbereidende proef bleek, dat de nitriet productie in een periode van 20 minuten tot 80 minuten na het begin van de incubatie lineair verliep, is de N.R.A. in deze periode bepaald, gewoonlijk van 30 tot 60 minuten.

Bij de bepaling van de optimale propanolconcentratie is eerst de N.R.A. bepaald in een gebied van 1% tot 5,5% propanol (grafiek 1,cirkeltjes). Omdat geen duidelijk optimum werd gevonden, is de bepaling nogmaals gedaan in een gebied van 0% tot 1½% (vierkantjes).(Elk cirkeltje of vierkantje is het gemiddlde van een triplobepaling). De getrokken lijn geeft bij benadering het verband aan tussen de N.R.A. en het propanol percentage.

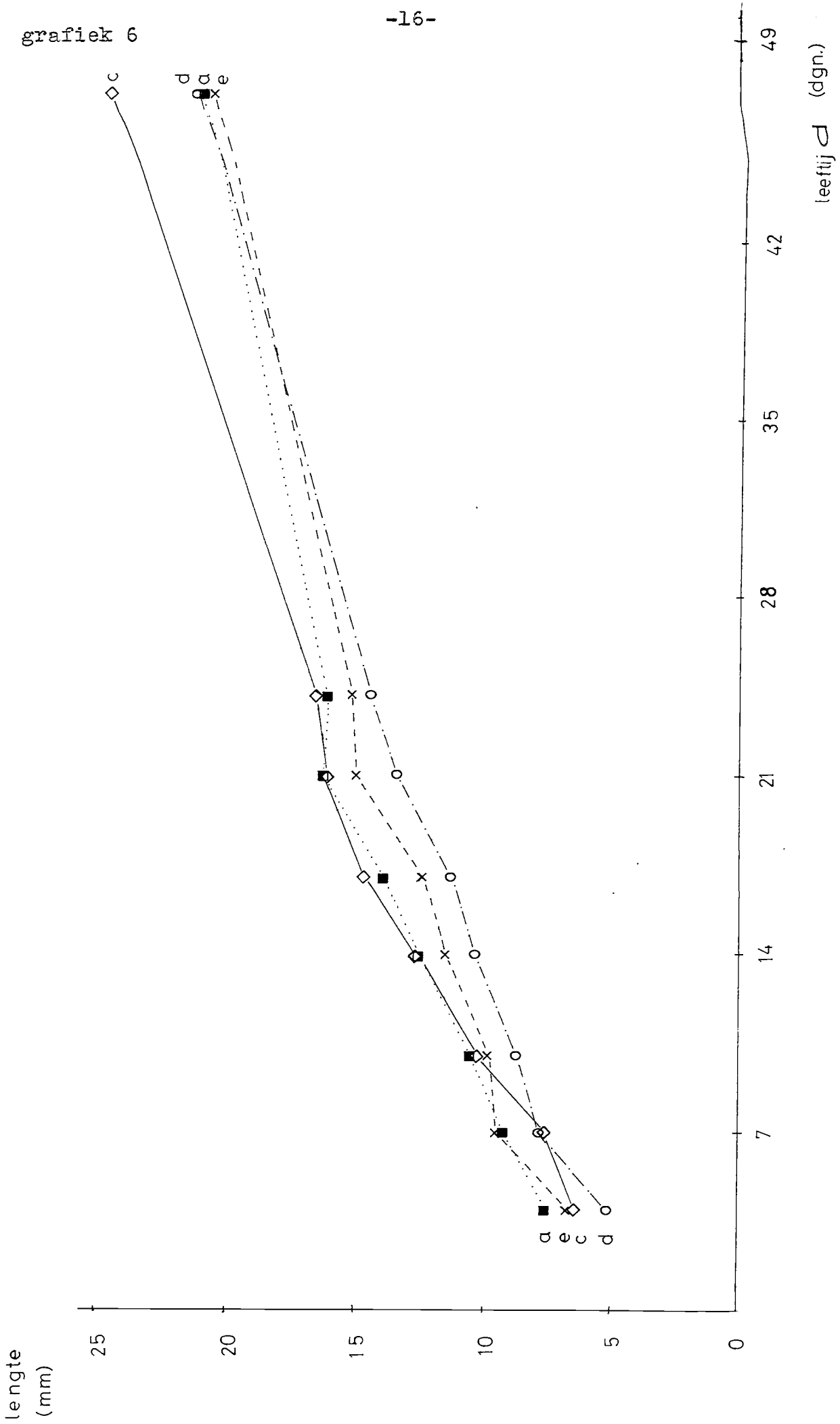
In grafiek 2 zijn de N.R.A. waarden bij verschillende bufferconcentraties weergegeven. De getrokken lijn verbindt de gemiddelde N.R.A. waarden voor de verschillende bufferconcentraties.

Bij de voorgaande bepalingen is steeds 0,2 g bladmateriaal gebruikt op de 5 ml incubatie medium. Daar ongehechte ratelaars klein zijn, is het zaak met een minimum aan materiaal een goede N.R.A. bepaling te doen. De N.R.A. is bepaald bij 0,05 g; 0,10 g en 0,15 g in 3 ml incubatiemedium. De gegevens zijn weergegeven in grafiek 3.

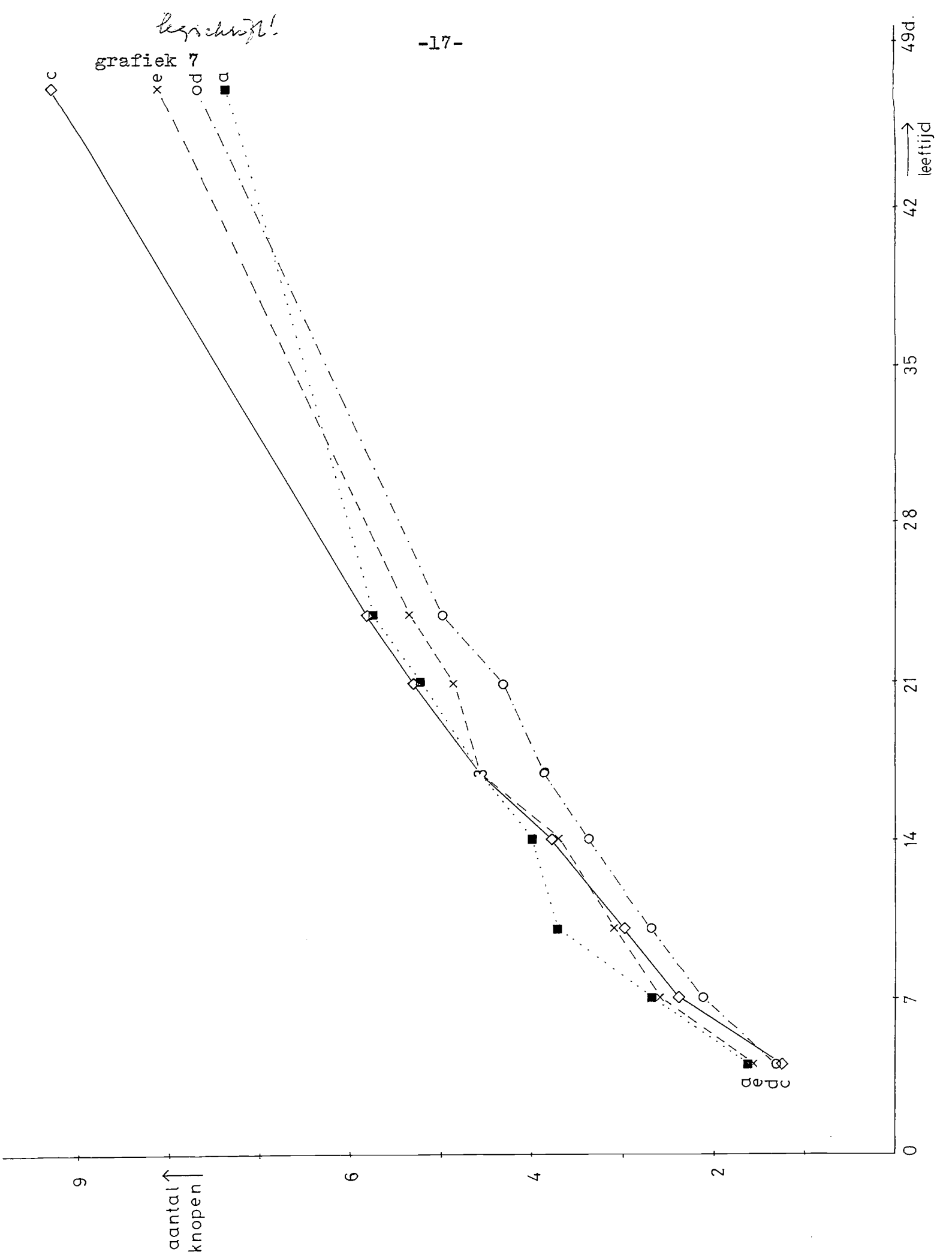
In grafiek 4 is de invloed van het bewaren in een koelkist bij 4 C in het donker op de N.R.A. weergegeven. De afname is ca. 14% per dag.

In grafiek 5 zijn de resultaten van de voorlaatste proef nogmaals uitgezet. De N.R.A. is nu niet tegen het bladgewicht per 3 ml medium uitgezet, maar tegen de gemiddlde $NO_3^-$concentratie tijdens de N.R.A. bepaling. Uit grafiek 3 en 5 samen blijkt, dat afname in N.R.A. niet uit een toename van de nitrietconcentratie verklaard moet worden, maar meer uit een toename van het bladmateriaal per 3 ml incubatiemedium.
De partiele correlatiecoefficient voor N.R.A. en gewicht bij constante nitrietconcentratie is pr=-0,705 en die voor N.R.A. en nitrietconcentratie bij constant gewicht is pr=0,421. De spreiding in N.R.A. kan voor 94% uit beide andere factoren worden verklaard.(Zie verder discussie)

grafiek 6


lengte (mm)
25
20
15
10
5
0
7
14
21
28
35
42
49
leeftij d (dgn.)
a
e
c
d
c
d
a
e

grafiek 7



De samenstelling voor het incubatiemedium voor de ratelaar wordt nu als volgt:

1,5% propanol
0,01 mol fosfaatbuffer (pH 7,5; zie Beevers&Hageman, 1969)
0,02 mol $KNO_3$

Er wordt 50 mg bladmateriaal gebruikt op 3 ml medium.

3.3.2. Onder 3.2.3. is voor de spruit en de wortel de N.R.A. bepaald. Voor de wortel is de N.R.A. laag en de verschillen tussen de series zijn te verklaren uit de spreiding binnen de series. Ook voor de spruit geldt dat de N.R.A.'s van de sries niet significant van elkaar verschillen. De N.R.A. van de spruit ligt echter duidelijk hoger dan die van de wortel. ?

3.3.3.

| voedings-oplossing | mg. vers | s/w | $10^{-3}$ mgion/g/uur N.R.A. | N.R.A. totaal |
|---|---|---|---|---|
| 0,4 n | 90,53 | 1,46 | ,666 (s)<br>,247 (w) | ,400 (s&w) |
| "$NH_4$" | 78,83 | 2,08 | ,504 (s)<br>,283 (w) | ,432 (s&w) |

w: wortel
s: spruit
s&w: hele plant

⊗ 3.3.4. In deze proef werden gehechte ratelaars (R+) en ongehechte (R–) vergeleken.

| | bladmateriaal gewicht (mg) | $10^{-3}$ N.R.A. mgion/g/uur |
|---|---|---|
| R + | 382 | 1,096 |
| R – | 147 | 1,207 |

Deze onder gelijke omstandigheden opgekweekte ratelaars hadden ook niet verschillende N.R.A.'s.

⊗ Op verschillende manieren is geprobeerd de groei van de ongehechte ratelaar te verbeteren, onder andere door aan de voedingsoplossing ammoniumsulfaat toe te voegen. Alhoewel de groei niet verbeterde, was de relatieve spruitgroei wel beter, verschillen tussen beide series in N.R.A. van de spruit en van de wortel waren niet significant. Bij deze proef is de activiteit in de wortel niet te verwaarlozen, maar toch kleiner dan in de spruit.

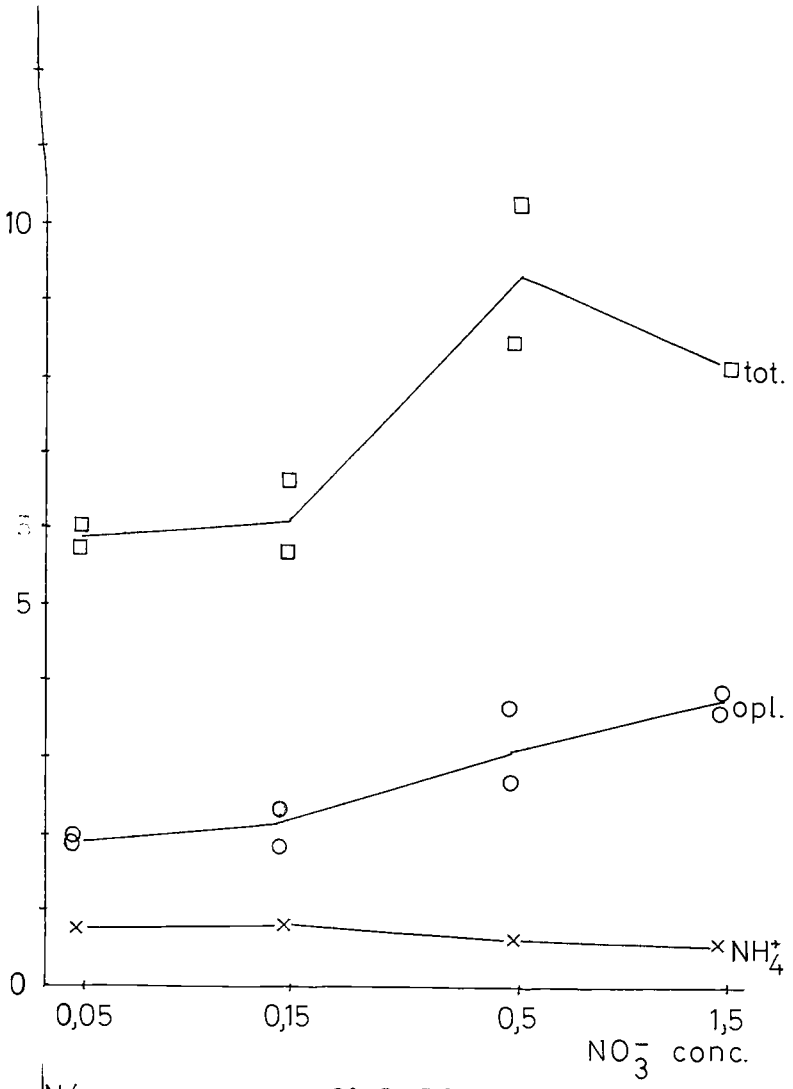
3.4. Groeiproeven.

3.4.1. Groeiproef op perlite.

| serie | mg vers/ plant | lengte mm | aantal knopen | s/w |
|---|---|---|---|---|
| e | 55,24 | 20,50 | 7,88 | 1,16 |
| d | 56,48 | 22,67 | 8,27 | 1,30 |
| c | 76,01 | 24,85 | 9,45 | 1,37 |
| a | 57,05 | 21,00 | 7,38 | 1,65 |

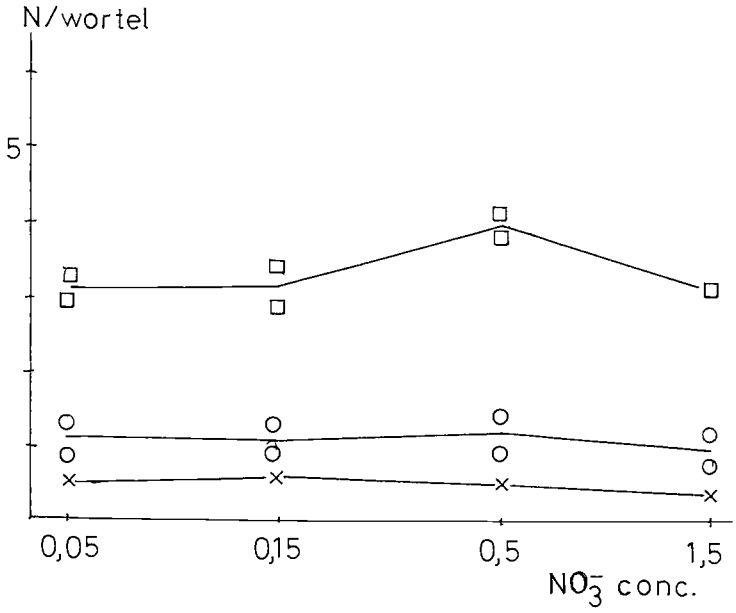
De op perlite gekweekte planten groeiden zeer langzaam, op het oog allen gelijk, alleen serie c viel er enigszins uit. Dit blijkt ook uit de bovenstaande tabel. Bij de oogst bleken veel planten misvormde wortels te hebben: de uiteinden waren donker gekleurd

N / spruit grafiek 8

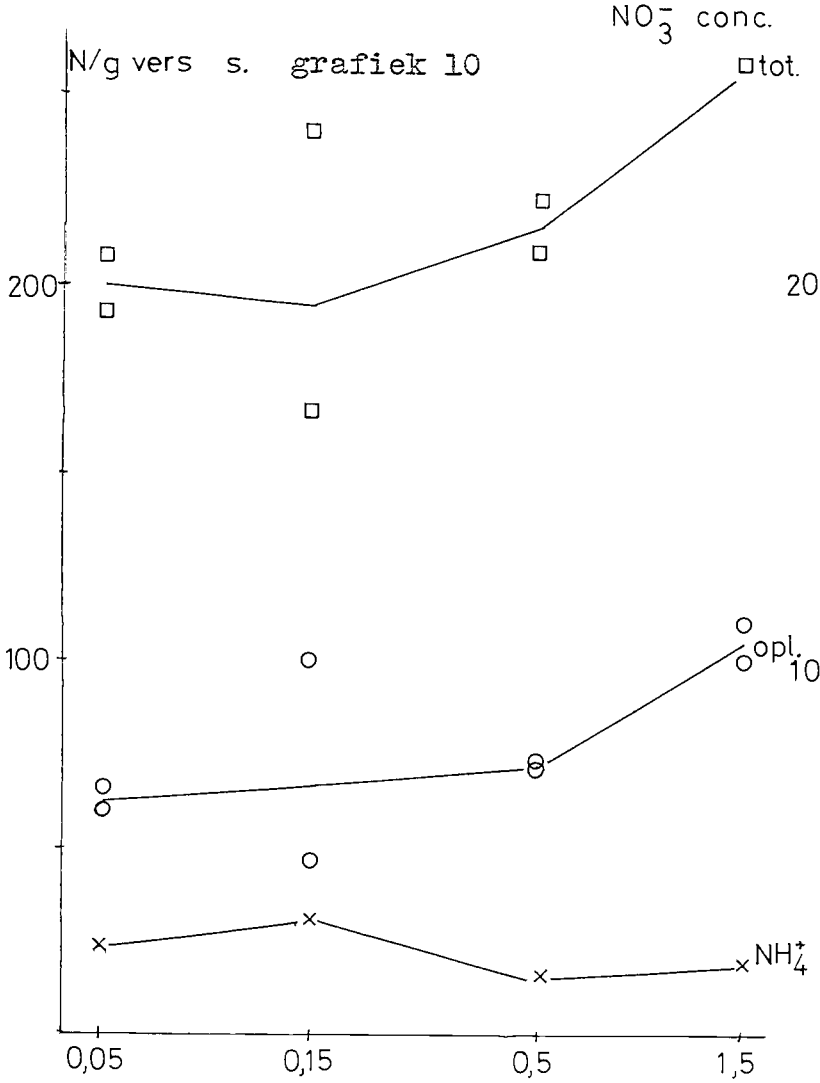



grafiek 9

N/wortel

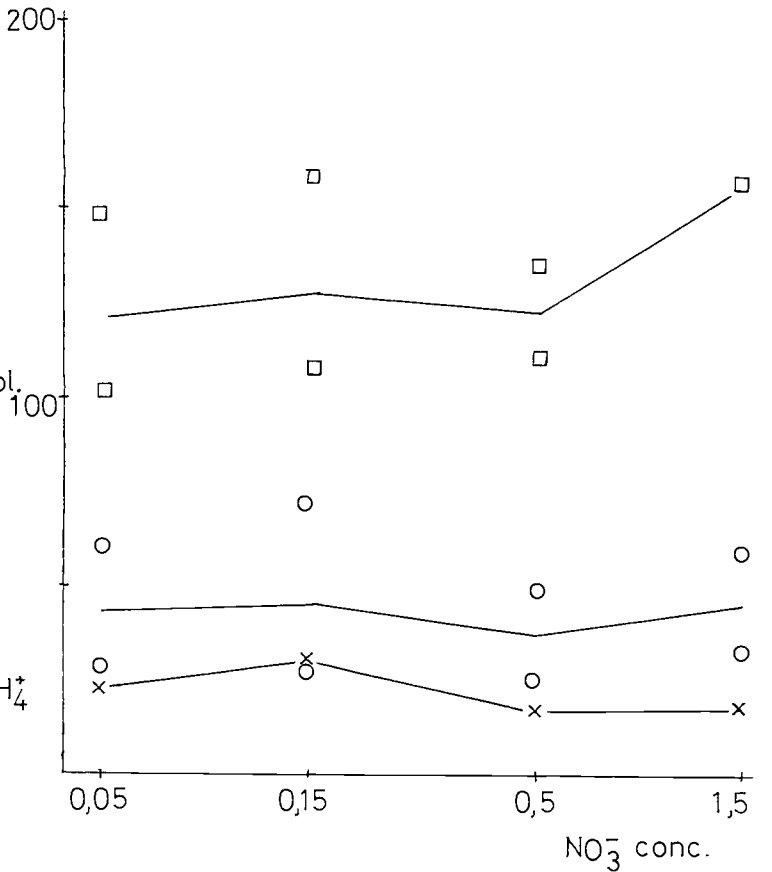



N/g vers s. grafiek 10




grafiek 11

N/g vers w.



en knobbelig. Bloemen of bloemknoppen waren nog niet gevormd.

De lengte en het aantal knopen is in de loop van de tijd bijgehouden (grafiek 6 en 7).
Groei (bij éénjarige planten) voldoet in het algemeen aan de zeer algemene formule:

$$W_t^{1-m} = A^{1-m}\left(1 - b.e^{-kt}\right)$$

(Richards, 1969)

waarin: $W_t$: gewicht, lengte, aantal knopen op tijdstip t
m: constante, die de vorm van de curve bepaalt
A: bovenasymptoot, theoretisch maximale $W_t$
b: constante, bepaald door de keuze van t=0
e: grondgetal van natuurlijke logaritme
k: constante
t: tijd

Met behulp van de kleinste kwadraten aanpassing voor een willekeurige functie is geprobeerd de parameters m, A, b, en k te schatten (Algol-procedure KLKWWF, 1968). Deze berekening bleek niet mogelijk, waarschijnlijk omdat de meetpunten te veel op een rechte lagen. Aangezien een rechte bepaald wordt door twee parameters, is het voorstelbaar, dat het uit deze punten berekenen van vier parameters niet mogelijk is.

Van de vier series zijn de gewichten niet significant verschillend. Dit geldt ook voor de lengte en het aantal knopen.

prod. mom.correlatie coefficient voor nitraatgift en:

| | gewicht | lengte | aantal kn. | s/w | |
|---|---|---|---|---|---|
| r | - ,009 | - ,049 | - ,202 | ,303 | |
| | n.s. | n.s. | n.s. | * | n=74 planten |

(n.s.: niet significant)

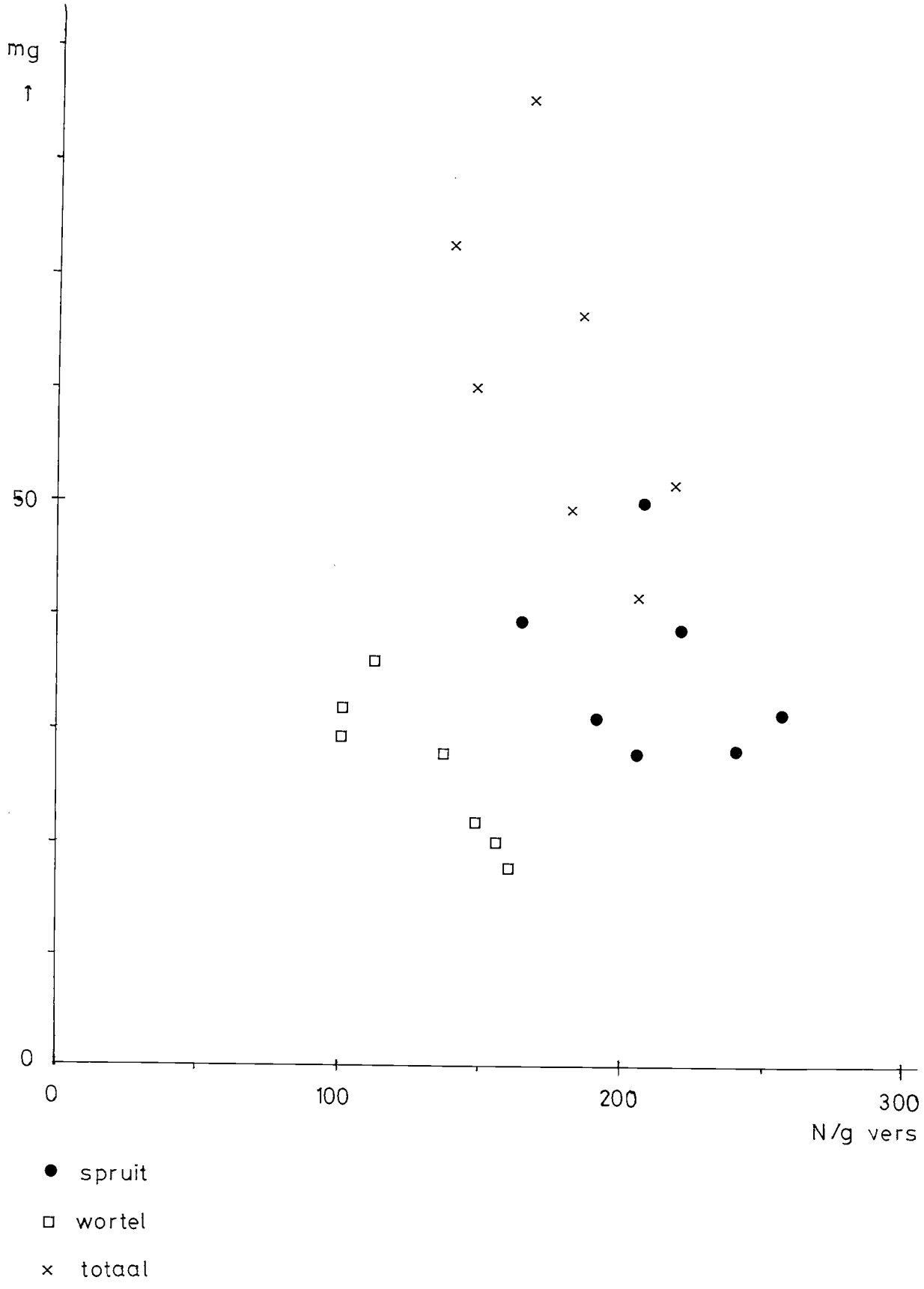
Alleen tussen de nitraatgift en de spruit-wortel verhouding bestaat een significante correlatie (P 95%).

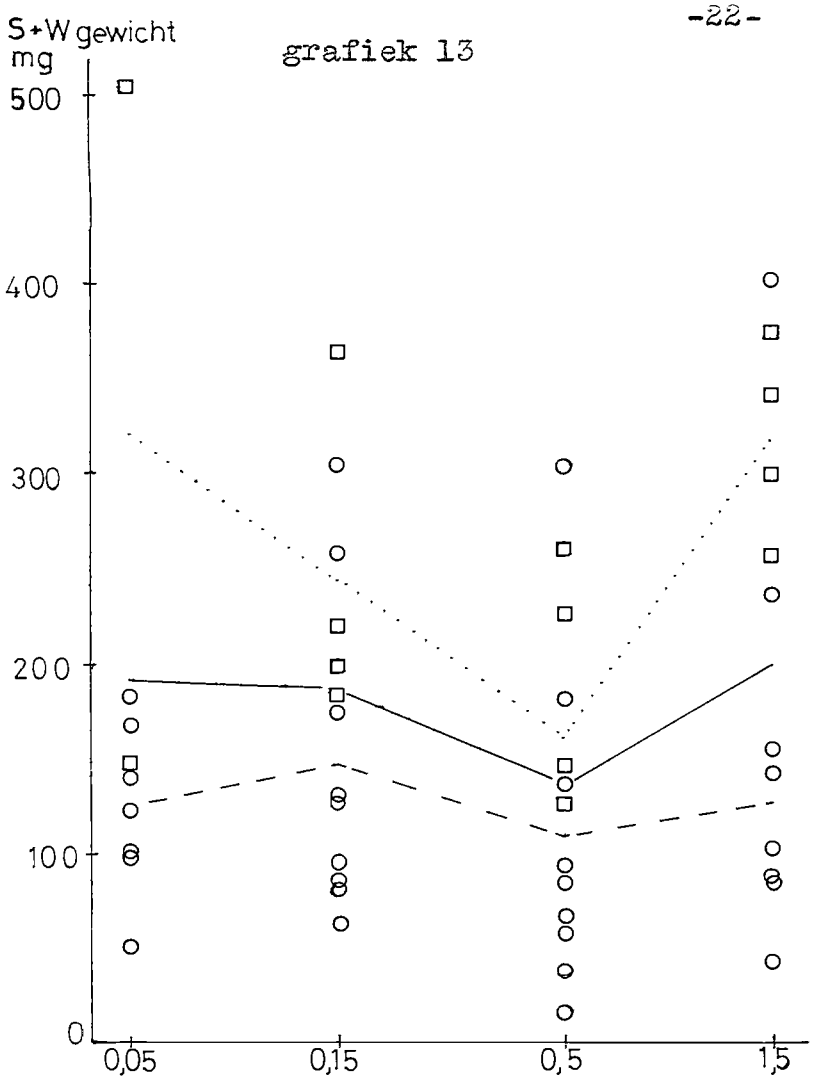
In de grafieken 8 t/m 11 is de hoeveelheid N uitgezet tegen de $NO_3^-$ concentratie van de gegeven voedingsoplossingen; in grafiek 8 en 9 de hoeveelheid N per plant voor de spruit resp. wortel en in grafiek 10 en 11 de hoeveelheid N per g versgewicht voor spruit resp. wortel. De hoeveelheid N is altijd uitgedrukt in $10^{-3}$ mgat N.

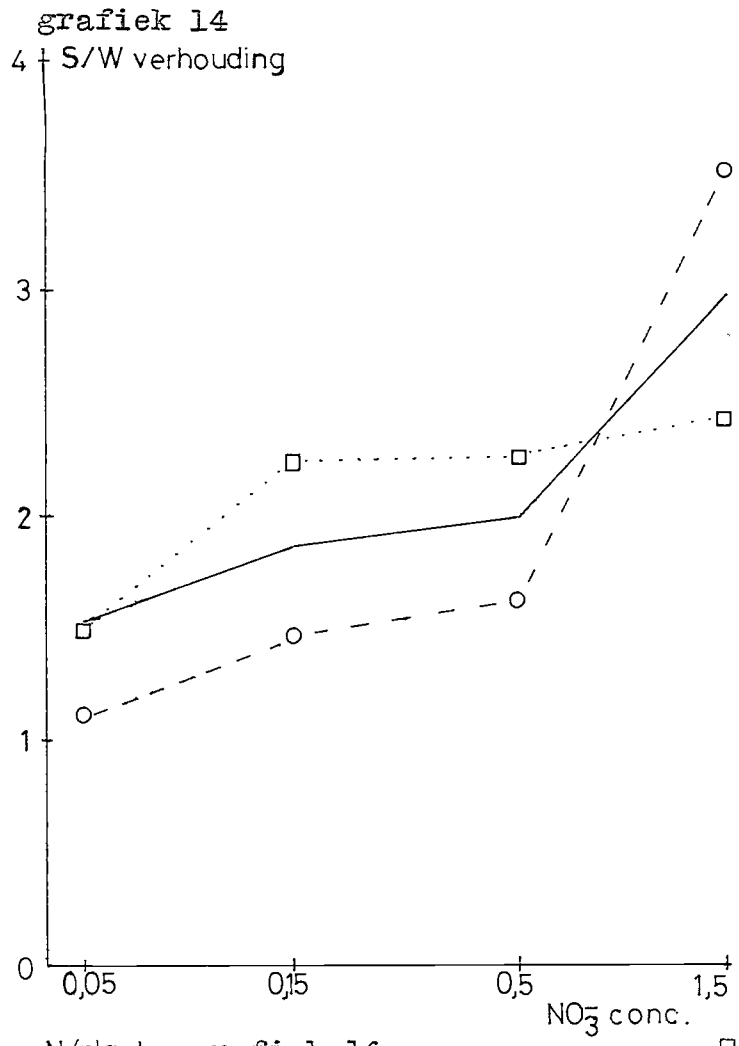
Uit de grafieken 8 en 10 blijkt, dat in de spruit de toename van de totale N fractie voornamelijk voor rekening komt van de N-oplosb. fractie. Het ammonium gehalte van de vier series is echter vrij constant. Er treedt dus een ophoping op van aminozuren en amiden, terwijl het eiwitgehalte gelijk blijft. In de wortels lijkt de nitraatconcentratie weinig invloed te hebben op de stikstofsamenstelling.

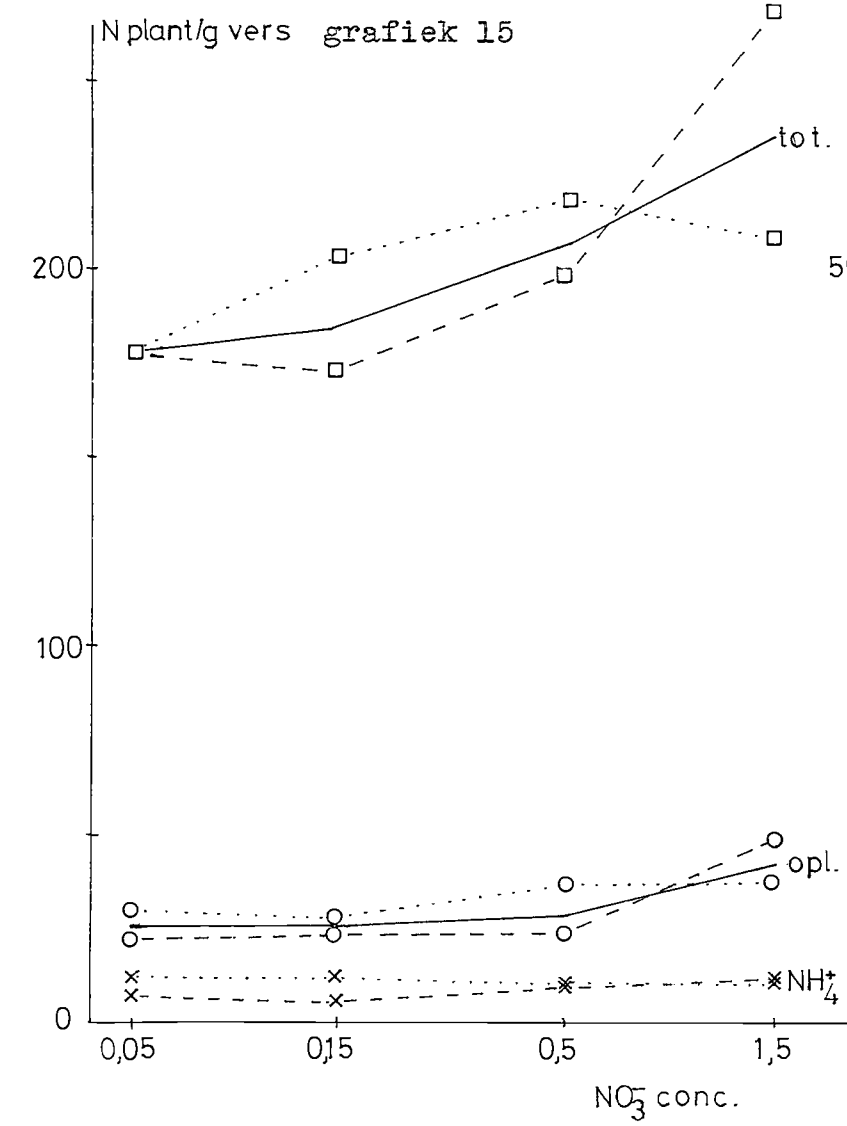
Uit de multipele correlatiecoefficienten blijkt, dat 58% van de variantie in de gemiddelde gewichten verklaard kan worden uit die in de $NO_3^-$-gift en stikstofgehaltes ($mr^2(Y,XZ)=0,582$). Als alleen naar de wortel gekeken wordt, dan is dit percentage zelfs 91%, maar voor de spruit is het 44%.

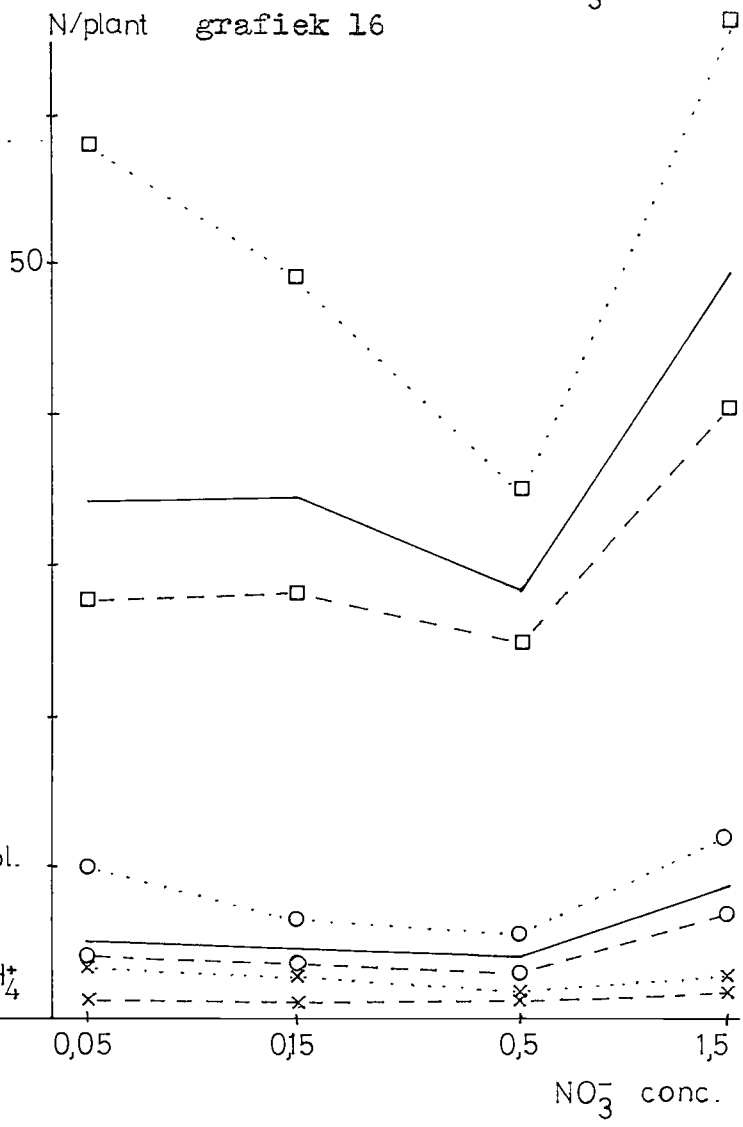
mg vers grafiek 12




S+W gewicht
mg
grafiek 13
500
400
300
200
100
0
0,05
0,15
0,5
1,5


grafiek 14
S/W verhouding
4
3
2
1
0
0,05
0,15
0,5
1,5
$NO_3^-$ conc.


N plant/g vers
grafiek 15
tot.
opl.
$NH_4^+$
200
100
0
0,05
0,15
0,5
1,5
$NO_3^-$ conc.


N/plant
grafiek 16
50
0,05
0,15
0,5
1,5
$NO_3^-$ conc.

Grafiek 10.

De correlatie tussen de nitraatgift en het totale stikstofgehalte bij constant gewicht is significant en positief.

Bij de wortel wordt een negatieve correlatie gevonden tussen het gwicht en het stikstofgehalte, ook de partiële correlatie bij constante nitraatgift (r=-,882; pr=-,949⊛). Dit geldt niet voor de spruit. De partiële correlatie tussen gewicht en N-tot/g vers bij constante nitraatgift voor de hele plant is ook significant negatief: pr=-,764.

Ter verdere illustratie voor het verband tussen het gewicht per plant en het stikstofgehalte, zie grafiek 12.
Er wordt een significante negatieve correlatie gevonden tussen gewicht en N-opl./g vers, maar geen met N-onopl./g vers. De spreiding in het gewicht kan voor 60% verklaard worden uit N-opl./$g_v$ en N-onopl/$g_v$.

staat dit in grafiek 12.

⊛De partiële correlatiecoefficient geeft de correlatie aan tussen twee variabelen als ~~een~~ derde constant is.

3.4.2. De groeiproef is herhaald, waarbij de planten gekweekt zijn op vaatjes. Bij de oogst bloeiden al een gedeelte van de goed groeiende planten. De verschillende N-fracties zijn voor de bloeiende en niet bloeiende planten apart bepaald.

| voedings-oplossing | gew. per plant mg | lengte mm | aantal knopen | s/w | bloemen en knoppen/ plant |
|---|---|---|---|---|---|
| e | 192,4 | 70,7 | 14,3 | 1,53 | 0,67 |
| d | 188,1 | 57,5 | 15,0 | 1,85 | 0,69 |
| c | 137,0 | 68,6 | 14,2 | 1,98 | 0,38 |
| a | 199,9 | 68,0 | 15,5 | 2,97 | 1,50 |

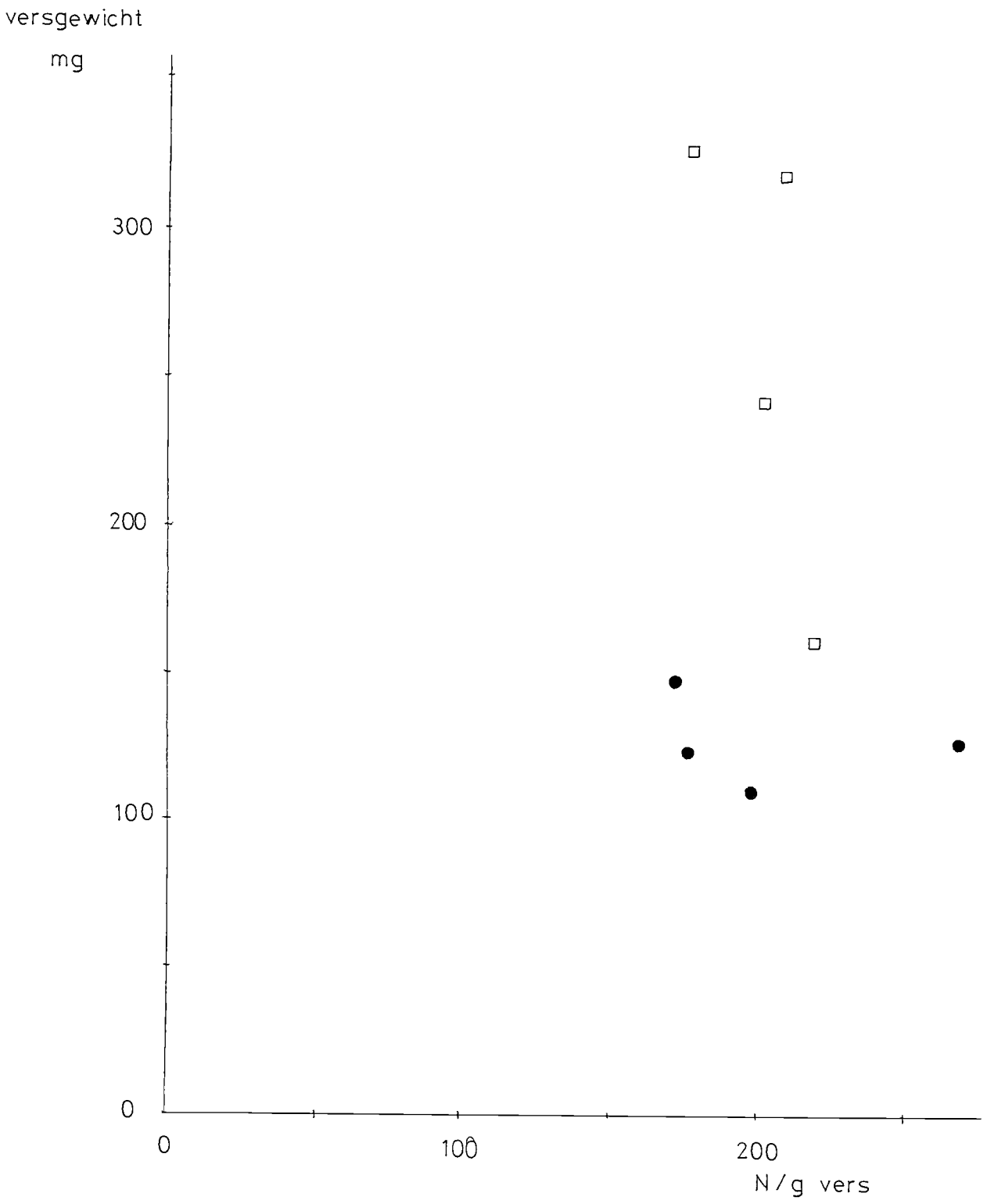
De spreiding in de gewichten binnen de series blijkt zodanig, dat de verschillen tussen de series hieruit verklaard kunnen worden. De correlatie tussen de gegeven nitraat concentratie en het gewicht is dan ook zeer laag. Dit zelfde geldt ook voor andere parameters, zoals de lengte en aantal knopen die geen significante correlatie vertonen met de nitraatconcentratie. Wel is er een duidelijke correlatie tussen de s/w verhouding en de gegeven nitraatconcentratie (r=0,987). In grafiek 13 is het gewicht van de planten uitgezet tegen de nitraatconcentratie van de gegeven voedingsoplossing; in grafiek 14 is het zelfde gedaan voor de s/w verhouding.

In grafiek 15 is het N-gehalte uitgezet tegen de nitraatconcentratie. In tegenstelling tot bij proef 3.4.1. lijkt hier de met de $NO_3^-$-concentratie toenemende N- gehaltes verklaard te kunnen worden uit een toename van zowel N-oplosbaar als N- onoplosbaar. In grafiek 16 is dit verband echter niet zo duidelijk. Hier liggen de waarden voor de bloeiende en niet-bloeiende planten vrij ver uiteen, wat verklaard kan worden uit een verschil in gemiddeld gewicht.

Uit de multipele correlatie coefficienten blijkt, dat de spreiding in de gemiddelde gewichten voor 99% verklaard kan worden uit die in de gegeven nitraatconcentratie en de stikstofgehaltes, en dat de variantie van de s/w verhoudingen voor 98% uit dezelfde factoren verklaard kan worden.

klopt dit wel met elkaar?

grafiek 17




● niet bloeiend

□ bloeiend

Wat zou je uit deze grafiek kunnen konkluderen? → 0.30
En kloppt grafiek 17 met grafiek 15? → 0.50

De partiële correlatie tussen nitraatconcentratie en stikstofgehalte bij constant gewicht is zowel voor spruit, als voor de wortel en voor de hele plant positief en significant (resp. pr=0,866; pr=0,895; pr=1,000).

Er kan geen duidelijke correlatie gevonden worden tussen N- gehalte en gewicht per plant (r 0,033), maar de partiële correlatie bij constante nitraatconcentratie is significant negatief (pr=0,995).

Ter verdere illustratie is in grafiek 17 het versgewicht uitgezet tegen het N- gehalte.

## 4. Discussie.

Aanleiding tot de bovenbeschreven proeven was het feit, dat ongehechte ratelaars ( in vergelijking met gehechte) kenmerken hadden, die aan stikstofgebrek deden denken (zie inleiding)

Interpretatie van deficientiesymptomen kan moeilijkheden opleveren (Epstein, 1972), omdat:

a de gebreksymptomen voor een bepaald element afhankelijk zijn van de soort, waarbij het gebrek optreedt;
b voor verschillende deficienties bij een bepaalde plant de symptomen gelijk kunnen zijn;
c er multipele deficienties kunnen optreden;
d er "simulatie" van deficientiesymptomen kan optreden, b.v. veroorzaakt door vergiftiging door hoge concentraties van een bepaald element, door bacteriele ziekten of door virusinfecties.

Maar zijn er geen algemene kenmerken voor N gebrek?

Binnen de verwantschapsgroep Scrophulariaceae-Orobachaceae kan een reeks worden opgesteld van autotrofe planten, via hemiparasitaire, naar holoparasitaire planten.
Twee stadia uit deze reeks kunnen ruwweg als volgt worden omschreven (waarbij de kenmerken niet als absoluut gecorreleerd beschouwd moeten worden):

I (1)Eenjarige planten (2) met grote zaden, (3) die kunnen kiemen onafhankelijk van hun gastheer. (4) Niet gastheerspecifieke parasieten, (5) die potentieel autotroof zijn en (6) in staat tot voldoende (?) opname van stoffen voor het volvenden van een levenscyclus (7) Wortels zijn aanwezig, hoewel in kleine hoeveelheden. (8) Het chlorofylgehalte is (bijna) normaal en (9) de planten zijn in staat tot (bijna ) normale fotosynthese. (10) De planten hopen geen koolhydraten op van hun gastheer en (11) zijn in hun stikstofsamenstelling enigermate afhankelijk van hun gastheer.

II (1) Overblijvende planten (2) met kleine zaden, (3) waarvan de kieming afhankelijk is van de aanwezigheid van de gastheer. (4) Gastheerspecifieke parasieten, (5) die niet in staat zijn tot autotrofe groei en tot opname van stoffen uit de bodem (?). (7) Wortels zijn nauwelijks aanwezig. (8) Het chlorofylgehalte van de sterk gereduceerde bladen is laag en (9) de plant is niet in staat tot noemenswaardig fotosynthese. (10) Er treedt ophoping van koolhydraten op (in de soms verdikte stengelbasis) en (11) de stikstofsamenstelling is onafhankelijk van de gastheer.

Tot groep I zouden b.v. Euphrasia, Odontites, Pedicularis en Rhinanthus gerekend kunnen worden, tot groep II b.v. Lathraea en Orobanche, terwijl b.v. Tozzia een voorbeeld is van een tussenstadium. Tozzia leeft het eerste jaar ondergronds en holoparasitair, daarna hemiparasitair.
Het lijkt aannemelijk, dat in de loop van de evolutie veranderingen in de eigenschappen, zoals van opname en metabolisme, zijn opgetreden waardoor de parasieten steeds minder goed in staat waren nog autotroof te leven. De voor de parasitaire levenswijze overbodige potenties zouden zo in de loop van de evolutie verloren gegaan kunnen zijn. Volgens deze redenering zouden planten aan het begin van de reeks van hemiparasitair naar holoparasitair minder deficienties hebben dan planten aan het eind van de reeks.
Het is dus zeer zinvol het onderzoek aan de ratelaar te vergelijken met dat aan andere parasieten binnen dezelfde verwantschapsgroep.

aanpassingsstadia

Met betrekking tot "simulatie" van gebreksymptomen door bacteriele infectie (Epstein, 1972), is het interessant te wijzen op de theorie van Atsatt (1973) over de evolutie van haustoria en de parasitaire levenswijze. Het door Atsatt verondersteld micro-organisme zou invloed kunnen hebben op het metabolisme van de parasiet.

De mogelijkheid van stikstofdeficientie is onderzocht door proeven betreffende de opname van nitraat, de nitraatreductie en door groeiproeven.

Opname bij de ongehechte ratelaar.

Ongehechte ratelaars, vooral kiemplantjes, bezitten wortelharen. Bij oudere planten zijn aan g ote gedeelten van de wortels geen wortelharen waarneembaar, deze worden slechts gevonden in beperkte gebieden. (Dit is waargenomen aan op voedingsoplossing gekweekte planten).

Het feit, dat ratelaars beter groeiden op 0,5 n Hoagland dan op leidingwater (3.1.), duidt er op dat de ongehechte ratelaar in staat is tot de opname van en het benutten van mineralen.

Uit de opnameproeven (3.2.1.,3.2.2.,3.2.3.) zijn geen conclusies te trekken door problemen, waarschijnlijk met de nitraatbepaling na de opnameperiode.

Nitraatreductie in de ongehechte ratelaar.

Als ter vereenvoudiging wordt aangenomen, dat 3.4.1 en 3.4.2. de nitraatreductie plaats vond gedurende 16 uur per dag en verwaarloosbaar was in de wortel en dat de kiemplanten geen stikstofverbindingen bevatten, dan kan de gemiddelde nitraatreductase activiteit worden geschat, wanneer als over de tijd gemiddeld spruitgewicht wordt genomen 2/3 van het spruitgewicht bij de oogst. Nu geldt:
gem. N.R.A. x tijd x gem. spruitgew. = stikstofinhoud per plant

| proef 3.4.1. | | | proef 3.4.2. | |
|---|---|---|---|---|
| serie | | N.R.A. | serie | N.R.A. |
| e | I | 0,57 | e | 0,66 |
| | II | 0,64 | | |
| d | I | 0,50 | d | 0,63 |
| | II | 0,63 | | |
| c | I | 0,58 | c | 0,69 |
| | II | 0,64 | | |
| a | I | 0,71 | a | 0,74 |

Deze waarden zijn een ruwe schatting voor de N.R.A. in de plant, en liggen iets hoger dan de mééste volgens Jaworski (1971) bepaalde waarden, maar duidelijk lager dan in proef E.

De gebruikte methode voor N.R.A. bepaling (Jaworski,1971) kan "semi in vivo" worden genoemd.
Er worden vaak discrepanties gevonden bij N.R.A. bepalingen volgens verschillende methoden door de verschillende omstandigheden waarbij wordt gemeten (Klepper e.a.,1971; Streeter& Bosler,1972; Stulen,1974).

I Bij "in vitro" methoden wordt het enzym geëxtraheerd en wordt de activiteit bepaald waarbij de direkt bij de reactie betrokken stoffen als $NO_3^-$ en NADH in overmaat worden toegevoegd.
II Bij de "in vivo" methoden wordt de omzettingssnelheid van nitraat in de plant gemeten. De gemeten N.R.A. is in dit

geval afhankelijk van de concentraties van direct en indirect bij de reductie van nitraat betrokken stoffen, zoals $NO_3^-$, NADH, gereduceerde $^{15}N$ verbindingenresp. van $H_2{}^{18}O$ uit de gegeven $K^{15}NO_3$ resp. $KN^{18}O_3$.

III

Onder "semi in vivo" zou men kunnen rekenen de vacuum resp. propanol wordt de zuurstof uit het plantenweefsel verwijderd. De gevormde nitriet kan uit het weefsel in het incubatiemedium diffunderen. Nitriet reductie wordt tegengegaan door de bepaling in het donker uit te voeren.(Stulen,1974).

Beperking van de nitraatreductie in de plant kan optreden door o.a. :

1) tekort aan NADH, evt. door tekort aan koolhydraten
2) eindproductremming door nitriet
3) gebrek aan koolstofskeletten

(Klepper e.a.,1971; Minotti&Jackson,1970; Stulen,1974)

Bij bepalingen met vacuum- en propanolinfiltratie (Jaworski, 1971) is de eindproductremming uitgeschakeld, doordat de gevormde nitriet uit het weefsel diffundeert in het incubatiemedium.

Het lijkt dus verklaarbaar dat bij de "in vitro" bepalingen gewoonlijk de hoogste waarden worden gevonden. Er mag verwacht worden dat de "in vivo"-N.R.A.waarden lager liggen dan de "semi in vivo" en de "in vitro" waarden.

De ruwe schatting van de gemiddelde N.R.A. ligt iets lager dan de hoogst gevonden waarde, bepaald met de propanolinfiltratie methode (proef 3.3.4).

De N.R.A. in de plant zou geremd kunnen worden door de (aantoonbare hoeveelheden) nitriet (proef 3.4.1.) in de planten. De planten zijn gewogen nadat ze in water hebben gelegen om turgescent te worden. Aangenomen mag worden dat toen enig nitriet uit het plantemateriaal is verdwenen, gezien het feit dat de N.R.A. bepaling ook kan gebeuren zonder gebruik van propanol (3.3.1.).
Nitriet kan remmend werken op de nitraatreductie (Stulen, 1974).

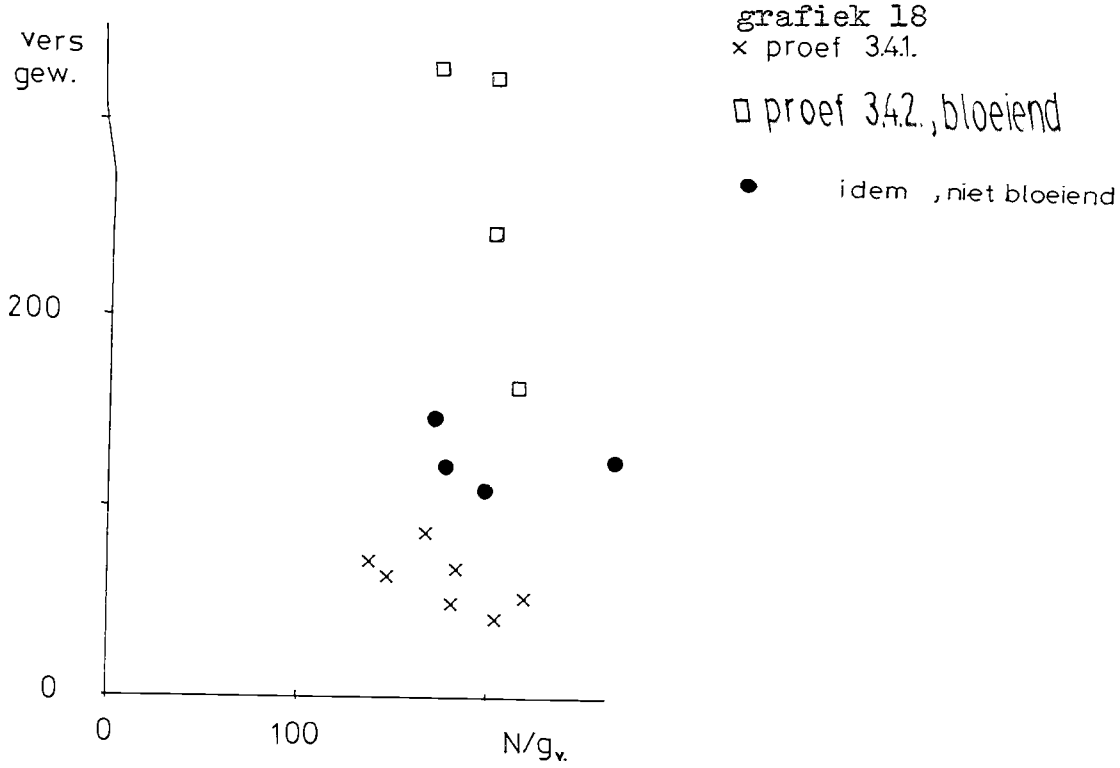
in het donker? is het licht!

In proef 3.3.1. is de N.R.A. bepaald voor verschillende hoeveelheden bladmateriaal per 3 ml incubatiemedium.
Er bleek een tegengesteld verband te bestaan tussen beide grootheden. Dit verband kan op twee manieren worden verklaard:

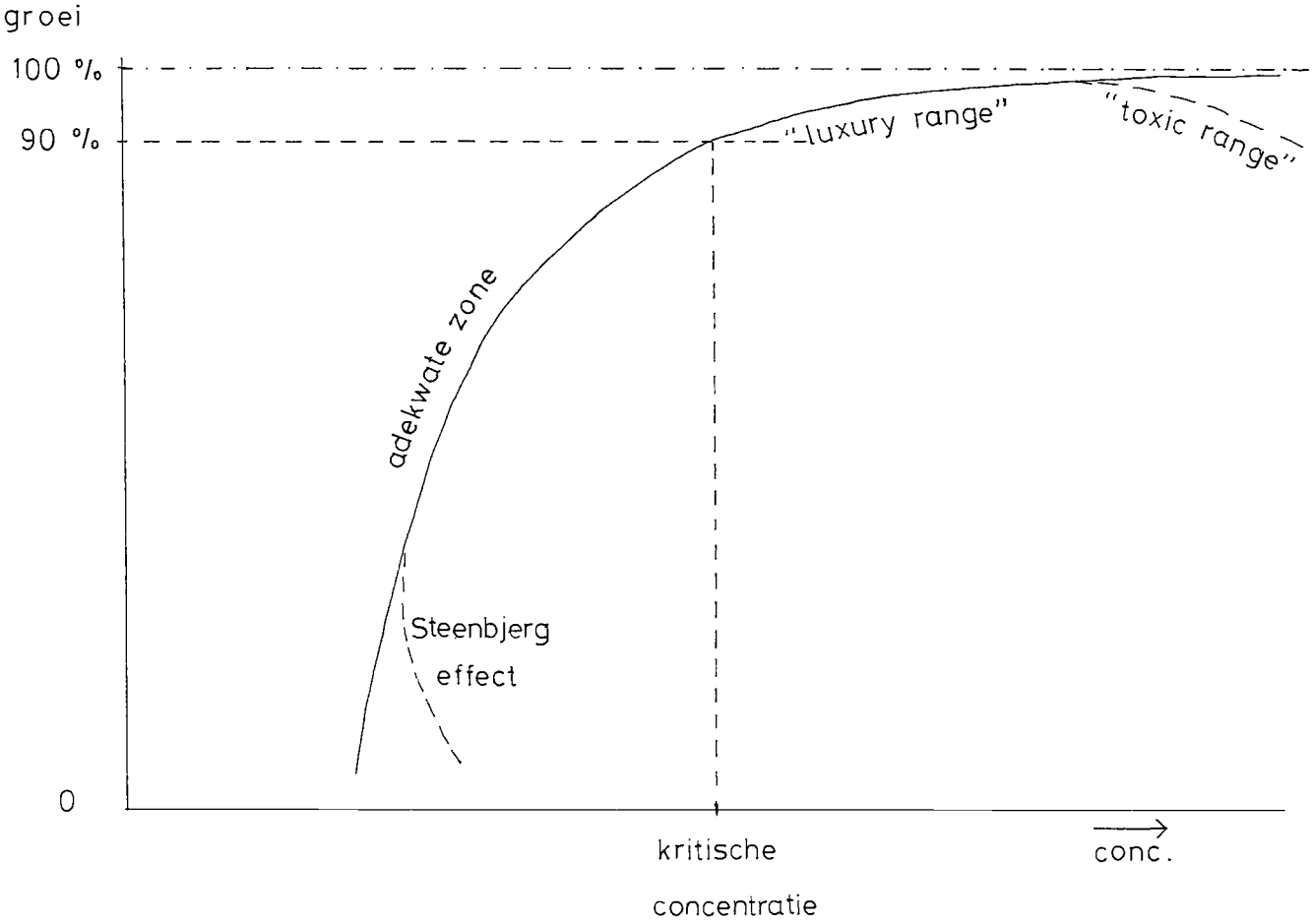
1 de grotere hoeveelheid bladmateriaal per 3 ml incubatiemedium is de oorzaak van de lagere N.R.A., doordat er meer bladmateriaal aan de vloeistofoppervlakte bleef, zodat de menging minder goed was.
2 bij grotere hoeveelheid bladmateriaal wordt meer nitriet geproduceerd. De hogere nitrietconcentratie kan de direkte oorzaak zijn van de lagere N.R.A.

Waarschijnlijk is de eerste mogelijkheid de belangrijkste verklaring. Dit kan worden afgeleid uit de partiële correlatie tussen bladgewicht en N.R.A. bij constante nitrietconcentratie en die tussen nitrietconcentratie en N.R.A. bij constant bladgewicht (resp. pr= -0,705 en pr= 0,421)
Het bladgewicht lijkt dus een belangrijkere factor.

grafiek 18




grafiek 19



Mogelijk is al iets van remming door nitriet zichtbaar bij de hoogste gemeten nitrietconcentraties (zie grafiek 5) die horen bij 150 mg bladmateriaal per 3 ml incubatiemedium.

Groeiproeven.

In proef 3.4.1. is de lengte en het aantal knopen in de loop van de tijd gemeten. Bij éénjarige planten blijkt de volgende formule zeer goed te passen bij groei van hele planten of gedeelten ervan, zoals bladeren of vruchten:

$W_t = A(1-be^{-kt})^{\frac{1}{1-m}}$ (zie 3.4.1.). Een belangrijke parameter

is A, dit is de uiteindelijk bereikbare grootte als de groei eindeloos zou doorgaan onder constante omstandigheden. Zo beinvloeden die omstandigheden ook grootheden als de gemiddelde absolute en relatieve groei, waarvoor Ak/(2m-2) en k/m goede maten zijn (Richards, 1969).
De bedoeling van de Algol-procedure KLKWWF (1968) was dan ook deze waarden te berekenen en in verband te brengen met de nitraatgift.Het bleek echter niet mogelijk betrouwbare waarden te berekenen, waarschijnlijk omdat de gemeten punten teveel op één lijn lagen en/of door de grote spreiding (zie grafiek 6 en 7). Voor het aantal knopen van een plant is lineaire groei geen ongewoon verschijnsel (Richards, 1969).

Bij de op verschillende nitraatconcentraties opgekweekte planten zijn stikstofbepalingen gedaan in de spruit en de wortel.
Fysiologische basis van de weefselanalyse techniek(Smith, 1962):
a de plant neemt mineralen op en distribueert ze over zijn organen,
b er is een kwantitatieve relatie tussen opname en groei.

De door Mitscherlich geformuleerde "wet van de verminderde meeropbrengsten" wordt weergegeven in de formule:
$y = A(1 - e^{-kc})$ (Richards, 1969), waarin
y = opbrengst
A = maximaal mogelijke opbrengst
k = konstante
c = grootte van meststofgift
De konstante k zou afhankelijkzijn van de plantesoort en de bemestingsstof en onafhankelijk van andere bodem- en klimaatsfactoren.

Omdat, zowel in proef 3.4.1. als in proef 3.4.2. de groei niet afhankelijk bleek van de nitraat gift, was het niet mogelijk de constante k te bepalen.

Als de opbrengst tegen de concentratie in de plant (=opgenomen hoeveelheid gedeeld door de opbrengst) wordt uitgezet, dan blijkt het verband voor hogere planten gewoonlijk zoals weergegeven in grafiek 19 (Bates,1971; Epstein,1972;Smith, 1962)). Als aan kleine planten een bemesting wordt gegeven, treedt een groei op, waardoor de concentratie in de plant maar iets hoger wordt dan de oorspronkelijke. In het begin zal de grafiek vrij steil verlopen. Als de maximale groei is bereikt, dan kan er nog wel opname plaatsvinden, maar geen verdere groei ("luxury range"); dit geeft toenemende concentratie bij constante groei. Eventueel kan bij hoge concentraties een toxisch effect optreden. In dat geval is er een negetief verband tussen groei en concentratie. Ook bij zeer lage concentraties kan zo'n negatief verband worden

gevonden: het Steenbjerg effect (Bates,1971, Smith,1962), dat verklaard kan worden door aan te nemen, dat:

a) grotere planten een kleinere behoefte hebben dan zeer kleine planten, en/of dat
b) de kleine planten hun vermogen tot groei hadden verloren, waarna nog enige accumulatie is opgetreden.

Als weer extra bemesting wordt gegeven, treedt er weer groei op waardoor de betreffende stof in de plant weer wordt verdund.

De in 3.4.1. en 3.4.2. gevonden negatieve partiele correlatie tussen groei en stikstofgehalte bij constante nitraatgift moet verklaard worden door één van beide boven beschreven verschijnselen.
Bij het Steenbjerg effect zou een kleine extra bemesting al een duidelijk effect hebben op de groei, terwijl als de stikstofgehaltes in de plant toxische waarden bereikten, er niet een groot effect van hogere nitraatgift op de groei hoeft worden verwacht.
Omdat er geen duidelijk verband is gevonden tussen groei en nitraatgift, lijkt laatstgenoemde verklaring de meest waarschijnlijke. De conclusie is dan ook, dat bij proef 3.4.1. en 3.4.2. de kritische concentraties in de plant overschreden zijn (de kritische concentratie is die concentratie, waarbij 90 % van de maximale groei optreedt).

De ligging van de curve in grafiek 19 en de kritische concentratie zijn geen konstante eigenschappen van de plant.
De kritische concentratie is afhankelijk van (Bates, 1971):

a de leeftijd van de plant
b het bestudeerde weefseltype
c de bestudeerde fractie
d de cultivar, oecotype of soort
→ e interacties van nutrienten

De s/w verhouding neemt duidelijk toe met de toenemende nitraatgift (zie 3.4.1. en 3.4.2.) en is ook duidelijk gecorreleerd met het stikstofgehalte van de plant.
De spreiding in s/w waarden kan voor resp. 84,3% en 97,5% uit die in nitraatgift en stikstofgehalte.
Een verklaring zou zijn, dat de wortel eerder de kritische concentratie bereikt dan de spruit.

De verdeling van de droge stof over wortel en spruit wordt geregeld door middel van concurrentie om de beschikbare, voor de groei essentiele stoffen onder die omstandigheden waarbij de groei wordt gelimiteerd door essentiele voedingsstoffen of licht (Brouwer & Kuiper, 1972)
Bij ruime stikstofvoorziening zou de wortelgroei beperkt worden door de aanvoer van koolhydraten uit de spruit.

Er zijn duidelijke verschillen tussen de resultaten van de groeiproef op perlite (3.4.1.) en die van de groeiproef op vaatjes (3.4.2.). De planten van proef 3.4.1. groeiden zeer traag en bij de oogst (na 47 dagen) hadden ze noch knoppen noch bloemen, in tegenstelling tot de planten van proef 3.4.2., die goed groeiden en bij de oogst (na 42 dagen) gedeeltelijk in knop waren en bloeiden.

De planten met de hoogste nitraatgift in proef 3.4.1. hadden ongeveer een even hoge s/w verhouding als de planten met de laagste nitraatgift in proef 3.4.2.
Bij de laatste was het aantal knopen bijna dubbel zo hoog en het versgewicht en de lengte ongeveer drie maal zo hoog als bij de planten van proef 3.4.1.
De planten van proef 3.4.2. hadden een betere groei bij hogere stikstofgehaltes dan die van proef 3.4.1. (zie samenvattende grafiek 18). Ook zijn er verschillen in de stikstofsamenstelling (grafieken 8 t/m 17).

Mogelijke verklaringen voor de verschillen in resultaten van beide proeven zijn: het verschil in leeftijd bij de oogst en het verschil in kweekomstandigheden.

Het verschil in leeftijd bij de oogst tussen beide proeven is slechts 5 dagen, terwijl de jongere planten juist duidelijk verder waren in ontwikkeling en meer nitraat hadden opgenomen.

De planten van proef 3.4.1. zijn gekweekt op perlite terwijl die van proef 3.4.2. op voedingsoplossing zijn gekweekt. In het eerste geval kregen de planten wekelijks 50 ml voedingsoplossing, terwijl in het laatste geval de planten een constante voedingsbron hadden.

De beschikbaarheid van sommige verbindingen is in een bodem duidelijk anders dan in een voedingsoplossing. Van b.v. fosfaat is het bekend, dat dit één van de eerste elementen is, die beperkend wordt voor de groei.(Bieleski, 1973). Door zijn trage diffusie in bodems kan fosfaat "immobiel" worden genoemd.

De kritische concentratie (en de ligging van de curve in grafiek 19) is o.a. afhankelijk van interacties van verschillende voedingsstoffen. Zo kan er een positief verband bestaan tussen stikstofgehalte van de plant en de kritische concentratie voor fosfaat en omgekeerd.(Bates,1971).

Aanname van fosfaat deficientie in proef 3.4.1. zou, omdat fosfaatgebrek invloed heeft op het stikstofmetabolisme (Eaton,1952; Ranjan&Malaviya,1962; Wenzel,1966), een verklaring vormen voor een aantal verschijnselen in proef 3.4.1.:

a) de uitgestelde bloei en trage spruitgroei (Daft&Okusanya,1973) en de lage s/w verhouding (Brouwer en Kuiper, 1972)
b) de ophoping van aminozuren en amiden (samengaand met een vrij hoog ammoniumgehalte), die verklaard kan worden doordat synthesewegen geblokkeerd zijn door een relatief gebrek aan bepaalde fosfaatverbindingen, die van belang zijn bij de omzettingen van aminozuren en amiden in meer ingewikkelde verbindingen (peptiden, eiwitten) en/of door dat er afbraak van eiwitten (proteolyse) optreedt (Eaton, 1952; Ranjan&Malaviya,1962; Wenzel,1966).(Dit verklaart dan ook het feit dat het eiwitgehalte niet toeneemt met de toenemende nitraatgift in tegenstelling tot bij proef 3.4.2.).
c) de lage stikstofgehaltes waarbij al groeiremming optreedt
d) het feit dat de spreiding in de gemiddelde gewichten slechts voor 58,2% uit die in de nitraatgift en stikstofgehaltes verklaard kan worden, terwijl dit in proef 3.4.2. voor 99,7% kan.

P gebrek aan $O_2$ en daardoor aan energieke P verb.

Waarom zou er in 3.4.1 P gebrek zijn en in 3.4.2 niet?

Misschien kunnen bij andere deficienties dezelfde symptomen optreden (Epstein, 1972).
Het mogelijke fosfaatgebrek in proef 3.4.1. heeft geen duidelijke invloed gehad op de gemiddelde N.R.A. in vergelijking met proef 3.4.2.

Suggesties voor verder onderzoek over de stikstofhuishouding

Hoe is de affiniteit van de ratelaar voor nitraat bij de opname?
Opnameproeven zouden kunnen aantonen of de ratelaar een normaal opnamemechanisme voor nitraat bezit in vergelijking met niet parasitaireplanten.

Is er een blok in de eerste stappen van de reductie van anorganische stikstof?
Eindproductremming door nitriet zou kunnen worden onderzocht met behulp van de vacuum- of propanol-infiltratie methode *) of door toepassing van verschillende N.R.A.-bepalings methoden (Stulen, 1974)
*)waarbij de invloed van nitriet toevoeging wordt nagegaan

Wat zijn de interacties van stikstof- en fosfaatvoeding bij de groei van de ongehechte ratelaar?
Met behulp van de weefselanalysetechniek kan een onderzoek worden gedaan naar het verband tussen groei en de concentratie in de plant en naar het verband tussen de concentratie van het ene element en de kritische concentratie van het andere.
De methode van weefselanalyse is een goede methode om na te of een element een belangrijke rol speelt bij de groei als van het mechanisme van groeistimulerende werking niet voldoende in detail bekend is (Smith, 1962; Bates, 1971; Epstein, 1972).
Dergelijk onderzoek zou ook gedaan kunnen worden voor andere elementen.

Samenvatting en conclusie.

Enkele symptonen bij de ongehechte ratelaar, zoals laag stikstofgehalte, een hoog koolhydraatgehalte, een lage spruit-wortelverhoudingen een laag fotosyntheseniveau bij lichtverzadiging, doen denken aan stikstofgebrek.

Om na te gaan of stikstof bij de ongehechte ratelaar een voor de groei beperkende stof is, is onderzoek gedaan aan de opname en aan de nitraatreductie en is een groeiproef met gevarieerde nitraatgift gedaan.

Hoewel bleek, dat de ratelaar duidelijk profijt heeft van de mineralen van de voedingsoplossing, kon geen nitraat opname worden aangetoond door problemen met de nitraatbepalingsmethode.

De ongehechte ratelaar bezit (evenals de gehechte ratelaar) nitraatreductase in de spruit en de wortel. De N.R.A. in de spruit is voldoende om het gehalte aan gereduceerde stikstofverbindingen te verklaren. De wortel heeft een N.R.A. die gemiddeld 25%(1tot 56%)is van die in de spruit. De mogelijkheid bestaat, dat de N.R.A. wordt geremd door de in de spruit aanwezige nitriet.

In de groeiproeven kon geen verband worden gevonden tussen nitraatgift en groei, maar wel tussen stikstofgehalte en groei.

zie ook 3.4.1
ook in 3.4.2; zie p.53

Hieruit werd afgeleid dat de stikstofconcentraties in de plant in het toxische gebied waren, onder de gebruikte kweekomstandigheden.

Afgezien van de mogelijkheid van een blok bij de reductie van nitraat en nitriet, lijkt het waarschijnlijk dat niet stikstof, maar andere (een) factor(en) een rol spelen bij het groeistimulerende effect dat een gastheer heeft op de ratelaar. Deze factor(en) zouden dan invloed kunnen hebben op het N metabolisme, zodat stikstof meer indirect een belangrijke factor is voor de goede groei van de gehechte ratelaar.

# 5. Aanhangsel

## 5.1. IJklijnen

Nitraat bepaling, salicylaat methode

| $10^{-3}$ mgion nitraat | extinctie | $10^{-3}$ mgion nitraat | extinctie |
|---|---|---|---|
| 0 | 0,001 | 0 | 0,001 |
| | 0,001 | | 0,002 |
| | 0,002 | | 0,002 |
| 0,1988 | 0,159 | 0,2000 | 0,168 |
| | 0,162 | | 0,170 |
| | 0,164 | | 0,172 |
| | 0,169 | | 0,173 |
| 0,3976 | 0,339 | 0,4000 | 0,340 |
| | 0,344 | | 0,352 (2 x) |
| | 0,350 | | 0,362 |
| | 0,412 | 0,5999 | 0,541 |
| 0,5964 | 0,490 | | 0,549 |
| | 0,492 | | 0,550 |
| | 0,506 | | 0,557 |
| | 0,535 | 0,7999 | 0,718 |
| 0,7952 | 0,712 | | 0,735 |
| | 0,740 | | 0,743 |
| | 0,758 | | 0,753 |
| | 0,764 | | |

De ijklijn blijkt een kromme te zijn.

Nitrietbepaling

| $10^{-3}$ mgion nitriet | extinctie |
|---|---|
| 0 | 0,003 |
| | 0,003 |
| 0,02910 | 0,484 |
| | 0,485 |
| 0,05821 | 0,931 |
| | 0,958 |
| 0,08731 | 1,374 |
| | 1,376 |
| 0,11642 | 1,841 |
| | 1,854 |

$0,06273(E - blanco).10^{-3}$ mgion $NO_2^-$

Amoniumbepaling

| $10^{-3}$ mgion amonium | extinctie |
|---|---|
| 00 | 0,006 |
| | 0,007 |
| | 0,007 |
| | 0,009 |
| 0,8028 | 0,230 |
| | 0,234 |
| | 0,240 |
| 1,6056 | 0,460 |
| | 0,462 |
| | 0,484 |
| | 0,494 |
| 2,4084 | 0,675 |
| | 0,696 |
| | 0,702 |
| | 0,712 |
| 3,2111 | 0.914 |
| | 0,934 |
| | 0,940 |
| | 0,941 |

$3,475 (E - blanco).10^{-3}$ mgion $NH_4^+$

5.1A. Ammonium bepaling in HCl extract.

Als direkte bepaling van ammonium gehalte in plantenmateriaal stuit op bezwaren i.v.m. de kleurreactie, dan kan de volgende methode gebruikt worden Stulen,1974).

De bedoeling van deze methode is:
1) kwantitatief overdestilleren van de vrije ammonia
2) amiden als asparagine en glutamine worden niet gesplitst

Daartoe wordt een kleine hoeveelheid natronloog aan het te destilleren mengsel toegevoegd.
Voeg aan 5 ml waterig extract toe: 25 ml aq.dem. en 5 ml 0,1 n NaOH. De ammoniak onmiddelijk overdestilleren met stoom gedurende 5 minuten.

Omdat er bij de direkte bepaling van het ammoniumgehalte in het HCl-extract met Neszler reagens moeilijkheden optraden bij de kleurreactie,werd boven beschreven methode aangepast voor de HCl-extracten van de ratelaars.

Daartoe werden oplossingen van $(NH_4)_2SO_4$, glutamine en asparagine gedestilleerd, zoals beschreven onder "Materiaal en methode", echter de hoeveelheid toegevoegd loog werd gevarieerd. Ter contrôle werd in de genoemde oplossingen ook direkt de ammoniumconcentratie bepaald.

| | gedestilleerd | | | |
|---|---|---|---|---|
| toegevoegde NaOH | 5 ml 0,1 n | 5ml 0,1 n | 5 ml 1 n | direkt bepaald |
| $(NH_4)_2SO_4$ | 0,189 | 0,193 | 0,193 | 0,185 |
| | 0,181 | 0,181 | 0,180 | 0,193 |
| GluN | 0,052 | 0,055 | 0,080 | 0,054 |
| | 0,048 | 0,056 | 0,074 | 0,052 |
| AspN | 0,007 | 0,013 | 0,019 | 0,009 |
| | 0,011 | 0,015 | 0,021 | 0,015 |

Bij een toevoeging van 5 ml 0,1 n NaOH werd de ammonia Kwantitatief overgedestilleerd en werden beide amiden niet gesplitst.

## 5.2. Tabellen met metingen en berekeningen.

proef 3.2.1.

| voed. opl. | Nitraat bepalingen: voor de proef uit 100 ml | voor de proef extinctie | na de proef uit 150 ml | na de proef extinctie | vers gew. mg |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,00 | 0,1157 | 1,00 | 0,0451 | 63,5 |
| | 1,00 | 0,1235 | 1,00 | 0,0616 | 24,2 |
| | | | | | 36,9 |
| | | | | | 27,8 |
| 2 | 0,25 | 0,1027 | 0,30 | 0,0979 | 46,5 |
| | 0,25 | 0,1092 | 0,30 | 0,0748 | 67,1 |
| | | | | | 45,5 |
| 3 | 0,25 | 0,3055 | 0,30 | 0,2343 | 46,1 |
| | 0,25 | 0,3094 | 0,30 | 0,2453 | 26,5 |
| | | | | | 68,5 |
| | | | | | 66,3 |
| 4 | 0,25 | 0,754 | 0,30 | 0,6193 | 34,0 |
| | 0,25 | 0,7982 | 0,30 | - | 37,3 |
| | | | | | 45,4 |
| | | | | | 27,9 |

| $10^{-3}$ mgion $NO_3^-$ per vaatje* vóór de proef | nà de proef |
|---|---|
| 13,34 | 7,87 |
| 14,21 | 10,85 |
| 47,56 | 56,76 |
| 50,47 | 43,82 |
| 138,41 | 133,14 |
| 140,15 | 139,30 |
| 324,08 | 339,49 |
| 340,62 | - |

*: volume vaatje: 100 ml

proef 3.2.2

| voed. opl. | voor proef 100ml | Ext. | na de proef 150ml | Ext. | $10^{-3}$mgion$NO_3^-$/vat voor | na |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0,4n | 0,2 | 0,5815 | 0,3 | 0,7413 | 319,87 | 399,16 |
| | 0,2 | 0,5395 | 0,3 | 0,7086 | 298,07 | 383,86 |
| | | | 0,3 | 0,6393 | | 349,88 |
| a | 0,3 | 0,431 | 0,45 | 0,5893 | 161,17 | 215,95 |
| | 0,3 | 0,439 | 0,45 | 0,4383 | 163,93 | 163,69 |
| | 0,3 | - | 0,45 | 0,4799 | - | 178,09 |
| b | 0,5 | 0,506 | 0,75 | 0,5123 | 112,27 | 113,58 |
| | 0,5 | 0,558 | 0,75 | 0,5729 | 123,07 | 126,16 |
| | 0,5 | 0,536 | 0,75 | 0,5436 | 118,50 | 120,08 |
| c | 1,0 | 0,784 | 1,5 | 0,8103 | 80,45 | 86,29 |
| | 1,0 | 0,609 | 1,5 | 0,8076 | 66,83 | 86,04 |
| | 1,0 | 0,638 | 1,5 | 0,8049 | 69,84 | 85,78 |
| d | 3,0 | 0,514 | 4,5 | 0,5568 | 18,99 | 20,47 |
| | 3,0 | 0,530 | 4,5 | 0,5133 | 19,54 | 18,96 |
| | 3,0 | 0,530 | 4,5 | 0,5383 | 19,54 | 19,82 |

| serie | versgewicht (mg) spruit | wortel | s/w | drooggew. (mg) spruit | wortel | % droge stof spruit | wortel |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0,4n | 45,2 | 29,1 | 1,55 | | | | |
| | 47,05 | 17,8 | 2,64 | | | | |
| | 44,4 | 25,2 | 1,76 | 42,0 | 18,25 | 16,36 | 14,58 |
| | 43,3 | 25,15 | 1,72 | | | | |
| | 34,4 | 12,05 | 2,85 | | | | |
| | 42,4 | 15,9 | 2,67 | | | | |
| a | 19,5* | 29,4 | 0,66 | | | | |
| | 17,4! | 15,4 | 1,13 | | | | |
| | 39,2 | 21,2 | 1,85 | 35,05 | 13,9 | 23,45 | 14,24 |
| | 42,05 | 16,0 | 2,63 | | | | |
| b | 31,3 | 15,6 | 2,01 | | | | |
| b | 19,95* | 32,3 | 0,62 | | | | |
| | 39,45 | 24,3 | 1,62 | 29,9 | 9,03 | 22,95 | 8,78 |
| | 28,55 | 12,6 | 2,26 | | | | |
| | 42,35 | 33,7 | 1,26 | | | | |
| c | 53,0 | 29,35 | 1,80 | | | | |
| | 78.75 | 26,3 | 3,00 | | | | |
| | 75,45 | 31,9 | 2,36 | | | | |
| | 39,9 | 22,65 | 1,76 | 57,65 | 23,1[illegible] | 15,34 | 13,92 |
| | 50,85 | 23,4 | 2,17 | | | | |
| | 38,75 | 14,8 | 2,62 | | | | |
| | 39,2 | 17,5 | 2,24 | | | | |
| d | 37,05 | 14,5 | 2,55 | | | | |
| | 41,0 | 22,35 | 1,84 | | | | |
| | 35,7 | 22,45 | 1,59 | | | | |
| | 55,9 | 28,0 | 2,00 | 51,5 | 24,15 | 16,34 | 15,03 |
| | 27,9 | 10,4 | 2,68 | | | | |
| | 76,85 | 40,6 | 1,89 | | | | |
| | 40,85 | 22,4 | 1,83 | | | | |

*: enigszins uitgedroogd
!: sterker uitgedroogd

proef 3.2.3. Nitraat bepalingen.

| voed. opl. | voor de proef 100ml | ext. | na de proef 150ml | ext. | $10^{-3}$mgion/vat voor | na |
|---|---|---|---|---|---|---|
| e | 3,0 | 0,168 | 3,0 | 0,129 | 6,401 | 7,417 |
| | 3,0 | 0,166 | 3,0 | 0,123 | 6,326 | 7,081 |
| | 3,0 | 0,169 | 3,0 | 0,126 | 6,438 | 7,249 |
| c | 1,0 | 0,748 | 3,0 | 1,324 | 80,45 | 67,18 |
| | 1,0 | 0,609 | 3,0 | 1,370 | 66,83 | 69,33 |
| | 1,0 | 0,638 | 3,0 | 1,420 | 69,84 | 71,67 |
| a | 0,3 | 0,431 | 0,5 | 0,628 | 161,17 | 206,41 |
| | 0,3 | 0,439 | 0,5 | 0,649 | 163,93 | 212,94 |
| | 0,3 | - | 0,5 | 0,658 | - | 215,75 |

proef 3.3.2.

| serie | | N.R.A.-bepaling over 20 minuten g | $v_0$ | $E_2-E_1$ | N.R.A $10^{-3}$mgion $NO_2^-$/g/uur |
|---|---|---|---|---|---|
| e | s | 100 | 6,0 | 0,0115 | 0,1082 |
| | | 100 | 6,0 | 0,054 | 0,5081 |
| | | 75 | 4,5 | 0,0025 | 0,0220 |
| | w | 50 | 3,0 | 0,0045 | 0,0339 |
| | | 50 | 3,0 | 0,007 | 0,0527 |
| | | 50 | 3,0 | 0,0035 | 0,0263 |
| d | s | 75 | 4,5 | 0,0435 | 0,3820 |
| | | 75 | 4,5 | 0,047 | 0,4128 |
| | | 100 | 6,5 | 0,033 | 0,3105 |
| | w | 50 | 3,0 | 0,0045 | 0,0339 |
| | | 75 | 4,5 | 0,000 | 0,0000 |

| serie | N.R.A.-bepaling over 20 minuten g | $v_0$ | $E_2-E_1$ | N.R.A. $10^{-3}$mgion $NO_2^-$/g/uur |
|---|---|---|---|---|
| a | s 100 | 6,0 | 0,0365 | 0,3435 |
| | 100 | 6,0 | 0,024 | 0,2258 |
| | 100 | 6,0 | 0,017 | 0,1600 |
| | 100 | 6,0 | 0,025 | 0,2352 |
| | w 100 | 6?0 | 0,016 | 0,1506 |
| | 100 | 6,0 | -,0195 | -,1835 |
| | 100 | 6,0 | 0,004 | 0,0376 |

| serie | versgew. (mg) spruit | wortel | s/w |
|---|---|---|---|
| e | 47,9 | 37,7 | 1,27 |
| | 24,9 | 14,1 | 1,77 |
| | 25,9 | 21,8 | 1,19 |
| | 25,1 | 20,8 | 1,21 |
| | 39,3 | 29,4 | 1,34 |
| | 22,7 | 5,0 | 4,54 |
| | 38,3 | 28,7 | 1,33 |
| | 18,9 | 7,8 | 2,42 |
| | 42,3 | 19,0 | 2,23 |
| | 40,3 | 37,9 | 1,06 |
| c | 38,8 | 29,o | 1,34 |
| | 44,3 | 27,7 | 1,60 |
| | 63,1 | 31,1 | 2,03 |
| | 45,5 | 27,8 | 1,64 |
| | 40,0 | 30,3 | 1,32 |
| | 40,5 | 23,4 | 1,73 |
| | 30,2 | 19,9 | 1,52 |

| serie | versgew. (mg) spruit | wortel | s/w |
|---|---|---|---|
| a | 37,0 | 26,4 | 1,40 |
| | 63,0 | 33,0 | 1,91 |
| | 40,4 | 26,8 | 1,51 |
| | 42,4 | 26,7 | 1,59 |
| | 38,9 | 24,8 | 1,57 |
| | 42,9 | 26,2 | 1,64 |
| | 48,8 | 25,0 | 1,95 |
| | 45,3 | 24,3 | 1,86 |
| | 50,0 | 26,2 | 1,91 |
| | 46,5 | 37,2 | 1,25 |
| | 49,2 | 29,0 | 1,70 |
| | 48,7 | 47,0 | 1,04 |
| | 55,2 | 17,4 | 3,17 |
| | 46,9 | 23,7 | 1,98 |
| | 42,3 | 34,5 | 1,23 |

proef 3.3.3.

| voed. opl. | | g | $v_0$ | $t_1$:40' $E_1$ | $t_2$:60' $E_2$ | N.R.A $10^{-3}$mgion $NO_2^-$/g/uur |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0,4n | w 1&2 | 66,4 | 4,50 | 0,016 | 0,054 | 0,3770 |
| | 3 | 43,6 | 2,62 | 0,011 | 0,018 | 0,0489 |
| | s 1 | 56,2 | 3,37 | 0,033 | 0,129 | 0,7619 |
| | 2 | 44,2 | 2,65 | 0,047 | 0,129 | 0,5761 |
| | 3 | 61,2 | 2,67 | 0,032 | 0,157 | 0,6419 |
| "$NH_4$" | w tot. | 76,9 | 4,51 | 0,039 | 0,072 | 0,2835 |
| | s 1 | 53,6 | 3,22 | 0,036 | 0,073 | 0,2884 |
| | 2 | 68,8 | 4,13 | 0,070 | 0,159 | 0,7620 |
| | 3 | 37,2 | 2,23 | 0,049 | 0,103 | 0,3360 |

proef 3.3.4.

| | spruit g | $v_0$ | $t_1$:30' $E_1$ | $t_2$:45' $E_2$ | N.R.A $10^{-3}$mgion $NO_2^-$/g/uur |
|---|---|---|---|---|---|
| gehecht | 100 | 6,00 | 0,045 | 0,108 | 0,7904 |
| | 82 | 4,92 | 0,039 | 0,105 | 0,7917 |
| | 100 | 6,00 | 0,089 | 0,244 | 1,9447 |
| | 100 | 6,00 | 0,056 | 0,120 | 0,8030 |
| onge-hecht | 50 | 3,00 | 0,065 | 0,183 | 1,1844 |
| | 50 | 3,00 | 0,073 | 0,223 | 1,5055 |
| | 47 | 2,82 | 0,046 | 0,140 | 0,9134 |

proef 3.3.1.

| propanol % | 0,0 | 0,5 | 1,0 | 1,5 | 2,5 | 4,0 | 5,5 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| N.R.A.$10^{-3}$ mgion/g/u. | 0,561 | 0,686 | 0,668<br>0,554 | 0,651<br>0,830 | 0,641 | 0,220 | 0,099 |

| Mol. buffer | 0,004 | 0,010 | 0,020 | 0,040 |
|---|---|---|---|---|
| N.R.A. | 0,329 | 0,491 | 0,415 | 0,380 |
| | 0,453 | 0,489 | 0,436 | 0,324 |
| | 0,398 | 0,525 | 0,502 | 0,386 |

| bladgew.(g) | 0,050 | 0,100 | 0,150 | X |
|---|---|---|---|---|
| N.R.A. | 0,489 | 0,452 | 0,376 | |
| | 0,497 | 0,444 | 0,326 | Y |
| | 0,527 | 0,429 | 0,361 | |
| mMol $NO_2^-$ | 4,67 | 9,91 | 12,80 | |
| | 4,14 | 9,72 | 13,11 | Z |
| | 4,89 | 9,03 | 12,99 | |

r(XY) = -0,962 pr(XY,Z) = -0,705
r(XZ) = 0,991 pr(XZ,Y) = 0,934 $mr^2$(Y,XZ) = 0,939
r(YZ) = -0,938 pr(YZ,X) = 0,421 $mr^2$(Z,XY) = 0,985

| bewaartijd | o | 1 dag | 4 dgn. |
|---|---|---|---|
| N.R.A. | 0,489 | 0,429 | 0,248 |
| | 0,497 | 0,422 | 0,188 |
| | 0,527 | 0,422 | 0,225 |

proef 3.4.1.

| serie e leeftijd (dagen) | lengte (mm) 4 | 7 | 10 | 14 | 17 | 21 | 24 | aantal knopen 4 | 7 | 10 | 14 | 17 | 21 | 24 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 11 | 14 | 14 | 16 | 17 | 21 | 20 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 | 6 |
| e6 | 8 | 10 | 9 | 11 | 11 | 15 | 12 | 2 | 3 | 3 | 4 | 4 | 5 | 5 |
| | 5 | 9 | 8 | 10 | 10 | 13 | 11 | 1 | 2 | 2 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | 4 | 6 | 8 | 9 | 9 | 10 | 10 | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 | 4 | 4 |
| | 9 | 10 | 11 | 13 | 13 | 17 | 15 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| e5 | 9 | 10 | 10 | 12 | 12 | 13 | 14 | 2 | 2 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| | 6 | 1o | 9 | 9 | 11 | 12 | 13 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 5 | 5 |
| | 4 | 9 | 8 | 8 | 9 | 11 | 10 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | 8 | 10 | 11 | 14 | 18 | 20 | 20 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| e4 | 7 | 9 | 10 | 12 | 15 | 17 | 18 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 | 6 |
| | 6 | 8 | 8 | 10 | 13 | 15 | 15 | 1 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 | 5 |
| | 2 | 7 | 7 | 9 | 9 | 13 | 12 | 1 | 2 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 |
| | 8 | 12 | 113 | 15 | 16 | 18 | 20 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 6 | 7 |
| e3 | 7 | 11 | 11 | 13 | 15 | 18 | 16 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 6 | 10 | 11 | 12 | 11 | 16 | 15 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| | 6 | 10 | 10 | 11 | 9 | 15 | 14 | 1 | 3 | 3 | 3 | 5 | 5 | 5 |
| | 10 | 12 | 13 | 14 | 16 | 20 | 24 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| e2 | 7 | 10 | 11 | 14 | 14 | 17 | 18 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| | 6 | 9 | 10 | 10 | 12 | 14 | 14 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 4 | 5 |
| | 5 | 7 | 7 | 8 | 9 | 13 | 13 | 2 | 2 | 3 | 3 | 4 | 4 | 5 |
| | 7 | 8 | 11 | 13 | 14 | 16 | 18 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| e1 | 6 | 8 | 10 | 12 | 13 | 14 | 15 | 1 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| | 5 | 7 | 9 | 11 | 12 | 13 | 14 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 4 | 5 |
| | 5 | 6 | 8 | 10 | 10 | 10 | 13 | 1 | 2 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 |
| serie d | | | | | | | | | | | | | | |
| | 7 | 12 | 10 | 14 | 15 | 18 | 20 | 2 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 5 |
| d6 | 6 | 11 | 9 | 13 | 14 | 17 | 18 | 1 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 |
| | 5 | 8 | 9 | 10 | 9 | 11 | 14 | 1 | 2 | 2 | 3 | 4 | 5 | 5 |
| | 2 | 7 | 8 | 9 | 8 | - | - | 1 | 1 | 2 | 3 | 2 | - | - |
| | 7 | 9 | 11 | 13 | 15 | 17 | 17 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| d5 | 7 | 8 | 9 | 11 | 11 | 15 | 14 | 2 | 2 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| | 5 | 6 | 6 | 7 | 8 | 8 | 10 | 2 | 2 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 |
| | 3 | 5 | - | - | - | - | - | 1 | 1 | - | - | - | - | - |
| | 8 | 8 | 10 | 12 | 15 | 16 | 17 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| d4 | 5 | 7 | 10 | 12 | 13 | 13 | 15 | 1 | 3 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 |
| | 4 | 6 | 8 | 8 | 10 | 12 | 12 | 1 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 5 |
| | 2 | 4 | 5 | 5 | 5 | 6 | - | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | - |
| | 7 | 12 | 11 | 12 | 16 | 20 | 21 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| d3 | 6 | 8 | 8 | 7 | 6 | 10 | 10 | 1 | 2 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 |
| | 5 | 7 | 8 | - | - | - | - | 1 | 1 | 1 | - | - | - | - |
| | 4 | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - |
| | 7 | 11 | 13 | 15 | 16 | 20 | 21 | 2 | 3 | 4 | 5 | 5 | 5 | 6 |
| d2 | 7 | 10 | 1o | 13 | 16 | 18 | 19 | 1 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| | 3 | 9 | 8 | 10 | 11 | 13 | 12 | 1 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 5 |
| | 3 | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - |
| | 7 | 10 | 13 | 16 | 17 | 18 | 23 | 2 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 | 7 |
| d1 | 7 | 9 | 11 | 14 | 15 | 18 | 18 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 3 | 7 | 10 | 12 | 13 | 14 | 17 | 1 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 |
| | 2 | 6 | 8 | 10 | 8 | 10 | 10 | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 | 4 | 4 |

Bloempot: (4/12)

| serie c leeftijd (dagen) | Lengte (mm) 4 | 7 | 10 | 14 | 17 | 21 | 24 | aantal knopen 4 | 7 | 10 | 14 | 17 | 21 | 24 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| c6 | 7 | 10 | 10 | 14 | 19 | 17 | 18 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 6 | 6 |
| | 5 | 9 | 9 | 13 | 19 | 16 | 16 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| | 4 | 6 | 7 | 8 | 9 | 12 | 14 | 1 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 |
| | 3 | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - |
| c5 | 9 | 11 | 12 | 14 | 15 | 18 | 17 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 6 | 6 |
| | 7 | 9 | 12 | 13 | 14 | 18 | 16 | 1 | 3 | 3 | 4 | 5 | 6 | 6 |
| | 6 | 8 | 10 | 10 | 13 | 15 | 14 | 1 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| | 4 | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - |
| c4 | 8 | 13 | 13 | 18 | 20 | 21 | 20 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 6 | 7 |
| | 7 | 7 | 11 | 14 | 13 | 16 | 16 | 1 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 | 6 |
| | 4 | 6 | 10 | 12 | 12 | 13 | 14 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| | - | 4 | 6 | 10 | 12 | 11 | 13 | - | 1 | 2 | 4 | 4 | 5 | 5 |
| c3 | 9 | 11 | 14 | 17 | 17 | 21 | 22 | 2 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 | 7 |
| | 7 | 10 | 8 | 11 | 11 | 16 | 15 | 2 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 5 |
| | 6 | 8 | 8 | 9 | 10 | 13 | 13 | 1 | 2 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 |
| | 5 | 8 | - | - | - | - | - | 1 | 1 | - | - | - | - | - |
| c2 | 10 | 14 | 16 | 18 | 21 | 23 | 25 | 1 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 10 | 13 | 14 | 15 | 19 | 21 | 21 | 1 | 3 | 3 | 4 | 5 | 6 | 6 |
| | 5 | 10 | 11 | 13 | 16 | 20 | 19 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| | 5 | 9 | 10 | 12 | 13 | 18 | 14 | 1 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 |
| c1 | 7 | 11 | 11 | 13 | 18 | 16 | 18 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 7 | 9 | 11 | 13 | 16 | 15 | 17 | 1 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 7 | 8 | 9 | 12 | 15 | 14 | 16 | 1 | 3 | 3 | 4 | 5 | 6 | 6 |
| | 4 | 8 | 9 | 12 | 13 | 13 | 15 | 1 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 |

| serie a | 9 | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| a6 | 9 | 12 | 15 | 16 | 17 | 21 | 24 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 7 | 7 | 9 | 12 | 15 | 15 | 17 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 | 6 |
| | 7 | 7 | 8 | 10 | 13 | 15 | 12 | 1 | 2 | 3 | 3 | 3 | 4 | 5 |
| | 7 | 7 | 8 | 10 | 12 | 15 | 14 | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 | 4 | 4 |
| a5 | 8 | 9 | 13 | 14 | 15 | 19 | 19 | 2 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 | 6 |
| | 7 | 9 | 11 | 13 | 15 | 18 | 15 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 6 | 6 |
| | 7 | 7 | 11 | 13 | 13 | 15 | 15 | 1 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 | 5 |
| | 5 | 7 | 9 | 11 | 12 | 15 | 14 | 1 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 4 |
| a4 | 12 | 10 | 13 | 17 | 18 | 25 | 21 | 2 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 | 7 |
| | 8 | 10 | 10 | 12 | 15 | 16 | 16 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 | 6 |
| | 5 | 9 | 10 | 12 | 13 | 16 | 15 | 1 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| | 2 | 8 | 8 | 11 | 12 | 15 | 14 | 1 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 |
| a3 | 10 | 12 | 15 | 17 | 21 | 18 | 22 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| | 7 | 8 | 8 | 13 | 14 | 15 | 15 | 2 | 3 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 |
| | 5 | 6 | 8 | 10 | 10 | 14 | 14 | 1 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 |
| | - | 5 | 7 | 10 | 9 | 12 | 11 | - | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 4 |
| a2 | 10 | 11 | 13 | 16 | 17 | 18 | 23 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 6 | 7 |
| | 8 | 9 | 12 | 13 | 13 | 16 | 17 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 5 | 7 |
| | 8 | 7 | 10 | 11 | 12 | 16 | 15 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| | 5 | 6 | 9 | 8 | 12 | 12 | 11 | 1 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 5 |
| a1 | 10 | 12 | 14 | 16 | 16 | 20 | 22 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 9 | 9 | 12 | 13 | 15 | 17 | 18 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| | 8 | 9 | 10 | 12 | 14 | 15 | 16 | 1 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 | 6 |
| | 8 | 6 | 9 | 12 | 11 | 14 | 14 | 1 | 2 | 3 | 4 | 4 | 5 | 5 |

oogst; leeftijd 47 dagen

| serie | gewicht (mg) spruit | gewicht (mg) wortel | lengte (mm) | aantal knopen | totaal gewicht | s/w |
|---|---|---|---|---|---|---|
| eI | 19,4 | 23,5 | 13 | 6 | 42,9 | 0,83 |
| | 38,2 | 32,6 | 20 | 10 | 70,8 | 1,17 |
| | 21,9 | 20,6 | 27 | 9 | 42,5 | 1,06 |
| | 52,3 | 52,1 | 34 | 11 | 104,4 | 1,00 |
| | 53,1 | 54,0 | 24 | 9 | 107,1 | 0,98 |
| | 25,9 | 31,1 | 26 | 10 | 57,1 | 0,83 |
| | 26,8 | 10,1 | 18 | 8 | 36,9 | 2,65 |
| | 12,2 | 7,1 | 11 | 5 | 19,3 | 1,72 |
| | 32,0 | 31,9 | 19 | 9 | 63,9 | 1,00 |
| eII | 21,8 | 18,0 | 16 | 7 | 39,8 | 1,21 |
| | 34,6 | 19,2 | 24 | 9 | 53,8 | 1,80 |
| | 19,9 | 7,5 | 19 | 8 | 27,4 | 2,65 |
| | 20,8 | 21,8 | 9 | 2 | 42,6 | 0,95 |
| | 17,4 | 10,4 | 18 | 7 | 27,8 | 1,67 |
| | 39,1 | 32,4 | 23 | 10 | 71,3 | 1,21 |
| | 30,8 | 30,2 | 19 | 9 | 61,0 | 1,02 |
| | 27,4 | 17,6 | 15 | 6 | 45,0 | 1,56 |
| | 41,2 | 39,5 | 34 | 11 | 80,7 | 1,04 |
| dII | 46,9 | 28,0 | 33 | 12 | 74,9 | 1,68 |
| | 42,2 | 24,9 | 35 | 10 | 67,1 | 1,69 |
| | 45,5 | 38,9 | 33 | 11 | 84,4 | 1,17 |
| | 37,1 | 36,9 | 27 | 9 | 74,0 | 1,01 |
| | 26,0 | 11,7 | 17 | 7 | 37,7 | 2,22 |
| | 48,6 | 47,0 | 29 | 10 | 95,6 | 1,03 |
| | 38,2 | 26,2 | 20 | 9 | 64,4 | 1,46 |
| dI | 14,4 | 8,3 | 12 | 5 | 22,7 | 1,73 |
| | 9,1 | 5,0 | 17 | 5 | 14,1 | 1,82 |
| | 40,1 | 43,7 | 25 | 8 | 83,8 | 0,92 |
| | 27,5 | 15,2 | 16 | 7 | 42,7 | 1,81 |
| | 24,2 | 16,0 | 15 | 7 | 40,2 | 1,51 |
| | 23,0 | 13,0 | 18 | 7 | 36,0 | 1,77 |
| | 20,0 | 17,0 | 14 | 6 | 37,0 | 1,18 |
| | 33,3 | 24,3 | 29 | 11 | 57,6 | 1,37 |
| cI | 63,2 | 28,4 | 27 | 9 | 91,6 | 2,23 |
| | 27,1 | 19,2 | 17 | 8 | 46,3 | 1,41 |
| | 70,1 | 54,3 | 29 | 10 | 124,4 | 1,29 |
| | 22,6 | 16,0 | 21 | 8 | 38,6 | 1,41 |
| | 67,2 | 52,2 | 31 | 11 | 119,4 | 1,29 |
| | 71,0 | 53,0 | 32 | 10 | 124,0 | 1,34 |
| | 26,9 | 17,5 | 14 | 7 | 44,0 | 1,54 |
| | 40,0 | 36,8 | 22 | 9 | 76,8 | 1,09 |
| | 64,5 | 50,5 | 39 | 11 | 115,0 | 1,28 |
| cII | 65,7 | 29,8 | 28 | 11 | 95,5 | 2,20 |
| | 28,1 | 17,7 | 18 | 7 | 45,8 | 1,59 |
| | 51,6 | 43,3 | 26 | 10 | 95,0 | 1,19 |
| | 40,9 | 35,1 | 21 | 11 | 76,0 | 1,17 |
| | 33,1 | 15,3 | 19 | 9 | 48,4 | 2,16 |
| | 40,2 | 27,3 | 25 | 10 | 67,5 | 1,47 |
| | 31,7 | 16,8 | 26 | 9 | 48,5 | 1,89 |
| | 22,6 | 9,5 | 21 | 9 | 32,1 | 2,38 |
| | 33,9 | 30,7 | 23 | 8 | 64,6 | 1,10 |
| | 26,4 | 29,3 | 24 | 10 | 55,7 | 0,90 |
| | 53,4 | 57,6 | 34 | 12 | 111,0 | 0,93 |

| serie | gewicht (mg) spruit | gewicht (mg) wortel | lengte (mm) | aantal knopen | totaal gewicht | s/w |
|---|---|---|---|---|---|---|
| aII | 35,6 | 21,9 | 17 | 7 | 57,8 | 1,64 |
| | 39,8 | 20,1 | 25 | 8 | 59,9 | 1,98 |
| | 41,6 | 19,2 | 25 | 10 | 60,8 | 2,17 |
| | 30,2 | 16,3 | 22 | 9 | 46,5 | 1,85 |
| | 31,5 | 16,0 | 20 | 8 | 47,5 | 1,97 |
| | 52,9 | 19,2 | 22 | 8 | 72,1 | 2,76 |
| | 65,1 | 37,8 | 31 | 9 | 102,9 | 1,72 |
| | 31,3 | 29,8 | 13 | 5 | 61,1 | 1,05 |
| | 36,1 | 23,7 | 22 | 7 | 59,8 | 1,52 |
| | 28,5 | 29,3 | 14 | 5 | 57,8 | 0,97 |
| aI | 25,6 | 13,4 | 20 | 6 | 39.0 | 1,91 |
| | 42,8 | 28,7 | 26 | 8 | 71,5 | 1,49 |
| | 28,7 | 23,1 | 17 | 7 | 51,8 | 1,24 |
| | 41, 0 | 29,1 | 33 | 9 | 70,1 | 1,41 |
| | 33,2 | 15,1 | 22 | 10 | 48,3 | 2,20 |
| | 27,9 | 11,9 | 20 | 8 | 39,8 | 2,34 |
| | 13,2 | 7,7 | 10 | 4 | 20,9 | 1,71 |
| | 37,4 | 41,0 | 24 | 8 | 78,4 | 0,91 |
| | 37,7 | 19,2 | 23 | 8 | 56,9 | 1,96 |
| | 24,8 | 14,8 | 13 | 4 | 39,6 | 1,68 |
| | 40,0 | 15,5 | 22 | 7 | 55,5 | 2,58 |

| serie | spruit of wortel | N-opl. v(50:10(50)) v | extinctie | amonium 9½(50:10(50)) extinctie | | N-onopl. 2(50) extinctie |
|---|---|---|---|---|---|---|
| eI | spruit | 5 | 0,240 | | | 0,6167 |
| | | 5 | 0,253 | | | 0,6237 |
| | | 5 | 0,260 | | | |
| | wortel | 5 | 0,201 | | | 0,399 |
| | | 5 | 0,202 | | | 0,3997 |
| eII | spruit | 2 | 0,175 | 0,194 | | 0,586 |
| | | 2 | 0,180 | 0,205 | | 0,590 |
| | | | | 0,208 | | 0,598 |
| | | | | 0,210 | | |
| | wortel | 2 | 0,1555 | 0,190 | | 0,373 |
| | | 2 | 0,157 | 0,188 | | 0,377 |
| | | | | | | 0,380 |
| dII | spruit | 5 | 0,229 | | | 0,5697 |
| | | 5 | 0,239 | | | 0,574 |
| | | 5 | 0,242 | | | |
| | wortel | 5 | 0,194 | | | 0,384 |
| | | 5 | 0,196 | | | 0,3847 |
| dI | spruit | 2 | 0,179 | 0,180 | 0,223 | 0,491 |
| | | 2 | 0,186 | 0,186 | 0,233 | 0,491 |
| | | | | 0,209 | | 0,492 |
| | | | | 0,209 | | |
| | wortel | 2 | 0,161 | 0,176 | 0,191 | 0,318 |
| | | 2 | 0,164 | 0,190 | 0,196 | 0,320 |
| | | | | | | 0,324 |
| cI | spruit | 5 | 0,344 | | | 0,8827 |
| | | 5 | 0,349 | | | 0,8893 |
| | | 5 | 0,357 | | | |
| | wortel | 5 | 0,202 | | | 0,506 |
| | | 5 | 0,209 | | | 0,510 |
| | | 5 | 0,211 | | | |
| cII | spruit | 2 | 0,207 | 0,204 | 0,211 | 0,927 |
| | | 2 | 0,207 | 0,211 | 0,221 | 0,936 |
| | | | | | | 0,945 |
| | wortel | 2 | 0,178 | 0,194 | 0,200 | 0,477 |
| | | 2 | 0,172 | 0,196 | 0,207 | 0,489 |
| | | | | | | 0,495 |
| aII | spruit | 5 | 0,385 | | | - |
| | | 5 | 0,386 | | | |
| | wortel | 5 | 0,198 | | | |
| | | 5 | 0,203 | | | - |
| | | 5 | 0,205 | | | |
| aI | spruit | 2 | 0,226 | 0,207 | 0,215 | 0,770 |
| | | 2 | 0,232 | 0,209 | 0,218 | 0,782 |
| | | | | | | 0,784 |
| | wortel | 2 | 0,172 | 0,174 | 0,191 | 0,422 |
| | | 2 | 0,167 | 0,180 | 0,194 | 0,421 |

3 ml $H_2SO_4$ 5(50) : 0,172;0,173;0,175;0,176;0,176;0,179;

{3 ml H SO ↓3 filtreer papiertjes} 5(50): 0,369;0,377 0,391;0,403

blanco :0,138

v(50:10(50)) wil zeggen: v ml (voor kleurreactie) uit maatkolf van 50 ml, met daarin de stikstof van 10 ml uit een totaal van 50 ml. Berekende hoeveelheid stikstof dus vermenigvuldigen met 50/10 x 50/v

| serie | | als $10^{-3}$ mgat N | | | als $10^{-3}$ mgat N/plant | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $NH_4$ | N-opl | N-on | $NH_4$ | N-opl | N-on | N-tot |
| e I | s | | 15,9 | 38,1 | | 1,77 | 4,23 | 6,00 |
| | s&w | | 23,4 | 57,2 | | 2,60 | 6,35 | 8,95 |
| | w | | 7,4 | 19,1 | | 0,83 | 2,12 | 2,95 |
| eII | s | 5,9 | 16,8 | 35,6 | 0,66 | 1,87 | 3,95 | 5,82 |
| | s&w | 10,5 | 28,9 | 52,7 | 1,16 | 3,21 | 5,86 | 9,07 |
| | w | 4,6 | 12,1 | 17,1 | 0,51 | 1,34 | 1,90 | 3,25 |
| dII | s | | 13,0 | 33,9 | | 1,85 | 4,85 | 6,70 |
| | s&w | | 19,3 | 51,8 | | 2,75 | 7,40 | 10,15 |
| | w | | 6,3 | 17,8 | | 0,90 | 2,55 | 3,45 |
| d I | s | 6,1 | 18,9 | 27,0 | 0,76 | 2,37 | 3,37 | 5,74 |
| | s&w | 10,6 | 29,3 | 39,3 | 1,32 | 3,66 | 4,91 | 8,58 |
| | w | 4,5 | 10,4 | 12,3 | 0,56 | 1,29 | 1,54 | 2,84 |
| c I | s | | 32,9 | 60,9 | | 3,66 | 6,77 | 10,42 |
| | s&w | | 41,4 | 89,3 | | 4,59 | 9,93 | 14,52 |
| | w | | 8,4 | 28,5 | | 0,94 | 3,16 | 4,10 |
| cII | s | 6,6 | 29,5 | 65,2 | 0,60 | 2,68 | 5,92 | 8,60 |
| | s&w | 12,0 | 45,2 | 91,8 | 1,09 | 4,11 | 8,34 | 12,45 |
| | w | 5,4 | 15,7 | 26,6 | 0,49 | 1,43 | 2,42 | 3,85 |
| aII | s | | 39,0 | - | | 3,90 | - | ? |
| | s&w | | 46,5 | ? | | 4,65 | ? | ? |
| | w | | 7,5 | - | | 0,75 | - | ? |
| a I | s | 6,6 | 38,9 | 51,7 | 0,60 | 3,54 | 4,70 | 8,23 |
| | s&w | 10,8 | 52,3 | 72,6 | 0,98 | 4,75 | 6,60 | 11,36 |
| | w | 4,1 | 13,4 | 21,0 | 0,38 | 1,22 | 1,91 | 3,12 |

| | | als $10^{-3}$ mgat N/g versgewicht | | | | gem. | gem. | knopen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $NH_4$ | Nopl | N-on | N-tot | gew. | lengte | aant. |
| e I | s | | 56,55 | 135,1 | 191,6 | 31,31 | | |
| | s&w | | 42,9 | 105,0 | 147,8 | 60,53 | 21,33 | 8,56 |
| | w | | 28,2 | 72,7 | 101,0 | 29,22 | | |
| eII | s | 23,3 | 66,4 | 140,6 | 207,0 | 28,11 | | |
| | s&w | 23,3 | 64,3 | 117,3 | 181,6 | 49,93 | 19,67 | 7,67 |
| | w | 23,3 | 61,7 | 87,3 | 149,1 | 21,82 | | |
| dII | s | | 45,5 | 119,3 | 164,8 | 40,64 | | |
| | s&w | | 37,8 | 101,6 | 139,4 | 72,79 | 27,71 | 9,71 |
| | w | | 28.1 | 79,3 | 107,3 | 32,14 | | |
| dI | s | 31,9 | 98,9 | 140,9 | 239,8 | 23,94 | | |
| | s&w | 31,6 | 87,7 | 117,7 | 205,5 | 41,75 | 18,25 | 7,00 |
| | w | 31,2 | 72,7 | 86,6 | 159,3 | 17,81 | | |
| c I | s | | 72,7 | 134,6 | 207,3 | 50,29 | | |
| | s&w | | 53,0 | 114,5 | 167,5 | 86,72 | 25,78 | 9,22 |
| | w | | 25,7 | 86,8 | 112,5 | 36,43 | | |
| cII | s | 15,4 | 68,9 | 152,4 | 221,3 | 38,87 | | |
| | s&w | 16,2 | 61,0 | 124,0 | 185,1 | 67,28 | 24,09 | 9,64 |
| | w | 17,4 | 50,3 | 85,2 | 135,5 | 28,41 | | |
| aII | s | | 99,3 | - | ? | 39,29 | | |
| | s&w | | 74,3 | ? | ? | 62,62 | 21,10 | 7,60 |
| | w | | 32,2 | - | ? | 23,33 | | |
| a I | s | 18,8 | 110,4 | 146,6 | 257,0 | 32,03 | | |
| | s&w | 18,8 | 91,4 | 127,0 | 218,5 | 51,98 | 20,91 | 7,18 |
| | w | 18,8 | 60,8 | 95,6 | 156,5 | 19,95 | | |

| | $10^{-3}$ mgion $NO_2^-$ | $10^{-3}$ mgion $NO_2^-$/plant | $10^{-3}$ mgion $NO_2^-/g_V$ |
|---|---|---|---|
| a II s | 0,015 | 0,0015± 0,0006 | 0,04± 0,02 |
| s&w | 0,018 | 0,0018± 0,0012 | 0,03± 0,02 |
| w | 0,003 | 0,0003± 0,0006 | 0,01± 0,01 |
| c I s | 0,018 | 0,0018± 0,0007 | 0,04± 0,01 |
| s&w | 0,019 | 0,0019± 0,0013 | 0,03± 0,02 |
| w | 0,001 | 0,0001± 0,0007 | 0,00± 0,02 |
| d II s | 0,018 | 0,0018± 0,0007 | 0,06± 0,02 |
| s&w | 0,018 | 0,0018± 0,0013 | 0,04± 0,02 |
| w | 0,000 | 0,0000± 0,0007 | 0,00± 0,03 |
| e I s | 0,008 | 0,0008± 0,0007 | 0,03± 0,01 |
| s&w | 0,009 | 0,0009± 0,0013 | 0,02± 0,02 |
| w | 0,001 | 0,0001± 0,0007 | 0,00± 0,02 |

Proef 3.4.2.

| serie | gewicht (mg) spruit | wortel | totaal | s/w | lengte (mm) | aantal knopen | bloemen, knoppen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| e (bl) | 293,8 | 211,5 | 505,3 | 1,39 | 127 | 18 | 2 |
| | 96,6 | 50,0 | 146,6 | 1,93 | 78 | 12 | 1 |
| e (niet bl) | 41,8 | 55,9 | 97,7 | 0,75 | 70 | 13 | |
| | 48,6 | 51,9 | 99,9 | 0,95 | 47 | 13 | |
| | 78,2 | 44,3 | 122,5 | 1,77 | 72 | 17 | 1 |
| | 66,2 | 73,2 | 139,4 | 0,90 | 55 | 15 | |
| | 24,1 | 37,2 | 61,3 | 0,65 | 20 | 8 | |
| | 96,2 | 86.1 | 182,3 | 1,12 | 81 | 17 | 1 |
| | 103,2 | 66,0 | 169,2 | 1,56 | 86 | 16 | 1 |
| d (bl) | 115,2 | 84,0 | 199,2 | 1,37 | 80 | 17 | 1 , 1 |
| | 128,5 | 54,9 | 183,4 | 2,34 | 74 | 14 | 1 |
| | 179,7 | 43,3 | 223,0 | 4,15 | 105 | 15 | 1 |
| | 247,8 | 119,1 | 366,9 | 2,08 | 111 | 18 | 1 , 1 |
| d (niet bl) | 38,0 | 47,6 | 85,6 | 0,80 | 33 | 13 | |
| | 143,1 | 116,3 | 259,4 | 1,23 | 69 | 15 | 1 |
| | 107,9 | 68,8 | 176,6 | 1,57 | 89 | 17 | 1 |
| | 52,0 | 44,7 | 96,7 | 1,16 | 52 | 14 | |
| | 86,0 | 46,2 | 132,2 | 1,86 | 55 | 12 | |
| | 56,1 | 7,1 | 63,2 | 7,90 | 66 | 14 | |
| | 48,0 | 33,2 | 81,2 | 1,45 | 51 | 12 | |
| | 88,1 | 40,4 | 128,5 | 2,18 | 72 | 16 | 1 |
| | 169,8 | 136,4 | 306,2 | 1,24 | 82 | 18 | |
| c (bl) | 122,4 | 26,5 | 148,9 | 4,62 | 96 | 15 | 1 |
| | 95,5 | 32,9 | 128,4 | 2,90 | 91 | 16 | 1 |
| | 185,6 | 43,6 | 229,2 | 4,62 | 78 | 15 | 1 |
| | 165,2 | 96,3 | 261,5 | 1,72 | 94 | 14 | 1 |
| c (niet bl) | 125,6 | 58,4 | 184,0 | 2,15 | 57 | 17 | |
| | 79,3 | 58,3 | 137,6 | 1,36 | 76 | 17 | |
| | 157,4 | 149,0 | 306,4 | 1,06 | 97 | 19 | 1 |
| | 57,9 | 27,6 | 85,5 | 2,10 | 67 | 14 | |
| | 43,3 | 25,7 | 69,1 | 1,69 | 43 | 11 | |
| | 27,3 | 11,3 | 38,6 | 2,24 | 48 | 11 | |
| | 11,7 | 4,7 | 16,4 | 2,49 | 30 | 8 | |
| | 71,5 | 22,3 | 93,8 | 3,21 | 53 | 14 | |
| | 37,5 | 21,5 | 59,0 | 1,74 | 62 | 13 | |
| a (bl) | 251,0 | 92,8 | 343,8 | 2,70 | 99 | 16 | 2 |
| | 229,3 | 72,4 | 301,7 | 3,17 | 92 | 15 | 2 , 1 |
| | 264,5 | 112,3 | 376m8 | 2,36 | 108 | 18 | 2 , 1 |
| | 159,4 | 98.1 | 257,5 | 1,62 | 88 | 16 | 1 , 1 |
| a (niet bl) | 34,9 | 6,8 | 41,7 | 5,13 | 32 | 13 | |
| | 69,0 | 15,9 | 84,9 | 4,34 | 64 | 16 | 2 |
| | 103,6 | 39,8 | 143,4 | 2,60 | 57 | 15 | 1 |
| | 71,3 | 31,0 | 102,3 | 2,30 | 28&15&14 | 7&6&6 | |
| | 163,5 | 74,2 | 237,7 | 2,20 | 83 | 16 | 2 |
| | 229,6 | 175,6 | 405,2 | 1,31 | 91 | 16 | 3 |
| | 106,7 | 48,0 | 154,7 | 2,22 | 79 | 16 | |
| | 63,7 | 22,8 | 86,5 | 2,79 | | 17 | |

gemiddelden

| serie | gewicht (mg) spruit | wortel | totaal | s/w | lengte | aantal knopen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| e (bl) | 195,2 | 130,8 | 326,0 | 1,49 | 102,5 | 15,0 |
| (n.bl) | 65,4 | 59,1 | 124,6 | 1,11 | 61,6 | 14,1 |
| (tot.) | 116,5 | 75,9 | 192,4 | 1,53 | 70,7 | 14,3 |
| d (bl) | 167,8 | 75,3 | 243,1 | 2,23 | 92,5 | 16,0 |
| (n.bl) | 87,7 | 60,1 | 147,7 | 1,46 | 42,0 | 14,5 |
| (tot.) | 122,1 | 66,0 | 188,1 | 1,85 | 57,5 | 15,0 |
| c (bl) | 111,6 | 49,8 | 161,4 | 2,24 | 89,8 | 15,0 |
| (n.bl) | 68,0 | 42,1 | 110,0 | 1,61 | 59,2 | 13,8 |
| (tot.) | 91,0 | 46,0 | 137,0 | 1,98 | 68,6 | 14,2 |
| a (bl) | 226,1 | 93,9 | 320,0 | 2,41 | 96,8 | 16,3 |
| (n.bl) | 99,1 | 28,1 | 127,2 | 3,53 | 54,5 | 15,1 |
| (tot.) | 149,5 | 50,3 | 199,9 | 2,97 | 68,0 | 15,5 |

| serie | | v | N-opl $9\frac{1}{2}$(50:10(v)) | amonium $9\frac{1}{2}$(50:10(v)) | | N-onopl $\frac{1}{2}$(50) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| e bl | s | 50 | 0,279 | 0,162 | 0,162 | 0,300 |
| | | | 0,280 | 0,163 | 0,165 | 0,305 |
| | | | | | | 0,308 |
| | | | | | | 0,310 |
| | w | 50 | 0,226 | 0,160 | 0,192 | 0,261 |
| | | | 0,229 | 0,163 | 0,197 | 0,257 |
| n.bl. | s | 50 | 0,300 | 0,177 | | 0,397 |
| | | | 0,304 | 0,181 | | 0,399 |
| | w | 50 | 0,251 | 0,165 | 0,182 | 0,374 |
| | | | 0,253 | 0,167 | 0,183 | 0,382 |
| d bl . | s | 100 | 0,248 | 0,165 | 0,166 | 0,501 |
| | | | 0,250 | 0,168 | 0,167 | 0,508 |
| | w | 50 | 0,210 | 0,189 | 0,171 | 0,265 |
| | | | 0,217 | 0,189 | 0,173 | 0,271 |
| n.bl. | s | 100 | 0,260 | 0,159 | 0,164 | 0,571 |
| | | | 0,270 | 0,160 | 0,165 | 0,580 |
| | w | 50 | 0,236 | 0,162 | 0,169 | 0,350 |
| | | | 0,240 | 0,162 | 0,170 | 0m356 |
| c bl. | s | 50 | 0,330 | 0,165 | 0,188 | 0,406 |
| | | | 0,340 | 0,168 | 0,191 | 0,409 |
| | w | 50 | 0,210 | 0,159 | 0,156 | 0,220 |
| | | | 0,214 | 0,159 | 0,158 | 0,223 |
| n.bl. | s | 50 | 0,364 | 0,207 | 0,214 | 0,519 |
| | | | 0,366 | 0,211 | 0,219 | 0,522 |
| | | | | | | 0,524 |
| | | | | | | 0,526 |
| | w | 50 | 0,212 | 0,171 | 0,168 | 0,335 |
| | | | 0,213 | 0,171 | 0,168 | 0,337 |
| | | | | | | 0,343 |
| | | | | | | 0,350 |
| a bl. | s | 100 | 0,353 | 0,170 | 0,190 | 0,606 |
| | | | 0,355 | 0,172 | 0,193 | 0,605 |
| | w | 50 | 0,230 | 0,172 | 0,180 | 0,317 |
| | | | 0,233 | 0,174 | 0,182 | 0,315 |
| n.bl. | s | 100 | 0,381 | 0,173 | 0,193 | 0,678 |
| | | | 0,401 | 0,174 | 0,199 | 0,688 |
| | | | | | | 0,677 |
| | w | 50 | 0,278 | 0,176 | 0,176 | 0,388 |
| | | | 0,282 | 0,180 | 0,177 | 0,386 |
| | Blanco | | 0,133 | | | |

| serie | | als $10^{-3}$ mgat N/plant | | | | als $10^{-3}$ mgat N/g versgew. | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $NH_4$ | N-opl | N-on | Ntot | $NH_4$ | N-opl | N-on | N tot |
| e bl. | s | 1,35 | 6,25 | 28,0 | 34,3 | 6,94 | 32,0 | 143,7 | 174,5 |
| | s&w | 3,37 | 10,15 | 48,0 | 58,2 | 10,33 | 31,1 | 147,3 | 178,5 |
| | w | 2,01 | 3,10 | 20,0 | 23,9 | 15,38 | 29,8 | 152,8 | 182,6 |
| e n.bl. | s | 0,59 | 2,08 | 12,5 | 14,6 | 6,32 | 22,1 | 133,3 | 155,4 |
| | s&w | 1,13 | 3,51 | 24,1 | 27,6 | 7,30 | 22,8 | 156,0 | 178,8 |
| | w | 0,53 | 1,43 | 11,5 | 13,0 | 8,83 | 25,8 | 191,5 | 215,3 |
| e totaal | s | 0,76 | 3,01 | 16,0 | 19,0 | 6,55 | 25,8 | 137,1 | 163,0 |
| | s&w | 1,62 | 4,99 | 29,4 | 34,4 | 8,44 | 25,9 | 152,8 | 178,7 |
| | w | 0,86 | 1,98 | 13,4 | 15,4 | 11,34 | 26,1 | 187,7 | 215,4 |
| d bl. | s | 1,51 | 5,06 | 31,1 | 36,1 | 9,02 | 30,2 | 185,1 | 215,3 |
| | s&w | 2,58 | 6,70 | 42,7 | 49,3 | 10,64 | 27,5 | 175,4 | 203,0 |
| | w | 1,07 | 1,64 | 11,6 | 13,2 | 14,25 | 21,7 | 153,9 | 175,6 |
| d n.bl. | s | 0,59 | 2,57 | 16,6 | 19,1 | 5,82 | 25,3 | 162,9 | 188,1 |
| | s&w | 0,92 | 3,63 | 24,6 | 28,2 | 5,63 | 22,2 | 150,3 | 172,5 |
| | w | 0,33 | 1,06 | 8,0 | 9,1 | 5,31 | 17,1 | 129,7 | 146,8 |
| d totaal | s | 0,88 | 3,34 | 21,0 | 24,4 | 7,17 | 27,3 | 172,3 | 199,6 |
| | s&w | 1,43 | 4,57 | 30,2 | 34,7 | 7,62 | 24,3 | 160,3 | 184,6 |
| | w | 0,56 | 1,24 | 9,1 | 10,4 | 8,45 | 18,7 | 138,1 | 156,9 |
| c bl. | s | 1,02 | 4,56 | 22,7 | 27,3 | 9,11 | 40,9 | 203,8 | 244,7 |
| | s&w | 1,58 | 6,17 | 29,5 | 35,7 | 9,80 | 38,2 | 182,8 | 217,9 |
| | w | 0,56 | 1,60 | 6,8 | 8,4 | 11,30 | 32,2 | 135,9 | 168,6 |
| c n.bl. | s | 0,80 | 2,25 | 14,5 | 16,8 | 9,78 | 27,5 | 177,2 | 204,6 |
| | s&w | 1,17 | 2,97 | 22,1 | 25,0 | 9,25 | 23,5 | 174,9 | 198,4 |
| | w | 0,37 | 0,72 | 7,6 | 8,3 | 8,26 | 16,2 | 170,6 | 186,8 |
| c totaal | s | 0,87 | 2,96 | 17,0 | 20,0 | 9,53 | 32,5 | 187,2 | 219,7 |
| | s&w | 1,29 | 3,95 | 24,4 | 28,3 | 9,45 | 28,8 | 177,7 | 206,6 |
| | w | 0,43 | 0,99 | 7,3 | 8,3 | 9,29 | 21,5 | 159,0 | 180,5 |
| a bl. | s | 2,18 | 9,80 | 39,7 | 49,5 | 9,64 | 43,4 | 175,8 | 219,1 |
| | s&w | 3,17 | 11,85 | 54,6 | 66,5 | 9,92 | 37,0 | 170,7 | 207,7 |
| | w | 0,99 | 2,04 | 14,9 | 16,9 | 10,59 | 21,8 | 158,5 | 180,2 |
| a n.bl. | s | 1,17 | 5,74 | 23,1 | 28,8 | 9,70 | 47,6 | 191,6 | 239,2 |
| | s&w | 1,67 | 7,31 | 33,6 | 40,9 | 10,95 | 48,0 | 220,6 | 268,5 |
| | w | 0,50 | 1,57 | 10,5 | 12,1 | 15,76 | 49,5 | 330,7 | 380,2 |
| a totaal | s | 1,51 | 7,09 | 28,6 | 35,7 | 9,67 | 45,5 | 183,9 | 229,5 |
| | s&w | 2,17 | 8,82 | 40,6 | 49,4 | 10,43 | 42,4 | 194,0 | 237,4 |
| | w | 0,66 | 1,73 | 12,0 | 13,7 | 12,67 | 32,9 | 227,9 | 260,9 |

## 5.3. Statistische bewerkingen

### Eén factor variantie analyse

proef 3.3.2., N.R.A. spruit

| source of variation | s.s. | d.f. | m.s. | F | |
|---|---|---|---|---|---|
| between levels | 0,0422 | 2 | 0,0211 | 0,94 | $X^2$ = 5,08 |
| residual | 0,1574 | 7 | 0,0225 | | df = 2 |
| total | 0,1996 | 9 | | | |

wortel N.R.A

| source of variation | s.s. | d.f. | m.s. | F | |
|---|---|---|---|---|---|
| between levels | 0,00196 | 2 | $9,81 \cdot 10^{-4}$ | 0,084 | $X^2$ = 7,33 * |
| residual | 0,0587 | 5 | $117,4 \cdot 10^{-4}$ | | df = 2 |
| total | 0,0606 | 7 | | | |

proef 3.3.3., N.R.A. spruit

| source of variation | s.s. | d.f. | m.s. | F | |
|---|---|---|---|---|---|
| between levels | 0,0587 | 1 | 0,0587 | 1,53 | $X^2$ = 1,43 |
| residual | 0,1538 | 4 | 0,0384 | | df = 1 |
| total | 0,2125 | 5 | | | |

proef 3.3.4., N.R.A. spruit

| source of variation | s.s. | d.f. | m.s. | F | |
|---|---|---|---|---|---|
| between levels | 0,0241 | 1 | 0,0241 | 0,10 | $X^2$ = ,75 |
| residual | 1,1676 | 5 | 0,2335 | | df= 1 |
| total | 1,1917 | 6 | | | |

proef 3.4.1., totaal gewicht

| source of variation | s.s. | d.f. | m.s. | F | |
|---|---|---|---|---|---|
| between levels | 5876 | 3 | 1958 | 3,19* | $X^2$ = 6,76 |
| residual | 43042 | 70 | 615 | | df = 3 |
| total | 48918 | 73 | | | |

s/w verhouding

| source of variation | s.s. | d.f. | m.s. | F | |
|---|---|---|---|---|---|
| between levels | 1,76 | 3 | 0,587 | 2,57 | $X^2$ = 2,56 |
| residual | 15,98 | 70 | 0,228 | | df = 3 |
| total | 17,74 | 73 | | | |

lengte

| source of variation | s.s. | d.f. | m.s. | F | |
|---|---|---|---|---|---|
| between levels | 226 | 3 | 75,25 | 1,73 | $X^2$ = 1,86 |
| residual | 3048 | 70 | 43,55 | | df = 3 |
| total | 3274 | 73 | | | |

aantal knopen

| source of variation | s.s. | d.f. | m.s. | F | |
|---|---|---|---|---|---|
| between levels | 47,01 | 3 | 16,67 | 4,15* | $X^2$ = 5,96 |
| residual | 264,6 | 70 | 3,78 | | df = 3 |
| total | 311,6 | 73 | | | |

(De chi-kwadraten zijn berekend voor Bartlett's test
* : significant waarschijnlijkheidsniveau 95%; in dit geval heet de varaintieanalyse geen waarde.)

N totaal/g versgewicht

| source of variation | s.s. | d.f. | m.s. | F |
|---|---|---|---|---|
| between levels | 140 | 2 | 69,8 | 0,07 |
| residual | 2910 | 3 | 970,2 | |
| total | 3050 | 5 | | |

N-opl/g versgewicht

| source of variation | s.s. | d.f. | m.s. | F |
|---|---|---|---|---|
| between levels | 1028 | 3 | 343 | 0,83 |
| residual | 1652 | 4 | 413 | |
| total | 2680 | 7 | | |

N totaal/plant

| source of variation | s.s. | d.f. | m.s. | F |
|---|---|---|---|---|
| between levels | 24,75 | 2 | 12,38 | 10,98* |
| residual | 3,38 | 3 | 1,13 | |
| total | 28,13 | 5 | | |

N-opl/plant

| source of variation | s.s. | d.f. | m.s. | F |
|---|---|---|---|---|
| between levels | 4,534 | 3 | 1,511 | 8,39* |
| residual | 0,720 | 4 | 0,180 | |
| total | 5,255 | 7 | | |

proef G, totaal gewicht

| source of variation | s.s. | d.f. | m.s. | F | |
|---|---|---|---|---|---|
| between levels | 36500 | 3 | 12167 | 1,03 | $X^2$ = 2,47 |
| residual | 509848 | 43 | 11856 | | df = 3 |
| total | 546348 | 46 | | | |

s/w verhouding

| source of variation | s.s. | d.f. | m.s. | F | |
|---|---|---|---|---|---|
| between levels | 12,68 | 3 | 4,227 | 2,56 | $X^2$ = 14,98** |
| residual | 71,03 | 43 | 1,652 | | df = 3 |
| total | 83,72 | 46 | | | |

lengte

| source of variation | s.s. | d.f. | m.s. | F | |
|---|---|---|---|---|---|
| between levels | 340 | 3 | 113 | 0,20 | $X^2$ = 1,08 |
| residual | 24313 | 42 | 579 | | df = 3 |
| total | 24653 | 45 | | | |

aantal knopen

| source of variation | s.s. | d.f. | m.s. | F | |
|---|---|---|---|---|---|
| between levels | 16,9 | 3 | 5,64 | 0,94 | $X^2$ = 6,98 |
| residual | 258,4 | 43 | 6,01 | | df = 3 |
| total | 275,3 | 46 | | | |

aantal bloemen en knoppen

| source of variation | s.s. | d.f. | m.s. | F | |
|---|---|---|---|---|---|
| between levels | 8,43 | 3 | 2,810 | 3,92 | $X^2$ = 9,30** |
| residual | 30,85 | 43 | 0,717 | | df = 3 |
| total | 39,28 | 46 | | | |

(zie voetnoot p. 51; **: P= 99%)

Correlatie rekening

Correlatie is berekend voor de volgende factoren:
x: nitraatconcentratie
y: gemiddeld totaal gewicht
z: N-totaal/g versgewicht
s: s/w verhouding
n: N-onopl/g versgewicht
o: N-oplosbaar/g versgewicht

r: (product moment) correlatie coefficient
pr: partiele correlatie coefficient
mr: multipele correlatie coefficient

341
proef F, spruit, n:7

| | | |
|---|---|---|
| r(xy): 0,135 | pr(xy,z): 0,585 | $mr^2$(y,xz): 0,443 |
| r(xz): 0,674 | pr(xz,y): 0,797* | |
| r(yz): -0,390 | pr(yz,x): -0,658 | |

wortel, n:7

| | | |
|---|---|---|
| r(xy): 0,225 | pr(xy,z): 0,760* | $mr^2$(y,xz): 0,906 |
| r(xz): 0,147 | pr(xz,y): 0,752* | |
| r(yz): -0,882** | pr(yz,x): -0,949*** | |

hele plant, n:7

| | | |
|---|---|---|
| r(xy): -0,018 | pr(xy,z): 0,587 | $mr^2$(y,xz): 0,582 |
| r(xz): 0,632 | pr(xz,y): 0,779* | |
| r(yz): -0,604 | pr(yz,x): -0,764* | |
| r(xs): 0,869** | pr(xs,y): 0,871** | $mr^2$(s,xz): 0,843 |
| | pr(xs,z): 0,775* | |
| r(zs): 0,779* | pr(zs,x): 0,600 | |
| r(yn): -0,347 | pr(yn,o): 0,498 | $mr^2$(y,no): 0,601 |
| r(yo): -0,685* | pr(yo,n):- 0,739** | |

342
proef G, spruit, n:4

| | | |
|---|---|---|
| r(xy): 0,637 | pr(xy.z): 0,785 | $mr^2$(y,xz): 0,632 |
| r(xz): 0?783 | pr(xz,y): 0,866* | |
| r(yz): 0,202 | pr(yz,x): -0,616 | |

wortel, n:4

| | | |
|---|---|---|
| r(xy): -0,684 | pr(xy,z): -0,865* | $mr^2$(y,xz): 0,756 |
| r(xz): 0,761 | pr(xz,y): 0,895* | |
| r(yz): -0,172 | pr(yz,x): 0,735 | |

hele plant, n:4

| | | |
|---|---|---|
| r(xy): 0,190 | pr(xy,z): 0,999*** | $mr^2$(y,xz): 0,997 |
| r(xz): 0,987*** | pr(xz,y): 1,000*** | |
| r(yz): 0,033 | pr(yz,x): -0,998*** | |
| r(xs): 0,987*** | pr(xs,y): 0,987*** | $mr^2$(s,xz): 0,975 |
| r(zs): 0,966** | pr(xs,z): 0,789 | |
| | pr(zs,x): -0,210 | |
| r(yn): -0,090 | pr(yn,o): 0,863* | $mr^2$(y,no): 0,747 |
| r(yo): 0,285 | pr(yo,n): 0,851* | |

## 5.4. Fouten discussie

Als de berekende grootheid $F(c_j)$ een functie is van de parameters $c_j$ ($j = 1, 2, \ldots, n$), dan wordt de verwachte maximale absolute fout in $F(c\ )$ als volgt berekend:

$$\Delta F(c_j) = \sum_{j=1}^{n} \left( \left| \frac{dF(c_j)}{dc_j} \right| . \Delta c_j \right)$$ waarin $\Delta c_j$ de geschatte maximale absolute fout is in $c_j$

Om een idee te krijgen over de grootte van de te verwachten maximale fouten in de stikstofbepalingen, worden deze berekend voor proef 3.4.1.

N-bepaling in het zwavelzuur, gebruikt bij de destructie.
De hoeveelheid stikstof wordt als volgt berekend:

$N = 3{,}475\ V_{50}/V_5\ .(E_N - E_o)$, waarin $V_{50}$ = volume maatkolf (50 ml)
$V_5$ = gepipetteerd vol. (5 ml)
$E_N$ = gemeten extinctie
$E_o$ = extinctie blanco

De fout wordt volgens bovenstaande formule berekend; uitgewerkt:

$$\Delta N = \left|\frac{dN}{dV_{50}}\right| . \Delta V_{50} + \left|\frac{dN}{dV_5}\right| . \Delta V_5 + \left|\frac{dN}{dE_N}\right| . \Delta E_N + \left|\frac{dN}{dE_o}\right| . \Delta E_o,$$ waarin

$\Delta V_{50} = 0{,}1$ ml
$\Delta V_5 = 0{,}01$ ml
$\Delta E_N = E_o = 0{,}001$ , dan wordt
de verwachte maximale absolute fout $\Delta N = 0{,}072\ .\ 10^{-3}$ mgat N
de verwachte maximale relatieve fout $\Delta N/N.100\% = 10\%$

De hoeveelheid stikstof in een filtreerpapiertje wordt als volgt berekend:

$$N_p = (3{,}475.V_{50}/V_5\ .\ (E_N - E_o) - N_{H_2SO_4})/3,$$ waarin

$N_{H_2SO_4}$ = hoeveelheid stikstof in de voor de destructie gebruikte zwavelzuur. De fout wordt als gebruikelijk berekend.(zie boven)
De verwachte maximale absolute fout $\Delta N_p = 0{,}12.\ 10^{-3}$ mgat N,
de verwachte maximale relatieve fout $\Delta N_p/N_p.100\% = 4{,}5\%$

N-opl wordt als volgt berekend:

$$N\text{-opl} = 3{,}475.\frac{V_{50}.V'_{50}}{V_{10}.V_2}.\ (E_N - E_o) - N_{H_2SO_4}$$

$V_{10}$ = gedestrueerd volume filtraat(10 ml)
$V_2$ = gepipetteerd volume (voor kleurreactie)(2 ml)
$V'_{50}$ = volume met overgedestilleerde amonium (50 ml)
verder als boven.
$\Delta V_{50} = \Delta V'_{50} = 0{,}1$
$\Delta V_{10} = \Delta V_2 = 0{,}01$
$\Delta E_N = \Delta E_o = 0{,}001$
De verwachte maximale absolute fout $\Delta N = 1{,}06$ tot $1{,}32.10^{-3}$ mgatN,
de verwachte maximale relatieve fout $\Delta N/N\text{-opl}.100\% = 8{,}7\%$ tot $3{,}5\%$.

N -onopl wordt als volgt berekend:

$$N\text{-onopl} = 3{,}475.\frac{V_{50}}{V_2}.(E_N - E_o) - N_{H_2SO_4} - N_p$$

De verwachte maximale absolute fout $\Delta N = 0{,}5$ tot $0{,}8.10^{-3}$ mgat N,
de verwachte maximale relatieve fout $\Delta N/N.100\% = 4{,}4\%$ tot $1{,}3\%$

De hoeveelheid stikstof in de ammonium fractie wordt als volgt berekend:

$$N = 3{,}475 . \frac{V_{50} \cdot V'_{50}}{V_{10} \cdot V_{9\frac{1}{2}}} . (E_N - E_o),$$ waarin:

$V_{50}$ = volume filtraat (50 ml)
$V'_{50}$ = volume met overgedestilleerde ammonium (50 ml)
$V_{10}$ = voor destillatie gebruikt volume (10 ml)
$V_{9\frac{1}{2}}$ = voor colorimetrische bepaling gebruikt volume destillaat ($9\frac{1}{2}$ ml)

De verwachte maximale absolute fout $\Delta N = 0{,}20$ tot $0{,}22 . 10^{-3}$ mgat N, de verwachte maximale relatieve fout $\Delta N/N . 100\% = 5{,}6\%$ tot $3{,}1\%$.

In proef 3.4.2. kunnen lagere relatieve fouten worden verwacht, omdat:
- grotere volumina gebruikt zijn, enomdat
- hogere extincties gevonden zijn.

Er zijn ook systematische fouten gemaakt b.v. bij het kwantitatief overbrengen van het met vloeibare stikstof fijngemaakt plantenmateriaal naar de erlenmeyer om te schudden met HCl. Ook bij het overbrengen van de gedestrueerde mengsels naar de destillatiekolf kunnen fouten optreden. Door genoemde fouten zal enig verlies van stikstof kunnen optreden. De grootte van de zo gemaakte fouten is hoogstens te raden.

## 5.5. "Lists" van de gebruikte programma's.

### IJklijn nitraat

```
0:
.03272649→R0:-.0
0148746→R5:.0675
5387→R12⊢
1:
.09285886→R1:.00
345655→R6:.09339
633→R11⊢
2:
.96320513→R3:.03
47253→R8:.369728
45→R13⊢
3:
1.06886144→R4:.1
1182785→R9⊢
4:
"*":CFG 13⊢
5:
ENT "VERK.FACTOR
":R14⊢
6:
PRT "VERK.FACTOR
":R14:SPC ⊢
7:
"+":ENT "EXTINCT
IE=?":R15:IF
FLG 13:GTO "*"⊢
8:
PRT R15:(R15<R10
):(R15+R5)/R0+(R1
5<R11):(R15>R10):(
R15+R6)/R1→Z⊢
9:
(Z+(R15<R10):(R15
>R11):(R15+R8)/R3
+(R15>R13):(R15+R
9)/R4:R14→Z⊢
10:
PRT Z⊢
11:
GTO "+":SPC ⊢
12:
END ⊢
```

### Nitraatreductase activiteit

```
0:
0→R0→R1⊢
1:
ENT "V1":R4:IF
FLG 13=1:JMP 4⊢
2:
ENT "E1":C:"E2":
B:"G":X:"T2-T1":
Y:R4-1→R4⊢
3:
PRT 10.3627329→R
3:A(B-C)/XY:SPC
⊢
4:
A(B-C)/Y→R2→R3:X
-R1→R1:CFG 13:
GTO 1⊢
5:
PRT "GEM.V.R A.=
":R3→R0/R1⊢
6:
PRT "10↑-3 ":"MG
IOR NO2-/G/UUR":
SPC ⊢
7:
CFG 13⊢
8:
END ⊢
```

### Berekening som, gemiddelde en spreiding

```
0:
0→A→C→Y→X⊢
1:
CFG 13:1→B:ENT "
KLASSE?":A:IF
FLG 13=1:GTO 3⊢
2:
ENT "FREQ.?":B:A
B+C→C:AAB+X→X:B+
Y→Y:GTO -1:PRT Y
,A,C:SPC ⊢
3:
PRT "SOM=",C,"TO
T.FREQ.=",Y⊢
4:
PRT "GEM.=",C/Y,
"S=",((XY-CC)/(Y
Y-Y)):0.5:SPC 2⊢
5:
END ⊢
```

Regressie- en correlatie-rekening. Berekening van concentraties uit extincties bij ijklijnen.

```
0:
ENT "AANTAL PUNT
EN",C;0→A→R0→R1→
R2→R3→R4;IF FLG
13;GTO "3"⊢
1:
"ENT";ENT X,Y⊢
2:
X+R0→R0;XX+R1→R1
;Y+R2→R2;YY+R3→R
3;XY+R4→R4⊢
3:
SPC 1;PRT X,Y⊢
4:
IF C>(A+1→A);
GTO "ENT"⊢
5:
CR4-R0*R2+R5;CR1
-R0*R0+R6;CR3-R2
*R2+R7;SPC ⊢
6:
PRT "  Y=(R1)X-
B1";"R1=",R5/R6+
R8⊢
7:
PRT "B1=",R8*R0/
C-R2/C*R10⊢
8:
PRT "R=",(R5*R0/
R7)↑0.5*R8/(R6*R
8)↑0.5*R11⊢
9:
PRT "GEM.X=",R0/
C,"GEM.Y=",R2/C⊢
10:
PRT "RESTVAR.Y O
P X",(1-R11*R11)
R7/(CC-C)⊢
11:
PRT "RESTVAR.X O
P Y",(1-R11*R11)
R6/(CC-C)⊢
12:
PRT "N=",C⊢
13:
"3";CFG 13⊢
14:
ENT "  VERM.FACT
OR",R12;IF FLG 1
3=1;GTO 19⊢
15:
PRT "VERM.FACTOR
",R12;SPC ⊢
16:
"4";ENT "EXTINCT
IE",R9;IF FLG 13
=1;GTO "3"⊢
17:
PRT R9,R12*(R9+R
10)/R8⊢
18:
GTO "2";SPC ⊢
19:
CFG 13⊢
20:
END ⊢
```

Berekening partiele en multipele correlatie bij drie variabelen.

```
0:
ENT "N=?",C;0→B→
R0→R1→R2→R3→R4→R
5→R6→R7→R8⊢
1:
"ENT";ENT X,Y,"Z
";A⊢
2:
X+R0→R0;XX+R1→R1
⊢
3:
Y+R2→R2;YY+R3→R3
;XY+R4→R4⊢
4:
Z+R5→R5;ZZ+R6→R6
;XZ+R7→R7;YZ+R8→
R8⊢
5:
SPC 1;PRT X,Y,A⊢
6:
IF C>(B+1→B);
GTO "ENT"⊢
7:
CR1-R2*R0+R9;CR3
-R2*R2+R10;CR6-R
5*R5+R11⊢
8:
9:
PRT "R(XY)=",(CR
4-R2*R0)/(R9*R10
)↑.5→R12⊢
9:
PRT "R(XZ)=",(CR
7-R0*R5)/(R9*R11
)↑.5→R13⊢
10:
PRT "R(YZ)=",(CR
8-R2*R5)/(R10*R1
1)↑.5→R14⊢
11:
PRT "PR(XY,Z)=",
(R12-R13*R14)/((
1-R13*R13)(1-R14
*R14))↑.5⊢
12:
PRT "PR(XZ,Y)=",
(R13-R12*R14)/((
1-R12*R12)(1-R14
*R14))↑.5⊢
13:
PRT "PR(YZ,X)=",
(R14-R12*R13)/((
1-R12*R12)(1-R13
*R13))↑.5⊢
14:
PRT "MR↑2 (X,YZ)
="⊢
15:
PRT (R12*R12+R13
*R13-2R12*R13*R1
4)/(1-R14*R14)⊢
16:
PRT "MR↑2 (Y,XZ)
="⊢
17:
PRT (R12*R12+R14
*R14-2R12*R13*R1
4)/(1-R13*R13)⊢
18:
PRT "MR↑2 (Z,XY)
="⊢
19:
PRT (R13*R13+R14
*R14-2R12*R13*R1
4)/(1-R12*R12)⊢
20:
PRT "N=",C⊢
21:
END ⊢
```

programma voor"single factor analysis of variance"

hoofdprogramma

```
0:
0→B→C→X→Y→R0⊢
1:
ENT "AANT.STEEKP
R.?",A⊢
2:
IF (R0-1→R0)<A)
CLL "LEVEL"⊢
3:
IF R0<A)JMP -1⊢
4:
PRT "BETW.LEV.S.
S.=",Y-CC/B→R1,"
RESIDUAL S.S.=",
X-Y→R2⊢
5:
PRT "TOTAL S.S.=
",X-CC/B,"BETW.L
EV.D.F.=",A-1⊢
6:
PRT "RESIDUAL D.
F.=",B-A,"TOTAL
D.F.=",B-1⊢
7:
PRT "BETW.LEV.M.
S.=",R1/(A-1)→R3
,"RESIDUAL M.S.=
",R2/(B-A)→R4⊢
8:
PRT "F=",R3/R4⊢
```

subroutine
subprogram

```
0:
"LEVEL":0→P1→P2→
P3→P4⊢
1:
ENT "X=?",P1;IF
FLG 13;GTO +3⊢
2:
P1→P2→P2;P1→P1+P
3→P3;P4+1→P4⊢
3:
PRT P1;GTO -2⊢
4:
CFG 13;PRT "NI="
,P4,"TI=",P2,"X
GEM.=",P2/P4⊢
5:
PRT "SI=",P3,"TI
*2/NI",P2*P2/P4⊢
6:
PRT "ST.DEV.=",(
(P3-P2*P2/P4)/(P
4-1))↑.5⊢
7:
P4→B→B;P2→C→C;P3
→X→X;P2*P2/P4→Y→
Y⊢
8:
PRT "-----------
-----"⊢
9:
END ⊢
```

6. Literatuur.

Algol-procedure KLKWWF, ASRA-16, Rekencentrum der Rijksuniversiteit te Groningen; 1968

Atsatt, P.R.: "Parasitic flowering plants: how did they evolve?" Am. Naturalist 107, 956(1973) 502-510.

Bates,T.E.: "Factors affecting critical nutrient concentration in plants and their evaluation: a review."Soil Sci. 112 (1971) 116-130.

Beevers, L. & R.H.Hageman:"Nitrate reduction in higher plants.", Ann. Rev. Plant Physiol. 20 (1969) 495-522.

Bieleski, R.L.: "Phosphate pools, phosphate transport and phosphate availability". Ann. Rev. Plant Physiol. 24 (1974) 225-252.

de Boer, J.M.U.:"Onderzoek naar de relatie gastheer-parasiet : de beinvloeding van de fotosynthesesnelheid". doct. verslag (1972).

v. d. Boogaart, P.:pers.med. (1974).

Brouwer, R. & P.J.C. Kuiper: "Leerboek der plantenfysiologie. III. Oecofysiologische relaties", (1972).

Campbell, R.C. :"Statistics for biologists", (1967).

Daft, M.J. & B.O. Okusanya: "Effect of Endogone mycorrhiza on plant growth. VI. Influence of infection on the anatomy and reproductive development in four hosts", New Phytol. 72 (1973) 1333-1339.

van Dieten, F.:"De relatie gastheer-halfparasiet (Rhinanthus serotinus). Onderzoek naar de fotosynthese, koolhydraat-en stikstofgehaltes, bekeken in de tijd", doct. verslag (1973).

van de Duim, M.: "Enkele aspecten van de relatie gastheer- halfparasiet (Rhinanthus serotinus). Onderzoek naar de koolhydraat- en stikstofgehaltes", doct. verslag (1972).

Eaton, S.V.: "Effects of phosphorus deficiency on growth and metabolism of black mustard", Bot. Gaz. 113 (1952) 301-309.

Epstein, E.: "Mineral nutrition of plants, principles and perspectives", (1972).

Galston, A.W. and P.J. Davies: "Control mechanisms in plant development", (1970).

Govier, R.N., J.G.S. Brown & J.S.Pate: "Hemiparasitic nutrition in Angiosperms.2. Root haustoria and leaf glands of Odontites verna (Bell.) Dum. and their relevance to the abstraction of solutes from the host", New Phytol. 67 (1968) 960-972.

Govier, R.N., M.D. Nelson & J.S. Pate: "Hemiparasitic nutrition in Angiosperms. 1. The transfer of organic compounds from host to Odontites verna (Bell.) Dum. (Scrophulariaceae)", New Phytol 66 (1967) 285-297

"Handleiding voor de derdejaars cursus planteoecologie", (1968) 22-24

"Handleiding voor het natuurkundig practicum aan de Rijksuniversiteit te Groningen voor studenten in de chemie, biologie,

farmacie en geologie", (1966).

Hofstra, J.J. & C.H. Klaren: "Host-parasite relations in Rhinanthus serotinus. II. Physiological interactions between host and parasite", Proc. Eur. Weed Res. Coun.Symp. Parasitic Weeds (1973) 247-256.

Hull, R.J. & O.A. Leonard: "Physiological aspects of parasitism in mistletoes (Arceuthobium and Phoradendron). 1. The carbohydrate nutrition of mistletoe", Plant Physiol. 39 (1964) 996-1007.

Hull, R.J. & O.A. Leonard: "Physiological aspects of parasitism in mistletoes (Arceuthobium and Phoradendron). 2. The photosynthetic capacity of mistletoe", Plant Physiol. 39 (1964) 1008-1017.

Jaworski, E.G.: "Nitate reductase assay in intact plant tissues", Biochem. Biophys. Comm. 43,6 (1971) 1274-1279.

Klaren, C.H.: "Enige biochemische aspecten van de relatie gastheer-halfparasiet", doct. verslag (1971).

Klaren, C.H.: pers. med. (1974).

Klepper, L., D. Flesher & R.H. Hageman: "Generation of reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide for nitrate reduction in green leaves", Plant Physiol. 48 (1971) 580-590.

Kuit, J.: "The biology of parasitic flowering plants", (1969).

Leonard, O.A.: "Translocation in and between mistletoes and their hosts and the significance of this in relation to chemical control", Proc. Eur. Weed Res. Coun. Symp. Parasitic Weeds (1973) 188-193.

Meyboom, H. "Het transport van organische verbindingen van de gastheer naar Rhinanthus glaber Lamk.", doct. verslag (1968).

Minotti, P.L. & W.A. Jackson: "Nitate reduction in the roots and shoots of wheat seedlings", Planta 95 (1970) 36-44.

Musselman, L.J.: "On the anatomy of the haustoria of parasitic Srophulariaceae", Proc. Eur. Weed Res. Coun. Symp. Parasitic Weeds (1973) 140-148.

Okonkwo, S.N.C.: "Studies on Striga senegalensis. 2. Translocation of $C^{14}$-labelled photosynthate, urea-$C^{14}$ and sulphur-35 between host and parasite", Am.J. Bot., N.S. 53 (1966) 142-146.

Ranjan, S. & B. Malaviya: "Effects of phosphorus deficiency on the free and protein bound aminoacids of the linseed plant", Flora 152 (1962) 399-408.

Richards, F.J.: "The quantitative analysis of growth", in F.C. Steward (ed.): "Plant physiology", 5 A (1969) 3-76.

Rogers, W.E. & R.R. Nelson: "Penetration and nutrition of Striga asiatica", Phytopathol. 52 (1962) 1064-1070.

Setty, P.N., M.U. Beg, M. Singh & P.S. Krishnan: "Biochemical aspects of parasitism by the angiosperm parasites: changes in nucleic acid content of infected hosts", Physiol. Plant. 22 (1969) 729-733.

Siegel, S. "Nonparametric statistics for the behavioral sciences", (1956).

Singh, J.N., T.B. Rai & J.N. Singh: "Studies on the physiology of host-parasite relationship in Orobanche. 3. Carbohydrate and nitrogen metabolism of host and parasite", Physiol. Plant 27 (1972) 347-353.

Singh, J.N. & J.N. Singh: "Studies on the physiology of host-parasite relationship in Orobanche. 1. Respiratory metabolism of host and parasite", Physiol. Plant. 24 (1971) 380-386.

Singh, J.N., J.N. Singh & T.B. Rai: "Studies on the physiology of host-parasite relationship in Orobanche. 2. Growth and mineral nutrition of host and parasite", Physiol. Plant. 25 (1971) 425-431.

Singh, M., O.V. Singh, P.C. Misra, K.K. Tewari & P.S. Krishnan: "Biochemical aspects of parasitism by angiosperm parasites: starch accumulation", Physiol. Plant. 21 (1968) 525-538.

Smith, P.F.: "Mineral analysis of plant tissues", Ann. Rev. Plant Phys. 13 (1962) 81-108.

Streeter, J.G. & M.E. Bosler: "Comparison of in vitro and in vivo assays for nitrate reductase in soybean leaves", Plant Physiol. 49 (1972) 448-450.

Stulen, G.: "Nitrate reduction in radish seedlings", (1974) diss.

Whitney, P.J.: "Transport across the region of fusion between bean (Vicia faba) and broomrape (Orobanche crenata)", Proc. Eur. Weed Res. Coun. Symp. Parasitic Weeds (1973) 154-166.

Wenzel, G.: "Einflusz unterschiedlicher N und P Düngung auf den Aminosäure-gehalt von Spinatblättern", (1966), diss.