

Proefstation voor Tuinbouw onder Glas te Naaldwijk

Vegetatieve vermeerdering van *Asparagus setaceus* (plumosis) in vitro.
Proef XIII: Invloed van cortisonen op de wortelaanleg.

Ph.E. de Vreede

Naaldwijk,
23 november 1984

Intern verslag no. 51

2214987

<u>Inhoudsopgave</u>	pag.
1. Inleiding	1
2. Proefopzet	2
3. Resultaten	4
3.1 Verontreinigingen	4
3.2 Scheutvorming	4
3.3 Wortelvorming	5
3.4 Verkleuring	6
4. Discussie	7
5. Conclusie	8
Bijlagen	

Vegetatieve vermeerdering van *Asparagus setaceus* (plumosis) in vitro.

Proef XIII: Invloed van cortisonen op de wortelaanleg

Tijd: juni 1981 - januari 1982

Project: C4

uitvoering: Philomeen de Vreede

Proefneemster: Wil van Ravestyn

1. Inleiding:

In deze proef wordt de invloed van cortisonen op de wortelaanleg en uitgroei nagegaan. De invloed van verschillende concentraties hydro-, dihydro- en tetrahydrocortison en opnametijd van deze stoffen wordt bekeken. Het toedienen van de cortisonen zoals in deze proef gedaan wordt, is op aanraden van J.v. Geurs. Na de behandeling (opname) wordt direkt op een wortelinducerend medium uitgeplant (vereenvoudiging van het werk). Cortisonen zijn groeistoffen die de wortelgroei induceren en de groei bij planten bevorderen, ze hebben soms cytokinine (inductie celdeling), soms auxine (inductie celstrekking)-achtige werking. De explantaten zijn in deze proef genomen van stevige donkergroene ranken \pm 20 doorns lang, dus niet van veren.

2. Proefopzet:

Per behandeling wordt een tak snijgroen gebruikt. Hiervan worden de onderste 10 doornknoppen uitgeplant. De 5 onderste doornknoppen van een tak worden aangeduid als de "oudere" explantaten 6 t/m 10 waarvan 10 de "oudste" is. De 5 doornknoppen daarboven worden aangeduid als de "jongere" explantaten 1 t/m 5 waarvan de 1 de "jongste" is.

Deze takken worden in flessen geplaatst met 650 ml oplossing. Over het algemeen kwamen de 5 onderste doornknoppen in de oplossing te staan.

Voor alle explantaten wordt het volgende medium gebruikt.

Murashige and Skoog (M + S) (halve sterkte).

cat. no. HCM 101 zouten SF-112	2.33 g/l
Fructose	30 g/l
IAA	0,01 mg/l
Om te stollen Bacto agar	8 g/l

De pH wordt gesteld op $\approx 5,6$. Geautoclaveerd wordt 15 minuten op 121°C (= 1 atm.)

De volgende behandelingen worden vergeleken.

Behandeling 1: Vers gewonnen materiaal direkt planten (controle 1)

Beh. 2: Tak 1 dag laten staan in 25 mg/l cortison, dan planten.

Beh. 3: Tak 1 dag laten staan in 50 mg/l cortison, dan planten.

Beh. 4: Tak 2 dagen laten staan in 25 mg/l cortison, dan planten.

Beh. 5: Tak 2 dagen laten staan in 50 mg/l cortison, dan planten.

Beh. 6: Tak 4 dagen laten staan in 25 mg/l cortison, dan planten.

Beh. 7: Tak 4 dagen laten staan in 50 mg/l cortison, dan planten.

Beh. 8: Tak 8 dagen laten staan in 25 mg/l cortison, dan planten.

Beh. 9: Tak 8 dagen laten staan in 50 mg/l cortison, dan planten.

Beh. 10: Tak 8 dagen laten staan in water en dimethylformamide (dmf)

0,1 %, dan planten (controle 2)

Deze behandelingen worden drie maal uitgevoerd.

Beh. 1 A, B en C zijn controles en gelijk.

Beh. 2 A t/m 9 A uitgevoerd met hydrocortison

Beh. 2 B t/m 9 B uitgevoerd met dihydrocortison

Beh. 2 C t/m 9 C uitgevoerd met tetrahydrocortison

Beh. 10 A, B en C zijn controles en gelijk.

In schema:

concen- tratie	Dag no.				
	0	1	2	4	8
	(ma)	(di)	(wo)	(vr)	(di)

0	1				10
25		2	4	6	8
50		3	5	7	9

Tot slot nog enkele opmerkingen t.a.v. de bereiding van de bodem en de oplossingen.

De bodem is met over "Pyrex"- gedestilleerd water gemaakt, evenals de IAA oplossing. Het oplossen van de IAA ging als volgt:

100 mg IAA is opgelost in 3 ml NaOH 1 n en daarna aangevuld tot 100 ml met "Pyrex"-water. Dit is 1000 dpm (= 1000 mg/l).

Het oplossen van de cortisonen:

50 mg cortison (hydro-, dihydro- of tetrahydrocortison) is opgelost in 1 ml zuivere dimethylformamide en daarna aangevuld tot 1 liter met demi-water.

650 ml hiervan wordt gebruikt voor beh. 3, 5, 7 en 9.

350 ml van dezelfde oplossing wordt verdund met 350 ml demi-water, gemengd en hiervan wordt 650 ml afgemeten. Dit wordt gebruikt voor beh. 2, 4, 6 en 8.

1 ml dimethylformamide wordt verdund tot 1 liter met demi-water, hiervan wordt 650 ml afgemeten en gebruikt voor beh. 10.

De explantaten zijn na de behandeling ontsmet door ze even in alcohol 70% te dopen en daarna 10 minuten te ontsmetten in een 1% chlooroplossing.

Deze chlooroplossing bestond uit chloorbleekloog + 0,1% uitvloeier.

Het ontsmetten werd gevolgd door 3x steriel spoelen. Voor het planten zijn de explantaten gedroogd m.b.v. steriel filtreerpapier. Vervolgens werden de explantaten polair geplant (doorn wijst naar beneden) en zijn de buizen afgesloten met aluminium doppen en parafilm. De kweken zijn in het licht (16 u/dag) bij 27 °C geplaatst.

De gegevens betreffende de bereiding en het uitplanten zijn in bijlage 1 opgenomen. De gemiddelde temperatuur van Vötschkast II geeft bijlage 2 weer.

Bij de berekening van "het aantal dagen tot" is uitgegaan vanaf het planten van de explantaten en dus niet vanaf het inzetten van de proef. Dit verschil is maximaal 8 dagen (beh. 8, 9 en 10) met beh. 1 (0 dagen).

3. Resultaten:

3.1 Verontreinigingen: (zie bijlage 3)

Bijna 50% van de explantaten is verontreinigd, gemiddeld na 31 dagen met een spreiding van 6 tot 182 dagen.

Behandeling 1 (onbehandeld) heeft 7% verontreiniging na gemiddeld 15 dagen, alle andere behandelingen tussen de 33 en 67% verontreiniging na gemiddeld 31 dagen.

De verschillende cortisonen behandelingen geven voor hydro-, dihydro- en tetrahydrocortison respectievelijk 61, 62 en 19% verontreiniging.

Respectievelijk gemiddeld na 28, 32 en 36 dagen.

Explantaten die langer in de oplossing hebben gestaan geven meer en sneller verontreiniging, namelijk 1, 2, 4 of 8 dagen in oplossing geeft respectievelijk 37, 47, 62 en 59% verontreiniging. De gemiddelde duur tot verontreiniging is respectievelijk 48, 44, 29 en 19 dagen.

De beide concentraties cortisonen namelijk 25 en 50 mg/l geven respectievelijk 49 en 53% verontreiniging na gemiddeld 28 en 36 dagen.

Explantaten (explantaathoogte ~ 6 t/m 10) die tijdens de voorbehandeling in een cortison oplossing hebben gestaan geven meer verontreiniging 65% t.o.v. de explantaten (explantaathoogte ~ 1 t/m 5) die niet in de oplossing hebben gestaan 39%. De gemiddelde duur tot deze verontreiniging is gelijk gemiddeld na 31 dagen. (zie bijlage 8)

De "jongere" explantaten 1 t/m 5 geven minder verontreiniging 37% t.o.v. de "oudere" explantaten 6 t/m 10 58%, alleen bij tetrahydrocortison geven de "jongere" en de "oudere" explantaten evenveel verontreiniging \pm 20%. De gemiddelde duur tot verontreiniging bij de "jongere" en "oudere" explantaten is ongeveer gelijk gemiddeld na 31 dagen.

Over het algemeen hebben explantaten die we met "jongere" aanduiden niet in de oplossingen gestaan en de explantaten die we met "oudere" aanduiden wel in de cortisonen oplossingen gestaan.

3.2 Scheutvorming (zie bijlage 4 en 4a)

Van de niet verontreinigde explantaten vormden 62% hoofdscheuten gemiddeld na 17 dagen met een spreiding van 7 tot 68 dagen.

Onbehandeld geeft 97% scheutvorming gemiddeld na 15 dagen.

Hydrocortison geeft meer scheutvorming 76% dan dihydro- en tetrahydrocortison respectievelijk 62 en 49%. De gemiddelde duur tot scheutvorming is gelijk gemiddeld na 17 dagen. Explantaten die langer in een cortison oplossing hebben gestaan geven minder scheuten. Namelijk 0, 1, 2, 4, of 8 dagen in oplossing geeft respectievelijk 97, 78, 47, 49 en 54% scheutvorming, de duur tot deze scheutvorming is gemiddeld 15, 16, 18, 20 en 15 dagen. De verschillende concentraties cortison 0, 25, en 50 mg/l geven respectievelijk 73, 58 en 60% scheutvorming na gemiddeld 15, 18 en 16 dagen.

De "jongere" explantaten 1 t/m 5 geven meer scheutvorming 75% t.o.v. "oudere" explantaten 6 t/m 10 46%. De duur tot scheutvorming is gemiddeld gelijk namelijk 17 dagen.

Van de niet verontreinigde explantaten trad bij 25% zijscheutvorming op gemiddeld na 34 dagen. Dat komt overeen met 34% zijscheutvorming bij explantaten met een hoofdscheut. (zie bijlage 5 en 6).

Onbehandeld geeft de meeste en snelste zijscheutvorming namelijk 54%, gemiddeld na 27 dagen. Hydrocortison geeft meer zijscheutvorming namelijk 42% t.o.v. dihydro- en tetrahydrocortison 20 en 18%. De explantaten die langer in een cortison oplossing hebben gestaan geven minder en minder snel zijscheuten namelijk 0, 1, 2, 4 en 8 dagen in oplossing geven 54, 32, 22, 15 en 12% zijscheutvorming respectievelijk na gemiddeld 27, 35, 33, 41 en 34 dagen.

Ook extra cortison verhoogd de zijscheutvorming niet, namelijk 0, 25 en 50 mg/l cortison geven respectievelijk 36, 22 en 23% zijscheutvorming na gemiddeld 27, 32 en 38 dagen.

"Jongere" explantaten geven meer zijscheutvorming namelijk 37% na gemiddeld 34 dagen t.o.v. "oudere" explantaten 9% zijscheutvorming na gemiddeld 32 dagen.

3.3 Wortelvorming:

Van alle explantaten die geplant zijn, is er één die wortels heeft gevormd. Namelijk 1 G X, dit is onbehandeld en een "oudere" explantaat. De wortels zijn na 168 dagen gevormd. Uitgeplant is op de gebruikelijke wijze (zie intern verslag no. 24, 1984, blz. 8).

3.4 Verkleuring (zie bijlage 7)

Alles wat niet verontreinigd is of geen wortels heeft gevormd is na verloop van tijd afgestorven (verkleurd).

Gemiddeld is na 111 dagen alles verkleurd met een spreiding van 6 tot 252 dagen.

4. Discussie:

Op deze wijze toedienen van cortisonen geeft te veel verontreiniging. De doorns die in de oplossing hebben gestaan, kunnen te weinig zuurstof hebben gehad, hierdoor verstikt zijn en vervolgens meer kans voor verontreiniging hebben gehad. Ook de doorns die niet in de oplossing hebben gestaan zijn meer verontreinigd dan onbehandeld dus ook cortisonen (d.m.v opzuiging) kunnen deze grote hoeveelheid van verontreiniging veroorzaakt hebben. Bij een volgende proef zullen misschien de cortisonen aan het medium moeten worden toegevoegd om minder verontreinigingen te krijgen. Het deze keer nemen van explantaten van ranken met \pm 20 doorns kan extra verontreiniging en verminderde scheutvorming hebben veroorzaakt. Waarschijnlijk was beter geweest stevige donkergroene veren voor deze proef te gebruiken die minder vatbaar voor verontreiniging en vitaler zijn.

5. Conclusie:

Deze proef heeft niet voldaan aan de verwachtingen van een verbetering van wortelaanleg en uitgroei d.m.v. cortisonen. Er trad te veel verontreiniging op en de gehele groei (hoofd- en zijscheuten, wortelaanleg) van de ex-plantaten was minder.

Bijlage 1

- 29051981 Bodem 1 t/m 10 A gemaakt en geautoclaveerd.
- 01061981 Hydrocortison oplossing gemaakt
snijgroen in oplossing gezet ± 11.00 u.
Beh. 1 in bodem geplant (11.00 - 12.15 u.)
- 02061981 Beh. 2 en 3 geplant (10.15 - 11.30 u.)
Beh. 2: 5 onderste doorns (expl. 6 t/m 10) stonden in oplossing.
Beh. 3: als beh. 2: 5 onderste doorns stonden in
oplossing
- 03061981 Beh. 4 en 5 geplant (10.15 - 11.30 u.)
Beh. 4: 4 onderste doorns (expl. 7 t/m 10) stonden in oplossing
Beh. 5: 6 onderste doorns (expl. 5 t/m 10) stonden in oplossing
- 05061981 Beh. 6 en 7 geplant (10.15 - 11.30 u.)
Beh. 6: 4 onderste doorns (expl. 7 t/m 10) stonden in oplossing
Beh. 7: 3 onderste doorns (expl. 8 t/m 10) stonden in oplossing
- 09061981 Beh. 8, 9 en 10 geplant (10.00 - 11.30 u.)
Beh. 8: 6 onderste doorns (expl. 5 t/m 10) stonden in oplossing.
Top rank is verdroogd vanaf 14^e doorn (⇒ onderste 13 doorns zijn
goed)
Beh. 9: 5 onderste doorns (expl. 6 t/m 10) stonden in oplossing.
Top rank is verdroogd vanaf 15^e doorn.
Beh. 10: 7 onderste doorns (expl. 4 t/m 10) stonden in oplossing.
Top rank is verdroogd vanaf 16^e doorn
- 10061981 Bodem 1 t/m 10 B en C gemaakt en geautoclaveerd.
- 22061981 Dihydrocortison oplossing gemaakt
Snijgroen in oplossing gezet ± 10.30 u.
Beh. 1 geplant (10.30 - 11.30 u.)
- 23061981 Beh. 2 en 3 geplant (11.30 - 12.00 u.)
Beh. 2: 4 onderste doorns (expl. 7 t/m 10) stonden in oplossing.
Beh. 3: 5 onderste doorns (expl. 6 t/m 10) stonden in oplossing.
- 24061981 Beh. 4 en 5 geplant (11.00 - 11.45 u.)
Beh. 4: 4 onderste doorns (expl. 7 t/m 10) stonden in oplossing.
Beh. 5: 5 onderste doorns (expl. 6 t/m 10) stonden in oplossing

26061981 Beh. 6 en 7 geplant (11.15 - 12.00 u.)
Beh. 6: 5 onderste doorns (expl. 6 t/m 10) stonden in oplossing.
Beh. 7: 5 onderste doorns (expl. 6 t/m 10) stonden in oplossing.

30061981 Beh. 8, 9 en 10 geplant (10.30 -12.00 u.)
Beh. 8: 4 onderste doorns (expl. 7 t/m 10) stonden in oplossing.
Beh. 9: 4 onderste doorns (expl. 7 t/ 10) stonden in oplossing.
Beh. 10: 4 onderste doorns (expl. 7 t/m 10) stonden in oplossing.

06071981 Tetracortison oplossing gemaakt
Snijgroen in oplossing gezet ± 14.00 u.
Beh. 1 geplant (14.15 - 14.45 u.)

07071981 Beh. 2 en 3 geplant (13.30 - 14.30 u.)
Beh. 2: 5 onderste doorns (expl. 6 t/m 10) stonden in oplossing.
Beh. 3: 5 onderste doorns (expl. 6 t/m 10) stonden in oplossing.

08071981 Beh. 4 en 5 geplant (15.30 - 16.30 u.)
Beh. 4: 5 onderste doorns (expl. 6 t/m 10) stonden in oplossing.
Beh. 5: 5 onderste doorns (expl. 6 t/m 10) stonden in oplossing.

10071981 Beh. 6 en 7 geplant (11.30 - 12.30 u.)
Beh. 6: 5 onderste doorns (expl. 6 t/m 10) stonden in oplossing.
Beh. 7: 4 onderste doorns (expl. 7 t/m 10) stonden in oplossing.

14071981 Beh. 8, 9 en 10 geplant (13.00 - 14.00 u.)
Beh. 8: 4 onderste doorns (expl. 7 t/m 10) stonden in oplossing.
Beh. 9: 5 onderste doorns (expl. 6 t/m 10) stonden in oplossing.
Beh. 10: 6 onderste doorns (expl. 5 t/m 10) stonden in oplossing.

30091982 1 G X in grond gezet

Bijlage 2

Gemiddelde temperatuur per decade in °C. Vötschkast II

<u>decade</u>	<u>maand</u>	<u>jaar</u>	<u>max.</u>	<u>min.</u>	<u>9 uur</u>	<u>14 uur</u>
1 ^e dec.	juni	1981	28.0	25.4	27.3	27.2
2 ^e dec.	juni	1981	27.0	22.0	25.7	24.6
3 ^e dec.	juni	1981	27.0	26.1	26.5	26.1
1 ^e dec.	juli	1981	26.4	25.5	25.8	25.5
2 ^e dec.	juli	1981	27.3	25.5	26.0	26.0
3 ^e dec.	juli	1981	27.9	24.8	25.9	25.9
1 ^e dec.	aug.	1981	28.4	27.7	28.0	28.0
2 ^e dec.	aug.	1981	28.2	27.5	27.7	27.7
3 ^e dec.	aug.	1981	28.5	27.9	28.1	28.0
1 ^e dec.	sept.	1981	28.9	28.1	28.5	28.1
2 ^e dec.	sept.	1981	29.1	28.2	28.6	28.4
3 ^e dec.	sept.	1981	28.8	28.2	28.5	28.3
1 ^e dec.	okt.	1981	28.8	28.3	28.5	28.4
2 ^e dec.	okt.	1981	28.7	28.3	28.4	28.4
3 ^e dec.	okt.	1981	28.6	28.2	28.4	28.3
1 ^e dec.	nov.	1981	28.9	28.5	28.7	28.6
2 ^e dec.	nov.	1981	28.8	28.2	28.4	28.3
3 ^e dec.	nov.	1981	28.4	28.1	28.2	28.2
1 ^e dec.	dec.	1981	28.6	27.9	28.4	28.1
2 ^e dec.	dec.	1981	26.1	25.9	26.0	26.0
3 ^e dec.	dec.	1981	26.4	26.0	25.9	26.2
1 ^e dec.	jan.	1982	26.9	26.5	26.8	26.6
2 ^e dec.	jan.	1982	27.4	27.1	27.0	27.2

Verontreinigingsgegevens

Bijlage 3

	Beh. no.	verontreiniging			aantal dagen tot verontreiniging				verontreiniging			aantal dagen tot verontreiniging		
		berek.	%	berek.	gem	min	max		berek.	%	berek.	gem	min	max
A hydrocortison	1	0/10	0					B dihydrocortison	1/10	10	15/1	15	15	15
	2	5/10	50	328/5	66	48	128		3/10	30	71/3	24	14	35
	3	6/10	60	251/6	42	23	56		5/10	50	188/5	38	27	56
	4	4/10	40	96/4	24	13	34		8/10	80	350/8	44	13	63
	5	4/10	40	118/4	30	22	47		8/10	80	358/8	45	13	63
	6	9/10	90	138/9	15	11	32		7/10	70	257/7	37	11	80
	7	10/10	100	295/10	30	11	67		8/10	80	349/8	44	19	104
	8	8/10	80	92/8	12	7	16		9/10	90	155/9	17	7	28
	9	8/10	80	217/8	27	7	97		6/10	60	91/6	15	7	35
	10	7/10	70	170/7	24	16	49		7/10	70	167/7	24	7	49
Tot.	61/100	61	1705/61	28	7	128	62/100	62	2001/62	32	7	104		

C tetracortison	1	1/10	10	14/1	14	14	14		2/30	7	29/2	15	14	15
	2	2/10	20	34/2	17	13	21	A+B	10/30	33	433/10	43	13	128
	3	1/10	10	182/1	182	182	182	+C	12/30	40	621/12	52	23	182
	4	1/10	10	92/1	92	92	92		13/30	43	538/13	41	13	92
	5	3/10	30	221/3	74	20	152		15/30	50	697/15	46	13	152
	6	1/10	10	10/1	10	10	10		17/30	57	405/17	24	10	80
	7	2/10	20	20/2	10	10	10		20/30	67	664/20	33	10	104
	8	2/10	20	27/2	14	6	21		19/30	63	274/19	14	6	28
	9	3/10	30	42/3	14	14	14		17/30	57	350/17	21	7	97
	10	3/10	30	42/3	14	14	14		17/30	57	379/17	22	7	49
Tot.	19/100	19	584/19	36	6	182		142/300	47	4390/142	31	6	182	

Bijlage 3

	Expl. no.	verontreiniging		aantal dagen tot verontreiniging				verontreiniging		aantal dagen tot verontreiniging			
		berek.	%	berek.	gem	min	max	berek.	%	berek.	gem	min	max
A hydrocortison	1	3/10	30	68/3	23	7	41	5/10	50	207/5	41	7	63
	2	5/10	50	252/5	50	7	97	B 5/10	50	185/5	37	15	80
	3	2/10	20	73/2	37	20	53	5/10	50	198/5	40	20	61
	4	5/10	50	87/5	17	7	32	dihydrocortison 4/10	40	188/4	47	15	104
	5	6/10	60	163/6	27	7	48	6/10	60	173/6	29	7	49
	6	8/10	80	196/8	25	11	56	6/10	60	209/6	35	22	55
	7	8/10	80	266/8	33	11	128	7/10	70	189/7	27	13	55
	8	9/10	90	219/9	24	11	48	7/10	70	225/7	32	7	63
	9	8/10	80	193/8	24	11	48	8/10	80	233/8	29	7	63
	10	7/10	70	188/7	27	7	56	9/10	90	194/9	22	7	56
	1t/m5	21/50	42	643/21	31	7	97	25/50	50	951/25	38	7	104
	6t/ml	1040/50	80	1062/42	27	7	128	37/50	74	1050/37	28	7	63
	Tot.	61/100	61	1705/61	28	7	128	62/100	62	2001/62	32	7	104

C tetracortison	1	1/10	10	14/1	14	14	14	9/30	30	289/9	32	7	63
	2	2/10	20	35/2	18	14	21	A+B 12/30	40	472/12	39	7	97
	3	2/10	20	28/2	14	14	14 +C	9/30	30	299/9	33	14	61
	4	1/10	10	49/1	49	49	49	10/30	33	324/10	32	7	104
	5	3/10	30	30/3	10	6	14	15/30	50	366/15	24	6	49
	6	2/10	20	27/2	14	13	14	16/30	53	432/16	27	11	56
	7	1/10	10	14/1	14	14	14	16/30	53	469/16	29	11	128
	8	2/10	20	30/2	15	10	20	18/30	60	474/18	26	7	63
	9	2/10	20	244/2	122	92	152	18/30	60	670/18	37	7	152
	10	3/10	30	213/3	71	10	182	19/30	63	595/19	31	7	182
	1t/m5	9/50	18	156/9	17	6	49	55/150	37	1750/55	32	6	104
	6t/ml	10/50	20	528/10	53	10	182	87/150	58	2640/87	30	7	182
	Tot.	19/100	19	684/19	36	6	182	142/300	47	4390/142	31	6	182

Scheutvormingsgegevens

bijlage 4

	Beh. no.	scheutvor-		aantal dagen tot				Beh. no.	scheutvor-		aantal dagen tot			
		ming	berek.	%	berek.	gem			min	max	ming	berek.	%	berek.
A hydrocortison	1	10/10	100	150/10	15	15	15	B	10/10	100	158/10	16	15	23
	2	10/10	100	140/10	14	14	14		8/9	89	120/8	15	14	22
	3	10/10	100	149/10	15	14	23	B hydrocortison	5/10	50	102/5	20	14	22
	4	7/9	78	118/7	17	13	22		3/9	33	47/3	16	13	21
	5	3/10	30	39/3	13	13	13		4/9	44	60/4	15	13	21
	6	1/4	25	20/1	20	20	20		3/9	33	97/3	32	19	39
	7	6/7	86	111/6	19	11	20		5/10	50	87/5	17	11	19
	8	6/9	67	96/6	16	16	16		4/5	80	65/4	16	15	20
	9	7/8	88	103/7	15	7	16		5/7	71	44/4	11	7	15
	10	2/5	40	32/2	16	16	16		6/8	75	90/6	15	15	15
tot.	62/82	76	958/62	15	7	23	53/86		62	870/52	17	7	39	

	Beh. no.	scheutvor-		aantal dagen tot				Beh. no.	scheutvor-		aantal dagen tot			
		min	bereke-	%	berek.	gem			min	max	min	bereke-	%	berek.
C tetracortison	1	8/9	89	112/8	14	14	14	A+B+	28/29	97	420/28	15	14	23
	2	5/9	56	97/5	19	13	21	C	23/28	82	357/23	16	13	22
	3	7/10	70	107/7	15	13	21		22/30	73	358/22	16	13	23
	4	2/10	20	95/2	48	27	68		12/28	43	260/12	22	13	68
	5	8/10	80	127/8	16	12	27		15/29	52	226/15	15	12	27
	6	8/9	89	132/7	19	10	32		12/22	55	249/11	23	10	39
	7	0/8	-						11/25	44	198/11	18	11	20
	8	2/9	22	42/2	21	14	28		12/13	52	203/12	17	14	28
	9	5/10	50	70/5	14	14	14		17/25	68	217/16	14	7	16
	10	0/7	0	-					8/20	40	122/8	15	15	16
tot.	45/91	49	782/44	18	10	68		160/259	62	2610/158	17	7	68	

Bijlage 4

	Expl. scheutvor-							aantal dagen tot										
	no.	ming	berek.		%			berek.	gem	min	max	scheutvor-	ming	berek.		%		
			berek.	%	berek.	gem	min							max	berek.	%	berek.	gem
A hydrocortison	1	8/10	80	106/8	13	7	16	B dihydrocortison	8/9	89	120/7	17	11	39				
	2	9/10	90	144/9	16	13	20		7/10	70	105/7	15	7	22				
	3	7/10	70	108/7	15	13	20		9/10	90	165/9	18	13	39				
	4	8/8	100	130/8	16	13	20		6/10	60	90/6	15	7	20				
	5	8/10	80	121/8	15	13	20		7/9	78	115/7	16	14	21				
	6	7/7	100	110/7	16	13	22		4/10	40	63/4	16	14	19				
	7	5/7	71	90/5	18	14	23		5/8	63	85/5	17	14	22				
	8	3/7	43	43/3	14	14	15		4/8	50	82/4	21	15	23				
	9	3/6	50	43/3	14	14	15		2/8	25	30/2	15	15	15				
	10	4/7	57	63/4	16	14	20		1/4	25	15/1	15	15	15				
	1t/m5	40/48	83	609/40	15	7	20		37/48	77	595/36	17	7	39				
	6t/m10	22/34	65	349/22	16	13	23		16/38	42	274/16	17	14	23				
	Tot.	62/82	76	958/62	15	7	23		53/86	62	869/52	17	7	39				

C tetracortison	1	7/10	70	112/7	16	12	28	A+B +C	23/29	79	338/22	15	7	39				
	2	6/10	60	100/6	17	10	27		22/30	73	349/22	16	7	27				
	3	5/9	56	71/5	14	12	18		21/29	72	344/21	16	12	39				
	4	6/10	60	100/6	17	13	21		20/28	71	320/20	16	7	21				
	5	5/7	71	87/5	17	14	21		20/26	77	323/20	16	13	21				
	6	3/8	38	53/3	18	14	21		14/25	56	226/14	16	13	22				
	7	3/9	33	34/2	17	13	21		13/24	54	209/12	17	13	23				
	8	5/9	56	147/5	29	12	68		12/24	50	272/12	23	12	68				
	9	3/10	30	52/3	17	12	27		8/24	33	125/8	16	12	27				
	10	2/9	22	26/2	13	12	14		7/20	35	104/7	15	12	20				
	1t/m5	29/46	63	470/29	16	10	28		106/142	75	1674/105	16	7	39				
	6t/m10	16/45	36	312/15	21	12	68		54/117	46	936/53	18	12	68				
	Tot.	45/91	49	782/44	18	10	68		160/259	62	2610/158	17	7	68				

Bijlage 4 a

Tabel 1: Procent (en berekening) van hoofdscheutvorming bij verschillende concentraties cortisonen (hydro, dihydro en tetracortison) en opnametijden. (Beh. 1 t/m 10, zie schema, blz. 3)

concentratie	Aantal dagen in oplossing (opnametijd)											
	0	1	2	4	8	Tot.						
	berek.	%										
cortisol												
0	28/29	97						8/20	40	36/49	73	
25			23/28	82	12/28	43	12/22	55	12/23	52	59/101	58
50			22/30	73	15/29	52	11/25	44	17/25	68	65/109	60
Tot.	28/29	97	45/58	78	27/57	47	23/47	49	37/68	54	160/259	62

Tabel 2: Gemiddeld aantal dagen tot hoofdscheutvorming bij verschillende concentraties cortisonen en opnametijden. (Beh. 1 t/m 10, zie tabel , blz. 3)

concentratie	Aantal dagen in oplossing (opnametijd)											
	0	1	2	4	8	Tot.						
	gem.	%										
cortisol												
0	420/28	15						122/8	15	542/36	15	
25			357/23	16	260/12	22	249/11	23	203/12	17	1069/58	18
50			358/22	16	226/15	15	198/11	18	217/16	14	999/64	16
Tot.	420/28	15	715/45	16	486/27	18	447/22	20	542/36	15	2610/158	17

ZijscheutvormingsgegevensBijlage 5

	Beh. no.	Zijscheut vorming		Aantal dagen tot zijscheutvorming					zijscheut vorming		Aantal dagen tot zijscheutvorming			
		berek.	%	berek.	gem	min	max		berek.	%	berek.	gem	min	max
A hydrocortison	1	5/10	50	77/3	26	24	29	B dihydrocortison	5/9	56	133/5	27	23	36
	2	5/10	50	189/5	38	23	48		5/8	63	154/5	31	22	35
	3	3/8	38	91/3	30	28	35		2/9	22	113/2	57	49	64
	4	5/7	71	90/3	30	22	34		0/8	0	-			
	5	0/7	0	-					0/9	0	-			
	6	0/3	0	-					0/8	0	-			
	7	3/4	75	135/3	45	45	45		1/7	14	24/1	24	24	24
	8	1/2	50	28/1	28	28	28		0/5	0	-			
	9	3/4	75	132/3	44	28	63		1/5	20	15/1	15	15	15
	10	0/5	0	-					1/7	14	28/1	28	28	28
Tot.	25/60	42	742/21	35	22	63	15/75	20	467/15	31	15	64		

C tetrahydrocortison	1	5/9	56	145/5	29	22	36	A+B	15/28	54	355/13	27	22	36
	2	1/8	13	-				+C	11/26	42	343/11	31	22	48
	3	1/10	10	50/1	50	50	50		6/27	22	254/6	42	28	64
	4	0/10	0	-					5/25	20	90/3	30	22	34
	5	6/9	67	204/6	34	20	41		6/25	24	204/6	34	20	41
	6	2/9	22	86/2	43	39	47		2/20	10	86/2	43	39	47
	7	0/8	0	-					4/19	21	159/4	40	24	45
	8	0/8	0	-					1/15	7	28/1	28	28	28
	9	0/7	0	-					4/16	25	147/4	37	15	63
	10	0/7	0	-					1/19	5	28/1	28	28	28
Tot.	15/85	18	485/14	35	20	50		55/220	25	1694/50	34	15	64	

Bijlage 5

Expl. no.	zijscheut vorming		aantal dagen tot zijscheutvorming					zijscheut vorming		aantal dagen tot zijscheutvorming				
	berek.	%	berek.	gem	min	max		berek.	%	berek.	gem	min	max	
A hydrocortison	1	4/8	50	113/4	28	23	34	4/8	44	84/4	21	15	24	
	2	6/9	67	224/6	37	22	63	B dihydrocortison	3/9	33	135/3	45	35	64
	3	5/9	56	138/4	35	28	41		2/9	22	72/2	36	23	49
	4	4/6	67	121/3	40	28	48		1/9	11	35/1	35	35	35
	5	4/7	57	117/3	39	24	48		1/7	14	27/1	27	27	27
	6	1/4	25	29/1	29	29	29		0/8	0	-			
	7	0/4	0						1/6	17	35/1	35	35	35
	8	0/3	0						1/8	13	28/1	28	28	28
	9	0/4	0						1/7	14	23/1	23	23	23
	10	1/6	17						1/3	33	28/1	28	28	28
1t/m5	23/39	59	713/20	36	22	63	11/43		26	353/11	32	15	64	
6t/ml0	2/21	10	29/1	29	29	29	4/32	13	114/4	29	23	35		
Tot.	25/60	42	742/21	35	22	63	15/75	20	467/15	31	15	64		

C tetracortison	1	2/9	22	49/2	25	20	29		10/26	38	246/10	25	15	34
	2	2/8	25	69/2	35	22	47	A+B +C	11/26	42	428/11	39	22	64
	3	2/8	25	63/2	32	29	34		9/26	35	273/8	34	23	49
	4	4/10	40	152/4	38	29	50		9/25	36	308/8	39	28	50
	5	2/7	29	41/1	41	41	41		7/21	33	185/5	37	24	48
	6	0/8	0						1/20	5	29/1	29	29	29
	7	0/9	0						1/19	5	35/1	35	35	35
	8	1/8	13	36/1	36	36	36		2/19	11	64/2	32	28	36
	9	1/10	10	41/1	41	41	41		2/21	10	64/2	32	23	41
	10	1/8	13	34/1	34	34	34		3/17	18	62/2	31	28	34
1t/m5	12/42	29	374/11	34	20	50	46/124		37	1440/42	34	15	64	
6t/ml0	3/43	7	111/3	37	34	41	9/96	9	254/8	32	23	41		
Tot.	15/85	18	485/14	35	20	50	55/220	25	1694/50	34	15	64		

Zijscheutvorming t.o.v. scheutvorming

Bijlage 6

Beh. no.		bereke ning	%	bereke ning	%	bereke ning	%	bereke ning	%			
1	A	5/10	50	B	5/10	50	C	5/8	63			
2		5/10	50		5/8	63		1/5	20			
3	hydrocortison	3/10	30	dihydrocortison	2/5	40	tetracortison	1/7	14			
4		5/7	71		0/3	0		0/2	0	5/12	42	
5		0/3	0		0/4	0		6/8	75	6/15	40	
6		0/1	0		0/3	0		2/8	25	2/12	17	
7		3/6	50		1/5	20		-	-	4/11	36	
8		1/6	17		0/4	0		0/2	0	1/12	8	
9		3/7	43		1/5	20		0/5	0	4/17	24	
10		0/2	0		1/7	14		-	-	1/8	13	
tot.			25/62		40			15/54	28		15/45	33
											55/160	34

Expl. no.		bereke ning	%	bereke ning	%	bereke ning	%	bereke ning	%			
1	A	4/8	50	B	4/8	50	C	2/7	29			
2		6/9	67		3/7	43		2/6	33			
3	hydrocortison	5/7	71	dihydrocortison	2/9	22	tetracortison	2/5	40			
4		4/8	50		1/6	17		4/6	67	9/20	45	
5		4/8	50		1/7	14		2/5	40	7/20	35	
6		1/7	14		0/4	0		0/3	0	1/4	7	
7		0/5	0		1/5	20		0/3	0	1/13	8	
8		0/3	0		1/4	25		1/5	20	2/12	17	
9		0/3	0		1/2	50		1/3	33	2/8	25	
10		1/4	25		1/1	100		1/2	50	3/7	43	
1t/m5			23/40		58			11/37	30		12/29	41
6t/m10			2/22		9			4/16	25		3/16	19
Tot.		25/62	40		15/54	28		15/45	33			
								55/160	34			

Verkleuringsgegevens

Bijlage 7

Beh. no.	Verkleuring		Aantal dagen tot verkleuring				Verkleuring			Aantal dagen tot verkleuring			
	berek.	%	berek.	gem	min	max		berek.	%	berek.	gem	min	max
A hydrocortison	1	10/10	100	1670/10	167	78	252	8/9	89	1156/8	145	108	197
	2	5/5	100	1056/5	211	188	217	7/7	100	1072/7	153	83	196
	3	4/4	100	768/4	192	146	217	5/5	100	801/5	160	83	230
	4	6/6	100	615/6	103	76	127	2/2	100	118/2	59	55	63
	5	6/6	100	275/6	46	22	103	2/2	100	119/2	60	13	106
	6	1/1	100	45/1	45	45	45	3/3	100	145/3	48	19	80
	7	0/0	100					2/2	100	202/2	101	80	121
	8	2/2	100	162/2	81	41	121	1/1	100	20/1	20	20	20
	9	2/2	100	146/2	73	49	97	4/4	100	510/4	128	100	160
	10	3/3	100	106/3	35	16	49	3/3	100	452/3	151	132	160
tot.	39/39	100	4843/39	124	16	252	37/38	97	4595/37	124	13	230	
C betracortison	1	9/9	100	1172/9	130	51	183	27/28	96	3998/27	148	51	252
	2	8/8	100	1096/8	137	93	182	20/20	100	3224/20	161	83	217
	3	9/9	100	879/9	98	50	153	18/18	100	2448/18	136	50	230
	4	9/9	100	1095/9	122	12	181	17/17	100	1828/17	108	12	181
	5	7/7	100	1005/6	168	92	215	15/15	100	1399/15	93	13	215
	6	9/9	100	1458/9	162	90	230	13/13	100	1648/13	127	19	230
	7	8/8	100	220/8	28	10	47	10/10	100	422/10	42	10	122
	8	8/8	100	440/8	55	6	146	11/11	100	622/11	57	6	146
	9	7/7	100	380/7	54	6	175	13/13	100	1036/13	80	6	175
	10	7/7	100	258/7	37	6	175	13/13	100	816/13	63	6	175
tot.	81/81	100	8003/81	99	6	230	157/158	99	17441/157	111	6	252	

B
dihydrocortison

A+B
+C

Bijlage 7

Expl. no.	Verkleuring			Aantal dagen tot verkleuring				Verkleuring			Aantal dagen tot verkleuring		
	berek.	%		berek.	gem	min		max	berek.	%		berek.	gem
1	7/7	100	760/7	109	45	217		5/5	100	598/5	120	83	160
A 2	5/5	100	655/5	131	47	188	B	5/5	100	638/5	128	55	196
3	8/8	100	943/8	118	34	217		5/5	100	540/5	108	46	167
4	5/5	100	718/5	144	78	217		6/6	100	699/6	117	63	167
5	4/4	100	465/4	116	16	217		4/4	100	611/4	153	106	230
6	2/2	100	265/2	133	76	189		4/4	100	420/4	105	20	160
7	2/2	100	230/2	115	41	189		3/3	100	496/3	165	140	196
8	1/1	100	218/1	218	218	218		3/3	100	377/3	126	13	197
9	2/2	100	274/2	137	22	252		2/2	100	216/2	108	19	197
10	3/3	100	315/3	105	22	252		0/1	0				
1t/m5	29/29	100	3541/29	122	16	217		25/25	100	3086/25	123	46	230
6t/m10	10/10	100	1302/10	130	22	252		12/13	92	1509/12	126	13	197
tot.	39/39	100	4843/39	124	16	252		37/38	97	4595/37	124	13	230

1	9/9	100	1078/9	120	6	230		21/21	100	2436/21	116	6	230
2	8/8	100	774/8	97	14	182		18/18	100	2067/8	115	14	196
C 3	8/8	100	1071/8	127	47	181	A+B	21/21	100	2500/21	119	34	217
4	9/9	100	1270/9	141	39	179	+C	20/20	100	2687/20	134	39	217
5	7/7	100	918/7	131	50	215		15/15	100	1990/15	133	16	230
6	8/8	100	693/8	87	6	183		14/14	100	1378/14	98	6	189
7	9/9	100	737/9	82	6	179		14/14	100	1463/14	105	6	196
8	8/8	100	651/8	81	6	154		12/12	100	1246/12	104	6	218
9	8/8	100	474/8	59	6	125		12/12	100	964/12	80	6	252
10	7/7	100	391/7	56	6	181		10/11	91	706/10	71	6	252
1t/m5	41/41	100	5057/41	123	6	230		95/95	100	11684/95	123	6	230
6t/m10	40/40	100	2946/40	74	6	183		62/63	98	5757/62	93	6	252
tot.	81/81	100	8003/81	99	6	230		157/158	99	17441/157	111	6	252

Bijlage 8

Explantaten in de oplossing t.o.v. explantaten die boven de oplossing hebben gestaan.

Expl. no.	verontreiniging		aantal dagen tot verontreiniging				scheutvorming	scheutvorming		aantal dagen tot scheutvorming			
	berek.	%	berek.	gem	min	max		berek.	%	berek.	gem	min	max
A boven	21/45	47	617/21	29	7	97	34/41	83	527/34	16	7	22	
in	40/45	89	1088/40	27	7	128	18/31	58	281/18	16	13	23	
tot.	61/90	68	1705/61	28	7	128	52/72	72	808/52	16	7	23	
B boven	26/50	52	999/26	38	7	104	34/48	71	549/33	17	7	39	
in	35/40	88	987/35	28	7	63	9/28	32	163/9	18	14	22	
tot.	61/90	68	1986/61	33	7	104	43/76	57	712/42	17	7	39	
C boven	8/46	17	142/8	18	6	49	24/43	56	400/24	17	10	28	
in	10/44	23	528/10	53	10	182	13/39	33	270/12	23	12	68	
tot.	18/90	20	670/18	37	6	182	37/82	45	670/36	19	10	68	
A+B+C	55/41	39	1758/55	32	6	104	92/132	70	1476/91	16	7	39	
boven	85/129	65	2603/85	31	7	182	40/98	41	714/39	18	12	68	
in/tot.	140/270	52	4361/140	31	6	182	132/230	57	2190/130	17	7	68	

Expl. no.	Zijscheut vorming		Aantal dagen tot zij-scheutvorming				Zijsch. t.o.v. hoofdsch.		Verkleuring		Aantal dagen tot verkleuring			
	berek.	%	berek.	gem	min	max	berek.	%	berek.	%	berek.	gem	min	max
A boven	20/34	59	665/18	37	22	63	20/34	59	24/24	100	3031/24	126	34	2
in	0/16	0					0/18	0	5/5	100	142/5	28	16	
tot.	20/50	40	665/18	37	22	63	20/52	38	29/29	100	3173/29	109	16	2
B boven	8/43	19	217/8	34	15	64	8/34	24	24/24	100	2884/24	120	20	2
in	2/23	9	63/2	32	28	35	2/9	22	5/5	100	555/5	111	13	1
tot.	10/66	15	334/10	33	15	64	10/43	23	29/29	100	3439/29	119	13	2
C boven	8/39	21	265/7	38	20	50	8/24	33	38/38	100	4504/38	119	6	2
in	2/39	5	75/2	38	34	41	2/13	15	34/34	100	2327/34	68	6	1
tot.	10/78	13	340/9	38	20	50	10/37	27	72/72	100	6831/72	95	6	2
A+B+C	36/116	31	1201/33	36	15	64	36/92	39	86/86	100	10419/86	121	6	2
boven	4/78	5	138/4	35	28	41	4/40	10	44/44	100	3024/44	69	6	1
in/tot.	40/194	21	1339/37	36	15	64	40/132	30	130/130	100	13443/130	103	6	2