

Vermeerdering van *Asparagus setaceus* (plumosis) in vitro.

Door:

W. van Ravestijn



INHOUD

PAGINA

1. Inleiding	1
2. Proefopzet	1
3. Resultaten	3
3.1. Verontreinigingen (bijlage 3)	3
3.2. Scheutvorming (bijlage 3 en grafiek 3a)	3
3.3. Wortelvorming	4
4. Conclusie	4
Bijlage 1	6
Bijlage 2	7
Bijlage 3	8

Vermeerdering van *Asparagus setaceus* (plumosis) in vitro.

Proef ^X Gebruiksmogelijkheid van slechts één bodem en de invloed van een donkere periode direkt ná het planten.

Tijd: Inzet juli 1978 - eind juni 1979

Project: C 4

Uitvoering: Wilma Molhoek

Proefneemster: Wil van Ravestijn.

1. Inleiding

Door gebruik te maken van twee media, respectievelijk een spuitvormend en wortel-inducerend medium, kunnen in vitro oppotbare snijgroen-plantjes worden verkregen. De bereiding van twee media en het overplanten vergen veel tijd aan arbeid en is daardoor duur. In deze proef is gekeken of wellicht met één, het wortelinducerende medium kan worden volstaan. Er is voor het wortel-inducerende medium gekozen, omdat de spuitvorming eenvoudig te realiseren is en uitsluitend of voornamelijk het achterwege blijven van wortelvorming een snelle vegetatieve vermeerdering in vitro in de weg staat.

Omdat direct na het planten veelal duisternis gunstig is voor het aanslaan van de kweken en duisternis soms het bewortelen verbetert, is ook dit (dus een donker periode) een factor van onderzoek in deze proef.

Ook dompelingen met kinetine zijn in deze proef opgenomen. Dit is gedaan om de spuitvorming te stimuleren. Cytokinen verbeteren over het algemeen spuitvorming, maar kunnen wortelvorming tegengaan. Vandaar dat aan het wortelinducerende medium geen cytokinen zijn toegevoegd. Om dit te compenseren zijn de kinetine dompelingen uitgevoerd.

Tenslotten is in deze proef nagegaan of de hoogte van de doorn aan de rank van invloed is op de uitgroei van de diverse organen.

2. Proefopzet

De proef is in 10-voud uitgevoerd. Het tot op heden meest geschikte wortelinducerende medium is hier gebruikt.

Dit bevat:

M+S halve sterkte, H.C.M. - 101 zouten

cat no van Flow SF - 112 C 2,33 g/l

Fructose 30,00 g/l

IAA 0,01 mg/l

Agar (Bacto) 8,00 g/l

De bodem is gesteld op pH = \pm 5,6, geautoclaveerd is gedurende 15 min op 121°C.

De volgende behandelingen zijn vergeleken:

1. Na het planten de kweken direkt in het licht zetten.
2. Na het planten de kweken één week duisternis geven
3. Na het planten de kweken twee weken duisternis geven
4. Na het planten de kweken drie weken duisternis geven
5. Na het planten de kweken vier weken duisternis geven
6. Vóór het planten de explantaten 30 minuten dompelen in 1 mg/l kinetine, daarna één week duisternis geven.
7. Vóór het planten de explantaten één uur dompelen in 1 mg/l kinetine, daarna één week duisternis geven.
8. Vóór het planten de explantaten twee uur dompelen in 1 mg/l kinetine, daarna één week duisternis geven.
9. Vóór het planten de explantaten vier uur dompelen in 1 mg/l kinetine, daarna één week duisternis geven.
10. Vóór het planten de explantaten achttien uur dompelen in 1 mg/l kinetine, daarna één week duisternis geven.

In schema ziet de proef er als volgt uit:

Beh.	Aantal weken duisternis					Aantal uren dompelen in 1 mg/l kinetine					
	0	1	2	3	4	0	$\frac{1}{2}$	1	2	4	18
1	x					x					
2		x				x					
3			x			x					
4				x		x					
5					x	x					
6		x					x				
7		x						x			
8		x							x		
9		x								x	
10		x									x

De bodem is met over "Pyrex"- gedestilleerd water gemaakt. De kinetine is met "Pyrex" - water verdund. Voor verdere gegevens zie bijlage 1.

De explantaten , doornknoppen van ranken, zijn ontsmet door ze even te dopen in alcohol 70%, daarna 10 minuten te schudden met 1% chloor-oplossing uit chloor-bleekloog (bleekwater) + 0,1 % uitvloeier. Na 3 x uitwassen in steriel demi-water zijn de doornknoppen van beh. 1 tot en met 5 na droging tussen filterpapier, direkt geplant (polair = doorn wijst naar beneden). De explantaten van behandeling 6 tot en met 10 zijn direkt ná het uitwassen in de kinetine oplossing gedaan. Na de vereiste tijd, zijn deze explantaten "gedroogd" en geplant.

Alle kweken zijn in de Vötschkast geplaatst al dan niet onder zwart fuweel afgedekt, afhankelijk van de periode donkerte. De temperatuurgegevens per decade gemiddeld geeft bijlage 2.

3. Resultaten.

3.1. Verontreinigingen (bijlage 3)

In deze proef is 13% van de explantaten verontreinigd, gemiddeld na 73 dagen, met uitersten tussen 15 en 259 dagen.

Hoewel de kans op verontreinigingen in principe door de extra behandeling van het dompelen wel verklaard zou kunnen worden, is hiervan in deze proef vermoedelijk geen sprake, omdat de verontreinigingen meestal vrij laat na het planten optraden. Dit kan verklaard worden door de sterke luchtbeweging in deze vötschkasten, die nodig is om de ingestelde waarden te handhaven. Bovendien waren de kweken niet met parafilm verzegeld. Ten aanzien van de explantaat hoogte geldt hetzelfde. Deze zou naar verwachting groter kunnen zijn bij de explantaten afkomstig van laag geplaatste doornen aan de ranken, door een sterker contact met de grond. De gebruikte ontsmetting blijkt adequaat te zijn. Het optreden van latere infecties zijn vermoedelijk in sterke mate te voorkomen door parafilm afsluiting.

3.2. Scheutvorming (bijlage 3 en grafiek 3a)

Van de niet verontreinigde explantaten vormden 66% een hoofdscheut tussen 15 en 111 dagen na het planten met een gemiddelde tijd van 31 dagen.

Een periode van duisternis direkt na het planten is vermoedelijk nadelig als deze lang wordt gegeven. (dit is 3 of meer weken). Geen of twee weken duisternis geven de beste resultaten, maar één week duisternis lijkt weer nadelig te zijn. Dit laatste gegeven lijkt dan ook niet erg betrouwbaar. In ieder geval kan men stellen, dat in geen enkel geval duisternis duidelijk beter is dan niet verduisteren. De kweken kunnen in de toekomst dus 't beste direct in het licht worden gezet. Het gemiddeld aantal dagen tot de vorming van de hoofdscheut wordt door verduistering vergroot. (grafiek 3a).

Het dompelen met kinetine is altijd gevolgd door één week verduisteren, helaas een twijfelachtige voorbehandeling als geen dompelen plaats vindt.

Uit de grafiek van bijlage 3a (rechter gedeelte) blijkt, dat kort dompelen ($\frac{1}{2}$ of 1 uur) gunstig is voor de spruitvorming. Langere onderdompelingstijden zijn bij deze concentratie (1 mg/l) minder effectief dan 1 uur dompelen. Wellicht zijn bij de langere onderdompelingen overdoseringen opgetreden, waardoor de kinetine remmend is gaan werken op het uitlopen van de hoofdknop. Wel wordt de tijd tot het uitlopen van de hoofdscheut geleidelijk aan iets korter bij langere dompelingstijden.

Belangrijker is echter het percentage gevormde hoofdscheuten dan de gemiddelde

tijdsduur tot de vorming daarvan binnen de hier gestelde marge.

Een dompeling van 1 uur in 1 mg/l lijkt een goede voorbehandeling te zijn vóór het planten op een medium zonder cytokininen.

De explantaat herkomst (hoog of laag van de rank) is van belang voor de spruitvorming (zie bijlage 3b). De bovenste doornen (knoppen) geven de minste uitgroei. Hoewel dit de laatst gevormde, dus jongste knoppen zijn, waarvan een snelle spruitgroei wordt verwacht, is dit hier niet het geval. Vermoedelijk is dit veroorzaakt door de ontsmetting. De jongste delen zijn 'tweekst, bezitten minder was, kurk en sclerotisch weefsel, waardoor gemakkelijker schade aan de cellen kan optreden. De onderste knoppen lopen voor 75% of meer uit. Het moment van uitlopen is hierbij (onderste 5) wel wat later dan bij de op 3 of 4 na de hoogste knop (expl. 4 en 5), maar blijft toch binnen redelijke grenzen (25 à 30 dagen gemiddeld) als men expl. 9 buiten beschouwing laat.

3.3. Wortelvorming

In deze proef is slechts bij één explantaat wortelvorming opgetreden (beh. 3 = 2 weken donker, niet dompelen, explantaat no. 9). De wortelvorming is 305 dagen na het planten waargenomen.

De inductie van wortels door gebruik te maken van één medium is dus niet gelukt. Echter, dit wil nog niet zeggen, dat dit absoluut onmogelijk is op grotere schaal, want in deze proef is geen parafilm afdekking gebruikt, omdat van de Vötschkasten met instelbare luchtvochtigheid, gebruik is gemaakt. Verwacht werd, dat hierdoor weinig verdroging van de bodems zou plaatsvinden. De bodems droogden echter wel snel uit door de sterke luchtbeweging in deze kasten. Vermoedelijk is dit de hoofdzaak van het achterwege blijven van wortels. Door voortaan weer gebruik te maken van parafilm zal dit indrogen goeddeels voorkomen kunnen worden.

Het effect van de behandelingen en de explantaat-hoogte op de wortelvorming zijn door de geringe reactie niet na te gaan.

4. Conclusie

De proef heeft niet beantwoord aan het gestelde doel, namelijk plantvorming (dus spruit- en wortelvorming) op één medium. Dit falen kan echter evenzeer aan uitwendige omstandigheden als wel aan de behandelingen worden toegeschreven.

Ten aanzien van de scheutvorming kan het volgende gesteld worden.

1. Een donkerperiode direct na het planten biedt geen positieve effecten.
2. Dompelen gedurende 1 uur in een oplossing van 1 mg/l kinetine geeft een betere spruitvorming als in het medium geen kinetine aanwezig is.
3. De bovenste explantaten voldoen minder goed, vermoedelijk door een grotere gevoeligheid voor de ontsmettingen en niet door een geringe potentie tot plantvorming.

Verder lijkt het raadzaam om bij proeven in de Vötschkasten, met parafilm afgesloten kweken te werken in verband met de sterke luchtbeweging in deze kasten. Hierdoor worden hopenlijk verontreinigen voorkomen en wordt het uitdrogen van de media tegengegaan.

Bodem gemaakt op 17071978

180778 pH gemeten deze was 5.72, en de bodem en de kinetineopl. geautoclaveerd.

190778 beh X 1 tot en met 9 geplant en in kweekkast gezet

200778 beh X 10 geplant en in kweekkast gezet.

Gemiddelden waaren in °C.
Temperatuursgegevens.

decade					
3	juli '78				
1	aug				
2	aug				
3	aug				
1	sept				
2	sept				
3	sept				
1	okt				
2	okt				
3	okt				
1	nov				
2	nov				
3	nov				
1	dec				
2	dec	22.5	21.6	22.3	22.3
3	dec	21.5	21.1	21.4	21.3
1	jan '79	21.7	21.1	21.5	21.4
2	jan	geijkt, niet geschreven			
3	jan	+21.3	+18.0	+21.0	+21.0
1	febr	21.7	18.2	21.3	21.3
2	febr	20.7	17.5	20.4	20.4
3	febr	21.2	17.4	20.7	20.6
1	mrt	21.1	19.0	20.8	20.7
2	mrt	20.4	20.0	20.1	20.1
3	mrt	20.4	19.8	19.9	19.9
1	apr	20.6	19.8	20.0	19.9
2	apr	20.3	14.8	15.9	18.5
3	apr	20.7	20.2	20.3	18.1
1	mei	21.0	20.3	20.4	20.4
2	mei	20.7	20.0	20.1	20.2
3	mei	20.6	20.0	20.1	20.1
1	juni	20.4	19.9	20.0	20.0
2	juni	20.2	19.8	19.9	19.9

instelling ± 20°C
geen waarnemingen

Invloed behandelingen

Beh.	Verontreiniging		Aantal dagen tot verontreiniging				Hoofd scheid- vorming		Aantal dagen tot scheidvorming			
	x /y	* %	bereke- ning	gem	min	max	bereke- ning	%	bereke- ning	gem	min	max
1	3/10	30	353/3	118	15	259	7/9	78	119/7	17	15	29
2	1/10	10	79/1	79	79	79	6/10	60	235/6	39	22	111
3	0/10	0	-	-	-	-	8/10	80	196/7	28	22	43
4	1/10	10	43/1	43	43	43	5/9	56	222/5	44	29	79
5	0/10	0	-	-	-	-	5/10	50	214/5	43	22	79
6	2/9	22	222/2	111	111	111	7/9	78	286/7	41	22	111
7	0/10	0	-	-	-	-	9/10	90	182/7	26	15	65
8	4/10	40	223/4	56	43	65	7/10	70	217/7	31	15	50
9	1/9	11	15/1	15	15	15	5/9	56	67/4	17	15	22
10	1/10	10	15/1	15	15	15	4/9	44	92/4	23	21	29
Tot	13/98	13	950/13	73	15	259	63/95	66	1830/59	31	15	111

Beh.	Zijscheidv. bereke- % ning		Aantal dagen tot zij- scheidvorming				Zijscheidvorming t.o.v. expl. met hoofdsche	
	ning	%	bereke- ning	gem	min	max	bereke- ning	gem
1	3/9	33	168/3	56	22	111	3/7	43
2	6/10	60	320/5	64	43	141	6/6	100
3	7/10	70	413/7	59	43	111	7/8	88
4	5/9	56	405/5	81	43	127	5/5	100
5	4/10	40	269/4	67	43	111	4/5	80
6	4/8	50	210/4	53	29	111	4/7	57
7	6/20	60	316/6	53	35	111	6/9	67
8	2/7	29	64/2	32	20	35	2/7	29
9	2/9	22	156/2	78	29	127	2/5	50
10	3/9	33	169/3	56	42	78	3/4	75
Tot	42/91	46	2490/41	61	20	141	42/63	67

* x = aantal uitgeplant; Y = totaal geplant.

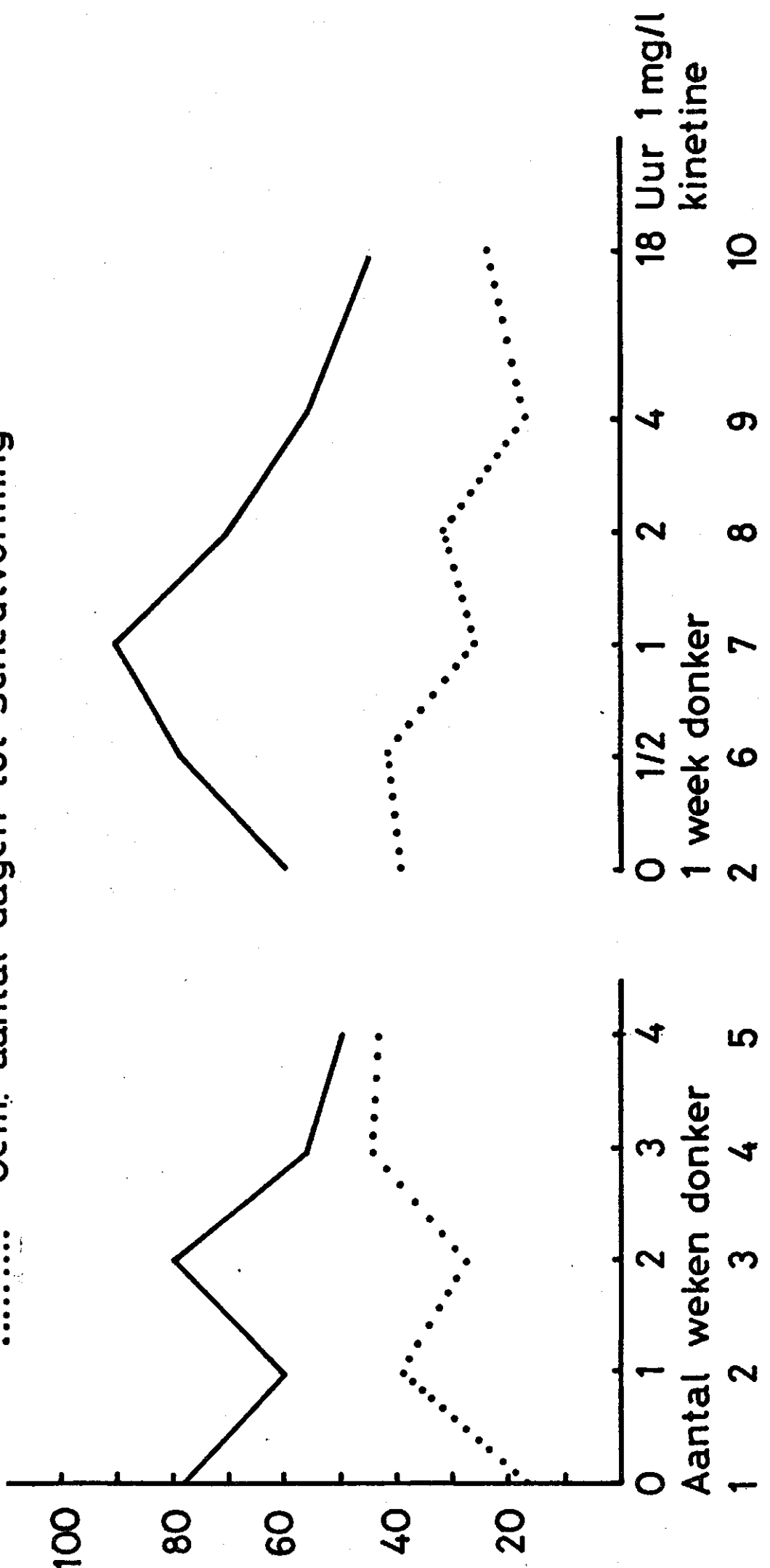
Invloed explantaathoogte.

Expl No	Verontreiniging		Aantal dagen tot veront- reiniging				Hoofdscheutv		Aantal dagen tot hoofd- scheutvorming			
	bereke- ning	%	bereke- ning	gem	min	max	bereke- ning	%	bereke- ning	gem	min	max
1	2/10	20	302/2	151	43	259	3/10	30	109/3	36	15	79
2	0/10	0	-	-	-	-	4/10	40	184/4	46	15	111
3	2/10	20	161/2	81	50	111	6/10	60	223/6	37	15	79
4	0/10	0	-	-	-	-	4/10	40	52/3	17	15	22
5	0/10	0	-	-	-	-	7/10	70	133/7	19	15	22
6	2/10	20	144/2	72	65	79	9/10	90	202/8	25	15	43
7	2/10	20	80/2	40	15	65	9/10	90	269/9	30	15	65
8	0/10	0	-	-	-	-	8/10	80	237/7	34	15	65
9	2/9	22	126/2	63	15	111	6/8	75	256/6	43	15	111
10	3/9	33	137/3	46	15	79	7/7	100	165/6	28	15	43
tot	13/98	13	950/13	73	15	259	63/95	66	1830/59	31	15	111

Expl no	Zijscheut		Aantal dagen tot zij- scheutvorming				Zijscheutvorming t.o.v. hoofdscheut- vorming	
	bereke- ning	%	bereke- ning	gem	min	max	bereke- ning	%
1	3/10	30	191/3	64	29	127	3/3	100
2	3/10	30	227/3	76	43	141	3/4	75
3	4/9	44	255/4	64	29	111	4/6	66
4	2/10	20	64/2	32	29	35	2/4	50
5	7/10	70	397/7	57	35	127	7/7	100
6	7/9	78	445/7	64	22	127	7/9	78
7	5/8	63	297/4	74	43	111	5/9	56
8	3/10	30	142/3	47	43	50	3/8	38
9	4/8	50	232/4	46	35	111	4/6	67
10	4/7	57	240/4	60	43	111	4/7	57
tot	42/91	46	2490/41	61	22	141	42/63	67
1 t/m5	19/49	40	1134/19	60	29	141	19/24	79
6 t/m10	23/42	55	1356/22	62	22	127	23/39	59

Invloed periode van donker direkt na het planten en invloed dompelen in 1 mg/l kinetine gedurende korte dan wel langere tijd.

— Percentage scheutvorming
..... Gem. aantal dagen tot scheutvorming



Behandeling no.

invloed doornhoogte op de scheutvorming.
t/m 5 bovenste 5 doornen -1 = bovenste; 5 is 5e van bovenaf
t/m 10 onderste 5 doornen 10 = onderste; 6 is 5e van onderaf

— Percentage scheutvorming
..... Gem. aantal dagen tot scheutvorming

