

06

PROEFSTATION VOOR TUINBOUW ONDER GLAS TE NAALDWIJK

Vegetatieve vermeerdering van *Asparagus Setaceus*
(Plumosis) in vitro.

Proef XIV: Invloed van cortisonen in het medium op
de wortelvorming.

Ph.E. de Vreede

Naaldwijk, december 1984

Intern verslag N^o: 54

2214986

Inhoud

Bladzijde

1. Inleiding.	- 1 -
2. Proefopzet.	- 1 -
3. Resultaten.	- 3 -
3.1. Verontreinigingen.	- 3 -
3.2. Scheutvorming.	- 3 -
3.3. Wortelvorming.	- 4 -
3.4. Verkleuring.	- 4 -
4. Discussie.	- 4 -
5. Conclusie.	- 5 -

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

Proef XIV : Invloed van cortisonen in het medium op de wortelvorming.
Tijd : December 1981 - januari 1983.
Project : C4.
Uitvoering : Philomeen de Vreede.
Proefneemster : Wil van Ravestijn.

1. Inleiding.

In deze proef wordt de invloed van cortisonen in het medium op de wortelvorming nagegaan.

In de vorige proef (proef XIII) werden de cortisonen toegediend door ranken een bepaalde tijd in een cortisonoplossing te plaatsen en vervolgens werden de explantaten op een wortelinducerend medium uitgeplant. In die proef (XIII) trad zeer veel verontreiniging op.

In proef XIV worden de cortisonen aan het medium toegevoegd om minder verontreinigingen te krijgen en daardoor meer kans op wortelvorming te creëren. Cortisonen zijn groeistoffen, die de wortelgroei induceren en de groei bij planten bevorderen; ze hebben soms cytokinine (inductie celdeling), soms een auxine (inductie celstrekking)-achtige werking.

Cortisonen moeten koud worden gesteriliseerd en worden dan ook d.m.v. filtratie met een millipore-filter aan het medium toegevoegd.

Explantaten zijn genomen van donkergroene veren.

2. Proefopzet.

Per behandeling wordt één tak snijgroen gebruikt, waarvan de onderste doorn steeds 1 en de bovenste steeds 10 wordt genoemd.

De 5 onderste doornknoppen van een tak worden aangeduid als de "oudere" explantaten 1 t/m 5, waarvan 1 de "oudste" is. De 5 doornknoppen daarboven worden aangeduid als de "jongere" explantaten 6 t/m 10, waarvan 10 de "jongste" is.

Er wordt één basis-medium gebruikt, hieraan wordt geen of 10, 20, 40 of 80 mg/l hydrocortison, dihydrocortison of tetracortison toegevoegd. Deze stoffen moeten koud worden gesteriliseerd i.v.m. instabiliteit voor hoge temperatuur d.m.v. filtratie met een millipore-filter. De volgende behandelingen worden vergeleken.

Concentratie in mg/l

	0	0 + dmf*	10	20	40	80
Hydrocortison	1	2	3	4	5	6
Dihydrocortison			7	8	9	10
Tetrahydrocortison			11	12	13	14

*dmf: zie oplossing cortisonen.

Het basis-medium bestaat uit:

Murashige and Skoog (M + S) van Flow (halve sterkte)

cat.no. HCM 101 zouten 2 FS - 112

2,33 g/l

Fructose

30 g/l

IAA

0,01 mg/l

om te stollen Bacto agar

8 g/l

Voor dit medium wordt "Pyrex"-gedestilleerd water gebruikt en de pH wordt gesteld op $\pm 5,6$.

Dit basis-medium wordt in porties van 250 ml (= één behandeling) in erlenmeyers gesteriliseerd 15 minuten op 121°C (= 1 atm.).

Het oplossen van IAA is als volgt: 100 mg. IAA wordt opgelost in 3 ml. NaOH in en daarna aangevuld tot 100 ml. met "Pyrex"-water.

Dit is 1000 dpm (= 1000 mg/l).

Het toevoegen van de cortisonen aan het medium gaat als volgt:

40 mg. cortison wordt opgelost in 1 ml. dimethylformamide (dmf) en vervolgens aangevuld tot 10 ml. met water. Per erlenmeyer met 250 ml. vloeibare maar al enigszins afgekoelde steriele voedingsbodem worden de volgende hoeveelheden van cortison via het millipore-filter gepipetteerd: 5 ml. bij behandeling 6, 10 en 14; 2,5 ml. bij beh. 5, 9 en 13; 1,25 ml. bij beh. 4, 8 en 12; 0,63 ml. bij beh. 3, 7 en 11, steeds respectievelijk hydrocortison, dihydrocortison en tetrahydrocortison. Bij beh. 2 wordt de hoogste concentratie dimethylformamide toegevoegd, dit is een 2% dmf oplossing en dit is dezelfde concentratie als bij beh. 6, 10 en 14.

De explantaten zijn ontsmet door ze even in de 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 III geeft bijlage 2 weer.

3. Resultaten. (Zie bijlage 3).

3.1. Verontreinigingen.

Van alle explantaten is 35% verontreinigd na gemiddeld 99 dagen met een spreiding van 7 tot 232 dagen.

Bij onbehandeld (= zonder cortisonen in het medium) trad 10% verontreiniging op na 42 dagen.

Bij de toevoeging van een 2% dmf-oplossing aan het medium (= beh. 2) trad 100% verontreiniging op na gemiddeld 122 dagen. De verschillende cortison-toevoegingen aan het medium, namelijk hydro-, dihydro- en tetrahydrocortison gaven respectievelijk 48, 13 en 35% verontreiniging na gemiddeld 108, 44 en 96 dagen.

De verschillende concentraties cortison geen (= onbehandeld) 10, 20, 40 of 80 mg/l gaven respectievelijk 10, 20, 30, 37 en 40% verontreiniging na gemiddeld 42, 48, 90, 110 en 109 dagen.

De "jongere" explantaten 6 t/m 10 geven iets minder verontreiniging, namelijk 33% t.o.v. de "oudere" explantaten 1 t/m 5 37% verontreiniging. De duur tot de verontreiniging is ongeveer gelijk gemiddeld na 100 dagen.

3.2. Scheutvorming. (Zie bijlage 3a en 3b).

Van de niet binnen 14 dagen verontreinigde explantaten heeft 79% hoofdscheuten gevormd gemiddeld na 14 dagen met uitersten tussen 7 en 77 dagen.

Bij onbehandeld heeft 90% scheuten gevormd na gemiddeld 15 dagen.

Bij de behandeling met toevoeging van een 2% concentratie dmf zijn 80% scheuten gevormd ook gemiddeld na 15 dagen.

De hydro-, dihydro- en tetrahydrocortison-toevoegingen aan de media geven respectievelijk 72, 82 en 81% scheutvorming na gemiddeld 15, 14 en 12 dagen.

De verschillende concentraties cortisonen, namelijk: geen (onbehandeld) 10, 20, 40 of 80 mg/l geven respectievelijk 90, 75, 78, 79 en 81% scheutvorming na gemiddeld 15, 14, 10, 16 en 12 dagen.

De "jongere" explantaten 6 t/m 10 geven meer scheutvorming, namelijk 84% t.o.v. de "oudere" explantaten 1 t/m 5 75% scheutvorming. De duur tot scheutvorming is gemiddeld gelijk namelijk 14 dagen.

Van de niet binnen een maand verontreinigde explantaten trad bij 44% zijscheutvorming op, gemiddeld na 38 dagen. Dit komt overeen met 52% zijscheutvorming t.o.v. explantaten, die al een hoofdscheut hebben.

Bij onbehandeld trad 50% zijscheutvorming op, gemiddeld na 42 dagen.

De toevoegingen hydro-, dihydro- en tetrahydrocortison hebben respectievelijk 52, 31 en 47% zijscheutvorming gegeven na gemiddeld 35, 30 en 47 dagen.

Bij de verschillende concentraties cortison: geen (onbehandeld) 10, 20, 40 en 80 mg/l trad voor de respectievelijke concentraties 50, 31, 56, 35 en 50% zijscheutvorming op na gemiddeld 42, 44, 36, 35 en 39 dagen.

Bij de "jongere" explantaten trad meer zijscheutvorming op namelijk 49% t.o.v. 39% bij de oudere explantaten. De duur tot deze zijscheutvorming is weer gelijk \pm 38 dagen.

3.3. Wortelvorming.

Van de niet binnen 4 maanden verontreinigde explantaten heeft bij 2,2% wortelinductie en uitgroei plaatsgevonden. Deze wortelvorming vond plaats bij 2 explantaten na 183 dagen, namelijk bij onbehandeld, d.w.z. geen cortison-toevoeging aan het medium en bij een toevoeging van 20 mg/l hydrocortison aan het medium. Beide explantaten zijn "jongere" explantaten van de veren geweest. Nadat de scheuten en wortels goed gegroeid waren, zijn de explantaten uitgeplant in grond op de gebruikelijke wijze (zie intern verslag no. 24, 1984, blz. 8).

3.4. Verkleuring.

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

Gemiddeld is na 193 dagen alles verkleurd met een spreiding van 28 tot 380 dagen.

4. Discussie.

De behandelingen, waarbij cortisonen (beh. 3 t/m 14) of dmf (beh. 2) aan het medium zijn toegevoegd, hebben gemiddeld meer verontreinigingen dan onbehandeld. De vermoedelijke oorzaak van de verontreinigingen is de wijze, waarop de stoffen aan het medium zijn toegevoegd. Bij een volgende proef zal worden getracht de stoffen beter gesteriliseerd te krijgen door een juister (preciezer, schoner?) gebruik te maken van het millipore-filter.

Bij de behandelingen met cortison-toevoegingen is de procentuele groei van hoofd- en zijscheuten niet bevorderd t.o.v. onbehandeld, zoals verwacht werd. Namelijk cortisonen zouden groei induceren.

Wel is de duur tot de scheutvorming met cortison-toevoegingen gemiddeld sneller dan zonder cortison in het medium.

Om meer effect van cortisonen te krijgen zal eerst de toedieningswijze van deze stoffen verbeterd moeten worden.

5. Conclusie.

Welk cortison als beste reageert wordt uit deze proef niet duidelijk. Dihydrocortison heeft de minste verontreiniging gegeven, dihydrocortison en tetrahydrocortison de meeste hoofdscheutvorming, hydro- en tetrahydrocortison de meeste zijscheutvorming en alleen bij hydrocortison zijn bij één explantaat wortels gevormd.

Er is geen bepaalde concentratie cortison, die duidelijk beter is t.o.v. de andere concentraties.

De scheutvorming is sneller na toevoeging van cortisonen aan het medium, maar scheutvorming is niet het struikelblok bij de vegetatieve vermeerdering van snijgroen.

Bijlage 1.

- 08121981 14 kolven media gemaakt en geautoclaveerd.
Filters en millipore-filters los van elkaar gesteriliseerd
in aluminiumfolie.
- 09121981 Behandeling 1 in buizen gegoten (+ 15 ml. per buis).
Behandeling 2 dimethylformamide toegevoegd en in buizen gegoten.
Behandeling 3 t/m 6 hydrocortisonoplossing toegevoegd en in
buizen gegoten.
- 10121981 Behandeling 11 t/m 14 tetrahydrocortisonoplossing toegevoegd en
in buizen gegoten.
- 22121981 Behandeling 1 t/m 6 en 11 t/m 14 geplant en geplaatst in
Vötschkast III.
- 29121981 Behandeling 7 t/m 10 dihydrocortisonoplossing toegevoegd en
in buizen gegoten.
- 05011982 Behandeling 7 t/m 10 geplant en geplaatst in Vötschkast III.

Bijlage 2.

Gemiddelde temperatuur per decade in °C.

jaar	maand	decade	max.	min.	9 u.	14 u.
1981	dec.	3	27,8	26,8	27,5	27,8
1982	jan.	1	28,0	25,5	26,8	27,4
"	"	2	27,2	24,5	26,7	26,9
"	"	3	-	-	-	-
"	febr.	1	-	-	-	-
"	"	2	-	-	-	-
"	"	3	28,8	20,9	28,1	28,5
"	mrt.	1	28,8	21,1	25,6	28,0
"	"	2	30,3	23,8	30,0	30,1
"	"	3	30,8	24,1	30,2	30,4
"	apr.	1	30,6	24,7	30,4	30,4
"	"	2	31,3	24,5	30,0	30,5
"	"	3	30,7	23,7	30,3	30,5
"	mei	1	30,2	23,2	30,0	30,0
"	"	2	29,5	20,8	28,9	28,7
"	"	3	27,9	21,7	27,3	27,7
"	juni	1	28,1	20,1	27,9	27,5
"	"	2	27,7	19,4	27,3	27,3
"	"	3	28,1	19,7	27,9	27,3
"	juli	1	28,1	19,6	27,7	27,7
"	"	2	28,3	20,2	27,9	28,0
"	"	3	29,4	21,2	29,1	29,1
"	aug.	1	29,0	20,7	28,6	28,4
"	"	2	28,7	20,3	28,4	28,2
"	"	3	28,4	20,2	28,2	28,2
"	sept.	1	28,2	20,1	27,8	28,0
"	"	2	29,0	20,9	28,4	28,6
"	"	3	28,7	21,0	28,4	28,6
"	okt.	1	28,8	20,8	27,5	28,8
"	"	2	28,9	22,2	28,8	28,8
"	"	3	28,8	21,2	28,6	28,7

jaar	maand	decade	max.	min.	9 u.	14 u.
1982	nov.	1	28,6	21,2	28,5	28,5
"	"	2	29,1	21,5	28,9	29,1
"	"	3	28,7	21,4	28,6	28,6
"	dec.	1	25,7	25,3	25,7	25,5
"	"	2	19,6	17,5	18,2	18,4
"	"	3	21,8	19,6	19,2	20,1
1983	jan.	1	20,2	19,8	19,9	19,9
"	"	2	20,2	19,7	19,8	19,8
"	"	3	20,2	19,8	19,9	19,9

age 3. Invloed behandelingen en explantaathoogte.

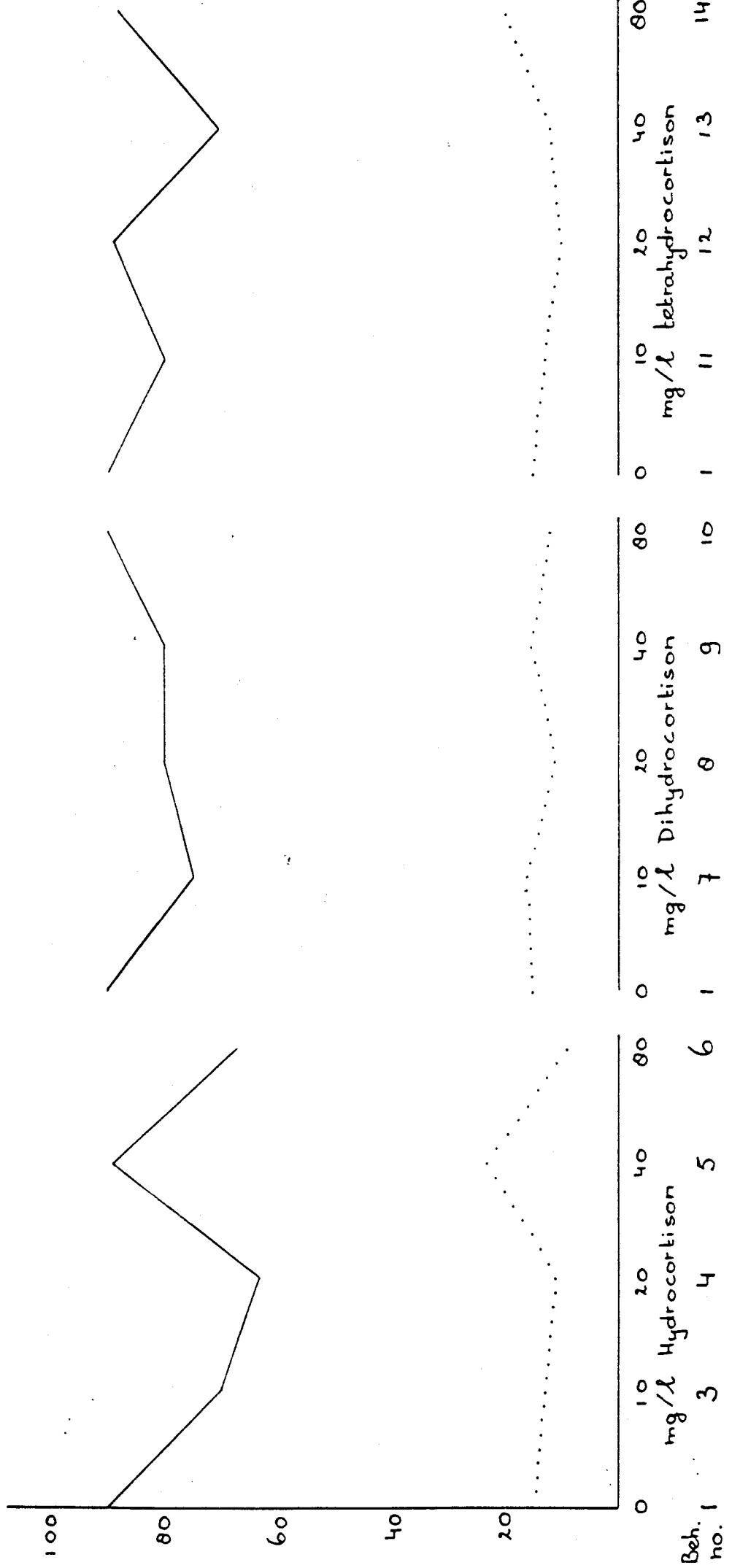
no.	Verontreiniging		Aantal dagen tot verontreiniging		Scheutvorming		Aantal dagen tot scheutvorming		Zijfscheutvorming		Aantal dagen tot zijfscheutvorming		Zijfscheutvorming t.o.v. hoofdscheutvorming		Wortel-vorming		Aantal dagen tot wortel-vorming		Verkleuring		Aantal dagen tot verkleuring		
	Berekening	%	Berekening	max.	Berekening	%	Berekening	min.	max.	Berekening	%	Berekening	min.	max.	Berekening	%	Berekening	min.	max.	Berekening	%	Berekening	min.
1	1/10	10	42/1	42	9/10	90	133/9	15	7	21	5/10	50	5/9	56	1/9	11	183/1	183	8/9	89	2114/8	264	183
2	10/10	100	1220/10	122	8/10	80	105/7	15	7	28	5/9	56	5/8	63	0/0	0	-	-	0/0	0	-	-	-
3	2/10	20	91/2	46	7/10	70	77/6	13	7	35	2/9	22	2/7	29	0/8	0	-	-	8/8	100	2236/8	280	183
4	5/10	50	356/5	71	5/8	63	42/4	11	7	14	3/7	43	3/5	60	1/5	20	183/1	183	4/5	80	663/4	166	65
5	8/10	80	1095/8	137	8/9	89	161/7	23	7	77	6/8	75	6/8	75	0/2	0	-	-	2/2	100	366/2	183	183
6	4/10	40	513/4	128	6/9	67	56/6	9	7	14	6/9	67	6/6	100	0/6	0	-	-	6/6	100	1196/6	199	183
7	4/10	40	197/4	49	6/8	75	98/6	16	7	28	2/7	29	2/6	33	0/6	0	-	-	6/6	100	867/6	145	42
8	1/10	10	21/1	21	8/10	80	77/7	11	7	21	3/9	33	3/8	38	0/9	0	-	-	9/9	100	1062/9	118	28
9	0/10	0	-	-	8/10	80	119/8	15	14	21	3/10	30	3/8	38	0/10	0	-	-	10/10	100	1164/10	116	35
10	0/10	0	-	-	9/10	90	112/9	12	7	14	3/10	30	3/9	33	0/10	0	-	-	10/10	100	965/10	97	35
11	0/10	0	-	-	8/10	80	91/7	13	7	21	4/10	40	4/8	50	0/10	0	-	-	10/10	100	2711/10	271	113
12	3/10	30	429/3	143	8/9	89	77/8	10	7	14	8/9	89	8/8	100	0/7	0	-	-	7/7	100	2211/7	324	232
13	3/10	30	114/3	38	7/10	70	63/6	11	7	14	0/8	0	0/7	0	0/7	0	-	-	7/7	100	1323/7	189	65
14	8/10	80	794/8	99	7/8	88	105/7	15	7	35	4/7	57	4/7	57	0/2	0	-	-	2/2	100	296/2	148	113
aal	49/140	35	4872/49	99	104/131	79	1316/97	14	7	77	54/122	44	54/104	52	2/91	2,2	366/2	183	89/91	98	17174/90	193	28
1	5/14	36	612/5	122	9/12	75	112/8	14	7	28	4/12	33	4/9	44	0/9	0	-	-	9/9	100	1483/9	165	35
2	5/14	36	606/5	121	9/14	64	133/9	15	7	35	6/13	46	6/9	67	0/9	0	-	-	9/9	100	1648/9	183	65
3	4/14	29	518/4	130	9/13	69	77/8	10	7	14	4/12	33	4/9	44	0/10	0	-	-	10/10	100	1625/10	163	42
4	6/14	43	478/6	80	10/12	83	84/8	11	7	14	6/12	50	6/10	60	0/8	0	-	-	8/8	100	1384/8	173	42
5	6/14	43	529/6	88	11/13	85	126/9	14	7	28	4/12	33	4/11	36	0/8	0	-	-	8/8	100	1754/8	219	42
6	4/14	29	205/4	51	12/14	86	168/11	15	7	35	7/12	58	7/12	58	0/10	0	-	-	10/10	100	1960/10	196	42
7	5/14	36	302/5	60	10/13	77	119/10	12	7	21	8/12	67	8/10	80	1/9	11	183/1	183	8/9	89	2053/8	257	169
8	6/14	43	844/6	141	12/14	86	203/12	17	7	77	5/12	42	5/12	42	1/8	13	183/1	183	7/8	88	1444/7	206	35
9	4/14	29	429/4	107	11/13	85	147/11	13	7	21	5/13	38	5/11	45	0/10	0	-	-	10/10	100	1817/10	182	35
10	4/14	29	349/4	87	11/13	85	147/11	13	7	21	5/12	42	5/11	45	0/10	0	-	-	10/10	100	2006/10	201	28
aal	26/70	37	2743/26	106	48/64	75	532/42	13	7	35	24/61	39	24/48	50	0/44	0	-	-	44/44	100	7894/44	179	35
aal	23/70	33	3129/23	93	56/67	84	784/55	14	7	77	30/61	49	30/56	54	2/47	4,3	366/2	183	45/47	96	9280/45	206	28
aal	49/140	35	872/49	99	104/131	79	1316/97	14	7	77	54/122	44	54/104	52	2/91	2,2	366/2	183	89/91	98	17174/90	193	28

Invloed concentratie bij hydrocortison, dihydrocortison en tetrahydrocortison

Bylage 3a

— Percentage scheutvorming

..... Gem. aantal dagen tot scheutvorming



Influensie doorhoogte op de scheutvorming
 1 t/m 5 onderste 1 = onderste; 5 = 5^e van onderaf
 6 t/m 10 bovenste 10 = bovenste; 6 = 5^e van bovenaf

— Percentage scheutvorming

..... Gem. aantal dagen tot scheutvorming

