



DGG-Proceedings

Vol. 1, 2011

Short Communications - Annual Conference DGG and BHGL
23.02. - 26.02.2011, Hannover, Germany
Peer Reviewed

Editorial Board and Review

Balder, Hartmut *Berlin*
Damerow, Lutz *Bonn*
Dirksmeyer, Walter *Braunschweig*
Drüge, Uwe *Erfurt*
Michaelis, Gerlinde *Bad-Zwischenahn*
Rath, Thomas *Hannover*
Schreiner, Monika *Großbeeren*
Schuster, Mirko *Dresden*
Winkelmann, Traud *Hannover*

German Society of Horticultural Sciences (DGG)
Herrenhäuser Str. 2
30419 Hannover
Germany

© DGG, 2011

DGG-Proceedings, Vol. 1 (2011), No. 4, 1-5. DOI: 10.5288/dgg-pr-01-04-dl-2011

Dieter Lohr, Peter Tillmann, Siegfried Zerche, Uwe Drüge, Elke Meinken

Nutzung der Nah-Infrarot-Spektroskopie (NIRS) zur zerstörungsfreien Analyse von Stickstofffraktionen in Zierpflanzenstecklingen

*Corresponding Author:

Dieter Lohr

Staatliche Forschungsanstalt für Gartenbau Weihenstephan
Am Staudengarten 14
85354 Freising
Germany
Email: dieter.lohr@hswt.de

Nutzung der Nah-Infrarot-Spektroskopie (NIRS) zur zerstörungsfreien Analyse von Stickstofffraktionen in Zierpflanzenstecklingen

Dieter Lohr¹, Peter Tillmann², Siegfried Zerche³, Uwe Drüge³, Elke Meinken⁴

¹Staatliche Forschungsanstalt für Gartenbau Weihenstephan, Freising; ²VDLUFA NIRS Qualitätsicherung GmbH, Kassel; ³Leibniz-Institut für Gemüse und Zierpflanzenbau Großbeeren/Erfurt e.V., Erfurt; ⁴Hochschule Weihenstephan-Triesdorf, Freising

1. Einleitung, Stand des Wissens, Zielsetzung

Die Bedeutung des Stickstoff- und Kohlenhydratstatus für das Bewurzelungspotential von Stecklingen wird von verschiedenen Autoren bei unterschiedlichen Zierpflanzenarten beschrieben, unter anderem von HAUN und CORNELL (1950), SHANKS und LINK (1951), VON HENTIG (1959), MOE (1977), RÖBER und REUTHER (1982), DRÜGE et al. (1998), RAPAKA et al. (2005), ZERCHE und DRUEGE (2009). Dementsprechend sollten alle Produktions- und Logistikprozesse in der global organisierten Jungpflanzenproduktion darauf ausgerichtet werden, Stecklinge mit einem möglichst optimalen Stickstoff- und Kohlenhydratstatus zu ernten und diesen Status während Transport und Lagerung zu konservieren (VON HENTIG 1996). Eine direkte Kontrolle des Stickstoff- und Kohlenhydratstatus zur Qualitätsbeurteilung von Stecklingen ist in der Praxis allerdings kaum möglich, da hierfür ein Nachweisverfahren benötigt wird, mit dem eine große Anzahl Proben schnell, kostengünstig und möglichst zerstörungsfrei untersucht werden kann. Im Gegensatz zu den etablierten nass-chemischen Verfahren könnte die Nah-Infrarot-Spektroskopie (NIRS) die genannten Anforderungen vollständig erfüllen. Bei NORRIS und WILLIAMS (1987) finden sich zahlreiche Beispiele zur Bestimmung von verschiedenen Inhaltsstoffen (unter anderem Proteine und Kohlenhydrate) in landwirtschaftlichen Produkten. SARAWONG und KAWANO (2007) beschreiben Möglichkeiten zur Qualitätsbeurteilung von Obst und Gemüse mittels NIRS.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die zerstörungsfreie Bestimmung des Stickstoffstatus von Chrysanthemen- (*Dendranthema grandiflora* cv.) und Pelargonienstecklingen (*Pelargonium x hortorum* cv. und *Pelargonium x peltatum* cv.) mittels NIRS. Die Ergebnisse sollen später in ein Modell zur Prognose des Bewurzelungspotentials einfließen.

2. Material und Methoden

Probenmaterial

Die Untersuchungen erfolgten im Rahmen eines Verbundprojektes¹. Die verwendeten Chrysanthemen- und Pelargonienstecklinge stammten zum einen aus der laufenden Produktion der am Verbundprojekt beteiligten Jungpflanzenbetriebe. Je Pflanzenart wurden 20 Sorten ausgewählt, deren Stecklinge zu mehreren Terminen geliefert wurden. Des Weiteren wurden am Standort Freising Mutterpflanzenbestände von jeweils vier Chrysanthemen- und vier Pelargonienarten aufgebaut, die gezielt mit Stickstoff über-

bzw. unterversorgt wurden. Die Ernte der Stecklinge erfolgte zu den Lieferterminen der Stecklinge aus den beteiligten Betrieben. Für die Kalibrationsentwicklung stand somit ein Datenpool von insgesamt 209 Proben zur Verfügung.

Referenzanalytik

Jede Probe umfasste mindestens 25 Stecklinge. Diese wurden bei 60 °C für 48 h getrocknet und anschließend vermahlen. Zur Bestimmung des Stickstoffstatus wurden zusätzlich zum Gesamt-N vier Stickstofffraktionen (Amid-N, Nitrat-N, Amino-N und Protein-N) nach einem modifizierten Kjeldahl-Verfahren mittels Wasserdampfdestillation (ZERCHE et al. 2007) analysiert. Im Rahmen der Kalibrationsentwicklung wurden der Amid-N, Nitrat-N und Amino-N zusätzlich zur Summe der extrahierbaren Stickstofffraktionen (ENF-N) zusammengefasst und aus dem Amino-N und Protein-N die Summe der organisch gebundenen Stickstofffraktionen (ONF-N) gebildet.

NIRS Messungen

Für die NIRS-Messungen fand ein Zeiss Corona 45 NIR 1.7 Plus Spektrometer mit einem drehbaren Aufsatz zur Probenpräsentation (Turnstep) Verwendung. Jede Probe wurde für die Messung in fünf Teilproben aus mindestens fünf Stecklingen aufgeteilt. Die Stecklinge einer Teilprobe lagen ringförmig mit der Sprossbasis nach außen in eine Petrischale auf dem Turnstep. Durch das Auflegen eines Glasgefäßes wurden die Stecklinge möglichst plan an den Boden der Petrischale gedrückt. Jede Teilprobe wurde ohne Umlagerung der Stecklinge vierfach wiederholt gemessen. Von jeder Probe wurden somit 20 Absorptionsspektren ($\log 1/R$) aufgenommen und für die weitere Kalibrationsentwicklung gemittelt. Die Stecklinge aus den fünf Teilproben wurden nach der NIRS-Messung wieder zusammengefasst und in die Referenzanalytik gegeben.

Probenauswahl, Spektrentransformation und multivariate Datenanalyse

Für die beide Pflanzengattungen wurden gemeinsame Kalibrierungen entwickelt. Zur Aufteilung in ein Kalibrier- und ein Validierset wurden die Proben - getrennt nach Chrysanthemen und Pelargonien - aufsteigend nach ihrem Gesamtstickstoffgehalt sortiert und dann jede fünfte Probe entnommen. Die verbliebenen 168 Proben bildeten das Kalibrierset, die entnommenen 41 Proben das Validierset. Die Spektrentransformation (Streulichtkorrekturen und Ableitungen) sowie die multivariate Datenanalyse (PLS-Regressionsmodell) erfolgte mit der Software UCal Version 1.0 (Unity Scientific LLC, USA). Im Rahmen der Kalibrationsentwicklung wurden mehrere Verfahren zur Streulichtkorrektur (ohne Streulichtkorrektur, SNV only, Detrend only und SNV+Detrend) jeweils in Kombination mit den $\log 1/R$ -Spektren sowie deren erster und zweiter Ableitung (Schrittweite und Glättung jeweils 6 bzw. 12) geprüft. Die optimale Anzahl der Faktoren für die Kalibriergleichung wurde mittels Kreuzvalidierung ermittelt (Leave-One-Out). Während der Kalibrationsentwicklung als t-Ausreißer markierte Proben wurden nochmals gesondert überprüft. Da bei keiner dieser Proben Auffälligkeiten oder Gemeinsamkeiten mit anderen Ausreißern festgestellt werden konnten und dieselben Proben in verschiedenen Modellen als t-Ausreißer erkannt wurden, bestand kein sachlicher Grund diese Proben aus dem Kalibrierset auszuschließen (TILLMANN 1996).

3. Ergebnisse

Kalibrierung

Eine Streulichtkorrektur nach dem Verfahren SNV + Detrend in Kombination mit den log 1/R-Spektren (Math. Treatment 0,0,0) lieferte für alle Parameter die besten Ergebnisse. Durch die Verwendung der ersten Ableitung mit Schrittweite und Glättung 12 (Math. Treatment 1,12,12) konnte die Anzahl Faktoren zwar zum Teil deutlich reduziert (z.B. beim Gesamt-N von 15 auf 11) werden, gleichzeitig nahmen aber der Standardfehler der Kalibration (SEC) und der Standardfehler der Kreuzvalidierung (SECV) zu.

Validierung

Die Abbildungen 1 A-D zeigen die xy-Graphen der Validierung für Protein-N, ONF-N, Gesamt-N und Nitrat-N. Die Güteparameter der Validierung (R_v^2 = Bestimmtheitsmaß der Validierung, SEP(C) = Standardfehler der Validierung) sowie die Regressionsgleichungen sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Die größte Genauigkeit wurde für den Protein-N erreicht. Des Weiteren ließen sich die Summe der organisch gebundenen N-Fractionen (ONF-N) sowie der Gesamt-N gut quantifizieren. Auch beim Nitrat-N konnten noch akzeptable Güteparameter erreicht werden. Für den Amid-N und Amino-N sowie die Summe der extrahierbaren N-Fractionen (ENF-N) waren diese dagegen ungenügend.

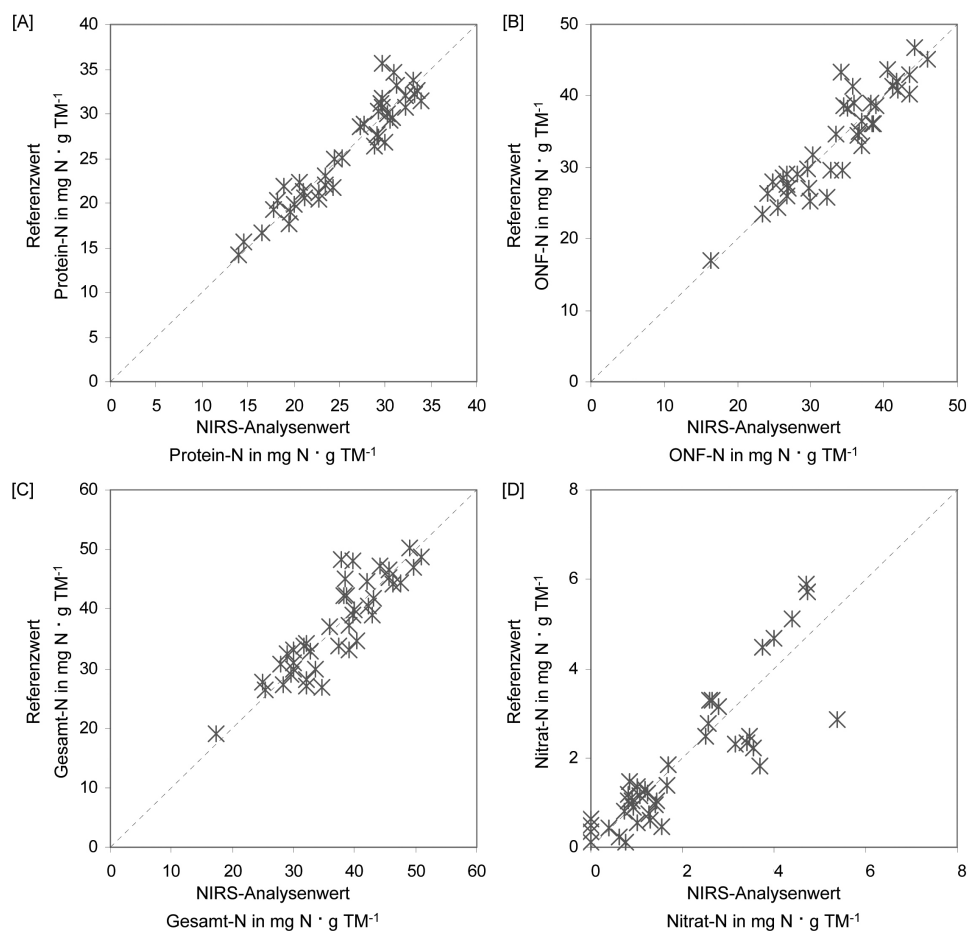


Abbildung 1: xy-Graphen der Validierung für Protein-N [A], ONF-N [B], Gesamt-N [C] und Nitrat-N [D]; die gestrichelte Linie markiert die Winkelhalbierende

N-Fraktion [mg N * g TM ⁻¹]	Mittelwert		R _v ²	SEP(C)	Regressions- gleichung
	NIRS	Referenzanalytik			
Amid-N	1,55	1,58	0,65	0,52	0,91 * x + 0,11
Nitrat-N	1,93	1,86	0,75	0,78	0,88 * x + 0,29
Amino-N	7,97	7,75	0,55	1,69	0,76 * x + 2,11
Protein-N	25,9	25,9	0,90	1,85	0,97 * x + 0,76
Gesamt-N	36,9	37,1	0,78	3,72	0,92 * x + 2,91
ENF-N	11,5	11,2	0,64	2,12	0,74 * x + 3,27
ONF-N	33,6	33,6	0,83	2,69	0,96 * x + 1,23

Tabelle 1: Ergebnisse der Validierung

4. Diskussion

Die für den Gesamt-N erreichte Genauigkeit ist vergleichbar mit Ergebnissen aus einer vorangegangenen Untersuchung mit Chrysanthem- und Poinsettienstecklingen (TILLMANN et al. 2007). Die in dieser Arbeit geäußerte Vermutung, dass durch eine fraktionierte Stickstoffbestimmung die Genauigkeit gesteigert werden kann, wird durch die vorliegenden Ergebnisse bestätigt. Die Absorption im nahen Infrarot wird im Wesentlichen durch Ober- und Kombinationsschwingungen von OH-, NH-, CH- und SH-Bindungen verursacht, was die gute Bestimmbarkeit des Protein-N erklärt. Auf Grund des hohen Protein-N-Anteils von 77 % an den organisch gebundenen N-Fractionen sowie 70 % vom Gesamt-N, lassen sich auch diese zufriedenstellend bestimmen.

Die akzeptablen Ergebnisse bei der Bestimmung des Nitrat-N dürften vor allem auf eine enge Korrelation ($r = 0,69$) zwischen Protein- und Nitrat-N zurückzuführen sein, da das Nitrat-Molekül im Bereich des nahen Infrarot keine - oder zumindest nur sehr schwer detektierbare - Absorptionsbanden besitzt.

Beim Amid-N und Amino-N sowie der Summe der extrahierbaren N-Fractionen, von denen der Amino-N im Mittel 70 % ausmacht, ist das geringe Niveau dieser Inhaltsstoffe zu berücksichtigen. Die sehr heterogene Probenmatrix (ganze Stecklinge unterschiedlicher Arten bzw. Gattungen) erschwert die Bestimmung von Bestandteilen mit geringen Gehalten und erklärt gleichzeitig die vergleichsweise hohe Anzahl Faktoren in der Kalibrierung (TILLMANN 1996 und COZZOLINO und LABANDERA 2002).

5. Schlussfolgerung

Die Ergebnisse zeigen, dass eine Bestimmung des Gesamt-N sowie einzelner N-Fractionen an frischen Zierpflanzenstecklingen mittels NIRS möglich ist und dass eine gemeinsame Kalibrierung für verschiedene Pflanzengattungen genutzt werden kann. Insbesondere der Protein-N sowie die maßgeblich von diesem dominierten Summenparameter (Gesamt-N und ONF-N) lassen sich sehr gut bestimmen.

6. Literatur

- COZZOLINO, D. und LABANDERA M., 2002: Determination of dry matter and crude protein of undredged forages by near-infrared reflectance spectroscopy. *J.Sci.Food.Agric.*(82). S. 380-384
- DRÜGE, U., ZERCHE, S. und KADNER, R., 1998: Relation between Nitrogen and soluble Carbohydrate Concentrations and subsequent Rooting of *Chrysanthemum* Cuttings. *Adv. Hort. Sci.* (12). S. 78-84.
- HAUN, J. R. und CORNELL, P. W., 1950: Rooting Response of Geranium (*Pelargonium hortorum* Bailey var. Ricard) Cuttings as Influenced by Nitrogen, Phosphorus and Potassium Nutrition of Stock Plants. *Amer. Journal for Hort. Science.* S. 317-323.
- MOE, R., 1977: Effect of light, temperature and CO₂ on the growth of *Campanula isophylla* stock plants and on the subsequent growth and development of their cuttings. *Scientia Horticulturae* (6). S. 129-141.
- RAPAKA, V. K., BESSLER, B., SCHREINER, M. und DRUEGE, U., 2005: Interplay between initial carbohydrate availability, current photosynthesis, and adventitious root formation in *Pelargonium* cuttings. *Plant Science* (168). S. 1547-1560.
- RÖBER, R. und REUTHER, G., 1982: Der Einfluß unterschiedlicher N-Formen und -Konzentrationen auf den Ertrag und die Qualität von Chrysanthemen-Stecklingen. *Gartenbauwissenschaft* (47). S. 182-188.
- SARANWONG, S. und KAWANO, S., 2007: Fruits and Vegetables. In: OZAKI, Y., McClure, W.F. und CHRISTY, A. A. (Hrsg.): *Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- SHANKS, J. B. und LINK, C. B., 1951: Poinsettia Stock Plant Nutrition in Relation to Production, Rooting and Growth of Cuttings. *Amer. Journal for Hort. Science.* S. 487-495.
- TILLMANN, P., 1996: Kalibrationsentwicklung für NIRS-Geräte – Eine Einführung. Cuvallier-Verlag, Göttingen.
- TILLMANN, P., LOHR, D., RÖBER, R., MEINKEN, E., NAST, D. und ZERCHE, S., 2007. Usage of NIRS to determine the N content in fresh cuttings of ornamental plants. Poster-Abstract, 13th ICNIRS, Umeå-Vasa, Sweden & Finland, 15.06.-21.06.2007.
- VON HENTIG, W-U., 1959: Untersuchung über den Einfluß der Ernährung von Chrysanthemen- und Fuchsienmutterpflanzen auf die Stecklingsproduktion und -bewurzelung. *Gartenbauwissenschaft* (6). S. 334-362.
- VON HENTIG, W-U., 1996: Vegetative Vermehrung. In HORN, W. (Hrsg.): *Zierpflanzenbau*. Blackwell Wissenschaftsverlag, Berlin-Wien.
- WILLIAMS, P. und NORRIS, K. (Hrsg.), 1987: *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. American Society of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota.
- ZERCHE, S. und DRUEGE, U., 2009: Nitrogen content determines adventitious rooting in *Euphorbia pulcherrima* under adequate light independently of pre-rooting carbohydrate depletion of cuttings. *Scientia Horticulturae* (121). S. 340-347.
- ZERCHE, S., DRÜGE, U. und KADNER, R., 2007: Stickstofffraktionen und Adventivwurzelregeneration in Chrysanthemenstecklingen bei differenzierter Stickstoffernährung der Mutterpflanzen. BHGL-Tagungsband 25/2007.

¹Die Förderung des Verbundprojektes erfolgt aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung.