

16320¹²³04
Hambroek nr. 0351
Proefstation voor de Groenten- en Fruitteelt onder Glas, Naaldwijk

VEGETATIEVE VERMEERDERING

VAN ASPARAGUS PLUMOSIS IN

VITRO.

Onderzoek naar "Flow"-bodem en
I.A.A./kinetine concentratie

door :

ing. W^a. van Ravestijn

Naaldwijk, september 1976.
No. 733/9-76.

2202783

*Vegetatieve vermeerdering van Asparagus plumosus
in vitro.*

Proef VII

Project C-4

*Onderzoek van "Flow"-bodem en
I.A.A./kinetine concentratie.*

Inleiding

De bereiding van de bodems vergt veel tijd. In deze proef is nagegaan, of een "instant" bodem van Flow-Laboraties uit Schotland de zelf bereide bodem volgens Murashige & Skoog (1962) kan vervangen. Bovendien is door het toevoegen van I.A.A. en kinetine nagegaan, of wortels geïnduceerd kunnen worden. Uit de literatuur is bekend, dat xerophyten hoge concentraties aan regulatoren vereisen. Vandaar dat in deze proef tot zeer hoge auxine concentratie is overgegaan.

Proefopzet

In de proef zijn twee basis-media vergeleken, te weten A = een zelf gemaakte bodem volgens Murashige & Skoog (1962) en B = de instant bodem van Flow met dezelfde samenstelling (zie bijlage 1). Beide bodems zijn met Pyrex-gedestilleerd demiwater bereid. Hieraan is toegevoegd 0; 0,01; 0,1; 1,0; 10 of 100 mg/liter I.A.A.* al dan niet gekombineerd met 0 - 0,1 of 1 mg/liter kinetine**. Hierdoor zijn de volgende 18 regulatoren-behandelingen verkregen.

		Concentratie I.A.A. in mg/liter					
		0	0,01	0,1	1,0	10	100
Kinetine	0,0	1	2	3	4	5	6
Concentratie in	0,1	7	8	9	10	11	12
mg/liter	1,0	13	14	15	16	17	18

* I.A.A. = indolazijnzuur

**Kinetine = 6 furfurylamino-purine

Hierdoor zijn dus 36 behandelingen ontstaan. Per behandeling zijn circa 15 buizen gebruikt.

Als explantaat zijn "doornknoppen" gebruikt van "veren". Als volgt is ontsmet : Eerts dopen in alcohol 70, daarna 10 minuten schudden met 1% chloor (dit is bereid door 10 ml handelsbleekwater met 10% werkzaam chloor te vermengen met 90 ml demiwater). Aan deze chlooroplossing is steeds 0,1% uitvloeier (Agral) toegevoegd. Na het ontsmetten is steeds 3 x met steriel demi-water gespoeld, waarna de weefselstukjes tussen steriel filtreerpapier zijn gedroogd. Na het afsnijden van de buistenste delen is altijd polair geplant, wat zeggen wil, dat de doorn naar beneden wijst. Na het planten zijn de buizen met watten + parafilm afgesloten.

De eerste 3 weken is "donker" gegeven (onder zwart fluweel). Daarna hebben de explantaten 16 uur licht per dag ontvangen.

De proef is uitgevoerd met kleine Pyrex-buizen (circa 16 x 1,5 cm) met een onderline afstand van "centrum-buis-tot centrum buis" van 5 cm (geplastificeerde draad-rekjes).

De gemiddelde temperatuur per decade geeft bijlage 2.

Resultaten

De kweken zijn wekelijks gecontroleerd, behalve in de vakantie-periode (juli 1976). De volgende gegevens zijn hierbij verzameld.

Verontreinigingen

Over de gehele proef genomen is 24,6% van de explantaten verloren gegaan, hoofdzakelijk door verontreinigingen (48,2% door schimmels, 44,5% door bacteriën en 7,3% door onbekende oorzaak o.a. ook "val").

Opmerkelijk is, dat bij de zelfgemaakte bodem ^{voor}namelijk schimmelverontreinigingen (92,9%) is opgetreden en bij de Flow-bodem meer bacterie-verontreinigingen (61,1%). Het verontreinigingspercentage lijkt noch door I.A.A. noch door kinetine te worden beïnvloed.

Hoewel er grote verschillen zijn waargenomen, valt een duidelijker lijn hierin niet te onderscheiden.

Onderstaande tabel geeft een samenvatting van de verontreinigingsgegevens op bodem A (zelfgemaakte-), bodem B (Flow-) en de gemiddelden hiervan.

	Bodem :		
	A	B	A+B
0 mg/liter kinetine	3,2	34,1	18,0
0,1 mg/liter kinetine	22,9	27,2	25,0
1,0 mg/liter kinetine	17,7	44,4	30,6
0 mg/liter I.A.A.	16,7	35,6	25,8
0,01 mg/liter I.A.A.	10,4	26,7	18,3
0,1 mg/liter I.A.A.	21,3	34,1	27,5
1,0 mg/liter I.A.A.	14,6	17,4	16,0
10 mg/liter I.A.A.	12,5	52,2	31,9
100 mg/liter I.A.A.	12,5	45,5	28,3
Gemiddeld	14,6	35,2	24,6

Voor verdere gegevens zie bijlage 3.

Scheutvorming

Bij de scheutvorming is niet alleen van belang het percentage explantaten, dat uitgroeit geeft, maar eveneens van belang zijn de snelheid waarmee de scheuten worden gevormd, de lengte van de scheuten op een bepaald moment en het aantal scheuten per explantaat.

Aantal explantaten met scheutvorming

Over de gehele proef genomen geeft 81,1% van de niet verontreinigde explantaten minstens enige scheutgroei te zien. Bij bodem A is dit 80,1% en bij bodem B 81,7%, zodat wat dit betreft geen verschil tussen de beide bodems valt waar te nemen.

In onderstaande tabel is de invloed van kinetine en I.A.A. op de scheutvorming verkort weergegeven.

TABEL II. Percentage explantaten met scheutvorming
Invloed I.A.A. en kinetine

		Bodem :		
		A	B	A + B
0	mg/liter Kinetine	77,4	83,6	80,0
0,1	mg/liter Kinetine	85,3	87,3	86,3
1	mg/liter Kinetine	80,0	72,9	77,0
0	mg/liter I.A.A.	100	100	100
0,01	mg/liter I.A.A.	97,7	94,6	96,3
0,1	mg/liter I.A.A.	89,5	93,8	91,4
1	mg/liter I.A.A.	81,0	84,2	82,5
10	mg/liter I.A.A.	76,7	71,4	74,6
100	mg/liter I.A.A.	40,5	35,7	38,6
Gemiddeld		80,1	81,7	81,1

Globaal genomen geeft 0,1 mg/liter kinetine de meeste explantaten met scheutgroei. Meer (1 mg/liter) kinetine lijkt gemiddeld de minste scheutgroei te geven, maar bij bodem A gaat dit niet op (hierbij de minste scheutgroei zonder kinetine).

Bij al dan niet kinetine schommelen de gemiddelden tussen circa 73 en circa 87%, zodat de uitersten slechts 15% overbruggen.

Veel van de explantaten, die genoteerd staan als spruitgroei te geven, zijn vrijwel niet verder uitgegroeid. Op 22 juli 1976 (ruim vier maanden ná het planten), zijn de gevormde spruiten gemeten. Alle "spruiten" van 0,5 cm of kleiner (0,5 cm is ongeveer de grootte van een flinke doornknop) zijn beschouwd als zonder verdere lengte groei na een aanvankelijke stimulatie van de knop. In onderstaande tabel zijn deze gegevens verkort opgenomen.

TABEL III Percentage spruiten $\leq 0,5$ cm ten opzichte van het totaal aantal gevormde spruiten op 22 juli 1976.

		Bodem :		
		A	B	A + B
0	mg/liter Kinetine	47,0	27,3	38,2
0,1	mg/liter Kinetine	57,4	25,0	40,9
1	mg/liter Kinetine	34,5	16,7	27,7
0	mg/liter I.A.A.	36,8	4,0	23,8
0,01	mg/liter I.A.A.	28,9	6,7	19,1
0,1	mg/liter I.A.A.	18,8	11,5	15,5
1	mg/liter I.A.A.	59,3	31,3	44,1
10	mg/liter I.A.A.	87,1	57,1	77,8
100	mg/liter I.A.A.	100	89,8	92,3
Gemiddeld		45,9	23,5	35,9

Voor de gehele proef geldt, dat 35,9% slecht of niet uitgroeit. Op bodem A groeien duidelijk meer spruiten nietgoed uit op bodem B.

Veel (1 mg/liter) kinetine voldoet beter dan geen of minder kinetine.

Bij bodem B komt de gunstige werking van kinetine wat consequenter naar voren dan bij bodem A.

Gemiddeld geeft 0,1 mg/liter I.A.A. de minste geremde spruitgroei. Deze reactie komt bij bodem A sprekender naar voren dan bij bodem B. Bij bodem B lijkt *iedere* I.A.A.-toevoeging enige remming van de spruitgroei te geven.

Duidelijk nadelig wordt I.A.A. bij 1 mg/liter en alle hogere concentraties. Opgemerkt mag echter worden dat 0,1 mg/liter en lagere concentraties bij bodem B maar weinig nadelig is.

Op 22 juli 1976 is een gemiddelde spruitlengte van 2,20 cm gemeten. Op bodem A zijn de spruiten duidelijk kleiner gebleven (1,34 cm) dan op bodem B (3,27 cm). De overige lengte-gegevens zijn verkort in tabel IV opgenomen.

Tabel IV. Gemiddelde hoofdscheutlengte op 22 juli 1976 in cm

		B o d e m		
		A	B	A + B
0	mg/liter kinetine	1,34	3,79	2,37
0,1	mg/liter kinetine	1,09	2,52	1,82
1	mg/liter kinetine	1,58	3,86	2,45
0	mg/liter I.A.A.	1,78	4,97	3,05
0,01	mg/liter I.A.A.	1,07	4,57	2,61
0,1	mg/liter I.A.A.	1,97	4,31	3,02
1,0	mg/liter I.A.A.	1,16	1,86	1,54
10	mg/liter I.A.A.	0,75	0,52	0,68
100	mg/liter I.A.A.	0,50	0,50	0,50
Gemiddeld		1,34	3,27	2,20

De invloed van de kinetine concentraties is niet erg duidelijk. Weinig kinetine (0,1 mg/liter) lijkt enige reductie van de spruitlengte te geven ten opzichte van de bodem zonder kinetine, maar 1 mg/liter geeft bij beide bodems steeds de langste scheuten.

Het effect ten opzichte "zonder kinetine" is echter klein. De invloed van I.A.A. is enigszins afhankelijk van de gebruikte bodem. Bij bodem B neemt de spruitlengte af als meer I.A.A. is toegevoegd. Bij bodem A gaat dit alleen niet op voor 0,1 mg/liter I.A.A. Hogere I.A.A.-concentraties (1 mg/liter en meer) zijn steeds erg nadelig voor de spruitgroei.

Moment van scheutvorming

Over de gehele proef berekend, begint de spruitgroei gemiddeld na 31,6 dagen met een spreiding van 7 tot 113 dagen. Bij bodem B begint de scheutgroei gemiddeld iets vroeger (27,7 dagen) dan bij bodem A (35,3 dagen). De totale spreiding is bij beide bodems gelijk (7 - 113 respectievelijk 7 - 111).

De tabel geeft weer de samenvattende gegevens.

Tabel V. Gemiddeld aantal dagen tussen planten en spruitgroei + spreiding hiervan.

	Bodem A		Bodem B		Bodem A + B	
	gemiddeld	uitersten	gemiddeld	uitersten	gemiddeld	uitersten
0 mg/liter kinetine	45,8	7 - 113	29,4	8 - 90	38,0	7 - 113
0,1 mg/liter kinetine	27,0	7 - 104	24,7	7 - 105	25,9	7 - 105
1,0 mg/liter kinetine	30,8	7 - 105	29,1	8 - 111	30,0	7 - 111
0 mg/liter I.A.A.	31,0	7 - 104	18,6	8 - 90	25,4	7 - 104
0,01 mg/liter I.A.A.	37,3	7 - 113	23,4	8 - 85	30,9	7 - 113
0,1 mg/liter I.A.A.	24,8	7 - 64	23,0	8 - 90	24,0	7 - 90
1 mg/liter I.A.A.	45,1	16 - 105	35,5	7 - 105	39,3	7 - 105
10 mg/liter I.A.A.	60,5	7 - 106	45,0	21 - 77	45,5	7 - 106
100 mg/liter I.A.A.	75,0	75 - 75	64,5	8 - 111	66,0	8 - 111
Gemiddeld	35,3	7 - 113	27,7	7 - 111	31,6	7 - 113

Kinetine lijkt vervroeging van de scheutgroei te geven, vooral als weinig (0,1 mg/liter) wordt gebruikt. Bij bodem A is de vervroegende werking van kinetine duidelijk; bij bodem B is deze vervroeging veel kleiner en bij de hoogste kinetine-concentratie, te verwaarlozen.

I.A.A. geeft meestal verlating van de spruitgroei. Een uitzondering hierop is bij bodem A te vinden, waarbij 0,1 mg/liter I.A.A. bijna een week vervroeging geeft. Ook hierbij valt weer een scheiding te trekken bij 0,1 mg/liter I.A.A. Deze en de lagere concentraties verlaten niet of weinig de scheutgroei ten opzichte van geen I.A.A. De hogere concentraties laten er geen twijfel over bestaan, dat ze spruitvorming-verlating geven.

Vergelen van de hoofdscheut

Dit gegeven is slechts fragmentarisch vastgelegd, omdat o.a. een gedeelte van de uitgroeiende spruiten is overgeplant. De verkregen gegevens staan in bijlage 6. Al te veel waarde mag hieraan dus niet worden gehecht. Over de gehele proef genomen is 20,9% van de hoofdscheuten verdroogd. Bodem B geeft bijna 2 x zoveel vergeling van de hoofdscheut (28,7%) dan bodem A (14,7%). Kinetine geeft op bodem A iets meer vergeling, dan deze bodem zonder kinetine. Op bodem B lijkt kinetine de vergeling van de hoofdscheut iets tegen te gaan.

Wellicht geeft I.A.A. vermindering van de vergeling van de hoofdscheuten bij concentraties tussen 0,01 - 1 mg/liter. Bij de hogere concentraties lijkt geen vergeling op te treden, maar hierbij zijn dan ook nauwelijks scheuten gevormd, dus steekhoudend is dit gegeven niet.

Aantal dagen tussen scheutvorming en vergelen hiervan

Als een hoofdscheut vergeelt, treedt dit gemiddeld na 62 dagen op in deze proef. Het maakt hierbij weinig verschil uit, of de explantaten op bodem A (61,3 dagen) of bodem B (62,5 dagen) staan.

Kinetine - dat gewoonlijk vergelen tegengaat - geeft in deze proef eerder iets vervroeging dan verlating van het vergelen, vooral op bodem B.

Ook I.A.A. is van weinig invloed op het moment van vergelen.

Op bodem A geeft I.A.A. wellicht iets verlating en op bodem B een lichte vervroeging van het vergelen.

Voor verdere gegevens kan naar bijlage 6 (blad 2) worden verwezen.

Zijscheutvorming

Voor deze gegevens geldt hetzelfde als voor het vergelen van de hoofdscheut. Dus fragmentarisch en weinig betrouwbaar. Gemiddeld geeft bodem B meer zijscheuten dan bodem A (respectievelijk 24,3 en 2,9%).

Het aantal zijscheuten per explantaat lijkt in deze proef bij bodem A iets hoger te liggen dan bij bodem B (respectievelijk 2,0 en 1,3 per explantaat).

De invloed van kinetine is niet erg sprekend. Bij bodem A geeft de hoogste kinetine-concentraties (1 mg/liter) de meeste explantaten met zijscheuten en is ook het gemiddeld aantal scheuten per explantaat het hoogste.

Bij bodem B is er geen verschil tussen géén en 0,1 mg/liter kinetine op het percentage explantaten met zijscheuten en geeft de hoge kinetine-concentratie (1 mg/liter) het laagste zijscheutpercentage met ook het kleinste aantal zijscheuten per explantaat. Met 0,1 mg/liter kinetine lijkt op bodem B wellicht iets meer zijscheuten per explantaat te worden gevormd.

I.A.A. geeft gemiddeld minder zijscheutvorming. Dit komt op bodem B duidelijk tot uiting, zowel in het percentage zijscheutvorming ten opzichte van het aantal explantaten als wel in het gemiddeld aantal zijscheuten per explantaat. Bodem A is hiermee niet in overeenstemming.

Géén en 0,1 mg/liter geven een ongeveer gelijk percentage zijscheutvorming en 1 mg/liter geeft ongeveer de helft minder zijscheutvorming dan beide hiervoor genoemde groepen. De overige I.A.A.-concentraties hebben geen zijscheutvorming gegeven. Merkwaardig is, dat I.A.A. 1mg/liter de meeste zijscheuten geeft. Opgemerkt moet echter worden, dat dit beeld is verkregen door één explantaat met (toevallig) veel zijscheuten. Voor verdere gegevens, zie bijlage 7.

Wortelvorming

Wortelvorming is nog steeds de "bottle neck" voor de vegetatieve vermeerdering van *Asparagus plumosus*. In deze proef is eindelijk enige — zij het helaas geringe — wortelvorming geconstateerd. Wortels zijn alleen gevormd aan explantaten, geplant op bodem B en wel op bodem 13 B (1 explantaat) en bodem 15 B (2 explantaten). In alle drie gevallen dus op een bodem met 1 mg/liter kinetine, waarvan één zonder I.A.A. en twee mét 0,1 mg/liter I.A.A. De wortelvorming is laat opgetreden (155 dagen ná het planten).

Uit de literatuur is bekend, dat wortelvorming gewoonlijk optreedt op media zonder regulatoren óf met alleen auxinen. Wat dit aangaat, lijkt *Asparagus plumosus* afwijkend te reageren.

Explantaten met nog groene delen op 22 juli 1976

Op 22 juli 1976 is deze proef opgeruimd. Hierbij is genoteerd, hoeveel explantaten nog iets van groen bezitten. Voor de gehele proef is dit 47,2%.

Bij bodem B zijn meer explantaten min of meer groen gebleven, dan op bodem A (respectievelijk 64,2 en 35,8%). Door kinetine blijven de explantaten beter groen. In bodem B toegevoegd, geldt dit voor beide kinetine-concentraties. In bodem A gaat dit alleen voor de hoogste concentratie op.

I.A.A. vermindert bij beide media het groen-blijven en er is een invloed van de concentraties.

Voor verdere informatie, zie bijlage 8.

Samenvatting en conclusies

In deze proef zijn een zelf-bereide- en een "instant"- M en S bodem (1962) met elkaar vergeleken. Aan beide bodems zijn dezelfde stoffen toegevoegd, te weten :

Saccharose 25 gram/liter;
I.A.A. 0,01; 0,1; 1; 10 en 100 mg/liter
Kinetine 0,1 en 1 mg/liter.

De bodems zijn met 8 gram/liter Bacto-agar gestold.

Uit deze proef blijkt, dat de instant-bodem heel goed de zelf-bereide bodem kan vervangen. Wél vindt men op de instant-bodem meer verontreinigingen dan op de zelf-gemaakte bodem, maar het percentage scheutgroei is op beide bodems even hoog, de gevormde spruiten groeien op de instant-bodem beter uit; de scheutgroei begint iets vroeger en er worden meer zijscheuten gevormd. Bovendien is in deze proef uitsluitend op de instant bodem enige wortelgroei waargenomen.

Van de gebruikte regulatoren kan worden gesteld, dat 1 mg/liter I.A.A. en hoger in deze proef nadelig is gebleken. Concentraties van 0 tot 0,1 mg/liter zijn bruikbaar.

De kinetine-invloed is afhankelijk van de soort reactie, die men onderzoekt. Maar, aangezien tot op heden, de grootste moeilijkheid in de wortelvorming heeft gelegen, moet worden egsteld, dat vooral 1 mg/liter kinetine, een goede respons geeft.

Het geheel overziende, kan men stellen, dat de Flow instant M en S bodem met 1 mg/liter kinetine al dan niet gecombineerd met I.A.A. 0 - 0,1 mg per liter de beste perspectieven biedt.

Voor wortelvorming, de kweken minstens 5 maanden aanhouden.

In de komende periode onderzoeken :

- a. Kinetine-concentraties van 0,1 tot 1 mg/liter
- b. I.A.A.-concentraties van 0,01 tot bijv. 0,5 mg/liter
- c. Na- of K-zout van I.A.A. ten opzichte van I.A.A.
- d. Andere auxinen
- e. Andere cytokininen
- f. Morphactinen
- g. Ethephon

Aanvullende gegevens

Op 29 april 1976 zijn van de gevormde snijgroen-scheuten explantaten genomen. Deze zijn overgeplant met de bedoeling wortelgroei te induceren.

Voor alle behandelingen is gebruik gemaakt van de volgende bodems (wortel-inductie bodem voor fresia volgens Pierik, 1975).

NH ₄ NO ₃	400	mg/liter	Thiamine HCl	0,1 mg/liter
KCl	65	mg/liter	Nicotinezuur	0,5 mg/liter
KNO ₃	80	mg/liter	Pyridoxine HCl	0,5 mg/liter
KH ₂ PO ₄	12,5	mg/liter	Glycine	2 mg/liter
Ca(NO ₃) ₂ · 4 H ₂ O	144	mg/liter	Meso-inositol	100 mg/liter
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	72	mg/liter	Casine-hydrolysaat	500 mg/liter
NaFe EDTA	25	mg/liter (5 ml/l)	I.A.A.	0,1 mg/liter
H ₃ BO ₃	1,6	mg/liter	Saccharose	30 g/liter
MnSO ₄ · 4 H ₂ O	6,5	mg/liter	Difco Bacto-agar	8 g/liter
ZnSO ₄ · 7 H ₂ O	2,7	mg/liter	pH =	6
KJ	0,75	mg/liter	20 minuten 108°C	steriliseren

Er zijn 7 behandelingen vergeleken.

- I. De gevormde scheuten afsnijden en overplanten
- II. De gevormde scheuten afsnijden, 30 minuten in een steriele morphactine-oplossing (0,02 mg/liter) onderdompelen, drogen en planten
- III. Als II, maar ná het onderdompelen 3 x 5 minuten spoelen in steriel water, drogen en planten
- IV. Explantaten met een "doorn" snijden en deze liggende planten
- V. Explantaten met één "doorn" snijden, 30 minuten onderdompelen in morphactine (0,02 ml/liter) drogen en planten
- VI. Als V, maar n'a het onderdompelen in morphactine 3 x 5 minuten spoelen in steriel water, drogen en planten
- VII. Als V, maar apolair planten ("doorn" naar boven)

Voor behandeling I t/m VI zijn steeds 10 buizen gebruikt, voor behandeling VII slechts vijf.

De explantaten zijn afkomstig van :

I.	8 B (3 stuks)	9 B (3 stuks)	13 B (1 stuks)	14 B (1 stuks)
	15 B (2 stuks)			
II.	1 A (1 stuks)	2 B (1 stuks)	9 B (2 stuks)	10 B (2 stuks)
	13 B (2 stuks)	14 B (2 stuks)		
III.	2 A (1 stuks)	3 A (1 stuks)	15 A (1 stuks)	16 A (1 stuks)
	1 B (1 stuks)	3 B (1 stuks)	4 B (2 stuks)	7 B (2 stuks)
IV.	3 B (1 stuks)	7 B (1 stuks)		
V.	1 B (1 stuks)	2 B (1 stuks)		
VI.	2 A (1 stuks)	8 B (1 stuks)		
VII.	7 B (1 stuks)			

Alle explantaten zijn zwart gekleurd.

Deze verkleuring is 48 dagen ná het overplanten begonnen.

Bij behandeling 6 is enige spruitgroei opgetreden (na 41 - 48 dagen).

Dit heeft zich niet gecontinueerd.

Wortelvorming is hierbij niet waargenomen.

Bijlage 1.

SAMENSTELLING VAN DE BODEM VOLGENS MURASHIGE EN SKOOG VOLGENS
FLOW-LABORATORIES.

Deze bodem zelf maken

$\text{NH}_4 \text{NO}_3$	1.650 mg/liter	
KNO_3	1.900 mg/liter	
$\text{Ca Cl}_2 \cdot 2 \text{HO}$	440	
$\text{Mg SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	370	
$\text{KH}_2 \text{PO}_4$	170	
Fe Na EDTA	36,7	
H_3BO_3	6,2	
$\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	22,3	"Instant"-bodem
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	8,6	4,70803 gram/ liter
K J	0,83	
$\text{Na}_2 \text{MgO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0,25	afroonden op
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0,025	4,71 gram/liter
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0,025	
Glycine	2,0	
Inositol	100	
Thiamine	0,1	
Pyridoxine	0,5	
Nicotinezuur	0,5	

Beide bodems

pH = 5,6

Saccharose	25 gram/liter	I.A.A. en kinetine
Bacto agar	8 gram/liter	zie schema.

Beide bodems autoclaveren bij 121°C gedurende 15 minuten.

Bijlage 2

TEMPERATUURGEGEVENS IN °C PER DECADE

		Gemiddelde temperatuur			
		maximum	minimum	9 uur	14 uur
18 februari t/m 20 februari 1976		24,5	19,1	20,0	21,0
21 februari t/m 29 februari		24,1	19,1	20,3	23,4
1 maart t/m 10 maart		21,9	18,2	20,0	21,1
11 maart t/m 20 maart		23,1	19,2	20,6	22,2
21 maart t/m 31 maart		23,1	18,6	19,4	20,6
1 april t/m 10 april		23,5	18,1	19,7	22,5
11 april t/m 20 april		24,9	19,3	20,4	23,8
21 april t/m 30 april		22,9	19,0	21,1	22,5
1 mei t/m 10 mei		28,0	20,5	21,0	25,8
11 mei t/m 20 mei		27,2	20,1	20,3	25,7
21 mei t/m 31 mei		27,9	20,3	20,8	26,4
1 juni t/m 10 juni		29,5	21,8	22,4	27,7
11 juni t/m 20 juni		28,4	21,2	21,5	26,8
21 juni t/m 30 juni		33,9	24,8	24,9	32,5
1 juli t/m 10 juli		34,5	26,2	25,8	32,0
11 juli t/m 20 juli		32,2	24,8	25,6	30,9
21 juli t/m 22 juli		28,3	21,5	22,0	26,5

Gegevens van "orchideeën-thermostaat".

Hierin hebben de explantaten continu gestaan.

Bijlage 3

VERONTREINIGINGEN

Behan- deling	Verontreiniging		Behande- deling	Verontreiniging		Aantal			
	aantal/ totaal	%		aantal/ totaal	%	S	B	?	
1 A	0/16	0,0	Bij bodem	1 B	4/15	26,7	2	2	
2 A	0/16	0,0	A: aantal	2 B	2/14	14,3	1	1	
3 A	2/15	13,3	schimmels :	3 B	7/14	50,0	1	6	
4 A	1/16	6,3	39	4 B	2/15	13,3		2	
5 A	0/16	0,0	Bacterie : 3	5 B	9/15	60,0	4	2	3
6 A	0/16	0,0	S = 39/42	6 B	6/15	40,0		5	1
7 A	3/16	18,8	92,9%	7 B	5/15	33,3	1	4	
8 A	2/16	12,5	B = 3/42	8 B	5/16	31,3	1	4	
9 A	4/16	25,0	7,1%	9 B	1/15	6,7	1		
10 A	6/16	37,5		10 B	1/16	6,3		1	
11 A	2/16	12,5		11 B	8/16	50,0	1	4	3
12 A	5/16	31,3		12 B	5/14	35,7		5	
13 A	5/16	31,3		13 B	7/15	46,7	4	2	1
14 A	3/16	18,8		14 B	5/15	33,3	2	2	1
15 A	4/16	25,0		15 B	7/15	46,7	4	3	
16 A	0/16	0,0		16 B	5/15	33,3	3	2	
17 A	4/16	25,0		17 B	7/15	46,7	1	5	1
18 A	1/16	6,3		18 B	9/15	60,0	1	8	
Totaal	42/287	14,6		Totaal	95/270	35,2	27	58	10
							28,4%	61,1%	10,5%
Gehele proef	S : 66/137 = 48,2%								
	B : 61/137 = 44,5%								
	? : 10/137 = 7,3%								

INVLOED KINETINE

	A	%	B	%	A+B	%
1 t/m 6 0 d.p.m.	3/95	3,2	30/88	34,1	33/183	18,0
7 t/m 12 0,1 d.p.m.	22/96	22,9	25/92	27,2	47/188	25,0
13 t/m 18 1 d.p.m.	17/96	17,7	40/90	44,4	57/186	30,6

INVLOED I.A.A.

	A	%	B	%	A+B	%
1. +7+13 0 d.p.m.	8/48	16,7	16/45	35,6	24/93	25,8
2. +8+14 0,01 d.p.m.	5/48	10,4	12/45	26,7	17/93	18,3
3. +9+15 0,1 d.p.m.	10/47	21,3	15/44	34,1	25/91	27,5
4. +10+16 1,0 d.p.m.	7/48	14,6	8/46	17,4	15/94	16,0
5. +11+17 10 d.p.m.	6/48	12,5	24/46	52,2	30/94	31,9
6. +12+18 100 d.p.m.	6/48	12,5	20/44	45,5	26/92	28,3

Scheutvorming bodem A

Behandeling	Uitgroei		Lengte in cm			Lengte \leq 0,5 cm	
	aantal/ totaal	%	totaal/ aantal	gemid.	aantal/ totaal	%	
1 A	16/16	100	22,8/15	1,52	5/15	33,3	
2 A	16/16	100	16,6/14	1,19	5/14	35,7	
3 A	11/14	78,6	20,5/9	2,28	2/9	22,2	
4 A	10/15	66,6	3,5/7	0,50	6/7	85,7	
5 A	10/16	62,5	12,7/10	1,17	6/10	60,0	
6 A	9/16	56,3	1,5/3	0,50	3/3	100	
7 A	13/13	100	21,4/12	1,78	6/12	50,0	
8 A	14/14	100	10,4/12	0,87	3/12	25,0	
9 A	12/12	100	17,8/12	1,48	4/12	33,3	
10 A	9/11	81,8	3,0/6	0,50	6/6	100	
11 A	12/14	85,7	5,5/11	0,50	11/11	100	
12 A	4/11	36,4	0,5/1	0,50	1/1	100	
13 A	11/11	100	23,5/11	2,15	3/11	27,3	
14 A	12/13	92,3	13,6/12	1,13	3/12	25,0	
15 A	11/12	91,7	24,7/11	2,25	0/11	0,0	
16 A	15/16	93,7	24,8/14	1,77	4/14	28,6	
17 A	11/13	84,6	5,0/10	0,50	10/10	100	
18 A	4/15	26,7					
Totaal	200/248	80,1	227,8/170	1,34	78/170	4,59	

INVLOED KINETINE

1 t/m 6	72/93	77,4	77,6/58	1,34	27/58	47,0
7 t/m 12	64/75	85,3	58,6/54	1,09	31/54	57,4
13 t/m 18	64/80	80,0	91,6/58	1,58	20/58	34,5

INVLOED I.A.A.

1.7.13	40/40	100	67,7/38	1,78	14/38	36,8
2.8.14	42/43	97,7	40,6/38	1,07	11/38	28,9
3.9.15	34/38	89,5	63,0/32	1,97	6/32	18,8
4.10.16	34/42	81,0	31,3/27	1,16	16/27	59,3
5.11.17	33/43	76,7	23,2/31	0,75	27/31	87,1
6.12.18	17/42	40,5	2/4	0,50	4/4	100

Scheutvorming bodem B

Behandeling	Uitgroei		Lengte in cm		Lengte $\leq 0,5$ cm	
	aantal/ totaal	%	totaal/ aantal	%	aantal/ totaal	%
1 B	13/13	100	54,4/9	6,04	0/9	0
2 B	14/14	100	61,3/11	5,57	1/11	9,1
3 B	7/8	87,5	26,1/5	5,22	0/5	0
4 B	12/13	92,3	18,3/11	1,66	4/11	36,4
5 B	4/9	44,4	1,0/2	0,50	2/2	100
6 B	6/10	60,0	3,0/6	0,50	5/6	83,3
7 B	11/11	100	28,9/8	3,61	1/8	12,5
8 B	11/12	91,7	49,1/11	4,46	1/11	9,1
9 B	14/14	100	38,0/14	2,71	3/14	21,4
10 B	13/15	86,7	20,1/13	1,55	3/13	23,1
11 B	10/11	90,9	3,7/7	0,53	3/7	42,9
12 B	3/8	37,5	1,5/3	0,50	3/3	100
13 B	10/10	100	40,9/8	5,11	0/8	0
14 B	10/11	90,9	26,6/8	3,33	0/8	0
15 B	9/10	90,0	48,0/7	6,86	0/7	0
16 B	7/10	70,0	21,0/8	2,63	3/8	37,5
17 B	6/8	75,0	2,6/5	0,52	3/5	60,0
18 B	1/10	10,0				
Totaal	161/197	81,7	44,5/136	3,27	32/136	23,5

INVLOED KINETINE

1 t/m 6	56/67	83,6	164,1/44	3,79	12/44	27,3
7 t/m 12	62/71	87,3	141,3/56	2,52	14/56	25,0
13 t/m 18	43/59	72,9	139,1/36	3,86	6/36	16,7

INVLOED I.A.A.

1.7.13	34/34	100	124,2/25	4,97	1/25	4,0
2.8.14	35/37	94,6	137,0/30	4,57	2/30	6,7
3.9.15	30/32	93,8	112,1/26	4,31	3/26	11,5
4.10.16	32/38	84,2	59,4/32	1,86	10/32	31,3
5.11.17	20/28	71,4	7,3/14	0,52	8/14	57,1
6.12.18	10/28	35,7	4,5/9	0,50	8/9	89,8

Scheutvorming bodem A + B

Behandeling	Uitgroei		Lengte in cm			Lengte $\leq 0,5$ cm	
	aantal/ totaal	%	totaal/ aantal	%	aantal/ totaal	%	
1 A + B	29/29	100	77,2/24	3,22	5/24	20,8	
2 A + B	30/30	100	77,9/25	3,12	6/25	25,0	
3 A + B	18/22	81,8	46,6/14	3,33	2/14	14,3	
4 A + B	22/28	78,6	21,8/18	1,21	10/18	55,6	
5 A + B	14/25	56,0	13,7/12	1,14	8/12	66,7	
6 A + B	15/26	57,7	4,5/9	0,50	8/9	88,9	
7 A + B	24/24	100	50,3/20	2,52	7/20	35,0	
8 A + B	25/26	96,2	59,5/23	2,59	4/23	17,4	
9 A + B	26/26	100	55,8/26	2,15	7/26	26,9	
10 A + B	22/26	84,6	23,1/19	1,22	9/19	56,3	
11 A + B	22/25	88,0	9,2/18	0,51	14/18	77,8	
12 A + B	7/19	36,8	2,0/4	0,50	4/4	100	
13 A + B	21/21	100	64,4/19	3,39	3/19	15,8	
14 A + B	22/24	91,7	40,2/20	2,01	3/20	15,0	
15 A + B	20/22	90,9	72,7/18	4,04	0/18	0	
16 A + B	22/26	84,6	45,8/22	2,08	7/22	31,8	
17 A + B	17/21	81,0	7,6/15	0,51	13/15	86,7	
18 A + B	5/25	20,0					
Gemiddeld	361/445	81,1	672,3/306	2,20	110/306	35,9	

INVLOED KINETINE

1 t/m 6	128/160	80,0	241,7/102	2,37	39/102	38,2
7 t/m 12	126/146	86,3	199,9/110	1,82	45/110	40,9
13 t/m 18	107/139	77,0	230,7/94	2,45	26/94	27,7

INVLOED I.A.A.

1.7.13	74/74	100	191,9/63	3,05	15/63	23,8
2.8.14	77/80	96,3	177,6/68	2,61	13/68	19,1
3.9.15	64/70	91,4	175,1/58	3,02	9/58	15,5
4.10.16	66/80	82,5	90,7/59	1,54	26/59	44,1
5.11.17	53/71	74,6	30,5/45	0,68	35/45	77,8
6.12.18	27/70	38,6	6,5/13	0,50	12/13	92,3

AANTAL DAGEN TUSSEN UITPLANTEN EN EERSTE SCHEUTGROEI

Behan- deling	Aantal dagen			Behan- deling	Aantal dagen		
	totaal/ aantal	gemid- deld	Uitersten		totaal/ aantal	gemid- deld	Uitersten
1 A	507/15	33,8	7-84	1 B	277/13	21,3	8-90
2 A	740/13	56,9	7-113	2 B	279/12	23,3	13-70
3 A	340/11	30,9	7-64	3 B	179/6	29,8	13-90
4 A	280/5	56,0	16-64	4 B	463/10	46,3	21-90
5 A	378/5	75,6	57-106	5 B	21/1	21,0	21-21
6 A				6 B	106/3	35,3	8-85
7 A	317/11	28,8	7-104	7 B	97/8	12,1	8-21
8 A	192/12	16,0	7-28	8 B	136/9	15,1	8-29
9 A	250/11	22,7	7-48	9 B	253/12	21,0	16-23
10 A	123/2	61,5	48-75	10 B	414/12	34,5	7-105
11 A	70/1	70,0	70-70	11 B	50/2	25,0	21-29
12 A	75/1	75,0	75-75	12 B	170/2	85,0	85-85
13 A	293/10	29,3	7-97	13 B	184/9	20,4	8-77
14 A	374/10	37,4	13-97	14 B	287/9	31,9	13-85
15 A	230/11	20,9	13-41	15 B	189/9	21,0	8-63
16 A	453/12	37,8	16-105	16 B	153/7	21,9	13-25
17 A	36/2	18,0	7-29	17 B	154/2	77,0	77-77
18 A				18 B	111/1	111,0	111-111
Gemiddeld	4658/132	35,3	7-112	Gemiddeld	3523/127	27,7	7-111
INVLOED KINETINE							
1 t/m 6	2245/49	45,8	7-113	1 t/m 6	1325/45	29,4	8-90
7 t/m 12	1027/38	27,0	7-104	7 t/m 12	1120/45	24,9	7-105
13 t/m 18	1386/45	30,8	7-105	13 t/m 18	1028/37	29,1	8-111
INVLOED I.A.A.							
1.7.13	117/36	31,0	7-104	1.7.13	558/30	18,6	8-90
2.8.14	1306/35	37,3	7-113	2.8.14	702/30	23,4	8-85
3.9.15	820/33	24,8	7-64	3.9.15	621/27	23,0	8-90
4.10.16	856/19	45,1	16-105	4.10.16	1030/29	35,5	7-105
5.11.17	484/8	60,5	7-106	5.11.17	225/5	45,0	21-77
6.12.18	75/1	75,0	75-75	6.12.18	387/6	64,5	8-111

AANTAL DAGEN TUSSEN UITPLANTEN EN EERSTE SCHEUTGROEI

GEMIDDELD OVER BEIDE (A + B) BODEMS

Behandeling	Aantal dagen		Uitersten
	totaal/aantal	gemiddeld	
1 A + B	784/28	28,0	7 - 90
2 A + B	1019/25	40,8	7 - 113
3 A + B	519/17	34,8	7 - 90
4 A + B	743/15	49,5	16 - 90
5 A + B	399/6	66,5	21 - 106
6 A + B	106/3	35,3	8 - 85
7 A + B	414/19	21,8	7 - 104
8 A + B	328/21	15,6	7 - 29
9 A + B	503/23	21,9	7 - 48
10 A + B	537/14	38,4	7 - 105
11 A + B	120/3	40,0	21 - 70
12 A + B	245/3	81,7	75 - 85
13 A + B	477/19	25,1	7 - 97
14 A + B	661/19	34,8	13 - 97
15 A + B	419/20	21,0	8 - 63
16 A + B	606/19	31,9	13 - 105
17 A + B	190/4	47,5	7 - 77
18 A + B	111/1	111,0	111 - 111
Gemiddeld	8181/259	31,6	7 - 113
INVLOED KINETINE			
1 t/m 6	3570/94	38,0	7 - 113
7 t/m 12	2147/83	25,9	7 - 105
13 t/m 18	2464/82	30,0	7 - 111
INVLOED I.A.A.			
1.7. 13.	1675/66	25,4	7 - 104
2.8. 14	1008/65	30,9	7 - 113
3.9. 15	1441/60	24,0	7 - 90
4.10.16	1886/48	39,3	7 - 105
5.11.17	709/13	54,5	7 - 106
6.12.18	462/7	66,0	8 - 111

Vergelende hoofdschutter.

Bech.	gelyc aant/ tot.	schutter %	Bech.	gelyc aant/ tot.	schutter %	Bech.	gelyc aant/ tot.	schutter %
1A	4/15	26.7	1B	7/9	77.8	1A+B	11/24	45.8
2A	1/14	7.1	2B	7/11	63.6	2A+B	8/25	32.0
3A	1/9	11.1	3B	3/5	60.0	3A+B	4/14	28.6
4A	1/7	14.3	4B	0/11	0	4A+B	1/18	5.6
5A	0/10	0	5B	0/2	0	5A+B	0/2	0
6A	0/3	0	6B	0/6	0	6A+B	0/9	0
7A	5/12	41.7	7B	3/8	37.5	7A+B	8/20	40.0
8A	2/12	16.7	8B	5/11	45.5	8A+B	7/23	30.4
9A	1/12	8.3	9B	3/14	21.4	9A+B	4/26	15.4
10A	0/6	0	10B	2/13	15.4	10A+B	2/19	10.5
11A	0/11	0	11B	0/7	0	11A+B	0/18	0
12A	0/1	0	12B	0/3	0	12A+B	0/4	0
13A	3/11	27.3	13B	2/8	25.0	13A+B	5/19	26.3
14A	2/12	16.7	14B	1/8	12.5	14A+B	3/20	15.0
15A	3/11	27.3	15B	3/7	42.9	15A+B	6/18	33.3
16A	2/14	14.3	16B	3/8	37.5	16A+B	5/22	22.7
17A	0/10	0	17B	0/5	0	17A+B	0/15	0
18A	0/0	-	18B	0/0	0	18A+B	0/0	-
Gem. A	25/170	14.7	Gem. B	39/136	28.7	Gem. A+B	64/306	20.9
17m6A	7/58	12.1	17m6B	17/44	38.6	17m6A+B	24/102	23.5
74m12A	8/54	14.8	74m12B	13/56	23.2	74m12A+B	21/110	19.1
134m18A	10/58	17.2	134m18B	9/36	25.0	134m18A+B	19/94	20.2
1.7.13.A	12/38	31.6	1.7.13.B	12/25	48.0	1.7.13.A+B	24/63	38.1
2.8.14.A	5/38	13.2	2.8.14.B	13/30	43.3	2.8.14.A+B	18/68	26.5
3.9.15.A	5/32	15.6	3.9.15.B	9/26	34.6	3.9.15.A+B	14/58	24.1
4.10.16.A	3/27	11.1	4.10.16.B	5/32	15.6	4.10.16.A+B	8/59	13.6
5.11.17.A	0/31	0	5.11.17.B	0/14	0	5.11.17.A+B	0/45	0
6.12.18.A	0/4	0	6.12.18.B	0/9	0	6.12.18.A+B	0/13	0

Bylage 7

2ijskleedvanning.

No.	Bodem A		A sand/ tot. sand	gum aan	Bodem B		B sand/ tot. sand	gum aan	Bodem A + B		A + B sand/ tot. sand	gum aan	
	sand/ tot.	%			sand/ tot.	%			sand/ tot.	%			
1	1/15	6.7	1/1	1.0	5/9	55.6	6/5	1.2	6/24	25.0	7/6	1.2	
2	0/14	0			5/11	45.5	5/5	1.0	5/25	20.0	5/5	1.0	
3	1/9	11.1	1/1	1.0	2/5	40.0	2/2	1.0	3/14	21.4	3/3	1.0	
4	0/7	0			1/11	9.1	1/1	1.0	1/18	5.6	1/1	1.0	
5	0/10	0			0/2	0			0/12	0			
6	0/3	0			0/6	0			0/9	0			
7	0/12	0			5/8	62.5	7/5	1.4	5/20	25.0	7/5	1.4	
8	0/12	0			4/11	36.4	8/4	2.0	4/23	17.4	5/4	2.0	
9	0/12	0			5/14	35.7	5/5	1.0	5/26	19.2	5/5	1.0	
10	0/6	0			2/13	15.4	2/2	1.0	2/19	10.5	2/2	1.0	
11	0/11	0			0/7	0			0/18	0			
12	0/1	0			0/3	0			0/4	0			
13	1/11	9.1	2/1	2.0	1/8	12.5	1/1	1.0	2/19	10.5	3/2	1.5	
14	0/12	0			2/8	25.0	2/2	1.0	2/20	10.0	2/2	1.0	
15	1/11	9.1	1/1	1.0	1/7	14.3	1/1	1.0	2/18	11.1	2/2	1.0	
16	1/14	7.1	5/1	5.0	0/8	0			1/22	4.5	5/1	5.0	
17	0/10	0			0/5	0			0/15	0			
18	0/0	0			0/0	0			0/0	0			
Tot. - Gum		55/170	29	10/5	2.0	33/136	24.3	40/33	1.2	38/306	12.4	50/38	1.3
Inhoud linnedike.													
1 km 6	2/58	3.5	2/2	1.0	13/44	29.5	14/13	1.1	15/102	14.7	16/15	1.1	
7 km 12	0/54	0	0/0	-	18/56	28.6	22/16	1.4	16/110	14.5	22/16	1.4	
16 km 18	2/58	3.5	8/3	2.7	4/56	7.1	4/4	1.0	7/114	6.1	12/7	1.7	
1.7.13	2/38	5.3	3/2	1.5	11/25	44.0	14/11	1.3	13/63	20.6	17/13	1.3	
2.8.14	0/38	0	0/0	-	11/30	36.7	15/11	1.4	11/68	19.0	15/11	1.4	
3.9.15	2/32	6.3	2/2	1.0	8/26	30.8	8/8	1.0	10/58	17.2	10/10	1.0	
4.10.16	1/27	3.7	5/1	5.0	3/32	9.4	3/3	1.0	4/59	6.8	8/4	2.0	
5.11.17	0/31	0	0/0	-	0/14	0	0/0	-	0/45	0	0/0	-	
6.12.18	0/4	0	0/0	-	0/9	0	0/0	-	0/13	0	0/0	-	

Bijlage 8.

Op 22/7 tenminste nog iets groen (exploitatie).

Bch.	Bodem A		Bodem B		Bodem A+B	
	aanst/100	%	aanst/100	%	aanst/100	%
1	12/16	75.0	9/12	75.0	21/28	75.0
2	8/16	50.0	8/11	72.7	16/27	59.3
3	6/14	42.9	4/7	57.1	10/21	47.6
4	1/15	6.7	6/13	46.2	7/28	25.0
5	7/16	43.8	2/6	33.3	9/22	40.9
6	1/16	6.3	2/9	22.2	3/25	12.0
7	2/13	15.4	8/10	80.0	10/23	43.5
8	3/14	21.4	7/11	63.6	10/25	40.0
9	7/12	58.3	10/14	71.4	17/26	65.4
10	4/10	40.0	11/15	73.3	15/25	60.0
11	2/14	14.3	7/8	87.5	9/22	40.9
12	1/11	9.1	3/7	42.6	4/18	22.2
13	10/11	90.9	8/8	100	18/19	94.7
14	8/13	61.5	7/7	100	15/20	75.0
15	3/12	25.0	6/6	55.6 100	9/18	50.0
16	6/16	37.5	5/9	55.6 55.6	11/25	44.0
17	7/12	58.3	2/7	28.6	9/19	47.4
18	0/15	0	1/5	20.0	1/20	5.0
Tot. gem	88/246	35.8	106/165		194/411	47.2
Inloed mixedine.						
1 ⁴ mr 6	35/93	37.6	31/58	53.4	66/151	43.7
7 ⁴ mr 12	19/74	25.7	46/65	70.8	65/139	46.8
13 ⁴ mr 18	34/79	43.0	29/42	69.0	63/121	52.1
Inloed ZAA.						
1. 7. 13	24/40	60.0	25/30	83.3	49/70	70.0
2. 8. 14	19/43	44.2	22/29	75.9	41/72	56.9
3. 9. 15	16/38	42.1	20/27	74.1	36/65	55.4
4. 10. 16	11/41	26.8	22/37	59.5	33/78	42.3
5. 11. 17	16/42	38.1	11/21	52.4	27/63	42.9
6. 12. 18	2/42	4.8	6/21	28.6	8/63	12.7